

## 表面解吸常压化学电离质谱法快速鉴别羊肉真伪

李 倩, 王 姜, 陈焕文, 郭晓暉, 杨水平

(东华理工大学, 江西省质谱科学与仪器重点实验室, 江西 南昌 330013)

**摘要:**采用自行研制的表面解吸常压化学电离源(DAPCI),在无需样品预处理的条件下,通过 DAPCI-MS 方法直接获取不同肉类样品(鸭肉、牛肉、猪肉、羊肉、自制假羊肉)的指纹谱图。采用主成分分析(PCA)方法对指纹谱图信息进行数据分析,以区分不同肉类样品。结果表明:鸭肉、牛肉、猪肉、羊肉和自制假羊肉的指纹谱图之间存在差异,采用 PCA 方法能较好地地区分这些肉类样品。本方法无需样品预处理,分析速度快,可实现高通量肉类的快速鉴别,为食品安全中辨别肉类样品提供了一种快速、高效的分析方法。

**关键词:**表面解吸常压化学电离质谱(DAPCI-MS);主成分分析(PCA);肉类;快速检测;食品安全

中图分类号:O 657.63 文献标志码:A 文章编号:1004-2997(2014)06-0502-07

doi:10.7538/zpxb.youxian.2014.0022

### Rapid Identification for Authenticity of Mutton by DAPCI-MS

LI Qian, WANG Jiang, CHEN Huan-wen, GUO Xiao-tun, YANG Shui-ping

(*Jiangxi Key Laboratory for Mass Spectrometry and Instrumentation,*

*East China Institute of Technology, Nanchang 330013, China*)

**Abstract:** Following the method of surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry (DAPCI-MS), without any pretreatment to the samples, the mass spectra of a series of meat, including pure samples (duck, beef, pork, and mutton) and mutton-flavored meat samples of duck, beef and pork, were obtained directly. The ionization part relied on a self-made equipment of DAPCI. The DAPCI-MS raw data were further analyzed by principle component analysis (PCA). The result shows that the mass spectra of duck, beef, pork, mutton and mutton-flavored fake meat samples are distinguishing, indicating that the PCA model can discriminate the different meat samples successfully. This method can achieve the rapid identification as well as rapid analysis of meat samples at high throughput without any pretreatment. This study provides a method that achieves rapid detection of fake mutton and identification of meat samples for food security.

**Key words:** surface desorption atmospheric chemical ionization mass spectrometry (DAPCI-MS); principal component analysis (PCA); meat; rapid analysis; food security

收稿日期:2013-11-15;修回日期:2014-02-15

基金项目:国家自然科学基金(21165002);江西省自然科学基金(20114BAB203016);江西省科技厅科技计划项目(2010EHA01000);江西省科技支撑计划项目(20113BCB24024)资助

作者简介:李 倩(1989~),女(汉族),福建龙岩人,硕士研究生,分析化学专业。E-mail: w4832695@126.com

通信作者:杨水平(1963~),男(汉族),江西金溪人,教授,从事分析化学研究。E-mail: wxipysp@163.com

网络出版时间:2014-06-23;网络出版地址:<http://www.cnki.net/kcms/doi/10.7538/zpxb.youxian.2014.0022.html>

近年来,在暴利驱使下发生了多起“掺假羊肉”事件,在损害消费者权益的同时也给消费者带来了许多安全隐患<sup>[1]</sup>,因此引起了媒体、人民群众以及政府的高度关注。由于制作假羊肉过程中会添加色素、香精等食品添加剂,而制作者多为没有经过食品加工培训的人员,经常会过量使用添加剂,人们长期食用这种假羊肉会对身体造成严重的伤害,甚至诱发其他疾病。目前,由于制作掺假肉制品水平的提高,感官检验法<sup>[2-3]</sup>在一定程度上存在主观差异性,准确性不高;免疫学方法<sup>[4-5]</sup>、红外光谱法<sup>[6]</sup>、PCR<sup>[7]</sup>方法等分析方法的鉴别效果较好,但样品制备或操作过程较为复杂、繁琐,较难实现快速检测,因此在国内的应用较少。

近几年兴起的快速质谱分析方法具有无需样品预处理、分析时间短、操作简单等优点,其中表面解吸常压化学电离源(DAPCI)可在常温、常压、无解吸溶剂的作用下,对未经样品预处理的各种表面痕量物质进行解吸电离,对样品无污染、无破坏,是食品样品原位质谱检测较为理想的电离方法之一<sup>[8-14]</sup>。主成分分析法(PCA)是一种多变量的统计分析方法,将其与快速质谱分析技术结合是通过简化数据(即用较少的综合指标代替原来具有一定相关性的较多指标)来反映原来多变量的大部分信息<sup>[15]</sup>,使得质谱分析技术在区分复杂样品时更能体现其分析时间短、操作简单等优点<sup>[16-17]</sup>。本实验利用表面解吸常压化学电离质谱法(DAPCI-MS),在无需样品预处理条件下快速鉴别羊肉真伪,这对开展肉制品检验检疫工作具有重要意义。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与装置

LTQ-XL 型线性离子阱质谱仪:美国 Finnigan 公司产品,配有 Xcalibur2.0 数据处理系统;表面解吸常压化学电离源:实验室自制<sup>[18-22]</sup>。

### 1.2 主要材料与试剂

鸭肉、牛肉、猪肉、羊肉:购自当地超市,依次标记为样品 1~4;羊肉香精:购自当地集贸市场。

样品 5(鸭肉)、样品 6(牛肉)、样品 7(猪

肉)、样品 8(羊肉):购自当地集贸市场。

假羊肉的制备:向有制作经验的相关人员了解制作方法,按照其提供的方法,先将超市购买的新鲜鸭肉(样品 1)、牛肉(样品 2)及猪肉(样品 3)切成肉片,根据羊肉香精的使用说明,分别取出约一勺羊肉香精放入 A、B、C 三组盛有清水的烧杯中,搅拌约 5 min,然后分别将鸭肉、牛肉、猪肉片放入 A、B、C 三组烧杯中泡制,并在泡制过程中不断搅拌。10 min 后,泡制汤料开始沉淀,分别取出各组肉片,标记为假羊肉 A、假羊肉 B 和假羊肉 C,分开保存。

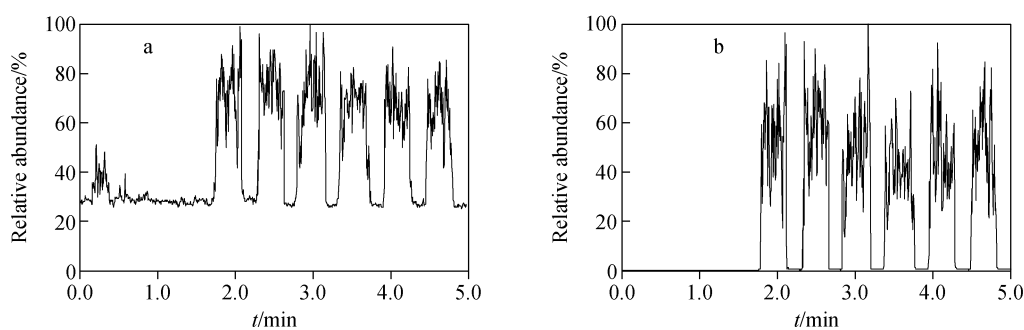
### 1.3 实验方法

设置 LTQ-MS 为正离子检测模式,扫描范围  $m/z$  50~800,电离电压 3.0 kV,离子传输管温度 180 °C,其他参数由 LTQ-MS 系统自动优化得到。实验过程无需任何样品预处理,将切好的假羊肉 A、B、C 及样品 1~8 的薄片贴在干净的载玻片上,进行质谱分析,每种肉样品分为 10 组,每组平行测试 6 次。测试完成后,将每个样品的实验数据分别导入到 Excel 中,自变量为质荷比(质量范围  $m/z$  50~800),因变量为质谱指纹谱图(MS)的绝对丰度。最后将这些数据导入 Matlab 中,进行 PCA 计算并作图。

## 2 结果与讨论

### 2.1 DAPCI-MS 总离子流图分析

按 1.3 方法分别对样品 1~8 进行 DAPCI-MS 检测,其中,羊肉(样品 4)的总离子流图示于图 1a,羊肉的选择离子  $m/z$  60 的离子流图示于图 1b。从图 1a 可见,第一个显著信号峰为空白进样峰,之后的显著信号峰为羊肉(样品 4)进样时出现的峰,从质谱仪开始记录数据 0 min 起,到进样时间 0.1 min 之前,总离子流基线较平稳,进样后表现为信号显著增大并维持在一定水平,进样结束时信号回到基线水平,并且每两个显著信号峰之间的未进样总离子流基线都保持在一定的基线水平上,说明信号强度与进样有较好的相关性。图 1b 反应了选择离子  $m/z$  60 与进样的相关性,与图 1a 相比,图 1b 没有空白进样时出现的显著信号峰,其基线更稳定,说明选择离子  $m/z$  60 为羊肉样品中的成分。



注: a. 总离子流图; b.  $m/z$  60 的离子流图

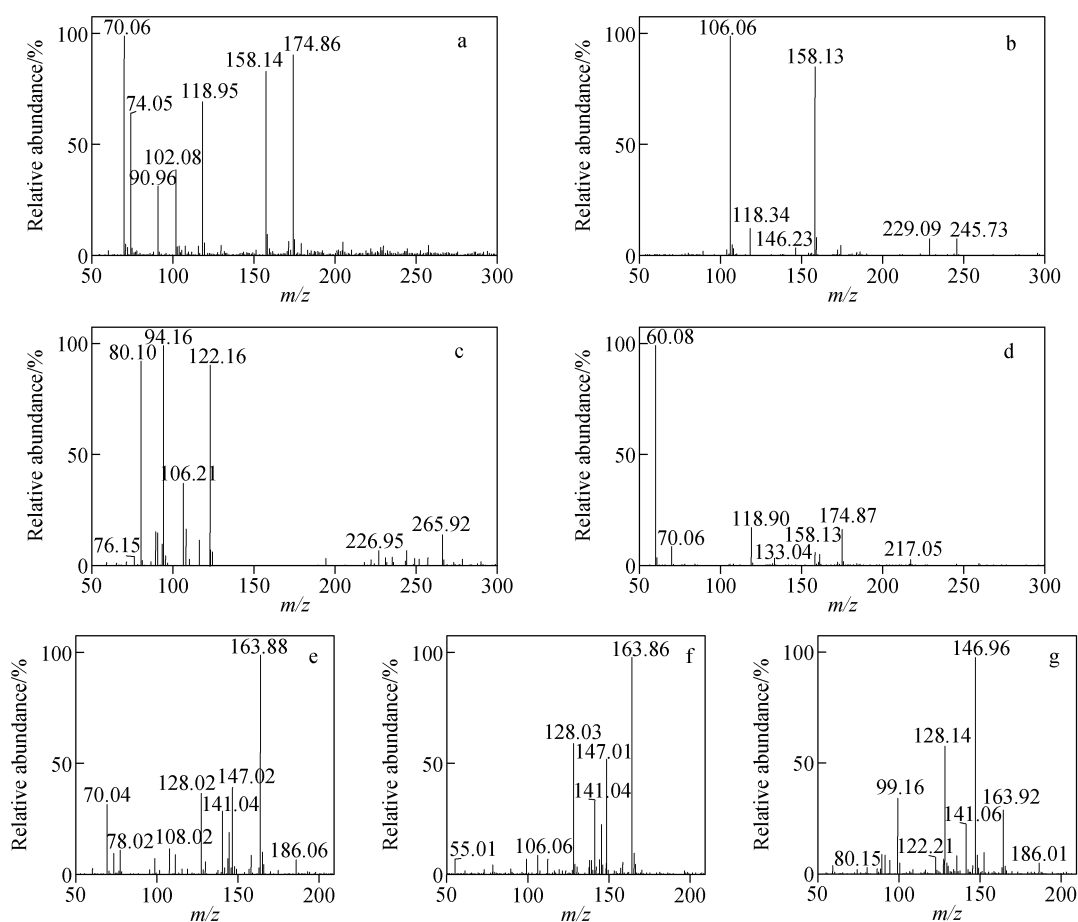
图 1 羊肉(样品 4)的 DAPCI-MS 总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of mutton (sample 4) by DAPCI-MS

## 2.2 假羊肉 A~C 和样品 1~8 的 DAPCI 质谱分析

对样品 1~4 和假羊肉 A~C 进行分析的指纹谱图示于图 2。结果显示,由于肉的成分比较复杂,其中具有较高粘性的大分子物质不易被解吸,但不同肉类样品都含有不同含量的小分

子<sup>[23-24]</sup>,并且较易解吸,因此具有显著强度的信号主要集中在  $m/z$  50~300 区域。比较各类肉制品的质谱图可以发现,7 种样品的 DAPCI-MS 指纹谱图具有相同的质谱信号峰,但各相同信号峰的强度却有着较大的差别。



注: a. 鸭肉; b. 牛肉; c. 猪肉; d. 羊肉; e. 假羊肉 A; f. 假羊肉 B; g. 假羊肉 C

图 2 鸭、牛、猪、羊肉和假羊肉的 DAPCI-MS 指纹谱图

Fig. 2 DAPCI-MS fingerprint spectrogram of duck, beef, pork, mutton and fake-muttons

鸭肉(样品 1)在  $m/z$  50~300 范围内的主要峰为  $m/z$  70, 而  $m/z$  70 在其他样品中只检测到少量;牛肉(样品 2)在  $m/z$  50~300 范围内的主要峰为  $m/z$  106, 在其他样品中  $m/z$  106 也只检测到少量;猪肉(样品 3)在  $m/z$  50~300 范围内的主要峰为  $m/z$  94, 另外还有强度相对较低的区别于其他样品的峰  $m/z$  80 和  $m/z$  122;羊肉(样品 4)在  $m/z$  50~300 范围内的主要峰为  $m/z$  60, 同样在其他样品中只检测到很少量的  $m/z$  60;假羊肉 A、B、C 在  $m/z$  50~300 范围

内,除了具有共同的不同强度信号峰  $m/z$  128、147、164 外,还分别具有组成其成分的鸭肉、牛肉和猪肉的主要信号峰。购自当地集贸市场的鸭肉(样品 5)、牛肉(样品 6)、猪肉(样品 7)和羊肉(样品 8)的指纹谱图示于图 3。虽然采集的样品在生产日期及贮藏时间等因素上不尽相同,会导致样品成分发生一定的变化,因此检测得到的质谱峰有所差异,但是同一种属的样品之间仍然存在一些相同的物质,这一结论在 PCA 结果中得到了一定的反映。

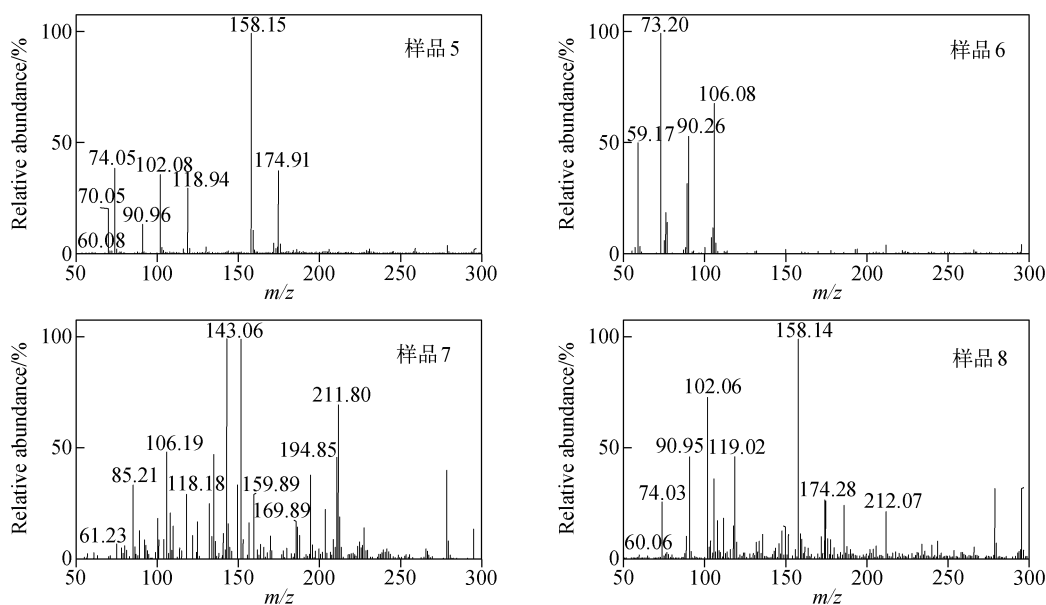


图 3 样品 5~8 的 DAPCI-MS 指纹谱图

Fig. 3 DAPCI-MS fingerprint spectrogram of sample 5—8

### 2.3 羊肉化学成分的二级串联质谱分析

在 DAPCI-MS 检测羊肉所得的质谱图中,在  $m/z$  50~300 范围内获得了较丰富的质谱峰。目前,有关羊肉成分的鉴定已有报道<sup>[25-27]</sup>,如,有一定挥发性的乙酸( $m/z$  60,  $M^+$ ),丝氨酸( $m/z$  106,  $MH^+$ ),鸟氨酸( $m/z$  150,  $M^+ + H_2O$ )等。本研究通过 DAPCI 离子源结合主成分分析法实现快速区分真假羊肉,因此,选取了有关羊肉成分报道中提及相对较多的  $m/z$  150、106 等成分进行了二级质谱鉴定。

$m/z$  106 物质的二级质谱图显示,母离子  $m/z$  106 经碰撞诱导裂解(CID)后,产生的主要碎片离子为  $m/z$  88、60,经标准品对照后,确认该离子为丝氨酸,示于图 4。 $m/z$  150 的二级质谱图示于图 5,可以看出,母离子  $m/z$  150 经碰

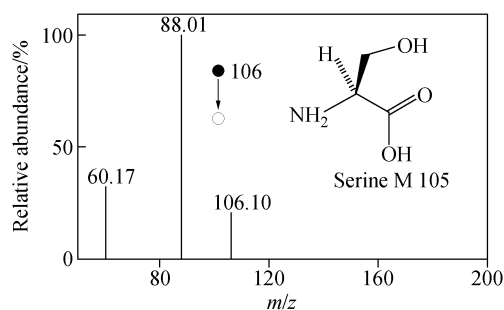


图 4 丝氨酸  $m/z$  106 的  $MS^2$  谱图

Fig. 4 DAPCI-MS/MS spectrum of  $m/z$  106

撞诱导裂解后,产生的主要碎片离子为  $m/z$  132、122,推测其裂解机理为:由于母离子  $m/z$  150 为自由基阳离子与水的加合物  $M^+ + H_2O$ ,这种加合物形式在 DAPCI 离子源对挥发性物

质电离过程中较为常见。 $M^+ + H_2O$  在 CID 裂解后, 丢失  $H_2O$  生成  $M^+$  ( $m/z$  132); 丢失  $C=O$  生成  $m/z$  122 的离子, 因此初步确认  $m/z$  150 可能为鸟氨酸的水合自由基阳离子。

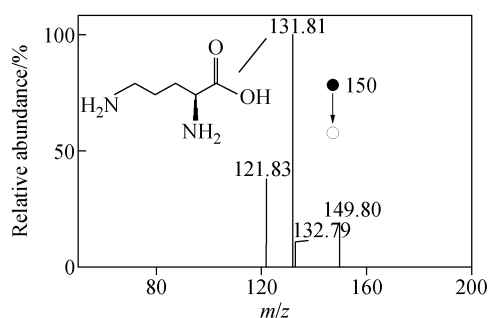


图 5 鸟氨酸  $m/z$  150 的  $MS^2$  谱图

Fig. 5 DAPCI-MS/MS spectrum of  $m/z$  150

#### 2.4 假羊肉 A~C 和样品 1~8 的主成分分析

为了辨别不同的肉类样品和论证实验结果的正确性, 采用 PCA 对假羊肉 A~C (每种各 30 个样品) 和样品 5~8 (每种各 5 个样品) 在  $m/z$  50~800 范围内所获得的 DAPCI-MS 指纹谱图数据进行处理, 得到 PCA 得分结果, 示于图 6。选择前 3 个主成分用于构建模型, 表征原始变量

的 PC1、PC2 和 PC3 的百分比分别为 34%、21.7%、12.9%。其中, PC1 表征了数据集中最大的变量方向, 说明 PC1 对于样品之间的差异具有最好的区分能力, PC2 也说明了对于样品之间的差异相对具有较好的区分能力, PC1 和 PC2 正确地表示了种类差异。相同肉类样品均集中分布在相同区域内, 不同肉类样品可被有效地区分开。由于动物受生存环境、饮食习惯或人为因素等影响, 不同动物肉体中所含的成分有很大差异, 所以鸭肉、牛肉、猪肉及羊肉之间能被很好地区分开来; 由于假羊肉 A、B、C 分别有鸭肉、牛肉和猪肉成分的存在, 但经过加工后的成分会发生变化, 所以假羊肉仍然能与鸭肉、牛肉、猪肉和羊肉区分开。虽然假羊肉 A、B、C 由不同的肉加工而成, 但都处在相对集中的区域, 可能原因是假羊肉的主要加工原料相同, 信号信息主要来自于加工使用的添加剂, 这也是不同的肉加工成的假羊肉具有类似的感官特征的一个原因。样品 5~8 的主要成分分别集中在鸭肉、牛肉、猪肉、羊肉的区域, 这表明相同种属的不同样品确实存在着相同的成分, 羊肉能够被有效地区分开。同时, 样品 5~8 之间也能被有效地区分开, 说明该方法对实际样品有相对较好的区分能力。

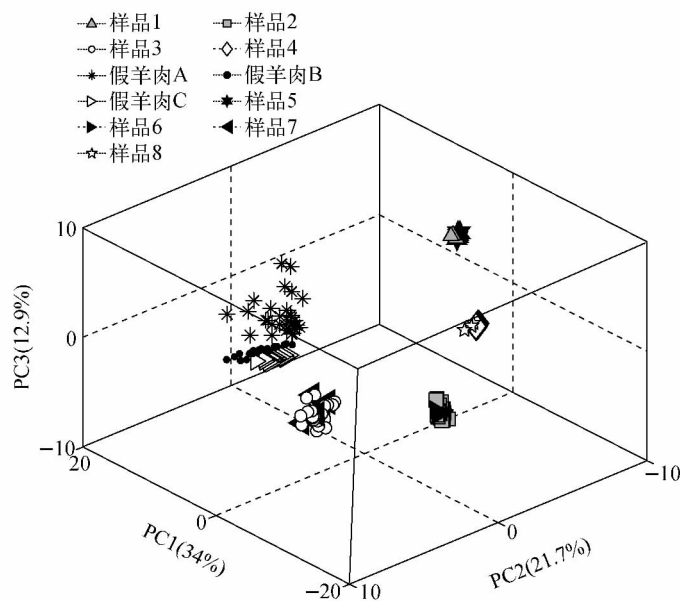


图 6 假羊肉 A~C 和样品 1~8 的 DAPCI-MS 数据 PCA 的三维得分结果

Fig. 6 3D plots of PCA score results for fake-muttons A—C and sample 1—8

### 3 结论

LTQ 线性离子阱质谱仪的门限时间最短为 0.001 ms, 为了提高检测的灵敏度和信号稳定性, 本实验设定门限时间为 100 ms, CID 碰撞解离时间为 30~50 ms, 单个样品的分析时间不超过 30 s。

结果表明, 采用 DAPCI-MS 和 PCA 相结合的方法, 可实现对不同肉类样品的快速区分。该方法发挥了 DAPCI-MS 无需样品预处理、测定速度快等特点, 若能与小型质谱仪结合使用实现现场快速筛查, 可有望成为一种高通量、实时、在线检测复杂样品的分析工具, 在食品、药品和环境等领域发挥重要作用。

#### 参考文献:

- [1] LV X W, WANG J, WU L, et al. Tissue deposition and residue depletion in lambs exposed to melamine and cyanuric acid-contaminated diets[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 58(2):943-948.
- [2] CLAUSEN M R, PEDERSEN B H, BERTRAM H C, et al. Quality of sour cherry juice of different clones and cultivars (*Prunus cerasus* L.) determined by a combined sensory and NMR spectroscopic approach[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(22):12 124-12 130.
- [3] 马发顺, 张明秀, 桑晓玲, 等. 羊肉的真伪鉴别法[J]. *肉品卫生*, 2002, (4):23-23.  
MA Fashun, ZHANG Mingxiu, SANG Xiaoling, et al. Identification method for authenticity of mutton[J]. *Meat Hygiene*, 2002, (4):23-23(in Chinese).
- [4] LAMETSCH R, ROEPSTORFF P, BENDIXEN E. Identification of protein degradation during post-mortem storage of pig meat[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(20): 5 508-5 512.
- [5] 何玮玲, 黄明, 张驰. 食品中肉类成分种属鉴别技术研究进展[J]. *食品科学*, 2012, 33(3): 304-307.  
HE Weiling, HUANG Ming, ZHANG Chi. Recent technological advances for identification of meat species in food products[J]. *Food Science*, 2012, 33(3):304-307(in Chinese).
- [6] AL-JOWDER O, KEMSLEY E, WILSON R H. Detection of adulteration in cooked meat products by mid-infrared spectroscopy[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(6):1 325-1 329.
- [7] FAJARDO V, GONZÁLEZ I, ROJAS M, et al. A review of current PCR-based methodologies for the authentication of meats from game animal species[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2010, 21(8):408-421.
- [8] CHEN H W, HU B, ZHANG X. Principle and application of ambient mass spectrometry for direct analysis of complex samples[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2010, 38(8):1 069-1 088.
- [9] ZHANG X L, JIA B, HUANG K K, et al. Tracing origins of complex pharmaceutical preparations using surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2010, 82(19):8 060-8 070.
- [10] LI X, HU B, DING J H, et al. Rapid characterization of complex viscous samples at molecular levels by neutral desorption extractive electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Nature Protocols*, 2011, 6(7):1 010-1 025.
- [11] 方小伟, 张丽丽, 贾滨, 等. 表面解吸常压化学电离质谱法快速筛查劣质食用油[J]. *现代科学仪器*, 2011, 94(5):94-97.  
FANG Xiaowei, ZHANG Lili, JIA Bin, et al. Rapid screening of inferior quality oils by surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry[J]. *Modern Scientific Instruments*, 2011, 94(5):94-97(in Chinese).
- [12] 祖文川, 汪雨, 李冰宁, 等. ICP-MS 相关联用技术在食品元素形态分析中的应用及进展[J]. *质谱学报*, 2013, 34(4):247-256.  
ZU Wenchuan, WANG Yu, LI Bingning, et al. The application and development of elemental speciation analysis in foods by ICP-MS related hyphenated technique[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2013, 34(4):247-256(in Chinese).
- [13] TAKATS Z, WISEMAN J M, GOLOGAN B, et al. Mass spectrometry sampling under ambient conditions with desorption electrospray ionization[J]. *Science*, 2004, 306(5 695):471-473.
- [14] 于林芳, 徐杰, 陈土国, 等. 仿刺参皂苷类化合物的电喷雾负离子质谱裂解规律研究[J]. *质谱学报*, 2011, 32(2):77-81.  
YU Linfang, XU Jie, CHEN Shiguo, et al. Study on the fragmentation pathways of triter-

- pene glycosides from apostichopus japonicus selenka by negative electrospray ionization mass spectrometry[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2011, 32(2): 77-81 (in Chinese).
- [15] 李玉, 俞志明, 宋秀贤. 运用主成分分析(PCA)评价海洋沉积物中重金属污染来源[J]. 环境科学, 2006, 27(1):137-141.  
LI Yu, YU Zhiming, SONG Xiuxian. Application of principal component analysis(PCA)for the estimation of source of heavy metal contamination in marine sediments[J]. Environmental Science, 2006, 27(1):137-141(in Chinese).
- [16] CHEN H W, SUN Y P, WORTMANN A, et al. Differentiation of maturity and quality of fruit using noninvasive extractive electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. Analytical Chemistry, 2007, 79(4):1 447-1 455.
- [17] ZHU L, YAN J P, ZHU Z Q, et al. Differential analysis of camphor wood products by desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(3):547-552.
- [18] HU B, LAI Y H, SO P K, et al. Direct ionization of biological tissue for mass spectrometric analysis[J]. Analyst, 2012, 137(16): 3 613-3 619.
- [19] YANG S P, DING J H, ZHENG J, et al. Detection of melamine in milk products by surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry [J]. Analytical Chemistry, 2009, 81(7):2 426-2 436.
- [20] 朱志强, 闫建平, 汪雨, 等. 表面解吸常压化学电离质谱快速鉴别樟木制品[J]. 分析化学, 2013, 41(6):905-910.  
ZHU Zhiqiang, YAN Jianping, WANG Yu, et al. Surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for rapid analysis of camphor wood products[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2013, 41(6): 905-910(in Chinese).
- [21] 李建强, 贾滨, 胡斌, 等. 肾结石中三聚氰胺的表面解吸常压化学电离质谱测定[J]. 分析化学, 2010, 38(9):1 325-1 328.  
LI Jianqiang, JIA Bin, HU Bin, et al. Surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for detection of melamine in kidney stone samples[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2010, 38(9):1 325-1 328 (in Chinese).
- [22] 丁丽英, 胡斌, 杨水平, 等. 纺织品中致癌性芳香胺的质谱成像[J]. 质谱学报, 2010, 31(2): 79-82.  
DING Liying, HU Bin, YANG Shuiping, et al. Imaging carcinogenic aromatic amines in textiles by surface desorption atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2010, 31(2):79-82(in Chinese).
- [23] 尤娟, 罗永康, 张岩春, 等. 驴肉主要营养成分及与其它畜禽肉的分析比较[J]. 肉类研究, 2008, (7):20-22.  
YOU Juan, LUO Yongkang, ZHANG Yanchun, et al. Nutrition composition of donkey meat and comparison with other livestock and poultry meat [J]. Meat Research, 2008, (7):20-22 (in Chinese).
- [24] BARONI M V, PODIO N S, BADINI R G, et al. How much do soil and water contribute to the composition of meat? A case study: Meat from three areas of Argentina[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(20):11 117-11 128.
- [25] VASTA V, RATEL J, ENGEL E. Mass spectrometry analysis of volatile compounds in raw meat for the authentication of the feeding background of farm animals[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(12):4 630-4 639.
- [26] WOOD JD R, NUTE G. Effects of fatty acids on meat quality: A review[J]. Meat Science, 2003, 66(1):21-32.
- [27] MACY R L, NAUMANN H, BAILEY M E. Water-soluble flavor and odor precursors of meat. II. Effects of heating on amino nitrogen constituents and carbohydrates in lyophilized diffusates from aqueous extracts of beef, pork, and lamba[J]. Journal of Food Science, 1964, 29(2):142-148.