

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2022.01.019

连倩, 贾湃湃, 肖明, 等. 青稞真菌毒素检测分析[J]. 粮油食品科技, 2022, 30(1): 157-161.

LIAN Q, JIA P P, XIAO M, et al. Test and analysis on mycotoxin level of hulless barley[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2022, 30(1): 157-161.

# 青稞真菌毒素检测分析

连倩<sup>1</sup>, 贾湃湃<sup>1</sup>, 肖明<sup>1,2</sup>✉, 崔明明<sup>2</sup>, 孙小凤<sup>2</sup>

(1. 青海大学 农牧学院, 青海 西宁 810016;

2. 青海大学 农林科学院农业农村部农产品质量安全风险评估实验室(西宁), 青海 西宁 810016)

**摘要:** 采集甘肃、西藏、青海、四川四省共 299 份青稞样品, 采用高效液相色谱串联质谱方法对其 13 种真菌毒素进行检测分析。结果表明: 4 个省份青稞样品中 13 种真菌毒素均未超标, 仅检出 T-2 毒素(T-2 Toxin)、玉米赤霉烯酮(Zearalenone, ZEN)。青海部分地区 T-2 检出率为 49.26%; 四川部分地区 T-2、ZEN, 检出率分别为 13.89%、8.33%; 甘肃地区 T-2 检出率 16.67%; 西藏地区 ZEN 检出率 3.09%。从样品数据来看, T-2 毒素、ZEN 检出率未超过国内外已有的限量标准, 其他毒素未检出。在不同收获方式及不同贮存条件下具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

**关键词:** 青稞; 真菌毒素; 检测分析

中图分类号: TS210.2 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2022)01-0157-05

## Test and Analysis on Mycotoxin Level of Hulless Barley

LIAN Qian<sup>1</sup>, JIA Pai-pai<sup>1</sup>, XIAO Ming<sup>1,2</sup>✉, CUI Ming-ming<sup>2</sup>, SUN Xiao-feng<sup>2</sup>

(1. College of agriculture and animal husbandry, Qinghai University, Xining, Qinghai 810016, China;

2. Laboratory of quality and safety risk assessment of agricultural products of Ministry of agriculture and rural areas, Academy of agriculture and Forestry Sciences (Xining), Qinghai University, Xining, Qinghai 810016, China)

**Abstract:** 299 samples of highland barley were collected from Gansu, Tibet, Qinghai and Sichuan provinces, 143 mycotoxins were analysed by HPLC-MS/MS. The results showed that 13 mycotoxins in the samples from every province were not beyond the standard, just only T-2 Toxin and Zearalenone found. The detection rate of T-2 toxin in some areas of Qinghai was 49.26%; The detection rates of T-2 toxin, and zearalenone (ZEN) in some areas of Sichuan were 13.89% and 8.33% respectively; The detection rate of T-2 toxin in Gansu Province was 16.67%, which was not over the standard; The detection rate of ZEN in Tibet was 3.09%. According to the analysis data, the detection rates of T-2 toxin and ZEN were significantly different under different harvest methods and storage conditions ( $P < 0.05$ ).

**Key words:** hulless barley; mycotoxin; test and analysis

收稿日期: 2021-06-01

基金项目: 农业农村部 2020 农业投入品质量检验及调查专项 (125D0203)

Supported by: Ministry of Agriculture and Rural Areas 2020 Special Project for Quality Inspection and Investigation of Agricultural Inputs (No.125D0203)

作者简介: 连倩, 女, 1996 年出生, 在读硕士生, 研究方向为食品加工与安全。E-mail: 1401330566@qq.com.

通讯作者: 肖明, 男, 1971 年出生, 副研究员, 研究方向为农产品安全风险评价。E-mail: 1993990035@qhu.edu.cn.

真菌毒素是由真菌产生的次级代谢产物，广泛存在于小麦、水稻等农产品中<sup>[1]</sup>。真菌毒素污染是全球性问题，大多数国家的谷物都受到不同程度的真菌毒素的污染<sup>[2]</sup>。在欧洲，2006—2007 年，意大利的翁布里亚地区玉米中 DON 含量最高达 14.00 mg/kg<sup>[3]</sup>。奥地利玉米中 DON 的检出率高达 95%，其他谷类也有 60%，70% 的玉米同时也检出了玉米赤霉烯酮<sup>[4]</sup>。在我国，2010 年 12 个省份的 215 份玉米样品中 ZEN 检出率为 69.30%<sup>[5]</sup>。青稞是一种高原特色显著的健康食物资源<sup>[6]</sup>，它在青藏高原地区得到广泛种植，是藏族人民的基本口粮。青稞质量安全不仅与青藏高原地区的农业发展息息相关，还直接影响到人民的身体健康<sup>[7]</sup>。此外青稞还具有高蛋白质、高可溶性纤维、高维生素和低脂肪、低糖的营养结构特点<sup>[8]</sup>，因此具有很高的食疗价值<sup>[9]</sup>。因此，它的质量安全也受到广泛的关注与重视。在所有影响青稞质量的安全因子中，真菌毒素是其中的一个主要因素。由于青稞在储藏过程中时间较长，存储不当将有可能导致青稞发霉变质，产生毒素。迄今发现超过 400 种真菌毒素<sup>[10]</sup>，主要有黄曲霉毒素(Aflatoxin, AFT)、玉米赤霉烯酮(Zearalenone, ZEN)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(Deoxynivalenol, DON)及伏马毒素等，这些毒素对人体具有致畸、致癌、致突变、降低免疫力和肝硬化等慢性毒性<sup>[11-12]</sup>。真菌毒素对粮食的污染不仅对人畜健康造成危害，而且有可能产生食品贸易纠纷。因此，真菌毒素在粮食中的污染问题受到世界各国和有关国际组织的高度重视。

本研究利用高效液相色谱串联质谱的检测方

法，对青稞原粮中 13 种主要真菌毒素进行检测，以初步探明青稞产品真菌毒素等高风险产区及监管重点，为青稞的科学研究、促进生产、有效监管提供数据支撑，也为我国居民安全消费提供参考借鉴。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

青稞样品共 299 份：分别从青海、四川、甘肃、西藏采集，如表 1 所示；

13 种毒素标准品（纯度>99%），伏马毒素 B<sub>1</sub> (Fumonisin B<sub>1</sub>, FB<sub>1</sub>)、伏马毒素 B<sub>2</sub> (Fumonisin B<sub>2</sub>, FB<sub>2</sub>)、伏马毒素 B<sub>3</sub> (Fumonisin B<sub>3</sub>, FB<sub>3</sub>)、黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (Aflatoxin B<sub>1</sub>, AFB<sub>1</sub>)、黄曲霉毒素 B<sub>2</sub> (Aflatoxin B<sub>2</sub>, AFB<sub>2</sub>)、黄曲霉毒素 G<sub>1</sub> (Aflatoxin G<sub>1</sub>, AFG<sub>1</sub>)、黄曲霉毒素 G<sub>2</sub> (Aflatoxin G<sub>2</sub>, AFG<sub>2</sub>)、3-乙酰脱氧雪腐镰刀菌稀醇 (3-Acetyldeoxynivalenol, 3-ADON)、15-乙酰脱氧雪腐镰刀菌稀醇 (15-Acetyldeoxynivalenol, 15-ADON)、DON、雪腐镰刀菌稀醇 (Nivaleno, NIV)、ZEN、T-2 毒素 (T-2 Toxin)：北京美正检测技术有限公司；乙腈、甲酸为色谱纯：上海安普实验科技股份有限公司产品。

### 1.2 仪器与设备

LCMS-8050 三重四极杆液质联用仪：岛津有限公司；FLBP-200 万能高速粉碎机：上海菲力博食品机械有限公司；VORTEX-5 涡旋振荡器：北京海天友诚科技有限公司；H1850R 离心机：长沙高新技术产业开发区湘仪离心机仪器有限公司；DC-12 氮吹仪：上海安谱实验科技股份有限公司。

表 1 样品信息采集

Table 1 Sample information collection

地区	样品数	品种	贮存条件		收获方式	
			农场	农户	机械	人工
青海	136	北青 8 号 (47)、肚里黄 (47)、昆仑 14 号 (25)、其他 (17)	66	70	136	0
四川	36	黑青稞 (36)	10	26	0	36
甘肃	30	昆仑 14 号 (10)、藏青 25 号 (10)、甘青 4 号 (10)	10	20	20	10
西藏	97	藏青 2000 (19)、藏青 320 (11)、春青稞 (20)、当地品种 (20)、其他 (27)	26	71	2	95

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 真菌毒素标准溶液的配制

准确称取 1 mg (精确至 0.01 mg) 13 种标准

品分别置于 10 mL 棕色容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，得到 13 种浓度为 100 mg/L 的真菌毒素标准储备溶液，置于 -20 °C 冰箱中避光保存，

备用。实验中使用的单个标准工作液,均由单个标准储备液稀释得到,现用现配。

### 1.3.2 样品前处理

采集的青稞样品,挑出其中的石块、草根及其他植物残体,用80目的筛子筛走样品中残带的细泥沙,使用破壁机粉碎青稞,得到青稞均匀粉末,装塑封袋贴标签备用。量取5 mL乙酸,400 mL乙腈,100 mL水,混合配制成提取液。称取2.00 g样品于50 mL离心管内,加入10 mL提取液,在30 °C下超声10 min,期间不断摇匀三次,涡旋振荡5 min至充分混匀,在10 000 r/min离心5 min,取上清液0.5 mL至离心管中,氮吹干后加提取液0.5 mL,混匀,过0.22 μm滤膜于样品瓶内,待上机。

### 1.3.3 色谱质谱条件

色谱条件:C18液相色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm),流动相A:1%乙酸和5 mmol/L 乙酸铵水溶液;流动相B:甲醇,进样量:2 μL,流速:0.3 mL/min,柱温:35 °C。

梯度洗脱程序:0~2 min, 10.0% B; 3~10.5 min, 20%~60% B; 13.5~18.0 min, 60%~75% B, 18.1~22.0 min, 95%~10% B。质谱条件:电喷雾电离源(electrospray ionization, ESI);雾化气:氮气(99.999%);碰撞气:氮气(99.999%);雾化气压力:40 psi;干燥器温度:350 °C;干燥器流量:10 L/min;毛细管电压:4 000 V。

### 1.3.4 真菌毒素限量规定

限量标准参照相关<sup>[13-14]</sup>。

## 1.4 数据分析

运用 Excel、SPSS 23.0、Origin 2018 等软件对数据进行数据处理分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 青稞真菌毒素各地情况

全部样品中真菌毒素均未超标,仅检出T-2、ZEN两种真菌毒素。T-2毒素是由多种真菌,主要是三线镰刀菌产生的单端孢霉烯族化合物之一<sup>[15]</sup>。它在自然界中存在广泛,是常见的污染田间作物和库存谷物的主要毒素,对人、畜危害较大<sup>[16-18]</sup>。如表2所示,T-2毒素在所有样品中检出率为25.75%,在青海样本中检出率为49.26%,是甘肃地区检出率的3倍;甘肃样本中检出T-2毒素检出率为16.67%;四川样本中,T-2毒素检出率为13.89%,最高含量为68 μg/kg;西藏样本中未检出T-2毒素。研究表明T-2毒素在变温、高水分含量且温度在3~7 °C条件下最适宜生长<sup>[19]</sup>。青海地区样本主要采集于门源县,门源气候湿润、水量充足且青稞黑穗病发生普遍,因此检出T-2毒素频率较高。ZEN只有在四川和西藏两个地区检出,检出率四川地区为8.33%,最高含量为52 μg/kg;西藏地区检出率较低,为3.09%。

### 2.2 各青稞品种毒素情况

北青8号、肚里黄、昆仑14号均检出T-2毒素。黑青稞中两种毒素均检出,但含量均较低,抗逆性较强。T-2在青稞品种中分布情况如表3所示,T-2毒素在七种品种中均有检出,其中北青

表2 各地区青稞毒素含量

Table 2 Content of highland barley toxin in different regions

	最大值/(μg/kg)	最小值/(μg/kg)	平均值/(μg/kg)	检出率/%	超限率/%	
T-2	全部样品	633.00	ND	36.63	25.75	-
	甘肃	73.00	ND	6.83	16.67	-
	青海	633.00	ND	81.11	49.26	-
	四川	68.00	ND	7.41	13.89	-
	西藏	ND	ND	ND	-	-
ZEN	全部样品	52.00	ND	0.47	2.00	-
	甘肃	ND	ND	ND	-	-
	青海	ND	ND	ND	-	-
	四川	52.00	ND	1.92	8.33	-
	西藏	50.00	ND	0.74	3.09	-

注:ND表示低于检出限的值。

Note: ND is lower than the detection limit.

8 号检出 T-2 毒素最多, 肚里黄次之, 昆仑 14 号中检出较多, 其中北青 8 号不抗倒伏, 中抗条纹病; 肚里黄较抗倒伏, 抗病虫害; 昆仑 14 号抗倒伏性强, 中抗条纹病及云纹病。青稞品种的抗倒伏性及抗病虫害能力影响青稞籽粒毒素的生成。倒伏发生以后, 部分叶片被压倒或折损, 无法获得足够的光照, 影响叶片光合作用, 严重时叶片会变黄甚至腐烂, 如果土壤湿度大, 倒伏后的植株更易滋生毒素。ZEN 在青稞品种中分布情况如表 4 所示, ZEN 毒素仅在藏青 2000、当地品种及黑青稞三种青稞品种中检出, ZEN 毒素在各品种中检出率均未超过 2.40%。

表 3 T-2 在青稞品种中分布情况

品种	北青 8 号	藏青 25 号	肚里黄	甘青 4 号	黑青稞	昆仑 14 号	昆仑 4 号
检出数	29	4	19	4	5	10	3

表 4 ZEN 在青稞品种中分布情况

品种	藏青 2000	当地品种	黑青稞
检出数	2	1	3

### 2.3 毒素在不同贮存条件中检出情况

两种毒素在不同贮存条件下检出情况如表 5 所示, 两种毒素在农户贮存中均有检出, 并且检出率在农户贮存条件下均高于在农场贮存条件下。T-2 毒素在农户中检出率达 33.16%, 是在农场贮存中检出率的 3.71 倍; ZEN 仅在农户贮存中检出。统计分析显示, T-2、ZEN 在不同贮存条件下的检出率具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。农场贮存青稞选择联合收割机统一收割, 收割时间短, 避免突遇阴雨天气, 而使成熟粮含水率增加。选择粮仓储存, 温度控制在 10~15 °C, 相对湿度控制在 65% 以内, 且通风条件较好; 而青稞农户贮存

表 5 两种毒素在不同贮存条件下检出情况

Table 5 Detection of three toxins under different storage conditions

毒素类别	贮存条件	样品数/份	检出数/份	检出率/%	P
T-2	农场	112	10	8.93	0.016
	农户	187	62	33.16	
ZEN	农场	112	0	0.00	0.016
	农户	187	5	2.67	

一般为人工收割, 碾场脱粒, 庭院晾晒, 土楼库存。中间籽粒暴露环节多, 尤其库房多年使用终年没有阳光, 相对阴潮, 温湿度得不到很好的控制, 容易滋生真菌。

### 2.4 毒素在不同收获方式下检出情况

两种毒素在不同收获方式下检出情况如表 6 所示, T-2 在机械收获条件下检出率为 42.95%, ZEN 仅在人工收获方式下检出, 检出率为 3.50%。统计分析显示, T-2、ZEN 检出率在不同收获方式下具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

表 6 两种毒素在不同收获方式下检出情况

Table 6 Detection of three toxins under different harvest methods

毒素类别	收获方式	样品数/份	检出数/份	检出率/%	P
T-2	机械	156	67	42.95	0.044
	人工	143	5	3.50	
ZEN	机械	156	0	0.00	0.016
	人工	143	5	3.50	

## 3 结论

本研究在前期调研的基础上, 选取四川、青海、西藏和甘肃 4 个青稞种植省份作为采样点, 采集了 299 份并分析 13 种真菌毒素的污染情况。结果显示, T-2、ZEN 在全部样品中的检出率分别为 25.75%、2.00%, 但均未超标, 由此说明 T-2 毒素是主要污染物, 且两种毒素污染水平较低。青海主要受 T-2 毒素污染, 检出率为 49.26%, 高于其他 3 个省份。总体来看, 4 个省份青稞受真菌毒素污染水平较低。真菌毒素产生受多种因素影响, 本研究分析了不同地域、不同品种、不同贮存条件及不同收获方式对真菌毒素产生的影响, 研究显示不同地域, 由于气候条件不一, 水量充足且温湿度较高的地区受毒素污染严重; 抗倒伏、抗病虫害的品种不易受毒素污染; 农户贮存条件下, 由于储藏条件不科学, 储藏室阴暗潮湿, 毒素检出较多; 机械收获对青稞籽粒造成的损伤高于人工收获, 因此 T-2 毒素检出较高。为减轻毒素污染, 应采取合理的措施进行防控, 可选择抗性强青稞品种, 合理灌溉, 控制湿度, 植株成熟后尽快收获并晾晒, 尽量在通风良好的条件下储存。在后续研究中, 还可继续扩大样本量, 监测其他影响因素, 如气候条件、土壤类型、温

湿度等。目前粮食真菌毒素已引起广泛关注，国家有关部门对此高度重视，采取有效措施，妥善处理被真菌毒素污染的超标粮食，确保不用做食用用途，保障广大人民群众“舌尖上的安全”。

### 参考文献:

- [1] ALASSANEKPEMBI I, SCHATZMAYR G, TARANU I, et al. Mycotoxins co-contamination: Methodological aspects and biological relevance of combined toxicity studies[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2016, 57(16): 3489-3507.
- [2] COVARELLI L. Infection by mycotoxigenic fungal species and mycotoxin contamination of maize grain in Umbria, central Italy[J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(9): 2365-2369.
- [3] LATTANZIO V M, NIVARLET N, LIPPOLIS V. Multiplex dipstick immunoassay for semi-quantitative determination of Fusarium mycotoxins in cereals[J]. *Anal Chim Acta*, 2012(718): 99-108.
- [4] YU F Y, CHI T F, LIU B H. Development of a sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of ochratoxin A[J]. *Agric Food Chem*, 2010, 53(17): 6947-6953.
- [5] 马皎洁, 邵兵. 我国部分地区 2010 年产谷物及其制品众多组分真菌毒素污染状况研究[J]. *中国食品卫生杂志*, 2011, 23(6): 481-488.
- MA J J, SHAO B. Study on mycotoxin contamination of many components in cereals and cereal products produced in 2010 in some areas of China[J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2011, 23(6): 481-488.
- [6] 冯朵, 王靖, 季晓娇, 等. 青稞功效成分和保健功能研究进展[J]. *食品科技*, 2020, 45(9): 57-61.
- FENG D, WANG J, JI X J, et al. Research progress on functional components and health functions of highland barley[J]. *Food Science and Technology*, 2020, 45(9): 57-61.
- [7] 魏娜, 岳晓凤, 余秋玉, 等. 青藏高原主要麦类作物真菌毒素污染与产毒真菌分布研究[J]. *麦类作物学报*, 2020, 40(4): 510-516.
- WEI N, YUE X F, YU Q Y, et al. Mycotoxin pollution and distribution of toxin producing fungi in main wheat crops in Tibet Plateau[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2020, 40(4): 510-516.
- [8] 王梦倩, 孙颖, 邵丹青, 等. 青稞的营养价值和功效作用研究现状[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(23): 206-211.
- WANG M Q, SUN Y, SHAO D Q, et al. Nutritional value and efficacy of highland barley [J]. *Food Research and Development*, 2020, 41(23): 206-211.
- [9] LAHOUAR L, EL-BOK S, ACHOUR L. Therapeutic potential of young green barley leaves in prevention and treatment of chronic diseases: an overview[J]. *The American Journal of Chinese medicine*, 2015, 43(7): 1311-1329.
- [10] 张新娜, 马丽艳, 潘赛超, 等. 高效液相色谱-串联质谱测定杂粮豆类中 11 种真菌毒素[J]. *食品科学*, 2019, 40(8): 306-310.
- ZHANG X N, MA L Y, PAN S C, et al. Determination of 11 mycotoxins in cereals and beans by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Food Science*, 2019, 40(8): 306-310.
- [11] 黄晓静, 王少敏, 毛丹, 等. 曲霉属真菌毒素的毒性研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(8): 1679-1687.
- HUANG X J, WANG S M, MAO D, et al. Research progress on toxicity of Aspergillus mycotoxins[J]. *Journal of Food Safety and Quality Inspection*, 2017, 8(8): 1679-1687.
- [12] 吴限鑫, 林秋君, 郭春景, 等. 国内外主要粮油产品中真菌毒素限量、检测标准及风险评估现状分析[J]. *中国粮油学报*, 2019, 34(9): 130-138.
- WU X X, LIN Q J, GUO C J, et al. Analysis of mycotoxin limit, detection standard and risk assessment of main cereal and oil products at home and abroad [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2019, 34(9): 130-138.
- [13] 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, 2006.
- National food safety standard limit of mycotoxins in food: GB 2761—2017[S]. Beijing: China Standards Press, 2006.
- [14] 翟晨, 穆蕾, 杨悠悠. 中国及欧盟粮油食品真菌毒素限量及减控措施对比[J]. *现代食品科技*, 2020, 36(3): 302-309.
- ZHAI C, MU L, YANG Y Y. Comparison of the limit and control measures of mycotoxins in cereals and oils between China and EU[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2020, 36(3): 302-309.
- [15] 向彪, 陈长福, 王迎, 等. T-2 毒素毒性作用研究进展[J]. *中国兽医杂志*, 2020, 56(2): 67-69.
- XIANG B, CHEN C F, WANG Y, et al. Research progress on toxic effect of T-2 toxin [J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2020, 56(2): 67-69.
- [16] 宋佳, 范寰, 闫雪, 等. T-2 毒素的危害及脱毒研究进展[J]. *粮油食品科技*, 2020, 28(5): 194-199.
- SONG J, FAN H, YAN X, et al. Research progress on the harm and detoxification of T-2 toxin [J]. *Science and Technology of Cereals, Oils and Foods*, 2020, 28(5): 194-199.
- [17] AI C, XIAO X, SUN F, et al. T-2 toxin neurotoxicity: role of oxidative stress and mitochondrial dysfunction[J]. *Archives of Toxicologie*, 2019(3): 1-16.
- [18] 王虎军, 薛华丽, 赵军, 等. T-2 毒素的产生、毒性及脱毒研究进展[J]. *食品质量安全检测学报*, 2014, 5(8): 2393-2398.
- WANG H J, XUE H L, ZHAO J, et al. The progress of the production, toxicity and detoxification of T-2 toxin[J]. *Journal of Food Safety and Quality Inspection*, 2014, 5(8): 2393-2398.
- [19] 李群伟, 李德安, 孟宪清, 等. 影响镰刀菌生长与产毒的基本因素的研究[J]. *中国地方病学杂志*, 1998, 17(6): 355-358.
- LI Q W, LI D A, MENG X Q, et al. Experimental studies on elementary factors of Fusarium's growth and toxin production[J]. *Chinese Journal of Endemiology*, 1998, 17(6): 355-358. ㊞