

· 论 著 ·

新鲜水果真菌毒素多组分检测方法研究

许娇娇, 蔡增轩, 王军淋, 徐美佳, 黄百芬

浙江省疾病预防控制中心理化与毒理检验所, 浙江 杭州 310051

摘要: **目的** 建立水果中真菌毒素多组分同时检测方法, 为水果中真菌毒素监测提供技术支持。**方法** 采集市售新鲜水果样品, 均质后称取2 g, 加入10 mL乙腈-甲酸(体积比为99:1)涡旋振荡10 min, 加入1 g氯化钠和4 g无水硫酸钠提取, 离心后取5 mL上清液, 加入25 mg C₁₈净化, 离心取上清液氮气吹干, 残渣用300 μL甲醇-乙腈(体积比为1:1)复溶, 700 μL去离子水混匀。采用液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS), 以0.1%甲酸-5 mmol甲酸铵和甲醇-乙腈(体积比为1:1)为流动相进行梯度洗脱, 电喷雾离子源(ESI⁺/ESI⁻)、多反应监测模式(MRM)测定15种真菌毒素, 基质匹配标准曲线定量。**结果** 15种真菌毒素在0.25~10 ng/mL浓度范围内线性关系良好, 相关系数 $R^2 > 0.992$, 方法检出限为0.1~1.0 μg/kg, 加标回收率为71.68%~117.50%, 相对标准偏差为0.01%~13.60%。检测市售新鲜水果203份, 真菌毒素检出率为27.09%。**结论** 本研究优化后的LC-MS/MS法可同时检测新鲜水果中多种真菌毒素。

关键词: 真菌毒素; 液相色谱-串联质谱法; 新鲜水果

中图分类号: R155.5

文献标识码: A

文章编号: 2096-5087(2022)06-0555-06

Development of an approach for simultaneous determination of multi-mycotoxins in fresh fruits

XU Jiaojiao, CAI Zengxuan, WANG Junlin, XU Meijia, HUANG Baifen

Department of Physicochemical and Toxicology, Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou, Zhejiang 310051, China

Abstract: **Objective** To develop an approach for simultaneous detection of multi-mycotoxins in fresh fruits, so as to provide technical supports for mycotoxins surveillance in fresh fruits. **Methods** Fresh fruits were collected from markets and homogenized. Then, 2 g of fresh fruits were added with 10 mL of 0.1% formic acid (99:1, v/v) in acetonitrile and vortexed for 10 min. Following extraction with 1 g of sodium chloride and 4 g of anhydrous sodium sulfate, samples were centrifuged and 5 mL of the supernatant was cleaned up with 25 mg C₁₈. Following centrifugation, the supernatant was dried under nitrogen. The residue was dissolved in 300 μL of methanol-acetonitrile mixture solution (1:1, v/v), and mixed evenly in 700 μL of the distilled water. Samples were then eluted in gradient series of 0.1% formic acid and 5 mmol ammonium formate and methanol-acetonitrile mixture solution (1:1, v/v). The 15 mycotoxins were determined using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) with electrospray ion source (ESI⁺/ESI⁻) under multiple reaction monitoring. In addition, a matrix-matched standard curve was employed for quantitative analysis. **Results** There was a good linear relationship for 15 mycotoxins at concentrations of 0.25 to 10 ng/mL ($R^2 > 0.992$), the LC-MS/MS method showed the detection limits of 0.1-1.0 μg/kg, the spiked recovery rates of 71.68%-117.50%, and the relative standard deviations (RSDs) of 0.01%-13.60%. The detection rate of mycotoxins was 27.09% in 203 fresh fruits sold in markets. **Conclusions** The optimized LC-MS/MS method can be used for simultaneous determination of multi-mycotoxins in fresh fruits.

Keywords: mycotoxins; liquid chromatography-tandem mass spectrometry; fresh fruits

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2022.06.003

基金项目: 浙江省基础公益研究计划 (LGC19H260001)

作者简介: 许娇娇, 硕士, 主管技师, 主要从事食品安全理化检验工作

通信作者: 蔡增轩, E-mail: zxcai@cdc.zj.cn

真菌毒素是一类由丝状真菌在适宜条件下产生的有毒次级代谢产物,可自然发生于水果生产、采收、贮藏和运输过程,具有致癌性、致畸性、免疫毒性和神经毒性,对人类健康产生直接或潜在危害。调查显示,全世界每年约有25%的农作物受到真菌毒素污染,造成严重经济损失^[1]。目前,水果真菌毒素研究多集中于干果及其制品^[2-7],且局限于1种或1类真菌毒素,缺乏对相关真菌毒素污染和分布的系统研究。新鲜水果样品基质复杂,糖、色素和纤维含量较多,采用液液萃取、固相萃取等传统前处理方式操作繁琐,而 QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, safe) 前处理方法具有仪器设备简单、处理步骤少和实现多组分同时净化等优点,已广泛用于真菌毒素检测^[8-10]。本研究采用改良 QuEChERS 前处理方法,建立可同时分析新鲜水果中15种真菌毒素的液相色谱-串联质谱法 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS), 为水果中真菌毒素检测提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 岛津 40A 超高效液相色谱仪和岛津 8050 型质谱联用仪 [岛津企业管理(中国)有限公司]。甲醇、乙腈、甲酸铵和甲酸 (色谱纯, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 石墨化炭黑 (GCB)、C₁₈ 吸附剂 (上海安谱实验科技股份有限公司); 无水硫酸镁、无水硫酸钠和氯化钠 (优级纯, 上海安谱实验科技股份有限公司); 0.22 μm 滤膜 (上海安谱实验科技股份有限公司)。

15 种真菌毒素化合物: 黄曲霉毒素 B₁ (aflatoxin B₁, AFTB₁)、赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA)、桔霉素 (citrinin, CIT)、玉米赤霉烯酮 (zearalenone, ZEN) 和展青霉素 (patulin, PAT)、交链孢菌酮酸 (tenuazonic acid, TeA)、链格孢霉酚 (alternariol, AOH)、链格孢甲醚 (alternariol monomethyl ether, AME)、交链孢烯 (altenuene, ALT)、展青毒素 (tentoxin, TEN)、白僵菌素 (beaveracin, BEA)、恩镰孢菌素 A (enniain A, ENNA)、恩镰孢菌素 A₁ (enniain A₁, ENNA₁)、恩镰孢菌素 B (enniain B, ENNB) 和恩镰孢菌素 B₁ (enniain B₁, ENNB₁) 标准品, 纯度均>98%, 前5种购自 Romerlab 国际贸易(北京)有限公司, 其他均购自青岛普瑞邦生物工程有限公司。

1.2 标准溶液配制 分别称取 1 mg BEA、ENNA、ENNA₁、ENNB 和 ENNB₁, 乙腈溶解并定容至 10 mL,

配制成 100 μg/mL 的单一储备溶液。分别吸取 AFTB₁ (1 μg/mL)、OTA (100 μg/mL)、CIT (100 μg/mL)、ZEN (100 μg/mL)、PAT (100 μg/mL)、TeA (100 μg/mL)、AOH (100 μg/mL)、AME (100 μg/mL)、ALT (100 μg/mL)、TEN (100 μg/mL) 和上述单一储备溶液适量, 乙腈稀释配制成含 0.1 μg/mL 的 AFTB₁、BEA、ENNA、ENNA₁、ENNB 和 ENNB₁, 以及 1 μg/mL 的 OTA、CIT、ZEN、PAT、TeA、AOH、AME、ALT 和 TEN 的混合标准工作液, -18 ℃避光保存。

1.3 样品采集 从浙江省 11 个地市的农贸市场和超市采购大小适中、成熟度适宜、色泽均匀、新鲜、无病虫害、无机械损伤的水果样品共 203 份, 包括柑橘 49 份、葡萄 45 份、苹果 42 份、枇杷 40 份和杨梅 27 份。水果样品均在丰收采摘期采集, 每种水果样品均覆盖农贸市场和超市, 同一采样地点采集样品不超过 5 份, 每份样品不少于 1 kg。柑橘和枇杷去皮、去核后取可食部分, 杨梅去核后取可食部分, 葡萄和苹果洗净后取全果, 切碎并用匀浆机均质。制备后分别装入洁净的样品瓶中, 密封并标记, -18 ℃保存。

1.4 样品前处理 均质后样品 4 ℃解冻, 上下摇匀后称取 2 g 于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 乙腈-甲酸 (体积比为 99:1) 溶液, 涡旋振荡 10 min。加入 1 g 氯化钠和 4 g 无水硫酸钠, 立即涡旋振荡 5 min, 离心半径 8 cm、9 500 r/min 离心 5 min。分取 5 mL 乙腈至另一干净玻璃管中, 加入 25 mg C₁₈ 涡旋振荡 5 min, 离心半径 8 cm、9 500 r/min 离心 5 min, 取上清液, 40 ℃水浴条件下氮气吹干, 300 μL 甲醇-乙腈 (体积比为 1:1) 溶液复溶, 涡旋振荡 2 min 后加入 700 μL 去离子水混匀。0.22 μm 滤膜过滤至进样小瓶中, 待液质联用仪分析。

优化过程: 以杨梅空白样品基质为代表基质, 加入 3 组 QuEChERS 盐组合 (1 g 氯化钠; 1 g 氯化钠和 4 g 无水硫酸钠; 1 g 氯化钠和 4 g 无水硫酸镁), 根据加标回收率选出最优 QuEChERS 盐组合。然后同样以杨梅空白样品基质为代表基质, 分别加入 9 组净化剂 [石墨化炭黑 (GCB): 0、10、20、40 mg; C₁₈ 净化剂: 0、25、50、100、200 mg] 净化, 根据加标回收率和基质效应选择最优净化剂。

1.5 检测条件 色谱条件: 色谱柱 Waters Cortecs C18 (100 mm×3.0 mm, 1.6 μm); 柱温 40 ℃; 进样量 3 μL; 流速 0.4 mL/min; 流动相 A: 0.1% 甲酸-5 mmol 甲酸铵水溶液; 流动相 B: 甲醇-乙腈 (体积

比为 1 : 1) 溶液。梯度洗脱程序: 0 ~ 2 min, 5%B; 2 ~ 2.5 min, 5%B ~ 25%B; 2.5 ~ 6 min, 25%B ~ 35%B; 6 ~ 12 min, 35%B ~ 100%B; 12 ~ 14 min, 100%B; 14 ~ 14.5 min, 100%B ~ 5%B; 总运行时间 17 min。分别考察 0.1% 甲酸-乙腈、0.1% 甲酸-5 mmol 甲酸铵-乙腈、0.1% 甲酸-5 mmol 甲酸铵-甲醇、0.1% 甲酸-5 mmol 甲酸铵-甲醇-乙腈 (体积比为 1 : 1) 为流动相的洗脱效果, 根据色谱峰型和响应强度选择最佳流动相。

质谱条件: 分别采用正离子和负离子模式对 15 种真菌毒素进行一级质谱扫描。根据扫描结果确定母离子, 再用子离子扫描确定子离子。离子源: 电喷雾离子源 (ESI⁺/ESI⁻); 多反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM) 模式; 加热块温度: 300 ℃; 脱溶剂气温度: 526 ℃; 脱溶剂管温度: 250 ℃; 干燥气流量: 10 L/min; 加热气流量: 10 L/min; 碰撞气流量: 3 L/min。质谱参数见表 1。

表 1 真菌毒素多反应监测质谱参数
Table 1 MRM parameters of multi-mycotoxins

真菌毒素 Mycotoxin	ESI 模式	母离子 Parent ion	子离子 Daughter ion	Q1 Pre Bias/eV	碰撞能量 Collision energy/eV	Q3 Pre Bias/eV
PAT	ESI ⁻	153.1	80.8/108.8	22/22	15/10	13/11
AOH	ESI ⁻	257.0	215.1/147.0	13/13	25/35	20/20
ALT	ESI ⁻	291.1	229.1/214.2	15/15	15/21	22/21
AME	ESI ⁻	271.1	256.2/228.2	14/14	22/29	24/21
ZEN	ESI ⁻	317.3	175.2/131.1	16/16	24/28	17/12
TeA	ESI ⁺	198.2	153.2/125.2	-12/-21	-15/-20	-12/-20
AFTB ₁	ESI ⁺	313.0	241.0/285.1	-21/-21	-38/-23	-26/-21
OTA	ESI ⁺	404.0	239.1/221.0	-12/-16	-24/-36	-16/-24
CIT	ESI ⁺	281.2	135.2/107.1	-30/-30	-10/-20	-24/-18
TEN	ESI ⁺	415.0	312.0/256.0	-12/-21	-20/-30	-12/-20
BEA	ESI ⁺	801.5	134.1/244.2	-22/-22	-55/-34	-13/-16
ENNA	ESI ⁺	699.5	210.1/228.2	-30/-32	-35/-32	-20/-15
ENNA ₁	ESI ⁺	685.5	210.2/228.2	-32/-32	-33/-33	-22/-15
ENNB	ESI ⁺	657.5	196.1/214.2	-28/-30	-35/-33	-22/-14
ENNB ₁	ESI ⁺	671.5	196.2/210.2	-30/-30	-33/-31	-13/-14

1.6 方法学验证

1.6.1 线性关系和基质效应评价 移取混合标准工作液适量, 用甲醇-乙腈 (体积比为 1 : 1) 逐级稀释配制成 0.25、0.5、1、2 和 10 ng/mL 的溶剂标准系列溶液。同时, 移取混合标准工作液适量, 分别用苹果、枇杷、柑橘、葡萄和杨梅空白样品基质配制相同浓度梯度的基质匹配标准系列溶液, 评价方法的线性关系和基质效应。基质效应 (matrix effect, ME) = $(k_{\text{基质匹配标准曲线}} - k_{\text{溶剂标准曲线}}) / k_{\text{溶剂标准曲线}}$, 其中 k 为斜率, ME > 0 表示信号增强, ME < 0 表示信号抑制。

1.6.2 检出限 (limit of detection, LOD) 苹果、枇杷、柑橘、葡萄和杨梅空白样品基质中加入预计检出限水平的混合标准工作液, 按样品前处理步骤处理, 每类基质重复测定 10 次, 以其结果的 3 倍标准偏差为方法 LOD^[11]。

1.6.3 加标回收率和精密度 杨梅空白基质中分别加入 0.3、1.5、3.0 μg/kg 的混合标准工作液, 按照样品前处理步骤处理, 每个水平重复 3 次。其他空白水果基质加入 1.5 μg/kg 的混合标准溶液, 重复 3 次, 计算加标回收率和相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD)。

2 结果

2.1 前处理条件优化结果 不加硫酸盐时, TeA 和 TEN 的加标回收率均 < 80%; 加入 4 g 无水硫酸镁或 4 g 无水硫酸钠, 各真菌毒素加标回收率为 85% ~ 120%。无水硫酸镁遇水放热, 盐易成团, 考虑操作便捷性和可重现性, 选择 1 g 氯化钠和 4 g 无水硫酸钠组合为提取剂。使用 GCB 时, OTA、AFTB₁、AOH 和 AME 的回收率均 < 20%; 当 C₁₈ 为 25 mg 时, 各真

菌毒素加标回收率为 80%~120%; 当 C_{18} >50 mg 时, TeA、CIT、ENNA、 $ENNA_1$ 、ENNB 和 $ENNB_1$ 的加标回收率均<70%, 故选择 25 mg 的 C_{18} 为净化剂。

2.2 色谱条件优化结果 以 0.1% 甲酸-5 mmol 甲

酸铵为水相, 甲醇-乙腈 (体积比为 1:1) 为有机相时, 15 种真菌毒素的色谱峰型最佳, 响应强度最高。优化实验条件下, 真菌毒素混合标准溶液 MRM 离子流图见图 1。

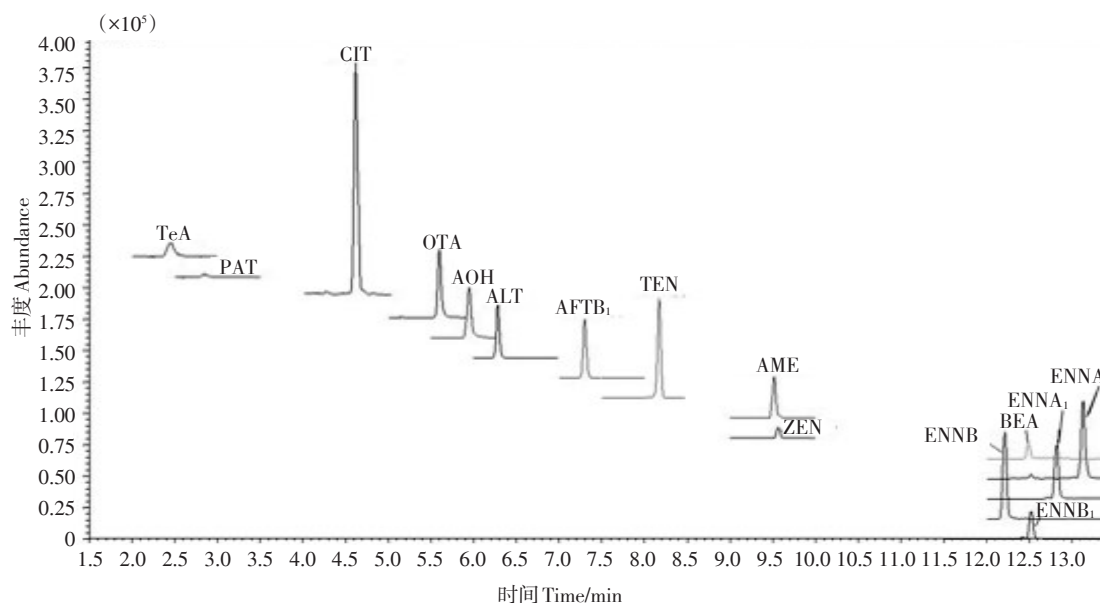


图 1 真菌毒素混合标准溶液 MRM 离子流图

Figure 1 MRM ion chromatogram of multi-mycotoxins in mixed standards

2.3 线性范围和基质效应 不同水果样品基质中真菌毒素的 ME 为-0.54~2.04。其中, AME 在杨梅和枇杷样品基质中的 ME 分别为-0.54 和-0.36, 表现为信号抑制; AME 在柑橘、苹果和葡萄样品基质中的 ME 分别为 1.15、1.29 和 1.46, 表现为信号增强; 其他真菌毒素的 ME 均表现为信号增强, 见表 2。采用基质匹配标准曲线进行定量分析。在 0.25~10 ng/mL 浓度范围内, 各真菌毒素线性关系良好, 相关系数 R^2 均>0.992, LOD 为 0.1~1.0 $\mu\text{g/kg}$ 。

2.4 加标回收率和精密度 15 种真菌毒素的加标回收率为 71.68%~117.50%, RSD 为 0.01%~13.60%。见表 3。

2.5 方法应用 55 份水果样品检出真菌毒素, 检出率为 27.09%。葡萄、杨梅、苹果、枇杷和柑橘的检出率分别为 33.33%、33.33%、30.95%、27.50% 和 14.29%。AME 检出率为 20.19%, TEN 为 9.85%, BEA 为 1.97%, CIT 为 1.48%, ENNB 为 0.98%, $ENNB_1$ 为 0.98%, TeA 为 0.49%, $ENNA_1$ 为 0.49%, ZEN 为 0.49%, 其他真菌毒素未检出。

3 讨论

本研究通过优化 QuEChERS 提取净化条件, 液

相色谱流动相和质谱参数检测条件, 建立了同时检测新鲜水果中 15 种真菌毒素的 LC-MS/MS 法。该方法操作简便, 富集净化效果好, 准确度和灵敏度较高, 较既往检测水果中 1 种或 1 类真菌毒素的方法节约了时间和经济成本, 并可用于探究同一新鲜水果样品中多毒素共存和毒素间关联性。

本次检测的 15 种真菌毒素结构差异大, 极性由弱到强, 解离常数区别较大, 存在形式受 pH 值影响, 如 OTA、TeA 和 CIT, 碱性环境下多以离子形式存在, 酸性环境下多以分子形式存在; 而 AFTB₁、恩镰孢菌素类化合物 (ENNA、 $ENNA_1$ 、ENNB、 $ENNB_1$) 和 BEA 对溶液酸碱度不敏感。研究结果显示, 采用乙腈-甲酸 (体积比为 99:1) 的酸性提取剂可提高交链孢霉类化合物 (TeA、AME、AOH、ALT、TEN) 和 OTA 的回收率。

尽管采用了改良 QuEChERS 法去除糖、色素等干扰物, 但不同的新鲜水果中各真菌毒素的基质效应表现不尽相同。样品基质中的内源性物质会在离子源, 尤其是 ESI 源中对待测物质竞争发生离子化反应, 导致响应下降或升高, 是 LC-MS/MS 法测定实际样品时不可避免的现象。因此, 在实际分析工作中, 仍需采用基质匹配曲线校准进行准确定量分析。

表2 15种真菌毒素检测的线性关系和基质效应

Table 2 Linearity and ME in determination of 15 mycotoxins

真菌毒素 Mycotoxin	杨梅 Bayberry		柑橘 Citus		苹果 Apple		枇杷 Loquat		葡萄 Grape		LOD/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
	R^2	ME	R^2	ME	R^2	ME	R^2	ME	R^2	ME	
PAT	0.995	0.98	0.993	0.68	0.998	0.95	0.995	0.89	0.995	0.99	0.8
OTA	0.999	1.08	0.994	1.39	0.998	1.29	0.999	0.98	0.998	1.57	0.5
AFTB ₁	0.994	1.17	0.996	1.38	0.999	1.50	0.994	1.50	0.999	1.57	0.1
CIT	0.997	1.37	0.999	1.49	0.999	1.57	0.997	1.71	0.998	1.48	0.5
TeA	0.997	1.02	0.996	1.10	0.997	1.18	0.997	2.04	0.993	1.63	1.0
AOH	0.999	1.26	0.999	1.44	0.999	1.29	0.999	1.49	0.997	1.72	0.5
ALT	0.997	1.42	0.999	1.08	0.998	1.16	0.997	1.29	0.999	1.52	1.0
TEN	0.997	1.19	0.997	0.79	0.996	1.23	0.997	1.08	0.994	1.34	0.3
AME	0.994	-0.54	0.994	1.15	0.999	1.29	0.991	-0.36	0.998	1.46	0.3
ZEN	0.992	0.71	0.991	0.99	0.992	1.24	0.992	0.64	0.998	1.23	0.3
BEA	0.998	0.84	0.999	1.15	0.998	1.35	0.998	0.76	0.992	1.30	0.1
ENNB	0.999	0.86	0.999	1.03	0.997	1.26	0.999	0.91	0.995	1.25	0.1
ENNB ₁	0.999	1.51	0.998	1.41	0.999	1.52	0.999	1.38	0.995	1.33	0.1
ENNA ₁	0.998	1.31	0.999	1.33	0.998	1.61	0.998	1.46	0.998	1.04	0.1
ENNA	0.997	1.11	0.999	1.43	0.998	1.38	0.997	1.26	0.992	0.81	0.1

表3 15种真菌毒素检测的加标回收率和精密度 (%)

Table 3 Recovery and precision in determination of 15 mycotoxins (%)

真菌毒素 Mycotoxin	加标回收率 Recovery							RSD						
	杨梅 Bayberry			柑橘 Citrus	苹果 Apple	枇杷 Loquat	葡萄 Grape	杨梅 Bayberry			柑橘 Citrus	苹果 Apple	枇杷 Loquat	葡萄 Grape
	0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$	1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$	3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$					0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$	1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$	3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$				
PAT	87.50	90.00	91.30	93.23	103.12	82.23	113.21	11.10	7.51	7.20	1.36	5.21	1.42	4.46
OTA	103.80	93.80	91.30	101.42	116.87	102.77	87.27	7.20	2.70	3.40	2.73	0.48	6.20	5.54
AFTB ₁	86.30	95.00	97.50	95.91	87.85	77.80	78.81	9.90	7.40	6.60	2.97	12.61	1.87	8.50
CIT	81.30	90.00	91.30	85.24	88.11	98.65	80.98	10.80	4.50	8.20	2.24	9.51	4.74	1.19
TeA	87.50	110.00	98.80	76.29	86.42	81.83	87.81	8.30	8.30	7.60	2.30	9.81	0.57	7.00
AOH	93.80	102.50	93.80	81.67	84.20	79.63	85.30	8.00	4.90	8.00	1.36	6.38	0.68	10.44
ALT	85.00	103.80	107.50	86.74	81.05	88.95	77.92	11.80	4.20	2.70	2.43	2.22	0.37	9.52
TEN	107.50	93.80	91.30	87.52	91.16	80.34	80.80	2.70	9.90	8.20	4.38	10.58	13.51	8.13
AME	90.00	103.80	96.30	89.73	103.95	79.19	88.22	13.60	4.60	6.50	8.25	12.12	0.64	11.72
ZEN	106.30	90.00	97.50	97.43	100.14	71.68	111.14	11.10	7.90	12.20	10.43	11.23	0.58	2.88
BEA	103.80	95.00	110.00	93.76	96.92	108.52	89.07	4.60	9.60	7.40	2.47	10.46	5.21	1.31
ENNB	90.00	93.80	96.30	83.91	95.06	90.02	96.59	5.10	8.00	7.80	2.53	10.79	0.62	7.70
ENNB ₁	96.30	100.00	90.00	84.63	78.97	91.75	97.83	5.00	7.10	4.50	1.41	1.16	3.17	5.09
ENNA ₁	95.00	112.50	107.50	86.77	81.35	93.76	108.02	4.30	10.10	10.10	0.18	0.77	5.73	1.34
ENNA	117.50	112.50	103.80	86.16	82.40	80.46	100.70	10.10	10.20	2.40	3.25	1.76	0.01	3.65

本研究加标回收率为 71.68%~117.50%，RSD 为 0.01%~13.60%，符合欧盟法规对于多真菌毒素检测方法的要求^[12]。

本研究中真菌毒素的 LOD 为 0.1~1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，较 AROUD 等^[6]、SADHASIVAM 等^[7]和 JUAN 等^[13]建立的果汁中真菌毒素检测灵敏度高；除 TeA、TEN

和 ALT 外,与 FAN 等^[9]和 GUO 等^[14]建立的新鲜水果和果汁中真菌毒素检测灵敏度接近。

应用优化后的方法检测 203 份市售新鲜水果,检出的真菌毒素以链格孢霉素类化合物和恩镰孢菌素类化合物为主,与相关研究结果^[9, 15]一致,提示链格孢霉素类化合物和恩镰孢菌素类化合物在水果及其制品中较为普遍。被列为 I 类致癌物的 AFTB₁在各新鲜水果中均未检出。

志谢 杭州市疾病预防控制中心、温州市疾病预防控制中心、绍兴市疾病预防控制中心、金华市疾病预防控制中心、台州市疾病预防控制中心、湖州市疾病预防控制中心、嘉兴市疾病预防控制中心、衢州市疾病预防控制中心、丽水市疾病预防控制中心、舟山市疾病预防控制中心和宁波市疾病预防控制中心

参考文献

- [1] ESKOLA M, KOS G, ELLIOTT C T, et al. Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: validity of the widely cited 'FAO estimate' of 25% [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2022, 60 (16): 2773-2789.
- [2] WANG Y J, NIE J Y, YAN Z, et al. Multi-mycotoxin exposure and risk assessments for Chinese consumption of nuts and dried fruits [J]. J Integr Agric, 2018, 17 (7): 1676-1690.
- [3] SENGLING CEBIN COPPA C F, MOUSAVI KHANEGHAH A, ALVITO P, et al. The occurrence of mycotoxins in breast milk, fruit products and cereal-based infant formula: a review [J]. Trends Food Sci Technol, 2019, 92: 81-93.
- [4] WANG Y J, NIE J Y, YAN Z, et al. Occurrence and co-occurrence of mycotoxins in nuts and dried fruits from China [J]. Food Control, 2018, 88: 181-189.
- [5] ZHOU J, ZHANG D D, CHEN X H, et al. Investigation on the occurrence and contamination of multi-mycotoxin in chestnut and jujube (red date) [J/OL]. J Chromatogr A, 2021, 1659 (2021-08-23) [2022-03-22]. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462486>.
- [6] AROUD H I, MAY B, DIETRICH H, et al. Influence of processing steps on the fate of ochratoxin A, patulin, and alternariol during production of cloudy and clear apple juices [J]. Mycotoxin Res, 2021, 37 (4): 341-354.
- [7] SADHASIVAM S, BARDA O, ZAKIN V, et al. Rapid detection and quantification of patulin and citrinin contamination in fruits [J/OL]. Molecules, 2021, 26 (15) (2021-07-27) [2022-03-22]. <https://doi.org/10.3390/molecules26154545>.
- [8] ZHOU J, XU J, CAI Z, et al. Simultaneous determination of five alternaria toxins in cereals using QuEChERS-based methodology [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2017, 1068/1069: 15-23.
- [9] FAN Y Y, LIU F J, HE W Z, et al. Screening of multi-mycotoxins in fruits by ultra-performance liquid chromatography coupled to ion mobility quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J/OL]. Food Chem, 2022, 368 (2021-08-13) [2022-03-22]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130858>.
- [10] LAGO L O, NIEVIEROWSKI T H, MALLMANN L P, et al. QuEChERS-LC-QTOFMS for the simultaneous determination of legislated and emerging mycotoxins in malted barley and beer using matrix-matched calibration as a solution to the commercial unavailability of internal standards for some mycotoxins [J/OL]. Food Chem, 2021, 345 (2020-12-08) [2022-03-22]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128744>.
- [11] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 合格评定 化学分析方法确认和验证指南: GB/T 27417—2017 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017. General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine, Standardization Administration of the People's Republic of China. Conformity assessment—Guidance on validation and verification of chemical analytical methods: GB/T 27417—2017 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [12] European Commission. Commission Regulation (EU) No 519/2014 of 16 May 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 [J]. Off J Eur Union, 2014, 147: 29-43.
- [13] JUAN C, MAÑES J, FONT G, et al. Determination of mycotoxins in fruit berry by-products using QuEChERS extraction method [J]. LWT, 2017, 86: 344-351.
- [14] GUO W B, YANG J H, NIU X K, et al. A reliable and accurate UHPLC-MS/MS method for screening of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Alternaria* mycotoxins in orange, grape and apple juices [J]. Anal Methods, 2021, 13 (2): 192-201.
- [15] ESCRIVÁ L, OUESLATI S, FONT G, et al. *Alternaria* mycotoxins in food and feed: an overview [J/OL]. J Food Qual, 2017 [2022-03-22]. <https://doi.org/10.1155/2017/1569748>.

收稿日期: 2021-12-21 修回日期: 2022-03-22 本文编辑: 吉兆洋