

高分辨质谱法在乳品外源性风险物质筛查分析中的应用

贾玮¹, 董旭阳¹, 石琳¹, 代春吉¹, 许秀丽², 储晓刚^{1,2}

(1. 陕西科技大学食品与生物工程学院, 陕西西安 710021) (2. 中国检验检疫科学研究院, 北京 100123)

摘要: 目前, 乳及乳制品的品质已成为企业未来消费推广的核心竞争力, 其中食品添加剂与非法添加物、农兽药残留、塑化剂等外源性风险物质是社会关注的焦点。因此, 建立乳及乳制品中外源性风险物质筛查分析方法具有重要的现实意义和应用价值。但乳及乳制品成分复杂, 外源性风险物质又大多为小分子物质, 含量低, 不易检测。因此要求仪器具有很高的选择性与超高的质量精度。高分辨质谱可在复杂背景中对痕量成分(mg/kg、 $\mu\text{g}/\text{kg}$)进行定性定量分析, 并且能够同时测定上百种化合物, 极大地提高了检测效率, 符合乳及乳制品中外源性风险物质筛查分析的仪器需求。本文主要针对高分辨质谱在乳及乳制品中外源性风险物质筛查分析中的应用做具体阐述, 并对其应用前景进行简要分析。

关键词: 高分辨质谱; 乳制品; 风险物质筛查; 食品添加剂; 兽药

文章编号: 1673-9078(2018)08-246-254

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.8.036

Application of High Resolution Mass Spectrometry in the Screening and Analysis of Exogenous Risk Substances in Dairy Products

JIA Wei¹, DONG Xu-yang¹, SHI Lin¹, DAI Chun-ji¹, XU Xiu-li², CHU Xiao-gang^{1,2}

(1.School of Food and Biological Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China)

(2.Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100123, China)

Abstract: In recent years, the quality of dairy products has become the core competitiveness of enterprises in the future promotion of consumption. Food additives and illegal additives, residues of pesticides, veterinary medicine, plasticizer and other exogenous risk substances have caused widespread public concern. Therefore, it is of great practical significance and application value to establish screening methods of unknown exogenous risk substances in milk and dairy products. Milk and dairy products have complex components, while exogenous hazardous materials are mostly small molecules and have low contents. Therefore, they require high selectivity and high quality accuracy. High-resolution mass spectrometry allows the qualitative and quantitative analysis of trace components (mg/kg, $\mu\text{g}/\text{kg}$) in complex backgrounds, and it can measure hundreds of compounds at the same time, which greatly improves the detection efficiency. So the high-resolution mass spectrometry meets the demand of instruments for the screening of exogenous risk substances in milk and dairy products. This paper reviews the advantages and applications of high-resolution mass spectrometry screening of exogenous risk substances in milk and dairy products, and the prospective of its future application.

Key words: high-resolution mass spectrometry(HRMS); dairy products; screening of risk substances; food additives; veterinary medicine

乳及乳制品中脂类、蛋白质和糖类等都是筛查监控分析的干扰来源^[1], 而外源性风险物质又大多为小分子物质, 含量低, 因此要求仪器有很高的选择性与超高的质量精度。此外, 国家对乳及乳制品的监控实行批检, 要求仪器具有操作的高效性与便捷性。其中高效性要求仪器具备类似高端三重四极杆质谱的灵敏

收稿日期: 2018-03-14

基金项目: 陕西省教育厅科研计划项目资助(17JK0112); 国家自然科学基金项目(31501443)

作者简介: 贾玮(1986-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品安全

度, 可在一次分析中进行定性、确证的同时得到定量结果, 无需分为两台仪器检测。便捷性主要体现在大量样品压力下仪器稳定性好, 受外界环境影响小。高分辨质谱具有高分辨率与高质量精度的特点, 可在复杂背景中对痕量成分(mg/kg、 $\mu\text{g}/\text{kg}$)进行定性定量分析, 与各种新型色谱技术联用可得到待分析化合物的精确质量色谱图^[2], 符合乳及乳制品中外源性风险物质筛查分析的仪器要求。近些年来, 针对高分辨质谱法的相关研究呈上升趋势, 如图 1、图 2 所示。其在乳及乳制品中外源性风险物质筛查方面的应用也受到

人们广泛的关注。

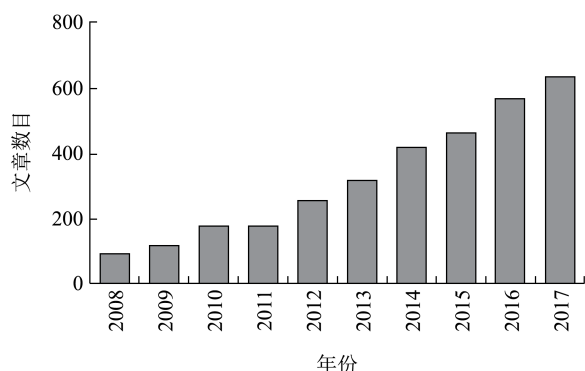


图1 中国知网数据库文献统计情况

Fig.1 CNKI database literature statistics

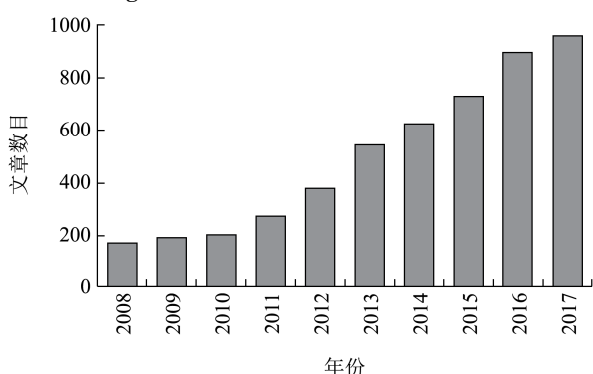


图2 Web of Science 数据库文献统计情况

Fig.2 Web of Science database literature statistics

1 乳与乳制品中外源性风险物质概述

1.1 乳及乳制品

根据国际食品法典委员会标准《CODEX STAN 206 General Standard for the Use of Dairy》规定，乳及乳制品包括：液体乳类、乳脂肪类、炼乳类、乳粉类、

干酪类以及其他乳制品，具体产品见表1。

表1 乳及乳制品分类

Table 1 The classification of milk and dairy products

| 类别 | 名称 |
|--------|---------------------------|
| 液体乳类 | 鲜乳、杀菌乳、灭菌乳、发酵乳、含乳饮料 |
| 乳脂肪类 | 稀奶油、奶油、无水奶油 |
| 炼乳类 | 全脂淡炼乳、全脂加糖炼乳、调味/调制炼乳、配方炼乳 |
| 乳粉类 | 全脂乳粉、脱脂乳粉、婴幼儿配方乳粉 |
| 干酪类 | 原干酪、再制干酪 |
| 其他乳制品类 | 乳清粉、干酪素、乳糖等 |

1.2 乳及乳制品中外源性风险物质

欧盟指令 2002/657/EC 规定，乳及乳制品中外源性风险物质是指在奶牛养殖与乳及乳制品生产、加工、流通过程中引入的外源性风险物质。从奶牛养殖与牛奶加工方面来看，外源性风险物质可分为食品添加剂与非法添加物、农药残留、兽药残留、塑化剂和真菌毒素五大类。

1.2.1 食品添加剂与非法添加物

近年来，随着人们对乳品消费需求的增加以及食品工业的快速发展，食品添加剂已经成为乳制品工业技术进步和科技创新的重要推动力^[3]。2015年10月1日起实施的《中华人民共和国食品安全法》规定，食品添加剂指为改善食品品质和色、香、味以及为防腐、保鲜和加工工艺的需要而加入食品中的人工合成或者天然物质，包括营养强化剂^[4]。乳及乳制品中的食品添加剂主要有酸度调节剂、甜味剂、抗氧化剂和着色剂等，具体作用见表2。

表2 乳及乳制品中的食品添加剂^[5-9]

Table 2 Food additives in milk and dairy products

| 类别 | 组成 | 使用范围 | 作用 |
|-------|--|------------------------------------|--------|
| 酸度调节剂 | 乳酸 | 巴氏杀菌乳、灭菌乳、发酵乳、乳粉和奶油粉除外 | 增加乳制酸味 |
| | 柠檬酸、柠檬酸钠、柠檬酸钾、碳酸钾、碳酸氢钾 | 巴氏杀菌乳、灭菌乳、发酵乳、乳粉和奶油粉、稀奶油除外 | |
| | L-苹果酸、DL-苹果酸钠、DL-苹果酸、碳酸钠、柠檬酸一钠、冰乙酸、乳酸钠、葡萄糖酸钠 | 巴氏杀菌乳、灭菌乳、发酵乳、乳粉和奶油粉、稀奶油、婴幼儿配方食品除外 | |
| 抗氧化剂 | 磷脂 | 巴氏杀菌乳、灭菌乳、发酵乳、乳粉和奶油粉除外 | 延缓乳脂变质 |
| | D-异抗坏血酸及其钠盐、抗坏血酸钙、抗坏血酸钠、抗坏血酸 | 巴氏杀菌乳、灭菌乳、发酵乳、乳粉和奶油粉、稀奶油、婴幼儿配方食品除外 | |
| | 抗坏血酸棕榈酸酯 | 婴幼儿配方食品、乳粉和奶油粉及其调制品 | |

转下页

接上页

| | | | |
|---------|---|---|------------|
| 着色剂 | 天然胡萝卜素、甜菜红、高粱红、柑橘黄 | 巴氏杀菌乳、灭菌乳、发酵乳、乳粉和奶油粉、稀奶油、婴幼儿配方食品除外 | |
| | 胭脂红及其铝色淀、柠檬黄及其铝色淀、红曲米、红曲红 | 调制乳、风味发酵乳、调制炼乳（包括加糖炼乳及使用了非乳原料的调制炼乳等） | |
| | 柠檬黄及其铝色淀、亮蓝及其铝色淀 | 风味发酵乳、调制炼乳（包括加糖炼乳及使用了非乳原料的调制炼乳等） | |
| | β -胡萝卜素 | 稀奶油及其类似品、调制乳、风味发酵乳、调制炼乳（包括加糖炼乳及使用了非乳原料的调制炼乳等）、熟化干酪和再制干酪及其类似品、以乳为主要配料的即食风味食品或其预制产品（不包括冰淇淋和风味发酵乳） | |
| | 姜黄 | 调制乳和调制奶油粉 | 增强乳制品色彩感官 |
| | 焦糖色（普通法、亚硫酸铵法、加氨生产）、红米红 | 调制炼乳（包括加糖炼乳及使用了非乳原料的调制炼乳等） | |
| | 胭脂树橙 | 熟化干酪、再制干酪 | |
| | 胭脂虫红 | 风味发酵乳、干酪和再制干酪及其类似品、调制炼乳（包括加糖炼乳及使用了非乳原料的调制炼乳等）、调制乳和调制奶油粉 | |
| | 叶黄素 | 以乳为主要配料的即食风味食品或其预制产品（不包括冰淇淋和风味发酵乳） | |
| | 番茄红 番茄红素 叶绿素铜 β -阿扑-8-胡萝卜素 | 风味发酵乳 调制乳、风味发酵乳 稀奶油 风味发酵乳、再制干酪 | |
| 增味剂 | 谷氨酸钠、5'-鸟苷酸二钠、5'-肌苷酸二钠、5'-呈味核苷酸二钠 | 巴氏杀菌乳、灭菌乳、发酵乳、乳粉和奶油粉、稀奶油、婴幼儿配方食品除外 | 增加乳制品香味 |
| 防腐剂 | 乳酸链球菌素 纳他霉素、溶菌酶、山梨酸钾及其钠盐 | 巴氏杀菌乳、灭菌乳、婴幼儿配方食品除外 干酪和再制干酪及其类似品 | 抑制微生物生长和繁殖 |
| 稳定剂和凝固剂 | 葡萄糖酸- δ -内酯 氯化钙 | 巴氏杀菌乳、灭菌乳、发酵乳、乳粉和奶油粉、稀奶油、婴幼儿配方食品除外 稀奶油、调制稀奶油 | 增强粘性固形物 |
| 甜味剂 | 乳糖醇 | 巴氏杀菌乳、灭菌乳、发酵乳、乳粉和奶油粉、婴幼儿配方食品除外 | |
| | 木糖醇、罗汉果苷、赤藓糖醇 | 巴氏杀菌乳、灭菌乳、发酵乳、乳粉和奶油粉、稀奶油、婴幼儿配方食品除外 | |
| | 纽甜 | 调制乳粉和调制奶油粉、风味发酵乳、以乳为主要配料的即食风味食品或其预制产品（不包括冰淇淋和风味发酵乳） | 增强乳制品甜味 |
| | 阿斯巴甜 | 调制乳、风味发酵乳、稀奶油及其类似品（稀奶油除外）、非熟化干酪、干酪类似品、以乳为主要配料的即食风味食品或其预制产品（不包括冰淇淋和风味发酵乳）、调制乳粉和调制奶油粉 | |
| | 麦芽糖醇和麦芽糖醇液 异麦芽酮糖 | 调制乳、风味发酵乳、炼乳及其调制产品、稀奶油类似品 调制乳、风味发酵乳 | |

转下页

接上页

| | |
|-----------------|---|
| 安赛蜜 | 以乳为主要配料的即食风味食品或其预制产品 (不包括冰淇淋和风味发酵乳)、风味发酵乳 |
| 山梨糖醇和山梨糖醇液 | 炼乳及其调制产品 |
| 甜菊糖苷、天门冬酰苯丙氨酸甲酯 | 风味发酵乳 |
| 磺胺酸 | |
| 食品 | 赋予乳 |
| 用香 | 巴氏杀菌乳、灭菌乳、发酵乳、稀奶油、婴幼儿配方食品除外 |
| 料 | 制品丰富的香味 |

三聚氰胺事件后, 卫生部相继发布了《食品中可能违法添加的非食用物质名单(第一批)》, 《食品中可能违法添加的非食用物质名单(第二批)》, 以及《全国打击违法添加的非食用物质和滥用食品添加剂专项整治近期政治工作重点及要求》, 列出了乳及乳制品中常见的四种非法添加物: 三聚氰胺、硫氰酸钠、皮革水解物、 β -内酰胺酶。其中三聚氰胺可以冒充蛋白质, 硫酸氢钠可以延长乳及乳制品的保质期, 皮革水解物可以增加乳及乳制品中的蛋白质含量, β -内酰胺酶可以降解抗生素, 从而制造人工无抗奶。

1.2.2 农药残留

乳及乳制品中的农药残留来源于奶牛饲养过程中食用被农残污染的饲料和水源, 以及杀虫剂和杀菌剂的不当使用。乳及乳制品中的农药残留对人体的危害属于微剂量、长时期、慢性细微毒性效应^[10]。目前, 主要国家和组织对乳及乳制品中 443 种农药设定了最大残留限量, 其目的除了保护人体健康外, 利用农药残留限量及其检测技术可以设置贸易障碍, 作为国际贸易的技术壁垒^[11]。我国规定了生乳中硫丹、艾氏剂、滴滴涕、狄氏剂、林丹、六六六、氯丹和七氯八种农药的最大残留限量^[12], 具体限量值见表 3。

表 3 生乳中农药残留最大限量值(mg/kg)

Table 3 The maximum value of pesticide residues in raw

| 序号 | 名称 | 限量值/(mg/kg) |
|----|-----|-------------|
| 1 | 硫丹 | 0.01 |
| 2 | 艾氏剂 | 0.006 |
| 3 | 滴滴涕 | 0.02 |
| 4 | 林丹 | 0.01 |
| 5 | 六六六 | 0.02 |
| 6 | 氯丹 | 0.002 |
| 7 | 狄氏剂 | 0.006 |
| 8 | 七氯 | 0.006 |

1.2.3 兽药残留

乳及乳制品中的兽药残留来源于奶牛在喂养的过

程中头孢菌素类、四环素类、磺胺类、大环内酯类、喹诺酮类等治疗药物与饲料中药物添加剂的不合理使用, 以及饲养场周围土壤与水源的污染。兽药残留对人体的危害表现在细菌耐药性、过敏反应、变态反应、激素作用、致癌作用和致畸作用等方面。除此之外, 因具有抑菌作用, 兽药残留还会影响发酵乳、奶酪等发酵型乳制品的加工工艺^[13]。不同国家规定的兽药限量的数量差别较大, 日本规定的兽药限量高达 418 种, 欧盟为 390 种, 我国为 48 种^[14]。

1.2.4 塑化剂

乳及乳制品中塑化剂来源于包装材料中塑化剂的迁移以及在加工过程中使用含有邻苯二甲酸二酯的乳剂。乳及乳制品的包装材料多为高分子聚合物, 这些材料在生产、加工中需要添加助剂以增强塑料的柔韧性, 常用的助剂为邻苯二甲酸酯类化合物。在运输与储存的过程中, 邻苯二甲酸酯类化合物易迁移至乳制品中。邻苯二甲酸酯类物质为“环境激素”, 对机体内分泌系统造成干扰, 导致生殖功能紊乱、致畸和致癌^[15]。

1.2.5 真菌毒素

乳及乳制品中真菌毒素来源于奶牛食用被真菌毒素污染的饲料, 其污染水平主要由喂养饲料被真菌毒素污染的程度及毒素种类决定。如玉米在生长、收获及后期的贮存过程中发霉, 产生黄曲霉毒素。奶牛喂食被黄曲霉毒素、伏马毒素和 T-2 毒素等真菌毒素污染的饲料后, 在挤出的鲜乳中可检测到相应的真菌毒素。除了伏马毒素 B₁ 外, 其他真菌毒素都可经牛体代谢而转化, 如黄曲霉毒素 B₁ 转化为黄曲霉毒素 M₁, T-2 毒素转化为 HT-2 毒素等多种代谢产物^[16]。因此, 乳与乳制品中的真菌毒素包括饲料中的原毒素及毒性更高的代谢产物, 其中黄曲霉毒素 M₁ 为二类致癌物, 黄曲霉毒素 B₁ 为一类致癌物, 可引起机体生长障碍、急性中毒、急性肝炎和肝细胞脂肪变性^[17]。目前我国仅对乳及乳制品中黄曲霉毒素 M₁ 进行限量^[18], 限量标准为 0.5 μ g/kg。

2 乳与乳制品中外源性风险物质筛查分析技术概述

技术概述

2.1 筛查分析技术的定义

欧盟 2002/657/EC 将筛查分析技术定义为一种用于检测基质中目标物质是否存在并予以定量分析的技术手段,该方法具有高通量与快速分析两个特点^[19]。由于外源性风险物质的种类多、差异大,其分析技术也呈现多样化。如挥发性较强的物质可以采用气相色谱/质谱/质谱的分析方法,对挥发性不强的物质可以采用液相色谱/多波长检测或液相色谱/质谱/质谱的分析方法,对离子态的物质可以采用离子色谱的分析方法。

这些筛查分析技术主要分为两类,第一类为已知目标化合物的筛查,即根据待分析目标化合物的性质与基质类型选择相应的前处理手段与检测仪器,这类确定对象的筛查分析技术与多组分化合物的检测技术不同之处为其待分析化合物数目通常为 200 至 500 个,需进行快速、高通量分析。第二类为未知目标物筛查技术,需要在海量的数据中筛选与确证待分析化合物间性质的差异,这也决定了未知目标物筛查分析技术一般主要依靠飞行时间质谱或四级杆-飞行时间质谱等高分辨分析仪器,且需要运用化学计量学方法进行实验条件优化与数据处理^[20]。曹新悦等^[21]以水果、蔬菜中 208 种农药为目标物质,对气相色谱-四极杆-飞行时间质谱与气相色谱串联三重四级杆质谱两种设备进行筛选、确证能力的对比,发现四极杆-飞行时间质谱在快速筛查、准确性以及非目标化合物检测等方面表现突出。

2.2 高分辨质谱的分类

高分辨质谱仪包括傅里叶变换离子回旋共振质谱仪、离子淌度质谱仪、四级杆-静电场轨道离子阱质谱仪、四级杆-飞行时间质谱仪等。由于这些高分辨质谱仪质量分析器结构不同,其在性能上也有很大的差异。其中傅里叶变换离子回旋共振质谱仪的分辨率和质量精度最高,主要应用在大分子分析、气相离子反应动力学研究和复杂体系分析等领域^[22],但其价格昂贵、体积庞大、操作复杂,目前仅在少数研究实验室使用。离子淌度质谱仪是离子淌度分离与质谱联用的一种新型二维质谱分析技术,结合了离子淌度技术灵敏、快速、能够提供离子结构信息与质谱能够提供准确质量信息的特点,在化合物异构体分析、生物大分子相互

作用分析等方面显示出其独有的优势^[23]。四级杆-静电场轨道离子阱质谱仪与四级杆-飞行时间质谱仪是目前食品安全领域常用的两种筛查分析仪器,四级杆-静电场轨道离子阱质谱可提供接近傅里叶变换离子回旋共振质谱的分辨率和质量精度,保证了复杂样品分析时所需的高灵敏度和高特异度,定量与定性能力强^[24],同时四级杆-静电场轨道离子阱质谱可分析分子量在 50~3500 范围内的物质,如小分子活性多肽^[25]。四级杆-飞行时间质谱仪采样速度快,可与超高效液相色谱联用^[26]。

2.3 高分辨质谱在乳及乳制品中外源性风险物质筛查方面的应用

2.3.1 在食品添加剂及非法添加物筛查方面的应用

随着食品工业的快速发展,食品添加剂的滥用与非法添加物的使用已成为影响乳品质量安全的重要因素,因此对乳及乳制品中食品添加剂及非法添加物进行快速筛查确证尤为重要。云环等^[27]搭建了离子色谱-轨道离子阱质谱的分析装置,并利用该设备非定向性地筛查了乳制品中的有机酸。试样经 1%的氢氧化钾溶液提取后固相萃取法净化,在部分样品中筛查到酒石酸、乳酸、柠檬酸和苹果酸。随后该课题组^[28]使用 Oasis MAX 固相萃取小柱净化,进一步优化前处理方法,在样品中可以筛查到苹果酸、柠檬酸、丁二酸、乳酸和己二酸。该方法简单、快速,可用于乳制品中多种酸度调节剂的筛查分析。

Chen 等^[29]建立了基于强阳离子交换填料的分散微固相萃取(Dispersive microsolid phase extraction, DMSPE)净化方法,并采用高效液相色谱-静电场轨道阱质谱法对牛奶和奶粉中的三聚氰胺和氰胺进行快速分析。该前处理方法简单、灵敏度高,适用于大规模检测,也可用于乳及乳制品中其他非法添加物的筛查,有利于乳品安全监管工作的开展。新开发的基于 PCX 吸附材料的 DMSPE 清理方法有望在今后的样品清理中广泛应用于微量碱性污染物的分析。近年来,为避免检查出过量使用抗生素,某些商家在原料奶中违规添加抗生素降解剂来制造人工“无抗奶”。如使用 β -内酰胺酶降解牛乳中残留的青霉素生成青霉素噻唑酸,对人类健康存在潜在风险^[30]。针对这一现象,赵凤娟等^[31]建立了人工“无抗奶”中青霉素类药物降解产物的非定向筛查检测方法。采用超高效液相色谱-四级杆-轨道阱质谱仪对青霉素类药物降解后的产物进行筛查,发现羟氨苄青霉素、氨苄青霉素、邻氯青霉素和

芴青霉素的残留标识物分别为相应的青霉噻唑酸及去羧青霉噻唑酸,对人工“无抗奶”的鉴别浓度低限为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$,该方法简单、快速、灵敏度高,可作为人工“无抗奶”的鉴别方法,为完善乳制品的检测方法提供了一定的理论基础。

2.3.2 在农兽药残留筛查方面的应用

在奶牛饲养过程中农药和兽药的不合理使用,导致农兽药在奶牛体内蓄积,从而影响乳及乳制品的质量安全^[32]。Hayward 等^[33]利用液相色谱-四极杆-飞行时间质谱建立了牛奶和奶油中 34 种杀虫剂的筛查方法,所有农药的定量限值(LOQs)为 0.20 g/kg 或 0.40 g/kg ;严丽娟等^[35]结合了筛查数据库的高通量分析方法与超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱技术,在 9 min 内完成了对乳制品中氯丙嗪、氟哌啶醇、地西洋等 20 种镇静剂的高通量筛查和定量分析,检出限为 0.3~1.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。与数据库比对后,样品中添加的镇静剂全部被筛查出来。

目前,奶牛在饲养过程中抗生素滥用是导致乳及乳制品中兽药残留超标的主要因素,这些超量使用的抗生素通过食物链富集到人体内,导致人体产生抗药性。Hu^[36]等利用液相色谱-高分辨质谱法对牛奶中磺胺类药物进行非定向筛查。已知磺胺类药物数据通过 Full-MS 采集,特征碎片离子通过 AIF(全子离子碎裂扫描)得到,进而对未知的磺胺类药物进行分析确证。实验结果表明分析物回收率为 68.8%~115.8%,检测限(LOD)为 0.003~0.2 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。该方法简单、快速、灵敏度高,为乳品中非法药物的检测提供了技术支持。王帅兵等^[37]利用亲水作用色谱-高分辨质谱对生鲜牛乳中链霉素、双氢链霉素、庆大霉素、妥布霉素、卡那霉素、阿米卡星和安普霉素共 7 种氨基糖苷类抗生素(AGs)残留进行检测,该方法的定量限低于我国规定的生鲜乳中 AGs 的最高残留限量,可作为生鲜牛乳中 AGs 药物残留监测的手段。将该方法应用于 50 个生鲜牛乳样品的检测中,未检出氨基糖苷类药物残留。

Moreno-Gonzalez 等^[38]利用毛细管区带电泳串联四极杆飞行时间质谱测定了牛奶中 8 种四环素和 7 种喹诺酮类化合物,定量限(LOQ)为 1.5~9.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$,低于欧盟规定的最大残留限量,适用于牛奶中四环素和喹诺酮类抗生素药物的检测。Konak 等^[39]使用超高效液相色谱-离子阱质谱(UHPLC-Orbitrap-MS)测定了婴儿食品中 12 种磺胺类药物和 5 种乙酰化代谢物。对比了 QuEChERS 和加速溶剂萃取法(Accelerated solvent extraction, ASE)两种提取方法以实现分析物的高效回收。ASE(回收率为 60.90%~85.90%,相对标准偏差 $\leq 19.1\%$)对萃取分析物的效率明显高于

QuEChERS(回收率为 75.5%~96.6%,相对标准偏差 $\leq 10.1\%$)。样品检出限为 0.10~0.55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。将该方法用于 47 种不同婴儿食品的分析中,未发现阳性样品。

Jia 等^[40]建立了同时筛查婴幼儿配方食品样品中 333 种农药和兽药残留的分析方法,试样经响应面优化的双水相萃取法提取后利用超高效液相色谱-四级杆-轨道离子阱质谱检测,333 种农药和兽药的定量限为 0.01~9.27 $\mu\text{g}/\text{kg}$,回收率为 79.80%~110.70%。方法建立后,应用于 93 个婴幼儿配方食品样品中农兽药残留的筛查,在样品中检出了替米考星、芬苯达唑、酒石酸、泰乐菌素和噻苯咪唑。Wang 等^[41]进一步改进了样品前处理与筛查方法,建立了超高效液相色谱-电喷雾四极杆轨道阱质谱(UHPLC/ESI Q-Orbitrap)检测牛奶中氟喹诺酮类、大环内酯类等 11 类 105 种兽药残留的多级目标筛选方法。使用盐析和固相萃取程序从牛奶中提取兽药残余物, Q-Orbitrap Full MS/dd-MS2(数据依赖性采集)获取单个兽药的产物离子谱图以建立化合物数据库和质谱库, Full MS/mDIA 用于采集所有样品数据,加强了 1.0 或 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 兽药的目标筛选,该方法分别在 1.0 和 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 105 种兽药中筛选出 58%和 96%,且无需在数据处理过程中手动评估每种化合物,减少了常规实践中的工作量。

2.3.3 在其他外源性风险物质筛查方面的应用

Rubert 等^[42]采用液相色谱串联高分辨质谱法,首次完成了对 35 例母乳样品中霉菌毒素及其代谢产物的全面筛选、量化和确认。该方法简单、快速,有助于估计母亲和婴儿的暴露程度真菌毒素,为女性在孕期和哺乳期的饮食建议提供了新的视角。Lin 等^[43]采用固相萃取-气相色谱串联高分辨质谱法对人乳中的持久性有机污染物二苯并对二恶英、二苯并呋喃、多溴联苯二苯醚和多氯联苯进行检测,基于硫酸硅胶柱和碱性氧化铝柱的串联固相萃取净化装置至少可同时清理 10 个样品,每个样品不超过 1 h,与自动化样品清洗系统(Automate sample clean-up system, ASCS)相比,在减少工作量,时间和溶剂消耗以及提高吞吐量方面具有绝对优势,满足人乳中持久性有机污染物分析样品预处理的高通量要求。该方法在 LOD 足够低的情况下得到了很好的验证,从而可以对普通人群进行低暴露水平检测,并且具有令人满意的方法准确度和精确度。

Mao^[44]等利用超高效液相色谱四极杆轨道阱质谱分析了原料乳中黄曲霉毒素 B₁,赭曲霉毒素 A,玉米赤霉烯酮, α -玉米醇溶蛋白等 14 种霉菌毒素。样品中霉菌毒素经 AOZ 免疫亲和柱提取和纯化,降低基质

效应。添加的少量乙腈有利于从复合乳基质中提取真菌毒素,特别是玉米赤霉烯酮及其衍生物。检出限为0.0003~0.008 $\mu\text{g}/\text{kg}$,提取回收率为60%~106%。与三重四级杆质谱法相比,Q-Orbitrap可提供前体和产物离子的精确质量数,从而在不牺牲分析性能的前提下提高了分析物识别的准确度。刘芸等^[45]利用高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱,在10 min内检测确证了乳粉及乳制品中壬基酚和双酚A含量,加标回收率均在70%以上,精密度较高,可适用于大多数乳粉及乳制品样品的检测。

3 结论

目前,复杂样品基质、痕量化合物、高通量分析等都是乳品中外源性风险物质筛查分析的需求与挑战。而高分辨质谱具有高分辨率和高质量精度,可得到化合物的元素组成;实现低分辨质谱难以解决的目标物同分异构体和结构类似物的鉴别;实现高通量检测和样品数据回溯;可利用化合物的母离子精确质量数及同位素丰度比,结合模拟推断的二级碎片离子精确质量数进行准确定性,实现非目标化合物的筛选。这些特性使其在乳及乳制品中外源性风险物质筛查分析中得到越来越广泛的应用。今后,为应对我国日益增长的乳品消费需求,保障国民食品安全,仍需继续研究简便、快速、准确、适用于企业及第三方检测机构的检测方法,发展高效、高灵敏的全自动联用技术和多残留组分确证技术,实现分析过程的自动化和智能化,提高分析效率、降低成本。如探索开发全二维气相色谱-飞行时间质谱仪结合在线样品净化技术,原位电离与高分辨质谱相结合的技术。其中原位电离技术可在常压敞开式条件下简化或免除样品前处理过程,使样品的现场快速分析检测成为可能。可以预见,随着科技水平的发展、仪器价格的降低和检测技术的进步,高分辨质谱法在食品中外源性风险物质筛查确证领域将会得到越来越广泛的应用。

参考文献

- [1] Decimo M, Brasca M, Ordonez J A, et al. Fatty acids released from cream by psychrotrophs isolated from bovine raw milk [J]. *International Journal of Dairy Technology*, 2017, 70(3): 339-344
- [2] Vallverdu-Queralt A, Meudec E, Eder M, et al. Targeted filtering reduces the complexity of UHPLC-Orbitrap-HRMS data to decipher polyphenol polymerization [J]. *Food Chemistry*, 2017, 227: 255-263
- [3] Santos K M D, Oliveira I C D, Lopes M A, et al. Addition of grape pomace extract to probiotic fermented goat milk: the effect on phenolic content, probiotic viability and sensory acceptability [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, 97(4): 1108-1115
- [4] 王洁,刘筠筠.欧盟与我国食品添加剂相关法规标准的比较研究[J].*食品安全质量检测学报*,2015,9:3752-3757
WANG Jie, LIU Jun-jun. Comparative research on food additive regulations and standards between European Union and China [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2015, 9: 3752-3757
- [5] Tey S L, Salleh N B, Henry J, et al. Effects of aspartame-, monk fruit-, stevia- and sucrose-sweetened beverages on postprandial glucose, insulin and energy intake [J]. *International Journal of Obesity*, 2017, 41(3): 450-457
- [6] Onur G. Pigment and color stability of beetroot betalains in cow milk during thermal treatment [J]. *Food Chemistry*, 2016, 196: 220-227
- [7] Santos K M D, Oliveira I C D, Lopes M A, et al. Addition of grape pomace extract to probiotic fermented goat milk: the effect on phenolic content, probiotic viability and sensory acceptability [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, 97(4): 1108-1115
- [8] Russo P, Arena M P, Fiocco D, et al. *Lactobacillus plantarum*, with broad antifungal activity: A promising approach to increase safety and shelf-life of cereal-based products [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2016, 247: 48-54
- [9] Cui K, Tu Y, Wang Y C, et al. Effects of a limited period of iron supplementation on the growth performance and meat colour of dairy bull calves for veal production [J]. *Animal Production Science*, 2017, 57(4): 778-784
- [10] Duan J, Cheng Z, Bi J, et al. Residue behavior of organochlorine pesticides during the production process of yogurt and cheese [J]. *Food Chemistry*, 2018, 245: 119-124
- [11] 陈宇.中国与主要国家农药残留限量标准对比分析[J].*现代农业科技*,2017,2:94-97
CHEN Yu. Comparative analysis of pesticides maximum residue limits in china and major countries [J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2017, 2: 94-97
- [12] GB 2763-2016,食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S]
GB 2763-2016, National food safety standards maximum residue limits for pesticides in food [S]
- [13] Alcantaraduran J, Morenogonzalez D, Gilbertlopez B, et al. Matrix-effect free multi-residue analysis of veterinary drugs in food samples of animal origin by nanoflow liquid

- chromatography high resolution mass spectrometry [J]. Food Chemistry, 2018, 245: 29-38
- [14] 孙颖宜,成姗,林琳,等.国内外乳及乳制品中兽药残留限量标准比较分析[J].食品安全质量检测学报,2016,7(1):378-382
- SUN Ying-yi, CHENG Shan, LIN Lin, et al. International comparative analysis of veterinary drug residues in dairy products [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2016, 7(1): 378-382
- [15] Li X, Yin P, Zhao L. Effects of individual and combined toxicity of bisphenol A, dibutyl phthalate and cadmium on oxidative stress and genotoxicity in HepG 2 cells [J]. Food and Chemical Toxicology, 2017, 105: 73-81
- [16] Righetti L, Fenclova M, Dellafiora L, et al. High resolution-ion mobility mass spectrometry as an additional powerful tool for structural characterization of mycotoxin metabolites [J]. Food Chemistry, 2018, 245: 768-774
- [17] Aldarsgarcia L, Berman M, Ortiz J, et al. Probability models for growth and aflatoxin B₁ production as affected by intraspecies variability in *Aspergillus flavus* [J]. Food Microbiology, 2018, 72: 166-175
- [18] 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 standards mycotoxins in food limited [S]
- [19] Gomez-ramos M M, Ferrer C, Malato O, et al. Liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry for pesticide residue analysis in fruit and vegetables: Screening and quantitative studies [J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1287(13): 24-37
- [20] Bokhart M T, Nazari M, Garrard K P, et al. MSiReader v1.0: Evolving open-source mass spectrometry imaging software for targeted and untargeted analyses [J]. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2017, 29(1): 8-16
- [21] 曹新悦,庞国芳,金铃和,等.气相色谱-四极杆-飞行时间质谱和气相色谱-串联质谱对水果、蔬菜中 208 种农药残留筛查确证能力的对比[J].色谱,2015,33(4):389-396
- CAO Xin-yue, PANG Guo-fang, JIN Ling-he, et al. Comparison of the performances of gas chromatography-quadrupole time of flight mass spectrometry and gas chromatography-tandem mass spectrometry in rapid screening and confirmation of 208 pesticide residues in fruits and vegetables [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2015, 33(4): 389-396
- [22] Reiding K R, Ruhaak L R, Uh H W, et al. Human plasma N-glycosylation as analyzed by Matrix-assisted laser Desorption/Ionization-fourier transform ion cyclotron resonance-ms associates with markers of inflammation and metabolic health [J]. Molecular and Cellular Proteomics Mcp, 2017, 16(2): 228-242
- [23] Righetti L, Fenclova M, Dellafiora L, et al. High resolution-ion mobility mass spectrometry as an additional powerful tool for structural characterization of mycotoxin metabolites [J]. Food Chemistry, 2018, 245: 768-774
- [24] Lucci P, Saurina J, Nunez O. Trends in LC-MS and LC-HRMS analysis and characterization of polyphenols in food [J]. Trac Trends in Analytical Chemistry, 2017, 88: 1-24
- [25] Yang C T, Ghosh D, Beaudry F. Detection of gelatin adulteration using bio-informatics, proteomics and high-resolution mass spectrometry [J]. Food Additives and Contaminants Part A, 2017, 1-10
- [26] Uchida H, Itabashi Y, Watanabe R, et al. Detection and identification of furan fatty acids from fish lipids by high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. Food Chemistry, 2018, 252: 84-91
- [27] 云环,高峰,卢晓宇,等.一种基于离子色谱-高分辨质谱串联装置的乳品中有机酸筛查方法研究[J].食品安全质量检测学报,2015,06(11):4348-4354
- YUN Huan, GAO Feng, LU Xiao-yu, et al. A screening method for dairy organic acids based on a novel ion chromatogram-high resolution mass spectrometry system [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2015, 6(11): 4348-4354
- [28] 云环,刘鑫,崔杰,等.离子色谱-高分辨质谱法快速筛查乳制品中的酸度调节剂[J].色谱,2017,35(8):886-890
- YUN Huan, LIU Xin, CUI Jie, et al. Rapid screening of acidity regulators in dairy by ion chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2017, 35(8): 886-890
- [29] CHEN D, ZHAO Y, MIAO H, et al. A novel dispersive micro solid phase extraction using PCX as the sorbent for the determination of melamine and cyromazine in milk and milk powder by UHPLC-HRMS/MS [J]. Talanta, 2015, 134: 144-152
- [30] 周鑫魁,洪霞,钱滢文,等.离子液体在无抗奶检测中的应用 [J].食品与机械,2016,32(8):63-66
- ZHOU Xin-kui, HONG Xia, QIAN Ying-wen, et al. Application of ionic liquids in the detection of antibiotic negative milk [J]. Food and Machinery, 2016, 32(8): 63-66
- [31] 赵凤娟,岳振峰,张毅,等.高效液相色谱-四级杆/静电场轨道

- 阱高分辨质谱研究人工“无抗奶”中青霉素类药物的降解产物[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(2): 339-351
- ZHAO Feng-juan, YUE Zhen-feng, ZHANG Yi, et al. Degradation products study of penicillins in artificial “non-anti-milk” by high performance liquid chromatography-linear trap quadrupole-orbitrap mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2014, 5(2): 339-351
- [32] Perez-Ortega P, Lara-Ortega F J, Gilbert-Lopez B, et al. Screening of over 600 pesticides, veterinary drugs, food-packaging contaminants, mycotoxins, and other chemicals in food by ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UHPLC-QTOFMS) [J]. Food Analytical Methods, 2017, 10(5): 1216-1244
- [33] Hayward D G, Pisano T S, Wong J W, et al. Multiresidue Method for pesticides and persistent organic pollutants (POPs) in milk and cream using comprehensive two-dimensional capillary gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2010, 58(9): 5248-5256
- [34] 严丽娟, 张洁, 潘晨松, 等. 超高效液相色谱-飞行时间质谱法高通量筛查乳制品中 20 种镇静剂[J]. 分析化学, 2013, 41(1): 31-35
- YAN Li-juan, ZHANG Jie, PAN Chen-song, et al. High throughput screening of tranquilizers in dairy products using ultr performance liquid chromatography coupled to high resolution time-of-flight mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2013, 41(1): 31-35
- [35] 张晓波, 黄丽英, 陈小珍, 等. UFLC-IT-TOF-MS 分析婴幼儿配方乳粉中的 12 种雌孕激素[J]. 分析测试学报, 2013, 32(11): 1289-1295
- ZHANG Xiao-bo, HUANG Li-ying, CHEN Xiao-zhen, et al. Determination of 12 kinds of estrogenic and progesterone hormones in infant formula milk powder by ultra fast liquid chromatography-ion-trap-time of flight mass spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2013, 32(11): 1289-1295
- [36] Hu S, Min Z, Xi Y, et al. Nontargeted screening and determination of sulfonamides: a dispersive micro solid-phase extraction approach to the analysis of milk and honey samples using liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(9): 1984
- [37] 王帅兵, 曲斌, 耿士伟, 等. 亲水作用色谱-高分辨质谱测定生鲜牛乳中 7 种氨基糖苷类药物残留[J]. 动物医学进展, 2017, 38(9): 67-72
- WANG Shuai-bing, QU Bin, GENG Shi-wei, et al. Determination of seven aminoglycosides residues in raw cow milk by HPLC-HRMS [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2017, 38(9): 67-72
- [38] Moreno-Gonzalez D, Hamed A M, Gilbert-Lopez B, et al. Evaluation of a multiresidue capillary electrophoresis-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry method for the determination of antibiotics in milk samples [J]. Journal of Chromatography A, 2017, 1510: 100-107
- [39] Konak U I, Certel M, Sik B, et al. Development of an analysis method for determination of sulfonamides and their five acetylated metabolites in baby foods by ultra-high performance liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry (Orbitrap-MS) [J]. Journal of Chromatography B, 2017, 1057: 81-91
- [40] Jia W, Chu X, Ling Y, et al. High-throughput screening of pesticide and veterinary drug residues in baby food by liquid chromatography coupled to quadrupole Orbitrap mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2014, 1347(15): 122-128
- [41] Wang J, Leung D, Chow W, et al. Target screening of 105 veterinary drug residues in milk using UHPLC/ESI Q-Orbitrap multiplexing data independent acquisition [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2018, 1-17
- [42] Rubert J, Leon N, Saze C, et al. Evaluation of mycotoxins and their metabolites in human breast milk using liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry [J]. Analytica Chimica Acta, 2014, 820(3): 39-46
- [43] Lin Y, Chao F, Qian X, et al. A validated method for rapid determination of dibenzo- p -dioxins/furans (PCDD/Fs), polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in human milk: focus on utility of tandem solid phase extraction (SPE) cleanup [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2016, 408(18): 4897-4906
- [44] Mao J, Zheng N, Wen F, et al. Multi-mycotoxins analysis in raw milk by ultra high performance liquid chromatography coupled to quadrupole orbitrap mass spectrometry [J]. Food Control, 2017, 84: 305-311
- [45] 刘芸, 丁涛, 吴斌, 等. 高效液相色谱-四极杆四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱测定乳粉及乳制品中的壬基酚和双酚 A[J]. 环境化学, 2015, 34(8): 1574-1577
- LIU Yun, DING Tao, WU Bin, et al. Determination of nonylphenol and bisphenol A in milk powder and dairy products by high performance liquid chromatography-

quadrupole quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. Environmental Chemistry, 2015, 34(8): 1574-1577

现代食品科技