

进口葡萄酒中赭曲霉毒素 A 的含量分析

陈杰 莫艳霞 徐银君 倪梅林 陈树兵

(宁波出入境检验检疫局,浙江 宁波 315000)

摘要: 为了解进口葡萄酒中赭曲霉毒素 A 的含量和污染状况,本研究建立了无需净化、浓缩,直接进样,采用液相色谱-串联质谱联用法(LC-MS/MS)测定葡萄酒中赭曲霉毒素 A 的方法。赭曲霉毒素 A 空白基质标准溶液在 1.0~20.0 ng/mL 浓度范围内线性良好,方法检测限达到 0.05 ng/mL,添加浓度为 2.0 ng/mL 质控样品的回收率为 98.7%~113.2%,精密度<5.7%。应用该方法测定了 84 个进口葡萄酒样品中赭曲霉毒素 A 的含量,结果表明,赭曲霉毒素的检出率为 100%,含量为 0.14~1.10 ng/mL,平均含量为 0.32 ng/mL。

关键词: 进口葡萄酒; 赭曲霉毒素 A; 含量状况

中图分类号:TS262.6;TS261.4;TS261.7 文献标识码:A 文章编号:1001-9286(2012)01-0107-03

Analysis of Ochratoxin A Content in Imported Grape Wines

CHEN Jie, MO Yanxia, XU Yinjun, NI meilin and CHEN Shubin

(Ningbo Exit & Entry Inspection and Quarantine Bureau, Ningbo, Zhejiang 315000, China)

Abstract: To learn about Ochratoxin A (OTA) content in imported grape wines, in this study, a new LC-MS/MS method for the detection of OTA content in grape wine was proposed, by directly injecting the sample in chromatographic system without any clean-up or concentration. The blank matrix standard calibration curve was linear in the concentration range of 1.0~20.0 ng/mL, the correlation coefficient was 0.9999, the detection limit was 0.05 ng/mL, and the recoveries ranged from 98.7% to 113.2% with RSD of 5.7% for 5 spiked wine samples at 2.0 ng/mL. 84 grape wine samples from different countries or areas were analyzed with this method. As a result, all the samples were contaminated by OTA with the concentration from 0.14 to 1.10 ng/mL and the average concentration was 0.32 ng/mL.

Key words: imported grape wine; Ochratoxin A; status

赭曲霉毒素 A(Ochratoxin A, OTA)是真菌毒素之一,是赭曲霉及青霉菌中某些产毒菌株侵染粮食、食品、饲料及其他农副产品后所产生的一种有毒代谢产物,也有很多文献报道了在啤酒、葡萄酒和葡萄汁中检出赭曲霉毒素 A,其结构式见图 1^[1-3]。

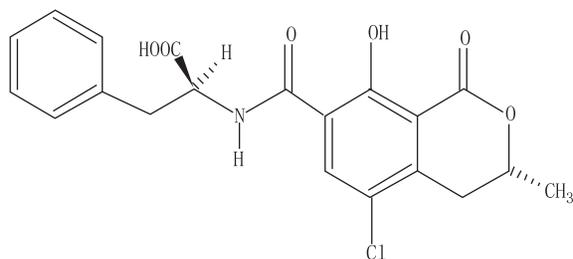


图 1 赭曲霉毒素 A 结构式

赭曲霉毒素 A 能引起肾、肝损伤,还有致畸变、免疫抑制和致癌性等危害,国际癌症研究机构(IARC)已将其

基金项目:国家质检总局科技计划项目,计划编号 2009IK172。

收稿日期:2011-11-02

作者简介:陈杰(1982-),男,浙江宁波人,助理工程师。

通讯作者:陈树兵, E-mail: chensb@nbciq.gov.cn。

优先数字出版时间:2011-12-23;地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.1051.TS.20111223.1112.003.html>。

列为第二类致癌物质。目前,欧盟已经将啤酒中赭曲霉毒素 A 的限量设定为 0.2 ng/mL^[4],但葡萄酒中目前还没有相应的限量。大量的研究表明,欧洲南部及北非地区生产的约 70% 的红葡萄酒中均有赭曲霉毒素 A,有的含量甚至将近达到 7.0 ng/mL^[1]。

我国已经成为葡萄酒消费大国,每年都会消费大量的进口葡萄酒,因此进口葡萄酒的质量安全显得非常重要。赭曲霉毒素 A 作为葡萄酒中一种常见的毒素,但在我国还没有相应的限量标准,相关的风险监控体系没有建立。为了解进口葡萄酒中赭曲霉毒素 A 的污染状况,本研究对宁波进口的 84 种来自不同地区的葡萄酒进行了赭曲霉毒素 A 的含量分析。

1 材料与amp;方法

1.1 样品及其处理

取少量进口葡萄酒样品,经 0.45 μm 滤膜过滤后,直接进样分析。

1.2 仪器与试剂

Agilent6460 型串联三重四级杆质谱,配 Agilent1290 型液相色谱仪(美国 Agilent 公司);Milli-Q 超纯水发生器(美国 Milli-Q 公司)。

甲醇、乙腈均为色谱纯(购自 Tedia 公司);乙酸铵为分析纯(购自国药集团)。

赭曲霉毒素 A 标准品购自 Sigma 公司,纯度大于 98.0%。称取 10 mg 赭曲霉毒素 A 标准品,用乙腈溶解并定容至 10 mL,配制成 1.0 mg/mL 的标准储备液。

1.3 仪器分析条件

1.3.1 色谱条件

色谱柱:Atlantis T₃(2.1×50 mm,3 μm);流速:0.2 mL/min;柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;进样量:5 μL ;流动相:A 为乙腈,B 为 2 mM 乙酸铵水溶液;梯度洗脱程序:0 min,80% B;2.8 min,50% B;4.2 min,20% B;6.5 min,20% B;8.2 min,80% B。

1.3.2 质谱条件

离子源:电喷雾离子源(ESI);干燥气: N_2 ;雾化气压力:45 psi;干燥气温度:350 $^{\circ}\text{C}$;干燥气流速:6 L/min;鞘气温度:350 $^{\circ}\text{C}$;鞘气流速:11 L/min;检测方式为正离子多反应监测(MRM),用于定性分析的离子对为 m/z 404.2/358.2 和 m/z 404.2/239,裂解电压均为 100 V,碰撞电压分别为 10 V 和 20 V,其中定量分析离子为 m/z 404.2/358.2。

2 结果与讨论

2.1 检测方法优化

目前,葡萄酒中残留赭曲霉毒素 A 的分析方法有薄层色谱、高效液相色谱法、液相色谱-质谱法,然而这些检测方法的前处理过程都要使用免疫亲和柱或 C_{18} 、HLB 等固相萃取净化、浓缩样品,虽然方法的检测限均能满足分析要求,但是样品前处理过程耗时较长,不适合分析大批量的样品^[5-6]。

实验中,用 Agilent 1290 液相色谱进样器吸取 5 μL 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 赭曲霉毒素 A 标准溶液,与甲醇加入 2 mM 乙酸铵水溶液(1+4)流动相混合后,直接注射入 6460 质谱,分别在正负离子两种模式下进行全扫描,确定了正负离子模式下母离子分别为 m/z 404.2 和 m/z 402.1,并在正负离子模式下优化二级质谱参数,结果表明,采用直接推针注射,正负离子两种模式下均可获得较强的 OTA 的二级质谱信号。正离子模式下,离子对为 m/z 404.2/358.2 和 m/z 404.2/239,裂解电压均为 100 V,碰撞电压分别为 10 V 和 20 V;负离子模式下离子对为 m/z 402.1/358.1 和

m/z 402.1/211,裂解电压均为 120 V,碰撞电压分别为 10 V 和 30 V。

赭曲霉毒素 A 属于极性较弱的化合物,为了有利于色谱峰的分离及峰形的改善,本实验分别考察了 ZORBAX Eclipse XDB- C_{18} (2.1×100 mm,1.8 μm)、Atlantis d C_{18} (2.1×100 mm,3 μm)、Hypersil BDS C_{18} (2.1×100 mm,3 μm)、Atlantis T₃(2.1×50 mm,3 μm)对赭曲霉毒素 A 的分离效果。结果表明,采用 Atlantis T₃(2.1×50 mm,3 μm)柱可实现在较短时间内完成分离。

试验中还分别比较了乙腈、甲醇作为流动相及正负离子 2 种不同 MRM 模式下赭曲霉毒素 A 的分离效果及灵敏度。结果表明,以乙腈-2 mM 乙酸铵水溶液为流动相,梯度洗脱,在正离子 MRM 模式下在 15 min 内可以较好的分离样品中的赭曲霉毒素 A,且赭曲霉毒素 A 的灵敏度最好。赭曲霉毒素 A 空白基质标准溶液的液相色谱-串联质谱联用 MRM 模式下总离子流图见图 2。

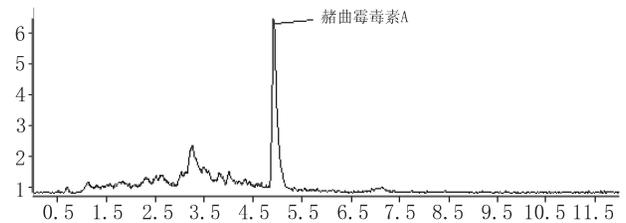


图2 赭曲霉毒素 A 空白基质标准溶液(2.0 ng/mL)的液相色谱-串联质谱 MRM 图

试验中发现分别以乙腈、空白葡萄酒样品配制的相同浓度赭曲霉毒素 A 的溶剂标准溶液与基质标准溶液以 1.3 条件分析时,存在明显的基质减弱效应。为减少溶剂标准溶液定量带来的误差,实验中采用了空白葡萄酒样品为溶剂配制了 1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL 的赭曲霉毒素 A 的基质标准溶液并考察了基质标准曲线的相关性。结果表明,在上述浓度范围内,赭曲霉毒素 A 的基质标准溶液呈线性相关, r 为 0.9999,检测限达到 0.05 ng/mL。

在 5 份空白葡萄酒样品中添加适量的赭曲霉毒素 A 的标准溶液,配制成 5 份 2.0 ng/mL 的质控样品,按 1.3 条件分析,以基质标准曲线外标法定量。结果表明,添加回收率 98.7%~113.2%,精密度 < 5.7%。

2.2 进口葡萄酒样品中赭曲霉毒素 A 的含量

应用该方法测定了 84 个不同国家或地区的进口葡萄酒样品中赭曲霉毒素 A 的含量,结果表明,赭曲霉毒素 A 的检出率为 100%,含量范围在 0.14~1.10 ng/mL,平均含量为 0.32 ng/mL,不同浓度范围的检出状况见图 3。小于 0.2 ng/mL 的样品数量为 24 个,占 28.57%;0.2~0.3 ng/mL 的样品数量也为 24 个,占 28.57%;0.3~

0.5 ng/mL 的样品数量为 22 个,占 26.19%;大于 0.5 ng/mL 的样品数量为 14 个,占 16.67%。若参考欧盟啤酒中赭曲霉毒素 A 的限量要求(0.2 ng/mL)来考察进口葡萄酒中赭曲霉毒素 A 的污染状况,大于该限量的葡萄酒占 71.43%,污染状况已经比较严重。

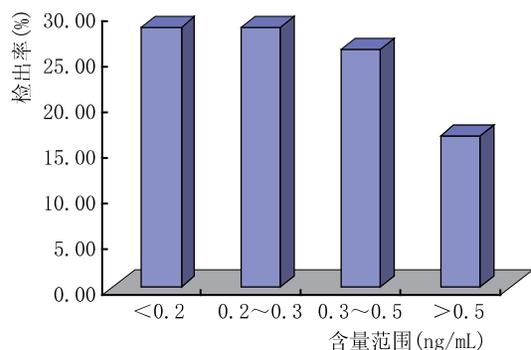


图3 进口葡萄酒中赭曲霉毒素 A 含量分析结果

3 结论

近年来,我国进口葡萄酒消费增长迅速,赭曲霉毒素 A 作为葡萄酒中常见的一种毒素可能会对消费人群的身体健康造成潜在的伤害。从检测结果看,84 个进口葡萄酒样品中均检出了赭曲霉毒素 A,含量范围在 0.14~1.10 ng/mL。我国目前还没有制定葡萄酒中赭曲霉毒素

A 的限量要求,若参考欧盟啤酒中赭曲霉毒素 A 的限量要求(0.2 ng/mL),71.43%的进口葡萄酒中赭曲霉毒素 A 超过了限量,污染状况比较严重。因此,进口葡萄酒中赭曲霉毒素 A 的污染状况应引起相关监管部门的重视,并及时制定进口葡萄酒主要污染物风险评估系统及残留限量要求。

参考文献:

- [1] C. Dall'Asta, G. Galaverna, A. Dossena and R. Marchelli Reversed-phase liquid chromatographic method for the determination of ochratoxin A in wine[J]. Journal of Chromatography A. 2004, 1024:275-279.
- [2] 阎龙宝,王浩.液相色谱-质谱联用技术测定葡萄酒中的赭曲霉毒素 A 残留[J].食品研究与开发,2010,31(6):136-138.
- [3] Paola Battilani, Amedeo Pielxi. Ochratoxin A in grape and wine [J]. European Journal of Plant Pathology. 2002, 108:639-643.
- [4] 高翔,李梅,张立实.赭曲霉毒素 A 的毒性研究进展[J].国外医学卫生学分册,2005,32(1):51-55.
- [5] S. MacDonald, P. Wilson, K. Barnes, etc. Ochratoxin A in dried vine fruit: method development and survey[J]. Food Additives and Contaminants, 1999,16(6):253-260.
- [6] K. Jorgensen. Survey of pork, poultry, coffee, beer and pulses for ochratoxin A[J]. Food Additives and Contaminants,1998,15(5):550-554.

伊人在水之湄 老牌湄窖飘香——贵州湄窖技改扩能建设项目开工

本刊讯 贵州湄窖酒业技改扩能项目开工仪式于 2012 年 1 月 1 日上午 10 点在湄潭县绿色食品工业园区隆重举行。遵义市人大常委会副主任刘兴国、遵义市人民政府副市长田刚、湄潭县委书记滕昭义、湄潭县人民政府县长杨游明出席了奠基仪式并致辞。随后,相关领导及各行业代表出席了贵州湄窖迎春新品品鉴会。会上,各位领导对湄窖的产品品质给予了肯定,对湄窖的立企思想、企业文化表示赞赏,同时对湄窖未来的发展寄予深切期望。

贵州湄窖酒厂始建于 1952 年,于 20 世纪 80 年代开始步入辉煌,相继跨入省级先进单位、国家二级企业、全国 500 家最佳经济效益工业企业、贵州省 50 家最大工业企业行列。其系列产品曾获得过省优、部优、国优等荣誉称号,并于 1988 年获得莱比锡国际博览会唯一白酒金奖,产品曾一度成为中国白酒行业的名牌产品,深受广大消费者喜爱。

2011 年,借助贵州白酒工业强势发展的东风,贵州中尔集团全面进入贵州湄窖酒业公司,贵州湄窖也进入了新的发展时期。2011 年 8 月起,贵州湄窖相继开发了“百年湄窖”、“贵州湄窖”、“春阳岗·铁匠”、“菩提子·贵州茶香酒”等系列产品,参加了贵阳酒博会、沈阳秋交会,其新产品的品质在短期内已获得消费者的广泛赞美,贵州湄窖董事长陈长文先生介绍说:可靠的质量保障体系,优秀的产品品质是立企之本。至 2019 年,湄窖将逐步实现 5 个亿的固定资产投资,建成占地面积达 580 亩的湄窖新厂区,实现万吨基酒的产能目标和年超 10 亿的销售目标。2012 年将投入 1 亿进行贵州湄窖新厂区建设,完善相关功能配置,打造企业的核心竞争力。

在新的发展时期,贵州湄窖提出了“为神州酿一壶美酒”、“打造中国知名白酒品牌、创建中国知名白酒企业”的企业目标,提出了“百年湄窖、中国骄傲”的品牌口号,制定了“高品质道路、品牌化战略、人才强企战略、科技兴企战略、效益经营原则”五项立企方针,明确了“尊崇天道、诚信经营,创造卓越、利国惠民”的企业核心理念,提出了“实干为本、智慧为本、创造为本”及“真道德、真功夫、真胆量”的“三本”、“三真”的企业核心价值观。同时,贵州湄窖经过充分调研、讨论、广泛征求意见之后,制定了符合湄窖实际情况的“两步走”发展战略:第一步“先练内功”。用三年时间健全、完善、提升企业的生产、质量、营销、管理等核心功能。即在企业现有基础上完成年产基酒 5000 吨,包装成品酒 8000 吨,销售 3~5 亿的生产及配套设施,同时完善“百年湄窖”、“贵州湄窖”品牌的打造,完成其经营网络的建设,完成其基础市场、销售团队、管理团队的建设及生产质量保证体系的建立,形成企业的核心竞争力。第二步“发展扩张”。在企业迈过了 3~5 亿销售的关口后,将加快“创建中国知名白酒企业,打造中国知名白酒品牌”的步伐,用 5 年左右的时间,使企业生产能力超过 10000 吨,销售额过 10 亿元,进入贵州酒业前 5 强,进入中国强势白酒企业的行列,成为湄潭乃至遵义、贵州的白酒税收强势企业。

贵州白酒强势发展,是贵州湄窖的外部机遇,贵州湄窖必将踏入新的发展高度,创造更加灿烂的辉煌!(小雨)



与会领导为开工典礼奠基