

LCMS-8045 测定苹果汁中展青霉素含量

LCMSMS-470

摘要： 本文使用岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用仪建立了一种 LC-MS/MS 测定苹果汁中展青霉素残留量的方法。样品前处理方法参照《GB 5009.185-2016 食品中展青霉素的测定》中的方法进行，果汁样品经过提取和净化之后进行液质联用分析。展青霉素在 5-250 ng/mL 范围内线性良好，线性相关系数 > 0.999，检出限在 0.72 ng/mL，选 10、100、200 ng/mL 三个浓度水平标准工作液，连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差在 0.056~0.124% 和 0.822~1.277% 之间，系统精密度高。同时还考察了空白苹果汁基质加标，回收率在 91.9-97.4% 之间。

关键词： 三重四极杆串联质谱 展青霉素 苹果汁

展青霉素又叫棒曲霉素 (patulin)，是由青霉属、曲霉属和根霉属等 10 多种真菌代谢产生的真菌毒素，常见于水果及其制品中，尤其在以苹果为原料的制品中污染风险最高，是影响水果及果汁饮料质量的主要因素之一。展青霉素会对人类的中枢神经系统、消化系统以及肾脏造成不同程度的危害，具有致畸、致癌的作用。因此，建立一种快速简单、准确、灵敏的检测食品中展青霉素的方法意义重大。

苹果酸甜可口是一种常见的水果，富含糖类、蛋白质、维生素等多种营养成分，还含有丰富的锌元素，

能促进身体生长发育，其果汁饮品也深受大家喜爱。目前，世界上多数国家都制定了苹果产品中展青霉素的含量指标。我国《GB 5009.185-2016 食品中展青霉素的测定》中也规定了展青霉素的测定方法，该标准中规定了两种检测方法，分别是同位素稀释 - 液相色谱串联质谱法和高效液相色谱法。

本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱 LCMS-8045 联用系统，参照《GB 5009.185-2016 食品中展青霉素的测定》中规定的检测方法，建立了一种可以快速准确测定苹果汁中展青霉素的方法。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-8045 超高效液相色谱仪和三重四极杆质谱仪联用系统，具体配置：LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A5R 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-20A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8045 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.96 工作站软件。

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack Velox SP-C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.8 μm, Shimadzu SGLC P/N:227-32001-03)

流动相：A 相 - 纯水 B 相 - 乙腈

流速：0.3 mL/min

进样体积：5 μL

柱温：30°C

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 3%，时间程序见表 1。

表 1 时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	3
4.00	Pumps	Pump B Conc.	80
4.50	Pumps	Pump B Conc.	80
4.51	Pumps	Pump B Conc.	3
6.50	Controller	Stop	

质谱条件

离子源: ESI (-)

脱溶剂管温度: 250°C

离子源接口电压: -3 kV

加热模块温度: 400°C

雾化气: 氮气 3.0 L/min

接口温度: 300°C

干燥气: 氮气 10 L/min

扫描模式: MRM

加热气: 空气 10 L/min

驻留时间: 100 ms

碰撞气: 氩气

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 优化参数

中文名	监测离子对	Q1 Pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
展青霉素	153.10>109.00*	30	13	20
	153.10>80.90	30	14	28
¹³ C ₇ -展青霉素	160.10>115.05*	32	11	40
	160.10>86.05	30	15	30

注: * 表示定量离子

1.3 标准品与试剂

标准品: 购于上海安谱, 于 -20°C 冰箱保存, 备用。

试剂: SHIMSEN 228 展青霉素净化柱 (SHIMADZU SGLC P/N:380-00902), 室温保存。

乙酸溶液: 取 1 mL 乙酸加入 25 mL 水, 混匀。

1.4 标准系列工作液:

用乙酸溶液分别配制 1 µg/mL 的展青霉素和 ¹³C₇ 展青霉素的标准工作液, 准确移取展青霉素和 ¹³C₇-展青霉素标准工作液适量, 再加乙酸溶液稀释成展青霉素浓度为 5 ng/mL、10 ng/mL、25 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL、250 ng/mL 的系列标准溶液, 其中 ¹³C₇ 展青霉素同位素内标浓度为 50 ng/mL。

1.5 样品前处理

按照《GB 5009.185-2016 食品中展青霉素的测定》中规定的提取和净化步骤进行, 净化方法选择净化柱法。

■ 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

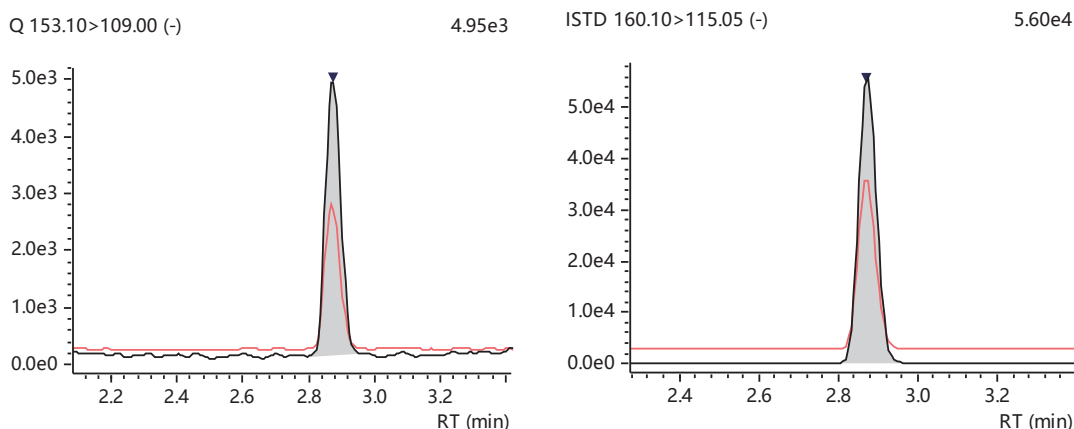


图1 展青霉素标准品 (5 ng/mL) 和同位素内标 (50 ng/mL) 的 MRM 色谱图

2.2 线性范围和灵敏度

按照 1.2 中的分析条件对上述标准系列工作液进行测定，采用内标法定量。以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标，绘制校准曲线，结果如图 2 所示。展青霉素在 5-250 ng/mL 范围内线性关系良好，相关系数 $r=0.9999$ 。为了考察仪器灵敏度，选择 5 ng/mL 浓度混合标准溶液，按照上述分析条件上机进行测定，以 ASTM 作为噪音计算方法，根据 $S/N=3$ 为检出限计算的原则，计算检出限为 0.72 ng/mL。

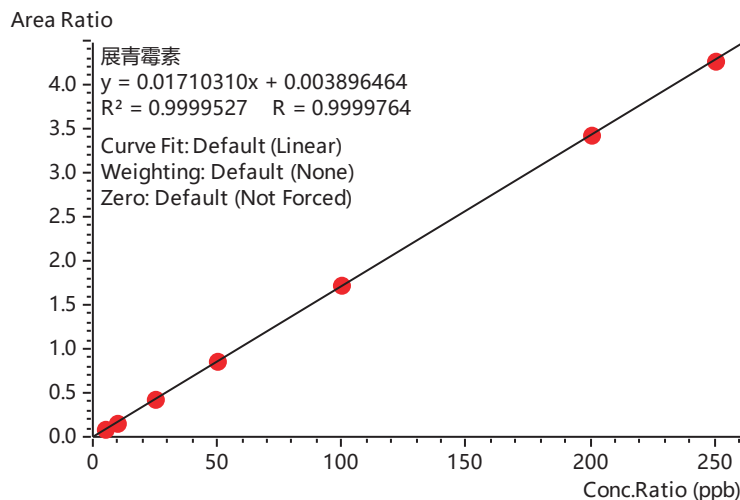


图2 展青霉素校准曲线

2.3 精密度实验

不同浓度的混合标准工作液连续进样 6 次，用于考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 3 所示。结果显示，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.056~0.124% 和 0.822~1.277% 之间，仪器精密度良好。

表3 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

名称	RSD% (10 ng/mL)		RSD% (100 ng/mL)		RSD% (200 ng/mL)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
展青霉素	0.124	1.277	0.069	0.959	0.056	0.822

2.4 回收率实验

以空白苹果汁样品进行加标回收实验，准确称取 4 g 样品，分别添加低、中、高三个浓度水平的展青霉素标准品，按照《GB 5009.185-2016 食品中展青霉素的测定》中规定的前处理方法处理样品，计算平均回收率。空白样品色谱图见图 3，空白基质中不含展青霉素。加标回收色谱图见图 4，各添加水平的平均回收率在 91.9-97.4% 之间，详见表 4。

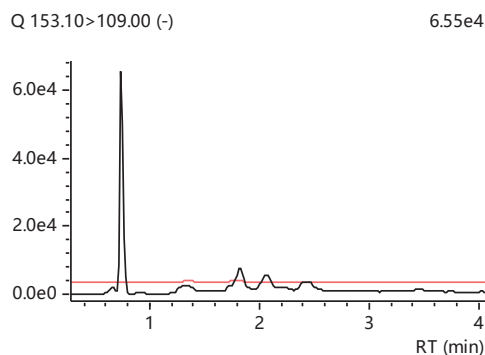


图 3 空白基质色谱图

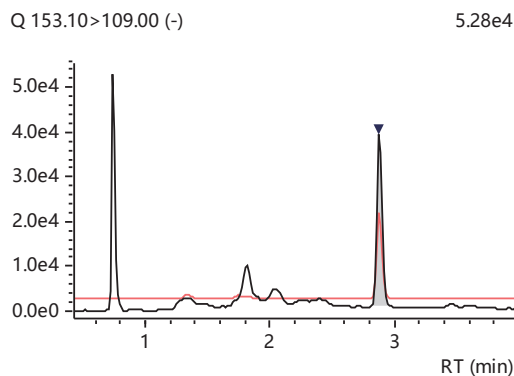


图 4 基质加标回收色谱图 (50 µg/kg)

表 4 展青霉素回收率 (n=3)

名称	加标水平 (µg/kg)	回收率 %
展青霉素	10	91.9
	50	94.5
	200	97.4

■ 结论

本文使用岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用仪建立了一种 LC-MS/MS 测定苹果汁中展青霉素残留量的方法。样品前处理方法参照《GB 5009.185-2016 食品中展青霉素的测定》中的方法进行，该方法快速简单、灵敏度高，可供相关行业参考。

岛津应用云

