

农产品质量安全 研究报告 (2015年)

中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所
农业部农产品质量标准研究中心

编



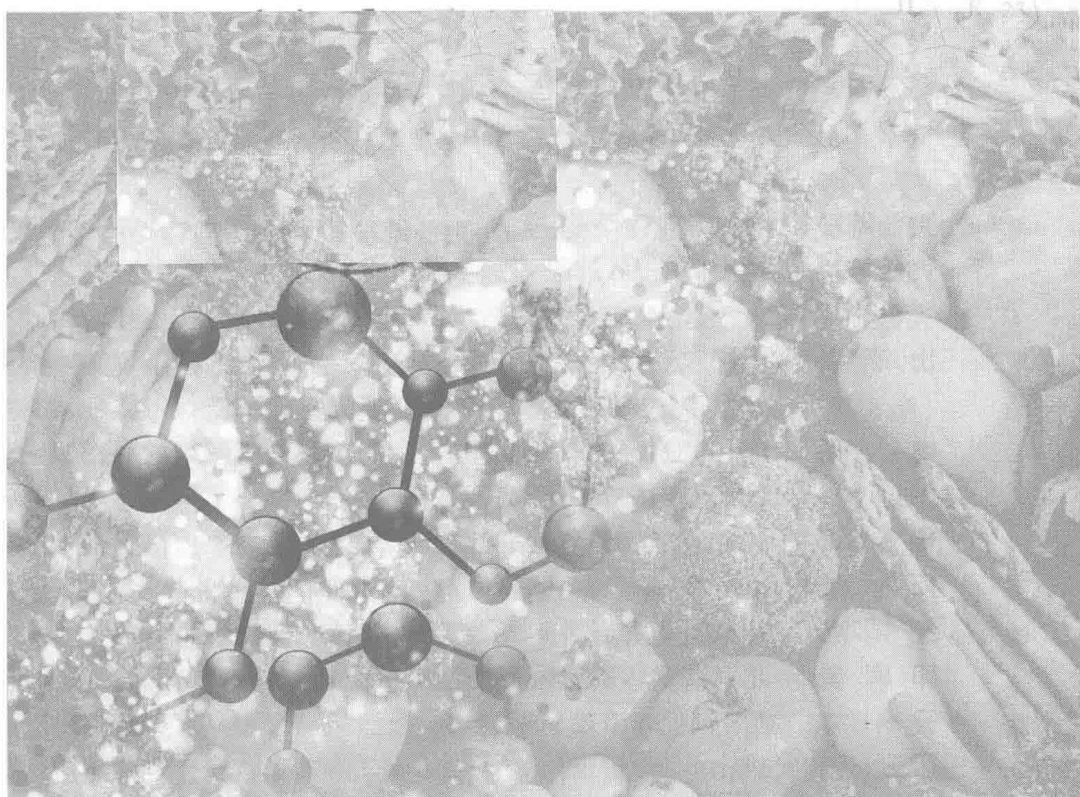
中国农业科学技术出版社

F326.5
39
2015.

农产品质量安全 研究报告 (2015年)

中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所
农业部农产品质量安全研究中心

编



中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

农产品质量安全研究报告. 2015 年 / 中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 农业部农产品质量标准研究中心编. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2015. 10

ISBN 978 - 7 - 5116 - 2319 - 5

I. ①农… II. ①中…②农… III. ①农产品 - 质量管理 - 安全管理 - 研究报告 - 中国 - 2015 IV. ①F326. 5

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 247083 号

责任编辑 姚 欢

责任校对 贾海霞 马广洋

出版者 中国农业科学技术出版社

北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电 话 (010)82106636(编辑室) (010)82109702(发行部)
(010)82109709(读者服务部)

传 真 (010)82106631

网 址 <http://www.castp.cn>

经销者 各地新华书店

印刷者 北京富泰印刷有限责任公司

开 本 787 mm × 1 092 mm 1/16

印 张 34

字 数 800 千字

版 次 2015 年 10 月第 1 版 2015 年 10 月第 1 次印刷

定 价 100.00 元

—— 版权所有 · 翻印必究 ——

前 言

“民以食为天，食以安为先”，农产品质量安全广受社会关注，也是重大的民生问题。2003 年以来，中央一号文件均将保障农产品质量安全作为一项重大任务进行部署。2015 年中央政治局会议第二十三次集体学习时将食品药品安全列为公共安全之首，强调要提高农产品质量安全水平，加强食品安全监管。为有效解决农产品质量安全问题，强化基础理论研究，提升科技支撑能力，2003 年起，我国逐步开始建设农产品质量安全专业研究机构。截至 2015 年 7 月，中国农业科学院、中国水产科学院、中国热带农业科学院均成立了质量安全研究所（中心）；除湖南、海南、贵州、陕西 4 省外，其他省级农业科学院也已成立了相应研究所（中心）。同时，中国农业科学院研究生院成为我国“农产品质量与食物安全”学科首个博士学位授予点单位，农产品质量安全学科也被农业部作为 30 个重点建设的学科群之一。总体上，农产品质量安全研究体系建设从无到有，逐步形成了相对健全的研究体系和学科理论体系，为保障我国农产品质量安全“产出来”和“管出来”提供了强有力的技术支撑。

自 2007 年起，为交流最新科研进展，强化农产品质量安全研究机构协作交流，持续推进农产品质量安全学科发展，中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所（农业部农产品质量标准研究中心）每两年召开一次全国农产品质量安全科研院所联谊会暨学科发展研讨会。来自全国农产品质量安全研究领域的科研院所、高等院校等单位的专家学者，共聚一堂，展示最新研究进展，交流学科发展趋势，探讨重点研究方向，已成为农产品质量安全研究领域的学术盛会。

第五届全国农产品质量安全科研院所联谊会暨学科发展研讨会由中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所（农业部农产品质量标准研究中心）主办，广东省农业科学院农产品公共监测中心承办。这本《农产品质量安全研究报告（2015 年）》是本次会议的主要成果之一，共收录论文 66 篇，汇集了农产品质量安全检测技术、风险评估、真实性识别与溯源、种养殖过程控制技术等多方面的最新研究成果。

我们期待本书的出版不仅对从事农产品质量安全科研、教学和管理的工作者有所裨益，也能给予相关行业从业者有所启发。由于时间紧张，编辑量大，本着文责自负的原则，编委会对论文按作者原文内容和文字未加修改。错误之处，敬请读者批评指正。

编 者

2015 年 10 月

目 录

HPLC – ICP – MS 联用技术分析水产品中砷的形态	
..... 陈 岩, 耿安静, 杨 慧, 赵晓丽, 王富华 (1)	
高效液相色谱—串联质谱法测定大米和小米中柄曲霉素残留	
..... 赵亚荣, 石阶平, 黄健祥, 王富华 (8)	
果蔬产品中农药残留快速检测技术创新发展思考	
..... 刘香香, 王 旭, 赵 洁, 王富华 (18)	
酶抑制法快速检测有机磷农药的研究进展 ... 赵 洁, 王 旭, 王富华, 刘香香 (23)	
QuEchERS – UPLC – MS/MS 法测定蔬菜中 5 种植物生长调节剂	
..... 孙 涛, 王 成, 赵子刚, 刘圣红, 古丽斯坦, 安 静, 周 俊 (29)	
样品采集制备过程对土壤硝态氮测定结果影响分析	
..... 朱靖蓉, 李 静, 马 磊, 曹晓倩, 尼罗帕尔, 王 成 (34)	
基于 Cu (I) 催化的叠氮 DNA – 端炔 DNA 环加成反应构建赭曲霉毒素 A 的便携式 传感器研究	邱素艳, 罗林广, 张金艳, 周瑶敏, 袁丽娟 (39)
MCX 包被的磁纳米材料用于磁固相萃取猪尿中的 10 种 β – 受体激动剂	
..... 廖且根, 罗林广 (46)	
离子色谱法测定鸡蛋及卤鸡蛋制品中 F^- 、 Cl^- 、 NO_2^- 、 SO_4^{2-} 和 NO_3^-	
..... 魏益华, 张金艳, 罗林广, 袁丽娟 (52)	
冰鲜三文鱼中单核细胞增多性李斯特菌快速检测方法的研究	
..... 关棣锴, 胡文忠, 朴永哲, 冯 可 (56)	
超高效液相色谱—串联质谱法检测水果中 10 种常用植物生长调节剂	
..... 闫 震, 聂继云, 徐国锋, 李海飞, 李 静, 李志霞, 毋永龙, 匡立学 (66)	
基于 HPLC 指纹图谱的龙井茶和乌牛早鉴别方法研究	
..... 周有祥, 金 钰, 赵明明, 龚 艳, 石元值, 彭立军, 胡定金 (76)	
超高效液相色谱—质谱法同时测定果蔬中的 8 种真菌毒素	
..... 王 蒙, 姜 楠, 韦迪哲, 冯晓元 (84)	
适配体在环境污染物检测中的研究进展	黄亚飞, 闫 娇, 陈爱亮, 章程辉 (91)
适配体纳米金比色分析方法灵敏度影响因素研究进展	
..... 刘金钊, 白文荟, 陈爱亮 (97)	
柑橘属果实中黄酮成分的高效液相色谱标准化测定方法研究	
..... 刘文静, 潘 葳, 涂杰峰 (105)	

固相萃取与 GC-ECD 联用测定食用油中氟虫腈及其代谢物	彭西甜, 李禹楠, 夏虹, 彭立军 (120)
液相色谱—串联质谱法检测原多甲藻酸毒素及其代谢产物	吴海燕, 郭萌萌, 顾海峰, 翟毓秀, 谭志军 (127)
酸度调控的无标记生物传感技术用于可视化检测大肠杆菌 O157: H7	徐霞红, 王新全, 袁玉伟, 胡桂仙, 朱加虹, 钱鸣蓉, 王强 (136)
QuEChERS—超高效液相色谱—串联质谱法测定植物油中黄曲霉毒素	程盛华, 杨春亮, 曾绍东, 魏晓奕, 王明月, 李积华 (141)
气相色谱—串联质谱法测定豆芽中 16 种塑化剂	程盛华, 张利强, 魏晓奕, 王明月, 杨春亮, 李积华 (151)
基于线粒体 16S rRNA 和 CO I 基因鉴别畜禽肉中鸭源性成分	唐修君, 高玉时, 樊艳凤, 贾晓旭, 陈大伟, 唐梦君, 顾荣, 张静, 陆俊贤 (164)
多金属元素与稀土元素结合线性判别分析对中国绿茶产地溯源研究	马桂岑, 章剑扬, 陈利燕, 刘汀, 刘新 (170)
三种金黄色葡萄球菌分子生物学检测方法的效果比较	唐梦君, 张静, 张小燕, 葛庆联, 蒲俊华, 唐修君, 陈大伟, 高玉时 (176)
高效液相色谱串联质谱法同时测定香菇中 33 种真菌毒素	韩铮, 宋卫国, 沈源源, 董茂锋, 郭文博, 聂冬霞, 武爱波, 赵志辉 (182)
基于双硫化罗丹明的汞离子探针的设计合成与性能研究	张迪, 刘继红, 王红旗, 贾斌, 周玲, 张军锋 (199)
伏马毒素新型荧光标记物制备及其在荧光偏振分析技术中的应用	刘继红, Chris Maragos, 王敏, 尹海燕, 刘冬梅, 张军锋, 王红旗 (207)
基于核酸外切酶循环酶切信号放大的黄曲霉毒素 B ₁ 电化学检测	王红旗, 洪慧杰, 尹海燕, 李淑芳, 刘冬梅, 张军锋, 刘继红 (215)
我国生乳中主要重金属污染物风险评估	屈雪寅, 郑楠, 王加启, 周雪巍, 李松励, 张养东 (223)
广东省重金属污染地区稻米镉污染状况及风险评价	文典, 郝方泽, 杜瑞英, 彭立钧, 李蕾, 李嘉琳, 赵迪, 邹素敏 (233)
某工业区食用农产品铅污染水平及居民膳食暴露评估	赵多勇, 魏益民, 魏帅, 郭波莉, 王成 (242)
2009—2015 年苹果中登记农药的调查分析	沈友明, 聂继云, 李志霞, 毋永龙, 闫震, 程杨, 关棣锴 (250)
健康风险评估方法在水稻重金属污染中的应用	刘兰英, 涂杰峰 (258)
环渤海地区养殖水产品中多环芳烃 (PAHs) 污染残留及健康风险评估	郑关超, 郭萌萌, 赵春霞, 付树林, 谭志军, 翟毓秀 (263)
奶牛饲料中 AFB ₁ 和 ZEN 调查报告	王丽芳, 曾杰, 李秀萍, 姚一萍, 史培, 高天云, 张三粉, 郎松岩 (272)

药食同源品百合—土壤中重金属镉、铅和汞的潜在风险	李瑞琴, 于安芬, 白 滨, 徐 瑞, 丁文姣 (277)
脆弱性评价及其在食用农产品质量安全风险评估中的应用	楼甜甜, 陆柏益, 张星联 (287)
铅镉联合暴露对蛋鸡各组织中铅镉残留的影响	陈大伟, 刘茵茵, 蒲俊华, 马丽娜, 葛庆联, 唐修君, 高玉时 (293)
西宁市冬季市售蔬菜农药残留现状分析	韩 燕, 孙小凤, 代 辛, 来有鹏, 崔明明, 耿贵工 (297)
乐清市铁皮石斛质量安全检测调研报告	徐丽红, 郑蔚然, 王小骊 (302)
珠三角芸薹属叶菜产地土壤重金属 Cd 污染阈限值研究	李富荣, 文 典, 王富华, 王 旭, 万 凯, 刘香香, 杜应琼 (314)
不同水稻品种籽粒中 Cd、Pb 和 As 含量特征研究	杜瑞英, 文 典, 彭立钧, 李 蕾, 郝方泽, 王富华 (321)
泰妙菌素在大鼠、猪、鸡、牛和羊体内外的比较代谢研究	杨术鹏, 孙菲菲, 王战辉, 沈建忠, 张素霞, 曹兴元 (328)
基于生理药动学模型预测喹赛多及其残留标志物在猪可食性组织中的残留消除	黄玲利, 林周孟, 周 璇, 祝美玲, Ronette Gehring, Jim E. Riviere, 袁宗辉 (340)
两株水稻内生菌在水稻体内定殖及对毒死蜱降解特性的研究	宋 雯, 余向阳 (361)
基于主成分和聚类分析的新疆主产区灰枣微量元素含量特征研究	何伟忠, 王 成, 宋 斌, 杨 莲, 张红艳, 华震宇, 王 贤 (370)
新疆库尔勒香梨主产区土壤重金属污染评价及空间分布研究	王 成, 赵多勇, 郭庆军, 康 露, 李明慧, 何伟忠, 梁秋艳, 杨 莲, 曹双瑜, 马 磊, 卫 阳 (376)
陕西省苹果重金属污染现状分析与评价	匡立学, 聂继云, 李志霞, 毋永龙, 李海飞, 徐国峰, 闫 震 (384)
扇贝不同组织中镉的微区分布特征及其变化规律	赵艳芳, 宁劲松, 尚德荣, 翟毓秀 (393)
我国主产棉区棉籽中重金属污染水平调查与初步评价	马 磊, 杨伟华, 魏守军, 唐淑荣, 徐双娇 (402)
脉冲磁场杀菌技术应用研究进展	闫 娇, 黄亚飞, 陈爱亮, 章程辉 (408)
谈我国棉花质量安全监控现状与应对措施	唐淑荣, 马 磊, 魏守军, 杨伟华 (414)
棉花产品质量安全研究评述	杨伟华, 马 磊, 唐淑荣, 魏守军 (419)
芸豆出口技术性贸易措施分析	郭春景, 王建忠, 任志莹 (427)
我国水产饲料标准化体系现状、问题及对策	潘 葳, 林 虬, 宋永康, 刘文静, 涂杰峰, 余 华 (469)

国内外农产品质量安全体系比较与借鉴	
..... 王 莹, 张振都, 牛红红, 孟繁磊, 王巍巍, 魏春雁 (476)	
我国食用农产品“三剂”使用、监管及技术研究现状与进展	
..... 楼甜甜, 陆柏益, 贺 妍 (481)	
油佐剂疫苗对蛋鸡生产性能、蛋品质和血清生化指标的影响	
张云山, 陆俊贤, 张 静, 陈大伟, 唐梦君, 刘茵茵, 王大祥, 高玉时, 王杏龙 (493)	
不同加工方式对禽蛋胆固醇水平影响的研究	
..... 葛庆联, 高玉时, 马丽娜, 陈大伟, 蒲俊华, 樊艳凤, 赵 敏 (501)	
东北黑木耳质量安全现状与建议	
..... 蔡玉红, 仇建飞, 宋志峰, 张之鑫, 魏春雁 (506)	
蔬菜农药残留对人体健康的危害及防范措施	
..... 何智勇, 宋志峰, 蔡红梅, 武 巍, 张国辉, 魏春雁 (509)	
硒对人体健康的功用及富硒食品研发进展	
..... 刘笑笑, 魏春雁, 樊慧梅, 杨 建, 马 虹, 王 丽 (513)	
近年影响我国红枣生产的主要病虫害及用药现状	
..... 郝变青, 马利平, 赵永胜, 乔雄梧 (519)	
禽类实验动物质量对生物制品的影响	韩凌霞, 陈洪岩 (526)
有蹄类实验动物质量检测	林 欢, 司昌德, 李佳音, 谭文聪, 陈洪岩 (529)
饲用农产品污染物对实验动物的影响及其检测	张圆圆, 王 蕾, 陈洪岩 (533)

HPLC-ICP-MS 联用技术分析 水产品中砷的形态*

陈 岩^{1,2**}, 耿安静^{1,3}, 杨 慧^{1,3}, 赵晓丽^{1,2}, 王富华^{1,2,3***}

- (1. 广东省农业科学院农产品公共监测中心, 广州 510640;
2. 农业部农产品质量安全检测与评价重点实验室, 广州 510640;
3. 农业部农产品质量安全风险评估实验室(广州), 广州 510640)

摘 要: 以 50% 甲醇/水溶液作为提取剂, 采用超声辅助提取方式提取水产品中各种不同形态的砷, 以 PRP-X100 型阴离子交换色谱柱 (250 mm × 4.1 mm, 10 μ m) 作为分离色谱柱, pH 值=5.5 的磷酸盐溶液作为流动相, 电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS) 作为检测器, 10min 内实现砷酸盐、亚砷酸盐、甲基胂酸、二甲基胂酸、砷胆碱、砷甜菜碱等 6 种砷化合物的完全分离, 检出限为 0.3~0.7 μ g/L。该方法检测得到鱼类水产品中砷以砷甜菜碱为主, 紫菜等植物性水产品中砷主要为砷糖, 所测样品中无机砷含量均低于食品安全国家标准限量值。

关键词: 砷; 形态分析; 阴离子交换色谱; 电感耦合等离子体质谱

砷是一种在地壳中天然存在的元素, 它在自然界中的天然丰度排在第 20 位, 在海水中排在第 14 位, 在人体内排在第 12 位^[1]。砷及其化合物是生态系统中熟知的污染物, 它能较容易地进入到食物链中, 并达到对生物体的生理状况产生潜在的影响的浓度水平^[2]。一般来说, 砷的毒性与其化学形态有关。砷酸盐 (AsO_3^-) 和亚砷酸盐 (AsO_3^-) 等无机形态砷的毒性明显要大于有机砷, 人体服入 70~80mg 的三氧化二砷即会引起致命。相反, 砷胆碱、砷甜菜碱及砷糖等有机形态的砷则基本没有毒性^[3]。

食物是人体摄入砷的主要来源, 总膳食研究表明全球砷的人均摄入量从 10 μ g/天到 345 μ g/天不等^[4-5]。其中, 水产品中砷的含量最高, 它决定了人体摄入砷的总量。由于砷化合物的不同毒性, 如何快速准确地测定水产品中不同形态的砷对于更加科学地评估水产品中高毒性砷的摄入性风险具有重要意义。

* 基金项目: 广东省科技计划项目 (2012A020100002); 广东省促进科技服务业发展计划项目 (2012B040302012); 国家自然科学基金项目 (41401367); 广东省主体科研机构创新能力建设专项资金 (2060299)

** 作者简介: 陈岩, 男, 助理研究员, 从事农产品质量安全研究; E-mail: gdaas_cyan@aliyun.com

*** 通讯作者: 王富华

砷的形态分析有液相色谱 (HPLC)、毛细管电泳色谱等分离技术与电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS)、电感耦合等离子体发射光谱法、原子荧光光谱法、原子吸收光谱法等检测技术联用来实现^[6-8]。HPLC-ICP-MS 因具有灵敏度高、检出限低等优点,目前已发展成为砷形态分析中最具前景的检测方法之一。本研究采用合适的前处理技术,结合 HPLC-ICP-MS 对 12 种动、植物性水产品中砷的形态进行分析。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

7700x 型电感耦合等离子体质谱仪 (Agilent, 美国); 1260 型高效液相色谱仪 (Agilent, 美国); PRP-X100 型 (250 mm × 4.1 mm, 10 μ m) 阴离子交换柱 (Hamilton, 美国); EPED-10DH 型纯水机 (南京易普易达科技发展有限公司); KH-300DE 超声清洗器 (昆山禾创超声仪器有限公司); BT25S 型电子天平 (赛多利斯科学仪器公司, 德国)。

GBW (E) 080283 砷单元素标准溶液、GBW08671 砷胆碱溶液标准物质、GBW08670 砷甜菜碱溶液标准物质、GBW08667 砷酸根溶液标准物质购自中国计量科学研究院, 一甲基砷酸 (MMA)、二甲基砷酸 (DMA) 标准物质购自美国 Sigma 公司, 亚砷酸钠标准物质购自美国 ChemService 公司, 调谐液 (Part# 5185-5959) 购自美国 Agilent 公司, 硝酸、高氯酸、甲醇 (色谱纯) 购自德国 Merck 公司, 氢氧化钠、磷酸二氢钠 (99.999% metal basis)、乙酸铵 (纯度 99.99% metal basis)、硝酸钠 (99.99% metal basis)、乙二醇四乙酸二钠 (99.999% metal basis) 购自阿拉丁试剂公司, 实验用水为一级水。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理

将市场上购买的鱼、虾样品去除头、骨及内脏部分, 切成小块状后用匀浆机搅碎, 放置于 -18℃ 冰箱内保存。紫菜和海带样品用剪刀剪碎后用粉碎机磨成粉末。

1.2.2 总砷的测定

称取 3~4g 匀质化样品于 50mL 烧杯中, 加入 10mL 混合酸 (硝酸: 高氯酸 = 4:1), 于 180℃ 电热板上消解至无色透明, 冷却后转移至 25mL 容量瓶中, 定容至刻度, 摇匀后在电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS) 上测定。

1.2.3 砷形态的测定

称取约 5.0g 样品于 50mL 离心管中, 加入 10mL 体积比为 1:1 甲醇/水 (50% 甲醇) 溶液, 涡旋混匀 2min, 于超声波中室温超声提取 30min, 以 4000r/min 的速度离心 15min, 收集上清液, 重复 2 次, 提取液在 60℃ 水浴锅中蒸发去除甲醇, 定容后以 0.45 μ m 滤膜过滤, 待测。

1.2.4 仪器参数

用含有 10 ng/mL 的 Ce、Co、Li、Tl、Y 调谐溶液对 ICP-MS 仪器测定时的工作条件进行优化, 采用时间分辨采集模式, 使仪器的灵敏度、氧化物、双电荷、分辨率等指标符合 ICP-MS 仪器最佳测定条件, 避免样品溶液中³⁵Cl 和所使用的载气氦气形成

$^{75}\text{ClAr}^+$ 多原子离子干扰砷的检测。在砷形态分离时合理控制流动相的流速、有机相比例、pH 值均可以较好地控制砷形态分离的时间及检测信号强度。经优化后的总砷及砷形态分析的仪器参数见表 1。

表 1 HPLC – ICP – MS 仪器工作参数

HPLC 部分	参数
流动相组成	A 相: 10 mM 乙酸钠 + 3mM 硝酸钠 + 2mM 磷酸二氢钠 + 0.2mM 乙二胺四乙酸二钠 (98%)
	B 相: 乙醇 (2%)
	pH 值: 5.5
流动相流速 (mL/min)	1.0
进样体积 (μL)	10
ICP – MS 部分	
射频功率 (W)	1550
反射功率 (W)	1.80
雾化室温度 ($^{\circ}\text{C}$)	2.0
采样深度 (mm)	8.0
等离子体气流速 (L/min)	15
载气流速 (L/min)	0.80
稀释气体流速 (L/min)	0.30
He 气流速 (mL/min)	3.8
蠕动泵流量 (r/min)	0.3
检测离子	As, $m/z = 75$
信号采集模式	时间分辨模式
砷积分时间 (s)	0.3

2 结果与讨论

2.1 样品前处理优化

对砷的形态进行分析前需对样品进行预处理, 提取砷化合物后再进行测定。样品前处理过程中保证待测组分形态的稳定和提取完全是检测结果准确的关键因素。砷形态提取常见的提取剂有甲醇/水和低浓度的无机酸如磷酸、盐酸、硝酸等, 常用的辅助提取方式有超声提取法、微波提取法和振荡提取法^[9-11]。由于硝酸具有一定的氧化能力, 在提取过程中可能会发生少量的砷形态转化, 因此本研究分别考虑了 5% 磷酸溶液、10% 盐酸溶液、甲醇/水三种不同提取剂对水产品中砷的提取效率, 采用的辅助提取方式为超声辅助提取 (表 2)。研究发现 50% 的甲醇/水溶液对紫菜和鱼肉样品不同砷化合物的加标回收率最高, 为 80.7% ~ 94.8%, 而 5% 磷酸溶液和 10% 盐酸溶液对有机砷 (甲基砷酸、二甲基砷酸、砷胆碱、砷甜菜碱) 的提取回收率要低于无机砷 (砷酸盐、亚砷酸盐)。最终, 本研究选择 50% 甲醇溶液作为提取剂。

表 2 不同提取剂对六种砷化合物的提取回收率 (加标量为 10μg/kg)

样品类型	提取剂	提取回收率					
		砷酸盐	亚砷酸盐	甲基胂酸	二甲基胂酸	砷胆碱	砷甜菜碱
紫菜	5% 磷酸	78.8%	82.2%	74.9%	75.3%	77.4%	74.6%
	10% 盐酸	80.9%	82.2%	72.5%	68.9%	72.7%	70.9%
	50% 甲醇	84.8%	91.5%	87.3%	80.7%	94.1%	91.2%
鱼肉	5% 磷酸	87.5%	86.3%	73.3%	72.0%	71.6%	75.8%
	10% 盐酸	84.1%	85.4%	70.7%	73.9%	72.4%	74.5%
	50% 甲醇	93.5%	92.1%	89.4%	83.3%	92.6%	94.8%

2.2 色谱分离条件的选择

由于不同形态砷化合物的化学结构不同，解离常数与流动相的 pH 存在着较大相关性。在水溶液中，砷胆碱 (C₅H₁₄AsO⁺) 和砷甜菜碱 (C₅H₁₂AsO⁺) 主要是以阳离子形式存在，而砷酸盐 (AsO₄³⁻)、亚砷酸盐 (AsO₃³⁻)、甲基胂酸 (CH₃AsO₃⁻)、二甲基胂酸 (C₂H₅AsO₂⁻) 则均为阴离子形式。因此，在阴离子交换色谱柱上，砷胆碱和砷甜菜碱不会和色谱柱上的交换基团产生作用而直接洗脱出峰，而其余四种砷化合物则随 pH 值的变化出峰时间相应延长或缩短。本研究分别选取了 pH 值 5.5 (弱酸性)、pH 值 7.0 (中性)、pH 值 10.5 (碱性) 3 种不同的流动相 pH 值，发现流动相的 pH 值为 5.5 时，6 种峰能够完全实现分离 (图 1)。流动相中加入 2% 的乙醇是为了提高仪器的增敏性，增敏效应产生的原因可能是电离的碳离子与部分未电离的目标离子发生了电荷转移，提高了电离效率^[12]。

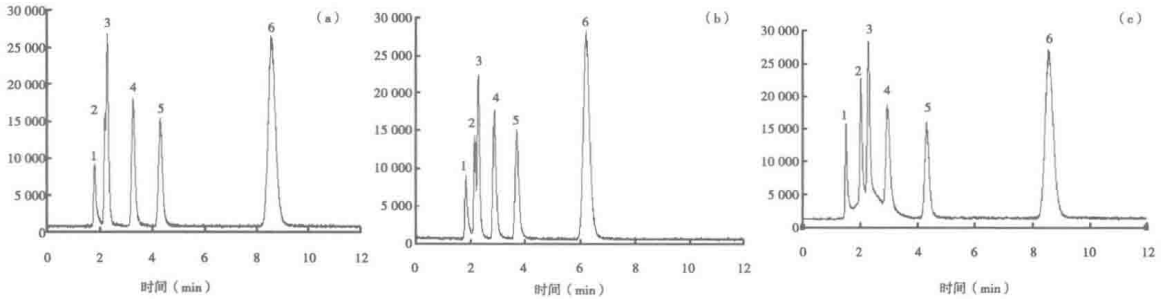


图 1 流动相 pH 值对砷化合物保留时间的影响

注：(a) pH 值 = 10.0；(b) pH 值 = 7.0；(c) pH 值 = 5；5.1 - 砷胆碱；2 - 砷甜菜碱；3 - 亚砷酸盐；4 - 二甲基胂酸；5 - 甲基胂酸；6 - 砷酸盐

2.3 砷的形态分析

2.3.1 标准曲线与检出限

配制 0μg/L, 2μg/L, 10μg/L, 20μg/L, 50μg/L, 100μg/L 的 6 种砷化合物的混合标准溶液于最佳仪器条件下进行测试，以标准溶液浓度对积分面积进行线性拟合，绘制

标准曲线。以 3 倍信噪比 (S/N) 确定砷化合物的检出限。线性方程、相关系数及检出限见表 3。

表 3 六种砷化合物的线性方程、相关系数及检出限

汞形态	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	线性方程	相关系数 (r)	检出限 ($\mu\text{g/L}$)
砷酸盐	2 ~ 100	$y = 6\,697x + 3\,628$	0.999 3	0.3
亚砷酸盐	2 ~ 100	$y = 4\,115x + 2\,280$	0.998 9	0.5
甲基胂酸	2 ~ 100	$y = 2\,058x + 3\,435$	0.999 7	0.7
二甲基胂酸	2 ~ 100	$y = 3\,193x + 3\,683$	0.999 9	0.6
砷胆碱	2 ~ 100	$y = 4\,258x + 1\,994$	0.999 5	0.5
砷甜菜碱	2 ~ 100	$y = 6\,137x + 3\,046$	0.999 7	0.3

2.3.2 精密度和回收率

精密称取同一鱼肉样品和紫菜样品各 12 份，分别进行高、低两个浓度的加标回收实验，100 $\mu\text{g/kg}$ 和 10 $\mu\text{g/kg}$ 两种加标浓度水平下，不同样品基质中 3 种形态汞加标回收率分别为 83.9% ~ 96.8%（高浓度）和 80.7% ~ 94.8%（低浓度），相对标准偏差 ($n=6$) 为 2.19% ~ 4.22%，表明该方法具有较高的回收率和精密度，适合动、植物性水产品汞形态的分析检测。

2.4 样品的分析

将采集的 12 种水产样品经上述前处理后，用 HPLC 法测定水产品中的总砷含量，同时采用本研究的 HPLC – ICP – MS 方法分析水产品中的砷形态，并比较总砷含量与各形态砷含量的加和值，结果见表 4。由结果可知，尽管水产品中总砷含量较高，砷酸盐和亚砷酸盐等高毒性的无机砷的含量较低，水产品中主要的砷形态以砷甜菜碱、二甲基胂酸和一种未知的砷化合物为主（图 2），经文献报导该未知砷化合物为砷糖^[13]。然而，目前，国内外尚没有砷糖的标准物质，还无法对样品中砷糖进行准确定量。我国食品安全国家标准 GB 2762—2012 中对水产品的限量规定以无机砷计，样品中所测无机砷含量远低于标准限量值，故本实验样品不存在砷超标的风险。

表 4 水产样品中砷化合物及总砷含量测定结果

样品名称	砷酸盐 ($\mu\text{g/kg}$)	亚砷酸盐 ($\mu\text{g/kg}$)	有机砷 ($\mu\text{g/kg}$)	总砷 ($\mu\text{g/kg}$)
阿根廷红虾	未检出	38.4	7 654.8 (砷甜菜碱)	11 627.7
南美白对虾	未检出	25.7	2 355.6 (砷甜菜碱)	3 408.5
沙尖鱼	未检出	34.1	6 811.8 (砷甜菜碱)	9 259.2
白鲳鱼	未检出	25.6	1 408.7 (砷甜菜碱)	2 622.7
墨鱼	未检出	未检出	263.1 (砷甜菜碱)	439.6
带鱼	未检出	未检出	259.4 (砷甜菜碱)	358.4

(续表)

样品名称	砷酸盐 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	亚砷酸盐 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	有机砷 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	总砷 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
池鱼	未检出	198.9	13 698.6 (砷甜菜碱)	22 552.8
扒皮鱼	未检出	未检出	459.7 (砷甜菜碱)	606.1
红杉鱼	未检出	162.7	17 256.8 (砷甜菜碱)	23 596.9
多宝鱼	未检出	未检出	198.2 (砷甜菜碱)	246.4
紫菜 (干)	未检出	22.5	628.4 (二甲基胍酸)	43 573.5
海带 (干)	未检出	12.8	459.4 (二甲基胍酸)	17 358.3

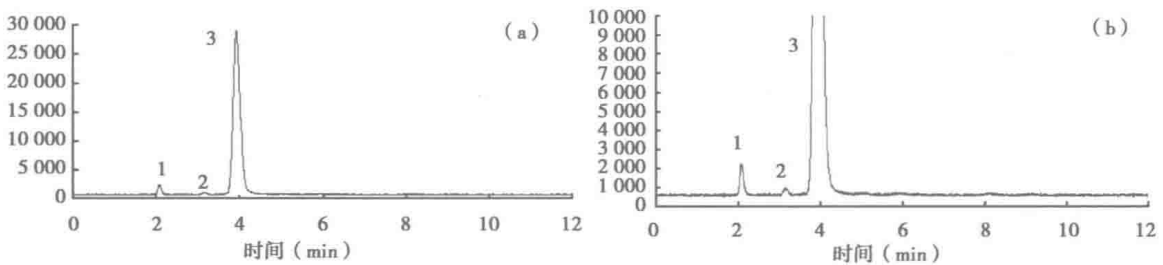


图2 典型水产品中砷化合物的色谱图

注：(a) 紫菜，(b) 海带；1 - 二甲基胍酸，2 - 亚砷酸盐，3 - 砷糖

3 小结

高效液相色谱—电感耦合等离子体质谱已逐渐成为重金属形态分析的重要技术手段。本研究通过比较不同提取剂，选择 50% 甲醇溶液对水产品中样品进行超声辅助提取，以磷酸缓冲液在 pH 值 5.5 的弱酸性流动相下，10min 左右实现 6 种砷化合物的完全分离。该方法具有分离时间短、灵敏度高、回收率高等优点，适用于各种动、植物性水产品中砷的形态分析。

参考文献

[1] Sharma V, Sohn M. Aquatic arsenic: Toxicity speciation, transformations, and remediation. *Environment International*, 2009, 35: 743 - 759.

[2] Bergés - Tiznado ME, Pérez - Osuna F, Notti A, et al. Arsenic and Arsenic Species in Cultured Oyster (*Crassos trea gigas* and *C. cortezien sis*) from Coastal Lagoons of the SE Gulf of California, Mexico. *Biological Trace Element Research*, 2013, 151: 43 - 49.

[3] Devesa V, Vélez D, Montoro R. Effect of thermal treatments on arsenic species contents in food. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46 (1): 1 - 8.

[4] Tripathi, RM, Raghunath R, Krishnamoorthy TM. Arsenic intake by the adult population in Bombay City. *Science of the Total Environment*, 1997, 208 (1 - 2), 89 - 95.

[5] Herce - Pagliai C, González G, Camean AM, et al. Presence and distribution of arsenical species in beers. *Food Additives and Contaminants*, 1999, 16 (6), 267 - 271.

[6] 王亚, 张春华, 申连玉, 等. 高效液相色谱/氢化物发生—原子荧光光谱法检测微藻中的砷形态.

分析科学学报, 2014, 30 (1): 21-25.

- [7] 郑光亚, 宋佳, 邓跃全, 等. 砷形态分析的研究进展. 理化检验—化学分册, 2015, 51 (4): 560-566.
- [8] Liu LH, He B, Yun ZJ, et al. Speciation analysis of arsenic compounds by capillary electrophoresis on-line coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry using a novel interface. Journal of Chromatography A, 2013, 1304: 227-233.
- [9] 李伟, 陈苗苗, 谭婷婷, 等. 常见海鲜干制品类即食食品中砷形态的测定 [J]. 食品科技, 2014, 39 (6): 303-307.
- [10] 尚德荣, 宁劲松, 赵艳芳, 等. 高效液相色谱—氢化物发生原子荧光 (HPLC-HG-AFS) 联用技术检测海藻食品中无机砷 [J]. 水产学报, 2010, 34 (1): 132-138.
- [11] 熊文明, 冯敏玲, 李拥军, 等. 超声辅助提取—高效液相色谱—电感耦合等离子体质谱法测定南美白对虾中砷形态 [J]. 广东农业科学, 2013 (12): 122-124.
- [12] 林立, 王琳琳, 孙海波, 等. 离子色谱—电感耦合等离子体质谱法测定乳粉的汞形态 [J]. 岩矿测试, 2014, 33 (3): 390-396.
- [13] 解楠, 徐红斌, 胡其敏, 等. 微波消解—电感耦合等离子体—质谱和原子荧光光谱测定海产品中总砷含量差异的研究 [J]. 光谱实验室, 2011, 28 (2): 645-649.

高效液相色谱—串联质谱法测定大米和小米中柄曲霉素残留*

赵亚荣^{1,2,3**}, 石阶平³, 黄健祥^{1,2}, 王富华^{1,2***}

(1. 农业部农产品质量安全检测与评价重点实验室, 广州 510640;

2. 广东省农业科学院农产品公共监测中心, 广州 510640;

3. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘 要: 柄曲霉素是由多种真菌产生的一类真菌毒素, 广泛分布于谷物类食品中, 对人和动物具有潜在的毒性作用, 存在食品安全隐患。本研究通过优化提取溶剂及其体积、超声时间、吸附剂, 建立了一种快速、简单、准确的大米和小米中柄曲霉素分析方法。以乙腈作为提取溶剂, PSA 吸附剂净化, 采用 HPLC-MS/MS 进行检测。大米中柄曲霉素检出限为 0.03mg/kg, 定量限为 0.1mg/kg, 回收率范围为 93.2% ~ 101.3%, 相对标准偏差范围 2.9% ~ 8.3%; 小米中柄曲霉素检出限为 0.1mg/kg, 定量限为 0.3mg/kg, 柄曲霉素的回收率范围为 104.2% ~ 113.8%, RSD 范围为 4.2% ~ 9.4%, 符合痕量分析的要求。采用该方法分析收集的大米和小米样品, 均未检出柄曲霉素。

关键词: 柄曲霉素; 大米; 小米; 高效液相色谱—串联质谱

柄曲霉素 (Sterigmatocystin, STC) 是由杂色曲霉 (*Aspergillus versicolor*)、构巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*)、阿姆斯特丹曲霉 (*Aspergillus amstelodami*) 等真菌产生的次级代谢产物, 具有潜在的致癌性、致突变性和致畸性。其结构与黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 高度相似 (图 1), 基本结构组成为二呋喃环和氧杂蒽酮^[1]。食物、饲料、屋内污垢物品是真菌产生柄曲霉素的主要载体, 甚至一些植物和哺乳动物病原体也会引起柄曲霉素的产生^[2]。研究表明, 在大鼠和猴子体内, 柄曲霉素的致死剂量约为 AFB₁ 的 1/10; 与 AFB₁ 相比, 柄曲霉素在大鼠体内, 引起肝癌所需的剂量较低, 比 AFB₁ 少 1~2 个数量级^[3]。因此, 国家癌症研究中心 (IARC) 将其分为 2B 级致癌物^[4]。为控制柄曲霉素的污染, 捷克共和国和斯洛伐克共和国颁布了食品中 STC 的限量标准, 规定了大米、蔬菜、土豆、面粉、家禽肉、肉类及牛奶中 STC 的最高限量为 5mg/kg, 其他食物中最高限量为 20mg/kg^[5]。大米作为我国的主粮之一, 含有丰富的营养物质; 小米作

* 基金项目: 农业部农产品质量安全检测与评价重点实验室开放课题项目 (NK201501)

** 作者简介: 赵亚荣, 女, 博士研究生, 研究方向为致病微生物及其控制; E-mail: zyr520zyr@163.com

*** 通信作者: 王富华, 男, 研究员, 研究方向为农产品质量安全; E-mail: wfhwqa@163.com

为健康食品，营养价值丰富，其中维生素 B₁ 的含量居所有粮食之首，有“代参汤”之美称。

二者在生产、加工及储存过程中都可能受到真菌污染，产生真菌毒素，因此，有必要建立一种简便、灵敏、快速分析大米和小米中柄曲霉素的方法以保障消费者健康。

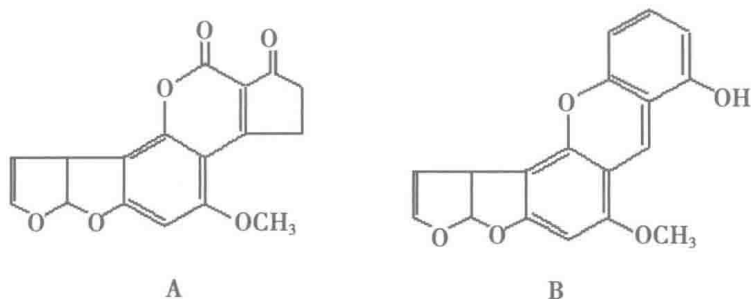


图1 黄曲霉毒素 B₁ (A) 和柄曲霉素 (B) 的化学结构

目前检测柄曲霉素的方法主要是薄层层析法^[6]、超高效液相色谱—质谱联用技术^[7-10]、酶联免疫吸附测定法等^[11]。由于柄曲霉素自身荧光性较弱，采用薄层层析法进行检测时需要进行衍生，操作复杂，速度较慢，且易产生干扰，因此目前应用较少，酶联免疫吸附方法主要用于快速筛查。复杂的基质背景会对目标化合物的提取、分离、净化和测定等带来很大的影响。近几年，液相色谱—串联质谱（HPLC-MS/MS）成为广泛应用的定量检测方法，具有选择性好、抗干扰能力强、灵敏度高等特点。本研究结合简单的前处理过程，采用 HPLC-MS/MS 技术，建立了一种高效、快速、准确的柄曲霉素定量分析方法。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 样品

大米和小米样品购买自超市。取约 500g 样品打碎，过 20 目筛，放于干燥环境中备用。

1.1.2 试剂

柄曲霉素标准品（纯度≥99%）：美国 Sigma 公司；乙腈（HPLC 级）：美国 Merck 公司；甲酸（纯度≥98%，质谱用）：美国 Sigma 公司；氯化钠和无水硫酸镁均为国产分析纯试剂。

1.1.3 仪器

高效液相色谱—串联质谱联用系统：高效液相色谱仪（LC-30AD），日本岛津公司；带电喷雾离子源三重四级杆质谱仪（LCMS-8050），日本岛津公司；Milli-Q 去离子水发生器（A10 System）：美国 Millipore 公司；0.22μm 有机滤膜：天津津腾公司；电子分析天平（AL204）：上海梅特勒·托利多公司；高速多功能粉碎机（YB-600A）：浙江运邦公司；高速离心机（H2050R）：湖南湘仪公司；超声仪（HU20500B）：天津恒奥公司；涡旋仪（QL-866）：海门其林贝尔公司。