

实验技术与方法

QuEChERS 前处理结合高效液相色谱法及高效液相色谱-串联质谱法检测葡萄酒中 3 种赭曲霉毒素

刘青<sup>1</sup>, 庞世琦<sup>1</sup>, 熊欣<sup>1,2</sup>, 何素媚<sup>1</sup>, 陈文锐<sup>1</sup>, 张广文<sup>2</sup>  
(1. 广东出入境检验检疫局检验检疫技术中心 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; 2. 暨南大学, 广东 广州 510010)

**摘要:**目的 建立 QuEChERS 净化技术结合高效液相色谱法及高效液相色谱-串联质谱法检测葡萄酒中赭曲霉毒素 A (OTA)、赭曲霉毒素 B (OTB) 和赭曲霉毒素 C (OTC) 3 种赭曲霉毒素的方法。方法 对 QuEChERS 净化条件和高效液相色谱及高效液相色谱-串联质谱检测条件进行优化, 葡萄酒样品先用乙腈-冰乙酸 (90:10, V/V) 进行酸化稀释, 离心后取上清液经 C<sub>18</sub> + SiO<sub>2</sub> + MgSO<sub>4</sub> 净化剂组合净化过滤, 待测样液经液相色谱 C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 梯度洗脱分离后, 分别采用荧光检测器和串联质谱电喷雾技术, 在多反应监测 (MRM) 模式下, 实现同时对葡萄酒中 OTA、OTB 和 OTC 三种赭曲霉毒素的定性和定量分析。结果 方法最低定量限 (LOQ) 均为 2.0 μg/kg, 相对标准偏差 (RSD) 为 2.01% ~ 7.52% (n=6)。结论 该方法操作方便、灵敏度高、重现性好, 适用于日常监管工作中对葡萄酒中赭曲霉毒素的检测。

**关键词:** QuEChERS; 高效液相色谱; 高效液相色谱-串联质谱; 葡萄酒; 赭曲霉毒素; 霉菌毒素; 食品污染物

**中图分类号:** R155      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1004-8456(2018)05-0481-06

**DOI:** 10.13590/j.cjfh.2018.05.007

Detection of three ochratoxins in wine by QuEChERS combined with high performance liquid chromatography and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LIU Qing<sup>1</sup>, PANG Shiqi<sup>1</sup>, XIONG Xin<sup>1,2</sup>, HE Sumei<sup>1</sup>, CHEN Wenrui<sup>1</sup>, ZHANG Guangwen<sup>2</sup>

(1. Guangdong Key Laboratory of Import and Export Technical Measures of Animal, Plant and Food, Inspection and Quarantine Technology Center of Guangdong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Guangdong Guangzhou 510623, China; 2. Jinan University, Guangdong Guangzhou 510010, China)

**Abstract: Objective** Method were developed to detect three ochratoxins including ochratoxin A (OTA), ochratoxin B (OTB) and ochratoxin C (OTC) in wine via QuEChERS combined with high performance liquid chromatography (QuEChERS-HPLC) and HPLC-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). **Methods** The wine samples were diluted with acetonitrile-glacial acetic acid (90:10, V/V) and then purified with a modified QuEChERS using a scavenging agent combination of C<sub>18</sub>, SiO<sub>2</sub> and MgSO<sub>4</sub> after centrifugation. The separation was performed on C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) after the gradient elution on a liquid chromatography. Three ochratoxins contaminants in wine were analyzed by HPLC-FLD and HPLC-MS/MS-ESI in the positive ionization under the multiple-reaction monitoring (MRM) mode. **Results** By these method, the limit of quantification (LOQ) were 2.0 μg/kg and the relative standard deviation (RSD) was between 2.01% -7.52% (n=6). **Conclusion** The developed methods were proved to be simple, sensitive, reproducible and were suitable for the determination of ochratoxins in wine in daily supervision.

**Key words:** QuEChERS; high performance liquid chromatography; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; wine; ochratoxin; mycotoxins; food contaminants

赭曲霉毒素 (ochratoxins, OT) 是以纯绿青霉 ( *Penicillium verrucosum* )、赭曲霉 ( *Aspergillus ochraceus* ) 和炭黑曲霉 ( *A. carbonarius* ) 等真菌产生的一组结构类似的有毒代谢产物, 常见的有赭曲霉毒素 A ( ochratoxin A, OTA )、赭曲霉毒素 B

收稿日期: 2018-06-21  
基金项目: 国家质检总局科技计划项目 (2016IK050)  
作者简介: 刘青 女 高级工程师 研究方向为食品安全与检测  
E-mail: gdcicqlq@163.com

(ochratoxin B, OTB) 和赭曲霉毒素 C (ochratoxin C, OTC) 等。其中毒性最大、对食品污染最严重的是 OTA。研究<sup>[1]</sup>表明, OTA 不仅具有免疫毒性、肾毒性和肝毒性, 并且还有致畸、致突变和致癌作用, 国际癌症研究机构 (International Agency for Research on Cancer, IARC) 已将其定义为 2B 类潜在致癌物<sup>[2]</sup>。在葡萄的种植和葡萄酒的酿制过程中, 由于受生长条件和制作工艺的影响, 很容易造成赭曲霉毒素的污染<sup>[3-4]</sup>, 因此欧盟委员会 (EU), 以及我国 GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》中均规定葡萄酒中 OTA 的限量为 2.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

OTC 是 OTA 的前衍生物, OTB 则是 OTA 的脱氯衍生物。毒性方面, OTC 和 OTA 的毒性相当, OTB 相对较弱。通过口服和注射, OTC 能够迅速水解成 OTA, 表现出 OTA 和 OTC 之间的协同毒性作用。由于同一种真菌的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<sup>[5-6]</sup>, 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。为了避免低估赭曲霉毒素的总摄入量和可能的不良反应, 必须考虑这 3 种毒素在人体内累积所达到的毒性效果。所以建立一个同时检测这 3 种毒素的简单、快速、有效的检测方法很有必要。

目前国内对食品中赭曲霉毒素的检测主要集中在 OTA。OTA 提取净化技术主要有液-液萃取净化 (LLE) 法<sup>[7-8]</sup>、免疫亲和柱净化 (IAC) 法<sup>[9-10]</sup>、固相萃取柱净化 (SPE) 法<sup>[11]</sup>等; 检测方法主要有荧光光度检测法<sup>[12-13]</sup>、酶联免疫吸附 (ELISA) 法<sup>[14]</sup>、高效液相色谱 (HPLC) 法<sup>[15]</sup>、高效液相色谱-串联质谱 (HPLC-MS/MS) 法<sup>[16-17]</sup>和胶体金试纸条法<sup>[18-19]</sup>等。鉴于葡萄酒成分复杂, 其中的赭曲霉毒素含量不高, 可能会对目标检测产生干扰, 日常检测中通常采用 IAC 或 SPE 等富集净化技术对样品进行前处理, 处理后赭曲霉毒素富集程度高、本底纯净, 但成本较高, 不太适用于大批量葡萄酒样品的检测。QuEChERS 技术是由美国化学家 Lehotay 和德国的 Anastassiadas 于 2003 年提出的, 是集快速、简单、便宜、有效、可靠、安全于一体的前处理技术, 目前已经广泛应用于农药残留、兽药残留的分析检测中<sup>[20-22]</sup>。近年来, 也开始逐渐运用于真菌毒素检测中<sup>[23-28]</sup>, 在 OTA 的检测研究中也有一些应用<sup>[29-30]</sup>, 但目前尚未看到用于同时检测葡萄酒中 3 种赭曲霉毒素的相关报道。

本试验建立了 QuEChERS 净化技术结合 HPLC 法及 HPLC-MS/MS 法检测葡萄酒中 3 种赭曲霉毒素 (OTA、OTB 和 OTC) 的方法, 方法灵敏度高、重现

性好, 降低了检测成本、提高了检测效率, 能够满足实际工作中大批量葡萄酒样品检测需求。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器与试剂

e2695 型高效液相色谱仪 (配置荧光检测器, 美国 Waters)、API 3500 Q Trap 超高压液相色谱-三重四级杆串联质谱仪 (美国 AB)、振荡器、冷冻离心机。

OTA 标准品 (CAS: 303-47-9, 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 美国 Trilogy), OTB 标准品 (CAS: 4825-86-9, 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 美国 Romer Labs), OTC 标准品 (CAS: 4865-85-4, 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 加拿大 Toronto Research Chemicals), 乙腈、乙酸均为色谱纯, 氯化钠、 $\text{SiO}_2$  均为分析纯, 柠檬酸钠二水合物、柠檬酸氢二钠倍半水合物、无水硫酸镁、 $\text{C}_{18}$  固相萃取 (dSPE) 分散剂、佛罗里硅土、PSA dSPE 分散剂、 $\text{NH}_2$ 、GCB dSPE 分散剂, 实验室用水符合 GB/T 6682—2008《分析实验室用水规格和试验方法》<sup>[31]</sup>中一级水的规定。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 样品前处理

称取 2.6 g 混合吸附剂 (无水硫酸镁、氯化钠、柠檬酸钠二水合物和柠檬酸氢二钠盐倍半水合物, 比例为 4:1:1:0.5) 置于 50 ml 离心管中, 加入 10 ml 葡萄酒样品, 加入 10 ml 乙腈-冰乙酸 (90:10, V/V)。涡旋 10 s, 4 500 r/min 离心 10 min。用乙腈将有机相定容至 10 ml。取 1 ml 上清液于 1.5 ml PE 管中, 加入净化剂 (30 mg  $\text{C}_{18}$  + 30 mg  $\text{SiO}_2$  + 150 mg  $\text{MgSO}_4$ )。涡旋 10 s, 10 000 r/min 离心 2 min。取上清, 过有机滤膜后待进样分析。

#### 1.2.2 标准曲线的制作

将 3 种毒素标准样品用乙腈制作成 1 000  $\mu\text{g}/\text{L}$  的混合标准储备液, 保存期限为一年。试验时现配成 100  $\mu\text{g}/\text{L}$  的混合标准溶液, 逐步稀释成需要的质量浓度 (1.0、4.0、10.0、20.0、25.0  $\mu\text{g}/\text{L}$ )。分别用 HPLC 法进行测定, 并用 HPLC-MS/MS 法对结果进行确认, 以质量浓度为横坐标 ( $x$ ), 峰面积为纵坐标 ( $y$ ), 绘制标准曲线。

#### 1.2.3 仪器条件

##### 1.2.3.1 HPLC 条件

Agilent-LC- $\text{C}_{18}$  柱 (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) 色谱柱; 柱温 35  $^{\circ}\text{C}$ ; 激发波长 315 nm (0 ~ 35 min)、333 nm (35 ~ 50 min), 发射波长 460 nm; 流速 1 ml/min; 进样量 20  $\mu\text{l}$ ; 流动相: A 为水-乙酸 (99:1, V/V), B 为乙腈-冰乙酸 (99:1, V/V); 洗脱条件见表 1。

表 1 HPLC 梯度洗脱条件

Table 1 HPLC gradient elution conditions			
时间/min	流速/(ml/min)	流动相 A/%	流动相 B/%
15	1	35	65
25	1	50	50
35	1	50	50
37	1	70	30
47	1	70	30
50	1	35	65

1.2.3.2 HPLC-MS/MS 条件

色谱: Agilent ZORBA- $C_{18}$  柱 (3.0 mm  $\times$  150 mm, 3.5  $\mu$ m) 色谱柱; 柱温 40  $^{\circ}$ C; 流速 0.3 ml/min; 进样量 20  $\mu$ l; 流动相: A 为 0.1% 甲酸, B 为乙腈; 洗脱条件见表 2。

表 2 HPLC-MS/MS 梯度洗脱条件

Table 2 HPLC gradient elution conditions of HPLC-MS/MS			
时间/min	流速/(ml/min)	流动相 A/%	流动相 B/%
0.5	0.3	90	10
2.0	0.3	10	90
5.0	0.3	10	90
5.1	0.3	90	10
10.0	0.3	90	10

质谱: 离子源为电喷雾离子源 (ESI); 扫描方式: 正离子扫描, 多反应监测 (MRM) 模式; 毛细管电

压 5.5 kV; 离子源温度 550  $^{\circ}$ C。

2 结果与分析

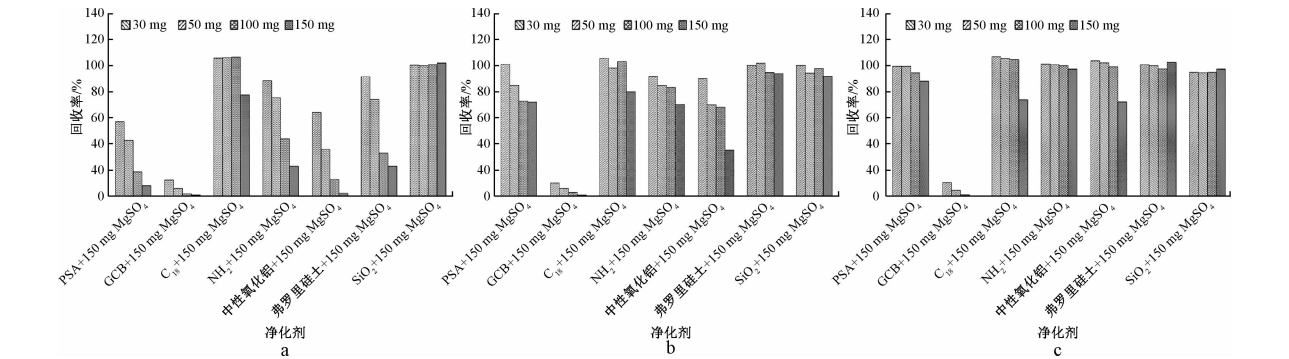
2.1 前处理方法的优化

2.1.1 提取剂的选择

根据国内外文献<sup>[23-30]</sup>, QuEChERS 分析的吸附剂多采用无水硫酸镁、氯化钠、醋酸钠、柠檬酸钠、柠檬酸钠二水合物和柠檬酸氢二钠盐倍半水合物等。FERNANDES 等<sup>[1]</sup>对马德拉烈性葡萄酒中 OTA 检测时, 对 QuEChERS 作了较成熟的筛选试验, 采用了无水硫酸镁、氯化钠、柠檬酸钠二水合物和柠檬酸氢二钠盐倍半水合物, 比例为 4: 1: 1: 0.5 混合, 提取效果良好。故试验选择了该比例混合试剂作为提取剂。

2.1.2 净化剂的优化

QuEChERS 前处理技术常用的净化剂有 PSA、GCB、 $C_{18}$ 、中性氧化铝、 $NH_2$ 、弗罗里硅土、 $SiO_2$ 。本试验采用基质加标方法对净化剂进行了筛选, 考察了不同净化剂以及不同添加量对回收率的影响。结果显示,  $C_{18}$ 、 $NH_2$ 、弗罗里硅土和  $SiO_2$  为较优净化剂, 见图 1。



注: a、b、c 分别为 OTA、OTB、OTC  
图 1 3 种赭曲霉毒素经不同净化剂处理后的回收率比较 (3 种毒素的添加量均为 100  $\mu$ g/L)  
Figure 1 Comparison of recoveries of different sorbents for d-SPE clean-up of 3 ochratoxins at spiking level 100  $\mu$ g/L

试验了  $C_{18}$  +  $NH_2$ 、 $C_{18}$  + 弗罗里硅土和  $C_{18}$  +  $SiO_2$  共 3 种 QuEChERS 净化剂组合, 以提高目标物的响应值。采用基质加标的方法, 添加量为 2.0  $\mu$ g/L 的 OTA、OTB、OTC 混合标准品, 以选择最合适的净化剂或净化剂组合, 结果见图 2。试验表明 30 mg  $C_{18}$  + 30 mg 弗罗里硅土 + 150 mg  $MgSO_4$  和 30 mg  $C_{18}$  + 30 mg  $SiO_2$  + 150 mg  $MgSO_4$  两组对 OTA、OTB、OTC 响应值较高。本试验选择了 30 mg  $C_{18}$  + 30 mg  $SiO_2$  + 150 mg  $MgSO_4$  组合作为净化剂。

2.2 仪器条件的优化

2.2.1 色谱流动相的选择

试验考察了流动相 A 为水-冰乙酸 (99: 1, V/V) 和 B 为乙腈-冰乙酸 (99: 1, V/V) 以及 A 为水-三氟

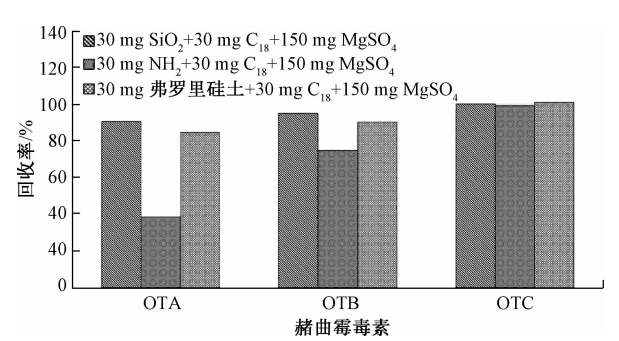


图 2 3 种赭曲霉毒素经不同净化剂组合处理后的回收率比较 (3 种毒素的添加量均为 2.0  $\mu$ g/L)  
Figure 2 Comparison of recoveries of different sorbents for d-SPE clean-up of 3 ochratoxins at spiking level 2.0  $\mu$ g/L

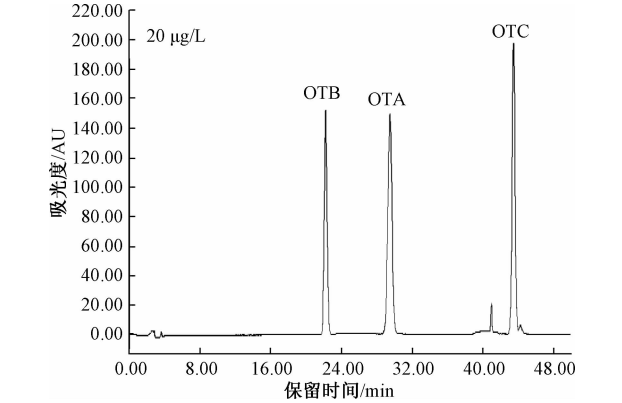
乙酸(99.8:0.2,V/V)和 B 为纯乙腈。结果表明,以第一种流动相组合得到的基线平稳,重现性好,因此,选择 A 为水-冰乙酸(99:1,V/V),B 为乙腈-冰乙酸(99:1,V/V)的流动相组合进行梯度洗脱,在 50 min 之内对 3 种毒素进行分离。

### 2.2.2 检测波长的优化

本试验采用荧光检测器对 OTA、OTB、OTC 进行检测。通过对比全光谱图,3 种毒素的激发波长分别为 333、318 和 315 nm,发射波长为 460 nm。通过优化,设置荧光检测器激发波长 315 nm(0~35 min)、333 nm(35~50 min),发射波长 460 nm,得到的目标物响应更高。洗脱效果见图 3。

### 2.2.3 质谱条件的优化

用质量浓度为 30 μg/L 的混合标准溶液,对目标物进行一级和二级质谱扫描,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。3 种化合物的质谱分析参数见表 3,MRM 色谱图见图 4,包括目标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。



注:保留时间:OTB 22.4 min;OTA 29.7 min;OTC 43.5 min

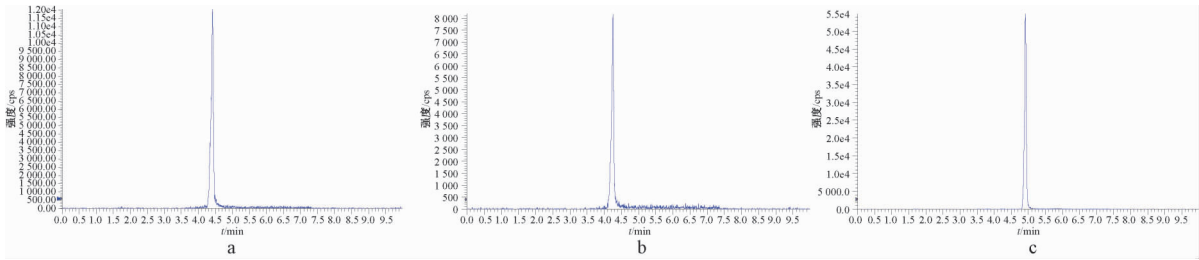
图 3 3 种赭曲霉毒素的高效液相色谱图

Figure 3 HPLC chromatogram of three ochratoxins

表 3 串联质谱分析参数  
Table 3 Parameters of MS/MS

化合物	离子源	保留时间/min	母离子/(m/z)	子离子/(m/z)	去簇电压/V	碰撞能量/eV
OTA	ESI <sup>+</sup>	4.41	404.1	239.0 <sup>*</sup> ,358.0	90,90	32,20
OTB	ESI <sup>+</sup>	4.25	370.2	205.0 <sup>*</sup> ,324.0	79,79	29,18
OTC	ESI <sup>+</sup>	4.91	432.1	239.0 <sup>*</sup> ,358.1	113,113	37,23

注: \* 为定量离子



注:a、b、c 分别为 OTA、OTB、OTC

图 4 3 种赭曲霉毒素的 MRM 图

Figure 4 MRM chromatograms of three ochratoxins

## 2.3 方法的验证

### 2.3.1 标准曲线与检出限

配制 3 种毒素不同质量浓度的系列混合标准溶液进行 HPLC 法和 HPLC-MS/MS 法分析测定。以

峰面积响应值(y)对浓度(x, μg/L)进行线性回归,所得线性系数 R 均大于 0.99,检出限为 1.0 μg/L,定量限为 2.0 μg/L。详见表 4。

表 4 HPLC 和 HPLC-MS/MS 法检测 OTA、OTB、OTC 的线性方程

Table 4 Analytic curves of OTA, OTB and OTC by HPLC and HPLC-MS/MS

化合物	线性范围/(μg/L)	HPLC		HPLC-MS/MS	
		线性方程	线性系数 R	线性方程	线性系数 R
OTA	1.0~25.0	$y = 1.01 \times 10^5 x - 6.72 \times 10^4$	0.997 1	$y = 1.90 \times 10^4 x - 7.78 \times 10^3$	0.997 8
OTB	1.0~25.0	$y = 3.95 \times 10^4 x + 8.88 \times 10^3$	0.998 2	$y = 4.58 \times 10^4 x - 1.67 \times 10^3$	0.999 9
OTC	1.0~25.0	$y = 4.88 \times 10^4 x - 1.50 \times 10^4$	0.996 6	$y = 1.06 \times 10^4 x - 5.04 \times 10^3$	0.999 8

### 2.3.2 精密度和回收率

选用白葡萄酒、红葡萄酒、桃红葡萄酒、葡萄汁 4 种空白基质,分别添加 1 倍限量、2 倍限量和 10 倍限量低、中、高的三个水平混合标准品,分别采用 HPLC 和 HPLC-MS/MS 法进行精密度(n=6)和回

收率的试验。结果见表 5,在 4 种不同的葡萄制品基质中,3 种赭曲霉毒素(OTA、OTB、OTC)的回收率为 74.5%~120%,精密密度为 2.01%~7.52%。

## 2.4 实际样品检测

选取来自法国、西班牙、阿根廷、澳大利亚等国



表 5 3 种赭曲霉毒素在 4 种基质中的回收率和精密度结果

Table 5 Results of average recoveries and RSD of 3 ochratoxins in four matrixes

化合物	基质	加标量 /( $\mu\text{g/L}$ )	HPLC 法检测		HPLC-MS/MS 法检测	
			平均回收率/%	相对标准偏差/%	平均回收率/%	相对标准偏差/%
OTA	白葡萄酒	2,4,20	111,87.8,81.9	2.35,3.21,4.17	102,93.0,91.2	4.12,3.71,2.08
	桃红葡萄酒	2,4,20	114,95.1,87.8	4.21,3.72,3.88	93.7,92.1,95.4	3.45,2.89,3.88
	红葡萄酒	2,4,20	94.9,89.0,78.3	2.79,3.41,4.22	87.9,82.8,84.1	4.32,3.15,3.91
	葡萄汁	2,4,20	120,107,99.8	3.05,3.72,2.01	102,93.4,97.3	3.21,4.31,2.42
OTB	白葡萄酒	2,4,20	89.4,85.7,84.1	5.67,6.12,4.85	88.3,89.5,85.4	6.78,4.32,3.18
	桃红葡萄酒	2,4,20	108,97.2,87.0	7.43,5.64,6.55	81.9,85.0,83.5	5.09,4.79,5.22
	红葡萄酒	2,4,20	118,105,79.2	6.13,5.42,6.79	87.7,89.5,88.3	5.31,3.51,4.11
	葡萄汁	2,4,20	118,98.3,97.9	4.36,5.73,5.36	88.4,89.5,93.1	4.63,6.53,5.67
OTC	白葡萄酒	2,4,20	99.1,88.7,82.9	6.40,4.65,4.09	91.8,85.7,87.7	5.12,3.18,4.01
	桃红葡萄酒	2,4,20	119,91.8,82.9	5.35,6.42,4.76	116,111,109	4.64,6.24,4.75
	红葡萄酒	2,4,20	98.6,89.0,74.5	7.52,5.24,5.05	100,91.5,89.3	5.66,4.98,4.14
	葡萄汁	2,4,20	120,106,95.1	6.32,6.50,4.71	91.0,109,103	5.75,6.04,4.88

家的葡萄酒,包含了红葡萄酒、白葡萄酒、桃红葡萄酒等品种的 11 种葡萄酒,使用本试验所建立的 HPLC 法对 3 种赭曲霉毒素 (OTA、OTB、OTC) 进行筛查,HPLC-MS/MS 法进行确诊。检测结果见表 6。

表 6 葡萄酒样品中 3 种毒素的检测结果

Tabel 6 Inspection results of 3 ochratoxins in imported red wine samples

种类	OTA/( $\mu\text{g/L}$ )	OTB/( $\mu\text{g/L}$ )	OTC/( $\mu\text{g/L}$ )
澳大利亚红葡萄酒	< LOD	1.10	< LOD
意大利红葡萄酒	< LOD	4.80	< LOD
法国桃红葡萄酒	< LOD	1.20	< LOD
西班牙红葡萄酒	5.30	< LOD	< LOD
葡萄牙红葡萄酒	11.5	< LOD	< LOD
阿根廷红葡萄酒	9.80	3.10	< LOD
法国红葡萄酒	3.90	5.50	< LOD
波兰白葡萄酒	< LOD	< LOD	< LOD
德国白葡萄酒	< LOD	< LOD	< LOD
澳大利亚红葡萄酒	< LOD	< LOD	< LOD
澳大利亚红葡萄酒	1.10	1.00	< LOD

注:LOD 为检出限

3 小结

本试验建立了 QuChERS 前处理技术,结合 HPLC 法以及 HPLC-MS/MS 法,快速同时测定葡萄酒中的 3 种赭曲霉毒素。方法快速灵敏、线性良好、重现性好、精密度高,能满足葡萄酒中赭曲霉毒素的检测要求。

参考文献

[ 1 ] FERNANDES P J, BARROS N, CÂMARA J S. A survey of the occurrence of ochratoxin A in Madeira wines based on a modified QuEChERS extraction procedure combined with liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry[J]. Food Research International, 2013, 54(1): 293-301.

[ 2 ] ZIMMERLI B, DICK R. Ochratoxin A in table wine and grape-juice: occurrence and risk assessment[J]. Food Additives & Contaminants, 1996, 13(6): 655-668.

[ 3 ] 康健,钟其顶,张辉,等. 葡萄酒中赭曲霉素 A 的研究进展

[J]. 酿酒,2009,36(3):14-18.

[ 4 ] 庞世琦,刘青,李志勇,等. 葡萄酒中赭曲霉毒素 A 检测方法优化[J]. 食品科学,2013,34(24):193-196.

[ 5 ] REMIRO R, IBÁÑEZ-VEA M, GONZÁLEZ-PEÑAS E, et al. Validation of a liquid chromatography method for the simultaneous quantification of ochratoxin A and its analogues in red wines[J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217(52): 8249-8256.

[ 6 ] BITTNER A, CRAMER B, HARRER H, et al. Structure elucidation and in vitro cytotoxicity of ochratoxin  $\alpha$  amide, a new degradation product of ochratoxin A[J]. Mycotoxin Research, 2015, 31(2): 83-90.

[ 7 ] 苏敏. 离子液体-分散液液微萃取快速富集检测食品中痕量 AFB<sub>1</sub> 和 OTA 的研究[D]. 重庆:西南大学,2017:33-44.

[ 8 ] 栾传磊. 饲料、猪肉中赭曲霉毒素 A 的液液分散微萃取-高效液相色谱测定方法研究及应用[D]. 济南:山东大学,2016: 20-28.

[ 9 ] 孟辉. 谷物、猪饲料和牛奶中赭曲霉毒素 A 的检测方法研究[D]. 北京:中国农业大学,2013:94-107.

[10] 潘迎芬,郑育莉,方成俊,等. 免疫亲和层析净化-高效液相色谱法同时检测几种食品中黄曲霉毒素和赭曲霉毒素 A[J]. 福建分析测试,2013,22(4):12-17.

[11] 宗楠,李景明,张柏林. 检测葡萄酒中赭曲霉毒素 A 的 SPE-HPLC 方法优化[J]. 中国酿造,2011,30(4):32-35.

[12] 梁桂娟,张琼,杨波. 高效液相色谱-荧光检测法检测大米中的赭曲霉毒素 A[J]. 中国酿造,2015,34(8):136-138.

[13] 吕鑫. 赭曲霉毒素 A 的荧光生物传感检测新方法研究[D]. 聊城:聊城大学,2017:10-18.

[14] 周晓昕. 抗赭曲霉毒素 A 单克隆抗体的研制及其 ELISA 检测方法的初步建立[D]. 扬州:扬州大学,2007:26-34.

[15] 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.

[16] ANDRADE M A, LANÇAS F M. Determination of ochratoxin A in wine by packed in-tube solid phase microextraction followed by high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2017, 1493(2): 41-48.

[17] ZHANG X, LI J, CHENG Z, et al. High-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for simultaneous detection of ochratoxin A and relative metabolites in *Aspergillus* species and dried vine fruits[J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2016, 33(8): 1355-1366.

- [18] 赖卫华,熊勇华,陈高明,等. 应用胶体金试纸条快速检测赭曲霉毒素 A 的研究[J]. 食品科学,2005,26(5):204-207.
- [19] 赖卫华,许杨,熊勇华,等. 赭曲霉毒素 A 无毒体系胶体金试纸条的研制及与传统胶体金试纸条的比较[J]. 食品科学,2008,29(9):465-468.
- [20] 王连珠,周昱,陈泳,等. QuEChERS 样品前处理-液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中 66 种有机磷农药残留量方法评估[J]. 色谱,2012,30(2):146-153.
- [21] 李娜,张玉婷,刘磊,等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源食品中 4 类 29 种禁限用兽药残留[J]. 色谱,2014,32(12):1313-1319.
- [22] 黄何何,张缙,徐敦明,等. QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法同时测定水果中 21 种植物生长调节剂的残留量[J]. 色谱,2014,32(7):707-716.
- [23] KOESUKKIWIAT U, SANGUANKAEW K, LEEPIPATPIBOON N. Evaluation of a modified QuEChERS method for analysis of mycotoxins in rice[J]. Food Chemistry, 2014, 153(12): 44-51.
- [24] 刘青,曾广丰,王志元,等. QuEChERS 净化技术结合高效液相色谱-串联质谱法测定食用贝类产品中 4 种脂溶性贝类毒素[J]. 现代食品科技,2015,31(12):338-344.
- [25] 苏碧玲,谢维平,欧阳燕玲,等. QuEChERS 净化-超高效液相色谱-串联质谱法测定婴幼儿谷类辅助食品中 12 种真菌毒素[J]. 中国食品卫生杂志,2016,28(4):467-471.
- [26] ZHAO H X, CHEN X Y, SHEN C, et al. Determination of 16 mycotoxins in vegetable oils using a QuEChERS method combined with high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2017, 34(2): 255-264.
- [27] JUAN C, MANES J, FONT G, et al. Determination of mycotoxins in fruit berry by-products using QuEChERS extraction method[J]. LWT-Food Science and Technology, 2017, 86(8): 344-351.
- [28] MIR Ó-ABELLA E, HERRERO P, CANELA N, et al. Determination of mycotoxins in plant-based beverages using QuEChERS and liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2017, 229(2): 366-372.
- [29] ARROYO-MANZANARES N, GARCÍA-CAMPAÑA A M, GÁMIZ-GRACIA L. Multiclass mycotoxin analysis in *Silybum marianum* by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry using a procedure based on QuEChERS and dispersive liquid-liquid microextraction[J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1282(1): 11-19.
- [30] NIELSEN K F, NGEMELA A F, JENSEN L B, et al. UHPLC-MS/MS determination of ochratoxin A and fumonisins in coffee using QuEChERS extraction combined with mixed-mode SPE purification[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(3): 1029-1034.
- [31] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 分析实验室用水规格和试验方法:GB/T 6682—2008[S]. 北京:中国标准出版社,2008.

实验技术与方法

QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法测定春笋中 4 种农药残留

周霞<sup>1</sup>,陈万勤<sup>1</sup>,陈晶燕<sup>1,2</sup>,朱雅青<sup>2</sup>,朱炳祺<sup>1</sup>,罗金文<sup>1,2</sup>

(1. 浙江省食品药品检验研究院,浙江 杭州 310052; 2. 浙江工业大学,浙江 杭州 310014)

**摘要:**目的 建立检测春笋中吡虫啉、茚虫威、辛硫磷和克百威 4 种农药的 QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法。方法 前处理采用 QuEChERS 方法,乙腈为提取液,N-丙基乙二胺(PSA)为净化剂,结合液相色谱-质谱联用技术,正离子多反应监测(MRM)模式进行检测,外标法定量。结果 吡虫啉、茚虫威、辛硫磷和克百威 4 种农药在 0.5~20.0 ng/ml 范围呈良好的线性关系,相关系数( $r^2$ )均大于 0.991,在 4~40 μg/kg 加标范围内,4 种农药的回收率为 72.4%~92.8%,精密度为 1.5%~9.2%,方法的检出限为 0.4 μg/kg,定量限为 1.2 μg/kg。结论 建立了适用于检测春笋中吡虫啉、茚虫威、辛硫磷和克百威 4 种农药的 QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法,该方法准确、灵敏、高效、简便。

**关键词:**QuEChERS; 高效液相色谱-串联质谱; 春笋; 农药残留; 吡虫啉; 茚虫威; 辛硫磷; 克百威; 测定

**中图分类号:**R155      **文献标志码:**A      **文章编号:**1004-8456(2018)05-0486-05

**DOI:**10.13590/j.cjfh.2018.05.008

Determination of 4 pesticide residues in bamboo shoots by QuEChERS-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHOU Xia<sup>1</sup>, CHEN Wanqin<sup>1</sup>, CHEN Jingyan<sup>1,2</sup>, ZHU Yaqing<sup>2</sup>, ZHU Bingqi<sup>1</sup>, LUO Jinwen<sup>1,2</sup>

收稿日期:2018-05-04

基金项目:浙江省科技计划项目(2017C37013)

作者简介:周霞 女 主管药师 研究方向为食品分析和药物分析 E-mail:cpuzhouxia@163.com

通信作者:罗金文 男 主任药师 研究方向为食品分析和药物分析 E-mail:luojw31@163.com