

LC-MS/MS 快速测定餐饮食品中 8 种外源性污染物

张永

阳泉市综合检验检测中心

DOI:10.32629/as.v8i12.3535

[摘要] 目的: 建立一种三重四级杆液相色谱质谱联用仪快速筛查餐饮食品中溴鼠灵、敌敌畏等8种外源性污染物的方法。方法: 样品采用QuEChERS方法进行提取净化后,选取Agilent Poroshell 120 EC-C18 (2.7 μ m 4.6 \times 100mm)色谱柱,以甲醇-水(10mmol/L甲酸铵)为流动相梯度洗脱,采用多反应监测(MRM)的正负离子扫描模式进行检测,外标定量。结果: 8种污染物在1~50ng/mL(敌敌畏10~500ng/mL)范围内线性关系良好,植物源性餐饮食品选择乙腈为提取剂,动物源性餐饮食品选择乙酸乙酯为提取剂,三水平加回收率范围分别为74.6%~100.69%、80.22%~103.64%;精密密度实验结果相对标准偏差(RSD)分别为: 3.32%~7.04%、3.01%~7.70%,甲拌磷等7种外源性污染物方法在动物源性食品的方法定量限均为1 μ g/kg,敌敌畏方法定量限为10 μ g/kg。结论: 该方法适用于植物源性、动物源性餐饮食品种溴鼠灵、敌敌畏等8种外源性污染物的快速定性定量检测具有样品处理方法简便、检测灵敏度高、测试时间短的特点,在重大活动餐饮服务食品安全快速检测中有很好的应用前景。

[关键词] 餐饮食品; 外源性污染物; 快速检测; 液相色谱-串联质谱

中图分类号: X501 文献标识码: A

Rapid determination of 8 exogenous pollutants in catering food by LC-MS/MS

Yong Zhang

Yangquan Comprehensive Inspection and Testing Center

[Abstract] Objective: To develop a rapid screening method for 8 kinds of exogenous pollutants such as bromadiolone and dichlorvos in catering food by using triple quadrupole liquid chromatography-mass spectrometry (TQ-LC-MS/MS). Methods: After extraction and purification by QuEChERS method, the samples were analyzed by TQ-LC-MS/MS with Agilent Poroshell 120 EC-C18 (2.7 μ m 4.6 \times 100mm) chromatographic column and gradient elution with methanol-water (10 mmol/L ammonium formate) as the mobile phase. The detection was performed by multiple reaction monitoring (MRM) in positive and negative ion scanning mode, and the quantification was performed by external standard method. Results: The 8 pollutants had a good linear relationship in the range of 1~50 ng/mL (10~500 ng/mL for dichlorvos). Ethanol was selected as the extractant for plant-derived catering food, and ethyl acetate was selected as the extractant for animal-derived catering food. The recovery rate of three levels of addition was 74.6%~100.69%, and the relative standard deviation (RSD) of the precision experiment was 74.6%~100.69%. The method detection limits of 7 exogenous pollutants such as methamidophos were all 1 μ g/kg, and the method detection limit of dichlorvos was 10 μ g/kg. Conclusion: This method is suitable for the rapid qualitative and quantitative detection of 8 kinds of exogenous pollutants such as bromadiolone and dichlorvos in plant-derived and animal-derived catering food. It has the characteristics of simple sample processing method, high detection sensitivity and short testing time, and has a good application prospect in the rapid detection of food safety in catering services for major activities.

[Key words] catering food; exogenous pollutants; rapid detection; liquid chromatography-tandem mass spectrometry

前言

食品安全问题一直备受我国各阶层的关注,作为食品链条

最后一环的餐饮食品,其安全性更为群众所关心。根据最近国家市场监督管理总局公布的安全抽检数据,餐饮食品的不合

格率一直较高,故而提升餐饮食品安全就显得十分必要。在各类餐饮食品安全问题中,外源性化学物质污染是一个十分重要的原因。这与餐饮食品工艺种类繁多,加工、储存环节无法有效控制,从业人员素质偏低有着密切的关系。疾控部门数据显示,餐饮环节食物中毒和食源性疾病相关外源性污染物主要包括:餐饮服务单位使用的化学性病原生物防治药剂,食材中残留的高毒农兽药,可能用于食材中的非法添加物。

针对上述物质主要检测方法有气相色谱法(GC)^[1]、高效液相色谱法(HPLC)^[2]、气相色谱串联质谱法(GC-MS)^[3]、拉曼光谱法和液相色谱串联质谱法(LC-MS/MS)^[4]等。其中气相色谱法和液相色谱法主要应用于已知目标物的靶向检测,且检出限高,检测时间长,气质联用法仅用于易挥发的组分的分析,不适合于多种类多组分的高通量筛查。液相色谱质谱联用技术是目前食品中多组分筛查技术的主要技术手段^[5],液相色谱-三重四极杆串联质谱(LC-QQQ MS),能够获取化合物的精确质量,阐明化合物的结构信息,不需要任何标准品就可以对多种毒素同时分析检测。近几年该技术已经广泛应用于食品中污染物的检测领域。

基于上述原因,本研究针对餐饮食品中主要的植物源性食品和动物源性食品特点,通过对不同基质样品QuEChERS^[6]方法、色谱条件、质谱条件的优化,以期建立一种可以同时快速检测敌敌畏、甲拌磷、灭多威、克百威、地西洋、三唑仑、溴敌隆、溴鼠灵等8种餐饮食品外源性污染物的方法。该方法可以为餐饮食品外源污染物筛查提供技术支撑,同时还可以用于重大活动餐饮食品安全保障的食品快速检测工作。

1 实验材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 试剂与标准品

实验所用试剂和标准品见表1

表1 标准品及试剂信息表

名称	规格	厂家
敌敌畏、甲拌磷、灭多威、克百威	100 μ g/mL	坛墨质检科技股份有限公司
地西洋、三唑仑、溴敌隆、溴鼠灵	10 μ g/mL	坛墨质检科技股份有限公司
甲醇、乙腈、乙酸乙酯	色谱纯	美国Thermo Fisher公司
甲酸铵、乙酸铵	色谱纯	德国默克公司
丙酮	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
氯化钠	$\geq 99.5\%$	国药集团化学试剂有限公司
无水硫酸镁	$\geq 98.0\%$	国药集团化学试剂有限公司

1.1.2 代表性样品

植物源性食品: 西红柿、苹果

动物源性食品: 鸡胸肉、牛肉

样品均从超市购置。

1.2 仪器与设备

实验所用仪器设备见表2

表2 设备名称、型号及厂家

设备	型号	厂家
三重四级杆液质联用仪	LCMS-8045	日本岛津
电子天平	CPA225D	赛多利斯
高速离心机	HC-3018	中科中佳科学仪器有限公司
漩涡振荡器	MS3D	IKA Works
超纯水	Simplicity UV	密里博

1.3 实验方法

1.3.1 标准储备溶液配制

混合标准储备液: 分别取甲拌磷、灭多威、克百威标准溶液(100 μ g/mL) 10 μ l, 敌敌畏标准溶液(100 μ g/mL) 100 μ l, 地西洋、三唑仑、溴敌隆、溴鼠灵标准溶液(10 μ g/mL) 100 μ l于10ml容量瓶,用60%乙腈水(60:40, V/V)定容至刻度得100ng/ml敌敌畏(1000ng/mL)的混合标准储备液^[7],在4 $^{\circ}$ C下保存。

1.3.2 标准工作曲线配制

混合标准工作溶液: 准确吸取0.1、0.2、0.5、1、2、5ml的上述混合标准储备液于10ml容量瓶中,乙腈定容,制得甲拌磷、灭多威、克百威、地西洋、三唑仑、溴敌隆、溴鼠灵7种污染物质量浓度分别为1、2、5、10、20、50ng/ml,敌敌畏浓度为10、20、50、100、200、500ng/ml的系列标准溶液。

1.3.3 样品前处理

植物源性食品采用均质器将样品打碎,精密称取样品5g置于具塞离心管中,将5ml乙腈加入离心管后,加入无水硫酸镁2g和氯化钠1g,再加入100mgPSA,涡旋2min后6000rpm离心5min,取上清液,有机滤膜过滤,上机检测。

动物源性食品采用均质器将样品打碎,精密称取样品5g置于具塞离心管中,将5ml乙酸乙酯加入离心管,加入100mgPSA,超声,6000rpm离心5min,取上清液,重复提取一次,合并上清液,氮吹至近干。用乙腈定容至5ml,有机滤膜过滤,上机检测。

1.3.4 仪器条件

(1)液相色谱条件。色谱柱为Agilent Poroshell 120 EC-C18(2.7 μ m 4.6 \times 100mm),流动相甲醇-甲酸铵(体积比70:30),流速为0.4ml/min,柱温为40 $^{\circ}$ C,采用梯度程序见表3。

(2)质谱条件。离子源ESI源: 雾化气流量3L/min; 加热气流量10L/min; 干燥气流量10L/min; 接口温度300 $^{\circ}$ C; 扫描方式: 敌敌畏、甲拌磷、灭多威、克百威、地西洋、三唑仑采用正离子扫描,溴敌隆、溴鼠灵采用负离子扫描。

2 结果与分析

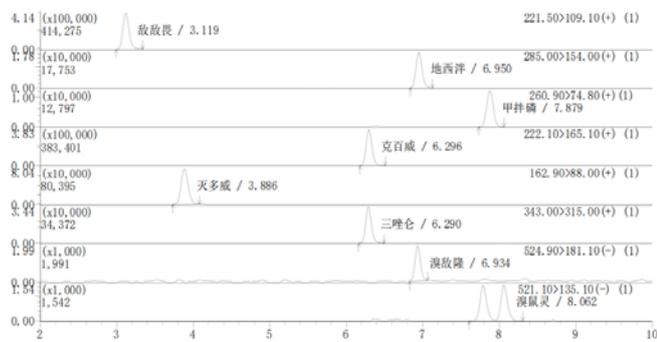
2.1 色谱条件优化

表3 梯度洗脱程序

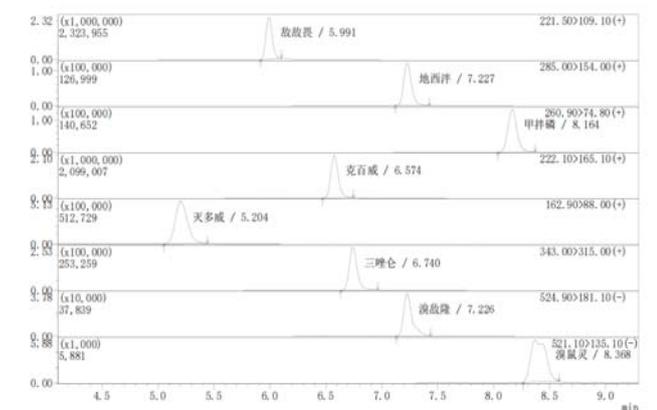
时间/min	流动相A/%	流动相B/%
0.01	70	30
2	70	30
3	10	90
9	10	90
9.5	70	30
11	70	30

为确定检测这8种外源性污染物的最佳流动相,考察了甲醇-乙酸铵(体积比70:30)^[8]、乙腈-乙酸铵(体积比70:30)、甲醇-甲酸铵(体积比70:30)对质谱图的影响^[9],结果如图1所示。

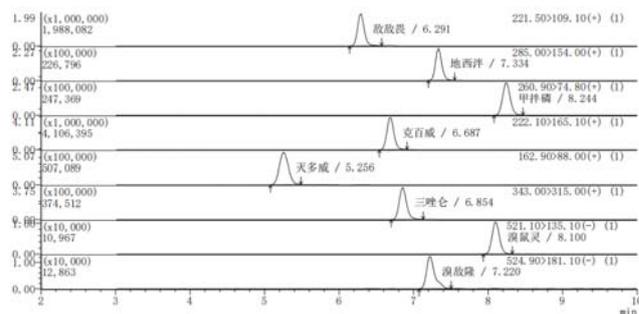
由图1可以看出当流动相为乙腈-乙酸铵时溴鼠灵保留时间处存在两个峰形,峰形较差,剩余其他污染物色谱图峰形较好,分离度高。甲醇-乙酸铵为流动相时溴鼠灵存在分叉峰,色谱图峰面积较低,杂质峰干扰多。换用甲醇-甲酸铵为流动相时8种污染物色谱图峰形较好,分离度高。因此选择甲醇-甲酸铵作为检测的流动相。



(a) 乙腈-乙酸铵



(b) 甲醇-乙酸铵



(c) 甲醇-甲酸铵

图1 不同流动相的标样多反应色谱图

2.2 质谱条件优化

用单标储备液配制甲拌磷、灭多威、克百威、地西洋、三唑仑、溴敌隆、溴鼠灵7种污染物质量浓度分别为1、2、5、10、20、50ng/ml和敌敌畏10、20、50、100、200、500ng/ml的系列标准溶液,以2.3.4所述仪器条件进样,通过不同的扫描模式,确定化合物母离子,及其相应的定性、定量离子。对碰撞能量以及源内碎裂电压进行优化使定性、定量离子碎片响应达到最高。具体参数见表4,优化后8种化合物总离子流见图2。

表4 8种外源性污染物的质谱参数

化合物名称	保留时间(min)	母离子(m/z)	子离子(m/z)	扫描模式	碰撞能量(V)
敌敌畏	6.55	221.5	109.10*/127	ESI ⁺	27/33
地西洋	7.188	285	154.00*/193.00	ESI ⁺	24/30
甲拌磷	8.059	260.9	74.80*/47.10	ESI ⁺	14/37
克百威	6.56	222.1	165.10*/123.00	ESI ⁺	13/21
灭多威	5.144	162.9	88.00*/106.00	ESI ⁺	10月12日
三唑仑	6.723	343	315.00*/308.00	ESI ⁺	37/26
溴敌隆	7.038	524.9	181.10*/250.10	ESI ⁺	36/35
溴鼠灵	7.847	521.1	135.10*/143.10	ESI ⁺	37/55

注:带*为定量离子

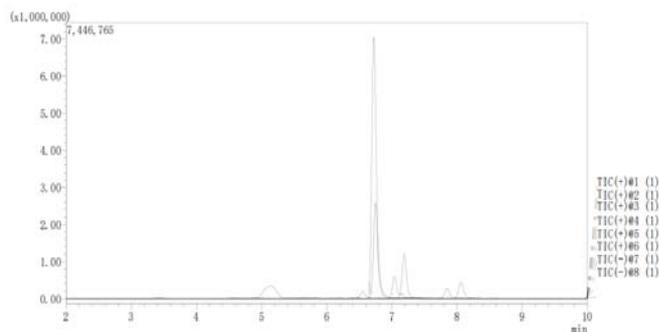


图2 8种化合物总离子流图

2.3 前处理方式优化

由于植物源性食品和动物源性食品的基质相差较大,前者含色素、碳水化合物较多,后者常含蛋白质和脂肪。实验选择乙腈、丙酮、乙酸乙酯3种溶剂通过回收率评价其对不同基质的提取效率^[9],实验结果见图3,图4。

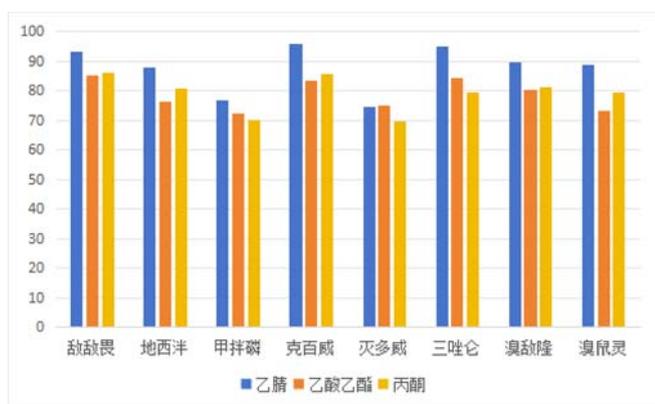


图3 植物源性食品在不同溶剂提取下的回收率

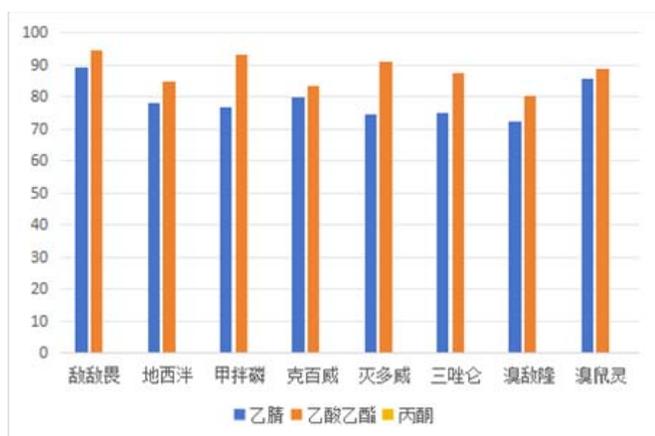


图4 动物源性食品不同溶剂提取下的回收率

实验结果表明,3种溶剂中乙腈对于植物源性食品中目标化合物提取效率最高。在动物源性食品实验中,用丙酮进行提取时,离心管中会出现明显的呈凝胶固态的高蛋白,无法进行进一步的净化。而乙酸乙酯与乙腈相比对动物源性样品有更高的提取效率。因此对植物源性食品和动物源性食品应采用不同的溶剂进行目标化合物提取,植物源性食品选择乙腈,动物源性食品选择乙酸乙酯。

2.4 基质效应评价

基质效应(matrix effect, ME)是三重四极杆质谱法中影响定量结果准确性的重要因素^[12-13]。基质效应是指在分析样品中,除目标分析物以外的其他成分对目标分析物检测结果的影响。这种影响可能是增强或减弱目标分析物的响应信号,从而干扰分析方法的准确性。基质效应可以用ME值进行评价。当ME=1.0表示不存在基质效应,0.8<ME<1.2为弱基质效应,0.5<ME<0.8或1.2<ME<1.5为中等基质效应,ME<0.5或ME>1.5为强基质效应^[10]。

$$ME = \frac{B}{A} \quad \text{式(1)}$$

式中:A-标准溶液中目标化合物峰面积平均值

B-基质添加标准溶液中目标化合物峰面积平均值

为评价本方法的基质效应,选择西红柿、白菜、鸡胸肉、牛肉,按照2.3.3方法进行处理,得到4种空白基质的溶液,分别在0.9mL空白基质中加入混合标准储备液(2.3.1)0.1mL,按2.3.4条件上机测定,并与对应浓度标准品同时进样,计算ME值,测试结果见表5,由实验结果可知8种化合物在4类基质中未出现强基质效应,敌敌畏、甲拌磷、克百威在鸡胸肉基质中存在中等基质效应,综合评价使用该方法进行定量分析时可以选择非基质标曲。

表5 不同基质中8种目标化合物ME值

化合物	西红柿基质ME值	白菜基质ME值	鸡胸肉基质ME值	牛肉基质ME值
敌敌畏	1.23	1.24	1.2	1.18
地西洋	0.99	0.98	1.02	0.99
甲拌磷	1.34	1.33	1.25	1.23
克百威	1.3	1.28	1.21	1.23
灭多威	1.26	1.29	1.2	1.25
三唑仑	0.97	0.97	0.89	0.93
溴敌隆	1.02	1.05	1.02	1.04
溴鼠灵	0.94	0.97	0.96	0.98

2.5 方法有效性验证

2.5.1 线性

将混合标准工作溶液(2.3.2)按2.3.4方法进行测定,以目标化合物浓度为横坐标,化合物定量离子对对应峰面积为纵坐标绘制标准曲线,实验结果见表7。

表6 8种污染物的回归方程、相关系数、线性范围

名称	回归方程	相关系数	线性范围(ng/ml)
敌敌畏	$f(x)=1.8962e+003*x+2.9855e+004$	R=0.998	10-500
地西洋	$f(x)=4.9405e+004*x-4.4353e+004$	R=0.999	1-50
甲拌磷	$f(x)=3.8940e+004*x-1.1252e+004$	R=0.999	1-50
克百威	$f(x)=1.8878e+005*x-1.5244e+005$	R=0.999	1-50
灭多威	$f(x)=5.5289e+004*x-3.3016e+004$	R=0.999	1-50
三唑仑	$f(x)=1.9105e+005*x+1.1712e+004$	R=0.999	1-50
溴敌隆	$f(x)=7.6658e+003*x+5.9188e+003$	R=0.999	1-50
溴鼠灵	$f(x)=1.8750e+004*x+9.7945e+003$	R=0.998	1-50

由表6可知,敌敌畏在 $10\sim 50\text{ng/ml}$,甲拌磷、灭多威、克百威、地西洋、三唑仑、溴敌隆、溴鼠灵7种污染物在 $1\sim 50\text{ng/ml}$ 范围内线性方程相关性良好,相关系数 r 均大于0.998。符合GB/T 27404-2008中相关系数 R 需大于0.99的要求。

2.5.2 精密度和准确度

表7 植物、动物源性食品回收率、相对标准偏差

化合物	加标水平 (mg/kg)	平均回收率(%)		RSD(%)	
		植物源性食品	动物源性食品	植物源性食品	动物源性食品
敌敌畏	0.01	93.20	94.37	3.32	5.20
	0.02	95.97	82.55	5.72	3.37
	0.1	100.69	92.21	4.14	5.68
地西洋	0.001	87.92	84.83	4.26	5.85
	0.002	92.48	98.62	5.17	4.01
	0.01	84.73	81.02	4.99	5.32
甲拌磷	0.001	76.62	93.05	4.68	7.40
	0.002	91.11	102.12	5.80	5.31
	0.01	86.69	80.31	5.08	4.33
克百威	0.001	95.65	83.27	4.64	7.14
	0.002	92.33	93.28	4.50	4.50
	0.01	78.13	81.97	4.89	4.87
灭多威	0.001	74.6	91.1	4.31	4.31
	0.002	91.38	103.64	6.22	6.28
	0.01	95.65	82.14	3.64	3.81
三唑仑	0.001	94.98	94.98	5.82	5.64
	0.002	95.30	103.02	4.48	3.01
	0.01	84.4	84.78	4.03	3.73
溴敌隆	0.001	89.50	80.22	6.42	6.14
	0.002	90.72	99.63	5.30	5.46
	0.01	88.29	82.57	5.61	4.93
溴鼠灵	0.001	88.82	88.94	7.04	7.70
	0.002	94.21	99.61	4.51	6.02
	0.01	88.9	85.00	4.86	3.99

选取西红柿和鸡胸肉为代表性样品进行三水平加标回收试验。其中敌敌畏加标量为10, 20, 100 $\mu\text{g/kg}$, 剩余7种外源性污染物加标量均为1, 2, 10 $\mu\text{g/kg}$, 每个水平重复6次, 样品按2.3.3方法处理, 2.3.4方法测定, 以回收率作为准确度实验评价指标, 以

6次平行实验结果相对标准偏差作为精密度实验评价指标, 具体结果见表8。

由表7可知植物源性食品中8种外源性污染物回收率为74.6%~100.69%, RSD值为3.32%~7.04%; 动物源性8种外源性污染物回收率为80.22%~103.64%, RSD值为3.01%~7.70%, 结果符合GB/T 27404-2008的技术要求。

2.5.3 方法检出限与定量限

分别在植物源性食品和动物源性食品中采用逐级递减的方式加入100ng/mL的混合标准溶液, 按2.3.3方法处理, 2.3.4方法测定, 以信噪比 $S/N\geq 3$ 为方法检出限选择依据, 以低水平精密度实验结果作为定量限选择依据, 由于该方法主要用于餐饮食品风险筛查, 在确定方法检出限时, 应综合考虑结果准确性和实验难度, 最终确定的方法检出限和定量限见表8。

表8 不同基质中8种目标化合物检出限与定量限

化合物	方法检出限(mg/kg)		方法定量限(mg/kg)	
	植物源性食品	动物源性食品	植物源性食品	动物源性食品
敌敌畏	0.004	0.004	0.001	0.01
地西洋	0.0004	0.0004	0.001	0.001
甲拌磷	0.0004	0.0004	0.001	0.001
克百威	0.0004	0.0004	0.001	0.001
灭多威	0.0004	0.0004	0.001	0.001
三唑仑	0.0004	0.0004	0.001	0.001
溴敌隆	0.0004	0.0004	0.001	0.001
溴鼠灵	0.0004	0.0004	0.001	0.001

3 结论

本研究建立了一种液相色谱-质谱联用法同时测定植物源性、动物源性食品中敌敌畏、甲拌磷、灭多威、克百威、地西洋、三唑仑、溴敌隆、溴鼠灵8种外源性污染物的快速检测方法。针对不同基质餐饮食品特点优化了QuEChERS提取条件, 色谱及质谱条件, 对不同基质样品的基质效应进行了考察, 确定了最终的检验方法。经方法学验证, 建立的方法已满足GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范食品理化检测》附录F技术参数的要求, 该方法与传统餐饮食品快检方法相比具有适用基质多, 检验时间短, 定性定量准确, 可同时检测不同类型污染物的优势, 在餐饮食品风险筛查, 重大活动餐饮服务保障等工作中有着良好的应用前景, 具有较高的标准化价值, 可以为餐饮食品安全监管提供有效技术支撑。

[参考文献]

[1]王洪宗, 冯辉, 胡开发, 等. GC-ECD法测定生物检材中溴敌隆和大隆[J]. 中国法医学杂志, 2008, 23(6): 405-406.

[2]陈佩瑾,朱洋,冯萌萌,等.高效液相色谱方法同时测定土壤中4种水溶性抗凝血杀鼠药[J].安徽农业科学,2019,47(13):179-181.

[3]周亮,贺春霞,邱彬,等.气相色谱质谱法快速测定多种基质中23种有机磷农药和2种鼠药[J].海峡预防医学杂志,2021,27(3):7-10.

[4]曹小丽,杨晓倩,焦海涛,等.超高效液相色谱-三重四极杆/线性离子阱串联质谱法同时快速筛查和检测食物中毒样品中的12种抗凝血杀鼠剂[J].现代预防医学,2018,45(1):124-130.

[5]徐晓敏.液质联用技术在食品安全检测中的应用研究[J].食品安全导刊,2021(22):71-7173.

[6]刘艳春.液质联用技术在农产品质量安全领域的应用[J].现代农业科技,2024,(8):143-146.

[7]丁刚,刘柏林,谢继安,等.乙腈沉淀蛋白法结合超高效液相色谱串联高分辨质谱技术在鼠药中毒检测中的应用[J].海峡预防医学杂志,2022,28(3):1-6.

[8]钟菲菲,徐文泱,杨韵,等.液相色谱-串联质谱同时检测肉类11种鼠药残留[J].食品与机械,2021,37(7):57-62.

[9]陈华,李涛,徐文泱,等.液-质联用法同时检测植物源性食品中4种鼠药残留[J].2017,33(11):72-75.

[10]张崇威,吴志明,李华岑,等.Captiva EMR-Lipid固相萃取/超高效液相色谱-串联质谱法快速筛查动物源食品中51种药物残留[J].分析测试学报2020,39(02):174-1.

作者简介:

张永(1987--),男,汉族,河北定州人,本科,工程师,研究方向:食品、农产品及粮食检验检测。