

QuEChERS/LC – MS/MS 法测定食品中 7 种真菌毒素

熊欣^{1,2}, 刘青^{2,3*}, 张广文^{1*}, 庞世琦^{2,3}, 曾广丰^{2,3}, 陈文锐^{2,3}

(1. 暨南大学 理工学院, 广东 广州 510632; 2. 广东出入境检验检疫局 检验检疫技术中心, 广东 广州 510623; 3. 广东省动植物与食品进出口技术措施研究重点实验室, 广东 广州 510623)

摘要: 建立了食品中常见的黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁)、黄曲霉毒素 B₂ (AFB₂)、黄曲霉毒素 G₁ (AFG₁)、黄曲霉毒素 G₂ (AFG₂)、赭曲霉毒素 A (OTA)、赭曲霉毒素 B (OTB) 和赭曲霉毒素 C (OTC) 7 种真菌毒素的 QuEChERS 前处理净化结合液相色谱 – 串联质谱 (LC – MS/MS) 检测方法。样品用甲酸 – 乙腈 (10 : 90) 进行酸化稀释, 离心后取上清液经吸附净化剂 (1.2 g MgSO₄ + 0.25 g C₁₈ + 0.4 g PSA + 0.25 g Al-N) 富集净化, 过滤后采用 LC – MS/MS 在多反应监测 (MRM) 模式下测定。7 种真菌毒素在各自范围内线性良好, 相关系数 (*r*) 均不小于 0.999。在最佳条件下, 方法的定量下限 (LOQ) 为 0.25 ~ 5.0 μg/kg, 7 种毒素的相对标准偏差 (RSD, *n* = 6) 为 1.1% ~ 7.7%, 平均回收率为 71.5% ~ 119%。该方法操作方便、灵敏度高、重现性好, 能满足大批量食品中上述 7 种真菌毒素残留的检测要求。

关键词: QuEChERS; 真菌毒素; 赭曲霉毒素; 黄曲霉毒素; 高效液相色谱 – 串联质谱 (LC – MS/MS)

中图分类号: O657.63; TS207.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004 – 4957(2018)09 – 1008 – 06

Detection of Seven Mycotoxins in Foods by LC – MS/MS with QuEChERS

XIONG Xin^{1,2}, LIU Qing^{2,3*}, ZHANG Guang-wen^{1*}, PANG Shi-qi^{2,3},
ZENG Guang-feng^{2,3}, CHEN Wen-rui^{2,3}

(1. College of Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2. Inspection and Quarantine Technology Center, Guangdong Entry – Exit Inspection and Quarantine Bureau, Guangzhou 510623, China; 3. Guangdong Key Laboratory of Import and Export Technical Measures of Animal, Plant and Food, Guangzhou 510623, China)

Abstract: A method of liquid chromatograph – tandem mass spectrometry (LC – MS/MS) with QuEChERS pretreatment was developed for the determination of seven kinds of mycotoxins, including aflatoxin B₁ (AFB₁), aflatoxin B₂ (AFB₂), aflatoxin G₁ (AFG₁), aflatoxin G₂ (AFG₂), ochratoxin A (OTA), ochratoxin B (OTB) and ochratoxin C (OTC) in foods. The samples were diluted with formic acid – acetonitrile (10 : 90, by volume), and then purified by QuEChERS using a scavenging agent (1.2 g MgSO₄ + 0.25 g C₁₈ + 0.4 g PSA + 0.25 g Al-N) after centrifugation. The detection on the analytes was performed by LC – MS/MS in positive ionization under multiple – reaction monitoring (MRM) mode. There existed good linearities for seven mycotoxins in their respective concentration ranges with correlation coefficients not less than 0.999. The limits of quantitation (LOQs) were in the range of 0.25 – 5.0 μg/kg, and the average recoveries for seven mycotoxins were between 71.5% and 119% with the relative standard deviations (RSDs, *n* = 6) of 1.1% – 7.7%. The developed method was simple, sensitive and reproducible, and was suitable for the determination of these mycotoxins in foods in batch production.

Key words: QuEChERS; mycotoxin; ochratoxins; aflatoxins; LC – MS/MS

真菌毒素是由真菌产生的次级代谢产物, 在食品生产、储存、加工和流通环节均可能因保存条件不当而造成真菌毒素污染^[1], 其中黄曲霉毒素 (Aflatoxin, AF) 和赭曲霉毒素 (Ochratoxins, OT) 是常见

收稿日期: 2018 – 06 – 11; 修回日期: 2018 – 07 – 16

基金项目: 国家质检总局科技计划项目 (2016IK050)

* 通讯作者: 刘青, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 食品安全与检测, E-mail: gdcicq@163.com
张广文, 博士, 副教授, 研究方向: 食品添加剂, E-mail: zgwzsu@163.com

的两类真菌毒素。这两类毒素均具有致癌、致畸和神经毒性作用^[2-3]。黄曲霉毒素 B₁(AFB₁)的毒性作用靶器官主要是肝脏,会造成严重的肝损伤或诱发肝癌,甚至致死^[4]。赭曲霉毒素 A(OTA)主要危及人和动物肾脏,会对肾脏造成损害,还可导致神经中毒^[5]。AFB₁和 OTA 分别被国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)定义为 Group 1B 类和 Group 2B 类致癌物^[6]。我国《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》(GB 2761-2017)^[7]中规定了食品中允许的真菌毒素最高限量,其中 AFB₁在谷物中的限量为 5.0 μg/kg,在花生及其制品中为 20.0 μg/kg,OTA 在谷物中为 5.0 μg/kg。

食品中黄曲霉毒素和赭曲霉毒素的检测方法主要有荧光检测法^[8-9]、酶联免疫吸附法^[10]、液相色谱法^[11]、液相色谱-质谱法^[12-14]等。由于食品成分复杂,目前较为常用的净化富集方法有固相萃取柱净化法^[15]与免疫亲和柱净化法^[16-17]。这两种方法回收率高、重复性好,但分析成本高,不适于大批量样品检测。QuEChERS 是由美国化学家 Lehotay 和德国的 Anastassiadas^[18]在固相萃取基础上提出的新技术,因具有快速、简便、经济等特点在农兽药残留检测领域得到广泛应用^[19-20]。近年来,开始逐渐应用于真菌毒素检测^[21-23]。目前国内对赭曲霉毒素的检测研究主要集中于 OTA 的测定,对赭曲霉毒素 B(OTB)的研究相对较少,尚无对赭曲霉毒素 C(OTC)的相关研究报道。OTC 是 OTA 的前体物,OTB 则是 OTA 的脱氯衍生物。OTC 和 OTA 的毒性相当,OTB 相对较弱。在酒精或酸性环境下,OTA 羧基转化成乙醇酯 OTC,通过口服和注射,OTC 能够迅速水解成 OTA^[24],表现出 OTA 和 OTC 之间的协同毒性作用。由于同一种真菌几种代谢产物的共同出现可能会对人体或动物的健康产生更复杂的影响,甚至表现出对人体的协同毒性作用。因此在自然条件下,混合了几种真菌代谢产物的食品污染是必须要考虑的。

本文分别对大米、饼干、花生油等 5 种代表性食品基质中 AFB₁、AFB₂(黄曲霉毒素 B₂)、AFG₁(黄曲霉毒素 G₁)、AFG₂(黄曲霉毒素 G₂)、OTA、OTB 和 OTC 7 种真菌毒素的前处理方法和检测条件进行优化,建立了 QuEChERS 净化技术结合高效液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)同时检测上述 7 种真菌毒素的方法,其中对 OTC 的检测为国内首次报道。该方法灵敏度高、重现性好,降低了检测成本,提高了检测效率,能满足实际工作中大批量样品的检测需求。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

RM S.3 振荡器、VORTEX4 涡旋混匀器(德国 IKA 公司);3-16PK 冷冻离心机(美国 Sigma 公司);API3500 QTrap 高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪(美国 AB 公司);Turbo Vap LV 吹氮浓缩仪(瑞典 Biotage 公司);SW30h 超声波清洗仪(瑞士 Sono Swiss 公司)。

黄曲霉毒素总量标准品(5 mg/L, B₁:B₂:G₁:G₂=4:1:4:1,美国 Trilogy 公司);赭曲霉毒素 A(OTA)标准品(10 mg/L,美国 Trilogy 公司);赭曲霉毒素 B(OTB)标准品(10 mg/L,美国 Romer Labs 公司);赭曲霉毒素 C(OTC)标准品(10 mg/L,加拿大 Toronto Research Chemicals 公司);乙腈(色谱纯)、乙酸(色谱纯)、甲醇(色谱纯)、甲酸(色谱纯)、乙酸铵、柠檬酸钠二水合物、柠檬酸氢二钠倍半水合物、无水硫酸镁、C₁₈ dSPE 分散剂、乙二胺-N-丙基硅烷(PSA)、中性氧化铝(Al-N)、石墨化炭黑(GCB)、弗罗里硅土、氨基硅胶(NH₂),均购于德国 CNW Technology 公司;氯化钠、二氧化硅、甲酸(分析纯,广州化学试剂厂);实验用水符合 GB/T 6682-2008《分析实验室用水规格和试验方法》中一级水的规定。淀粉类食品、焙烤类食品及花生制品基质的样品,均为通过超市购买、日常法定委托等收集到的样品。

1.2 标准溶液的配制

将 7 种毒素标准样品用甲醇配成 1 000 μg/L 的混合标准储备液,置于 4 °C 冰箱内保存。实验时现配成工作标准液(黄曲霉毒素总量:2.5、5.0、12.5、25.0、50.0、125.0 μg/L;赭曲霉毒素 A、B、C:1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、30.0 μg/L)。

1.3 仪器条件

1.3.1 色谱条件 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈(4.6 mm × 150 mm, 2.7 μm)色谱柱;柱温:35 °C;

流速: 0.4 mL/min; 进样量: 10 μ L; 流动相: A 为 0.1% 甲酸, B 为乙腈; 梯度洗脱条件: 0~4.0 min, 50% A; 4.0~4.1 min, 50%~15% A; 4.1~12.0 min, 15% A。

1.3.2 质谱条件 离子源: 电喷雾离子源(ESI); 扫描方式: 正离子扫描, MRM 模式; 毛细管电压 5.5 kV; 离子源温度 550 $^{\circ}$ C。

1.4 样品前处理方法

精确称取 4 g(精确至 0.01 g) 粉碎样品于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 水, 振荡 1 min。加入 10 mL 甲酸-乙腈(10:90, 体积比), 超声 10 min。加入 6.5 g 盐析剂(无水硫酸镁、氯化钠、柠檬酸钠二水合物和柠檬酸氢二钠倍半水合物, 质量比为 4:1:1:0.5), 立即手摇 1 min, 4 500 r/min 离心 10 min。用乙腈将有机相定容至 10 mL。取 8 mL 上清液于 15 mL 离心管中(含净化剂: 1.2 g MgSO_4 + 0.25 g C_{18} + 0.25 mg Al-N + 0.4 g PSA), 手摇 1 min, 4 500 r/min 离心 5 min。

取 5 mL 上清液至玻璃管中(花生制品取 2.5 mL), 40 $^{\circ}$ C 氮吹至干。加入 1 mL 0.1% 甲酸-乙腈(1:1, 体积比)复溶, 涡旋 1 min。过有机滤膜后待进样分析。

2 结果与讨论

2.1 QuEChERS 前处理方法优化

2.1.1 提取剂的优化 赭曲霉毒素和黄曲霉毒素多使用乙腈(MeCN)为提取剂, 同时加入一定量的酸进行酸化提取^[25-27]。本文选取空白大米样品, 加标量为 10 μ g/kg, 采用超声提取方式, 分别考察了不同体积比的甲酸-乙腈(1:99、5:95、10:90)和乙酸-乙腈(1:99、5:95、10:90)对目标物的提取效果(见图 1)。结果显示, 乙酸-乙腈体系对 OTA 和 OTB 的提取效率较差, 两者的回收率均在 30% 以下, 甲酸-乙腈体系对 7 种真菌毒素有较好的回收率。综合考虑, 最终选择甲酸-乙腈(10:90)作为提取剂。

2.1.2 提取方式的选择 以加标量为 10 μ g/kg 的空白大米样品为对象, 考察了振荡和超声两种提取方式和不同提取时间对目标物加标回收率的影响。比较了振荡 30 min、1 h, 超声提取 10 min、20 min 共 4 种提取方式。结果表明, 4 种提取方式对 7 种目标毒素均具有较好的加标回收率, 提取效果无明显区别。考虑时间成本, 最后选择超声提取 10 min。

2.1.3 吸附净化剂的优化 QuEChERS 前处理中常用的吸附净化剂有 PSA、GCB、 C_{18} 、Al-N、 NH_2 、弗罗里硅土和 SiO_2 ^[19-23, 28-29]。本实验将加标量为 10 μ g/kg 的空白大米样品超声提取 10 min 后, 考察了上述常用净化剂与 MgSO_4 组合对样品的净化效果。结果表明: 使用 C_{18} 、Al-N、PSA 作为吸附净化剂的效果较好。

进一步对不同的净化剂组合和用量进行优化(图 2), 结果表明, 净化剂组合 A(0.4 g Al-N + 0.25 g C_{18} + 1.2 g MgSO_4)对 AFB_1 和 AFG_1 的吸附作用很强, 导致 AFB_1 和 AFG_1 的回收率偏低。而另外两组净化剂组合对 7 种真菌毒素均有良好的净化效果和回收率。综合考虑净化效果和回收率, 最终选择组合 C(1.2 g MgSO_4 + 0.25 g C_{18} + 0.4 g PSA + 0.25 g Al-N)为最佳吸附净化剂。

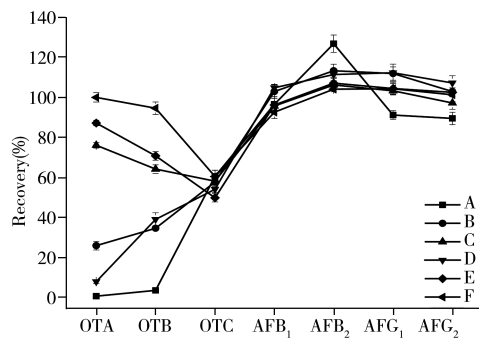


图 1 不同提取剂对 7 种真菌毒素提取效率的影响 (加标 10 μ g/kg, $n=3$)

Fig. 1 Effect of different extracting solvents on recoveries of 7 mycotoxins at spiking level of 10 μ g/kg ($n=3$)
A: acetic acid - MeCN(1:99); B: acetic acid - MeCN(5:95); C: acetic acid - MeCN(10:90); D: formic acid - MeCN(1:99); E: formic acid - MeCN(5:95); F: formic acid - MeCN(10:90)

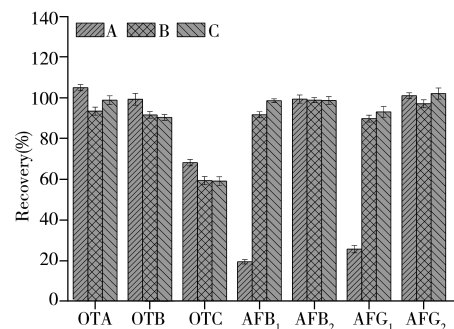


图 2 7 种真菌毒素在不同净化剂组合下的回收率 (加标 10 μ g/kg, $n=3$)

Fig. 2 Recoveries of different sorbents for d-SPE clean-up of 7 mycotoxins at spiking level

10 μ g/kg ($n=3$)
A: 0.4 g Al-N + 0.25 g C_{18} + 1.2 g MgSO_4 ; B: 0.4 g PSA + 0.25 g C_{18} + 1.2 g MgSO_4 ; C: 0.25 g Al-N + 0.4 g PSA + 0.25 g C_{18} + 1.2 g MgSO_4

2.2 色谱-质谱条件的优化

2.2.1 色谱条件的选择 考察了0.1%乙酸-10 mmol/L乙酸铵-乙腈和0.1%甲酸-乙腈两种流动相的分离效果,发现以后者为流动相时得到的基线平稳,分离效果好,响应值高。因此,选择0.1%甲酸-乙腈为流动相进行梯度洗脱,提取离子流色谱图见图3。

2.2.2 质谱条件的确定 对30 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准溶液,以选定的质量数范围(m/z 100~800)进行一级质谱全扫描,得到目标物的母离子精确质量数,再对其进行二级质谱扫描,并优化质谱参数。依据目标物的分子式和碎片离子信息拟合出理论精确质量数。7种化合物的母离子精确质量数、保留时间,碎片离子的精确质量数以及去簇电压和锥孔电压参数见表1。

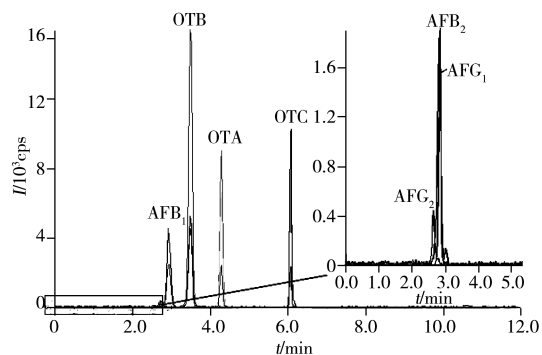


图3 7种毒素的提取离子流色谱图

Fig. 3 Extracted Ion Chromatogram of seven mycotoxins

表1 MRM模式质谱分析参数

Table 1 Parameters of mass spectrometry analysis in multiple-reaction monitoring (MRM) mode

Compound	Retention time/min	Parent ion(m/z)	Product ion(m/z)	Decluster potential/V	Collision energy/eV
OTA	4.31	404.1	239.0*, 358.0	90	32, 20
OTB	3.50	370.2	205.0*, 324.0	79	29, 18
OTC	6.06	313.0	239.0*, 358.1	142	37, 23
AFB ₁	2.92	313.0	241.0*, 269.2	140	51, 44
AFB ₂	2.85	315.3	287.3*, 259.2	140	36, 41
AFG ₁	2.83	329.1	243.0*, 283.1	130	38, 36
AFG ₂	2.62	331.2	245.0*, 257.0	140	41, 43

* quantitation ion

2.3 线性范围与相关系数

按“1.2”用甲醇逐级稀释配制不同质量浓度的7种毒素系列混合标准溶液,进行LC-MS/MS测定。以质量浓度($X, \mu\text{g/L}$)为横坐标,响应值的峰面积(Y)为纵坐标,绘制标准工作曲线。各化合物的线性范围、线性方程和相关系数见表2。7种真菌毒素线性良好,相关系数(r)均不小于0.999。

2.4 方法定量下限、精密度与准确度

选取大米、饼干、曲奇、花生油、花生酱5种食品基质,用空白基质进行加标回收实验,将回收率符合要求的最低加标浓度作为方法的定量下限

(LOQ)。在空白样品中分别添加0.25~40 $\mu\text{g/kg}$ 范围的3个水平的混合标准溶液,按上述步骤处理,每个水平平行实验6次,采用外标法定量,回收率和相对标准偏差(RSD)结果见表3。以加标回收率满足要求的最低加标量为方法的定量下限,本方法的定量下限为0.25~5.0 $\mu\text{g/kg}$,平均回收率为71.5%~119%,RSD为1.1%~7.7%。

表2 LC-MS/MS检测7种真菌毒素的线性范围、线性方程及相关系数

Table 2 Linear range, calibration equations, correlation coefficients(r) of seven mycotoxins by LC-MS/MS

Ochratoxin	Linear range/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	Linear equation	r
OTA	1.00~30.00	$Y = 1.63 \times 10^3 X - 1.83 \times 10^3$	0.999 0
OTB	1.00~30.00	$Y = 3.95 \times 10^3 X - 8.079 \times 10^3$	0.999 1
OTC	1.00~30.00	$Y = 1.28 \times 10^3 X - 4.78 \times 10^2$	0.999 7
AFB ₁	1.00~50.00	$Y = 4.39 \times 10^2 X - 1.51 \times 10^2$	0.999 1
AFB ₂	0.25~12.50	$Y = 1.56 \times 10^6 X - 1.65 \times 10^5$	0.999 8
AFG ₁	1.00~50.00	$Y = 71.3X + 91.4$	0.999 5
AFG ₂	0.25~12.50	$Y = 80.8X + 21.3$	0.999 3

表3 7种真菌毒素的平均回收率、相对标准偏差($n=6$)及定量下限

Table 3 Average recoveries, relative standard deviations(RSDs, $n=6$) and limits of quantitation (LOQs) of 7 mycotoxins

Substrate	Mycotoxin	Spiked($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	Recovery/%	RSD/%	LOQ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
Rice	OTA	2, 5, 10	91.5, 81.0, 71.5	4.7, 3.2, 3.7	2.0
	OTB	2, 5, 10	92.5, 98.2, 85.5	3.5, 4.2, 2.7	2.0
	OTC	2, 5, 10	88.5, 95.7, 82.6	6.3, 5.4, 5.9	2.0
	AFB ₁	1, 5, 10	105, 114, 95.1	3.7, 3.1, 3.0	1.0
	AFB ₂	0.25, 1.25, 2.50	116, 94.4, 86.0	5.7, 6.7, 4.4	0.25

(续表3)

Substrate	Mycotoxin	Spiked ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	Recovery/%	RSD/%	LOQ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
Biscuits	AFG ₁	1, 5, 10	93.1, 90.0, 86.5	5.7, 4.9, 4.6	1.0
	AFG ₂	0.25, 1.25, 2.50	96.0, 92.1, 96.7	7.0, 4.5, 5.2	0.25
	OTA	2, 5, 10	90.5, 94.2, 86.2	5.8, 5.2, 3.1	2.0
	OTB	2, 5, 10	90.6, 94.3, 96.0	5.1, 4.9, 4.9	2.0
	OTC	2, 5, 10	93.7, 91.4, 96.0	6.4, 5.8, 2.7	2.0
	AFB ₁	1, 5, 10	94.0, 107, 102	7.0, 5.5, 4.0	1.0
	AFB ₂	0.25, 1.25, 2.50	72.3, 79.3, 74.4	4.3, 4.8, 3.2	0.25
Cookies	AFG ₁	1, 5, 10	79.9, 87.3, 91.1	5.2, 5.2, 3.5	1.0
	AFG ₂	0.25, 1.25, 2.50	90.6, 88.6, 86.2	6.2, 6.0, 4.1	0.25
	OTA	2, 5, 10	94.9, 93.0, 90.5	2.4, 3.7, 2.8	2.0
	OTB	2, 5, 10	87.2, 73.7, 119	5.8, 6.8, 3.5	2.0
	OTC	2, 5, 10	86.6, 85.1, 101	7.4, 6.9, 4.1	2.0
	AFB ₁	1, 5, 10	116, 91.3, 119	6.2, 4.3, 2.4	1.0
	AFB ₂	0.25, 1.25, 2.50	81.1, 113, 109	3.1, 5.4, 4.9	0.25
Peanutoil	AFG ₁	1, 5, 10	88.6, 97.0, 98.1	2.5, 2.0, 1.1	1.0
	AFG ₂	0.25, 1.25, 2.50	86.2, 96.2, 94.0	6.2, 5.8, 5.2	0.25
	OTA	2, 5, 10	98.1, 103, 119	2.3, 1.3, 3.7	2.0
	OTB	2, 5, 10	104, 103, 92.5	3.1, 2.9, 2.7	2.0
	OTC	2, 5, 10	81.6, 78.0, 80.0	4.4, 3.3, 3.0	2.0
	AFB ₁	5, 20, 40	89.6, 117, 104	3.2, 3.7, 4.1	5.0
	AFB ₂	1.25, 5, 10	81.7, 79.5, 102	5.2, 4.8, 4.6	1.25
Peanut butter	AFG ₁	5, 20, 40	90.5, 116, 107	3.6, 4.4, 3.7	5.0
	AFG ₂	1.25, 5, 10	92.1, 102, 88.6	6.1, 5.7, 5.0	1.25
	OTA	2, 5, 10	86.8, 81.7, 82.7	6.2, 5.6, 5.7	2.0
	OTB	2, 5, 10	83.5, 85.4, 86.9	5.1, 5.9, 4.8	2.0
	OTC	2, 5, 10	75.2, 72.4, 74.7	7.1, 7.7, 5.7	2.0
	AFB ₁	5, 20, 40	81.8, 88.9, 89.7	4.0, 5.7, 5.6	5.0
	AFB ₂	1.25, 5, 10	73.4, 78.0, 75.6	5.7, 6.4, 4.4	1.25
	AFG ₁	5, 20, 40	83.6, 86.4, 83.6	6.0, 5.7, 6.3	5.0
	AFG ₂	1.25, 5, 10	77.7, 71.5, 73.2	7.6, 6.9, 4.2	1.25

2.5 与现有国家标准比较

我国食品安全国家标准 GB 5009.22 和 GB 5009.96^[30-31] 中, 分别规定了食品中黄曲霉毒素和赭曲霉毒素的检测方法, 且采用液相色谱和液相色谱-质谱检测时, 样品的净化主要使用免疫亲和柱法和离子交换固相萃取柱法。本方法对 4 种黄曲霉毒素的定量下限均高于国标方法, 但均低于食品安全标准 GB 2761 中黄曲霉毒素的限量要求; OTA 的定量下限为 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 低于国标方法中 OTA 的定量下限 3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 且国标方法中未涉及 OTB、OTC 的检测。相比于国标, 本方法快速、简便、成本低, 更适用于日常检测中大批量样品的筛查。

2.6 实际样品的筛查

采用本方法对大米、大米制品、花生制品、烘焙食品等 15 个样品中的上述 7 种真菌毒素进行筛查。结果表明, 1 款购自农贸市场的花生油样品检出黄曲霉毒素, AFB₁ 和 AFB₂ 检出量分别为 11.18 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 1.95 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 均低于国家限量标准要求。其余样品均未检出上述真菌毒素。

3 结论

本研究建立了 QuEChERS 前处理结合高效液相色谱-串联质谱联用检测 AFB₁ 等 7 种真菌毒素的方法。建立的 QuEChERS 前处理方法适用于多种类型的食品基质, 对目标物有良好的净化提取效果; 检测方法快速灵敏, 重现性好, 精密度高, 能满足大批量食品样品中 7 种真菌毒素残余量的检测要求。由于我国目前尚未建立 OTB、OTC 相关限量标准, 鉴于这两种毒素存在一定的毒性累积风险, 本方法为 OTB 与 OTC 的监测提供了技术依据。

参考文献:

- [1] Al-Taher F, Cappozzo J, Zweigenbaum J, Lee H J, Jackson L, Ryu D. *Food Control*, **2017**, 72: 27-35.
- [2] An H, Zou G X. *J. Anhui Agric. Sci.* (安虹, 邹广迅. 安徽农业科学), **2011**, 39(24): 15007-15009, 15012.

- [3] Wang L, Wang Z, Gao W, Chen J, Yang M, Kuang Y. *Food Chem.*, **2013**, 138(2/3): 1048-1054.
- [4] Han Z, Zheng Y, Luan L. *Anal. Chim. Acta*, **2010**, 664(2): 165-171.
- [5] Ma W, Yin H, Xu L. *Biosens. Bioelectron.*, **2013**, 42(1): 545-549.
- [6] Sartori A V, Mattos J S D, Moraes M H P D, Nóbrega A W D. *Food Anal. Methods*, **2015**, 8(9): 2321-2330.
- [7] GB 2761-2017. Mycotoxins Limit in Food National Standards of Food Safety(食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量).
- [8] Liang G J, Zhang Q, Yang B. *China Brewing*(梁桂娟, 张琼, 杨波. 中国酿造), **2015**, 34(8): 136-138.
- [9] Wang Y, Chen D H, Zhang X C, Zhang P J, Jiang Y M, Li R, Yang F, Lu J W. *Cereal Feed Ind.* (王勇, 陈定虎, 张宪臣, 张朋杰, 蒋跃明, 李蓉, 杨芳, 卢俊文. 粮食与饲料工业), **2013**, (11): 62-64.
- [10] Xie F, Lai W H, Shi A W, Deng S L, Xiong Y H, Yu Y F. *Food Sci.* (谢芳, 赖卫华, 史爱武, 邓省亮, 熊勇华, 余扬帆. 食品科学), **2013**, 34(18): 165-169.
- [11] Li R, Xie G, Wang S X. *Food Sci.* (黎睿, 谢刚, 王松雪. 食品科学), **2015**, 36(6): 206-210.
- [12] Andrade M A, Lanças F M. *J. Chromatogr. A*, **2017**, 1493: 41-48.
- [13] Zhang X, Li J, Zhan C, Zhou Z, Ma L. *Food Addit. Contam. A*, **2016**, 33(8): 1355-1366.
- [14] Yao T, Wang D, Li S, Liu Y J, Sun B K, Wang Y. *J. Instrum. Anal.* (姚婷, 王丹, 李双, 刘玉娟, 孙秉康, 汪勇. 分析测试学报), **2017**, 36(11): 1346-1351.
- [15] Wang X, Li P. *Food Chem.*, **2015**, 173: 897-904.
- [16] Zhang Z, Hu X, Qi Z, Li P. *J. Chromatogr. B*, **2016**, 1021: 145-152.
- [17] Li X L, Tan G L, Liang B, Liu Y. *Mod. Food Sci. Technol.* (李向丽, 谭贵良, 梁波, 刘垚. 现代食品科技), **2015**, 31(7): 342-346, 379.
- [18] Anastassiades M, Lehotay S J, Stajnbaher D, Schenck F J. *J. AOAC Int.*, **2003**, 86(2): 412-431.
- [19] Wang L Z, Zhou Y, Chen Y, Wang R L, Lin Z X, Lin D J, Zheng S H. *Chin. J. Chromatogr.* (王连珠, 周昱, 陈泳, 王瑞龙, 林子旭, 林德娟, 郑少惠. 色谱), **2012**, 30(2): 146-153.
- [20] Zhang J Y, Deng H F, Li Y M, Lin S, Yue Z F, Wu W D. *J. Instrum. Anal.* (张建莹, 邓慧芬, 李月梅, 林珊, 岳振峰, 吴卫东. 分析测试学报), **2017**, 36(7): 849-857.
- [21] Liu Q, Zeng G F, Wang Z Y, Li W B, Hu Z L, Han S, Liu Y. *Mod. Food Sci. Technol.* (刘青, 曾广丰, 王志元, 李文斌, 胡志玲, 韩深, 刘元. 现代食品科技), **2015**, 31(12): 338-344.
- [22] Juan C, Mañes J, Font G, Juan-García A. *LWT - Food Sci. Technol.*, **2017**, 86: 344-351.
- [23] Arroyo-Manzanares N, García-Campaña A M, Gámiz-Gracia L. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2011**, 401(9): 2987-2994.
- [24] Zimmerli B, Dick R. *Food Addit. Contam.*, **1996**, 13(6): 655-668.
- [25] Huang H H, Zhang J, Xu D M, Zhou Y, Luo J, Lü M L, Chen S B, Wang L Z. *Chin. J. Chromatogr.* (黄何何, 张缙, 徐敦明, 周昱, 罗佳, 吕美玲, 陈树彬, 王连珠. 色谱), **2014**, 32(7): 707-716.
- [26] Hu W Y, Xu L, Yang J, Ling R. *Chin. J. Chromatogr.* (胡文彦, 许磊, 杨军, 凌睿. 色谱), **2014**, 32(2): 133-138.
- [27] Arroyo-Manzanares N, García-Campaña A M, Gámiz-Gracia L. *J. Chromatogr. A*, **2013**, 1282: 11-19.
- [28] Koesukwiwat U, Sanguankaew K, Leepipatiboon N. *Food Chem.*, **2014**, 153: 44-51.
- [29] Miró-Abella E, Herrero P, Canela N, Arola L, Borrull F, Ras R. *Food Chem.*, **2017**, 229: 366-372.
- [30] GB 5009.22-2016. Determination of Aflatoxin B and G in Food. National Standards of Food Safety(食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素B族和G族的测定).
- [31] GB 5009.96-2016. Determination of Ochratoxin A in Food. National Standards of Food Safety(食品安全国家标准 食品中赭曲霉毒素A的测定).