

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 测定牛奶中玉米赤霉烯酮残留

LCMSMS-451

摘要： 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定牛奶中玉米赤霉烯酮残留量的方法。结果表明：该方法在 5 min 内完成对玉米赤霉烯酮的检测。玉米赤霉烯酮在 0.5 $\mu\text{g/L}$ ~200 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好，校准曲线线性相关系数 r 在 0.999 以上，且精密度和回收率实验结果良好。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，且无需衍生操作，可用于牛奶中玉米赤霉烯酮的快速检测。

关键词： 三重四极杆质谱 牛奶 玉米赤霉烯酮

玉米赤霉烯酮又名 F2 毒素，是由禾谷镰刀菌、三线镰刀菌和雪腐镰刀菌等菌种产生的有毒代谢产物，是一种雌激素真菌毒素。玉米赤霉烯酮具有胚胎毒性、生殖毒性和免疫系统毒性，对免疫系统具有潜在的毒害作用，可引发动物雌激素亢进症，导致繁殖紊乱。有研究表明，家畜食入含有 F2 毒素的饲料或农产品后，会在胃肠道内通过代谢产生毒性更强毒素。排出动物体外的玉米赤霉烯酮毒素可通过水和食物造成二次污染，对人体机能造成影响，在外部条件诱导下还会致癌。因此，建立快速简单、准确、灵敏的检测食品中玉米赤霉烯酮类毒素方法意义重大。

牛奶中含有大量人体必需的营养素，是人体获取营养的重要来源，也会存在一些质量安全问题给身体

健康带来危害，如玉米赤霉烯酮类毒素的存在。目前，检测玉米赤霉烯酮的方法主要有薄层色谱法 (TLC)、酶联吸附免疫法 (ELISA)、高效液相色谱法 (HPLC)、荧光光度法 (FS) 和液相色谱 - 串联质谱法 (LC-MS/MS) 等。其中，液相色谱 - 串联质谱法具有很高的选择性和灵敏度，适合于复杂基体中的痕量物质分析，且准确度高。

本文参照国家标准检测方法 GB 5009.209-2016《食品安全国家标准 食品中玉米赤霉烯酮的测定》，采用 QuEChERS 法进行提取和净化，使用岛津 LCMS-8045 液质联用系统对牛奶中玉米赤霉烯酮进行测定。此方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，且无需衍生操作，可用于牛奶中玉米赤霉烯酮的快速检测。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验使用超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为 LC-30AD \times 2 输液泵，DGU-20A₅ 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8045 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.91 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件：

色谱柱：SHIMADZU Shim-pack GIST C18 (50 mm \times 2.1 mm I.D., 2 μm)

流动相：A 相 - 纯水；B 相 - 乙腈

流速：0.30 mL/min

进样体积：1 μL

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 25%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
3.00	Pumps	Pump B Conc.	72
3.50	Pumps	Pump B Conc.	72
3.60	Pumps	Pump B Conc.	25
5.00	Controller	Stop	

质谱条件:

离子源: ESI, 负离子模式

离子源接口电压: 4.0 kV

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 10 L/min

加热气: 空气 10 L/min

碰撞气: 氩气

脱溶剂管温度: 250°C

加热模块温度: 400°C

接口温度: 300°C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

MRM 参数: 见表 2

驻留时间: 100 ms

表 2 MRM 参数

化合物名称	CAS No.	监测离子对	Q1 pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
玉米赤霉烯酮	17924-92-4	317.1>175.0*	12	25	14
		317.1>273.1	12	20	16

注: * 表示定量离子对

1.3 样品前处理方法

准确称 2.0 g (精确至 0.1 g) 牛奶样品置于 50 mL 离心管中, 加入 1% 乙酸 - 乙腈 10 mL, 涡旋 1 min, 6000 r/min 离心 10 min, 取上清液置于 50 mL 离心管中。加入乙腈饱和正己烷 5 mL, 涡旋 30 s, 6000 r/min 离心 10 min, 弃上层正己烷。将下层溶液转移至装有 80 mg C18、60 mg PSA 和 80 mg 无水 MgSO₄ 的 50 mL 离心管中, 涡旋 1 min, 6000 r/min 离心 10 min, 取上清液在 40°C 氮吹至近干。用 1 mL 乙腈定容, 过 0.22 μm 滤膜后, 供 HPLC-MS/MS 分析。

1.4 基质标准溶液的配制

以空白牛奶样品提取液作为溶剂, 将浓度为 10 mg/L 玉米赤霉烯酮的标准溶液稀释成 0.5 μg/L、1 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、20 μg/L、100 μg/L 和 200 μg/L 的基质标准溶液, 以待测物的质量浓度为横坐标, 定量离子质量色谱峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。

■ 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

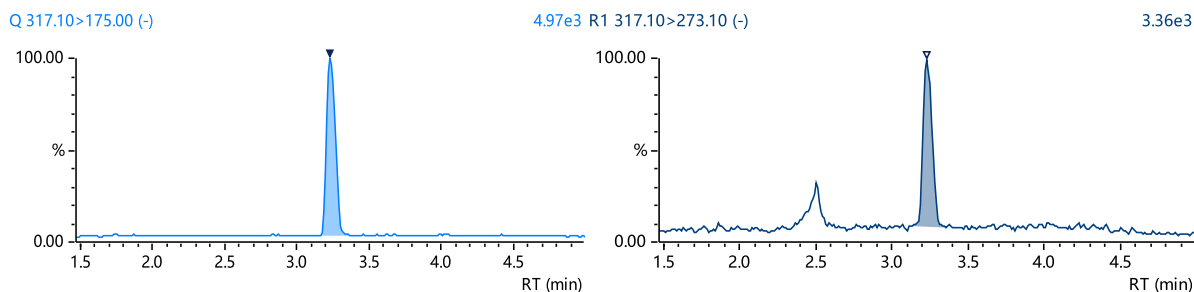


图 1 玉米赤霉烯酮标准样品的 MRM 色谱图 (1 μg/L)

2.2 线性范围与检出限

将 0.5 μg/L、1 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、20 μg/L、100 μg/L 和 200 μg/L 不同浓度的玉米赤霉烯酮基质标准工作液，按 1.2 中的分析条件进行测定，使用外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示。所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。

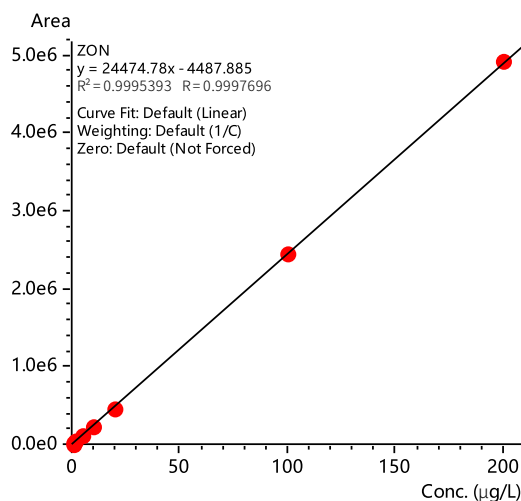


图 2 玉米赤霉烯酮标准曲线图

表 3 标准曲线与检出限信息

化合物	校准曲线	r	线性范围 (μg/L)	准确度	定量限 (μg/L)	检出限 (μg/L)
玉米赤霉烯酮	$Y = 24474.78X - 4487.89$	0.9997	0.5~200	94.0-116.1%	0.5	0.16

2.3 精密度实验

对 2 μg/L、10 μg/L 和 20 μg/L 不同浓度的玉米赤霉烯酮基质标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示：不同浓度样品中玉米赤霉烯酮保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06% ~ 0.09% 和 0.48% ~ 1.35% 之间，仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

Conc.(μg/L)	RSD% (R.T.)	RSD% (Area)
2	0.09	1.35
10	0.06	0.48
20	0.07	0.53

2.4 回收率实验

称取空白牛奶样品，加入少量玉米赤霉烯酮标准溶液，使加标浓度分别为 1 μg/kg、5 μg/kg 和 10 μg/kg。按照 1.3 样品前处理方法提取净化后，测定玉米赤霉烯酮的加标回收率。空白牛奶样品 MRM 色谱图如 3 所示，1 μg/kg 加标样品 MRM 色谱图如 4 所示，加标回收率结果见表 5。由结果可知，该方法灵敏度高，准确率高，可以满足国家标准检测方法 GB 5009.209-2016《食品安全国家标准 食品中玉米赤霉烯酮的测定 第三法》检测要求。

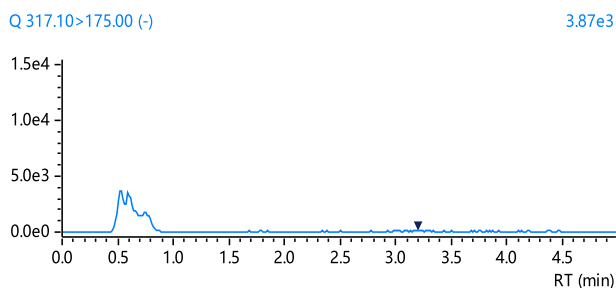


图 3 空白牛奶样品 MRM 图谱

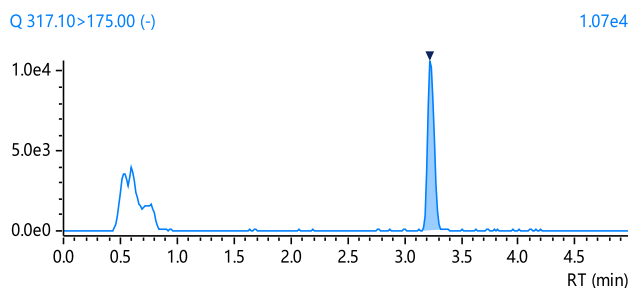


图 4 玉米赤霉烯酮的加标样品 MRM 图谱 (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

表 5 玉米赤霉烯酮的加标回收率结果 (n=3)

名称	加标水平 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回收率 %
玉米赤霉烯酮	1	96.7
	5	93.6
	10	94.4

结论

采用 LC-MS/MS 法测定食品中玉米赤霉烯酮残留量，具有定性定量结果准确、灵敏度高的优点，在检测领域得到了越来越多的应用。本研究建立了一种使用岛津超高效液相色谱 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定牛奶中玉米赤霉烯酮残留量的方法。该方法使用 Shim-pack GIST C18 色谱柱，在 5min 内完成对玉米赤霉烯酮的检测。玉米赤霉烯酮在 0.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ ~200 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内线性良好，校准曲线线性相关系数 r 在 0.999 以上，且精密度和回收率实验结果良好。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，且无需衍生操作，可用于牛奶中玉米赤霉烯酮的快速分析。

岛津应用云

