

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240726001

引用格式: 张来颖, 张志荣, 王菊, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定米粉中 8 种真菌毒素[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(3): 58–64.

ZHANG LY, ZHANG ZR, WANG J, *et al.* Determination of 8 kinds of fungal toxins in rice noodles by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(3): 58–64. (in Chinese with English abstract).

高效液相色谱-串联质谱法测定米粉中 8 种真菌毒素

张来颖¹, 张志荣¹, 王菊¹, 杨茗茜², 李韵冰¹, 王玉江^{1*}

(1. 北京市丰台区疾病预防控制中心, 北京 100071; 2. 华北理工大学公共卫生学院, 唐山 063210)

摘要: 目的 建立一种液液分散-净化柱处理, 高效液相色谱-串联质谱法同时测定米粉中 8 种真菌毒素的分析方法。**方法** 米粉样品中加入同位素内标, 用乙腈-水(80:20, V:V)振荡提取 25 min, 液液分散萃取, 多功能净化柱净化, 采用 HSS T3 液相色谱柱分离待测物, 以乙腈-水(0.1%甲酸)为流动相, 进行梯度洗脱。采用电喷雾离子化, 正、负离子扫描, 多重反应监测模式, 保留时间和特征离子对定性, 内标法定量。**结果** 该方法检测 8 种真菌毒素在对应的范围内线性关系良好, 线性相关系数(r)为 0.9954~0.9998, 方法检出限为 0.10~10.00 $\mu\text{g/kg}$, 定量限为 0.30~30.00 $\mu\text{g/kg}$ 。分别测定低、中、高 3 种添加水平的加标样品, 回收率为 75.8%~112.0%, 相对标准偏差为 2.9%~5.9%。对市售的 21 种米粉样品中的 8 种真菌毒素进行检测分析, 除 HT-2 外 7 种毒素均有检出。**结论** 本方法样品前处理步骤简单, 检测结果精密准确、灵敏度较好, 适用于米粉中 8 种真菌毒素的检测。

关键词: 高效液相色谱-串联质谱法; 米粉; 真菌毒素

Determination of 8 kinds of fungal toxins in rice noodles by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHANG Lai-Ying¹, ZHANG Zhi-Rong¹, WANG Ju¹, YANG Ming-Xi²,
LI Yun-Bing¹, WANG Yu-Jiang^{1*}

(1. Fengtai Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100071, China;
2. College of Public Health, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 8 kinds of fungal toxins in rice noodles with liquid-liquid dispersion extraction and multifunctional purification by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** Rice noodle samples were added with isotopic internal standards, and extracted by shaking with acetonitrile water (80:20, V:V) for 25 min. After liquid-liquid dispersion

收稿日期: 2024-07-26

基金项目: 科技新星计划项目 2017(201821402)

第一作者: 张来颖(1984—), 女, 硕士, 副主任技师, 主要研究方向为食品安全监测、理化检测。E-mail: laiying998@163.com

*通信作者: 王玉江(1970—), 男, 硕士, 副主任技师, 主要研究方向为卫生理化检测。E-mail: yujiangwang@126.com

extraction, a multifunctional purification column was used for purification. The 8 kinds of target compounds were separated on HSS T3 column, with acetonitrile-water (0.1% formic acid) used as the mobile phase for gradient elution, and detected under positive and negative ionization and multiple reaction monitoring mode, determined with retention time and characteristic ion pairs, quantified with internal standard method. **Results** This method had a good linear relationship in detecting 8 kinds of fungal toxins within the corresponding range. The correlation coefficients (r) of the target compounds were 0.9954–0.9998. The limits of detection were 0.10–10.00 $\mu\text{g/kg}$, and the limits of quantification were 0.30–30.00 $\mu\text{g/kg}$. The average recoveries of rice noodle samples at low, middle and high standard additions were 75.8%–112.0%, and the relative standard deviations were 2.9%–5.9%. The detection and analysis of 8 kinds of fungal toxins in 21 kinds of rice noodle samples in the market showed that all the toxins were detected except HT-2. **Conclusion** The pretreatment of sample is simple, the method is accurate and sensitive, which can be used to determine the content of 8 kinds of fungal toxins in rice noodles.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; rice noodles; fungal toxins

0 引言

真菌毒素主要是指真菌在其所污染的食品中产生的有毒代谢产物,种类繁多,对人畜均有致畸、致癌、致突变等危害。在粮食种植、存储、运输和加工等各个环节都可能产生^[1-3],是粮食尤其是谷物制品的主要污染物,普遍存在于玉米、大米、小麦以及相关的加工产品中^[4]。黄曲霉毒素 B_1 (aflatoxin B_1 , AFTB $_1$)是已知的化学物质中致癌性最强的一种,对人和动物具有强烈的毒性^[5],且分布最广,其致癌、致突变、致畸性均居首位,属于I类致癌物^[6]。玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN)是主要存在于玉米作物中的污染物,致畸作用强,会引起雌性综合征,对人和动物的健康有极大危害,对粮食经济造成严重损失^[7]。脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON, 又称呕吐毒素)与 HT-2 毒素、T-2 毒素属于单端孢霉烯族毒素,其中T-2毒素毒性最强,HT-2毒素则是其在动物体内最主要的代谢物^[8-9]。有研究报道,全球72个国家的18757个农产品样品受到真菌毒素污染,我国除T-2毒素外,黄曲霉毒素(B_1 、 B_2 、 G_1 、 G_2)、DON、伏马毒素(fumonisin, FB) (FB $_1$ 、FB $_2$ 、FB $_3$)、ZEN、赭曲霉毒素A(ochratoxin, OTA)等检出率均超过25%,混合污染是主要形式^[10]。大米及米粉存在一种或多种真菌毒素污染的情况^[11],由于后期加工及储存条件的原因,真菌毒素的污染较为严重^[12],因此针对米粉及其制品的基质特点进行样品前处理,建立一种方便快捷准确的检测方法,对监测该类样品的真菌毒素污染状况尤为重要。

米粉及其制品在我国食品消费中占有较高比例,尤其是在我国东部和南部稻米主产区,当地居民多作为主食摄入,该类食品的真菌毒素污染状况对人群健康的影响值得关注^[13]。目前我国国家标准仅针对部分食品的部分真菌毒素做了限量规定^[14-15],覆盖面小,如规定了玉米粉中AFTB $_1$ 最高限量值为20 $\mu\text{g/kg}$, DON最高限量值

为1000 $\mu\text{g/kg}$, ZEN最高限量值为60 $\mu\text{g/kg}$,以及大米中AFTB $_1$ 最高限量值为10 $\mu\text{g/kg}$,对其他毒素未做限量规定,因此建立一种快速、准确的食品中真菌毒素的检测方法,在推进国家食品安全限量标准方面有重要的意义。目前针对真菌毒素的检测方法主要有荧光生物传感器法^[16]、液相色谱法^[17-18]、薄层色谱法^[19-20]、气相色谱法^[21]和酶联免疫吸附测定法^[22]等。薄层色谱法程序复杂、可重复性和再现性差;酶联免疫吸附测定法虽有较高的选择性,但无法准确定量,同时易受基质干扰产生假阳性^[23]。超高效液相色谱-串联质谱法具有灵敏度和选择性高的特点^[24-26],适用于多组分同时测定分析,成为同时检测大批量多种真菌毒素方法的趋势^[27-28]。本研究针对米粉样品的基质特点研究8种真菌毒素的提取条件,采用液液分散、多功能净化小柱等多种手段^[29-30],比较不同提取净化条件对目标化合物的提取效果,通过对提取方法的选择、色谱分离条件和质谱条件进行优化,建立适用于米粉中8种真菌毒素的分析检测方法,以期对米粉中真菌毒素的监测提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

21件米粉样品分别来自本地超市和农贸市场,其中12件为定型包装,9件为散装。

乙腈、甲醇(色谱纯,美国 Supelco 公司);甲酸(色谱纯,美国 Thermo Fisher Scientific 公司);标准品: AFTB $_1$ (CAS: 1162-65-8, 纯度 99.9%)、AFTB $_2$ (CAS: 7220-81-7, 纯度 99.9%)、AFTG $_1$ (CAS: 1165-39-5, 纯度 96.1%)、AFTG $_2$ (CAS: 7241-98-7, 纯度 99.9%)、ZEN (CAS: 17924-92-4, 纯度 99.9%)、DON (CAS: 51481-10-8, 纯度 98.3%)、HT-2 毒素 (CAS: 26934-87-2, 纯度 99.9%)、T-2 毒素 (CAS: 21259-20-1, 纯度 99.0%)、AFTB $_1$ 同位素内标($^{13}\text{C}_{17}$ -AFTB $_1$,

CAS: 1217449-45-0, 纯度 99.0%)、AFTB₂ 同位素内标 (¹³C₁₇-AFTB₂, CAS: 1217470-98-8, 纯度 99.0%)、AFTG₁ 同位素内标 (¹³C₁₇-AFTG₁, CAS: 1217444-07-9, 纯度 99.0%)、AFTG₂ 同位素内标 (¹³C₁₇-AFTG₂, CAS: 1217462-49-1, 纯度 99.0%)、ZEN 同位素内标(¹³C₁₈-ZEN, CAS: 911392-43-3, 纯度 99.5%)、DON 同位素内标 (¹³C₁₅-DON, CAS: 911392-36-4, 纯度 99.2%)(天津阿尔塔科技有限公司)。

SCIEX QTRAP 6500+高效液相色谱-质谱仪(美国 SCIEX 公司); SIGMA 3K15 高速低温离心机(美国 SIGMA 公司); Multi Reax 旋涡振荡器(德国海道夫公司); RVC 2-33 CDplus 离心浓缩机(德国 CHRIST 公司); Milli-Q 纯水仪(德国 Merck Millipore 公司); JYL-D025 料理机(山东九阳股份有限公司); MCA225S-2CCN-I 分析天平(十万分之一, 瑞士梅特勒托利多公司); Waters HSS T3 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)(美国 Waters 公司); Nylon66 0.22 μm 针筒式滤膜过滤器(天津津腾公司); Mycosep® 226 AflaZon+Multifunctional Columns 多功能净化柱(美国 Romer Labs 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液的配制

使用 8 种真菌毒素的标准溶液和同位素内标工作液, 准确移取一定体积, 加入乙腈配制成一系标准曲线工作溶液。准确吸取 40 μL 25.00 μg/mL 的 ZEN 内标(¹³C₁₈-ZEN)溶液和 160 μL 25.00 μg/mL 的 DON 内标(¹³C₁₅-DON)溶液于 1.5 mL 的样品瓶中, 加入乙腈至 1.00 mL, 配制混合同位素内标工作液。8 种真菌毒素标准曲线浓度见表 1。

表 1 8 种真菌毒素标准曲线浓度(ng/mL)						
Table 1 Standard curve concentrations of 8 fungal toxins (ng/mL)						
真菌毒素	S1	S2	S3	S4	S5	S6
DON	10.00	20.00	40.00	80.00	160.00	240.00
AFT*	0.10	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00
HT-2	5.00	10.00	20.00	40.00	80.00	160.00
T-2	1.00	5.00	10.00	20.00	40.00	100.00
ZEN	0.50	5.00	10.00	20.00	40.00	100.00
¹³ C ₁₇ -AFT*	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
¹³ C ₁₈ -ZEN	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
¹³ C ₁₅ -DON	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00

注: *4 种黄曲霉毒素的标准品及内标均为混合溶液。

1.2.2 样品前处理

样品制备: 将干米粉使用均质器打碎至粒径小于 2 mm, 混合均匀, 装入 50 mL 离心管中, 做好标记备用。针对湿米粉, 将其剥碎后使用研钵进行研磨, 研磨至粒径小于 2 mm,

混合均匀, 装入 50 mL 离心管中, 做好标记备用。准确称量 2.00 g 试样(精确至 0.01 g)于 50 mL 离心管中。

样品净化: 分别将 20 μL 的 ¹³C₁₈-ZEN 和 ¹³C₁₅-DON 的混合同位素内标工作液和 40 μL 0.05 μg/mL 黄曲霉毒素混合同位素内标溶液加入 50 mL 离心管中, 然后加入 20 mL 乙腈-水(80:20, V:V)提取溶液, 盖好离心管盖, 涡旋混匀 25 min。涡旋结束, 向各管中加入盐析包后混匀, 8000 r/min 低温离心 10 min。使用 Mycosep® 226 多功能净化柱准确转移 10 mL 上层有机相至 15 mL 离心管中, 真空浓缩至近干, 加入 1 mL 乙腈-水(20:80, V:V)溶液复溶, 取上清液通过 0.22 μm 微孔滤膜过滤至 1.5 mL 样品瓶, 待上机检测。

1.2.3 仪器条件

色谱条件: 色谱柱 Waters HSS T3 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流动相: 乙腈-水(0.1%甲酸); 流速: 0.40 mL/min; 柱温: 35 °C; 进样量: 5 μL。

液相色谱流动相梯度洗脱程序见表 2。

表 2 液相色谱梯度洗脱程序		
Table 2 Gradient elution program of liquid chromatography		
时间/min	乙腈/%	0.1%甲酸水/%
0.00	10.0	90.0
1.00	10.0	90.0
6.00	95.0	5.0
7.00	95.0	5.0
8.00	10.0	90.0
11.00	10.0	90.0

质谱条件: 采用电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI), 正负离子模式同时扫描^[27]; 离子源温度 550 °C; 喷雾电压: 5.5 kV(+), 4.5 kV(-); 雾化气压力: 50.0 psi; 辅助加热气压力: 55.0 psi; 气帘气: 35.0 psi; 扫描方式: 多反应监测(multiple reaction monitoring mode, MRM)模式, 具体参数见表 3。

1.3 数据处理

本研究检测数据的定性定量分析在 SCIEX DataManger 软件中完成, 所有样品测定结果均以 3 次平行测定得到平均值。数据分析利用 Microsoft Excel 2023 进行数据录入和整理, 采用 IBM SPSS 22.0 软件进行统计学分析。图形的绘制由 OriginPro 2016 完成。

2 结果与分析

2.1 质谱条件的优化

将 DON、ZEN、T-2、HT-2、AFTB₁、AFTB₂、AFTG₁、AFTG₂ 8 种真菌毒素分别配制成 200 ng/mL 的工作液, 通过针泵进样, 在 ESI 条件下进行全扫描, 选择合适的正、

负离子模式, 进行一级质谱扫描得到 8 种真菌毒素的母离子信息, 施加碰撞能量对母离子峰进行二级质谱分析得到子离子信息。分别优化各真菌毒素的碰撞能量与去簇电压, 目标化合物优化后的质谱参数见表 3。

2.2 色谱柱的选择

BEH C₁₈ 色谱柱填充材料为杂化硅胶颗粒, 适合非极性和中等极性化合物; HSS T3 色谱柱填充颗粒为高强度硅胶, 增强极性化合物的保留, 减弱疏水性化合物保留, 与 100%水相完全兼容; CSH C₁₈ 色谱柱表面带电杂化, 改善低离子强度流动相的上样能力和峰形, 重现性更好。本研究分别选择 BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)、HSS T3 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 和 CSH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 3 种色谱柱进行研究, 分析这 3 种色谱柱对目标化合物的分离效果。本研究所检测的 8 种真菌毒素均属于极性化合物, 在乙腈-0.1%甲酸水体系中, 相较于 BEH C₁₈ 色谱柱和 CSH C₁₈ 色谱柱, HSS T3 色谱柱对 8 种目标化合物的响应程度普遍较高, 分离效果更好。因此, 选择 HSS T3 色谱柱。

2.3 提取方法的优化

实验比较了 4 种提取溶剂(乙腈、80%乙腈-水、50%

乙腈-水、80%甲醇-水)的提取效果, 从基线稳定程度分析, 50%乙腈-水、80%甲醇-水两种体系基线不稳定, DON 的色谱峰杂乱; 从信号强度分析, 乙腈、80%甲醇-水两种体系中各毒素信号强度低、响应值差, 各组份含量低; 80%乙腈-水体系基线较为稳定、干扰少, 各毒素信号强度高。因此, 选择 80%乙腈-水作为提取溶剂。

2.4 净化方法的选择和优化

本研究选取了 A (Mycosep® 226 AflaZon+ Multifunctional Columns)、B (PRiME HLB Extraction Cartridges)、C (MCX Extraction Cartridges)、D (HLB Extraction Cartridges)、E (Captiva EMR)、F (Dispersive SPE: Vet Drugs in Foods)、G (Dispersive 15mL Universal kit)等 7 种净化方式进行比较净化效果。在浓缩过程时, 使用 F 和 G 两种净化柱的样品浓缩时长远超其他。使用 D、E、F 3 种净化柱, 样品检测峰型差、干扰较多; B、C 两种净化柱基线较为不稳定; A、G 两种净化柱对 AFTB₁、AFTB₂、AFTG₁、AFTG₂ 及 DON 5 种真菌毒素的净化效果相当, 但对于 ZEN、T-2、HT-2 3 种毒素, A 净化柱的净化效果远高于 G。综合考虑, 选择 A (Mycosep® 226 AflaZon+ Multifunctional Columns)进行处理净化, 8 种真菌毒素的提取效率均较高, 且操作简便、成本较低。

表 3 目标化合物质谱参数
Table 3 Mass spectrometric parameters of the target compounds

物质名称	电离模式	母离子(m/z)	子离子(m/z)	去簇电压/V	碰撞能量/eV
ZEN	ESI-	316.9	175.0*	-60	-32.02
			130.9		-38.01
¹³ C ₁₈ -ZEN	ESI-	335.1	185.0	-60	-33.92
DON	ESI+	297.2	249.1*	80	15.67
			203.0		19.00
¹³ C ₁₅ -DON	ESI+	312.1	263.2	80	14.97
T-2	ESI+	489.2	387.0*	80	28.22
			245.4		36.95
HT-2	ESI+	447.2	345.2*	80	23.22
			285.1		26.89
AFTB ₁	ESI+	313.0	284.9*	80	32.92
			268.8		43.80
¹³ C ₁₇ -AFTB ₁	ESI+	330.0	284.2	80	44.52
AFTB ₂	ESI+	315.1	287.0*	80	35.17
			258.9		42.80
¹³ C ₁₇ -AFTB ₂	ESI+	332.0	273.1	80	41.99
AFTG ₁	ESI+	328.9	243.0*	80	36.76
			214.8		45.65
¹³ C ₁₇ -AFTG ₁	ESI+	346.0	257.2	80	40.79
AFTG ₂	ESI+	339.0	285.0*	80	40.70
			245.0		48.15
¹³ C ₁₇ -AFTG ₂	ESI+	348.1	259.1	80	42.10

注: *定量离子。

2.5 回归方程、线性范围与检出限

测定 8 种真菌毒素的标准系列溶液,以质量浓度为横坐标(X, μg/L),以峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线,得到 8 种化合物的线性回归方程、相关系数以及线性范围。各目标化合物在对应的范围内具有良好的线性关系,线性相关系

数为 0.9954~0.9998。以 3 倍信噪比(S/N)计算检出限,10 倍信噪比(S/N)计算定量限,检出限为 0.10~10.00 μg/kg,定量限为 0.30~30.00 μg/kg,结果见表 4。该方法检出限和定量限低于 GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》的限量要求,能够满足日常检测需求。

表 4 目标化合物的回归方程、相关系数、检出限及定量限
Table 4 Regression equations, correlation coefficients, limits of detection and limits of quantification of the target compounds

物质名称	回归方程	相关系数	检出限/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)	线性范围/(μg/kg)
AFTB ₁	Y=707158X+33813	0.9964	0.10	0.30	0.10~8.00
AFTB ₂	Y=788283X+216324	0.9954	0.10	0.30	0.10~8.00
AFTG ₁	Y=921544X+146290	0.9979	0.10	0.30	0.10~8.00
AFTG ₂	Y=275479X+73868	0.9971	0.10	0.30	0.10~8.00
T-2	Y=20507X-2375.3	0.9998	0.50	1.50	1.00~100.00
HT-2	Y=1548.5X+8356.7	0.9997	1.00	3.00	5.00~160.00
DON	Y=2936.8X+29288	0.9984	10.00	30.00	10.00~240.00
ZEN	Y=37013X+42733	0.9965	0.50	1.50	0.50~100.00

2.6 回收率和精密度

向实际食品样品中添加低、中、高浓度的混合内标溶液进行测定,每组浓度做 6 个平行样品。计算得到每个加标浓度下 8 种目标分析物的加标回收率。结果显示,3 种加标浓度下 8 种目标物的平均回收率为 75.8%~112.0%,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 2.9%~5.9%。精密度和回收率结果见表 5,本方法符合相关标准要求,能够满足米粉制品中真菌毒素的检测要求。

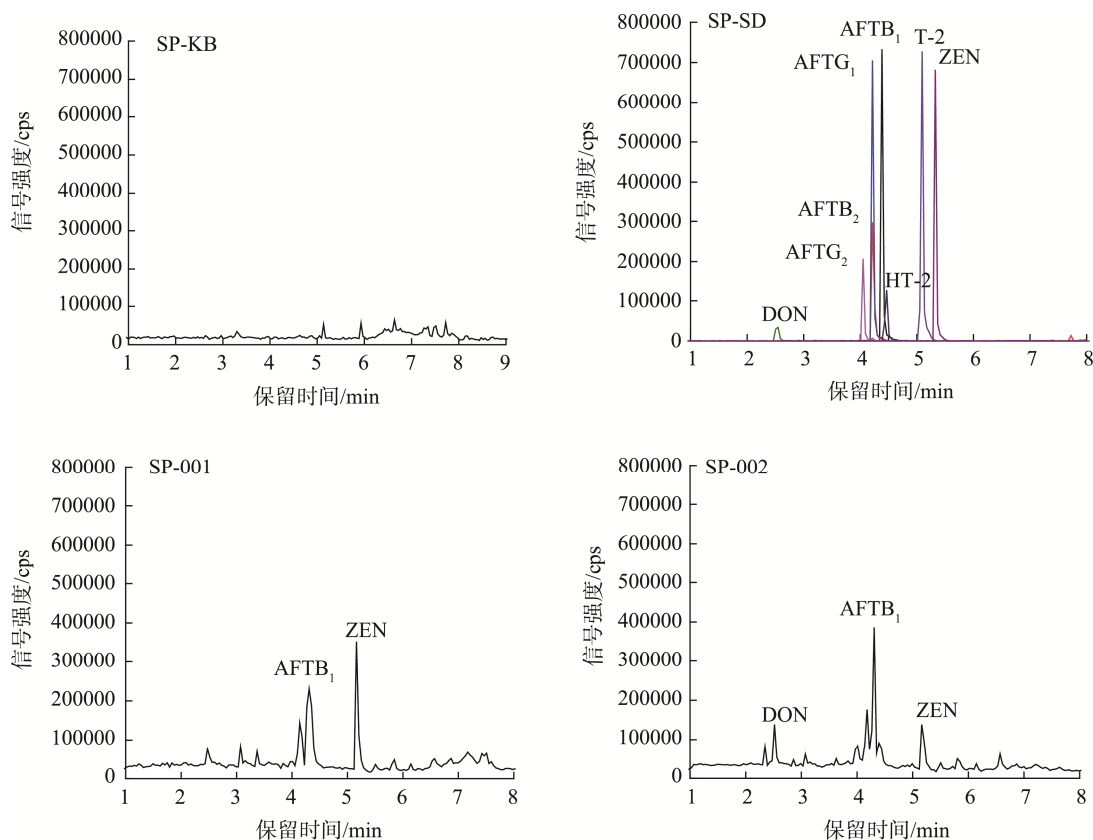
2.7 实际样品检测

应用本研究建立的检测方法对 21 件市售米粉进行检测,检测结果谱图如图 1 所示。21 件米粉样品中检出率最高的是 DON,检出率 76.2%,检出浓度范围 11.44~300.63 μg/kg;其次是 ZEN,检出率 71.4%,检出浓度 0.98~46.17 μg/kg;再次是 T-2 毒素,检出率 61.9%,检出浓度 0.59~1.12 μg/kg;AFTB₁ 检出率 52.4%,检出浓度 0.18~4.15 μg/kg;AFTB₂ 检出率 14.3%,检出浓度 0.12~0.26 μg/kg;AFTG₁ 和 AFTG₂ 仅有 1 件样品检出,检出率 4.8%,检出浓度分别为 0.34 μg/kg 和 0.12 μg/kg;HT-2 毒素无检出。参照 GB 2761—2017,对比谷物及其制品中真菌毒素限量,AFTB₁、ZEN、DON 的限量标准,本次检测阳性样品均未超标。

本研究实际检测的 21 件样品,其中有 8 件为在冰箱冷冻存放的鲜米粉样品,受污染情况普遍低于其他常温条件下存放的样品,在北方的春夏季,平均气温已经可以达到 25℃左右,推测常温存放的样品有可能因温度较高而产生真菌毒素,真菌毒素的产生与储存条件有很大关系。

表 5 不同加标浓度下 8 种真菌毒素的精密度和回收率(n=6)
Table 5 Precisions and standard recoveries experiment of 8 kinds of fungal toxins at different standard addition concentrations (n=6)

名称	加标质量浓度/(μg/L)	回收率/%	RSDs/%
AFTB ₁	0.50	102.5	3.3
	2.00	112.0	4.2
	8.00	105.0	5.1
AFTB ₂	0.50	89.0	5.0
	2.00	95.1	3.3
	8.00	99.6	5.0
AFTG ₁	0.50	98.9	3.3
	2.00	93.4	3.5
	8.00	100.9	3.9
AFTG ₂	0.50	102.0	4.6
	2.00	75.8	5.7
	8.00	75.8	4.2
T-2	5.00	101.3	4.3
	20.00	98.3	4.2
	100.00	102.7	4.3
HT-2	10.00	101.8	4.8
	40.00	104.6	5.9
	160.00	105.0	5.5
DON	20.00	112.0	3.8
	80.00	111.7	5.8
	240.00	102.0	5.1
ZEN	5.00	98.9	2.9
	20.00	106.0	3.1
	100.00	102.0	5.7



注: SP-KB为阴性空白色谱图; SP-SD为阳性添加色谱图; SP-001为阳性样品1色谱图; SP-002为阳性样品2色谱图。

图1 应用本方法检测米粉中8种真菌毒素色谱图

Fig.1 Chromatograms of 8 kinds of fungal toxins detected in rice noodles using this method

3 结 论

本研究通过对米粉的前处理过程及色谱条件和质谱条件进行优化,建立了同时测定米粉中 AFTB₁、AFTB₂、AFTG₁、AFTG₂、DON、T-2、HT-2 及 ZEN 8 种真菌毒素的高效液相色谱-串联质谱法。采用液液分散萃取, Mycosep® 226 AflaZon+多功能净化柱净化, HSS T3 色谱柱分离, 以乙腈-0.1%甲酸水为流动相, 进行梯度洗脱。采用高效液相色谱-串联质谱仪, 正负离子 MRM, 同位素内标法定量。通过方法学验证, 该方法操作简单, 准确度较好, 灵敏度较高, 适用于米粉中多组分真菌毒素含量的检测。目前缺少米粉类样品中多种真菌毒素同时测定的国家标准方法, 该方法的建立起到了补充和参考作用。相比液相色谱法、薄层色谱法、气相色谱法和酶联免疫吸附测定法等, 该检测方法具有更高的灵敏度和准确性, 对于承担大批量的米粉类样品中真菌毒素监测任务的检测机构来说, 能够提高检验检测效率和节约资源, 从而发挥重要的作用。

参考文献

[1] 杨虹, 曹文明, 陈何妍, 等. 谷物及制品中修饰型真菌毒素的风险与防控[J]. 中国农业科学, 2022, 55(6): 1213-1226.

YANG H, CAO WM, CHEN HY, *et al.* Risks and their prevention and control of modified mycotoxins in grain and its products [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2022, 55(6): 1213-1226.

[2] 李雅静, 秦曙, 杨艳梅, 等. 中国谷物真菌毒素污染研究现状[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(3): 186-194.

LI YJ, QIN S, YANG YM, *et al.* Research status of mycotoxin contamination in grains in China [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2020, 35(3): 186-194.

[3] 黄晴雯. 真菌毒素的分析方法及风险评估研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2021.

HUANG QW. Study on determination method and risk assessment of mycotoxins [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2021.

[4] 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 contamination of mycotoxins in cereals from Beijing market collected [J]. *Food and Nutrition in China*, 2019, 25(3): 28-30.

[5] ULGER TG, UCAR A, CAKIROGLU FP, *et al.* Genotoxic effects of mycotoxins [J]. *Toxicon*, 2020, 185: 104-113.

[6] 曾宪冬, 柳洁, 曾灼祥, 等. 2018-2019 年深圳市大米及米粉中黄曲霉毒素污染状况调查[J]. 食品安全导刊, 2020, 10(28): 60-63.

ZENG XD, LIU J, ZENG ZX, *et al.* Investigation on aflatoxin pollution in rice and rice noodles in Shenzhen from 2018 to 2019 [J]. *China Food Safety Magazine*, 2020, 10(28): 60-63.

[7] OZGUR GOLGE, BULENT KABAK. Occurrence of deoxynivalenol and zearalenone in cereals and cereal products from Turkey [J]. *Food Control*, 2020, 12(7): 109-110.

[8] 马倩, 杨春梅, 李兴玉, 等. 水果及其制品中真菌毒素检测技术及风险

- 评估研究进展[J]. 食品与发酵科技, 2024, 60(2): 95–100.
- MA Q, YANG CM, LI XY, *et al.* Research progress of detection technology and risk assessment of mycotoxins in fruit and its product [J]. Sichuan Food and Fermentation, 2024, 60(2): 95–100.
- [9] 赵伟, 厉学武, DESSALEGN LAMESGEN, 等. 我国饲料原料和配合饲料中 T-2 毒素、赭曲霉毒素 A 和伏马毒素的污染研究[J]. 动物营养学报, 2024, 36(4): 2690–2698.
- ZHAO W, LI XW, DESSALEGN L, *et al.* A study of contamination of T-2 toxin, ochratoxin A and fumonisin in feed ingredients and compound feed in China [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2024, 36(4): 2690–2698.
- [10] 李明璐. 基于内外暴露的我国人群真菌毒素暴露风险评估[D]. 武汉: 华中科技大学, 2022.
- LI ML. A risk assessment of internal and external exposure to mycotoxins in Chinese population [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2022.
- [11] 陈璐莹, 张福贵, 李海龙. 2020 年贵阳市大米及米粉中 7 种真菌毒素污染状况调查[J]. 微量元素与健康研究, 2022, 39(6): 50–52.
- CHEN LY, ZHANG FG, LI HL. Investigation on seven mycotoxins in rice and rice noodles in Guiyang in 2020 [J]. Studies of Trace Elements and Health, 2022, 39(6): 50–52.
- [12] 李文廷, 张瑞雨, 张秀清, 等. 大米中 16 种真菌毒素同时检测分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(12): 3886–3894.
- LI WT, ZHANG RY, ZHANG XQ, *et al.* Simultaneous detection and analysis of 16 mycotoxins in rice [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(12): 3886–3894.
- [13] 张慧杰. 小麦真菌毒素在加工过程中的消解、转移规律研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.
- ZHANG HJ. Study on the digestion and transfer patterns of fungal toxins during wheat processing [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014.
- [14] 徐玮, 王颖, 辛明霞, 等. 基于食品安全标准的食品安全监管技术[J]. 食品工业, 2017, 38(10): 247–253.
- XU W, WANG Y, XIN MX, *et al.* Food safety supervision technology based on food safety standards [J]. The Food Industry, 2017, 38(10): 247–253.
- [15] 赵丽杰, 高星, 吴丽华. 粮食及其制品中真菌毒素限量标准及检测方法概述[J]. 现代面粉工业, 2019, 33(3): 26–28.
- ZHAO LJ, GAO X, WU LH. Overview of limit standards and detection methods for fungal toxins in grain and its products [J]. Modern Flour Milling Industry, 2019, 33(3): 26–28.
- [16] 孙青月, 余涛, 彭双凤, 等. 荧光生物传感器用于多种真菌毒素同时检测的研究进展[J]. 材料导报, 2024, 38(10): 52–62.
- SUN QY, YU T, PENG SF, *et al.* State of research into fluorescent biosensors for the simultaneous detection of multiple mycotoxins [J]. Materials Reports, 2024, 38(10): 52–62.
- [17] 房文苗, 王小兰, 季德媛, 等. 高效液相色谱法测定玉米中玉米赤霉烯酮[J]. 现代食品, 2023, 29(5): 133–135.
- FANG WM, WANG XL, JI DY, *et al.* Determination of zearalenone in corn by high performance liquid chromatography [J]. Modern Food, 2023, 29(5): 133–135.
- [18] 彭茂民, 刘丽, 王小飞, 等. 免疫亲和柱净化-HPLC法测定小麦粉中的黄曲霉毒素 B₁、玉米赤霉烯酮和脱氧雪腐镰刀菌烯醇的含量[J]. 食品科技, 2017, 42(9): 305–308.
- PENG MM, LIU L, WANG XF, *et al.* Determination of aflatoxin B₁, zearalenone and deoxynivalenol in wheat flour by high performance liquid chromatography with immunoaffinity column purification [J]. Food Science and Technology, 2017, 42(9): 305–308.
- [19] LIN L, ZHANG J, WANG P, *et al.* Thin-layer chromatography of mycotoxins and comparison with other chromatographic methods [J]. Journal of Chromatography A, 1998, 815(1): 3–20.
- [20] 冯莉. 薄层色谱法检测玉米中黄曲霉毒素 B₁[J]. 现代畜牧科技, 2018(8): 20.
- FENG L. Determination of aflatoxin B₁ in corn by thin layer chromatography [J]. Technical Advisor for Animal Husbandry, 2018(8): 20.
- [21] RODRÍGUEZ-CARRASCO Y, BERRADA H, FONT G, *et al.* Multi-mycotoxin analysis in wheat semolina using an acetonitrile-based extraction procedure and gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1270: 28–40.
- [22] 冯莉. 酶联免疫法测定大豆中赭曲霉毒素 A[J]. 现代畜牧科技, 2018, (8): 26.
- FENG L. ELISA for determination of ochratoxin A in soybean [J]. Technical Advisor for Animal Husbandry, 2018, (8): 26.
- [23] 张宇, 李俊玲, 王书舟, 等. 同位素稀释-超高效液相色谱串联质谱法快速测定植物油中 16 种真菌毒素[J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(16): 1921–1926.
- ZHANG Y, LI JL, WANG SZ, *et al.* Rapid determination of 16 mycotoxins in vegetable oil by isotope dilution-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2021, 31(16): 1921–1926.
- [24] 张志荣, 刘裕婷, 牛晓梅. 高效液相色谱-串联质谱法测定火腿肠制品中 11 种杂环胺类化合物[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(17): 6933–6939.
- ZHANG ZR, LIU YT, NIU XM. Determination of 11 kinds of heterocyclic amines in ham sausage products by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(17): 6933–6939.
- [25] RAUSCH AK, BROCKMEYER R, SCHWERDTLE T. Development and validation of a QuEChERS-based liquid chromatography tandem mass spectrometry multi-method for the determination of 38 native and modified mycotoxins in cereals [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(16): 4657–4669.
- [26] 李彩虹, 王永宏, 赵如浪, 等. 超高效液相色谱-质谱联用快速测定玉米及其产品中 11 种生物毒素[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(9): 304–309.
- LI CH, WANG YH, ZHAO RL, *et al.* Rapid determination of 11 kinds of biotoxins in maize and its products by ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(9): 304–309.
- [27] 谭莉, 孟繁磊, 范宏, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定玉米中 9 种真菌毒素[J]. 食品工业科技, 2021, 42(7): 240–245.
- TAN L, MENG FL, FAN H, *et al.* Determination of 9 mycotoxins in maize by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(7): 240–245.
- [28] 郝国辉. 超高效液相串联质谱检测玉米中 5 种真菌毒素的方法研究[J]. 现代食品, 2021(1): 163–166.
- HAO GH. Research on the method of detecting five fungal toxins in corn by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Modern Food, 2021(1): 163–166.
- [29] ZHANG K, BANERJEE K. A review: Sample preparation and chromatographic technologies for detection of aflatoxins in foods [J]. Toxins, 2020, 12(9): 539.
- [30] 牛灿杰, 叶素丹, 胡玉霞, 等. 谷物及制品中真菌毒素前处理及检测技术研究进展[J]. 食品与机械, 2023, 39(5): 203–210, 240.
- NIU CJ, YE SD, HU YX, *et al.* Research progress in detection technologies of mycotoxins in cereals and cereal-based products [J]. Food and Machinery, 2023, 39(5): 203–210, 240.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)