

# LCMS-8045 测定速溶咖啡中赭曲霉毒素 A 含量

LCMSMS-449

**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 测定咖啡中赭曲霉毒素 A 残留方法。样品经过超声提取、净化后进行液质联用分析，样品在 2.5-100 ng/mL 范围内线性良好，线性相关系数 > 0.999，检出限在 0.48 ng/mL，选 2.5、5、10 ng/mL 三个浓度水平，连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差在 0.069~0.448% 和 0.881~3.985% 之间，系统精密度良好。同时考察了空白咖啡基质加标，回收率在 85.9-97.5% 之间，满足检测需求。

**关键词：** 三重四极杆串联质谱 赭曲霉毒素 A 速溶咖啡

赭曲霉毒素 (Ochratoxins) 是一种有毒真菌代谢的产品，其中毒性最大、与人类健康关系最密切、对农作物污染最普遍的是赭曲霉毒素 A (Ochratoxin A, OTA)。研究表明该种毒素可以损害动物的肾脏和肝脏，有致畸和致癌作用，因此被国际癌症研究机构定为 2B 类致癌物。

咖啡作为一种饮品，深受大家喜欢，目前仅有少数国家制订了咖啡中赭曲霉毒素 A 的限量尺度。2017 年，我国颁布了《食品中真菌毒素限量》国家标准 GB

2761-2017，规定饮料类咖啡中赭曲霉毒素 A 的含量指标，其中研磨咖啡为 5 μg/kg，速溶咖啡为 10 μg/kg。另外，《GB 5009.96-2016 食品中赭曲霉毒素 A 的测定》中也规定了 LC-MS/MS 检测赭曲霉毒素的方法，但该方法中前处理操作较为繁琐。

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，建立了一种前处理简单的检测方法，可以快速准确测定咖啡中赭曲霉毒素 A 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-20A<sub>5R</sub> 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 GIST C18 (50 mm x 2.1 mm I.D., 2 μm, Shimadzu SGLC P/N:227-30001-02)

流动相：A 相 -0.1 % 甲酸水溶液 B 相 - 乙腈

流速：0.3 mL/min

进样体积：2 μL

柱温：40°C

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 50%，时间程序见表 1。

表 1 时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.80	Pumps	Pump B Conc.	50
2.00	Pumps	Pump B Conc.	80
3.00	Pumps	Pump B Conc.	80
3.01	Pumps	Pump B Conc.	50
4.50	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	: +4 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	英文名	监测离子对	Q1 Pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
赭曲霉毒素 A	Ochratoxins A (OTA)	404.10>239.10*	-28	-26	-22
		404.10>358.10	-28	-13	-28

\* 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：HC-C18 粉末（QuEChERS 专用超洁净填料），购于上海安谱。

乙腈：色谱级，室温保存。

实验用水：由 Milli-Q Plus 水净化系统经去离子与二次净化制得。

甲酸：色谱级，纯度 98 %，室温保存。

## ■ 样品前处理

### 2.1 标准样品扫描质谱图

称取 5.00 g 速溶咖啡粉末于离心管中，加入 10 mL 0.1% 甲酸酸化的乙腈，涡旋振荡 5 min 至充分混匀，超声 5 min 后，6000 r/min 离心 5 min，取上清液 3 mL 加入装有 100 mg C18 粉末的离心管，涡旋振荡 2 min，6000 r/min 离心 5 min，取上清液 1 mL，40 °C 氮气吹至近干，初始比例流动相 1 mL 复溶，过 0.22 μm 微孔滤膜后上机分析。

## ■ 结果与讨论

### 3.1 标准样品的 MRM 色谱图和线性范围

用空白基质溶液配制 2.5、5、10、25、50、100 ng/mL 六个浓度的 OTA 标准溶液，按照 1.2 中的分析条件进行测定，采用外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线，标准样品的 MRM 色谱图和校准曲线如图 1 所示。所得曲线线性关系良好，线性方程、线性范围、相关系数和检出限见表 3。

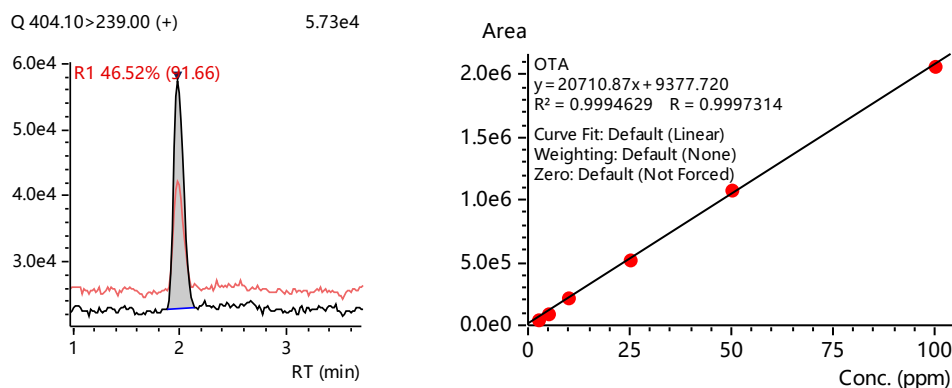


图 1 标准品的 MRM 色谱图 (10 ng/mL) 和校准曲线

表 3 校准曲线参数

中文名称	标准曲线	相关系数 r	线性范围 (ng/mL)	检出限 (ng/mL)
赭曲霉毒素 A	$Y = 20710.0X + 9377.72$	0.9997	2.5-100	0.48

### 3.2 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 4 所示。结果显示，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.069~0.448% 和 0.881~3.985% 之间，仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

名称	RSD% (2.5 ng/mL)		RSD% (10 ng/mL)		RSD% (50 ng/mL)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
赭曲霉毒素 A	0.448	3.985	0.099	1.088	0.069	0.881

### 3.3 回收率实验

以空白咖啡样品进行加标回收实验，准确称取 5 g 样品，分别添加低、中、高三个浓度水平的赭曲霉毒素 A 标准品，计算平均回收率。咖啡基质空白样品色谱图见图 2，空白基质中不含赭曲霉毒素 A。加标回收色谱图见图 3，各添加水平的平均回收率在 85.9-97.5% 之间，详见表 5。

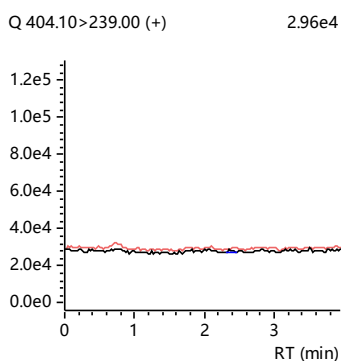


图 2 咖啡空白基质色谱图

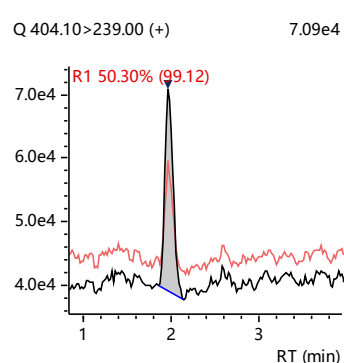
图 3 咖啡基质加标回收色谱图 (20  $\mu\text{g/kg}$ )

表 5 赭曲霉毒素 A 回收率 (n=3)

名称	加标水平 ( $\mu\text{g/kg}$ )	回收率 %	RSD%
赭曲霉毒素 A	10	85.9	1.461
	20	90.0	2.741
	100	97.5	1.026

## 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 测定咖啡中赭曲霉毒素 A 残留的方法。样品经过超声提取、净化后进行液质联用分析，操作简便快捷，分析速度快。赭曲霉毒素 A 在 2.5-100 ng/mL 范围内线性良好，线性相关系数  $> 0.999$ ，检出限在 0.48 ng/mL，选 2.5、5、10 ng/mL 三个浓度水平，连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差在 0.069~0.448% 和 0.881~3.985% 之间，系统精密度良好。同时考察了空白咖啡基质加标，添加量为 10、20、100  $\mu\text{g/kg}$  三个浓度水平，回收率在 85.9-97.5% 之间，满足检测需求。

岛津应用云

