

SCIEX QTRAP®系统快速测定牛奶中9种生物胺

Rapid Determination of nine biological amines in milk by SCIEX QTRAP® system

赵雯雯, 孙小杰, 刘冰洁, 郭立海
Zhao Wenwen, Sun Xiaojie, Liu Bingjie, Guo Lihai

SCIEX China

英文关键词: QTRAP; Biological Amines

前言

生物胺是一类含氮低分子量有机化合物的总称, 常见的生物胺根据化学结构可以分为3类, 包括脂肪族生物胺 (精胺、亚精胺、尸胺、腐胺), 芳香族生物胺 (苯乙胺、酪胺) 和杂环胺 (色胺、组胺); 根据含氨基的数量, 又可以分为单胺和多胺^[1]。生物胺广泛存在于富含氨基酸和蛋白质的各种食品当中, 如水产品、肉类食品、发酵食品等, 为游离氨基酸在氨基酸脱羧酶作用下脱去羧基形成的产物^[2], 其含量可作为食品新鲜程度的判断依据。食用高含量生物胺的制品会引起食源性中毒, 组胺中毒会引起呕吐、腹泻、呼吸困难; 色胺、酪胺、 β -苯乙胺会导致血压升高, 而多胺类精胺、亚精胺、尸胺、腐胺可能会与亚硝酸盐反应产生致癌物亚硝胺^[3]。

生物胺化合物缺少发色基团, 本身既无紫外吸收又无荧光及电化学活性, 使得常规分析测定比较困难。目前 GB 5009.208-2016 的液相色谱法和分光光度法都须采用衍生生化完成。但是, 衍生化常常操作繁琐复杂, 衍生条件严格, 衍生产物不稳定, 方法重现性较差。

本文使用SCIEX QTRAP®系统开发出了一种新型、高效、准确的定性和定量测定牛奶中9种生物胺的方法, 该方法具有以下特点:

1. 本方法无须衍生化, 方法重现性好, 大大降低前处理的实验成本和实验误差。
2. 检测方法简单高效, 一针进样, 应用QTRAP®质谱的MRM-IDA-EPI复合扫描模式同时获得MRM数据以及高灵敏度的二级碎片全谱数据 (EPI)。根据其二级碎片全谱信息, 建立生物胺标

准谱库, 可用于日常快速筛查以及定性确证。即便对复杂基质中的低浓度目标化合物仍能得到高质量的二级碎片谱, 通过与标准谱库的匹配使定性结果更可靠。

3. 精胺由于极性较大, 在Z-HILIC色谱柱上峰形严重拖尾, 通过提高流动相梯度中水相使用比例, 提高水相缓冲盐浓度, 降低流动相pH可改善精胺拖尾现象。在优化条件下, 各生物胺均有较好的保留, 从而有效降低了基质效应的影响。

1. 实验方法

1.1. 液相条件

液相: SCIEX ExionLC™系统

色谱柱: Z-HILIC (2.1×150 mm, 2.5 μ m)

流动相A: 90 mM甲酸铵 (甲酸调pH为4)

流动相B: 90%乙腈 (含10 mM甲酸铵, 0.5%甲酸)

梯度洗脱, 详见表1

流速: 0.30 mL/min

柱温: 40 °C

表1. 梯度洗脱程序

时间 (min)	A (%)	B (%)
0	10	90
1	10	90
6	90	10
8	90	10
9	10	90
12	10	90

1.2. 质谱条件

SCIEX质谱系统

扫描方式：MRM-IDA-EPI

离子源：ESI源，正离子模式

离子源参数：

IS电压：2500 V 气帘气CUR：30 psi

雾化气GS1：50 psi 辅助气GS2：55 psi

源温度TEM：450 °C 碰撞气CAD：High

2. 实验结果

2.1 9种生物胺提取离子流色谱图

实验发现，精胺由于极性较大，在Z-HILIC色谱柱上峰形严重拖尾，通过提高流动相梯度中水相使用比例，提高水相缓冲盐浓度，降低流动相pH可改善精胺拖尾现象。在优化条件下，各生物胺均有较好的保留从而降低基质效应的影响。如图1所示，在分析条件下9种生物胺可获得较好峰形。

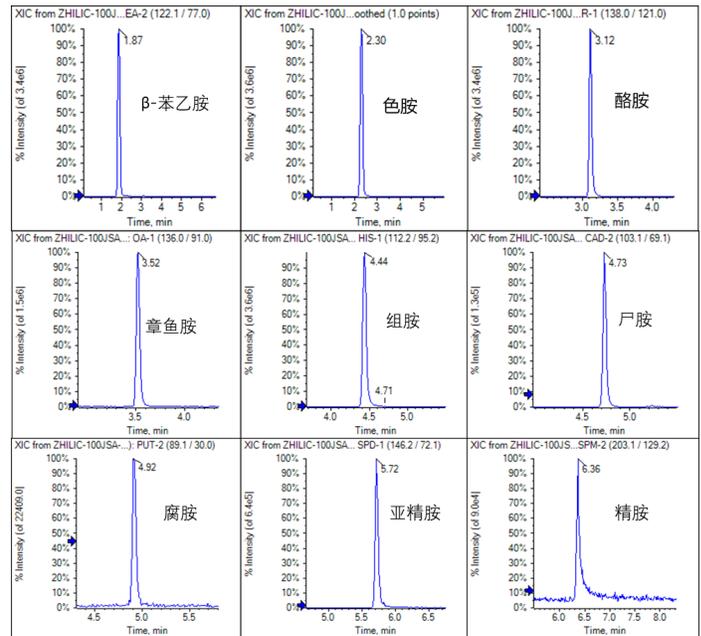


图1. 9种生物胺的XIC提取离子色谱图

表2. 9种生物胺离子对信息

化合物名称	英文名称	Q1	Q3	去簇电压 DP (V)	碰撞能量 CE (V)	保留时间 RT (min)
精胺	Spermine (SPM)	203.2	112.1*	45	18	6.36
		203.2	119.1	45	27	
亚精胺	Spermidine (SPD)	146.2	72.1*	80	20	5.72
		146.2	112.2	80	19	
腐胺	Putrescine (PUT)	89.1	72.1*	30	14	4.92
		89.1	30.0	30	22	
尸胺	Cadaverine (CAD)	103.1	86.1*	40	13	4.73
		103.1	69.0	40	21	
组胺	Histamine (HIS)	112.2	95.2*	48	20	4.44
		112.2	68	48	30	
章鱼胺	Octopamine (OA)	136.0	91.0*	70	26	3.52
		136.0	119.0	70	19	
酪胺	Tyramine (TRY)	138.0	121.0*	40	16	3.12
		138.0	77.0	40	34	
β-苯乙胺	2 - Phenylethylamine (PEA)	122.1	105.0*	50	17	1.87
		122.1	77.0	50	40	
色胺	Tryptamine (TRP)	161.2	144.1*	50	18	2.30
		161.2	117.2	50	33	

2.2 MRM-IDA-EPI 扫描模式辅助阳性结果确证

QTRAP®质谱的MRM-IDA-EPI 扫描模式除可获得MRM离子对色谱图外，还可获得更全质量范围的二级质谱图，根据标品的二级碎片建立生物胺标准谱库，可用于食物中生物胺的快速筛查以及定性确证。在变质牛奶中检测出腐胺，其保留时间和二级碎片离子比率满足要求，进一步根据实测二级谱图与数据库匹配度Purity得分（94.1），可确定样品中含有腐胺成分。

2.3 方法学考察

实验考察了方法的重复性和线性。分别选取低、中、高三个浓度测定，每个浓度重复6次，准确度在85%-105%之间，相对标准偏差小于3.0%，实验结果表明该方法具有较好的准确度和稳定性。测定组胺线性范围为0.05~50 µg/L，β-苯乙胺、色胺线性为0.1~100 µg/L，章鱼胺、酪胺为0.2~100 µg/L，精胺、尸胺为0.5~100 µg/L，亚精胺为0.5~50 µg/L，腐胺为2.0~100 µg/L，线性相关系数r均大于0.995，表明线性良好，结果见图4。

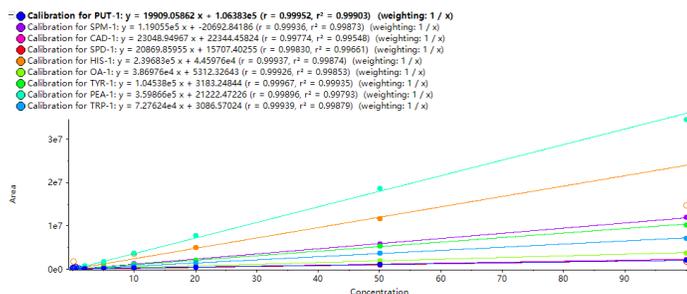


图4. 9种生物胺线性关系曲线

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2023 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15720-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话: 010-5808-1388
传真: 010-5808-1390
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话: 021-2419-7201
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话: 020-8842-4017

官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)

3. 注意事项

- (1) 配置标液及样品时应使用塑料进样瓶，玻璃进样瓶对多胺有吸附^[4]。
- (2) 稀释溶剂使用70%乙腈（含0.5%甲酸）。
- (3) HILIC色谱柱使用之前要多进空白平衡色谱柱，使用后先用高比例水相冲洗掉缓冲盐，再逐渐过渡到高有机相中保存。

总结

本文使用SCIEX QTRAP®系统开发出了一种新型、高效、准确的定性和定量测定牛奶中9种生物胺的方法，简单高效，一针进样应用QTRAP®质谱的MRM-IDA-EPI复合扫描模式同时获得MRM数据以及高灵敏度的二级碎片全谱数据（EPI）可以快速筛查并定量牛奶中的生物胺。

参考文献

- [1] 刘洋帆,李绪鹏,冯阳,王迪,陈胜军,杨贤庆,吴燕燕,邓建朝.超高效液相色谱-串联质谱法测定鲤鱼中的生物胺[J].食品与发酵工业,2022,48(20):225-230.
- [2] Gosetti F, Mazzucco E, Gennaro MC, Marengo E. Simultaneous determination of sixteen underivatized biogenic amines in human urine by HPLC-MS/MS. Anal Bioanal Chem. 2013 Jan;405(2-3):907-16.
- [3] 林瑶.超高效液相色谱-串联质谱法同时测定食品中5种生物胺的方法建立[J].预防医学论坛,2022,28(11):834-838.
- [4] 吕炜炜.液相色谱串联质谱快速检测昆虫体内多胺方法的建立和应用[D].福建农林大学,2019.