



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104678039 B

(45)授权公告日 2016.08.24

(21)申请号 201510050644.6

(22)申请日 2015.01.30

(73)专利权人 湖南中烟工业有限责任公司

地址 410007 湖南省长沙市雨花区万家丽  
中路三段188号

专利权人 湖南大学

(72)发明人 刘巍 毛友安 杜文 牛承岗

(74)专利代理机构 长沙市融智专利事务所  
43114

代理人 魏娟

(51)Int.Cl.

G01N 30/88(2006.01)

审查员 陈群霞

权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

基于液相色谱-串联质谱联用同时测定烟草  
及烟草制品中四种黄曲霉毒素含量的方法

(57)摘要

本发明公开了一种基于液相色谱-串联质谱联用同时测定烟草及烟草制品中四种黄曲霉毒素含量的方法,该方法是先对烟叶或烟丝样品进行干燥、粉碎等前处理后,从烟叶或烟丝样品中提取黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2,再采用免疫亲和柱净化提取液,建立定量分析标准曲线、用液相色谱-串联质谱联用方法检测;该方法实现了对黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2四种进行同时测定,且具有灵敏度高、定量限低、回收率高、重复性好、操作简便等优势。

1. 基于液相色谱-串联质谱联用同时测定烟草及烟草制品中四种黄曲霉毒素含量的方法,其特征在于,包括以下步骤:

步骤一:样品前处理

将烟叶和/或烟丝样品烘干后,粉碎,过筛,得到烟末样品;

步骤二:提取黄曲霉毒素

在步骤一所得的烟末样品中加入氯化钠,混合均匀后,用甲醇/水的混合溶剂对烟末样品进行振荡提取,离心分离,取上层清液;所得上层清液通过PBS缓冲溶液稀释后,用玻璃纤维滤纸过滤,收集滤液,即得提取液;

所述的甲醇/水的混合溶剂是由水和甲醇按体积比70~80%:30~20%组成的混合溶剂,混合溶剂的使用比例为:1g烟末样品用8~12mL混合溶剂;

步骤三:净化提取液

净化提取液依次经过A~E步骤:

A、采用PBS缓冲溶液对免疫亲和柱进行淋洗,弃去免疫亲和柱的流出液;

B、将步骤二所得提取液缓慢通过免疫亲和柱,弃去免疫亲和柱的流出液;

C、依次用含吐温-20的PBS缓冲溶液和水对免疫亲和柱进行淋洗,弃去免疫亲和柱的流出液;

D、用乙腈对免疫亲和柱进行至少两次洗脱,收集从免疫亲和柱流出的洗脱液;

E、取洗脱液,氮气吹干后,用乙腈溶解定容,再过有机滤膜,得到待测液;

步骤四:建立标准曲线

用乙腈配制一系列含黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2四种组分的混合标准工作溶液,采用液相色谱-串联质谱联用同时检测混合标准工作溶液中的四种黄曲霉毒素,建立相应的标准曲线;

步骤五:检测待测液

采用液相色谱-串联质谱联用同时检测待测液中四种黄曲霉毒素的含量,根据步骤四中建立的标准曲线进行定量分析;

采用液相色谱-串联质谱联用同时检测混合标准工作溶液或待测液中四种黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2含量的测试条件为:液相色谱工作条件:反相C18高效液相色谱柱,柱温30℃,进样量20μL,流动相由乙腈+0.1%甲酸水溶液按体积比80%:20%组成,流速0.25mL/min,采用等度洗脱方式;串联质谱工作条件:正离子模式电喷雾离子化,喷雾电压3.5kV,离子传输线温度270℃,鞘气压力30个单位,气帘气压力5.0个单位,辅助气压力5.0个单位,碰撞气压力1.0个单位,选择多离子监测扫描方式,离子扫描宽度0.50m/z,离子扫描时间0.50min,质谱采集时间20min。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,氯化钠与烟末样品质量比为1:8~12。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述的振荡提取是在漩涡振荡器上振荡提取5~10min。

4. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述的离心分离是将振荡提取后的混合物在台式离心机中以7500~15000转/min的离心速率下,离心分离10~15min。

5. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,将烟叶和/或烟丝样品在30~40℃烘干后,粉碎,过孔径为0.5mm的网筛,取筛下烟末。

6. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述的PBS缓冲溶液浓度为5~10mM,pH为6.8~7.6。

7. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述的含吐温-20的PBS缓冲溶液为含0.1~0.2vol%吐温-20的PBS缓冲溶液。

8. 根据权利要求7所述的方法,其特征在于,所述的含吐温-20的PBS缓冲溶液在使用时即配即用,配制过程是:将吐温-20与pH为6.8~7.6的5~10mM PBS缓冲溶液按体积比1:499~999混合。

9. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述的免疫亲和柱为Myco6in1免疫亲和柱。

10. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,PBS缓冲溶液淋洗免疫亲和柱时,控制液体流出速度为1~2滴/秒;提取液通过免疫亲和柱时,控制液体流出速度为1~2滴/秒;含吐温-20的PBS缓冲溶液和水淋洗免疫亲和柱时,控制液体流出速度为2~3滴/秒;乙腈洗脱免疫亲和柱时,控制液体流出速度为1滴/秒。

11. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述的有机滤膜孔径为0.22 $\mu$ m。

12. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,用乙腈配制的一系列含黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2的混合标准工作溶液的浓度范围为0.2~20ng/mL,在同一混合标准工作溶液中,四种黄曲霉毒素的浓度相同。

13. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,串联质谱检测黄曲霉毒素B1的碰撞能为26V,管道棱镜补偿为209个单位,定量离子对为313.1/285.1m/z;检测黄曲霉毒素B2的碰撞能为25V,管道棱镜补偿为199个单位,定量离子对为314.9/287.2m/z;检测黄曲霉毒素G1的碰撞能为26V,管道棱镜补偿为210个单位,定量离子对为329.0/243.2m/z;检测黄曲霉毒素G2的碰撞能为31V,管道棱镜补偿为210个单位,定量离子对为331.1/245.1m/z。

## 基于液相色谱-串联质谱联用同时测定烟草及烟草制品中四种黄曲霉毒素含量的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种基于液相色谱-串联质谱联用同时测定烟草及烟草制品中四种黄曲霉毒素含量的方法,属于烟草及烟草制品测定技术领域。

### 背景技术

[0002] 在烟草初加工、储运、烟厂生产和烟草制品销售等过程中,由于贮存、保管不善等原因,可能会使烟草或烟草制品发生霉变,不仅造成重大经济损失,而且危及卷烟产品的安全性。因此,烟草行业十分重视控制烟草和烟草制品的霉变。

[0003] 烟草霉变产生的代谢物主要有黄曲霉毒素等真菌毒素。黄曲霉毒素有20多种,其中黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2是4种最主要的。

[0004] 目前,针对食品及饲料霉变产生的真菌毒素,我国已经制定了严格的检测标准和限量要求标准。然而,对于烟草和烟草制品而言,由于相关检测方法的研究报道还非常少,还没有形成类似的标准。

[0005] 根据文献报道,针对食品、饲料、茶叶和中草药中黄曲霉毒素的检测方法,主要有薄层层析法、酶联免疫吸附法、放射免疫法、气相色谱法、高效液相色谱法、液相色谱-串联质谱联用法等。这些方法各有特点。薄层层析法费用低,但操作繁琐,使用有机溶剂较多,实验技巧不好掌握,灵敏度低,准确度差,还费时间。在薄层层析法基础上发展起来的金标免疫层析法,具有快速、灵敏,特异性强、稳定性好的特点,但局限于定性或半定量检测。酶联免疫吸附法操作简便,灵敏度高,特异性好,测量结果准确,回收率高,但由于酶的不稳定性,在实际样品检测中易出现假阳性或假阴性现象。放射免疫法也容易出现假阳性。

[0006] 气相色谱法和高效液相色谱法具有准确度高、重现性好、定量限低、效率高等优点,但通常都需要进行衍生化处理后再用荧光检测器检测,而衍生化试剂(如三氟乙酸等)往往毒害性较强,且方法操作繁杂,对样品中待测组分纯度要求较高,不适合多种黄曲霉毒素的同时检测。

### 发明内容

[0007] 针对现有技术中对黄曲霉毒素的测定方法存在各种缺陷,本发明的目的是在于提供一种基于液相色谱-串联质谱联用同时测定烟草及烟草制品中四种黄曲霉毒素含量的方法,该方法不需要衍生化步骤,可同时进行四种黄曲霉毒素的定性和定量分析,避免检测过程中假阳性结果产生,而且灵敏度高,适合于痕量组分检测,可推广应用。

[0008] 本发明提供了一种基于液相色谱-串联质谱联用同时测定烟草及烟草制品中四种黄曲霉毒素含量的方法,该方法包括以下步骤:

[0009] 步骤一:样品前处理

[0010] 将烟叶和/或烟丝样品烘干后,粉碎,过筛,得到烟末样品;

[0011] 步骤二:提取黄曲霉毒素

[0012] 在步骤一所得的烟末样品中加入氯化钠,混合均匀后,用甲醇/水的混合溶剂对烟末样品进行振荡提取,离心分离,取上层清液;所得上层清液通过PBS缓冲溶液稀释后,用玻璃纤维滤纸过滤,收集滤液,即得提取液;

[0013] 步骤三:净化提取液

[0014] 净化提取液依次经过A~E步骤:

[0015] A、采用PBS缓冲溶液对免疫亲和柱进行淋洗,弃去免疫亲和柱的流出液;

[0016] B、将步骤二所得提取液缓慢通过免疫亲和柱,弃去免疫亲和柱的流出液;

[0017] C、依次用含吐温-20的PBS溶液和水对免疫亲和柱进行淋洗,弃去免疫亲和柱的流出液;

[0018] D、用乙腈对免疫亲和柱进行至少两次洗脱,收集从免疫亲和柱流出的洗脱液;

[0019] E、取洗脱液,氮气吹干后,用乙腈溶解定容,再过有机滤膜,得到待测液;

[0020] 步骤四:建立标准曲线

[0021] 用乙腈配制一系列含黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2四种组分的混合标准工作溶液,采用液相色谱-串联质谱联用同时检测混合标准工作溶液中的四种黄曲霉毒素,建立相应的标准曲线;

[0022] 步骤五:检测待测液

[0023] 采用液相色谱-串联质谱联用同时检测待测液中四种黄曲霉毒素的含量,根据步骤四中建立的标准曲线进行定量分析。

[0024] 本发明的基于液相色谱-串联质谱联用同时测定烟草及烟草制品中四种黄曲霉毒素含量的方法还包括以下优选方案:

[0025] 优选的方案中氯化钠与烟末样品质量比为1:8~12。

[0026] 优选的方案中甲醇/水的混合溶剂由水和甲醇按体积比70~80%:30~20%组成的混合溶剂。

[0027] 进一步优选的方案中混合溶剂的使用比例为:1g烟末样品用8~12mL混合溶剂。

[0028] 优选的方案中的振荡提取是在漩涡振荡器上振荡提取5~10min。

[0029] 优选的方案中离心分离是将振荡提取后的混合物在台式离心机中以7500~15000转/min的离心速率下,离心分离10~15min。

[0030] 优选的方案中将烟叶和/或烟丝样品在30~40℃烘干后,粉碎,过孔径为0.5mm的网筛,取筛下烟末。

[0031] 优选的方案中PBS缓冲溶液浓度为5~10mM,pH为6.8~7.6。

[0032] 优选的方案中含吐温-20的PBS缓冲溶液为含0.1~0.2vol%吐温-20的PBS缓冲溶液,其中PBS缓冲溶液浓度为5~10mM,pH为6.8~7.6。

[0033] 进一步优选的方案中含吐温-20的PBS缓冲溶液在使用时即配即用,配制过程是:将吐温-20与pH为6.8~7.6的5~10mM PBS缓冲溶液按体积比1:499~999混合。

[0034] 优选的方案中免疫亲和柱为Mycobin1免疫亲和柱。

[0035] 优选的方案中有机滤膜孔径为0.22μm。

[0036] 优选的方案中用乙腈配制的一系列黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2的混合标准工作溶液的浓度范围为0.2~20ng/mL,在同一混合标准工作溶液中,四种黄曲霉毒素的浓度相同。

[0037] 优选的方案中采用液相色谱-串联质谱联用同时检测标准工作溶液或待测液中黄

曲霉毒素B1、B2、G1和G2含量的测试条件为：液相色谱工作条件：反相C18高效液相色谱柱，柱温30℃，进样量20μL，流动相为乙腈+0.1%甲酸水溶液(80+20)，流速0.25mL/min，采用等度洗脱方式；串联质谱工作条件：正离子模式电喷雾离子化，喷雾电压3.5kV，离子传输线温度270℃，鞘气压力30个单位，气帘气压力5.0个单位，辅助气压力5.0个单位，碰撞压力1.0个单位，选择多反应离子监测扫描方式，离子扫描宽度0.50m/z，离子扫描时间0.50min，质谱采集时间20min。

[0038] 进一步优选的方案中串联质谱检测黄曲霉毒素B1的碰撞能为26V，管道棱镜补偿为209个单位，定量离子对为313.1/285.1m/z；检测黄曲霉毒素B2的碰撞能为25V，管道棱镜补偿为199个单位，定量离子对为314.9/287.2m/z；检测黄曲霉毒素G1的碰撞能为26V，管道棱镜补偿为210个单位，定量离子对为329.0/243.2m/z；检测黄曲霉毒素G2的碰撞能为31V，管道棱镜补偿为210个单位，定量离子对为331.1/245.1m/z。

[0039] 优选的方案中PBS缓冲溶液淋洗免疫亲和柱时，控制液体流出速度为1~2滴/秒。

[0040] 优选的方案中提取液通过免疫亲和柱时，控制液体流出速度为1~2滴/秒。

[0041] 优选的方案中含吐温-20的PBS缓冲溶液和水淋洗免疫亲和柱时，控制液体流出速度为2~3滴/秒。

[0042] 优选的方案中乙腈洗脱免疫亲和柱时，控制液体流出速度为1滴/秒。

[0043] 本发明的有益效果：本发明通过采用适当的提取液提取并结合免疫亲和柱固相萃取方法净化，能有效实现黄曲霉毒素的提取分离，并消除烟草基质组分对黄曲霉毒素检测的干扰，达到了较高的提取纯化效果，简化了样品前处理步骤，在此基础上结合优化的液相色谱-串联质谱联用分析检测方法，大大提高了测定方法的灵敏度和加标回收率。本发明的方法实现了对黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2四种组分进行同时测定，且具有灵敏度高、定量限低、回收率高、重复性好、操作简便等优势。

## 附图说明

[0044] 【图1】为本发明同时测定烟草及烟草制品中四种黄曲霉毒素含量方法的流程图。

[0045] 【图2】黄曲霉毒素B1标准工作曲线示图。

[0046] 【图3】黄曲霉毒素B2标准工作曲线示图。

[0047] 【图4】黄曲霉毒素G1标准工作曲线示图。

## 具体实施方式

[0048] 以下实施例旨在结合附图对本发明内容作详细说明，而不是限制本发明的保护范围。

[0049] 如附图1所示，本发明基于液相色谱-串联质谱联用同时测定烟草及烟草制品中四种黄曲霉毒素含量的方法包括以下具体步骤：

[0050] 1、样品前处理：将收集到的烟叶样品或成品卷烟烟丝样品置于烘箱中，40℃下烘干，然后用带孔径0.5mm网筛的粉碎机粉碎，收集过孔径0.5mm网筛的粉末样品，并在取样前充分混合。

[0051] 2、从样品中提取黄曲霉毒素：称取4g(精确到0.01g)经前处理的烟末样品，置于85mL具塞离心管中，加入0.4g氯化钠，并准确加入40mL80%甲醇水溶液，盖好盖子，置于漩

涡振荡器上振荡5min,再在台式离心机上高速(15000转/min)离心分离10min,准确移出上清液10mL至100mL容量瓶中,用10mM PBS(pH7.4)缓冲溶液稀释至刻度,用玻璃纤维滤纸过滤,收集滤液于干净容器中。

[0052] 3、用免疫亲和柱净化提取液:首先将Myco6in1免疫亲和柱固定于固相萃取架上,连接好固相萃取系统,包括减压系统,然后按下述步骤进行:

[0053] 3.1调节减压系统,使免疫亲和柱中原有液体慢慢流出,弃去流出液,当柱中固相将要露出液面时,加10mL10mM PBS(pH7.4)缓冲溶液,调节减压系统使其以1-2滴/秒流速通过免疫亲和柱,弃去流出液;

[0054] 3.2准确移取50mL黄曲霉毒素提取液,使其流过免疫亲和柱,控制液体流出速度为1-2滴/秒,弃去流出液;

[0055] 3.3相继用5mL0.1%吐温-20PBS溶液、20mL水淋洗免疫亲和柱,控制液体流出速度为2-3滴/秒,弃去流出液,所使用的0.1%吐温-20PBS溶液需临时配制,配制方法:取1mL吐温-20,用10mM PBS(pH7.4)缓冲溶液稀释至1000mL;

[0056] 3.4准确移取1.5mL乙腈,洗脱免疫亲和柱,控制液体流出速度为1滴/秒,收集洗脱液于干净容器中,当乙腈大部分通过柱子、而不是完全通过柱子时,停止减压,静置5min;然后再准确移取1.5mL乙腈,再次洗脱免疫亲和柱,控制液体流出速度为1滴/秒,直至空气进入柱子把洗脱液全部挤出,收集洗脱液于同一容器中,轻摇混匀;

[0057] 3.5准确移取1.5mL洗脱液至1只液相色谱进样瓶中,用氮气吹干,加0.5mL乙腈溶解定容,过0.22 $\mu$ m有机滤膜后待测。

[0058] 4、建立定量分析标准曲线:以乙腈为溶剂,配制7种含黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2的混合标准工作溶液,7种混标溶液中黄曲霉毒B1、B2、G1和G2的浓度水平依次为:0.2ng/mL, 0.5ng/mL, 1.0ng/mL, 2.0ng/mL, 5.0ng/mL, 10ng/mL和20ng/mL,同一种混标溶液中,4种黄曲霉毒素的浓度相同(例如,浓度为0.2ng/mL的混标溶液中,黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2的浓度均为0.2ng/mL);在优化建立的液相色谱-串联质谱联用方法同时检测4种黄曲霉毒素的条件下,检测标准工作溶液,根据4种黄曲霉毒素的峰面积建立相应的定量分析标准曲线,其中B1、B2和G1的定量分析标准曲线如图2-图4所示。图示数据表明,当黄曲霉毒素B1和B2的浓度在0.2~20ng/mL范围内、黄曲霉毒素G1和G2的浓度在0.5~20ng/mL范围内时,相应黄曲霉毒素的峰面积与浓度呈现出良好的线性关系,可以进行定量分析。定量限(LOQ)以液相色谱-质谱图上信噪比(S/N)不小于10为判别基准,则黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2的标准溶液定量限依次为0.20、0.20、0.50和0.50ng/mL。

[0059] 5、用液相色谱-串联质谱联用方法检测烟草试样净化液:在优化建立的液相色谱-串联质谱联用方法同时检测4种黄曲霉毒素的条件下,检测第3步得到的烟草试样净化液,根据测得的4种黄曲霉毒素的峰面积,用标准曲线法进行定量分析。

[0060] 在第4步和第5步中,优化建立的液相色谱-串联质谱联用方法同时检测黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2的测试条件为:液相色谱工作条件:反相C18高效液相色谱柱,柱温30 $^{\circ}$ C,进样量20 $\mu$ L,流动相为乙腈+0.1%甲酸水溶液(80+20),流速0.25mL/min,采用等度洗脱方式;串联质谱工作条件:正离子模式电喷雾离子化,喷雾电压3.5kV,离子传输线温度270 $^{\circ}$ C,鞘气压力30个单位,气帘气压力5.0个单位,辅助气压力5.0个单位,碰撞压力1.0个单位,选择多反应离子监测扫描方式,离子扫描宽度0.50m/z,离子扫描时间0.50min,质谱采集时间

20min。

[0061] 在第4步和第5步中,优化建立的液相色谱-串联质谱联用方法同时检测黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2的条件还包括:串联质谱检测黄曲霉毒素B1的碰撞能为26V,管道棱镜补偿为209个单位,定量离子对为313.1/285.1m/z;检测黄曲霉毒素B2的碰撞能为25V,管道棱镜补偿为199个单位,定量离子对为314.9/287.2m/z;检测黄曲霉毒素G1的碰撞能为26V,管道棱镜补偿为210个单位,定量离子对为329.0/243.2m/z;检测黄曲霉毒素G2的碰撞能为31V,管道棱镜补偿为210个单位,定量离子对为331.1/245.1m/z。

[0062] 实施例1

[0063] 1、试剂与仪器

[0064] 黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2标准品均购自Toronto Research Chemicals Inc.(加拿大),纯度 $\geq 99\%$ ;甲醇、乙腈为色谱纯试剂,购自美国Dikma公司;其余所用试剂均为分析纯;实验用水为超纯水。

[0065] Myco6in1™真菌毒素免疫亲和净化柱,美国Vicam公司;Thermo TSQ Quantum Discovery Max液相色谱-串联质谱联用仪,美国热电公司;Nova-Pak型反相C18高效液相色谱柱,3.9mm $\times$ 150mm,4 $\mu$ m,美国Waters公司;贝克曼库尔特Allegra64R型台式离心机,美国Beckman Coulter, Inc.;超纯水制备仪,美国Millipore公司。

[0066] 2、样品前处理、黄曲霉毒素的提取和净化:收集经目视确认无霉变发生的成品卷烟试样,剥出滤嘴和卷烟纸,将此卷烟烟丝样品(称为阴性烟草样或空白烟草样)按前述方法步骤进行样品前处理、黄曲霉毒素提取及提取液净化。当净化至用氮气吹干后,准确加入0.5mL混合标准溶液(其中黄曲霉毒素B1和B2的浓度为0.20ng/mL,黄曲霉毒素G1和G2的浓度为0.5ng/mL)溶解定容,过0.22 $\mu$ m有机滤膜后待测。

[0067] 3、按前述用液相色谱-串联质谱联用方法检测烟草试样的方法步骤,检测净化后加入标准组分的空白烟草试样,以液相色谱-质谱图上S/N不小于10为判别基准,确定本发明方法用于烟草样品检测的定量限。实测结果表明,本方法检测黄曲霉毒素B1和B2的烟草样品定量限为0.4 $\mu$ g/kg,检测黄曲霉毒素G1和G2的烟草样品定量限为1.0 $\mu$ g/kg。

[0068] 实施例2

[0069] 1、样品前处理、黄曲霉毒素的提取和净化:如同实施例1,收集卷烟烟丝空白烟草样,按前述方法步骤进行样品前处理;在黄曲霉毒素提取步骤中,首先称取4g经前处理的空白烟草粉末样品,置于85mL具塞离心管中,加入0.4g氯化钠,准确添加400 $\mu$ L混合标准溶液(其中黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2的浓度均为20ng/mL),再准确加入40mL80%甲醇水溶液,然后按照前述方法步骤进行黄曲霉毒素的提取和净化。净化液用氮气吹干后,准确加入0.5mL乙腈溶解定容,过0.22 $\mu$ m有机滤膜后待测。

[0070] 2、如前所述,建立定量分析标准曲线,并用液相色谱-串联质谱联用方法检测添加黄曲霉毒素标准物的空白烟草试样。

[0071] 3、根据加标量和实际测定值,计算加标回收率,6次平行测定的结果见表1。数据表明,4种黄曲霉毒素在烟草试样中的加标回收率平均在90%以上,测定数据的相对标准偏差在6.4%-12.3%,表明本发明方法回收率高,重复性好,符合痕量分析要求。

[0072] 表1烟草基质中4种黄曲霉毒素加标回收率及相对标准偏差(n=6)



[0073]

|          | 加标量/ $\mu\text{g}/\text{kg}$ | 实测量/ $\mu\text{g}/\text{kg}$ | 平均回收率/% | 相对标准偏差/% |
|----------|------------------------------|------------------------------|---------|----------|
| 黄曲霉毒素 B1 | 2.0                          | 1.88                         | 94.0    | 7.0      |
| 黄曲霉毒素 B2 | 2.0                          | 1.91                         | 95.5    | 6.4      |
| 黄曲霉毒素 G1 | 2.0                          | 1.81                         | 90.5    | 10.1     |
| 黄曲霉毒素 G2 | 2.0                          | 1.80                         | 90.0    | 12.3     |

[0074] 实施例3

[0075] 1、样品前处理、黄曲霉毒素的提取和净化:购得市售某品牌烤烟型卷烟3条,剥去滤嘴和卷烟纸,将此卷烟烟丝样品按实施例1所述方法进行样品前处理和黄曲霉毒素的提取,按实施例2所述方法进行黄曲霉毒素提取液的净化。

[0076] 2、如前所述,建立定量分析标准曲线,并用液相色谱-串联质谱联用方法检测此卷烟试样。结果表明,此卷烟样品中黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2的含量均为 $0.0\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

[0077] 实施例4

[0078] 1、样品前处理、黄曲霉毒素的提取和净化:收集2013年份某地产C3F等级复烤片烟1kg,用剪刀将此烟叶样剪成不大于 $3\text{cm}\times 3\text{cm}$ 的碎片,将此烟叶样品按实施例1所述方法进行样品前处理和黄曲霉毒素的提取,按实施例2所述方法进行黄曲霉毒素提取液的净化。

[0079] 2、如前所述,建立定量分析标准曲线,并用液相色谱-串联质谱联用方法检测此烟叶试样。结果表明,此烟叶样品中黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2的含量均为 $0.0\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

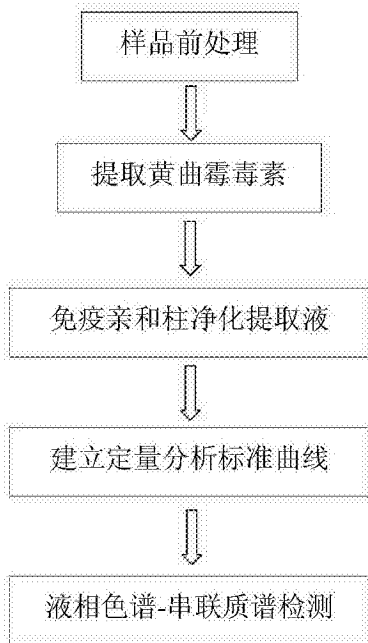


图1

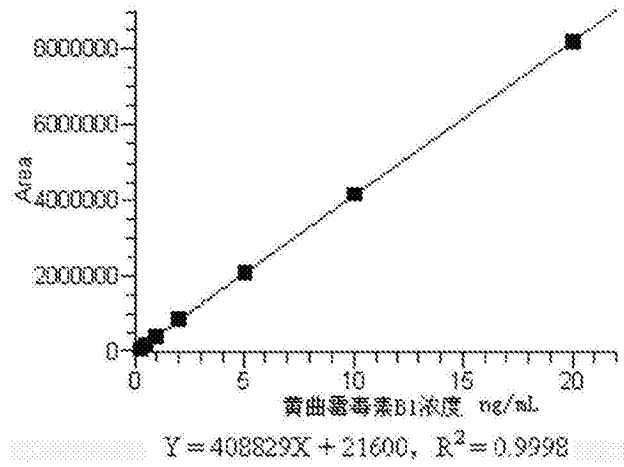


图2

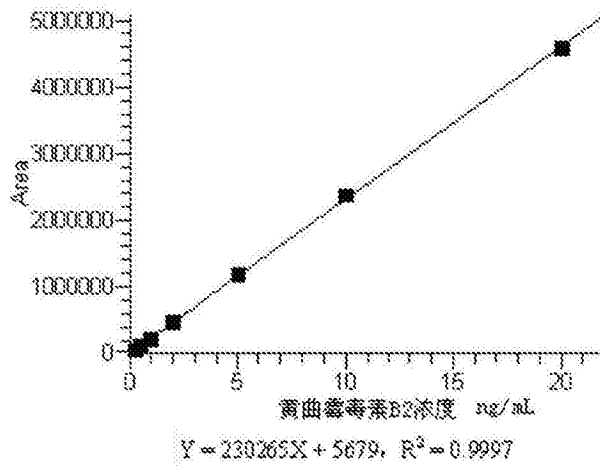


图3

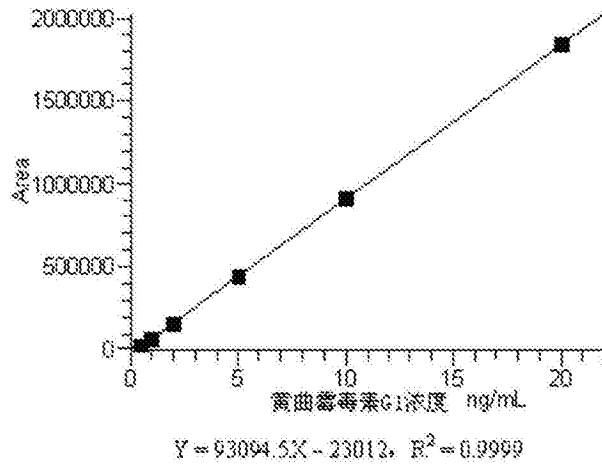


图4