

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. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020050057

TAN Li, MENG Fanlei, FAN Hong, et al. Determination of 9 Kinds of Mycotoxins in Maize by Ultra Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(7): 240–245. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020050057

· 分析检测 ·

# 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

谭 莉<sup>1</sup>, 孟繁磊<sup>1</sup>, 范 宏<sup>1</sup>, ANNA Nowacka<sup>2</sup>, 魏春雁<sup>1,\*</sup>

(1. 吉林省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所/农业农村部农产品

质量安全风险评估实验室(长春), 吉林长春 130033;

2. 波兰国立植物保护研究所, 波兹南 60-318)

**摘要:** 为高效检测玉米中的生物毒素, 采用 80% 乙腈-0.1% 甲酸水溶液提取、QuEChERS 法净化、甲醇-0.1% 甲酸+5 mmol/L 甲酸铵水溶液经 C<sub>18</sub> 柱梯度洗脱分离、电喷雾正负离子同时扫描并多反应监测模式采集数据的综合方法, 对玉米中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、伏马毒素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>、呕吐毒素、3-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇、15-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇及玉米赤霉烯酮 9 种真菌毒素进行同时测定。结果表明, 9 种真菌毒素在 0.25~250 μg/L 浓度范围内线性关系良好, 相关系数均在 0.9999 以上, 检出限在 0.079~1.8 μg/kg 之间, 定量限在 0.26~6.0 μg/kg 之间, 回收率在 80.2%~113.8% 之间, 相对标准偏差 ≤ 7.7%。用该方法同时检测吉林省 240 份玉米样品中 9 种真菌毒素, 其中未检测出黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>, 但其它 7 种毒素均有检出, 其中 ZEN 检出率最小, 为 14.6%, FB<sub>2</sub> 检出率最大, 达到 98.3%。本方法操作简单、灵敏度高、重现性好, 结果准确, 适用于玉米中多组分真菌毒素同时检测。

**关键词:** 超高效液相色谱-串联质谱法, 玉米, 真菌毒素

中图分类号: TS213.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)07-0240-06

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020050057

## Determination of 9 Kinds of Mycotoxins in Maize by Ultra Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

TAN Li<sup>1</sup>, MENG Fanlei<sup>1</sup>, FAN Hong<sup>1</sup>, ANNA Nowacka<sup>2</sup>, WEI Chunyan<sup>1,\*</sup>

(1. Institute of Agricultural Quality Standard and Testing Technology, Jilin Academy of Agricultural Sciences/Risk Assessment Lab of Agri-products Quality and Safety (Changchun),

Agriculture Ministry of P.R.C, Changchun 130033, China;

2. Institute of Plant Protection, National Research Institute, Poznan 60-318, Poland)

**Abstract:** In order to effectively detect the biological toxins in maize, 80% acetonitrile -0.1% formic acid aqueous solution extraction, QuEChERS purification, methanol -0.1% formic acid +5 mmol/L ammonium formate aqueous solution using C<sub>18</sub> column and gradient elution separation, electrospray positive and negative ions simultaneous scanning, and multiple reaction monitoring mode synthesis method of gathering data were applied to simultaneously determine nine mycotoxins including aflatoxin B<sub>1</sub>, aflatoxin B<sub>2</sub>, fumonisin B<sub>1</sub>, fumonisin B<sub>2</sub>, fumonisin B<sub>3</sub>, vomitoxin, 3-acetyl-deoxynivalenol, 15-acetyl-deoxynivalenol and zearalenone. Results showed that, the linear relationship of 9 kinds of mycotoxins were good in the concentration range of 0.25~250 μg/L, the correlation coefficient was above 0.9999, the detection limit was 0.079~1.8 μg/kg, the quantitative limit was 0.26~6.0 μg/kg, the recovery rate was 80.2%~113.8%, the relative standard deviation ≤ 7.7%. Nine mycotoxins were detected in 240 maize samples in Jilin province by this method, in which the aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>

收稿日期: 2020-05-08

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(20180414076GH); 国家农产品质量安全风险评估项目(GJFP2019004)。

作者简介: 谭莉(1991-), 女, 硕士, 主要从事农产品质量安全检测技术方面的研究, E-mail: litan1235@163.com。

\* 通信作者: 魏春雁(1962-), 女, 博士, 研究员, 主要从事农产品质量安全方面的研究, E-mail: weichy@yeah.net。

were not detected, but the other seven toxins were detected. The detection rate of zearalenone was the lowest (14.6%) and FB<sub>2</sub> was the highest (98.3%). This method is simple, sensitive, reproducible and accurate. It is suitable for the simultaneous determination of mycotoxins in maize.

**Key words:** UPLC-MS/MS; maize; mycotoxins

真菌毒素(Mycotoxin)又称霉菌毒素,是真菌在适宜的环境条件下产生的有毒次级代谢产物<sup>[1]</sup>,粮食在生长期、收获期和储存期都可能被真菌毒素污染,直接或间接进入人类食物链中,威胁人类健康<sup>[2-3]</sup>。黄曲霉毒素(Aflatoxins, AFT)是迄今发现的毒性最强的一类真菌毒素,主要由黄曲霉和寄生曲霉产生,AFTB<sub>1</sub>、AFTB<sub>2</sub>、AFTG<sub>1</sub> 和 AFTG<sub>2</sub> 四种是其重要的代表性成分,其中, AFTB<sub>1</sub> 的毒性最强<sup>[4]</sup>。伏马毒素(Fumonisins, FB)主要是由串珠镰刀菌属真菌产生的一类强毒和致癌性的真菌毒素,FB<sub>1</sub>、FB<sub>2</sub>、FB<sub>3</sub> 是其代表性成分,其中,毒性最强的 FB<sub>1</sub> 是其主要成分<sup>[5]</sup>。呕吐毒素(又名脱氧雪腐镰刀菌烯醇 Deoxynivalenol, DON)和玉米赤霉烯酮(Zearalenone, ZEN)主要由镰刀菌属真菌产生,是目前为止对粮食污染最普遍的毒素<sup>[6-7]</sup>。真菌毒素污染是全球性问题,有研究对来自全球 72 个国家的 18757 个农产品样品进行筛查,发现部分样品受到不同程度的真菌污染,其中,我国样品中 FB、AFTB、ZEN 和 DON 等检出率均超过 25%,并且存在混合污染现象<sup>[8-9]</sup>。严格控制这些真菌对玉米等粮油作物及其他农产品的污染,是保障人类健康的必然要求<sup>[10]</sup>。

开发玉米等农产品中真菌毒素高效检测技术,是掌握玉米等农产品中真菌毒素污染水平的重要手段,是为玉米等农产品生产中疫情监测和适宜防疫措施的建立提供的一种有力技术支持,对玉米等产业持续健康发展具有重要作用。目前,真菌毒素的检测方法主要有液相色谱法<sup>[11-12]</sup>、荧光光度法<sup>[13-14]</sup>、酶联免疫吸附法<sup>[15-16]</sup>、薄层色谱法<sup>[17-18]</sup>和液相色谱-串联质谱法<sup>[19-20]</sup>等。样品中真菌毒素净化方法一般用免疫亲和柱等净化柱进行固相萃取,不仅存在过程繁琐,成本较高等问题,并且在检测过程中同时测定毒素种类较少;而本文综合利用 UPLC-MS/MS 和 QuEChERS 法的优势,在相关研究的基础上,建立了快速准确的测定玉米中 9 种真菌毒素的方法。

本文借助超高效液相色谱-串联质谱仪,通过对提取方法的改进,以及对色谱、质谱条件优化降低基质干扰,旨在建立玉米中 AFTB<sub>1</sub>、AFTB<sub>2</sub>、FB<sub>1</sub>、FB<sub>2</sub>、FB<sub>3</sub>、DON、15-ADON、3-ADON 和 ZEN 9 种真菌毒素同时检测的一种高效方法,为玉米等农产品中真菌毒素的检测、污染监测及风险评估提供技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

待测玉米样品 2019 年秋收时节采集自吉林省,共 240 份;空白玉米样品 本实验室 2018 年检

测并留存的无生物毒素污染的玉米样品 1 份;标准物质 AFTB<sub>1</sub>(2.02 μg/mL)、AFTB<sub>2</sub>(0.502 μg/mL)、ZEN(100.2 μg/mL)、FB<sub>1</sub>(50.1 μg/mL)、FB<sub>2</sub>(50.0 μg/mL)、FB<sub>3</sub>(50.3 μg/mL)、DON(100.0 μg/mL)、15-ADON(100.1 μg/mL) 和 3-ADON(100.3 μg/mL)

ROMER 公司;乙腈、甲醇、甲酸 色谱级,美国 Thermo Fisher 公司;萃取包填料为 4 g 无水硫酸镁、1 g 氯化钠、1 g 柠檬酸钠二水合物和 0.5 g 柠檬酸二钠 美国 Agilent 公司。

QTRAP 5500 质谱仪 美国 AB Sciex 公司;LC-30A 超高效液相色谱仪 日本 Shimadzu 公司;GENIUS 3 涡旋混匀器 德国 IKA 公司;MULTIFUGE X3R 离心机 美国 Thermo Fisher 公司;HZQ-C 空气浴振荡器 东联电子技术开发有限公司;FW-100 高速万能粉碎机 北京市永光明医疗仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 样品前处理 取玉米试样,高速粉碎机粉碎过 18 目筛子,混匀,称取 2.00 g 于 50 mL 离心管内,加入 20 mL 80% 乙腈-0.1% 甲酸水溶液,恒温振荡器内振荡提取 30 min,加入萃取包,振摇 2 min 净化,10000 r/min 离心 5 min,取上清液 2.0 mL 于试管内,50 °C 水浴氮吹至近干,用 1.0 mL 甲醇-水溶液(v/v=1:1)溶解,涡旋 1 min,过 0.22 μm 滤膜于样品瓶内,待上机。

#### 1.2.2 标准溶液的配制

1.2.2.1 单标溶液的配制 移取 FB<sub>1</sub>、FB<sub>2</sub>、FB<sub>3</sub> 标准物质各 10 μL, DON、15-ADON、3-ADON 和 ZEN 标准物质各 5 μL 分别用甲醇定容到 10 mL 容量瓶内,移取 AFTB<sub>1</sub> 标准物质 120 μL 用甲醇定容到 5 mL 容量瓶内,移取 AFTB<sub>2</sub> 标准物质 200 μL 用甲醇定容到 2 mL 容量瓶内,即:将 9 种真菌毒素分别配制成 50 μg/L 的单标溶液。

1.2.2.2 混合标准中间液的配制 取 10 mL 容量瓶 1 只,分别准确移入 FB<sub>1</sub>、FB<sub>2</sub> 和 FB<sub>3</sub> 标准品溶液各 100 μL,配制浓度为 0.50100、0.50000、0.50300 μg/mL;移入 DON、15-ADON、3-ADON 和 ZEN 标准品溶液各 50 μL,配制浓度为 0.50020、0.50020、0.50060 μg/mL;移入 AFTB<sub>1</sub> 标准品溶液 200 μL,配制浓度为 0.04004 μg/mL;AFTB<sub>2</sub> 标准品溶液 400 μL,配制浓度为 0.02008 μg/mL;用甲醇定容至刻度,−20 °C 保存备用。

1.2.2.3 混合标准工作液的配制 取空白玉米样品,按照 1.2.1 项处理,得到空白玉米基质提取液,根据

9种毒素在质谱中的响应值,用空白基质配制  $\text{FB}_1$ 、 $\text{FB}_2$ 、 $\text{FB}_3$ 、DON、15-ADON、3-ADON 和 ZEN 质量浓度为 6.25、31.25、62.5、125、250  $\mu\text{g}/\text{L}$ , AFTB<sub>1</sub> 质量浓度为 0.5、2.5、5、10、20  $\mu\text{g}/\text{L}$ , AFTB<sub>2</sub> 质量浓度为 0.25、1.25、2.5、5、10  $\mu\text{g}/\text{L}$  的混合标准工作溶液, 现用现配。

**1.2.2.4 标准曲线绘制** 采用空白玉米样品提取溶液分别配制成系列基质对照品溶液。其中  $\text{FB}_1$ 、 $\text{FB}_2$ 、 $\text{FB}_3$ 、DON、15-ADON、3-ADON 和 ZEN 浓度为 6.25~250  $\mu\text{g}/\text{L}$ , AFTB<sub>1</sub> 浓度为 0.5~20  $\mu\text{g}/\text{L}$ , AFTB<sub>2</sub> 浓度为 0.25~10  $\mu\text{g}/\text{L}$ , 以毒素浓度(X)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标, 拟合标准曲线。

### 1.2.3 仪器条件

**1.2.3.1 色谱条件** 色谱柱:  $\text{C}_{18}$ (2.1 mm × 100 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ); 柱温: 40 °C; 流速: 0.3 mL/min; 进样量: 3  $\mu\text{L}$ ; 流动相: A-0.1% 甲酸+5 mmol/L 甲酸铵水溶液, B-甲醇; 梯度洗脱模式见表 1。

表 1 梯度洗脱程序  
Table 1 Gradient elution procedures

时间 (min)	流速 (mL/min)	甲醇 (%)	时间 (min)	流速 (mL/min)	甲醇 (%)
0	0.3	10.0	10.5	0.3	60.0
2.0	0.3	10.0	13.5	0.3	60.0
3.0	0.3	20.0	14.5	0.3	95.0
4.0	0.3	21.0	17.0	0.3	95.0
5.0	0.3	26.0	18.0	0.3	10.0
7.0	0.3	26.0	20.0	0.3	10.0

**1.2.3.2 质谱条件** 离子源为 ESI 源; 扫描方式: Scheduled MRM™ 采集模式, 正负离子同时扫描; 离子化电压: 正模式 5500 V, 负模式-4500 V; 气帘气 30 Psi; 雾化温度: 550 °C; 雾化气: 55 Psi; 辅助气: 55 Psi。

### 1.3 数据处理

采用 Analyst Softwaer 软件进行采集数据; 用 MultiQuant 3.0.2 软件进行处理, 本文所用数据平行及重复次数、数据表示形式、统计学分析方法、显著

性水平均采用 Excel 办公软件; 绘图软件采用 Origin8.0 软件处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 仪器条件优化

**2.1.1 质谱条件优化** 将 9 种真菌毒素单标溶液, 分别通过针泵直接注射进入质谱中, 测定其正负模式下质谱信号强度, 确定各个毒素的母离子质量数。通过优化可知, AFTB<sub>1</sub>、AFTB<sub>2</sub>、 $\text{FB}_1$ 、 $\text{FB}_2$ 、 $\text{FB}_3$ 、DON、3-ADON 和 15-ADON 在正模式下  $[\text{M}+\text{H}]^+$  灵敏度最高, 而 ZEN 在正模式下  $[\text{M}-\text{H}]^-$  离子响应值大。确定母离子后, 对母离子进行全扫描分析二级质谱图, 确定其子离子, 最后对碰撞能量(CE)和去簇电压(DP)优化, 确定 9 种真菌毒素质谱条件如表 2。

在一次进样过程中, 为了监测更多的离子对, 采用 Scheduled MRM™ 采集模式, 预设保留时间, 在短时间窗口内采集单个离子对, 使每个分析物的占空比大大增加, 结合快速级性转换, 实现了一次进样, 正负模式同时采集, 缩短了样品的分析时间。

**2.1.2 色谱条件优化** 选择  $\text{C}_{18}$  色谱柱为分离柱; 通过对比等度洗脱和梯度洗脱模式, 最终优化出在梯度洗脱模式下, 使色谱峰分离效果好; 并分别使用甲醇和乙腈分离这 9 种真菌毒素, 结果显示, 在甲醇溶液中加入 0.1% 甲酸和 5 mmol/L 甲酸铵, 有利于被分析组分离子化; 3-ADON 和 15-ADON 在色谱中保留时间相同, 但质谱条件不同, 不影响定性定量分析, 而  $\text{FB}_2$  和  $\text{FB}_3$  在质谱中的母离子和子离子相同, 在色谱中却得到很好分离, 因而也不影响定性定量分析(图 1)。

### 2.2 方法学考察

**2.2.1 方法的线性范围、检出限及定量限** 以毒素质量浓度(X)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标, 拟合标准曲线, 列于表 3。9 种真菌毒素在相对应的线性范围内, 线性关系良好, 相关系数均大于 0.9999。

当信噪比 S/N=3 时确定检出限(LOD), 信噪比 S/N=10 时确定定量限(LOQ), ZEN 检出限为 0.73  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限为 2.4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; AFTB<sub>2</sub> 和 AFTB<sub>1</sub> 的检

表 2 质谱条件

Table 2 Mass spectrum conditions

毒素	扫描模式	保留时间(min)	监测离子对	碰撞能量CE(V)	去簇电压DP(V)
AFTB <sub>1</sub>	正	4.0	313/285*; 313/241	31; 49	150
AFTB <sub>2</sub>	正	3.7	315/287*; 315/259	35; 39	150
ZEN	负	6.9	317/175*; 317/131	-32; -38	-140
DON	正	1.9	297/203*; 297/249	22; 16	110
3-ADON	正	2.7	339/203*; 339/231	20; 16	120
15-ADON	正	2.7	339/137*; 339/231	11; 16	120
$\text{FB}_1$	正	5.6	723/334*; 723/352	55; 50	150
$\text{FB}_2$	正	6.9	706/336*; 706/318	50; 55	150
$\text{FB}_3$	正	7.6	706/336*; 706/318	50; 48	150

注: \*表示定量离子。

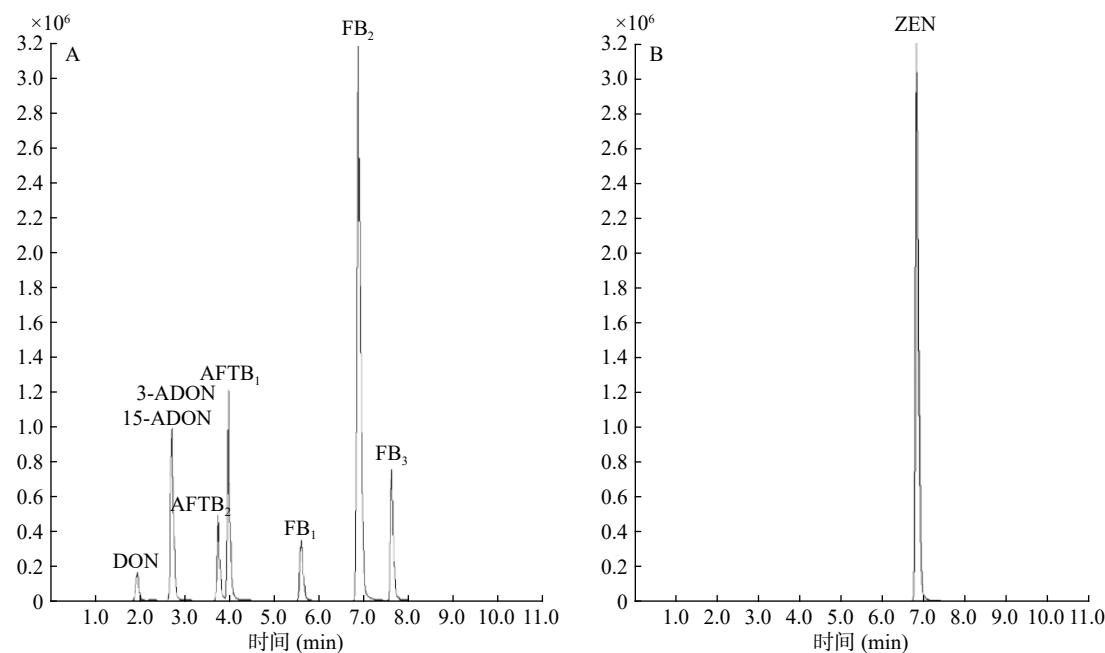


图 1 9 种真菌毒素离子流图

Fig.1 Ion flow diagram of 9 fungal toxins

注: A 为 8 种真菌毒素混合标准溶液总离子流图, B 为 ZEN 标准溶液离子流图。

表 3 方法的线性范围、检出限及定量限

Table 3 Linear range, detection limit and quantitative limit of the method

毒素	标准曲线	线性范围(μg/L)	相关系数(r)	LOD(μg/kg)	LOQ(μg/kg)
ZEN	Y=3003.6 X+4.1×10 <sup>4</sup>	6.25~250	0.99998	0.73	2.4
AFTB <sub>2</sub>	Y=11183.3 X-2731.5	0.25~10	0.99995	0.079	0.26
AFTB <sub>1</sub>	Y=15592.1 X-5794.9	0.50~20	0.99997	0.14	0.48
FB <sub>1</sub>	Y=371.1 X-6009.7	6.25~250	0.99991	1.3	4.3
FB <sub>2</sub>	Y=551.1 X-6475.4	6.25~250	0.99995	0.26	0.86
FB <sub>3</sub>	Y=477.3 X-6153.3	6.25~250	0.99993	1.8	6.0
DON	Y=120.9 X-519.0	6.25~250	0.99993	1.4	4.6
3-ADON	Y=339.3 X-1819.6	6.25~250	0.99998	1.1	3.8
15-ADON	Y=355.4 X-1652.3	6.25~250	0.99999	1.1	3.8

出限分别为 0.079、0.14 μg/kg, 定量限为 0.26 和 0.48 μg/kg; FB<sub>1</sub>、FB<sub>2</sub>、FB<sub>3</sub> 的检出限依次为 1.3、0.26、1.8 μg/kg, 定量限为 4.3、0.86、6.0 μg/kg; DON、3-ADON 和 15-ADON 的检出限为 1.4、1.1、1.1 μg/kg, 定量限为 4.6、3.8、3.8 μg/kg, 结果见表 3。

2.2.2 方法的准确度及精密度 取空白玉米基质, 加入不同浓度的混合标准工作溶液, 平行测定 6 次, 计算平均回收率和相对标准偏差, 结果见表 4。9 种真菌毒素平均回收率在 80.2%~113.8% 之间, RSD 在 0.2%~7.7% 之间, 表明该方法准确度和精密度均较好, 达到欧盟法规要求<sup>[21]</sup>。

2.2.3 基质效应 分别测定空白玉米基质提取液配制的混合标准工作液和 50% 甲醇水溶液配制的混合标准工作液, 计算峰面积比可得到 9 种真菌毒素的基质效应值。计算公式如下:

$$ME = \frac{Am}{As} \times 100$$

表 4 9 种真菌毒素平均回收率和精密度(n=6)

Table 4 Average recovery and precision of 9 mycotoxins (n=6)

毒素	添加量(μg/kg)	平均值(μg/kg)	回收率(%)	RSD(%)
ZEN	250	255.8	102.3	7.7
AFTB <sub>2</sub>	10	8.3	83.4	0.2
AFTB <sub>1</sub>	20	19.2	95.6	0.5
FB <sub>1</sub>	250	227.6	80.2	2.2
FB <sub>2</sub>	250	253.9	101.5	0.8
FB <sub>3</sub>	250	244.9	97.9	2.9
DON	250	268.4	107.4	7.3
3-ADON	250	284.4	113.8	5.4
15-ADON	250	272.3	108.9	7.6

式中: ME: 基质效应(%); Am: 空白基质配制的混合标准溶液色谱峰面积; As: 50% 甲醇水溶液配制的混合标准溶液色谱峰面积。

当 ME=100% 时, 没有基质效应; 当 ME<100% 时, 为基质抑制效应; ME>100% 时, 为基质增强效应。实际检测过程中, 很难存在 ME=100% 的

理想状态, ME 在 85%~115% 之间时, 即认定为基质效应不明显。

图 2 给出的是 9 种真菌毒素基质效应结果。由图 2 可知, 9 种真菌毒素均具有基质效应, 其中  $\text{FB}_1$ 、 $\text{FB}_2$ 、 $\text{FB}_3$  和 15-ADON 基质效应分别为 110.05%、106.96%、107.67% 和 89.29% 均在 85%~115% 之间, 表明基质效应不明显; DON 基质效应为 125.57%, 只有 DON 为基质增强效应, 而 ZEN、AFTB<sub>1</sub>、AFTB<sub>2</sub>、3-ADON 基质效应分别为 63.87%、71.34%、56.68% 和 83.85%, 基质效应均小于 85%, 表现基质抑制效应, AFTB<sub>2</sub> 的抑制效应最强。在实际检测过程中, 应选用空白玉米基质提取液配制标准溶液, 外标法定量来降低基质抑制效应的影响。

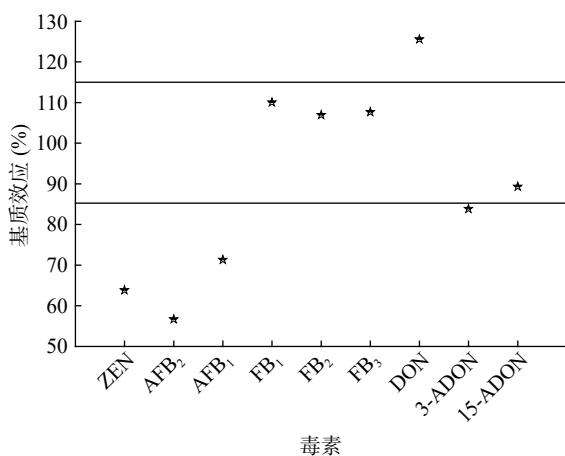


图 2 9 种真菌毒素基质效应散点图

Fig.2 Scatter plots of matrix effects of 9 mycotoxins

2.2.4 与国标仪器方法对比 取空白玉米基质溶液, 按 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  加标, 制成阳性样品, 分别按照 GB 5009.240-2016《食品中伏马毒素的测定》<sup>[22]</sup>、GB 5009.22-2016《食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》<sup>[23]</sup>、GB 5009.209-2016《食品中玉米赤霉烯酮的测定》<sup>[24]</sup>、GB 5009.111-2016《食品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇及其乙酰化衍生物的测定》<sup>[25]</sup> 中的液相色谱-串联质谱法和本法进行测定, 平行测定 6 次。结果见表 5。比较发现, 本方法与国标方法检测结果没有显著性差异 ( $P>0.05$ ), 表明本方法既准确可靠, 切实可行, 又操作更简单、用时更短、效率更高(同时检测 9 种成分)。

2.2.5 样品检测 应用本法对吉林省产 240 份玉米样品进行检测, 结果发现, 240 份样品中, AFTB<sub>1</sub> 和 AFTB<sub>2</sub> 未有检出, 但不同程度检出 ZEN、DON、3-ADON、15-ADON、 $\text{FB}_1$ 、 $\text{FB}_2$  和  $\text{FB}_3$ , 其中 ZEN 检出率为 14.6%, 含量为 9.9~13530.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; DON 检出率为 52.9%, 含量为 9.5~1806.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 3-ADON 检出率为 30.4%, 含量为 10.1~205.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 15-ADON 检出率为 45.1%, 含量为 11.0~1472.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 伏马毒素检出率最高,  $\text{FB}_1$  检出率达到 96.7%, 含量为 14.5~23270.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ;  $\text{FB}_2$  检出率为 98.3%, 含量为 29.8~5877.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ;  $\text{FB}_3$  检出率为 85.8%, 含量为

表 5 本方法与国标方法对比结果( $n=6$ )

Table 5 Comparison results between this method and GB method ( $n=6$ )

毒素	测定结果( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )		$P$
	本方法	国标方法	
AFTB <sub>1</sub>	24.36±0.92	25.53±0.95	
AFTB <sub>2</sub>	25.47±1.22	25.89±1.08	
ZEN	25.09±1.57	24.59±1.48	
DON	25.11±1.75	25.02±1.68	
3-ADON	24.70±1.31	25.12±1.14	>0.05 差异
15-ADON	24.83±1.91	24.72±1.32	不显著
$\text{FB}_1$	24.80±0.26	25.42±0.38	
$\text{FB}_2$	25.47±0.59	24.74±0.46	
$\text{FB}_3$	25.45±0.98	25.51±0.73	

17.3~3365.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 具体结果见表 6。而且一个样品中同时检出几种毒素现象较多, 表 7 给出样品中同时检测出 5 种毒素情况, 表明吉林省玉米存在真菌毒素混合污染问题。

表 6 240 份玉米样品中各毒素含量的最大值、最小值及检出率

Table 6 Maximum and minimum values and detection rates of each toxin content in 240 maize samples

毒素	最低检出值( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	最高检出值( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	检出率(%)
ZEN	9.9	13530.5	14.6
DON	9.5	1806.3	52.9
3-ADON	10.1	205.6	30.4
15-ADON	11.0	1472.2	45.1
$\text{FB}_1$	14.5	23270.1	96.7
$\text{FB}_2$	29.8	5877.1	98.3
$\text{FB}_3$	17.3	3365.5	85.8
AFB <sub>1</sub>	/	/	/
AFB <sub>2</sub>	/	/	/

注: /表示未检出。

### 3 结论

采用 QuEChERS 技术建立 UPLC-MS/MS 同时测定玉米中 9 种真菌毒素的方法, 优化了质谱色谱条件, 并通过优化提取步骤及净化方法等条件有效减少玉米样品的基质干扰。在 0.25~250  $\mu\text{g}/\text{L}$  浓度范围内 9 种真菌毒素相关系数均在 0.9999 以上, 检出限在 0.079~1.8  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之间, 定量限在 0.26~6.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之间, 回收率在 80.2%~113.8% 之间, 相对标准偏差  $\leq 7.7\%$ , 驻留时间 10 min 内, 9 种真菌毒素得到很好分离, 该方法操作简单、精密度好、灵敏度高、分析速度快, 适用于玉米中 9 种真菌毒素同时检测, 可为农产品中多组分真菌毒素污染风险评估提供参考依据。将优化后方法对 240 份玉米样品进行检测, 结果表明, 该批样品中 AFTB<sub>1</sub> 和 AFTB<sub>2</sub> 未有检出, 但不同程度检出 ZEN、DON、3-ADON、15-ADON、 $\text{FB}_1$ 、 $\text{FB}_2$ 。其中  $\text{FB}_2$  检出率最高, 达到 98.3%。表明吉林省玉米存在真菌毒素混合污染问题。

表 7 同时检测出 5 种毒素的玉米样品

Table 7 Maize samples with 5 toxins detected simultaneously

样品 编号	ZEN ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	$\text{AFB}_2$ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	$\text{AFB}_1$ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	$\text{FB}_1$ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	$\text{FB}_2$ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	$\text{FB}_3$ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	3-ADON ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	15-ADON ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
33	586.6	/	/	23270.1	55.0	89.2	26.9	126.6
34	785.8	/	/	1162.5	53.1	127.0	18.1	118.0
35	131.4	/	/	5313.0	62.6	147.7	18.0	50.2
38	13530.5	/	/	786.2	58.8	251.8	79.9	365.4
39	2621.3	/	/	1634.8	57.5	200.2	46.2	229.7
40	1008.0	/	/	2399.6	56.9	48.4	38.2	51.3
63	48.5	/	/	1008.7	61.8	172.1	177.6	764.1
69	17.5	/	/	510.9	180.6	320.2	34.4	157.9
70	31.9	/	/	2346.6	68.2	170.6	140.1	1472.2
84	1274.8	/	/	142.0	62.2	94.6	24.1	64.2
85	77.0	/	/	2617.2	59.0	40.1	18.2	59.4
86	508.1	/	/	622.9	68.4	27.9	20.4	80.9
87	106.4	/	/	3667.0	288.0	215.5	65.0	320.7
89	877.4	/	/	3122.5	336.8	275.8	62.4	304.5
90	3653.7	/	/	633.7	125.8	247.2	108.8	489.2
150	2215.5	/	/	1590.6	306.8	359.9	18.7	74.4
182	3834.2	/	/	155.3	79.4	385.4	198.9	849.3
183	203.5	/	/	2261.7	754.3	448.0	20.5	72.1
186	210.3	/	/	1867.3	764.9	485.8	24.1	17.2
187	251.0	/	/	101.5	65.6	433.4	18.6	31.7
190	1740.6	/	/	147.4	87.9	127.0	29.8	122.5
192	292.9	/	/	2661.3	1032.3	147.3	21.9	86.6
196	139.5	/	/	732.1	304.1	133.2	41.3	175.4

## 参考文献

- [1] 孟繁磊,牛红红,何智勇,等.基于 UPLC-MS-MS 技术定量确证小麦中 10 种真菌毒素[J].食品工业,2018,39(1): 149–153.
- [2] 胡琳,师真,赵丽,等.液相色谱-串联质谱法同时测定普洱茶中 16 种真菌毒素[J].浙江农业学报,2019,31(10): 1700–1708.
- [3] 稅丕容.食品中真菌毒素的污染与检测研究进展[J].现代食品,2018(13): 130–131, 136.
- [4] Junior A, Giovanni V, Giuliana M, et al. Fungal contamination and aflatoxin content of maize, moringa and peanut foods from rural subsistence farms in South Haiti[J]. Journal of Stored Products Research, 2020, 85(1): 1–8.
- [5] 马腾达,王慧玲,周凤霞,等.检测食品中伏马菌素的研究新进展[J].吉林农业,2019(12): 78.
- [6] Liu J, Sun L H, Zhang J C, et al. Aflatoxin  $\text{B}_1$ , zearalenone and deoxynivalenol in feed ingredients and complete feed from central China[J]. Food Additives & Contaminants: Part B: Surveillance, 2016, 9(2): 91–97.
- [7] Luo L J, Liu X H, Ma S, et al. Quantification of zearalenone in mildewing cereal crops using an innovative photoelectrochemical aptamer sensing strategy based on ZnO-NGQDs composites[J]. Food Chemistry, 2020, 322(4).
- [8] 兰静,赵琳,孙向东,等.我国玉米生物毒素污染现状及预防措施[J].安徽农业科学,2019,47(19): 183–185, 189.
- [9] 百奥明.2017 百奥明原料与饲料霉菌毒素检测报告[R].2018.
- [10] 谢刚.粮食污染主要真菌毒素的研究[D].成都:四川大学,2005.
- [11] 吴亚凉.免疫亲和层析净化高效液相色谱法和胶体金快速定量法测定小麦中呕吐毒素含量的比较[J].粮食与饲料工业,2018(6): 54–57.
- [12] 王韦岗,强敏,端礼钦.复合免疫亲和柱-高效液相色谱法同时测定谷物及其制品中 9 种真菌毒素[J].色谱,2018,36(12): 1330–1336.
- [13] 王坤,侯玉泽,胡晓飞,等.时间分辨荧光免疫分析技术在真菌毒素检测的应用[J].中国免疫学杂志,2013,29(2): 197–201.
- [14] Sobia Niazi.基于适配体功能化时间分辨荧光纳米探针的真菌毒素检测方法研究[D].无锡:江南大学,2019.
- [15] 戚红卷.酶联免疫吸附法测定粮食中真菌毒素[C]//中国毒理学会、广东省疾病预防控制中心.中国毒理学会第六届全国毒理学大会论文摘要.中国毒理学会、广东省疾病预防控制中心:中国毒理学会,2013: 141–142.
- [16] 于金辉,陈碧聪,成莲,等.测定花生油中黄曲霉毒素  $\text{B}_1$  前处理方法的优化[J].食品安全质量检测学报,2019,10(23): 8076–8080.
- [17] 张鹏,赵卫东,张艺兵.高效薄层色谱法测定黄曲霉毒素  $\text{B}_1$ 、 $\text{B}_2$ 、 $\text{G}_1$ 、 $\text{G}_2$ [J].分析化学,2000(3): 392.
- [18] Marijana S, Borka S. Survey of trichothecene mycotoxins in grains and animal feed in Croatia by thin layer chromatography[J]. Food Control, 2006, 17(9): 733–740.
- [19] 王可,陈龙星,田会方,等.高效液相色谱-串联质谱法测定凉拌菜中 4 种植物毒素[J].食品工业科技,2019,40(24): 190–193.
- [20] 曾義,林子豪,雷芬芬,等.同位素内标高效液相色谱-串联质谱法测定粮食及其制品中赭曲霉毒素 A、B 和 C[J].食品工业科技,2019,40(21): 239–244.
- [21] Commission Regulation (EU) No 519/2014, Amending Regulation (EC) No 401/2006 as regards methods of sampling of large lots, spices and food supplements, performance criteria for T-2, HT-2 toxin and citrinin and screening methods of analysis[R]. OJ, 2016: 337–365.
- [22] GB 5009.240-2016 食品安全国家标准 食品中伏马毒素的测定[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [23] GB 5009.22-2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [24] GB 5009.209-2016 食品安全国家标准 食品中玉米赤霉烯酮的测定[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [25] GB 5009.111-2016 食品安全国家标准 食品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇及其乙酰化衍生物的测定[S].北京:中国标准出版社,2016.