

Application News

No. C103

LC/MS
Liquid Chromatography Mass Spectrometry

使用三重四极杆 LC/MS/MS 同时测定小麦中的脱氧瓜萎镰菌醇等 4 种成分

Simultaneous Analysis of Nivalenol, Deoxynivalenol, 3-Acetyldeoxynivalenol and 15-Acetyldeoxynivalenol Using Triple Quadrupole LC/MS/MS [LCMS-8050]

瓜萎镰菌醇和脱氧瓜萎镰菌醇是由镰孢菌产生的霉菌毒素。日本相关部门在 2002 年 5 月 21 日颁布的《关于小麦脱氧瓜萎镰菌醇的暂定参考值设定》(食安发第 0521001 号)中,将脱氧瓜萎镰菌醇的暂定参考值设定为 1.1 ppm。

在《关于脱氧瓜萎镰菌醇的试验方法》(食安发第 0717001 号, 2003 年 7 月 17 日)中规定,使用 HPLC 进行定性和定量分析,

LC/MS 进行验证试验。本文向您介绍使用 LC-MS/MS,对瓜萎镰菌醇、脱氧瓜萎镰菌醇以及脱氧瓜萎镰菌醇代谢物 3-乙酰脱氧瓜萎镰菌醇与 15-乙酰脱氧瓜萎镰菌醇同时进行高灵敏度分析的示例。

■ 标准溶液的分析

Analysis of a Standard Mixture

图 1 为 4 种混合标准溶液(浓度各为 10 ppb)在进样量为 2 μ L 时的色谱图;表 1 为重复测定 6 次得到的保留时间和峰面积的相对标准偏差(%RSD)。瓜萎镰菌醇类通过电喷雾离子化(ESI)法的负离子模式进行检测。单独使用水和乙腈做流动相就能在 LCMS 上分析,但是若在流动相 A 中加入低浓度的醋酸铵(0.5 mmol/L)则可以提高灵敏度。图 1 为若干待测 MRM 离子对中灵敏度最好的离子对色谱图。表 2 为分析条件。

我们对 10ppb 标准溶液(浓度约为暂定参考值的 1/100)重复分析 6 次。表 1 为保留时间和峰面积的相对标准偏差(%RSD)。由表 1 可知,保留时间和峰面积的重复性良好。

表 1 重复性 (10 ppb, n = 6)
Repeatability (10 ppb, n = 6)

	保留时间%RSD	峰面积%RSD
瓜萎镰菌醇	0.04	2.57
脱氧瓜萎镰菌醇	0.04	6.52
15-乙酰脱氧瓜萎镰菌醇	0.06	4.09
3-乙酰脱氧瓜萎镰菌醇	0.05	2.58

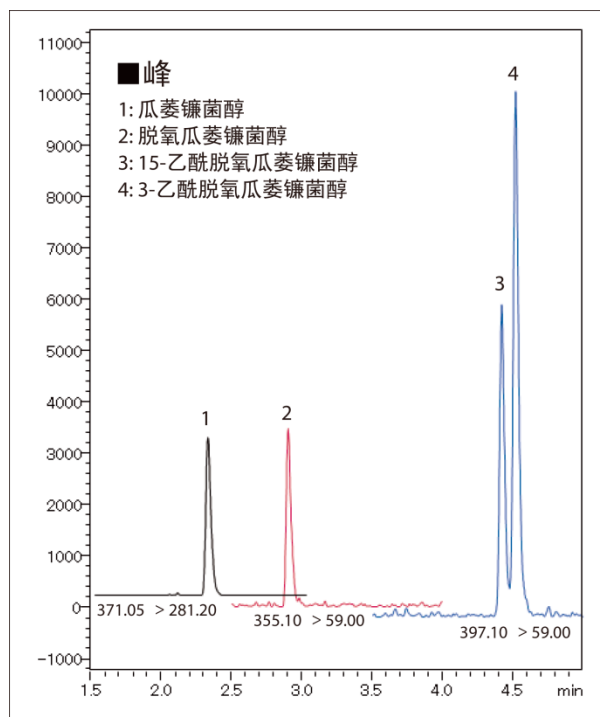


图 1 标准溶液的 MRM 色谱图 (各 10 ppb)
MRM Chromatograms of a Standard Mixture (10 ppb each)

■ 标准曲线的线性

Linearity of Calibration Curves

使用表 2 中分析条件得到的校准曲线如图 2 所示。各组分在 1-250ppb 浓度范围内校准曲线的回归系数 R^2 在 0.999 以上,表示线性良好。

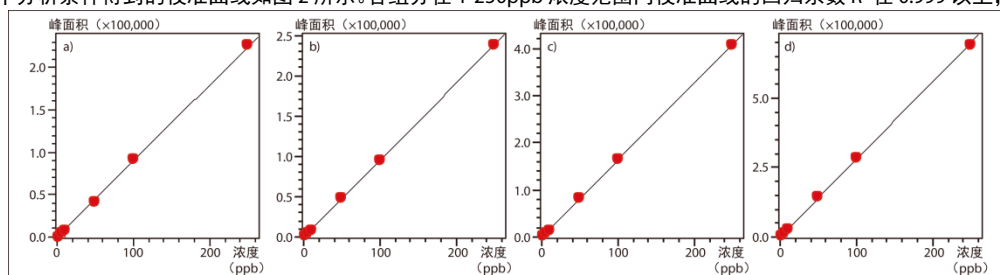


图 2 4 种成分的校准曲线 a) 瓜萎镰菌醇 b) 脱氧瓜萎镰菌醇 c) 15-乙酰脱氧瓜萎镰菌醇 d) 3-乙酰脱氧瓜萎镰菌醇
Linearity of Calibration Curves a) Nivalenol b) Deoxynivalenol c) 15-Acetyldeoxynivalenol d) 3-Acetyldeoxynivalenol

■ 小麦的分析

Analysis of Wheat

图3为小麦的预处理步骤。使用多功能色谱柱“MultiSep # 227” (Romer Labs 公司制)和“Autoprep MF-T”(昭和电工株式会社)对小麦提取液进行纯化。图4为未添加标准品的样品(使用“MultiSep # 227”进行预处理)和添加标准品样品的色谱图。在加标样品中,添加的4种标准品最终浓度分别为25 ppb(约为暂定

参考值的1/40)。由图可知,在预处理后的样品色谱图中,未检测到明显的杂质峰。而且,虽然检测到脱氧瓜萎镰菌醇,但是在暂定参考值以下。4种成分的加样回收率为101~107%,表示结果理想,且并未发现基质效应。在使用“Autoprep MF-T”进行预处理的样品中,也得到了相同加样回收率。

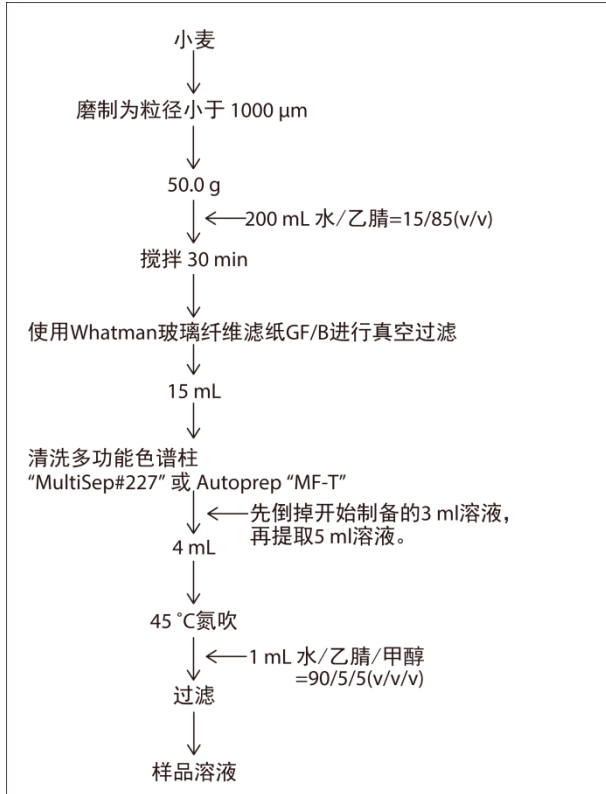


图3 预处理
Pretreatment

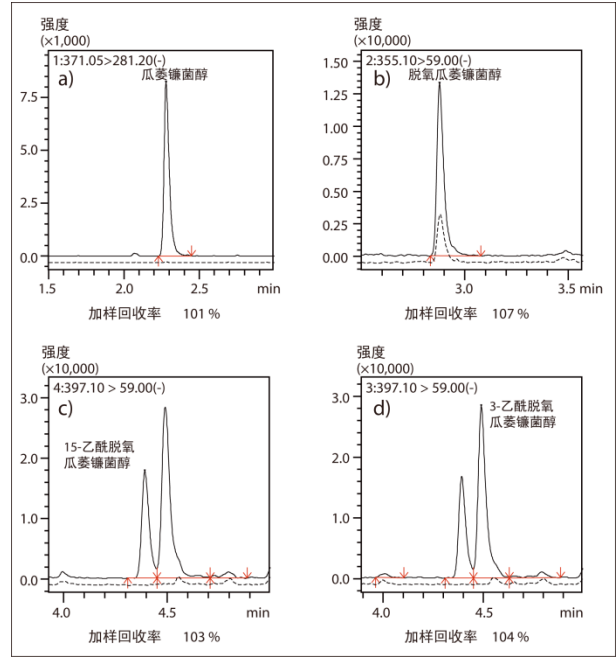


图4 小麦的色谱图
(虚线:未添加标准品,实线:添加标准品25 ppb)

- a) 瓜萎镰菌醇
- b) 脱氧瓜萎镰菌醇
- c) 15-乙酰脱氧瓜萎镰菌醇
- d) 3-乙酰脱氧瓜萎镰菌醇

Chromatograms of Wheat
(Dotted line: Unspiked Sample, Solid line: Spiked Sample, Spiked 25 ppb each)

- a) Nivalenol
- b) Deoxynivalenol
- c) 15-Acetyldeoxynivalenol
- d) 3-Acetyldeoxynivalenol

表2 分析条件
Analytical Conditions

色谱柱	: Shim-pack XR-ODS III (150 mmL × 2.0 mm I.D., 2.2 μm)		
流动相	: A 0.5 mmol/L 醋酸铵 - 水		
	: B 乙腈		
时间程序	: 5%B (0 min) → 45%B (5.0 min) → 95%B (5.01-7.0 min) → 5%B (7.01 min) → STOP (12 min)		
流速	: 0.3 mL/min		
柱温	: 40 °C		
进样体积	: 2 μL		
离子源电压	: -3.0 kV (ESI-负离子模式)		
DL 温度	: 100 °C		
加热模块温度	: 200 °C		
接口温度	: 200 °C		
雾化气流速	: 2 L/min		
干燥气流速	: 10 L/min		
加热气流速	: 10 L/min		
MRM 离子对	: 瓜萎镰菌醇	371.05 > 281.20	CE:16.0 V
	: 脱氧瓜萎镰菌醇	355.10 > 59.00	CE:22.0 V
	: 15-乙酰脱氧瓜萎镰菌醇	397.10 > 59.00	CE:22.0 V
	: 3-乙酰脱氧瓜萎镰菌醇	397.10 > 59.00	CE:26.0 V



岛津企业管理(中国)有限公司
岛津(香港)有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439
400-650-0439

免责声明:

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;
* 本资料中的所有信息仅供参考,不予任何保证。
如有变动,恕不另行通知。

第一版发行日: 2015年3月