

2018 年中国 4 省脱粒小麦中 9 种真菌毒素 污染情况调查

程天笑^{1,2}, 韩小敏², 王 硕³, 徐文静², 彭雪菲⁴, 李凤琴², 胡利明^{1*}

(1. 北京工业大学, 生命科学与生物工程学院, 北京市环境与病毒肿瘤学重点实验室, 北京 100124; 2. 国家食品安全风险评估中心卫生部食品安全风险评估重点实验室, 北京 100021; 3. 北京市朝阳区疾病预防控制中心, 北京 100021; 4. 北京农学院食品科学与工程学院, 北京 102206)

摘 要: **目的** 调查 2018 年湖北、安徽、江苏和河北 4 省脱粒小麦中 5 种镰刀菌毒素和 4 种黄曲霉毒素(aflatoxins, AFs)的污染情况。**方法** 从 4 省采集 2018 年 5~6 月收获的脱粒小麦 371 份, 经乙腈-水(84: 16, V: V)提取、Mycosep 226 多功能净化柱净化后, 采用高效液相色谱串联质谱同时测定样品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)、3-乙酰基-DON(3-acetyl-DON, 3-Ac-DON)、15-乙酰基-DON(15-acetyl-DON, 15-Ac-DON)、雪腐镰刀菌烯醇(nivalenol, NIV)、玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN)和 4 种 AF, 共 9 种毒素的含量, 采用 Spearman 相关性分析确定各种毒素之间的相关性。**结果** 4 省脱粒小麦受多种镰刀菌毒素, 尤其是 DON 的污染较为严重, 而 AF 污染相对较轻。DON 的检出率最高, 为 90.3%, 阳性样品中 DON 平均污染水平为 2706.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 45.3%样品 DON 的含量超过国家限量标准 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 4 种 AF 的检出率和平均污染水平均较低, 其中 AFB₁ 和 AFB₂ 的检出率最高, 均为 3.2%, 2 份样品 AFB₁ 含量超过国家限量标准 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 仅 1 份样品检出 AFG₂, 所有样品均未检出 AFG₁。从地区来看, 湖北省脱粒小麦中各毒素污染最严重, 尤其是 DON, 其检出率和平均污染水平分别为 100%和 6314.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 江苏省样品中 ZEN 的平均污染水平为 1971.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 远高于其它省份。Spearman 相关性分析表明, 5 种镰刀菌毒素的污染具有显著相关性, DON 与已检出的 3 种 AF 及 3 种 AF 间的污染相关性均较弱或无显著相关性。**结论** 4 省脱粒小麦受 5 种镰刀菌毒素的污染较为严重且具有显著相关性。污染程度为湖北>安徽>江苏>河北。因此, 有必要对 4 省脱粒小麦中多种毒素的协同污染情况进行持续监测。

关键词: 脱粒小麦; 真菌毒素; 高效液相色谱-串联质谱法; 协同测定

Investigation on contamination situation of 9 mycotoxins in wheat kernel from 4 provinces of China in 2018

CHENG Tian-Xiao¹, HAN Xiao-Min², WANG Shuo³, XU Wen-Jing², PENG Xue-Fei⁴,
LI Feng-Qin², HU Li-Ming^{1*}

(1. Beijing Key Laboratory of Environment and Oncology, College of Life Science and Bioengineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China; 2. Key Laboratory of Food Safety Risk Assessment of Ministry of Health, China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing, 100021, China; 3. Chaoyang District Center for Disease Control

基金项目: 科技部十三五重点研发计划项目(2019YFC1606301)

Fund: Supported by Key Technologies R&D Program, Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China (2019YFC1606301)

***通讯作者:** 胡利明, 教授, 主要研究方向为药物化学、化学生物学和纳米材料科学。E-mail: huliming@bjut.edu.cn

***Corresponding author:** HU Li-Ming, Professor, Beijing University of Technology, No.100, Pingleyuan, Chaoyang District, 100124, Beijing, China. E-mail: huliming@bjut.edu.cn

and Prevention, Beijing 100021, China; 4. Food Science and Engineering College, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the contamination situation of 5 *Fusarium* toxins and 4 aflatoxins (AFs) in wheat kernel samples collected from Hubei, Anhui, Jiangsu and Hebei provinces in 2018. **Methods** A total of 371 wheat kernel samples harvested in May and June, 2018 from the 4 provinces were collected. The samples were extracted with acetonitrile-water(84: 16, V: V), cleaned up by Mycosep 226 multi-functional purification column, and then 9 toxins including deoxynivalenol(DON), 3-acetyl-DON(3-Ac-DON), 15-acetyl-DON(15-Ac-DON), nivalenol (NIV), zearalenone (ZEN) and 4 AFs were determined by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. Spearman correlation analysis was used to determine the correlation between varied toxins. **Results** The wheat kernel samples from the 4 provinces were heavily contaminated by *Fusarium* toxins, especially DON, while the contaminations of AFs were relatively light. DON was with the highest detection rate, 90.3% and the average contamination level of DON in positive samples was 2706.3 $\mu\text{g/kg}$. The content of DON in 45.3% of the samples exceeded the national limit standard of 1000 $\mu\text{g/kg}$. All the detection rates and the average contamination levels of the 4 AFs were low, among which AFB₁ and AFB₂ had the highest detection rate of 3.2%. Two samples were with AFB₁ higher than national limit standard 5 $\mu\text{g/kg}$, and AFG₂ was only detected in 1 sample, while AFG₁ was not detected in all samples. In terms of region, the contamination of Hubei was most seriously, especially DON, the detection rate and average contamination level of which were 100% and 6314.9 $\mu\text{g/kg}$. The average contamination level of ZEN from Jiangsu was 1971.2 $\mu\text{g/kg}$, which was the highest and more higher than that in other provinces. The natural contaminationsof 5 *Fusarium* toxins were in significant correlation from Spearman's correlation analysis, while no significant correlation was found between DON and AF, or among 3 detected AFs. **Conclusion** The wheat kernel samples from Hubei, Anhui, Jiangsu, and Hebei are seriously contaminated by 5 *Fusarium* toxins with significant correlations among their natural contaminations. The degree of pollution is Hubei> Anhui>Jiangsu>Hebei. Therefore, it is necessary to monitor the synergistic contamination of multiple toxins in wheat kernel samples from the 4 provinces continuously.

KEY WORDS: wheat kernel; mycotoxin; high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry; synergistic detection

1 引 言

我国是世界最大的小麦主产国,也是世界最大的小麦消费国,年产量仅次于玉米和水稻的小麦也是中国半数以上人口的主粮,因此,小麦的质量安全也直接关系到广大消费者的食品安全^[1]。真菌毒素是一类由真菌在特定条件下产生的有毒次级代谢产物,是引起小麦食品安全问题的重要因素。迄今为止,已经发现的真菌毒素有 400 多种。小麦中毒素的污染不仅会引起产量和品质降低,带来巨大的经济损失,且人类和动物摄入被毒素污染的小麦还会威胁人畜的生命健康^[2,3]。小麦作为易受真菌毒素污染的农作物,其污染主要来自 2 个方面。首先是小麦在生长期,尤其是小麦抽穗扬花期,若恰逢温暖湿润的天气,小麦易受真菌侵染而产生赤霉病导致毒素的产生^[4]。其次是在收获储藏期间,进仓前干燥不充分或储存条件不当,也会导致真菌污染引起毒素的产生和积累。小麦中污染最多、与人类关系最密切的毒素主要为单端孢霉烯族化合物、玉米赤

霉烯酮和黄曲霉毒素等^[5-7]。因此为保证小麦等谷物制品的质量安全,国际食品法典委员会(Codex Alimentarius Commission, CAC)、欧盟和中国等多个国家和国际组织也已陆续制定了相应的限量标准^[8,9]。

课题组前期对中国 2013 年产小麦粉中多种真菌毒素的污染调查表明^[10],玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN)和 B 类单端孢霉烯族化合物中的脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)、3-乙酰基-DON(3-acetyl-DON, 3-Ac-DON)、15-乙酰基-DON(15-acetyl-DON, 15-Ac-DON)和雪腐镰刀菌烯醇(nivalenol, NIV)等是小麦粉中最易污染的真菌毒素;马玉彤等^[11]对我国 2014 年 11 个麦区的 214 份小麦样品中 7 种镰刀菌毒素含量的调查发现, DON 及其衍生物、NIV 和 ZEN 的检出率均为 100%, 污染水平较高的是 DON 和 NIV, 平均污染水平分别为 15.5 $\mu\text{g/kg}$ (范围为 8.1~337.2 $\mu\text{g/kg}$)和 273.4 $\mu\text{g/kg}$ (范围为 73.4~393.7 $\mu\text{g/kg}$);此外,多项研究表明,我国多个地区的小麦及其制品除易受单端孢霉烯族化合物和 ZEN 的污染外,还受黄曲霉毒素

(aflatoxins, AFs)等的污染^[12-16]。

为全面系统地监测我国小麦主产区的脱粒小麦中多种真菌毒素的污染情况,本研究从小麦主产区的 4 个大省河北省、江苏省、安徽省和湖北省,共采集了 371 份脱粒小麦,并分析样品中 4 种 B 类单端孢霉烯族化合物(DON、3-Ac-DON、15-Ac-DON 和 NIV)、ZEN 和 4 种黄曲霉毒素 (AFB₁、AFB₂、AFG₁、AFG₂)共 9 种真菌毒素的含量,为相关毒素的风险监测、预警和标准制修订提供基础数据。

2 材料和方法

2.1 仪器与设备

Waters Xevo TQ-S 质谱仪(配有电喷雾离子源)、ACQUITY UPLC I-Class 液相色谱(美国 Waters 公司); N-EVAP-24 位氮吹仪(美国 Organomation 公司); HY-3 多功能振荡器(江苏金坛医疗仪器厂); MX-S 涡旋混合器(美国 SCILOGEX 公司); BS110S 电子天平(德国 METTLERTOLEDO 公司); YKB 高速粉碎机(日本 AS ONE 公司); HeraeusMultifuge X1 冷冻离心机(美国 Thermo Fisher 公司); Millipore-Elix-QE-QG 纯水仪(美国 Millipore 公司)。

2.2 试剂与材料

DON 溶液(100 μg/mL)、3-Ac-DON 溶液(100 μg/mL)、15-Ac-DON 溶液(100 μg/mL)、NIV 溶液(100 μg/mL)、AFB₁ 溶液(1 μg/mL)、AFB₂ 溶液(0.5 μg/mL)、AFG₁ 溶液(1 μg/mL)、AFG₂ 溶液(0.5 μg/mL)、ZEN 溶液(100 μg/mL)(溶剂均为纯乙腈)、Mycosep 226 多功能净化柱(奥地利 RomerLabs 公司); 甲醇、乙腈(质谱纯,美国 Fisher 公司); 甲酸(质谱纯,美国 Sigma 公司); 实验用水为超纯水; 0.22 μm 尼龙滤膜(津腾实验设备有限公司)。

2.3 样品采集

为保证样品的代表性,2018 年 5~6 月,根据 4 省地理位置、气候环境等条件,每个省份选择不少于 7 个地级市为采样点,以村为单位进行采样,每村随机选取 5 户农户,每户采样量 500 g,混合均匀后作为 1 份待测样本,每次采样均采用五点取样法。采集并储存的脱粒小麦共计 371 份,各省样本数量及分布见表 1。

表 1 不同省份小麦样品信息
Table 1 Information of wheat kernel samples from different provinces

省份	样品数
河北(9 市)	112
湖北(11 市)	86
江苏(7 市)	104
安徽(9 市)	69
合计	371

2.4 毒素标准溶液的配制方法

将标准溶液从-20 °C冰箱中取出并恢复至室温。分别移取体积为 0.05 mL 的 ZEN(100 μg/mL),体积均为 0.25 mL 的 AFB₁(1 μg/mL)和 AFG₁(1 μg/mL),体积均为 0.5 mL 的 DON(100 μg/mL)、3-Ac-DON(100 μg/mL)、15-Ac-DON(100 μg/mL)和 NIV(100 μg/mL),以及体积均为 1 mL 的 AFB₂(0.5 μg/mL)和 AFG₂(0.5 μg/mL)至 10 mL 容量瓶中,加入纯乙腈定容至 10 mL 得到混合标准储备液:4 种 AF 浓度均为 0.05 μg/mL, DON、3-Ac-DON、15-Ac-DON 和 NIV 浓度均为 5 μg/mL, ZEN 浓度为 0.5 μg/mL。取适量的混合标准储备液,用于标准系列稀释溶液的制备,具体配制梯度见表 2。

表 2 标准系列溶液中各毒素的浓度(ng/mL)
Table 2 Concentration of the toxins in series standard solution (ng/mL)

真菌毒素	梯度 1	梯度 2	梯度 3	梯度 4	梯度 5	梯度 6	梯度 7	梯度 8
DON	100	250	500	800	1000	1500	2000	2500
NIV	100	250	500	800	1000	1500	2000	2500
3-Ac-DON	100	250	500	800	1000	1500	2000	2500
15-Ac-DON	100	250	500	800	1000	1500	2000	2500
ZEN	10	25	50	80	100	150	200	250
AFB ₁	1	2.5	5	8	10	15	20	25
AFB ₂	1	2.5	5	8	10	15	20	25
AFG ₁	1	2.5	5	8	10	15	20	25
AFG ₂	1	2.5	5	8	10	15	20	25

2.5 样品的提取净化方法

样品中毒素的提取和净化参考于钊钊等^[17]建立的方法进行。取混匀粉碎后的样品 5 g, 加入 20 mL 乙腈-水溶液(84: 16, V: V), 以 200 r/min 振荡提取 60 min 后过滤。取 10 mL 滤液过 Mycosep 226 净化柱, 舍去最初 2 mL, 取之后的 4 mL 于氮吹瓶中, 于 45 °C 条件下氮气流吹干, 残渣用 40% 甲醇水溶液定容至 1 mL, 混匀后在 7378 g 条件下离心 5 min 后取上清液过 0.22 μm 尼龙滤膜后待测。

2.6 仪器条件

2.6.1 液相条件

色谱柱采用 Waters ACQUITY BEH C₁₈(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 柱温为 40 °C; 样品室温度为 10°C; 进样量为 5 μL; 流速为 0.3 mL/min。流动相 A 为 0.1% 甲酸-水溶液, 流动相 B 为纯甲醇; 梯度洗脱程序为: 0~1 min 95% A, 1~10 min 95% A~60%A, 10~16 min 60% A~30% A, 16~16.2 min 30% A~0% A, 16.2~17.8 min 0% A, 17.8~18 min 0% A~95% A, 18~21 min 95% A。

2.6.2 质谱条件

采用正离子多反应检测模式(multiple reaction monitoring, MRM), 优化后的 9 种毒素的质谱参数见表 3。加热气温度、离子源温度和脱溶剂气流量分别为 400 °C、

150 °C 和 800 L/H。

2.7 数据处理和分析

采用 SPSS 20.0 对 371 份样品中毒素含量进行统计分析, 计算脱粒小麦中 9 种真菌毒素含量的范围、中位数、平均值和检出率等参数, 并对毒素含量进行 Spearman 等级相关性分析。

3 结果与分析

3.1 基质匹配曲线的建立

以空白样品提取液为稀释液建立 9 种毒素的基质匹配曲线, 其线性方程、相关系数、检出限(limited of detection, LOD)和定量限(limited of quantification, LOQ)见表 4。DON、3-Ac-DON、15-Ac-DON 和 NIV 的线性范围为 100~2500 μg/kg, ZEN 的线性范围是 10~250 μg/kg, AF 的线性范围为 1~25 μg/kg。脱粒小麦中 B 类单端孢霉烯族化合物的 LOD 和 LOQ 范围分别是 2.2~13.0 和 7.4~43.2 μg/kg, ZEN 的 LOD 和 LOQ 分别为 1.5 和 5.1 μg/kg, 4 种 AF 的 LOD 和 LOQ 范围分别是 0.3~0.8 和 0.9~2.7 μg/kg。9 种毒素的基质匹配曲线的相关系数(r^2)均大于 0.99, 且满足欧盟 NO 1881-2016 规定的毒素定量检测的要求^[18]。

表 3 9 种真菌毒素的质谱参数
Table 3 Mass spectrum parameters of 9 mycotoxins

毒素名称	离子迁移(m/z)	保留时间/min	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
NIV	313.2 > 124.9	3.56	15	15
	313.2 > 177.0*			15
DON	297.2 > 203.1	5.13	30	14
	297.2 > 249.2*			12
3-Ac-DON	339.2 > 213.1	8.91	30	10
	339.2 > 231.1*			10
15-Ac-DON	339.2 > 136.9*	9.03	30	10
	339.2 > 261.1			10
AFG ₂	331.1 > 245.1	10.45	20	30
	331.1 > 313.1*			25
AFG ₁	329.1 > 243.1*	11.09	25	25
	329.1 > 311.1			20
AFB ₂	315.2 > 259.1	11.11	64	28
	315.2 > 287.2*			26
AFB ₁	313.2 > 241.1	12.17	20	35
	313.2 > 285.0*			24
ZEN	319.3 > 283.2*	16.17	30	15
	319.3 > 301.2			15

注: *表示定量离子。

表 4 9 种真菌毒素的线性方程、线性范围和相关系数
Table 4 The liner equations, the ranges and the correlation coefficient of 9 mycotoxins

毒素名称	线性方程	线性范围/(μg/kg)	相关系数	LOD/(μg/kg)	LOQ/(μg/kg)
DON	$Y=56.3423X+1810.58$	100~2500	0.993	2.2	7.4
3-Ac-DON	$Y=60.6546X-2020.61$	100~2500	0.995	3.7	12.3
15-Ac-DON	$Y=42.1675X-1076.64$	100~2500	0.998	2.9	9.8
NIV	$Y=5.7057X-104.961$	100~2500	0.996	13.0	43.2
ZEN	$Y=106.725X+2750.67$	10~250	0.995	1.5	5.1
AFG ₁	$Y=276.842X+293.906$	1~25	0.997	0.8	2.6
AFG ₂	$Y=168.959X-149.075$	1~25	0.995	0.8	2.7
AFB ₁	$Y=239.624X-106.232$	1~25	0.993	0.3	0.9
AFB ₂	$Y=182.51X-115.116$	1~25	0.996	0.6	2.0

3.2 4 省脱粒小麦中 9 种真菌毒素污染情况分析

3.2.1 4 省脱粒小麦中 9 种毒素的整体污染情况

表 5 为 4 省份小麦中 9 种毒素的污染情况。从表 5 可知, 4 省脱粒小麦受 5 种镰刀菌毒素污染较为严重, 5 种镰刀菌毒素的检出率和平均污染水平均高于 4 种 AF 的检出率和平均污染水平。从检出率来看, 5 种镰刀菌毒素中 DON 的检出率最高, 为 90.3%, 阳性样品中 DON 的平均污染水平为 2706.3 μg/kg; 其次是 DON 的乙酰化衍生物 3-Ac-DON 和 15-Ac-DON, 两者的检出率分别为 68.7%和 49.9%, 平均污染水平分别为 80.4 和 49.6 μg/kg; 再次为 NIV 和 ZEN, 二者的检出率分别为 45.0%和 25.6%, 平均污染水平分别为 270.4 和 575.9 μg/kg, 且阳性样品中 ZEN 的平均污染水平约为我国限量标准(60 μg/kg)的 10 倍^[9]。

4 省所有脱粒小麦受 4 种 AF 污染的情况较轻, 检出率和平均污染水平均较低, 但仍有个别样品中 AF 含量超过国家限量标准 5 μg/kg。4 种 AF 中, AFB₁ 和 AFB₂ 的检出率均为 3.2%, 平均污染水平分别为 4.8 和 1.9 μg/kg, 其中 2 份样品中 AFB₁ 的含量(14.9 和 19.7 μg/kg)超过国家限量标准 5 μg/kg; 仅 1 份样品检出 AFG₂, 污染水平为 1.3 μg/kg; 所有样品均未检出 AFG₁。

3.2.2 不同省份脱粒小麦中 9 种镰刀菌毒素的污染情况

按地区来看, 湖北省样品污染最严重, 共检出 7 种毒素, 其中 DON、3-Ac-DON、NIV、AFB₂ 的检出率和平均污染水平均位于 4 省之首; 15-Ac-DON、ZEN 和 AFB₁ 的平均污染水平皆位于 4 省第 2。

安徽省脱粒小麦中毒素的污染也比较严重, 共检出 7 种毒素, 其中阳性样品中 15-Ac-DON 的平均污染水平最高, 为 69.4 μg/kg, DON、3-Ac-DON 和 NIV 的平均污染水平均为 4 省第 2, ZEN 平均污染水平为 155.7 μg/kg 位于第 3, 但仍超过国家限量标准。安徽脱粒小麦受 4 种 AF 污染较轻, 仅 1 份样品检出 AFB₂(含量为 1.5 μg/kg)。

江苏省脱粒小麦的污染也较严重, 共检出 8 种毒素, 其中 DON、3-Ac-DON、NIV 和 ZEN 的检出率均位于第 3, 15-Ac-DON 的检出率在 4 省中最低, 为 22.1%, AFB₁ 和 AFB₂ 的检出率较高, 分别为 3.8%和 4.8%, 仅 1 份样品检出 AFG₂(浓度为 1.3 μg/kg); 此外, 值得注意的是江苏省脱粒小麦中 ZEN 和 AFB₁ 的平均污染水平均最高, 均超过相应国家限量标准。

河北省脱粒小麦受 9 种毒素污染相对较轻, 共检出 7 种真菌毒素, 其中 DON、3-Ac-DON、NIV 和 ZEN 检出率和平均污染水平均为 4 省最低, 15-Ac-DON 和 AFB₁ 的检出率和平均污染水平均为第 3, 4 份样品检出 AFB₂, 但平均污染水平较低为 1.8 μg/kg, 位于 4 省第 3。

3.3 4 省小麦真菌毒素污染水平与国标和欧标真菌毒素限量对比分析

部分样品中真菌毒素超标是目前我国农产品出口的最大阻碍之一^[19]。我国目前现行有效的 GB 2761-2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》^[8]和欧盟现行有效的 (EC)No 1881/2006^[18]均对 DON、ZEN 和 AFB₁ 的最大污染水平进行了规定。中国和欧盟对 DON 的限量指标分别为 1000 和 750 μg/kg, 对 ZEN 的限量指标分别为 60 和 75 μg/kg, 对 AFB₁ 的限量指标分别为 5 和 2 μg/kg。表 6 分析了 4 省脱粒小麦的超标情况, 可见 45.3%和 52.3%的脱粒小麦中 DON 的含量分别超过了我国和欧盟对谷物中 DON 的限量要求。14.0%和 13.2%的脱粒小麦中 ZEN 的含量分别超过了我国和欧盟对谷物中 ZEN 限量的要求。0.5%和 2.2%的脱粒小麦中 AFB₁ 的含量分别超过了我国和欧盟对谷物中 AFB₁ 限量的要求。从地区来看, 4 省脱粒小麦中 DON 的含量超我国限量标准最严重的省份为湖北省, 超标率为 84.9%; 其次为安徽省, 超标率 56.5%; 再次为江苏省, 超标率 34.6%; 河北超标率最低, 为 17.9%。ZEN 的含量超过我国限量标准从高到低依次为湖北省 (44.2%)>安徽省(8.7%)>江苏省(7.7%)>河北(0%)。

3.4 小麦中 9 种真菌毒素的相关性分析

本次关注的 9 种毒素是由镰刀菌属(*Fusarium*)、单端孢霉属(*Trichothecium*)或曲霉属(*Aspergillus*)真菌在特定条件下产生的有毒次级代谢产物。考虑到同一种霉菌可能同时产生多种真菌毒素的现象^[20], 有必要对 9 种真菌毒素的污染情况进行相关性分析。AFG₁ 在所有样本中均未检出, 因此本研究中对其余 8 种毒素的相关性进行分析, 结果见表 7。从表 7 中可以看出, 5 种镰刀菌毒素的污染水平具

有显著相关性($P<0.01$)。其中, DON 与 3-Ac-DON 污染的相关性最强, 其次是 DON 与 NIV, 接着是 DON 与 ZEN 和 15-Ac-DON; ZEN 与 NIV 的污染也具有较强的相关性。上述分析表明, 被 DON 和 ZEN 污染的样品, 很有可能同时伴随着 3-Ac-DON 和 NIV 等多种镰刀菌毒素的污染。镰刀菌毒素的污染和 AF 的污染之间相关性弱, 仅 NIV 和 ZEN 与 AFB₁ 存在弱相关性; 检出的 3 种 AF 的污染之间相关性均较弱或无相关性。

表 5 4 省份小麦中 9 种毒素的污染情况
Table 5 Natural contaminations of 9 toxins in wheat kernel samples from 4 provinces

省份	项目	毒素名称								
		DON	3-Ac-DON	15-Ac-DON	NIV	ZEN	AFG1	AFG2	AFB1	AFB2
湖北 (n=86)	范围/(μg/kg)	69.0~59278.0	35.4~667.0	27.2~151.9	48.5~3043.6	2.1~4393.7	-	-	0.7~19.7	1.0~3.5
	平均值									
	/(μg/kg)	6314.9	103.5	48.5	398.5	382.8			4.8	2.3
	中位数									
	/(μg/kg)	3880.4	83.7	42.2	265.0	178.5			1.8	2.3
	检出率/%	100.0(86/86)	90.7(78/86)	70.9(61/86)	90.7(78/86)	66.3(57/86)			7.0(6/86)	2.3(2/86)
安徽 (n=69)	标准差									
	/(μg/kg)	7946.8	22.4	25.9	473.2	674.4			7.4	1.8
	范围/(μg/kg)	5.9~37742.4	37.5~608.9	29.1~804.9	26.3~1185.2	6.3~1973.1	-	-	-	1.5
	平均值									
	/(μg/kg)	2728.8	84.0	69.4	173.3	155.7				1.5
	中位数									
江苏 (n=104)	/(μg/kg)	1204.4	58.6	40.7	94.9	43.1				1.5
	检出率/%	97.1(67/69)	81.2(56/69)	56.5(39/69)	53.6(37/69)	30.4(21/69)				1.4(1/69)
	标准差									
	/(μg/kg)	4983.6	86.9	123.4	206.8	422.0				
	范围/(μg/kg)	2.5~8759.5	34.8~364.2	27.1~59.8	36.3~982.5	6.7~22572.1	-	1.3	0.6~14.9	0.9~3.4
	平均值									
河北 (n=113)	/(μg/kg)	1407.0	75.6	37.2	153.1	1971.2		1.3	5.6	1.9
	中位数									
	/(μg/kg)	825.3	56.2	30.6	110.2	81.3		1.3	3.4	1.5
	检出率/%	84.6(88/104)	70.2(73/104)	22.1(23/104)	50.0(52/104)	14.4(15/104)		1.0(1/104)	3.8(4/104)	4.8(5/104)
	标准差									
	/(μg/kg)	1590.9	51.8	10.8	148.8	5809.3			6.4	1.0
合计 (n=371)	范围/(μg/kg)	5.9~4109.4	28.8~81.9	27.0~143.4	97.6	14.6~41.7	-	-	3.0~3.2	0.9~2.8
	平均值									
	/(μg/kg)	596.3	45.7	42.7	97.6	28.2			3.1	1.8
	中位数									
	/(μg/kg)	319.8	42.6	37.4	97.6	28.2			3.1	1.8
	检出率/%	83.0(93/112)	42.9(48/112)	55.4(62/112)	0.9(1/112)	1.8(2/112)			1.8(2/112)	3.6(4/112)
合计 (n=371)	标准差(μg/kg)									
		687.3	10.6	18.2		19.2			0.1	0.8
	范围/(μg/kg)	2.5~59278.0	28.8~667	27.0~804.9	26.3~3043.6	2.1~22572.1	-	1.3	0.6~19.7	0.9~3.5
	平均值									
	/(μg/kg)	2706.3	80.4	49.6	270.4	575.9		1.3	4.8	1.9
	中位数									
合计 (n=371)	/(μg/kg)	1002.5	59.2	38.9	162.2	83.6		1.3	2.7	1.5
	检出率/%	90.3(335/371)	68.7(255/371)	49.9(185/371)	45.0(167/371)	25.6(95/371)		0.3(1/371)	3.2(12/371)	3.2(12/371)
	标准差									
	/(μg/kg)	5178.7	69.4	60.1	364.4	2390.4			6.1	0.9

注: “-”代表未检出数据, 空白表示无法计算该数值。

表 6 脱粒小麦样品中 DON、ZEN 和 AFB₁ 超过国家标准和欧盟限量要求的统计分析

Table 6 The analysis of exceeding rate of DON, ZEN, and AFB₁ in wheat kernel samples according to the Chinese national and the European standard

省份	样品数量 DON≥		超标率/%DON≥		样品数量 ZEN≥		超标率/%ZEN≥		样品数量 AFB ₁ ≥		超标率/%AFB ₁ ≥	
	1000 μg/kg ^a	750 μg/kg ^b	1000 μg/kg ^a	750 μg/kg ^b	60 μg/kg ^a	75 μg/kg ^b	60 μg/kg ^a	75 μg/kg ^b	5 μg/kg ^a	2 μg/kg ^b	5 μg/kg ^a	2 μg/kg ^b
河北省 (n=112)	20	28	17.9 (20/112)	25.0 (28/112)	0	0	0	0	0	2	0	1.8 (2/112)
安徽省 (n=69)	39	43	56.5 (39/69)	62.3 (43/69)	6	6	8.7 (6/69)	8.7 (6/69)	0	0	0	0
江苏省 (n=104)	36	48	34.6 (36/104)	46.2 (48/104)	8	8	7.7 (8/104)	7.7 (8/104)	1	3	1.0 (1/104)	2.9 (3/104)
湖北省 (n=86)	73	75	84.9 (73/86)	87.2 (75/86)	38	35	44.2 (38/86)	40.7 (35/86)	1	3	1.1 (1/86)	3.5 (3/86)
总计 (n=371)	168	194	45.3 (168/371)	52.3 (194/371)	52	49	14.0 (52/371)	13.2 (49/371)	2	8	0.5 (2/371)	2.2 (8/371)

注: ^aGB 2761-2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》中的限量, ^b《(EC)No 1881/2006》中的限量。

表 7 4 省脱粒小麦中 8 种真菌毒素相关性分析

Table 7 The correlation analysis of 8 mycotoxins in wheat kernel samples from 4 provinces

Spearman 相关系数	DON	3-Ac-DON	15-Ac-DON	NIV	ZEN	AFG ₂	AFB ₁	AFB ₂
DON	1	0.915*	0.606*	0.812*	0.670*	0.053	0.080	0.039
3-Ac-DON	0.915*	1	0.522*	0.794*	0.596*	0.034	0.028	-0.011
15-Ac-DON	0.606*	0.522*	1	0.252*	0.362*	-0.048	-0.023	0.015
NIV	0.812*	0.794*	0.252*	1	0.643*	0.062	0.141*	0.020
ZEN	0.670*	0.596*	0.362*	0.643*	1	0.111*	0.170*	-0.041
AFG ₂	0.053	0.034	-0.048	0.062	0.111*	1	0.276*	-0.010
AFB ₁	0.080	0.028	-0.023	0.141*	0.170*	0.276*	1	0.141*
AFB ₂	0.039	-0.011	0.015	0.020	-0.041	-0.010	0.141*	1

注: *表示有统计学差异($P < 0.01$)。

4 结论与讨论

本课题在前期研究的基础上,选取 4 个小麦产量大省湖北、安徽、江苏和河北省作为采样点,采集了 2018 年 5~6 月收获的脱粒小麦样品共计 371 份并分析常见的 9 种真菌毒素的污染情况。结果表明,4 省样品受多种镰刀菌毒素污染严重,其中以 DON 最为严重,平均污染水平 2706.3 μg/kg,约为我国限量标准的 3 倍(1000 μg/kg)。ZEN 的平均污染水平为 575.9 μg/kg,约为我国限量标准的 10 倍(60 μg/kg)。其他 3 种单端孢霉烯族化合物的污染也较严重,3-Ac-DON、15-Ac-DON 和 NIV 的平均污染水平分别为 80.4 μg/kg、49.6 μg/kg 和 270.4 μg/kg,明显高于严翩翩^[21]对 2017 年湖北、安徽、江苏和河北的小麦样品中 DON 及其衍生物的测定结果,以及马玉彤^[11]对 2014 年中国 11 个麦区的小麦样本的测定结果。AF 污染较轻,与前人报道的我国小麦中 AF 污染情况一致^[14,22],相关性分析证明了镰刀菌毒素之间具有强相关性,我国现有限量标准中

仅以 DON 和 ZEN 作为镰刀菌毒素污染情况的指标进行评估,无法反映镰刀菌毒素的实际污染情况,难以保障消费者健康。

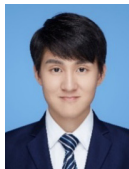
小麦的多真菌毒素协同污染已经在国际范围内引起高度的重视,其他国家也开展了对小麦中真菌毒素的持续监测,研究表明,各个国家由于其独特的地理位置、气候条件等,真菌毒素的污染情况有明显差异。芬兰小麦中最普遍的 DON 衍生物是 15-Ac-DON,其污染水平与 DON 平均污染水平呈显著正相关,且在 2005~2014 年间呈逐年上升的趋势;尼日利亚和伊朗的小麦样品中 AFs 平均污染水平远高于其他国家,是其重点监测对象;意大利小麦 NIV 平均污染水平高于 DON 污染水平,且施行的标准中未对 NIV 提出限量,提示了其现有标准潜在的安全风险^[23-26]。综上可知,世界各国目前普遍面临小麦受多真菌毒素污染且风险控制能力不足的问题,需要结合长期的多真菌毒素协同监测结果尽快完善相关安全标准,全面保障消费者健康。

参考文献

- [1] 王刘庆, 姜冬梅, 王瑶, 等. 小麦产毒病原菌及其毒素防控的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(9): 3396–3402.
Wang LQ, Jiang DM, Wang Y, *et al.* Advances on the prevention and control of mycotoxin-producing pathogens and their mycotoxins in wheat [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(9): 3396–3402.
- [2] Wilson W, Dahl B., Nganje W. Economic costs of *Fusarium* head blight, scab and deoxynivalenol[J]. World Mycotoxin J, 2018, 11(2): 1–12.
- [3] 黄奇鹏, 武文斌, 李聪, 等. 中国小麦供需形势分析与对策[J]. 现代面粉工业, 2018, 32(5): 39–42.
Huang QP, Wu WB, Li C, *et al.* Analysis and countermeasures of supply and demand situation of wheat in China [J]. Mod Flour Mill Ind, 2018, 32(5): 39–42.
- [4] Shah L, Ali A, Yahya M, *et al.* Integrated control of *Fusarium* head blight and deoxynivalenol mycotoxin in wheat [J]. Plant Pathol, 2017, 67(3): 12785.
- [5] Fadwa, AT, Cappozzo J, Zweigenbaum J, *et al.* Detection and quantitation of mycotoxins in infant cereals in the U.S. market by LC-MS/MS using a stable isotope dilution assay [J]. Food Control, 2017, (72): 27–35.
- [6] Hussein HS, Brasel JM. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals [J]. Toxicology, 2001, 167(2): 101–134.
- [7] Bennett JW, Klich M. Mycotoxins [J]. Clin Microbiol Rev, 2003, 16(3): 497–516.
- [8] 吴限鑫, 林秋君, 郭春景, 等. 国内外主要粮油产品中真菌毒素限量、检测标准及风险评估现状分析[J]. 中国粮油学报, 2019, (8): 69–77.
Wu XX, Lin QJ, Guo CJ, *et al.* Detection standard and risk assessment of mycotoxin in main grain and oil products at domestic and abroad [J]. J Chin Cere Oil Assoc, 2019, (8): 69–77.
- [9] GB 2761-2017 食品安全国家标准食品中真菌毒素限量[S].
GB 2761-2017 National foodsafety standard-Limit of mycotoxin in food [S].
- [10] 韩小敏, 李凤琴, 徐文静, 等. 我国五省(市)小麦粉中重要镰刀菌毒素的污染调查[J]. 中国猪业, 2017, 12(6): 33–39, 45.
Han XM, Li FQ, Xu WJ, *et al.* Natural occurrence of important mycotoxins produced by *Fusarium* in wheat flour from five provinces in China [J]. China Swine Ind, 2017, 12(6): 33–39, 45.
- [11] 马玉彤, 刘太国, 文才艺, 等. 我国不同麦区小麦镰刀菌毒素检测及毒素污染分析[J]. 植物保护学报, 2019, 46(2): 266–273.
Ma YT, Liu TG, Wen CY, *et al.* Determination and contamination of *Fusarium* mycotoxins in different wheat planting regions of China [J]. J Plant Prot, 2019, 46(2): 266–273.
- [12] 李丹迪, 赵丽, 季静, 等. 济南部分地区谷物制品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇及玉米赤霉烯酮的污染状况[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(23): 8081–8086.
Li DD, Zhao L, Ji J, *et al.* Contamination status of deoxynivalenol and zearalenone in cereal products in parts of Jinan city [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(23): 8081–8086.
- [13] 胡佳薇, 乔海鸥, 田丽, 等. 2013-2016 年陕西省谷物及其制品中真菌毒素的污染状况[J]. 卫生研究, 2017, 46(6): 1013–1015.
Hu JW, Qiao HO, Tian L, *et al.* Contamination of mycotoxins in grain and its products in shaanxi province from 2013 to 2016 [J]. J Hyg Res, 2017, 46(6): 1013–1015.
- [14] 许嘉, 林楠, 王志, 等. 北京市市售谷物及制品中真菌毒素污染状况的调查[J]. 中国食物与营养, 2019, 25(3): 28–30.
Xu J, Lin N, Wang Z, *et al.* Investigation on the status of mycotoxin contamination in cereals and products sold in Beijing [J]. Food Nutr China, 2019, 25(3): 28–30.
- [15] Zhao YR, Wang QS, Huang JX, *et al.* Aflatoxin B₁ and sterigmatocystin in wheat and wheat products from supermarkets in China [J]. Food Addit Contam B, 2017, 11(1): 9–14.
- [16] 李可, 丘汾, 杨梅, 等. 深圳粮油食品中 4 种黄曲霉毒素联合污染状况[J]. 卫生研究, 2013, 42(4): 610–614.
Li K, Qiu F, Yang M, *et al.* Survey of aflatoxins contamination of food stuffs and edible oil in Shenzhen [J]. J Hyg Res, 2013, 42(4): 610–614.
- [17] 于钊钊, 邵兵, 李凤琴, 等. 粮食中隐蔽型脱氧雪腐镰刀菌烯醇等多组分真菌毒素协同检测技术[J]. 中华预防医学杂志, 2010, 44(8): 736–740.
Yu CC, Shao B, Li FQ, *et al.* A method for the detection of hidden deoxynivalenol and other multicomponent mycotoxins in grain [J]. Chin J Prev Med, 2010, 44(8): 736–740.
- [18] Regulation (EC) No1881/2006 [S].
- [19] 翟晨, 穆蕾, 杨悠悠. 中国及欧盟粮油食品真菌毒素限量及减控措施对比[J]. 现代食品科技, 2020, 36(3): 1–8.
Zhai C, Mu L, Yang YY. Comparison of mycotoxins limit standards and control measures of grain and oil foods between China and European Union [J]. Mod Food Sci Technol, 2020, 36(3): 1–8.
- [20] Béatrice O, Guénolé G, Vitry C, *et al.* *Fusarium* species and enniatin mycotoxins in wheat, durum wheat, triticale and barley harvested in France [J]. Mycotoxin Res 2019, 35(4): 369–380.
- [21] 严翩翩. 小麦和玉米中呕吐毒素及衍生物暴露水平及毒性作用研究[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2019.
Yan PP. Study on the toxicity and exposure levels of deoxynivalenol and its derivatives in wheat and maize [D]. Wuhan: Wuhan Polytechnic University, 2019.
- [22] 吴宇, 辛媛媛, 叶金, 等. 全碳标记稳定同位素内标-超高效液相色谱-串联质谱法测定粮食中 16 种真菌毒素[J]. 食品科学, 2017, 38(18): 297–303.
Wu Y, Xin YY, Ye J, *et al.* Suitability of fully ¹³C isotope labeled internal standards for the simultaneous determination of 16 mycotoxins in grains by UPLC-MS/MS [J]. Food Sci, 2017, 38(18): 297–303.
- [23] Hietaniemi V, Sari R, Yli-Mattila T, *et al.* Updated survey of the *Fusarium* species and toxins in Finnish cereal grains [J]. Food Addit Contam A, 2016, 33(5): 831–848.
- [24] Makun HA, Anjorin ST, Moronfoye B, *et al.* Fungal and aflatoxin contamination of some human food commodities in Nigeria [J]. Afr J Food Sci, 4: 127–135.
- [25] Niknejad F. Quantitative determination of aflatoxin by high performance liquid chromatography in wheat silos in Golestan province, north of Iran [J]. Iran J Publ Health, 2016, 45(7): 905–910.
- [26] Covarelli L, Beccari G, Prodi A, *et al.* *Fusarium* species, chemo type characterization and trichechne contamination of durum and soft wheat in an area of central Italy [J]. J Sci Food Agric, 2015, 95(3): 540–541.

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介



程天笑, 硕士研究生, 主要研究方向为真菌毒素检验。

E-mail: chengtianxiao22@163.com



胡利明, 博士, 教授, 主要研究方向为药物化学、化学生物学和纳米材料科学。

E-mail: huliming@bjut.edu.cn