

小麦粉中 10 种真菌毒素检测的固相萃取方法 (Copure® 302 多功能净化柱)

真菌毒素是由真菌在适宜环境条件下产生的一系列有毒次生代谢产物，膳食是人体摄入真菌毒素的主要方式。食品中检出率较高的真菌毒素主要由曲霉菌属 (Aspergillus)、青霉菌属 (Penicillium) 以及镰刀菌属 (Fusarium) 等菌属产生，包括黄曲霉毒素 (Aflatoxin)、赭曲霉毒素 A (Ochratoxin A)、杂色曲霉毒素 (Sterigmatocystin)、展青霉素 (Patulin)、伏马菌素 (Fumonisin)、玉米赤霉烯酮 (Zearalenone)、呕吐毒素 (Deoxynivalenol)、雪腐镰刀菌烯醇 (NIV)、T-2 毒素等。

逗点生物采用最新自主研发的 Copure®302 多功能净化柱，建立小麦粉中 10 种真菌毒素检测的 LC-MS/MS 检测方法。该方法两个水平的加标回收率均在 90-100% 之间，RSD 小于 10%，操作简便快捷，与国内竞品相比，具有回收率高和除杂净化效果好的优势，能够作为小麦粉中多种真菌毒素检测的参考方法。

一、样品前处理

1.1 样品提取

1) 称取 5 g 试样于 50 mL 离心管中，加入 20 mL 乙腈-水-乙酸溶液 (80:19:1)，涡旋混匀，置于超声波/涡旋振荡器或摇床中振荡 20 min，在 6000 r/min 下离心 10 min，取上清液备用。

1.2 样品净化

- 1) 向玻璃试管中加入 10 mL 样品提取液。
- 2) 将净化柱橡胶头从试管顶端插入试管中，并向下压净化柱至试管底端。
- 3) 将净化柱上部净化后的样品提取液取出至样品瓶或 EP 管中。
- 4) 取 5 mL 净化提取液，40°C 条件下氮气吹至近干，加入乙腈-水 (50:50) 溶液定容至 1 mL，涡旋 30s 溶解残渣，过微孔滤膜，上机分析。

二、仪器条件

仪器设备: UPLC-MS/MS (Thermo Scientific TSQ Endura)
 色谱柱: Commasil® BEH T-C18 (2.1 mm × 100 mm, 3 μm)
 流动相: A: 5mM 乙酸铵 (0.1% 甲酸) 溶液

B: 乙腈 (0.1% 甲酸) 溶液

流动相梯度: 初始 90%A, 40%A (0 min~2 min), 10%A (2 min~6 min), 10%A (6min~7min), 90%A (7min~8min), 90%A (8min~10min)

流速: 0.3 mL/min

柱温: 室温

进样体积: 5.0 mL

质谱条件:

鞘气压力: 30 arb

辅气压力: 8 arb

离子传输管: 300 °C

辅气温度: 350 °C

检测方式: 多离子反应检测 (MRM) ;

扫描方式: 正离子模式 (ESI+) 和负离子模式 (ESI-)

表 1 离子选择参数

目标物名称	出峰时间 (min)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	RF Lens (V)	CE (V)
黄曲霉毒素 B1	2.98	313.0	285.0	195	33.00
		313.0	241.0*	195	51.00
黄曲霉毒素 B2	2.90	315.0	287.0	176	37.00
		315.0	259.0*	176	41.00
黄曲霉毒素 G1	2.91	329.0	243.0*	192	39.00
		329.0	283.0	192	35.00
黄曲霉毒素 G2	4.09	331.0	245.0*	169	41.00
		331.0	285.0	169	39.00
伏马毒素 B1	2.66	722.0	334.2*	298	32.75
		722.0	352.3	298	30.51
伏马毒素 B2	2.81	706.1	336.3*	233	31.72
		706.1	354.3	233	30.12
T-2 毒素	3.57	489	245.1*	217	26.15
		489	387.1	217	20.08
呕吐毒素	3.11	319	69*	93	40.00
		319	283	93	15.00
赭曲霉毒素 A	3.72	404.1	238.9*	132	22.28
		404.1	358.0	132	13.15
玉米赤霉烯酮	3.82	317	175.1*	99	18.64
		317	187	99	10.23

注: 玉米赤霉烯酮检测为负离子模式 (ESI-), 其他均为正离子模式 (ESI+); * 为定量离子。

三、实验结果

表 2 小麦粉中 10 种真菌毒素加标回收实验结果

检测项目	加标水平 (ng/g)	Copure®302		国内 A 品牌	
		回收率 R/%	RSD/%	回收率 R/%	RSD/%
黄曲霉毒素 B1	0.5	92.5	6.1	85.1	6.2
	1.0	92.1	6.5	83.5	6.5
黄曲霉毒素 B2	0.5	93.5	5.0	89.6	7.1
	1.0	94.5	5.1	90.5	7.5
黄曲霉毒素 G1	0.5	94.0	6.5	92.2	7.5
	1.0	95.5	6.8	96.2	6.5
黄曲霉毒素 G2	0.5	96.5	7.5	91.5	6.4
	1.0	95.8	7.5	93.1	6.1
伏马毒素 B1	10	94.2	6.5	92.1	7.3
	20	93.2	6.5	87.5	7.5
伏马毒素 B2	10	94.1	5.5	92.1	8.5
	20	92.7	5.7	93.1	8.6
T-2 毒素	5	96.5	7.5	90.5	6.9
	10	95.8	8.5	89.4	7.5
呕吐毒素	25	91.1	8.1	91.2	5.1
	50	95.2	8.1	92.1	6.5
赭曲霉毒素 A	5	96.1	7.5	82.5	6.3
	10	98.2	7.6	81.4	7.5
玉米赤霉烯酮	5	95.1	6.3	83.2	8.1
	10	97.4	6.5	84.5	8.5

从表 2 中可知，使用 Copure® 302 多功能净化柱处理后，得到 10 种多毒素（黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2，玉米赤霉烯酮，呕吐毒素，T-2 毒素，赭曲霉毒素，伏马毒素 B1、B2）的回收率均在 90-110% 之间，RSD 小于 10%，整体回收率评价优于国内 A 品牌。

从图 1 可知，使用 Copure® 302 多功能净化柱净化处理样品提取液后，上机液中的杂质干扰减少，目标物信号响应值提高，整体净化效果评价优于国内 A 品牌，能够满足实验使用需求。

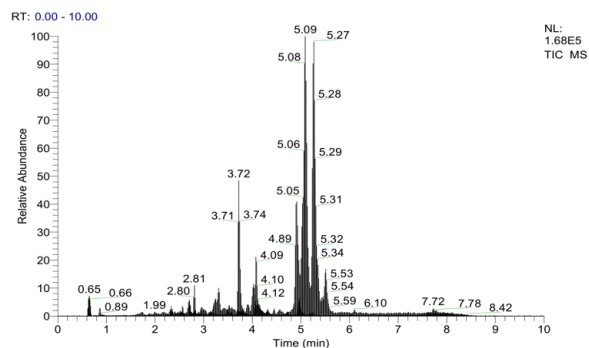
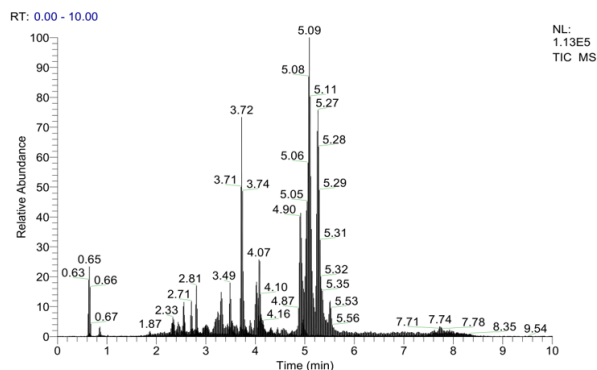
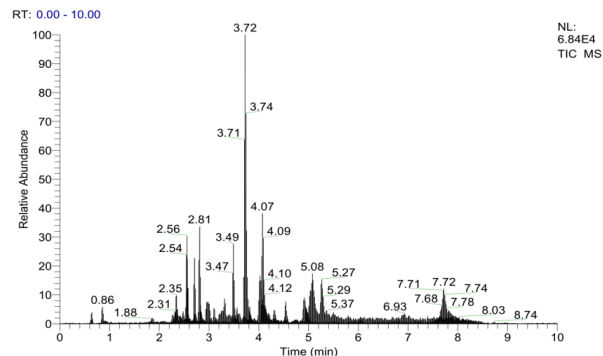


图 1 不同品牌多功能净化柱处理加标样品后的 TIC 色谱图
 (①小麦粉样品 - 未净化处理 ②国内 A 品牌 - 净化处理 ③ Copure®302- 净化处理)

订购信息

产品信息	名称	描述	规格
COAF226	Copure® 226 多功能净化柱	玉米赤霉烯酮，黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2	25 支 / 盒
COAF228	Copure® 228 多功能净化柱	展青霉素，黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2	25 支 / 盒
COAF224	Copure® 224 多功能净化柱	玉米赤霉烯酮	25 支 / 盒
COAF223	Copure® 223 多功能净化柱	黄曲霉毒素 M1、M2	25 支 / 盒
COAF229	Copure® 229 多功能净化柱	赭曲霉毒素	25 支 / 盒
COAF230	Copure® 230 多功能净化柱	呕吐毒素	25 支 / 盒
COAF302	Copure® 302 多功能净化柱	黄曲霉毒素 B 族、G 族、M 族，玉米赤霉烯酮，呕吐毒素，T-2 毒素，赭曲霉毒素，伏马毒素，3-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇，15-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇	25 支 / 盒