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

谢瑜杰[1,2]，陈　辉[2]，彭　涛[2,*]，代汉慧[2]，胡雪艳[2]，范春林[2]，呼秀智[1]，薛占永[1,*]
（1.河北工程大学生命科学与食品工程学院，河北 邯郸　056021；2.中国检验检疫科学研究院，北京　100176）

摘　要：建立QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱同时检测牛奶中6 种玉米赤霉烯酮类毒素残留量的检测方法。样品用1%乙酸-乙腈提取，乙腈饱和正己烷除脂，C_{18}、*N*-丙基乙二胺和无水硫酸镁净化，在ZORBAX SB-C_{18}色谱柱上分离，以5 mmol/L NH_4Ac溶液和乙腈作为流动相进行梯度洗脱，电喷雾离子源负离子模式扫描，多反应监测测定，基质匹配外标法定量分析。牛奶中6 种玉米赤霉烯酮类毒素在0.1～50 μg/L质量浓度范围内呈线性关系，相关系数均高于0.995；检出限为0.05～0.1 μg/kg，定量限为0.25～0.5 μg/kg。牛奶中6 种玉米赤霉烯酮类毒素的3 个加标水平的平均回收率范围为91.8%～114.5%，相对标准偏差在3.2%～14.4%之间（n=6）。

关键词：玉米赤霉烯酮类毒素；QuEChERS；高效液相色谱-串联质谱；牛奶

Determination of Six Zeranols in Milk by QuEChERS-High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

XIE Yujie[1,2], CHEN Hui[2], PENG Tao[2,*], DAI Hanhui[2], HU Xueyan[2], FAN Chunlin[2], HU Xiuzhi[1], XUE Zhanyong[1,*]
(1. College of Life Science and Food Engineering, Hebei University of Engineering, Handan　056021, China;
2. Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing　100176, China)

Abstract: A method for simultaneous determination of six zeranols residues in milk was developed by quick, easy cheap, effective, rugged and safe (QuEChERS) extraction coupled to high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). The sample was extracted with 1% acetate acetonitrile. The extract was degreased with acetonitrile-saturated *n*-hexane, cleaned up with a mixture of C_{18}, primary secondary amine (PSA) and magnesium sulfate anhydrous. The analytes were separated on a reversed phase C_{18} column and gradiently eluted with 5 mmol/L ammonium acetate and acetonitrile. These analytes were analyzed under the multiple reaction monitoring (MRM) mode with negative electrospray ionization (ESI^-) and quantified by matrix-matched external standard method. Good linearity was obtained for the six zeranols in the concentration range of 0.1–50 μg/L with correlation coefficients of more than 0.995. The limits of detection (LODs) and the limits of quantification (LOQs) for the zeranols were 0.05–0.1 and 0.25–0.5 μg/kg, respectively. The recoveries at three spiked concentration levels were in the range of 91.8%–114.5%. The repeatability expressed as relative standard deviation (RSD) ranged from 3.2% to 14.4% (n = 6).

Keywords: zeranols; QuEChERS; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS); milk
DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180509-141
中图分类号：TS252.7　　文献标志码：A　　文章编号：1002-6630（2019）10-0304-07
引文格式：
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. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180509-141.　http://www.spkx.net.cn
XIE Yujie, CHEN Hui, PENG Tao, et al. Determination of six zeranols in milk by QuEChERS-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Science, 2019, 40(10): 304-310. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180509-141.　http://www.spkx.net.cn

收稿日期：2018-05-09
基金项目：国家科技基础性工作专项（2013FY113100）；“十三五”国家重点研发计划重点专项（2017YFF0211301）
第一作者简介：谢瑜杰（1994—）（ORCID: 0000-0002-7175-3629），女，硕士研究生，研究方向为食品安全检测。
E-mail: 1443908316@qq.com
*通信作者简介：彭涛（1976—）（ORCID: 0000-0002-0171-7367），男，研究员，博士，研究方向为兽药残留分析、食品安全。
E-mail: caiq_pengtao@126.com
薛占永（1964—）（ORCID: 0000-0003-0847-0413），男，教授，硕士，研究方向为食品安全与检测。
E-mail: 407961849@qq.com

玉米赤霉烯酮类毒素是二羟基苯甲酸内酯类化合物，属于非甾体类同化激素，具有弱雌激素功能[1]，包括*α*-玉米赤霉醇（*α*-zearalanol，*α*-ZAL）、*β*-玉米赤霉醇（*β*-zearalanol，*β*-ZAL）、*α*-玉米赤霉烯醇（*α*-zearalenol，*α*-ZOL）、*β*-玉米赤霉烯醇（*β*-zearalenol，*β*-ZOL）、玉米赤霉烯酮（zearalenone，ZON）和玉米赤霉酮（zearalenone，ZAN）6 种。其中，ZON主要存在于饲料及农产品中。有研究表明，家畜食入含有ZON的饲料或农产品后，会在胃肠道内通过代谢产生毒性更强的其他5 种玉米赤霉烯酮类毒素[2-3]（代谢途径详见图1）。我国GB 2761—2017《食品中真菌毒素限量》规定ZON在农产品中的限量标准为60 μg/kg[4]。而赤霉醇（zeranol，ZER）在养殖业中常用作家畜的促生长剂，促进蛋白质合成，提高饲料转化率及酮体瘦肉率[5-6]。当消费者食入含有ZER的动物性产品后会抑制体内外的激素结合受体，存在致癌风险[7]。为了确保消费者健康，多数国家将ZER列为禁用药物，禁止在食用性动物上使用[8-9]，我国农业部235号公告也明确要求在所有食用动物以及组织中不得检出ZER[10]。研究发现，排出动物体外的玉米赤霉烯酮类毒素可通过水和食物造成二次污染，人食用后会抑制促性腺激素结合受体，对人体性机能以及第二性征造成影响，在外部条件诱导下还会致癌[11-12]。因此，建立快速简单、准确、灵敏的检测食品中玉米赤霉烯酮类毒素方法非常重要。

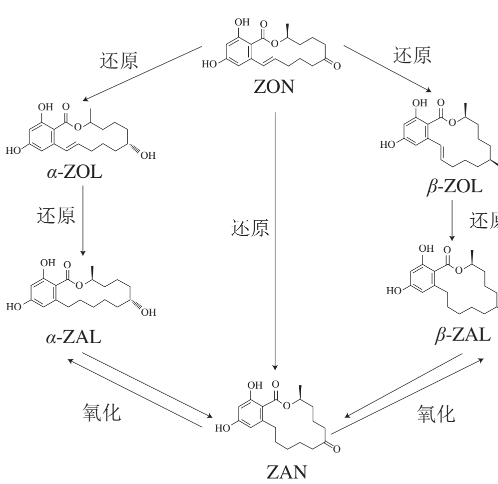


图 1　玉米赤霉烯酮在体内代谢途径

Fig. 1　Zearalenone metabolic pathways *in vivo*

高效液相色谱-串联质谱（high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry，HPLC-MS/MS）检测技术具有灵敏度高、稳定可靠、定性定量准确等优势，且可以提供目标物质的结构信息，使其成为检测玉米赤霉烯酮类毒素的常用技术[13-14]。Visconti等[15]使用HPLC-MS/MS测定谷物中的6 种玉米赤霉烯酮类毒素；李丽萍等[16]利用HPLC-MS/MS检测猪肉中的6 种玉米赤霉烯酮类毒素；邵瑞婷等[17]采用HPLC-MS/MS检测牛奶中6 种玉米赤霉烯酮类毒素。已报道的文献中，在净化技术上多使用具有选择性好、抗干扰能力强等优势的免疫亲和柱净化与固相萃取等手段。与这些传统的净化技术比，QuEChERS（quick easy cheap, effective, rugged and safe）方法具有简单、快速等优势，在食品安全检测方面应用越来越广泛。其中，Yan Zheng等[18]采用QuEChERS-LC-MS/MS检测猪肉中的6 种玉米赤霉烯酮类毒素。但是，目前针对检测牛奶中玉米赤霉烯酮类毒素的QuEChERS-HPLC-MS/MS检测方法的报道还相对较少。甄振鹏等[19]建立了QuEChERS-HPLC-MS/MS检测方法，对牛奶中6 种玉米赤霉烯酮类毒素进行检测，使用乙酸乙酯提取，C_{18}、*N*-丙基乙二胺（primary secondary amine，PSA）、无水硫酸镁质量比1∶1∶1，净化提取液，方法定量限为0.33～1 μg/kg，回收率在83.2%～111%之间。

牛奶中含有大量人体必需营养素，是人获取营养的主要来源。但是牛奶中也会存在一些质量问题给身体健康带来危害，如玉米赤霉烯酮类毒素的存在，使人类的健康面临着一定的风险。目前，检测牛奶中6 种玉米赤霉烯酮类毒素的方法较多，但操作繁琐、复杂、灵敏度低。本研究对QuEChERS-HPLC-MS/MS同时检测牛奶中6 种玉米赤霉烯酮类毒素方法进行研究优化，以1%乙酸-乙腈作为提取液，用PSA、C_{18}、无水硫酸镁质量比3∶4∶4为吸附剂，5 mmol/L乙酸铵-乙腈为流动相，方法定量限为0.25～0.5 μg/kg，回收率在91.8%～114.5%之间，优于已有方法且满足玉米赤霉烯酮类毒素的限量要求[4,20]。因此，使用本方法检测牛奶中玉米赤霉烯酮及其代谢产物，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牛奶中玉米赤霉烯酮类毒素提供技术支持。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

牛奶　市购。

甲醇、乙腈、正己烷（均为色谱纯），甲酸、乙酸（质谱级）　美国Fisher公司；乙酸铵（色谱纯）　比利时Acros Organics公司；C_{18}（50 μm）　天津博纳艾杰尔公司；*N*-丙基乙二胺（PSA，40～60 μm）　艾尔杰公司；实验用水为Milli-Q超纯水，其他试剂均为分析纯。

1.2　仪器与设备

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

1.3　方法

1.3.1　标准溶液的配制

精确称取各标准品（0.010 0±0.000 5）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1 000 mg/L的标准储备液，于4 ℃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 mg/L的混合中间液，使用前将中间液用甲醇稀释配制成1.0 mg/L的混合标准液。配制好的溶液均避光、4 ℃保存。

1.3.2　样品预处理

1.3.2.1　提取

准确称2.00 g牛奶样品置于50 mL离心管中，加入1%乙酸-乙腈10 mL，振荡10 min，12 000 r/min离心10 min，取上清液于50 mL离心管中。用1%乙酸-乙腈重复提取1 次，合并上清液。加入乙腈饱和正己烷5 mL，振荡10 min，12 000 r/min离心10 min，弃上层正己烷，重复该过程，待净化。

1.3.2.2　净化

将上述溶液转移至装有80 mg C_{18}、60 mg PSA和80 mg无水硫酸镁的离心管中，振荡10 min，12 000 r/min离心10 min，取上清液（约20 mL）于鸡心瓶中，40 ℃旋蒸至约2 mL，在40 ℃氮吹至干，以1 mL水-乙腈（3∶1，*V/V*）定容，过0.22 μm滤膜后，供HPLC-MS/MS分析。

1.3.3　HPLC-MS/MS分析条件

色谱条件：ZORBAX SB-C_{18}色谱柱（2.1 mm×100 mm，3.5 μm）；柱温：40 ℃；流速：0.4 mL/min；进样量：10 μL；流动相：A为5 mmol/L NH_4Ac溶液，B为乙腈溶液；洗脱梯度：0～5 min，25%～70% B，5～6 min，70% B；6～9 min，70%～25% B。

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

表1　6 种玉米赤霉烯酮类毒素的质谱分析参数

Table 1　Mass spectrometric parameters for 6 zeranols

编号	化合物	母离子（*m/z*）	子离子（*m/z*）	碰撞能量/eV	碎裂电压/V
1	*α*-ZAL	321.1	302.9 276.9*	20 20	125
2	*α*-ZOL	319.1	275.1* 159.8	20 25	105
3	*β*-ZAL	321.1	302.9 276.9*	10 15	125
4	*β*-ZOL	319.1	275.1* 159.8	15 25	135
5	ZAN	319.1	275.1* 160.8	20 20	145
6	ZON	317	174.6* 130.6	20 25	135

注：*.定量离子。

1.3.4　基质匹配外标曲线

以阴性牛奶样品提取液（操作同1.3.2节）作为溶剂，将标准溶液稀释成0.1、0.5、1、5、10、20、50 μg/L的标准溶液，以待测物的质量浓度为横坐标，定量离子质量色谱峰面积为纵坐标，绘制外标曲线。

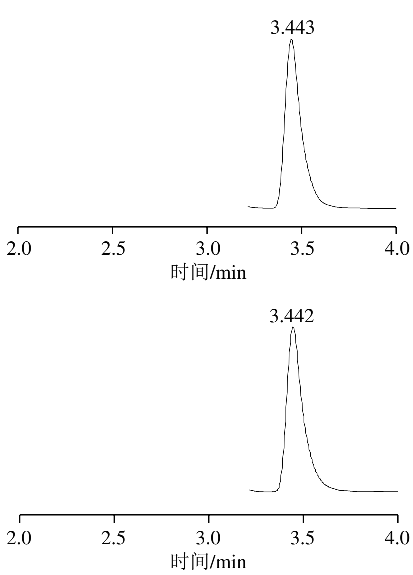
1.4　数据统计分析方法

采用Excel和Origin 8.5进行数据处理，结果以$\bar{x}$±*s*表示。

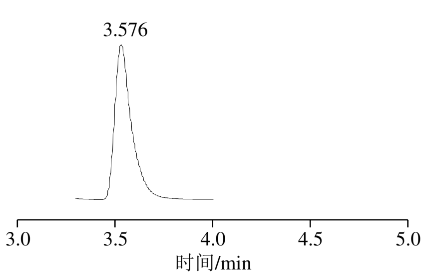
2　结果与分析

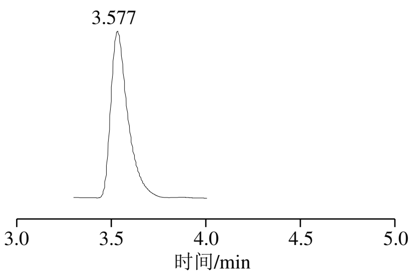
2.1　色谱条件的优化

玉米赤霉烯酮类毒素脂溶性较好，可以很好地保留在C_{18}色谱柱上[21]，因此本研究选择在ZORBAX SB-C_{18}柱上分离。由于该类毒素理化性质相似且存在两对*α*和*β*异构体，而MS/MS很难区分两对异构体[2-24]，所以必须在液相色谱上对两对异构体进行分离。同时，动物源性食品是一类复杂基质，其中存在许多干扰杂质[25-26]，李贤良等[27]研究发现使用乙酸铵溶液作为流动相可以减少基质中杂质的干扰，提高离子化效率。因此，本研究参考已有的文献报道，通过实验最终选择乙腈-5 mmol/L乙酸铵作为流动相进行梯度洗脱，使目标物在出峰位置无杂峰干扰并且出峰时间彼此分开，如图2所示。

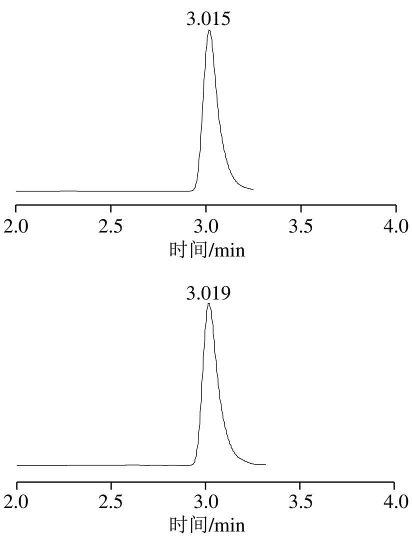


A. *β*-ZAL

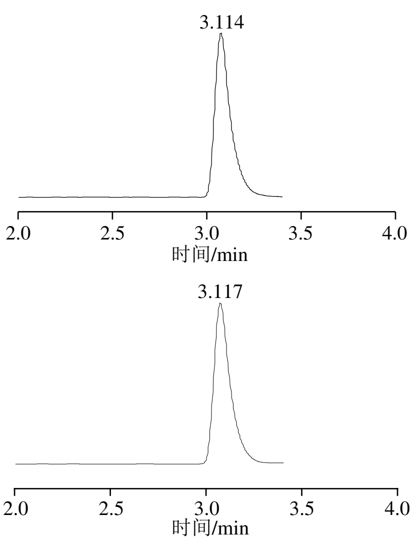




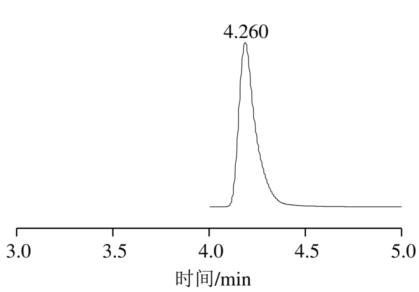
B. *α*-ZOL

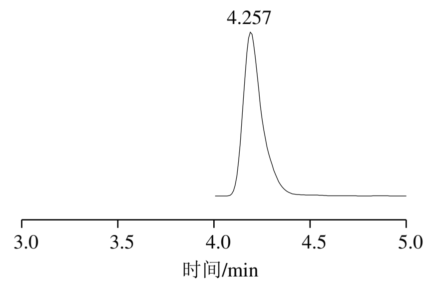


C. *β*-ZAL

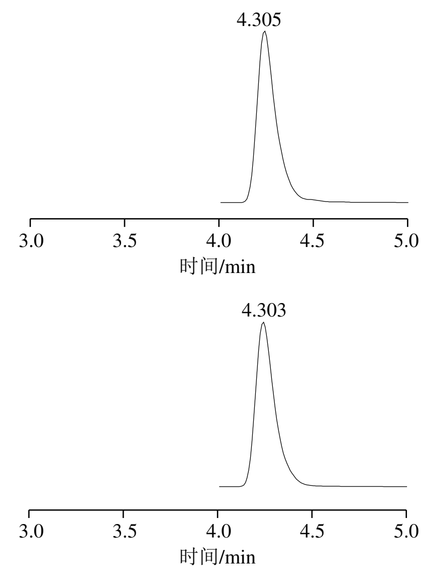


D. *β*-ZOL





E. ZAN



F. ZON

图 2　基质匹配标准溶液中6 种玉米赤霉烯酮类毒素的MRM色谱图（质量浓度10 ng/mL）

Fig. 2　MRM chromatograms of 6 zeranols in matrix-matched standard solution (10 ng/mL)

2.2　质谱条件的优化

玉米赤霉烯酮类毒素的化学结构式均带有羟基，在ESI模式下易丢失氢离子而带负电荷[14,22,28]，产生分子离子$[M-H]^-$。玉米赤霉烯酮易产生碎片离子$[M-H-CO_2]^-$和$[M-H-C_8H_{14}O_2]^-$，而其余5 种毒素丢失一分子水和二氧化碳后产生碎片离子$[M-H-H_2O]^-$和$[M-H-CO_2]^-$。

本研究以$[M-H]^-$为母离子，在MRM模式下进行扫描，选择响应最强的碎片为定量离子，次级强为定性离子，具体条件详见表1。选择监测离子与农业部1025号公告[29]一致。

2.3　提取溶剂的选择

玉米赤霉烯酮类毒素为脂溶性物质，且呈弱酸性，在酸性及中性条件下易溶于有机溶剂[24]。已报道的文献中动物源性食品提取该类物质主要采用乙腈[5]、乙酸乙酯[19]、无水乙醚[30]等。通过参考文献发现玉米赤霉烯酮类毒素易在酸性条件下提取，因此本研究在10 μg/kg添加量下首先对乙腈、1%甲酸-乙腈、1%乙酸-乙腈的提取效果进行比较。如图3所示，实验发现1%乙酸-乙腈作为

提取液时回收率较高，且重复性良好（n=6）。根据实验结果本实验又对乙酸-乙腈中乙酸体积分数及提取过程等进行优化，选用0.5%、1%、2%和3%乙酸-乙腈作为提取液，样品经提取液重复提取，合并上清液，用乙腈饱和正己烷重复脱脂，比较回收率和相对标准偏差，结果如图3所示。0.5%乙酸-乙腈回收率和重复性均较差，1%、2%、3%乙酸-乙腈提取，回收率相当且均在70%～120%之间，但使用2%和3%乙酸-乙腈时的相对标准偏差较差，因此，选择1%乙酸-乙腈作为提取剂。在10 μg/kg加标水平下，6 种玉米赤霉烯酮类毒素的提取回收率为87%～105%。

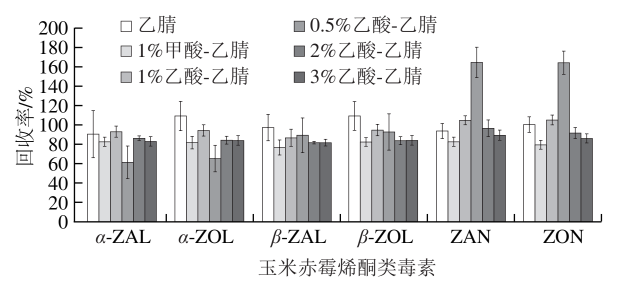


图 3 提取液对牛奶中玉米赤霉烯酮类毒素回收率的影响（n=3）

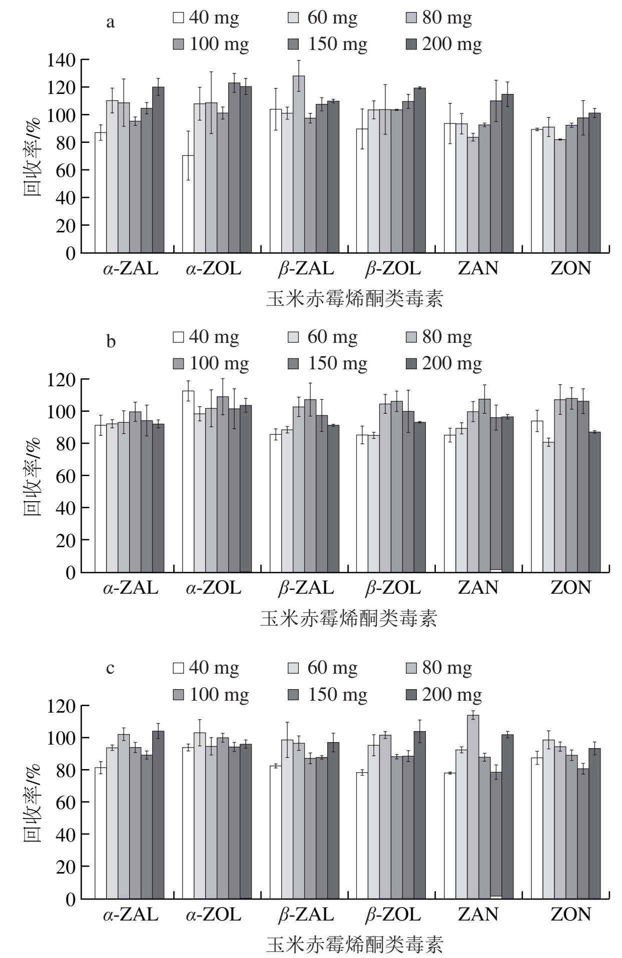
Fig. 3 Recoveries of zeranols in milk with different extraction solvents (n = 3)

2.4 净化方式的选择

牛奶中存在大量的干扰物质，C_{18}可用来去除牛奶中的脂肪和酯类等，PSA可去除脂肪酸、有机酸、色素、糖等极性物质。同时，提取液中还含有大量水分，使用无水硫酸镁去除水分。因此本试验对C_{18}、PSA、无水硫酸镁的吸附净化效果进行研究。

吸附剂的质量对于减少基质干扰和提高回收率有重要作用，对此本研究分别对PSA、C_{18}以及无水硫酸镁的用量进行优化。在10 μg/kg添加量下分别使用40、60、80、150、200 mg的PSA、C_{18}和无水硫酸镁对2.3节1%乙酸-乙腈提取液进行净化，结果见图4。图4a给出了PSA用量变化时6 种玉米赤霉烯酮类毒素回收率的变化情况，PSA在40 mg时6 种毒素的回收率均较低且重复性差，60～80 mg时回收率在70%～120%之间且去除干扰效果较好，但当用量大于60 mg时，重复性相对较差。图4b对C_{18}的用量进行优化，可以看出，C_{18}的用量与回收率成正比，随着用量的增多回收率也逐渐增高，用量大于80 mg时6 种毒素的重复性均较差，在80 mg时回收率在70%～120%范围内且回收率高于40 mg和60 mg。图4c中显示无水硫酸镁对回收率的影响很明显，在40～60 mg以及100～150 mg时回收率比80 mg和200 mg的回收率低，但是200 mg的重复性较差，因此本实验原则使用80 mg无水硫酸镁。

在10 μg/kg添加水平下使用不同比例的吸附剂对牛奶中玉米赤霉烯酮类毒素净化效果、回收率及重复性进行比较，结果如图5所示。将上述结果60 mg PSA、80 mg C_{18}、80 mg无水硫酸镁（质量比3∶4∶4）组合使用与甄振鹏等[19]实验中使用的PSA、C_{18}、无水硫酸镁质量比1∶1∶1相比，前者的净化效果、回收率和重复性均较好。因此，本研究最终选择PSA、C_{18}和无水硫酸镁的用量分别是60、80 mg和80 mg。



a. PSA；b. C_{18}；c.无水硫酸镁。

图 4 吸附剂质量对牛奶中6 种玉米赤霉烯酮类毒素回收率的影响

Fig. 4 Effect of sorbent dosage on recoveries of six zeranols from milk

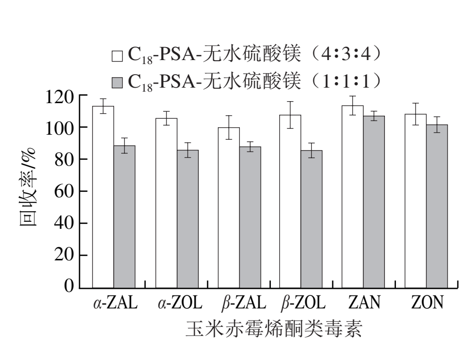


图 5 吸附剂比例对牛奶中6 种玉米赤霉烯酮类毒素回收率的影响

Fig. 5 Effect of sorbent composition on recoveries of zeranols from milk

2.5　基质效应测定结果

在HPLC-MS/MS色谱柱上被洗脱出的含有提取液的共流出物（包括基质成分），会与目标离子相互竞争液滴表面，导致该目标物出现离子化效率降低或增强，造成响应的降低或升高，最终出现基质抑制效应或增强效应。

本实验建立了添加量0.1、0.5、1、5、10、20、50 μg/kg的溶剂和基质标准曲线，通过比较两条标准曲线的斜率判定基质效应，计算公式如下：

$$\text{基质效应/\%}=\frac{\text{基质匹配标准曲线的斜率}-\text{溶剂标准曲线的斜率}}{\text{溶剂标准曲线的斜率}}\times 100$$

根据受到基质效应的强弱，将基质效应分为3 类：基质效应低于－20%表现为基质抑制效应；基质效应介于－20%和20%之间表现为弱基质效应；基质效应高于20%表现为基质增强效应。结果表明：6 种玉米赤霉烯酮类毒素中*α*-ZAL表现弱的增强效应，其余化合物表现抑制效应，具体见表2。因此，本实验选择使用基质匹配外标法消除基质效应对目标物的影响。

表2　牛奶中6 种玉米赤烯酮醇类毒素的基质效应（*n*=7）

Table 2　Matrix effect for six zeranols in milk (*n* = 7)

化合物	*α*-ZAL	*α*-ZOL	*β*-ZAL	*β*-ZOL	ZAN	ZON
基质效应/%	4.9	－20.6	－0.4	－22.8	－15.2	－21.9

2.6　定量方式及线性关系

由于存在基质效应，本实验则以阴性牛奶样品提取液作为溶剂配制混合标准溶液，采用基质匹配外标法定量。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 μg/L线性范围以信噪比R_{SN}为3对应添加水平作为检出限，信噪比R_{SN}为10对应的添加水平作为定量限，结果见表3。结果显示该方法的检出限在0.05～0.1 μg/kg之间，定量限在0.25～0.5 μg/kg之间。

表3　6 种玉米赤霉烯酮类毒素的线性范围、回归方程、相关系数、检出限和定量限

Table 3　Linear ranges, calibration equations, correlation coefficients, LODs and LOQs for six zeranols

化合物	线性范围/（μg/L）	回归方程	相关系数（*r*）	检出限/（μg/kg）	定量限/（μg/kg）
α-ZAL	0.1～50	y=1 199.1x－107.36	0.997 6	0.1	0.5
α-ZOL	0.1～50	y=1 150.1x－20.590	0.999 9	0.1	0.5
β-ZAL	0.1～50	y=776.15x＋122.29	0.999 8	0.1	0.5
β-ZOL	0.1～50	y=899.62x＋159.89	0.999 3	0.1	0.5
ZAN	0.1～50	y=3 959.6x－1 073.4	0.999 2	0.05	0.25
ZON	0.1～50	y=441.50x－0.387 9	0.999 9	0.1	0.5

2.7　准确度和精密度实验结果

为考察方法的准确度和精密度，使用阴性牛奶为空白样品，分别选择添加定量限的1、2 倍和10 倍的玉米赤霉烯酮类毒素，按前述方进行加标回收实验测定，每个添加量实验测定6 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偏差。6 种玉米赤霉烯酮类毒素在牛奶中的添加回收率为91.8%～114.5%，相对标准偏差在3.2%～14.4%之间，结果见表4。

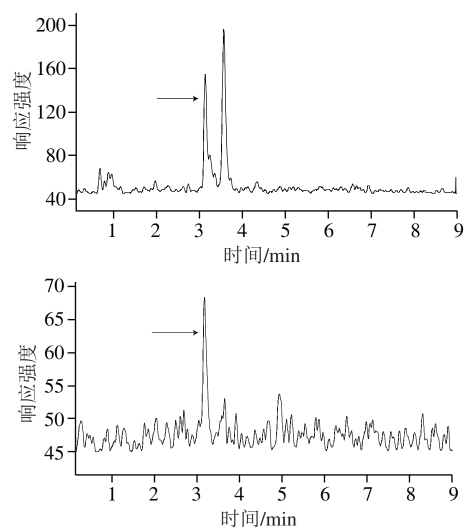
表4　准确性和精密度实验结果

Table 4　Accuracy and precision of the method

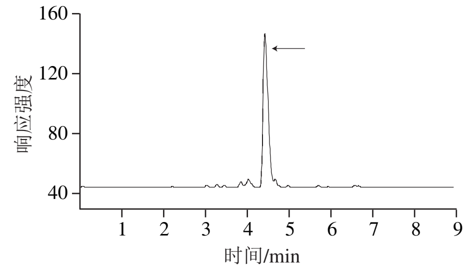
化合物	加标量/（μg/kg）	平均回收率/%	相对标准偏差/%
α-ZAL	0.5	111.2	6.6
	1	102.7	9.6
	5	112.5	4.6
α-ZOL	0.5	100.8	10.5
	1	104.9	7.1
	5	105.0	3.8
β-ZAL	0.5	93.5	13.9
	1	97.4	10.2
	5	99.0	7.5
β-ZOL	0.5	96.5	14.4
	1	107.4	9.8
	5	106.7	8.4
ZAN	0.25	108.6	5.6
	0.5	113.4	3.2
	2.5	112.5	6.2
ZON	0.5	91.8	8.6
	1	114.5	8.8
	5	107.2	6.9

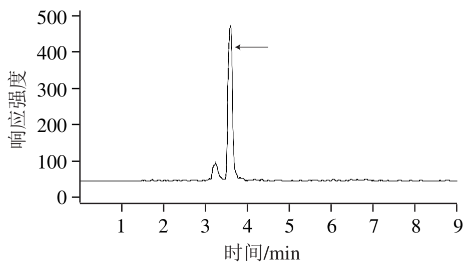
2.8　实际样品分析结果

应用本方法测定56 份市售牛奶样品，结果发现，实际样品中检出*β*-ZAL、*α*-ZOL，含量在0.2～2.3 μg/kg之间。图6为阳性牛奶样品中检出的2 种玉米赤霉烯酮类毒素的MRM色谱图。



A. *β*-ZAL





B. α-ZOL

图 6 实际样品的MRM色谱图

Fig. 6 MRM chromatogram of real milk sample

3 结 论

本研究建立了QuEChERS-HPLC-MS/MS对牛奶中6 种玉米赤霉烯酮类毒素的检测方法。对提取液、净化条件等方面进行优化，最终选取1%乙酸-乙腈作为提取液，PSA-C_{18}-无水硫酸镁（质量比3∶4∶4）净化提取液，HPLC-MS/MS检测，基质匹配外标法定量，该方法具有简单、快速、灵敏度高、降低基质干扰等优势，可推广用于动物性食品中6 种玉米赤霉烯酮类毒素的检测。

参考文献：

[1] 张天姝, 马雷, 玄兵, 等. 饲料中玉米赤霉醇、玉米赤霉酮和己烯雌酚的测定: 超高效液相色谱-串联质谱法[J]. 现代畜牧兽医, 2018(2): 18-23. DOI:1672-9692(2018)02-0018-06.

[2] KUIPER-GOODMAN T, SCOTT P M, WATANABE H. Risk assessment of the mycotoxin zearalenone[J]. Regulatory Toxicology & Pharmacology Rtp, 1987, 7(3): 253-306. DOI:10.1016/0273-2300(87)90037-7.

[3] 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. DOI:10.1007/s00216-017-0807-7.

[4] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品中真菌毒素限量: GB 2761—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.

[5] 王清, 王国民, 郗存显, 等. 复合免疫亲和柱净化-液相色谱-串联质谱法同时测定动物源性食品中6 种玉米赤霉醇类化合物和氯霉素残留量[J]. 色谱, 2014, 32(6): 640-646. DOI:10.3969/j.issn.1000-8713.2014.06.014.

[6] 吴钟玲. 食品中玉米赤霉醇及其类似物快速测定的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2011: 4-5.

[7] 佚名. 玉米赤霉醇[J]. 质量探索, 2013(增刊1): 46.

[8] BELHASSEN H, JIMENEZ-DIAZ I, GHALI R, et al. Validation of a UHPLC-MS/MS method for quantification of zearalenone, alpha-zearalenol, beta-zearalenol, alphazearalanol, beta-zearalanol and zearalanone in human urine[J]. Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2014; 962: 68-74. DOI:10.1016/j.jchromb.2014.05.019.

[9] ZINEDINE A, SORIANO J M, MOLTÃ J C, et al. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: an oestrogenic mycotoxin[J]. Food & Chemical Toxicology, 2007, 45(1): 1-18. DOI:10.1016/j.fct.2006.07.030.

[10] 农业部. 动物性食品中兽药最高残留限量: 农业部235号公告[S]. 北京: 农业部, 2012: 1-26.

[11] 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 & Bioanalytical Chemistry, 2018, 410(14): 1-9. DOI:10.1007/s00216-018-0920-2.

[12] GUPTA R C, MOSTROM M S, EVANS T J. Zearalenone[M]. Veterinary Toxicology. Academic Press, 2018: 1055-1063.

[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. DOI:10.1371/journal.pone.0193584.

[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. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2017.06.036.

[15] VISCONTI A, PASCALE M. Determination of zearalenone in corn by means of immunoaffinity clean-up and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. Journal of Chromatography A, 1998, 815(1): 133-140. DOI:10.1016/S0021-9673(98)00296-9.

[16] 李丽萍, 范赛, 赵榕, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法检测猪肉中玉米赤霉醇类的残留量[J]. 色谱, 2013, 31(7): 703-708. DOI:10.3724/SP.J.1123.2012.12033.

[17] 邵瑞婷, 张丽华, 史娜, 等. 免疫亲和净化-超高效液相色谱-串联质谱法测定食品中玉米赤霉烯酮类真菌毒素[J]. 食品科学, 2017, 38(16): 274-279. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201716044.

[18] YAN Z, WANG L, WANG J, et al. A QuEChERS-based liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of nine zearalenone-like mycotoxins in pigs[J]. Toxins, 2018, 10(3): 129. DOI:10.3390/toxins10030129.

[19] 甄振鹏, 高裕锋, 张琳, 等. QuEChERS-高效液相色谱串联质谱法测定牛奶中6 种玉米赤霉醇类激素药物残留量[J]. 广东化工, 2016, 43(13): 256-258. DOI:10.3969/j.issn.1007-1865.2016.13.125.

[20] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局 食品中玉米赤霉烯酮的测定: GB 5009.209—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 7-11.

[21] 钱卓真, 刘智禹, 邓武剑, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定水产品中玉米赤霉醇类激素药物残留量[J]. 南方水产科学, 2011, 7(1): 62-68. DOI:10.3969/j.issn.2095-0780.2011.01.010.

[22] 彭涛, 李晓娟, 陈冬东, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定动物肝脏中玉米赤霉醇及其类似物残留量[J]. 分析化学, 2010, 38(4): 469-474. DOI:10.3724/SP.J.1096.2010.00469.

[23] 方晓明, 陈家华, 唐毅锋. 高效液相色谱法测定鸡肝中玉米赤霉醇的残留量[J]. 色谱, 2003, 21(2): 158-161. DOI:10.3321/j.issn:1000-8713.2003.02.015.

[24] 王炼, 王希希, 张新申. 同位素稀释-液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中6 种玉米赤霉醇类化合物[J]. 中国食品卫生杂志, 2015, 27(5): 530-534. DOI:10.13590/j.cjfh.2015.05.010.

[25] 游丽娜, 李贤良, 郗存显, 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. DOI:10.3724/SP.J.1123.2012.08016.

[26] BERTHILLER F, SCHUHMACHER R, BUTTINGER G, et al. Rapid simultaneous determination of major type A- and B-trichothecenes as well as zearalenone in maize by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1062(2): 209-216. DOI:10.1016/j.chroma.2004.11.011.

[27] 李贤良, 游丽娜, 郗存显, 等. 免疫亲和柱净化-液相色谱-串联质谱法同时测定猪肉中6 种玉米赤霉醇类化合物残留量[J]. 分析化学, 2013, 41(8): 1147-1152. DOI:10.3724/SP.J.1096.2013.30141.

[28] 王昕. IAC-LC法和IAC-LC-MS/MS法同时检测食品中黄曲霉毒素及玉米赤霉醇类残留量[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014: 28-29.

[29] 农业部. 动物源性食品中玉米赤霉醇类药物残留检测 液相色谱-串联质谱法: 农业部1025号公告-19-2008[S]. 2008.

[30] 谢继安, 刘柏林. 超高压液相色谱-串联质谱法检测猪肉中玉米赤霉醇类物质[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 4(1): 150-158.