



使用配备喷射流技术的 Agilent 6490 三重四极杆 LC/MS 对食品中的组胺进行快速、简便和可靠的分析

应用简报

食品检验

作者：

Nick Byrd
Campden BRI
格洛斯特郡坎普登
英国

前言

生物胺 (BA) 是微生物、植物及动物在代谢过程中产生的碱性含氮化合物。这些化合物以不同浓度水平广泛存在于鱼、奶酪、肉、红酒、啤酒、蔬菜及巧克力等食物中。存在于食物中的生物胺会引发毒性作用进而影响健康。造成健康问题的最多见的食物源性生物胺是组胺。

英国 Campden BRI 实验室基于液相色谱/三重四极杆质谱开发了多种不同的多生物胺分析方法，涵盖组胺、酪胺和色胺等化合物。然而，通常只需对组胺进行分析，因为现有法规（见下文）只对它进行了要求。该应用简报将介绍该特定的组胺分析。

组胺污染也称为鲭鱼中毒，因为这种疾病与食用鲭科鱼类如金枪鱼有关。实际上，在 2011-2012 十二个月内，欧盟食品与饲料快速预警系统 (RASFF) 已就鱼类产品发出了 7 个食品中毒警告以及 10 个边境拒绝通告。欧盟法规 No. 1441/2007 规定了在鲭科鱼、鲱科鱼、鳀科、鲱鳅科 (*Coryfenidae*)、蓝鱼科 (*Pomatomidae*) 以及鲹科 (*Scombrosidae*) 鱼中组胺的最大限量值为 100 – 400 mg/kg。



Agilent Technologies

现今食品中生物胺的检测方法通常是高效液相色谱法 (HPLC)，并在衍生后采用荧光检测器进行检测。以上方法费时（运行时间接近 60 min）；另外，由于提取不完全以及衍生步骤的干扰，该方法通常会导致测定不准确和结果不一致。

该应用简报介绍了一种采用 UHPLC-MS/MS 和多反应监测 (MRM) 模式的简单、快速的分析方法。该方法结合了本实验室已验证适合后续 LC/MS 分析的快速酸萃取及过滤步骤，不仅适合于组胺的分析，同时也可应用于酪胺和色胺的分析。质谱的使用则可省掉衍生步骤。实际上，质谱的使用也可增加结果的可靠性，因为氘代内标可跟踪分析的全过程。

实验部分

试剂和标准品

天然组胺和氘代组胺标准品从 Qmx 实验室 (Thaxted, UK) 获得。天然标准品用乙腈配制成 1000 ppm 的工作溶液。然后用 0.1 M HCl 稀释得到校准曲线所需的浓度梯度。

仪器

本方法采用 Agilent 1290 Infinity LC 系统联用配有安捷伦喷射流离子聚焦技术的 Agilent 6490 三重四极杆 LC/MS 系统。仪器条件在表 1 中列出。

样品前处理

将 10 g 食品样品和氘代内标物加入 50 mL 0.1 M HCl 中。涡旋混合并通过 0.2 μm 尼龙滤膜进行过滤。校准溶液的浓度范围为 1 - 50 mg/L。以往分析中常见的生物胺的浓度为 5 - 250 mg/kg，因而需将样品稀释 5 倍以满足准确定量要求。若样品浓度更大，则需加大样品的稀释倍数，使得待分析液的最终浓度在校准浓度范围之内。

表 1. Agilent 1290 Infinity LC 系统及 Agilent 6490 三重四极杆 LC/MS 系统的仪器条件

液相色谱条件		
分析型色谱柱	Cogent Diamond Hydride 色谱柱 100A 4 μm 150 × 2.1 mm 7000-15P-2	
柱温	30 °C	
进样体积	0.5 μL	
流动相	A: 含 0.1 % 甲酸的水溶液 B: 含 0.1 % 甲酸的乙腈溶液	
流速	400 μL/min	
梯度条件	时间 (min)	溶剂 B (%)
	0	70
	2	65
	6	10
	8	10
	9	70
	停止时间: 9 min	
质谱条件		
采集参数	配备安捷伦喷射流技术的 ESI 源，正电离	
鞘气温度	400 °C	
鞘气流速	12 L/min	
干燥气流速	11 L/min	
干燥气温度	200 °C	
喷雾器压力	45 psig	
喷嘴电压	1250 V	
Vcap 电压	5500 V	

分析参数

组胺的三重四极杆 LC/MS 系统分析参数见表 2。

表 2. 组胺的采集参数

目标化合物	前体离子	子离子	碰撞能量	碰撞池加速电压
组胺 (定量离子对)	112	68.1	24	7
组胺	112	95.1	16	7
组胺	112	54.1	48	7
组胺 D4	116	99.1	12	7
组胺 D4	116	85.1	16	7

结果与讨论

色谱分离

采用 C3 色谱柱可使组胺在色谱柱上有较好的保留, 同时又能最小化基质效应并能确保与干扰组分的分离。在较低浓度时, 具有相同 MRM 离子对的其它化合物也出现在谱图上。然而, 内标可让色谱图上峰的归属毋庸置疑。

硬奶酪样品

样品 A 的浓度较最低校准浓度低, 然而该方法的灵敏度完全满足分析的要求, 可基于校准拟合得到半定量的结果。在该分析实例中, 提取过程是将 10 g 样品溶于 50 mL 0.1 M HCl 中提取, 初步估计组胺的天然浓度为 1 mg/kg。样品 B 则是添加了 300 ppm 组胺的样品, 可确定方法的回收率。第二个实例中的提取则是将 10 g 样品溶于 100 mL 0.1 M HCl 中, 该实验结果为 289 mg/kg (回收率大于 96%)。

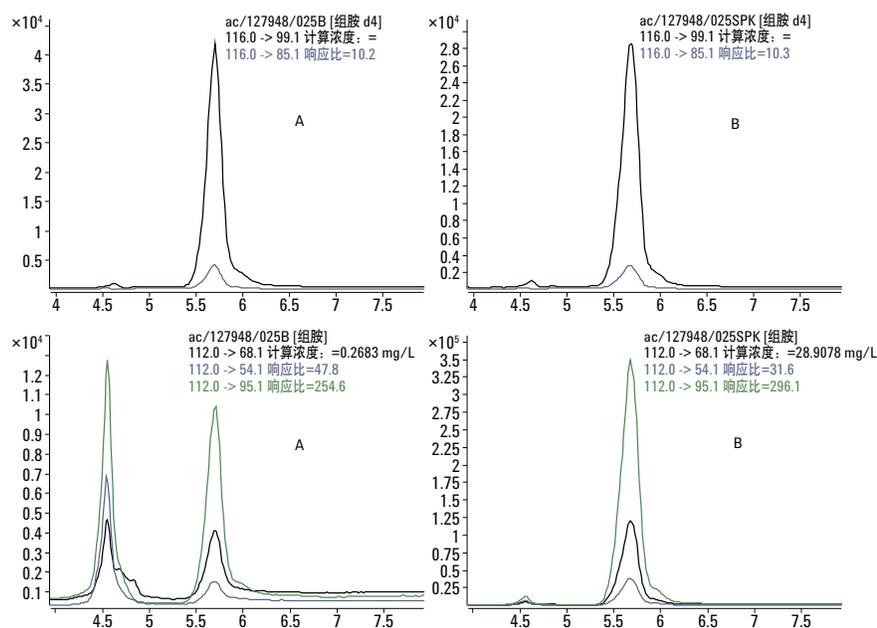


图 1. 硬奶酪样品中组胺的定量和定性离子对

定量及灵敏度

从 0.1 M HCl 中组胺的校准曲线可知，组胺在 1 - 50 mg/L 浓度范围内具有很好的线性， R^2 值大于 0.999（图 2）。实际上，该范围的下限显著低于欧盟法规限量要求的水平。因此，该方法非常有潜力对更低浓度水平的样品进行定量分析，如图 1 所示，这对于食品基质中生物胺的初期形成的考察是非常有用的。

其它工作

回收率实验通过在鱼组织中添加 100 mg/kg 标准品 ($n=10$) 进行。组胺的回收率为 $99 \pm 4.6\%$ 。另外两种生物胺的数据没有在此列出，若有需要可向作者索要。

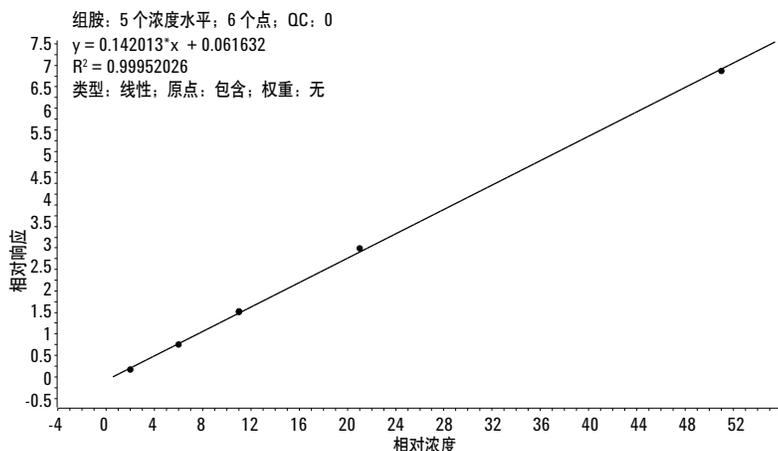


图 2. 0.1 M HCl 中 1 - 50 mg/L 组胺的校准曲线

结论

目前已开发了一种简单、快速、便于操作的分析技术来进行食品中组胺的检测。它结合了快速经济的提取过程及高灵敏度的 LC/MS/MS 分析检测。该检测基于配备安捷伦喷射流技术的 6490 三重四极杆 LC/MS 系统。该方法的检测限显著低于欧盟法规限量值。另外，该方法也很有可能被应用于其它的安捷伦三重四极杆系统。也可以采用相同的离子对，尽管安捷伦对于其它类型的仪器会推荐不同的离子源条件。该方法也可进行其它生物胺的同时测定。在 Campden BRI 实验室，为应对及支持食品检测工作，已经建立了部分生物胺的反应离子对通道及相关条件。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料中可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2013

中国印制

2013 年 3 月 22 日

5991-1286CHCN