

# QuEChERS-UPLC-MS/MS 测定焙烤食品中 4 种链格孢菌毒素

梁明, 陈杰锋, 冼燕萍, 王斌, 王莉, 侯向昶, 吴玉奎

(广州质量监督检测研究院, 广州市食品安全风险动态监测与预警研究中心, 广州市食品安全检测技术重点实验室, 广东广州 511447)

**摘要:** 建立了超高效液相色谱-串联质谱法测定焙烤食品中 4 种链格孢菌毒素 (腾毒素、链格孢菌酚、交链孢酚单甲醚、细交链孢菌酮酸) 快速检测方法。样品经乙腈-0.1 mol/L 盐酸溶液超声萃取, 萃取液经 QuEChERS 净化处理, 在 RP18 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) 上以乙腈和 1 mmol/L 碳酸氢铵为流动相梯度洗脱, 采用电喷雾离子源、正负离子多反应监测模式检测, 外标法定量。结果表明, 4 种待测物在相应的浓度范围内线性良好, 相关系数均大于 0.999; 方法定量限 (S/N≥10) 为 0.03~0.3 μg/kg; 进行 3 个水平的添加回收实验, 平均回收率 (n=6) 为 83.2%~105.3%; 相对标准偏差 (RSD, n=6) 为 1.2%~6.4%。应用本方法检测 45 个焙烤食品样品, 4 种真菌毒素均有检出。其中 24 份样品检出 AME, 含量为 0.1~4.6 μg/kg; 6 份样品检出 AOH, 含量为 0.47~1.5 μg/kg; 27 份样品检出 TeA, 含量为 0.6~3.7 μg/kg; 9 份样品检出 TEN, 含量为 0.3~2.1 μg/kg。

**关键词:** 焙烤食品; 链格孢菌毒素; QuEChERS; UPLC-MS/MS

文章编号: 1673-9078(2019)06-280-286

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.6.037

## Determination of 4 Kinds of *Alternaria* Toxins in Baked Food by QuEChERS and Ultra-high Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

LIANG Ming, CHEN Jie-feng, XIAN Yan-ping, WANG Bin, WANG Li, HOU Xiang-chang, WU Yu-luan

(Guangzhou Quality Supervision and Testing Institute, Guangzhou City Research Center of Risk Dynamic Detection and Early Warning for Food Safety, Guangzhou City Key Laboratory of Detection Technology for Food Safety, Guangzhou 511447, China)

**Abstract:** An analysis method using ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was established for the determination of four alternaria toxins [Tenuazonic acid (TeA), Alternariol (AOH), Alternariol Monomethyl Ether (AME), Tentoxin (TEN)] in baked food. The samples were extracted with acetonitrile and 0.1 mol/L HCl, and the extracted solutions were purified using the QuEChERS approach. The target analytes were then separated on a RP18 column (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) using acetonitrile and 1 mmol/L NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> as the mobile phase and detected by MS/MS under multiple reaction monitoring (MRM) mode. The mass spectrometry measurement was conducted using positive (ESI+) and negative (ESI-) electrospray ionization. Under the optimized conditions, the linearity of the four analytes were good in the corresponding concentration range with the correlation coefficients more than 0.999. The MLOQ was 0.03~0.3 μg/kg and the average recoveries (n=6) ranged from 83.2% to 105.3%, and relative standard deviation (RSD, n=6) in a range of 1.2%~6.4% when three levels of standard were spiked. This developed method was successfully applied for the detection of 45 baking food samples, and mycotoxins were detected in several samples. AME was detected in 24 samples with the concentrations ranged from 0.1 to 4.6 μg/kg; AOH was detected in 6 samples with the concentrations ranged from 0.47 to 1.5 μg/kg; TeA was detected in 27 samples with the concentrations ranged from 0.6 to 3.7 μg/kg; and TEN was detected in 9 samples with the concentrations ranged from 0.3 to 2.1 μg/kg.

收稿日期: 2019-02-14

基金项目: 广州市科技计划项目 (201604020035)

作者简介: 梁明 (1989-), 男, 硕士, 研究方向: 食品及食品相关产品分析技术

通讯作者: 吴玉奎 (1965-), 女, 博士, 教授级高工, 研究方向: 食品安全及风险预警方面的研究

**Key words:** baked food; *Alternaria* toxin; QuEChERS; ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-MS/MS)

真菌毒素是由产毒真菌在适宜生长环境下产生的一类有毒次级代谢产物, 真菌毒素对粮食作物的污染严重威胁了农产品及其制品的质量与安全<sup>[1]</sup>。目前有研究发现在小麦等谷物中检出黄曲霉毒素、链格孢菌毒素等真菌毒素, 其中小麦中细交链孢菌酮酸 (Tenuazonic acid, TeA)、交链孢酚 (Alternariol, AOH)、交链孢酚单甲醚 (Alternariol Monomethyl Ether, AME) 的检出量在几十到几千  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之间, 污染较为严重<sup>[2]</sup>。链格孢菌是自然界中广泛存在、危害严重的植物病原真菌, AOH、AME、TeA 和腾毒素 (Tentoxin, TEN) 是链格孢菌较为重要的代谢物, 这类毒素对人畜均有较大危害, 能够引发细胞 DNA 突变, 提高癌症发病率, 在 1979 年被列入美国国家职业安全与卫生研究所的《有毒化学物质登记册》中, 其中 TEN 是仅有的一种多肽类代谢产物, 毒性较强<sup>[3-5]</sup>。焙烤食品是以小麦等谷物粉料为基本原料, 通过发面、高温焙烤过程而熟化的一类食品<sup>[6]</sup>, 小麦等谷物通过高温焙烤制成焙烤食品的过程中, 链格孢菌毒素若没有完全降解, 会残留在焙烤食品中, 而且焙烤食品在后续的转运、储藏和加工等阶段因为其持续产生真菌毒素, 也会严重影响着它们的品质和安全, 人或动物长期食用将对其健康产生危害。为了保护消费者利益, 世界各国针对真菌毒素在农产品、食品和饲料等样品中制定了限量标准, 我国于 2017 年也实施了新国家标准 GB 2761-2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》<sup>[7]</sup>, 其中规定了食品中部分真菌毒素的限量指标, 但食品中链格孢菌毒素在国内外尚有限量标准及国家标准检测方法, 因此, 研究食品中链格孢菌毒素的污染状况并提供检测依据显得尤为迫切。

食品中的真菌毒素的检测方法主要有薄层色谱法 (TLC)<sup>[8,9]</sup>、高效液相色谱法 (HPLC)<sup>[10-12]</sup>、高效液相色谱-串联质谱法 (HPLC-MS/MS)<sup>[13]</sup>、气相色谱法 (GC)<sup>[14,15]</sup>、酶联免疫法 (ELISA)<sup>[16-18]</sup> 等。LC-MS/MS 结合了液相色谱的分离能力和质谱的高鉴别能力, 能够实现准确定量, 简化样品前处理, 缩短检测时间, 从而实现高通量检测目的, 在检测真菌毒素方面的优势明显, 是同时检测多种毒素的理想方法。QuEChERS 法是利用吸附剂填料与基质中的杂质相互作用, 吸附杂质从而达到除杂净化的目的。QuEChERS 方法回收率较高, 精确度和准确度高, 可分析的真菌范围广, 分析速度快, 溶剂使用量少, 操作简便且装置简单<sup>[19]</sup>。因此, 本实验室采用

QuEChERS 方法进行除杂净化, 结合液相色谱-串联质谱技术建立了焙烤食品中 4 种链格孢菌毒素的快速测定方法。该方法简便快速, 可操作性强, 免去繁琐的固相萃取 (SPE) 净化步骤, 只需一步提取浓缩就可以准确筛查焙烤食品中的 4 种链格孢菌毒素。采用建立的方法对市面上销售的部分焙烤食品 (月饼、面包、蛋糕和饼干) 进行筛查, 四种链格孢菌毒素均有检出。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

QTRAP 5500 超高效液相色谱-串联质谱仪 (带电喷雾离子源 ESI), AB SCIEX 公司; MS3 digital 涡旋混合器, IKA 公司; KQ-500E 超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; KDC-40 低速离心机, 安徽中科中佳公司; Milli-Q 超纯水仪, 美国 Millipore 公司; N-EVAP 112 水浴氮吹仪, 美国 OA 公司; 3K15 高速离心机, 美国 Sigma 公司。

腾毒素 (纯度>96%, CAS: 28540-82-1)、链格孢菌酚 (纯度>97%, CAS: 641-38-3)、交链孢酚单甲醚 (纯度>98%, CAS: 26894-49-5)、细链格孢菌酮酸 (纯度>95%, CAS: 610-88-8), 均购自加拿大 TRC 公司; 乙腈为色谱纯, 购自 Merck 公司; QuEChERS 试剂包 (货号: 5982-6550), 美国 Agilent 公司, 其中含 4 g 无水  $\text{MgSO}_4$  和 1 g NaCl; 碳酸氢铵、乙酸为色谱纯, 购自 CNW 公司; C18 吸附剂, 购自 CNW 公司。实验用水均为超纯水, Milli-Q 自制。

标准溶液配制: 分别称取 4 种毒素标准物质适量, 用乙腈配成 20 mg/L 单标贮备液。各吸取 2 mL 贮备液, 混合配成 5 mg/L 的混标溶液, 再用乙腈-1 mmol/L 碳酸氢铵溶液 (1:9, V/V) 配制成系列标准工作液。

样品: 45 份焙烤食品均购自广州, 包括 32 份月饼、7 份面包、4 份蛋糕和 2 份饼干。

### 1.2 样品前处理方法

称取混匀的试样 2 g (精确至 0.01 g) 于 50 mL 塑料离心管中, 加入 4 mL 0.1 mol/L 盐酸溶液, 涡旋振荡 1 min, 使样品分散均匀, 加入 6.0 mL 乙腈, 涡旋振荡 2 min, 超声 10 min, 然后加入 2 g QuEChERS 试剂包填料 (其中约 1.6 g 无水  $\text{MgSO}_4$  和 0.4 g NaCl), 立即涡旋振荡 2 min, 4000 r/min 离心 3 min, 吸取上清液至 10 mL 带刻度玻璃离心管, 于 40 °C 水浴氮吹

至近干,用乙腈-1 mmol/L 碳酸氢铵溶液(1:9, V/V)定容至 1.0 mL,涡旋混匀,转移至已含有 20 mg C18 吸附剂的 2 mL 离心管,12000 r/min 离心 2 min,上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  PFTE 滤膜,滤液供 UPLC-MS/MS 测定。

### 1.3 色谱条件

色谱柱: Acquity UPLC BEH Shield RP18 色谱柱(1.7  $\mu\text{m}$ , 2.1 mm $\times$ 100 mm),柱温: 30  $^{\circ}\text{C}$ ;流动相: A 相为 1 mmol/L 碳酸氢铵溶液, B 相为乙腈;梯度洗脱程序: 0~2 min, 85% A; 2~6 min, 85%

A~40% A; 6~7 min, 40% A~10% A; 7~8 min, 10% A; 8~9 min, 10% A~85% A; 9~10 min, 85% A。流速: 0.3 mL/min; 进样量: 5  $\mu\text{L}$ 。

### 1.4 质谱条件

电离模式: 电喷雾正、负离子切换; 喷雾电压: 4.0 kV/-3.8 kV; 辅助气温度: 550  $^{\circ}\text{C}$ ; 鞘气流量: 氮气, 40 L/min; 辅助气流量: 氮气, 60 L/min; 碰撞气: Ar; 检测方式: 多反应监测扫描模式(MRM); 质谱采集参数见表 1。

表 1 4 种链格孢菌毒素的串联质谱检测参数

Table 1 MS/MS parameters of the four *Alternaria* toxins

Compounds	Rt/min	Ionization mode	Ion formation	Qualitative ions ( $m/z$ )	Collision energies/eV	DP/V
TeA	1.5	ESI <sup>-</sup>	[M-H]	195.9/139.0*	-29	-100
				195.9/111.8	-33	
AOH	6.6	ESI <sup>-</sup>	[M-H]	257.3/215.0*	-35	-170
				257.3/146.9	-44	
TEN	6.1	ESI <sup>+</sup>	[M+H]	415.4/312.2*	30	180
				415.4/256.2	39	
AME	7.8	ESI <sup>-</sup>	[M-H]	271.0/256.3*	-33	-130
				271.0/227.8	-42	

### 1.5 数据统计分析

数据采用 SPSS 21.0 软件(美国 SPSS 股份有限公司)进行统计学分析, ANOVA 进行方差分析, Duncan 对提取条件进行显著性分析。

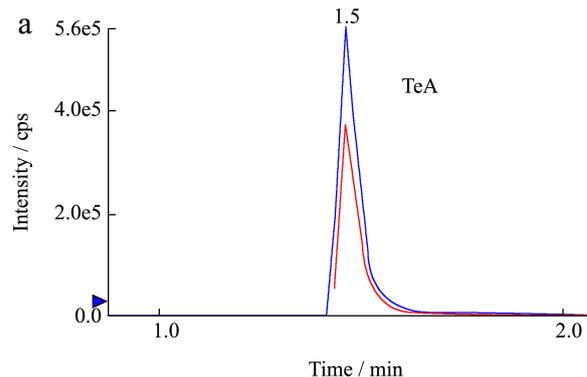
## 2 结果与讨论

### 2.1 色谱质谱条件的优化

采用蠕动泵直接进样,在电喷雾正、负离子(ESI)模式下分别对 4 种链格孢菌毒素单标准溶液(100  $\mu\text{g/L}$ )进行一级质谱扫描,发现 TeA、AOH 和 AME 在电喷雾负离子(ESI<sup>-</sup>)模式下获得较高分子离子峰, TEN 在电喷雾正离子(ESI<sup>+</sup>)模式下获得较高分子离子峰。分别对 4 种目标物的分子离子进行二级质谱扫描,得到相应的二级质谱图,根据欧盟指令 2002/657/EC,选择 2 个响应高、质量数大的离子作为定性定量离子,并优化得到每种链格孢菌毒素特征离子对的最佳碰撞能量和去簇电压等质谱参数,使特征离子对响应最高。经优化的特征离子对及质谱参数见表 1。

选择 BEH C18 色谱柱和 BEH Shield RP18 色谱柱(均为 1.7  $\mu\text{m}$ , 2.1 mm $\times$ 100 mm),分别以乙腈-0.1% 甲酸水、乙腈-10 mmol/L 乙酸铵、乙腈-5 mmol/L 碳酸氢铵、乙腈-0.05% 氨水作为流动相,比较 4 种流动

相的分离效果和响应强度。结果表明,采用 BEH Shield RP18 色谱柱,以乙腈-5 mmol 碳酸氢铵作为流动相时,4 种链格孢菌毒素的分离效果较好,响应强度也较高。在此基础上,进一步考察不同浓度碳酸氢铵(0.25、0.5、1、2、5、10 mmol/L)对目标物响应值的影响,结果表明,使用乙腈-1 mmol/L 碳酸氢铵作为流动相,并经过反复试验,改变不同时间段流动相中有机相和水相的比例,最终确定了最佳梯度洗脱条件(如 1.3 所述),获得 4 种链格孢菌毒素的最佳分离效果,其提取离子色谱图见图 1。鉴于 TEN(ESI<sup>+</sup>模式,保留时间 6.1 min)和 AOH(ESI<sup>-</sup>模式,保留时间 6.6 min)需分别在 ESI 正、负模式下检测且流出时间很接近,难以实现分段采集,因此实验选用 ESI 正、负模式切换采集模式。



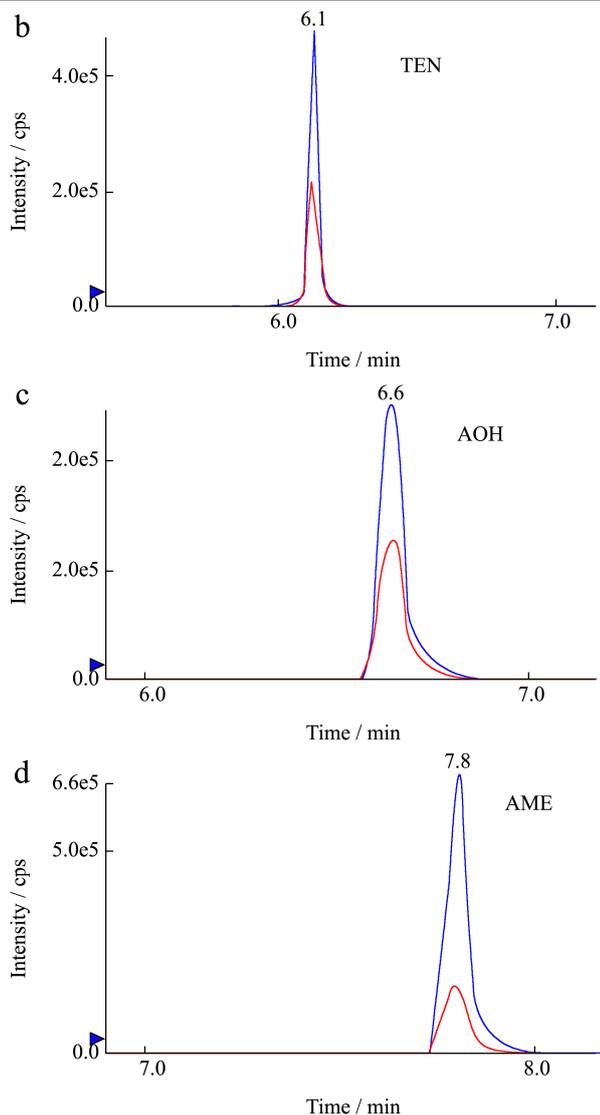


图1 4种链格孢菌毒素的提取离子色谱图

Fig.1 Selective ion chromatogram of four *Alternaria* toxins

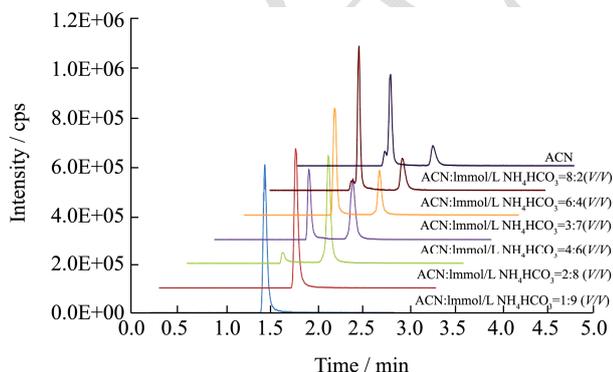


图2 定容液中乙腈比例对TeA峰形的影响

Fig.2 Effect of the acetonitrile ratio in constant volume solution on the peak shape of TeA

采用窄管径(2.1 mm)、小颗粒填料(1.7 μm)色谱柱进行液相色谱分离时,待测样液体系中有有机相的比例过高,常会对最早流出的目标物产生溶剂效应,表现为峰形不对称,甚至出现分峰;但是,从前处理

操作方便和目标物溶解度的角度考虑,有机相的比例稍高较好。TeA为一元酸类化合物,在碱性(碳酸氢铵)流动相体系中呈离子状态,保留因子小,实验发现定容液中乙腈比例对TeA的影响较大,为了获得稳定的实验结果,对定容液中乙腈比例进行了优化。实验考察了不同比例的乙腈-1 mmol/L碳酸氢铵(10:0, 8:2, 6:4, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, V/V)作为定容液对目标物峰形的影响。实验结果如图2所示,当乙腈比例为10%和20%时,TeA峰形尖锐对称;当乙腈比例达到30%时,TeA出现基线分离的双峰,随着乙腈比例提高,前峰峰高增高,后峰峰高降低,这可能是TeA除了产生溶剂效应影响外,还在乙腈体系中与其同分异构体异链格孢菌酮酸出现了互相转换。为了保证实验结果的稳定性,选用乙腈-1 mmol/L碳酸氢铵(1:9, V/V)作定容液。在不同乙腈比例对TEN、AOH、AME的分离度和峰形均无影响。

## 2.2 提取条件的优化

乙腈极性范围宽,分子小,组织穿透力强,对脂肪、蛋白质的沉淀效果较好,是实验室常用的提取溶剂。焙烤食品多为高淀粉类食品,富含油脂和蛋白质等组分,且有些含有馅料,如月饼等,这些干扰组分在纯乙腈提取过程中极易发生交联形成胶体状,包裹目标物而难以充分提取,因此通常先以水充分浸润和分散样品,以提高乙腈的提取效率<sup>[6]</sup>。

TeA为中等极性(pKa为3.5),AOH和AME极性较小,TEN也为中等或较小极性化合物。因此,实验比较了2 mol/L乙酸铵溶液和0.1 mol/L盐酸溶液分别作为样品的水相分散剂,以乙腈作为提取溶剂的提取效果。实验发现,采用2 mol/L乙酸铵溶液-乙腈提取体系,TEN、AOH、AME的回收率较高,在86%~95%之间,但TeA的提取率却只有约10%;采用0.1 mol/L盐酸-乙腈提取体系,由于pH值低于TeA的pKa值两个量级,改变了盐析时TeA在水相-有机相之间的分配比,加强了TeA转移到乙腈层中的效率,使TeA的提取回收率提高至约87%。

实验选取含油脂、蛋白、淀粉、糖等杂质较多的月饼和面包混合作为代表性基质,考察不同比例的0.1 mol/L盐酸溶液-乙腈(2:8, 3:7, 4:6, 5:5, V/V)作为提取溶剂的提取效果。结果表明,在0.1 mol/L盐酸溶液-乙腈(4:6, V/V)作为提取溶剂能充分分散样品基质,盐析分层后未出现乳化层,同时取得较好的回收率,在97%~123%之间;而0.1 mol/L盐酸-乙腈(2:8, 3:7, V/V)则由于水相比比例较低,未能充分分散样品基质,呈面团状,不利于目标物的提取,TeA的回收

率较低。故采用 10 mL 0.1 mol/L 盐酸-乙腈 (4:6, V/V) 作为提取溶剂。

本研究借鉴 AOAC 检测农残的方法, 选用无水硫酸镁和氯化钠混合脱水剂进行盐析。实验从 Agilent 公司 QuEChERS 试剂包 (含 4 g 无水 MgSO<sub>4</sub> 和 1 g NaCl) 中分别称取 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 g 进行对比, 结果如图 3 所示。由图 3 可见, 脱水剂用量为 2 g 时 (此时无水 MgSO<sub>4</sub> 和 NaCl 的量分别约为 1.6 g 和 0.4 g), 4 种待测物的回收率最高, 在 96%~115% 之间。

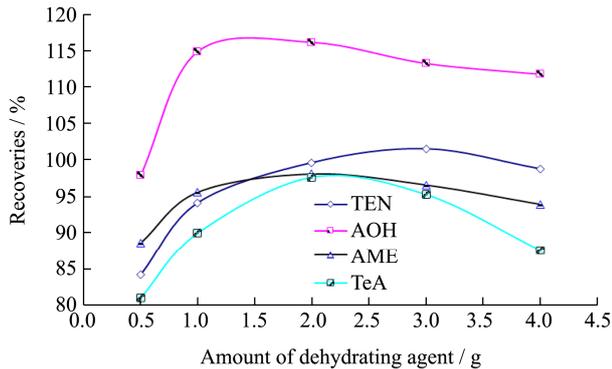


图 3 脱水剂用量对回收率的影响

Fig.3 Effect of the amount of dehydrating agent on the recoveries of the four *Alternaria* toxins

表 2 不同吸附剂对 4 种毒素净化回收率的影响

Table 2 Effect of the type and amount of adsorbent on the recoveries of the four *Alternaria* toxins

吸附剂种类	用量/mg	Recovery/%			
		TEN	AOH	AME	TeA
PSA	20	108	0	57.3	25.6
	40	102	0	47.6	25.4
	60	95.4	0	35.1	24.8
	80	0	0	0	24.5
C18	20	105	105	99.6	106
	40	104	106	104	78.7
	60	103	106	104	65.2
	80	103	106	102	55.1
GCB	10	97.8	0	0	118
	15	90.7	0	0	78
	20	82.1	0	0	66.4
	25	77.2	0	0	60.3

表 3 线性范围和线性方程、相关系数、方法检出限和方法定量限、基质效应

Table 3 Linear ranges, regression equations, MLOD, MLOQ and ME for four analytes

Compound	Linear equation	R <sup>2</sup>	Linear range/(ng/mL)	MLOD/(μg/kg)	MLOQ/(μg/kg)	ME
TEN	y = 49713x + 14733	0.9999	0.4~50	0.06	0.2	1.05
AOH	y = 35642x - 18827	0.9995	0.4~50	0.06	0.2	1.10
AME	y = 279899x + 435525	0.9993	0.2~50	0.03	0.1	0.87
TeA	y = 46978x - 32635	0.9999	0.5~50	0.10	0.3	0.96

### 2.3 净化条件的优化

虽然盐析可以降低糖等水溶性杂质的干扰, 但烘烤食品基质复杂, 在乙腈层中仍然会共提取出一些干扰组分, 在检测时 AOH 出现基质增强效应 (ME=1.32)、AME 出现了基质抑制效应 (ME=0.71), 因此实验考虑对氮吹定容后的待测样液进一步采用 QuEChERS 技术净化除杂。

实验仍选用月饼和面包混合作为代表性基质, 比较不同用量的 PSA、C18 和 GCB 作为 QuEChERS 吸附剂的净化效果。结果见表 2, PSA 和 GCB 对 AOH 和 AME 有严重吸附作用, 20 mg C18 的回收率最好, 且 AOH 的基质效应下降为 1.10, AME 的基质效应提高至 0.87。可能 C18 进一步吸附除去了一些非极性杂质, 因此, 实验选用 20 mg C18 进行 QuEChERS 净化。

### 2.4 线性范围、检出限和基质效应

配制系列标准工作液 (0.2~50 ng/mL, 6 个浓度点), 按本实验条件进行测定。以目标物定量离子的峰面积 (y) 对相应的质量浓度 (x, μg/L) 绘制标准曲线, 得到线性方程和相关系数。采用标准溶液逐步稀释法结合信噪比 (S/N) 法来确定仪器检出限 (ILOD, S/N≥3) 和仪器定量限 (ILOQ, S/N≥10), 并依此结合样品前处理回收率和浓缩倍数 (2 倍), 预估方法定量限, 在略大于预估浓度附近选择 2~3 个浓度点进行空白样品加标实验 (n=6), 联合信噪比法测得方法检出限 (MLOD, S/N≥3) 和方法定量限 (MLOQ, S/N≥10)。实验结果见表 3, 4 种毒素的方法检出限在 0.03~0.10 μg/kg 之间, 方法定量限在 0.1~0.3 μg/kg 之间, 表明方法具有高灵敏度。

对于基质效应 (ME), 采用 ME= (基质标准曲线的斜率/溶剂标准曲线的斜率) 进行评价: 若 ME<0.8, 表示存在基质抑制效应; 若 ME>1.2, 表示存在基质增强效应; ME 在 0.8~1.2 之间时, 通常认为基质效应可以忽略。实验测得 4 种毒素的基质效应在 0.87~1.10 之间 (见表 3), 表明本方法基质干扰较少, 基质效应可以忽略。

表4 方法回收率和精密度

Table 4 Recoveries and precisions of the method (n=6)

Sample	Compound	Spiked level (n=6)					
		1×MLOQ		2×MLOQ		10×MLOQ	
		Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%
Mooncake	TEN	102.5	4.9	98.4	1.4	97.7	1.1
	AOH	93.4	1.9	95.6	1.5	95.5	1.5
	AME	90.4	6.4	94.2	1.9	98.3	1.2
	TeA	83.2	1.5	86.5	3.9	88.0	2.9
Bread	TEN	94.7	3.8	96.3	1.6	98.2	1.4
	AOH	94.9	2.5	99.2	2.2	105.3	1.3
	AME	93.6	3.6	94.1	2.0	93.9	1.8
	TeA	87.9	2.8	89.9	2.1	91.2	2.0

## 2.5 方法回收率和精密度

选择不含待测目标物的焙烤食品(月饼、面包)样品进行加标回收实验,3个添加水平为1×MLOQ、2×MLOQ和10×MLOQ,每个添加水平平行6次(n=6),计算回收率和精密度,实验结果见表4。由表4可见,4种毒素的平均回收率在83.2%~105.3%之间,精密度RSD(n=6)在1.2%~6.4%之间。

## 2.6 实际样品的测定

行检测分析。各类型(月饼、面包、蛋糕、饼干)焙烤食品中均不同程度检出4种链格孢菌毒素,其中24份样品检出AME,检出率53.3%,含量为0.1~4.6 μg/kg;6份样品检出AOH,检出率13.3%,含量为0.47~1.5 μg/kg;27份样品检出TeA,检出率60.0%,含量为0.6~3.7 μg/kg;9份样品检出TEN,检出率20.0%,含量为0.3~2.1 μg/kg。根据焙烤食品的工艺配方,其链格孢菌毒素可能来源于小麦粉等主要原料的污染。典型阳性样品总离子流图和提取离子色谱图分别见图4a、4b。

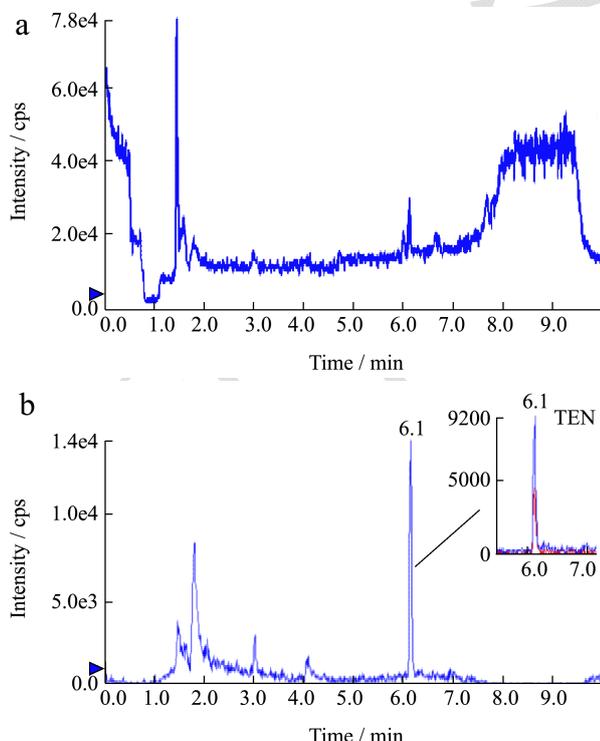


图4 典型阳性样品色谱图

Fig.4 Chromatogram of sample

注: a: 总离子色谱图; b: 阳性样品选择性离子色谱图。  
应用本研究方法对市售的45份焙烤食品样品进

## 3 结论

本文建立了同时检测焙烤食品中4种链格孢菌毒素的液相色谱串联质谱测定方法。采用Acquity UPLC BEH Shield RP18色谱柱,使4种链格孢菌毒素获得良好分离;采用0.1 mol/L盐酸溶液分散,乙腈提取,QuEChERS盐析和净化,获得稳定的提取效率和较好的净化除杂效果,基质效应可忽略。方法灵敏度高、重现性好,适于焙烤食品中4种链格孢菌毒素的测定。实际样品检测情况表明,焙烤食品存在链格孢菌毒素污染残留的风险。

## 参考文献

- [1] 朱聪英,应永飞,韦敏钰,等.液相色谱-串联质谱法测定饲料中黄曲霉毒素的研究[J].质谱学报,2010,31(4):240-246  
ZHU Cong-ying, YING Yong-fei, WEI Min-yu, et al. Research on determine aflatoxins in feed by LC-MS [J]. J. Chin. Mass Spectr Soc, 2010, 31(4): 240-246
- [2] 孟繁磊,牛红红,何智勇,等.基于UPLC-MS-MS技术定量确证小麦中10种真菌毒素[J].食品工业,2018,39(1):149-153  
MENG Fan-lei, NIU Hong-hong, HE Zhi-yong, et al. Quantitative determination of 10 kinds of mycotoxins in

- wheat by UPLC-MS-MS [J]. The Food Industry, 2018, 39(1): 149-153
- [3] 姜冬梅,王瑶,姜楠,等.农产品及其制品中交链孢酚和交链孢酚单甲醚研究进展[J].食品科学,2017,38(21):287-293  
JIANG Dong-mei, WANG Yao, JIANG Nan, et al. Review on alternariol and alternariol monomethyl ether in agro-products [J]. Food Science, 2017, 38(21): 287-293
- [4] 满燕,梁刚,李安,等.链格孢霉素检测方法研究进展[J].食品安全质量检测学报,2016,7(2):453-458  
MAN Yan, LIANG Gang, LI An, et al. Research progress of detecting methods for *Alternaria* toxins [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2016, 7(2): 453-458
- [5] 李志霞,聂继云,闫震,等.果品主要真菌毒素污染检测、风险评估与控制研究进展[J].中国农业科学,2017,50(2):332-347  
LI Zhi-xia, NIE Ji-yun, YAN Zhen, et al. Progress in research of detection, risk assessment and control of the mycotoxins in fruits and fruit products [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2017, 50(2): 332-347
- [6] 蔡玮红,洗燕萍,罗海英,等.UPLC-MS/MS 法同时测定焙烤食品中丙烯酰胺、4-甲基咪唑与 5-羟甲基糠醛[J].现代食品科技,2014,30(2):249-254  
CAI Wei-hong, XIAN Yan-ping, LUO Hai-ying, et al. Determination of acrylamide, 4-methylimidazole and 5-hydroxymethylfurfural in baked food using ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(2): 249-254
- [7] GB 2761-2017,食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量 [S]  
GB 2761-2017, National food safety standard-Limit of mycotoxins in food [S]
- [8] Rizzo I, Vedoya G, Maurutto S, et al. Assessment of toxigenic fungion Argentinean medicinal herbs [J]. Microbiol. Res., 2004, 159(2): 113
- [9] Carvalho K L, Gonçalves G A A, Lopes A L, et al. Modeling uncertainty estimation determination of aflatoxin M1 in milk by visual and densitometric thin-layer chromatography with immunoaffinity column clean-up [J]. Food Addit. Contam., 2012, 29(4): 679-693
- [10] Campone L, Piccinelli A L, Celano R, et al. Application of dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in cereal products [J]. J. Chromatogr. A, 2011, 1218(42): 7648-7654
- [11] 付朝晖,黄雪祥,闵顺耕.超高效液相色谱法快速测定发酵茶叶中的黄曲霉毒素[J].分析实验室,2009,28(6):112-115  
FU Zhao-hui, HUANG Xue-xiang, MIN Shun-geng. Rapid determination of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in fermented tea by ultra performance liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2009, 28(6): 112-115
- [12] 黎睿,谢刚,王松雪.高效液相色谱法同时检测粮食中常见 8 种真菌毒素的含量[J].食品科学,2015,36(6):206-210  
LI Rui, XIE Gang, WANG Song-xue. Simultaneous analysis of 8 mycotoxins in grains by high performance liquid chromatography [J]. Food Science, 2015, 36(6): 206-210
- [13] 赵榕,邵兵,赵婕,等.液相色谱-电喷雾质谱/质谱法测定高温烹制的淀粉类食品中的丙烯酰胺[J].色谱,2005,23(3):289-291  
ZHAO Rong, SHAO Bing, ZHAO Jie, et al. Determination of acrylamide in heated starchy food by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2005, 23(3): 289-291
- [14] Gaspar E M S M, Lopes J F. Simple gas chromatographic method for furfural analysis [J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216(14): 2762-2767
- [15] Tekel J, Farkas P, Kovác M. Determination of acrylamide in sugar by capillary GLC with alkali flame-ionization detection [J]. Food Additives and Contaminants, 1989, 6(3): 377-381
- [16] Rosi P, Borsari A, Lasi G, et al. Aflatoxin M1 in milk: Reliability of the immunoenzymatic assay [J]. Int. Dairy J., 2007, 17(5): 429-435
- [17] 刘辉,张燕.QuEChERS-酶联免疫快速检测法测定茶叶中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> [J].食品安全质量检测学报,2015,6(4):1307-1313  
LIU Hui, ZHANG Yan. Simultaneous determination for aflatoxin B<sub>1</sub> in tea leaf by QuEChERS-enzyme-linked immunosorbent assay [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2015, 6(4): 1307-1313
- [18] 谭志熹,江俊生,陈若恒,等.免疫亲和柱净化-酶联免疫吸附法检测普洱茶中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> [J].预防医学论坛,2014, 20(3):413-415  
TAN Zhi-xi, JIANG Jun-sheng, CHEN Ruo-heng, et al. Detection of aflatoxin B1 in the Puer tea using affinity column purification-enzyme linked immunosorbent assay [J]. Prev. Med. Trib., 2014, 20(3): 413-415

(下转第 313 页)