

目录

酒中氨基甲酸乙酯的测定-液相方法-荧光检测法（非国标方法）	2
酒中氨基甲酸乙酯的测定 GC-MS 法参照 GB 5009.223-2014 国标方法.....	5
(GB/T 5009.191-2006)酱油中氯丙醇含量的测定 GC/MS 法.....	12
烤鱼中 5 种杂环胺类物质的分析方法.....	16
烤肉中 5 种杂环胺类物质的分析方法.....	22
酱油中 3-氯-1,2-丙二醇的分析方法.....	28
香油中苯并芘残留量的分析方法.....	32
(GB 5009.204-2014) 薯片和油条中丙烯酰胺的分析方法	37
薯片和油条中丙烯酰胺的分析方法 Cleanert ACA 专用柱，升级方法	43
油炸薯片中丙烯酰胺的测定 高效液相色谱法.....	51
(GB 5009.27-2016 净化方法一) 油脂中苯并（a）芘的检测 HPLC 法.....	54
(GB 5009.27-2016 净化方法二) 油脂中苯并（a）芘的检测 HPLC 法.....	57

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

酒中氨基甲酸乙酯的测定-液相方法-荧光检测法（非国标方法）

案例来源：博纳艾杰尔；应用编号：MF00013

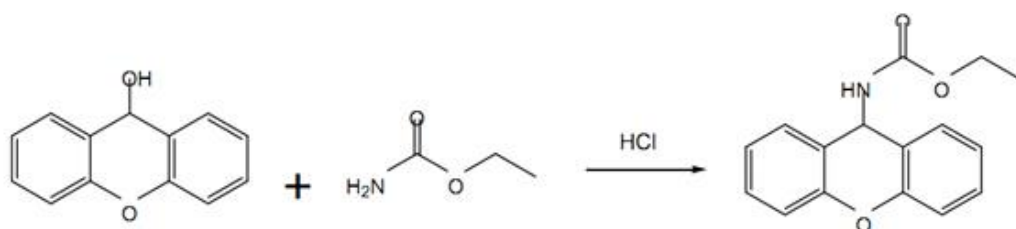
应用简介

2015年初，《食品安全国家标准食品中氨基甲酸乙酯的测定》（GB 5009.223-2014）公布后，博纳艾杰尔除依照强制标准推出了酒中氨基甲酸乙酯的 GC-MS 检测方法（推荐使用 Cleanert EC 氨基甲酸乙酯专用固相萃取柱）外，还推出了液相方法-荧光检测法（推荐使用 Venusil MP C18 液相色谱柱），亦可用于食品中氨基甲酸乙酯的测定。

方法:液相方法-荧光检测法

一、原理

在盐酸中，氨基甲酸乙酯与 9-羟基吨反应，生成具有荧光特性的衍生物，经色谱柱分离，荧光检测器检测，外标法定量。



二、衍生方法

量取 0.02 mol/L 的 9-羟基吨 500 μ L 添加到 1 ml 酒精度调整至 40% 的样品或标样中，然后加入 100 μ L 的 1.5 mol/L HCl 中，混匀使反应完全，放暗处衍生至少 60 min，过 0.45 μ m 滤膜，待测。

三、样品前处理方法

准确量取 2.00 ml 酒样，加 100 μ L 2.0 μ g/mL D5-氨基甲酸乙酯内标使用液、氯化钠 0.3 g（白酒、酱油不加），超声溶解、混匀，然后加样到氨基甲酸乙酯上，抽真空，让试样慢慢渗入到 Cleanert EC 氨基甲酸乙酯专用固相萃取柱中，静置约 10 min，先用 10 mL 正己烷淋洗除杂，然后用 10 mL 5% 乙酸乙酯/乙醚溶液以 1 mL/min 流速洗脱并收集于 10 mL 具塞刻

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn



度试管中，在室温下用氮气缓缓吹至 0.5 mL 左右，用甲醇定容至 1.0 mL 制成测定液供 GC/MS 分析，同时做空白。

四、色谱条件

色谱柱：Venusil MP C18, 4.6 mm*250 mm, 5 μ m (P/N: VA952505-0)

流速：0.8 mL/min

柱温：30°C

激发波长：233 nm

发射波长：600 nm

流动相：A: 0.02M 乙酸钠 (pH=7.2), B: 乙腈, 梯度程序如下

时间 (min)	A%	B%
0	70	30
5	50	50
25	25	75
26	10	90
29	10	90
30	70	30
38	70	30

注意事项:

1. 衍生试剂配置完成后，应 4°C 避光保存 (有效期 1 个月);
2. 在加样时，尽量缩短操作时间，避免衍生试剂见光时间过长分解;
3. 该衍生反应需要在暗处进行;
4. 衍生时间不得少于 30 min;
5. 流动相 pH 值要调整准确。

五、相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST7901	氨基甲酸乙酯	Ethyl carbamate	51-79-6
1ST7901D5	氨基甲酸乙酯-D5	Ethyl carbamate-d5	NA

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

六、订货信息

订货号	产品名称	规格包装
EC200012	Cleanert EC (氨基甲酸酯专用固相萃取柱)	20 支/包
VA952505	Venusil MP C18 色谱柱	4.6 mm*250 mm, 5 μm
SPE-40	Qudura 卓睿全自动固相萃取仪	4 通道, 可连续处理 24 个样品
AH230-4	甲醇	4×4 L/箱
AH216-4	正己烷	4×4 L/箱
AH100-4	乙酸乙酯	4×4 L/箱
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	1.5 mL
0915-1819	1.5 mL 样品瓶	与 1.5 mL 样品瓶瓶套
AS041320	PTFE 滤膜	0.22 μm, 直径 13 mm; 200 个/pk

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

酒中氨基甲酸乙酯的测定 GC-MS 法参照 GB 5009.223-2014 国标方法

案例来源：博纳艾杰尔；应用编码：MF00013

应用简介

2015年初，《食品安全国家标准 食品中氨基甲酸乙酯的测定》(GB 5009.223-2014)公布，自此，致癌物-氨基甲酸乙酯的含量和检测，成为酒精饮品和发酵食品相关企业、机构、检验检测机构不得不说的“秘密”！博纳艾杰尔推出成熟的商品化产品 Cleanert EC 氨基甲酸乙酯专用固相萃取柱(碱性硅藻土)，适逢 2015 年新版国标出台，此产品完美贴合此项标准！

方法一、GC-MS 法 参照 GB 5009.223-2014

摘要：本文参照食品安全国家标准方法《GB 5009.223-2014 食品中氨基甲酸乙酯的测定》，进行了白酒中氨基甲酸乙酯含量的测定。采用商品化 Cleanert EC 氨基甲酸乙酯专用固相萃取柱（碱性硅藻土）进行样品前处理，GC-MS 法测定，结果表明氨基甲酸乙酯检出限为 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ （取样 2.00 g），回收率在 98.3%~104.5%；白酒样品的日间精密度测试，RSD<3%。方法简单，产品稳定，结果准确灵敏，完全满足分析检测的要求。

氨基甲酸乙酯(Ethyl Carbamate, EC)，是一种致癌物，可以引起肺肿瘤、淋巴癌、肝癌、皮肤癌等。它是发酵食物和酒精饮品在发酵或贮存过程中天然产生的污染物。2007年，世界卫生组织的国际癌症研究机构(IARC)正式将氨基甲酸乙酯(Ethyl Carbamate)归为 2A 类致癌物。因此对相关食品中进行氨基甲酸乙酯的检测和监测是非常必要的。

一、试剂和材料

标准溶液配制

1.0 mg/mL D5-氨基甲酸乙酯贮备液：准确称取 10.0 mg D5-氨基甲酸乙酯标准品，用甲醇定容至 10 mL。

2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ D5-氨基甲酸乙酯使用液：准确吸取 1.0 mg/mL D5-氨基甲酸乙酯标准贮备液 0.1 mL，用甲醇定容至 50 mL。

1.0 mg/mL 氨基甲酸乙酯贮备液：准确称取 0.5000 g 氨基甲酸乙酯标准品，用甲醇定容至 50 mL。

分别准确吸取一定量氨基甲酸乙酯标准，加 100 μL 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 D5-氨基甲酸乙酯溶液，用甲醇定容至 1.0 mL，得到 10.0、25.0、50.0、100.0、200.0、400.0、1000.0 ng/mL 的标准使用液（内含 200.0 ng/mL D5-氨基甲酸乙酯）

固相萃取柱：Cleanert EC 氨基甲酸乙酯专用固相萃取柱（碱性硅藻土）

气相色谱柱：DA-INNOWAX 柱

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn



二、实验方法

样品前处理

准确量取 2.00 ml 酒样，加 100 μ L 2.0 μ g/ mL D5-氨基甲酸酯内标使用液、氯化钠 0.3 g（白酒、酱油不加），超声溶解、混匀，然后加样到氨基甲酸酯专用柱上，让试样慢慢渗入到 **Cleanert EC 氨基甲酸酯固相萃取专用柱**中，静置约 10 min，先用 10 mL 正己烷淋洗除杂，然后用 10 mL 5% 乙酸乙酯/乙醚溶液以 1 mL/min 流速洗脱并收集于 10 mL 具塞刻度试管中，在室温下用氮气缓缓吹至 0.5 mL 左右，用甲醇定容至 1.0 mL 制成测定液供 GC/MS 分析，同时做空白。

GC-MS 条件

色谱柱：[DA-INNOWAX 柱](#)，30 m*0.25 mm*0.25 μ m；

进样口温度：220 $^{\circ}$ C；柱温：初温 50 $^{\circ}$ C，保持 1 min，然后以 8 $^{\circ}$ C/min 升至 180，然后以 15 $^{\circ}$ C/min 升至 210 $^{\circ}$ C 保持 5 min；

载气：氦气，纯度 \geq 99.999%

流速：1 mL/min；

电离方式：EI 源。

离子源温度：230 $^{\circ}$ C；

进样方式：不分流进样；

样量：1-2 μ L；

氨基甲酸酯选择监测离子（m/z）：62、76、89；定量离子 62；

D5-氨基甲酸酯选择监测离子（m/z）64、76；定量离子 64

三、实验结果

色谱图

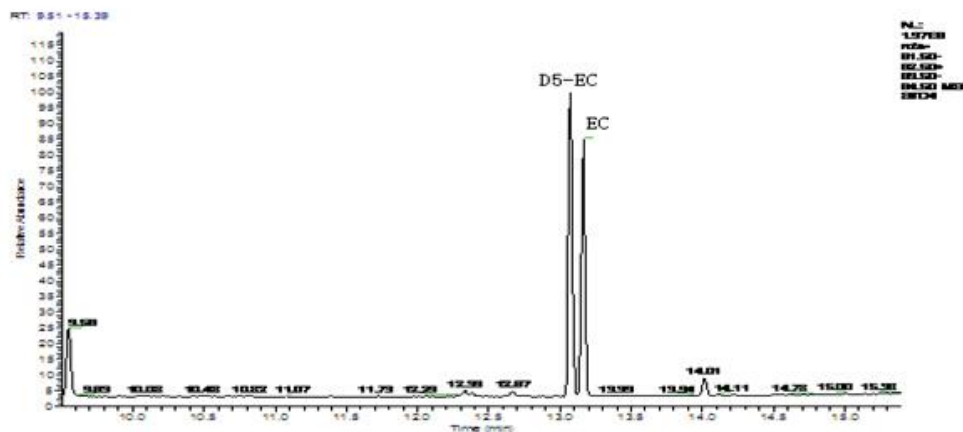


图 1 氨基甲酸酯及内标总离子图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

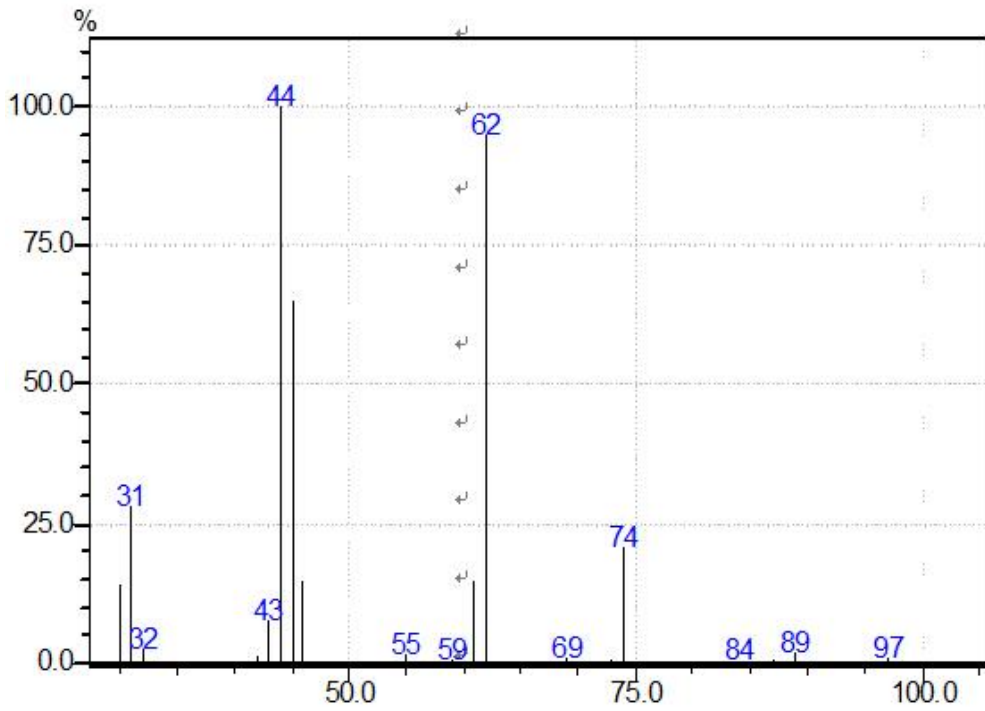


图 2 氨基甲酸乙酯质谱图

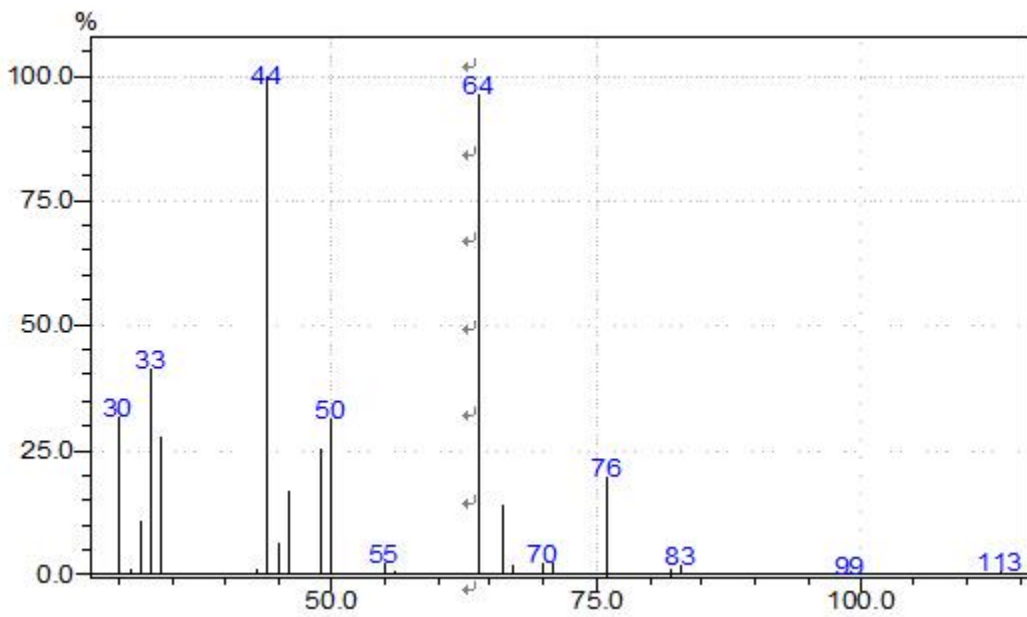


图 3 内标 D5-氨基甲酸乙酯质谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

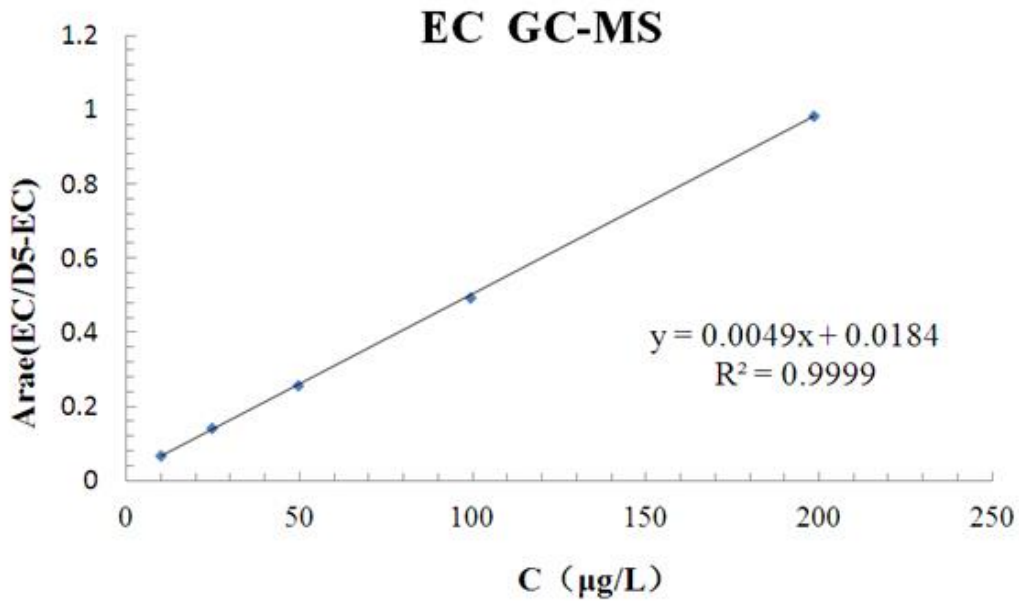
QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



标准曲线



酒样加标的回收率及精密度

表 1 白酒样品加标的回收率及精密度

序号	白酒样品 (mg/L)	加标量 (mg/L)	测定浓度 (mg/L)	回收量 (mg/L)	回收率 (%)	平均回收率(%)	RSD %
1	73.86	100	178.32	104.46	104.5	101.4	2.51
2		100	176.78	102.92	102.9		
3		100	175.64	101.78	101.8		
4		100	173.25	99.39	99.4		
5		100	172.20	98.34	98.3		

表 2 白酒样品日间精密度

测定数据 (mg/L)							平均值	RSD%
60.47	60.79	59.05	63.04	58.15	56.61	59.03	59.13	2.94
58.99	59.75	60.24	57.49	59.77	56.91	57.60		

注：相同的样品，，每天测定 2 次，连续 7 天内测定数据

方法检出限

当试样取 2.00 g 时，本方法氨基甲酸乙酯检出限为 2.0 µg/kg，定量限为 5.0 µg/kg。

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

四、结论

本文采用商品化 Cleanert EC 氨基甲酸酯专用固相柱（碱性硅藻土）前处理结合 DA-INNOWAX 柱进行白酒中氨基甲酸酯的测定,结果表明氨基甲酸酯检出限为 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,回收率在 98.3% ~ 104.5%,完全满足食品安全国家标准 GB5009.223-2014 方法的检测要求。

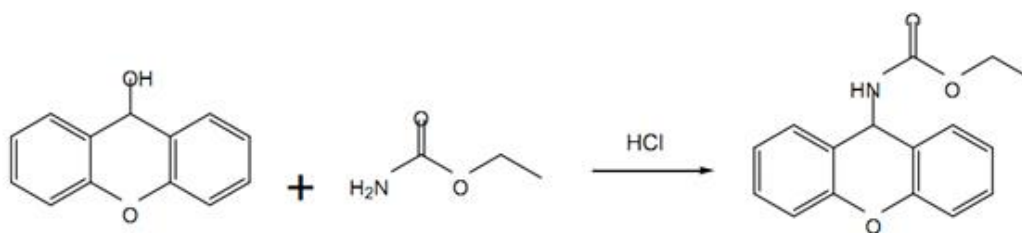
五、订货信息

订货号	产品名称	规格包装
GB50092232014	Cleanert EC (氨基甲酸酯专用固相萃取柱)	20 支/包
2025-3002	DA-INNOWAX 柱	30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm
SPE-40	Qudura 卓睿全自动固相萃取仪	4 通道, 可连续处理 24 个样品
AH230-4	甲醇	4 \times 4 L/箱
AH216-4	正己烷	4 \times 4 L/箱
AH100-4	乙酸乙酯	4 \times 4 L/箱
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	1.5 mL
0915-1819	1.5 mL 样品瓶	与 1.5 mL 样品瓶瓶套
AS041320	PTFE 滤膜	0.22 μm , 直径 13 mm; 200 个/pk

方法二、液相方法-荧光检测法

一、原理

在盐酸中,氨基甲酸酯与 9-羟基吨反应,生成具有荧光特性的衍生物,经色谱柱分离,荧光检测器检测,外标法定量。



二、衍生方法

量取 0.02 mol/L 的 9-羟基吨 500 μL 添加到 1 ml 酒精度调整至 40% 的样品或标样中, 然后加入 100 μL 的 1.5 mol/L HCl 中, 混匀使反应完全, 放暗处衍生至少 60 min, 过 0.45 μm 滤膜, 待测。

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

三、样品前处理方法：同上

四、色谱条件

色谱柱：Venusil MP C18, 4.6 mm*250 mm, 5 μm (P/N: VA952505-0)

流速：0.8 mL/min

柱温：30°C

激发波长：233 nm

发射波长：600 nm

流动相：A：0.02M 乙酸钠 (pH=7.2), B：乙腈，梯度程序如下

时间 (min)	A%	B%
0	70	30
5	50	50
25	25	75
26	10	90
29	10	90
30	70	30
38	70	30

注意事项：

1. 衍生试剂配置完成后，应4°C避光保存（有效期1个月）
2. 在加样时，尽量缩短操作时间，避免衍生试剂见光时间过长分解
3. 该衍生反应需要在暗处进行
4. 衍生时间不得少于30min
5. 流动相pH值要调整准确

五、订货信息

订货号	产品名称	规格包装
GB50092232014	Cleanert EC (氨基甲酸乙酯专用固相萃取柱)	20支/包
VA952505	Venusil MP C18 色谱柱	4.6 mm*250 mm, 5 μm
SPE-40	Qudura 卓睿全自动固相萃取仪	4通道, 可连续处理24个样品
AH230-4	甲醇	4×4 L/箱
AH216-4	正己烷	4×4 L/箱
AH100-4	乙酸乙酯	4×4 L/箱
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	1.5 mL
0915-1819	1.5 mL 样品瓶	与1.5 mL 样品瓶瓶套
AS041320	PTFE 滤膜	0.22 μm, 直径13 mm; 200个/pk

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn



相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST7901	氨基甲酸乙酯	Ethyl carbamate	51-79-6
1ST7901D5	氨基甲酸乙酯-D5	Ethyl carbamate-d5	NA

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

(GB/T 5009.191-2006)酱油中氯丙醇含量的测定 GC/MS 法

案例来源：博纳艾杰尔；应用编号：RF10007

前言

氯丙醇（Chloropropanols）是一种在化学制作豉油的过程中所产生的毒性致癌物，同时具有抑制雄性激素生成的作用，使生殖能力减弱，对人体危害极大。日常比较常见的为以下三种：1-氯-2-丙醇（ $\text{ClCH}_2\text{CHOHCH}_3$ ）；3-氯-1,2-丙二醇（3-MCPD）及 1,3-二氯-2-丙醇（1,3-DCP）。

本文参考《GB/T 5009.191-2006 食品中氯丙醇含量的测定》，进行了酱油中 3-氯-1,2-丙二醇（3-MPCD）的测定，优化改进了用于样品预处理的硅藻土材料，调整活度，成功开发了 Cleanert MCPD 氯丙醇专用柱，结果表明满足实验要求，并大大简化了材料预处理过程，提高工作效率。

仪器及材料

仪器：Agilent GC/MS 7890-5975c；涡旋混合器；超声仪；氮吹仪；恒温箱。

材料：3-氯-1,2-丙二醇（3-MPCD）标准品；乙酸乙酯、丙酮、正己烷为色谱纯；

七氟丁酰基咪唑；无水硫酸钠；超纯水；氯化钠。

固相萃取柱：Cleanert MCPD（氯丙醇专用柱），4 g/30 mL

实验方法

标准溶液配制

准确称取 0.1 g 氯丙醇标准品于 100 mL 容量瓶中，用乙酸乙酯定容到刻度，得到浓度为 1 mg/mL 的储备液。用丙酮将储备液逐渐稀释，得到 1 $\mu\text{g/mL}$ 标准工作液。

饱和氯化钠溶液

称取氯化钠 290 g，加水溶解并稀释至 1000 mL，超声 20 min。

GC/MS 操作条件

色谱柱：DA-5MS 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm

进样口：230°C，不分流进样

程序升温：50°C（1 min）2°C/min 82°C

进样量：1 μL

流速：1 mL/min

接口温度：250°C

电离方式：EI

电离能量：70 eV

溶剂延迟：7 min

离子源：230°C

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn



四级杆：150°C

检测模式：选择离子检测，SIM 离子：253/275/289/291/453

样品处理

称取 2.5 g 酱油直接上样 Cleanert MCPD 固相萃取柱，静置平衡 10 min，用 15 mL 乙酸乙酯洗柱，收集洗脱液。将洗脱液在 35°C 下氮气吹至近干（不可全干）。加入 2 mL 正己烷，摇匀，快速加入 50 μ L 七氟丁酰基咪唑，将样品瓶拧紧，涡旋 20 秒，将样品瓶置于 70°C 恒温箱中反应 30 min，取出冷却至室温，向样品瓶中加入 2 mL 饱和氯化钠溶液，涡旋 1 min，静置 2 min，取上层有机相至另一干净的样品瓶中，重复 1 次洗涤操作以除去杂质。将有机相经少量无水 Na₂SO₄ 除水后转移至进样样品瓶中，待 GC/MS 检测。

实验结果

标准溶液色谱图

在 GC/MS 操作条件下，得到标准溶液色谱图如图 1

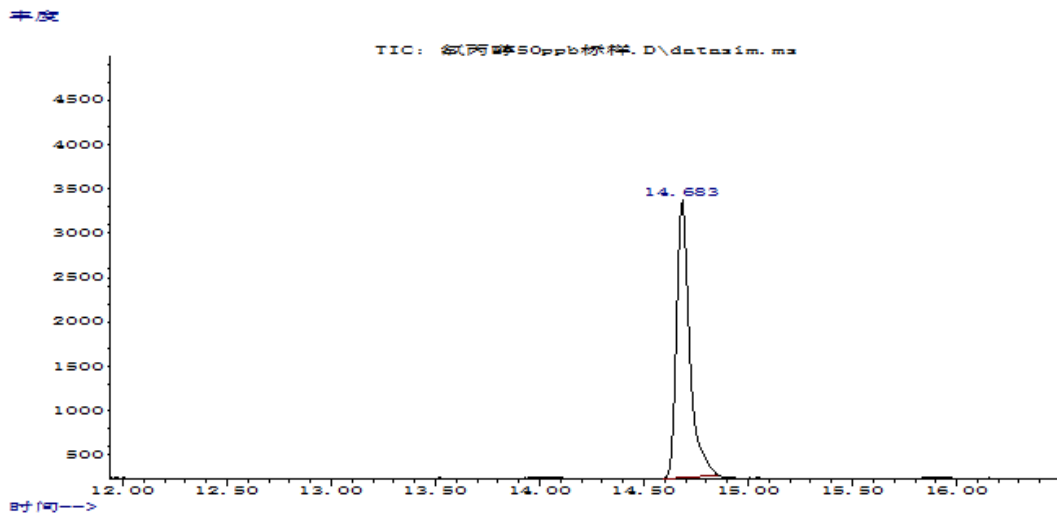


图 1 标准溶液色谱图（浓度为 50 ng/mL）

样品色谱图

准确称取 6 份酱油，其中 5 份分别加入浓度为 1 μ g/mL 的标准溶液 0.1 mL，按照上述样品处理方法，将 6 份样品进行净化衍生，得到酱油样品加标色谱图及酱油样品色谱图如图 2、图 3。

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

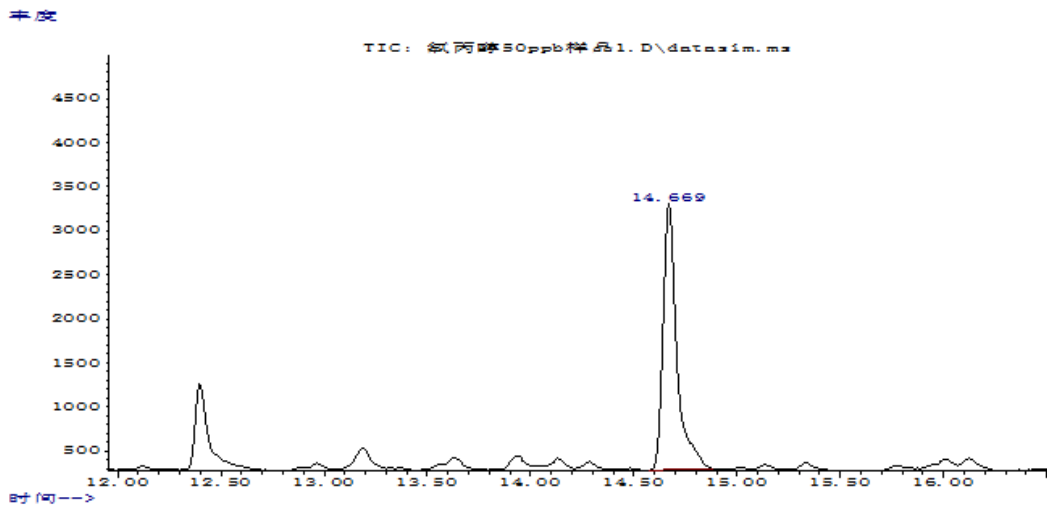


图2 酱油样品加标色谱图（浓度为 50 ng/mL）

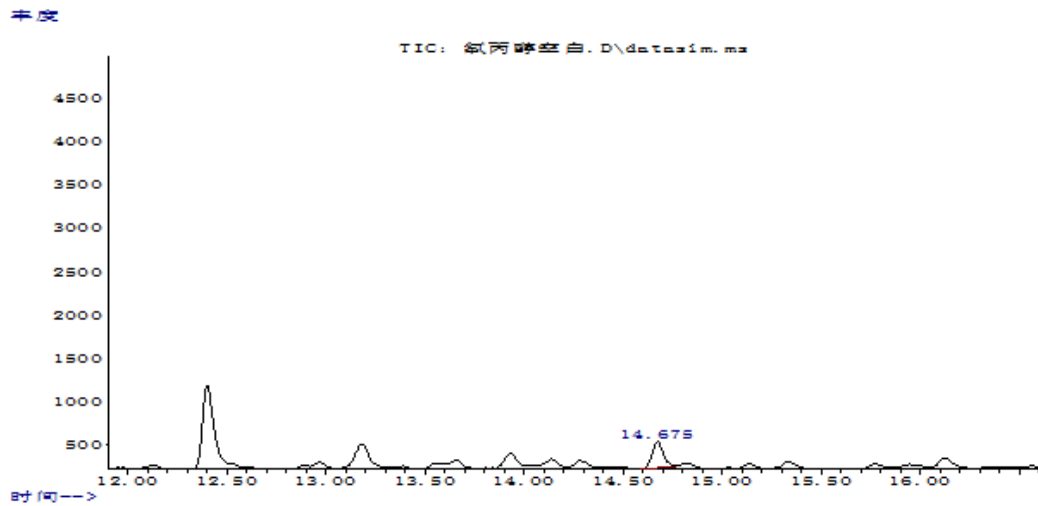


图3 酱油样品色谱图

加标回收率及精密度

表1 加标回收率及精密度

	1#	2#	3#	4#	5#	平均回收率 (%)	RSD (%) n=5
回收率 (%)	88.0	83.9	90.5	83.6	92.1	87.60	3.84

结论

实验结果表明, Cleanert® MCPD 氯丙醇专用柱适用于酱油中氯丙醇的预处理, 能净化酱油样品, 实验加标回收率及 RSD 能满足定量实验的要求。本实验方案与国标方法相比更

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

简便，使用的化学试剂量仅为国标方法的 1/20，有利于操作人员的身体健康及环境；实验时间较国标方法短，更加适合于大批量酱油样品的前处理。

相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST000182	氯丙醇	1-Chloro-2-propanol	127-00-4

订货信息

订货号	产品名称	规格包装
VM12	12 位负压 SPE 装置	12 位
LBC400030	Cleanert® MCPD 氯丙醇专用固相萃取柱	4 g/30 mL, 15 支/pk
1525-3002	DA-5MS 气相色谱柱	30 m × 0.25 mm × 0.25 μm
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写 32 × 11.6 mm, 100/pk
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫, 45. Shore A1.0 mm, 100/pk
AH100-4	乙酸乙酯	4 × 4 L/箱
AH216-4	正己烷	4 × 4 L/箱

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

烤鱼中 5 种杂环胺类物质的分析方法

案例来源: 博纳艾杰尔; 应用编号: AF10163

应用简介

本实验重现了 GB5009.243-2016 烤鱼中杂环胺类物质的测定, 采用 Cleanert® PS 小柱结合液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)对烤鱼中的 5 种杂环胺类物质进行了测定。样品经 40 g/L 氢氧化钠: 甲醇=70: 30 (V/V) 溶液均质提取, Cleanert® PS 小柱净化, 以 0.1% 甲酸水溶液和 0.1% 甲酸乙腈为流动相进行梯度洗脱, LC-MS/MS 进行检测, 外标法定量。结果表明, 当加标量为 0.01 mg/kg 时, 回收率在 65% ~ 95% 之间, 能够满足检测要求。

前言

70 年代末, 人们发现从烤鱼或烤肉提取的化合物具有致突变性, 对烤鱼中主要致突变物的研究表明, 这类物质主要是复杂的杂环胺类化合物(Heterocyclic amine)。长期实验表明, 杂环胺在代谢活化系统中具有较强致突变性, 并能引发啮齿动物以及灵长类动物肝脏、乳腺、结肠等多种靶器官产生肿瘤。与其他致癌物相比, 杂环胺的毒性较强。

实验部分

仪器、试剂与材料

主要仪器设备

AB SCEIX API 4000+液相色谱串联质谱仪。

试剂材料

甲醇、乙腈、乙醇、正己烷、二氯甲烷均为色谱纯;

氢氧化钠为分析纯; 实验用水为超纯水;

5 种杂环胺类物质混合标准工作溶液: MeIQ、MeIQx、4, 8-DiMeIQx、7, 8-DiMeIQx、PhIP:
乙腈溶解;

基质混合标准工作溶液

取高浓度 5 种杂环胺类混合标准溶液, 用空白样品基质溶液稀释成 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 的基质混合标准工作溶液。

Cleanert® PS 固相萃取小柱: 200 mg/3 mL。

样品制备

样品提取

称取烤鱼试样 2 g 置于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 40 g/L 氢氧化钠: 甲醇=70: 30 (V/V) 混合溶液, 均质 1 min。均质器刀头分别用 5 mL 上述溶液各洗涤两次, 洗涤液合并至样品提取离心管中。提取液在 10000 r/min 条件下离心 10 min, 待净化。

样品净化

将 Cleanert® PS 小柱依次用 2 mL 甲醇、3 mL 4 g/L 氢氧化钠溶液活化平衡。量取 10 mL

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



提取液加入固相萃取主中, 弃去流出液后, 依次用 3 mL 4 g/L 氢氧化钠: 甲醇=45:55(V/V) 混合溶液、2 mL 正己烷淋洗, 每次淋洗完后都需将柱体内淋洗溶液抽干, 最后用 3 mL 乙醇: 二氯甲烷=10:90(V/V) 混合溶液洗脱, 洗脱流速小于 1 mL/min。洗脱液于氮气浓缩至近干后, 加入 1 mL 的 10% 乙腈水溶液复溶, 涡旋混匀, 过 0.22 μm Nylon 针式过滤器, 待检测。

以上净化步骤可用卓睿全自动固相萃取仪完成。

实验条件

色谱条件

色谱柱: Venusil MP C18, 3 μm, 100 Å, 3.0 × 50 mm;

流动相 A: 0.1% 甲酸水溶液;

流动相 B: 0.1% 甲酸乙腈溶液;

柱温: 40°C;

进样量: 5 μL。

梯度洗脱条件(见表 1)

表 1. 液相色谱梯度洗脱条件

时间/min	流速/(mL/min)	A%	B%
0.0	0.2	90	10
0.5	0.2	90	10
5	0.2	95	5
7	0.2	95	5
7.01	0.2	90	10
17	0.2	90	10

质谱条件

离子源: ESI+; 电喷雾电压: 5500 V; 雾化气压力: 50 psi; 气帘气压力: 25 psi; 辅助气压力: 50 psi; 离子源温度: 500°C; 采集方式: 多反应监测(MRM)。

表 2.5 种杂环胺类物质质谱参数

物质名称	Q1	Q3	DP/V	CE/V
MeIQ	213.1	197.9	103	36.9
		198.7		36.3
MeIQx	214.0	198.8	98	37.0
		130.8		52.3
4, 8-DiMeIQx	228.0	213.0	109	35.2
		159.6		40.2
7, 8-DiMeIQx	228.0	213.1	97	36.2

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

		130.9		52.2
PhIP	225.2	210.0	102	40.1
		182.9		51.6

注：“下划线”为定量离子。

结果与讨论

由表 3 可知，采用 SPE 结合 LC-MS/MS 的方法检测烤鱼中 5 种杂环胺类物质，加标回收率在 65%~95% 之间，且变异系数小于 10%，能够满足检测要求。由图 1~ 图 4 可知，用 Venusil MP C18 色谱柱检测 5 种杂环胺类，峰形良好，且保留时间稳定。

表 3. 烤鱼中 5 种杂环胺类物质加标回收实验结果(添加水平 0.01 mg/kg)

物质名称	保留时间/min	平均回收率/%	CV%
MeIQ	1.74	93.5	1.4
MeIQx	3.98	66.1	3.8
4, 8-DiMeIQx	6.04	82.7	3.1
7, 8-DiMeIQx	6.04	80.7	5.9
PhIP	6.57	72.4	3.0

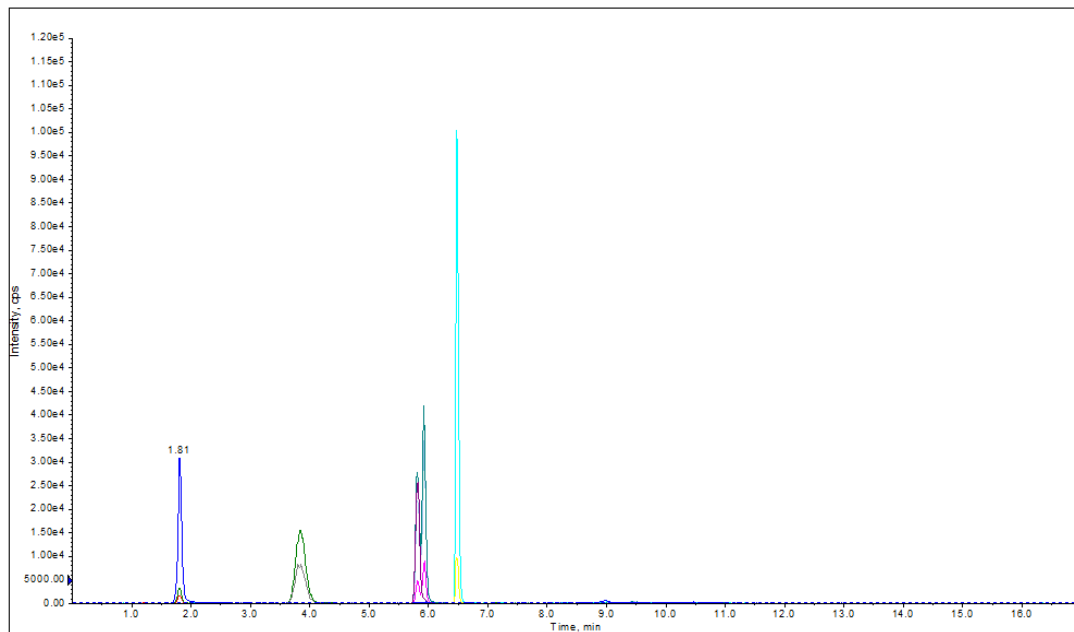


图 1. 0.01 µg/mL 杂环胺类混合标准溶液 LC-MS/MS 色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

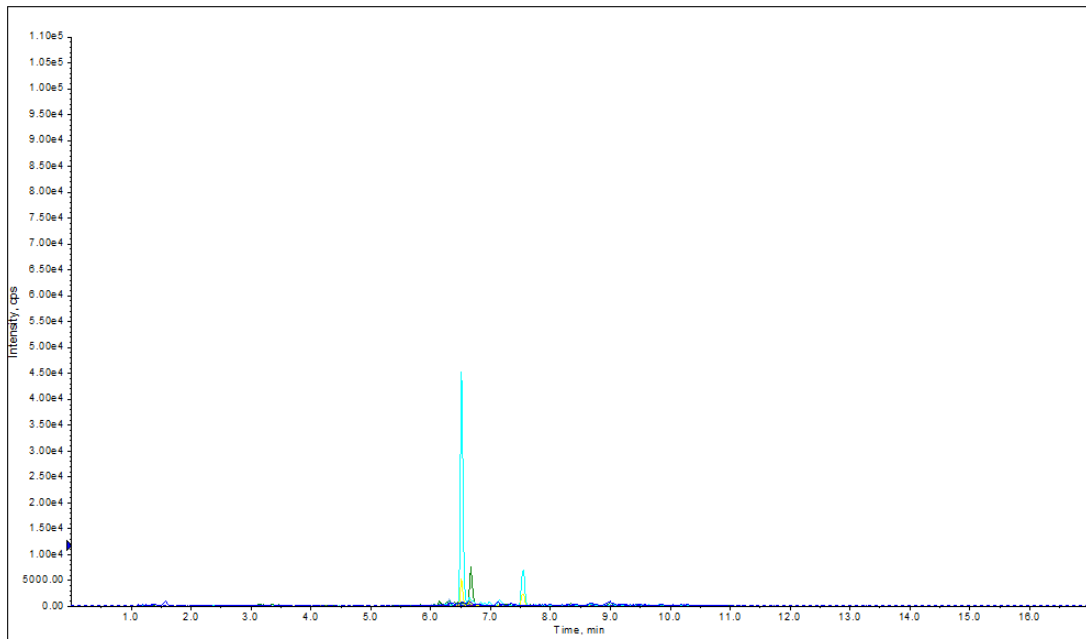


图 2.烤鱼样品空白 LC-MS/MS 色谱图

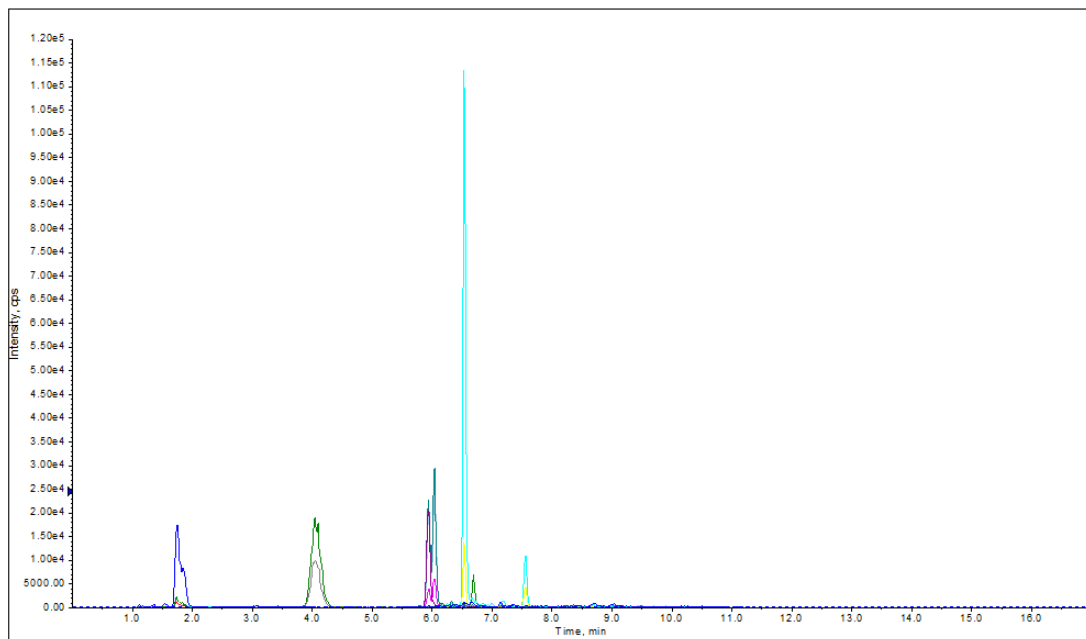


图 3. 0.01 µg/mL 烤鱼基质混合标准溶液 LC-MS/MS 色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

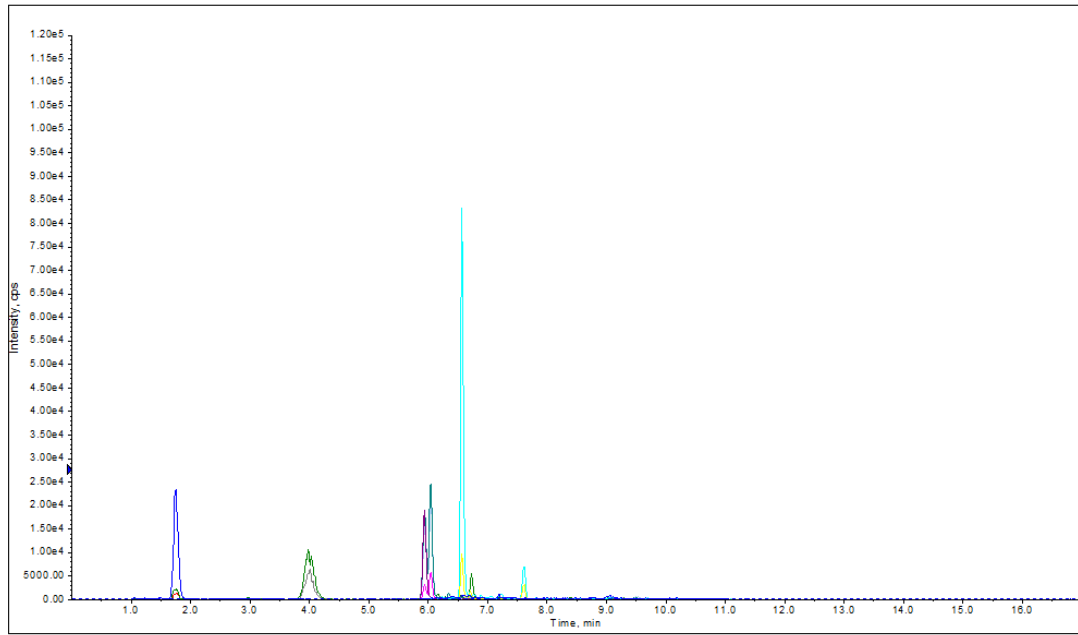


图 4. 0.01 mg/kg 烤鱼基质加标 LC-MS/MS 色谱图

结论

本实验重现了 GB5009.243-2016 烤鱼中杂环胺类物质的前处理方法,并结合 LC-MS/MS 对样品进行了检测。结果表明,对于加标量为 0.01 mg/kg 的烤鱼样品,加标回收率在 65% ~ 95%之间,满足检测要求,且变异系数小于 10%,稳定性良好。说明该方法适用于烤鱼中 5 种杂环胺类物质的同时检测。

相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST001269	2-氨基-3,4-二甲基咪唑并 [4,5-f]喹啉	MeIQ	77094-11-2
1ST001270	2-氨基-3,8-二甲基咪唑并 [4,5-f]喹啉	MeIQx	77500-04-0
1ST001271	2-氨基-3,4,8-三甲基咪唑并 [4,5-f]喹啉	4,8-DiMeIQx	95896-78-9
1ST001272	2-氨基-3,7,8-三甲基咪唑并 [4,5-f]喹啉	7,8-DiMeIQx	92180-79-5
1ST001263	2-氨基-1-甲基-6-苯基咪唑 [4,5-b]吡啶	PhIP(2-Amino-1-methyl-6- phenylimidazo[4,5-b]pyridine)	105650-23-5

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

附：相关产品

订货号	产品名称	规格描述	包装数量
PS2003	Cleanert® PS	200 mg/3 mL	30 支/包
VM12	12 位固相萃取真空装置	12 位	1 台
SPE-40	卓睿全自动固相萃取仪	4 通道, 24 位	1 台
VA930503-0	Venusil MP C18	3 μm , 100 \AA , 3.0 \times 50 mm	1 支
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写处 32 \times 11.6 mm	100/pk
NV15-G	氮吹仪	15 位	1 台
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫 45°Shore A; 1.0 mm	100/pk
AS021320	尼龙针式过滤器	单膜, 13 mm, 0.22 μm	200 个/包
LZSQ-2ML	一次性注射器	2 mL 无针头	100 支/包

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

烤肉中 5 种杂环胺类物质的分析方法

案例来源: 博纳艾杰尔; 应用编号: AF10164

应用简介

本实验重现了 GB5009.243-2016 烤肉中杂环胺类物质的测定, 采用 Cleanert® PS 小柱结合液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)对烤肉中的 5 种杂环胺类物质进行了测定。样品经 40 g/L 氢氧化钠: 甲醇=70: 30 (V/V) 溶液均质提取, Cleanert® PS 小柱净化, 以 0.1% 甲酸水溶液和 0.1% 甲酸乙腈为流动相进行梯度洗脱, LC-MS/MS 进行检测, 外标法定量。结果表明, 当加标量为 0.01 mg/kg 时, 回收率在 80% ~ 110% 之间, 能够满足检测要求。

前言

70 年代末, 人们发现从烤肉或烤肉提取的化合物具有致突变性, 对烤肉中主要致突变物的研究表明, 这类物质主要是复杂的杂环胺类化合物(Heterocyclic amine)。长期实验表明, 杂环胺在代谢活化系统中具有较强致突变性, 并能引发啮齿动物以及灵长类动物肝脏、乳腺、结肠等多种靶器官产生肿瘤。与其他致癌物相比, 杂环胺的毒性较强。

实验部分

仪器、试剂与材料

主要仪器设备

AB SCEIX API 4000+液相色谱串联质谱仪。

试剂材料

甲醇、乙腈、乙醇、正己烷、二氯甲烷均为色谱纯; 氢氧化钠为分析纯; 实验用水为超纯水; 5 种杂环胺类物质混合标准工作溶液: MeIQ、MeIQx、4, 8-DiMeIQx、7, 8-DiMeIQx、PhIP; 乙腈溶解;

基质混合标准工作溶液

取高浓度 5 种杂环胺类混合标准溶液, 用空白样品基质溶液稀释成 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 的基质混合标准工作溶液。

Cleanert® PS 固相萃取小柱: 200 mg/3 mL。

样品制备

样品提取

称取烤肉试样 2 g 置于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 40 g/L 氢氧化钠: 甲醇=70: 30 (V/V) 混合溶液, 均质 1 min。均质器刀头分别用 5 mL 上述溶液各洗涤两次, 洗涤液合并至样品提取离心管中。提取液在 10000 r/min 条件下离心 10 min, 待净化。

样品净化

将 Cleanert® PS 小柱依次用 2 mL 甲醇、3 mL 4 g/L 氢氧化钠溶液活化平衡。量取 10 mL 提取液加入固相萃取主中, 弃去流出液后, 依次用 3 mL 4 g/L 氢氧化钠: 甲醇=45: 55(V/V)

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

混合溶液、2 mL 正己烷淋洗，每次淋洗完后都需将柱体内淋洗溶液抽干，最后用 3 mL 乙醇：二氯甲烷=10：90（V/V）混合溶液洗脱，洗脱流速小于 1 mL/min。洗脱液于氮气浓缩至近干后，加入 1 mL 的 10% 乙腈水溶液复溶，涡旋混匀，过 0.22 μm Nylon 针式过滤器，待检测。

以上净化步骤可用卓睿全自动固相萃取仪完成。

实验条件

色谱条件

色谱柱：Venusil MP C18，3 μm，100 Å，3.0 × 50 mm；

流动相 A：0.1% 甲酸水溶液；

流动相 B：0.1% 甲酸乙腈溶液；

柱温：40°C；

进样量：5 μL。

梯度洗脱条件(见表 1)

表 1. 液相色谱梯度洗脱条件

时间/min	流速/(mL/min)	A%	B%
0.0	0.2	90	10
0.5	0.2	90	10
5	0.2	95	5
7	0.2	95	5
7.01	0.2	90	10
17	0.2	90	10

质谱条件

离子源：ESI+；电喷雾电压：5500 V；雾化气压力：50 psi；气帘气压力：25 psi；辅助气压力：50 psi；离子源温度：500°C；采集方式：多反应监测(MRM)。

表 2.5 种杂环胺类物质质谱参数

物质名称	Q1	Q3	DP/V	CE/V
MeIQ	213.1	197.9	103	36.9
		198.7		36.3
MeIQx	214.0	198.8	98	37.0
		130.8		52.3
4, 8-DiMeIQx	228.0	213.0	109	35.2
		159.6		40.2
7, 8-DiMeIQx	228.0	213.1	97	36.2
		130.9		52.2

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn



PhIP	225.2	210.0	102	40.1
		182.9		51.6

注：“下划线”为定量离子。

结果与讨论

由表 3 可知，采用 SPE 结合 LC-MS/MS 的方法检测烤肉中 5 种杂环胺类物质，加标回收率在 80% ~ 110% 之间，且变异系数小于 16%，能够满足检测要求。由图 1 ~ 图 4 可知，用 Venusil MP C18 色谱柱检测 5 种杂环胺类，峰形良好，且保留时间稳定。

表 3. 烤肉中 5 种杂环胺类物质加标回收实验结果(添加水平 0.01 mg/kg)

物质名称	保留时间/min	平均回收率/%	CV%
MeIQ	1.90	109.3	8.9
MeIQx	4.63	89.9	14.6
4, 8-DiMeIQx	6.27	101.6	8.3
7, 8-DiMeIQx	6.28	101.9	8.9
PhIP	6.71	81.9	15.9

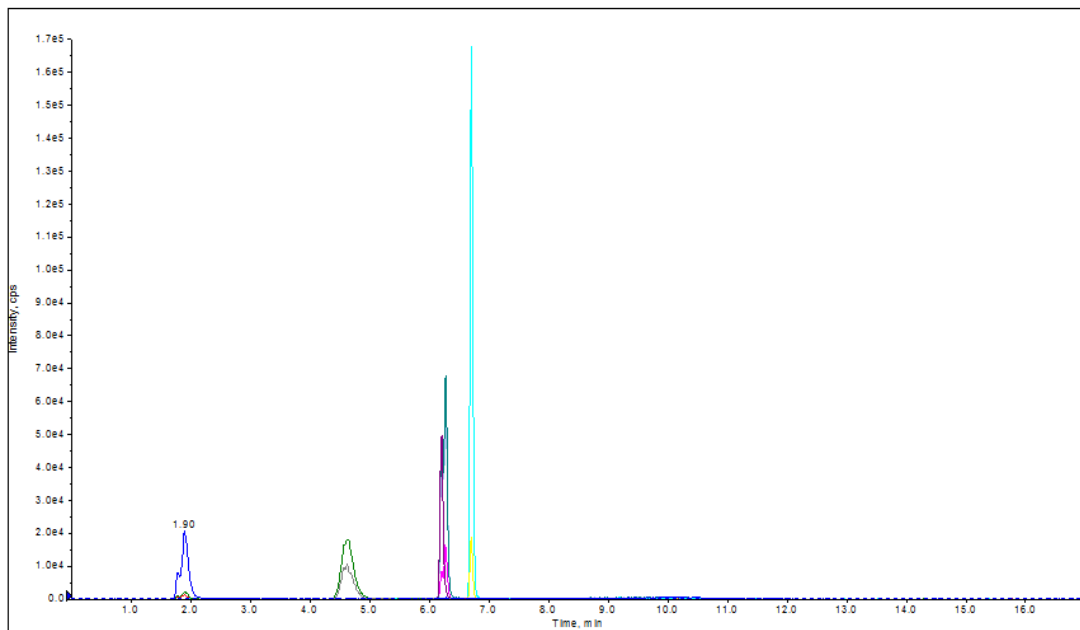


图 1. 0.01 µg/mL 杂环胺类混合标准溶液 LC-MS/MS 色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

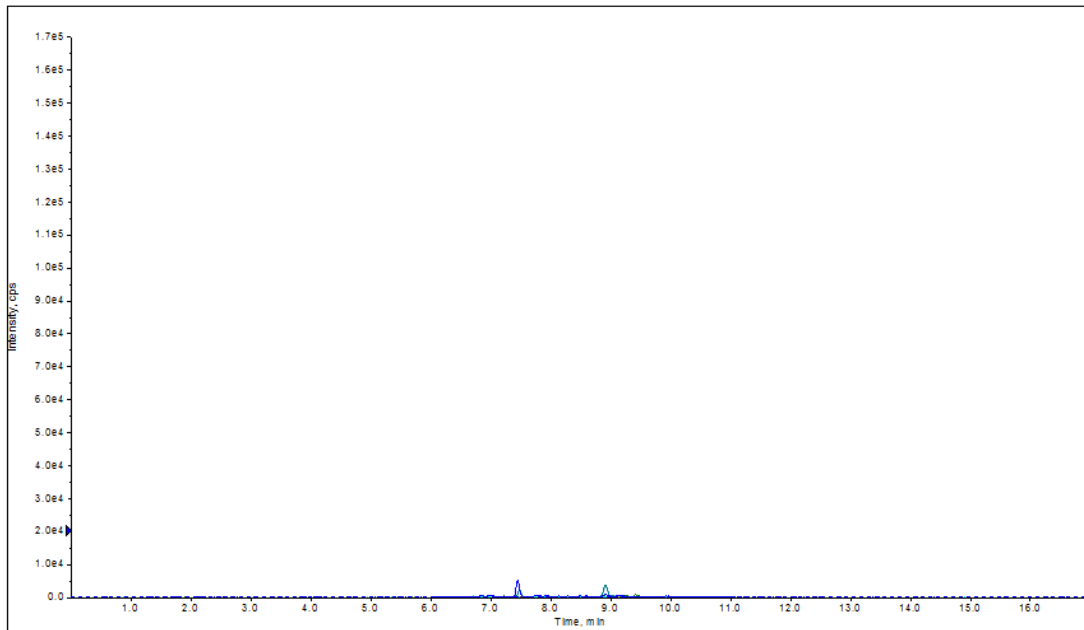


图 2. 烤肉样品空白 LC-MS/MS 色谱图

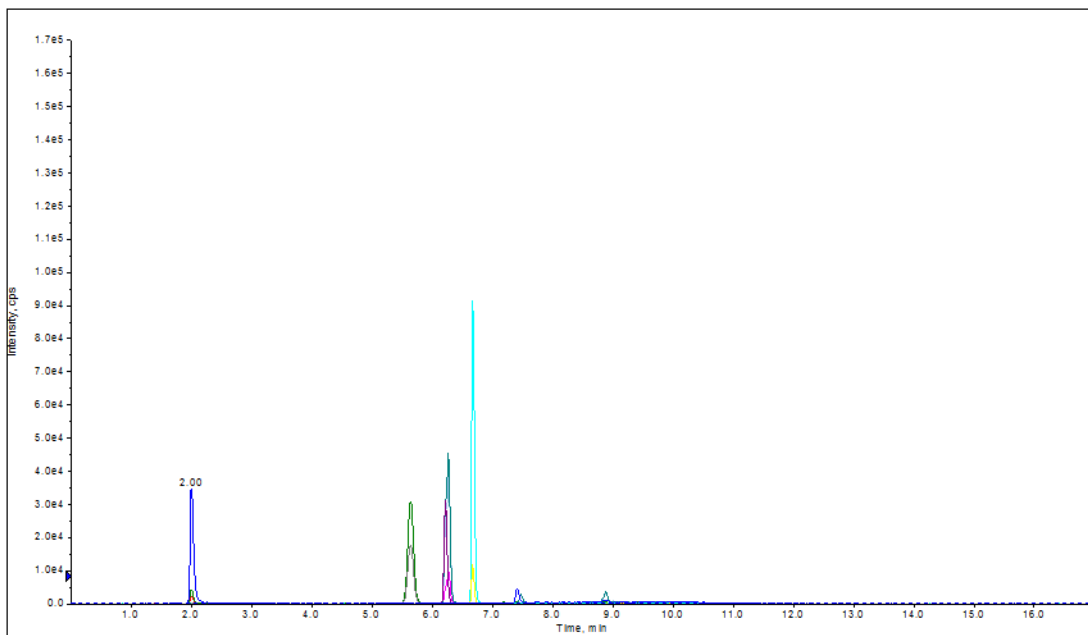


图 3. 0.01 µg/mL 烤肉基质混合标准溶液 LC-MS/MS 色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

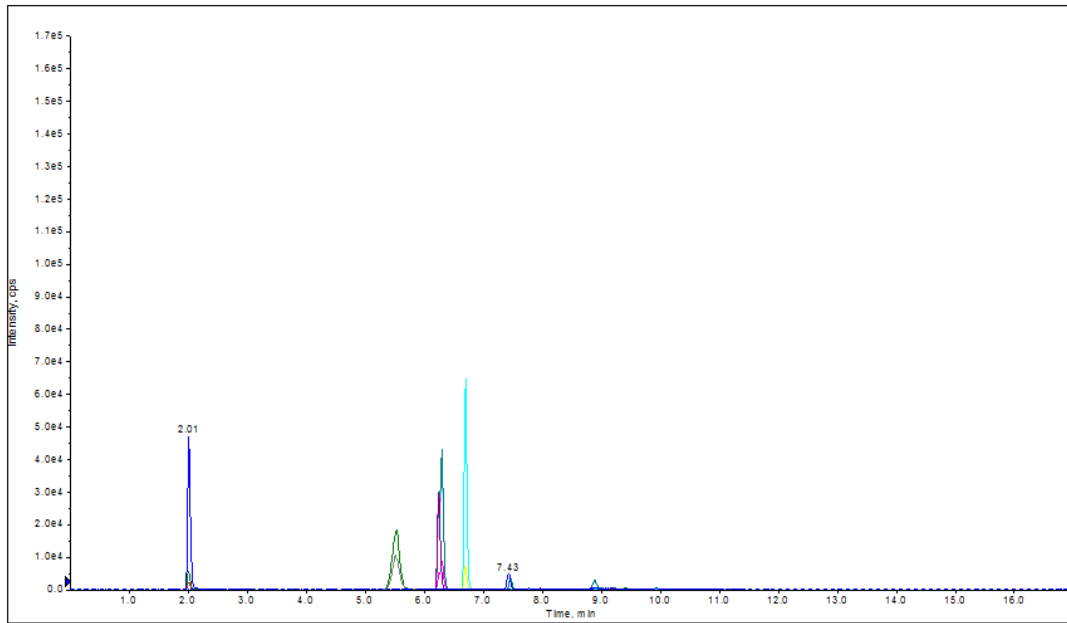


图 4. 0.01 mg/kg 烤肉基质加标 LC-MS/MS 色谱图

结论

本实验重现了 GB5009.243-2016 烤肉中杂环胺类物质的前处理方法,并结合 LC-MS/MS 对样品进行了检测。结果表明,对于加标量为 0.01 mg/kg 的烤肉样品,加标回收率在 80% ~ 110%之间,满足检测要求,且变异系数小于 16%,稳定性良好。说明该方法适用于烤肉中 5 种杂环胺类物质的同时检测。

相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST001269	2-氨基-3,4-二甲基咪唑并 [4,5-f]喹啉	MeIQ	77094-11-2
1ST001270	2-氨基-3,8-二甲基咪唑并 [4,5-f]喹啉	MeIQx	77500-04-0
1ST001271	2-氨基-3,4,8-三甲基咪唑并 [4,5-f]喹啉	4,8-DiMeIQx	95896-78-9
1ST001272	2-氨基-3,7,8-三甲基咪唑并 [4,5-f]喹啉	7,8-DiMeIQx	92180-79-5
1ST001263	2-氨基-1-甲基-6-苯基咪唑 [4,5-b]吡啶	PhIP(2-Amino-1-methyl-6- phenylimidazo[4,5-b]pyridine)	105650-23-5

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



附：相关产品

订货号	产品名称	规格描述	包装数量
PS2003	Cleanert® PS	200 mg/3 mL	30 支/包
VM12	12 位固相萃取真空装置	12 位	1 台
SPE-40	卓睿全自动固相萃取仪	4 通道, 24 位	1 台
VA930503-0	Venusil MP C18	3 μm , 100 \AA , 3.0 \times 50 mm	1 支
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写处 32 \times 11.6 mm	100/pk
NV15-G	氮吹仪	15 位	1 台
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫 45°Shore A; 1.0 mm	100/pk
AS021320	尼龙针式过滤器	单膜, 13 mm, 0.22 μm	200 个/包
LZSQ-2ML	一次性注射器	2 mL 无针头	100 支/包

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

酱油中 3-氯-1,2-丙二醇的分析方法

案例来源: 博纳艾杰尔; 应用编号: AF10158

应用简介

本实验重现了 GB5009.191-2016 食品中氯丙醇的国家标准, 采用 Cleanert MCPD 氯丙醇专用固相萃取柱结合气相色谱串联质谱的方法(GC-MS)对酱油中的 3-氯-1,2-丙二醇 (3-MCPD) 进行了测定。样品经氯丙醇专用小柱净化, GC-MS 进行检测, 内标法定量。结果表明, 当加标量为 0.02 mg/kg 时, 回收率在 90% 以上, 能够满足检测要求。

前言

氯丙醇是丙三醇上的羟基被氯取代所产生的一类化合物, 包括单氯丙二醇: 3-氯-1,2-丙二醇(简称 3-氯丙醇, 3-MCPD), 2-氯-1,3-丙二醇(2-MCPD)和双氯丙醇: 1,3-二氯-2-丙醇(1,3-DCP), 2,3-二氯-1-丙醇(2,3-DCP)。在氯丙醇系列化合物中, 污染食品的主要成分是 3-MCPD。如果在生产酱油中用了添加盐酸的方法来加速生产, 这会导致产品中氯丙醇含量偏高, 对人体有害, 会影响人的健康。

本文通过重现国标, 建立了酱油中 3-MCPD 的前处理方法, 该方法简便且稳定性较好。

实验部分

仪器、试剂与材料

主要仪器设备

气相色谱串联质谱仪

试剂材料

正己烷、乙酸乙酯为色谱纯; 氯化钠、无水硫酸钠均为分析纯;

七氟丁酰基咪唑衍生剂;

3-MCPD 标准品 (纯度 99%): 乙酸乙酯溶解;

D5-3-MCPD 内标溶液: 乙酸乙酯溶解;

Cleanert MCPD: 最大上样量 5 mL。

样品制备

样品提取

称取酱油样品 4 g 于 50 mL 离心管中, 加入 0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 D5-3-MCPD 内标 40 μL , 超声 5 min 混匀, 待净化。

样品净化

将上述待净化液上样于 Cleanert MCPD 氯丙醇专用柱上, 平衡 10 min。用 10 mL 正己烷淋洗, 弃去流出液, 抽干小柱。再用 15 mL 乙酸乙酯洗脱, 收集洗脱液于 30°C 氮吹至约 0.5 mL, 用正己烷定容至 2 mL, 待衍生化。

衍生化

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



向上述的待衍生化溶液中加入 0.04 mL 的七氟丁酰基咪唑，立即密塞，涡旋混合 30 s，于 70°C 保温 20 min。取出冷却至室温，加入 2 mL 20% 氯化钠溶液，涡旋混合 1 min，静置分层，且水相澄清。转移上层正己烷层，加入约 0.3 g 的无水硫酸钠进行除水，转移上清液至样品瓶中，待检测。

实验条件

色谱柱：DA-5MS 色谱柱，30 m × 0.25 mm × 0.25 μm；

进样口温度：250°C；柱温：初始温度 50°C，保持 1 min，以 2°C/min 升至 90°C，再以 40°C/min 升至 270°C 保持 5 min；

载气：氦气，纯度 ≥ 99.999%；

流速：1 mL/min；

电离方式：EI 源；

离子源温度：250°C；

溶剂延迟：5 min；

进样方式：不分流进样；

样量：1 μL；

监测方式：选择离子扫描（SIM）。

表 1. 16 种邻苯二甲酸酯监测离子参数

物质名称	定性离子 (m/z)	定量离子 (m/z)
3-MCPD 衍生物	275、289、291	253

结果与讨论

实验结果

由表 2 可知，采用固相萃取结合 GC-MS 的方法检测酱油中的 3-MCPD，加标回收率在 90% 以上，能够满足标准要求。由图 1、图 2、图 3 可知，用 DA-5MS 色谱柱检测 3-MCPD，峰型和保留时间与国标差距不大。

表 2. 酱油中 3-MCPD 加标回收实验结果(添加水平 0.02 mg/kg, n=3)

物质名称	保留时间/min	平均回收率/%	变异系数/%
3-MCPD 衍生物	14.990	91.0	3.9

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

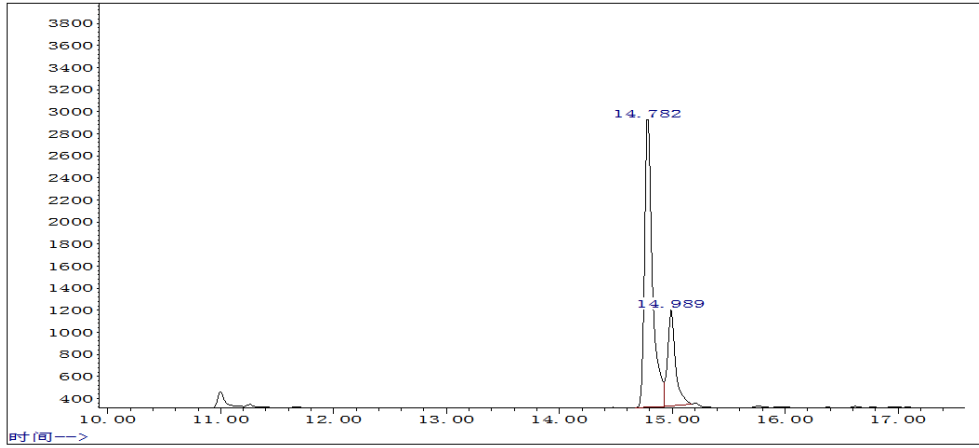


图 1. 0.04 µg/mL 3-MCPD 衍生物与内标衍生物标准溶液色谱图

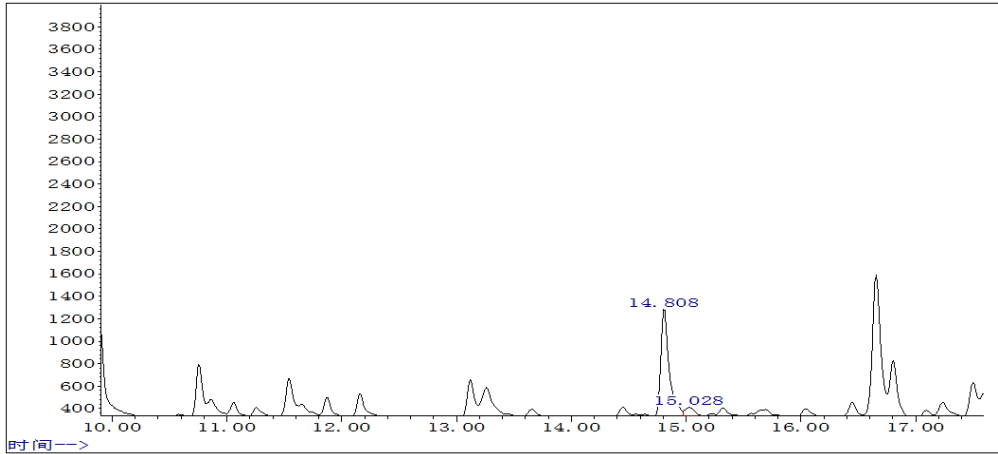


图 2. 酱油基质空白色谱图

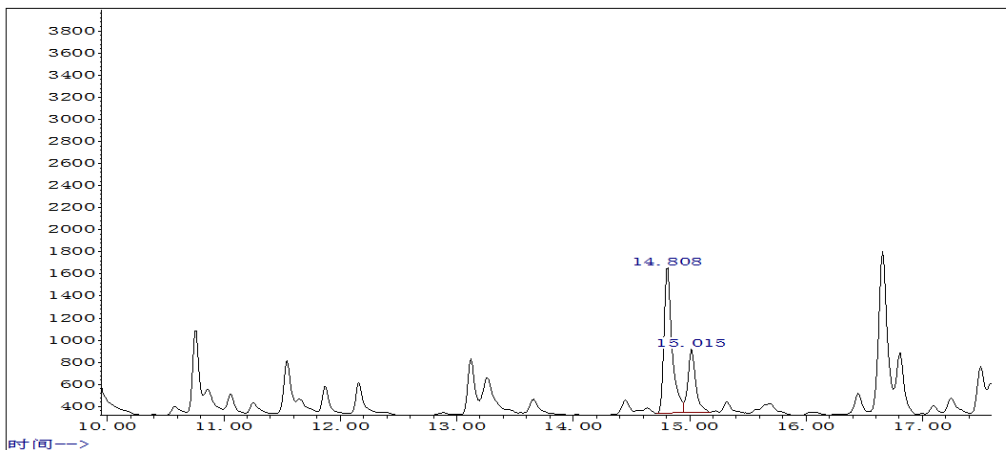


图 3. 酱油基质 0.02 mg/kg 加标色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

结论

本实验重现 GB5009.191-2016 食品中氯丙醇测定的国家标准, 用 Cleanert MCPD 小柱结合气相色谱串联质谱的方法对酱油中的 3-MCPD 进行了测定。对于加标量为 0.02 mg/kg 的样品, 加标回收率在 91.0%, 符合检测要求, 且变异系数小于 10%, 稳定性良好。说明 Cleanert MCPD 小柱能够用于酱油中 3-MCPD 的检测。

相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST7911	3-氯-1,2-丙二醇	3-Chloro-1,2-propanediol	96-24-2
1ST7911D5	D5-3-氯-1,2-丙二醇	D5-3-MCPD	342611-01-2

附：相关产品

订货号	产品名称	规格描述	包装数量
LBC500030	Cleanert MCPD	最大上样量 5 mL	15 支/包
1525-3002	DA-5MS	30 m × 0.25 mm × 0.25 μm	1 支
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写处 32× 11.6 mm	100/pk
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫 45°Shore A; 1.0 mm	100/pk
NV15-G	氮吹仪	15 位	1 台

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

香油中苯并芘残留量的分析方法

案例来源: 博纳艾杰尔; 应用编号: AF10098

应用简介

本实验采用固相萃取结合高效液相色谱串联荧光检测器 (SPE-HPLC) 的方法, 建立了香油中苯并芘残留量的检测方法。香油经正己烷溶解, Cleanert Silica 和 Cleanert BAP-3 固相萃取柱净化, Venusil ASB C18 色谱柱 (4.6 × 250 mm, 5 μm, 150 Å) 分离, 水和乙腈为流动相进行等度洗脱, 外标法进行定量。结果表明, 苯并芘添加量为 0.1 mg/kg 时, 回收率在 80% ~ 100% 之间, 能够满足检测要求。

前言

苯并芘又称苯并 (α) 芘, 英文缩写 BaP, 是一种常见的高活性间接致癌物和突变原。BaP 存在于煤焦油、各类炭黑和煤、及焦化、炼油, 沥青、塑料等工业污水中。肉和鱼中的 BaP 含量取决于烹调方法, 水果、蔬菜和粮食中的 BaP 含量取决于其来源。主要来自洗刷大气的雨水水中的 BaP 以吸附于某些颗粒上、溶解于水中呈胶体状态等三种形式存在, 其中大部分吸附在颗粒物上。BaP 被认为是高活性致癌剂, 但并非直接致癌物, 必须经细胞微粒体中的混合功能氧化酶激活才具有致癌性。BaP 不仅广泛存在于环境中, 而且与其它多环芳烃的含量不相关, 长期生活在含 BaP 的空气环境中会造成慢性中毒。许多国家的动物实验证明, BaP 具有致癌、致畸、致突变性。危险特性, 遇明火、高热可燃。受高热分解放出有毒的气体因此通过有效的实验技术手段, 对香油中的有关苯并芘残留进行监控, 以确保消费者对食品消费的安全具有重要意义。

本实验通过优化前处理方法建立了苯并芘在香油中的高效液相色谱方法。

实验部分

仪器、试剂与材料

主要仪器设备

高效液相色谱仪 (配荧光检测器)

试剂材料

正己烷、二氯甲烷、乙腈均为色谱纯;

实验用水为超纯水;

苯并芘标准品 (纯度 99%);

一次性无菌注射器;

针式过滤器 PTFE(0.22 μm, 直径 13 mm);

Cleanert Silica 固相萃取柱柱: 500 mg/6 mL (货号: SI5006);

Cleanert BAP-3 固相萃取柱柱: 500 mg/6 mL (货号: Bap5006)

样品制备

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

样品处理

称取香油 0.5 g，置于 12 mL 样品瓶中，加入 3 mL 正己烷，涡旋震荡溶解，作为待净化液。

样品净化

取 Cleanert BAP-3 萃取柱(500 mg/6 mL)，需在柱上串联一只 Cleanert Silica 固相萃取柱，依次用 5 mL 二氯甲烷，5 mL 正己烷活化小柱；将上述待净化液上样到小柱上，然后用 2 mL 正己烷润洗样品瓶，将润洗液也上样到柱上，先用 5 mL 正己烷淋洗串联柱，待溶液完全滴至 Cleanert BAP-3 上，将 Silica 硅胶柱弃去，再用 5 mL 正己烷淋洗 Cleanert BAP-3 柱，弃去淋洗液；最后用 5 mL 二氯甲烷洗脱，收集；40°C 氮气吹干洗脱液，用 1 mL 乙腈溶解定容，超声 10 s，过 0.22 μ m PTFE 滤膜后进 HPLC 检测。

实验条件

液相条件

色谱柱：Venusil ASB C18，5 μ m，150 \AA ，4.6 \times 250 mm

流动相：水：乙腈= 12：88

柱温：30°C

进样量：20 μ L

流速：1.0 mL/min

发射波长：406 nm；激发波长：384 nm

结果与讨论

由表 1 可知，采用固相萃取结合高效液相色谱法检测苯并芘的加标回收率在 80% ~100% 之间，CV 值小于 10%，能够满足检测要求。由图可看出经 Cleanert Silica 串联 Cleanert BAP-3 专用柱净化，采用 Venusil ASB C18 色谱柱检测得到的苯并芘峰形良好，且保留时间稳定。

实验结果

表 1. 香油中苯并芘实验结果

物质名称	加标量/(mg/kg)	平均回收率/%	CV/%	RT/min
苯并芘	0.1	90.2	2.2	8.41

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

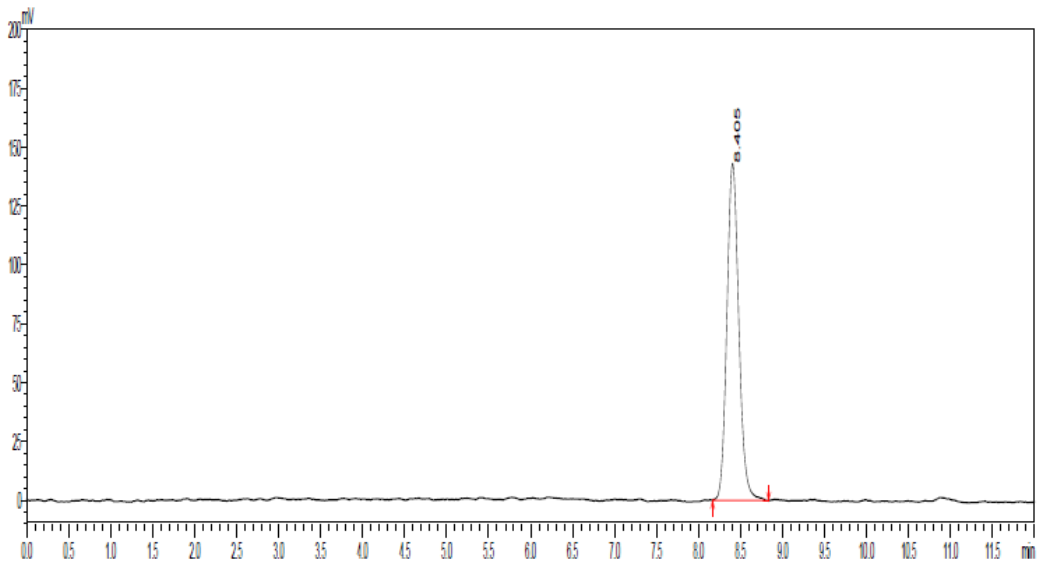


图1. 0.05 mg/L标准溶液液相色谱图

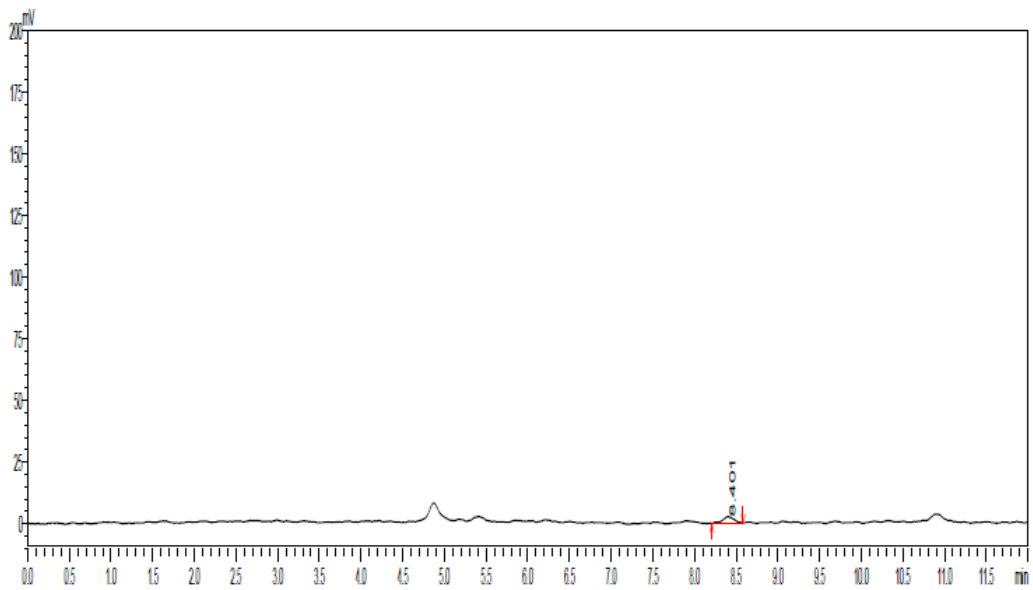


图2.香油基质空白液相色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

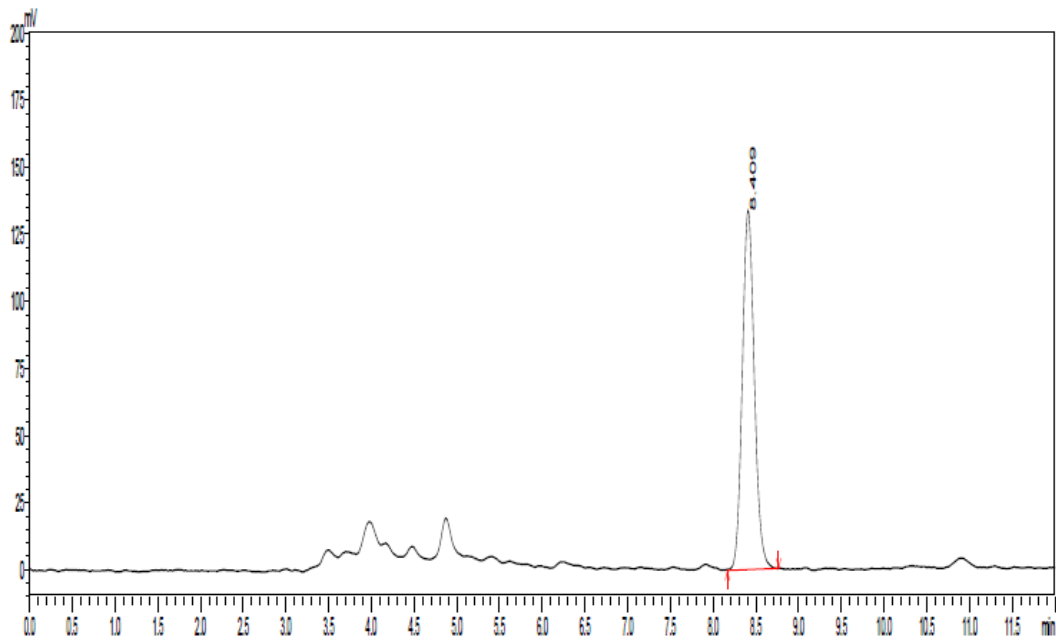


图3. 0.1 mg/kg香油基质加标液相色谱图

结论

本实验建立了香油中苯并芘残留量的前处理方法,并结合高效液相色谱对香油中苯并芘的残留量进行了测定。对于加标量为 0.1 mg/kg 的样品进行了检测,回收率在 80% ~ 100%之间,符合要求。

相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST4305	苯并[a]芘	Benzo[a]pyrene	50-32-8

附：相关产品

订货号	产品名称	规格描述	包装数量
VS952505-0	Venusil ASB C18	5 μm , 150 \AA , 4.6 \times 250 mm	1 支
Bap5006	Cleanert BAP-3	500 mg/6 mL	30 支/pk
SI5006	Cleanert Silica	500 mg/6 mL	30 支/包
SH-100	保护柱套	适用于 4.6 \times 10 mm 和 2.1 \times 10 mm	1 支
VS950105-0S	直联式保护柱芯	5 μm , 150 \AA ; 4.6 \times 10 mm	4 支/包
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写处 32 \times 11.6 mm	100/pk
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫 45°Shore A; 1.0 mm	100/pk

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



First Standard
Analytical Reference Standards
分析检测标准品

AS041320-T	针式过滤器 PTFE	单膜, 13 mm, 0.22 μ m	100 个/包
LZSQ-2ML	一次性注射器	2 mL 无针头	100 支/包
AH216-4	正己烷	4 L/瓶, 色谱纯	4 \times 4 L/箱
AH300-4	二氯甲烷	4 L/瓶, 色谱纯	4 \times 4 L/箱
AH015-4	乙腈	4 L/瓶, 色谱纯	4 \times 4 L/箱
SPE-M08	SPE-M08 正压型多功能固相萃取装置	8 通道	1 台
NV15-M	15 位氮吹仪	15 位	1 台

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

(GB 5009.204-2014) 薯片和油条中丙烯酰胺的分析方法

案例来源: 博纳艾杰尔; 应用编号: AF10096

应用简介

本实验重现了《食品中丙烯酰胺的测定》GB 5009.204-2014 中第一法——稳定性同位素稀释的液相色谱-质谱/质谱法 (LC-MS/MS), 样品经超纯水提取, 先后经 Cleanert® PEP 和 Cleanert® SAS 固相萃取柱净化, Venusil® MP C18 色谱柱 (2.1 × 150 mm, 5 μm, 100 Å) 分离, 0.1% 的甲酸水溶液作为流动相洗脱, 三重四级杆质谱检测, 内标法进行定量。结果表明: 当丙烯酰胺的加标量为 2 mg/kg 时, 回收率在 100% ~ 115%, 可以满足检测要求。

前言

丙烯酰胺 (acrylamide; CAS 登记号 79-06-1) 是一种无色、无臭透明片状晶体; 可溶于水、醇、丙酮、醚和三氯甲烷, 微溶于甲苯, 不溶于苯和庚烷。相对分子质量为 71.08, 结构式如图 1 所示。丙烯酰胺是一种公认的神经毒素和准致癌物, 动物实验和体外细胞实验都证明丙烯酰胺还可导致遗传物质发生改变, 早在 2005 年国际癌症研究机构就已将其列为 2A 级致癌物质。2002 年 4 月, 瑞典国家食品管理局发现许多含淀粉的食物经过煎、烤、炸等高温烹调后会产生高含量的丙烯酰胺。众多研究表明薯条、薯片等土豆制品中丙烯酰胺的含量最高, 超过饮用水中允许最大限度的 500 多倍。

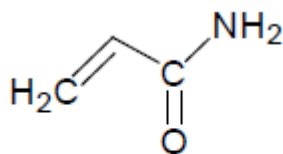


图 1. 丙烯酰胺的结构式

因此通过有效的实验技术手段, 对食品中的丙烯酰胺进行监控, 以确保消费者对食品消费的安全具有重要意义。本实验通过优化前处理方法建立了丙烯酰胺在食品中的 LC-MS/MS 方法。

实验部分

仪器、试剂与材料

主要仪器设备

AB SCIEX API 4000+液相质谱联用仪;

试剂材料

某品牌原味薯片、油条;

甲酸、甲醇、正己烷皆为色谱纯; 屈臣氏水;

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

丙烯酸酰胺标准品（纯度 > 99%），用水溶；

D3-丙烯酸酰胺标准溶液（CD₂=CD₂CONH₂）（浓度 500 mg/L，溶剂乙腈）；80%甲醇水溶液：取 20 mL 水，加甲醇稀释定容至 100 mL；

0.1%甲酸溶液：移取 100 μL 甲酸并加入 100 mL 水，摇匀；一次性无菌注射器；尼龙针式过滤器(0.22 μm，直径 13 mm)；

Cleanert® PEP 固相萃取柱：200 mg/6 mL；Cleanert® SAS 固相萃取柱：200 mg/3 mL。

样品制备

样品提取

准确称取粉碎后的 1 g 样品置于 50 mL 离心管中，加入 200 μL D3-丙烯酸酰胺内标（1 mg/L），再加入 10 mL 水，超声振荡 30 min 后，于 8000 r/min 离心 5 min，将上清液转移到 15 mL 离心管中，加入 5 mL 正己烷，漩涡萃取 1 min，以 6000 r/min 的速度离心 5 min，除去上层有机相，再用 5 mL 正己烷重复萃取一次，之后迅速取 5 mL 水相作为上样液。

样品净化

Cleanert® PEP 固相萃取柱（200 mg/6 mL）使用前依次用 3 mL 甲醇、3 mL 水活化，将上述上样液上 Cleanert® PEP 固相萃取柱，收集上样液，并用 4 mL 80%的甲醇水溶液洗脱，合并收集全部洗脱液，该洗脱液待用 Cleanert®SAS 固相萃取柱净化；Cleanert®SAS 固相萃取柱（200 mg/3 mL）依次用 3 mL 甲醇、3 mL 水活化，将上述洗脱液全部上样，在重力作用下流出，收集全部流出液，并用 2 mL 甲醇洗脱，合并收集全部洗脱液。于 40°C 下氮吹浓缩至近干，用水定容至 1 mL，待 LC-MS/MS 检测。

注：上述操作步骤可在 Qdaura®卓睿全自动固相萃取仪上完成。

色谱条件

液相条件

色谱柱：Venusil® MP C18，5 μm，100 Å，2.1 × 150 mm；

流动相：0.1%甲酸水溶液；

柱温：26°C；

流速：0.2 mL/min；

进样量：2 μL。

质谱条件

离子源：ESI+；电喷雾电压：5500 V；雾化气压力：45 psi；气帘气压力：10 psi；辅助气压力：45 psi；离子源温度：330°C；采集方式：多反应监测(MRM)。

表 1. 丙烯酸酰胺质谱参数

物质名称	Q1	Q3	CE/V
丙烯酸酰胺	72	55	15
		44	15
D ₃ -丙烯酸酰胺	75	58	16
		44	25

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

结果与讨论

线性关系

分别配制浓度为 0.01 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.5 mg/L、1 mg/L、3 mg/L 的丙烯酰胺标准溶液（内标：0.1 mg/L），进行液相色谱-质谱/质谱检测，以各标准溶液的丙烯酰胺进样浓度（mg/L）为横坐标，以丙烯酰胺的峰面积与内标 D3-丙烯酰胺的峰面积比值为纵坐标，绘制标准曲线，如图 2 所示，拟合参数如表 2。

表 2. 丙烯酰胺标准曲线和检出限

化合物名称	标准曲线方程	相关系数	检出限(mg/L, S/N = 3)
丙烯酰胺	$Y = 9.41 X + 0.0706$	0.9999	0.005

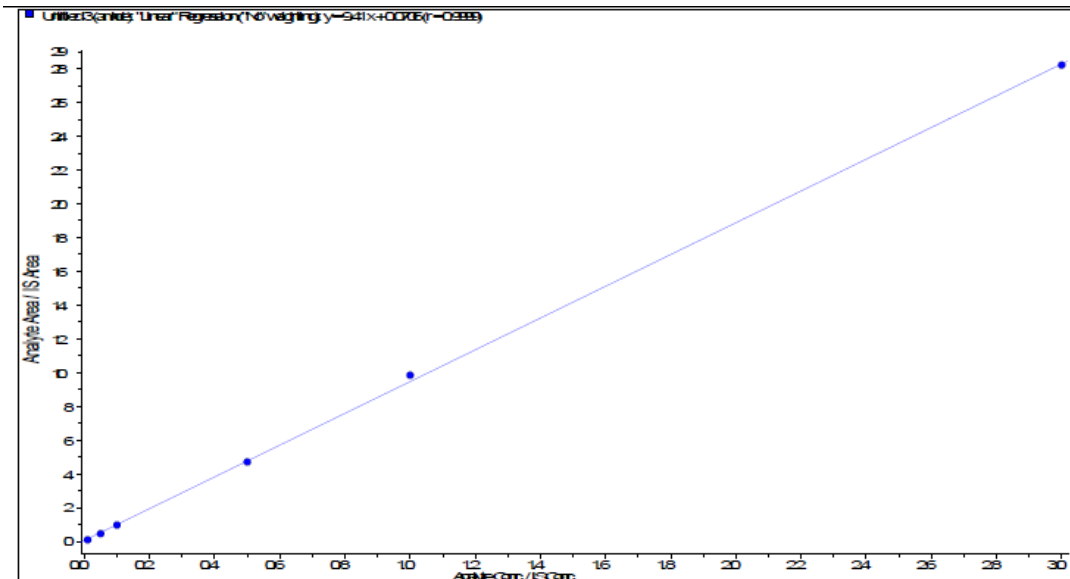


图 2. 丙烯酰胺标准溶液曲线

实验结果

由表 3 可知，采用固相萃取结合液相色谱-质谱/质谱法检测丙烯酰胺，内标法定量，丙烯酰胺的加标回收率在 100% ~ 115% 之间，满足检测要求。

表 3. 丙烯酰胺加标回收实验结果(n=3)

物质名称	添加水平(mg/kg)	出峰时间	平均回收率 (%)		RSD (%)	
			薯片	油条	薯片	油条
丙烯酰胺	2.0	3.56	108.6	113.6	3.33	2.77

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

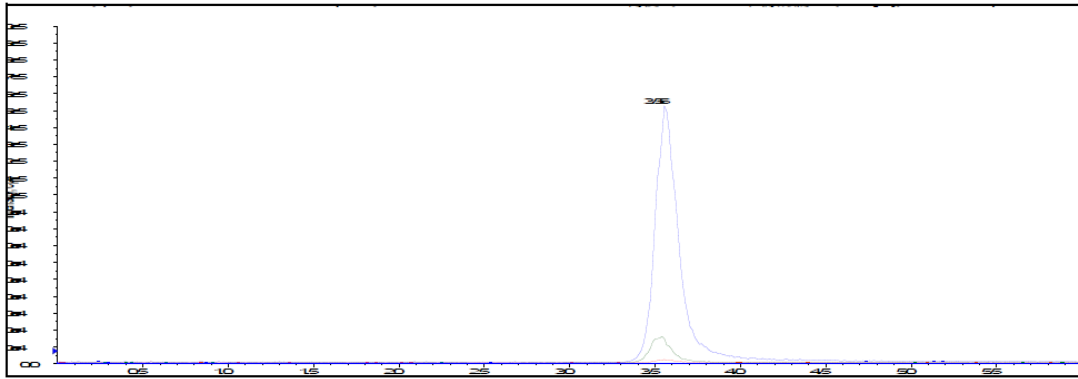


图 3. 1 mg/L 丙烯酰胺标准溶液 LC-MS/MS 谱图

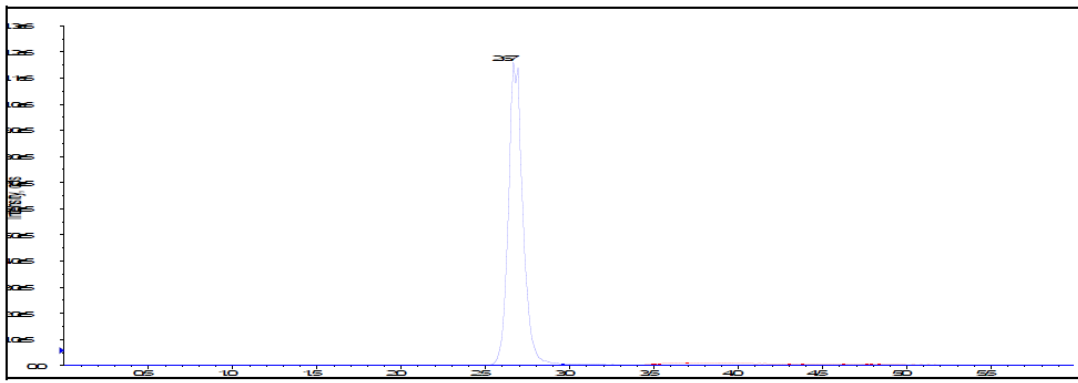


图 4. 薯片样品基质空白 LC-MS/MS 谱图

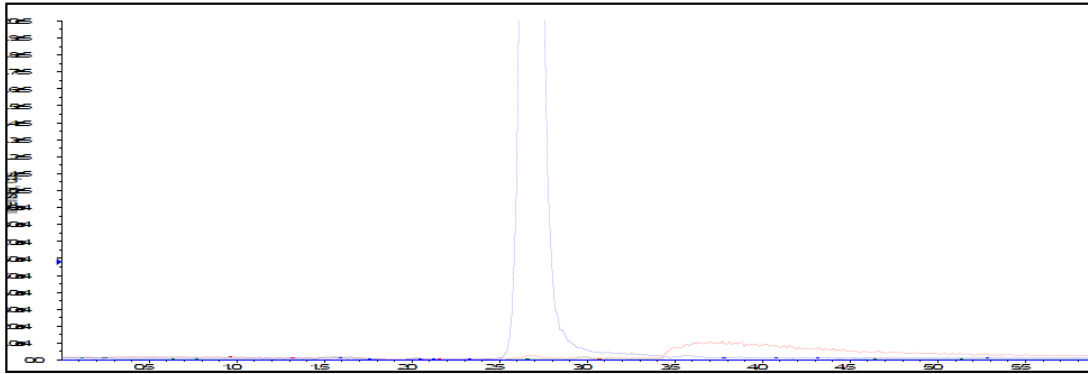


图 5. 薯片样品基质空白 LC-MS/MS 放大图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

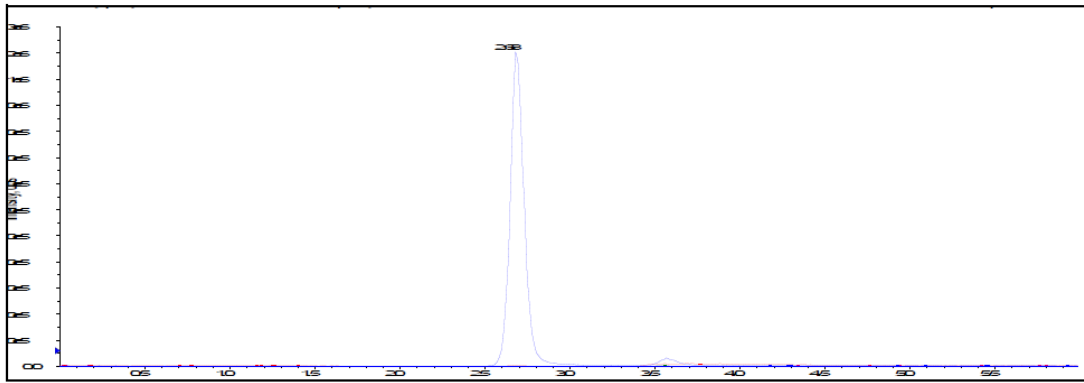


图 6. 2 mg/kg 薯片样品基质加标 LC-MS/MS 谱图

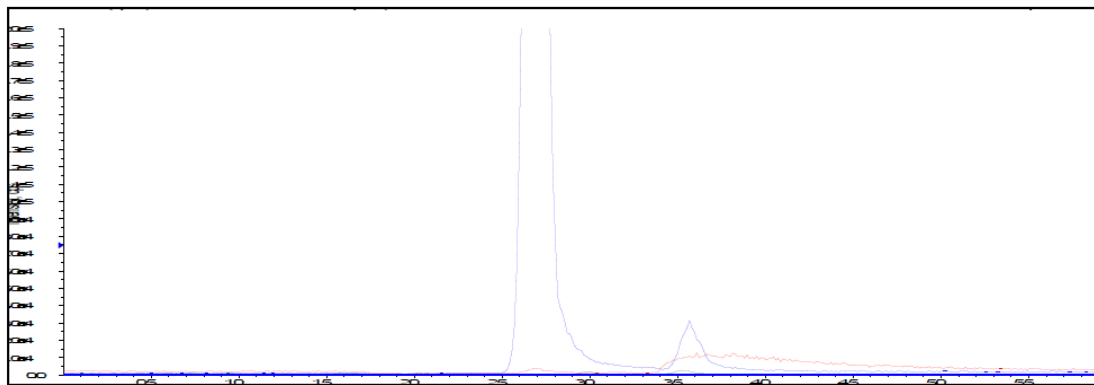


图 7. 2 mg/kg 薯片样品基质加标 LC-MS/MS 放大图

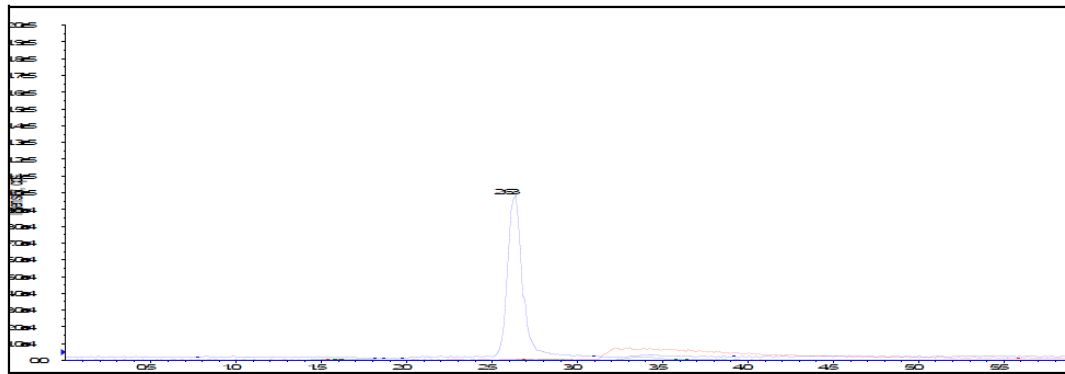


图 8. 油条样品基质空白 LC-MS/MS 谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

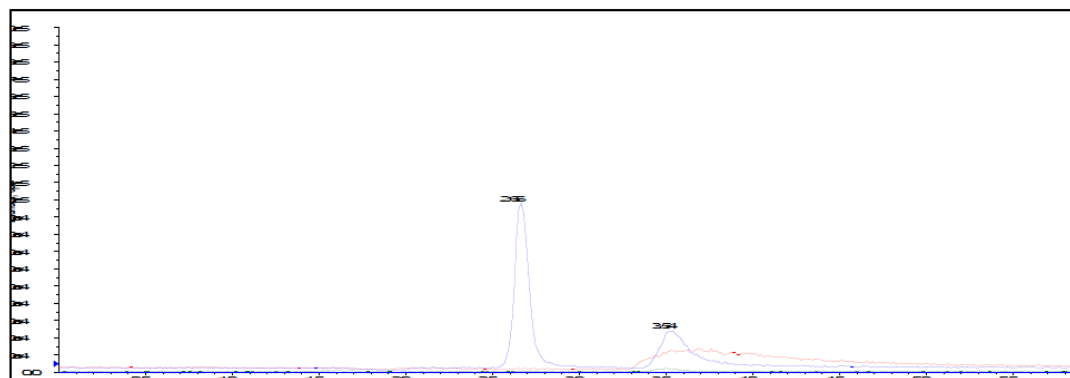


图 9. 2 mg/kg 油条样品基质加标 LC-MS/MS 谱图

结论

本实验依据《食品中丙烯酰胺的测定》GB 5009.204-2014 中第一法——稳定性同位素稀释的液相色谱-质谱/质谱法建立了食品中丙烯酰胺的检测方法，并用内标法结合 LC-MS/MS 对食品中丙烯酰胺含量进行了测定。当加标量为 2.0 mg/kg 时，回收率在 100% ~ 115% 之间，符合要求。

相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST001221	丙烯酰胺	Acrylamide	79-06-1

附：相关产品

订货号	产品名称	规格描述	包装数量
VA951502-0	Venusil® MP C18	5 μm, 100 Å, 2.1 × 150 mm	1 支
PE2006	Cleanert® PEP	200 mg/6mL	30 支
SS2003	Cleanert®SAS	200 mg/3mL	50 支
SPE-40	Qdaura® 卓睿全自动固相萃取仪	24 位，四通道	1 台
NV15-M	氮吹仪	15 位	1 台
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写处 32 × 11.6 mm	100/pk
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖，红色橡胶/米色 PTFE 隔垫 45°Shore A; 1.0 mm	100/pk
AS021320	针式过滤器(Nylon)	单膜，13 mm，0.22 μm	200 个/包
LZSQ-2ML	一次性注射器	2 mL 无针头	100 支/包
AH230-4	甲醇	4 L/瓶，色谱纯	4 × 4 L/箱
AH216-4	正己烷	4 L/瓶，HPLC 级	4 × 4 L/箱

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

薯片和油条中丙烯酰胺的分析方法 Cleanert ACA 专用柱， 升级方法

案例来源：博纳艾杰尔；应用编号：AF10095

前言

丙烯酰胺 (acrylamide; CAS 登记号 79-06-1) 是一种无色、无臭透明片状晶体；可溶于水、醇、丙酮、醚和三氯甲烷，微溶于甲苯，不溶于苯和庚烷。相对分子质量为 71.08，结构式如图 1 所示。丙烯酰胺是一种公认的神经毒素和准致癌物，动物实验和体外细胞实验都证明丙烯酰胺还可导致遗传物质发生改变，早在 2005 年国际癌症研究机构就已将其列为 2A 级致癌物质。2002 年 4 月，瑞典国家食品管理局发现许多含淀粉的食物经过煎、烤、炸等高温烹调后会产生高含量的丙烯酰胺。众多研究表明薯条、薯片等土豆制品中丙烯酰胺的含量最高，超过饮用水中允许最大限度的 500 多倍。

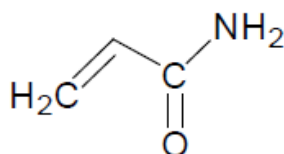


图 1. 丙烯酰胺的结构式

因此通过有效的实验技术手段，对食品中的丙烯酰胺进行监控，以确保消费者对食品消费的安全具有重要意义。本实验参照国标法一法，使用 Cleanert® ACA 固相萃取柱对样品净化，建立了快速、有效的食品中丙烯酰胺的 LC-MS/MS 检测方法。

实验部分

仪器、试剂与材料

主要仪器设备

AB SCIEX API 4000+液相质谱联用仪；Qdaura®卓睿全自动固相萃取仪；

试剂材料

某品牌原味薯片、油条；甲酸、甲醇、正己烷皆为色谱纯；屈臣氏水；丙烯酰胺标准品（纯度 >99%），水溶解；D3-丙烯酰胺标准溶液 (CD₂=CDCONH₂) (浓度 500 mg/L，溶剂乙腈)；

基质标准工作溶液：

0.1% 甲酸溶液：移取 100 μL 甲酸并加入 100 mL 水，摇匀；一次性无菌注射器；尼龙针式过滤器(0.22 μm，直径 13 mm)；Cleanert® ACA 固相萃取柱：200 mg/6 mL。

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn



样品制备

样品提取

准确称取粉碎后的 1 g 样品置于 50 mL 离心管中，加入 200 μ L D3-丙烯酰胺内标（1 mg/L），再加入 10 mL 水，超声振荡 30 min 后，于 8000 r/min 离心 5 min，将上清液转移到 15 mL 离心管中，加入 5 mL 正己烷，漩涡萃取 1 min，以 6000 r/min 的速度离心 5 min，除去上层有机相，再用 5 mL 正己烷重复萃取一次，之后迅速取 5 mL 水相作为上样液。

样品净化


手动操作

Cleanert[®] ACA 固相萃取柱（200 mg/6 mL）使用前依次用 5 mL 甲醇、5 mL 水活化，将上样液上 Cleanert[®] ACA 固相萃取柱，并用 5 mL 水洗涤，真空抽干小柱，用 5 mL 甲醇洗脱，并收集全部洗脱液，于 40 $^{\circ}$ C 下氮吹浓缩至近干，用水定容至 1 mL，待 LC-MS/MS 检测。

Qdaura[®]卓睿全自动固相萃取仪操作程序

先将 Cleanert[®] ACA 固相萃取柱安装在仪器上，并将样品注入到上样管里，按下图中程序自动操作：

Steps				
	Order	Solvent	Rate ml/min	Volume ml
1	Condition	Methanol	5	5
2	Condition	Water	5	5
3	Add sample	Air	2	10
4	Elution Tube	Water	5	5
5	Elution Tube	Air	10	50
6	Coll 1 Column	Methanol	5	5
7	Coll 1 Column	Air	3	3
8	End			
9				

Solvent Alias			
Air Wash			
	Rate (ml/min)	Vol 1 (ml)	Vol 2 (ml)
	5	5	0

Note

图 2. 全自动固相萃取操作程序

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn



色谱条件

液相条件

色谱柱: Venusil® MP C18, 5 μm, 100 Å, 2.1 × 150 mm;

流动相: 0.1%甲酸水溶液;

柱温: 26°C;

流速: 0.2 mL/min;

进样量: 2 μL。

质谱条件

离子源: ESI+; 电喷雾电压: 5500 V; 雾化气压力: 45 psi; 气帘气压力: 10 psi; 辅助气压力: 45 psi; 离子源温度: 330°C; 采集方式: 多反应监测(MRM)。

表 1. 丙烯酰胺质谱参数

物质名称	Q1	Q3	CE/V
丙烯酰胺	72	55	15
		44	15
D ₃ -丙烯酰胺	75	58	16
		44	25

结果与讨论

线性关系

分别配制浓度为 0.01 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.5 mg/L、1 mg/L、3 mg/L 的丙烯酰胺标准溶液 (内标: 0.1 mg/L), 进行液相色谱-质谱/质谱检测, 以各标准溶液的丙烯酰胺进样浓度 (mg/L) 为横坐标, 以丙烯酰胺的峰面积与内标 D₃-丙烯酰胺的峰面积比值为纵坐标, 绘制标准曲线, 如图 3 所示, 拟合参数如表 2。

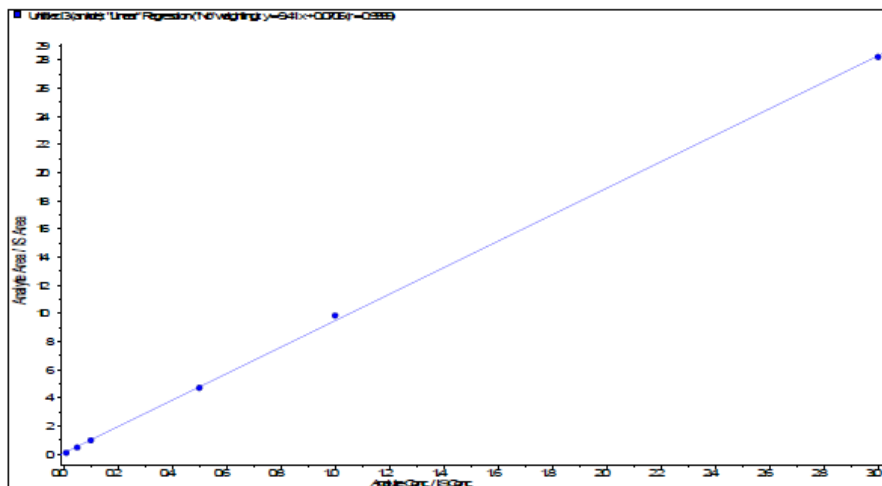


图 3. 丙烯酰胺标准溶液曲线

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

表 2. 丙烯酰胺标准曲线和检出限

化合物名称	标准曲线方程	相关系数	检出限(mg/L, S/N = 3)
丙烯酰胺	$Y = 9.41 X + 0.0706$	0.9999	0.005

实验结果

由表 3 可知,采用 Cleanert® ACA 固相萃取柱结合液相色谱-质谱/质谱法检测丙烯酰胺,当丙烯酰胺的加标量分别为 0.1 mg/kg 和 2 mg/kg 时,回收率均在 100% ~ 110%之间,满足检测要求。

表 3. 丙烯酰胺加标回收实验结果(n=3)

物质名称	操作方式	添加水平 (mg/kg)	保留时间/min	平均回收率/%		RSD/%	
				薯片	油条	薯片	油条
丙烯酰胺	自动	0.1	3.52	101.7	101.2	4.5	1.6
	手动	2.0		100.4	102.7	1.4	2.0

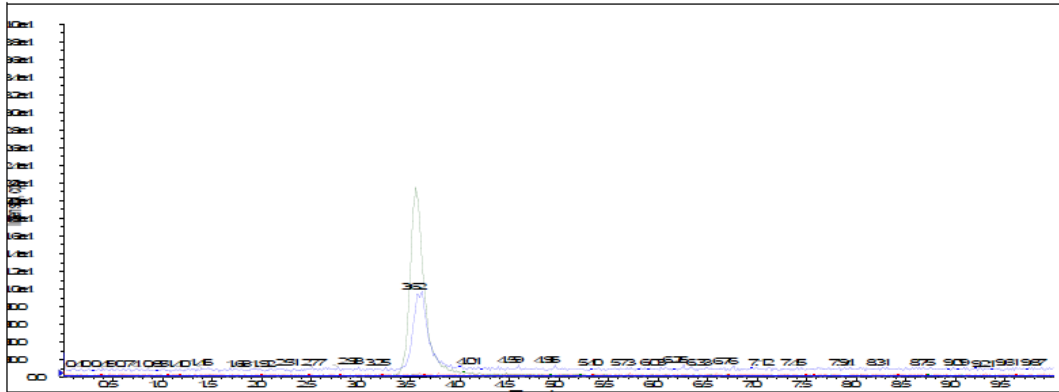


图 4. 0.05 mg/L 丙烯酰胺标准溶液 LC-MS/MS 谱图

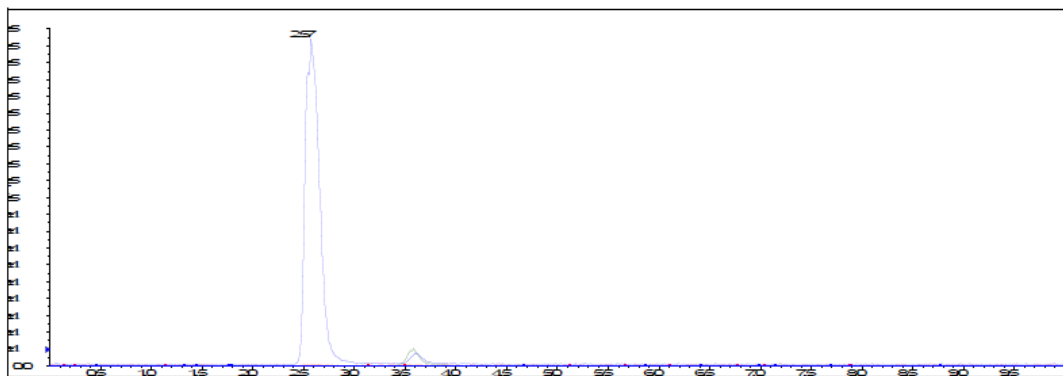


图 5. 薯片样品基质空白 LC-MS/MS 谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

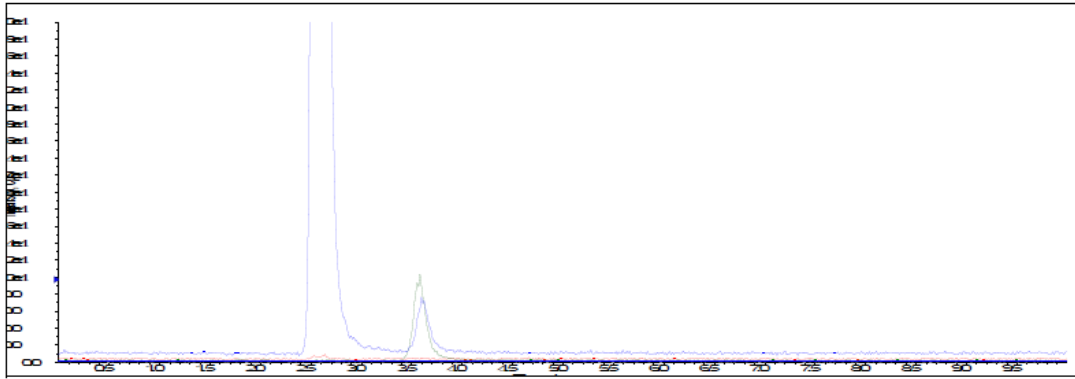


图 6. 薯片样品基质空白 LC-MS/MS 放大图

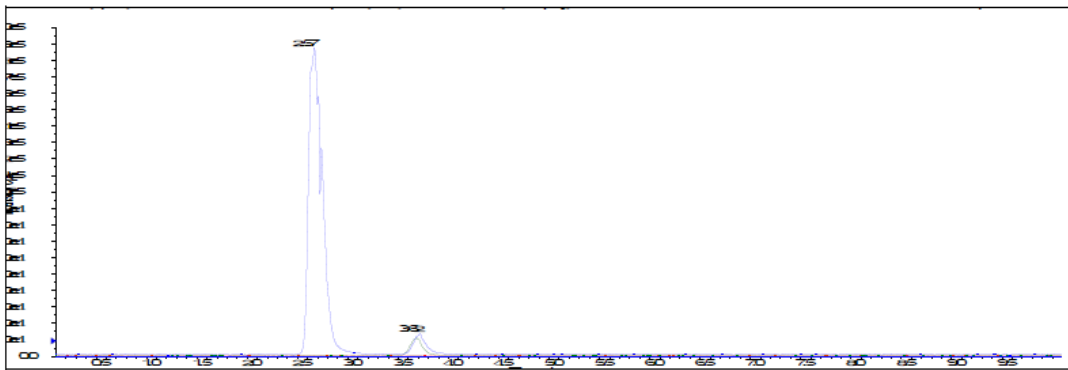


图 7. 0.1 mg/kg 薯片样品基质加标 LC-MS/MS 谱图

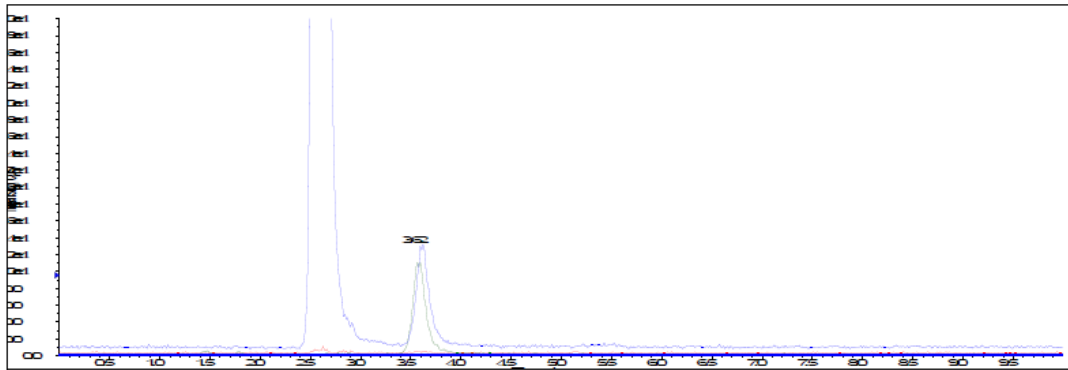


图 8. 0.1 mg/kg 薯片样品基质加标 LC-MS/MS 放大图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

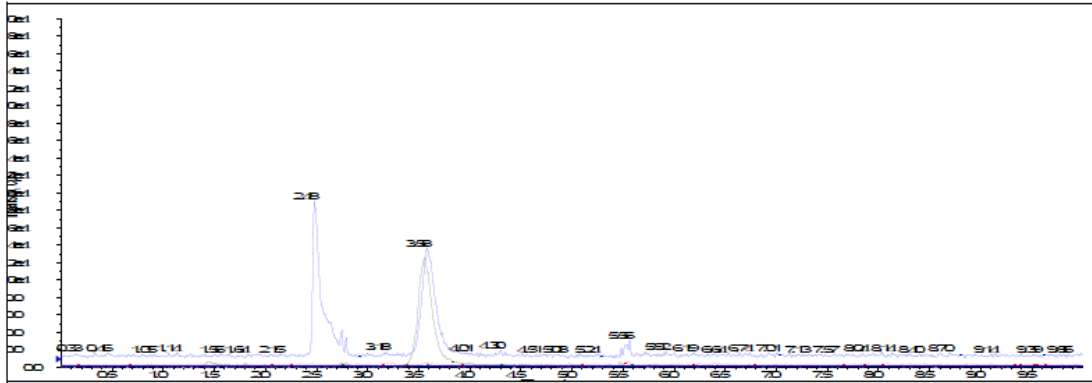


图 9. 油条样品基质标准工作溶液 LC-MS/MS 谱图

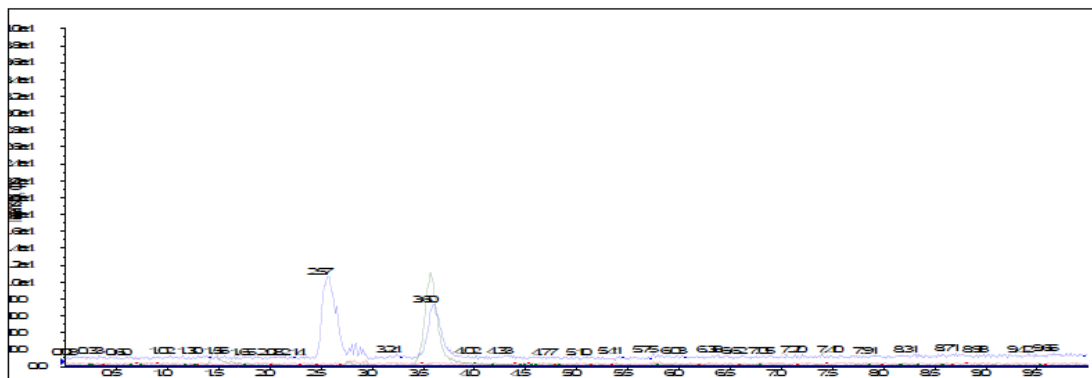


图 10. 油条样品基质空白 LC-MS/MS 谱图

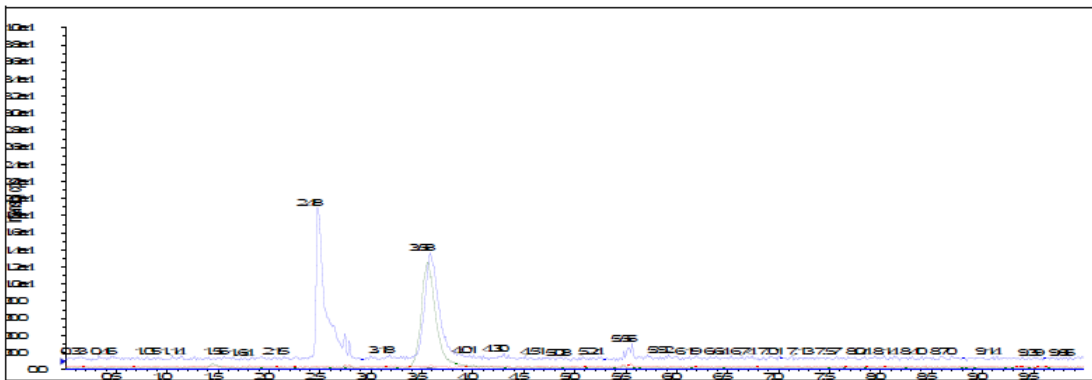


图 11. 0.1 mg/kg 油条样品基质加标 LC-MS/MS 谱图

结论

本实验参照《食品中丙烯酰胺的测定》GB 5009.204-2014 中第一法——稳定性同位素稀释的液相色谱-质谱/质谱法，使用 Cleanert® ACA 固相萃取柱建立了食品中丙烯酰胺的检测方法，并用内标法结合 LC-MS/MS 对食品中丙烯酰胺含量进行了测定。当加标量为 0.1 mg/kg

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

和 2 mg/kg 时，回收率均在 100% ~ 110%之间，符合要求。该方法的定量限为 60 µg/kg。

讨论

与国标法相比，该方法具有诸多优点：

- 1、从操作过程上说，该方法操作简单，只需要使用一根固相萃取柱，而国标法需要使用两根固相萃取柱；该方法操作时间短，前处理整个过程只需要 4 h，而国标法则需要 12 h 以上；
- 2、从净化效果上说，该方法除杂效果比国标法好，如下图所示为薯片基质用该方法和国标法处理的 LC-MS/MS 谱图，从图中可以看到国标法处理的杂质峰的峰高是该方法的 10 倍左右；

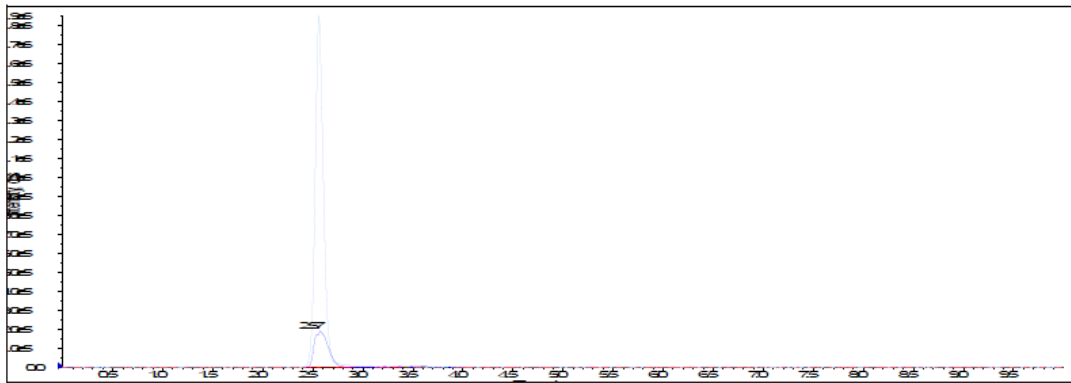


图 12. 薯片样品基质空白 LC-MS/MS 谱图（浅色-国标法；深色-本实验方法）

- 3、从实验结果上说，该方法和国标法都存在基质效应（ME），且 $ME < 100\%$ ，即皆为离子抑制效应。本实验方法对薯片和油条基质的 ME 分别为 90% 和 87%，而国标法对薯片和油条基质的 ME 分别为 23% 和 35%，本实验方法的 ME 更接近 100%，因此本实验的基质效应更小。从绝对回收率上看，本实验对薯片和油条的回收率分别为 76.6% 和 63.4%，而国标法对薯片和油条的绝对回收率只有 22.3% 和 32.7%。（注： $ME = (\text{空白样品处理后加标响应峰面积} - \text{空白样品丙烯酰胺响应峰面积}) / \text{溶剂标响应峰面积}$ 。）

表 4. 丙烯酰胺加标回收实验结果(n=3)

物质名称	前处理方法	添加水平/(mg/kg)	保留时间/%	平均回收率/% (绝对)		RSD/%		ME/%	
				薯片	油条	薯片	油条	薯片	油条
丙烯酰胺	ACA	2.0	3.52	76.6	63.4	4.0	0.2	90	87
	国标			22.3	32.7	5.7	1.2	23	35

相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST001221	丙烯酰胺	Acrylamide	79-06-1

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

附：相关产品

订货号	产品名称	规格描述	包装数量
VA951502-0	Venusil® MP C18	5 µm, 100 Å, 2.1 × 150 mm	1 支
ACA2006	Cleanert® ACA	200 mg/6mL	30 支
SPE-40	Qdaura®卓睿全自动固相萃取仪	24 位, 四通道	1 台
NV15-M	氮吹仪	15 位	1 台
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写处 32×11.6 mm	100/pk
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫 45°Shore A; 1.0 mm	100/pk
AS021320	针式过滤器(Nylon)	单膜, 13 mm, 0.22 µm	200 个/包
LZSQ-2ML	一次性注射器	2 mL 无针头	100 支/包
AH230-4	甲醇	4 L/瓶, 色谱纯	4 × 4 L/箱
AH216-4	正己烷	4 L/瓶, HPLC 级	4 × 4 L/箱

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



油炸薯片中丙烯酰胺的测定 高效液相色谱法

案例来源：博纳艾杰尔；应用编号：RF10005

前言

丙烯酰胺是一种白色晶体化学物质，是生产**聚丙烯酰胺**的原料。聚丙烯酰胺主要用于水的净化处理、纸浆的加工及管道的内涂层等，也用于聚丙烯酰胺凝胶电泳。淀粉类食品在高温（>120°C）烹调下容易产生丙烯酰胺。

研究表明，人体可通过消化道、呼吸道、皮肤黏膜等多种途径接触丙烯酰胺，饮水是其中的一条重要接触途径。2002年4月瑞典国家食品管理局和斯德哥尔摩大学研究人员率先报道，在一些油炸和烧烤的淀粉类食品，如炸薯条、炸土豆片等中检出丙烯酰胺，而且含量超过饮水中允许最大限量的500多倍。之后挪威、英国、瑞士和美国等国家也相继报道了类似结果。此外，人体还可能通过吸烟等途径接触丙烯酰胺。

根据香港消费者委员会的研究，含碳水化合物的食物在经油炸之后，都会产生丙烯酰胺。研究已知丙烯酰胺可致癌。但世界卫生组织表示，由于难以统计丙烯酰胺要到哪一个浓度才会致癌，所以难以订立安全标准。

1. 样品预处理

称取2g薯片，将其研磨至碎末，置于50mL离心管中，加入30mL超纯水，涡旋震荡后超声处理10min，6000rpm离心后，取15mL上清液于50mL新离心管中，将5mL正己烷加入离心管中，涡旋振荡1min，于6000rpm下离心10min，弃去上层正己烷，重复正己烷萃取步骤一次，得到15mL待处理的样品溶液。

2. SPE 净化方法

固相萃取柱：Cleanert ACA (P/N: ACA50012)；

活化：5mL 甲醇 5mL 水（真空泵抽滤）

上样：15mL 中处理的样品溶液（添加样，在超声萃取前加标）

淋洗：5mL 屈臣氏水

真空抽滤30min 使柱子近干

洗脱：3mL 甲醇（真空抽滤，收集）

40°C氮吹至100-200μL（用屈臣氏水定容至2mL），过0.22μm的PTFE膜，待测。

3. 液相色谱法检测条件

色谱柱：Venusil MP C18, 4.6mm×250mm, 5.0μm, 100Å (P/N: VA952505-0)；

流动相：屈臣氏水；

流速：1.0mL/min；

进样量：20μL；

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn



紫外检测波长：210 nm；

柱温：室温。

4. 实验结果

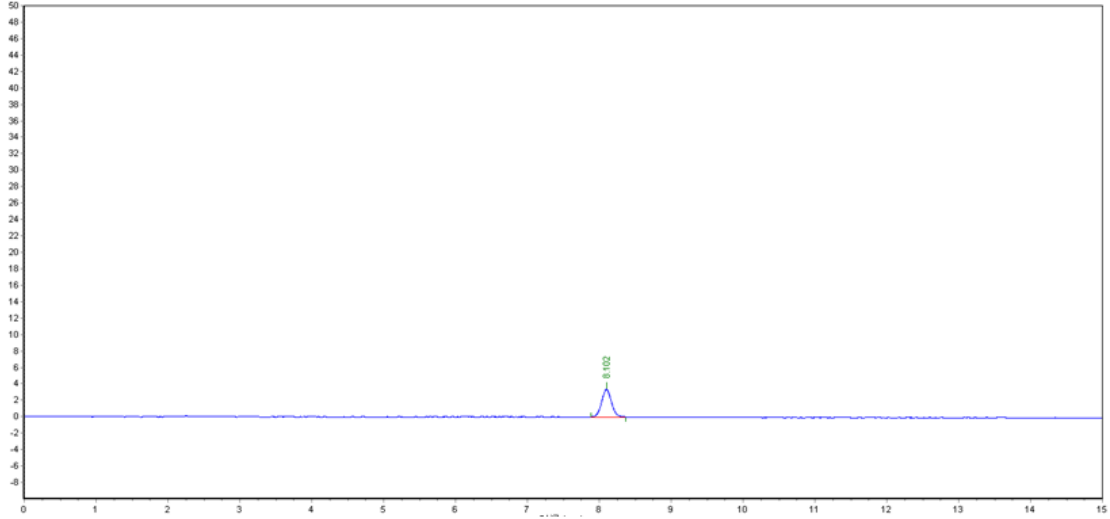


图 1 丙烯酰胺标样

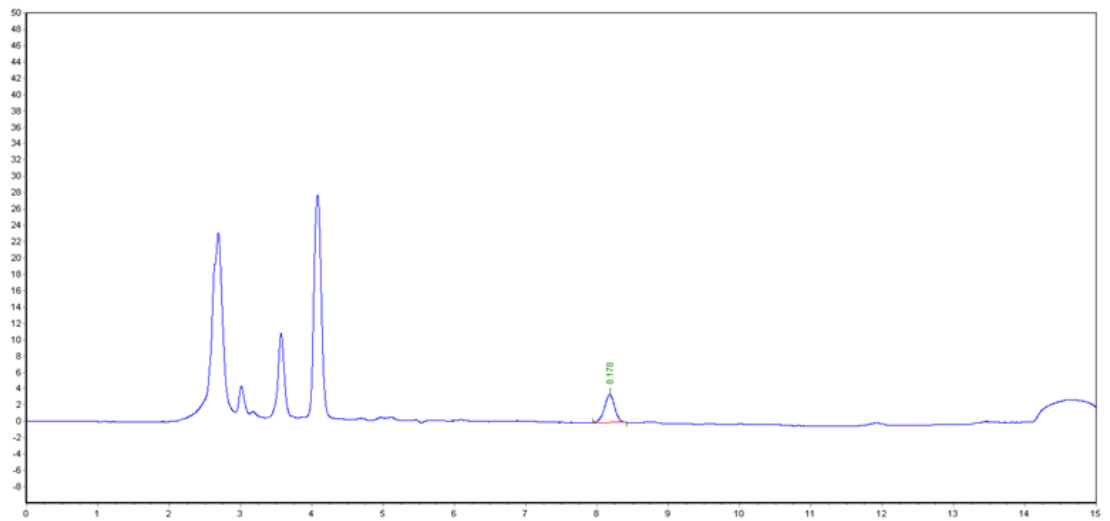


图 2 丙烯酰胺加标

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

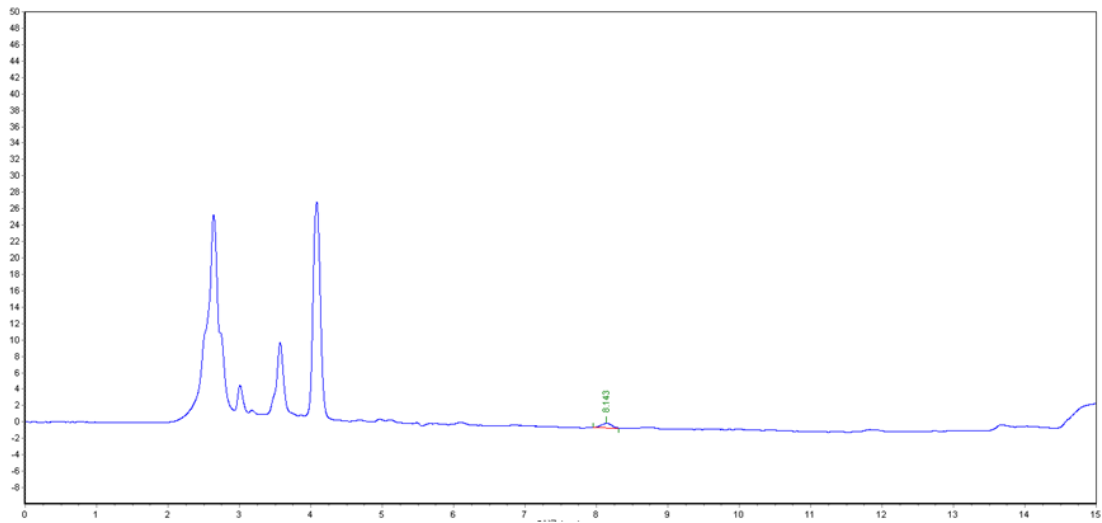


图 3 丙烯酰胺空白

表 1 丙烯酰胺的回收率

	10 μ g/mL	5 μ g/mL	1 μ g/mL
	回收率	回收率	回收率
平行一	85.42%	87.30%	86.54%
平行二	88.52%	86.14%	87.21%

薯片前处理后所得上样液中的丙烯酰胺能够很好的被 Cleanert ACA 柱吸附。方法操作简单快捷，并在 1、5 和 10 μ g/mL 三个不同浓度的添加回收率均大于 80%。

5、相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST001221	丙烯酰胺	Acrylamide	79-06-1

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

(GB 5009.27-2016 净化方法一) 油脂中苯并(a)芘的检测

HPLC 法

案例来源: 博纳艾杰尔; 应用编号: RF10001

前言

苯并芘是一类具有明显致癌作用的有机化合物。它是由一个苯环和一个芘分子结合而成的多环芳烃类化合物。已经检查出的 400 多种主要致癌物中,一半以上是属于多环芳烃一类的化合物。吸烟烟雾和经过多次使用的高温植物油、煮焦的食物、油炸过热的食品都会产生苯并芘。我国对食品中苯并芘有明确的限量标准。

GB 5009.27-2016 的净化方法一,利用 22 g/60 mL 中性氧化铝柱进行油脂中的苯并(a)芘测定的前处理,利用氧化铝吸附油脂,通过 80 mL 的石油醚或正己烷进行洗脱苯并(a)芘。本实验采用博纳艾杰尔 Cleanert BaP 固相萃取柱建立了油脂中苯并(a)芘的检测分析方法。

样品制备

称取约 0.4 g 的油样,用 5 mL 正己烷溶解涡旋混合器上充分混匀。

固相萃取柱净化

活化: 用约 30 mL 正己烷 Cleanert BaP 柱预先活化。(注意:在正己烷滴出的过程中,柱体上部要不断添加正己烷,千万注意不能让正己烷低于柱子的上筛板,避免空气进入柱子!)

上样: 将溶解好的油样添加到预活化好的 Cleanert BaP 柱子中,注意操作过程中上筛板不能干涸。

洗脱: 添加 50 mL 正己烷,用 150 mL 的旋蒸瓶接收,直到 50 mL 的正己烷完全自然滴出。

浓缩

旋转蒸发: 将洗脱液在 40°C 水浴中旋转蒸发至约 1 mL (如果仍然有油滴无法蒸干,说明样品中油脂含量较高,净化不完全,需要向油滴中添加 50 mL 的正己烷制得新样,取一根新柱重复上述净化过程),转移至色谱仪进样瓶中,在 40°C 氮气流下浓缩至近干。用 1 mL 正己烷清洗旋蒸瓶,将洗涤液再次转移至色谱仪进样小瓶并浓缩至干。吸取 0.4 mL 乙腈至色谱仪进样小瓶,涡旋复溶 0.5 min,过 Nylon 针式过滤器进行检测。

色谱条件

色谱柱: Venusil ASB C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm;

流速: 1.0 mL/min;

流动相: 乙腈:水=88:12;

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



发射波长：406 nm ；

激发波长：384 nm。

实验结果

本方法采用 Cleanert BaP 固相萃取柱用于某植物油苯并（a）芘的净化处理于 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加水平可获得 99.49% 回收率，采用 Venusil ASB C18 所得到的图谱见图 1~3。

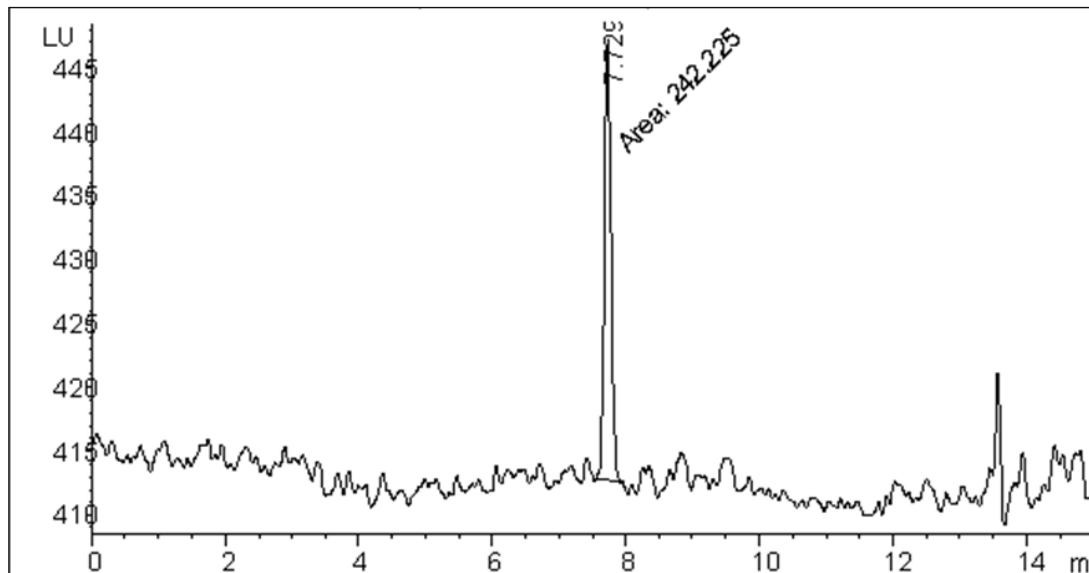


图 1 5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 苯并（a）芘的标准样品的色谱图

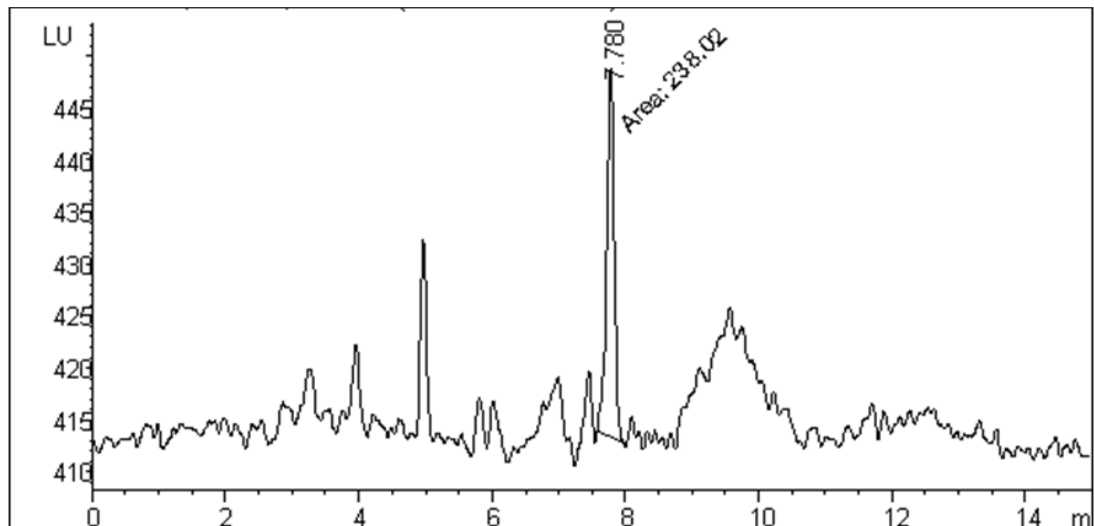


图 2 某植物油的实际样品色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

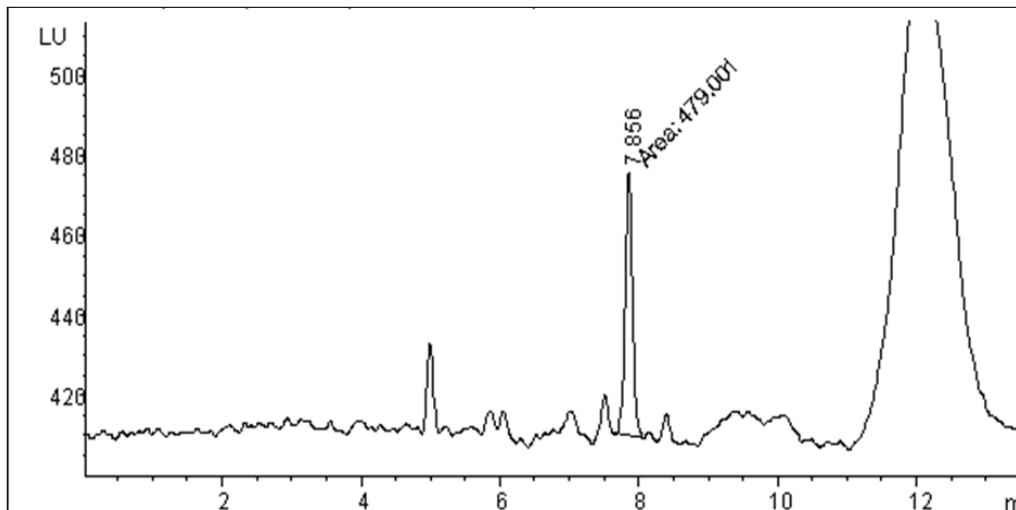


图3 某植物油加标量为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的标准样品色谱图

表 1. 苯并[a]芘的回收率

	5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 标准品	油脂实际样品	油脂加标样品	回收率
苯并(a)芘响应值	242.225	238.02	479.001	99.49%

相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST4305	苯并[a]芘	Benzo[a]pyrene	50-32-8

订货信息

订货号	产品名称	规格描述	包装数量
VS952505-0	Venusil ASB C18	250 mm \times 4.6 mm, 5 μm	1 支
BAP2260-0	Cleanert [®] BAP 苯并芘专用柱	22 g/60 mL	10 支/pk
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写处 32 \times 11.6 mm	100/pk
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫 45 $^{\circ}$ Shore A; 1.0 mm	100/pk
AS021320	针式过滤器	单膜, 13 mm, 0.22 μm	200 个/包
LZSQ-2ML	一次性注射器	2 mL 无针头	100 支/包
AH015-4	乙腈	4 L/瓶, 色谱纯	4 \times 4 L/箱
NV15-M	15 位氮吹仪	15 位	1 台

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

(GB 5009.27-2016 净化方法二) 油脂中苯并(a)芘的检测

HPLC 法

案例来源: 博纳艾杰尔; 应用编号: RF10002

前言

苯并芘是一类具有明显致癌作用的有机化合物。它是由一个苯环和一个芘分子结合而成的多环芳烃类化合物。已经检查出的 400 多种主要致癌物中,一半以上是属于多环芳烃一类的化合物。吸烟烟雾和经过多次使用的高温植物油、煮焦的食物、油炸过热的食品都会产生苯并芘。我国对食品中苯并芘有明确的限量标准。

本实验参考 GB5009.27-2016 净化方法第二法,用 Cleanert BAP-3 固相萃取柱萃取油性样品中的苯并(a)芘,然后再用二氯甲烷洗脱,该方法具有更佳的油脂去除效果、稳定的苯并(a)芘回收率,溶剂用量更少更环保,方法也更简便。

试样处理

使用正己烷配制 200 $\mu\text{g/mL}$ 苯并(a)芘标准品标样备用,并用正己烷稀释成 1 $\mu\text{g/mL}$ 苯并(a)芘工作液备用。

取 0.5 g 油于 12 mL 样品瓶中,加 3 mL 正己烷涡旋震荡溶解,作为待净化液,若要做加标实验,根据需要向油中先加入适量的标准品。

固相萃取方法

固相萃取柱名称: Cleanert BAP-3 (混合分子印迹材料), 500 mg/6 mL 针对花生油、大豆油、玉米油、葵花籽油、稻米油、胡麻油、调和油、菜籽油、橄榄油,固相萃取方法如下:

活化: 5 mL 二氯甲烷, 5 mL 正己烷;

上样: 将待净化液过柱,用 2 mL 正己烷润洗样品瓶,也上样到柱上;

淋洗: 10 mL 正己烷;

洗脱: 5 mL 二氯甲烷,收集于 20 mL 玻璃瓶中;

浓缩: 将洗脱液在 40°C 下氮气吹干,用 1 mL 乙腈定容,超声 10 s,过 PTFE 0.22 μm 滤头,收集于 1.5 mL 样品瓶的内插管中,待测;

另取 1 mL 加标浓度的标样(正己烷溶)40°C 吹干 1 mL 乙腈定容,作为液相检测时用的参考标样。

针对香油样品,需要在 Cleanert BAP-3 柱上串联一支 Cleanert Silica 柱,按照上述固相萃取方法中的方法进行活化、上样,注意淋洗时先用 5 mL 正己烷淋洗串联柱,然后弃去硅胶柱,再用 5 mL 的正己烷二次淋洗 Cleanert BAP-3 柱,最后按照上述固相萃取方法方法对 Cleanert BAP-3 柱进行洗脱和浓缩。

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



液相色谱条件

色谱柱：Venusil ASB C18，4.6 mm × 250 mm × 5.0 μm；

流动相：乙腈：水= 88：12；

流速：1.0 mL/min；

进样量：20 μL；

柱温：30℃；

荧光检测器：发射波长 406 nm，激发波长 384 nm。

结果

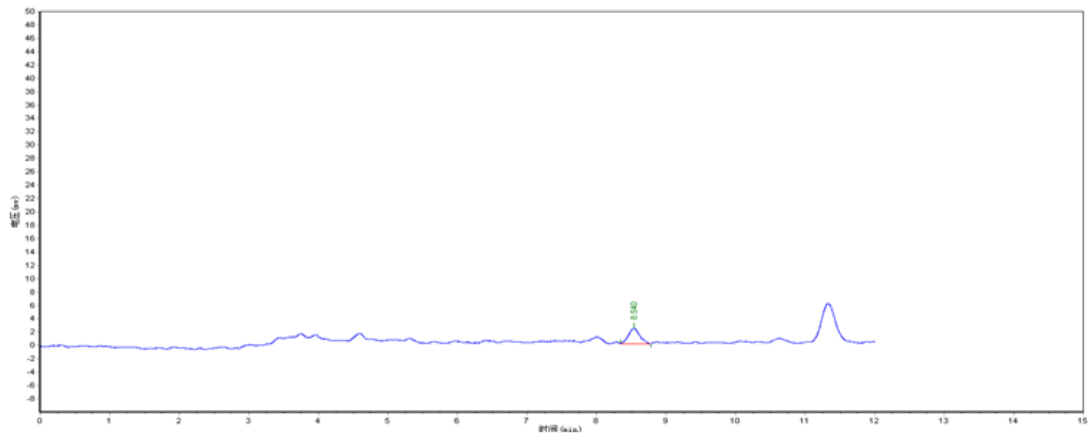


图 1 空白实验色谱图

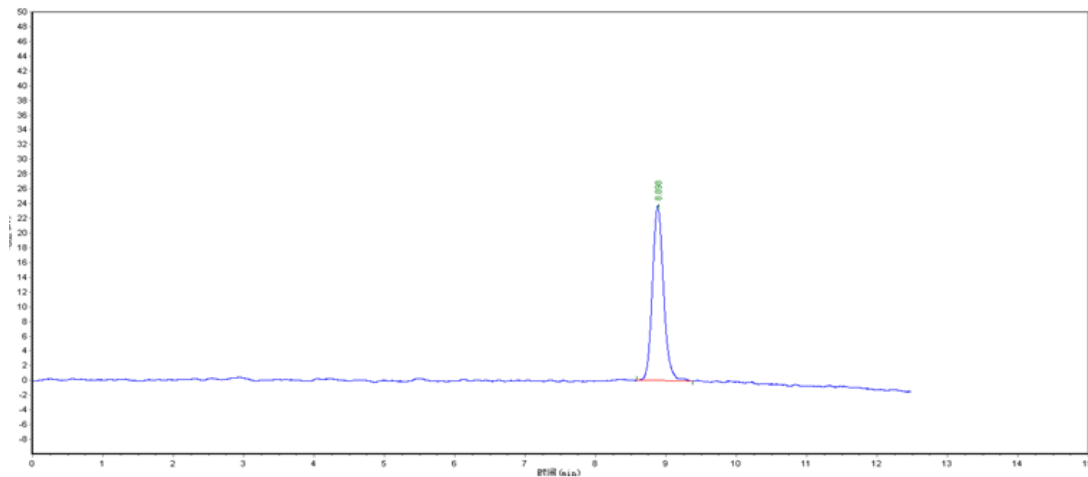


图 2 10 μg/L 苯并(a)芘的标准样品的色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

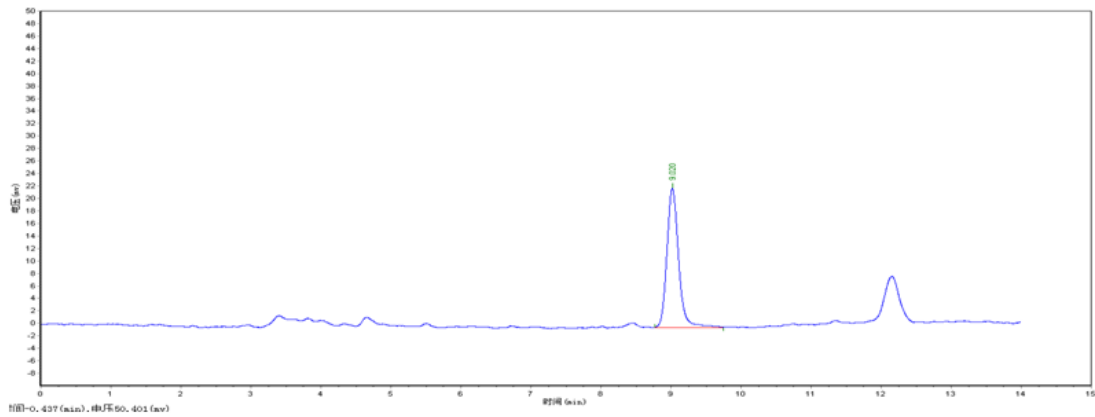


图 3 实际样品的加标 (10 µg/L) 回收率实验色谱图

表 1 油中苯并芘的回收率

	10 µg/L	5 µg/L	1 µg/L
1#	96.60%	84.10%	92.90%
2#	97.10%	86.50%	82.50%

相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST4305	苯并[a]芘	Benzo[a]pyrene	50-32-8

订货信息

订货号	产品名称	规格描述	包装数量
VS952505-0	Venusil ASB C18	250 mm × 4.6 mm, 5 µm	1 支
BAP5006	Cleanert® BAP-3 苯并芘专用柱	500mg/6 mL	30 支/pk
SI5006	Cleanert® Silica	500 mg/6 mL	30 支/pk
1509-1800	12 mL 样品瓶	螺纹棕色样品瓶	100/pk
1515-1748	12 mL 样品瓶盖	15mm 黑色实心盖; 红色丁基/灰色 PTFE55°Shore A; 1.6mm	100/pk
AV7100-7	20mL 透明螺口瓶	27.5×57mm	100/pk
AV7920-0	20mL 透明螺口瓶盖	3mm	100/pk
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写处 32 × 11.6 mm	100/pk
AV2100-A	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/白	100/pk

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



First Standard
Analytical Reference Standards
分析检测标准品

		色 PTFE 隔垫 9*1mm	
0609-0357	100mL 内插管	底部 15mm	100/pk
			(P/N: AV7100-7 和 P/N: AV7920-0)
AS041320	PTFE 针式过滤器	单膜, 13 mm, 0.22 μ m	200 个/包
LZSQ-2ML	一次性注射器	2 mL 无针头	100 支/包
AH015-4	乙腈	4 L/瓶, 色谱纯	4 \times 4 L/箱
NV15-M	15 位氮吹仪	15 位	1 台

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn