

# 玉米粉中黄曲霉毒素检测的高通量固相萃取方法 (Copure® 226 多功能净化板)

黄曲霉毒素 (aflatoxins) 是一种由黄曲霉和寄生曲霉等真菌经过聚酮途径产生的次生代谢产物, 其结构通常包含一个双呋喃环和一个氧杂萘邻酮, 天然产生的黄曲霉毒素根据其化学结构不同分为 B1、B2、G1、G2 四种。食品遭受产毒真菌以及霉菌毒素污染的问题在世界范围内反复发生, 被污染的农作物作为饲料资源被畜禽食用后, 携带的霉菌毒素又可在肉、蛋、奶等食品中蓄积, 通过食物链传递, 危害人类健康。

逗点生物采用 24 孔 Copure® 226 多功能净化板, 实现了黄曲霉毒素的快速、高通量检测。建立玉米粉中黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 检测的 LC-MS/MS 检测方法。两个水平 (0.5 ng/g, 1.0 ng/g) 的加标回收率均在 90-110% 之间, 孔间回收率 CV 值小于 5%。本方法操作简便快捷, 具有回收率高和除杂效果好的优势, 能够作为玉米粉中黄曲霉毒素检测的参考方法。

本方法适用于谷物及其制品、豆类及其制品、坚果及籽类、油脂及其制品、调味品、婴幼儿配方食品和婴幼儿辅助食品中黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 的测定。

参照《GB 5009.22-2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》。

## 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, 加入一定量同位素内标工作液振荡混合后静置 30 min。
- 2) 加入 20 mL 乙腈-水溶液 (84+16), 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) 将 24 孔净化板放置在 24 孔收集板上, 再向净化板孔中加入 6 mL 样品提取液。
- 2) 将 24 孔净化板和收集板放置在 24 孔正压提取装置下, 开启气阀开关, 使净化板孔和输气孔保持对应, 匹配良好。
- 3) 调整气体输出压力, 使样品提取液过滤至收集板中。
- 4) 取 4 mL 样品净化液, 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

仪器设备: UPLC-MS/MS (Thermo Scientific TSQ Endura)  
色谱柱: Thermo C18 (2.1x100 mm, 1.7 μm)

流动相: A: 0.1% 甲酸水 B: 乙腈

流动相梯度: 初始 80%A, 20%A (0 min~2 min), 20%A (2 min~3 min), 80%A (3 min~3.1min), 80%A (3.1min~5min)

流速: 0.3 mL/min

柱温: 室温

进样体积: 5.0 mL

### 质谱条件:

检测方式: 多离子反应检测 (MRM);

表 1 离子源控制条件

Curtain Gas (CUR)	35.0
Collision Gas (CAD)	9
IonSpray Voltage (IS)	5500
Temperature (TEM)	550
Ion Source Gas1 (GS1)	50.0
Ion Source Gas2 (GS2)	50.0

表 2 离子选择参数

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	DP(V)	CE(V)
AFT B1	313.000	285.000*	100.000	33.000
	313.000	241.000	100.000	51.000
AFT B2	315.000	287.000*	95.000	37.000
	315.000	259.000	89.000	41.000
AFT G1	329.000	243.000*	98.000	39.000
	329.000	283.000	91.000	35.000
AFT G2	331.000	245.000*	113.000	41.000
	331.000	285.000	103.000	39.000

注: \* 为定量离子。

## 三、实验结果

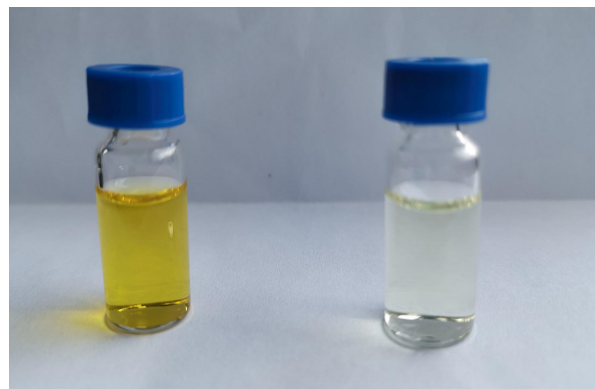


图 1 使用多功能净化板处理前后的脱色效果图  
(①玉米粉样品 - 未净化处理 ② Copure®226 多功能净化板 - 净化处理)

从图 1 中可知, 经过 Copure® 226 多功能净化板净化处理后, 提取液中色素被明显吸附, 减少杂质干扰; 图 2 中, 杂质被明显吸附, TIC 色谱图中杂峰更少, 上机液更干净; 24 个孔中黄曲霉毒素的回收率均在 90-110% 之间, 孔间回收率 CV 值小于 5%, 能满足实验使用需求。

表 3 玉米粉中黄曲霉毒素加标回收实验结果

检测项目	加标水平 (ng/g)	Copure® 226 多功能净化板	
		平均回收率 R/% (n=24)	CV/%
AFT B1	0.5	105	3.92
	1.0	101	2.41
AFT B2	0.5	102	4.12
	1.0	95.8	4.15
AFT G1	0.5	105	2.69
	1.0	104	4.13
AFT G2	0.5	101	4.28
	1.0	95.4	3.75

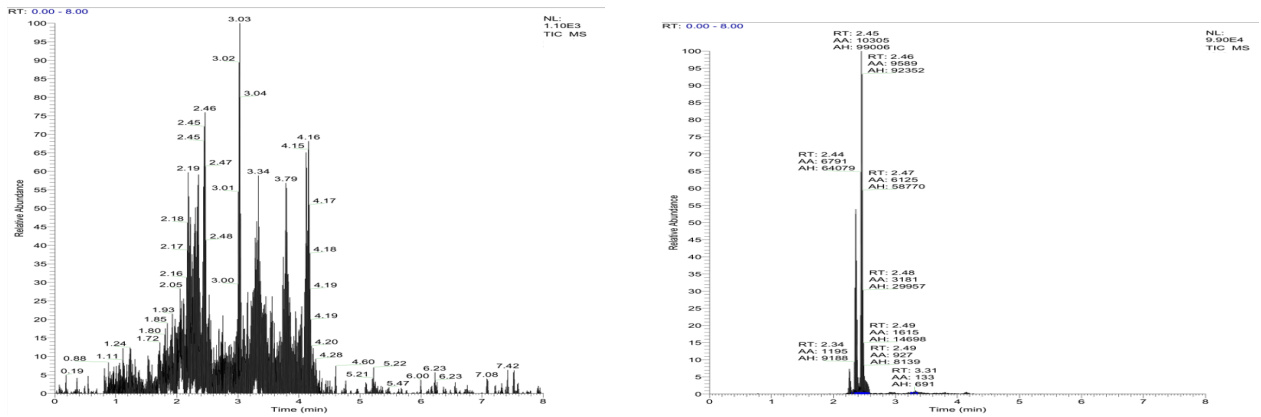


图 2 使用多功能净化板处理前后的 TIC 色谱图  
(①玉米粉样品 - 未净化处理 ② Copure®226 多功能净化板 - 净化处理 )

订购信息

产品信息	名称	描述	规格
COAF226-GTL	Copure® 226 多功能净化板	玉米赤霉烯酮, 黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2	1 块 / 盒
COAF228-GTL	Copure® 228 多功能净化板	展青霉素, 黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2	1 块 / 盒
COAF224-GTL	Copure® 224 多功能净化板	玉米赤霉烯酮	1 块 / 盒
COAF223-GTL	Copure® 223 多功能净化板	黄曲霉毒素 M1、M2	1 块 / 盒
COAF229-GTL	Copure® 229 多功能净化板	赭曲霉毒素	1 块 / 盒
COAF230-GTL	Copure® 230 多功能净化板	呕吐毒素	1 块 / 盒
COAF302-GTL	Copure® 302 多功能净化板	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	1 块 / 盒