

实验技术与方法

凝胶渗透色谱净化-超高效液相色谱-串联质谱法
同时检测玉米粉中 10 种真菌毒素

刘家阳,张月辉,贾宏新

(辽宁省食品检验检测院,辽宁 沈阳 110015)

摘要:目的 建立凝胶渗透色谱净化-超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)同时测定玉米粉中 10 种常见的真菌毒素分析方法。方法 样品中的目标化合物经乙腈-水(90:10,V/V)提取,将收集的上清液用氮气吹至近干后经乙酸乙酯-环己烷(1:1,V/V)溶解,再经凝胶渗透色谱净化,净化液浓缩后经过 0.22 μm 尼龙滤膜过滤,采用 Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm) 色谱柱分离,在电喷雾电离源(ESI)和多反应监测(MRM)方式下测定。结果 采用基质匹配外标法测定,10 种真菌毒素在曲线范围内有良好的线性关系,其相关系数为 0.995 9~0.999 8,10 种真菌毒素在玉米粉样品中的定量下限为 0.003~1.2 μg/kg,三个浓度水平的加标回收率为 71.3%~91.3%,相对标准偏差(RSD)为 3.1%~13.2%。结论 该方法选择性好,操作简单安全,成本低,快速准确,适用于玉米粉中多种真菌毒素的测定。

关键词:凝胶渗透色谱;超高效液相色谱-串联质谱;真菌毒素;玉米粉;食品污染物;检测

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2016)06-0763-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2016.06.016

Simultaneous determination of ten mycotoxins in corn flour by gel permeation
chromatography-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LIU Jia-yang, ZHANG Yue-hui, JIA Hong-xin

(Liaoning Institute for Food Control, Liaoning Shenyang 110015, China)

Abstract: Objective To establish a method for detection of ten common mycotoxins in corn flour with gel permeation chromatography (GPC) pretreatment and ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** The samples were extracted by acetonitrile-water (90:10, V/V) and evaporated to dryness under nitrogen, reconstituted by cyclohexane/ethyl-acetate mixture (1:1, V/V), then purified by GPC and concentrated. The reconstituted solution was filtered through 0.22 μm nylon syringe filter. Chromatography was performed using a Waters ACQUITY UPLC HSS T3 column (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm). Quantitation was performed in the electrospray ionization mode and multiple reaction monitoring (MRM). **Results** Quantified by matrix matching external standard method, all mycotoxins had good linear relationship within linear ranges, the correlation coefficients of the standard curve were 0.995 9-0.999 8. The limits of quantitation (LOQ) of ten mycotoxins were 0.003-1.2 μg/kg, the recoveries at low, middle and high spiked levels were from 71.3%-91.3%, and the relative standard deviations (RSDs) were 3.1%-13.2%. **Conclusion** The method was high sensitive, accurate, safe, low cost, simple and suitable for determination of mycotoxins in corn flour products.

Key words: Gel permeation chromatography; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; mycotoxins; corn flour products; food contaminant; detection

农作物及其制品中真菌毒素类污染问题较为突出^[1]。真菌毒素是各种产毒真菌在适宜的环境

温度和湿度条件下繁殖而产生的一系列代谢产物^[2]。目前报道的真菌毒素已多达 300 余种,主要包括黄曲霉毒素、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、玉米赤霉烯酮、T-2 毒素、HT-2 毒素和展青霉素^[3]等。部分真菌毒素已被证实具有很高的生物毒性,可以抑制免疫系统且具有致癌、致畸、致突变(“三致”)等特点^[4],其中黄曲霉毒素 B₁ 毒性为氰化钾的 10 倍,砒霜的 68 倍^[5]。

收稿日期:2016-09-07

基金项目:辽宁省科学事业公益研究基金(2014004028)

作者简介:刘家阳 男 副主任技师 研究方向为食品理化检验

E-mail:besthero1@hotmail.com

通信作者:贾宏新 女 主任技师 研究方向为食品安全检验检测

E-mail:1094888124@qq.com

我国制定了相应产品中真菌毒素的限量标准和检测方法^[6-8],目前比较常用的检测方法主要有薄层色谱法(TLC)、免疫亲和柱-液相色谱法、酶联免疫法、气相色谱法和高效液相色谱-串联质谱法等。气相色谱法是基于羟基的衍生来增加挥发性和灵敏度,主要用于检测单端孢霉烯族化合物^[9]。TLC法是经典的真菌毒素检测方法并作为国家标准方法,但该方法操作复杂,灵敏度较低。酶联免疫法主要应用于定性分析和快速筛选,其特异性强、操作简便,但准确度较低,并存在假阳性风险。免疫亲和柱-液相色谱法^[10-11]可用于大多数真菌毒素的检测,但该方法需要通过柱前或柱后衍生方式来改善仪器的灵敏度,衍生过程繁琐,人员接触毒物几率大,免疫亲和柱专一性强,很难多组分同时处理,价格昂贵且只能一次性使用。近年来超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)方法因灵敏度高、选择性强、定量结果准确、适合多组分同时分析等特点被广泛应用于食品中各种真菌毒素的检测^[12-13]。

凝胶渗透色谱(GPC)作为一种新兴的样品净化手段,它具有自动化程度高、全封闭装置对环境污染少且使用安全、较好的净化效率以及较高的回收率等特点在国外应用较广,在我国也在逐步普及。本试验选择了GB 2761—2011《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》^[14]中覆盖的真菌毒素,并添加了玉米粉中易出现其他几种有代表性的真菌毒素,通过凝胶渗透色谱的前处理净化方式,结合超高效液相色谱-串联四级杆质谱仪器建立一个灵敏度高、自动化程度高、快速准确、安全经济、适于多组分分析的检测方法。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

超高效液相色谱-串联四级杆质谱联用仪[Waters ACQUITY H-CLASS TQD,配备电喷雾电离源(ESI),美国Waters]、全自动凝胶渗透色谱仪(配有自动进样系统,254 nm紫外检测器,Bio-Beads S-X3填料,美国J2 Scientific)、可调真空度旋转蒸发仪(瑞士Buchi)、涡旋振荡器、超声波清洗器、氮吹仪、天平(感量0.000 1 g)、50 m聚四氟乙烯带盖离心管。

黄曲霉毒素B₁、B₂、G₁、G₂混合标准品(LC07224V)和黄曲霉毒素M₁(CRM46319)均购自德国SPELCO,浓度分别为1.0、0.30、1.0、0.30、0.50 μg/ml;HT-2毒素(L15093H)、T-2毒素(L14152T)、展青霉素(L13561P)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(L16123A)、玉米赤霉烯酮(L17133Z)均购自

美国Romer,浓度均为100 μg/ml;甲醇、乙腈、乙酸乙酯、环己烷、冰醋酸均为色谱纯;试验用水为超纯水。

1.2 方法

1.2.1 基质匹配标准曲线的制备

标准储备液:分别准确吸取0.10 ml HT-2毒素、T-2毒素、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、玉米赤霉烯酮、展青霉素标准品置于5 ml棕色容量瓶中,加入甲醇定容并摇匀,HT-2毒素、T-2毒素、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、玉米赤霉烯酮、展青霉素标准储备液浓度为2.0 μg/ml。黄曲霉毒素B₁、B₂、G₁、G₂、M₁标准储备液可用原标准品溶液。各储备液于冷冻避光环境保存。

标准中间液:吸取一定量标准储备液于同一10 ml棕色容量瓶中,加入甲醇定容并摇匀,使黄曲霉毒素B₁、黄曲霉毒素G₁、黄曲霉毒素M₁、HT-2毒素、T-2毒素、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、玉米赤霉烯酮、展青霉素标准中间液浓度为80 ng/ml,黄曲霉毒素B₂、G₂标准中间液浓度为24 ng/ml。

基质标准曲线:取不含真菌毒素的玉米粉样品按前处理方法得到基质空白溶液,依次吸取不同量的标准中间液加入基质空白溶液中,使黄曲霉毒素B₁、黄曲霉毒素G₁、黄曲霉毒素M₁、玉米赤霉烯酮的基质标准曲线范围为0.10~40 ng/ml,HT-2毒素、T-2毒素、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、展青霉素基质标准曲线范围为0.40~40 ng/ml,黄曲霉毒素B₂基质标准曲线范围为0.030~12 ng/ml,黄曲霉毒素G₂基质标准曲线范围为0.12~12 ng/ml。

1.2.2 样品提取与净化

准确称取经过磨细的样品5 g(精确到0.01 g)置于50 ml聚四氟乙烯带盖离心管中,加入乙腈-水(9:1,V/V)混合液定容至25 ml刻度,以均质器高速搅拌提取2 min,置于40℃水浴超声清洗器中超声提取10 min,避光静置5 min。吸取5 ml上清液加入10 ml聚四氟乙烯离心管中,于水浴45℃氮气吹至近干。准确加入5 ml环己烷-乙酸乙酯(1:1,V/V)混合液于40℃水浴超声清洗器中超声3 min,涡旋混合3 min,过0.45 μm有机滤膜用于凝胶色谱净化。收集净化液于水浴45℃,真空度为13 000 Pa旋转蒸发至近干,迅速加入2.0 ml乙腈充分振荡混合,收集混合液于水浴40℃氮气吹干,用1.0 ml流动相涡旋溶解后过0.22 μm有机滤膜,供UPLC-MS/MS测定。

1.2.3 仪器条件

UPLC条件:Waters ACQUITY UPLC HSS T3(2.1 mm×100 mm,1.8 μm)色谱柱;柱温35℃,流

速 0.4 ml/min,进样量 5 μ l,流动相 A 为乙腈、流动相 B 为水;梯度洗脱程序:0 ~ 2.8 min, A: 10% ~ 32%; 2.8 ~ 9 min, A: 32% ~ 68%; 9 ~ 9.3 min, A: 68% ~ 10%; 9.3 ~ 13 min, A: 10%。

凝胶渗透色谱条件:凝胶柱填料为 Bio-Beads S-X3;流动相:环己烷-乙酸乙酯(1:1, V/V);流速 5.0 ml/min;进样量 5.0 ml;紫外检测器波长

254 nm;丢弃时间 0 ~ 5.0 min;收集时间 6.0 ~ 18 min;清洗时间 19 ~ 23 min。

质谱条件:电喷雾电离源(ESI+,ESI-),检测方式为多反应监测(MRM),毛细管电压 2.9 kV,脱溶剂气温度 480 $^{\circ}$ C,脱溶剂气流量 900 L/h,锥孔气流量 10 L/h,源温度 150 $^{\circ}$ C,电离方式、监测离子对、碰撞条件见表 1。

表 1 10 种待测物质的质谱采集参数
Table 1 Mass spectrometric acquisition parameters of 10 compounds

真菌毒素	电离方式	定量离子对 /(m/z)	定性离子对 /(m/z)	锥孔电压 /V	碰撞能量 /V
黄曲霉毒素 B ₁	ESI+	313.0/284.7	313.0/241.7	56	48,38
黄曲霉毒素 B ₂	ESI+	315.0/259.1	315.0/287.0	56	38,44
黄曲霉毒素 G ₁	ESI+	329.0/242.9	329.0/283.0	52	36,33
黄曲霉毒素 G ₂	ESI+	331.0/217.0	331.0/245.0	55	51,48
黄曲霉毒素 M ₁	ESI+	328.9/273.0	328.9/258.9	48	20,26
HT-2 毒素	ESI+	447.0/344.9	447.0/284.9	48	24,18
T-2 毒素	ESI+	489.0/245.0	489.0/386.9	52	26,20
展青霉素	ESI-	153.0/108.9	153.0/80.9	16	11,7
脱氧雪腐镰刀菌烯醇	ESI-	294.9/264.9	294.9/137.9	26	14,10
玉米赤霉烯酮	ESI-	316.9/174.9	316.9/130.8	56	28,24

2 结果与分析

2.1 流动相的选择与优化

查阅了 10 种真菌毒素的理化特征,对于液相色谱的吸附分离体系中固定相的选择要侧重对强极性化合物保留且与高比例水相兼容的色谱柱。比较了超高效液相色谱几种色谱柱的分离效果,本试验选择了对于多种极性化合物具有强保留性且分离度较好的 ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱,在此条件下各目标化合物具有较好的分离效果。

在前处理过程中对于多种真菌毒素化合物甲醇-水或乙腈-水具有强溶解性,本试验流动相的选择重点考察甲醇-水和乙腈-水两种体系,梯度洗脱程序。在甲醇-水体系中多种真菌毒素的保留时间明显延长,脱氧雪腐镰刀菌烯醇色谱峰有明显变形且后出峰的几种化合物展宽灵敏度明显下降。在乙腈-水体系中洗脱性明显增强,各化合物保留时间缩短,峰形更尖锐且分离度提高。

对于液相色谱-质谱联用系统,流动相要兼顾色谱分离和质谱离子化效率,而且经常会出现矛盾。有些真菌毒素在电离源离子化过程中容易产生钠或钾的加合离子,本试验在流动相中加入了 10 mmol/L 的乙酸铵溶液,但 HT-2 毒素母离子强度迅速降低,信号受抑制现象明显。由于个别真菌毒素分子结构中含有羧基,本试验尝试在流动相中加入 0.1% 的甲酸来增强色谱柱保留性^[15],促进待测物与干扰物质分离。但加入甲酸后在负离子模式

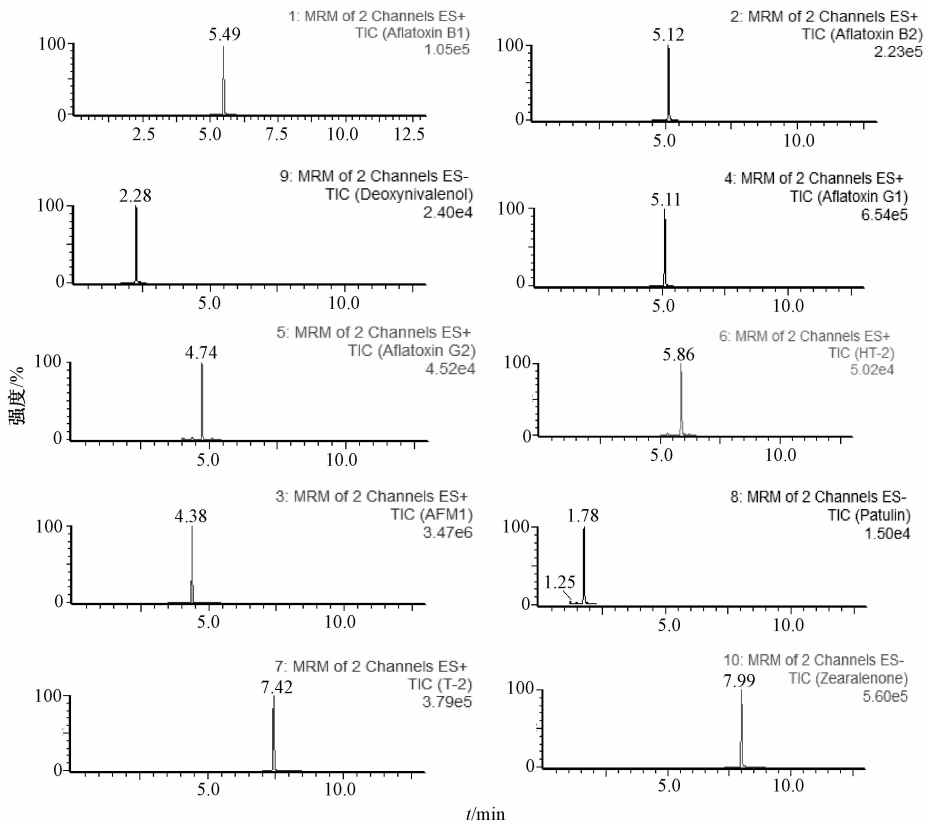
电离的 3 种真菌毒素母离子强度呈现不同程度的降低。为了一次进样能够完成 10 种真菌毒素的测定并兼顾正离子和负离子检测的灵敏度,折中考虑本试验最终采用乙腈-水作为超高效液相色谱-质谱的流动相。在此条件下,各真菌毒素有较好的洗脱效果和分离度,各个目标化合物母离子有较高的离子强度。具体情况见图 1。

2.2 质谱条件的选择与优化

本试验采用标准溶液直接进样方式来确定各真菌毒素的质谱参数并进行优化。由于真菌毒素普遍具有一定的极性特征,因此本试验采用对于极性特征化合物具有良好电离作用的 ESI 电离源。将各真菌毒素的高浓度标准溶液采用单标进样,根据已确定的色谱条件,通过比较确定各真菌毒素的离子化模式。在选定的离子化模式基础上不断调节毛细管电压、锥孔电压、源温度、脱溶剂气温度、脱溶剂气流量、锥孔气流量等质谱参数来进一步提高各母离子的信号水平。在确定各化合物母离子后通过扫描方式获得两个以上的子离子,在丰度由大到小且避免产生相互干扰的原则下每种真菌毒素化合物最终确定了两个监测离子对。

2.3 凝胶渗透色谱净化条件

在痕量分析中,农作物及其制品中干扰最大的是大分子杂质,如油脂、色素等。传统的前处理净化方式如液液萃取、酸碱破坏等对油脂、色素这些大分子干扰物净化并不彻底,而且操作繁琐,目标物的损失也较大。凝胶渗透色谱基于体积排除的



注:1. 黄曲霉毒素 B₁;2. 黄曲霉毒素 B₂;3. 黄曲霉毒素 M₁;4. 黄曲霉毒素 G₁;5. 黄曲霉毒素 G₂;6. HT-2 毒素;
7. T-2 毒素;8. 展青霉素;9. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇;10. 玉米赤霉烯酮

图 1 10 种真菌毒素混合标准品溶液正离子模式和负离子模式的总离子流图

Figure 1 Positive and negative ionization TIC chromatograms of 10 mycotoxin stands under MRM

分离机理,不仅可以用来分离小分子物质。而且可以分析具有相同极性但分子体积不同的高分子物质。为观察凝胶渗透色谱对多种真菌毒素的净化效果,本试验结合真菌毒素的紫外吸收特性采用空白加标观察流出曲线和分段收集测定两种方式来确定 10 种真菌毒素的流出时间。在流速为 5 ml/min 条件下,用环己烷-乙酸乙酯(1:1, V/V)混合溶液配制高浓度混合标准液和空白基质提取液中添加高浓度混合标准溶液,按照 1.2.3 条件对空白标准溶液和空白基质提取液加标溶液分别进样并得到相应的 GPC 色谱图,见图 2。由图可见,10 种真菌毒素化合物的流出时间约为 7 ~ 17 min,7 min 之前的色谱峰为大分子杂质峰。为进一步验

证 10 种目标物的流出时间,本试验同时采用分段收集质谱测定的方式加以验证,根据不同时间段对应的质谱信号强度判断目标物的流出时间,其检测结果见表 2。由表 2 可见 10 种真菌毒素化合物的流出时间约为 7 ~ 17 min。由此可见采用空白加标观察流出曲线和分段收集质谱测定两种方式所得结果基本一致。最后确定本试验的 GPC 采集时间段为丢弃时间:0 ~ 5.0 min;收集时间:6.0 ~ 18 min;清洗时间:19 ~ 23 min,GPC 净化时间共 23 min。

2.4 提取方法的选择

由于真菌毒素的化学结构普遍具有极性特征,本试验重点考虑采用甲醇-水、乙腈-水作为样品前处理提取溶液,并采用甲醇-水(80:20, V/V),乙腈-

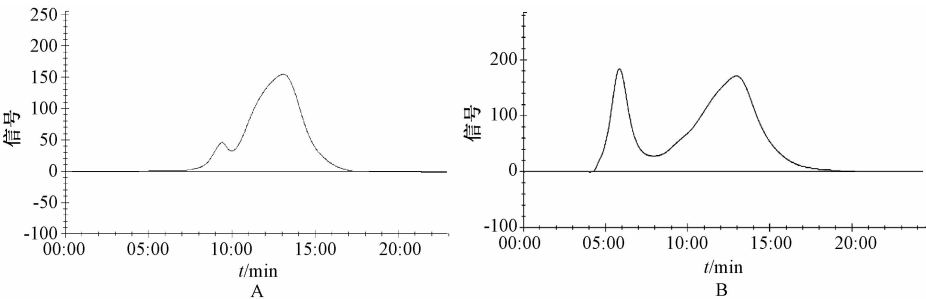


图 2 空白标准溶液(A)和空白基质提取液加标溶液(B)GPC 色谱图

Figure 2 Chromatogram of standards (A) and extract of blank sample with standards (B) after cleaned-up by GPC

表2 10种真菌毒素在凝胶渗透色谱的流出情况

Table 2 Eluted situation of 10 mycotoxins by gel permeation chromatographic

真菌毒素	检测信号强度									
	6 ~ 19 min	7 ~ 19 min	8 ~ 19 min	9 ~ 19 min	10 ~ 19 min	11 ~ 19 min	13 ~ 19 min	15 ~ 19 min	17 ~ 19 min	18 ~ 19 min
黄曲霉毒素 B ₁	4 031	4 002	3 155	3 052	2 245	2 307	2 051	1 208	56. 2	60. 6
黄曲霉毒素 B ₂	11 508	11 016	9 925	8 752	6 662	4 537	4 285	3 903	257	80. 7
黄曲霉毒素 G ₁	23 818	23 756	22 375	21 058	18 909	17 533	16 656	2 983	89. 2	105
黄曲霉毒素 G ₂	1 308	1 321	1 138	1 105	925	854	587	255	57. 5	58. 8
黄曲霉毒素 M ₁	82 151	82 197	78 526	70 945	58 933	42 172	18 531	5 055	339	84. 5
HT-2 毒素	4 285	4 301	2 307	958	235	248	188	78. 9	66. 5	68. 2
T-2 毒素	52 019	51 935	44 588	17 056	2 807	749	610	214	58. 4	60. 0
展青霉素	1 878	1 821	1 563	1 508	1 142	443	326	108	54. 5	61. 8
脱氧雪腐镰刀菌烯醇	2 507	2 461	2 185	1 523	320	78. 4	60. 4	68. 1	66. 7	73. 8
玉米赤霉烯酮	30 108	29 355	15 476	17 231	2 526	891	489	284	82. 9	58. 6

水(80: 20, V/V), 甲醇-水(90: 10, V/V), 乙腈-水(90: 10, V/V)四种混合液按照 1. 2. 2 步骤对同一均匀样品进行处理并质谱测定, 根据测定结果的峰面积总和进行比较。如图 3 所示, 四种混合液中乙腈-水(90: 10, V/V)的提取效率最高。

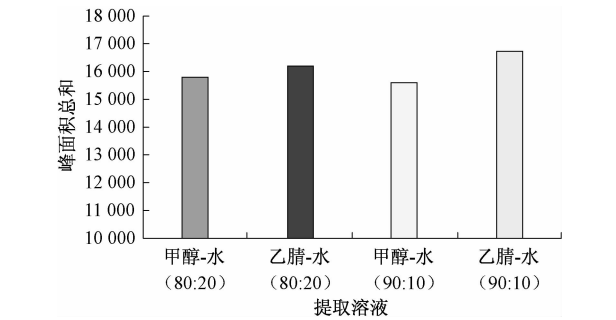


图3 不同提取溶液的 10 种真菌毒素峰面积之和

Figure 3 Sum peak area of 10 mycotoxins from different extraction solutions

2. 5 浓缩条件的选择

本试验考察了在不同温度、不同真空度浓缩条件下对 10 种真菌毒素测定的影响: 分别采用 35、40、45、50、55 ℃ 浓缩温度(真空度固定), 9 000、11 000、13 000、15 000、17 000 Pa 真空度(浓缩温度固定)进行比较。首先采用 35、40 ℃ 浓缩温度时环己烷-乙酸乙酯(1: 1, V/V)溶液蒸干缓慢, 需要提高

真空度才能浓缩充分, 采用 50、55 ℃ 时溶液蒸干速度明显加快, 蒸发至近干的时机难以把握, 采用 45 ℃ 蒸发温度时可以确保正常的蒸干速度和溶液近干时机的把握。在 9 000、11 000 Pa 真空度条件下溶液蒸干速度明显加快, 但溶液中 HT-2、T2 毒素呈现不稳定, 经质谱检测浓缩提取液发现两种目标物的信号强度出现明显降低。在 15 000、17 000 Pa 真空度条件下溶液蒸干缓慢, 浓缩时间延长。采用 13 000 Pa 真空度时样品溶液挥干速度正常, 浓缩提取液经质谱检测信号强度正常。因此本试验最终采用 45 ℃ 蒸干温度, 13 000 Pa 真空度作为样品处理液的浓缩条件。

2. 6 线性范围、检出限与定量下限

为抑制基质效应对待测物的干扰, 提高定量分析的准确度, 本试验采用相应基质标准曲线作为定量曲线, 同时也确保了阳性样品定性确证的准确度。选取未检出真菌毒素的玉米粉样品按照 1. 2. 2 步骤处理至“用 1. 0 ml 流动相涡旋溶解”得到基质空白溶液, 吸取不同量的标准中间液加入基质空白溶液中, 经超高效液相色谱-质谱检测得到基质标准曲线, 基于基质标准曲线中最低响应的 MRM 色谱图, 确定该方法的检出限 LOD($S/N > 3$)和定量下限 LOQ($S/N > 10$), 具体见表 3。如表 3 所示, 各真菌

表3 10种真菌毒素的线性范围、回归方程、相关系数、检出限、定量下限

Table 3 Linear ranges, regression equations, correlation coefficients, LODs and LOQs of 10 mycotoxins

真菌毒素	线性范围/(ng/ml)	回归方程	r	LOD/(μg/kg)	LOQ/(μg/kg)
黄曲霉毒素 B ₁	0. 10 ~ 40	y = 165. 02x + 28. 825	0. 998 0	0. 004	0. 01
黄曲霉毒素 B ₂	0. 030 ~ 12	y = 1483. 6x + 120. 87	0. 997 6	0. 001	0. 003
黄曲霉毒素 G ₁	0. 10 ~ 40	y = 934. 93x + 385. 79	0. 996 3	0. 001	0. 003
黄曲霉毒素 G ₂	0. 12 ~ 12	y = 198. 35x - 1. 2531	0. 998 5	0. 004	0. 01
黄曲霉毒素 M ₁	0. 10 ~ 40	y = 4052. 7x + 385. 74	0. 999 0	0. 001	0. 003
HT-2 毒素	0. 40 ~ 40	y = 102. 58x + 20. 10	0. 999 4	0. 1	0. 3
T-2 毒素	0. 40 ~ 40	y = 573. 41x + 7. 2645	0. 995 9	0. 05	0. 15
展青霉素	0. 40 ~ 40	y = 24. 457x - 2. 0153	0. 999 5	0. 4	1. 2
脱氧雪腐镰刀菌烯醇	0. 40 ~ 40	y = 32. 405x - 5. 3233	0. 999 5	0. 05	0. 2
玉米赤霉烯酮	0. 10 ~ 40	y = 654. 25x - 16. 424	0. 999 8	0. 001	0. 003

毒素化合物的线性关系良好,相关系数 r 值均不低于 0.995,检出限和定量下限明显低于各农作物及其制品中各种真菌毒素的最大残留限量要求。

2.7 方法的精密度与回收率试验

本试验采用加标回收的方法进行准确度和精密度的评价。选取不含真菌毒素且已充分混匀的玉米粉作为空白基质样品,每种基质按照低、中、高三个浓度水平做加标回收,每个水平在相同条件下测定 6 次重复试验,每种样品同时做基质标准曲线。检测各基质样品中真菌毒素的回收率和精密度。结果表明 10 种真菌毒素在三个加标水平的平均回收率范围为 71.3% ~ 91.3%,相对标准偏差 (RSD) 为 3.1% ~ 13.2%,具体见表 4。结果表明本方法的准确度和精密度良好。

表 4 玉米粉样品中加标回收范围和精密度 ($n=6, \%$)
Table 4 Spiked recoveries and RSD in corn flour products

真菌毒素	0.5 $\mu\text{g/kg}$		4 $\mu\text{g/kg}$		10 $\mu\text{g/kg}$	
	平均回收率	RSD	平均回收率	RSD	平均回收率	RSD
黄曲霉毒素 B ₁	83.5	6.2	90.5	3.9	91.3	3.1
黄曲霉毒素 B ₂	80.2	10.6	82.8	8.2	81.8	6.2
黄曲霉毒素 G ₁	78.3	8.3	86.1	6.5	90.8	4.0
黄曲霉毒素 G ₂	71.3	13.2	78.3	9.7	80.4	7.1
黄曲霉毒素 M ₁	80.6	6.7	87.6	3.9	90.2	3.5
HT-2 毒素	75.4	10.8	79.4	7.7	82.5	9.3
T-2 毒素	74.7	9.4	82.5	5.8	81.7	7.2
展青霉素	71.5	12.2	79.6	8.2	82.4	5.3
脱氧雪腐镰刀菌烯醇	73.6	10.7	80.7	7.3	85.8	5.8
玉米赤霉烯酮	79.9	7.3	83.5	4.7	90.3	3.8

2.8 实际样品的测定

随机选取沈阳市大中型超市和农贸市场中玉米粉样品 8 份,并依照本方法进行检测。玉米粉样品均未检出真菌毒素。但在农贸市场中随机抽取的一份带皮花生样品检出黄曲霉毒素 B₁,其浓度为 1.3 $\mu\text{g/kg}$ 。

3 小结

建立了凝胶渗透色谱净化-超高效液相色谱-串联质谱测定玉米粉中 10 种真菌毒素的方法,该方法利用全自动凝胶渗透色谱仪净化样品,并采用基质匹配外标法定量。在保证样品净化效率的同时有效的补偿了基质效应带来的干扰,提高了方法的准确性和重现性,该方法的各项指标均符合方法学的要求并具有灵敏度高、自动化程度高、快速准确、安

全经济等特点,适用于玉米粉中多种真菌毒素的快速测定。

参考文献

[1] 刘品贤. 污染食品的真菌毒素问题[J]. 食品研究与开发, 1995,16(4):47-49.

[2] 李鹏,赖卫华,金晶. 食品中真菌毒素的研究[J]. 农产品加工,2005,34(3):12-15.

[3] 陈丽星. 真菌毒素研究进展[J]. 河北工业科技,2006,23(2):124-126.

[4] Council for Agricultural Science and Technology (CAST). Mycotoxins: risks in plant, animal and human systems[S]. CAST,2003.

[5] Barros G, Magnoli C, Reynoso M M. Fungal and mycotoxin contamination in Bt maize and non-Bt maize grown in Argentina[J]. World Mycotoxin J,2009,2(1):53-60.

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:54.

[7] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009.23—2006 食品中黄曲霉毒素 B₁, B₂, G₁, G₂ 的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2006.

[8] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 18979—2003 食品中黄曲霉毒素的测定 免疫亲和层析净化高效液相色谱法和荧光光度法[S]. 北京:中国标准出版社,2003.

[9] Eke Z, Kende A, Torkos K. Simultaneous detection of A and B trichothecenes by gas chromatography with flame ionization or mass selective detection[J]. Microchem J,2004,78(2):211-216.

[10] Trueksess M, Weaver C, Oles C, et al. Determination of aflatoxins and ochratoxin A in ginseng and other botanical roots by immunoaffinity column cleanup and liquid chromatography with fluorescence detection[J]. J AOAC Int,2006,89(3):624-630.

[11] Sewram V, Shephard G S, van der Merwe L, et al. Mycotoxin contamination of dietary and medicinal wild plants in the Eastern Cape Province of South Africa[J]. J Agric Food Chem,2006,54(15):5688-5693.

[12] Al-Taher F, Banaszewski K, Jackson L, et al. Rapid method for the determination of multiple mycotoxins in wines and beers by LC-MS/MS using a stable isotope dilution-assay[J]. J Agn Food Chem,2013,61(10):2378-2384.

[13] Meritxell V, Antonio G, Ianaya J, et al. Determination of aflatoxins B₁, G₁, B₂ and G₂ in medicinal herbs by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. J Chromatogr A,2004,1048(1):25-29.

[14] 中华人民共和国卫生部. GB 2761—2011 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量[S]. 北京:中国标准出版社,2011.

[15] 徐飞,刘峰,张亚军,等. 液相色谱-串联质谱法测定粮食中的玉米赤霉烯酮[J]. 中国食品卫生杂志,2015,27(2):124-126.