DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240901001
引用格式: 王权帅, 孙卫明. 北京市怀柔区板栗冷库贮藏过程中真菌毒素污染状况研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(3): 35–43.
WANG QS, SUN WM. Study on the contamination of mycotoxins during cold storage of *Castanea mollissima* in Beijing Huairou District [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(3): 35–43. (in Chinese with English abstract).

北京市怀柔区板栗冷库贮藏过程中真菌毒素污染状况研究

王权帅*, 孙卫明

(北京市怀柔区疾病预防控制中心, 北京 101400)

摘 要: 目的 分析和研究怀柔区板栗在 1 年的贮藏过程中真菌毒素污染状况。**方法** 以怀柔板栗为研究对象, 分别从怀柔区产量最高的 4 个乡镇采集 3113、怀九、怀黄、燕红和花花等 5 个品种的板栗样本, 在冷库中贮藏 1 年, 每一个月抽样一次, 用超高效液相色谱-质谱联用法对黄曲霉毒素等 21 种真菌毒素含量进行测定。**结果** 贮藏期共检出 11 种真菌毒素, 分别为腾毒素、交链孢酚、交链孢菌酮酸、雪腐镰刀菌烯醇、玉米赤霉烯酮、伏马菌素 B_1、伏马菌素 B_2、伏马菌素 B_3、交链孢酚单甲醚、赭曲霉毒素 A 和杂色曲霉素。其中交链孢霉菌素检出率和检出值均较高。根据采样地点分析, 4 个乡镇的真菌毒素检出数量从 66 个到 79 个, 并没有显著的差异和明显的规律, 根据贮藏时间分析, 随着贮藏时间的延长, 板栗中真菌毒素的检出件数总体呈上升趋势。贮藏前 6 个月真菌毒素的检出率均相对较低, 每个月检出 4~5 件, 到第 7 个月真菌毒素检出增至 12 件, 从第 9 个月起 17 件样品均有检出。**结论** 从真菌毒素污染角度分析建议板栗在贮藏 6 个月以内进行食用和加工。不同板栗种植地区和不同品种中真菌毒素检出情况没有呈现出规律性, 且板栗样品在贮藏期间存在有共污染状况, 并应对板栗中交链孢霉菌素的污染风险进行进一步的分析和研究。

关键词: 真菌毒素; 板栗; 冷库贮藏; 污染状况

Study on the contamination of mycotoxins during cold storage of *Castanea mollissima* in Beijing Huairou District

WANG Quan-Shuai*, SUN Wei-Ming

(*Beijing Huairou District Center for Diseases Control and Prevention*, *Beijing* 101400, *China*)

ABSTRACT: Objective To study and analyze the mycotoxins contamination status of *Castanea mollissima* in Huairou District during one year of cold storage. **Methods** Taking *Castanea mollissima* produced in Huairou District as the research object. *Castanea mollissima* samples of 5 varieties, including 3113, Huaijiu, Huaihuang, Yanhong, and Huahua were collected from the 4 highest yielding townships in Huairou District. They were stored in a cold storage for one year and sampled once a month. The content of 21 kinds of fungal toxins was determined by ultra

收稿日期: 2024-09-01
基金项目: 北京市怀柔区科技计划项目(SHFZ 2020-1)
第一作者/*通信作者: 王权帅(1985—), 男, 硕士, 主管检验师, 主要研究方向为食品检验。E-mail: wqslunwen@126.com

performance liquid chromatography-mass spectrometry. **Results** During the storage period, a total of 11 fungal toxins were detected, including tentoxin, alternariol, tenuazonic acid, nivalenol, zearalenone, fumonisin B_1, fumonisin B_2, fumonisin B_3, alternariolmethylether, ochratoxin A, and sterigmatocystin. The detection rate and value of *Alternaria* toxins were relatively high. According to the analysis of sampling locations, the number of fungal toxins detected in the 4 townships increased from 66 to 79, with no significant difference or clear pattern. Based on the analysis of storage time, the number of fungal toxins detected in chestnuts showed an overall upward trend with the extension of storage time. The detection rate of fungal toxins was relatively low in the 1 to 6 months of storage, with 4–5 cases detected each month. By the 7th month, the detection of fungal toxins increased to 12 cases, and from the 9th month onwards, all 17 samples were detected. **Conclusion** The *Castanea mollissima* shall be consumed and processed less than 6 months of storage after harvest according to the perspective of mycotoxins contamination. The overall detection rate of fungal toxins shows a monthly upward trend. There is no regularity in the detection of fungal toxins in different chestnut planting areas and varieties, and there is co-contamination in *Castanea mollissima* samples during storage. Further analysis and research on the pollution risk of *Alternaria* toxins in chestnuts is needed.
KEY WORDS: mycotoxins; *Castanea mollissima*; cold storage; contamination status

0 引 言

板栗是一种极具营养价值的坚果，北京市是我国板栗种植的重要地区之一[1]，其中怀柔区地处燕山山脉南麓，气候为暖温带半湿润大陆季风气候，地理环境十分适合板栗生长，从明清时期就有了种植板栗的记载，因此种植面积在全北京名列前茅，由于其较高的板栗品质，怀柔又被称为“中国板栗之乡”[2–3]。目前怀柔区共种植板栗 30 多万亩，总产量 925.71 万公斤，产值达到 13400 余万元，是怀柔区农业的三大主导产业之一，是怀柔山区农民的一项重要经济来源，因此备受怀柔区政府重视和社会关注[4]。

真菌毒素污染是影响食品安全的一类重要因素，板栗在种植、贮藏、加工等过程中容易污染真菌毒素，会影响板栗的品质，降低板栗的经济价值，影响行业发展[5–6]。GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》中明确规定了坚果中黄曲霉毒素 B_1 等真菌毒素的限量标准。目前已知镰刀菌属、青霉属和曲霉属等多个菌属的真菌会在板栗产品上发生污染并产生黄曲霉毒素(aflatoxins, AFs)、伏马菌素(fumonisins, FBs)、单端孢霉烯族真菌毒素(trichothecenes)、赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA)和杂色曲霉素(sterigmatocystin, STC)等次级代谢产物[7–12]。AFs 在国内外近些年都有检出，有的检出率高达 62.2%[7–8]。BERTUZZI 等[9]研究发现，在新鲜的板栗中检出了 AFs 和 OTA。此外有研究表明，新鲜的板栗在贮藏过程中极易遭到真菌的污染并产生真菌毒素，DONIS-GONZALEZ 等[10]在 4 ℃温度下贮藏的板栗中检测出脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)和玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN)，毒素含量随着贮藏时间的延长，含量也逐渐升高，并且其中一个品种的板栗在贮藏到 120 d 后，其 DON 含量已经超过了最大允许限值。郭耀东[13]对多种食品中的 FBs 进行了检测和分析发现，在坚果中 FBs 的检出率最高。板栗中检出 OTA 的文献报道非常多，在干板栗、新鲜板栗和板栗粉 3 种不同状态的板栗均有检出[14]。

目前对于板栗中多种真菌毒素同时检测的分析方法以超高效液相色谱-质谱法为主，前处理方法主要可以分为固相萃取法[15]、QuEChERS 法[16]、同位素内标直接稀释法[17]和免疫亲和柱法[18]等，免疫亲和柱法、固相萃取法和 QuEChERS 法的应用有一定的局限性，免疫亲和柱法对单一种类真菌毒素前处理时效果较好，但当同时检测的目标毒素种类很多时，会导致操作步骤烦琐、相互干扰、净化效果降低等问题。QuChERS 法近些年经过优化也可用于真菌毒素的提取、净化，可以非常简便快捷地去除样品中的脂肪、色素等杂质，但板栗中脂肪含量较低，也没有很深的色素，因此 QuChERS 法也不适用于板栗的前处理，因此本研究采用同位素内标直接稀释法进行分析。

板栗采收后很容易发生氧化、腐败、发芽等情况，对后期的贮存造成了很大的难题[19]。国内对板栗采后的贮藏技术进行了大量的研究，如辐照保藏、涂料保藏、气调保藏、沙藏等方法[20–23]，陈秋怡等[24]将 6 种保鲜方式对板栗贮藏过程中品质的影响进行了研究，得出每种方式都有各自的优势。但目前商业上使用最广泛的还是冷库低温保藏。目前国内外对板栗贮藏期真菌毒素的污染状况的研究鲜有报道，从文献中查到最多研究到贮藏 120 d，而对贮藏一年的板栗还鲜少见相关的研究报道。随着保藏技术的不断发展，板栗可以在冷库里保鲜贮藏近一年，一年中消费者都可以吃到鲜板栗及板栗制品，但对于一年贮藏期板栗的真菌毒素监测和分析并未进行相关的研究。

本研究以怀柔板栗为研究对象，分别从怀柔区产量最高的 4 个乡镇采集板栗样本，在冷库中进行贮藏，每一

个月抽样一次, 用超高效液相色谱-质谱法对黄曲霉毒素等 21 种真菌毒素含量进行测定, 对怀柔区板栗在一年的贮藏过程中真菌毒素污染状况进行分析和研究。该研究对提升怀柔板栗产品经济效益具有十分重要的必要性, 还可以为制定怀柔区农业产业发展规划和安全监管提供数据支撑。

1　材料与方法

1.1　试样材料

板栗品种按早熟期、中熟期和晚熟期分别选取, 早熟期的品种为 3113 (*Castanea mollissima* ‘Yanshanzaofeng’), 中熟期的品种为怀九(*Castanea mollissima* ‘Huaijiu’)和怀黄(*Castanea mollissima* ‘Huaihuang’), 晚熟期品种为燕红(*Castanea mollissima* ‘Yanshanhongli’)。原生板栗品种为花花。板栗采样地点选取怀柔区板栗产量最大的 4 个镇, 每个镇的采样具体地点和品种见表 1, 每件样品采样 20 kg。

表 1　板栗采样地点及品种
Table 1　Sampling locations and varieties of *Castanea mollissima*

采样地点	品种
九渡河镇九渡河村	3113
	怀九
	怀黄
	燕红
渤海镇渤海所村	3113
	怀九
	怀黄
	燕红
怀北镇神山村	3113
	怀九
	怀黄
	燕红
雁栖镇长元村	3113
	怀九
	怀黄
	燕红
渤海镇渤海所村	花花

从板栗成熟开始采摘并贮藏于北京老栗树聚源德种植专业合作社板栗贮藏专用冷库中, 贮存期为 1 年。冷库贮藏环境温度为–1~–3 ℃, 相对湿度 60%左右。

1.2　试样抽样

样品采集分为采摘期和贮藏期。采摘期选择的样品为成熟但未采摘的板栗。贮藏期从放入冷库开始算起, 每个月抽样一次, 按照《国家食品污染和有害因素风险监测工作手册》规定进行抽样, 从贮藏袋的上部、中部和下部分别取 300 g 左右板栗样品, 混合成大约 1 kg 样品为待测样。

1.3　主要仪器设备

LCMS-8050 超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪(日本岛津公司); Waters BEH C_{18} (2.1 mm×150 mm, 1.7 μm)(美国 Waters 公司); BSA623S-CW 千分之一电子天平(德国 Sartorius 公司); VORTEX-5 调速振荡器(海门其林贝尔仪器制造有限公司); Centrifuge 5810R 高速低温离心机(德国 Sigma 公司)。

1.4　主要材料与试剂

乙腈、甲醇、甲酸(色谱纯, 北京迪马科技有限公司); 21 种真菌毒素标准品均购自罗玛实验室检测服务(无锡)有限公司, 包括 OTA (10.05 μg/mL)、STC (50.3 μg/mL)、DON (100.1 μg/mL)、ZEN (100.2 μg/mL), 其他 17 种真菌毒素具体质量浓度见表 2。

表 2　17 种标准品名称、缩写和质量浓度
Table 2　Names, abbreviations and mass concentrations of 17 kinds of standard product

标准物质	英文全称	简称	质量浓度/(μg/mL)
黄曲霉毒素 B_1	aflatoxin B_1	AFB_1	2.04
黄曲霉毒素 B_2	aflatoxin B_2	AFB_2	0.501
黄曲霉毒素 G_1	aflatoxin G_1	AFG_1	2.08
黄曲霉毒素 G_2	aflatoxin G_2	AFG_2	0.504
伏马菌素 B_1	fumonisin B_1	FB_1	50.1
伏马菌素 B_2	fumonisin B_2	FB_2	50.0
伏马菌素 B_3	fumonisin B_3	FB_3	50.3
3-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇	3-acetyldeoxynivalenol	3Ac-DON	100.1
15-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇	15-acetyldeoxynivalenol	15Ac-DON	100.1
T-2 毒素	T-2 toxin	T-2	100.1
雪腐镰刀菌烯醇	nivalenol	NIV	100.1
HT-2 毒素	HT-2 toxin	HT-2	100.1
交链孢菌酮酸	tenuzonic acid	TeA	100.8
交链孢酚	alternariol	AOH	100.3
腾毒素	tentoxin	TEN	100.5
交链孢酚单甲醚	alternariol monomethyl ether	AME	101.1
交链孢烯	altenuene	ALT	10.48

1.5　样本制备

首先用板栗去皮机去掉板栗壳, 再用粉碎机将脱壳的板栗粉碎, 混匀, 用四分法分成 2 份, 每份至少 200 g, 装入食品样品袋中, 1 份–20 ℃冷冻保藏, 另 1 份用于检测。

1.6 检测方法

本研究采用同位素内标直接稀释法进行前处理，用超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪进行测定。TeA、AOH、TEN、AME 和 ALT 5 种交链孢霉菌素检测方法参照王远等[25]的方法，其他 16 种真菌毒素则按照实验室前期所建立的分析方法[26]进行检测。检测结果保留 3 位有效数字。

1.7 质量控制

采用从 Romer 公司购买的质控样品 M15361M 玉米粉种多毒素(DON、FB_1、FB_2、FB_3 和 ZEN)和 M17175A 玉米粉中 AFB_1、AFB_2、AFG_1 和 AFG_2(低浓度)进行质量控制。DON 和 ZEN 用于负离子模式质量控制，AFB_1、AFB_2、AFG_1、AFG_2 及 FB_1、FB_2、FB_3 用于正离子模式质量控制。质控样标准值及不确定度分别为：DON (821±64) μg/kg, FB_1 (667±78) μg/kg, FB_2 (156±21) μg/kg, FB_3 (89±22) μg/kg, ZEN (87±7) μg/kg, AFB_1 (3.7±1.6) μg/kg, AFB_2<0.5 μg/kg, AFG_1<0.5 μg/kg, AFG_2<0.5 μg/kg。每批样品检测时均需要同时处理质控样品，质控样品的结果在证书给定的范围内时本批次检测数据才可使用。

1.8 数据处理

采用 Excel 2003 和 Origin 8.0 对样品中真菌毒素污染水平进行统计分析。样品中真菌毒素含量低于其检出限(limit of detection, LOD)时，判定为未检出，用 ND 表示。

2 结果与分析

2.1 真菌毒素检出情况分析

通过对所有样品进行采摘期及连续 12 个月贮藏期的检测。采摘期的样品中 21 种真菌毒素均未检出。贮藏期共检出 11 种真菌毒素。分别为：TEN、AOH、TeA、NIV、ZEN、FB_1、FB_2、FB_3、AME、OTA 和 STC，其他 10 种真菌毒素均未检出。

2.2 TEN 检出情况

分别从渤海镇的怀黄、怀九、燕红，怀北镇的 3113、怀黄、怀九、燕红，九渡河镇的怀九和雁栖镇的怀九样品中检出 TEN，具体见图 1。从地域分，渤海的怀黄、怀九和燕红 3 个品种中有检出，渤海镇的怀九从储藏的第 2 个月就开始检出，到第 5 个月逐渐平稳，11 月含量最高达到 4.30 μg/kg，怀黄和燕红贮藏 7 到 8 个月开始检出。怀北 4 个品种均检出。怀黄从第 1 个月就检出，从第 3 个月到第 8 个月检出浓度比较平稳，然后迅速增长。7~10 月份其他 3 个品种开始检出。雁栖仅有怀九检出，从第 1 个月就检出，4~7 个月稳定。九渡河只检出怀九，贮藏到第 5 个月开始检出。从品种上来看，怀九 4 个地方都检出，渤海和雁栖几乎从开始就检出，九渡河第 5 个月检出，怀北最晚，第 8 个月检出。怀黄和燕红在渤海和怀北检出。3113 只在怀北镇的样品贮藏到最后 3 个月检出，而且含量不高，

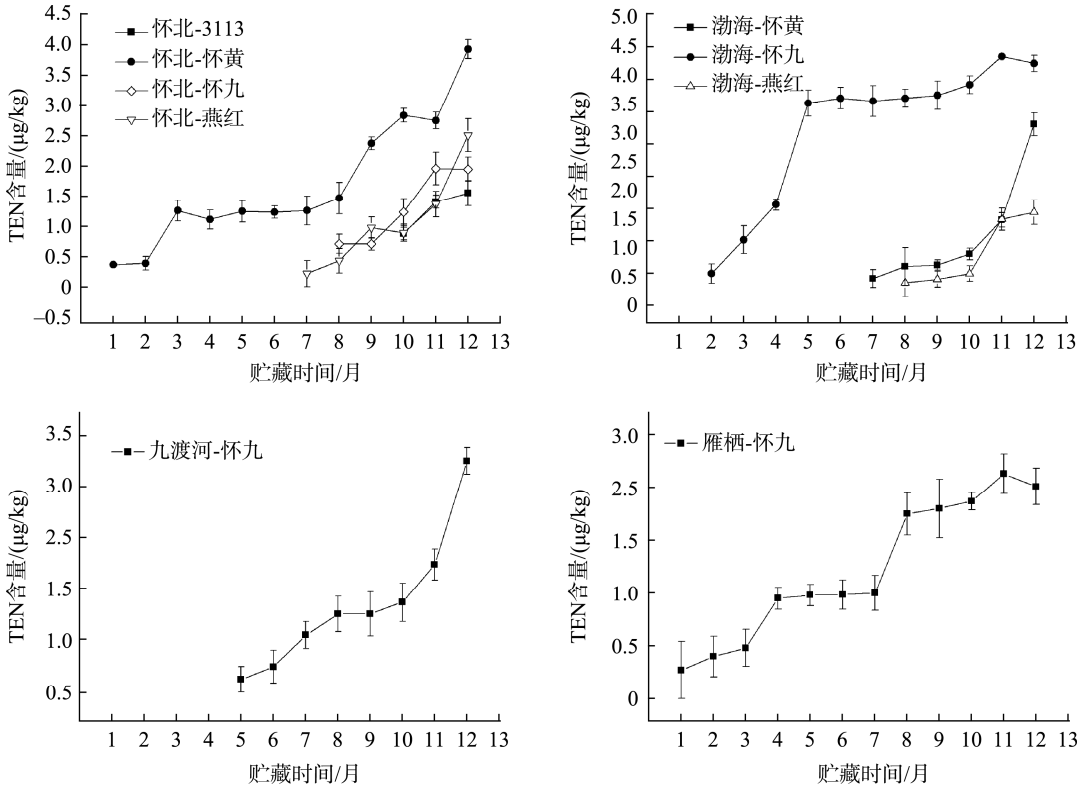

图1 板栗样品TEN检出情况

Fig.1 Detection of TEN in *Castanea mollissima* samples

仅有 1.61 μg/kg。目前对板栗中 TEN 的研究还不是很深入, 相关报道较少, 其他研究者对番茄、苹果汁等其他食品中交链孢霉菌素进行了研究, 其中 TEN 均不是主要的检出毒素[27–28], 但本研究中 TEN 的检出率却很高, 而且检出的贮藏时间整体偏早, 特别是中熟期的品种, 在贮藏刚刚 1~2 个月就开始有检出, 尽管含量不是很高。4 个采样地点的样本均有检出。原因可能是板栗感染的真菌极易产生 TEN, 从而导致 TEN 检出率偏高。虽然检出率很高, 但检出值并不高, 最高值仅有 4.30 μg/kg, 而国家食品安全风险监测对小麦粉中 TEN 的检出值最大超过了 200 μg/kg[29]。

2.3　AOH 检出情况

AOH 在贮藏的前 4 个月均未检出, 从第 5 个月开始检出, 5~12 个月的检出情况见表 3。渤海镇 4 个品种的板栗样品及花花品种在整个一年的贮藏期均未检出 AOH。怀北、九渡河和雁栖的板栗样品中检出了 AOH, 其中怀北镇的 3113、怀九和燕红, 九渡河镇燕红仅在第 12 个月检出, 九渡河的 3113 样品在贮藏到第 11 个月检出, 而雁栖镇的 3113 样品仅在第 7 个月检出, 此外九渡河和雁栖的怀九样品均从贮藏第 5 个月开始检出 AOH, 一直检出到 12 个月, 含量最高分别达到 11.92 μg/kg 和 10.09 μg/kg。AOH 也是一种检出率很普遍的交链孢霉菌素, 本研究中一半的样本检出了 AOH, 主要到贮藏的末期检出, 所有样品检出值最高为 19.94 μg/kg, 这与 NOSER 等[27]对番茄中 AOH 的研究结果相似。

表 3　板栗样品中 AOH 检出情况
Table 3　Detection of AOH in *Castanea mollissima* samples

采样地点	品种	AOH 含量/(μg/kg)							
		5 月	6 月	7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月
怀北镇	3113	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	19.94
	怀九	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3.72
	燕红	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.35
九渡河镇	3113	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.50	ND
	怀九	0.47	1.07	1.58	3.65	3.86	5.38	7.13	11.92
	燕红	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.94
雁栖镇	3113	ND	ND	20.9	ND	ND	ND	ND	ND
	怀九	0.37	0.60	1.14	0.82	1.62	6.86	8.54	10.09

2.4　TeA 检出情况

板栗贮藏前 6 个月 TeA 均未检出, TeA 后 6 个月的检出情况见表 4。按地域进行分析, 渤海镇 2 个品种怀九和燕红检出了 TeA。怀北镇和九渡河镇检出 3 个品种, 分别为 3113、怀黄和燕红。雁栖镇检出 3113、怀九和燕红。本地品种花花也检出了 TeA。渤海镇和怀北镇的样品在贮藏第 8 个月开始检出, 而九渡河镇和雁栖镇的板栗从第 7 个月开始检出。从品种上看, TeA 在贮藏的 7~8 月开始检出, 早、中和晚期的品种均检出了 TeA。怀北、九渡河和雁栖 3 个镇采集的 3113 样品检出 TeA。对于中期品种, 怀北镇和九渡河镇的怀黄、渤海镇和雁栖镇的怀九检出了 TeA。4 个地区均在燕红品种中检出了 TeA。怀柔本土品种花花, 也检出了 TeA, 含量不高, 从第 10 个月检出。TeA 是在食品中检出最普遍的交链孢霉菌素, 不论从检出率还是检出值均很高, 有些食品基质如小麦粉中 TeA 检出值能从 800 μg/kg 到 2000 μg/kg 左右[28–29], 本研究中 70%的板栗样品检出了 TeA, 最高检出结果为 127.74 μg/kg, 虽然没有达到小麦粉中那么高的含量, 但不能直接进行比较, 与板栗中检出的其他交链孢霉菌素相比, 检出值已高出数十倍。

表 4　板栗样品中 TeA 检出情况
Table 4　Detection of TeA in *Castanea mollissima* samples

采样地点	品种	TeA 含量/(μg/kg)					
		7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月
渤海镇	怀九	ND	9.90	24.18	42.25	102.29	103.96
	燕红	ND	9.25	31.91	47.98	84.02	101.81
怀北镇	3113	ND	ND	ND	ND	22.42	29.11
	怀黄	ND	13.56	18.83	26.40	37.84	62.63
	燕红	ND	4.70	11.42	18.47	42.32	113.20
九渡河镇	3113	ND	ND	ND	ND	15.07	15.24
	怀黄	3.83	21.73	26.56	49.64	58.68	82.52
	燕红	ND	31.13	50.71	84.23	114.73	127.74
雁栖镇	3113	16.16	25.08	30.16	39.19	76.32	83.50
	怀九	13.34	31.25	31.33	35.84	72.79	74.64
	燕红	6.55	18.66	19.45	29.22	45.02	54.78
原生	花花	ND	ND	ND	17.60	26.93	25.13

2.5　NIV 检出情况

板栗贮藏前 6 个月 NIV 均未检出, 贮藏后 6 个月的检出情况见表 5。在早、中和晚期品种中均有 NIV 检出, 主要在燕红品种中检出, 4 个镇的燕红样品基本上同时期开始检出, 怀北镇和九渡河镇在贮藏到第 7 个月, 渤海镇和雁栖镇在第 8 个月检出,NIV 含量整体呈增长趋势, 最后检出浓度为 225.63~289.56 μg/kg, 这可能与品种有关, 晚熟的燕红更适宜产 NIV 毒素的真菌繁殖和产毒。此外还从第 8 个月的怀北 3113, 第 10 个月的渤海 3113、九渡河 3113、九渡河怀九和雁栖的怀九, 第 11 月的渤海怀黄、九渡河怀黄和花花检出了 NIV。

表 5 板栗样品中 NIV 检出情况

Table 5 Detection of NIV in *Castanea mollissima* samples

采样地点	品种	NIV 含量/(μg/kg)					
		7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月
渤海镇	3113	ND	ND	ND	217.27	ND	ND
	怀黄	ND	ND	ND	ND	168.55	ND
	燕红	ND	154.44	150.09	159.66	207.59	225.63
怀北镇	3113	ND	85.64	ND	ND	ND	ND
	燕红	157.09	182.66	218.35	253.75	261.00	289.56
九渡河镇	3113	ND	ND	ND	280.92	ND	ND
	怀黄	ND	ND	ND	ND	265.74	ND
	怀九	ND	ND	ND	223.06	ND	ND
	燕红	183.34	221.69	243.12	267.13	247.75	252.46
雁栖镇	怀九	ND	ND	ND	281.98	218.36	ND
	燕红	ND	198.00	231.66	255.09	284.05	272.41
原生	花花	ND	ND	ND	ND	264.44	ND

2.6 OTA 检出情况

OTA 与 NIV 的检出情况相似, 贮藏 7~12 个月的检出情况见表 6。贮藏的前 6 个月所有板栗样品均未检出, 到第 7 个月有 2 件样品检出 OTA, 第 8 个月有 7 件样品检出, 到第 9 个月, 所有样品全部检出 OTA, 浓度从 0.45~3.32 μg/kg。9~12 个月基本都有检出, 除了 11 月有 2 件, 12 月有 1 件未检出。从第 7~12 个月的检测数据可知, 检测数据没有呈现出一定的规律。WANG 等[30]对 253 件板栗样品分析后, 仅有 4 件样品检出了 OTA, 这与本研究的结果不一致, 本研究在所有的样品中均检出了 OTA。这可能与实验用板栗的贮藏时间不同有关, WANG 等[30]所使用的板栗样本是从市场上购买的, 其贮藏时间在文中并未提及, 可能采集的是刚收获的或贮藏早期的板栗, 从而导致检出率很低。

2.7 AME 检出情况

板栗样品在贮藏 1~4 个月时未检出 AME, 5~12 个月 AME 检出情况见表 7。渤海镇有 3113、怀黄和怀九 3 个品种检出, 怀北镇有 3113、怀九和燕红 3 个品种检出。九渡河镇怀九和燕红 2 个品种检出。雁栖镇有 3113、怀黄和燕红 3 个品种检出。本地品种花花也有检出。4 个镇除了九渡河没有在早熟的 3113 品种检出, 其他 3 个镇均在早、中、晚期品种中检出, 检出值在 1.34~17.90 μg/kg。除九渡河镇的怀九在第 5 个月开始检出 AME, 其他 11 件样品都是在 7~12 个月检出。AME 是检出率较少的交链孢霉菌素, 有研究对 92 件小米粉进行研究, 仅有 6 件, 占 6.5%的样品检出 AME[28]。WANG 等[30]对 33 板栗进行检测, 其中 3 件检出 AME。本研究中从整个贮藏期统计尽管有 70%的样品检出了 AME, 但贮藏 5~9 个月时, 除贮藏到 8 个月时有 4 件检出, 其他每个月只有 1~2 件检出, 而到了贮藏末期检出率才升高。与 TeA 和 TEN 检出情况相比检出率要低很多。

表 6 板栗样品中 OTA 检出情况

Table 6 Detection of OTA in *Castanea mollissima* samples

采样地点	品种	OTA 含量/(μg/kg)					
		7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月
渤海镇	3113	ND	ND	2.41	2.54	1.36	2.03
	怀黄	ND	ND	2.42	2.76	1.52	3.86
	怀九	ND	ND	2.47	2.33	2.44	2.56
	燕红	ND	0.45	0.45	2.14	2.04	1.80
怀北镇	3113	ND	ND	2.57	2.62	1.82	1.67
	怀黄	ND	ND	1.16	2.28	1.67	2.20
	怀九	0.36	1.34	2.54	2.96	2.60	1.98
	燕红	ND	0.50	0.91	2.47	ND	2.35
九渡河镇	3113	ND	ND	3.32	2.30	1.97	1.66
	怀黄	ND	0.47	2.77	2.58	2.14	2.12
	怀九	ND	ND	2.86	2.98	1.92	ND
	燕红	ND	0.90	2.02	1.94	1.75	1.94
雁栖镇	3113	0.65	0.97	2.64	1.90	1.69	1.79
	怀黄	ND	ND	2.66	0.42	2.30	1.85
	怀九	ND	ND	2.41	2.51	1.91	1.84
	燕红	ND	0.52	1.24	2.44	1.72	1.79
原生	花花	ND	ND	1.80	2.74	ND	2.53

表 7 板栗样品中 AME 检出情况

Table 7 Detection of AME in *Castanea mollissima* samples

采样地点	品种	AME 含量/(μg/kg)							
		5 月	6 月	7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月
渤海镇	3113	ND	ND	ND	ND	ND	ND	17.87	ND
	怀黄	ND	ND	ND	1.93	ND	ND	ND	ND
	怀九	ND	ND	ND	11.20	ND	ND	ND	ND
怀北镇	3113	ND	ND	ND	ND	ND	ND	7.27	8.58
	怀九	ND	ND	ND	ND	ND	1.43	ND	1.75
	燕红	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.15
九渡河镇	怀九	2.18	1.93	2.32	3.16	3.26	4.31	6.41	6.38
	燕红	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6.65
雁栖镇	3113	ND	ND	10.22	ND	ND	ND	ND	ND
	怀黄	ND	ND	ND	1.34	4.38	7.38	14.13	13.51
	燕红	ND	ND	ND	ND	ND	1.38	ND	ND
原生	花花	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.58	ND

2.8　其他检出的真菌毒素

有 5 种其他真菌毒素在整个贮藏期有零星检出，分别为 ZEN、FB_1、FB_2、FB_3 和 STC，具体数值见表 8。ZEN 检出 5 件样品，6 个时间点。4 个镇的样品都有检出，早中期的样品有检出 ZEN，晚期的燕红没有检出。渤海镇的 3113 样品在贮藏第 5 月和 7 月检出。怀北镇的怀黄第 7 月、怀九第 10 月检出。九渡河镇的 3113 在第 8 月和雁栖镇的怀九在第 12 月分别有一件样品检出。FB_1 检出 8 件样品。4 个镇的样品也均检出，怀北镇的怀九在贮藏的第 2 月检出，以后在该样品中再未检出。3113 在怀北镇和九渡河镇 2 个采样地点采集的板栗样品中检出，检出时间为贮藏的第 4 个月。其他 4 件样品均在第 10 个月检出，分别为渤海镇的怀九和怀黄、九渡河镇的怀黄和雁栖镇的 3113。FB_2 和 FB_3 检出的样品和时间是一致的。都只有 2 件样品检出，分别为贮藏第 3 个月的渤海镇怀九和第 4 个月的九渡河镇 3113。STC 仅在 1 件样品，为贮藏到第 3 个月的雁栖镇怀九。

表 8　板栗样品中 ZEN、FB_1、FB_2、FB_3 和 STC 检出情况
Table 8　Detection of ZEN, FB_1, FB_2, FB_3 and STC in *Castanea mollissima* samples

真菌毒素	采样地点	品种	贮藏时间/月	浓度/(μg/kg)
ZEN	渤海	3113	5	1.30
	渤海	3113	7	2.37
	怀北	怀九	10	3.70
	怀北	怀黄	7	1.13
	九渡河	3113	8	0.95
	雁栖	怀九	12	0.70
FB_1	怀北	怀九	2	5.09
	渤海	怀九	3	1.88
	怀北	3113	4	0.95
	九渡河	3113	4	1.35
	渤海	怀九	10	0.43
	渤海	怀黄	10	0.31
	九渡河	怀黄	10	0.82
	雁栖	3113	10	0.84
FB_2	渤海	怀九	3	2.75
	九渡河	3113	4	11.45
FB_3	渤海	怀九	3	3.28
	九渡河	3113	4	0.76
STC	雁栖	怀九	3	0.75

2.9　共污染状况分析

当贮藏到一定时间后，所有样品均出现了共污染状况，具检出的真菌毒素种类为 2~6 种，具体见表 9。17 件样品中有 1 件样品渤海镇的 3113 同时检出 2 种。渤海镇的怀黄、怀北镇的怀黄、九渡河镇的 3113、九渡河镇的怀黄、雁栖镇的怀黄还有怀柔原生品种花花均同时检出 3 种。6 件样品渤海镇的怀九和燕红、怀北镇的怀九、雁栖镇的 3113 和燕红同时检出 4 种真菌毒素。怀北镇的 3113、九渡河镇的怀九和燕红、雁栖镇的怀九 4 件样品同时检出 5 种真菌毒素。怀北镇的燕红检出真菌毒素最多为 6 种。

表 9　共污染真菌毒素种类表
Table 9　List of Co-occurrence of mycotoxins

采样地点-品种	毒素种类	真菌毒素
渤海-3113	2	NIV-OTA-AME-OTA
渤海-怀黄	3	TEN-OTA-FB_1-TEN-NIV-OTA
渤海-怀九	4	TEN-TeA-OTA-FB_1
渤海-燕红	4	TEN-TeA-NIV-OTA
怀北-3113	5	TEN-AOH-TeA-AME-OTA
怀北-怀黄	3	TEN-TeA-OTA
怀北-怀九	4	TEN-AOH-AME-OTA
怀北-燕红	6	TEN-AOH-TeA-NIV-AME-OTA
九渡河-3113	3	AOH-TeA-OTA
九渡河-怀黄	3	TeA-OTA-FB_1-TeA-NIV-OTA
九渡河-怀九	5	TEN-AOH-NIV-AME-OTA
九渡河-燕红	5	AOH-TeA-NIV-AME-OTA
雁栖-3113	4	AOH-TeA-AME-OTA
雁栖-怀黄	3	ZEN-AME-OTA
雁栖-怀九	5	TEN-AOH-TeA-NIV-OTA
雁栖-燕红	4	TeA-NIV-AME-OTA
花花	3	TeA-NIV-AME

3　讨论与结论

本研究所有板栗样本在一年的贮藏期均未检出黄曲霉毒素，这与国内外的研究结果不一致，PIETRI 等[14]、WANG 等[30]均在板栗产品中检出了黄曲霉毒素。本研究中未检出黄曲霉毒素可能与贮藏环境有很大关系，本研究贮藏用的冷库中可能没有产生黄曲霉毒素的真菌，从而均未检出黄曲霉毒素。关于贮藏环境条件对板栗中真菌毒素的污染影响有待于进一步的研究。

本研究发现，板栗在贮藏过程中交链孢霉菌素检出率非常高，5 种交链孢霉菌素有 4 种都有检出，并且检出时间较早，目前全球不论对交链孢霉菌素污染状况的研究还是风险评估，相关数据均不够充分。且目前未看到有关板栗中交链孢霉菌素的相关研究报道。由于交链孢霉菌素可能具有一定的致癌性和生物毒性[31]，因此对板栗中交链孢霉菌素污染状况做进一步的研究具有十分重要的意义。

对样品中真菌毒素检出情况进行统计分析，计数方

法采用每件样本每检出 1 种真菌毒素统计检出 1 个真菌毒素。以采样地区进行统计，渤海镇共检出 66 个，怀北镇检出 74 个，九渡河镇检出 73 个以及雁栖镇检出 79 个。从检出的数量分析差异并不大。除 AOH 在渤海镇所有样本中均未检出外，STC 仅在雁栖镇怀九 1 件样品中检出外，其余 TeA、AME、TEN、ZEN 和 FBs 均在 4 个镇采集的板栗样本中检出，因此无法得出板栗种植地域的不同对种毒素污染种类的分布有确切相关性的结论。关于采样不同地域对板栗中真菌毒素污染状况的影响还需持续采样和分析。

以不同品种为统计单位，检出真菌毒素数量最多的是雁栖的怀九为 33 个，渤海镇 3113 检出真菌毒素数量最少为 8 个，花花检出 9 个。同一个地区的 4 个品种相比，3113 检出相对较少，而怀九样品相对检出最多。从总体对各个品种进行统计分析，4 个地区的 3113 品种板栗贮藏期共检出 56 个，怀黄品种检出 68 个，怀九品种检出 110 个，燕红品种检出 88 个。早熟期和晚熟期的品种检出数量相对较少，而中熟期的怀九则检出数量较多。

随着贮藏时间的延长，板栗中真菌毒素的含量总体呈上升趋势。贮藏前 6 个月真菌毒素的检出率均相对较低，后 6 个月检出率迅速增加。以每个地方的每个品种为一个统计单位，共有 4 个地区，每个地区 3113、怀九、怀黄和燕红 4 个品种，以及本地品种花花，共计 17 件样品。前 6 个月每个月检出 4~5 件，到第 7 个月真菌毒素检出增至 12 件，从第 9 个月起 17 件样品就均有检出，一直延续到贮藏 12 个月。这与 DONIS-GONZALEZ 等[10]的研究结果趋势一致。因此，从真菌毒素的产生角度来看，建议每年板栗在 9~10 月份成熟采摘后放入冷库进行保鲜贮藏，最长贮藏时间以 6 个月最佳。

此外板栗在贮藏过程中明显存在多种真菌毒素共污染的状况，以每件样本每检出 1 种真菌毒素统计检出 1 个真菌毒素。当贮藏了一个月，就检出 2 个真菌毒素，从第 7 个月开始检出数量激增，从 7 个增加到 21 个，增长到原来的 3 倍。后期也呈增长趋势，最后 17 件样品检出 56 个，平均每件样品检出 3.4 个真菌毒素，这与彭子欣等[32]对我国熟制坚果中真菌毒素污染状况的分析结果一致。虽然检出的每种真菌毒素从单一角度来分析都没有超过国际及国家的有关限量标准，但当同时存在多种真菌毒素对人体的潜在危害程度和对板栗品质的影响需要做进一步的研究。采用多种算法如 Apriori 等[33]，对板栗中多种真菌毒素指标之间的关联性进行研究，分析真菌毒素之间共污染的关系特征，为多毒素的联合风险评估提供理论依据。

参考文献

[1] 乔艳杰, 刘巍, 吴瑞刚, 等. 北京市板栗产业发展问题及对策研究[J]. 中国果树, 2024(6): 125–129.
QIAO YJ, LIU W, WU RG, *et al*. Research on the development issues and countermeasures of chestnut industry in Beijing [J]. China Fruits, 2024(6): 125–129.

[2] 李志朋. 怀柔区板栗黄化皱缩病发生相关因子调查及综合防控示范[J]. 中国植保导刊, 2020, 40(10): 65–70.
LI ZM. Investigation and comprehensive prevention demonstration of factors related to chestnut yellowing and shrinkage disease in Huairou District [J]. China Plant Protection, 2020, 40(10): 65–70.

[3] 溢彩. 板栗之冠——怀柔板栗[J]. 中国果菜, 2016, 35(1): 29.
YI C. The crown of chestnuts-Huairou chestnuts [J]. China Fruit & Vegetable, 2016, 35(1): 29.

[4] 吴圆梦, 彭梦雪, 胡海宁, 等. 北京市怀柔区板栗种植与加工技术[J]. 现代农业科技, 2018(7): 90–93.
WU YM, PENG MX, HU HN, *et al*. Planting and processing technology with Huairou chestnut [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2018(7): 90–93.

[5] KABAK B. Aflatoxins in hazelnuts and dried figs: Occurrence and exposure assessment [J]. Food Chemistry, 2016, 211: 8–16.

[6] ZHOU J, ZHANG DD, CHEN XH, *et al*. Investigation on the occurrence and contamination of multi- mycotoxin in chestnut and jujube (red date) [J]. Journal of Chromatography A, 2021(165): 462486.

[7] PRENCIPE S, SICILIANO I, GATTI C, *et al*. Several species of *Penicillium* isolated from chestnut flour processing are pathogenic on fresh chestnuts and produce mycotoxins [J]. Food Microbiology, 2018, 76: 396–404.

[8] OVERY DP, SEIFERT KA, SAVARD ME, *et al*. Spoilage fungi and their mycotoxins in commercially marketed chestnuts [J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 88(1): 69–77.

[9] BERTUZZI T, RASTELLI S, PIETRI A. *Aspergillus* and *Penicillium* toxins in chestnuts and derived products produced in Italy [J]. Food Control, 2015, 50: 876–880.

[10] DONIS-GONZALEZ I, MEDINA-MORA R, MANDUJANO M, *et al*. The presence of mycotoxins after ninety days of storage in fresh chestnuts [J]. Acta Horticulturae, 2009, 844, 69–74.

[11] SVEN D, WINKLER J. Invited review: Diagnosis of zearalenone (ZEN) exposure of farm animals and transfer of its residues into edible tissues (carry over) [J]. Food & Chemical Toxicology An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2015, 84: 225–249.

[12] ALEXANDRA H, LEWIS B. Comparative ochratoxin toxicity: A review of the available data [J]. Toxins, 2015, 7(10): 4253–4282.

[13] 郭耀东, 刘艺茹, 袁亚宏, 等. 我国主要食品中伏马菌素污染水平分析与风险评估[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2014, 42(1): 78–82, 88.
GUO YD, LIU YR, YUAN YH, *et al*. Fumonisins contamination in major food products and its dietary risk assessment in China [J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2014, 42(1): 78–82, 88.

[14] PIETRI A, RASTELLI S, MULAZZI A, *et al*. Aflatoxins and ochratoxin A in dried chestnuts and chestnut flour produced in Italy [J]. Food Control,

2012, 25(2): 601–606.

[15] SO YW, SANG YL, SU BP, *et al*. Simultaneous determination of 17 regulated and non-regulated *Fusarium* mycotoxins co-occurring in foodstuffs by UPLC-MS/MS with solid-phase extraction [J]. Food Chemistry, 2024(438): 137624.

[16] CAO MR, WANG J, WANG MT, *et al*. Simultaneous detection of 22 mycotoxins in grape by QuEChERS and ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole/orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. Journal of Future Foods, 2024, 4(4): 369–375,

[17] LIJALEM YG, GAB-ALLAH MA, YU H, *et al*. Development of isotope dilution- ultrahigh- performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for the accurate determination of aflatoxins in grains [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2024, 2024: 126.

[18] 张烁, 周爽, 裴晓燕, 等. 免疫亲和柱结合超高效液相色谱-串联质谱法测定牛奶中的 16 种真菌毒素比较研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(3): 234–242.
ZHANG S, ZHOU S, PEI XY, *et al*. Comparative study of immunoaffinity columns combined with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determination of 16 kinds of mycotoxins in milk [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(3): 234–242.

[19] 王清章. 板栗贮藏加工的现状分析与生产建议[J]. 湖北农业科学, 1999(1): 44–46.
WANG QZ. Analysis of the current status and production suggestions for chestnut storage and processing [J]. Hubei Agricultural Sciences, 1999(1): 44–46.

[20] 杨洁茹, 陈晖, 张雯雯, 等. 漂白紫胶/海藻酸钠复合涂膜对板栗贮藏保鲜效果的影响[J]. 包装工程, 2024, 45(15): 134–141.
YANG JR, CHEN H, ZHANG WW, *et al*. Effect of bleached shellac/sodium alginate composite coating on storage and preservation of chestnuts [J]. Packaging Engineering, 2024, 45(15): 134–141.

[21] FERNANDES AB. Assessing the effects of gamma irradiation and storage time in energetic value and in major individual nutrients of chestnuts [J]. Food and Chemical Toxicology, 2011, 49(9): 2429–2432.

[22] FAN YL, DUAN JL, XU ZY, *et al*. Combination of 3',4',5,7-tetrahydroxy isoflavone and active modified atmosphere packaging inhibits yellowing, maintains quality, and prolongs shelf life of fresh peeled water chestnuts (*Eleocharis dulcis*) [J]. Postharvest Biology and Technology, 2023(204): 112422.

[23] 郜海燕, 陈杭君, 杨剑婷, 等. 改良微气调沙藏法贮藏板栗的研究[J]. 保鲜与加工, 2003(3): 13–15.
GAO HY, CHEN HJ, YANG JT, *et al*. Study on modified minimum control atmosphere of sanf storage in chestnut [J]. Storage and Process, 2003(3): 13–15.

[24] 陈秋怡, 王雪菲, 邵颖, 等. 六种保鲜方式对板栗贮藏特性的影响[J]. 黑龙江粮食, 2023, (4): 77–79, 10.
CHEN QY, WANG XF, SHAO Y, *et al*. The influence of six preservation methods on the storage characteristics of chestnuts [J]. Heilongjiang Grain, 2023(4): 77–79, 10.

[25] 王远, 邢丽杰, 李先义, 等. UPLC-MS/MS 法测定番茄酱中 5 种链格孢霉毒素[J]. 食品工业, 2021, 42(7): 323–327.
WANG Y, XING LJ, LI XY, *et al*. Determination of five alternaria toxins in tomato ketchup using UPLC-MS/MS [J]. The Food Industry, 2021, 42(7): 323–327.

[26] 王权帅, 孙卫明. 同位素内标-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定板栗中 16 种真菌毒素[J]. 食品科技, 2021, 46(11): 307–313.
WANG QS, SUN WM. Simultaneous determination of 16 kinds of mycotoxins in chestnut using isotope internal standard-ultra performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. Food Science and Technology, 2021, 46(11): 307–313.

[27] NOSER J, SCHNEIDER P, ROTHER M, *et al*. Determination of six alternaria toxins with UPLC-MS/MS and their occurrence in tomatoes and tomato products from the Swiss market [J]. Mycotoxin Research, 2011, 27(4): 265–271.

[28] PRELLE A, SPADARO D, GARIBALDI A, *et al*. A new method for detection of five alternaria toxins in food matrices based on LC-APCI-MS [J]. Food Chemistry, 2013, 140(1): 161–167.

[29] 谢继安, 刘柏林, 赵紫微, 等. 小麦粉中细交链孢菌酮酸和腾毒素标准物质的研制[J]. 中国食品卫生杂志, 2021, 33(6): 716–722.
XIE JAN, LIU BL, ZHAO ZW, *et al*. Preparation and certification of wheat flour reference material for tenuazonic acid and tentoxin using isotope dilution-liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2021, 33(6): 716–722.

[30] WANG YJ, NIE JY, ZHEN Y, *et al*. Occurrence and co-occurrence of mycotoxins in nuts and dried fruits from China [J]. Food Control, 2018(88): 181–189.

[31] 毕珊, 吴玉田, 杨绍群, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定葵花籽中 4 种交链孢霉毒素的含量[J]. 理化检验-化学分册, 2023, 59(9): 1008–1013.
BI S, WU YT, YANG SQ, *et al*. Determination of 4 alternaria mycotoxins in sunflower seeds by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2023, 59(9): 1008–1013.

[32] 彭子欣, 杨欣, 李莹, 等. 我国熟制坚果与籽类食品中霉菌及其毒素污染状况研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2023, 35(10): 1460–1467.
PENG ZX, YANG X, LI Y, *et al*. Mold and mycotoxin contamination in cooked nuts and seeds in China [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2023, 35(10): 1460–1467.

[33] 薛文博, 王小丹, 李明璐, 等. 基于 Apriori 算法的小麦中多组分真菌毒素污染的关联规则挖掘[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(3): 451–458.
XUE WB, WANG XD, LI ML, *et al*. Association rule mining of multicomponent mycotoxins contamination in wheat based on Apriori algorithm [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2022, 34(3): 451–458.

(责任编辑: 韩晓红　于梦娇)