

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240707001

不同地区枸杞真菌毒素含量特征分析

西尔力·阿不都热哈曼¹, 何晓露², 庞润涛³, 刘河疆^{1*}

(1. 新疆农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 乌鲁木齐 830091; 2. 新疆农业大学食品科学与药学学院, 乌鲁木齐 830052; 3. 新疆农业职业技术学院粮油食品与物资储备学院, 昌吉 831100)

摘要: **目的** 建立 QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法 (ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS) 检测新疆、甘肃、宁夏 3 个地区枸杞中链格孢酚 (alternariol, AOH)、腾毒素 (tentoxin, TEN)、交链孢霉烯 (altenuene, ALT) 3 种真菌毒素含量, 并对 3 个地区真菌毒素含量进行特征分析。**方法** 本研究采用改良的 QuEChERS-UPLC-MS/MS 对枸杞中真菌毒素进行测定, 分析新疆、甘肃、宁夏 3 个地区枸杞中真菌毒素分布特征。**结果** 90 份枸杞样品中 AOH 检出率为 55.6%, TEN 检出率为 100%, ALT 检出率为 100%, 79.7% 的枸杞样品受到了两种以上真菌毒素污染, 在新疆、甘肃、宁夏 3 地区真菌毒素含量中 ALT 总含量(48.3%)>AOH 总含量(47.3%)>TEN 总含量(4.3%)。**结论** 该方法简单准确, 适用于枸杞中真菌毒素的同时检测; ALT、TEN 的检出率较高; 混合污染情况普遍, 并且呈现出一定的地区和品种差异。通过分析不同地区枸杞中真菌毒素的含量特征, 可以及时发现并控制真菌毒素污染, 保障消费者食用安全。同时也可以预测和预防可能发生的食品安全事故, 为监管部门提供科学依据。

关键词: 中药材; 真菌毒素; 超高效液相色谱-串联质谱法; 枸杞

Analysis of mycotoxin content characteristics of *Lycium barbarum* L. in different areas

XIERLI A-Bu-Du-Re-Ha-Man¹, HE Xiao-Lu², PANG Run-Tao³, LIU He-Jiang^{1*}

(1. Institute of Agricultural Quality Standards & Testing Technology, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, China; 2. School of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China; 3. College of Grain, Oil, Food and Materials Reserve, Xinjiang Agricultural Vocational and Technical College, Changji 831100, China)

ABSTRACT: Objective To establish a QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method was used for the determination of alternariol (AOH), tentoxin (TEN) and altenuene (ALT) in *Lycium barbarum* L. from Xinjiang, Gansu and Ningxia. The characteristics of mycotoxin content in three regions were analyzed. **Methods** In this study, the modified QuEChERS-UPLC-MS/MS was used to determine the mycotoxins in *Lycium barbarum* L., and the distribution characteristics of mycotoxins in *Lycium barbarum* L. in Xinjiang, Gansu and Ningxia were analyzed. **Results** The detection rate of AOH was 55.6%, the

基金项目: 新疆维吾尔自治区重点研发计划项目子课题项目(2023B02009-4)

Fund: Supported by the Sub Project of Key Research and Development Program of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2023B02009-4)

*通信作者: 刘河疆, 硕士, 正高级实验师, 主要研究方向为农产品质量安全与检测技术。E-mail: 12631499@qq.com

*Corresponding author: LIU He-Jiang, Master, Senior Experimentalist, Institute of Agricultural Quality Standards & Testing Technology, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, China. E-mail: 12631499@qq.com

detection rate of TEN was 100%, and the detection rate of ALT was 100%. The 79.7% of the samples were polluted by more than 2 kinds of mycotoxins. In Xinjiang, Gansu and Ningxia, the total content of ALT (48.3%)>the total content of AOH (47.3%)>the total content of TEN (4.3%). **Conclusions** The method is simple and accurate, and is suitable for the simultaneous detection of mycotoxins in *Lycium barbarum* L.. The detection rates of ALT and TEN are high. Mixed pollution is common and presents certain regional and variety differences. By analyzing the content characteristics of mycotoxins in *Lycium barbarum* L. in different regions, mycotoxin contamination can be detected and controlled in time to ensure consumer safety. At the same time, it can also predict and prevent possible food safety accidents and provide scientific basis for regulatory authorities.

KEY WORDS: traditional Chinese medicinal materials; mycotoxins; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; *Lycium barbarum* L.

0 引言

枸杞(*Lycium barbarum* L.)^[1]是茄科枸杞属植物的干燥成熟果实, 又名甜菜子、红耳坠、地骨子等, 始载于《神农本草经》^[2]。枸杞是传统药食同源药材, 其果仁富含枸杞多糖、类胡萝卜素、甜菜碱、维生素以及脂质等营养成分, 具备多样化的生物活性及药理功能, 例如抗氧化、降低血糖血脂、抗癌、治疗肝炎以及心血管疾病等^[3]。枸杞果实传统上多以干制为主, 但这一过程中会不可避免地造成其丰富的营养物质有所损失。近年来, 新鲜枸杞因其果肉饱满多汁、口感鲜美以及独特的营养成分而备受瞩目。然而, 新鲜枸杞在生长、贮存、销售等过程中易受到真菌感染^[4]。当温湿度条件适宜时, 真菌会迅速繁衍, 同时产生大量毒性分泌物, 严重影响枸杞的质量和安全性^[5]。故而, 防控枸杞真菌毒素的侵害, 成为推动枸杞产业健康发展的关键一环。

真菌毒素是一类由丝状真菌在适宜条件下产生的有毒次级代谢产物^[6]。常见的真菌污染种类分别是曲霉属、青霉属、镰刀属、链孢菌属、枝孢菌属等^[7-8]。在果实品质中引起质量安全问题最主要的是链格孢毒素(*Alternaria* mycotoxins), 它是链格孢属(*Alternaria* specise)产生的一类具有致癌性、致突变性、细胞毒性、胚胎毒性、基因毒性、急性毒性等的次级代谢产物^[8-9]。目前, 已从农副产品中检测出的具有毒副作用的链格孢毒素约 70 余种。其中以链格孢酚(alternariol, AOH)、腾毒素(tentoxin, TEN)、交链孢霉烯(altenuene, ALT)研究较多^[10]。由于链格孢霉毒素的毒理学研究存在较大的数据空白, 欧盟已经设定了相关毒理学检测标准, 具体为 AOH 的阈值为 2.5 ng/(kg·BW·d), TEN 的阈值为 1500 ng/(kg·BW·d)^[11]。而中国只在 SN/T 4259—2015《出口水果蔬菜中链格孢菌毒素的测定 液相色谱-质谱/质谱法》中出现, 针对药食同源类中药材相关限量标准鲜见报道。因此, 开展中药材链格孢毒素的检测工作是至关重要的。

在枸杞真菌毒素检测中, 多项研究表明, 枸杞可能受到多种真菌毒素的污染, 包括黄曲霉毒素(如 B1、B2、G1、G2)、赭曲霉毒素 A 以及杂色曲霉毒素等。这些毒素不仅影响枸杞的品质, 还可能对人体健康造成不利影响, 如肝脏损伤、免疫抑制和致癌等^[12]。在枸杞真菌毒素检测方面, 已有研究采用液相色谱-串联质谱法建立了针对黄曲霉毒素、赭曲霉毒素等真菌毒素的高效检测方法, 这种方法能够同时检测多种真菌毒素, 具有操作简便、灵敏度高、准确性好的优点。液相色谱-串联质谱法在检测真菌毒素方面具有显著优势, 是食品安全检测领域的重要工具^[13]。未来随着技术的不断发展和完善, 液相色谱-串联质谱法将在真菌毒素检测中发挥更加重要的作用。

本研究以枸杞干为研究对象, 建立了 QuEChERS 前处理方法结合超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)同时测定 3 个地区(新疆、甘肃、宁夏)枸杞中 TEN、ALT、AOH 3 种链格孢霉毒素含量, 并进行鉴定及系统分析, 了解污染枸杞的主要真菌类型及 3 种真菌毒素在新疆、甘肃、宁夏 3 地区的分布特征。为了更有效地预防枸杞及其制品发生霉变, 减少由此带来的经济损失^[14], 并全面提升枸杞的整体品质, 亟需构建稳固的理论体系作为支撑, 同时, 通过累计详尽的数据, 为未来制定科学合理真菌毒素限量标准奠定坚实基础。

1 材料与方法

1.1 材料及预处理

枸杞干: 采自新疆、甘肃、宁夏主产区基地, 共采集了 90 份新鲜枸杞(其中新疆 50 份、甘肃 16 份、宁夏 24 份), 自然晾干, 存于自封袋, -20 °C 冰箱保存, 储存时间不超过 7 d。

1.2 试剂

TEN、ALT、AOH(纯度 ≥ 99%, 奥地利 Romer Labs 公司); 甲醇、乙腈(色谱纯, 美国赛默飞世尔科技有限公

司); 甲酸、甲酸铵、冰乙酸(分析纯, 德国 Sigma 公司)。

1.3 仪器设备

XevoTQ-S micro 超高效液相色谱-串联质谱仪(美国 Waters 公司); Vortex-Genie2 漩涡混合器(美国 SI 仪器公司); XSE204 分析天平(感量 0.01 g, 深圳天朔计量公司); HGC-24 方形干式加热氮吹仪(北京恒奥德仪器仪表有限公司); Stratos 高速离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); KQ-500 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); Milli-Q 纯水仪(美国 Millipore 公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 标准溶液配制

精确量取适量的 TEN、ALT、AOH 标准品, 并使用乙腈作为溶剂, 分别制备出质量浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备液。对于 TEN、ALT、AOH 的标准品以及预先混合好的标准中间溶液(质量浓度为 1000 $\mu\text{g}/\text{L}$), 进行精确的量取, 并使用适量的空白基质提取液, 将这些标准品稀释成一系列不同质量浓度(20、50、100、200、500、1000 $\mu\text{g}/\text{L}$)的标准工作溶液。置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下, 避光保存。

1.4.2 样品前处理

将 5 g 样品和 20 mL 酸化乙腈混合于 50 mL 离心管中, 并添加 1 g NaCl 和 4 g 无水硫酸镁。进行 2 min 的涡旋搅拌后, 超声提取 30 min。随后, 以 10000 r/min 的转速进行离心分离 5 min。从中抽取 6 mL 的上清液, 转移到另一个含有 150 mg 乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶(primary secondary amine, PSA)和 150 mg C_{18} 吸附剂的离心管中。对该混合液进行 1 min 的涡旋混合, 并以 10000 r/min 的转速再次离心 5 min。接下来, 取出 1 mL 上清液, 通过 0.22 μm 滤膜过滤, 最后使用 UPLC-MS/MS 技术进行检测^[15]。

1.4.3 仪器条件

本研究所用液相色谱条件如表 1 所示。

流动相梯度洗脱顺序如表 2 所示。

质谱条件: 质谱分析在正离子模式下进行; 离子源: 电喷雾离子源; 检测方式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM); 脱溶剂温度: 350 $^{\circ}\text{C}$; 加热块温度: 500 $^{\circ}\text{C}$; 脱溶剂气流速: 800 mL/h; 干燥气流速和加热气

流速: 10 L/min。3 种不同的真菌毒素, 对它们各自的质谱参数进行说明, 见表 3。

表 1 色谱参数表

名称	参数
色谱柱	BEH C_{18} (100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm)
进样量/ μL	5
柱温/ $^{\circ}\text{C}$	30.0
流速 (mL/min)	0.25
流动相	A 为 0.1%甲酸乙腈溶液, B 为 0.1%甲酸水

表 2 流动相梯度洗脱顺序

时间/min	流速 (mL/min)	A/%	B/%
0.00	0.250	2	98
0.80	0.250	2	98
3.00	0.250	24	76
4.00	0.250	24	76
6.00	0.250	100	0
6.90	0.250	100	0
6.91	0.250	2	98
9.00	0.250	2	98

1.4.4 方法质量控制

添加回收浓度在 60%~130%之间, 精密度相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)小于 120% ($n>3$)。

1.5 数据处理

使用 Excel 2013 和 SPSS 22.0 处理数据, 进行统计分析。真菌毒素含量低于检出限时记为“未探测出”。计算均值及统计时, 未探测出数据比例 $>60\%$ 则用检出限值替代; $\leq 60\%$ 则用半检出限值替代。介于检出限与定量限的数据直接统计。使用 SPSS 22.0 的卡方检验分析新疆、甘肃、宁夏 3 地真菌毒素检出率差异; 采用非参数检验比较 3 地真菌毒素污染水平差异。

表 3 枸杞中 TEN、ALT 和 AOH 质谱参数

Table 3 Mass spectral parameters of TEN, ALT and AOH in *Lycium barbarum* L.

真菌毒素	母离子质荷比(m/z)	加合离子	产物离子质荷比(m/z)	Q1 预偏置电压/V	碰撞能量/eV
TEN	413.20	$[\text{M}+\text{H}]^+$	214.20*	35	25
			141.20	35	16
ALT	291.20	$[\text{M}+\text{H}]^+$	201.13*	30	25
			149.12	30	22
AOH	257.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	213.20*	35	30
			147.10	35	20

注: *表示定量离子对。

2 结果与分析

2.1 实验方法优化分析

2.1.1 质谱条件的优化

在优化质谱条件以精准检测质量浓度为 1000 $\mu\text{g/L}$ 的 TEN、ALT、AOH 3 种毒素时, 本研究聚焦于电喷雾电离正极模式下的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 离子生成, 因其显著且稳定, 故被选定为这 3 种毒素的母离子。此选择简化了实验流程, 避免了频繁的模式切换对仪器稳定性的潜在影响。针对 3 种链格孢毒素的质谱参数优化结果已详细列于表 3 中。

优化过程涵盖了以下几个关键步骤:

(1) 母离子与子离子的选择。在确认 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 为母离子后, 通过细致的二级质谱分析, 识别并选取了各毒素特征性的碎片离子作为子离子。这一步骤确保了检测信号的高特异性和可靠性。

(2) 锥孔电压调整。锥孔电压是影响离子束聚焦与传输效率的关键参数。通过微调锥孔电压, 优化了离子束在进入碰撞室前的形态与稳定性, 从而提高了离子传输效率和检测信号强度。

(3) 碰撞能量优化。针对每种毒素的母离子, 系统地调整了碰撞能量, 以获得最佳的碎片离子产率。这一过

程涉及多轮实验, 逐步调整碰撞能量直至观察到最丰富的子离子信号, 同时避免产生过多的无用碎片, 确保检测的准确性。

(4) 综合评估与验证。在完成上述参数的独立优化后, 进行了综合评估, 确保各参数间的协调性与最佳匹配。通过对比优化前后的质谱图, 验证了优化策略的有效性, 并确认了所选质谱参数能够实现对目标毒素的高效、准确检测。

2.1.2 色谱分离条件的优化

流动相的成分和比例对目标化合物在色谱分析中的行为具有决定性影响, 这直接影响到其离子化能力和最终的检测灵敏度。本研究聚焦于优化色谱分析中流动相成分及其比例, 以最大化目标化合物在正离子与负离子模式下的离子化效果、检测灵敏度及分离度。实验结果显示, 在负离子模式下, 乙腈搭配含 0.1% 甲酸的水相作为流动相, 显著增强了化合物的离子化, 进而提升了检测性能和分离质量。相比之下, 正离子模式下, 通过在水相中添加 0.1% 甲酸, 并结合适宜的有机相(如甲酸水条件下的有机溶剂), 各目标化合物展现出了更优的分离效果和检测灵敏度, 其色谱峰形也更为理想。枸杞中 3 种真菌毒素的 MRM 色谱图如图 1 展示。

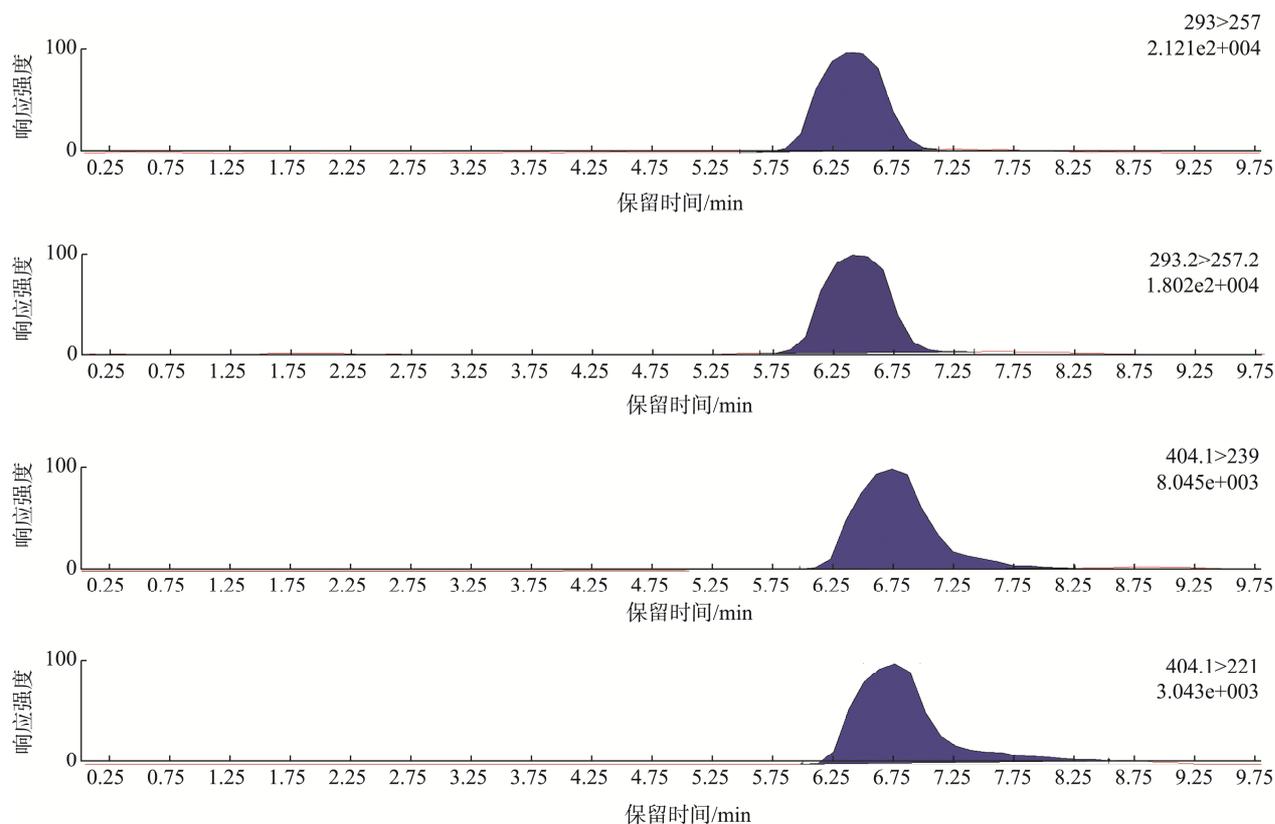


图1 枸杞中真菌毒素MRM色谱图

Fig.1 MRM chromatograms of the mycotoxin in *Lycium barbarum* L.

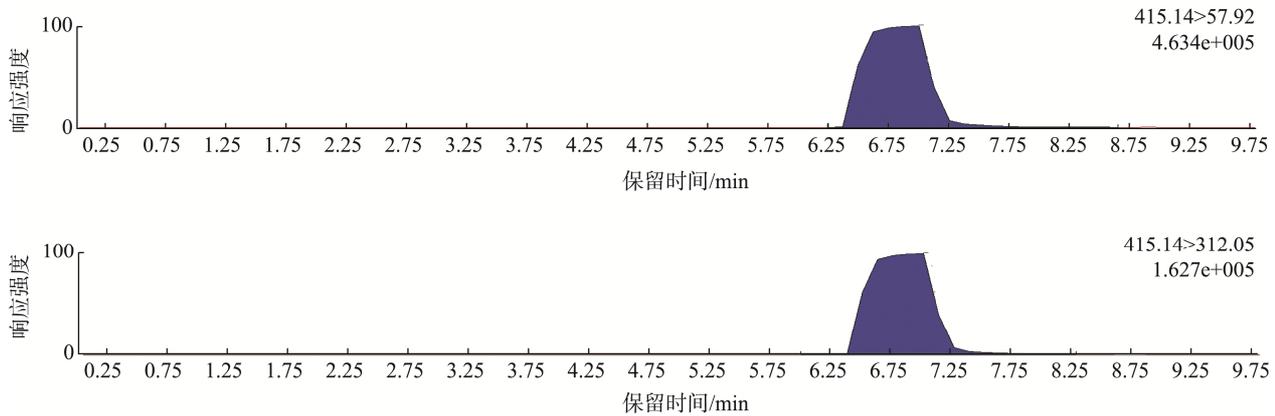


图1(续) 枸杞中真菌毒素MRM色谱图

Fig.1 MRM chromatograms of the mycotoxin in *Lycium barbarum* L.

然而,本研究在“色谱分类条件优化”方面存在局限性,主要体现在仅对比了流动相中是否添加甲酸的基本条件,而未深入探索甲酸的不同添加比例、不同有机溶剂类型及其配比等系统性优化方案。因此,尽管已取得一定成果但流动相条件的优化过程仍显粗略,未能充分挖掘可能的优化潜力。综上所述,未来研究应进一步细化色谱条件的优化过程,包括甲酸添加量的精确调控、不同有机溶剂及其组合的比较,以及这些因素对目标化合物色谱行为的具体影响,以期实现更高分离效率与检测精度。

2.1.3 标准曲线、检出限与定量限

根据表 4 可知,3 种真菌毒素在其各自的浓度检测范围内,均展现出了卓越的线性相关性,具体表现为所有毒素的相关系数均超越了 0.999 的阈值,这明确指示了它们之间存在极强的线性关系。此结果不仅强化了方法的有效性,也确保了数据结果的准确性与可靠性。

表 4 枸杞中 3 种真菌毒素的线性范围、线性方程、相关系数、检出限和定量限

Table 4 Linear ranges, linear equations, correlation coefficients, limits of detection and limits of quantification of 3 kinds of mycotoxins in *Lycium barbarum* L.

真菌毒素	线性范围 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	线性方程	相关 系数	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
TEN	2.0~100.0	$Y=28107X+11166$	0.9991	0.10	0.34
ALT	1.0~75.0	$Y=17823X+458975$	0.9993	0.16	0.47
AOH	1.0~50.0	$Y=155478X-59413$	0.9994	0.18	0.59

在检出限值方面,本方法设定的检出限介于 0.10 至 0.18 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间,而定量限则设定在 0.34 至 0.59 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的范围内。检出限的计算通常基于信噪比(S/N)原则,即信号强度至少是背景噪声的 3 倍时所对应的待测物浓度。在色谱分析中,这通常通过多次测量空白样品以确立基线噪声水平,随后在样品中添加微量的目标分析物,

直到检测到的信号强度达到并超过这一阈值,从而确定检出限。定量限则进一步考虑了测量的准确性与重复性,通常设定为信号强度为噪声 10 倍时对应的浓度,确保在定量分析中能获得可靠的结果。

2.1.4 准确度和精密度

从表 5 的数据可以看出,加标样品的回收率范围在 72.9%~98.9%之间,而精密度(用 RSDs 来衡量)则在 1.2%~7.3%的范围内。这一结果表明本研究方法在准确性和精密性上均表现优秀,可以满足日常的检测需要。

表 5 枸杞中 3 种真菌毒素在枸杞的回收率
Table 5 Recoveries of 3 kinds of mycotoxins in *Lycium barbarum* L.

化合物	添加水平 ($\mu\text{g}/\text{L}$)	回收率/%	RSDs/%
TEN	0.2	79.6	4.5
	0.5	81.8	4.3
	1.0	98.9	1.2
ALT	0.2	76.8	6.1
	0.5	79.3	6.6
	1.0	96.0	5.1
AOH	0.2	72.9	7.3
	0.5	78.5	6.8
	1.0	81.8	4.9

2.2 3 个地区枸杞中真菌毒素污染分析

2.2.1 真菌毒素总体污染情况

对采集的 90 份样品(产地分别为新疆、甘肃、宁夏主产区生产基地)进行分析,结果显示,所有样品均存在不同程度的毒素污染,共检出 3 种毒素,总检出率为 100%,TEN 和 ALT 检出率较高,说明枸杞干生产、加工、储运过程中存在污染。如表 6 所示,3 种毒素检出率情况为 TEN (100.0%)、ALT (100.0%)、AOH (55.6%)。3 个地区毒素的平均总量达到 258.69 $\mu\text{g}/\text{kg}$,含量范围在 0.12~517.14 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间,极大值为 548.68 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (甘肃酒泉)。3 种毒素含量均值存在如下特点:ALT>AOH>TEN。

表 6 枸杞中 3 种真菌毒素的总体污染情况
Table 6 Overall contamination of 3 kinds of mycotoxins in *Lycium barbarum* L.

种类	平均值/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	中位数/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	标准偏差/%	RSDs/%	检测范围/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	检出率/%
TEN	11.21	10.96	7.33	65.40	0.12~37.45	100.0
ALT	125.06	106.52	93.87	75.06	9.24~517.04	100.0
AOH	122.43	74.51	267.13	218.19	39.22~235.29	55.6
总和	258.69	191.99	368.33	358.65	10.60~548.68	100.0

2.2.2 不同地区枸杞中真菌毒素的污染情况

不同地区真菌毒素污染分布情况如图 2 所示, 3 个地区 3 种毒素污染分布存在如下特点: 甘肃>新疆>宁夏, ALT>AOH>TEN。新疆地区(精河县)共采集样品 50 份, 总毒素含量情况为: TEN (100%)、ALT (100%)、AOH (42.0%)。宁夏地区共采集样品 24 份, 总毒素含量情况为: TEN (100%)、ALT (100%)、AOH (75.0%)。甘肃地区共采集样品 16 份, 总毒素含量情况为: TEN (100%)、ALT (100%)、AOH (68.8%)。

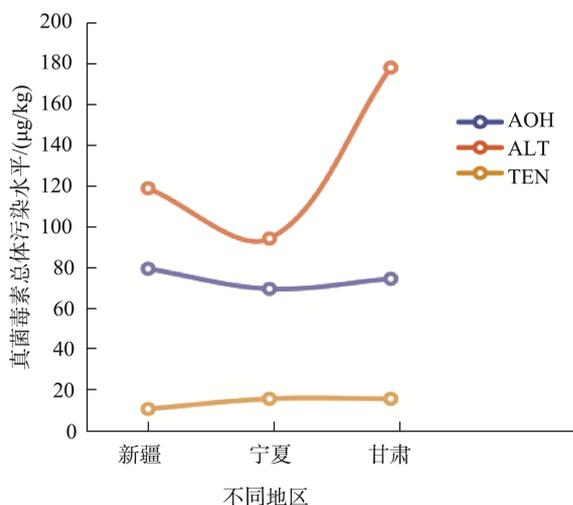


图2 新疆、宁夏、甘肃枸杞中真菌毒素总体污染水平

Fig.2 Overall pollution level of mycotoxins in *Lycium barbarum* L. in Xinjiang, Ningxia and Gansu

2.2.3 不同品种枸杞中真菌毒素的污染情况

在 3 个地区种植的枸杞品种包括宁杞 1 号、宁杞 5 号、宁杞 7 号、宁杞 9 号、宁杞 10 号、蒙杞、玉新以及新疆本地 1801 号。其中, 宁杞 1 号、宁杞 5 号、宁杞 7 号、宁杞 9 号和宁杞 10 号是这 3 个地区主要的种植品种。不同品种枸杞毒素污染分布情况如图 3 所示, 以上主栽品种枸杞毒素污染分布存在如下特点: 宁杞 7 号>宁杞 1 号>宁杞 5 号>宁杞 9 号>宁杞 10 号。

宁杞 7 号检出率具体数据如下: TEN (48.7%)、ALT (48.7%)、AOH (31.1%), 此品种枸杞毒素总量均值为 185.72 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 含量范围为 35.64~548.68 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。宁杞 7 号

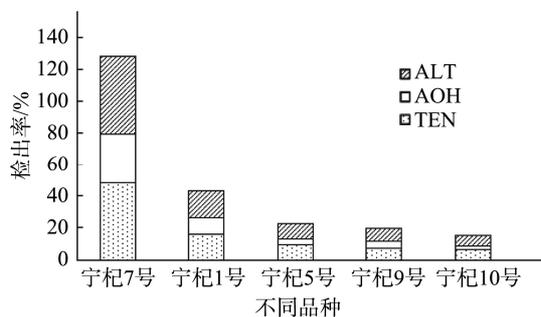


图3 不同品种真菌毒素总体污染情况

Fig.3 Total contamination of mycotoxins in different species

不同毒素均值分布特点: ALT>AOH>TEN。

宁杞 1 号检出率具体数据如下: TEN (16.7%)、ALT (16.7%)、AOH (10%), 此品种枸杞毒素总量均值为 191.88 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 含量范围为 10.60~471.84 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。宁杞 1 号不同毒素均值分布特点: ALT>AOH>TEN。

宁杞 5 号检出率具体数据如下: TEN (10%)、ALT (10%)、AOH (3.3%), 此品种枸杞毒素总量均值为 197.94 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 含量范围为 64.60~487.08 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。宁杞 5 号不同毒素均值分布特点: ALT>AOH>TEN。

宁杞 10 号检出率具体数据如下: TEN (6.7%)、ALT (6.7%)、AOH (2.2%), 此品种枸杞毒素总量均值为 93.60 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 含量范围为 62.08~141.16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。宁杞 10 号不同毒素均值分布特点: ALT>AOH>TEN。

从品种差异的角度分析, 真菌毒素在不同品种枸杞上的适应性不同, 在宁杞 7 号上的适应性最好, 宁杞 1 号、宁杞 5 号、宁杞 9 号次之, 宁杞 10 号适应性最低。这些差异可能与枸杞的遗传特性、生长环境以及后天处理等因素有关。

所有样品均检测到了真菌毒素污染, 总检出率高达 100%。这表明在枸杞的生产、加工、储运等环节中, 真菌毒素的污染是一个普遍存在的问题, 需要引起高度重视。TEN 和 ALT 的检出率均为 100%, 表明这两种毒素在枸杞中的污染尤为严重。而 AOH 检出率为 55.6%, 虽然相对较低, 但仍不容忽视。这 3 种毒素均属于常见的真菌毒素, 对人体健康有一定危害。因此, 枸杞中真菌毒素的广泛污染不仅影响了产品的质量 and 安全性, 还可能对消费者的健康造成威胁^[16]。为此, 要加强生产、加工、储运等环节

的质量控制, 确保枸杞在整个过程中不受真菌污染。采用科学的贮藏和干燥方法, 减少真菌生长和毒素产生的条件^[17]。定期对枸杞产品进行真菌毒素检测, 及时发现并处理污染问题。

本研究揭示了枸杞干生产储运中真菌毒素污染的形势, 需要各方共同努力, 采取有效措施控制真菌毒素污染, 保障枸杞产品的质量和安全性。

2.2.4 不同真菌毒素检出成分组成分析

图 4 所示为真菌毒素总量组成分布概率, 总含量排列顺序如下: ALT 总含量(48.3%)>AOH 总含量(47.3%)>TEN 总含量(4.3%)。

对于所选取的 90 份样品, 其中检测出受到单一真菌毒素污染的概率为 42.7%, 检测到同时受到两种真菌毒素污染的概率是 33.5%, 而被检测出同时受到 3 种真菌毒素污染的概率则达到 23.8%。

如图 4 所示, 90 份受到污染的枸杞样品中, 新疆区域中单一真菌毒素的污染率为 62.1%, 双重污染(两种真菌毒素)的概率为 48.3%, 而三重污染(3 种真菌毒素)的比例达到 22.2%。甘肃区域中, 单独被一种真菌毒素污染的样品占比 46.2%, 两种毒素共同污染的概率为 29.6%, 三重污染的比例为 17.8%。宁夏区域的情况则是, 一种真菌毒素污染的样品占比 53.3%, 两种毒素污染的占 34.2%, 而 3 种毒素污染的仅占 11.2%。

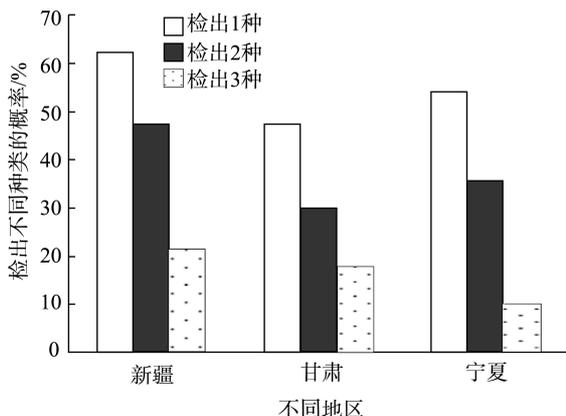


图4 3个地区受污染枸杞样品检出不同种类真菌毒素的概率

Fig.4 Probabilities of detecting different types of fungal toxins in contaminated *Lycium barbarum* L. samples from 3 regions

3 讨论

目前国内针对中药材中 ALT、TEN、AOH 的调查大多仍采用 GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》。标准检测方法主要包括酶联免疫法和免疫层析法。在酶联免疫法中, 真菌毒素类的酶联免疫检测试剂盒具有多种类型和规格, 同时样品前处理的方式也呈现出多样化^[18]。而免疫层析法则通过免疫胶体金或免疫酶

染色的方式, 使得特定区域显示特定的颜色, 从而实现精准的免疫诊断^[19-20]。不过, 每种方法都有其局限性, 即它们各自只能针对某一种特定的真菌毒素进行检测。

本研究中利用 QuEChERS(快速样品前处理技术)对样品进行前处理, 简化步骤, 采用 UPLC-MS/MS 技术同时检测枸杞中真菌毒素, 此法适用于大多数真菌毒素, 可实现对多种真菌毒素的定量检测^[21], 分离效果出色, 鉴定效率高^[22]; 通过对前处理方法的优化后, 确定采用乙腈-水-甲酸(80:19:1, V:V:V)作为提取液, 且实验证明 3 种与枸杞相关真菌毒素的线性相关系数均大于 0.999, 线性关系良好, ALT、TEN 和 AOH 的定量限分别为 0.47、0.34、0.59 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 灵敏度更高, 可满足枸杞中真菌毒素定量检测的要求, 因此实验结果具有可靠性和参考意义。

3 个地区土壤中的微生物组成^[23]、土壤 pH、有机质含量等因素对植物生长和养分吸收有重要影响, 从而影响到植物对霉菌毒素的暴露^[24], 不同地区的农业生产管理措施、种植技术、用药习惯等也影响到枸杞植株的健康状况和抗性, 进而影响到 AOH 的含量。例如, 农药使用的类型和频率、灌溉管理等因素导致不同地区的农产品中农药残留和真菌毒素含量的差异^[25]。因此, 从地域性差异角度来看, 新疆精河县采样的枸杞样本中 AOH 含量高于宁夏和甘肃, 主要由于气候环境、土壤环境、农业生产管理、收获加工工艺等多种因素综合作用的结果^[26]。本研究结果表明新疆、甘肃、宁夏 3 个地区收获枸杞的整体污染较小, 枸杞质量较好, 这可能跟新疆、甘肃、宁夏 3 地枸杞生长期内全年降水量少, 在枸杞的花期和收获期的天气晴好有关。

4 结论

本研究建立了枸杞中 3 种真菌毒素的 QuEChERS-UPLC-MS/MS 检测方法, 与现行国家标准方法相比具有操作简单、覆盖范围广等优点^[27]。经过方法学验证, 该方法被证实灵敏度高、准确性强, 能够完全符合样品的检测需求, 可为枸杞中真菌毒素污染的检测提供了一种高效且可靠的检测手段^[28]。使用该方法对我国新疆、甘肃、宁夏 3 地区 90 种枸杞样品中 ALT、OTA、TEN 含量进行检测, 结果显示, 3 地区的枸杞样品中 ALT、TEN、AOH 污染较为普遍, 其中 TEN 和 ALT 检出率均为 100%。ALT 和 TEN 是今后枸杞毒素研究的重点关注对象。从地域性差异的角度讨论, 导致新疆精河县采样的枸杞样本中发现的 AOH 高于宁夏和甘肃, 其主要因素为新疆精河县、宁夏、甘肃气候环境存在显著差异。宁夏和甘肃这两个地区位于内陆干旱带, 气候条件与新疆精河县并不相同。由于气候条件对霉菌的生长和毒素生成具有显著影响^[29-33], 因此, 不同地区出产的枸杞在 AOH(可能指某种特定的霉菌毒素或代谢产物)含量上表现出差异。

3 个地区 3 种毒素污染分布存在如下特点: 甘肃>新疆>宁夏, ALT>AOH>TEN。ALT、AOH 的检出率较高, 混合污染情况普遍, 并且呈现出一定的地区差异。对 3 个地区主栽品种宁杞 1 号、宁杞 5 号、宁杞 7 号、宁杞 9 号和宁杞 10 号进行检测, 结果显示, 真菌毒素在宁杞 7 号上的适应性最强, 在宁杞 10 号上的适应性最弱, 可结合实际情况, 优先选种宁杞 10 号。后续工作应当拓展监测的地域范围并增加毒素的类别, 以便更全面、真实地反映枸杞中真菌毒素的实际污染状况。

参考文献

- [1] 罗大伦. 《神农本草经》里的中药智慧——枸杞[J]. 食品与健康, 2012, (11): 36–37.
LUO DL. The wisdom of Chinese medicine in the *Shennong materia medica classic*—goji berries [J]. Food Health, 2012, (11): 36–37.
- [2] 董晓彤, 董忠义, 黄本敏. 枸杞的药用功效[J]. 河北林业, 1997, (4): 29.
DONG XT, DONG ZY, HUANG BM. The medicinal effects of goji berries [J]. Hebei Forest, 1997, (4): 29.
- [3] 王诗雪, 王庆仙, 程肖蕊. 枸杞化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2023, 37(S1): 75.
WANG SX, WANG QX, CHENG XR. Research progress on chemical components and pharmacological effects of goji berries [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2023, 37(S1): 75.
- [4] 陆诗秦, 温荣斌. 加强风险管控确保中药生产企业质量安全[J]. 中国市场监管研究, 2022, (1): 56–58.
LU SQ, WEN RB. Strengthening risk control to ensure the quality and safety of traditional Chinese medicine production enterprises [J]. Res Market Regul Chin, 2022, (1): 56–58.
- [5] 窦亚洁, 刘慧, 李晓萌, 等. 中药中外源性有害物的残留现状及风险评估的研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(2): 396–407.
DOU YJ, LIU H, LI XM, et al. Research progress on residual status and risk assessment of exogenous harmful substances in traditional Chinese medicine [J]. Chin Herb Med, 2023, 54(2): 396–407.
- [6] 张思思, 陆继伟, 王少敏, 等. 国内外检测真菌毒素的标准及前处理研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(8): 1206–1209.
ZHANG SS, LU JW, WANG SM, et al. Research progress on standards and pre-treatment for detecting fungal toxins at home and abroad [J]. Chin J Health Lab Technol, 2017, 27(8): 1206–1209.
- [7] NJI Q, BABALOLA OO, EKWOMADU T, et al. Six main contributing factors to high levels of mycotoxin contamination in African foods [J]. Toxins, 2022, 14(5): 318.
- [8] 吴润松, 叶聪, 胡绮萍, 等. 中药材真菌毒素污染检测研究进展[J]. 广东化工, 2024, 51(4): 76–79.
WU RS, YE C, HU QP, et al. Research progress on detection of fungal toxin contamination in traditional Chinese medicine [J]. Guangdong Chem Ind, 2024, 51(4): 76–79.
- [9] CHENA C, HUANGB Y. Research progress of detection methods in tenuazonic acid [J]. Adv Food Sci Human Nutr, 2023, 5(1): 60–68.
- [10] 关文碧, 马嘉丽. 食品中链格孢毒素残留分析的样品前处理技术研究进展[J]. 粮油食品科技, 2024, 32(2): 114–120.
GUAN WB, MA JL. Research progress on sample pretreatment techniques for residual analysis of streptomycin in food [J]. Sci Technol Cere Oils Foods, 2024, 32(2): 114–120.
- [11] 李风华, 李作华, 杨丽, 等. 药食同源中药材中 16 种真菌毒素的测定与分析[J]. 食品工业科技, 2022, 43(9): 268–275.
LI FH, LI ZH, YANG L, et al. Determination and analysis of 16 fungal toxins in medicinal and edible Chinese medicinal materials [J]. Sci Technol Food Ind, 2022, 43(9): 268–275.
- [12] 鲁玲玲, 范盈盈, 张锐利. 红枣及其制品链格孢毒素的 QuEChERS-UPLC-MS/MS 检测方法建立及其污染分析[J]. 食品工业科技, 2022, 43(20): 337–345.
LU LL, FAN YY, ZHANG RL. Establishment of QuEChERS-UPLC-MS/MS detection method of red jujube and its products and its contamination analysis [J]. Sci Technol Food Ind, 2022, 43(20): 337–345.
- [13] 李祖梁, 姜楠, 王刘庆, 等. 短波紫外线处理对 3 种链格孢毒素的降解作用研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(7): 2033–2037.
LI ZL, JIANG N, WANG LQ, et al. Study on the degradation of three linked alternaria toxins by shortwave UV treatment [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(7): 2033–2037.
- [14] 姜冬梅, 韦迪哲, 王瑶, 等. 番茄交链菌斑及其外延组织中交链毒素的分布[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(22): 5858–5862.
JIANG DM, WEI DZ, WANG Y, et al. Distribution of crosslinked toxins in tomato streptococcal plaques and their epitaxial tissues [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(22): 5858–5862.
- [15] 刘瑜, 王海, 王艳丹, 等. 枸杞鲜果霉菌菌种分离鉴定及其生物学特性[J]. 农业工程学报, 2017, 33(S1): 374–380.
LIU Y, WANG H, WANG YD, et al. Isolation and identification of fungal strains causing mold growth in fresh goji berries and their biological characteristics [J]. Trans Chin Soc Agric Eng, 2017, 33(S1): 374–380.
- [16] 雷方, 李承龙, 张新, 等. 免疫磁珠亲和纯化-超高效液相色谱串联质谱法快速检测小麦中多种真菌毒素[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(3): 1252–1260.
LEI F, LI CL, ZHANG X, et al. Immunomagnetic bead affinity purification-ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for rapid detection of multiple mycotoxins in wheat [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(3): 1252–1260.
- [17] 齐春艳, 许秀丽, 国伟, 等. QuEChERS 结合 UPLC-Q/Orbitrap HRMS 法测定小麦粉中 9 种真菌毒素[J]. 食品科学, 2022, 43(4): 315–320.
QI CY, XU XL, GUO W, et al. QuEChERS Measurement of nine mycotoxins in wheat flour combined with UPLC-Q/Orbitrap HRMS [J]. Food Sci, 2022, 43(4): 315–320.
- [18] 章铜, 沈央红, 张雯, 等. 基于普鲁士蓝纳米粒子的免疫层析法检测小麦中的呕吐毒素[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(4): 286–293.
ZHANG T, SHEN YH, ZHANG W, et al. Immunochromatographic detection of vomiting toxins in wheat based on Prussian blue nanoparticles [J]. Food Ferment Ind, 2024, 50(4): 286–293.
- [19] 邓昌良, 李泳宁, 叶雅沁. 基于核酸适配体检测赭曲霉毒素 A 方法与酶联免疫法的对比研究[J]. 安徽农业科学, 2023, 51(14): 189–191.
DENG CL, LI YN, YE YQ. Comparative study of nucleic acid adaptation based detection of ochratoxin A and enzyme-linked immunosorbent assay [J]. J Anhui Agric Sci, 2023, 51(14): 189–191.
- [20] WANG Y, ZHANG C, WANG J, et al. Recent progress in rapid determination of mycotoxins based on emerging biorecognition molecules: A review [J]. Toxins, 2022, 14(2): 73.

- [21] 许嘉, 王硕, 曹瀚文. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定挂面、方便面中 15 种真菌毒素[J]. 农产品质量与安全, 2024(1): 48–52, 92.
XU J, WANG S, CAO HW. Rapid determination of 15 fungal toxins in dried noodles and instant noodles using ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Qual Saf Agro-products, 2024(1): 48–52, 92.
- [22] 孙晓冬, 郝杰, 毛婷, 等. 固相萃取柱净化-超高效液相色谱-串联质谱法快速测定液态乳中 14 种真菌毒素[J]. 食品科学, 2018, 39(18): 292–301.
SUN XD, HAO J, MAO T, *et al.* Rapid determination of 14 fungal toxins in liquid milk using solid-phase extraction column purification, ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2018, 39(18): 292–301.
- [23] 闫亚美, 米佳, 秦垦, 等. 宁夏枸杞品质响应因素研究进展[J]. 宁夏农林科技, 2023, 64(11): 28–31.
YAN YM, MI J, QIN K, *et al.* Research progress on quality response factors of Ningxia goji berries [J]. Ningxia Agric Fore Technol, 2023, 64(11): 28–31.
- [24] FOUCHÉ T, CLAASSENS S, MABOETA M. Aflatoxins in the soil ecosystem: An overview of its occurrence, fate, effects and future perspectives [J]. Mycotoxin Res, 2020, 36(3): 303–309.
- [25] SILVA V, MOL H, ZOMER P, *et al.* Pesticide residues in European agricultural soils—A hidden reality unfolded [J]. Sci Total Environ, 2019, 653: 1532–1545.
- [26] 李硕, 李莉. 超高效液相色谱-串联质谱法测定藻类保健食品中节球藻毒素[J]. 食品工业科技, 2022, 43(6): 287–292.
LI S, LI L. Determination of hohalotoxin in algal health foods by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Sci Technol Food Ind, 2022, 43(6): 287–292.
- [27] 李俊玲, 王书舟, 吴俊威, 等. 河南省粮食及其制品中真菌毒素污染情况调查[J]. 中国食品卫生杂志, 2020, 32(4): 418–421.
LI JL, WANG SZ, WU JW, *et al.* Investigation on mycotoxin contamination in grain and its products in Henan Province [J]. Chin J Food Hyg, 2020, 32(4): 418–421.
- [28] 杨玉莲, 周鸿媛, 刘虫虫, 等. 典型链格孢霉毒素的污染现状与毒理学性质研究进展[J]. 中国食品学报, 2023, 23(3): 376–389.
YANG YL, ZHOU HY, LIU CC, *et al.* Progress on the contamination status and toxicological properties of typical alternaria [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2023, 23(3): 376–389.
- [29] 刘书田. 中国农田土壤有机碳时空分布规律及影响因素研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2016.
LIU ST. Study on the spatiotemporal distribution pattern and influencing factors of organic carbon in farmland soil in China [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2016.
- [30] 何梦园, 沈聪, 张俊华, 等. 连作对枸杞根区土壤理化性质、农药残留和微生物群落的影响[J]. 环境科学, 2024. DOI: 10.13227/j.hjcx.202311078
HE MY, SHEN C, ZHANG JH, *et al.* Effects of continuous cropping on soil physicochemical properties, pesticide residues, and microbial communities in the root zone of goji berries [J]. Acta Sci Circum, 2024. DOI: 10.13227/j.hjcx.202311078
- [31] 杨野, 于丹, 都晓伟. 农作物和食品中链格孢毒素污染及其脱毒方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(3): 215–223.
YANG Y, YU D, DU XW. Research progress on contamination and detoxification methods of streptomycin in crops and food [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(3): 215–223.
- [32] 王少敏, 季申, 杜春晓, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定三七中 26 种真菌毒素[J]. 世界中医药, 2019, 4(14): 798–804.
WANG SM, JI S, DU CX, *et al.* QuEChERS-Ultra-efficient liquid chromatography-tandem mass spectrometry of 26 mycotoxins in *Panax notoginseng* [J]. World Tradit Chin Med, 2019, 4(14): 798–804.
- [33] 刘文静, 黄彪, 傅建伟, 等. 超效液相谱-串联质谱法测定陈年老茶中 16 种真菌毒素残留[J]. 食品科学, 2021, 42(2): 299–305.
LIU WJ, HUANG B, FU JW, *et al.* 16 mycotoxin residues in aged tea were determined by superacting liquid phase spectrum-tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2021, 42(2): 299–305.

(责任编辑: 于梦娇 蔡世佳)

作者简介



西尔力·阿不都热哈曼, 农艺师, 主要研究方向为农产品质量安全。
E-mail: 271312002@qq.com



刘河疆, 硕士, 正高级实验师, 主要研究方向为农产品质量安全与检测技术。
E-mail: 12631499@qq.com