

# 超高效液相色谱-串联质谱法快速检测预制 调理羊肉串中 15 种杂环胺

王露露<sup>1#</sup>, 罗娇依<sup>1#</sup>, 冯赛赛<sup>2</sup>, 曹进<sup>1\*</sup>, 孙姗姗<sup>1\*</sup>

(1. 国家市场监督管理总局食品质量与安全重点实验室, 中国食品药品检定研究院, 北京 100050;  
2. 山西师范大学食品科学学院, 太原 030000)

**摘要:** **目的** 基于超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectroscopy, UPLC-MS/MS)建立预制调理烤制羊肉串样品中 15 种杂环胺(heterocyclic aromatic amines, HAAs)的高通量快速检测方法。**方法** 将预制调理羊肉串烤制后, 对固相萃取柱萃取法(Oasis PRiME HLB 柱和 Oasis MCX 柱)、分散固相萃取法(QuEChERS)的净化效率进行评估; 得到净化物后经 T3 色谱柱(150 mm×2.1 mm, 1.8 μm)分离, 以乙腈和 15 mmol/L 甲酸铵溶液为流动相, 梯度洗脱分离, 采用串联三重四极杆质谱法对 15 种 HAAs 进行定量分析。**结果** 在一定检测范围内, 15 种 HAAs 的线性良好, 相关系数( $r^2$ )在 0.9979~0.9997 之间, 检出限和定量限分别是 0.002~0.017 ng/g 和 0.008~0.050 ng/g, 加标回收率为 81.3%~113.2%, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)不大于 11.9%。**结论** 该方法前处理效率高, 灵敏度高, 重现性好, 可用于预制调理烤制羊肉串样品中 15 种 HAAs 的快速检测, 为日后建立预制食品国家标准与法规提供方法依据。

**关键词:** 预制调理羊肉串; 杂环胺; 超高效液相色谱-串联质谱法; QuEChERS 法

## Rapid determination of 15 kinds of heterocyclic amines in prefabricated mutton kebabs by ultra performance liquid chromatogram-tandem mass spectrometry

WANG Lu-Lu<sup>1#</sup>, LUO Jiao-Yi<sup>1#</sup>, FENG Sai-Sai<sup>2</sup>, CAO Jin<sup>1\*</sup>, SUN Shan-Shan<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory of Food Quality and Safety, State Administration for Market Regulation, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China; 2. College of Food Science, Shanxi Normal University, Taiyuan 030000, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a high throughput method for the rapid detection of 15 kinds of heterocyclic aromatic amines (HAAs) in preprepared mutton kebabs based on ultra performance liquid chromatogram-tandem

**基金项目:** 国家重点研发计划项目(2022YFF1100701)

**Fund:** Supported by the National Key Research and Development Program of China (2022YFF1100701)

#王露露、罗娇依为共同第一作者

#WANG Lu-Lu and LUO Jiao-Yi are Co-first Authors

\*通信作者: 曹进, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: caojin@nifdc.org.cn

孙姗姗, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: sunshanshan@nifdc.org.cn

\*Corresponding author: CAO Jin, Ph.D, Professor, Key Laboratory of Food Quality and Safety, State Administration for Market Regulation, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China. E-mail: caojin@nifdc.org.cn

SUN Shan-Shan, Ph.D, Associate Professor, Key Laboratory of Food Quality and Safety, State Administration for Market Regulation, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China. E-mail: sunshanshan@nifdc.org.cn

mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** After the preprepared mutton kebabs were grilled, the purification efficiency of solid phase extraction column extraction method (Oasis PRiMEHLB and MCX), dispersed solid phase extraction method (QuEChERS) was evaluated; the purified substance was separated by chromatographic column of T3 column (150 mm×2.1 mm, 1.8 μm) with gradient elution. Acetonitrile and 15 mmol/L ammonium formate solution were mobile phases. The 15 kinds of HAAs were detected and quantitatively analyzed by tandem triple quadrupole mass spectrometry. **Results** The method linearity was observed in a certain detection range for 15 kinds of HAAs, with determination coefficients ( $r^2$ ) between 0.9979 and 0.9997. Limits of detection and limits of quantification were in the ranges of 0.002–0.017 ng/g and 0.008–0.050 ng/g, respectively. The recoveries were 81.3%–113.2% and the relative standard deviations (RSDs) were no more than 11.9%. **Conclusion** This method has higher pretreatment efficiency, high sensitivity, and good reproducibility, which can be used for quickly quantitative determination of 15 kinds of HAAs in prefabricated mutton kebabs, which provides a method basis for the establishment of national standards and regulations for prepared food in the future.

**KEY WORDS:** prefabricated mutton kebabs; heterocyclic amines; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; QuEChERS method

## 0 引言

随着生活节奏的加快,人们期望保留食物美味的同时,对食品烹饪的便利性和安全性的要求逐渐提高<sup>[1]</sup>。因此,预制调理食品以其独特的风味和便捷性受到人们喜爱,预制调理羊肉串就是其中之一,可直接高温烤制后食用<sup>[2-3]</sup>,具有烹饪简单的特点。然而,高温烹饪会使羊肉质量发生变化,形成多种化合物,包括杂环胺(heterocyclic aromatic amines, HAAs)、丙烯酰胺、高级糖基化终产物等<sup>[4-7]</sup>。其中 HAAs 是一类多环芳香族化合物,具有潜在致癌性和致突变性,在食品热处理过程中自然形成<sup>[8]</sup>,过量食用对人体健康存在危害<sup>[9]</sup>。目前,在热处理食品中已鉴定出近 30 种 HAAs<sup>[10]</sup>,依据生成条件和化学结构差异,将 HAAs 分为两类,其中第 1 类为氨基咪唑氮杂芳烃类(aminoimidazole-azaarenes, AIAs),由葡萄糖、氨基酸、肌酸或肌酸酐在 100~300℃以下反应产生<sup>[11]</sup>;第 2 类为氨基喹啉类,由氨基酸或蛋白质在高温条件下热解产生<sup>[12]</sup>。目前,多种 HAAs 已被国际癌症研究机构和美国国家毒理学计划列为可能致癌物质<sup>[13-14]</sup>;而且,流行病学研究发现,大量摄入含有 HAAs 的熟食可能会增加结直肠癌、乳腺癌、前列腺癌和结肠癌等癌症的风险<sup>[15-17]</sup>。因此,对于熟食中 HAAs 的鉴别和定量检测显得格外重要,得到了人们持续且广泛关注,如 XIAO 等<sup>[18]</sup>在烤羊肉中检测到的 HAAs 总含量在 10~20 ng/g;董浩等<sup>[19]</sup>在广式烧鹅中检测到的 HAAs 总含量为 10~70 ng/g。已知肉制品烹饪过程中加工条件、HAAs 前体、pH、含水量及添加剂均会影响 HAAs 产生的种类和含量<sup>[20]</sup>。相比普通食品,预制调理食品经过调理加工,以预制调理烤制羊肉串为例,其配料表中常有食用盐、孜然、辣椒和香辛料等调味剂,以及柠檬酸钠、碳酸钠、碳酸氢钠等食品添加剂,调味处理对 HAAs 的产

生可能具有影响<sup>[21]</sup>。目前对于 HAAs 的定量检测,GB 5009.243—2016《食品安全国家标准 高温烹调食品中杂环胺类物质的测定》所能检测的 HAAs 只有 5 种,但当前在热处理食品中已鉴定出近 30 种 HAAs(表 1),且一般含量较低。因此,目前需要建立高通量和高灵敏度的检测方法来确定各种肉制品中的 HAAs,为其产生机制研究、饮食暴露风险评估以及食品中 HAAs 的限量标准制定提供方法支持。当前对于预制肉类食品中 HAAs 的检测鲜有报道。

肉制品基质复杂,且 HAAs 含量低,单位仅为 ng/g,对其实现有效且准确的检测相对较难<sup>[22]</sup>。因此,需开发有效的样品制备方法和高灵敏的检测方法。目前,常用的样品制备方法有液液萃取、固相萃取和超临界流体萃取技术等,其中,应用最多的为固相萃取技术。MESSNER 等<sup>[23]</sup>首次提出使用 Oasis MCX 固相萃取柱,由于 Oasis MCX 固相萃取柱中的混合模式材料具有共聚物和硅胶颗粒,能够实现一步提取 HAAs,该方法净化效率高且操作简单。WANG 等<sup>[24]</sup>使用乙腈萃取和 Oasis MCX 净化法分析烤牛肉中的 11 种 HAAs,样品为瘦牛肉,且不添加调味剂。根据分析的 HAAs 数量和样品基质特点,并不是所有 HAAs 的回收率和检测结果的重复性都可行。Oasis PRiME HLB 法可从各种各样的基质中分离出大范围的酸性、碱性和中性化合物,且具有较好的净化效果,可用于分离肉制品中 HAAs<sup>[25]</sup>。QuEChERS 法作为速、简便、廉价、有效、坚固、安全的提取净化方法,也被应用于肉制品中 HAAs 的提取。例如 CHIANG 等<sup>[26]</sup>利用 QuEChERS 法对多种食品基质中的 HAAs 进行提取净化。与其他方法相比,QuEChERS 法具有操作简单、结果稳定、成本低廉等优势,目前在肉制品中 HAAs 检测方面应用广泛。但在不同种类食品具有较大的差异,使用 QuEChERS 法时仍需对其适用条件进行评估。

表1 HAAs的名称、缩写和CAS号  
Table 1 Names, abbreviations, and CAS numbers of HAAs

名称	缩写	CAS号
2-氨基-9H-吡啶并[2,3- <i>b</i> ]咪唑	AaC	26148-68-5
2-氨基-3-甲基-9H-吡啶并[2,3- <i>b</i> ]咪唑	MeAaC	68006-83-7
3-氨基-1,4-二甲基-5H-吡啶并[4,3- <i>b</i> ]咪唑	Trp-P-1	62450-06-
3-氨基-1-甲基-5H-吡啶并[4,3- <i>b</i> ]咪唑	Trp-P-2	62450-07-1
9H-吡啶[3,4- <i>b</i> ]咪唑	Norharman	244-63-3
1-甲基-9H-吡啶[3,4- <i>b</i> ]咪唑	Harman	486-84-0
2-氨基-6-甲基-二吡啶并[1,2- <i>a</i> :3',2'- <i>d</i> ]咪唑	Glu-P-1	67730-11-4
2-氨基-二吡啶并[1,2- <i>a</i> :3',2'- <i>d</i> ]咪唑	Glu-P-2	67730-10-3
4-氨基-1,6-二甲基-2-甲基氨基-1H,6H-吡咯并[3,4- <i>f</i> ]苯并咪唑-5,7-二酮,	Cre-P-1	133883-91-7
2-氨基-5-苯基吡啶	Phe-P-1	33421-40-8
2-氨基-1-甲基-6-苯基咪唑[4,5- <i>b</i> ]吡啶*	PhIP	105650-23-5
2-氨基-3,4,8-三甲基咪唑并[4,5- <i>f</i> ]喹啉*	4,8-DiMeIQx	95896-78-9
2-氨基-3-甲基-咪唑并[4,5- <i>f</i> ]喹啉	IQ	76180-96-6
2-氨基-3-甲基咪唑并[4,5- <i>f</i> ]喹啉	IQx	108354-47-8
2-氨基-3,8-二甲基-咪唑并[4,5- <i>f</i> ]喹啉*	MeIQx	77500-04-0
2-氨基-3,4-二甲基咪唑并[4,5- <i>f</i> ]喹啉*	MeIQ	77094-11-2
2-氨基-3,7,8-三甲基咪唑并[4,5- <i>f</i> ]喹啉*	7,8-DiMeIQx	92180-79-5
2-氨基-1,6-二甲基咪唑[4,5- <i>b</i> ]吡啶	DMIP	132898-04-5
2-氨基-1,7,9-三甲基咪唑并[4,5- <i>g</i> ]喹啉	7,9-DiMeIQx	156243-39-9
2-氨基-1-甲基-咪唑并[4,5- <i>f</i> ]喹啉	Iso-IQ	102408-25-3
2-氨基-3,4,7,8-四甲基咪唑并[4,5- <i>f</i> ]喹啉	Tri-MeIQx	132898-07-8
4-氨基-6-甲基-1- <i>H</i> -2,5,10,10 <i>b</i> -四氮蒽	Orn-P-1	78859-36-6
2-氨基-4-羟甲基-3,8-二甲基咪唑并[4,5- <i>f</i> ]喹啉	4-CH <sub>2</sub> OH-8-MeIQx	153954-29-1
2-氨基-1-甲基-6-4-羟基苯基咪唑并[4,5- <i>b</i> ]吡啶	4'-OH-PhIP	126861-72-1
2-氨基-1,6-二甲基-咪唑并[3,2- <i>e</i> ]咪唑并[4,5- <i>b</i> ]吡啶	IFP	357383-27-8
2-氨基-1,5,6-三甲基咪唑[4,5- <i>b</i> ]吡啶	TMIP	161091-55-0
2-氨基-1,7,9-三甲基咪唑并[4,5- <i>g</i> ]喹啉	7,9-DiMeIQx	156243-39-9
3,4-环戊烯-吡啶并[3,2- <i>a</i> ]咪唑	Lys-P-1	69477-66-3
2-氨基-1-甲基-咪唑并[4,5- <i>g</i> ]喹啉	IgQx	1004510-30-8

注: \*为 GB 5009.243—2016 中检测的 HAAs。

目前, HAAs 的检测方法包括气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)<sup>[27]</sup>以及液相色谱法(liquid chromatography, LC)<sup>[28]</sup>。由于 HAAs 一般为极性和低挥发性化合物,使用 GC-MS/MS 时需进行衍生化反应,但有些 HAAs 不适合衍生化分析,如 Glu-P-1、Glu-P-2 及 Harman,且衍生化反应步骤烦琐<sup>[29]</sup>。LC-MS/MS 相比其他方法<sup>[30]</sup>具有较高的灵敏度、选择性和无需衍生化等优势,更适用于 HAAs 的检测分析。基于以上认识,本研究选择预制调理羊肉串为研究对象,通过比较 Oasis MCX 净化法、QuEChERS 净化法和 OasisPRiME HLB 净化法 3 种前处理方法的提取效率选择高效的前处理方式,并基于超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)建立烤制后的预制调理羊肉串中的 15 种 HAAs 检测方法,为后续探究预制调理羊肉串

HAAs 的产生规律,摸索预制调理羊肉串的安全烤制条件提供方法支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

20 批次预制调理羊肉串,包括 18 批次腌制羊肉串和 2 批次预制熟制羊肉串采购于网络购物平台。

15 种 HAAs 标准品: PhIP (1ST001263, 纯度 99.9%)、IQ (1ST002127-100A, 100.4 μg/mL)、IQx (1ST001263, 纯度 99.1%)、MeIQ (1ST001269, 纯度 99.9%)、MeIQx (1ST001270, 纯度 99.9%)、7,8-DiMeIQx (1ST001272, 纯度 99.9%)、4,8-DiMeIQx (1ST001271, 纯度 99.9%)、AaC (1ST157261, 纯度 99.9%)、MeAaC (1ST157262, 纯度 96.4%)、Glu-P-1 (1ST157263AW, 纯度 98.8%)、Glu-P-2 (1ST157264A, 纯度 96.6%)、Trp-P-1 (1ST157259X, 纯度 99.8%)、Trp-P-2

(1ST157260X, 纯度 98.5%)、Harman (1ST10743, 纯度 99.8%)、Norharman (1ST10742, 纯度 98.0%)、内标: 2-氨基-4,7,8-三甲咪唑并[4,5-f]喹啉(2-amino-4,7,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline, 4,7,8-TriMeIQx) (1ST001273, 100.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )(天津阿尔塔公司); 乙腈、甲醇、乙酸、甲酸氨、乙酸铵(质谱纯, 美国 Fisher 公司); Bond Elut QuEChERS 萃取包、Bond Elut QuEChERS dSPE 试剂盒(美国安捷伦公司)。

## 1.2 仪器与设备

Oasis PRiME HLB 小柱(60 mg, 3 mL)、Oasis MCX (60 mg, 3 mL)固相萃取小柱(美国 Waters 公司); 0.22  $\mu\text{m}$  Nylon 滤膜、Waters UPLC-Xevo TQ-S 超高效液相色谱-串联质谱仪、ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(150 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ )(美国 Waters 公司); XP 205 万分之一电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司); MultiVortex 多样品涡旋混合器、MFV-24 智能氮吹仪(得泰仪器科技有限公司); CF16RX II 离心机(日本 HITACHI 公司); Arium@ Pro 型超纯水机[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 样品制备

将采购的预制调理羊肉串根据包装建议条件进行烤制并粉碎, 再准确称取 2.0000 g 匀浆样品于 50 mL 离心管, 加入陶瓷均质子和 50  $\mu\text{L}$  0.3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  4,7,8-TriMeIQx 溶液。向离心管中加入 10 mL 去离子水, 经 3000 r/min 涡旋 10 min, 再加入 10 mL 乙腈, 再次涡旋 10 min。在离心管中加入萃取粉包(6 g  $\text{MaSO}_4$  和 1.5 g  $\text{CH}_3\text{COONa}$ ), 涡旋 5 min。10 $^\circ\text{C}$  下 9000 r/min 离心 10 min, 取上清液 8 mL 加入净化用粉末管[1200 mg  $\text{MaSO}_4$ 、400 mg N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)和 400 mg  $\text{C}_{18}$ ], 在 3000 r/min 条件下, 涡旋 2 min。4 $^\circ\text{C}$  下 10000 r/min 离心 5 min, 取上清液 3 mL 用氮吹仪吹至近干, 加入 0.5 mL 甲醇复溶。将溶液过 0.22  $\mu\text{m}$  Nylon 滤膜过滤, 待分析。

### 1.3.2 标准溶液配制

准确称取 15 种 HAAs 标准品 10 mg 分别用甲醇定容至 100 mL, 得到 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  各 HAAs 标准储备液, 储存在 -20 $^\circ\text{C}$ 。移取 15 种 HAAs 储备液配制质量浓度分别为 0.2、0.4、1.0、4.0、10.0、20.0、40.0 和 100.0 ng/mL 的系列混合标准溶液。准确吸取 90  $\mu\text{L}$  1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  4,7,8-TriMeIQx 内标溶液与 5 mL 各系列标准溶液, 甲醇定容至 10 mL, 混匀, 过 0.22  $\mu\text{m}$  Nylon 滤膜。

## 1.4 仪器条件

色谱条件: WATERS ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(150 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ ); 流动相: A-15 mmol/L 甲酸铵溶液, B-乙腈; 梯度洗脱: 0~2.0 min, 10% B; 2.0~10.0 min, 10% B~35% B; 10.0~16.0 min, 35% B~60% B; 16.0~17.0 min,

90% B; 17.0~19.0 min, 90% B; 19.0~19.1 min, 90~10% B; 19.1~20.0 min, 10% B, 流速: 0.3 mL/min; 柱温: 35 $^\circ\text{C}$ ; 进样量: 5  $\mu\text{L}$ 。

质谱条件: 离子化模式: 电喷雾正离子模式(electrospray ionization, ESI+); 扫描模式: 多离子反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式; 毛细管电压: 3.5 kV; 锥孔电压: 30 V; 离子源温度: 150 $^\circ\text{C}$ ; 偏转电压: 50 V; 锥孔气流量: 150 L/h; 脱溶剂气温度: 400 $^\circ\text{C}$ ; 脱溶剂气流量: 800 L/h; 其他质谱参数见表 2。

## 1.5 数据处理

采用 MassLynx 4.1 软件对化合物的质谱数据进行采集和分析, 通过内标法计算各样品中 HAAs 水平。

## 2 结果与分析

### 2.1 样品提取液选择

样品的提取和净化是样品制备的关键步骤。由于 15 种 HAAs 的极性范围较大, 选择合适的提取溶剂对提高 HAAs 的提取效率至关重要。已知, 乙腈对脂类和蛋白质类化合物的沉淀效果较好, 且极性范围宽、分子小、组织穿透性强, 常被选为肉类样品中 HAAs 的萃取溶剂, 因此本研究选择乙腈作为萃取溶剂。查阅文献发现, 在提取液中添加氢氧化钠或乙酸作为改性剂可以提高 HAAs 的提取效率<sup>[31-32]</sup>, 因此, 本研究对常用的提取液 1 mol/L 氢氧化钠溶液和乙腈、水和乙腈、纯水和 1%乙酸乙腈对 15 种 HAAs 的提取效率进行考察, 结果如图 1A 所示。以水和乙腈作为提取液时, 有 13 种 HAAs 的响应值大于其余两种提取液, 而 Trp-P-1 和 Trp-P-2 的响应值略低于水和 1%甲酸乙腈提取液, 这可能是由于 Trp-P-1 和 Trp-P-2 在酸性体系中更易分散萃取。整体而言, 以水和乙腈作为提取液时, 提取效率更高。因此, 本研究选择水和乙腈作为提取液。

### 2.2 提取液净化方法选择

目前, 对于净化肉制品中的 HAAs, 常用的净化技术有 Oasis MCX 净化柱、Oasis PRiME HLB 小柱和 QuEChERS 净化粉末管。本研究对比以上 3 种净化技术。第一种: 使用 Oasis MCX 净化柱(60 mg, 3 mL)时, 将提取液用甲酸调 pH 至 3.0, 分别用 3 mL 甲醇和水活化小柱, 加入 3 mL 上清液, 再加入 3 mL 2%甲酸水和甲醇淋洗, 最后用 5 mL 甲醇/氨水(9:1, V:V)洗脱, 氮吹至近干, 用 0.5 mL 甲醇复溶。图 1B 结果显示, Trp-P-2 的回收率大于 200%, 且 Glu-P-1、Glu-P-1 和 PhIP 的回收率小于 50%, 说明该方法对于 HAAs 的损耗较大且存在较大的基质干扰, 不适宜对该样品的净化。第二种: 使用 Oasis PRiME HLB 小柱(60 mg, 3 mL)时, 直接将 3 mL 上清液加入小柱, 收集滤液, 氮吹至近干, 用 0.5 mL 甲醇复溶。该方法操作简单, 但对多种 HAAs 的吸附较大, 使其回收率普遍偏低, 其中 5 种 HAAs

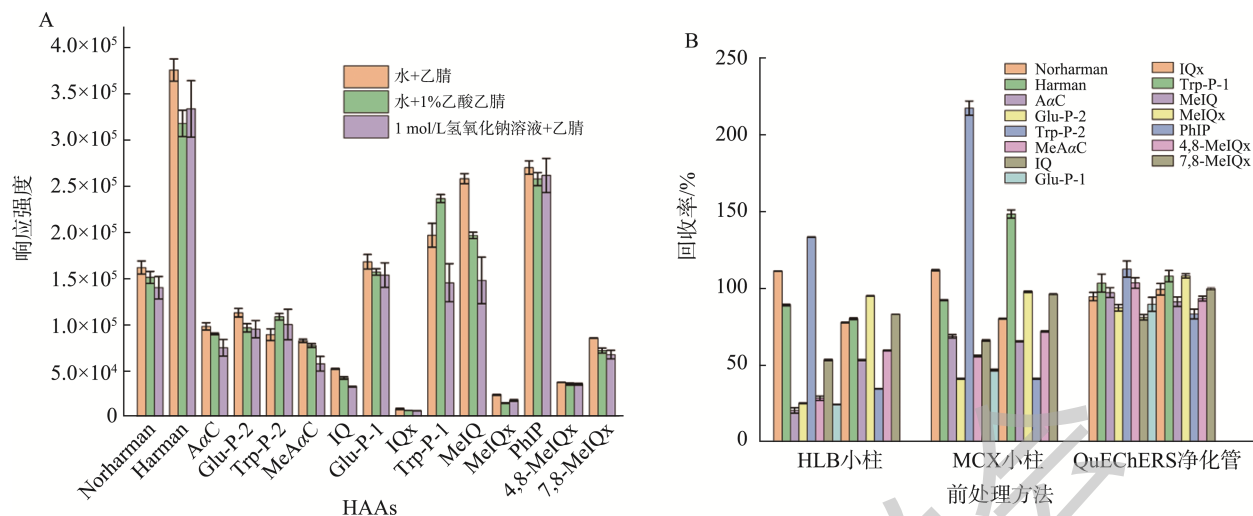


图1 3种提取液中15种HAAs响应值对比图(A)和3种净化方法的15种HAAs回收率对比图(B)

Fig.1 Comparison diagram of 15 kinds of HAAs response values in the 3 kinds of extraction solutions (A) and comparison diagram of 15 kinds of HAAs recoveries of 3 kinds of purification methods (B)

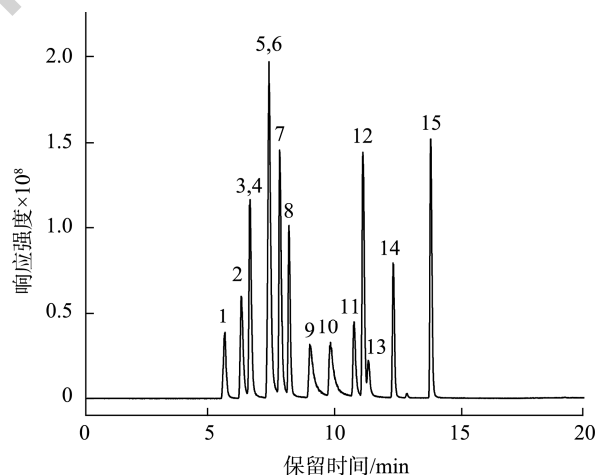
的回收率低于 50%, 无法满足检测需求。第三种: 使用 QuEChERS 净化粉末管(1200 mg 无水硫酸镁、400 mg PSA 和 400 mg C<sub>18</sub> EN), 取 8 mL 上清液加入离心管, 涡旋 2 min, 离心, 取上清液 3 mL, 氮吹至近干, 加入 0.5 mL 甲醇复溶。该方法与其他两种净化方法相比, 回收率在 81.5%~113.2%之间, 满足检测需求, 且操作简单、成本低廉。因此, 本研究选择 QuEChERS 法对样品进行净化处理。

### 2.3 液相色谱条件优化

本研究所检测的 15 种 HAAs 中, 4,8-DiMeIQx 和 7,8-DiMeIQx 为同分异构体, 在进行定量检测时, 需将两个物质完全分离。已知乙腈具有黏度低, 分离能力强的特点, 本研究选择乙腈作为有机相<sup>[33]</sup>。水相流动相的选择, HAAs 为正离子模式扫描, 流动相中加入适量甲酸溶液可以提高化合物电离效率, 并可通过加入甲酸氨和乙酸铵来改善化合物峰型。因此, 本研究分别选择 0.1%甲酸水、10 mmol/L 甲酸氨溶液和 10 mmol/L 乙酸氨溶液作为水相流动相, 对比其对 15 种 HAAs 峰型和响应的影响, 以及对同分异构体分离度的影响。结果表明, 以 10 mmol/L 甲酸氨溶液-乙腈作为流动相时, 同分异构体分离度好且响应较高。

有研究表明, 流动相 pH 对化合物的分离度和响应值具有一定的影响<sup>[34]</sup>, 本研究对比不同 pH 的 10 mmol/L 甲酸-甲酸氨溶液对 15 种 HAAs 的分离度和响应的影响, 测定 10 mmol/L 甲酸氨溶液 pH 为 6.0, 用甲酸分别调 pH 为 5.5、5.0、4.5。结果表明, 以 10 mmol/L 甲酸氨溶液(pH 6.0)为流动相时, 15 种 HAAs 具有更好的分离度和峰型, 且响应相对略高于其他流动相。最后, 本研究对比 5 mmol/L (pH 6.0)、10 mmol/L (pH 6.0)、15 mmol/L (pH 6.0)、20 mmol/L (pH 5.9) 甲酸氨溶液对离子峰型以及响应的影响。结果显示, 以

15 mmol/L 甲酸氨溶液和 20 mmol/L 甲酸氨溶液作为流动相时, HAAs 峰型更好。综合考虑较高浓度的盐溶液对质谱仪器存在一定影响, 最终选择以 15 mmol/L 甲酸氨溶液作为水相流动相。在最优色谱条件下, 15 种 HAAs 的总离子流色谱图见图 2。



注: 1. IQx; 2. IQ; 3. Glu-P-2; 4. MeIQx; 5. MeIQ; 6. 7,8-DiMeIQx; 7. 4,8-DiMeIQx; 8. Glu-P-1; 9. Trp-P-2; 10. Trp-P-1; 11. Harman; 12. PhIP; 13. Norharman; 14. AaC; 15. MeAaC。

图2 15种HAAs的总离子流色谱图  
Fig.2 Total ions chromatogram of 15 kinds of HAAs

### 2.4 质谱条件优化

采用 Waters UPLC-Xevo TQ-S 的 IntelliStart 模块进行 MRM 通道自动优化, 经过反复正离子模式测试, 结合手动优化结果, 确定了 15 种 HAAs 和内标 4,7,8-TriMeIQx 的最佳质谱条件, 具体结果如表 2 所示。

表 2 15 种 HAAs 和内标的质谱参数  
Table 2 Mass spectrum parameters for 15 kinds of HAAs and internal standard

化合物	母离子	子离子	锥孔电压/V	碰撞能/eV	化合物	母离子	子离子	锥孔电压/V	碰撞能/eV
IQx	200.10	158.03	54	35	Trp-P-2	198.16	154.07	58	30
		185.08*	54	28			181.19*	58	24
IQ	199.10	130.20	46	34	Trp-P-1	212.20	168.11*	50	29
		184.07*	46	26			195.17	50	25
Glu-P-2	185.10	78.13	20	30	Harman	183.10	115.13*	40	32
		158.09*	20	24			142.11	40	26
MeIQx	214.17	131.11	42	34	PhIP	225.14	183.10	6	34
		199.11*	42	26			210.14*	6	30
MeIQ	213.10	172.04	26	28	Norharman	169.04	89.11	74	36
		198.11*	26	26			115.12*	74	28
7,8-DiMeIQx	228.20	131.10*	46	38	AαC	184.10	140.16	50	30
		213.14	46	24			167.23*	50	20
4,8-DiMeIQx	242.22	160.09	20	28	MeAαC	198.17	129.01	54	28
		213.07*	20	24			181.14*	54	22
Glu-P-1	199.10	92.16*	20	34	4,7,8-TriMeIQx#	242.22	145.13	72	32
		172.16	20	24			227.09*	72	28

注: \*为定量离子, #为内标。

## 2.5 方法学考察

### 2.5.1 方法线性范围、方法检出限和定量限的确定

采用峰面积与浓度进行线性回归计算, Y 轴为 HAAs 的峰面积与内标的峰面积的比值, X 轴为 HAAs 的浓度与内标的浓度的比值。该方法的检出限和定量限通过选取未加工羊肉为阴性基质, 采用逐步添加 15 种 HAAs 标准溶液的方式获得。将定量离子和定性离子信噪比(S/N)均大于 3 时的浓度作为检出限, 当定量离子和定性离子信噪比(S/N)均大于 10 时的浓度作为定量限, 结果见表 3。15 种 HAAs 在各自的线性范围, 相关系数  $r^2$  均不小于 0.9979, 满足检测需求。该方法的检出限相比 GB 5009.243—2016 低 12.5~25 倍, 可实现更低含量 HAAs 的定性和定量检测。

### 2.5.2 方法准确度和精密度

通过 3 个浓度水平的加标回收实验评价方法的准确度和精密度, 以不含待测成分的羊肉样本作为空白基质, 按照 1.3 中的前处理方法, 根据方法的检出限和定量限来设定加标浓度为 1.7、16.7、33.4 ng/g, 每个加标水平 6 次平行实验, 结果见表 4, 回收率为 81.3%~113.2%。其中, 7,8-MeIQx 的回收率大于 110%, 这可能是电离的基体增强效应造成的。该方法精密度的 1.6%~11.9%, 相对标准偏差均低于 15%, 表明该方法精密度良好, 能够满足对预制调理羊肉串中 HAAs 的检测需求。

## 2.6 实际样品检测

根据包装建议方式对采购的 20 批市售预制调理羊肉串进行烤制(烤箱), 烹饪条件如表 5 所示。结果显示, 在所有样品中共检出 7 种 HAAs, 总量在 1.28~69.29 ng/g, 其中 Norharman 含量较高为 0.80~55.42 ng/g。李明杨等<sup>[35]</sup>从新疆烤羊肉中检出 IQ、PhIP、AαC、Norharman 和 Harman 共计 5 种 HAAs, 总含量为 23.74 ng/g, 其中 IQ 含量最高为 19.8 ng/g, Norharman 和 Harman 含量约仅为 0.8 ng/g; REN 等<sup>[36]</sup>在烤羊肉饼检出 IQ、MeIQ、PhIP、Norharman、Harman 和 MeAαC, HAAs 总含量为 23.74 ng/g, 其中 Norharman 含量最高也只有 3.22 ng/g。以上文献对于烤羊肉中所检测到的 HAAs 的种类和含量与本研究相比均存在差异, 差异来源一部分归因于实验检测方法本身, 如检测方法的灵敏度和所检测 HAAs 种类的不同。本方法以检测灵敏度低至 ppt 级和检测种类多达 15 种的优势存在, 检测结果均会高于其他文献报道的 HAAs 检测总量。另一方面, 烤羊肉中 HAAs 的产生受腌制调料, 烤制方式(如电烤、炭烤)、烤制条件(如温度、时间)的影响较大<sup>[37]</sup>。由于 20 批次的预制调理羊肉串的腌制调料和烤制条件均存在差异, 所检测到的 HAAs 含量也存在差异。除此之外, 烤制过程中的失水率以及肉制品的新鲜度都会干扰烤制后 HAAs 种类和含量检测结果的不同<sup>[38]</sup>。

表3 15种HAAs的线性参数和检出限、定量限  
Table 3 Linear parameters, limits of detection and limits of quantitation for 15 kinds of HAAs

化合物	保留时间/min	线性范围/(ng/mL)	线性方程	相关系数( $r^2$ )	检出限/(ng/g)	定量限/(ng/g)	国家标准检出限/(ng/g)
IQx	5.57	0.5-50.0	$Y=0.455X-0.060$	0.9992	0.008	0.025	-
IQ	6.22	0.1-50.0	$Y=2.538X-0.235$	0.9997	0.017	0.050	-
Glu-P-2	6.57	0.1-50.0	$Y=2.016X-0.020$	0.9992	0.008	0.025	-
MeIQx	6.58	0.5-50.0	$Y=0.685X-0.003$	0.9992	0.017	0.050	0.3
MeIQ	7.30	0.1-50.0	$Y=3.651X-0.106$	0.9994	0.008	0.025	0.1
7,8-DiMeIQx	7.35	0.1-50.0	$Y=0.866X-0.013$	0.9992	0.008	0.025	0.2
4,8-DiMeIQx	7.78	0.1-50.0	$Y=1.507X+0.014$	0.9992	0.008	0.025	0.2
Glu-P-1	8.14	0.1-50.0	$Y=3.113X+0.031$	0.9993	0.002	0.008	-
Trp-P-2	9.04	0.5-50.0	$Y=0.390X-0.001$	0.9979	0.017	0.050	-
Trp-P-1	9.85	0.2-50.0	$Y=1.354X-0.106$	0.9990	0.017	0.050	-
Harman	10.67	0.1-50.0	$Y=3.495X-0.054$	0.9991	0.017	0.050	-
PhIP	11.12	0.1-50.0	$Y=6.052X+0.248$	0.9991	0.003	0.008	0.1
Norharman	11.26	0.5-50.0	$Y=1.070X-0.034$	0.9996	0.017	0.050	-
A $\alpha$ C	12.33	0.1-50.0	$Y=1.388X+0.011$	0.9995	0.017	0.050	-
MeA $\alpha$ C	13.83	0.1-50.0	$Y=1.432X+0.012$	0.9997	0.003	0.008	-

注: -为 GB 5009.243—2016 方法未检测物质。

表4 15种HAAs的回收率和相对标准偏差( $n=6$ )  
Table 4 Recoveries and relative standard deviations of 15 kinds of HAAs ( $n=6$ )

HAAs	回收率 $\pm$ 相对标准偏差/%		
	1.7 ng/g	16.7 ng/g	33.4 ng/g
IQx	95.0 $\pm$ 8.2	99.0 $\pm$ 4.0	99.1 $\pm$ 3.1
IQ	82.5 $\pm$ 7.4	81.5 $\pm$ 2.1	81.3 $\pm$ 4.4
Glu-P-2	82.5 $\pm$ 7.4	87.4 $\pm$ 2.9	86.3 $\pm$ 7.0
MeIQx	83.3 $\pm$ 6.2	85.9 $\pm$ 4.9	83.5 $\pm$ 7.3
MeIQ	104.2 $\pm$ 7.1	108.3 $\pm$ 2.3	106.5 $\pm$ 3.3
7,8-DiMeIQx	110.0 $\pm$ 11.9	112.9 $\pm$ 4.5	106.6 $\pm$ 2.3
4,8-DiMeIQx	100.8 $\pm$ 4.9	102.3 $\pm$ 1.6	100.6 $\pm$ 2.7
Glu-P-1	85.8 $\pm$ 4.4	90.5 $\pm$ 4.7	89.8 $\pm$ 5.9
Trp-P-2	95.0 $\pm$ 11.0	113.2 $\pm$ 6.3	105.9 $\pm$ 4.0
Trp-P-1	87.5 $\pm$ 7.9	91.7 $\pm$ 3.7	88.8 $\pm$ 4.8
Harman	101.7 $\pm$ 6.0	100.8 $\pm$ 6.2	100.8 $\pm$ 4.0
PhIP	98.3 $\pm$ 6.2	93.6 $\pm$ 3.6	93.6 $\pm$ 3.7
Norharman	97.5 $\pm$ 2.8	96.3 $\pm$ 8.1	93.6 $\pm$ 3.9
A $\alpha$ C	95.8 $\pm$ 6.1	102.2 $\pm$ 7.3	100.4 $\pm$ 4.2
MeA $\alpha$ C	95.8 $\pm$ 5.1	101.2 $\pm$ 6.0	95.6 $\pm$ 3.9

羊肉烤制过程中 HAAs 的含量是否存在一定的规律仍需更多实验研究结果的支持。同时结合文献报道发现, PhIP、Norharman 和 Harman 均在烤羊肉中检出,并在烤鸡肉、烤猪肉和烤牛肉中也被检出<sup>[39-41]</sup>,证明这3种HAAs在烤肉中易产生,报道结果也与本研究结果极为一致,但目前针对HAAs的国家标准检测方法GB 5009.243—2016所能检测的目标物只有MeIQ、MeIQx、4,8-MeIQx、7,8-MeIQx和PhIP。因此,建议未来对HAAs测定时至少应增加Norharman和Harman的检测。由表5可知,200~210°C烤制15 min以内均可以产生HAAs,并且生成总量间无明显差异。20号样品的HAAs含量远高于其他产品,推测是因为该产品为加工后的预制羊肉串,经过二次烤制后,HAAs含量远高于其他产品。其中12号样品为熟制即食烤羊肉串,其HAAs含量相比20号样品较低。虽然当前对于食品中HAAs没有限量标准,但反复烤制会增加食品安全风险。由此可见,预包装食品的建议烹饪方式以及烹饪次数直接关系到食品中危害物的生成量,并可能存在大幅差异。但目前对此类食品相关的危害性生成规律研究较薄弱,应加强此方面的基础研究,未来对于预制食品而言危害物限量标准可根据食用最终加工条件后的状态进行更改。

表 5 20 批预制调理烤羊肉串种 HAAs 的含量(ng/g) (n=3)  
Table 5 Content of HAAs in 20 batches of prepared grilled lamb skewers (ng/g) (n=3)

样品	烤制条件	IQx	Glu-P-2	MeIQx	Harman	PhIP	Norharman	AaC	HAAs 总量
1	210°C-10 min	Trace	--	0.20±0.03	0.28±0.02	Trace	0.80±0.04	--	1.28
2	210°C-10 min	Trace	--	0.35±0.13	0.17±0.02	Trace	1.68±0.08	--	2.20
3	210°C-12min	--	--	0.21±0.04	0.82±0.01	Trace	2.00±0.05	--	3.03
4	210°C-10 min	0.18±0.01	--	0.88±0.07	0.56±0.01	0.08±0.01	2.07±0.02	--	3.77
5	210°C-10 min	--	--	--	0.93±0.10	Trace	2.93±0.32	--	3.86
6	200°C-10 min	--	--	--	0.80±0.02	Trace	3.32±0.56	--	4.12
7	210°C-10 min	Trace	--	0.12±0.01	0.66±0.02	Trace	3.37±0.22	--	4.15
8	210°C-10 min	0.16±0.02	--	0.97±0.10	0.51±0.06	0.27±0.02	2.29±0.04	--	4.20
9	210°C-10 min	--	--	--	2.14±0.01	Trace	2.14±0.02	--	4.28
10	200°C-10 min	--	--	--	1.07±0.18	Trace	4.20±0.69	--	5.27
11	200°C-10 min	--	--	--	0.87±0.04	Trace	4.41±0.15	--	5.28
12	0°C-0 min	--	0.10±0.01	0.39±0.02	1.36±0.03	Trace	3.77±0.04	--	5.62
13	200°C-10 min	--	--	--	0.89±0.01	Trace	4.96±0.09	--	5.85
14	210°C-10 min	Trace	--	0.18±0.02	0.64±0.04	Trace	5.22±0.14	--	6.04
15	200°C-10 min	--	--	0.23±0.02	1.06±0.02	Trace	4.95±0.08	--	6.24
16	210°C-10 min	Trace	--	0.53±0.11	1.10±0.24	Trace	5.06±0.87	--	6.69
17	200°C-10 min	--	--	--	1.01±0.04	Trace	6.73±0.10	--	7.74
18	210°C-10 min	Trace	--	0.49±0.01	1.47±0.03	Trace	6.75±0.12	--	8.71
19	220°C-15 min	0.33±0.04	--	1.52±0.23	2.61±0.25	Trace	8.78±0.77	--	13.24
20	200°C-6 min	--	--	0.17±0.01	12.63±0.40	Trace	55.42±0.34	1.06±0.01	69.28

注: Trace 为高于检出限低于定量限; --为未检出; 结果表示为平均值±标准偏差。

### 3 结论

本研究以预制调理羊肉串为研究对象, 采用 QuEChERS 法对预制调理羊肉串中 HAAs 进行提取净化, 并采用 UPLC-MS/MS 对 HAAs 进行检测分析, 方法前处理效率高、灵敏度高、重现性好, 可用于预制调理烤制羊肉串样品中 15 种 HAAs 的快速高通量筛查和检测。目前, 预制食品的快速兴起, 其对应的检测方法标准缺失导致食品安全监管难度增大, 本方法的建立可为后续探究预制调理烤制羊肉串 HAAs 的产生规律及安全烤制条件提供方法基础, 也为建立预制食品国家标准与法规提供方法依据和数据基础。

#### 参考文献

- [1] YU Q, ZHANG M, JU RH, *et al.* Advances in prepared dish processing using efficient physical fields: A review [J]. *Crit Rev Food Sci*, 2022, 27: 1-15.
- [2] 王帅, 周丰婕. 新消费时代一线城市预制食品消费的影响因素分析[J].

粮食科技与经济, 2023, 48(4): 53-57.

WANG S, ZHOU FJ. Analysis on influencing factors of pre-made foods consumption in first-tier cities under the new consumption era [J]. *Food Sci Technol Econ*, 2023, 48(4): 53-57.

- [3] 黎梓杭, 黄凯雯, 江伟峰, 等. 冷冻家禽类预制菜加工及复热技术研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(16): 213-223.
- LI ZH, HUANG KW, JIANG WF, *et al.* Advances in processing and reheating technologies for frozen prepared poultry foods [J]. *J Food Saf Qual*, 2023, 14(16): 213-223.
- [4] GIBIS M. Heterocyclic aromatic amines in cooked meat products: Causes, formation, occurrence, and risk assessment [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2016, 15(2): 269-302.
- [5] ZHANG G, HUANG G, XIAO L, *et al.* Determination of advanced glycation endproducts by LC-MS/MS in raw and roasted almonds (*Prunus dulcis*) [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(22): 12037-12046.
- [6] CHENG WW, WANG X, ZHANG ZF, *et al.* Development of an isotope dilution UHPLC-QqQ-MS/MS-based method for simultaneous determination of typical advanced glycation end products and acrylamide in baked and



- fried foods [J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(8): 2611–2618.
- [7] CHEN Q, LI Y, DONG LZ, *et al.* Quantitative determination of Nε-(carboxymethyl)lysine in sterilized milk by isotope dilution UPLC-MS/MS method without derivatization and ion pair reagents [J]. *Food Chem*, 2022, 385: 132697.1–132697.7.
- [8] JANOSZKA B, NOWAK A, SZUMSKA M, *et al.* Human exposure to biologically active heterocyclic aromatic amines arising from thermal processing of protein rich food [J]. *Wiad Lek*, 2019, 72(8): 1542–1550.
- [9] KHAN IA, KHAN A, ZOU Y, *et al.* Heterocyclic amines in cooked meat products, shortcomings during evaluation, factors influencing formation, risk assessment and mitigation strategies [J]. *Meat Sci*, 2022, 184: 108693.
- [10] OZ F, CAKMAK IH. The effects of conjugated linoleic acid usage in meatball production on the formation of heterocyclic aromatic amines [J]. *LWT*, 2016, 65: 1031–1037.
- [11] ISHAK AA, JINAP S, SUKOR R, *et al.* Simultaneous kinetics formation of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in phenylalanine model system [J]. *Food Chem*, 2022, 384: 132372.
- [12] OZ E, AOUEH E, MURKOVIC M, *et al.* Heterocyclic aromatic amines in meat: Formation mechanisms, toxicological implications, occurrence, risk evaluation, and analytical methods [J]. *Meat Sci*, 2023, 205: 109312.
- [13] NIKLAS AA, PEDERSEN M, CHRISTENSEN T, *et al.* Simultaneous determination of heterocyclic aromatic amines and N-nitrosamines in fried bacon cubes and slices using LC-(ESI/APCI)-MS/MS [J]. *Food Addit Contam A*, 2023, 40(4): 493–507.
- [14] CHIANG VS, QUEK SY. The relationship of red meat with cancer: Effects of thermal processing and related physiological mechanisms [J]. *Crit Rev Food Sci*, 2017, 57(6): 1153–1173.
- [15] BYLSMA LC, ALEXANDER DD. A review and meta-analysis of prospective studies of red and processed meat, meat cooking methods, heme iron, heterocyclic amines and prostate cancer [J]. *Nutr J*, 2015, 14: 125.
- [16] CHEN XQ, JIA W, ZHU L, *et al.* Recent advances in heterocyclic aromatic amines: An update on food safety and hazardous control from food processing to dietary intake [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2020, 19(1): 124–148.
- [17] CARVALHO AM, MIRANDA AM, SANTOS FA, *et al.* High intake of heterocyclic amines from meat is associated with oxidative stress [J]. *Brit J Nutr*, 2015, 113(8): 1301–1307.
- [18] XIAO X, HOU CL, ZHANG DQ, *et al.* Effect of pre- and post-rigor on texture, flavor, heterocyclic aromatic amines and sensory evaluation of roasted lamb [J]. *Meat Sci*, 2020, 169: 108220.
- [19] 董浩, 黄俊源, 何响桐, 等. HPLC-Q-Orbitrap-HRMS 方法检测广式烧鹅中7种非极性杂环胺[J]. *中国食品学报*, 2022, 22(10): 295–302.
- DONG H, HUANG JY, HE JT, *et al.* HPLC-Q-Orbitrap-HRMS method was used to detect seven non-polar heterocyclic amines in Cantonese fried goose [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2022, 22(10): 295–302.
- [20] KIM S, LEE KG. Effects of cooking variables on formation of heterocyclic amines (HCA) in roasted pork and mackerel [J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2010, 73(21–22): 1599–1609.
- [21] 樊贺雨, 胡晖宇, 李昌, 等. 6种传统香辛料抑制油炸牛肉饼中杂环胺形成的作用[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(17): 78–86.
- FAN HY, HU HY, LI C, *et al.* The inhibitory effect of six traditional spices on the formation of heterocyclic aromatic amines in fried beef patties [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2022, 43(17): 78–86.
- [22] ZHANG Y, WU WJ, ZHOU WE, *et al.* Determination of 14 heterocyclic aromatic amines in meat products using solid-phase extraction and supercritical fluid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(7): 1372–1381.
- [23] MESSNER C, MURKOVIE M. Evaluation of a new model system for studying the formation of heterocyclic amines [J]. *J Chromatogr B*, 2004, 802(1): 19–26.
- [24] WANG W, DONG L, ZHANG Y, *et al.* Reduction of the heterocyclic amines in grilled beef patties through the combination of thermal food processing techniques without destroying the grilling quality characteristics [J]. *Foods*, 2021, 10(7): 1490.
- [25] DONG H, XIAN YP, LI HX, *et al.* Analysis of heterocyclic aromatic amine profiles in Chinese traditional bacon and sausage based on ultra high-performance liquid chromatography-quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry (UHPLC-Q-Orbitrap-HRMS) [J]. *Food Chem*, 2020, 310: 125937.
- [26] CHIANG CF, LIAO PL, HSU KC, *et al.* Establishment of optimal QuEChERS conditions of various food matrices for rapid measurement of heterocyclic amines in various foods [J]. *Food Chem*, 2022, 380: 132184.
- [27] JHU SH, WANG JY, WANG HT, *et al.* Analysis of heterocyclic aromatic amines using selective extraction by magnetic molecularly imprinted polymers coupled with liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Food Drug Anal*, 2021, 29(4): 726–737.
- [28] MOHAMMADI A, BARZEGAR F, KAMANKESH, M, *et al.* Heterocyclic aromatic amines in doner kebab: Quantitation using an efficient microextraction technique coupled with reversed-phase high-performance liquid chromatography [J]. *Food Sci Nutr*, 2019, 8(1): 88–96.
- [29] CASAL S, MENDES E, FERNANDES JO, *et al.* Analysis of heterocyclic aromatic amines in foods by gas chromatography-mass spectrometry as their tert-butyl dimethylsilyl derivatives [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1040(1): 105–114.
- [30] ZHANG QC, LI GK, XIAO XH. Acrylamide-modified graphene for online micro-solid-phase extraction coupled to high-performance liquid chromatography for sensitive analysis of heterocyclic amines in food samples [J]. *Talanta*, 2015, 131: 127–35.
- [31] ZENG MM, WANG JH, ZHANG MR, *et al.* Inhibitory effects of Sichuan pepper (*Zanthoxylum bungeanum*) and sanshoamide extract on heterocyclic amine formation in grilled ground beef patties [J]. *Food*

- Chem, 2018, 239: 111–118.
- [32] XU Y, LI HX, 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 Chem, 2021, 361: 130147.
- [33] RAFFERTY JL, SIEPMANN JI, SCHURE MR. Mobile phase effects in reversed-phase liquid chromatography: A comparison of acetonitrile/water and methanol/water solvents as studied by molecular simulation [J]. J Chromatogr A, 2011, 1218(16): 2203–2213.
- [34] STELLA C, RUDAZ S, MOTTAZ M, *et al.* Analysis of basic compounds at high pH values by reversed-phase liquid chromatography [J]. J Sep Sci, 2004, 27(4): 284–292.
- [35] 李明杨, 牛希跃, 许倩, 等. 新疆传统腌制对烤羊肉食用品质及杂环胺含量的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(1): 115–123.
- LI MY, NIU XY, XU Q, *et al.* Effect of traditional Xinjiang-style marination on eating quality and heterocyclic amines formation in roast lamb [J]. Food Sci, 2021, 42(1): 115–123.
- [36] REN XP, LI MY, WANG W, *et al.* Inhibitory effect of *Tamarix ramosissima* extract on the formation of heterocyclic amines in roast lamb patties by retarding the consumption of precursors and preventing free radicals [J]. Foods, 2022, 11(7): 1000.
- [37] CHEN Y, XI J, CHEN ZN, *et al.* Effect of different roasting conditions and coreopsis extract on heterocyclic amine formation in roast lamb products [J]. J Food Protect, 2022, 85(8): 1107–1113.
- [38] PUANGSOMBAT K, GADGIL P, HOUSER TA, *et al.* Occurrence of heterocyclic amines in cooked meat products [J]. Meat Sci, 2012, 90(3): 739–46.
- [39] YAO GM, ZHOU YJ, LI ZP, *et al.* Heterocyclic aromatic amines in roasted chicken: Formation and prediction based on heating temperature and time [J]. Food Chem, 2023, 405(Pt A): 134822.
- [40] WANG B, LI HJ, H ZB, *et al.* Dynamic changes in the qualities and heterocyclic aromatic amines of roasted pork induced by frying temperature and time [J]. Meat Sci, 2021, 176: 108457.
- [41] PARVIN R, SEO JK, EOM JU, *et al.* Inhibitory and antioxidative capacity of nutmeg extracts on reduction of lipid oxidation and heterocyclic amines in pan-roasted beef patties [J]. Meat Sci, 2023, 197: 109064.

(责任编辑: 郑丽 张晓寒)

## 作者简介

王露露, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: 1716173523@qq.com

罗娇依, 硕士, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: luojiaoyi@nifdc.org.cn

曹进, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: caojin@nifdc.org.cn

孙姗姗, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: sunshanshan@nifdc.org.cn