



叶惠萍,曾晓房,白卫东,等. 红烧乳鸽中 11 种极性杂环胺的 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 检测[J]. 轻工学报,2023,38(2):56-62.
YE H P,ZENG X F,BAI W D,et al. Determination of 11 polar heterocyclic aromatic amines in braised squab by UHPLC-Q-Orbitrap HRMS[J]. Journal of Light Industry,2023,38(2):56-62.
DOI:10.12187/2023.02.007

红烧乳鸽中 11 种极性杂环胺的 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 检测

叶惠萍¹,曾晓房^{1,2,3},白卫东^{1,2,3},肖更生^{1,2,3},杨娟^{1,2,3},洗燕萍⁴,
陈伟波⁵,董浩^{1,2,3}

1. 仲恺农业工程学院 轻工食品学院,广东 广州 510225;
2. 广东省岭南特色食品科学与技术重点实验室,广东 广州 510225;
3. 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,广东 广州 510225;
4. 广州质量监督检测研究院,广东 广州 510110;
5. 梅州市金绿现代农业发展有限公司,广东 梅州 514000

摘要:以市售红烧乳鸽为研究对象,建立超高效液相色谱-四极轨道高分辨质谱(UHPLC-Q-Orbitrap HRMS)联用法,并对红烧乳鸽样品中不同部位 11 种极性杂环胺含量进行检测。结果表明:建立的方法线性关系良好、灵敏度较高,11 种杂环胺的质量准确度均 $<3\times 10^{-6}$,决定系数 $R^2\geq 0.997 2$,方法的检出限为 $0.03\sim 0.60\ \mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 $0.10\sim 2.00\ \mu\text{g}/\text{kg}$;该方法具有稳定的回收率和一定的精确性,11 种杂环胺的回收率为 $83.40\%\sim 114.80\%$,精密密度为 $1.40\%\sim 7.20\%$,结果良好;红烧乳鸽中主要检出 MeIQx($0.10\sim 0.46\ \mu\text{g}/\text{kg}$)、PhIP($0.10\sim 0.53\ \mu\text{g}/\text{kg}$)和 DMIP($0.10\sim 0.25\ \mu\text{g}/\text{kg}$)3 种杂环胺,乳鸽部位中 HAAs 总含量由多到少依次为鸽跟>鸽胸>鸽翅>鸽腿。

关键词:杂环胺;红烧乳鸽;超高效液相色谱-四极轨道高分辨质谱联用法

中图分类号:TS201.6 **文献标识码:**A **文章编号:**2096-1553(2023)02-0056-07

0 引言

杂环胺(Heterocyclic Aromatic Amines, HAAs)是指富含蛋白质的食品原料经高温烘烤、煎炸等加

工后产生的一类具有强致癌性、致突变性的多环芳香族化合物。杂环胺类化合物主要分为两类:一类为氨基咪唑氮杂芳烃类,其结构一般以 N-甲基-氨基咪唑为主体^[1],故又名极性杂环胺,由肉制品中主要

收稿日期:2022-05-04

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(32001729);广东省普通高校特色创新项目(2022KTSCX058);广东省岭南特色食品科学与技术重点实验室项目(2021B1212040013);广东省驻镇帮镇扶村农村科技特派员项目(KTP20210224);梅州市兴宁市肉鸽产业园技术研发项目(粤农农函[2021]1024号);广东省仲恺农业工程学院-广州质量监督检测研究院联合培养研究生示范基地项目(粤教研函[2021]2号);仲恺农业工程学院研究生科技创新基金项目(KJCX2022013)

作者简介:叶惠萍(1997—),女,广东省东莞市人,仲恺农业工程学院硕士研究生,主要研究方向为食品加工与安全。E-mail: hpye@foxmail.com

通信作者:董浩(1989—),男,安徽省亳州市人,仲恺农业工程学院副教授,博士,主要研究方向为食品中危害物分析与调控、食品真实性与溯源。E-mail: donghao@zhku.edu.cn

前体物质(如肌酸、肌酸酐、氨基酸等)在低于 250 °C 条件下经美拉德反应生成;另一类为氨基咪唑类,又称非极性杂环胺,由氨基酸或蛋白质在高于 250 °C 条件下裂解产生^[2-3]。杂环胺易在油炸等日常烹饪方式中产生,长期或过量摄入会损害人体健康,故对热加工肉制品中杂环胺含量进行监测非常重要^[4-5]。

目前,常用的杂环胺检测方法主要包括气相色谱(GC)法、气相色谱-质谱(GC-MS)法、高效液相色谱(HPLC)法、液相色谱-质谱/质谱(LC-MS/MS)法等^[6-11]。其中,超高效液相色谱-四级轨道高分辨质谱(UHPLC-Q-Orbitrap HRMS)联用法具有较高的灵敏度和分辨率,质量数检测更精确,仅需全扫描和精确质量数色谱图即可完成定性和定量分析。该方法能够显著消除基质干扰,提高样品分析的准确性和选择性,实现对未知风险物质的筛查和对已知风险物质的准确定性,解决 LC-MS 稳定性较差、只能测定已知化合物的问题^[12],近年来,已广泛应用于食品安全检测、代谢组学等领域^[13-14]。

红烧乳鸽是一道外焦内嫩、肉鲜多汁、风味优良的粤菜菜品,其主要工艺流程为腌制和烧制,其中,烧制需要以 160 °C 的油温炸制 2 min^[15]。而普通作坊在乳鸽的烧制过程中通常难以精准控制油温,容易导致局部温度过高,极易产生杂环胺^[16]。目前对不同烹饪方式鸡肉、鸭肉中的 HAAs 已有诸多研究^[15,17-18],但针对红烧乳鸽中氨基咪唑氮杂芳烃类杂环胺检测方法研究尚未见报道。鉴于此,本文拟采用 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 联用法对红烧乳鸽中 11 种极性杂环胺进行快速定量分析和准确质量数确认,建立红烧乳鸽中杂环胺的定性和定量检测方法,通过检测分析乳鸽各部位中极性杂环胺的含量,明晰极性杂环胺化合物在乳鸽不同部位的暴露风险,以期对乳鸽烧制过程中对杂环胺化合物的监控提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

红烧乳鸽,购于广州市内 4 家乳鸽专卖店,分别编号为 A、B、C、D。

IQ(2-氨基-3-甲基咪唑并[4,5-f]喹啉)、IQ[4,5-b](2-氨基-1-甲基咪唑并[4,5-b]喹啉)、

IQx(2-氨基-3-甲基咪唑并[4,5-f]喹啉)、MeIQ(2-氨基-3,4-二甲基咪唑并[4,5-f]-喹啉)、MeIQx(2-氨基-3,8-二甲基咪唑并[4,5-f]-喹啉)、7,8-DiMeIQx(2-氨基-3,7,8-三甲基咪唑并[4,5-f]-喹啉)、4,8-DiMeIQx(2-氨基-3,4,8-三甲基咪唑并[4,5-f]-喹啉)、PhIP(2-氨基-1-甲基-6-苯基咪唑并[4,5-b]-吡啶)、DMIP(2-氨基-1,6-二甲基咪唑并[4,5-b]-吡啶)、3,5,6-TMIP(2-氨基-3,5,6-三甲基咪唑并[4,5-b]吡啶)、IFP(2-氨基-1,6-二甲基咪唑并[4,5-b]-吡啶),纯度均≥98%,上海安谱实验科技股份有限公司产;乙腈(色谱纯),美国默克公司产;甲酸、乙酸铵,均为色谱纯,德国 CNW 公司产;NaOH、NaCl 和其他试剂,均为分析纯,广州化学试剂厂产。

1.2 主要仪器

UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 系统包括 Dionex Ultimate 3000 型液相泵、自动进样器和 Q Exactive Focus 型质谱仪,德国 Thermo Fisher Scientific 公司产;MS3 digital 型涡旋混合器,德国 IKA 公司产;KQ-500E 型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司产;KDC-40 型低速离心机,安徽中科中佳公司产;Milli-Q 型超纯水仪,美国 Millipore 公司产;N-EVAP 112 型水浴氮吹仪,美国 OA 公司产;3K15 型高速离心机,美国 Sigma 公司产。

1.3 样品前处理

分别采集红烧乳鸽 A、B、C、D 的鸽腿、鸽翅、鸽胸、鸽跟处的肉和皮,搅碎后放进密封袋,置于 -18 °C 下冷冻,待测。

分别称取 1.0 g 上述待测样品于 50 mL 离心管中,依次加入 4 mL 0.2 mol/L、0.5 mol/L、1.0 mol/L 和 2.0 mol/L 的 NaOH 溶液和 6 mL 的乙腈,均质 30 s 后加入 1.5 g NaCl,涡旋 2 min;在 4500 r/min 转速下离心 5 min,移取上清液于 15 mL 玻璃管中,再在沉淀中加入 4 mL 乙腈提取 1 次,合并乙腈上清液,经 40 °C N₂ 吹至约 2 mL,待净化。

用 3 mL 甲醇、3 mL 蒸馏水、3 mL 体积分数为 1%的甲酸溶液对固相萃取柱进行活化和平衡;将提取液全部通过阳离子交换固相萃取柱,依次用 3 mL 0.1%甲酸、3 mL 蒸馏水和 3 mL 无水甲醇进行淋

洗,再用 4 mL 甲醇-氨水混合溶液($V(\text{甲醇}) : V(\text{氨水}) = 9 : 1$)进行洗脱;收集洗脱液,经 40 °C N_2 吹至干,用流动相($V(1 \text{ mol/L 乙酸铵}(\text{含有 } 0.05\% \text{ (百分数指体积分数,下同)的甲酸})) : V(\text{乙腈}) = 95 : 5$)定容至 1.0 mL,过 0.22 μm PFTE 滤膜后,待检测。

加标回收实验:选择 3 种不同部位的红烧乳鸽作为测试样品,混匀后进行加标回收实验,添加水平为 $1 \times \text{LOQ}$ (定量限)、 $2 \times \text{LOQ}$ 和 $10 \times \text{LOQ}$,对 3 个添加水平各进行 6 次平行实验($n=6$),选取中等添加水平连续实验 5 d($n=5$),采用外标法进行定量。

1.4 LC-MS 条件

LC 条件:色谱柱为 Thermo Accucore aQ C18 (2.1 mm \times 150 mm \times 2.7 μm),柱温为 30 °C;流动相中,A 相为 1 mmol/L 乙酸铵溶液(含有 0.05%的甲酸),B 相为乙腈;梯度洗脱程序为 0~0.5 min,95% A;0.5~7 min,95%~80% A;7~9.5 min,80%~40% A;9.5~9.6 min,40%~5% A;9.6~11 min,5% A;11~11.5 min,5%~95% A;11.5~13 min,95% A;进样量为 3 μL ;流速为 0.3 mL/min。

MS 条件:HESI 离子源为正离子模式,喷雾电压为 3.5 kV,毛细管温度为 320 °C,喷雾温度为 250 °C。Full MS 正离子模式一级全扫描范围(m/z)为 50~650 amu,分辨率为 70 000。

2 结果与讨论

2.1 定性、定量分析

11 种极性 HAAs 在 ESI+ 模式下均得到 $[M +$

$\text{H}]^+$ 的准分子离子峰。乙腈具有黏度低、压力小、洗脱效率高等优点,流动相中加入乙酸铵与甲酸可以起到调整峰形和提高离子化效率的作用。运用梯度洗脱的方法可实现 11 种极性 HAAs 的良好分离。因此,在反复优化下,得出最终 HAAs 的 MS 测定结果见表 1。由表 1 可知,11 种极性 HAAs 的质量准确度均小于 3.0×10^{-6} ,符合欧盟指令 2002/657/EC 中的定性确证准则^[19],可进入下一步实验。

2.2 提取溶剂的优化结果

11 种目标 HAAs 的酸解离常数(pK_a)差异较大,因此,选择的提取溶剂需兼顾不同极性 HAAs 的要求,同时实验过程中应尽量减少油脂共提。相较于极性较强、易把杂质共提的甲醇^[20],乙腈具有极性范围较大、对脂肪和蛋白质等有良好沉淀效果的特点^[21],并且对 11 种极性 HAAs 均具有较好的提取能力,因此本文选择乙腈作为提取溶剂。为使目标化合物被充分提取,实验中可适当引入碱性水溶液。本文考查了 0.2 mol/L、0.5 mol/L、1.0 mol/L 和 2.0 mol/L 的 NaOH 溶液对目标 HAAs 的提取效果。不同浓度 NaOH 对 11 种极性 HAAs 回收率的影响见图 1。由图 1 可知,随着 NaOH 浓度的增大,11 种极性 HAAs 的回收率整体呈先上升后下降的趋势。实验过程中笔者观察到,当 NaOH 浓度为 1 mol/L 时, N_2 吹浓缩后所得提取液浑浊度最低,基质效应也较低,即提取出的油脂量最少,这可能是 NaOH 的加入使部分油脂发生皂化反应所致,同时也说明碱有一定的除脂作用。当 NaOH 浓度为 2 mol/L 时,提取溶液容易出现乳化现象,影响分

表 1 11 种 HAAs 的 MS 测定结果

Table 1 MS detection results of 11 HAAs

极性 HAAs	理论相对分子质量	准确相对分子质量	质量准确度/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	子离子
IQ	199.097 8	199.097 9	0.35	184.074 3, 157.063 6
IQ[4,5-b]	199.097 8	199.098 2	2.01	184.074 7, 142.052 9
IQx	200.093 1	200.092 9	0.85	185.069 5, 158.058 4
MeIQ	213.113 5	213.113 3	0.75	198.089 9, 170.071 2
MeIQx	214.108 7	214.108 7	0.14	199.085 2, 172.074 3
7,8-DiMeIQx	228.124 4	228.124 0	1.75	213.100 7, 187.098 3
4,8-DiMeIQx	228.124 4	228.123 9	1.80	212.092 9, 185.082 1
PhIP	225.113 5	225.113 3	0.62	210.089 8, 168.068 1
DMIP	163.097 8	163.097 7	0.43	148.074 3, 105.045 1
3,5,6-TMIP	177.113 7	177.113 5	1.13	162.090 2, 147.066 7
IFP	203.092 7	203.092 9	0.98	188.069 5, 187.061 6

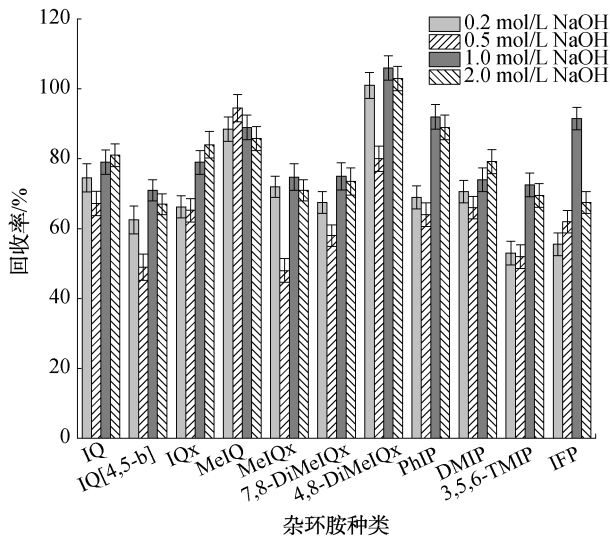


图 1 不同浓度 NaOH 对 11 种极性 HAAs 回收率的影响

Fig. 1 Effects of different concentrations of NaOH on recovery of 11 polar HAAs

层,从而干扰目标化合物在乙腈层的分配,使 HAAs 的回收率显著降低。因此,选择乙腈和 1 mol/L NaOH 溶液作为 HAAs 的适宜提取溶剂。

2.3 方法学考查结果

每个质量浓度的标准溶液测试 3 次,得到线性回归方程和线性范围。实验平行 3 次,确定方法的检出限(LOD)和定量限。本文方法检测 11 种极性 HAAs 的性能参数见表 2。由表 2 可知,IQ 和 MeIQ 在 0.5~50.0 $\mu\text{g/L}$ 质量浓度范围、IFP 在 2.0~100.0 $\mu\text{g/L}$ 质量浓度范围、其余 8 种 HAAs 分别在 0.5~100.0 $\mu\text{g/L}$ 和 0.1~100.0 $\mu\text{g/L}$ 质量浓度范围内,均具有较好的线性关系,其决定系数 R^2 为

表 2 本文方法检测 11 种极性 HAAs 的性能参数

Table 2 Method property parameters of 11 polar HAAs

极性 HAAs	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/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	回收率/%	精密度/%
IQ	0.5~50	$y=0.013\ 835+0.134\ 18x$	0.998 2	0.15	0.50	84.90~95.50	3.60~6.30
IQ[4,5-b]	0.5~100	$y=-0.026\ 144+0.141\ 01x$	0.998 7	0.15	0.50	93.90~105.30	1.40~6.30
IQx	0.5~100	$y=-0.058\ 697+0.568\ 58x$	0.998 8	0.15	0.50	87.20~96.80	2.50~5.20
MeIQ	0.5~50	$y=-0.007\ 905\ 7+0.131\ 54x$	0.998 9	0.15	0.50	90.30~103.40	3.90~5.80
MeIQx	0.1~100	$y=-0.048\ 427+0.660\ 91x$	0.999 0	0.03	0.10	85.10~114.80	2.40~4.50
7,8-DiMeIQx	0.5~100	$y=-0.038\ 171+0.507\ 43x$	0.999 4	0.15	0.50	92.50~104.00	4.40~7.20
4,8-DiMeIQx	0.1~100	$y=-0.066\ 999+0.664\ 86x$	0.999 0	0.03	0.10	103.10~114.60	2.90~4.90
PhIP	0.1~100	$y=-0.180\ 84+1.311\ 11x$	0.999 4	0.03	0.10	94.40~102.10	2.50~7.20
DMIP	0.1~100	$y=0.294\ 83+1.114\ 26x$	0.997 2	0.03	0.10	91.60~102.80	2.00~4.10
3,5,6-TMIP	0.5~100	$y=-0.010\ 476+0.152\ 53x$	0.999 3	0.15	0.50	83.40~110.60	1.70~4.40
IFP	2.0~100	$y=-0.008\ 305\ 1+0.020\ 976x$	0.997 3	0.60	2.00	98.20~104.90	3.80~6.80

0.997 2~0.999 4;方法的检出限为 0.03~0.60 $\mu\text{g/kg}$,方法的定量限为 0.10~2.00 $\mu\text{g/kg}$,说明该方法线性关系良好、灵敏度较高。11 种极性 HAAs 的回收率为 83.40%~114.80%,精密性(RSD)为 1.40%~7.20%,表明该方法具有稳定的回收率和一定的精确性,可满足对红烧乳鸽中 HAAs 含量的检测要求。

2.4 实际样品检测

4 份红烧乳鸽样品不同部位主要极性 HAAs 含量见表 3—表 6。由表 3—表 6 可知,4 份红烧乳鸽中主要检出 MeIQx、PhIP 和 DMIP 3 种 HAAs,其中 PhIP 最高含量为 0.53 $\mu\text{g/kg}$,MeIQx 最高含量为 0.46 $\mu\text{g/kg}$,不同样品 3 种 HAAs 的含量差别较大,这可能与不同店家的腌制和烧制条件不同有关。含量最高的 PhIP 易于在干热条件下产生,且与禽肉的种类有关^[22-23]。图 2 为红烧乳鸽不同部位中 11 种极性 HAAs 的总含量。结合图 2 可知,不同部位所产生的 HAAs 总含量不同。红烧乳鸽皮中 HAAs 总含量比鸽肉中高约 3~6 倍。这可能是因为鸽皮中含有较多的蛋白质和脂肪,直接接触 160 $^{\circ}\text{C}$ 左右高温热源后会分解生成 HAAs 的前体物质,或通过脂质氧化促进 HAAs 的生成,且鸽皮厚度较薄,更便于热量传递,促进这些物质不断溶出并与鸽肉进行物质交换,从而使 HAAs 总含量增高^[24-26]。同时,鸽肉的不同形态和厚度也会影响 HAAs 的总含量^[27]。鸽肉中虽然富含可作为 HAAs 前体物质的游离氨基酸、肌酐、肌酸和还原糖,但需经过鸽皮的间接加热

表3 4份红烧乳鸽翅中主要极性 HAAAs 含量

Table 3 Content of major polar HAAAs in skin and meat of pigeon's wing $\mu\text{g}/\text{kg}$

极性 HAAAs	皮				肉			
	A	B	C	D	A	B	C	D
DMIP	ND	0.19	0.16	NQ	ND	NQ	ND	ND
MeIQx	ND	0.34	0.32	NQ	ND	0.10	NQ	ND
PhIP	ND	ND	0.31	ND	ND	ND	NQ	ND

注:ND表示未检出;NQ表示未定量。下同。

表4 4份红烧乳鸽跟中主要极性 HAAAs 含量

Table 4 Content of major polar HAAAs in skin and meat of pigeon's heel $\mu\text{g}/\text{kg}$

极性 HAAAs	皮				肉			
	A	B	C	D	A	B	C	D
DMIP	ND	0.14	0.25	NQ	ND	NQ	ND	ND
MeIQx	ND	0.29	0.46	NQ	ND	ND	NQ	ND
PhIP	ND	ND	0.53	0.11	ND	ND	NQ	ND

表5 4份红烧乳鸽腿中主要极性 HAAAs 含量

Table 5 Content of major polar HAAAs in skin and meat of pigeon's legs $\mu\text{g}/\text{kg}$

极性 HAAAs	皮				肉			
	A	B	C	D	A	B	C	D
DMIP	ND	0.15	0.15	NQ	ND	ND	ND	ND
MeIQx	ND	0.35	0.19	ND	ND	ND	ND	ND
PhIP	ND	ND	0.42	ND	ND	ND	NQ	ND

表6 4份红烧乳鸽胸中主要极性 HAAAs 含量

Table 6 Content of major polar HAAAs in skin and meat of pigeon's breasts $\mu\text{g}/\text{kg}$

极性 HAAAs	皮				肉			
	A	B	C	D	A	B	C	D
DMIP	NQ	0.13	0.17	NQ	ND	ND	0.10	ND
MeIQx	ND	0.20	0.33	NQ	ND	ND	0.15	ND
PhIP	ND	ND	0.48	ND	ND	ND	0.11	ND

和本身厚实肉质的阻隔,因而减缓了HAAAs的生成。4份乳鸽不同部位中HAAAs总含量由多到少依次为:鸽跟>鸽胸>鸽翅>鸽腿。这可能是相较于肉质较厚的鸽翅、鸽胸,鸽跟处的皮和肉较少,更易烹饪熟,而长时间的烧制会使其产生更多的HAAAs。

3 结论

本文以市售红烧乳鸽为原材料,建立了UH-PLC-Q-Orbitrap HRMS 联用方法:在对样品添加1.5 g NaCl、1 mol/L NaOH溶液和乙腈进行提取和

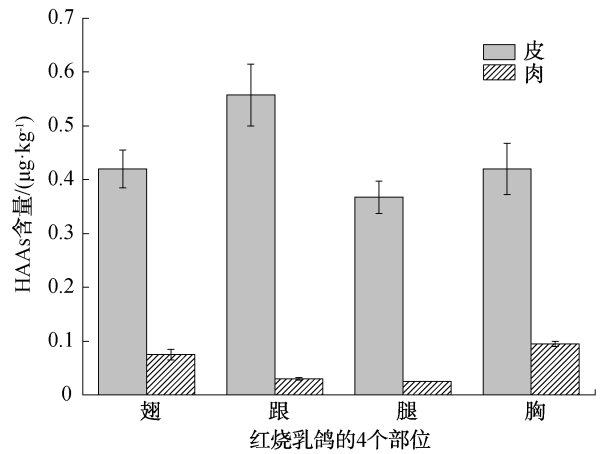


图2 红烧乳鸽不同部位中11种极性HAAAs的总含量

Fig. 2 Total amount of 11 HAAAs in skin and meat of braised squab

均质后,使用甲醇-氨水混合溶液($V(\text{甲醇}):V(\text{氨水})=9:1$)和PCX固相萃取柱洗脱净化,再采用C18色谱柱对HAAAs进行分离检测HAAAs含量。结果表明,在以乙腈和1 mmol/L乙酸铵溶液(含0.05%的甲酸)为洗脱剂的条件下,IQ和MeIQ在0.5~50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 范围内线性良好,IFP在2.0~100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 范围内线性良好,其余8种HAAAs分别在0.5~100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和0.1~100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 范围内线性良好,所得回收率与精密度结果良好;红烧乳鸽中HAAAs主要为MeIQx、PhIP和DMIP,其中PhIP含量最高,达0.53 $\mu\text{g}/\text{kg}$,MeIQx次之,为0.46 $\mu\text{g}/\text{kg}$;鸽皮检出的HAAAs总含量显著高于鸽肉,且4个部位中鸽跟的HAAAs总含量最高。本文建立的SPE-UHPLC-Q-Orbitrap HRMS检测方法灵敏度高、结果准确可靠,可应用于红烧乳鸽中极性杂环胺的检测,为肉制品中杂环胺的形成与控制研究提供新思路。

参考文献:

- [1] 廖国周. 烧烤肉制品中杂环胺形成规律研究[D]. 南京:南京农业大学,2008.
- [2] MEURILLON M, ENGEL E. Mitigation strategies to reduce the impact of heterocyclic aromatic amines in proteinaceous foods [J]. Trends in Food Science and Technology, 2016, 50: 70-84.
- [3] 张明. 烹调过程中杂环胺类化合物的产生与控制[J]. 食品安全导刊, 2017(15): 37.
- [4] DEMIEOK SONCU E, HASKARACA G, KOLSARICI N.

- Presence of acrylamide and heterocyclic aromatic amines in breaded chicken meat products and dietary exposure of Turkish population from Ankara based on the food frequency questionnaire study [J]. *European Food Research and Technology*, 2018, 244(3): 501-511.
- [5] KHAN I A, YIQUN C, ZONGSHUAI Z, et al. Occurrence of heterocyclic amines in commercial fast-food meat products available on the Chinese market and assessment of human exposure to these compounds [J]. *Journal of Food Science*, 2019, 84(1): 192-200.
- [6] HSU K Y, CHEN B H. A comparative study on the formation of heterocyclic amines and cholesterol oxidation products in fried chicken fiber processed under different traditional conditions [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 126: 109300.
- [7] CHEVOLLEAU S, BOUVILLE A, DEBRAUWER L. Development and validation of a modified QuEChERS protocol coupled to UHPLC-APCI-MS/MS for the simple and rapid quantification of 16 heterocyclic aromatic amines in cooked beef [J]. *Food Chemistry*, 2020, 316: 126327.
- [8] ZAMORA R, LAVADO-TENA C M, HIDALGO F J. Reactive carbonyls and the formation of the heterocyclic aromatic amine 2-amino-3, 4-dimethylimidazo(4, 5-f) quinoxaline (MeIQ) [J]. *Food Chemistry*, 2020, 324: 126898.
- [9] JINAP S, JAAFAR S N, HASNOL N D S, et al. Effect of a different mobile phase on LC-ESI-MS/MS performance for the identification and quantitation of polar and nonpolar heterocyclic amines in cooked chicken [J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2020, 14(1): 262-271.
- [10] 曾茂茂, 李洋, 何志勇, 等. 液相色谱-质谱联用法结合主成分分析考察食品中前体物质对杂环胺生成的影响 [J]. *分析化学*, 2014, 42(1): 71-76.
- [11] 李敏, 徐东明, 杨钰雯, 等. 离子液体双水相体系结合UPLC检测食醋中杂环胺的方法 [J]. *轻工学报*, 2022, 37(4): 26-33.
- [12] WU B, DING T, LIU H, et al. Fast screening ninety-six pesticides in six kinds of agricultural products by high performance liquid chromatography quadrupole/electrostatic field orbit trap high-resolution mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2012, 30(12): 1246-1252.
- [13] DONG H, XIAN Y P, LI H X, 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.
- [14] 李嘉, 左莉华, 裴健颖, 等. 基于UHPLC-Q-Orbitrap HRMS技术的补骨脂素在大鼠体内代谢产物的鉴定及代谢途径的分析 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2021, 38(10): 1024-1032.
- [15] 盖圣美, 张雪娇, 王南, 等. 3种熏烤鸡肉制品中杂环胺含量的检测与比较 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(23): 6182-6187.
- [16] 潘腾, 王雅琪, 刘欢, 等. 烤鸭红外蒸汽烤制工艺参数优化及对杂环胺含量作用研究 [J]. *肉类工业*, 2018(12): 21-30.
- [17] OZ F, KABAN G, KAYA M. Effects of cooking methods and levels on formation of heterocyclic aromatic amines in chicken and fish with Oasis extraction method [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2010, 43(9): 1345-1350.
- [18] 邵斌, 彭增起, 杨洪生, 等. 固相萃取-高效液相色谱法同时测定传统禽肉制品中的9种杂环胺类化合物 [J]. *色谱*, 2011, 29(8): 755-761.
- [19] ANTIGNAC J P, LE BIZEC B, MONTEAU F, et al. Validation of analytical methods based on mass spectrometric detection according to the "2002/657/EC" European decision; Guideline and application [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2003, 483(1/2): 325-334.
- [20] 余永昊, 谢定源, 方妍, 等. 固相萃取提取分离辣椒油中辣椒素的正交实验优化及检验 [J]. *中国调味品*, 2020, 45(12): 6-12.
- [21] 李锋格, 苏敏, 李晓岩, 等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡肝中磺胺类、喹诺酮类和苯并咪唑类药物及其代谢物的残留量 [J]. *色谱*, 2011, 29(2): 120-125.
- [22] CHENG Y Q, YAO M J, ZHU Z S, et al. Content, causes and analysis of heterocyclic amines in Chinese traditional braised chicken [J]. *Food Additives & Contaminants (Part A)*, 2019, 36(7): 1032-1041.
- [23] SKOG K, SOLYAKOV A, JÄGERSTAD M. Effects of heating conditions and additives on the formation of heterocyclic amines with reference to amino-carbolines in a meat juice model system [J]. *Food Chemistry*, 2000, 68(3): 299-308.
- [24] 魏秋红, 李艳秋, 韩文凤, 等. 烧鸡加工过程中杂环胺的影响因素及抑制措施研究进展 [J]. *肉类研究*, 2021, 35(2): 56-61.
- [25] 王震. 油炸和卤煮对鸭胸杂环胺及反式脂肪酸形成的影响 [D]. 南京: 南京农业大学, 2019.
- [26] PLEVA D, LÁNYI K, MONORI K D, et al. Heterocyclic amine formation in grilled chicken depending on body parts and treatment conditions [J]. *Molecules*, 2020, 25(7): 1547.
- [27] SUN L, ZHANG F, WEI Y, et al. Potential sources of carcinogenic heterocyclic amines in Chinese mutton shashlik [J]. *Food Chemistry*, 2010, 123(3): 647-652.

Determination of 11 polar heterocyclic aromatic amines in braised squab By UHPLC-Q-Orbitrap HRMS

YE Huiping¹, ZENG Xiaofang^{1,2,3}, BAI Weidong^{1,2,3}, XIAO Gengsheng^{1,2,3},
YANG Juan^{1,2,3}, XIAN Yanping⁴, CHEN Weibo⁵, DONG Hao^{1,2,3}

1. College of Light Industry and Food Sciences, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China;

2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Lingnan Specialty Food Science and Technology, Guangzhou 510225, China;

3. Key Laboratory of Green Processing and Intelligent Manufacturing of Lingnan Specialty Food, Ministry of Agriculture, Guangzhou 510225, China;

4. Guangzhou Quality Supervision and Testing Institute, Guangzhou 510110, China;

5. Meizhou Jinlv Modern Agriculture Development Co., Ltd., Meizhou 514000, China

Abstract: With commercially available braised squab as research object, UHPLC-Q-Orbitrap HRMS was established. Eleven polar heterocyclic aromatic amines in braised squab were detected by UHPLC-Q-Orbitrap HRMS. The results showed that the method had good linearity and high mass accuracy. The mass accuracy of 11 heterocyclic aromatic amines was $<3 \times 10^{-6}$. The determination coefficients were greater than 0.997 2. The limit of detection was 0.03~0.60 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the limit of quantification was 0.10~2.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$. This method had stable recovery and certain accuracy. The recovery of 11 heterocyclic aromatic amines at 3 spiked concentrations ranged from 83.40% to 114.80%, and the precision ranged from 1.40% to 7.20%. The main heterocyclic aromatic amines detected in braised squab were MeIQx (0.10~0.46 $\mu\text{g}/\text{kg}$), PhIP (0.10~0.53 $\mu\text{g}/\text{kg}$) and DMIP (0.10~0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$). The total content of heterocyclic aromatic amines in 4 parts of braised squab was the heel, breast, wing and leg in descending order.

Key words: heterocyclic aromatic amines; braised squab; UHPLC-Quadrupole-Orbitrap high resolution mass spectrometry

(责任编辑:王晓波)

(上接第22页)

value of the potential increased compared to the alkali extraction followed by acid precipitation treatment, the average particle size of the composite system was significantly decreased after the addition of EGCG ($P < 0.05$). The relative contents of α -helix and β -sheet of PSE-like chicken protein isolate by UAE-treated were decreased to 12.84% and 11.96%, respectively, while the relative content of β -turn was increased to 63.17% ($P < 0.05$). The relative content of α -helix decreased significantly to 9.07% and the relative content of β -sheet increased significantly to 19.08% after the addition of EGCG ($P < 0.05$). The PSE-like chicken protein isolate obtained by UAE had the stronger binding ability to EGCG, with a larger binding site (1.265), and better protective effect on EGCG. UAE altered the structure of PSE-like chicken protein isolate, enhanced the interaction of PSE chicken protein isolate with EGCG, and slowed down the oxidative degradation of EGCG.

Key words: PSE-like chicken protein isolate; epigallocatechin-3-gallate; ultrasound-assisted alkali extraction

(责任编辑:杨晓娟)