

HPLC-Q-Orbitrap-HRMS 方法检测广式烧鹅中 7 种非极性杂环胺

董浩¹, 黄俊源¹, 何昀桐¹, 洗燕萍², 白卫东¹, 曾晓房^{1*}

(¹仲恺农业工程学院轻工食品学院 广东省岭南特色食品科学与技术重点实验室 现代农业工程创新研究院

农业农村部岭南特色食品绿色加工与智能制造重点实验室 广州 510225

²广州质量监督检测研究院 食品安全预警研发中心 广州 510447)

摘要 广式烧鹅在高温烧制过程中极易产生杂环胺,因此对其中杂环胺的检测和含量监控尤为重要。为建立一种基于高效液相色谱-四极轨道高分辨质谱联用技术(HPLC-Q-Orbitrap-HRMS)检测中国传统美食广式烧鹅中 7 种杂环胺的方法,样品用 NaOH-乙腈溶液均质,可实现样品中油脂的皂化水解和目标杂环胺的提取。通过 Starta™-X-C 固相萃取小柱净化提取液后,采用 C18 色谱柱进行分离,以乙腈和含 0.05% 甲酸的 1 mmol/L 乙酸铵溶液为流动相梯度洗脱,在电喷雾正离子、全扫描和数据依赖性扫描的模式下检测,以保留时间、一级离子质量准确度、二级碎片与库匹配准确性,用内标法结合一级离子峰面积进行定量。结果表明:7 种杂环胺的质量精确度 $<3.0\times 10^{-6}$,在 0.100~100 $\mu\text{g/L}$ 范围有良好的线性关系,相关系数 $R^2>0.997$ 。方法检出限介于 0.02~0.15 $\mu\text{g/kg}$ 之间,定量限介于 0.05~0.5 $\mu\text{g/kg}$ 之间。加标回收率结果表明,在 3 种加标浓度下 7 种杂环胺的回收率良好。建立的 HPLC-Q-Orbitrap-HRMS 检测方法灵敏度高,结果准确可靠,可应用于广式烧鹅中非极性杂环胺的检测。

关键词 杂环胺;液相色谱;高分辨质谱;广式烧鹅

文章编号 1009-7848(2022)10-0295-08 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2022.10.032

杂环胺(Heterocyclic aromatic amines, HAAs)主要是由含有丰富蛋白的食品在较高温度及长时间的加工过程中产生的一种潜在的致癌物^[1-3]。人体若长期或过量摄入,易增加患癌风险^[4-5]。近年来杂环胺对人体的危害已成为一个备受关注的课题^[6-7]。杂环胺分为氨基咪唑氮杂芳烃(Amino-imidazoazaarenes, AIAs)和氨基咔啉(Amino-carbolines)两大类^[8-10]。7 种常见的氨基咔啉类杂环胺(非极性杂环胺)化学结构见图 1。

广式烧鹅是广东的传统美食之一,其烹饪过程极易产生杂环胺,因此,对其杂环胺检测方法的研究就显得尤为必要。目前杂环胺的检测方法虽有很多,但都存在一些缺点和不足^[11]。比如:当采用气相色谱法和气相色谱-质谱法时,杂环胺容

易呈极性和不易挥发的特性而吸附在色谱柱和进样器上,导致出现峰展宽和拖尾等峰形恶化问题,虽然气相色谱-质谱法解决了低浓度杂环胺不易检出的问题^[12],但是仍需将样品衍生化,使前处理更加复杂。液相色谱法是最常见的分析方法,它的缺点是选择性差,灵敏度低。高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱(HPLC-Q-Orbitrap HRMS)的 Orbitrap MS 质量分辨率、灵敏度都较好,并且能够测定精确的相对分子质量^[13],可以根据检测要求,反复调用在全扫描模式下采集的数据,经依赖性扫描(Data-dependent scan)可以获得高质量的二级碎片质谱图,实现对未知风险物质的非定向筛查和对已知风险物质的准确性,弥补了传统低分辨质谱方法(液相色谱-质谱/质谱法)只能测定已知化合物的局限性。近年来,食品安全检测、蛋白质组学等方面的应用研究方兴未艾^[14-16]。

本文利用 HPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术,建立 7 种非极性杂环胺基于正离子模式下的一级母离子的精确质量数、高质量二级碎片质谱图和保留时间等相关数据,以及 7 种非极性杂环胺的 MS/MS 谱库。针对广式烧鹅的特性,优化样品提取

收稿日期: 2021-10-31

基金项目: 广东省普通高校重点领域专项(2020ZDZX1015);
国家自然科学基金青年科学基金项目(32001729);
广东省联合培养研究生示范基地项目(仲恺-广州质量监督检测研究院);广东省重点领域研发计划项目(2020B0202080002)

作者简介: 董浩(1989—),男,博士,副教授

通信作者: 曾晓房 E-mail: xiaofang_zeng2015@163.com

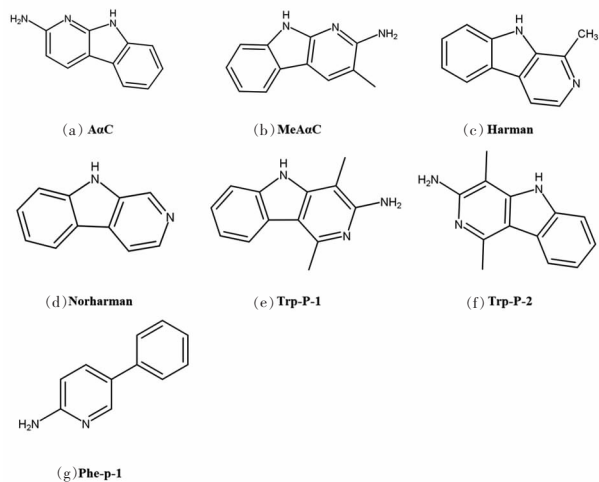


图1 7种非极性杂环胺的化学结构式

Fig.1 Chemical structural formula of 7 nonpolar HAAs

和净化等前处理条件,采用 HPLC-Q-Orbitrap HRMS 正离子全扫描模式,通过提取的二级质谱图,与上述 MS/MS 谱库比较定性,以一级质谱的精确相对分子质量峰面积与标准品比较定量,建立广式烧鹅中非极性杂环胺的筛查定性及定量检测方法。应用此检测方法,抽取市场上部分广式烧鹅的不同部位,进行非极性杂环胺的检测,发现存在非极性杂环胺化合物的暴露风险。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

标准物质:7种非极性杂环胺的中文名称和英文缩写见表1,购自上海 ANPEL 公司;乙腈、甲酸、乙酸铵均为色谱纯级,德国 CNW Technologies GmbH。

1.2 主要仪器及设备

超高效液相色谱-质谱联用系统(该系统包含4个主要部分,即自动进样器、柱温箱以及德国 Thermofisher Scientific 的 Orbitrap 高分辨质谱);利用 XCalibur 4.0 软件控制质谱仪,以及后期的数据处理。色谱柱 Thermo Accucore aQ C18(2.1 mm×150 mm, 2.6 μm)。MS3 digital 涡旋混合器,艾卡(广州)仪器设备有限公司;KDC-40 低速离心机,安徽中科中佳仪器有限公司;N-EVAP 112 水浴氮吹仪,Organomation 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 标准品制备 参考文献[17]的方法配制标准品。

1.3.2 样品制备 试验所用的烧鹅产品(A~D)全部购自广州当地具有一定知名度的饭店和烧腊店。分别采集鹅胸、鹅翅、鹅脯、鹅腿4个部位,将皮和肉分开处理,分别用绞肉机绞碎,在-18℃下贮存待用。

1.3.3 样品提取 参考文献[17]的方法进行样品提取。

1.3.4 样品净化 参考文献[17]的方法进行样品净化。

1.3.5 液相色谱-质谱联用测定条件 液相色谱-质谱联用测定条件参考文献[17]的方法。

2 结果与分析

2.1 色谱条件和质谱定性、定量分析

7种非极性杂环胺在ESI+模式下,均得到[M+H]⁺的准分子离子峰;乙腈和甲醇是2种优良的极性有机溶剂,常用作反相液相色谱的流动相,而乙腈的黏度更低,压力更小,洗脱效率更高;在水相流动相中加入乙酸铵和甲酸分别达到了改善峰形和提高离子化效率的目的^[16];梯度洗脱可以实现7种目标杂环胺的良好分离。因此经反复试验,优化出材料与方法中的色谱条件。根据获得的7种非极性杂环胺的一级高分辨质谱图(均为[M+H]⁺),以及从提取一级母离子中获取的提取离子流色谱图,得到如表1所示结果。

另外,试验还得到了7种非极性杂环胺的二级高分辨质谱图(图2),根据谱图中显示的主要特征碎片,构建标准谱库。在实际样品检测中,该标准谱库可进行匹配、检索,从而达到筛查的目的,更有利于定性分析的进一步确定。同时,在筛查非靶向杂环胺时,利用拥有较高精度的质量数和特征碎片的离子,大大减少了可能的分子式组成数,从而能够更好的推测化合物的分子式或结构,提升筛查效率。通过进一步收集杂环胺标准物质,逐步完善杂环胺的液质质谱库,为肉制品中杂环胺的筛查和安全风险水平评估提供技术支撑。

2.2 提取方法的优化

常见的提取溶剂包括乙腈、乙酸乙酯、二氯甲

表 1 7 种杂环胺的保留时间和准确质量数测定数据

Table 1 Determination data of retention time and accurate mass number of 7 HAAs

非极性杂环胺	理论分子量	准确分子量	质量准确度/ppm	子离子
Norharman	169.076	169.076	0	115.0548, 142.0655
Harman	183.0917	183.0921	2.18	115.0548, 168.0686
Trp-P-2	198.1026	198.103	2.02	154.0655, 181.0764
MeAaC	198.1026	198.103	2.02	181.0764, 154.0655
Trp-P-1	212.1182	212.1187	2.36	195.0923, 168.0813
A α C	184.0869	184.0874	2.72	140.0499, 167.0608
Phe-p-1	171.0917	171.0919	1.17	154.0654, 145.0651

注:质量准确度(ppm)=|理论分子量-准确分子量|/理论分子量 $\times 10^6$ 。

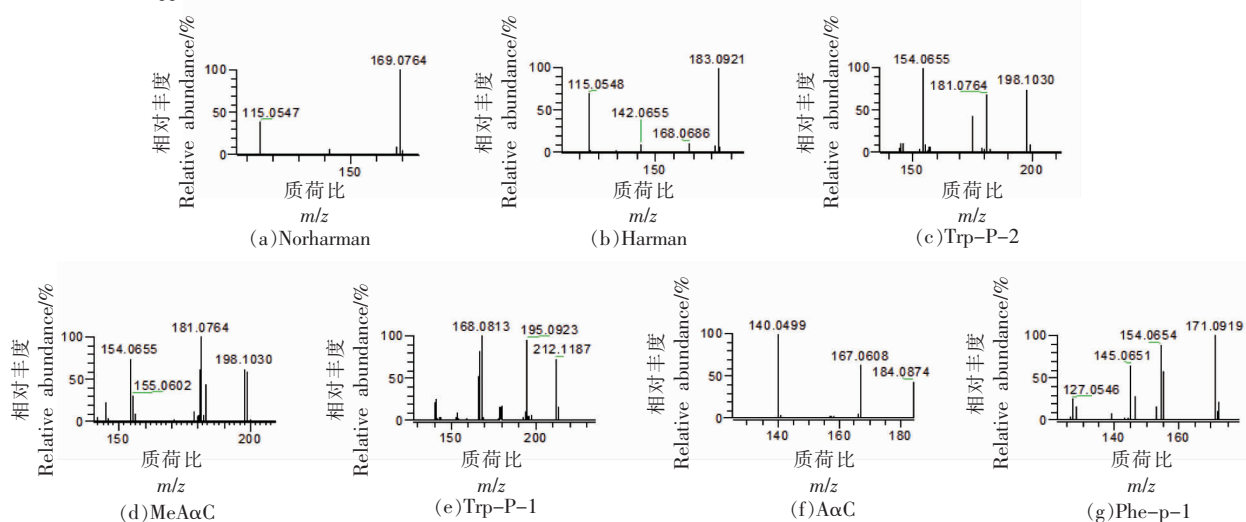


图 2 7 种非极性杂环胺的质谱图

Fig.2 Mass spectrogram of 7 nonpolar HAAs

烷、甲醇^[18]。在这些提取溶剂中,乙腈的优点是极性范围大,相对分子质量较小,因而具有较强的组织穿透能力,拥有良好的沉淀效果^[18]。

加入碱性溶液能加快样品的分散速度,使目标化合物更充分地被提取^[19]。同时为了有效抑制杂环胺的电离,调整了目标物在水相-有机相之间盐析时的分配比,提高了其向乙腈层转移的效率。本文考察了不同浓度的 NaOH 溶液对目标杂环胺提取效率的影响。在不同 NaOH 浓度下,7 种非极性杂环胺的提取回收率见图 3a。在碱性条件下,随着 NaOH 浓度的升高,7 种非极性杂环胺的回收率整体呈上升趋势,在 1 mol/L 时的回收率最佳。当 NaOH 溶液浓度为 1 mol/L 时,在氮吹过程中,提取溶液并不浑浊,表明油脂提取出的量少,原因可能是 NaOH 使部分油脂发生了皂化水解反应,起到了一定的除脂效果。故最终采用 1 mol/L

的 NaOH 溶液搭配乙腈作为提取溶剂。

由于 NaCl 盐析效应在固相萃取过程中对萃取效率有显著影响,因此研究了 0, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0 g 的 NaCl 添加量对 7 种非极性杂环胺提取效果的影响,结果如图 3b 所示。可以看出,在不添加 NaCl 的情况下,杂环胺 A α C、Trp-P-1、Trp-P-2 的回收率较差(<60%)。当 NaCl 添加量为 1.0 g 时,杂环胺的提取回收率均有一定程度提高,而 A α C 与 Trp-P-1 的回收率仍在 70% 以下;当 NaCl 添加量增加到 1.5 g 时,7 种杂环胺的提取回收率均在 80%~120% 之间。当 NaCl 添加量继续增加时,对杂环胺的提取回收率的变化无太大影响。因此,为获得较优的杂环胺提取回收率,最终选择 NaCl 添加量为 1.5 g。

2.3 净化条件的优化

研究了 2 种固相萃取柱 (StrataTM-X-C, 60

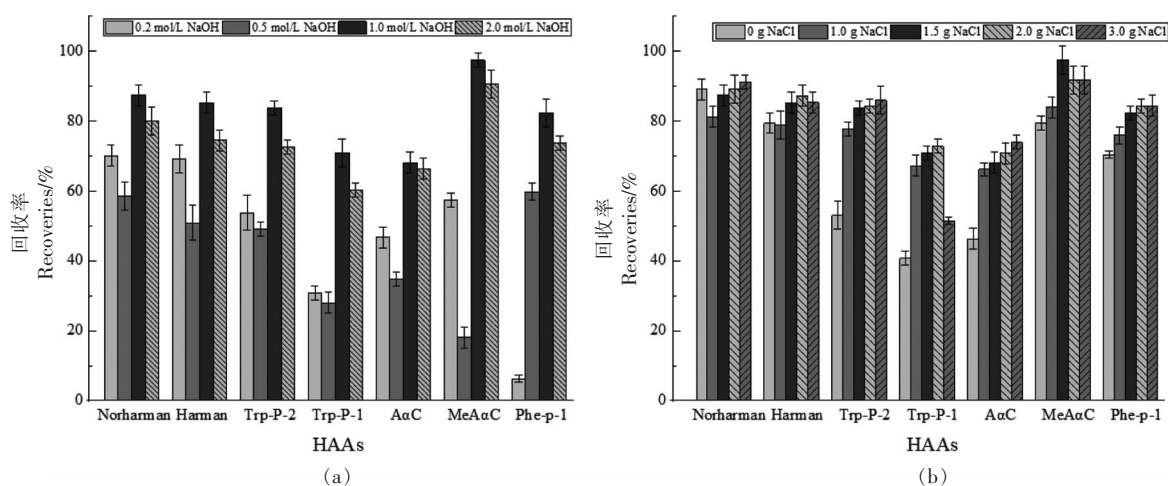


图3 不同NaOH浓度(a)和不同NaCl添加量(b)对7种非极性杂环胺提取回收率的影响

Fig.3 Effect of different concentration of NaOH solution (a) and different NaCl addition (b) on extraction recoveries of 7 nonpolar HAAs

mg/3 mL; PCX, 60 mg/3 mL) 和不使用固相萃取柱的情况, 进行比较和测试。7种杂环胺的提取回收率结果如图4a所示。从图4a可以看出, 采用Strata™-X-C和PCX净化, 各种非极性杂环胺均可获得较好的回收率。Strata™-X-C是一种强阳离子交换柱, 其键合了苯磺酸官能团与杂环胺上的-N⁺可形成较强的离子键, 通过水和甲醇的充分淋洗除杂, Harman、AαC、MeAαC 3种非极性杂环胺的回收率优于使用PCX固相萃取柱。综上, 采用Strata™-X-C固相萃取柱对提取溶液进行净

化, 能提高待测杂环的提取回收率。

本文还研究了甲醇-氨水混合洗脱液的体积比对7种非极性杂环胺提取回收率的影响, 结果如图4b所示。当氨水的体积分数从5%增加到10%时, 大多数非极性杂环胺的提取回收率均有一定程度的上升, 而当氨水的体积分数持续增加时, 部分杂环胺的回收率有不同程度的降低。在体积比为90:10的甲醇-氨水洗脱液下, 杂环胺的整体回收率最优。因此, 本研究的固相萃取柱洗脱溶液最终确定甲醇-氨水的体积比为90:10。

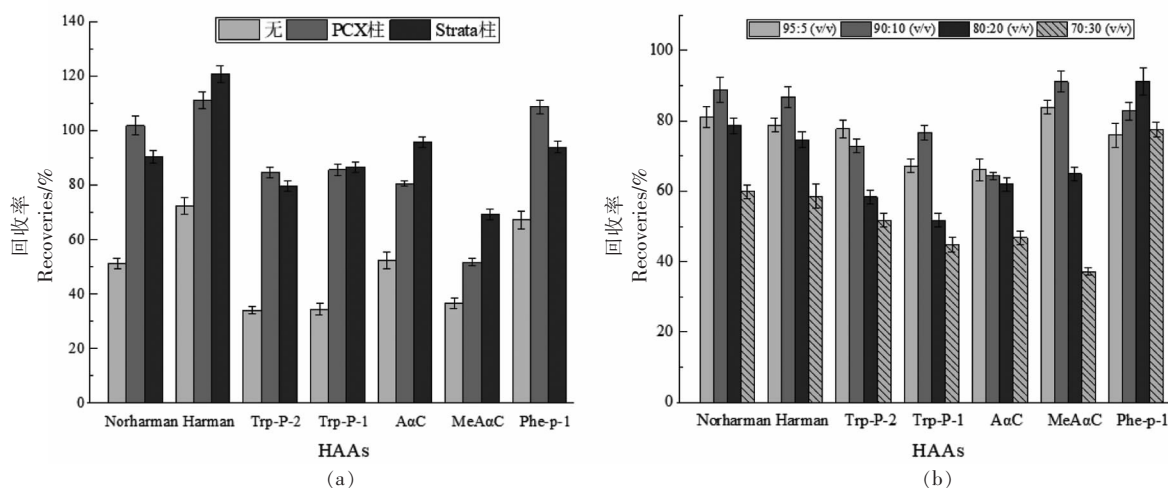


图4 不同固相萃取柱(a)和洗脱液中甲醇与氨水的体积比(b)对7种非极性杂环胺提取回收率的影响

Fig.4 Effects of different solid phase extraction columns (a) and volume ratio of methanol to ammonia (b) in eluent on extraction recoveries of 7 nonpolar HAAs

2.4 方法学考察

用甲醇将标准储备溶液连续稀释至 0.05, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10, 20, 50, 100 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准工作液, 每个质量浓度测定 3 次, 以参考文献[17]的方法进行分析, 得到线性回归方程、检出限和定量限。如表 2 所示, Trp-P-2 和 Phe-p-1 在 0.5~100 $\mu\text{g/L}$ 质量浓度范围内, A α C 在 0.1~50 $\mu\text{g/L}$

质量浓度范围内, 其余 5 种杂环胺在 0.1~100 $\mu\text{g/L}$ 质量浓度范围内, 具有较好的线性关系, 其相关系数分布在 0.996~0.9997 之间。方法检出限确定在 0.02~0.15 $\mu\text{g/kg}$ 之间, 而方法定量限在 0.05~0.5 $\mu\text{g/kg}$ 之间, 因此说明本方法具有良好的线性关系和较高的灵敏度。

表 2 7 种杂环胺的相关检测数据
Table 2 Related detection data of 7 HAAs

极性杂环胺	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	回归方程	R^2	检出限/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	定量限/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
Norharman	0.1~100	$y=0.035199+0.77117x$	0.9991	0.02	0.05
Harman	0.1~100	$y=0.011647+0.48766x$	0.9995	0.03	0.1
Trp-P-2	0.5~100	$y=-0.026392+0.11195x$	0.9978	0.15	0.5
MeA α C	0.1~100	$y=-0.16260+1.0368x$	0.996	0.03	0.1
Trp-P-1	0.1~100	$y=-0.12495+0.78829x$	0.9977	0.03	0.1
A α C	0.1~50	$y=0.18077+1.11912x$	0.996	0.03	0.1
Phe-p-1	0.5~100	$y=0.00081708+0.21010x$	0.9997	0.15	0.5

均匀混合 3 种部位的烧鹅肉样品, 进行加标回收试验, LOQ 添加水平倍数为 1, 2 和 10, 对 3 个添加水平进行 6 次平行试验 ($n=6$), 选取中间添加水平连续试验 5 d ($n=5$), 外标法定量, 其回收率和精密度的结果如表 3 所示, 可以得出 7 种极性

杂环胺的回收率在 71.3%~111.5% 之间, 日内精密度 RSD ($n=6$) 在 2.2%~6.8% 之间, 日间精密度 RSD ($n=5$) 在 2.9%~5.8% 之间, 表明本方法的回收率和精密度良好。

表 3 杂环胺的回收率、日内和日间精密度

Table 3 Recoveries, intra-day precision and inter-day precision of HAAs

杂环胺	加标浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	回收率(日内精密度)/%	回收率(日间精密度)/%
Norharman	0.1, 0.2, 1.0	98.4(4.3), 110.4(2.2), 105.6(4.5)	107.1(4.3)
Harman	0.1, 0.2, 1.0	81.4(6.3), 111.5(5.2), 104.8(3.7)	102.2(5.6)
Trp-P-2	0.5, 1.0, 5.0	89.1(4.8), 76.5(4.6), 85.2(3.1)	85.7(3.5)
MeA α C	0.1, 0.2, 1.0	71.3(5.7), 77.9(6.8), 81.2(3.9)	80.1(3.5)
Trp-P-1	0.1, 0.2, 1.0	90.7(4.0), 81.5(3.6), 83.9(5.5)	87.5(2.9)
A α C	0.1, 0.2, 1.0	82.3(2.9), 103.2(3.4), 88.8(4.7)	89.0(5.8)
Phe-p-1	0.5, 1.0, 5.0	103.0(5.5), 107.9(2.9), 105.3(3.2)	104.1(5.1)

2.5 实际样品检测

分别取 A、B、C、D 4 家饭店烧鹅的鹅胸、鹅翅、鹅脯、鹅腿的皮和肉, 采用本文建立的 HPLC-Q-Orbitrap HRMS 方法对广式烧鹅中的 7 种杂环胺进行检测, 结果见图 5。从图 5 可以看出, 广式烧鹅各个部位样品中均能检测出 HAAs。由图 5 可知, HAAs 污染水平顺序为鹅脯>鹅腿>鹅胸>鹅翅, 原因可能与各个部位的油脂含量不同有关。由

图 5 还可知, HAAs 污染水平呈现皮>肉的现象, 原因可能是, 鹅皮比鹅肉脂肪含量更多, 而且在加工过程中, 皮直接接触外界高温更容易产生杂环胺, 因此皮中 HAAs 的含量远远大于肉。

3 结论

本文采用高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱技术, 建立了广式烧鹅中 7 种非极

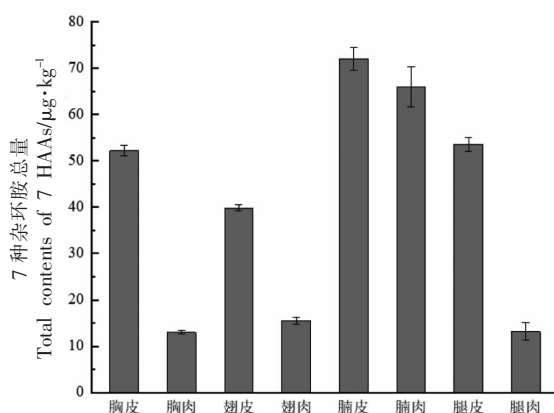


图5 广式烧鹅中不同部位的7种杂环胺总含量

Fig.5 Total contents of 7 HAAs in different parts of Cantonese roast goose

性 HAAs 的检测方法。确立了样品前处理的最优方案：样品中添加 1.5 g 的 NaCl，用 1 mol/L 的 NaOH 溶液和乙腈进行提取和均质后，再使用 Starta™-X-C 固相萃取柱进行净化，最后使用体积比 90:10 的甲醇-氨水作为洗脱液洗脱，最后采用 C18 色谱柱对杂环胺进行分离，以乙腈-1 mol/L 乙酸铵溶液（含 0.05% 甲酸）为流动相，在电喷雾正离子、全扫描和数据依赖性扫描模式下检测，以保留时间、一级离子质量准确度、二级碎片与库匹配准确定性，以一级离子峰面积结合内标法定量。7 种 HAAs 在 0.1~100 μg/L 的线性范围内线性关系良好，该方法灵敏度高，回收率和精密度良好，适用于在中国传统美食广式烧鹅中 7 种 HAAs 的筛选和定量检测。实际样品检测结果表明，鹅皮的 HAAs 含量远远大于鹅肉，可能由于皮中所含蛋白质、油脂等较多所致，符合形成杂环胺前体物质的内容物含量。同时，该方法可以进一步应用于其它加工肉类产品中 HAAs 的检测，可为肉类产品中 HAAs 的形成和抑制研究提供方法学基础。

参 考 文 献

- [1] GIBIS M. Heterocyclic aromatic amines in cooked meat products: Causes, formation, occurrence, and risk assessment[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2016, 15(2): 269-302.
- [2] NEVES T D M, DA CUNHA D T, DE ROSSO V V, et al. Effects of seasoning on the formation of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in meats: A meta-analysis[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2021, 20(1): 526-541.
- [3] 李海霞, 黄俊源, 何昀桐, 等. 不同食品基质中杂环胺的检测技术研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(19): 204-211.
LI H X, HUANG J Y, HE Y T, et al. Research progress of detection technologies for heterocyclic aromatic amines in various food matrices[J]. *Food Research and Development*, 2020, 41(19): 204-211.
- [4] SANZ ALAEJOS M, AFONSO A M. Factors that affect the content of heterocyclic aromatic amines in foods[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2011, 10(2): 52-108.
- [5] SZTERK A. Heterocyclic aromatic amines in grilled beef: The influence of free amino acids, nitrogenous bases, nucleosides, protein and glucose on HAAs content[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2015, 40: 39-46.
- [6] STEINBERG P, BEHNISCH P A, BESSELINK H, et al. Screening of molecular cell targets for carcinogenic heterocyclic aromatic amines by using CALUXA (R) reporter gene assays[J]. *Cell Biology and Toxicology*, 2017, 33(3): 283-293.
- [7] UTYANOV D A, KULIKOVSKII A V, KNYAZEVA A S, et al. Studies of heterocyclic aromatic amines accumulation in meat products, depending on the raw materials type and the heat treatment duration[J]. *Journal of Animal Science*, 2020, 98: 363-364.
- [8] OZ F, KAYA M. Heterocyclic aromatic amines in meat[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2011, 35(6): 739-753.
- [9] PAN H, WANG Z, GUO H, et al. Heterocyclic aromatic amines in meat products consumed in China[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2014, 23(6): 2089-2095.
- [10] ZAMORA R, HIDALGO F J. Formation of heterocyclic aromatic amines with the structure of aminoimidazoarenes in food products[J]. *Food Chemistry*, 2020, 313: 126128.
- [11] BARZEGAR F, KAMANKESH M, MOHAMMADI A. Heterocyclic aromatic amines in cooked food: A review on formation, health risk-toxicology and their analytical techniques[J]. *Food Chemistry*, 2019, 280: 240-254.

- [12] 岑明桦, 许莹盈, 叶培辉, 等. 热加工肉制品中杂环胺的分析检测技术研究进展[J]. 肉类研究, 2020, 34(9): 96-104.
CEN M H, XU Y Y, YE P H, et al. Progress in analytical techniques for heterocyclic aromatic amines in heat-processed meat products[J]. Meat Research, 2020, 34(9): 96-104.
- [13] SU C, LI C, SUN K, et al. Quantitative analysis of bioactive components in walnut leaves by UHPLC-Q-Orbitrap HRMS combined with QAMS [J]. Food Chemistry, 2020, 331: 127180.
- [14] XIAN Y, WU Y, DONG H, et al. Modified QuEChERS purification and Fe₃O₄ nanoparticle decoloration for robust analysis of 14 heterocyclic aromatic amines and acrylamide in coffee products using UHPLC-MS/MS[J]. Food Chemistry, 2019, 285: 77-85.
- [15] ZUO L, LI J, XUE L, et al. Integrated UPLC-MS/MS and UHPLC-Q-orbitrap HRMS analysis to reveal pharmacokinetics and metabolism of five terpenoids from *Alpinia oxyphylla* fructus in rats[J]. Current Drug Metabolism, 2021, 22(1): 70-82.
- [16] DONG H, XIAN Y, LI H, et al. Analysis of heterocyclic aromatic amine profiles in Chinese traditional bacon and sausage based on ultrahigh-performance liquid chromatography-quadrupole-Orbitrap high-resolution mass spectrometry (UHPLC-Q-Orbitrap-HRMS)[J]. Food Chemistry, 2020, 310: 125937.
- [17] XU Y, LI H, LIANG J, et al. High-throughput quantification of eighteen heterocyclic aromatic amines in roasted and pan-fried meat on the basis of high performance liquid chromatography-quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2021, 361: 130147.
- [18] 刘小勤, 佟玲, 孟文婷, 等. 气相色谱-三重四极杆串联质谱法测定白芍中 99 种农药残留[J]. 色谱, 2015, 33(8): 869-877.
LIU X Q, TONG L, MENG W T, et al. Determination of 99 pesticide residues in *Paeoniae radix alba* by gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2015, 33(8): 869-877.
- [19] COOPER K M, JANKHAIKHOT N, CUSKELLY G. Optimised extraction of heterocyclic aromatic amines from blood using hollow fibre membrane liquid-phase microextraction and triple quadrupole mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2014, 1358: 20-28.
- [20] AEENEHVAND S, TOUDEHROUSTA Z, KAMANKESH M, et al. Evaluation and application of microwave-assisted extraction and dispersive liquid-liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography for the determination of polar heterocyclic aromatic amines in hamburger patties[J]. Food Chemistry, 2016, 190: 429-435.

Determination of 7 Nonpolar Heterocyclic Aromatic Amines in Cantonese Roast Goose by HPLC-Q-Orbitrap-HRMS

Dong Hao¹, Huang Junyuan¹, He Yuntong¹, Xian Yanping², Bai Weidong¹, Zeng Xiaofang^{*}

¹Key Laboratory of Green Processing and Intelligent Manufacturing of Lingnan Specialty Food, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Academy of Contemporary Agricultural Engineering Innovations, Guangdong Provincial Key Laboratory of Lingnan Specialty Food Science and Technology, College of Light Industry and Food Sciences, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225

²Food Safety Early Warning R&D Center, Guangzhou Quality Supervision and Testing Institute, Guangzhou 510447)

Abstract It is of significance to detect and monitor the heterocyclic aromatic amines (HAAs) contents in Cantonese roast goose because they are very easy to be formed in the high-temperature processing. In order to develop a method on the basis of high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole orbitrap high-resolution mass spectrometry (HPLC-Q-Orbitrap HRMS) for the determination of 7 HAAs in Cantonese roast goose, one of the traditional Chinese food, samples were homogenized with NaOH-acetonitrile solution, which could achieve saponification hydrolysis of oil in the samples and extraction of target HAAs. The extraction solution was purified by Strata™-X-C solid phase extraction

cartridge, separated on a C18 column by gradient elution with mobile phase consisting of acetonitrile and 1 mmol/L ammonium acetate containing 0.05% formic acid, detected by electrospray positive ion, full scan and data-dependent scan modes. Retention time, accuracy of primary ion mass in combination with matching of secondary fragments to the library was used for qualitative analysis, and the internal standard method combined with the peak area of primary ion was used for quantitative analysis of HAAs. Results showed that the mass accuracy of the target HAAs was less than 3×10^{-6} , with good linearity in the range of 0.100–100 $\mu\text{g/L}$, and the correlation coefficients were greater than 0.997. The limits of detection and limits of quantification were 0.02–0.15 $\mu\text{g/kg}$ and 0.05–0.5 $\mu\text{g/kg}$, respectively. Recoveries of 7 HAAs were good at three spiked concentrations. The established HPLC-Q-Orbitrap HRMS method has high sensitivity, accurate and reliable results, and can be applied to detecting nonpolar HAAs in Cantonese roast goose.

Keywords heterocyclic aromatic amines; liquid chromatography; high resolution mass spectrometry; Cantonese roast goose