

利用三重四极杆质谱仪开发食品中过敏原的同步分析方法

01-00665-CN

Yuki Ito 和 Tetsuo Iida

特点描述

- ◆ 可同时分析七种特定成分（小麦、荞麦、鸡蛋、牛奶、花生、甲壳类动物（虾和蟹））以及被视为与特定成分等效的大豆过敏原。
- ◆ 采用此分析方法，可对加工食品中的食物过敏原进行同步分析。

■ 引言

众所周知，食物过敏是由于对食物中特定蛋白质（过敏原）的过度免疫反应引起的，已成为公共卫生和食品行业面临的一个紧迫问题。为防止食物过敏引发的健康危害，许多国家已颁布了严格的食品标签法规。在日本，鉴于过往健康损害的程度与频率，包装加工食品中 8 种特定成分（小麦、荞麦、鸡蛋、牛奶、花生、虾、蟹及核桃）必须标注，另有 20 种被视为与特定成分等效的成分建议标注。

目前，ELISA（酶联免疫吸附试验）和 PCR（聚合酶链反应）作为检测方法被广泛应用，通过相对简单的操作即可检测食品中的过敏原成分。然而，ELISA 检测因与类似物质的交叉反应而存在假阳性风险。此外，采用 ELISA 进行同步分析存在局限性，在检测多种食品成分时，需使用不同检测试剂盒分步完成测量。此外，由于 PCR 检测的是 DNA 而非蛋白质，因此难以区分牛奶和牛肉，同时检测不含 DNA 的蛋清也很困难。

在此背景下，利用液相色谱质谱法检测食物过敏原的方法因其高选择性和灵敏度，以及可同时分析多种过敏原的潜力而备受关注。

本应用报告介绍了一种使用 Nexera™ X3 超高效液相色谱仪和 LCMS-8060NX 三重四极杆质谱仪（图 1）同步分析加工食品中七种特定成分（小麦、荞麦、鸡蛋、牛奶、花生、甲壳类动物（虾和蟹））及被视为与特定成分等效的大豆过敏原的方法。



图 1 Nexera™ X3 与 LCMS-8060NX

■ 样品制备和分析条件

七种特定成分（小麦、荞麦、鸡蛋、牛奶、花生、甲壳类（虾和蟹））以及被视为与特定成分等效的大豆过敏原的标准样品，均取自 Saika 技术研究所基金会的“食物源性过敏原提取物”。

本研究所用加工食品包括市售预包装咖喱、婴儿食品和乌冬面，其包装上标注的过敏原信息如表 1 所示。

从每个样品中提取蛋白质后，进行还原烷基化、胰蛋白酶消化，并使用固相柱纯化，随后进行 LC/MS/MS 分析（图 2）。HPLC 条件与 MS 条件如表 2 所示。

表 1 食物过敏原信息

加工食品	包装上列出的过敏原
预包装咖喱	未提及具体成分或大豆
婴儿食品	未提及具体成分或大豆
乌冬面	小麦

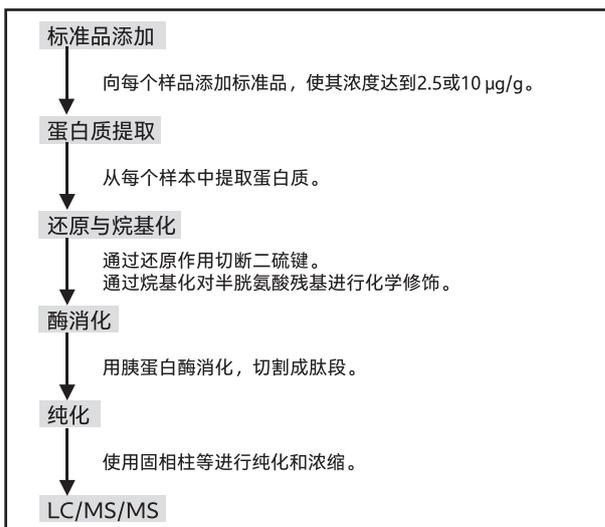


图 2 样品制备流程

表 2 分析条件

UHPLC (Nexera X3 系统)	
色谱柱	: Shim-pack™ GIST-HP C18-AQ [无金属] (2.1 mm I.D. × 100 mmL, 1.9 µm) P/N: 227-30936-02
流动相 A	: 0.1% 甲酸水溶液
流动相 B	: 0.1% 甲酸乙腈溶液
梯度程序	: B 相浓度 2% (0 min) → 15% (6 min) → 40% (10.5 min) → 95% (10.65 min) → 95% (12 min) → 2% (13.5 min) → 2% (20 min)
流速	: 0.5 mL/min (16 min - 18 min 期间为 0.35 mL/min)
柱温	: 40°C
进样量	: 3 µL
MS (LCMS-8060NX)	
离子源	: IonFocus™ ESI (正离子模式)
模式	: MRM
雾化气流量	: 2.0 L/min
干燥气流量	: 3.0 L/min
加热气体流量	: 17.5 L/min
DL 温度	: 150°C
加热器温度	: 300°C
接口温度	: 250°C

■ 七种特定成分与一种等效成分的同时分析

为同步分析上述八种成分来源的致敏肽，我们开发了一种包含 48 个 MRM 通道、可检测 17 种肽的分析方法。如图 3 (A) 所示，在分析这八种成分的过敏原混合标准品时，所有肽段均在 10.5 分钟内洗脱，显示出良好的峰形和分离模式。

图 3 (B) 以甲壳类动物致敏肽 (AGGLTLER) 为例展示了其线性特征。表 3 列出了所分析致敏肽的 MRM 通道。

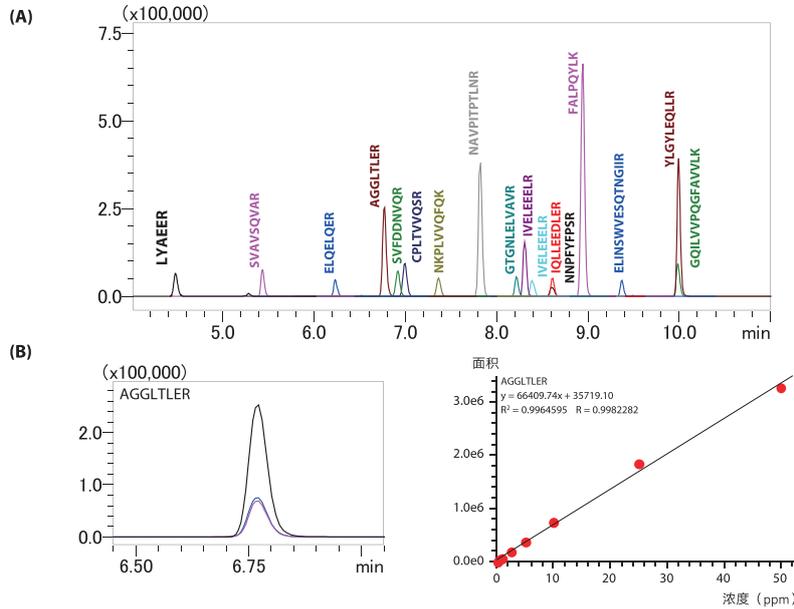


图 3 (A) 八种致敏食品来源肽混合物的色谱图 (B) 甲壳类动物来源肽的放大色谱图及其校准曲线 (0.1 - 50 ppm)

表 3 目标致敏肽的 MRM 通道

食品	肽	Precursor Ion (m/z)	Product Ion (m/z)	Collision energy (V)
小麦	SVAVSQVAR	458.75	730.40	-16.0
			560.30	-18.0
			802.40	-23.0
小麦	ELQELQER	522.75	432.20	-17.0
			746.20	-19.0
			631.10	-21.0
荞麦	SVFDDNVQR	540.00	958.60	-23.0
			1057.80	-24.0
			1116.50	-35.0
荞麦	GQILVVPQGFVAVLK	784.50	888.40	-34.0
			667.10	-15.0
			504.10	-13.0
鸡蛋	ELINSWVESQTNGIIR	930.30	991.55	-23.0
			771.45	-22.0
			658.40	-24.0
鸡蛋	LYAEER	391.10	277.15	-20.0
			334.20	-24.0
			911.55	-17.0
牛奶	YLGYLEQLLR	634.35	600.35	-25.0
			701.40	-24.0
			648.35	-17.0
牛奶	NAVPITPTLNR	598.35	761.45	-18.0
			832.50	-15.0
			506.25	-21.0
花生	NNPFYFPSR	571.25	229.10	-14.0
			686.40	-19.0
			557.40	-23.0
花生	GTGNLELVAVR	564.80	444.30	-23.0
			686.40	-19.0
			557.40	-23.0
甲壳类动物 (虾、蟹)	IQLLEEDLER	629.35	1016.55	-23.0
			903.45	-20.0
			790.35	-23.0
甲壳类动物 (虾、蟹)	IVELEELR	565.30	917.45	-18.0
			788.40	-21.0
			675.35	-20.0
甲壳类动物 (虾、蟹)	AGGLTLER	408.75	518.30	-17.0
			745.40	-17.0
			688.40	-17.0
大豆	NKPLVQFQK	600.85	958.55	-24.0
			400.90	-13.0
			649.35	-14.0
大豆	CPLTVQSR	530.30	689.40	-23.0
			802.50	-23.0
			588.35	-23.0
大豆	GIGTISSPYR	582.30	722.40	-18.0
			993.55	-21.0
			835.45	-21.0

加工食品中的过敏原分析

我们分析了添加与未添加八种过敏原标准的食品样品，以确认所开发的方法是否适用于食品样本。此次分析的预包装咖喱和婴儿食品中未检出致敏肽相关峰。在乌冬面中检测到源自小麦的特征峰，但未检出其他致敏肽的特征峰。这些结果与加工食品包装上所列信息一致。例如，图 4 (A) 和 (B) 展示了源自荞麦和小麦的肽的色谱图。

结论

我们采用三重四极杆质谱仪，建立了一种可同步分析七种特定成分（小麦、荞麦、鸡蛋、牛奶、花生、甲壳类（虾和蟹））及被视为与特定成分等效的大豆成分的检测方法。

为同步分析 8 种致敏肽，我们开发了一种包含 48 个 MRM 通道、可检测 17 种肽的方法。我们分析了三种市售加工食品中的过敏原成分，检测结果与包装标注完全吻合。证明本文提出的分析方法可有效同步检测食品中的多种过敏原。

< 鸣谢 >

衷心感谢 Saika 技术研究所基金会编写本应用报告时给予的帮助。

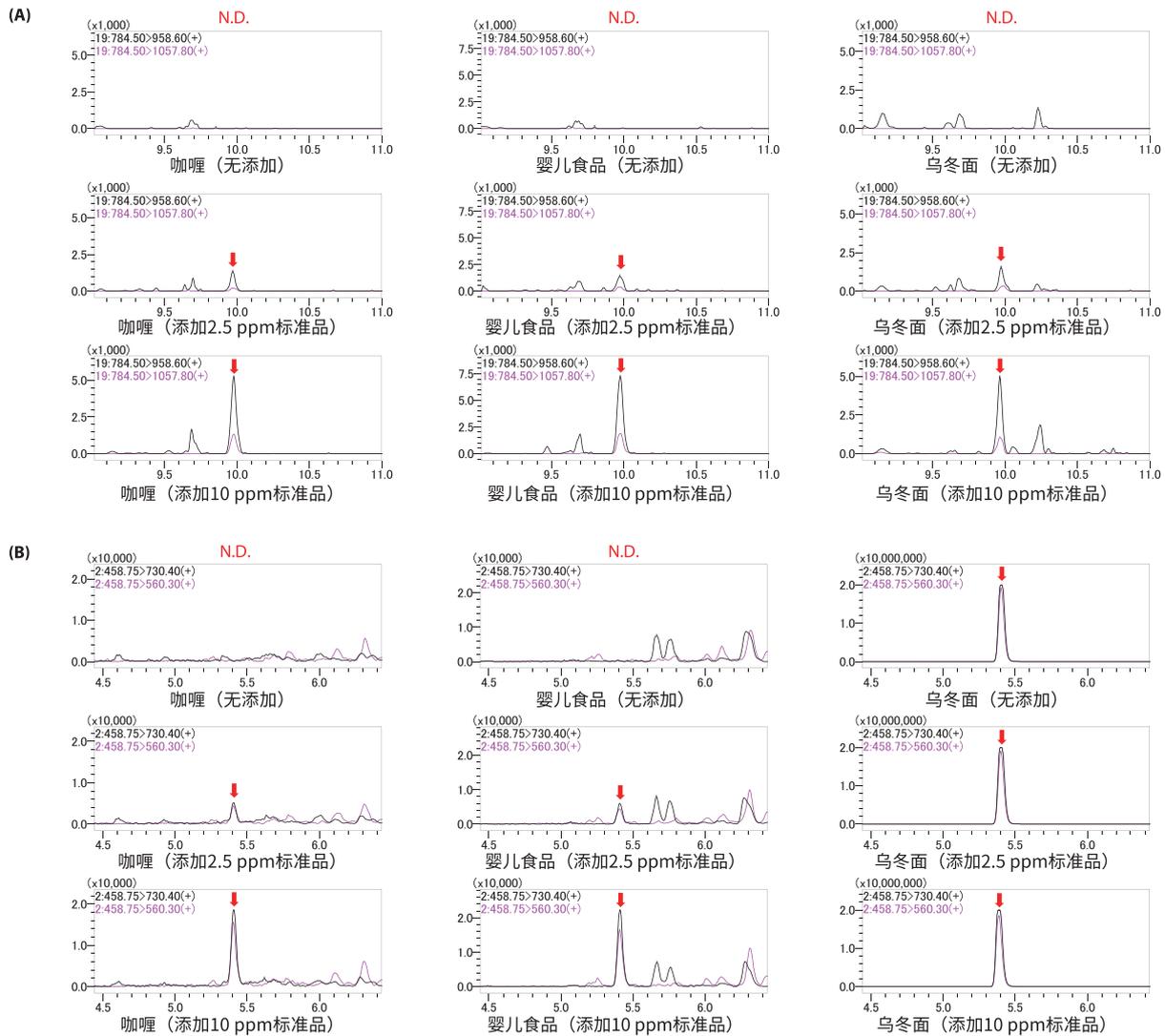


图 4 (A) 荞麦源肽的色谱图
(B) 小麦源肽的色谱图

岛津应用云



Nexera、Shim-pack 和 IonFocus 是岛津制作所或其附属公司在日本和 / 或其他国家 / 地区的商标。



岛津企业管理（中国）有限公司
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话： 800-810-0439
400-650-0439

免责声明：

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；
* 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。
如有变动，恕不另行通知。

第一版发行日：2025 年 3 月

› 请填写调查问卷

相关产品 某些产品可能更新为更新的型号。



› LCMS-8060NX
液相色谱质谱仪

相关解决方案

› 食品和饮料

› 饮食限制

› 价格咨询

› 产品咨询

› 技术服务/支持咨询

› 其他咨询