

# 三重四极杆质谱测定小麦中的雪腐镰刀菌烯醇及其衍生物

## LCMSMS-126

**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-8040 联用测定小麦中的雪腐镰刀菌烯醇及其衍生物的方法。样品经乙腈/水提取、SPE 净化后,液相分离、三重四极杆质谱仪内标法进行定量分析。3 种雪腐镰刀菌烯醇及其衍生物在 2 ~ 100 ng/mL 浓度范围内线性良好;对 10 ng/mL、50 ng/mL 和 100 ng/mL 混合标准溶液连续 6 次进样,3 个浓度标准品的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.90 ~ 1.97% 和 1.42 ~ 4.16% 之间,仪器精密度高;同时考察了空白小麦基质加标结果,结果显示 3 种雪腐镰刀菌烯醇及其衍生物加标回收率在 74.35 ~ 93.11% 之间,方法可靠;在市售小麦样品中检出 NIV,浓度为 15.56  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

**关键词:** 雪腐镰刀菌烯醇 衍生物 小麦 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

镰刀菌是食物中最常见的污染性霉菌,镰刀菌素是镰刀菌生长过程中产生的各种有毒代谢产物,常见的有伏马菌素 (Fumonisin)、T-2 毒素、镰刀菌烯酮 -X (Fusarenon-X, FX) 和脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (Deoxynivalenol, DON) 等。饮食中污染的镰刀菌素可以通过诱导细胞凋亡对机体造成多种病理损伤。我国还没有使用 LC-MS/MS 检测雪腐镰刀菌烯醇及其衍生物的国家标准。本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用,建立了快速准确测定小麦中的雪腐镰刀菌烯醇及其衍生物的方法,供相关检测人员参考。

## 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD $\times$ 2 输液泵, DGU-20A<sub>5</sub> 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30A 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-8040 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.50 色谱工作站。

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

分析仪器: LC-30A 系统  
 色谱柱: UHPLC C18 2.0 mmI.D.  $\times$  100 mmL.  
 流动相: A - 0.01% 氨水;  
           B - 乙腈  
 流速: 0.4 mL/min

进样体积: 10  $\mu\text{L}$

柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 4%, 时间程序见表 1。

表1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	B.Conc.
0.50	4
1.20	16
4.00	16
4.50	100
5.50	100
5.70	4
7.00	Stop

#### 质谱条件

分析仪器: LCMS-8040  
 离子源: ESI, 负离子扫描  
 离子源接口电压: -3.5 kV  
 雾化气: 氮气 3.0 L/min  
 干燥气: 氮气 15 L/min  
 碰撞气: 氩气  
 脱溶剂管温度: 250 $^{\circ}\text{C}$   
 加热模块温度: 400 $^{\circ}\text{C}$   
 扫描模式: 多反应监测 (MRM)  
 驻留时间: 30 ms  
 延迟时间: 3 ms  
 MRM 参数: 见表 2

表2 MRM参数

编号	中文名称	英文名称 (简称)	CAS No.	前体 离子	产物 离子	Q1 Pre Bias(V)	CE (V)	Q3 Pre Bias(V)
1	雪腐镰刀菌烯醇	Nivalenol (NIV)	23282-20-4	311	281.15*	21	9	30
					191.1	21	18	18
2	镰刀菌烯酮X	Fusarenon-X (Fus X)	23255-69-8	353	263.05*	12	12	27
					187.1	12	25	17
3	隐蔽型脱氧雪腐镰刀菌烯醇	Deep-DON	-	279	249.15*	19	9	24
					231.1	19	15	22
4	<sup>13</sup> C-NIV	<sup>13</sup> C-NIV	-	326	295.25	11	11	30

\*表示定量离子

### 1.3 样品制备

标准溶液配制:

取适量单标储备液, 用乙腈配制成 10 mg/L 的混合标准溶液, 用水逐级稀释成浓度为 2、5、10、20、50、75、100 ng/mL 的标准工作液。内标物 <sup>13</sup>C-NIV 的浓度为 50 ng/mL。

样品前处理方法:

准确称取 5.0 g 经粉碎均匀的样品至 50 mL 的离心管中, 加入乙腈/水 (84/16, v/v) 40 mL, 涡旋 1 min, 超声 60 min, 离心 5 min (10000rpm)。移取 5 mL 上清液至 MycosepTM226 多功能净化柱的玻璃管内, 加入 100 μL 内标及 5 mL 乙腈溶液混匀, 将多功能净化柱的填料管插入玻璃管中并缓慢推动填料管, 弃去 2 mL 初滤液, 取续滤液 4 mL 至氮吹瓶中。在 40 ~ 50°C 下氮气吹干, 用乙腈/水 (10/90, v/v) 溶液定容至 1 mL, 超声涡旋 30 s, 用 0.22 μm 滤膜过滤至进样瓶中备用。

## 结果讨论

### 2.1 标准样品的 MRM 色谱图

10 ng/mL 混合标准样品的 MRM 色谱如图 1 所示。

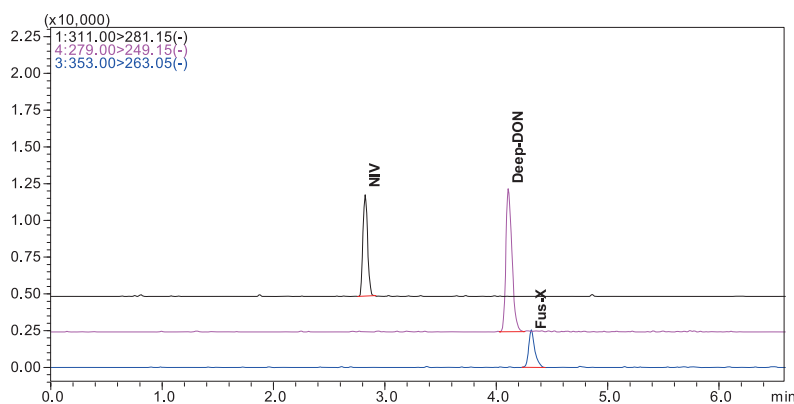


图1 10 ng/mL混合标准样品的MRM色谱图

### 2.2 线性关系

将浓度为 2、5、10、20、50、75、100 ng/mL 的混合标准工作液, 其中内含内标 <sup>13</sup>C-NIV 浓度为 50 ng/mL, 按 1.2 中的分析条件进行测定, 以浓度比为横坐标, 峰面积比为纵坐标, 内标法制作校准曲线, 如图 2 ~ 4 所示。雪腐镰刀菌烯醇及其衍生物在检测浓度范围内线性良好。线性方程、相关系数及由软件计算得检出限和定量限见表 3。

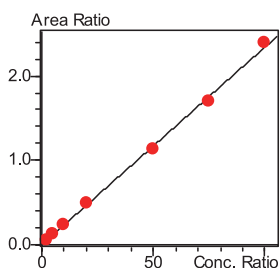


图2 NIV的标准工作曲线

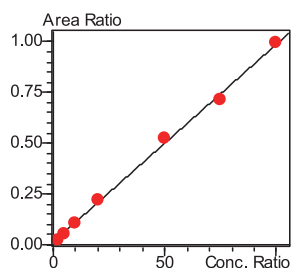


图3 FUS X的标准工作曲线

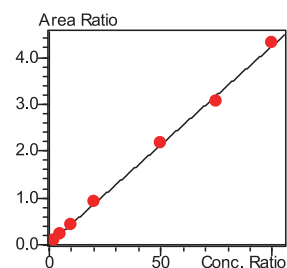


图4 Deep-DON的标准工作曲线

表3 雪腐镰刀菌烯醇及其衍生物的校准曲线参数

No.	名称	校准曲线	相关系数r	定量限(ng/mL)	检出限(ng/mL)
1	NIV	$Y = 0.0239X - 0.0276$	0.9987	0.10	0.03
2	FUS X	$Y = 803.240X - 55.1315$	0.9984	0.09	0.03
3	Deep-DON	$Y = 3518.34X - 221.455$	0.9997	0.22	0.07

### 2.3 精密度实验

对 10 ng/mL、50 ng/mL 和 100 ng/mL 混合标准溶液连续 6 次进样，3 个浓度标准品的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.90 ~ 1.97% 和 1.42 ~ 4.16% 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)

名称	RSD% (10 ng/mL)		RSD% (50 ng/mL)		RSD% (100 ng/mL)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
NIV	1.77	2.61	1.97	2.51	1.76	2.02
FUS X	1.02	4.16	1.53	1.50	1.47	2.99
Deep-DON	0.90	2.08	0.96	1.61	1.55	1.42

### 2.4 回收率考察

以空白小麦样配制加标溶液，加标浓度 5 ng/mL，得到色谱图如图 5 所示。雪腐镰刀菌烯醇及其衍生物加标回收率在 74.35 ~ 93.11% 之间（见表 5）。

### 2.5 小麦样品分析

在市售小麦样品中检出 NIV，浓度分别为 15.56 μg/kg，色谱图见图 6。

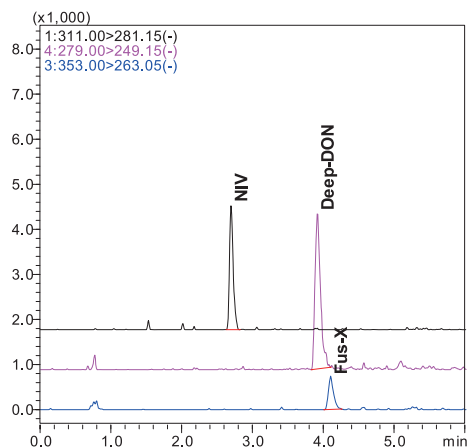


图5 基质加标样品 (5 ng/mL) 的色谱图

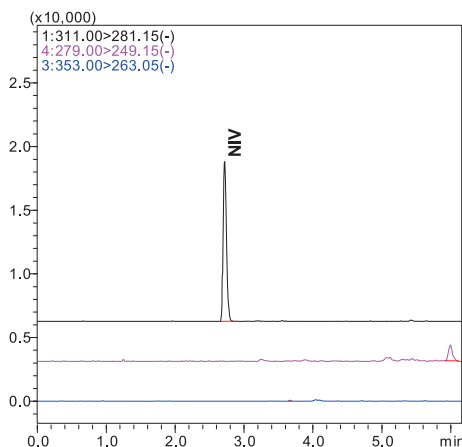


图6 小麦样品的色谱图

表5 空白基质加标样品 (5 ng/mL) 回收率

名称	1	2	3	平均	回收率(%)
NIV	3.94	3.65	3.56	3.72	74.35
FUS X	4.59	4.13	4.49	4.40	88.08
Deep-DON	4.79	4.71	4.47	4.66	93.11

## ■ 结论

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-8040 联用测定小麦中的雪腐镰刀菌烯醇及其衍生物的方法。所有分析物在 2 ~ 100 ng/mL 浓度范围内线性良好, 相关系数均大于 0.998; 低、中、高 3 浓度的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.90 ~ 1.97% 和 1.42 ~ 4.16% 之间, 仪器精密度良好; 5 ng/mL 空白小麦加标回收率在 74.35 ~ 93.11 之间, 方法可靠; 在市售小麦样品中检出 NIV, 浓度分别为 15.56  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。