

利用 QuEChERS 法筛查并分析哈尔滨市“地趴” 储玉米中的真菌毒素

张海霞,徐 晶,徐连伟,刘 畅

(哈尔滨市农产品质量安全检验检测中心,黑龙江 哈尔滨 150070)

摘要:为了掌握哈尔滨市储藏玉米真菌毒素污染情况,在玉米采收后和出售前,分两个时段对哈尔滨市 11 个玉米种植面积较大区、县(市)的农民家中的“地趴”储玉米进行布点采样,利用 QuEChERS 的前处理方法结合超高效液相色谱串联质谱法检测玉米样品中的 FABI、ZEN 和 DON。结果表明:各个区、县(市)的玉米样品中均有真菌毒素的检出,黄曲霉毒素 B1 并未检出,ZEN 和 DON 有检出且含量超标,单一样品受多种毒素复合污染的情况比较严重,真菌毒素的检出率为 27.57%,超标率为 4.15%;第一次采集的样品真菌毒素的检出率高于第二次采集的样品。

关键词:哈尔滨市;“地趴”储藏玉米;真菌毒素;QuEChERS

中图分类号:O657.63;S513 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2017)08-0073-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2017.08.0073

玉米卫生安全主要受重金属污染、药剂残留、苯并芘污染、真菌毒素的侵染四个方面的影响^[1],其中真菌毒素(mycotoxin)是一类由真菌产生的具有毒性的二次代谢产物。它能够广泛污染农作物、食品及饲料等植物性产品^[2],相关研究表明,真菌毒素不仅会对食品有影响,还对人和动物造成极大的危害,抑制人体内 DNA、RNA、蛋白质和各种酶类的合成,甚至会破坏细胞结构并引起真菌毒素中毒^[3-4]。部分真菌毒素具有致癌、致畸、致细胞突变的“三致”危害^[5-7]。据联合国粮农组织(FAO)统计,每年全球农产品污染率高达 25%,损失粮食数量达 10 亿 t;我国国家粮食局统计,每年有 3 100 万 t 粮食在生产、储存、运输过程中受到真菌毒素污染,约占粮食年总产量的 6.2%^[8-9]。

在中国一直流传着“南稻、中麦、北玉米”的说法,东北是我国玉米的主产区,其中黑龙江省是我国玉米的主产省^[10],哈尔滨市每年玉米种植面积约为 113.33 万 hm²,年产玉米重量达 2 040 亿 kg。保证哈尔滨市的玉米质量是提高黑龙江省玉米整体质量安全的保障。玉米真菌毒素的产生受温度、水分等外界条件的影响很大。农民现阶段

对玉米的储存方式仍是以“地趴”储为主,这样的贮存方式不利于玉米的通风,会造成局部温湿度过大而导致玉米发生霉变。本研究对哈尔滨市玉米种植面积较大区、县(市)农民家中的“地趴”储玉米进行布点采样,对储藏玉米中的真菌毒素进行筛选和检测,以明确哈尔滨市储藏玉米中真菌病毒的污染状况,对提高黑龙江省玉米质量安全具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器与试剂 超高效液相色谱-串联质谱联用仪:Waters Acquity UPLC-TQD(美国 Waters 公司),配有 ESI 源;超纯水(屈臣氏);往复式震荡器(IKA);高速离心机(日历);涡旋振荡器(IKA);氮吹仪(美国 Organomation);电子天平(感量 0.000 1 g);PSA、C18、GCB 净化吸附剂、氯化钠、无水硫酸镁(艾杰尔);乙腈、甲酸均为优级纯(科密欧);甲醇为色谱纯(美国 Fisher 公司);供试标准品,购自 Dr。

1.1.2 样品 于哈尔滨市玉米种植面积较大的 11 个区、县(市)下的 38 个乡镇的生产企业、专业合作社、家庭农场(或种植大户)中进行采样点位的选取,按照玉米种植面积科学布置采样点位、优质特色玉米产区加密采样点位的布置,共选取 11 个具有代表性的采样点位。于 11 月下旬和次年 1 月下旬分 2 次进行样品的采集,每次采集样品 205 份,共采集玉米样本 410 份。具体采样地点和采集样本量见表 1。

收稿日期:2017-06-08

基金项目:哈尔滨市科技攻关计划资助项目(2016 AB3BS063)

第一作者简介:张海霞(1980-),女,黑龙江省大庆市人,硕士,高级农艺师,从事药残检测研究。E-mail:zhanghaixianj@163.com。

表 1 样品采集地点和采样数量
Table 1 Sample collecting locations
and quantities

采样地点 Collecting locations	采样数量 Collecting quantities	
	第一次 First time	第二次 Second time
SZ	10	10
SC	35	35
HL	20	20
AC	15	15
SB	5	5
BX	20	20
YS	10	10
YL	25	25
BY	30	30
ML	15	15
WC	20	20

1.2 方法

1.2.1 样品制备 样品经实验室用小型脱粒机进行脱粒后,经研磨机粉碎研磨,过 40 目筛,用于真菌毒素的检测。

1.2.2 QuEChERS 方法前处理 称取待测试样 5.00 g(精确至 0.01 g),置于 50 mL 离心管,加入 20 mL 的乙腈-水-甲酸(体积比为 50:49:1),水平振荡 30 min。加入 4.00 g 的 MgSO₄,1.00 g NaCl,涡旋震荡 1 min,5 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,提取上清液 4 mL 于 15 mL 离心管中,加入 PSA 200 mg,C18 120 mg,MgSO₄600 mg,混匀。水平振荡 20 min,5 000 r·min⁻¹ 离心 5 min。提取上清液 2 mL 于 10 mL 试管中,50 ℃ 氮吹至近干,加 0.5 mL 甲醇溶解后,再用水定容至 1 mL,过膜上机。

1.2.3 样品检测仪器条件 色谱柱:Waters ACQUITY UPLC BEH C18 柱(1.7 μm,2.1×50 mm);柱温:35 ℃;进样体积:5 μL;流速:0.3 mL·min⁻¹;流动相 1:A 为乙腈,流动相 B 为 0.1% 甲酸溶液。具体洗脱程序:0~2.0 min 10%~25% A,2.0~3.0 min 25%~45% A,3.0~4.0 min 45%~90% A,4.0~5.5 min 90% A,5.6~7.0 min 10% A。

1.2.4 质谱条件 离子源:电喷雾电离源(ESI),正离子模式;源温度:110 ℃;毛细管电压:0.5 kV;脱溶剂温度:400 ℃;脱溶剂气流速(N₂):800 L·h⁻¹;锥孔气速:50 L·h⁻¹。采用 MRM 多反应检测模式进行检测。

2 结果与分析

2.1 玉米样品中真菌毒素的检出情况

由图 1 和图 2 可知,玉米样品中黄曲霉毒素 B1(FAB1)未检出,检出的真菌毒素有脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)和玉米赤霉烯酮(ZEN),有些样品中仅单一毒素被检出,也有些样品中两种毒素同时被检出。两次采集的 410 份样品中共有 113 份有真菌毒素检出,总体检出率为 27.57%。第一次采集的样品中含真菌毒素的共检出 68 份,检出率为 33.17%,其中 ZEN 的检出率为 13.17%,DON 的检出率为 29.29%,两个参数同时检出的样品检出率 8.29%;第二次采集的样品中含真菌毒素的检出 45 份,检出率为 21.95%,其中 ZEN 的检出率为 10.73%,DON 的检出率为 16.09%,两个参数同时检出的占 4.87%;第一次采集的样品的总检出率及单个参数检出率显著高于第二次采集的样品,DON 的检出率高于 ZEN 的检出率。

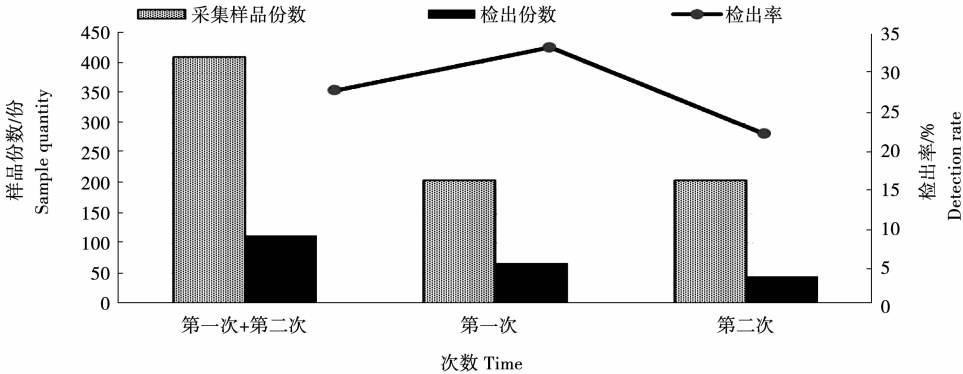


图 1 样品采集份数、检出份数及检出率

Fig.1 Sample collection quantity,the detection quantity and detection rate

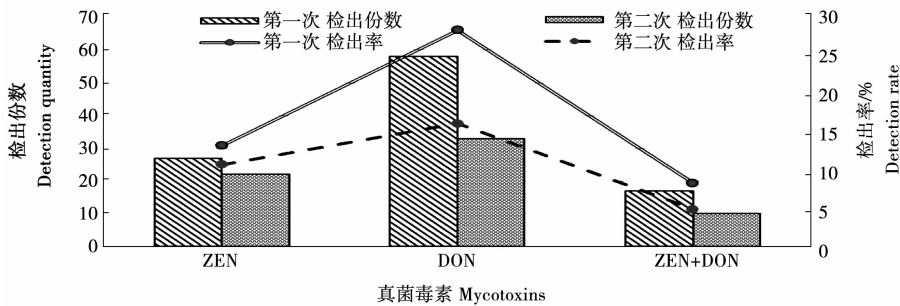


图2 真菌毒素的检出份数和检出率

Fig. 2 The detection quantity and detection rate of mycotoxins

2.2 玉米样品中真菌毒素的超标情况

玉米样品中真菌毒素检出的结果按照《GB2761-2011 食品安全国家标准食品中真菌毒素限量》的规定进行判定,检出的 DON 和 ZEN 均有超标,共计超标样品 17 份,超标率为4.15%。

第一次采集的样品超标率为 4.39%,其中 ZEN 超标 3.90%,DON 超标 0.48%;第二次采集的样品超标率为 3.90%,其中 ZEN 超标 2.92%,DON 超标 1.95%,两个参数复合超标占 0.97%(见图 3 和图 4)。

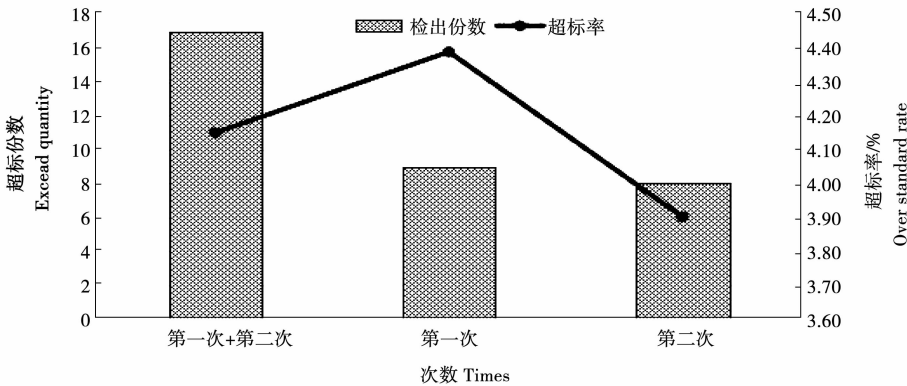


图3 玉米样品中真菌毒素超标率

Fig. 3 The exceed rate of mycotox in maize samples

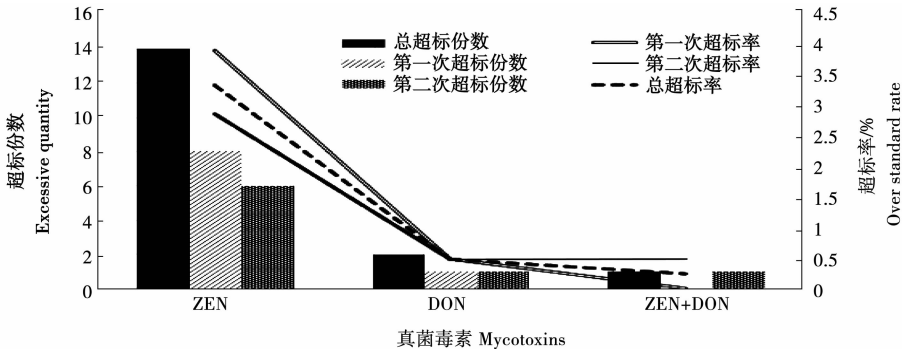


图4 玉米样品中不同真菌毒素的超标率

Fig. 4 The exceed rates of different mycotoxins in maize samples

2.3 不同样品采集地的真菌毒素检出情况

由图 5 可以看出,各区(市)的玉米样品中均有真菌毒素的检出,检出率范围为 6.5%~

58.7%,哈尔滨市玉米中霉菌毒素发生普遍。其中,YL 的霉菌毒素检出率最低,SZ 的霉菌毒素检出率最高。

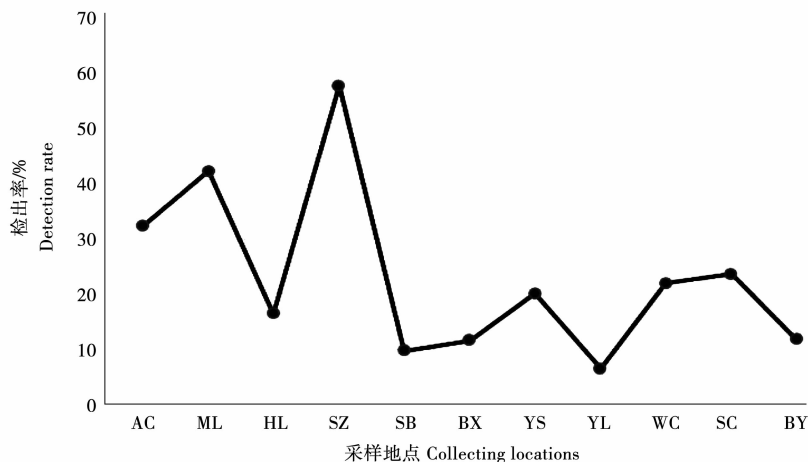


图 5 不同采样地点的真菌毒素检出情况

Fig. 5 The condition of mycotoxins in maize samples from different collecting locations

3 结论与讨论

玉米赤霉烯酮和呕吐毒素的产霉菌同属于镰刀菌属,此类霉菌属野外菌属,在低温环境中也会繁殖,阴冷潮湿的天气更易于生长。该类霉菌适宜生长温度为 5~25℃,低于 5℃停止生长。在通风散热情况较差、温度适宜时,当玉米中水分含量超过 15%时,可导致霉菌大量生长繁殖;哈尔滨市玉米收获时间在 10 月初至 10 月中旬,玉米的水分含量在 30%左右,自收获日期至 11 月中旬,白天最高气温基本上在 5℃以上,适宜玉米赤霉烯酮和呕吐毒素生长。第二次监测时间为 1 月中旬,玉米水分低,气温较低,两次监测期间气温在 1~29℃,霉菌毒素含量已基本不发生变化。另外,当发现玉米表面有霉变情况后,农户在 12 月初即可脱粒销售,此时储藏玉米的外观质量均高于过冬后次年销售的玉米。

按照哈尔滨市 2015 年玉米种植面积 113.33 万 hm^2 ,平均产玉米 1 200 $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 计算,将导致约 30.67 万 hm^2 、55 亿 kg 玉米受霉菌毒素污染,进而造成玉米营养的流失。将导致约 4.67 万 hm^2 、8.5 亿 kg 玉米不可食用,按玉米 0.82 元 $\cdot \text{kg}^{-1}$ 计算,直接经济损失约 6.9 亿元。因此要严格控制玉米的水分含量,加强储藏管理,防控霉菌毒素发生,提高玉米的质量安全,保证玉米种植的经济效益。

参考文献:

- [1] 曹冬梅,美国 DDGS 及中国北方玉米中的霉菌毒素的检测[J]. 饲料广角,2010(24):24-25.
- [2] 郭礼强,宫小明,丁葵英,等. 基于 QuEChERS 提取的液相色谱-串联质谱法测定干腌火腿中 15 种真菌毒素[J]. 分析测试学报,2015,34(2):141-146.
- [3] 孙利,霍江莲,崔维刚,等. 粮食产品中真菌毒素的色谱及质谱检测技术研究进展[J]. 食品科学,2013,34(19):367-375.
- [4] 喻理,李培武,张奇,等. 石墨烯吸附材料及其在真菌毒素检测中的应用[J]. 分析测试学报,2015,34(10):1204-1212.
- [5] 张巧艳,王钊,陈健文,等. 杭州市粮油类农产品真菌毒素快速检测与安全性评估[J]. 浙江农业学报,2011,2(3):582-587.
- [6] Arroyo-Manzanares N, Huertas-Pérez J F, García-Campaña A M, et al. Simple methodology for the determination of mycotoxins in pseudocereals, spelt and rice[J]. Food Control, 2014,36(1):94-101.
- [7] Turner W N, Subrahmanyam S, Pieletsky S A. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review [J] Analytica Chimica Acta, 2009,632(2):162-180.
- [8] 李磊,李海畅,周贻兵,等. 液相色谱-串联质谱测定小麦粉中 11 种真菌毒素[J]. 食品研究与开发,2016,37(3):156-160.
- [9] 崔勇,李青,刘思洁,等. 超高效液相色谱-串联质谱测定食品中 4 种真菌毒素残留量[J] 中国卫生工程学,2014,13(1):46-48,51.
- [10] 唐为民. 我国粮油及其制品安全卫生问题[J]. 粮食与粮油,2003(11):36-38.

无公害畜产品养殖水中氰化物的检测

黄东亚, 彭圉凯, 闫金婷

(西安市农产品质量安全检验监测中心, 陕西 西安 710077)

摘要:为验证离子色谱法检测氰化物的准确性, 对其优化条件进行了研究, 并与滴定法和异烟酸-吡啶啉酮分光光度法分别对氰化物的检测结果进行对比。结果表明: 离子色谱法线性关系良好, 重复性高, 加标回收率为 95%~105%, 最低检出限为 0.001 mg·L⁻¹。此方法具有简便、快速、安全、选择性强等优点, 适用于无公害畜产品养殖水中氰化物的测定。

关键词:离子色谱法; 滴定法; 分光光度法; 无公害养殖水; 氰化物

中图分类号: O657.7; X503.221 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2767(2017)08-0077-04 DOI: 10.11942/j.issn1002-2767.2017.08.0077

科学技术不断发展进步的同时, 人们赖以生存的环境却受到严重破坏, 其中最严重的是水体污染。氰化物是一类含有氰基的强毒性环境污染物, 氰化物进入人体, 会造成组织缺氧, 导致机体陷入窒息状态, 此外某些腈类化合物的分子本身还会直接对中枢神经系统造成抑制作用。目前氰化物参数在无公害畜产品养殖水和农田灌溉水中已成为必检项目。

现有的国标和行标中, 氰化物的检测方法分为两大类, 一是容量滴定法, 检出限为 0.25 mg·L⁻¹。

二是分光光度法(异烟酸-吡啶啉酮分光光度法, 检出限为 0.004 mg·L⁻¹; 异烟酸-巴比妥酸分光光度法, 检出限为 0.001 mg·L⁻¹; 吡啶-巴比妥酸, 检出限为 0.002 mg·L⁻¹)^[1-2]。现有的这两种方法, 分析过程繁杂, 样品都需要蒸馏处理且操作安全性差, 耗费时间长, 操作过程中的影响因素多^[3-4]。离子色谱法作为一种先进的仪器分析方法, 具有简便、快速、安全、选择性强等优点已被广泛使用, 但氰化物的离子分析还尚未成熟。在实际应用中, 受到分离柱、淋洗液等的影响, 本试验将对以上这些因素进行确认, 并与容量滴定法、异烟酸-吡啶啉酮分光光度法进行比对, 以验证离子色谱法在无公害养殖水氰化物检测的可行性。

收稿日期: 2017-06-22

第一作者简介: 黄东亚(1970-), 女, 陕西省临潼县人, 学士, 农艺师, 从事农产品质量安全检测工作。E-mail: 1327581841@qq.com。

Screening and Analysis of the Mycotoxin in the Maize Stored on the Ground of Harbin by QuEChERS Method

ZHANG Hai-xia, XU Jing, XU Lian-wei, LIU Chang

(Harbin Examining and Inspection Center for Agricultural Products Safety and Quality, Harbin, Heilongjiang 150070)

Abstract: In order to control the contamination of mycotoxins in maize stored in Harbin, the samples were taken from Harbin farmers' home in the 11 maize planting area. The sampling work were done in the period after harvest and before sale. QuEChERS and the super high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry were used to detect FABI, ZEN and DON in maize samples. The results showed that the samples of maize in each district and county(city) were detected by fungal toxin, and the aflatoxin B1 was not detected, and the levels of ZEN and DON were detected and excessive. The detection rate of mycotoxin was 27.57%, and the exceed rate was 4.15%. The detection rate of mycotoxins collected for the first time was higher than that of the second time.

Keywords: Harbin; maize stored on the ground; mycotoxins; QuEChERS