

肉及肉制品中杂环胺检测 NY/T 3904-2021

1、适用范围

本标准适用于肉及肉制品中 13 种杂环胺的液相色谱—串联质谱测定方法

参考标准：《NY/T 3904-2021 肉及肉制品中杂环胺检测 液相色谱—串联质谱法》

2、溶液的配制

- 1) 1%乙酸-乙腈溶液：量取 1.0mL 乙酸至 100mL 容量瓶中，用乙腈稀释并定容至刻度，摇匀；
- 2) 乙酸-乙酸铵缓冲液：准确称取 0.7708g 乙酸铵，溶于 100mL 水中，用乙酸调 pH 至 2.90，转入 1000mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀；
- 3) 杂环胺混合标准储备液（10mg/L）：准确吸取 0.1mL 13 种杂环胺混合标准溶液（100mg/L），用甲醇溶解并定容至 1mL，该标准储备液于-18℃避光保存，有效期 1 个月。
- 4) 杂环胺混合标准工作液（1mg/L）：准确吸取 0.1mL 杂环胺混合标准储备液（10mg/L），用甲醇溶解并定容至 1mL，临用现配。

3、提取步骤

称取捣碎鳕鱼 2g 于 50mL 离心管中，加入 1 块陶瓷均质子和 10mL 水，振荡 20min，加入 10mL 1%乙酸-乙腈溶液，振荡 15min，加入 4.0g 硫酸镁和 1.0g 无水醋酸钠，涡旋混合 1min，试样提取液在 4℃、10000r/min 条件下离心 10min，分为上、中、下 3 层，上层为含杂环胺的有机溶液，中层为肉泥，下层为水和陶瓷均质子，取上层有机溶液 6mL，供净化使用。



4、净化步骤

取 6mL 净化有机溶液加入至含分散固相萃取剂 0.3g PSA 和 0.3g C18E 的离心管中，在 4°C，10000r/min 的条件下离心 5min，离心后取 1.0mL 上清液，30°C 氮吹至 0.5mL，基质标中加入 5 μ L 杂环胺混合标准工作液（1mg/L），甲醇定容至 1mL，涡旋混合，0.22 μ m 尼龙微孔滤膜过滤，供液相色谱-串联质谱仪测定。

5、注意事项

- 1) 杂环胺加标量 50ppb：加标时需加入 1ppm 的杂环胺混合标准工作液 50 μ L，加标水平为 25 μ g/kg，浓度为 50ng/mL。
- 2) 国标中使用的分散固相萃取填料为 0.9g 无水硫酸镁+0.3g PSA 和 0.3g C18E，进行标过柱和样加标实验得到的回收率极低；经验证，发现分散固相萃取填料无水硫酸镁对目标物有吸附作用，尝试使用分散固相萃取填料 300mg PSA +300mg C18E 进行标过柱和样加标实验，回收率正常。
- 3) 国标中净化步骤中浓缩是将上清液在 30°C 氮吹至近干，在标过柱实验中发现，氮吹至近干得到的回收率较低，尝试将上清液在 30°C 氮吹至 0.5mL，进行标过柱和样加标实验，回收率正常

本实验标准品溶液用空白基质溶液进行配置。

6、色谱条件

6.1 色谱条件

色谱柱：Ultimate UHPLC C18；50mm \times 2.1mm，1.8 μ m

保护柱柱芯：Ultimate UHPLC C18，超高压柱芯：2.1 \times 5mm

柱温：30°C；



进样量：2 μ L；

流速：0.4mL/min；

流动相：A: 乙酸-乙酸铵缓冲液；B: 乙腈

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A 相/%	B 相/%
0.0	95	5
0.5	95	5
5.0	85	15
7.0	73	27
8.0	45	55
8.5	73	27
9.0	95	5
10.0	95	5

6.2 质谱条件

离子源：电喷雾离子源；

扫描方式：正离子扫描；

检测方式：多反应监测（MRM）模式；

电离电压：3.0KV；

源温：120 $^{\circ}$ C；

雾化温度：350 $^{\circ}$ C；

锥孔气流速：50L/h；



声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:上海市松江区明南路85号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园10号楼

Add:浙江省金华市婺城区双林南街168号

Tel:400-810-6969

邮编：201600

邮编：321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

雾化气流速：700L/h

药物定性、定量离子对及锥孔电压、碰撞能量见表 1

液质仪器型号：AB Sciex TRIPLE QUAD 4500

表 2 多反应监测模式（MRM）参数

化合物	母离子(m/z)	子离子(m/z)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (cV)
Glu-P-2	185.10	78.05*	120	37
		158.10	120	25
IQx	200.08	185.12*	120	30
		132.14	120	30
MeIQ	213.14	198.09*	120	27
		143.15	120	29
Glu-P-1	199.10	92.10*	120	36
		172.14	120	30
8-MeIQx	214.10	131.07*	120	41
		173.18	120	25
Norharman	169.06	115.09*	120	33
		89.05	120	48
4,8-DiMeIQx	228.10	213.09*	120	30
		187.09	120	30
7,8-DiMeIQx	228.10	131.13*	120	40
		187.15	120	30
Harman	183.09	115.15*	120	34



声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:上海市松江区明南路85号启迪漕河泾(中山)科技园·紫荆园10号楼

Add:浙江省金华市婺城区双林南街168号

Tel:400-810-6969

邮编: 201600

邮编: 321000

E-mail:lingyuyu@welchmat.com

		89.09	120	49
4,7,8-TriMeIQx	242.13	145.09*	120	42
		201.21	120	26
PhIP	225.10	210.05*	120	30
		140.08	120	30
AaC	184.07	140.13*	120	33
		167.07	120	24
Trp-P-1	212.12	195.14*	120	30
		168.09	120	25

7、色谱图或者加标回收率结果

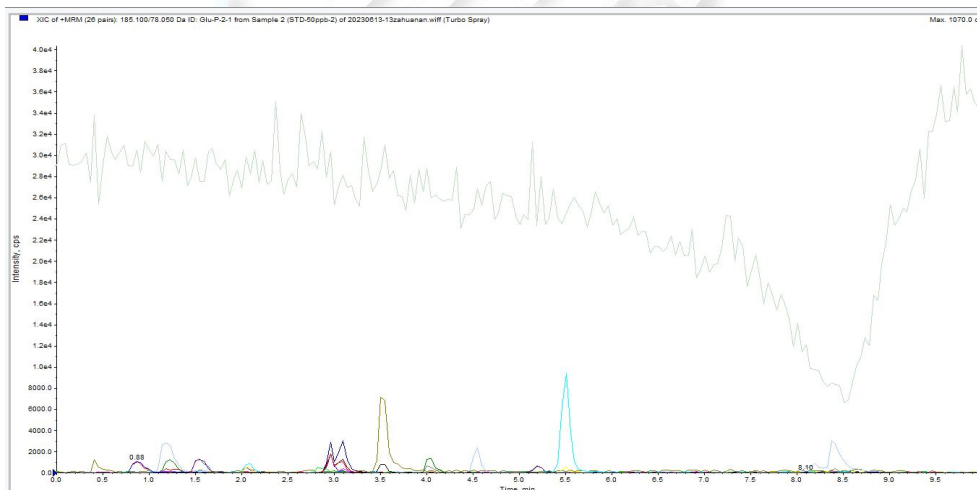


图 1. 13 种杂环胺对照溶液 50ng/mL 图谱



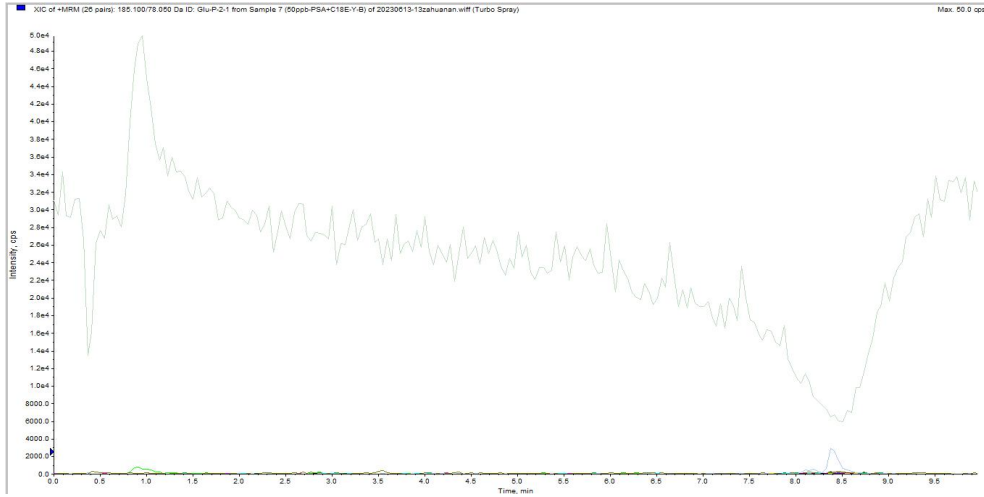


图 2. 鳕鱼样品空白图谱

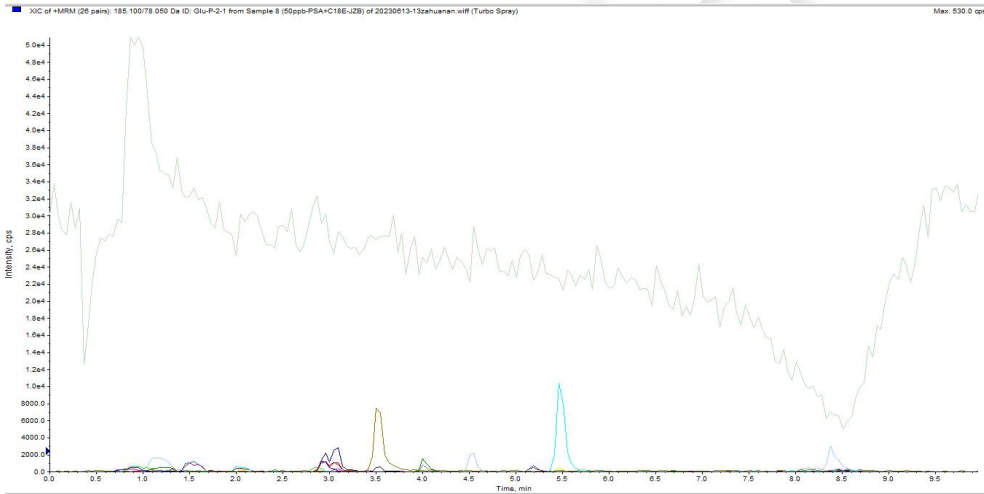


图 3. 鳕鱼样品基质标 25ng/mL 图谱

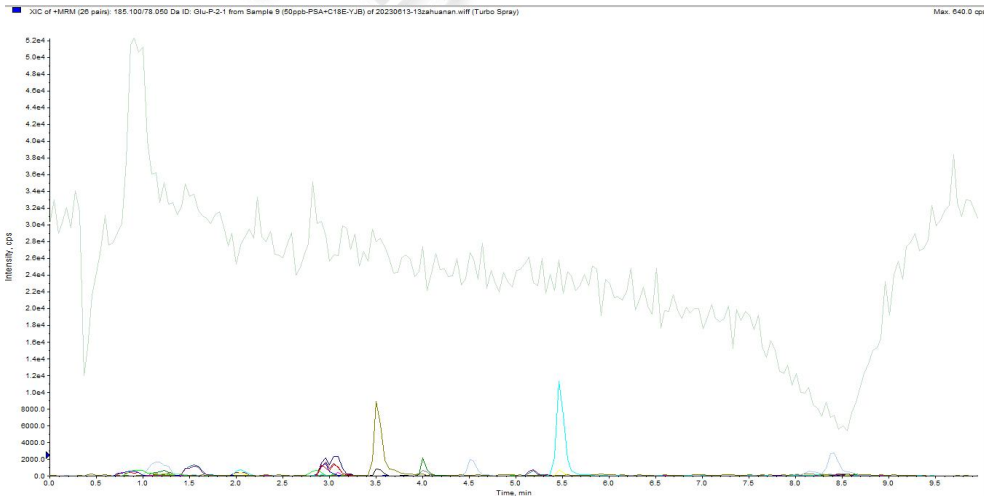


图 4. 鳕鱼样品样加标 25µg/kg 图谱



表 4 鳕鱼过柱回收率表

	加标水平	平均加标回收率	RSD(N≥3)
Glu-P-2	25μg/kg	105.57%	2.66%
IQx	25μg/kg	128.99%	4.26%
MeIQ	25μg/kg	95.33%	1.23%
Glu-P-1	25μg/kg	107.78%	2.09%
8-MeIQx	25μg/kg	112.48%	5.24%
Norharman	25μg/kg	117.50%	2.75%
4,8-DiMeIQx	25μg/kg	112.87%	1.04%
Harman	25μg/kg	108.88%	2.97%
7,8-DiMeIQx	25μg/kg	93.82%	3.97%
4,7,8-TriMeIQx	25μg/kg	100.74%	2.88%
PhIP	25μg/kg	103.26%	4.53%
AcC	25μg/kg	110.56%	3.40%
Trp-P-1	25μg/kg	102.48%	4.03%

8、相关产品信息

货号	名称	规格
	QuEChERS 净化管	QuEChERS 净化管-15ml,PSA 300mg,C18E 300mg,50pk
	盐析包	4.0g 无水硫酸镁和 1.0g 无水醋酸钠
00837-05006	50mL 螺口尖底离心管	离心管 一次性离心管,平盖,锥形底,RCF12000xg,袋装,未灭菌, 50mL, 50/包
00837-05002	15mL 螺口尖底离心管	离心管 一次性离心管,平盖,锥形底,RCF12000xg,袋装,未灭菌, 15mL, 50/包



00821-32291	盖子+垫片	预切口红色特氟龙/白色硅胶隔垫，9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm 100pk
00821-40927	样品瓶	2mL 透明短螺纹广口样品瓶 带书写处 11.6*32mm 一级水解玻璃 100pk
00101-01010	UHPLC 色谱柱	Ultimate UHPLC C18, 1.8 μ m, 2.1 \times 50mm
U808-201-25	保护柱柱芯	Ultimate UHPLC C18, 超高压柱芯: 2.1 \times 5mm
00802-02201	针头式过滤器	进口 NY,13mm*0.22 μ m,100pk

