

小麦粉中呕吐毒素检测的固相萃取方法(Copure® 230 多功能净化柱)

呕吐毒素也叫做脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (deoxynivalenol, DON), 其是一种单端孢霉烯族化合物, 由于该毒素能够引起动物呕吐等中毒症状, 故而称为呕吐毒素。小麦作为主食作物, 是呕吐毒素分布最广的作物之一。在小麦生产加工的过程中, 呕吐毒素伴随着面粉的制成存在于小麦粉中, 严重危及人们的身体健康。因此精准快速地检测粮食作物及其制品中呕吐毒素含量, 对于保证食品安全具有重要的意义。

逗点生物采用最新自主研发的 Copure®230 多功能净化柱, 建立小麦粉中呕吐毒素检测的 LC 和 LC-MS/MS 两种检测方法。LC 方法中两个水平 (200 ng/g, 400 ng/g) 的加标回收率均在 90-120 % 之间, RSD 小于 10 %; LC-MS/MS 方法中两个水平 (40 ng/g, 60 ng/g) 的加标回收率均在 90-110 % 之间, RSD 小于 10 %。本方法操作简便快捷, 与国内外的竞品相比, 具有回收率高和除杂效果好的优势, 能够作为小麦粉中呕吐毒素检测的参考方法。

参照《GB 5009.111-2016 食品安全国家标准 食品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇及其乙酰化衍生物的测定》。

一、样品前处理

1.1 样品提取

- 1) 称取 2 g 样品, 再加入 20 mL 乙腈-水溶液 (9+1) 混合均匀。
- 2) 涡旋 15 min 后, 6000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 待净化用。

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 下氮气吹干, 用 1 mL 初始流动相复溶, 涡旋 30s 溶解残渣, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 上机分析。

二、仪器条件

LC 方法

仪器设备: UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific), 配 DAD 检测器

色谱柱: Agilent ZORBAX C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm)

流动相: A: 甲醇 B: 去离子水

流动相梯度:

表 1 流动相洗脱程序

时间	A (%)	B (%)
0.00	20	80
2.00	20	80
10.00	70	30
12.00	70	30
13.50	20	80
16.00	20	80

流速: 0.8 mL/min

柱温: 35°C

进样体积: 50.0 mL

检测波长: 218 nm

LC-MS/MS 方法

仪器设备: 液相色谱-串联质谱联用仪 SCIEX Triple Quad™ 4500

色谱柱: C18, 1.9 μm, 2.1x100mm

流动相: A: 水

B: 甲醇

流动相梯度: 初始 95%A (0 min~1 min), 95%~5%A (1.1 min~3 min),

5%A (3.1 min~3.5min), 95%A (3.51min~6.0min)。

流速: 0.3 mL/min

柱温: 室温

进样体积: 4.0 mL

离子源模式: ESI- 检测方式: 多离子反应检测 (MRM)

采集条件:

表 2 离子选择参数

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	CE(V)	DP(V)
DON	295.1	265.1*	-15.0	-15.0
		138.2	-26.0	-12.0
3A-DON	337.0	307.1*	-16.0	-12.0
		173.0	-15.0	-12.0
15A-DON	337.0	150.0*	-25.0	-12.0
		219.1	-16.0	-12.0
13C-DON	310.1	261.0	-16.0	-12.0
		279.1*	-16.0	-12.0
13C-3-ADON	354.0	323.0*	-16.0	-12.0
		230.0	-20.0	-13.0

注: * 为定量离子。

三、实验结果

LC 方法

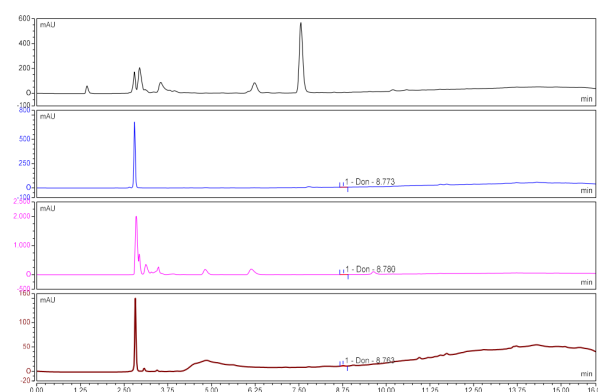


图 1 不同品牌多功能净化柱处理加标样品后的色谱图 (①小麦粉样品-未净化处理 ② Copure®230-净化处理 ③ 国内 B 品牌-净化处理 ④ 国外 A 品牌-净化处理)

从图 1 中可知, 经过 Copure®230 净化处理后, 上机液中杂质被明显吸附, 色谱图中杂峰更少, 目标峰旁边无干扰峰, 定量更准确; Copure®230 的杂质去除效果明显优于国内 B 品牌, 与国外 A 品牌相近, 回收率在 90-120% 之间, 满足实验使用需求。

表 3 LC 方法加标回收实验结果

检测项目	加标水平 (ng/g)	Copure® 230		国外 A 品牌		国内 B 品牌	
		回收率 R/%	RSD/%	回收率 R/%	RSD/%	回收率 R/%	RSD/%
呕吐毒素	200	115	1.74	85.1	3.95	145	1.60
	400	101	7.39	116	8.78	146	9.54

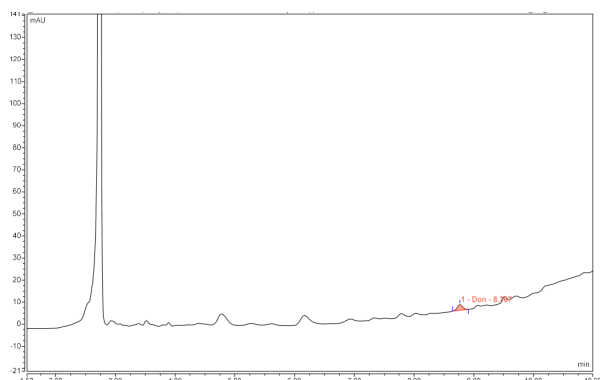


图 2 使用 Copure®230 净化后的加标样品的色谱图 (200 ng/g)

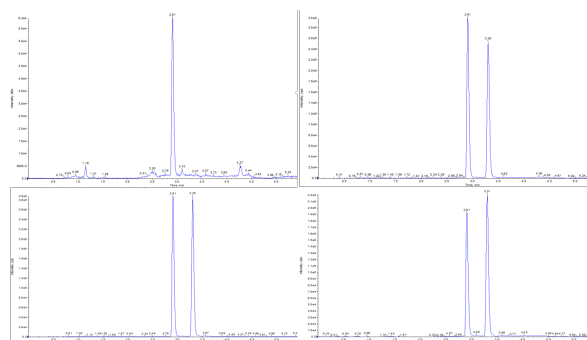


图 3 不同品牌多功能净化柱处理加标样品后的 TIC 色谱图 (①小麦粉样品 - 未净化处理 ② Copure®230- 净化处理 ③ 国外 A 品牌 - 净化处理 ④ 国内 B 品牌 - 净化处理)

从图 3 中可知, 经过 Copure®230 净化处理后, TIC 图中杂质被明显吸附, 色谱图中杂峰更少, DON、3A-DON、15A-DON 三种目标物回收率在 95~110% 之间, 符合实验要求, 整体性能与国外竞品相当。

LC-MS/MS 方法

表 4 LC-MS/MS 方法加标回收实验结果

检测项目	加标水平 (ng/g)	Copure®230		国外 A 品牌		国内 B 品牌	
		回收率 R/%	RSD/%	回收率 R/%	RSD/%	回收率 R/%	RSD/%
DON	40	102	3.59	99.5	1.67	103	5.19
	60	95.9	3.39	99.2	1.51	97.5	2.05
3A-DON	40	97.1	3.10	95.8	3.66	97.5	4.10
	60	106	3.46	101	7.61	100	3.32
15A-DON	40	91.2	1.64	94.0	1.06	93.2	2.14
	60	106	0.63	102	3.60	1.08	2.77

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