

液相色谱-串联质谱法测定玉米中伏马菌素 B1

权伍英, 王璟, 迂君, 张玉黔

(沈阳市疾病预防控制中心, 辽宁 沈阳 110031)

Determination of Fumonisin B1 in Maize by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

QUAN Wu-ying, WANG Jing, YU Jun, ZHANG Yu-qian

(Shenyang Center for Disease Control and Prevention, Shenyang 110031, China)

Abstract: Fumonisin B1 in maize was determined by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. The analysis was extracted from maize samples by acetonitrile-water-acetic acid 49:50:1(V/V/V). Raw extracts were evaporated to dryness and dissolved with mobile phase, chromatographed on a C₁₈ column, and detection was performed on a triple quadrupole tandem mass spectrometry with electrospray ionization source. The method has a limit of quantification of 10 μg·kg⁻¹ in maize samples. The calibration curve is linear in the range of 1-500 μg·L⁻¹. The mean recovery ranges from 94 % to 104 %, and the relative standard derivations are lower than 9%. The method is sensitive and specific to be applied for determination of fumonisin B1 in maize samples.

Key words: liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS); fumonisin B1; maize

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997 (2008) 增刊-173-02

伏马菌素是一类主要由串珠镰刀菌产生的真菌毒素, 其中伏马菌素 B1 是污染粮食, 尤其是玉米的主要成分。伏马菌素 B1 能引起马脑白质软化症和猪肺水肿等, 并与我国和南非部分地区高发的食道癌有关, 对人类的健康已构成严重威胁, 因此对伏马菌素 B1 的检测尤为重要。在伏马菌素的检测方法中, 液相色谱-串联质谱检测方法因其高度的选择性和灵敏度而被广泛采用。伏马菌素的检测一般采用固相萃取进行样品的净化^[1-3]。本实验采用乙腈-水-乙酸提取后, 不需进一步的净化处理, 样品提取液挥发干燥后, 用流动相溶解, 液相色谱-电喷雾串联质谱进行检测, 方法简便、快速、灵敏度高、选择性好、准确度高, 可用于玉米中伏马菌素 B1 的测定。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

TSQ Quantum Discovery 液相色谱-串联四极杆质谱仪: 美国 Thermo Finnigan 公司产品, 配有电喷雾离子化源 (ESI 源) 以及 Xcalibur 1.2 系统软件, LC quan 2.0 定量处理软件, Surveyor 液相色谱系统。伏马菌素 B1: 购自美国 Sigma 公司; 乙腈、甲醇为色谱纯; 其他均为分析纯。

1.2 色谱条件

色谱柱: Inertsil ODS-3 column (150 mm×2.1 mm×5 μm ID); 流动相: V(甲醇):V(水):V(甲酸)=65:35:0.5; 流速 0.3 mL·min⁻¹; 进样量 20 μL。

1.3 质谱条件

离子源为电喷雾离子化 ESI 源 (+); 电喷雾电压 4 500 V; 离子传输毛细管温度 350 °C; 鞘气

(N₂) 压力 30 arb; 辅助气 (N₂) 压力 5 arb; 碰撞气 (Ar) 压力 1.2 mtorr; 扫描方式为选择反应监测(SRM); 扫描时间 0.2 s; 定性离子反应分别为 m/z 722→334 和 m/z 722→352, 碰撞及诱导解离(CID) 电压分别为 40 V 和 35 V, 选取 m/z 722→334 作为定量离子对。

1.4 样品处理

取 1 g 粉碎混匀的样品于 50 mL 塑料离心管中, 加入 10 mL 提取溶剂 V(乙腈):V(水):V(乙酸)=49:50:1, 涡流混合 1 min, 往复振荡 30 min, 离心 10 min (4 000 r·min⁻¹)。取 1.00 mL 上层有机相于 10 mL 玻璃试管中, 在 50 °C 空气流下吹干, 残留物加入 1.00 mL 流动相溶解, 涡流混合, 过 0.22 μm 滤膜, 取 20 μL 进行 LC-MS/MS 分析。

2 结果与讨论

伏马菌素 B1 在 ESI(+)离子化方式下, 主要生成 m/z 722 [M+H]⁺ 准分子离子峰, 以 m/z 722 为母离子进行二级质谱扫描(图 1), 得到伏马菌素 B1 的特征碎片离子 m/z 334、 m/z 352。选取 m/z 334、 m/z 352 为伏马菌素 B1 的定性离子, 在定性离子中, 选取 m/z 722→334 为伏马菌素 B1 的定量离子, 这符合欧盟对化合物鉴定的要求。

本实验考察了以不同比例的甲醇、乙腈、加或不加乙酸(1%)为提取溶剂的提取效果, 结果表明, V(乙腈):V(水):V(乙酸)=49:50:1 为提取溶剂比较理想。同时对振荡提取时间以及基质效应的影响进行实验, 确立了样品的提取条件。采用外标法进行定量, 标准曲线的线性范围为 1~500 μg·L⁻¹, 曲线的线性关系良好 ($r>0.999$), 玉米中伏马菌素 B1 的定量检测限为 10 μg·kg⁻¹。低、中、高 3 个浓度 (50、500、2 000 μg·kg⁻¹) 的添加实验 ($n=6$), 其加标回收率分别为 94.0%、104%和 98.2%, 相对标准偏差分别为 8.5%、5.3%和 7.6%。采用该方法对实际玉米样品进行检测, 样品的测定时间仅为 3 min, 玉米样品伏马菌素 B1 的 SRM 色谱图示于图 2。

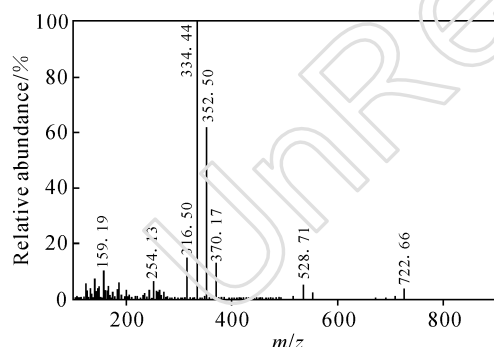


图 1 伏马菌素 B1[M+N]⁺产物离子扫描质谱图

Fig.1 Product ion scan of [M+H]⁺ ion of FB1

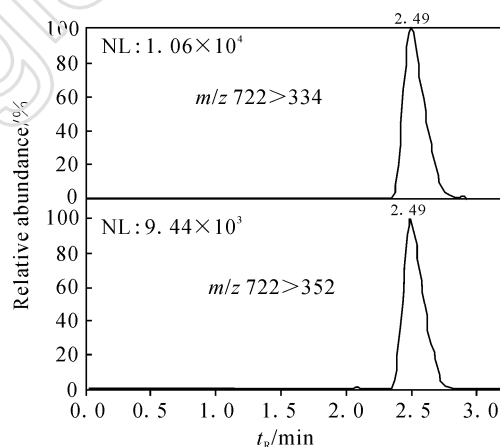


图 2 玉米样品 SRM 色谱图

Fig.2 SRM chromatogram from maize sample

参考文献:

- [1] SEEFELDER W, GOSSMANN M, HUMPF H U. Analysis of fumonisin B₁ in fusarium proliferatum-infected asparagus spears and garlic bulbs from germany by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry[J]. Agric Food Chem, 2002, 50(10): 2 778-2 781.
- [2] PAEPENS C, DE SAEGER S, VAN POUCKE C, et al. Development of a liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for the quantification of fumonisin B₁, B₂ and B₃ in cornflakes[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2005, 19(14): 2 021-2 029.
- [3] SØRENSEN L K, ELBÆK T H. Determination of mycotoxins in bovine milk by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Chromatogr B, 2005, 820(2): 183-196.