

实验技术与方法

超高效液相色谱-串联质谱法同时测定小麦制品中4种交链孢霉毒素

王硕¹, 孙灵利¹, 刘焯¹, 安阳¹, 张向明¹, 邵兵²

(1. 北京市朝阳区疾病预防控制中心, 北京 100021;

2. 北京市疾病预防控制中心 食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室, 北京 100013)

摘要:目的 建立测定4种小麦制品(挂面、馒头、面包和饼干)中4种交链孢霉毒素的超高效液相色谱-串联质谱法。方法 4种小麦制品加入NaCl后,经酸化乙腈提取,固相萃取柱(SPE)净化后,以HSS T3色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)为分析柱,以0.15 mmol/L碳酸氢铵水溶液-甲醇为流动相进行梯度洗脱,以负离子电喷雾模式电离(ESI⁻),多反应离子监测(MRM)方式进行定性及定量检测,外标法定量。结果 在0.040~50 μg/L的线性范围内,4种交链孢霉毒素的回归方程均呈良好的线性关系,相关系数(r)>0.99。交链孢菌酮酸、交链孢酚、腾毒素和交链孢酚单甲醚的方法检出限分别为0.10、0.01、0.03和0.01 μg/kg,3个加标水平的回收率为85.7%~102%,相对标准偏差(RSD)为0.8%~11.0%。应用该方法对流通环节的挂面、馒头、面包和饼干进行检测,4种交链孢霉毒素均有检出,其浓度为0.02~185.00 μg/kg。结论 该方法灵敏度高、简便,适用于小麦制品中多种交链孢霉毒素的同时测定。

关键词:交链孢霉毒素; 小麦制品; 超高效液相色谱-串联质谱; 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(2019)01-0035-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2019.01.008

Analysis of *Alternaria* in wheat products by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

WANG Shuo¹, SUN Lingli¹, LIU Ye¹, AN Yang¹, ZHANG Xiangming¹, SHAO Bing²

(1. Chaoyang District Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100021, China;

2. Beijing Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for the Food Poisoning, Beijing Center for the Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China)

Abstract: Objective To develop a method for determination of *Alternaria* in wheat products by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The samples were added NaCl and then extracted by acidized acetonitrile. The purification was carried out on a solid phase extraction (SPE). The separation was performed on an HSS T3 column (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) using a mobile phase of 0.15 mmol/L ammonium bicarbonate aqueous solution-methanol by gradient elution. A multiple reaction monitoring (MRM) mode was employed in mass spectrometric detection. The matrix-matched external standard calibration was used for quantitation. **Results** Good linearities of the method were achieved over the concentration of 0.040-50 μg/L, with correlation coefficients above 0.99. The method detection limits (MDL) were 0.10, 0.01, 0.03 and 0.01 μg/kg for 4 kinds of *Alternaria* toxins. Average recoveries at three spiked levels were 85.7%-102% with relative standard deviations (RSD) of 0.8%-11.0%. The method was finally used to analyze *Alternaria* in wheat products and 4 target compounds were detected at a concentration range of 0.02-185.00 μg/kg. **Conclusion** This method could be applied in simultaneous analysis of *Alternaria* in wheat products.

Key words: *Alternaria* toxins; wheat products; ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; mycotoxin; food contaminants

交链孢霉(*Alternaria*)广泛分布于自然界,具有腐生和植物致病性,最常污染小麦及其他谷物、水

果制品等人类消费量大的食品。由于该菌能在低温下生长,因此也是造成冷藏条件下贮存和运输的食品发生腐败变质的重要原因。最为重要的交链孢霉毒素有交链孢酚(AOH)、交链孢酚单甲醚(AME)、交链孢烯(ALT)、腾毒素(TEN)和交链孢菌酮酸(TeA),AOH和AME是交链孢霉毒素的主要代谢物,具有遗传毒性、致突变性和协同作

收稿日期:2019-01-09

作者简介:王硕 女 副主任技师 研究方向为理化检验

E-mail:serenashuo@163.com

通信作者:孙灵利 男 副研究员 研究方向为实验室管理

E-mail:sheguansun@126.com

用^[1-3]。而 TeA 是其中唯一的含氮代谢产物,被认为是毒性最大且最重要的交链孢霉毒素。

目前,国内外尚未有食品中交链孢霉毒素限量标准及国家标准检验方法,已有文献报道在各类食品中检出了 AOH、AME 和 TeA 三种交链孢霉毒素^[4-10]。LÓPEZ 等^[11-12]对荷兰谷物类食品、各种水果和蔬菜的检测中均检出了 AOH、AME、TeA 和 TEN,其中 TeA 污染水平最高为 2 345 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。加拿大研究人员在婴幼儿食品中检出 AOH 和 AME,最高污染水平分别为 4.4 和 9.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[13]。国内也有学者检测了流通环节市售的麦芯粉,检出了 TeA (173.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、AOH (4.73 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、TEN (15.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 和 AME (8.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 4 种交链孢霉毒素^[14]。有研究^[15-17]表明,交链孢霉毒素能产生多种危害人畜健康、具有致癌作用的有毒代谢产物,我国某些地区食管癌高发也与摄入被交链孢霉毒素污染的食品有关。由于市售的小麦制品如面包、挂面、馒头和饼干为日常消费量较高的食品,尤其在北方地区对面制品的需求量较高,消费人群也较为广泛。在以往的研究中,检测的食品种类多集中在谷物类食品、小麦粉、蔬菜、水果和婴幼儿食品^[4-14],我国对挂面、饼干、馒头等小麦制品的存在水平报道较少,为了更好地评估该类毒素对人类健康的风险,有必要建立消费量较大的小麦制品(面包、挂面、馒头和饼干)中交链孢霉毒素的检测方法。

现有报道交链孢霉毒素的检测多集中于液相色谱-串联质谱技术,该方法灵敏度高^[4-14]。在前处理技术方面,主要是利用液液萃取和固相萃取技术对样品进行富集和净化,QuEChERS 技术在近几年应用较多,主要用于农兽药的检测,在检测交链孢霉毒素方面,集中于果蔬类样品的前处理,而对小麦制品应用较少^[4-14];因此,本研究利用超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)法结合改良后 QuEChERS 前处理技术,建立了面制品中 4 种交链孢霉毒素的检测方法。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

ACQUITY™ I-Class 超高效液相色谱-串联质谱仪、Oasis HLB 固相萃取柱(6 ml, 200 mg)均购自美国 Waters,高速冷冻离心机,涡旋混匀器,振荡器,氮吹仪。

TeA (CAS: 610-88-8)、AOH (CAS: 641-38-3)、TEN (CAS: 28540-82-1)、AME (CAS: 26894-49-5) 浓度分别为 100.9、100.3、100.5、100.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$,均购自美国 ROMER Lab,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下避光保存;甲醇、乙腈均

为色谱纯,甲酸、碳酸氢铵纯度均为 99%,氯化钠(NaCl,优级纯);实验室用水均为超纯水,电阻率为 18.2 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ (Millipore 超纯水机制备)。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液的配制

准确移取适量标准溶液,用乙腈定容至 10 ml,配制成混合标准储备液,TeA、AOH、TEN、AME 浓度分别为 500、500、100、50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。-20 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存。准确移取适量混合标准储备液,用含有基质的提取液配制成混合标准工作曲线。

1.2.2 样品前处理

小麦制品(挂面、馒头、面包和饼干):用研磨机粉碎样品,过 60 目筛,四分法缩分至 500 g 作为样品,置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存。称取 2 g 样品(精确至 0.001 g)于 50 ml 刻度离心管中,加入 2.0 g NaCl 后,加入 10 ml 乙腈-甲醇-1.5% 甲酸水溶液(9:2:9, V/V),盖紧盖子,涡旋混匀 30 s,振荡提取 60 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 10 000 r/min 离心 10 min(离心半径 9.28 cm),上清液转移至 15 ml 刻度离心管中,混匀,待净化。

HLB 柱依次用 5 ml 甲醇和 5 ml 水活化,将提取液全部过柱,再用 5 ml 20% 甲醇溶液淋洗,于负压状态下抽干柱子,依次用 5 ml 甲醇和 5 ml 乙腈洗脱,合并洗脱液于鸡心瓶中,40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴氮吹至干,残渣用 100 μl 甲醇复溶,涡旋混匀 30 s,再加入 900 μl 超纯水,涡旋混匀 30 s,4 $^{\circ}\text{C}$ 10 000 r/min 离心 10 min,上清液待 UPLC-MS/MS 测定。

1.2.3 仪器条件

色谱:色谱柱:HSS T3 色谱柱(2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μm);柱温 40 $^{\circ}\text{C}$;流速 0.3 ml/min;进样体积 5 μl ;流动相 A:0.15 mmol/L 碳酸氢铵水溶液,流动相 B:甲醇;梯度洗脱:0.00~2.00 min, 95% A;2.00~3.00 min, 25% A;3.00~4.00 min, 10% A;4.00~6.00 min, 0% A;6.00~8.00 min, 0% A;8.00~8.10 min, 95% A;8.10~10.00 min, 95% A。

质谱:离子源为电喷雾离子源,负离子模式(ESI^{-});多反应监测模式(MRM);毛细管电压 2.4 kV;离子源温度 150 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂气温度 500 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂气流量 800 L/h;碰撞气流量 0.15 ml/min;其他质谱条件见表 1。

2 结果与分析

2.1 样品前处理的选择

2.1.1 无水 MgSO_4 、NaCl 用量的优化

为了提高提取效率,对 QuEChERS 方法操作条件进行了优化,对每种类型的样品分别进行了优

表1 4种交链孢霉毒素的名称、保留时间和质谱采集参数

Table 1 Mass acquisition parameters of 4 kinds of

<i>Alternaria</i> toxins				
交链孢霉毒素	保留时间 /min	离子迁移 /(<i>m/z</i>)	锥孔电压 /V	碰撞能量 /eV
TeA	3.30	196.1>139.0*	-25	-22
		196.1>112.1		-23
AOH	4.17	257.0>213.1*	-28	-23
		257.0>147.0		-28
TEN	4.32	413.2>271.0*	-40	-20
		413.2>141.0		-20
AME	4.73	271.1>256.0*	-20	-26
		271.1>228.1		-30

注: * 为定量离子

化。QuEChERS方法中常用的除水剂主要有MgSO₄、MgCl₂、NaNO₃等,其中以MgSO₄的除水效果最好。本试验考察了无水MgSO₄用量(0、1、2、3和4g)对4种毒素提取效率的影响。试验结果表明,在挂面、馒头、面包和饼干4种样品基质中添加无水MgSO₄对提取效率没有明显的影响,TeA、AOH、TEN和AME的提取效率分别为81.2%~90.2%、80.5%~93.5%、84.4%~95.1%和80.1%~90.9%。这可能是由于样品基质本身的水分含量较少,对除水剂的用量无明显变化;因此,在样品前处理的过程中无需添加无水MgSO₄。

样品经过提取后,提取液中仍然存在大量的干扰物质,加入盐析剂后,提取液中的有机相分子会由于离子强度的增加而断开与水分子间的氢键,从水中盐析出来。本试验考察了盐析剂NaCl用量(0.5、1.0、1.5、2.0和2.5g)对4种毒素提取效率的影响。结果表明,当NaCl的用量增加至2.0g时,4种交链孢霉毒素的提取效率均有明显提高,达到85%以上;再加入至2.5g时,提取效率无明显变化;因此,在样品前处理时加入2.0g NaCl。

2.1.2 提取溶剂的优化

由于TeA与其他交链孢霉毒素相比极性较大,在化学性质上表现为强酸性,易与金属发生螯合作用,在食品中一般以盐的形式存在,因此在提取液中加入适量酸有利于TeA的提取。本试验比较了4种不同甲酸浓度(0.5%、1.0%、1.5%和2.0%)的提取液对4种交链孢霉毒素提取效率的影响。当提取液中甲酸的含量达到1.5%时,4种目标化合物的提取效率为90.4%~97.2%,均高于其他三种甲酸浓度的提取效率,见图1。故本试验使用1.5%的甲酸溶液作为提取液。

2.2 固相萃取条件的优化

当样品提取液经盐析分层后,少量的蛋白质、油脂、色素以及糖分会与目标化合物共同提取出

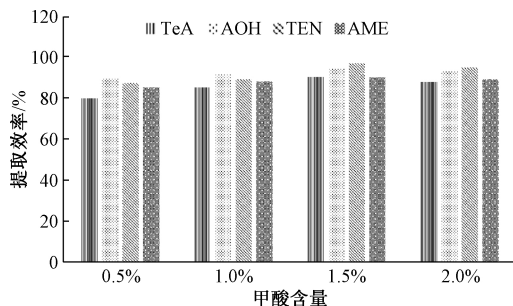


图1 4种不同浓度的甲酸提取液对4种交链孢霉毒素提取效率的影响

Figure 1 Extraction efficiencies of four different formic acid concentration in 4 kinds of *Alternaria* toxins

来,干扰目标化合物的测定。根据以往的研究,本试验比较了未使用固相萃取柱和不同固相萃取柱(C₁₈、HLB和PSA)对4种交链孢霉毒素提取效率的影响。使用HLB柱后,4种交链孢霉毒素的提取效率明显提高,且提取效率为91.5%~97.1%,见图2。故本试验选择了HLB固相萃取柱作为样品净化的固相萃取柱。

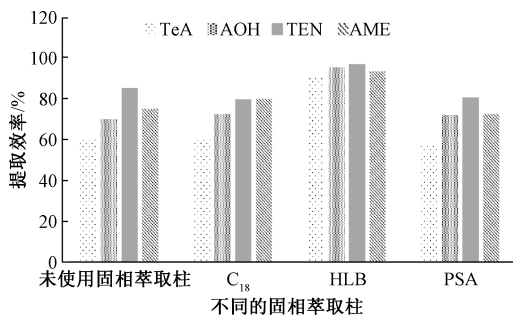


图2 不同固相萃取柱对4种交链孢霉毒素提取效率的影响

Figure 2 Extraction efficiencies of four different kind of SPE in 4 kinds of *Alternaria* toxins

2.3 基质效应

交链孢霉毒素的污染水平受温度、压力和不同食品基质的影响,因此考察不同样品的基质效应,对测定结果的准确性至关重要。为了考察不同样品基质对目标化合物的响应值是增强还是抑制,用混合标准储备液配制混合标准使用液和含有空白基质的标准使用液,TeA、AOH、TEN、AME浓度分别为5.0、5.0、1.0、0.50 μg/L进行比较。结果表明,4种交链孢霉毒素的基质效应均为基质抑制,在挂面、馒头、面包和饼干中TeA、AOH、TEN、AME的基质效应分别为24%~31%、28%~39%、20%~36%、15%~34%;因此为了确保检测结果的准确性,本试验需要用基质标准工作液为基准进行校正。

2.4 线性关系、方法的检出限与定量限

4种交链孢霉毒素使用外标法定量,以空白样品的提取液作为标准溶液的稀释液,配制基质匹配

系列工作曲线。以待测物的质量浓度 ($\mu\text{g/L}$) 为横坐标,交链孢霉毒素的峰面积为纵坐标制作标准曲线。在相应质量浓度范围内,其线性相关系数均大

于 0.99。以信噪比 $S/N=3$ 和 $S/N=10$ 对应的目标物浓度分别定义为方法检出限 (LOD) 与方法定量限 (LOQ),结果见表 2。

表 2 4 种交链孢霉毒素在小麦制品中的线性范围、线性方程、相关系数、检出限及定量限

Table 2 Linear range, liner equations, correlation coefficient, LOD and LOQ of 4 kinds of *Alternaria* toxins in wheat products

交链孢霉毒素	小麦制品	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	线性方程	相关系数 r	检出限 ($\mu\text{g/kg}$)	定量限 ($\mu\text{g/kg}$)
TeA	挂面	0.60~50	$y=786.4x+874.4$	0.993	0.10	0.30
	馒头		$y=201.0x+1405.6$	0.999		
	面包		$y=179.3x+1344.9$	0.999		
	饼干		$y=58.8x+668.4$	0.998		
AOH	挂面	0.050~50	$y=9178.8x-887.0$	0.999	0.01	0.03
	馒头		$y=3517.0x-459.1$	0.996		
	面包		$y=3619.0x-444.9$	0.996		
	饼干		$y=4211.3x-6357.0$	0.998		
TEN	挂面	0.10~50	$y=1098.0x+336.7$	0.997	0.03	0.09
	馒头		$y=18412.8x+14568.5$	1.000		
	面包		$y=16797.8x+23728.5$	0.999		
	饼干		$y=17250.8x+8217.1$	0.998		
AME	挂面	0.040~50	$y=2441.0x-109.0$	0.999	0.01	0.02
	馒头		$y=19742.1x-3412.7$	0.991		
	面包		$y=18655.5x-3777.8$	0.991		
	饼干		$y=37840.4x-17618.4$	0.999		

2.5 准确度与精密度

分别取挂面、馒头、面包和饼干 4 类空白样品进行加标回收试验,分别添加 0.5、5.0 和 50.0 $\mu\text{g/kg}$ 三个浓度水平,每个浓度设 6 个平行,结果见表 3。挂面、馒头、面包和饼干样品中 4 种交链孢霉毒素的平均回收率分别为 85.7%~95.8%、86.9%~97.7%、88.9%~96.8%、89.7%~102%,相对标准偏差 (RSD) 分别为 1.5%~5.4%、0.9%~6.3%、0.8%~11.0%、1.0%~4.9%,说明该方法具有较好的回收率和重现性。

2.6 样品的测定

应用本方法对超市与农贸市场等流通环节市售的挂面、馒头、面包和饼干各 35 份样品进行检测,4 种交链孢霉毒素均有检出,见表 4。TEN 在挂面和馒头中的检出率均为 100% (35/35),浓度水平为 0.03~2.21 $\mu\text{g/kg}$,在面包和饼干中检出率也比较高,分别为 89% (31/35) 和 97% (34/35)。4 种小麦制品中,均检出 2 种及以上交链孢霉毒素,浓度最高为面包中的 TeA (185.00 $\mu\text{g/kg}$)。AOH 和 AME 虽然在 4 种小麦制品中均有检出,但检出浓度较低,浓度水平分别为 0.03~5.63 和 0.02~6.86 $\mu\text{g/kg}$ 。图 3 为标准样品与实际样品的 MRM 色谱图。

以往的研究结果^[4-9]表明 4 种交链孢霉毒素的检出率较高,TeA、AOH、TEN、AME 浓度分别为 56.1~68.0、2.0、6.7~10.9、1.2 $\mu\text{g/kg}$,且多集中于果蔬及制品、谷类及制品和小麦粉。本研究与以往的研究结果一致,但检出浓度不同,这可能是由于

表 3 小麦制品中 4 种交链孢霉毒素的平均回收率及相对标准偏差 ($n=6$)

Table 3 Recovery and repeatability for 4 kinds of *Alternaria* toxins in wheat products

小麦制品	交链孢霉毒素	0.5 $\mu\text{g/kg}$		5.0 $\mu\text{g/kg}$		50.0 $\mu\text{g/kg}$	
		平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%
挂面	TeA	86.3	2.4	85.7	4.2	92.6	2.8
	AOH	94.7	5.4	89.1	5.0	94.1	2.1
	TEN	94.1	1.5	94.2	4.2	89.7	3.4
	AME	95.8	2.8	94.8	3.1	93.5	2.7
馒头	TeA	89.9	6.3	90.4	1.2	91.8	1.7
	AOH	86.9	4.1	92.5	3.4	93.6	3.8
	TEN	91.4	2.3	91.1	1.7	90.0	1.5
	AME	97.7	0.9	97.0	2.5	96.8	0.9
面包	TeA	94.0	11.0	89.4	4.3	89.7	3.2
	AOH	95.1	2.7	88.9	2.1	89.7	2.0
	TEN	88.9	1.4	93.8	0.8	92.4	1.6
	AME	93.6	1.9	90.2	1.6	96.8	0.9
饼干	TeA	93.1	3.4	92.7	2.3	90.5	1.6
	AOH	93.6	3.4	90.1	4.9	90.2	1.6
	TEN	90.0	1.0	89.7	2.6	94.5	2.2
	AME	102	1.7	89.8	2.8	94.1	2.2

小麦制品在加工和贮存过程中会有污染^[11-14]。与欧洲食品安全局用毒理学关注阈值 (TTC) 方法就饲料或膳食摄入交链孢霉毒素对人群健康的影响进行的风险评估数据比较^[18],结果表明,虽然 4 种交链孢霉毒素的含量超过了相应的 TTC 值,但还要结合人群每日摄入量进一步评估,因此,建议对该类食品进行较大范围的监测,对公众健康影响的风险进行详尽评估。

表4 挂面、馒头、面包和饼干中4种交链孢霉毒素的检出情况

Table 4 Concentration of 4 kinds of *Alternaria* toxins in packaged noodles, maddo, bread and biscuit

小麦制品	TeA		AOH		AME		TEN	
	检出率/%	浓度/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	检出率/%	浓度/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	检出率/%	浓度/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	检出率/%	浓度/($\mu\text{g}/\text{kg}$)
挂面	91 (32/35)	0.10~3.24	34(12/35)	0.11~0.40	97(34/35)	0.02~0.89	100(35/35)	0.03~1.33
馒头	0 (0/35)	ND	77(27/35)	0.03~1.65	29(10/35)	0.03~1.01	100(35/35)	0.14~2.21
面包	34 (12/35)	0.59~185.00	54(19/35)	0.17~0.86	29(10/35)	0.24~1.46	89(31/35)	0.18~6.44
饼干	89 (31/35)	10.30~183.00	34(12/35)	1.76~5.63	31(11/35)	0.48~6.86	97(34/35)	0.32~18.58

注:ND表示未检出

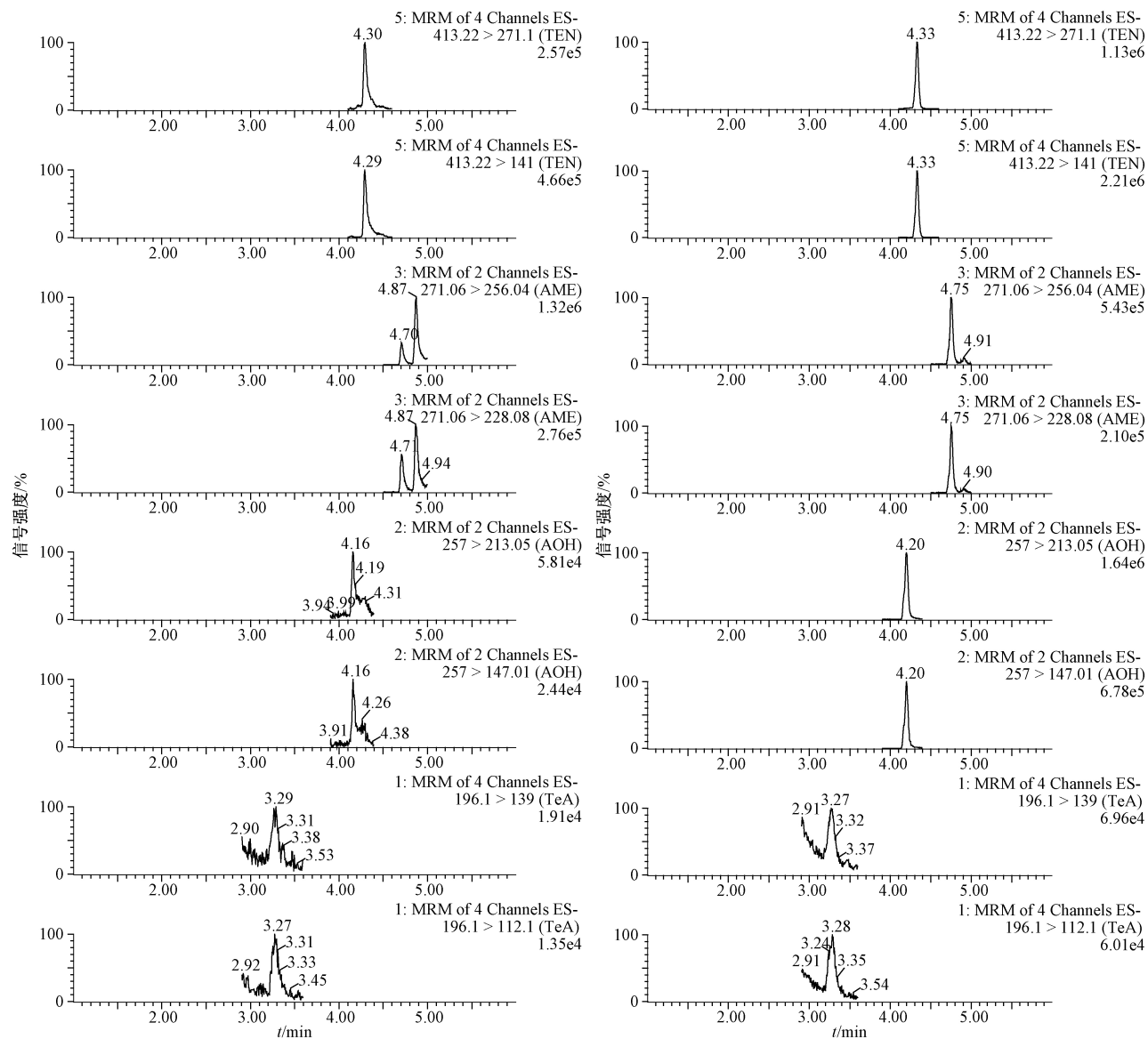


图3 饼干样品(左)与标准品(右)中交链孢霉毒素 MRM 色谱图

Figure 3 MRM chromatograms of the *Alternaria* in biscuit sample (lift) and standard solution (right)

3 小结

本试验建立了小麦制品中4种交链孢霉毒素的超高效液相色谱-串联质谱的检测方法,该方法操作简便,富集净化效果好,且准确、灵敏度高,适用于小麦制品中交链孢霉毒素的检测。

参考文献

- [1] 赵凯,李凤琴. 食品中交链孢霉毒素污染及分析方法研究进展[J]. 卫生研究,2013,5(42):868-874.
- [2] TRALAMAZZA S M, PIACENTINI K C, IWASE C H T, et al. Toxicogenic *Alternaria* species: impact in cereals worldwide [J]. Current Opinion in Food Science,2018,23(5):57-63.
- [3] SOLFRIZZO M. Recent advances on *Alternaria* mycotoxins [J]. Current Opinion in Food Science,2017,17(9):57-61.

- [4] 陈蓓,朱峰,李放,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定麦芯粉中四种交链孢毒素[J].现代食品科技,2017,33(11):251-256.
- [5] 李碧芳,郑彦婕,陈素娟.粮油制品中交链孢霉毒素的测定[J].广东化工,2010,37(5):220-227.
- [6] 蒋黎艳,赵其阳,龚蕾,等.超高效液相色谱串联质谱法快速检测柑桔中的5种链格孢霉毒素[J].分析化学,2015,43(12):1851-1858.
- [7] WALRAVENS J, MIKULA H, RYCHLIK M, et al. Development and validation of an ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometric method for the simultaneous determination of free and conjugated *Alternaria* toxins in cereal-based foodstuffs[J]. Journal of Chromatography A, 2014, 1372(10): 91-101.
- [8] ZWICKEL T, KLAFFKE H, RICHARDS K, et al. Development of a high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry based analysis for the simultaneous quantification of various *Alternaria* toxins in wine, vegetable juices and fruit juices[J]. Journal of Chromatography A, 2016, 1455(4): 74-85.
- [9] NGUYEN T T T, JUEUN K, JEON S J, et al. Mycotoxin production of *Alternaria* strains isolated from Korean barley grains determined by LC-MS/MS[J]. International Journal of Food Microbiology, 2018, 268(1): 44-52.
- [10] ZHOU J, XU J J, CAI Z X, et al. Simultaneous determination of five *Alternaria* toxins in cereals using QuEChERS-based methodology[J]. Journal of Chromatography B, 2017, 1068-1069(10): 15-23.
- [11] LÓPEZ P, VENEMA D, MOL H, et al. *Alternaria* toxins and conjugates in selected foods in the Netherlands [J]. Food Control, 2016, 69(4): 153-159.
- [12] LÓPEZ P, VENEMA D, DE RIJK T, et al. Occurrence of *Alternaria* toxins in food products in the Netherlands [J]. Food Control, 2016, 60(7): 196-204.
- [13] SCOTT P M, ZHAO W, FENG S, et al. *Alternaria* toxins alternariol and alternariol monomethyl ether in grain foods in Canada [J]. Mycotoxin Research, 2012, 28(4): 261-266.
- [14] 陈蓓,张立辉,朱峰,等.江苏省内小麦粉中4种交链孢毒素污染情况调查[J].中国公共卫生,2018,34(3):393-395.
- [15] 杨胜利,董子明,裴留成,等.河南林县居民粮食中互隔交链孢霉及其毒素污染和人群暴露状况研究[J].癌变 畸变 突变,2007,19(1):44-46.
- [16] 马艳英,张晓艳,王瑾瑾,等.互隔交链孢霉毒素对 NIH/3T3 细胞的基因损伤及 DNA 聚合酶 β 表达的影响[J].实用医学杂志,2015,31(10):1574-1577.
- [17] PAHLKE G, TIESSEN C, DOMNANICH K, et al. Impact of *Alternaria* toxins on CYP1A1 expression in different human tumor cells and relevance for genotoxicity [J]. Toxicology Letters, 2016, 240(1): 93-104.
- [18] European Food Safety Authority (EFSA). Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Athternaria* toxins in feed and food [J]. EFSA Journal, 2011, 9(10): 1-97.

实验技术与方法

全自动固相萃取-气相色谱-串联质谱法测定生活饮用水中5种亚硝胺

赵丽,师真,李文廷,张瑞雨,梁志坚

(昆明市疾病预防控制中心,云南昆明 650228)

摘要:目的 建立一种适合同时测定生活饮用水中5种亚硝胺的气相色谱-串联质谱检测方法。方法 采用 Cleanert pesticarb 固相萃取柱对样品进行前处理, DB-35MS 毛细管柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μ m) 进行分离, 单离子监测扫描模式 (SIM) 扫描, 并对离子效应、pH 值和洗脱液流速进行优化, 建立了全自动固相萃取-气相色谱-串联质谱测定生活饮用水中5种亚硝胺的方法。结果 5种亚硝胺在 0.05~1.00 μ g/L 范围内线性良好, *N*-亚硝基-二甲胺、*N*-亚硝基-二乙胺、*N*-亚硝基-二丙胺、*N*-亚硝基-二丁胺和 *N*-亚硝基-二苯胺的检出限分别为 0.001、0.001、0.000 5、0.02 和 0.002 μ g/L (信噪比=3)。在优化条件下, 对实际水样进行低、中、高3个不同浓度的加标试验, 回收率在 70.32%~96.39% 范围内, 相对标准偏差为 2.98%~5.29% ($n=6$)。结论 该方法灵敏度高、线性范围广, 优化了生活饮用水中5种亚硝胺的检测条件, 适用于生活饮用水中亚硝胺的检测。

关键词:生活饮用水;亚硝胺;全自动固相萃取;气相色谱-串联质谱

中图分类号:R155 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2019)01-0040-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2019.01.009