

使用 Captiva EMR-Lipid 与 LC-MS/MS 相结合对食品中的丙烯酰胺残留量进行测定

作者

安娟, 吴翠玲, 黄炯嘉
安捷伦科技(中国)有限公司

摘要

本文介绍了一种结合 QuEChERS 和 Captiva EMR-Lipid 进行样品前处理, 利用 LC-MS/MS 来分析食品中丙烯酰胺的方法。该方法简便易用, 重现性良好, 且灵敏度高, 完全满足国际和国内标准对于食品中丙烯酰胺违禁物检测限的要求。

前言

丙烯酰胺是一种含有不饱和双键的酰胺, 经过体内代谢可产生环氧丙酰胺 (Glycidamide), 而环氧丙酰胺对体内的血红蛋白和 DNA 等大分子物质有较强的烷基化作用。因此, 国际癌症研究机构 (IARC) 于 1994 年将丙烯酰胺列为 2A 类“人类可能致癌物质”。经高温加工的淀粉类食品是丙烯酰胺的主要来源。因此, 建立高效、简单、快捷的食品中丙烯酰胺分析方法, 对于评估丙烯酰胺含量和寻找减少其产生的方法非常重要。

《食品安全国家标准 食品中丙烯酰胺的测定》(GB 5009.204-2014)^[1] 中规定的方法包括 LC-MS/MS 法和 GC-MS 法。其中 LC-MS/MS 法既具有色谱的较高分离能力, 又有质谱的高灵敏度和离子检测特异性, 但样品前处理所用的基质固相分散萃取方法和固相萃取柱净化法均步骤繁多, 不易操作; 而 GC-MS 法需要衍生化处理, 操作耗时长, 不适用于大批量样品分析。而且, GB/T 5009.204-2014 采用水提取丙烯酰胺, 对于含有大量脂肪、蛋白和淀粉的食品, 会严重影响丙烯酰胺的提取效率。此外, 由于经过高温热加工的淀粉类食品含有较多的杂质, 丙烯酰胺提取液还需经过进一步净化以去除杂质。

本文介绍了一种将 Captiva EMR-Lipid 与 LC-MS/MS 结合使用来分析食品中丙烯酰胺的方法。该方法采用乙腈提取样品, 经 Captiva EMR-Lipid 过滤净化以去除脂肪和蛋白质干扰物质, 然后进行 LC-MS/MS 分析。该方法的线性范围为 0.5–10 ng/mL, 定量限为 10 µg/kg。对部分市售薯片和曲奇饼干样品进行检测, 结果发现其中的丙烯酰胺含量均在 10 µg/kg 以上。

实验部分

试剂和样品

甲酸、乙腈均为色谱纯，购于迪马公司；实验用水为经过密理博纯水仪处理的二次水。

丙烯酰胺和丙烯酰胺内标的标准品，纯度均 $\geq 99.0\%$ ，购于 Dr 公司。

标准储备液的制备：丙烯酰胺、丙烯酰胺内标分别用甲醇配制成 100 mg/L 的单标储备液。分别取适量的单标储备液用甲醇溶液配制成 1 mg/L 的混标工作液。

样品为市售食品。

仪器与消耗品

Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统与 Agilent 6470 三重四极杆液质联用系统。

Agilent Bond Elut QuEChERS 丙烯酰胺萃取盐包（部件号 5982-5850）和 Agilent Captiva EMR-Lipid 小柱 300 mg，3 mL（部件号 5190-1003）。

样品前处理

称取样品 2 g，加入 10 mL 水；加入陶瓷均质子，涡旋混匀后，静置 20 分钟；加入 10 mL 乙腈和 Agilent Bond Elut QuEChERS 丙烯酰胺萃取盐包，涡旋振荡 5 分钟；然后在 9000 r/min 的转速下于 4 °C 低温离心 10 分钟；移取 4 mL 上清液至另一离心管中，再加入 1 mL 水充分混匀，并经过离心后取 3 mL 过 Captiva EMR-Lipid 300 mg 小柱；取 1 mL 流出液于 40 °C 下用氮气吹至近干，用流动相（0.1% 甲酸水）将其定容至 1 mL。经 Agilent 0.2 μm Captiva RC 膜过滤后，进行 LC-MS/MS 测定。样品前处理流程图如图 1 所示。

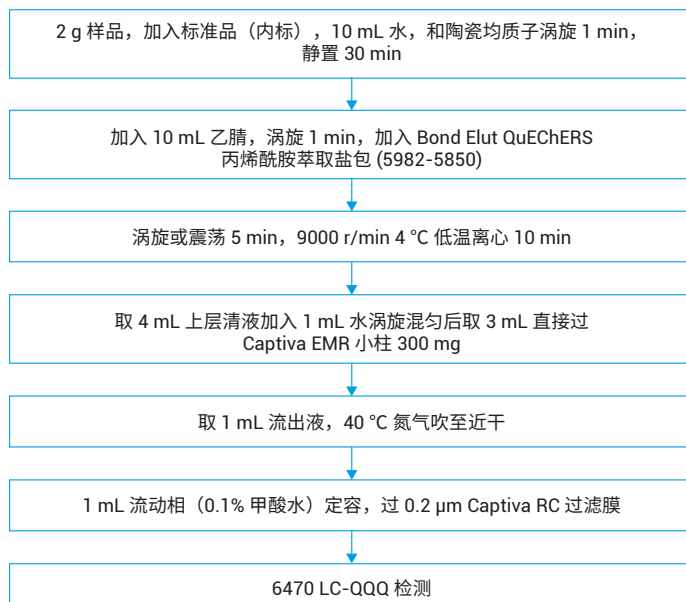


图 1. 奶粉样品前处理流程图

色谱条件

色谱柱：	Agilent Polaris 3 Amide-C18, 150 × 3.0 mm
柱温：	30 °C
进样体积：	5 μL
流动相 A：	0.1% 甲酸水溶液
流动相 B：	乙腈
流速：	0.4 mL/min
梯度：	见表 1

表 1. 液相色谱梯度变化表

时间 (min)	B%
0	0
3	0
3.5	90
6.5	90
7	0
10	0

质谱条件

离子源:	AJS ESI+
监测模式:	MRM
干燥气温度:	250 °C
干燥气流速:	7 L/min
雾化器压力:	40 psi
鞘气温度:	325 °C
鞘气流速:	11 L/min
毛细管电压:	4000 V
喷嘴电压:	0 V

丙烯酸酰胺及内标的 MRM 谱图: 见图 2

丙烯酸酰胺及内标的 MRM 参数: 见表 2

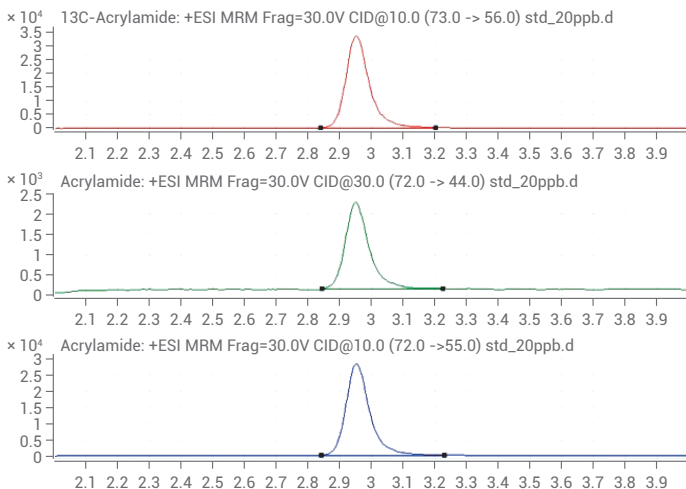


图 2. 丙烯酸酰胺及内标 (10 ng/mL) 的 MRM 谱图

表 2. 化合物 MRM 参数表

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (eV)
丙烯酸酰胺	72	55	30	10
		44		30
¹³ C-丙烯酸酰胺	73	56	30	10

结果与讨论

色谱柱的选择

丙烯酸酰胺极性较强, 出峰早, 而常规 C18 柱基本不耐受纯水流动相, 一般文献中多采用 AQ 柱对丙烯酸酰胺进行分析。本文比较了 Agilent Poroshell 120 SB-Aq 2.7 μ m 3.0 mm \times 100 cm 色谱柱和 Agilent Polaris 3 Amide-C18 150 \times 3.0 mm 色谱柱。在用 SB-AQ 色谱柱进行分析时, 丙烯酸酰胺在 1 min 左右出峰, 极性干扰物对丙烯酸酰胺会有一些的干扰; 选择 Polaris 色谱柱, 丙烯酸酰胺的保留时间在 3.0 min 左右, 再利用 Masshunter 采集软件流路切换功能并配合盐析前处理方法, 可大大减小极性干扰物的影响, 得到较高的回收率。

Captiva EMR-Lipid 的选择

评价了单独使用 QuEChERS 以及将 QuEChERS 与 EMR 结合使用对样品的净化后基质效应。对于脂肪、蛋白质含量高的淀粉类食品仅采用 QuEChERS 盐包进行提取净化时, 容易受到大量磷脂干扰, 导致相应基质抑制效应增强, 基质抑制率达到 47%。将 QuEChERS 盐包与 EMR 相结合, 可以更好地去除极性干扰物, 同时达到最大限度去除脂肪的作用, 提高净化效果并降低基质效应, 基质抑制率降低为 30%。

因此, 本文采用 QuEChERS 丙烯酸酰胺萃取盐包与 Captiva EMR-Lipid 相结合进行样品前处理。

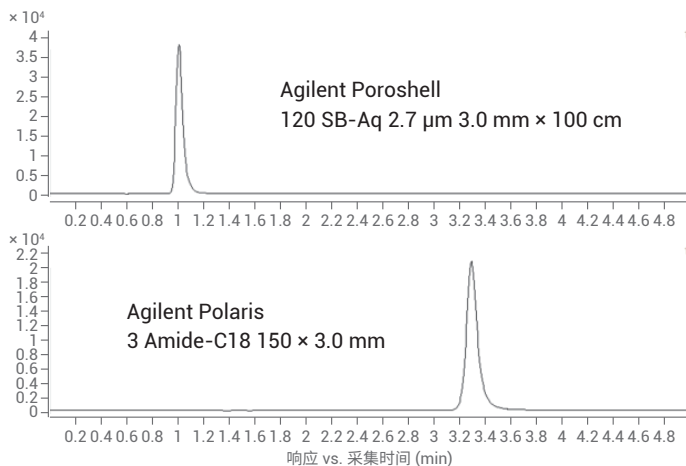


图 3. 采用 Agilent Polaris 3 Amide-C18 150 \times 3.0 mm 色谱柱和 Agilent Poroshell 120 SB-Aq 2.7 μ m 3.0 mm \times 100 cm 色谱柱所得到的丙烯酸酰胺保留时间比较

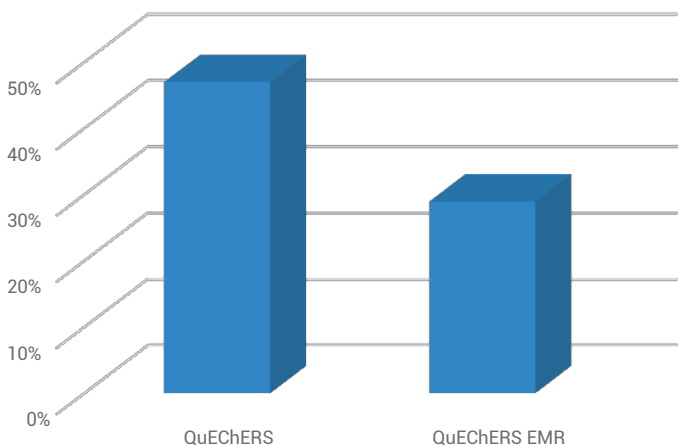


图 4. 不同前处理方法基质效应的比较

线性范围与检测

丙烯酰胺在浓度 2–200 ng/mL 的范围内线性相关，且内标法线性相关系数 > 0.99。结果见图 5。

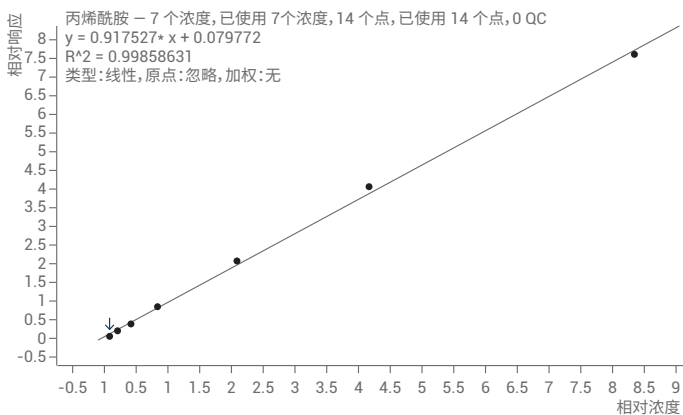


图 5. 丙烯酰胺标准曲线

方法的回收率与精密度

分别取奶粉、饼干和薯片样品进行加标回收和精密度实验，添加 10 µg/kg、20 µg/kg、50 µg/kg 三个浓度的标准品。在不同的加标浓度下，奶粉基质中的加标回收率在 71.9% 至 80.2% 之间，相对标准偏差 (RSD) 小于 4.0%；饼干基质中的加标回收率在 93.6% 至 104.8% 之间，RSD 小于 4.5%；薯片基质中的加标回收率在 75.9% 至 98.0% 之间，RSD 小于 5.0%。结果如表 3 至表 5 所列。

表 3. 奶粉中丙烯酰胺回收率及精密度

样品	加标浓度	回收率	平均回收率	RSD
奶粉	10 µg/kg	71.6%	71.9%	2.43%
		72.8%		
		70.2%		
		69.1%		
		76.1%		
	20 µg/kg	71.4%	79.5%	3.75%
		76.6%		
		76.7%		
		86.7%		
		79.8%		
	50 µg/kg	78.1%	80.2%	2.69%
		79.2%		
		77.3%		
		84.4%		
		78.2%		
	50 µg/kg	78.6%	80.2%	2.69%
		80.7%		

表 4. 饼干中丙烯酰胺的回收率及精密度

样品	加标浓度	回收率	平均回收率	RSD
饼干	10 µg/kg	88.3%	93.6%	2.43%
		93.2%		
		94.9%		
		95.6%		
		94.6%		
		94.7%		
	20 µg/kg	91.7%	95.3%	4.5%
		92.5%		
		99.0%		
		101.6%		
		96.8%		
		90.1%		
	50 µg/kg	102.5%	104.8%	3.2%
		101.5%		
		106.4%		
		108.0%		
		102.0%		
		108.5%		

表 5. 薯片中丙烯酰胺回收率及精密度

样品	加标浓度	回收率	平均回收率	RSD
薯片	10 µg/kg	78.3%	75.9%	3.0%
		77.1%		
		74.7%		
		76.5%		
		78.3%		
	20 µg/kg	70.4%	89.3%	3.9%
		86.8%		
		88.9%		
		88.0%		
		96.4%		
	50 µg/kg	85.0%	98.0%	4.8%
		90.6%		
		96.2%		
		95.3%		
		90.7%		
	103.1%			
	100.8%			

实际样品分析

按照上述方法对市售品牌薯片（原味）、曲奇饼干样品进行分析，每个样品重复三次，结果如下：

样品名称	丙烯酰胺平均含量 (µg/kg)
薯片 1	246.2
薯片 2	264.0
薯片 3	873.6
薯片 4	1624.3
薯片 5	18.7

样品名称	丙烯酰胺平均含量 (µg/kg)
曲奇饼干 1	115.7
曲奇饼干 2	542.7
曲奇饼干 3	630.1
曲奇饼干 4	233.0
曲奇饼干 5	99.4

结论

本文建立了一种采用 Captiva EMR-Lipid 与 LC-MS/MS 相结合来测定食品中的丙烯酰胺残留的分析方法。该方法简便易用，重现性良好，且灵敏度满足 GB 5009.204-2014 食品中丙烯酰胺定量限 10 µg/kg 的要求。

参考文献

1. GB 5009.204-2014 食品安全国家标准 食品中丙烯酰胺的测定
2. 采用 SampliQ QuEChERS AOAC 试剂盒及 LC/MS/MS 分析炸薯条中的丙烯酰胺，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5990-5940CHCN，2011

消耗品订购信息

消耗品	部件号
Agilent Bond Elut QuEChERS	5985-5850
Agilent Captiva EMR-Lipid 300 mg, 3 mL	5190-1003
Agilent Polaris 3 Amide-C18 150 × 3.0 mm 色谱柱	A2007150X030
Agilent Captiva RC 15 mm 0.2 µm 针头过滤器	5190-5096

查找当地的安捷伦客户中心:

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线:

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价:

www.agilent.com/chem/erfq-cn



微信搜一搜

安捷伦视界

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更,恕不另行通知。

© 安捷伦科技(中国)有限公司, 2019
2019年6月21日, 中国出版
5994-1119ZHCN

