

LC-MS/MS 检测玉米粉中的伏马毒素含量

LCMSMS-719

摘要： 本文参照 GB 5009.240-2016《食品安全国家标准 食品中伏马毒素的测定》，建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪测定玉米粉中伏马毒素 B1、伏马毒素 B2 和伏马毒素 B3 含量的方法。样品中加入同位素内标，以乙腈 - 水溶液提取，稀释后过强阴离子交换固相萃取柱净化，以 LC-MS/MS 检测，内标法定量。结果表明：该方法灵敏度高，重复性好，校准曲线线性良好，适合用作检测玉米粉中的伏马毒素含量。

关键词： LC-MS/MS 玉米 伏马毒素

伏马毒素 (Fumonisin, FB) 是在自然界存在较广的一类真菌毒素，最早发现于串珠镰刀菌的培养液中。伏马毒素的种类较多，根据结构可划分为 A 族、B 族、C 族和 P 族，其中 B 族是主要的危害种类，其对人或者动物皆有危害性。在粮食作物中，伏马毒素主要污染的是玉米及其制品。

GB 5009.240-2016《食品安全国家标准 食品中伏马毒素的测定》规定了玉米及其制品中伏马毒素 B1(FB1)、伏马毒素 B2(FB2) 和伏马毒素 B3(FB3) 的检测方法。

本文参照该标准第二法，使用 LCMS-8045 建立了玉米粉样品中 FB1、FB2 和 FB3 的检测方法。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-40 与 LCMS-8045 联用系统，具体配置为：

系统控制器：	CBM-40	脱气机：	DGU-405
输液泵：	LC-40B X3	自动进样器：	SIL-40C X3
柱温箱：	CTO-40S	质谱检测器：	LCMS-8045
色谱工作站：	LabSolutions Ver.5.114		

1.2 分析条件

液相条件

色 谱 柱： Shim-pack Velox SP-C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.8 μm)
P/N:227-32001-03, 岛津 (上海) 实验器材有限公司

流 动 相： A 相 -0.1% 甲酸水溶液； B 相 - 甲醇 / 乙腈 =1: 1

洗 脱 方 式： 梯度洗脱， B 相初始浓度为 30%，洗脱程序见表 1

流 速： 0.35 mL/min 柱 温： 30°C

进 样 体 积： 2 μL

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.30	泵	B.Conc	70
4.00	泵	B.Conc	70
4.20	泵	B.Conc	100
4.80	泵	B.Conc	100
5.00	泵	B.Conc	30
8.00	Controller	Stop	

质谱条件

分析仪器：	LCMS-8045	离子化模式：	ESI+
接口电压：	5.0 kV	雾化气：	氮气 3.0 L/min
干燥气：	氮气 10.0 L/min	加热气：	空气 10.0 L/min
碰撞气：	氦气	接口温度：	400°C
DL 温度：	250°C	加热模块温度：	500°C
扫描模式：	多反应监测 (MRM)	MRM 参数：	见表 2

表 2 MRM 优化参数

No.	化合物	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE(V)	Q3 Pre Bias (V)
1	伏马毒素 B1 (FB1)	116355-83-0	722.40	352.30*	-20	-35	-24
				334.30	-26	-45	-22
2	伏马毒素 B2 (FB2)	116355-84-1	706.40	336.30*	-26	-38	-22
				354.30	-26	-34	-16
3	伏马毒素 B3 (FB3)	136379-59-4	706.40	336.30*	-26	-41	-22
				354.30	-20	-34	-23
4	¹³ C ₃₄ - 伏马毒素 B1/ ¹³ C ₃₄ -FB1	1324564-22-8	756.40	374.30*	-26	-41	-24
				356.30	-26	-43	-23

注：* 表示定量离子

1.3 样品前处理

(1) 提取：准确称取玉米粉样品（粒度小于 1 mm）5 g 于 50 mL 离心管中，加入浓度为 250 ng/mL 的内标溶液 400 μL，加入 20 mL 的 50% 乙腈水溶液，振荡提取 20 min，4000 r/min 离心 5 min，取上清液至另一离心管中。

(2) 净化：取 3 mL 上清液，加入 75% 甲醇水溶液 8 mL，混合均匀后过强阴离子交换固相萃取柱（使用前按要求活化），分别用 75% 甲醇水溶液 8 mL 和 3 mL 甲醇淋洗，用 10 mL 的 1% 乙酸甲醇溶液洗脱，55°C 下氮气吹干，20% 乙腈水溶液复溶，0.22 μm 滤膜过滤，即得。

结果与讨论

2.1 灵敏度和专属性

标准样品 (FB1:20 ng/mL, 其他 10 ng/mL) 和空白样品的 MRM 色谱图如图 1 所示，空白样品无干扰，各目标组分在该浓度下（方法要求校准曲线最低浓度点）信噪比均在 150 以上，以 S/N=10 对应的浓度计算定量限，均可满足标准要求。

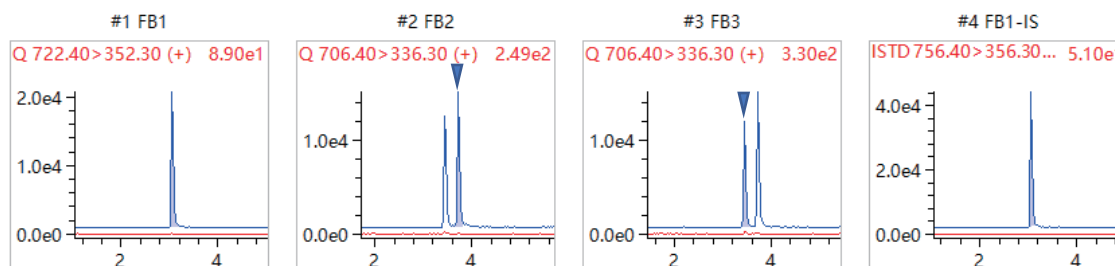


图 1 标准样品（蓝）和空白样品（红）MRM 色谱图

2.2 校准曲线

参照标准，配制系列浓度标准溶液，其中 FB1 浓度分别为 20、80、160、240、320、400 ng/mL，FB2 和 FB3 浓度分别为 10、40、80、120、160、200 ng/mL，内标 13C34-FB1 浓度为 25 ng/mL，内标法建立校准曲线如图 2 所示，线性方程、相关系数和准确度如表 3 所示。

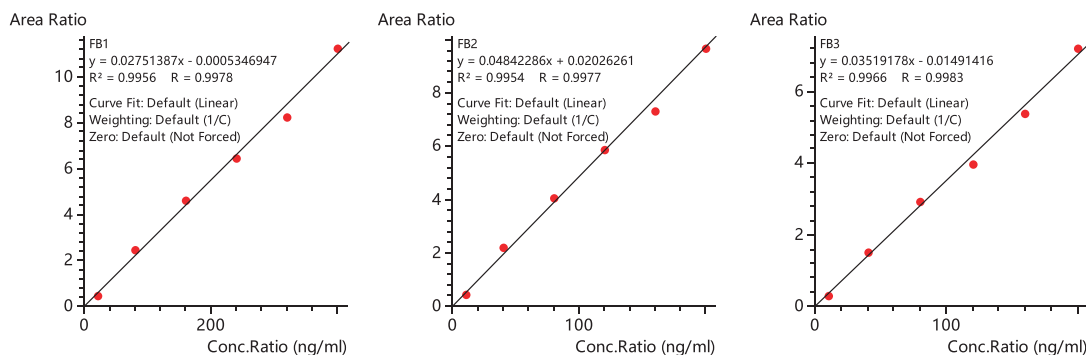


图 2 校准曲线

表 3 校准曲线信息

No.	化合物	线性范围 (ng/mL)	线性方程	相关系数 r	准确度 (%)
1	FB1	20~400	$Y=0.027 X - 0.0005$	0.9978	88.7~111.8
2	FB2	10~200	$Y=0.048 X + 0.020$	0.9977	85.3~114.4
3	FB3	10~200	$Y=0.035 X - 0.015$	0.9983	91.9~111.6

2.3 残留考察

ULOQ 基质加标样品进样后，空白样品进样分析所得色谱图如图 3 所示，各目标组分保留时间处无明显色谱峰。

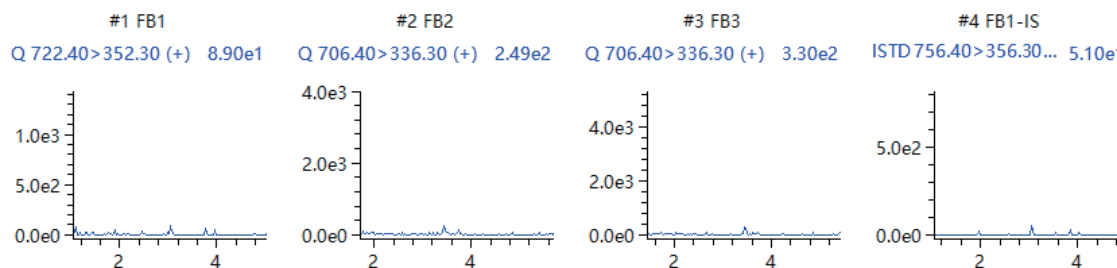


图 3 残留考察

2.4 重复性考察

对不同浓度的标准样品分别连续分析 6 次，计算保留时间和峰面积的 RSD。结果见表 4，保留时间 RSD 均不高于 0.13%，峰面积 RSD 均不高于 5.16%，仪器重复性良好。

表 4 重复性考察 1

No.	目标物	浓度 (ng/mL)	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)
1	FB1	20	0.09	4.85
		240	0.13	3.47
2	FB2	10	0.13	5.16
		120	0.12	3.58
3	FB3	10	0.11	3.08
		120	0.12	3.38

空白样品中添加内标和不同浓度的混标，各自制备 2 个平行样品，前处理后进样分析，各组分含量两次结果的相对相差，即绝对差值与算数平均值比值，均不超过 10%，满足标准要求（低于 20%）。

表 5 重复性考察 2

样品名称	目标物	平行样 1 结果 (ng/g)	平行样 2 结果 (ng/g)	相对相差 (%)
加标样品 A	FB1	24.4	26.5	8.2
	FB2	22.1	23.7	7.0
	FB3	22.9	25.2	9.6
加标样品 B	FB1	131.0	140.5	6.9
	FB2	120.9	128.6	6.2
	FB3	118.3	128.4	8.2

■ 结论

本文参照 GB 5009.240-2016《食品安全国家标准 食品中伏马毒素的测定》，建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8045 测定玉米粉中伏马毒素 B1、伏马毒素 B2 和伏马毒素 B3 含量的方法。样品中加入同位素内标，以乙腈-水溶液提取，稀释后过强阴离子交换固相萃取柱净化，以 LC-MS/MS 检测，内标法定量。结果表明：该方法灵敏度高，重复性好，校准曲线线性良好，适合用作检测玉米粉中的伏马毒素含量。

岛津应用云

