

LC-MS/MS 测定玉米中杂色曲霉素含量

LCMSMS-408

摘要：本文参照 GB 5009.25-2016《食品安全国家标准 食品中杂色曲霉素的测定》，玉米样品经乙腈 - 水溶液提取后，以 HLB 固相萃取柱净化，利用岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8050 检测，建立了玉米样品中杂色曲霉素含量的检测方法。结果表明：在 0.01~50 ng/mL 范围内，杂色曲霉素内标法校准曲线线性良好，线性相关系数 r 为 0.9998，准确度为 90.7~112.7%；仪器定量限为 0.009 ng/mL；不同浓度加标样品加标回收率 89.7~108.2%。

关键词：LC-MS/MS 玉米 杂色曲霉素

杂色曲霉素 (Sterigmatocystin) 为含有双呋喃环的氧杂蒽酮类化合物，主要由杂色曲霉和构巢曲霉等真菌产生，杂色曲霉素被国际癌症研究机构归类为“2B 类致癌物”，具有肝毒性、肾脏毒性、免疫毒性和遗传毒性等，其主要污染谷物及谷物制品。

本文参照 GB 5009.25-2016《食品安全国家标准 食品中杂色曲霉素的测定》，玉米样品经乙腈 - 水溶液提取后，以 HLB 固相萃取柱净化，利用岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8050 检测，建立了玉米样品中杂色曲霉素含量的检测方法。

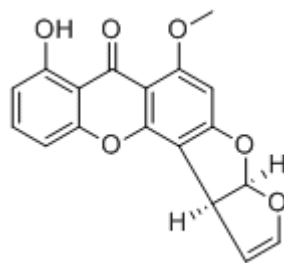


图 1 杂色曲霉素结构式

实验部分

1.1 仪器

本实验使用超高效液相色谱仪 LC-30A、三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A_{SR} 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-8050 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：Shim-pack GISS C18(2.1 mm I.D. ×100 mm L., 1.9 μm)

流动相：A 相 -0.1% 甲酸水溶液，B 相 - 乙腈

流速：0.40 mL/min，

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始比例为 70%，梯度时间程序见表 1

表 1 梯度时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	70
1.50	Pumps	Pump B Conc.	95
3.00	Pumps	Pump B Conc.	95
3.10	Pumps	Pump B Conc.	70
6.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI(+)

雾化气流量: 2.0 L/min

接口电压: -4 kV

加热气流量: 10.0 L/min

接口温度: 300°C

DL 温度: 120°C

加热块温度: 400°C

干燥气流量: 10.0 L/min

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 参数

化合物名称	监测离子对	Q1 pre(V)	CE(V)	Q3 Pre(V)
杂色曲霉素	325.10>281.05*	-10.0	-36.0	-29.0
	325.10>310.10	-10.0	-25.0	-21.0
¹³ C ₁₈ - 杂色曲霉素	343.20>297.15	-13.0	-38.0	-30.0

注: 带 “*” 表示定量离子对

1.3 样品前处理

(1) 提取: 取粉碎并过 1~2 mm 孔径试验筛的均质样品 5 g (精确至 0.01 g) 至 50 mL 离心管, 加入 100 μL 内标溶液 (100 ng/mL), 加入 20 mL 乙腈 - 水溶液 (80+20), 涡旋混匀后超声 10 min, 离心取上清液备用;

(2) 净化: 准确移取 2 mL 上清液用纯水稀释至 8 mL, 转移至已活化好的 HLB 固相萃取柱中, 以约 3 mL/min 的流速上样, 依次加入 5 mL 乙腈 - 水溶液 (40+60) 和 5 mL 甲醇 - 水溶液 (40+60) 淋洗, 以 6 mL 乙腈洗脱, 洗脱液在 60 °C 下氮气吹干, 用 1 mL 甲醇 - 水 (70+30) 复溶, 涡旋后以 0.22 μm 滤膜过滤待测。

结果与讨论

2.1 标准样品色谱图

杂色曲霉素标准溶液 MRM 色谱图如图 2 所示。

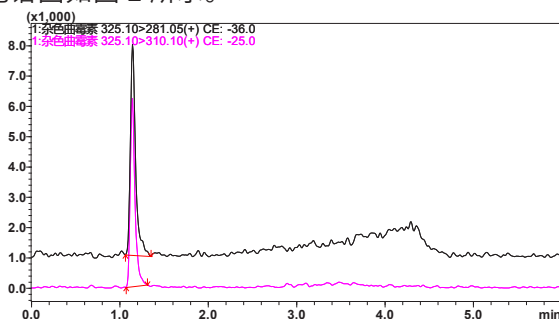


图 2 杂色曲霉素标准溶液 MRM 色谱图 (0.05 ng/mL)

2.2 标准曲线和定量限

配制浓度分别为 0.01、0.02、0.05、0.1、0.5、1、5、10、50 ng/mL 的标准溶液（均含 10 ng/mL 混合内标），取 5 μ L 进样，以目标组分与内标物的浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标，绘制标准曲线如图 3。以 0.01 ng/mL 标准溶液进样所得色谱图计算得目标峰 S/N 为 11.4，以此可得仪器定量限为 0.009 ng/mL。

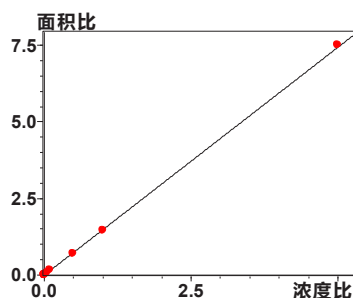


图 3 标准曲线 (0.01~50 ng/mL)

表 3 标准曲线方程、线性相关系数

目标物	标准曲线方程	线性范围 (ng/mL)	相关系数 (R)	准确度 %
杂色曲霉素	$Y=1.49X+4.70e-005$	0.1~50.0	0.9998	90.7~112.7

2.3 样品检测结果和加标回收率

将待测样品及加标样品（加标浓度分别为 0.05、1.0 和 20.0 ng/mL），按照“1.3 样品前处理”中步骤处理后，得样品检测结果和加标回收率，结果如表 4 所示。

表 4 样品结果及加标回收率

目标物名称	样品检测结果 (ng/mL)	加标 1		加标 2		加标 3	
		加标浓度 (ng/mL)	回收率 (%)	加标浓度 (ng/mL)	回收率 (%)	加标浓度 (ng/mL)	回收率 (%)
杂色曲霉素	N.D.	0.05	108.2	1.0	89.7	20.0	90.3

结论

本文参照 GB 5009.25-2016《食品安全国家标准 食品中杂色曲霉素的测定》，玉米样品经乙腈-水溶液提取后，以 HLB 固相萃取柱净化，利用岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8050 检测，建立了玉米样品中杂色曲霉素含量的检测方法。结果表明：在 0.01~50 ng/mL 范围内，杂色曲霉素内标法校准曲线线性良好，线性相关系数 r 为 0.9998，准确度为 90.7~112.7%；仪器定量限为 0.009 ng/mL；不同浓度加标样品加标回收率 89.7~108.2%。