

X500R 高分辨质谱系统SWATH® 技术对热加工肉制品中杂环胺的定性定量分析

Qualitative and Quantitative Analysis of Heterocyclic Amines in Hot Processed Meat Products by SWATH® of X500R

吴海军, 赵祥龙, 李立军, 郭立海

Wu Haijun, Zhao Xianglong, Li Lijun, Guo Lihai

SCIEX应用支持中心, 中国

SCIEX China

Keywords: X500R, Hot Processed Meat Products, Heterocyclic Amines

关键词: 2D-LC-X500B, 多中心切割, 药物杂质, 胰岛素前体

引言

杂环胺 (Heterocyclic Amines, HCAs) 是富含蛋白质的食品原料(如肉类等)热加工程中产生的一大类危害物, 大量研究表明, 这类物质可与DNA 共价结合产生致癌致突变毒性。目前, 杂环胺物质通常采用GC、GC-MS、HPLC、LC-MS方法, 大多数杂环胺是极性的, GC、GC-MS常用硅烷化衍生化或酰化衍生化。部分HCAs 缺乏紫外生色团结构及荧光特性, 液相HPLC检测种类有限。故HCAs的检测方法一直采用色谱-质谱检测, 如国标GB 5009.243-2016、SN/T 4140-2015对杂环胺采用液相质谱方法检测。因肉类食品基体复杂, 杂环胺含量低, 假阳性问题存在。本文采用X500R 高分辨系统SWATH® 技术对热加工肉制品中杂环胺的定性定量分析。

本文实验方案技术特点和优势:

1. 采用SCIEX OS软件SWATH®技术, 具有一级质谱质量精度, 化合物同位素丰度, 保留时间, 二级谱库匹配四大关卡完成定性分析, 结果准确;
2. SWATH®技术采集二级质谱用于定量分析, 降低干扰, 满足欧盟要求的Ion Ratio的法规要求, 定量结果准确。浓度范围为0.5-50 µg/L, 具有良好的线性相关性, r均大于0.99;

3. SWATH®技术可以实现数据可追溯, 样本只需采集一次, 随时调用样本数据分析不同的方向;
4. SCIEX OS软件快速高通量完成大量样本的定性定量工作。

实验方法

1. 液相方法:

流动相A: 0.1%甲酸水 ;

流动相B: 甲醇;

色谱柱: Phenomenex Kinetex F5 3.0 × 100 mm, 2.6 µm;

流速: 0.4 mL/min;

柱温: 40 °C

洗脱程序: 梯度洗脱;

2. 质谱方法:

X500R离子源参数如表1:

表1. 正离子模式: ESI+

Parameter	Setting
Curtain Gas (CUR)	30
Ion Spray voltage (IS)	5500
Temperature (TEM)	550
Nebulizer Gas (GS1)	55
Heater Gas (GS2)	55

SWATH®方法设置:

Method duration	14 min	Total scan time:	0.864 sec
Estimated cycles:	971		
Experiment SWATH			
Polarity	Positive	Spray voltage	5500 V
TOF MS			
TOF start mass	100 Da	Declustering potential	80 V
TOF stop mass	700 Da	DP spread	0 V
Accumulation time	0.15 s		
TOF MSMS			
TOF start mass	50 Da	TOF stop mass	700 Da
Accumulation time	0.07 s	Charge state	1
Mass Table Autofill SWATH windows...			
Precursor	Precursor	Declustering DP	Collision CE

3. 样品前处理

参照SN/T 4140-2015标准, 样本经过乙腈提取、正己烷去除油脂, 调节2PH, 过SPE固相萃取柱, 净化, 氮吹、定容, 直接上机液相质谱分析。

结果与讨论

1. 四关锁定定性分析

16种杂环胺通过一级质量精度、同位素丰度, 保留时间, 二级谱库匹配四大关完成对化合物的鉴定工作, 如下图1杂环胺 phip, 四关显示绿灯, 一级偏差为0.9ppm, 二级匹配得分70分以上, 快速确证是phip化合物。所以, 四关锁定定性分析流程简单、快速、智能化。16种杂环胺分析物见表2。

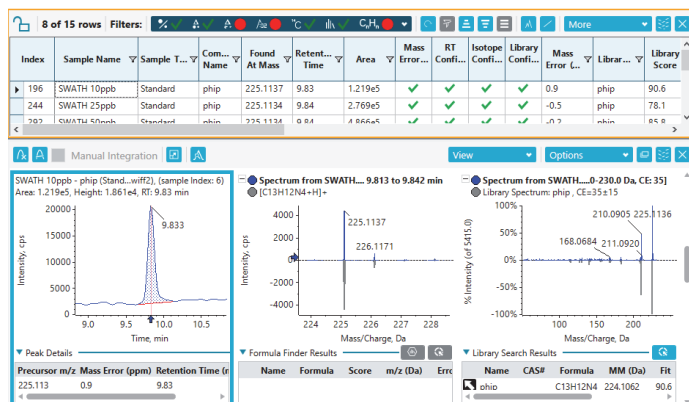


图1. 16种杂环胺四关锁定鉴定结果。

表2. 16种杂环胺分子式及加合方式。

Name	Formula	Adduct	Mass
iq	C ₁₁ H ₁₀ N ₄	[M+H] ⁺	199.0978
phip	C ₁₃ H ₁₂ N ₄	[M+H] ⁺	225.1135
meiq	C ₁₂ H ₁₂ N ₄	[M+H] ⁺	213.1135
iqx	C ₁₀ H ₉ N ₅	[M+H] ⁺	200.0931
meiqx	C ₁₁ H ₁₁ N ₅	[M+H] ⁺	214.1087
4,8dimeiqx	C ₁₂ H ₁₃ N ₅	[M+H] ⁺	228.1244
7,8dimeiqx	C ₁₂ H ₁₃ N ₅	[M+H] ⁺	228.1244
Harman	C ₁₂ H ₁₀ N ₂	[M+H] ⁺	183.0917
Nor Harmane	C ₁₁ H ₈ N ₂	[M+H] ⁺	169.0760
trp-p-1	C ₁₃ H ₁₃ N ₃	[M+H] ⁺	212.1182
trp-p-2	C ₁₂ H ₁₁ N ₃	[M+H] ⁺	198.1026
AaC	C ₁₁ H ₉ N ₃	[M+H] ⁺	184.0869
MeAaC	C ₁₂ H ₁₁ N ₃	[M+H] ⁺	198.1026
Glu-p-1	C ₁₁ H ₁₀ N ₄	[M+H] ⁺	199.09782
Glu-p-2	C ₁₀ H ₈ N ₄	[M+H] ⁺	185.08217
DMIP	C ₈ H ₁₀ N ₄	[M+H] ⁺	163.09782

2. 线性范围

16种杂环胺二级质谱定量, 浓度为0.5-50 µg/L范围线性良好 (r>0.99), 保证不同浓度水平样品的准确定量 (见图2)。

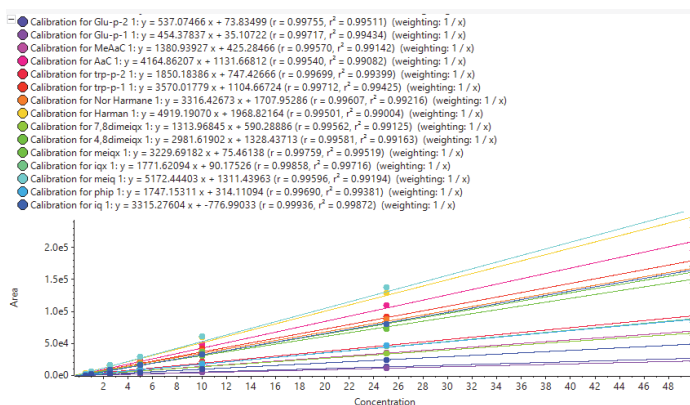


图2. 16种杂环胺的工作曲线。

3. 定量限

浓度为1 µg/L的16种杂环胺化合物的色谱图 (见图3), 高于SN/T 4140-2015的定量下限。满足国内外标准的要求。

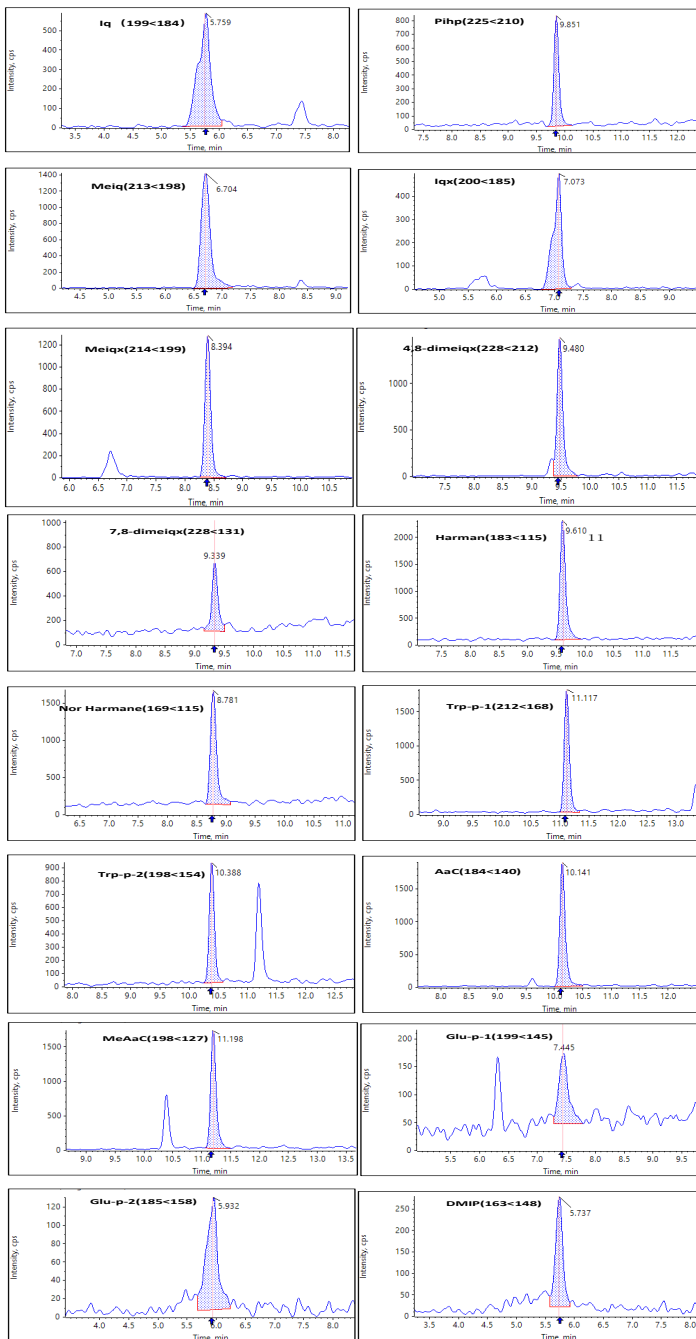


图3. 浓度为1ng/mL的16种杂环胺的色谱图。

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。© 2020 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.

RUO-MKT-02-12066-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: 021-2419-7200
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州分公司
广州市天河区珠江西路15号
珠江城1907室
电话: 020-8510-0200
传真: 020-3876-0835
官方微信: [ABSciex-China](https://www.absciex.com.cn)

总结

1. 本实验采用X500R的SWATH®技术，简单、快速、准确的完成四关锁定的鉴定，同时，满足标准需要的二级定量方式。
2. 本实验方法满足标准SN/T 4140-2015的最低检出限，而且SWATH®技术数据的可追溯性，因此，本实验方法在热加工肉制品中杂环胺的定性定量分析有着重要的研究参考意义。

参考文献

- [1] Hsiao, H.-Y., Chen, B.-H., & Kao, T.-H. (2017). Analysis of Heterocyclic Amines in Meat by the Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe Method Coupled with LC-DAD-MS-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(42), 9360–9368