

应用SCIEX Triple Quad™ 4500系统测定米粉和银耳中米酵菌酸毒素

Determination of Bongkrelic Acid in Rice Noodles and Tremella on SCIEX Triple Quad™ 4500 System

陈慧敏, 郇宇, 杨总, 李立军, 郭立海

Chen Huimin, Huan Yu, Yang Zong, Li Lijun, Guo Lihai

SCIEX应用支持中心, 中国

SCIEX, China

Keywords: Bongkrelic Acid, Rice noodles, Tremella, SCIEX Triple Quad™ 4500 System

引言

米酵菌酸 (Bongkrelic acid, BA) 是椰毒假单胞菌酵米面亚种代谢物中的一种, 它存在于银耳和米粉等谷物制品食物中, 毒性较强, 一旦上述食品储存不当, 尤其高温潮湿天气, 容易受椰毒假单胞菌污染而产生米酵菌酸毒素, 即使加热烹制也无法消除, 食用者会出现恶心、呕吐、抽搐、休克等中毒症状, 损伤肝、脑神经细胞以及肾脏组织, 致死率高达40%~100%, 在我国曾引起多起食物中毒事件, 因此上述食品中米酵菌酸毒素的监测得到食品安全相关部门的重视。在我国的相关标准中^[1-2]明确规定了银耳中米酵菌酸含量小于0.25 mg/kg。

传统的米酵菌酸的检测方法主要有液相色谱法、薄层色谱法以及紫外分光光度法。相比一般传统分析方法的检测时间长、结果准确性差, 液相色谱质谱联用技术具有特异性好、灵敏度高、分析速度快等特点, 广泛用于食品安全检测。

针对米酵菌酸毒素的检测, 本文提供了相应液相色谱质谱联用分析方案, 并具有以下优点:

1. 本方法灵敏度高, 方法灵敏度远高于国标分析要求。
2. 分析速度快: 前处理方法简单高效, 方法分析时间短。
3. 稳定性好: 重现性, 回收率符合方法学要求。



SCIEX ExionLC™系统 + SCIEX Triple Quad™ 4500系统

仪器设备

SCIEX ExionLC™系统 + SCIEX Triple Quad™ 4500系统

样品处理

提取: 取5 g经过粉碎处理的米粉样品 (或2.5 g银耳样品) 置于50 ml离心管, 以15 ml 1%的氨水-甲醇溶液 (甲醇: 水=80:20) 浸泡60 min, 超声30 min提取

浓缩: 离心取上清液3 ml (银耳样品6 ml), 氮吹浓缩到1 ml, 过0.22 μm滤膜进样。

色谱条件

色谱柱: Phenomenex Synergi™ 4 μm Fusion-RP;

流动相: A: 水 (0.01%甲酸);

B: 乙腈;

流速: 0.45 mL/min;

柱温: 40 °C

表1. 梯度洗脱:

时间 (min)	流速 (mL/min)	有机相 (%)
1	0.45	10
5	0.45	95
6.5	0.45	95
6.7	0.45	10
9	0.45	10

质谱条件

离子源: ESI源, 负离子模式

离子源参数:

喷雾电压 IS: -4500 V

气帘气 CUR: 30 psi

雾化气 GS1: 50 psi

辅助加热气 GS2: 55 psi

碰撞气 CAD: Medium

源温度 TEM: 450 °C

表2. 离子对参数

分析物	Q1	Q3	驻留时间 (msec)	去簇电压	碰撞电压
米酵菌酸1	485.3	441.2	200	-30	-16
米酵菌酸2	485.3	397.2	200	-30	-25

实验结果

1. 米酵菌酸标准品(1 ng/ml)提取离子流图

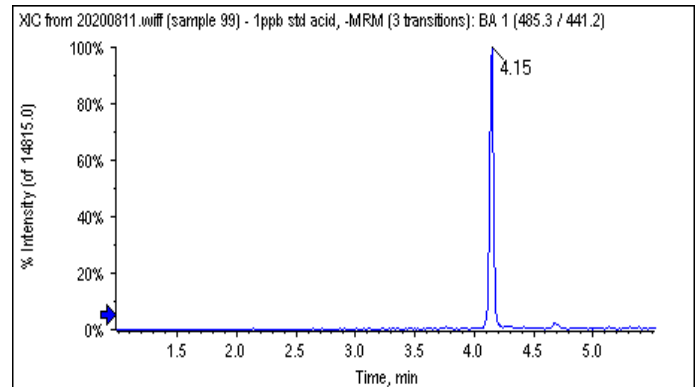


图1. 米酵菌酸标准品(1 ng/ml)提取离子流图

2. 标准曲线

米酵菌酸的两个离子对m/z 485.3>441.2和m/z 485.3>397.2在0.05 ng/ml~10 ng/ml的线性范围内线性关系良好, 回归方程y=3.69970e4x-382.02881, 回归系数均大于0.998

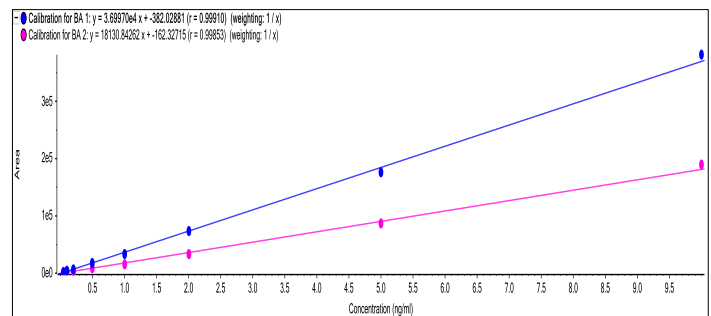


图2. 米酵菌酸标准曲线

3. 加标回收率和重现性

取样品 (银耳和米粉) 分别平行制备六份加标溶液, 浓度分别0.05 ng/mL, 0.5 ng/mL 和10.0 ng/mL, 进样分析。结果表明, 米酵菌酸在两种基质的三个不同浓度样品的回收率均在75-110 %, 6针平行样品的RSD %在0.51-2.42 %, 回收率和RSD %均满足测试要求。结果见表3。米粉和银耳实际样品和实际样品加标(1 ng/g)提取离子流图分别见图3和图4。

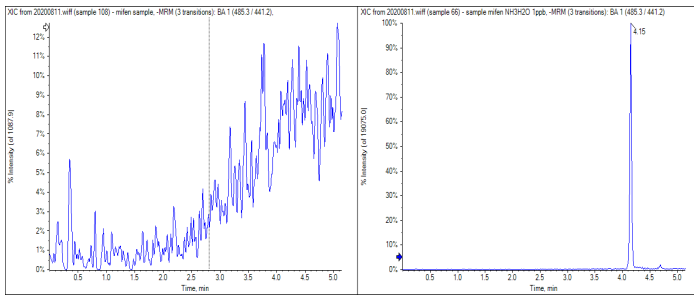


图3. 米粉的实际样本（左）和实际样本加标1 ng/g（右）的提取色谱图

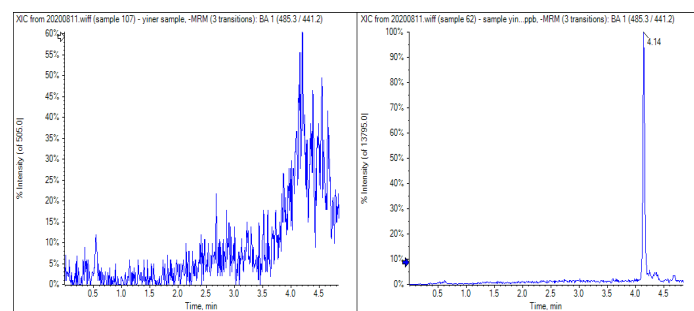


图4. 银耳的实际样本（左）和实际样本加标1 ng/g（右）的提取色谱图

表3. 回收率测试结果

基质加标浓度 (ng/g)	米粉		银耳	
	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)
0.5	102	2.96	96	1.47
1	110	2.88	90	3.18
10	97.2	1.24	75.4	1.21

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。© 2020 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.

RUO-MKT-02-12383-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话: 010-5808-1388
传真: 010-5808-1390
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话: 021-2419-7200
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州分公司
广州市天河区珠江西路15号
珠江城1907室
电话: 020-8510-0200
传真: 020-3876-0835
官方微信: [ABSciex-China](https://www.absciex.com.cn)

小结

本文提供从前处理方法、液相色谱、质谱方法到出报告的一整套分析方案。

本文使用SCIEX Triple Quad™ 4500建立了LC-MS/MS方法测定米粉和银耳中米酵菌酸的含量。结果表明，该方法的特异性好，无干扰且重现性好；化合物的线性范围为0.05 ng/mL-10 ng/mL，在线性范围内线性关系良好，相关系数大于0.998。方法灵敏度高，能测定到的最低浓度相当于食物中米酵菌酸的含量为0.05 ng/g，低于要求限度水平。

参考文献

1. 中华人民共和国农业部. NY/T 749-2012 绿色食品食用菌[S].北京: 中国标准出版社, 2012
2. 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 7096-2014 食品安全国家标准食用菌及其制品[S]. 北京:中国标准出版社, 2014