

同位素稀释-超高效液相色谱-串联质谱法同时 测定婴幼儿谷类辅助食品中的15种 真菌毒素和6种农药残留

谢慧英, 袁 娅, 于 晖, 周 颖, 谭洪涛, 周 鸿*

(江西省疾病预防控制中心, 江西省食源性疾病预防溯源重点实验室, 南昌 330029)

摘 要: **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)同时测定婴幼儿谷类辅助食品中15种真菌毒素和6种农药残留的方法。**方法** 样品经乙腈-水-甲酸(84:15:1, V:V:V)提取并低温高速离心后, 直接用水稀释提取液, 以BEH C₁₈为分离柱, 利用UPLC-MS/MS测定, 在多反应监测模式下同位素内标法定量。**结果** 在最佳实验条件下, 目标物在各自线性范围内线性良好, 相关系数(*r*)均大于0.999; 检出限为0.03~7.00 μg/kg, 定量限为0.10~23.00 μg/kg; 加标回收率在75.0%~108.0%之间, 相对标准偏差为2.8%~11.0%。**结论** 该方法前处理简单快速、灵敏度高, 有效解决基质效应问题, 适用于大批量婴幼儿谷类辅助食品中15种真菌毒素和6种农药残留的同时测定。

关键词: 同位素稀释; 超高效液相色谱-串联质谱法; 婴幼儿谷类辅助食品; 真菌毒素; 农药残留

Simultaneous determination of 15 kinds of mycotoxins and 6 kinds of pesticide residues in cereal-based complementary foods for infants and young children by isotope dilution-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

XIE Hui-Ying, YUAN Ya, YU Hui, ZHOU Ying, TAN Hong-Tao, ZHOU Hong*

(Jiangxi Provincial Center for Disease Control and Prevention, Jiangxi Provincial Key Laboratory of Foodborne Disease Diagnosis and Traceability, Nanchang 330029, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the simultaneous determination of 15 kinds of mycotoxins and 6 kinds of pesticide residues in cereal-based complementary foods for infants and young children by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** After the sample was extracted with acetonitrile-water-formic acid (84:15:1, V:V:V) and centrifuged at low temperature and high speed, the extracted components were directly diluted with water. The extracted components were separated on a BEH C₁₈, and detected by UPLC-MS/MS in multi-reaction monitoring mode. The isotopic internal standard method was used for quantitative analysis. **Results** Under the optimum operation conditions, the target compounds showed good linearity in their respective linear ranges with the correlation coefficients (*r*) more than 0.999. The limits of detection and limits of quantification were 0.03–7.00 μg/kg and 0.10–23.00 μg/kg, respectively. The recoveries ranged from

*通信作者: 周鸿, 硕士, 主任技师, 主要研究方向为食品质量安全。E-mail: 277540432@qq.com

*Corresponding author: ZHOU Hong, Master, Chief Technician, Jiangxi Provincial Key Laboratory of Foodborne Disease Diagnosis and Traceability, No.555, Beijing East Road, Qingshan Lake District, Nanchang 330029, China. E-mail: 277540432@qq.com

75.0% to 108.0% with the relative standard deviation of 2.8%–11.0%. **Conclusion** This method has the advantages of simple and rapid pretreatment as well as high sensitivity, and can reduce the influence of matrix effect. It is suitable for the simultaneous determination of 15 kinds of mycotoxins and 6 kinds of pesticide residues in large quantities of cereal-based complementary foods for infants and young children.

KEY WORDS: isotope dilution; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; cereal-based complementary foods for infants and young children; mycotoxins; pesticide residues

0 引言

婴幼儿谷类辅助食品是以谷物为主要原料, 添加适量的蔬菜、水果、蛋类和肉类等选择性配料, 适用于 6 个月以上婴儿的特殊膳食食品。婴幼儿谷类辅助食品是婴幼儿膳食的重要组成部分, 其安全性与婴幼儿健康密切相关。谷物、蔬菜、水果等原料作物在种植过程中常施用农药防治病虫害, 致使原料存在农药残留^[1-3]; 受温度和湿度的影响, 原料在加工、储存过程中易霉变从而产生有害的真菌毒素^[4-5]。当真菌毒素和农药残留超过最大残留量或不断在人体中蓄积时, 会损害人体健康^[6-7], 免疫力更低的婴幼儿尤为敏感, 因而婴幼儿谷类辅助食品的真菌毒素和农药污染问题逐渐引起关注^[8-10]。AL-TAHER 等^[8]测定了 64 份婴幼儿谷类辅助食, 真菌毒素检出率为 78%; 杨洋等^[10]分析了 1658 份婴幼儿食品农药残留状况, 其中有 1.3% 的样品农药残留含量高于最大限量值。为了全面掌握婴幼儿谷类辅助食品中真菌毒素和农药的残留量, 需建立一种既可以测定婴幼儿谷类辅助食品中真菌毒素, 又能同步测定农药残留的分析方法, 对确保婴幼儿谷类辅助食品的质量安全有重要意义。

目前, 食品中真菌毒素的检测方法主要有酶联免疫法^[11]、高效液相色谱法^[12]、液相色谱-质谱联用法^[13]等; 食品中农药的测定常用气相色谱法^[14]、气质联用法^[15]、液相色谱-质谱联用法^[16]。大部分检测方法为单类目标物的测定; 使用外标法定量较难避免基质效应的干扰; 并且前处理步骤^[12,14]相对烦琐复杂, 耗时长, 由于步骤过多易造成目标物损失, 不能满足同时检测多组分目标物的快速检测要求。由于超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)具有选择性好、抗干扰能力强、灵敏度高、分析通量高等优势, 可以结合简便的前处理技术, 逐渐成为测定真菌毒素和农药残留的理想方法^[17-19], 但目前对婴幼儿谷类辅助食品中真菌毒素和农药残留的同时测定的方法少见报道。

本研究将样品通过简单提取、直接稀释, 无需复杂的净化和浓缩过程, 在低温条件下, 高速离心去除大部分干扰物, 利用同位素内标校正基质效应, 建立了 UPLC-MS-MS 法同步检测婴幼儿谷类辅助食品中 15 种真

菌毒素和 6 种农药残留, 为婴幼儿谷类辅助食品中真菌毒素和农药残留的评估和监管提供技术支持。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

LC-30A 超高压液相色谱仪(日本岛津公司); QTRAP 5500 质谱仪(美国 AB SCIEX 公司); sigma 1-16K 高速低温离心机(德国 Sigma 公司); Heidolph multi Reax (EU)多孔涡旋振荡器(德国 Heidolph 公司); Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司); MS304S 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

标准品: 黄曲霉毒素 G₁ (aflatoxin G₁, CAS: 1165-39-5, 2.0 mg/L)、黄曲霉毒素 B₁ (aflatoxin B₁, CAS: 1162-65-8, 2.0 mg/L)、黄曲霉毒素 B₂ (aflatoxin B₂, CAS: 7220-81-7, 0.5 mg/L)、黄曲霉毒素 G₂ (aflatoxin G₂, CAS: 7241-98-7, 0.5 mg/L)、玉米赤霉烯酮(zearealenone, CAS: 17924-92-4, 50 mg/L)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, CAS: 51481-10-8, 50 mg/L)、3-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇(3-acetyl-deoxynivalenol, CAS: 50722-38-8, 50 mg/L)、15-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇(15-acetyl-deoxynivalenol, CAS: 88377-96-6, 50 mg/L)、雪腐镰刀菌烯醇(nivalenol, CAS: 23282-20-4, 50 mg/L)、T-2 毒素(T-2 toxin, CAS: 21259-20-1, 50 mg/L)、伏马毒素 B₁ (fumonisin B₁, CAS: 116355-83-0, 50 mg/L)、伏马毒素 B₂ (fumonisin B₂, CAS: 116355-84-1, 50 mg/L)、伏马毒素 B₃ (fumonisin B₃, CAS: 116379-59-4, 50 mg/L)、赭曲霉毒素(ochratoxin A, CAS: 303-47-9, 2.0 mg/L)、杂色曲霉毒素(sterigmatocystin, CAS: 10048-13-2, 10 mg/L)(奥地利 Romer lab 公司); 吡虫啉(imidacloprid, CAS: 105827-78-9, 100 mg/L)、多菌灵(carbendazim, CAS: 10605-21-7, 100 mg/L)、氟虫腈(fipronil, CAS: 120068-37-3, 100 mg/L)、氟甲腈(fipronil desulfinyl, CAS: 205650-65-3, 100 mg/L)、氟虫腈砒(fipronil sulfone, CAS: 120068-36-2, 100 mg/L)和氟虫腈亚砒(fipronil sulfide, CAS: 120067-83-6, 100 mg/L)(德国 Dr. Ehrenstorfer 公司)。

同位素内标: ¹³C₁₇-黄曲霉毒素 G₁ (CAS: 1217444-07-9, 0.5 mg/L)、¹³C₁₇-黄曲霉毒素 B₁ (CAS: 1217449-45-0, 0.5 mg/L)、¹³C₁₇-黄曲霉毒素 B₂ (CAS: 1217470-98-8, 0.5 mg/L)、¹³C₁₇-黄曲霉毒素 G₂ (CAS:

1217462-49-1, 0.5 mg/L)、 $^{13}\text{C}_{18}$ -玉米赤霉烯酮(CAS: 911392-43-3, 25 mg/L)、 $^{13}\text{C}_{15}$ -脱氧雪腐镰刀菌烯醇(CAS: 911392-36-4, 25 mg/L)、 $^{13}\text{C}_{17-3}$ -乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇(25 mg/L)、 $^{13}\text{C}_{17-15}$ -乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇(10 mg/L)、 $^{13}\text{C}_{15}$ -雪腐镰刀菌烯醇(25 mg/L)、 $^{13}\text{C}_{24}$ -T-2毒素(25 mg/L)、 $^{13}\text{C}_{34}$ -伏马毒素 B₁(CAS: 1217458-62-2, 25 mg/L)、 $^{13}\text{C}_{34}$ -伏马毒素 B₂(CAS: 1217481-36-1, 10 mg/L)、 $^{13}\text{C}_{34}$ -伏马毒素 B₃(10 mg/L)、 $^{13}\text{C}_{20}$ -赭曲霉毒素 A(10 mg/L)、 $^{13}\text{C}_{18}$ -杂色曲霉毒素(25 mg/L)(奥地利 ROMER 公司); 吡虫啉-D₄(CAS: 1015855-75-0, 100 mg/L)和多菌灵-D₄(CAS: 291765-95-2, 100 mg/L)(德国 Dr. Ehrenstorfer 公司); $^{13}\text{C}_2^{15}\text{N}_2$ -氟虫腴(100 mg/L)(天津阿尔塔科技有限公司); 乙腈、甲酸、甲醇(色谱纯, 德国 Merck 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液配制

分别移取适量的 15 种真菌毒素和 6 种农药标准储备液, 用乙腈配制混合标准储备液: 黄曲霉毒素 G₁、黄曲霉毒素 B₁、黄曲霉毒素 B₂、黄曲霉毒素 G₂、赭曲霉毒素、杂色曲霉毒素、吡虫啉、多菌灵、氟虫腴、氟甲腴、氟虫腴砜和氟虫腴亚砜的质量浓度均为 0.5 mg/L; 伏马毒素 B₁、伏马毒素 B₂ 和伏马毒素 B₃ 的质量浓度均为 5 mg/L; T-2 毒素和玉米赤霉烯酮质量浓度均为 2.5 mg/L; 脱氧雪腐镰刀菌烯醇、3-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇、15-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇、雪腐镰刀菌烯醇质量浓度均为 25 mg/L, 在 -20 °C 保存; 分别移取适量的 15 种真菌毒素和 3 种农药同位素内标溶液, 用乙腈稀释配制稳定同位素混合标准溶液: $^{13}\text{C}_{17}$ -黄曲霉毒素 G₁、 $^{13}\text{C}_{17}$ -黄曲霉毒素 B₁、 $^{13}\text{C}_{17}$ -黄曲霉毒素 B₂ 和 $^{13}\text{C}_{17}$ -黄曲霉毒素 G₂ 的质量浓度均为 0.01 mg/L; $^{13}\text{C}_{20}$ -赭曲霉毒素和 $^{13}\text{C}_{18}$ -杂色曲霉毒素的质量浓度均为 0.02 mg/L; $^{13}\text{C}_{34}$ -伏马毒素 B₁、 $^{13}\text{C}_{34}$ -伏马毒素 B₂ 和 $^{13}\text{C}_{34}$ -伏马毒素 B₃ 质量浓度均为 0.5 mg/L; $^{13}\text{C}_{24}$ -T-2 毒素、 $^{13}\text{C}_{18}$ -玉米赤霉烯酮、 $^{13}\text{C}_{15}$ -脱氧雪腐镰刀菌烯醇、 $^{13}\text{C}_{17-3}$ -乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇、 $^{13}\text{C}_{17-15}$ -乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇、 $^{13}\text{C}_{15}$ -雪腐镰刀菌烯醇、吡虫啉-D₄、多菌灵-D₄ 和 $^{13}\text{C}_2^{15}\text{N}_2$ -氟虫腴质量浓度均为 0.25 mg/L, 混匀后于 -20 °C 避光保存。

准确移取混合标准储备液适量, 用 20% 乙腈水溶液逐级稀释, 配制系列浓度的混合标准工作液吸取 180 μL 混合标准工作液和 20 μL 对应的同位素混合工作液于内插管中, 混匀, 待测。

1.2.2 样品前处理

称取 5.0 g 样品于 50 mL 离心管中, 加入 20 mL 乙腈-水-甲酸提取液(84:15:1, V:V:V), 涡旋振荡提取 30 min, 吸取 0.5 mL 上清液, 加入 1.0 mL 水, 在 4 °C 下, 12000 r/min 离心 10 min, 上清液过 0.22 μm 滤膜, 吸取 180 μL 样品滤液于提前加入 20 μL 同位素混合工作液的内插管中, 混匀,

待测。

1.2.3 仪器条件

液相色谱条件: BEH C₁₈ 色谱柱(150 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 柱温: 40 °C; 进样量 2 μL; 流速: 0.3 mL/min。正离子模式下的流动相 A: 含 0.1% (V/V)甲酸的溶液, 流动相 B: 乙腈。梯度洗脱程序: 0~1.0 min, 10% B; 1.0~3.0 min, 30% B~40% B; 3.0~9.0 min, 40% B~65% B; 9.5~11.5 min, 100% B; 11.6~13 min, 10% B。负离子模式下的流动相 A: 水, 流动相 B: 乙腈; 梯度洗脱程序: 0~1.0 min, 10% B; 1.0~2.5 min, 10% B~28% B; 2.5~5.0 min, 35% B; 5.0~9.0 min, 35% B~95% B; 9.0~11.0 min, 95% B; 11.2~13 min, 10% B。

质谱条件: 根据目标物选择电喷正离子模式(electrospray ionization, ESI⁺)或负离子模式(ESI⁻); 多反应监测; 气帘气: 35.0 L/h; 雾化气: 50.0 L/h; 加热辅助气流量: 50.0 L/h; 离子喷雾电压: +5500 V/-4500 V; 离子源温度: 500 °C (ESI⁺)/450 °C (ESI⁻); 其他质谱条件见表 1。

2 结果与分析

2.1 色谱条件优化

伏马毒素 B₂ 和伏马毒素 B₃ 的离子通道相接近, 这两种化合物在质谱上会互相干扰, 必须在色谱柱上实现更好的分离。对比了 Waters BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 和 Waters BEH C₁₈ (150 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 两种色谱柱的色谱分离情况, 实验结果表明, 伏马毒素 B₂ 和伏马毒素 B₃ 在 BEH C₁₈ (150 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱的分离效果更佳, 分离时间分别为 5.84 min 和 6.45 min, 两组分达到基线分离。

雪腐镰刀菌烯醇色谱峰溶剂效应较明显, 表现为峰型变宽、分叉和峰面积重复性差。降低进样体积可有效消除溶剂效应的影响, 为获得良好的峰型和响应强度, 优化进样体积为 2 μL。

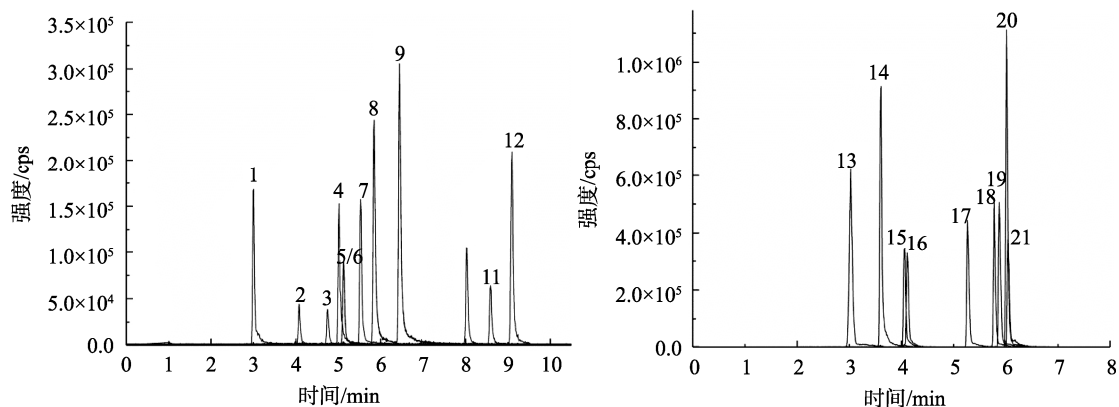
由于甲醇的洗脱能力弱于乙腈, 在相同梯度条件下的分离效果比乙腈更好, 但峰型更宽、柱压过大且色谱分析时间长; 黄曲霉毒素、赭曲霉毒素等低限值毒素的峰型和响应强度在乙腈-水体系明显优于甲醇-水体系。在 ESI⁺ 模式下, 加入甲酸有利于提高目标物的离子化效率, 增大其灵敏度^[20-21]。综合考虑, 选择含 0.1% 甲酸的水溶液-乙腈体系为 ESI⁺ 模式下的流动相, 乙腈-水体系为 ESI⁻ 模式下的流动相。图 1 为 15 种真菌毒素和 6 种农药残留的色谱图。

2.2 质谱条件的优化

各取 50 μg/L 的单标溶液, 用流动注射泵直接注入质谱仪, 分别在电喷雾正/负模式下对母离子、子离子、去簇电压、碰撞能量等质谱参数进行优化。优化的参数见表 1。

由于 15 种真菌毒素和 6 种农药化学性质不同, 正负离子同时扫描会降低方法的灵敏度, 因而分别采用正、负离子模式对目标物进行测定。离子源的温度直接影响目标物的响应, 考察了目标物在不同离子源温度下的响应: 在 ESI⁻模式下, 脱氧雪腐镰刀菌烯醇、15-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯

醇、3-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇和雪腐镰刀菌烯醇等目标物在温度高时易分解, 在离子源温度为 450 °C 时响应最佳; 在 ESI⁺模式下, 除了伏马毒素外, 大部分目标物在温度为 500 °C 时平均响应值更大。最终优化离子源温度为 450 °C (ESI⁻)/500 °C (ESI⁺)。



注: 1. 多菌灵; 2. 吡虫啉; 3. 黄曲霉毒素 G₂; 4. 伏马毒素 B₁; 5. 黄曲霉毒素 B₂; 6. 黄曲霉毒素 G₁; 7. 黄曲霉毒素 B₁; 8. 伏马毒素 B₃; 9. 伏马毒素 B₂; 10. T-2 毒素; 11. 赭曲霉毒素; 12. 杂色曲霉毒素; 13. 雪腐镰刀菌烯醇; 14. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇; 15. 15-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇; 16. 3-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇; 17. 玉米赤霉烯酮; 18. 氟虫腈; 19. 氟甲腈; 20. 氟虫腈砒; 21. 氟虫腈亚砒。

图 1 21 种目标物的色谱图

Fig.1 Chromatograms of 21 kinds of analytes

表 1 质谱参数
Table 1 MS parameters

编号	化合物	电离模式	保留时间/min	离子对(m/z)	去簇电压/V	碰撞能量/eV
1	黄曲霉毒素 B ₁	ESI ⁺	5.53	313.1/285.1*, 313.1/241.1	105	31/40
2	¹³ C ₁₇ -黄曲霉毒素 B ₁	ESI ⁺	5.53	330.0/301.0*	105	30
3	黄曲霉毒素 B ₂	ESI ⁺	5.12	315.0/287.0*, 315.0/259.0	80	33/38
4	¹³ C ₁₇ -黄曲霉毒素 B ₂	ESI ⁺	5.12	332.0/303.0*	80	35
5	黄曲霉毒素 G ₁	ESI ⁺	5.12	329.1/243.0*, 329.1/311.0	100	35/29
6	¹³ C ₁₇ -黄曲霉毒素 G ₁	ESI ⁺	5.12	346.0/257.0*	100	35
7	黄曲霉毒素 G ₂	ESI ⁺	4.75	331.1/245.1*, 331.1/285.1	100	38/37
8	¹³ C ₁₇ -黄曲霉毒素 G ₂	ESI ⁺	4.75	348.0/330.0*	100	35
9	T-2 毒素	ESI ⁺	8.03	484.2/305.1*, 484.2/185.0	50	20/27
10	¹³ C ₂₄ -T-2 毒素	ESI ⁺	8.03	508.2/322.2*	50	19
11	伏马毒素 B ₁	ESI ⁺	5.02	722.4/334.3*, 722.4/352.3	105	54/50
12	¹³ C ₃₄ -伏马毒素 B ₁	ESI ⁺	5.02	756.4/256.3*	105	53
13	伏马毒素 B ₂	ESI ⁺	6.45	706.4/336.3*, 706.4/318.2	55	50/52
14	¹³ C ₃₄ -伏马毒素 B ₂	ESI ⁺	6.45	740.5/358.3*	31	50
15	伏马毒素 B ₃	ESI ⁺	5.84	706.4/336.2*, 706.4/318.2	80	50/51
16	¹³ C ₃₄ -伏马毒素 B ₃	ESI ⁺	5.84	740.5/358.3*	31	50
17	赭曲霉毒素 A	ESI ⁺	8.59	404.1/239.0*, 404.1/358.1	65	32/19
18	¹³ C ₂₀ -赭曲霉毒素 A	ESI ⁺	8.59	424.1/250.1*	65	33

表1(续)

编号	化合物	电离模式	保留时间/min	离子对(<i>m/z</i>)	去簇电压/V	碰撞能量/eV
19	杂色曲霉毒素	ESI ⁺	9.09	325.1/310.0*, 325.1/281.0	50	35/50
20	¹³ C ₁₈ -杂色曲霉毒素	ESI ⁺	9.09	343.1/327.0*	80	35
21	多菌灵	ESI ⁺	3.00	192.1/132.0*, 192.1/160.0	74	23/40
22	多菌灵-D ₄	ESI ⁺	3.00	196.1/136.0*	74	40
23	吡虫啉	ESI ⁺	4.06	256.2/209.0*, 256.2/175.0	82	19/24
24	吡虫啉-D ₄	ESI ⁺	4.06	260.0/179.0*	82	23
25	玉米赤霉烯酮	ESI ⁻	5.33	317.0/175.0*, 317.0/131.0	-70	-25/-40
26	¹³ C ₁₈ -玉米赤霉烯酮	ESI ⁻	5.33	335.1/185.0*	-70	-31
27	脱氧雪腐镰刀菌烯醇	ESI ⁻	3.56	295.1/265.0*, 295.1/138.0	-50	-17/-22
28	¹³ C ₁₅ -脱氧雪腐镰刀菌烯醇	ESI ⁻	3.56	310.2/279.2*	-50	-16
29	3-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇	ESI ⁻	4.10	337.2/173.0*, 337.2/307.0	-50	-14/-16
30	¹³ C ₁₇ -3-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇	ESI ⁻	4.10	354.2/323.2*	-50	-15
31	15-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇	ESI ⁻	4.03	337.2/150.0*, 337.2/188.8	-50	-24/-29
32	¹³ C ₁₇ -15-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇	ESI ⁻	4.03	354.0/292.0*	-50	-15
33	雪腐镰刀菌烯醇	ESI ⁻	3.01	311.2/281.0*, 311.2/187.0	-56	-14/-26
34	¹³ C ₁₅ -雪腐镰刀菌烯醇	ESI ⁻	3.01	326.1/295.1*	-56	-15
35	氟虫腈	ESI ⁻	5.87	435.0/330.0*, 435.0/250.0	-50	-21/-38
36	氟虫腈砒	ESI ⁻	6.11	451.0/415.0*, 451.0/282.0	-40	-22/-38
37	氟虫腈亚砒	ESI ⁻	6.14	419.0/383.0*, 419.0/314.0	-73	-17/-27
38	氟甲腈	ESI ⁻	5.97	387.0/351.0*, 387.0/282.0	-50	-17/-42
39	¹³ C ₂ - ¹⁵ N ₂ -氟虫腈	ESI ⁻	5.87	439.0/334.0*	-50	-26

注: *为定量离子。

2.3 样品提取的优化

婴幼儿谷类辅助食品中营养丰富, 基质较为复杂, 提取液中含有蛋白和脂类杂质。由于蛋白和脂类在低温会凝固析出, 因而可采取低温高速离心去除提取液中蛋白和脂类杂质的干扰。

乙腈具有极性大、穿透力强的特点, 可减少脂溶性杂质的浸出, 提取液中加入一定比例的水可浸润干性样品, 提高提取效率, 乙腈-水广泛用作真菌毒素和农药残留的提取^[22-23]。本研究考察了乙腈-水-甲酸(70:29:1, V:V:V)、乙腈-水-甲酸(80:18:2, V:V:V)、乙腈-水(84:16, V:V)、乙腈-水-甲酸(84:15:1, V:V:V) 4种常见的提取溶剂对目标物的提取效率, 结果表明, 乙腈-水-甲酸(70:29:1, V:V:V)对目标物的提取平均回收率为72.5%~95.1%, 乙腈-水-甲酸(80:18:2, V:V:V)对目标物的提取平均回收率为81.0%~94.1%, 乙腈-水(84:16, V:V)对目标物的提取平均回收率为75.0%~91.8%,

而乙腈-水-甲酸(84:15:1, V:V:V)对目标物的提取平均

回收率为86.9%~110.0%, 效果最好, 因此选择乙腈-水-甲酸(84:15:1, V:V:V)作为提取液。

2.4 方法学验证

2.4.1 基质效应、线性范围、检出限和定量限

UPLC-MS/MS法测定婴幼儿谷类辅助食品的真菌毒素和农药残留时存在基质效应, 解决基质效应的方法是基质加标或同位素内标法。本研究采用同位素稀释法减少前处理过程中产生的误差, 补偿基质效应对定量结果的影响, 从而保证方法的准确性。氟甲腈、氟虫腈砒和氟虫腈亚砒相对应的同位素内标物不易获得, 选用性质接近的¹³C₂¹⁵N₂-氟虫腈作为内标物对这3种目标物进行定量分析; 其他18种目标物分别以相对应的同位素内标进行定量分析。以基质标准曲线斜率与溶剂标准曲线斜率的比值来评价基质效应。结果表明, 同位素内标法测定婴幼儿谷类辅助食品中15种真菌毒素和6种农药残留的基质效应在0.8~1.2范围内, 无明显基质效应。

在最佳实验条件下, 配制混合标准溶液系列, 同时

加入相同质量浓度的同位素内标, 绘制工作曲线。以 3 倍噪音的添加质量浓度为检出限, 以 10 倍噪音的添加质量浓度为定量限。15 种真菌毒素和 6 种农药残留在各

自的线性范围内线性关系良好, 相关系数(r)均大于 0.999。线性范围、线性回归方程、检出限和定量限结果见表 2。

表 2 21 种目标物的线性范围、相关系数、检出限、定量限、平均回收率与精密度($n=6$)

Table 2 Linear ranges, correlation coefficients, limits of detection, limits of quantification, average recoveries and relative standard deviation of 21 kinds of analytes ($n=6$)

化合物	相关系数(r)	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	检出限 ($\mu\text{g/kg}$)	定量限 ($\mu\text{g/kg}$)	添加浓度 ($\mu\text{g/kg}$)	回收率/%	相对标准偏差 /%
黄曲霉毒素 B ₁	0.9993	0.05~10	0.10	0.30	0.5	88.3	7.8
					5.0	91.3	5.4
					10.0	95.4	6.5
黄曲霉毒素 B ₂	0.9992	0.05~10	0.08	0.26	0.5	87.5	6.4
					5.0	92.8	6.9
					10.0	89.3	4.9
黄曲霉毒素 G ₁	0.9997	0.05~10	0.10	0.30	0.5	92.5	11.0
					5.0	90.3	9.0
					10.0	89.5	4.6
黄曲霉毒素 G ₂	0.9993	0.05~10	0.08	0.26	0.5	99.5	10.0
					5.0	94.3	9.8
					10.0	96.1	7.8
T-2 毒素	0.9996	0.5~50	0.59	2.00	5.0	92.1	6.9
					50	98.5	7.2
					100	100.2	9.5
伏马毒素 B ₁	0.9997	1.0~100	2.40	8.00	10	101.0	8.7
					100	106.0	4.2
					200	103.0	5.9
伏马毒素 B ₂	0.9994	1.0~100	3.00	10.00	10	105.0	7.2
					100	104.0	5.3
					200	107.0	8.1
伏马毒素 B ₃	0.9992	1.0~100	2.40	8.00	10	103.0	6.4
					100	105.0	4.5
					200	106.0	5.7
赭曲霉毒素 A	0.9993	0.05~10	0.30	1.00	0.5	91.0	5.9
					5.0	93.0	6.2
					10.0	95.0	8.4
杂色曲霉毒素	0.9997	0.05~10	0.09	0.30	0.5	98.0	7.8
					5.0	99.0	8.1
					10.0	94.0	9.2
多菌灵	0.9996	0.05~12.5	0.22	0.73	0.5	101.0	2.8
					5.0	106.0	3.9
					10.0	108.0	6.1
吡虫啉	0.9997	0.05~12.5	2.70	9.10	0.5	75.0	4.5
					5.0	77.0	2.8
					10.0	79.0	3.6
玉米赤霉烯酮	0.9998	0.5~50	1.30	4.40	5.0	90.0	3.5
					50	91.0	4.2
					100	93.0	5.5
脱氧雪腐镰刀菌烯醇	0.9994	5~500	2.60	8.70	50	101.0	3.5
					500	97.0	5.4
					1000	99.0	4.7

表2(续)

化合物	相关系数(<i>r</i>)	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	检出限 ($\mu\text{g/kg}$)	定量限 ($\mu\text{g/kg}$)	添加浓度 ($\mu\text{g/kg}$)	回收率 /%	相对标准 偏差/%
3-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇	0.9992	5~500	2.70	9.00	50	91.3	4.2
					500	90.0	5.7
					1000	88.7	6.8
15-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇	0.9993	5~500	5.80	20.00	50	102.0	4.1
					500	97.0	6.5
					1000	95.0	3.9
雪腐镰刀菌烯醇	0.9991	5~500	7.00	23.00	50	89.0	4.5
					1000	96.0	6.9
					0.5	97.0	6.5
氟虫腈	0.9996	0.05~12.5	0.03	0.10	5.0	96.0	5.8
					10.0	88.0	3.5
					0.5	87.0	7.3
氟虫腈砒	0.9997	0.05~12.5	0.03	0.10	5.0	91.0	6.2
					10.0	83.0	4.5
					0.5	100.0	8.4
氟虫腈亚砒	0.9995	0.05~12.5	0.06	0.21	5.0	98.0	6.9
					10.0	89.0	5.8
					0.5	96.0	7.8
氟甲腈	0.9996	0.05~12.5	0.03	0.10	5.0	91.0	8.9
					10.0	84.0	5.5

2.4.2 准确度和精密度

取空白婴幼儿谷类辅助食品,分别添加3个浓度水平的混合标准溶液进行提取,每个加标水平进行6次重复实验,回收率结果见表2。15种真菌毒素和6种农药残留的回收率在75.0%~108.0%之间,相对标准偏差在2.8%~11.0%之间,说明本方法有较好的准确度和精密度。

2.5 实际样品分析

采用本方法对市售的20份婴幼儿谷类辅助食品进行测定,4个样品检出不同浓度的脱氧雪腐镰刀菌烯醇,含量为8.0~22.3 $\mu\text{g/kg}$,2个样品检出玉米赤霉烯酮,含量分别为9.1 $\mu\text{g/kg}$ 和16.9 $\mu\text{g/kg}$,均未超过国家标准规定的限量要求,其余真菌毒素和农药残留未检出。

3 结论

本研究采用一步提取、稀释净化的方法,结合稳定同位素内标法准确测定婴幼儿谷类辅助食品中15种真菌毒素和6种农药残留,过程简单、快速、高效,避免了净化过程中目标物损失,同时有效降低了基质效应,提高了准确性和可靠性,适合对大批量婴幼儿谷类辅助食品中多种毒素和农药残留的快速检测。由于有的目标物内标物较难获得,今后要扩大监测目标物的监测种类,以便进一步完

善婴幼儿谷类辅助食品的监测和评估工作。

参考文献

- [1] 孙丽娟,徐春春,胡学旭,等.我国谷物质量安全隐患浅析[J].中国农业科技导报,2017,19(9):8-14.
SUN LJ, XU CC, HU XX, *et al.* Risk analysis of grain safety and quality in China [J]. J Agric Sci Technol China, 2017, 19(9): 8-14.
- [2] 陈俊秀,马晓年,李文廷,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中4种氨基甲酸酯类农药残留量[J].食品安全质量检测学报,2021,12(5):1789-1797.
CHEN JX, MA XN, LI WT, *et al.* Determination of 4 kinds of carbamates pesticide in vegetables by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(5): 1789-1797.
- [3] QIN GF, CHEN Y, HE FR, *et al.* Risk assessment of fungicide pesticide residues in vegetables and fruits in the mid-western region of China [J]. J Food Compos Anal, 2021, 95: 103663.
- [4] 王刚,王玉龙,张海水,等.真菌毒素形成的影响因素[J].菌物学报,2020,39(3):477-491.
WANG G, WANG YL, ZHANG HY, *et al.* Factors that affect the formation of mycotoxins: A literature review [J]. Mycosystema, 2020, 39(3): 477-491.
- [5] 李雅静,秦曙,杨艳梅,等.中国谷物真菌毒素污染研究现状[J].中国粮油学报,2020,35(3):186-194.
LI YJ, QIN S, YANG YM, *et al.* Current Research status of mycotoxin contamination in grains in China [J]. J Cere Oils Ass, 2020, 35(3):

- 186-194.
- [6] HUSSEIN HS, BRASEL JM. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals [J]. *Toxicology*, 2001, 162(2): 101-103.
- [7] IONEL IL, MARA G, STEFANIA R, *et al.* A hazard to human health-pesticide residues in some vegetal and animal foodstuff [J]. *J Biotechnol*, 2019, 305(15): 22-23.
- [8] AL-TAHER F, CAPPOZZO J, ZWEIQENBAUM J, *et al.* Detection and quantitation of mycotoxins in infant cereals in the US market by LC-MS/MS using a stable isotope dilution assay [J]. *Food Control*, 2017, 72: 27-35.
- [9] 耿建强, 赵丽, 张旭, 等. 我国婴幼儿营养米粉中真菌毒素污染情况调查[J]. *中国食品卫生杂志*, 2017, 29(1): 67-70.
GENG JQ, ZHAO L, ZHANG X, *et al.* Survey of mycotoxins contamination in nutritional infant rice flour in China [J]. *Chin J Food Hyg*, 2017, 29(1): 67-70.
- [10] 杨洋, 韩世鹤, 尹昱, 等. 2018 年欧盟食品中农药残留情况分析及其启示 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(23): 8983-8988.
YANG Y, HAN SH, YIN Y, *et al.* Analysis of 2018 European Union on pesticide residues in food and the implications to China [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(23): 8983-8988.
- [11] CHEN YJ, ZHANG SP, HONG ZS, *et al.* A mimotope peptide-based dual-signal readout competitive enzyme-linked immunoassay for non-toxic detection of zearalenone [J]. *J Mater Chem B*, 2019, 7(44): 6972-6980.
- [12] 王伟刚, 强敏, 端礼钦. 复合免疫亲和和柱-高效液相色谱法同时测定谷物及其制品中 9 种真菌毒素[J]. *色谱*, 2018, 36(12): 1330-1336.
WANG WG, QIANG M, DUAN LQ. Simultaneous determination of nine mycotoxins in cereal and cereal products by high performance liquid chromatography with composite immunoaffinity clean-up column [J]. *Chin J Chromatogr*, 2018, 36(12): 1330-1336.
- [13] 刘文静, 黄彪, 傅建炜, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定陈年老茶中 16 种真菌毒素残留[J]. *食品科学*, 2021, 42(2): 299-305.
LIU WJ, HUANG B, FU JW, *et al.* Simultaneous determination of 16 mycotoxin residues in aged tea by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2021, 42(2): 299-305.
- [14] 李敏青, 庄嘉, 徐娟, 等. 固相萃取-气相色谱法测定果汁中多种农药残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(24): 6508-6514.
LI MQ, ZHUANG J, XU J, *et al.* Determination of pesticides multi-residues in juice by solid phase extraction-gas chromatography [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(24): 6508-6514.
- [15] 马智玲, 赵文, 李凌云, 等. 气相色谱-三重四极杆串联质谱法快速测定蔬菜水果中 129 种农药的残留量[J]. *色谱*, 2013, 31(3): 228-239.
MA ZL, ZHAO W, LI LY, *et al.* Rapid determination of 129 pesticide residues in vegetables and fruits by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2013, 31(3): 228-239.
- [16] 李海艳, 尚德军, 李晓岩, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定葡萄干中 27 种农药残留[J]. *分析测试学报*, 2013, 32(5): 625-629.
LI HY, SHANG DJ, LI XY, *et al.* Determination of 27 pesticide residues in raisins using ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2013, 32(5): 625-629.
- [17] DA SILVA LP, MADUREIRA F, DE AZEVEDO VE, *et al.* Development and validation of a multianalyte method for quantification of mycotoxins and pesticides in rice using a simple dilute and shoot procedure and UHPLC-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2019, 270(1): 420-427.
- [18] ZHAN J, ZHANG RR, SHI XZ, *et al.* A novel sample-preparation method for generic and rapid determination of pesticides and mycotoxins in tea by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2021, 1636(11): 461794.
- [19] KRESS M, DRINDA H, ROMANOTTO A, *et al.* Simultaneous determination of pesticides, mycotoxins and metabolites as well as other contaminants in cereal by LC-LC-MS/MS [J]. *J Chromatogr B*, 2019, 1117(1): 86-102.
- [20] 李蓉, 何春梅, 杨璐齐, 等. 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法测定焙烤食品及其原料中 11 种真菌毒素[J]. *色谱*, 2004, 35(8): 808-815.
LI R, HE CM, YANG LQ, *et al.* Determination of 11 mycotoxins in baked foods and raw materials by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2004, 35(8): 808-815.
- [21] 张明童, 刘志荣, 李冬华, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定白芷中 51 种禁用农药的残留量[J]. *理化检验-化学分册*, 2020, 56(4): 381-388.
ZHANG MT, LIU ZR, LI DH, *et al.* Determination of 51 banned pesticide residues in *Angelica dahurica* by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Phys Test Chem Anal Part B*, 2020, 56(4): 381-388.
- [22] KUANG Y, QIU F, KONG WJ, *et al.* Simultaneous quantification of mycotoxins and pesticide residues in ginseng with one-step extraction using ultra-high performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2013, 939(15): 98-107.
- [23] 潘胜东, 叶美君, 陈晓红, 等. QuEChERS 净化-超快速液相色谱-串联质谱法同时检测茶叶中常见杀虫剂残留[J]. *卫生研究*, 2018, 47(5): 809-814.
PAN SD, YE MJ, CHEN XH, *et al.* Simultaneous determination of insecticide in tea samples using QuEChERS-based clean up and ultra-fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Hyg Res*, 2018, 47(5): 809-814.

(责任编辑: 郑丽 王欣)

作者简介

谢慧英, 硕士, 主管技师, 主要研究方向为食品质量安全。

E-mail: huiyingxie999@163.com



周 鸿, 硕士, 主任技师, 主要研究方向为食品质量安全。

E-mail: 277540432@qq.com