

## 实验技术与方法

复合柱净化-超高效液相色谱-串联质谱法测定粮油中  
黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素宋月<sup>1</sup>, 杨丽君<sup>1</sup>, 吴平谷<sup>2</sup>, 康译友<sup>1</sup>

(1. 大连市疾病预防控制中心, 辽宁 大连 116021; 2. 浙江省疾病预防控制中心, 浙江 杭州 310051)

**摘要:**目的 建立 C<sub>18</sub>-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 复合固相萃取柱净化, 同时检测粮食及植物油中黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素的超高效液相色谱-串联质谱方法。方法 植物油样品用乙腈-水(90:10, V:V) 提取, 粮食样品先用乙腈-乙酸-水(84:1:16, V:V) 再用二氯甲烷-乙酸乙酯(90:10, V:V) 进行二次提取, 进一步采用 C<sub>18</sub>-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 复合固相萃取柱净化, 稳定同位素内标稀释, 以乙腈和水为流动相, CORTECS™ C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 2.7 μm) 进行分离, 电喷雾离子化多反应监测模式检测。结果 黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素的线性范围分别为 0.1~30.0 和 1.0~500.0 ng/ml, 检出限分别为 0.03 和 0.3 μg/kg, 定量限分别为 0.10 和 1.0 μg/kg。黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素的平均回收率分别为 68.3%~98.6% 和 84.5%~108.0%, 相对标准偏差分别为 4.6%~11.5% 和 4.2%~9.0% (n=6)。采用本方法分析了国内外 5 种质控样品, 测定值均在质控样品指定范围内。对大连市市售的 100 份粮油样品进行测定, 结果表明散装花生油和玉米油中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 和玉米赤霉烯酮检出率较高, 最高含量分别为 12.80 和 370.00 μg/kg。结论 本方法定量准确、操作简便、更环保、检测成本低, 适于批量粮油样品中黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素的同时检测。

**关键词:** 黄曲霉毒素; 玉米赤霉烯酮; α-玉米赤霉烯醇; 真菌毒素; 固相萃取; 超高效液相色谱-串联质谱; 玉米油; 花生油

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2020)01-0039-06

DOI: 10.13590/j.cjfh.2020.01.007

**Determination of aflatoxins and zearalenone in vegetable oil and cereal products by solid phase extraction column purification coupled with ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry**

SONG Yue<sup>1</sup>, YANG Lijun<sup>1</sup>, WU Pinggu<sup>2</sup>, KANG Yiyu<sup>1</sup>

(1. Dalian Municipal Center for Disease Control and Prevention, Liaoning Dalian 116021, China;  
2. Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang Hangzhou 310051, China)

**Abstract: Objective** To develop a method for simultaneous determination of aflatoxins (AFs) and zearalenone (ZEN) in vegetable oil and cereal products by solid phase extraction column purification coupled with ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC). **Methods** AFs and ZEN in vegetable oil were extracted by acetonitrile-water solution (90:10, V:V). AFs and ZEN in cereals were firstly extracted by acetonitrile-acetic acid-water solution (84:1:16, V:V) and then extracted by dichloromethane/ethyl acetate (90:10, V:V), and the extracts were concentrated and reconstructed by acetonitrile-water solution (90:10, V:V). The extracts of vegetable oil/cereals were purified by C<sub>18</sub>-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> solid phase extraction column. AFs and ZEN were separated by UPLC with acetonitrile-water gradient elution in a CORTECS™ C<sub>18</sub> chromatography column (2.1 mm×100 mm, 2.7 μm), and qualified/quantified by mass spectrometry with electron spray ionization multiple reaction monitoring mode with stable-isotope internal standard. **Results** The linearity of AFs and ZEN were 0.1-30.0 and 1.0-500.0 ng/ml, the limits of detection were 0.03 and 0.3 μg/kg, and the limits of quantification were 0.10 and 1.0 μg/kg, respectively. The average recoveries of AFs and ZEN for spiked samples was 68.3%-98.6% and 84.5%-108.0% with the relative standard deviation 4.6%-11.5% and 4.2%-9.0% (n=6), respectively. Several quality control material were analyzed to verified the accuracy of the method. 100 samples sold in Dalian markets were analyzed. Aflatoxin B<sub>1</sub> and ZEN was detected in peanut oil

收稿日期: 2019-12-02

基金项目: 大连市医学科学研究计划项目(1811098)

作者简介: 宋月 女 副主任技师 研究方向为卫生理化检验 E-mail: songyue116@163.com

and corn oil samples with maximum contents 12.80 and 370.00  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectively. **Conclusion** The method had several advantages including accurate, simple and cost-effective, environment friendly and it was applicable to batch analysis of AF and ZEN in vegetable oil and cereal products.

**Key words:** Aflatoxins; zearalenone;  $\alpha$ -zearalenol; mycotoxins; solid phase extraction; ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry; corn germ oil; peanut oil

真菌毒素是某些真菌在生长过程中产生的次级代谢产物,广泛污染食物、农作物及其制品<sup>[1]</sup>。黄曲霉毒素与玉米赤霉烯酮类毒素是两类常见、且对人类及牲畜毒性较大的真菌毒素。黄曲霉毒素主要包括黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>(AFB<sub>1</sub>)、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub>、AFG<sub>2</sub> 四种,其中以 AFB<sub>1</sub> 最常见且污染水平最高,被国际癌症研究机构列为 I 级致癌剂<sup>[2-3]</sup>。玉米赤霉烯酮类毒素以玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN)为代表,还包括玉米赤霉醇(zearalanol)、 $\alpha$ -玉米赤霉烯醇( $\alpha$ -zearalenol,  $\alpha$ -ZEL)等<sup>[4-5]</sup>。玉米赤霉烯酮类毒素会引起雌激素过多症,同时其具有较强的生殖毒性、遗传毒性和细胞毒性等<sup>[6]</sup>。欧盟规定食品中 AFB<sub>1</sub> 的限量值范围为 0.1~12.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , ZEN 限量值为 20~100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[7-8]</sup>。GB 2761—2017《食品安全国家标准食品中真菌毒素限量》<sup>[9]</sup>规定食品中 AFB<sub>1</sub> 的限量为 0.5~20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , ZEN 限量为 60  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

文献<sup>[10-12]</sup>报道表明,在玉米、花生及其制品中往往同时检出黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素,因此有必要对这两类毒素进行同时测定。目前食品中黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素同时测定的主要方法是高效液相色谱-串联质谱法<sup>[12-16]</sup>,高效液相色谱-串联质谱的离子化过程易受基质的干扰产生基质效应,影响定量准确性。样品前处理方法主要有直接稀释法<sup>[13]</sup>、多功能柱净化法<sup>[16]</sup>、QuEChERS 法<sup>[14,17]</sup>等,这些前处理多数存在净化不彻底、杂质较多、基质干扰较大等不足;而多合一免疫亲和柱法虽特异性强,适用于复杂基质样品,但因其价格昂贵,检测成本高,也不适合批量样品的测定<sup>[18]</sup>。

本试验将植物油样品经过简单提取,粮食样品经过二氯甲烷-乙酸乙酯(90:10, V:V)二次提取,进一步采用 C<sub>18</sub>-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 复合固相萃取柱净化,稳定同位素内标稀释,建立了超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)同时测定粮油中黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素的方法。本方法定量准确,灵敏度高,操作简便、快速,更环保,检测成本低,适于批量粮油中黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素的同时检测。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品来源

植物油和粮食均购自大连超市和农贸市场。

#### 1.1.2 主要仪器与试剂

Agilent 1290-6460 超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱仪、固相萃取装置均购自美国 Agilent,多样品漩涡振荡器、离心机、旋转蒸发仪、氮吹仪、分析天平(感量 0.000 01 g 和 0.01 g)、超声波清洗器、高速万能粉碎机。

2.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  AFB<sub>1</sub>(S02017)、AFB<sub>2</sub>(S02018)、AFG<sub>1</sub>(S02019)、AFG<sub>2</sub>(S02020)及 100.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ZEN 标准溶液(S02029)纯度均 $\geq 99.0\%$ , 10.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$   $\alpha$ -ZEL 标准溶液(S02042,纯度 98.7%)、25.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  <sup>13</sup>C<sub>18</sub>-ZEN (ILM009)、0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  <sup>13</sup>C<sub>17</sub>-AFB<sub>1</sub>(ILM010)、0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  <sup>13</sup>C<sub>17</sub>-AFB<sub>2</sub>(ILM011)、0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  <sup>13</sup>C<sub>17</sub>-AFG<sub>1</sub>(ILM012)、0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  <sup>13</sup>C<sub>17</sub>-AFG<sub>2</sub>(ILM013)同位素内标溶液均购自奥地利 Romer Labs。甲醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、正己烷、三氯甲烷、乙醚均为色谱纯,超纯水(Milli-Q,美国 Millipore),C<sub>18</sub>-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 复合固相萃取柱(6 ml, 1 000 mg, 杭州福裕科技服务有限公司),0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜。

玉米粉中 ZEN 质控样品(BRM 003024)、低浓度黄曲霉毒素质控样品(QCM1C1)、黄曲霉毒素测试调查样品(CSSMY015-M18411 AF)均购自奥地利 Romer Labs,玉米油中 ZEN 质控样品、花生油中 AFB<sub>1</sub>测定能力验证样品[ACAS-PT833(2019)]均购自中国检验检疫科学研究测试评价中心。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 标准溶液的配制

标准工作液:分别准确吸取 2.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub>、AFG<sub>2</sub> 标准溶液 1.0 ml,用乙腈稀释并定容至 10.00 ml,分别配制成 200.0 ng/ml 标准工作溶液;分别准确吸取 0.200 ml 100.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ZEN 标准溶液、2.00 ml 10.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$   $\alpha$ -ZEL 标准溶液,用乙腈溶解并定容至 10.00 ml,分别配制成 2.00  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ZEN 标准工作溶液和 2.00  $\mu\text{g}/\text{ml}$   $\alpha$ -ZEL 标准工作溶液,于 -20  $^{\circ}\text{C}$  保存。

混合内标使用液:准确移取 0.200 ml 25.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的 <sup>13</sup>C<sub>18</sub>-ZEN 内标溶液,分别移取 1.0 ml 0.500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的 <sup>13</sup>C<sub>17</sub>-AFB<sub>1</sub>、<sup>13</sup>C<sub>17</sub>-AFB<sub>2</sub>、<sup>13</sup>C<sub>17</sub>-AFG<sub>1</sub>、<sup>13</sup>C<sub>17</sub>-AFG<sub>2</sub>,用乙腈混合并定容至 10.00 ml,得到 500 ng/ml <sup>13</sup>C<sub>18</sub>-ZEN 和 50.0 ng/ml 四种黄曲霉毒素同位素混合内标使用液,4  $^{\circ}\text{C}$  保存。

### 1.2.2 样品前处理

植物油样品的提取:称取植物油 1.00 g(精确至 0.01 g)于 15 ml 离心管中,加入 40  $\mu$ l 混合内标使用液,加 3 ml 乙腈-水(90:10, V:V),混匀,涡旋提取 10 min,10 000 r/min 离心 2 min(离心半径 10 cm),上清液待净化。

粮食样品的提取:称取经粉碎机磨细的样品 1.00 g(或 2.00 g 精确至 0.01 g)于 50 ml 离心管中,加入 40  $\mu$ l 混合内标使用液,加入 10 ml 乙腈-乙酸-水(84:1:16, V:V),涡旋、超声提取 5 min,中间振摇 2 次,10 000 r/min 离心 3 min(离心半径 10 cm)。将上清液转移至鸡心瓶中,50  $^{\circ}$ C 旋转蒸发至 2 ml 左右,加入 5 ml 水,混匀,再加入 10 ml 二氯甲烷-乙酸乙酯(90:10, V:V),涡旋振荡,10 000 r/min 离心 3 min(离心半径 10 cm),分出下层有机相,用无水硫酸钠脱水,有机相 50  $^{\circ}$ C 旋转蒸发至干。向残留物中加入 3 ml 乙腈-水(90:10, V:V),涡旋混匀,10 000 r/min 离心 2 min(离心半径 10 cm),上清液待净化。

### 1.2.3 净化

用 4 ml 乙腈-水(90:10, V:V)活化  $C_{18}$ - $Al_2O_3$  固相萃取柱,将提取的上清液过柱,收集流出液,并用 1 ml 乙腈-水(90:10, V:V)洗脱柱,合并流出液。50  $^{\circ}$ C 用缓和氮气流吹至近干,先加入 0.30 ml 乙腈超声溶解残留物,再加入 0.70 ml 水混匀,过 0.22  $\mu$ m 滤膜后待 UPLC-MS/MS 分析。

### 1.2.4 仪器条件

色谱:色谱柱 CORTECS<sup>TM</sup>  $C_{18}$  (2.1 mm  $\times$  100 mm, 2.7  $\mu$ m);流动相分别采用 A 为水, B 为乙腈,流动相起始比例为 30% B,梯度洗脱线性变化,0.0~4.0 min, 30%~45% B; 4.1~5.0 min 80% B; 5.1~8.0 min, 30% B。

质谱:离子源:电喷雾 (ESI<sup>-</sup>, ESI<sup>+</sup>);鞘气温度 350  $^{\circ}$ C,鞘气流速 10 L/min,喷嘴电压 500 V,毛细管电压 4.00 kV,雾化器压力 40 psi(275.8 kPa),干燥气温度 300  $^{\circ}$ C,干燥气流速 6.0 L/min。扫描模式:多反应监测(MRM);定性离子、定量离子及碎裂电压、碰撞能量见表 1。

表 1 黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素的质谱分析参数

Table 1 MS/MS parameters of aflatoxins and zearalenone

化合物	保留时间/min	离子对	碎裂电压/V	碰撞能量/V	电离模式
AFB <sub>1</sub>	2.26	313.0>240.9*, 313.0>268.9	155	25,35	+
AFB <sub>2</sub>	1.93	315.0>286.9*, 315.0>259.0	160	25,30	+
AFG <sub>1</sub>	1.95	329.0>243.0*, 329.0>311.0	165	25,30	+
AFG <sub>2</sub>	1.67	331.0>313.1*, 331.0>245.0	155	24,30	+
<sup>13</sup> C <sub>17</sub> -AFB <sub>1</sub>	2.25	330.1>301.1	150	25,35	+
<sup>13</sup> C <sub>17</sub> -AFB <sub>2</sub>	1.93	332.1>303.1	160	30	+
<sup>13</sup> C <sub>17</sub> -AFG <sub>1</sub>	1.95	346.1>256.1	150	25	+
<sup>13</sup> C <sub>17</sub> -AFG <sub>2</sub>	1.67	348.1>330.1	150	25	+
$\alpha$ -ZEL	3.92	319.2>275.1*, 319.2>301.1	155	13,11	-
ZEN	5.10	317.1>130.9*, 317.1>175.0	170	21,21	-
<sup>13</sup> C <sub>18</sub> -ZEN	5.10	335.1>185.2*	170	18,26	-

注: \* 表示定量离子对

## 2 结果与分析

### 2.1 样品提取

#### 2.1.1 植物油样品的提取

国标方法中,植物油中黄曲霉毒素的提取溶剂为乙腈-水(84:16, V:V)<sup>[19]</sup>,ZEN 的提取溶剂为乙腈-水(90:10, V:V)<sup>[20]</sup>。本试验比较了这两种溶剂同时提取植物油中的两类毒素,结果表明,用乙腈-水(90:10, V:V)提取时两类毒素的灵敏度略高,因此选择乙腈-水(90:10, V:V)作为提取溶剂。

#### 2.1.2 粮食样品的提取

由于玉米粉色素含量高、杂质较多,也是玉米赤霉烯酮类毒素主要污染的粮食品种,因此本试验主要考察以玉米粉为代表的粮食。试验发现在提取液中加入适量乙酸,后续净化时绝对回收率会更

高,因此采用乙腈-水-乙酸(84:16:1, V:V)提取。由于粮食提取液中含有较多水溶性杂质及共萃物,测定时基质干扰较大,内标绝对回收率低,影响灵敏度,因此本研究采用二次提取。

考虑到黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素均为脂溶性,试验考察了乙酸乙酯、三氯甲烷、乙醚、二氯甲烷、二氯甲烷-乙酸乙酯(90:10, V:V)、二氯甲烷-乙酸乙酯(80:20, V:V)对初次提取液进行再次提取,结果表明二氯甲烷-乙酸乙酯(90:10, V:V)提取物的杂质少,基质干扰小。

### 2.2 提取液的净化

参照之前  $C_{18}$ - $Al_2O_3$  复合固相萃取柱净化粮油中玉米赤霉烯酮类毒素的研究<sup>[21]</sup>,本次试验发现应用类似的操作过程净化粮油中的黄曲霉毒素也取得了理想的效果。当用高比例有机溶剂提取液乙

腈-水(90:10, V:V)直接通过 C<sub>18</sub>-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 固相萃取柱时, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 能够吸附样品中的色素等极性化合物, C<sub>18</sub> 能吸附部分脂肪等非极性化合物, 而黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素不被吸附(标准溶液和内标物过柱效率试验, 回收率均>90%), 从而与杂质分离。同时, 应用此方法与三种通过式多毒素净化柱的净化效果进行了比较(以空白基质加内标物过柱的响应值与标准溶液内标响应值比较), 见图 1, 结果表明采用本方法处理的样液, 除杂效果更好, 基质效应更小, 而且成本更低。

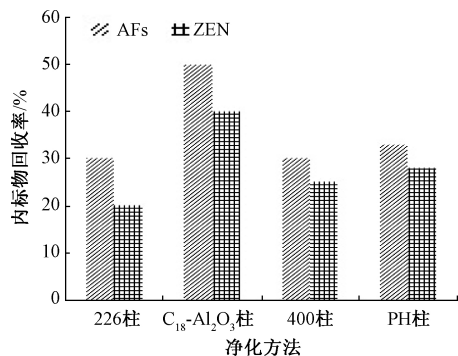


图 1 四种净化方法对黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素的回收率

Figure 1 Recoveries of aflatoxins and zearalenone by four purification method

### 2.3 基质效应

为了考察样品基质对目标物离子化产生的影

响, 比较了空白基质加标、提取液加标与纯溶剂标准溶液的响应值。试验表明, 与纯溶剂标准溶液比较, 净化后空白基质加标抑制率约为 30%~40%, 而未净化提取液加标基质抑制率在 95% 以上。由于不同基质对目标物的基质抑制效应不同, 本试验采用内标法来校正因不同基质样品测定产生的基质效应, 从而获得较好的定量效果。

### 2.4 方法学验证

#### 2.4.1 方法的线性范围、回收率、精密度和检出限

AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub>、AFG<sub>2</sub> 在 0.1~30.0 ng/ml (内标浓度为 2.0 ng/ml) 范围内, ZEN、α-ZEL 在 1.0~500.0 ng/ml (内标浓度为 20.0 ng/ml) 范围内均呈现良好的线性关系, 相关系数均大于 0.999。向空白植物油及玉米粉样品中添加不同水平的黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素标准溶液, 平均回收率为 68.3%~108.0%, 相对标准偏差(RSD)为 4.2%~11.5%, 见表 2 和 3。以不含黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素的植物油和玉米粉为空白基质, 称取样品 1.00 g, 加入稀释后的标准溶液 100 μl, 按试验条件进行提取、净化、检测, 记录峰面积, 在信噪比 ≥ 10 (S/N ≥ 10) 时测得黄曲霉毒素的最低检测浓度为 0.10 μg/kg, 即定量限为 0.10 μg/kg, 在 S/N ≥ 3 时测得黄曲霉毒素的最低检测浓度为 0.03 μg/kg, 即检出限为 0.03 μg/kg。采用同样的方法, 测得玉米赤霉烯酮类毒素的定量

表 2 植物油及玉米粉添加回收 4 种黄曲霉毒素试验结果 (n=6)

Table 2 Recoveries of aflatoxins in spiked vegetable oil and corn powder

食品类别	添加浓度 / (μg/kg)	AFB <sub>1</sub>		AFB <sub>2</sub>		AFG <sub>1</sub>		AFG <sub>2</sub>	
		平均回收率/%	RSD / %	平均回收率/%	RSD / %	平均回收率/%	RSD / %	平均回收率/%	RSD / %
植物油	0.1	83.0	8.8	82.5	8.8	80.5	9.0	70.3	10.5
	0.5	85.7	8.3	80.6	8.7	81.4	8.4	72.6	8.5
	1.0	88.5	6.2	86.7	7.1	85.3	8.0	78.3	7.2
	5.0	98.6	4.6	96.5	5.2	94.3	6.1	84.2	6.8
玉米粉	0.1	79.5	9.0	80.5	9.5	76.2	10.2	68.3	11.5
	0.5	81.2	8.8	82.3	8.6	79.2	8.9	70.5	9.1
	1.0	86.5	7.2	88.0	7.5	82.0	8.2	73.4	8.6
	5.0	95.6	6.3	93.7	6.6	86.4	7.3	78.6	7.5

表 3 植物油及玉米粉添加回收 ZEN 和 α-ZEL 试验结果 (n=6)

Table 3 Recoveries of ZEN and α-ZEL in spiked vegetable oil and corn powder

食品类别	ZEN			α-ZEL		
	添加浓度 / (μg/kg)	平均回收率 / %	RSD / %	添加浓度 / (μg/kg)	平均回收率 / %	RSD / %
植物油	1.0	86.8	7.3	1.0	88.5	7.2
	5.0	108.0	6.5	5.0	95.6	6.5
	20	96.2	5.8	10	94.5	6.3
	50	95.1	4.2	20	92.6	5.5
玉米粉	1.0	84.5	9.0	1.0	85.7	8.5
	5.0	98.9	8.8	5.0	93.5	7.0
	10	95.4	7.1	10	92.5	6.6
	50	92.6	6.2	20	104.2	6.7

限为 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 检出限为 0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

#### 2.4.2 准确度

为了进一步验证方法的准确度,进行了质控样品分析,结果见表4,所有测定值均在质控样品指定含量范围内,说明本方法准确可靠。

#### 2.5 实际样品检测

采用本方法对 50 份植物油(10 份为散装花生油样品,其余为定型包装样品)及 50 份粮食进行检测。根据测定结果,真菌毒素主要分布在三类样品中:花生油中 AFB<sub>1</sub> 检出率为 90.0% (18/20),玉米

油中 ZEN 检出率为 93.3% (14/15),玉米粉(片、渣)中 ZEN 检出率为 70.0% (21/30)。所有样品均未检出 AFG<sub>2</sub>,具体含量范围见表5。结果显示,花生油中 AFB<sub>1</sub> 的最高含量为 12.80  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,是一份随机购买于农贸市场的鲜榨花生油;玉米油中 ZEN 的最高含量为 370.00  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,该样品购买于小粮油店;玉米类谷物中 ZEN 的最高含量为 41.00  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。阳性样品中 AFB<sub>1</sub> 和 ZEN 的测定谱图见图2和3。在样品分析中采用标准添加回收、标准样品测定等质控方式以保证测定结果的准确度。

表4 质控样品测定结果( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 4 Determination results of quality control material

质控样品	指定值/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	本方法测定值/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
玉米粉中 ZEN	79 $\pm$ 26	75 $\pm$ 5
玉米油中 ZEN 质控样品	189.1 $\pm$ 20.8	183.2 $\pm$ 8.9
玉米粉中低浓度黄曲霉毒素	AFB <sub>1</sub> :3.7 $\pm$ 1.6	AFB <sub>1</sub> :3.5 $\pm$ 0.2
花生油中 AFB <sub>1</sub>	19-M:30.33, 19-N:8.196	19-M:31.2 $\pm$ 1.6, 19-N:8.1 $\pm$ 1.1
玉米粉中黄曲霉毒素测试调查样品	AFB <sub>1</sub> :8.10, AFB <sub>2</sub> :0.56	AFB <sub>1</sub> :7.81 $\pm$ 0.86, AFB <sub>2</sub> :0.46 $\pm$ 0.24

表5 粮油样品中黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素测定结果

Table 5 Determination results of aflatoxins and zearalenone in vegetable oil and cereal products

样品	份数	AFB <sub>1</sub> /( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		AFB <sub>2</sub> /( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		AFG <sub>1</sub> /( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		ZEN/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		$\alpha$ -ZEL/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
		含量范围	中位值	含量范围	中位值	含量范围	中位值	含量范围	中位值	含量范围	中位值
玉米油	15	<0.03~0.80	0.32	<0.03~0.50	0.20	<0.03	—	7.80~370.00	82.9	<0.30~0.50	0.35
花生油	20	<0.03~12.80	2.8	<0.03~1.50	0.35	<0.03~0.55	0.25	<0.30~61.60	12.0	<0.30~1.50	0.35
调和油	15	<0.03~2.50	1.2	<0.03~0.40	0.20	<0.03~0.25	0.12	<0.30~42.20	8.6	<0.30~0.40	0.30
玉米粉(片、渣)	30	<0.03~10.80	1.1	<0.03~1.20	0.42	<0.03~0.40	0.26	0.80~41.00	16.2	<0.30~1.20	0.42
小麦粉	10	<0.03~1.20	0.32	<0.03~0.40	0.10	<0.03	—	<0.30~28.40	8.5	<0.30~0.40	0.30
燕麦片	10	<0.03~1.10	0.26	<0.03~0.20	0.10	<0.03	—	<0.30~15.60	5.6	<0.30	—

注:—为对于含量范围低于检出限的数据,未统计中位值

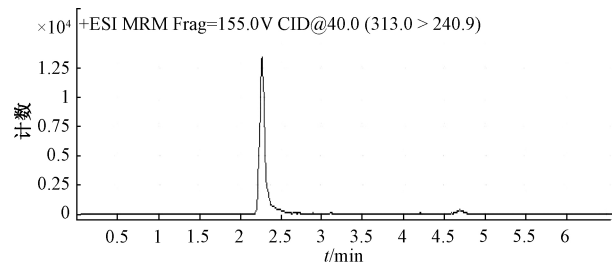


图2 花生油中 AFB<sub>1</sub> 的 UPLC-MS/MS 谱图

Figure 2 UPLC-MS/MS chromatograms of AFB<sub>1</sub> in peanut oil sample

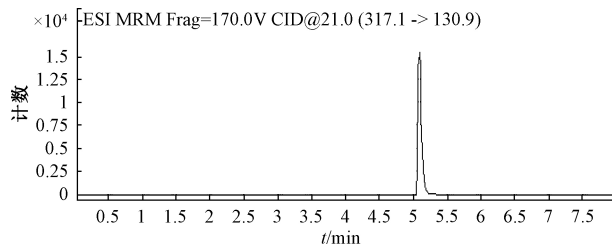


图3 玉米油中 ZEN 的 UPLC-MS/MS 谱图

Figure 3 UPLC-MS/MS chromatograms of ZEN in corn oil sample

本次测定的散装花生油中 AFB<sub>1</sub>、玉米油中 ZEN 的检出率和检出浓度较高,这与文献<sup>[11,22-24]</sup>报道的高检出率基本一致,因此散装花生油及玉米油的质量应重点关注。在粮食样品中,玉米类样品真菌毒素的检出率高于小麦粉和燕麦片,虽然毒素含量均未超过 GB 2761—2017 的限值,但部分样品的测定值超过了欧盟规定的最高限量。近年来,玉米及其制品被视为健康保健食品,消费量逐年增大,因此玉米类制品中的真菌毒素也应受到广泛关注。

### 3 小结

本试验应用 C<sub>18</sub>-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 复合固相萃取柱净化-UPLC-MS/MS 检测植物油和粮食中的痕量黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素,具有灵敏、准确、操作简便、试剂环保等特点,适用于粮油样品中黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素的批量分析与测定。

### 参考文献

- [1] 吴永宁,周爽,任一平,等.食品中真菌毒素检测方法标准操作程序[M].北京:中国质检出版社,中国标准出版社,2018:

- 260-261.
- [ 2 ] WILD C P, MILLER J D, GROOPMAN J D. IARC Working Group Report: mycotoxin control in low-and middle-income countries [ J ]. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2015,9:1-16.
- [ 3 ] JECFA. Evaluation of certain contaminants in food: eighty-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives [ R ]. WHO Technical Report Series 1002, WHO, 2017: 11-34.
- [ 4 ] EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Appropriateness to set a group health-based guidance value for zearalenone and its modified forms [ J ]. EFSA J, 2016, 14 ( 4 ): 4425-4471.
- [ 5 ] EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain, European Food Safety Authority (EFSA). Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of zearalenone in food [ J ]. EFSA J, 2011, 9 ( 6 ): 2197-2321.
- [ 6 ] BURANATRAGOOLA K, POAPOLATHEPA S, ISARIYODOMB S, et al. Dispositions and tissue residue of zearalenone and its metabolites  $\alpha$ -zearalenol and  $\beta$ -zearalenol in broilers [ J ]. Toxicology Reports, 2015 ( 2 ): 351-356.
- [ 7 ] Commission Regulation (EU) No 165/2010 of 26 February 2010 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards aflatoxins [ J ]. Official Journal of the European Union, 2010, 27 ( 2 ): 8-12.
- [ 8 ] European Commission. Commission Regulation 1881/2006/EC of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs [ J ]. Official Journal of the European Communities, 2006, 49: 5-24.
- [ 9 ] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量: GB 2761—2017 [ S ]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [ 10 ] SCHOLLENBERGER M, MÜLLER H M, RÜFLE M, et al. Natural occurrence of 16 *Fusarium* toxins in edible oil marketed in Germany [ J ]. Food Control, 2008, 19 ( 5 ): 475-482.
- [ 11 ] 吴宇, 叶金, 张冰, 等. 稳定同位素稀释-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 ]. 分析化学, 2018, 46 ( 6 ): 975-984.
- [ 12 ] GIROLAMO A D, CIASCA B, STROKA J, et al. Performance evaluation of LC-MS/MS methods for multi-mycotoxin determination in maize and wheat by means of international proficiency testing [ J ]. Trends in Analytical Chemistry, 2017, 86 ( 1 ): 222-234.
- [ 13 ] DE SANTIS B, DEBEGNACH F, GREGORI E, et al. Development of a LC-MS/MS method for the multi-mycotoxin determination in composite cereal-based samples [ J ]. Toxins, 2017, 9 ( 5 ): 169-180.
- [ 14 ] MIRÓ-ABELLA E, HERRERO P, CANELA N, et al. Determination of mycotoxins in plant-based beverages using QuEChERS and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [ J ]. Food Chem, 2017, 229 ( 15 ): 366-372.
- [ 15 ] 刘家阳, 张月辉, 贾宏新. 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 [ J ]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28 ( 6 ): 763-768.
- [ 16 ] 孙娟, 李为喜, 张妍, 等. 用超高效液相色谱串联质谱法同时测定谷物中 12 种真菌毒素 [ J ]. 作物学报, 2014, 40 ( 4 ): 691-701.
- [ 17 ] SHARMILI K, JINAP S, SUKOR R. Development, optimization and validation of QuEChERS based liquid chromatography tandem mass spectrometry method for determination of multimycotoxin in vegetable oil [ J ]. Food Control, 2016, 70 ( 12 ): 152-160.
- [ 18 ] 孙雪, 郝存显, 唐柏彬, 等. 复合免疫亲和柱净化-液相色谱-串联质谱法测定动物源食品中 6 种黄曲霉毒素和 6 种玉米赤霉醇类真菌毒素残留量 [ J ]. 分析化学, 2016, 44 ( 6 ): 970-978.
- [ 19 ] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定: GB 5009.22—2016 [ S ]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [ 20 ] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中玉米赤霉烯酮的测定: GB 5009.209—2016 [ S ]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [ 21 ] 宋月, 吴平谷, 胡争艳, 等. 复合柱净化-超高效液相色谱串联质谱法测定植物油及谷类制品中玉米赤霉烯酮和  $\alpha$ -玉米赤霉烯醇 [ J ]. 卫生研究, 2018, 47 ( 4 ): 615-620.
- [ 22 ] 张维蔚, 何洁仪, 李迎月, 等. 2009—2013 年广州市市售粮油食品黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 调查 [ J ]. 中国食品卫生杂志, 2015, 27 ( 3 ): 291-294.
- [ 23 ] 谢丹, 邓春丽, 赵云峰, 等. 北京地区部分市售食用植物油中玉米赤霉烯酮和脱氧雪腐镰刀菌烯醇的污染状况分析 [ J ]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7 ( 5 ): 2105-2113.
- [ 24 ] 李昕, 秦泽明, 张维嘉, 等. 2015 年山东部分地区食用植物油中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 和玉米赤霉烯酮污染状况调查 [ J ]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9 ( 1 ): 198-203.