

QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法 检测奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢物

谢瑜杰^{1,2}, 陈辉¹, 胡雪艳¹, 刘志楠¹, 范春林¹, 呼秀智², 彭涛^{1,*}

(1. 中国检验检疫科学研究院, 北京 100176;

2. 河北工程大学生命科学与食品工程学院, 河北邯郸 056021)

摘要:建立了 QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱同时检测奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢产物的检测方法。样品用 10 mL 超纯水溶解, 1% 乙酸乙腈溶液提取, 乙酸钠盐析, C₁₈、N-丙基乙二胺 (primary secondary amine, PSA) 和无水硫酸镁净化, 在 ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱上分离, 以 5 mmol/L 乙酸铵溶液和乙腈作为流动相进行梯度洗脱, ESI 负离子模式扫描, 多反应监测 (MRM) 测定, β -玉米赤霉烯酮内标法定量分析。奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢产物在 0.1~50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内呈线性关系, 相关系数均高于 0.999, 基质效应为抑制效应; 检出限 (LOD) 均为 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限 (LOQ) 均为 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢产物的 3 个加标浓度水平的平均回收率范围为 85.2%~119.3%, 相对标准偏差 (RSD) 在 0.3%~12.2% (n=7) 之间。该方法简便快速、准确可靠, 可用于检测奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢物。

关键词:奶粉, 玉米赤霉烯酮, QuEChERS, 高效液相色谱-串联质谱

Determination of Zearalenone and Its Metabolites in Milk Powder by HPLC-MS/MS with QuEChERS Cleanup

XIE Yu-jie^{1,2}, CHEN Hui¹, HU Xue-yan¹, LIU Zhi-nan¹, FAN Chun-lin¹, HU Xiu-zhi², PENG Tao^{1,*}

(1. Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176, China;

2. College of Life Science and Food Engineering, Hebei University of Engineering, Handan 056021, China)

Abstract: A method for simultaneous determination of zearalenone and its metabolites (ZERs) in milk powder was developed by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with QuEChERS cleanup. The sample was diluted with 10 mL ultra-pure water, extracted by 1% acetonitrile acetate, and sodium acetate salting out, cleaned up with C₁₈, PSA and magnesium sulfate anhydrous. The analytes were separated by a reversed phase C₁₈ column and gradiently eluted with 5 mmol/L ammonium acetate and acetonitrile. The determination was conducted by negative electrospray ionization (ESI-) with the multiple reaction monitoring (MRM) mode. The ZERs was quantified by internal standard method with β -zearalenone-d7. The good linearities were obtained for ZERs at the concentration of 0.1~50 $\mu\text{g}/\text{L}$ with the linear correlation coefficients more than 0.999, and the matrix effect was inhibition. The limits of detection (LOD) and the limits of quantification (LOQ) for ZERs were 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. The recoveries at three concentration spiked levels were in the range of 85.2%~119.3%. The repeatability expressed as relative standard deviations (RSD) was ranged from 0.3% to 12.2% (n=7). The method is simple, rapid, accurate and reliable, and can be used for detecting ZERs in milk powder.

Key words: milk powder; zearalenone and its metabolites; QuEChERS; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS)

中图分类号: TS252.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)07-0223-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020.07.038

引文格式: 谢瑜杰, 陈辉, 胡雪艳, 等. QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法检测奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢物 [J]. 食品工业科技, 2020, 41(7): 233-238.

玉米赤霉烯酮 (Zearalenone, ZON) 又称 F-2 毒素, 是由镰刀菌属产生一种毒素, 广泛存在于饲料和

农产品等基质中, 尤其在潮湿地区, 玉米赤霉烯酮更易存在于农产品等基质中^[1-2]。该毒素具有弱的雌

收稿日期: 2019-05-30

作者简介: 谢瑜杰 (1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品安全检测, E-mail: 1443908316@qq.com。

* 通讯作者: 彭涛 (1976-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 兽药残留分析, 食品安全研究, E-mail: caiq_pengtao@126.com。

基金项目: 特色高值农产品新型甄别检测关键技术研究 (2017YFF0211300)。

激素作用,人和动物摄入被玉米赤霉烯酮污染的食物或饲料后会造成生殖系统机能紊乱,且经胃肠道消化后可代谢产生毒性更强的代谢物(代谢途径见图1),严重时可能造成死亡^[2-4]。排出体外的玉米赤霉烯酮通过水和食物会造成第二次污染,人食用后会抑制促性腺激素结合受体,影响人体性机能及第二性征,在外部条件诱导下还会致癌^[5-6]。研究发现,该毒素可通过血-乳屏障进入到牛乳中,导致乳及乳制品中会有玉米赤霉烯酮的残留^[7-8]。随着经济发展及生活水平的提高,乳及乳制品已成为居民获取营养物质的重要来源,而奶粉作为婴幼儿等免疫力低下人群营养物质的主要来源,其质量问题更应被重视,尤其对于玉米赤霉烯酮等对人体危害极大的真菌毒素的污染。

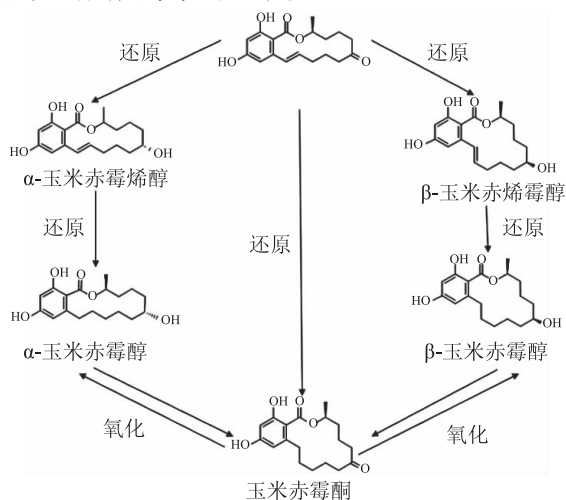


图1 玉米赤霉烯酮在体内代谢途径

Fig.1 Metabolic pathway of zearalenone *in vivo*

由于玉米赤霉烯酮具有毒性,我国食品安全国家标准食品中真菌毒素限量(GB 2761-2017)^[9]中规定玉米赤霉烯酮在小麦等谷物及其制品中限量指标 $\leq 60 \mu\text{g}/\text{kg}$,但并没有相关组织对奶粉中玉米赤霉烯酮的残留限量制定相关规定。因此,为了保障消费者食用产品的安全及个人健康,研究建立能够简单、快速、灵敏、高效地检测奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢物的方法就显得尤为重要。针对检测食品中玉米赤霉烯酮的方法很多,如ELISA^[10]、气相色谱-质谱法^[11]、高效液相色谱法^[12]、高效液相色谱串联质谱法^[13]等。目前主要采用的是高效液相色谱串联质谱法。高效液相色谱串联质谱法具有灵敏度高、稳定可靠、定性定量准确等优势,使其成为检测玉米赤霉烯酮的常用检测方法^[13-14]。截至目前,HPLC-MS/MS常用来检测粮油和谷物中玉米赤霉烯酮及其代谢物^[15-19],很少应用于婴幼儿食品的检测,其中Zöllner等^[17]使用高效液相色谱串联质谱检测早餐谷物和婴儿食品中玉米赤霉烯酮等真菌毒素,其中玉米赤霉烯酮的检出限是 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。但使用HPLC-MS/MS检测奶粉中的玉米赤霉烯酮及其代谢物目前尚未报道。

目前,用于奶粉中兽药及激素残留的净化方法主要有固相萃取柱净化^[20-21]、磁性多壁碳纳米管分散

固相萃取^[22]、分子印迹固相萃取^[23-24]等,这些传统方法在净化技术上有选择性好,抗干扰能力强等特点,但与QuEChERS净化方法相比,存在操作繁琐且耗费高的缺点。近年来,改进和优化后的QuEChERS方法应用在多种基质的农兽药及真菌毒素的残留检测中^[25-26],但针对净化奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢物并未见报道。

本研究对奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢物的分析方法进行研究。为了更好地提取目标物,本研究在加入提取液前先加入适量的水增加分散性,使用乙酸钠作为盐析剂,促使目标物更好地提取。此外,对传统的QuEChERS方法进行优化和改进。建立了改进的QuEChERS净化结合高效液相色谱串联质谱法检测奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢物的方法,并对该方法的检出限、定量限、精密度、基质效应和回收率进行了验证。方法简单快速,灵敏度高,结果可靠准确,可以为准确快速检测奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢物提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

奶粉诺优能 物美超市购买; α -玉米赤霉醇、 β -玉米赤霉醇、 α -玉米赤霉烯醇、 β -玉米赤霉烯醇、玉米赤霉酮、玉米赤霉烯醇、 β -玉米赤霉烯醇-d7标准溶液($10 \text{ mg}/\text{L}$) 德国Dr.E公司,纯度 $\geq 97\%$;乙腈色谱纯、正己烷色谱纯、乙酸质谱级 Fisher公司;乙酸铵色谱纯 Acros Organics公司; C_{18} $50 \mu\text{m}$ 天津博纳艾杰尔公司;氧化锆包覆硅胶(Z-Sep) Sigma-Aldrich公司;N-丙基乙二胺(PSA) $40\sim 60 \mu\text{m}$,天津博纳艾杰尔公司;实验用水为Milli-Q超纯水;其它未做说明的试剂均为分析纯。

Agilent 1290 高效液相色谱仪和 Agilent 6460 三重四极杆质谱仪 美国安捷伦公司;TRIO TM-1 N型漩涡混合器 AS ONE公司;SR-2DS型水平振荡器 TATEC公司;3-30 K型高速冷冻离心机 Sigma公司;N-EVAP 112型氮吹仪 Organomation Associates公司;Milli-Q超纯水仪 Millipore公司;KQ-600B型超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 配制标准溶液 精确称取各标准品 0.01 (精确至 0.0005 g),分别置于 10 mL 棕色容量瓶中,用甲醇溶解并定容至 10 mL ,配成质量浓度为 $1000 \text{ mg}/\text{L}$ 的标准储备液,于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存。需要时各取储备液 0.1 mL 置于 10 mL 棕色容量瓶中,并用甲醇稀释成 $10 \text{ mg}/\text{L}$ 的混合中间液,使用前将中间液用甲醇稀释配制成 $1.0 \text{ mg}/\text{L}$ 的混合标准液。配制好的溶液均避光, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 下保存。

β -玉米赤霉烯醇-d7标准溶液($10 \text{ mg}/\text{L}$)内标溶液(甲醇中)在使用前稀释至 $1 \text{ mg}/\text{L}$ 。

1.2.2 奶粉中玉米赤霉烯酮类化合物提取 准确称 5.00 g 奶粉样品(超市购买)置于 50 mL 离心管中,加入 $1 \text{ mg}/\text{L}$ 内标 $20 \mu\text{L}$,涡旋 20 s ,静置 20 min ,加入 10 mL 超纯水涡旋混匀,再分别加入 10 mL 1% 乙酸乙

表1 玉米赤霉烯酮及其代谢物的质谱分析参数
Table 1 Mass spectrumparamenters for zearalenone and its metabolites

编号	化合物	分子量	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)	碎裂电压 (V)
1	α -玉米赤霉醇 Alph-zearalano(α -ZAL)	322.4	321.1	302.9	20	125
				276.9*	20	
2	α -玉米赤霉烯醇 Alph-zearalenol(α -ZOL)	320.38	319.1	275.1*	20	105
				159.8	25	
3	β -玉米赤霉醇 Beta-zearalano(β -ZAL)	322.4	321.1	302.9	10	125
				276.9*	15	
4	β -玉米赤霉烯醇 Beta-zearalenol(β -ZOL)	320.38	319.1	275.1*	15	135
				159.8	25	
5	玉米赤霉酮 Zearalanone(ZAN)	320.38	319.1	275.1*	20	145
				160.8	20	
6	玉米赤霉烯酮 Zearalenone(ZON)	318.36	317	174.6*	20	135
				130.6	25	
7	Beta-zearalenol-d7	327.42	326	133.2*	25	120

注: * : 为定量离子。

脲和2 g 乙酸钠,快速摇匀,涡旋1 min,10000 r/min 离心10 min,取上清液于50 mL离心管中。用1%乙酸乙脲重复提取1次,合并上清液。

1.2.3 除脂 将1.2.3的提取液加入乙脲饱和正己烷10 mL,涡旋20 s,10000 r/min 离心5 min,弃上层正己烷,用1%乙酸乙脲定容至20 mL,待净化。

1.2.4 净化 将1.2.4溶液取10 mL转移至装有60 mg C₁₈、60 mg PSA、100 mg 无水硫酸镁的15 mL离心管中,水平振荡10 min,10000 r/min 离心10 min,取上清液于另一试管中,在40 °C下氮吹至干,以1 mL水-乙脲(3+1, v/v)定容,过0.22 μ m 滤膜后,供HPLC-MS/MS分析。

1.2.5 测定条件

1.2.5.1 色谱条件 ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(2.1 mm \times 100 mm, 3.5 μ m);柱温:40 °C;流速:0.4 mL/min;进样量:10 μ L;流动相:A为5 mmol/L NH₄Ac溶液,B为乙脲溶液;洗脱梯度:0~5 min,25%~70% B,5~6 min,70% B;6~9 min,70%~25% B。

1.2.5.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI)负离子模式;多反应监测(MRM);毛细管电压;4.0 kV;源温度;350 °C;去溶剂气流:氮气,10 L/min;去溶剂温度;325 °C;锥孔气流:氮气,8 L/min;碰撞气压:氮气,0.4 MPa。其他参数见表1。

1.3 数据处理

采用Excel和Origin 8.5进行数据处理,结果采用形式表示。

2 结果与分析

2.1 提取方式的优化

称取5 g样品,在10 μ g/kg添加浓度下,加入10 mL水及10 mL提取液与直接加入10 mL提取液的回收率进行对比。发现直接加入提取液的样品回收率除 β -玉米赤霉醇外,其他目标物均低于70%,而水化后所有目标物均有明显提高,均高于80%,如图2所示。考虑其原因为奶粉是一种干粉样基质,

同时具有一定的水溶性,为了能将奶粉中目标物更完全地提取出来,本实验选择在加入提取液前加入适量的水,以增加分散性,提高玉米赤霉烯酮及其代谢物的提取效率^[27]。

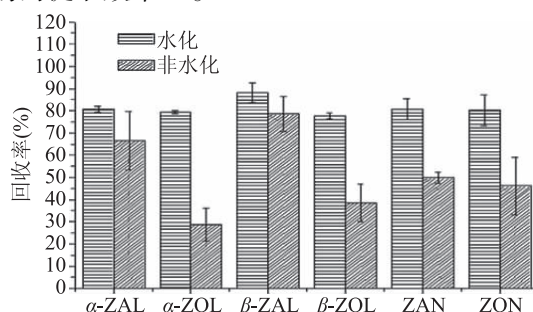


图2 在10 μ g/kg添加浓度下水化对玉米赤霉烯酮及其代谢物回收率的影响

Fig.2 Effect of hydration on recovery of ZERs at 10 μ g/kg concentration

奶粉属于高脂、高蛋白样品。研究表明,乙脲具有沉淀蛋白的作用^[28],同时,玉米赤霉烯酮及其代谢物呈弱酸性,在酸性条件下易于有机溶剂提取,且根据前期实验检测牛奶中玉米赤霉烯酮类毒素,发现使用1%乙酸乙脲作为提取液提取效果最好^[29],回收率在70%~120%之间,因此,本实验选择1%乙酸乙脲作为提取奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢物的提取液。

2.2 净化方法的优化

鉴于玉米赤霉烯酮及其代谢物在食品中含量甚微,但干扰物质甚多,因此净化便成为去除干扰物的关键步骤^[30]。一般净化方式主要有固相萃取、免疫亲和柱净化、液-液分配、基质分散固相萃取等技术。本实验选择使用液-液分配和QuEChERS两步净化方法消除奶粉中干扰物质的影响。

首先使用乙脲饱和正己烷去除奶粉中大部分脂肪。本实验对比了乙脲饱和正己烷的使用次数,在

提取液与乙腈饱和正己烷体积相同的情况下,发现随着乙腈饱和正己烷的使用次数的增多,净化效果越好,但是目标化合物的回收率也会随之降低,为了兼顾净化效果以及回收率,本实验选择使用一次乙腈饱和正己烷除脂。

其次,采用 QuEChERS 方法对除脂后的提取液进一步净化。常见的吸附剂中, C_{18} 可去除基质中的脂肪和酯类等^[29], Z-Sep 常被用于去除高脂肪蔬菜产品的提取物^[31], PSA 常用于去除脂肪酸、糖等极性物质^[29], 无水硫酸镁主要用来去除提取液中残留的水分^[29]。本实验将 10 mL 提取液倒入装有吸附剂的 15 mL 塑料离心管中。吸附剂选择使用 60 mg C_{18} 或 60 mg Z-Sep 分别结合 60 mg PSA、100 mg 无水硫酸镁在 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度下进行对比,如图 3 所示。结果发现,在相同质量的 PSA 和无水硫酸镁的条件下, C_{18} 对目标物净化后的回收率影响较小,除 β -ZOL 外,其余目标物的回收率均高于 80%,而使用 Z-Sep 净化后,除 β -ZOL 外,其余化合物的回收率均低于 C_{18} 的净化结果,尤其是 α -ZAL 和 ZON 回收率仅有 60%。因此本实验选择 C_{18} 、PSA、无水硫酸镁三种吸附剂作为研究对象。

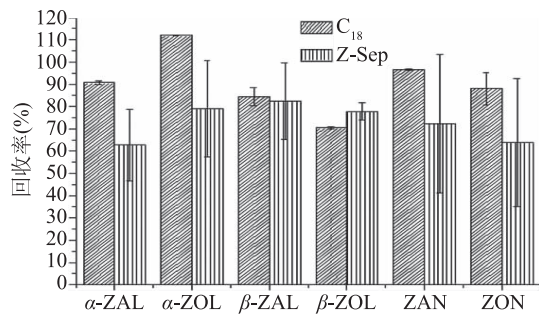


图3 在 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度下 C_{18} 和 Z-Sep 对玉米赤霉烯酮及其代谢物回收率的影响
Fig.3 Effecting of C_{18} and Z-Sep on the recovery of ZERs at 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ conetration

本文在 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加水平下对 C_{18} 、PSA 和无水硫酸镁的用量进行优化。选择 200 mg C_{18} 和无水硫酸镁,分别使用 40、60、80、100、150、200 mg 的 PSA 对提取液进行净化,根据净化效果和净化后的回收率选取最佳的净化填料比例。图 4 (a) 给出了 PSA 用量变化时 6 种目标物回收率的变化情况,当 PSA 用量为 40 mg 时,6 种目标物的回收率相对较低,用量在 80~200 mg 时,除 α -ZAL, α -ZOL, β -ZAL 外,其余三种目标化合物的回收率随着用量的增多而上升,且 RSD 值也随之增大,而使用 60 mg PSA 时回收率和重复性结果均较其他用量时效果好;

当 PSA 用量为 60 mg,无水硫酸镁用量为 200 mg 的时候,分别使用 40、60、80、100、150、200 mg 的 C_{18} 对提取液进行净化,图 4 (b) 给出了 C_{18} 用量对目标化合物回收率的影响,可以看出当用量为 60 mg 时,除 α -ZAL 和 β -ZAL 外,其余 4 种目标物的回收率优于其他条件;

当 PSA 和 C_{18} 用量均为 60 mg 时,分别使用 40、60、80、100、150、200 mg 的 PSA 对提取液进行净化,

根据目标化合物的回收率及 RSD,如图 4 (c) 所示,当无水硫酸镁用量为 100 mg 时,除 α -ZOL, β -ZOL 和 ZAN 外,其余 3 种目标物的回收率和 RSD 最好。净化效果如图 5 所示,在最佳净化填料比例下,6 种目标物在 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度下,目标化合物的出峰位置无杂峰出现。因此,本文选择的吸附剂比例为 C_{18} + PSA + 无水硫酸镁 (60 mg + 60 mg + 100 mg)。

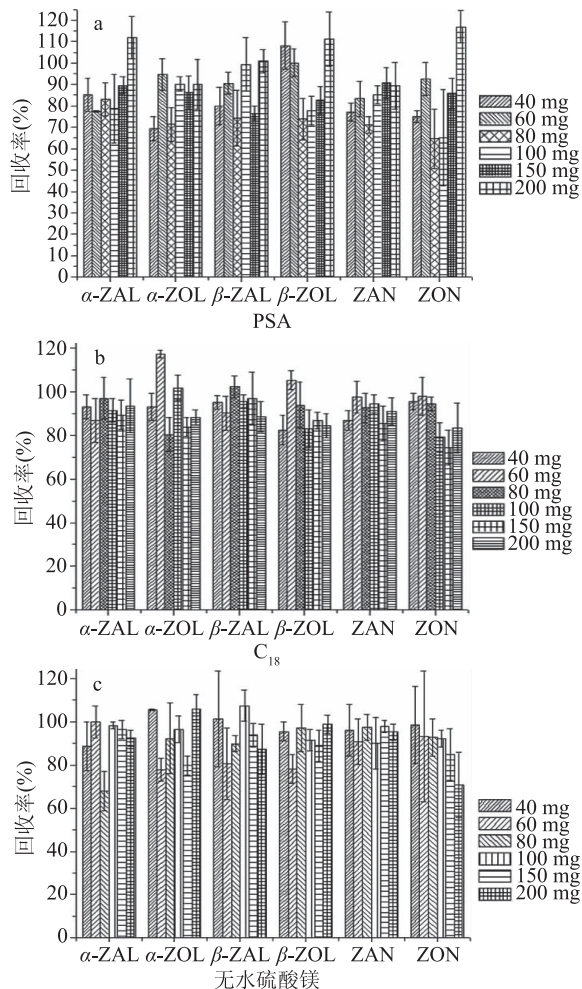


图4 在 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度下吸附剂对回收率的影响
Fig.4 Effect of adsorbent on the recovery at 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ conetration

注:a:PSA 对回收率的影响;b: C_{18} 对回收率的影响;
c:无水硫酸镁对回收率的影响。

2.3 色谱条件的选择

结合前期研究结果^[26],发现玉米赤霉烯酮及其代谢物在 C_{18} 色谱柱上可以很好的保留,因此本实验选择在 ZORBAX SB- C_{18} 柱上分离。有研究报道,乙酸铵溶液作为流动相时,可以减少基质干扰和提高离子化效率^[29],因此本实验选择使用乙腈和 5 mmol/L 乙酸铵作为检测奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢物的流动相。

2.4 基质效应的影响

为了考察基质效应,本试验建立了溶剂标准曲线和基质标准曲线,其浓度均为 0.1、0.2、0.5、1、2、5、10、20、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。通过比较两条标曲的斜率判定基质效应。具体计算公式如下:基质效应

表3 玉米赤霉烯酮及其代谢物的线性范围、回归方程、相关系数、检出限和定量限

Table 3 Linear range, regression equation, correlation coefficient, LOD and LOQ of zearalenone and its metabolites

化合物	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	回归方程	相关系数 (r)	检出限 ($\mu\text{g/kg}$)	定量限 ($\mu\text{g/kg}$)
α -ZAL	0.1~50	$y = 214.898x + 57.834$	0.9993	0.1	0.2
α -ZOL	0.1~50	$y = 115.843x - 2.686$	0.9997	0.1	0.2
β -ZAL	0.1~50	$y = 167.494x + 139.67$	0.9990	0.1	0.2
β -ZOL	0.1~50	$y = 162.885x - 14.543$	0.9996	0.1	0.2
ZAN	0.1~50	$y = 397.773x - 102.608$	0.9998	0.1	0.2
ZON	0.1~50	$y = 73.329x - 56.838$	0.9993	0.1	0.2

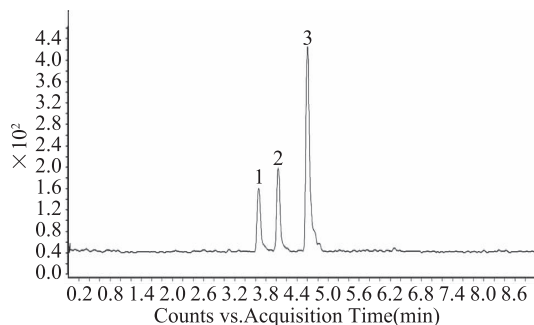


图5 奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢物 TIC 图

Fig.5 TIC diagram of ZERs in milk powder

注:1: β -玉米赤霉醇; β -玉米赤霉烯醇2: α -玉米赤霉烯醇; α -玉米赤霉醇、

玉米赤霉酮;3:玉米赤霉烯酮。

(ME, %) = (基质匹配标准曲线的斜率 - 溶剂标准曲线的斜率) / 溶剂标准曲线的斜率 $\times 100$ 。根据受到基质效应的强弱,将基质效应分为三类:ME 值低于 -20% 表现为基质抑制效应;ME 值介于 -20% 和 20% 之间表现为弱基质效应;ME 值高于 20% 表现为基质增强效应。结果如表 2 所示,所有目标化合物的基质效应均表现为基质抑制效应,为了降低基质的干扰,保证定量的准确性,本实验选择内标法进行测定。

表2 奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢物的基质效应

Table 2 Matrix effect for zearalenone and its metabolites in milk

化合物	基质效应	
	内标法	外标法
α -ZAL	-65.3%	-95.05%
α -ZOL	-66.9%	-93.34%
β -ZAL	-62.7%	-94.68%
β -ZOL	-67.1%	-96.66%
ZAN	-64%	-94.85%
ZON	-65.3%	-92.48%

2.5 定量方式及线性关系

本文以 β -玉米赤霉烯醇-d7 为内标,以阴性奶粉样品提取液作为溶剂配制混合标准溶液,采用内标法定量,6 种目标物的线性方程和相关系数如表 3 所示。在阴性样品中添加目标化合物,按照给定的方法测定,在 0.1~50 $\mu\text{g/L}$ 线性范围以定性离子的信噪比 $S/N \geq 3$ 对应添加水平作为检测限 (LOD),定性

离子的信噪比 $S/N \geq 10$ 对应的添加水平作为定量限 (LOQ),结果见表 3。结果显示该方法的检出限为 0.1 $\mu\text{g/kg}$,定量限为 0.2 $\mu\text{g/kg}$ 。

2.6 准确度和精密度

本实验为了考察方法的准确度和精密度,使用阴性奶粉为空白样品,分别选择 LOQ 的 1 倍、2 倍和 10 倍浓度不同的玉米赤霉烯酮及其代谢物标准溶液作为添加量,按前述方法进行测定,每个浓度 7 个平行。同时做空白实验,均扣除本底值后计算添加回收率和相对标准差。6 种目标物在奶粉中的添加回收率为 85.2%~119.3%,RSD 在 0.3%~12.2% 之间,符合方法学验证的要求,结果见表 4。

表4 准确度和精密度实验结果(n=7)

Table 4 Accuracy and precision of the method(n=7)

化合物	加标水平 ($\mu\text{g/kg}$)	平均回收率 (%)	相对标准差 (%)
α -ZAL	0.2	102.8	10.5
	0.4	90.3	12.2
	2	93.8	7.2
α -ZOL	0.2	104.3	6.5
	0.4	92.3	8.2
	2	98.5	8.8
β -ZAL	0.2	85.7	5.2
	0.4	102.2	5.6
	2	103.1	8.9
β -ZOL	0.2	100.5	5.4
	0.4	92.2	8.5
	2	85.2	8.4
ZAN	0.2	119.3	0.3
	0.4	101.2	11.5
ZON	2	90.2	6.8
	0.2	102.6	5.0
	0.4	107.1	5.0
	2	90.1	3.7

3 结论

本研究建立了 QuEChERS-HPLC-MS/MS 对奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢物的检测方法。对提取方法、净化条件等方面进行优化,最终选取使用 10 mL 超纯水稀释,1% 乙酸乙腈提取,60 mg PSA、60 mg C_{18} 和 100 mg 无水硫酸镁净化,HPLC-MS/MS 检测,内标法定量。该方法具有简单、快速、灵敏度

高,可推广用于动物性食品中玉米赤霉烯酮及其代谢物的检测。

参考文献

- [1] 王相生.玉米赤霉烯酮及其降解酶对母猪繁殖性能的影响[D].兰州:甘肃农业大学,2017.
- [2] 郭闪闪,杨红建,王婷,等.玉米赤霉烯酮和呕吐毒素对奶牛健康和生鲜乳质量的影响及预防措施[J].中国奶牛,2014(10):53-57.
- [3] Kuiper-Goodman T, Scott P M, Watanabe H. Risk assessment of the mycotoxin zearalenone [J]. Regulatory Toxicology & Pharmacology Rtp, 1987, 7(3): 253-306
- [4] Pajewska M, Łojko M, Cendrowski K, et al. The determination of zearalenone and its major metabolites in endometrial cancer tissues [J]. Analytical & Bioanalytical Chemistry, 2018, 410(12): 1-12.
- [5] Lhotská I, Gajdošová B, Solich P, et al. Molecularly imprinted vs. reversed-phase extraction for the determination of zearalenone: a method development and critical comparison of sample clean-up efficiency achieved in an on-line coupled SPE chromatography system [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2018, 410(14): 3265-3273.
- [6] Hatch R C. Veterinary toxicology [J]. The Canadian Veterinary Journal, 1970, 11(10): 208.
- [7] Winkler J, Kersten S, Valenta H, et al. Development of a multi-toxin method for investigating the carryover of zearalenone, deoxynivalenol and their metabolites into milk of dairy cows [J]. Food Additives & Contaminants, 2015, 32(3): 10.
- [8] Prelusky D B, Scott P M, Trenholm H L, et al. Minimal transmission of zearalenone to milk of dairy cows [J]. Journal of Environmental Science & Health part B, 1990, 25(1): 87-103.
- [9] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 2761-2017 食品安全国家标准食品中真菌毒素限量 [S]. 北京: 北京: 中国标准出版社, 2017: 4-5.
- [10] 贺艳, 郑文杰, 赵卫东, 等. 酶联免疫法检测动物源性产品中玉米赤霉醇残留 [J]. 食品研究与开发, 2009, 30(6): 124-127.
- [11] 李晓薇, 夏曦, 丁双阳, 等. GC/MS 法同时检测牛尿中三种玉米赤霉醇 [C]. 世界华人质谱学术研讨会暨中国质谱学会全国学术交流会, 2006.
- [12] 游丽娜, 李贤良, 郝存显, 等. 免疫亲和柱净化-高效液相色谱法同时检测鸡蛋中 6 种玉米赤霉醇类化合物残留量 [J]. 色谱, 2012, 30(10): 1021-1025.
- [13] Lee M J, Kim H J. Development of an immunoaffinity chromatography and LC-MS/MS method for the determination of 6 zearalenones in animal feed [J]. Plos One, 2018, 13(3): e0193584.
- [14] 朱捷, 马桂娟, 马雪梅. HPLC-MS/MS 法测定牛奶中两种玉米赤霉醇 [J]. 食品研究与开发, 2017, 38(6): 159-163.
- [15] 宋月, 吴平谷, 胡争艳, 等. 复合柱净化-超高效液相色谱串联质谱法测定植物油及谷类制品中玉米赤霉烯酮和 α -玉米赤霉烯醇 [J]. 卫生研究, 2018, 47(4): 615-620.
- [16] 魏春雁, 孟繁磊, 樊慧梅, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定粮油食品中 α -玉米赤霉烯醇和玉米赤霉烯酮 [J]. 吉林农业科学, 2014, 39(4): 84-88.
- [17] Zöllner P, Berner D, Jodlbauer J, et al. Determination of zearalenone and its metabolites α - and β -zearalenol in beer samples by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography B Biomedical Sciences & Applications, 2000, 738(2): 233-241.
- [18] Juan C, Ritieni A, Jordi Mañes. Determination of trichothecenes and zearalenones in grain cereal, flour and bread by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Food Chemistry, 2012, 134(4): 2389-2397.
- [19] Liao C D, Chiueh L C, Shih D Y C. Determination of zearalenone in cereals by high-performance liquid chromatography and liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2009, 17(1): 7.
- [20] 张玉洁, 李丹, 李倩, 等. 奶及奶粉中 4 种阿维菌素类药物残留检测高效液相色谱法 [J]. 中国兽医杂志, 2017, 53(4): 88-91.
- [21] 那文志, 段文超, 姜源. 超高效液相色谱串联质谱法检测牛奶及奶粉中氟霉毒素残留 [J]. 生命科学仪器, 2013, 11(Z1): 23-26.
- [22] 胡争艳, 王天娇, 王立媛, 等. 磁性多壁碳纳米管分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时检测婴幼儿配方奶粉中 14 种性激素残留 [J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(6): 641-645, 649.
- [23] 刘奇琳, 黄祥晖, 廖素兰. 高效液相法测定牛奶中 4-硝基咪唑抗生素残留 [J]. 武夷学院学报, 2017, 36(3): 17-20.
- [24] 刘慧琳, 倪天鸿, 周凯文, 等. 分子印迹固相萃取-高效液相色谱法检测奶粉中的双胍胺 [J]. 食品科学, 2017, 38(20): 203-208.
- [25] 赵辉. 蔬菜中农药残留的 QuEChERS 方法结合 UPLC-MS/MS 同时检测改进分析 [J]. 农业与技术, 2019, 39(12): 10-12.
- [26] 刘婷. QuEChERS 结合 GC-MS/MS 和 LC-MS/MS 高通量检测果蔬农药多残留研究 [D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2018.
- [27] 彭涛, 储晓刚, 杨强, 等. 高效液相色谱/串联质谱法测定奶粉中的硝基咪唑代谢物 [J]. 分析化学, 2005(8): 1073-1076.
- [28] 李玮, 艾连峰, 郭春海, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定牛奶和奶粉中的青霉素类药物及其主要酶解代谢产物 [J]. 色谱, 2013, 31(10): 946-953.
- [29] 谢瑜杰, 陈辉, 彭涛, 等. QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱测定牛奶中 6 种玉米赤霉烯酮类毒素 [J]. 食品科学, 2019, 40(10): 304-310.
- [30] 曾红燕, 黎源倩, 敬海泉. 高效液相色谱法测定粮食中玉米赤霉烯酮及其代谢物 [J]. 分析化学, 2006(3): 351-354.
- [31] 王连珠, 黄小燕, 王登飞, 等. QuEChERS-液相色谱-串联质谱法测定甜玉米及毛豆中 32 种磺酰脲类除草剂残留 [J]. 色谱, 2015, 33(5): 501-507.