

顶空 -GC-MS/MS 法测定动物类中药中三甲胺含量

GCMSMS-265

摘要： 本文利用岛津三重四极杆气相色谱质谱联用仪 GCMS-TQ8050 NX 结合顶空进样方式，建立了动物类中药中三甲胺的定量方法。在 0.1~10 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内三甲胺标准曲线线性关系良好，线性相关系数 0.9999。0.1 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD% 为 6.40%。加标回收实验中，加标浓度为 50 和 500 mg/kg，平均加标回收率为 98.43% 和 95.64%，对应 RSD% 分别为 9.10% 和 2.06%。此方法可为动物类中药中三甲胺定量分析提供参考，同时也为动物类中药中“腥臭气”的研究提供了方法借鉴。

关键词： 气相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪 动物类中药 三甲胺

技术特点：

- ❖ 创新性的样品制备方法，有效消除由三甲胺的易挥发性对实验结果准确度的影响。
- ❖ 顶空进样结合 GC-MS/MS 测定，有效抑制了基质化学干扰，保证结果可靠性。

三甲胺 (Trimethylamine, TMA) 是一种具有腥臭气味的挥发性有机化合物，广泛存在于肉类和海鲜等动物源性食品中。其主要来源于动物体内的一种蛋白质稳定剂氧化三甲胺 (Trimethylamine Oxide, TMAO) 的酶促反应，是判断动物源性食物新鲜度的重要指标。

动物类中药源自动物的全体、器官或组织、加工制品，其主要成分为蛋白、多肽类，在临床应用中疗效确切。但药物的腥臭气突出，例如，中医临床常用的地龙、水蛭、美洲大蠊、鸡内金等均有明显的腥臭气。TMA 已被证实是动物类中药腥臭气味的共同关键气味物质之一，患者服药的顺应性对药物中三甲胺含量提出了要求，因此

需要开发用于确定动物类中药中三甲胺含量的方法。

目前，食品中三甲胺含量的检测方法较成熟，并建立了国家标准 GB5009.179-2016《食品安全国家标准 食品中三甲胺的测定》，但该方法检测结果易受到三甲胺的易挥发性和高吸附性特点影响。

本文利用 GC-MS/MS 结合顶空进样技术，采用独特的样品制备方法，建立了动物类中药中三甲胺含量检测方法，并测定地龙、水蛭和美洲大蠊中三甲胺含量。该方法灵敏度高，结果可靠，可为动物类中药中三甲胺检测提供参考。

实验部分

1.1 仪器

GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气相色谱质谱联用仪
AOC-6000 自动进样器

1.2 分析条件

顶空参数：

恒温炉温度：80°C

平衡时间：30 min

顶空针温度：100°C

进样量：1 mL

GCMSMS 参数：

色谱柱：SH-Volatile Amine (30 m \times 0.32 mm \times 5 μm)

柱温程序：40°C (0.5 min) \rightarrow 20°C /min \rightarrow 200°C (5 min)

进样口温度：200°C

离子化方式：EI

载气控制方式：恒流

离子源温度：200°C

柱流量：2 mL/min

色谱质谱接口温度：230°C

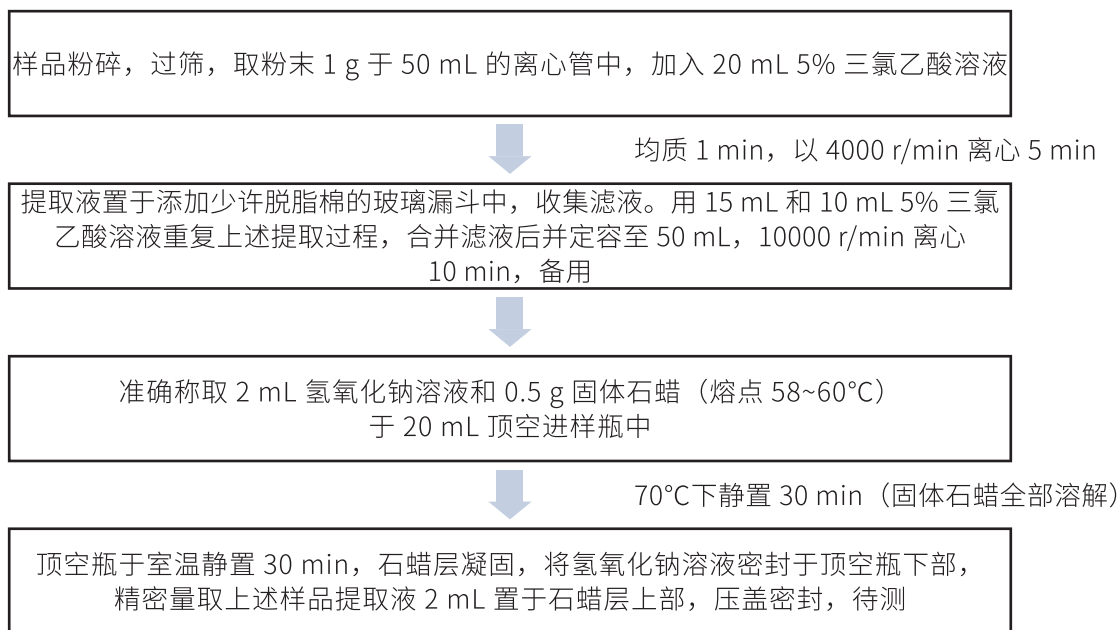
进样方式：分流进样

检测器电压：调谐电压 +0.5kV

分流比：10:1

采集模式：MRM，离子对信息见表 1

■ 样品前处理



■ 结果与讨论

3.1 三甲胺标准溶液谱图

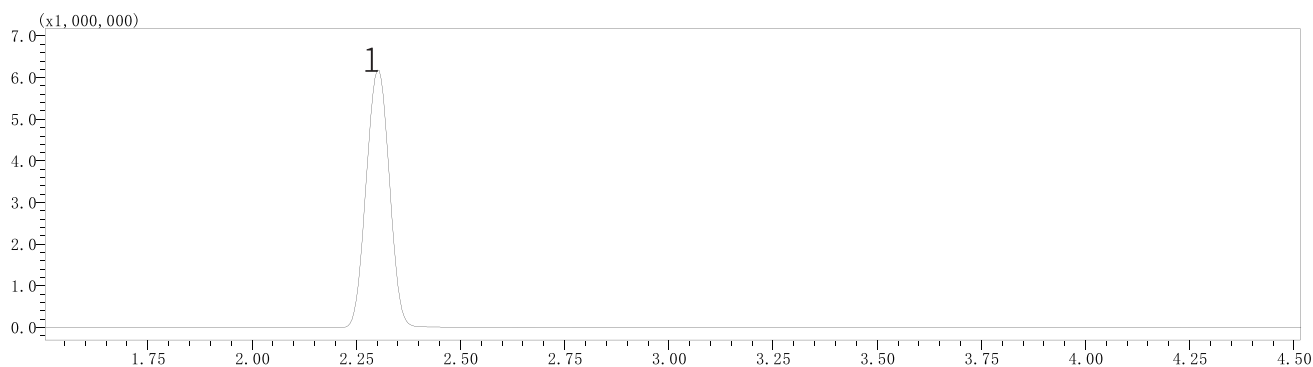


图 1 三甲胺标准溶液谱图 (5 $\mu\text{g/L}$)

表 1 三甲胺化合物信息

No.	中文名称	英文名称	CAS 号	保留时间	定量离子对	CE	定性离子对	CE
1	三甲胺	Trimethylamine	75-50-3	2.317	58.0>42.0	20	58.0>30.0	7

3.2 标准曲线和质量色谱图

使用 5% 三氯乙酸溶液配制三甲胺盐酸盐标准溶液系列，浓度分别为 0.1、0.5、1.0、2.0、5.0 和 10.0 $\mu\text{g/mL}$ （以三甲胺计），精密量取各浓度标准溶液 2 mL 分别置于预制好的顶空瓶石蜡层上部，压盖密封后，进 GC-MS/MS 分析。以三甲胺浓度为横坐标，三甲胺定量离子对峰面积为纵坐标作标准曲线，标准曲线如图 2 所示，线性相关系数如表 2 所示，三甲胺质量色谱图见图 3。

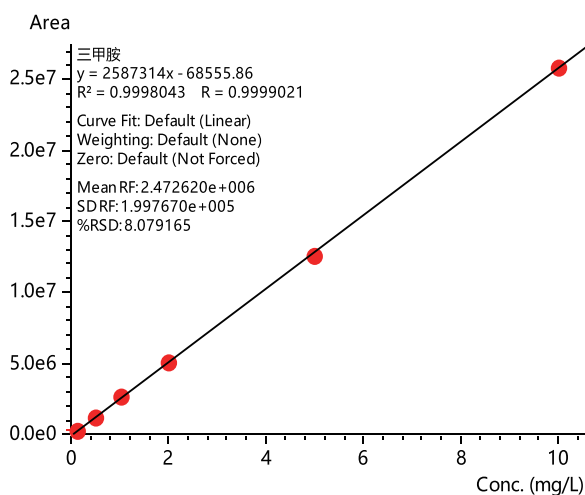


图2 三甲胺标准曲线

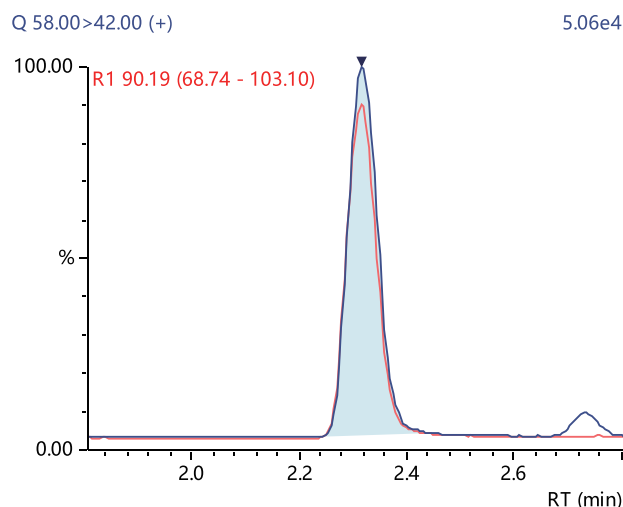


图3 三甲胺标准溶液质量色谱图 (0.1 µg/L)

表2 三甲胺标准曲线线性范围、相关系数及仪器检出限

No.	组分名称	相关系数 (R)	检出限 (µg/L)
1	三甲胺	0.9999	0.63

3.3 重复性实验及检出限

取三甲胺盐酸盐标准溶液 (以三甲胺计, 0.1 µg/mL) 2 mL 置于预制好的顶空瓶石蜡层上部, 平行制备样品 6 份并连续进样, 用于考察三甲胺峰面积的重复性, 测定结果见表 3。以 3 倍信噪比 (峰至峰) 计算检出限, 三甲胺仪器检出限见表 2。

表3 三甲胺峰面积重复性结果

No.	化合物名称	峰面积 1	峰面积 2	峰面积 3	峰面积 4	峰面积 5	峰面积 6	RSD (%)
1	三甲胺	214293	231384	207159	197803	204750	194344	6.40

3.4 加标回收率

三甲胺是动物类中药中内源性化合物, 同时由于三甲胺的易挥发性, 在本实验中, 选择三甲胺盐酸盐标准溶液进行加标回收实验。美洲大蠊中加标浓度分别为 50 和 500 mg/kg, 按照前述样品制备方法, 每个加标浓度平行制备 3 份加标样品, 考察回收率和回收率 RSD%。50 mg/kg 加标水平下, 加标回收率分布在 88.08%-103.63% 之间, RSD% 为 9.10%; 500 mg/kg 加标水平下, 加标回收率分布在 93.39%-97.08% 之间, RSD% 为 2.06%; 详细结果见表 4。

表4 中药美洲大蠊中三甲胺加标回收率结果

No.	化合物	加标浓度 (50 mg/kg)			加标浓度 (500 mg/kg)		
		回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD(%) (n=3)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD(%) (n=3)
1	三甲胺	88.08			93.39		
		103.63	98.43	9.10	97.08	95.64	2.06
		103.57			96.44		

3.5 实际样品分析结果

选取产地不同的地龙、美洲大蠊和水蛭为样品，按前述样品处理流程进行样品制备，并采用上述仪器条件测定，三甲胺检测结果如表 5 所示。

表 5 3 种动物类中药中三甲胺含量测定结果

No.	样品名称	含量 (mg/kg)
1	地龙 1	88.11
2	地龙 2	137.34
3	美洲大蠊 1	18.63
4	美洲大蠊 2	40.50
5	水蛭 1	271.63
6	水蛭 2	69.73

■ 结论

本方法采用岛津 GCMS-TQ8050 NX 结合 AOC-6000 顶空进样方式，建立了动物类中药中三甲胺含量测定方法，并测定 3 种动物类中药中的三甲胺含量。在 0.1~10 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内，三甲胺标准曲线线性相关系数 0.9999；根据 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 三甲胺标样数据，以 3 倍信噪比（峰至峰）计算仪器检出限为 0.63 $\mu\text{g/L}$ ；在重复性实验中，浓度为 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 三甲胺标准溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD% 为 6.40%；在 50 mg/kg 和 500 mg/kg 加标水平下，平均加标回收率为 98.43% 和 95.64%。实验结果表明：该方法采用 GC-MS/MS 的多反应监测模式结合独特的样品前处理方式，灵敏度高，结果准确，能够有效的监测动物类中药中三甲胺的含量。

岛津应用云

