

LC-MS/MS 测定人造肉中 B 族和 G 族黄曲霉毒素

LCMSMS-705

摘要：本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪测定人造肉中 B 族和 G 族黄曲霉毒素的方法，该方法可在 7 min 内完成对目标物的检测。黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 在 0.1 ng/mL~10.0 ng/mL 浓度范围内线性良好，校准曲线线性相关系数 r 在 0.99 以上，且精密度和回收率实验结果均符合标准要求。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于人造肉中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 的快速检测。

关键词：三重四极杆质谱 人造肉 黄曲霉毒素

人造肉是近些年来食品行业的一项研究热点。人造肉按原料来源主要分为两种：一种是以植物蛋白为原材料对肉类形色和味道进行模仿的植物肉制品；另一种是在培养基中利用动物干细胞进行一定条件培养，从而制造的人造肉。大豆蛋白是植物源人造肉最常用的材料，豆制品可以给人体补充大量蛋白质，满足人体营养需求。

黄曲霉毒素是黄曲霉菌和寄生曲霉菌等产毒菌株产生的次生代谢产物，是一种强毒性物质。其衍生物有约 20 种，分别命名为 B₁、B₂、G₁、G₂ 等。其中 B₁ 的毒性最大，致癌性最强，黄曲霉毒素是一种剧毒的致肝癌物质。

植物性人造肉如果受到黄曲霉毒素的污染，必然会给消费者的健康带来风险。因此，建立快速、准确、高灵敏度检测人造肉中黄曲霉毒素的分析方法意义重大。

目前，黄曲霉毒素的检测方法主要采用的有薄层色谱法、酶联免疫吸附法、液相色谱法等以及高效液相色谱 - 串联质谱 (LC-MS/MS) 法。本文使用岛津超高效液相色谱仪和三重四极杆质谱联用系统，参照《GB 5009.22-2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》中的方法，建立了一种快速准确测定人造肉中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 的方法。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验使用超高效液相色谱仪 LC-40B X3 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。

具体配置为：

系统控制器：CBM-40

自动进样器：SIL-40C X3

输液泵：LC-40B X3 × 2

质谱仪：LCMS-8045

柱温箱：CTO-40S

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.99 SP2

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack GISS C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 1.9 μm)

岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-30048-02

流动相：A 相 5 mmol/L 乙酸铵溶液；B 相 乙腈 - 甲醇 (V=1:1)

柱温：40°C

洗脱方式：梯度，初始 32%B，洗脱程序见表 1

流速：0.30 mL/min

进样体积：2.0 μL

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	32
2.00	Pumps	Pump B Conc.	45
3.00	Pumps	Pump B Conc.	45
3.50	Pumps	Pump B Conc.	80
4.00	Pumps	Pump B Conc.	80
4.10	Pumps	Pump B Conc.	32
7.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源: ESI (+)	DL 管温度: 150°C
接口电压: 4.0 kV	加热模块温度: 400°C
雾化气: 氮气 3.0 L/min	接口温度: 300°C
干燥气: 氮气 10 L/min	扫描模式: 多反应监测 (MRM)
加热气: 空气 10 L/min	MRM 参数: 见表 2
碰撞气: 氩气 (230 kPa)	驻留时间: 20 ms

表 2 MRM 参数

#	化合物名称	监测离子对	Q1 pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
1	黄曲霉毒素 B ₁	313.00>241.00*	-22.0	-38.0	-26.0
		313.00>285.00	-22.0	-24.0	-30.0
2	黄曲霉毒素 B ₂	315.00>259.00*	-12.0	-30.0	-28.0
		315.00>287.00	-12.0	-27.0	-30.0
3	黄曲霉毒素 G ₁	329.00>243.00*	-12.0	-29.0	-27.0
		329.00>283.00	-12.0	-25.0	-21.0
4	黄曲霉毒素 G ₂	331.00>245.00*	-12.0	-31.0	-26.0
		331.00>257.00	-12.0	-31.0	-30.0

注: * 表示定量离子对

1.3 标准溶液的配制

取市售浓度为 10 µg/mL 黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 混合标准溶液适量, 用初始流动相稀释至刻度, 制成浓度为 0.1 ng/mL、0.5 ng/mL、1 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL 混合标准工作液。

1.4 样品前处理方法

参照《GB 5009.22-2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》中的方法, 样品照如下流程处理。

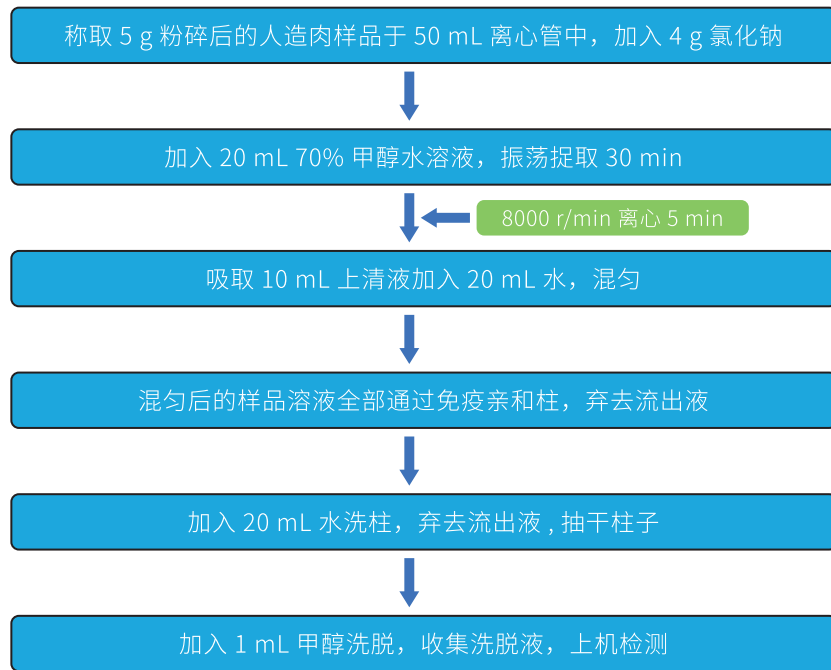


图 1 样品前处理流程

■ 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

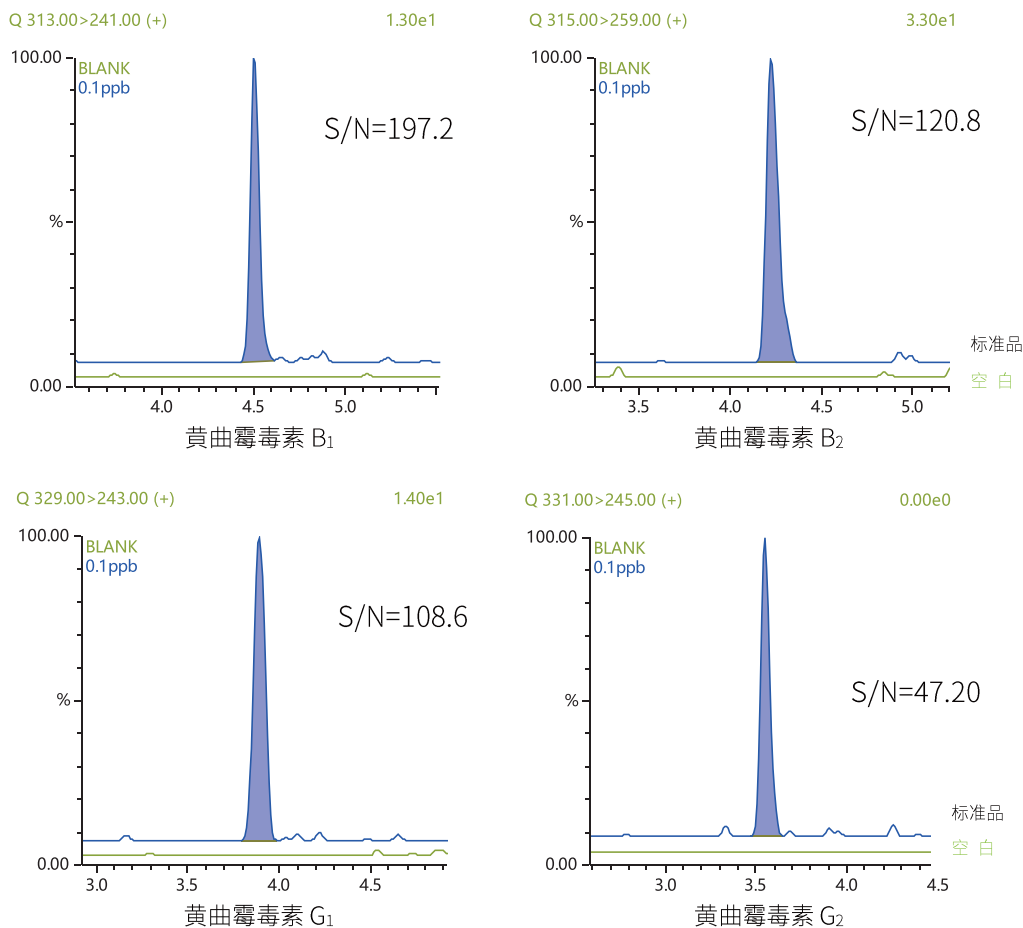


图 2 标准品 MRM 色谱图 (浓度 0.1 ng/mL)

0.1 ng/mL 黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 标准溶液响应如图 2 所示，四种物质的 S/N 分别为 197.26、120.80、108.62、47.20，灵明度良好，且空白样品在色谱峰出峰处无干扰。

2.2 线性范围与检出限

精密量取 10 μg/mL 混合标准溶液适量，用初始流动相溶液溶解，配制成浓度为 0.1 ng/mL、0.5 ng/mL、1 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL 系列标准溶液。以待测物峰面积为纵坐标，浓度为横坐标，外标法绘制校准曲线，所得校准曲线线性关系良好，如图 3 所示。根据 MDL = 3.3 S/N 计算检出限，线性方程及相关系数见表 3。

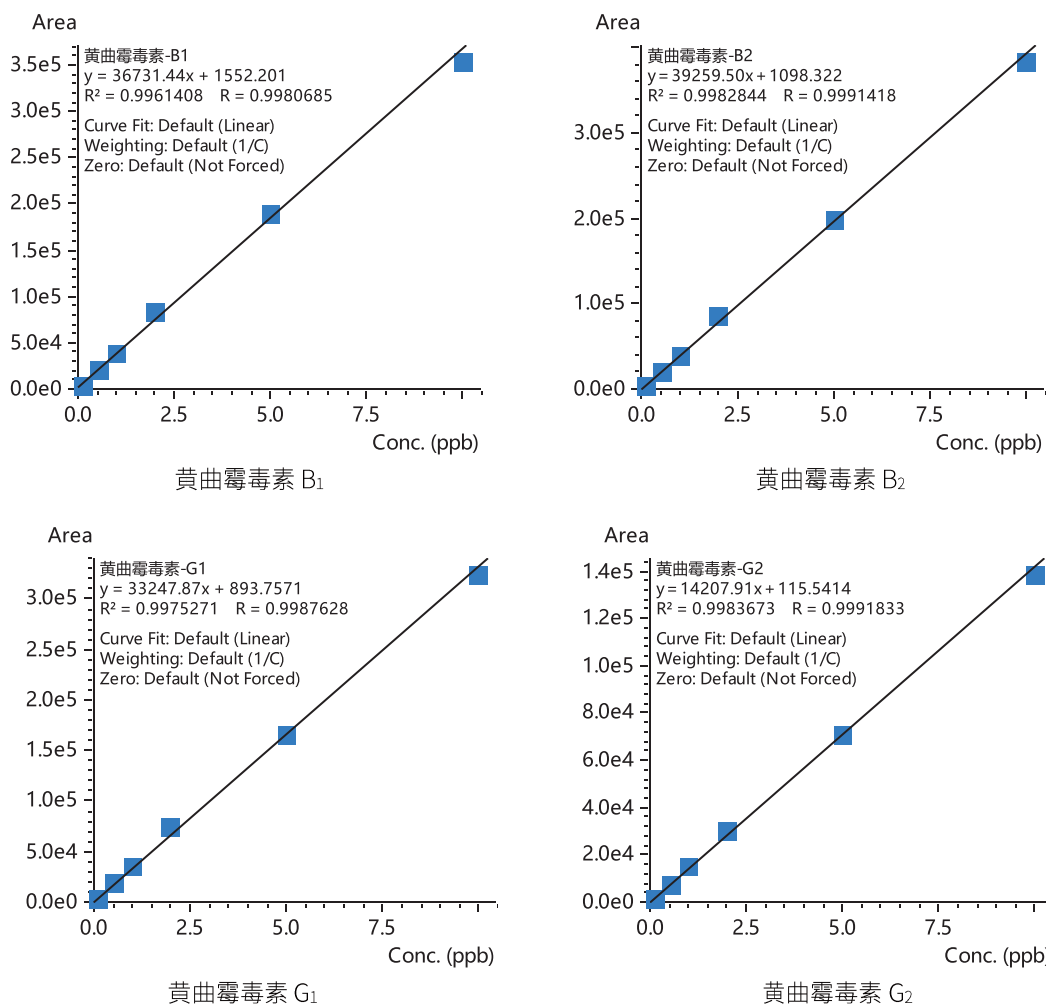


图 3 校准曲线

表 3 校准曲线与检出限信息

#	化合物	R	线性范围 (ng/mL)	检出限 (μg/kg)	准确度 (%)
1	黄曲霉毒素 B ₁	0.9986	0.1~10.0	0.000669	80.1-112.5
2	黄曲霉毒素 B ₂	0.9991	0.1~10.0	0.00109	89.2-109.8
3	黄曲霉毒素 G ₁	0.9988	0.1~10.0	0.00121	81.9-110.9
4	黄曲霉毒素 G ₂	0.9991	0.1~10.0	0.00279	84.4-108.1

2.3 精密度

对浓度为 0.5 ng/mL 的黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 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：黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 保留时间 RSD < 0.2%，峰面积的 RSD < 5.0%，仪器精密度良好。

2.4 回收率

称取空白人造肉样品，加入黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 标准溶液，使加标浓度为 0.20 μg/kg。按照 1.4 样品前处理方法提取净化后，测定黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 的加标回收率。空白人造肉样品和加标人造肉样品 MRM 色谱图如图 4 所示，加标回收率结果见表 4。

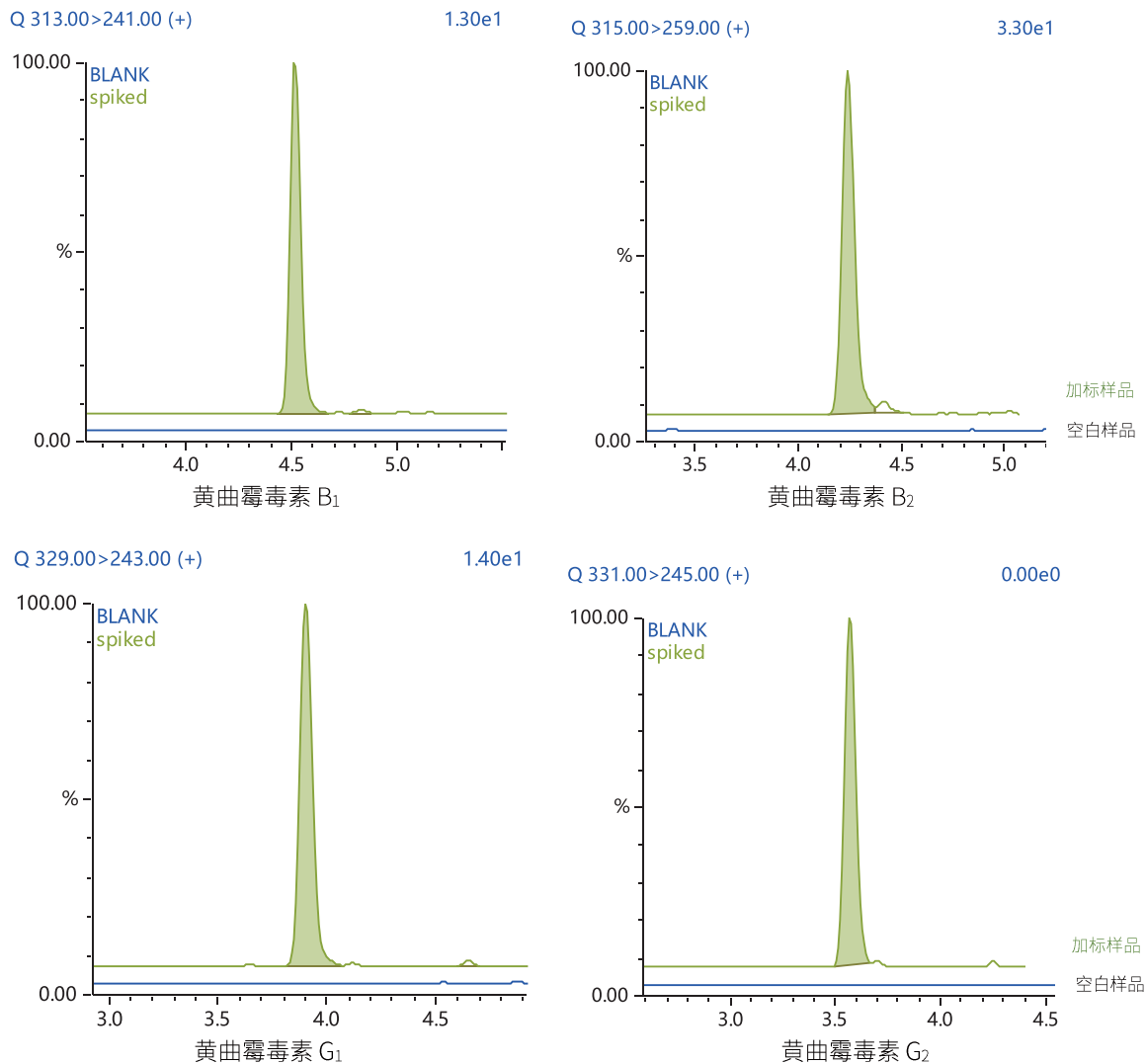


图 4 空白人造肉样品和加标浓度为 0.20 μg/kg 人造肉样品 MRM 色谱图

表 4 重复性和回收率结果 *

#	中文名称	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD (%)	平均回收率 %	回收率 RSD(%)
1	黄曲霉毒素 B ₁	0.11	2.68	90.6	2.84
2	黄曲霉毒素 B ₂	0.08	3.82	85.4	4.02
3	黄曲霉毒素 G ₁	0.06	4.53	85.0	4.82
4	黄曲霉毒素 G ₂	0.12	4.85	84.2	4.96

* 重复性 n=6, 回收率 n=3

■ 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪测定人造肉中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的方法, 该方法可在 7 min 内完成对目标物的检测。黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 在 0.1 ng/mL~10.0 ng/mL 浓度范围内线性良好, 校准曲线线性相关系数 r 在 0.99 以上, 黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 保留时间 RSD < 0.2%, 峰面积的 RSD < 5.0%, 精密度和回收率实验结果均符合标准要求。该方法灵敏度高, 分析时间短, 结果准确, 可用于人造肉中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 的快速检测。

岛津应用云

