

T B

团体标准

T/ NAIA×××-××××

葡萄酒中 7 种生物胺的测定  
液相色谱-串联质谱法

2022-××-××发布

2022-××-××实施

宁夏化学分析测试协会 发布



# 前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本文件起草单位：宁夏回族自治区食品检测研究院（国家市场监管重点实验室（枸杞和葡萄酒质量安全））、宁夏回族自治区标准化研究院、宁夏化学分析测试协会、宁夏农产品质量标准与检测技术研究所。

本文件主要起草人：李瑞雪、龚慧、谢芳、王泽岚、王晶蕾、汤丽华、高琳、吴明、吕毅、马桂娟、王香瑜、葛谦、张小飞。本文件为首次发布。

# 葡萄酒中 7 种生物胺的测定 液相色谱-串联质谱法

## 1 范围

本文件规定了葡萄酒中 7 种生物胺含量的液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于葡萄酒中色胺、2-苯乙胺、尸胺、腐胺、组胺、亚胍胺、酪胺含量的测定和确证。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用本文件；不注日期的引用文件，其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法。

## 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 原理

样品经混匀、离心、过滤，液相色谱-串联质谱仪测定，外标法定量。

## 5 试剂和材料

除另有说明，所用试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

### 5.1 试剂

5.1.1 甲酸(HCOOH)：色谱纯。

5.1.2 乙腈(CH<sub>3</sub>CN)：色谱纯。

5.1.3 乙酸铵(CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>)。

### 5.2 溶液配制

5.2.1 乙酸铵-甲酸水溶液：取 0.385g 乙酸铵(5.1.3)、1 mL 甲酸(5.1.1)，用水稀释并定容至 1000 mL。

### 5.3 标准品

生物胺标准物质：纯度均不低于 95%，基本内容见附录 A。

### 5.4 标准溶液制备

5.4.1 标准储备液(1 mg/mL)：准确称取适量的标准物质(5.3)，分别用乙腈(5.1.2)制备浓度为 1 mg/mL 的标准储备液。-18℃以下保存。

5.4.2 混合标准工作液：移取适量的标准储备液(5.4.1)，用阴性葡萄酒基质溶液配制成浓度为 10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL、300 ng/mL 的混合标准工作溶液。

## 6 仪器和设备

- 6.1 液相色谱-串联质谱仪：配电喷雾电离源。
- 6.2 分析天平：感量为 0.00001 g 和 0.01 g。
- 6.3 高速离心机：15000 r/min。
- 6.4 涡旋混合器。
- 6.5 具塞塑料离心管：2.0 mL。
- 6.6 超声波振荡器。
- 6.7 微孔滤膜（水相）：0.22  $\mu\text{m}$ 。

## 7 分析步骤

### 7.1 试样制备

起泡葡萄酒需预先脱气。将 100 mL 试样倒入带排气塞的瓶中，置于超声波振荡器（6.6）中脱气，直至无气体逸出。

### 7.2 试样的提取

将葡萄酒试样摇匀，取一定量试样于塑料离心管中，于 15000 r/min 离心 5 min，上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜，供液相色谱-串联质谱分析。

### 7.3 仪器参考条件

#### 7.3.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：C8 色谱柱（150 mm $\times$ 2.1 mm，3.5  $\mu\text{m}$ ），或相当者；
- b) 柱温：35  $^{\circ}\text{C}$ ；
- c) 进样量：5  $\mu\text{L}$ ；
- d) 流速：0.2 mL/min；
- e) 流动相 A：乙酸铵-甲酸水溶液（5.2.1），流动相 B：乙腈（5.1.2）。梯度洗脱条件见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱条件

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	95	5
7.50	70	30
10.00	10	90
12.00	10	90
12.01	95	5

#### 7.3.2 质谱参考条件

- a) 离子源：电喷雾离子源（ESI）；
- b) 扫描方式：正离子扫描；
- c) 检测方式：多反应离子监测（MRM）；
- d) 脱溶剂气、碰撞气均为高纯氮气或其它合适气体；
- e) 破碎电压、碰撞能等参数应优化至最优灵敏度；
- f) 监测离子参数情况见表 2。

表 2 生物胺特征离子参考质谱条件

化合物	母离子 m/z	子离子 m/z	破碎电压 V	碰撞能 eV
色胺	161	161>144 <sup>a</sup>	90	15
		161>127.1	90	20
亚精胺	146	146>72.3 <sup>a</sup>	80	10
		146>112.4	80	10
尸胺	103	103>86.1 <sup>a</sup>	80	5
		103>69	80	5
腐胺	89.3	89.3>72.2 <sup>a</sup>	90	10
		89.3>45	100	30
酪胺	138.2	138.2>121.3 <sup>a</sup>	90	10
		138.2>77	90	20
2-苯乙胺	122	122>105.1 <sup>a</sup>	80	5
		122>77.1	80	20
组胺	112	112>95.2 <sup>a</sup>	80	10
		112>68.1	80	15

<sup>a</sup>为定量碎片离子。

#### 7.4 定性与定量测定

##### 7.4.1 定性测定

在同样测试条件下,试样中生物胺类组分的保留时间与标准溶液中生物胺的保留时间之比,偏差在±2.5%以内,且检测到的相对离子丰度,应当与浓度相当的校正标准溶液相对丰度一致。其允许偏差应符合表 3 的要求。

表 3 定性测定时相对离子丰度最大允许偏差

相对丰度(基峰)	>50%	20%~50%(含)	10%~20%(含)	<10%
允许的相对偏差	±10%	±15%	±20%	±50%

##### 7.4.2 定量测定

取试样溶液和相应的标准溶液,作单点或多点校准,以色谱峰面积定量,按外标法计算,标准溶液及试样溶液中生物胺响应值均应在仪器检测的线性范围内,在上述液相色谱-质谱条件下,生物胺标准溶液的特征离子质量色谱图见附录 B。

##### 7.5 空白试验

除不加试样外,采用相同的测定步骤进行操作。

#### 8 结果计算和表述

试样中生物胺各组分含量按标准曲线法或按公式(1)计算获得,计算结果应扣除空白值,并保留两位有效数字。

$$X = C \times f \dots\dots\dots(1)$$

式中：

$X$ —试样中生物胺的含量，单位为微克每升 ( $\mu\text{g/L}$ )；

$C$ —从标准曲线得到的试样中溶液生物胺的浓度，单位为微克每升 ( $\mu\text{g/L}$ )；

$f$ —样品稀释倍数。

## 9 定量限

色胺、2-苯乙胺、酪胺、亚胺胺的定量限为  $10\mu\text{g/L}$ 。尸胺、腐胺、组胺的定量限为  $20\mu\text{g/L}$ 。

## 10 精密度

在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过其算术平均值的 10%。

附录 A  
(资料性)

标准物质中英文通用名称、化学分子式和 CAS 号

标准物质中英文通用名称、化学分子式和 CAS 号见表 A.1。

表 A.1 标准物质中英文通用名称、化学分子式和 CAS 号

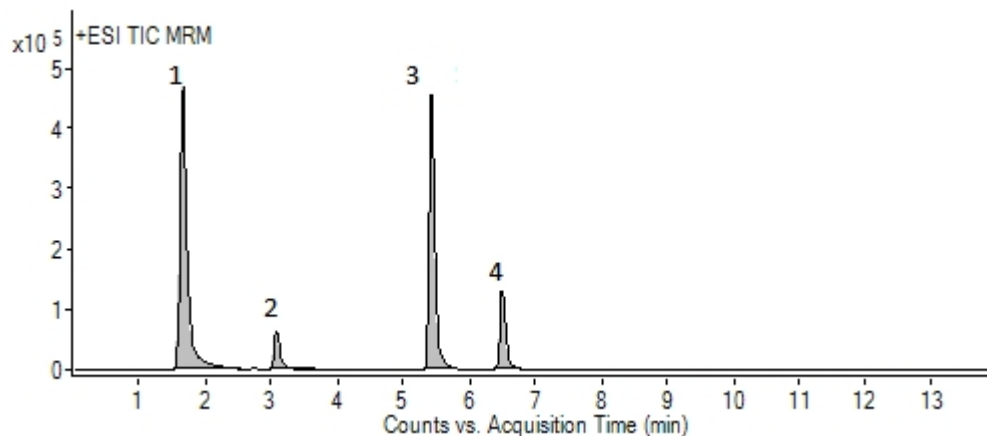
中文名称	英文名称	化学分子式	CAS 号
色胺	Tryptamine	$C_{10}H_{12}N_2$	61-54-1
2-苯乙胺	2-Phenethylamine	$C_8H_{11}N$	64-04-0
尸胺 (1,5-戊二胺)	1,5-Pentanediamine	$C_5H_{14}N_2$	464-94-2
腐胺 (1,4-丁二胺)	1,4-Butanediamine	$C_4H_{12}N_2$	110-60-1
组胺	Histamine	$C_5H_9N_3$	51-45-6
亚精胺	Spermidine	$C_7H_{19}N_3$	124-20-9
酪胺	Tyramine	$C_8H_{11}NO$	51-67-2



附录 B  
(资料性)

7 种生物胺标准溶液特征离子质量色谱图

7 种生物胺标准溶液特征离子质量色谱图见图 B. 1。



标引序号说明:

- 1 --- 亚精胺+组胺+尸胺+腐胺;
- 2 --- 酪胺;
- 3 --- 2-苯乙胺;
- 4 --- 色胺;

图 B. 1 7 种生物胺标准溶液特征离子质量色谱图