

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241008006

引用格式: 谢婷婷. 胶体金检测卡测定小麦和玉米中伏马毒素和 T-2/HT-2 毒素的方法学联合验证[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(4): 36–43.

XIE TT. Interlaboratory validation of colloidal gold detection card for detecting fumonisin and T-2/HT-2 toxin in *Triticum aestivum* L. and *Zea mays* [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(4): 36–43. (in Chinese with English abstract).

胶体金检测卡测定小麦和玉米中伏马毒素和 T-2/HT-2 毒素的方法学联合验证

谢婷婷*

(福建省粮油质量监督所, 福州 350012)

摘要: 目的 建立胶体金检测卡法测定小麦和玉米中伏马毒素和 T-2/HT-2 毒素的分析方法。**方法** 在 6 家实验室间开展联合验证, 评价了方法的检出限、定量限、精密度和准确性。**结果** 伏马毒素和 T-2/HT-2 毒素方法的检出限分别为 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限分别为 450 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。当小麦、玉米中伏马毒素含量在 426.39~3897.22 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 得出方法重复性标准差 S_r 和再现性标准差 S_R 与伏马毒素含量 m 的关系式, 即重复性标准差 $S_r=1.478m^{0.600}$, 再现性标准差 $S_R=4.269m^{0.591}$; 当小麦、玉米中 T-2/HT-2 毒素含量在 426.39~3897.22 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 重复性标准差 S_r 和再现性标准差 S_R 与 T-2/HT-2 毒素含量 m 的关系式分别为: 重复性标准差 $S_r=3.1901m^{0.218}$, 再现性标准差 $S_R=0.2507m^{0.492}$ (小麦基质); 重复性标准差 $S_r=0.8357m^{0.333}$, 再现性标准差 $S_R=1.1231m^{0.585}$ (玉米基质)。在 3 个浓度水平下进行加标回收实验, 伏马毒素的回收率在 95.42%~101.90% 之间, T-2/HT-2 毒素的回收率在 83.30%~118.20% 之间。与标准方法进行配对 t 检验, 结果无显著性差异。**结论** 本方法准确性好, 可以广泛推广用于小麦、玉米中伏马毒素、T-2/HT-2 毒素含量的快速定量检测。

关键词: 胶体金; 方法联合验证; 小麦; 玉米

Interlaboratory validation of colloidal gold detection card for detecting fumonisin and T-2/HT-2 toxin in *Triticum aestivum* L. and *Zea mays*

XIE Ting-Ting*

(Institute of Grain and Oil Quality Supervision and Test of Fujian Province, Fuzhou 350012, China)

ABSTRACT: Objective To establish a rapid colloidal gold card method for the determination of fumonisin and T-2/HT-2 toxin in *Triticum aestivum* L. and *Zea mays*. **Methods** The limit of detection, limit of quantitative, precision and accuracy of the method were evaluated in 6 laboratories. **Results** The limits of detection of fumonisin and T-2/HT-2 toxin methods were 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. The limits of quantitation were 450 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 11 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. When the fumonin content in *Triticum aestivum* L. and corn ranged from 426.39 to 3897.22 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the relationship between the method repeatability standard deviation S_r and reproducibility standard

收稿日期: 2024-10-08

基金项目: 2019 年第一批粮食行业标准制修订计划项目(国粮办〔2019〕192 号)

第一作者/*通信作者: 谢婷婷(1988—), 女, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为粮油饲料卫生安全检测。E-mail: 119372602@qq.com

deviation S_R and fumonin content was obtained, namely, repeatability standard deviation $S_r=1.478m^{0.600}$ and reproducibility standard deviation $S_R=4.269m^{0.591}$. When the T-2/HT-2 toxin content in *Triticum aestivum* L. and *Zea mays* ranged from 426.39 to 3897.22 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the relation between repeatability standard deviation S_r and reproducibility standard deviation S_R and T-2/HT-2 toxin content m was as follows: Repeatability standard deviation $S_r=3.1901m^{0.218}$, reproducibility standard deviation $S_R=0.2507m^{0.492}$ (*Triticum aestivum* L. matrix). Repeatability standard deviation $S_r=0.8357m^{0.333}$, reproducibility standard deviation $S_R=1.1231m^{0.585}$ (*Zea mays* matrix). The recoveries of fumonisin and T-2/HT-2 toxin ranged from 95.42% to 101.90% and 83.30% to 118.20% respectively. There was no significant difference between the paired t test and the standard method. **Conclusion** The method has good accuracy and can be widely used for rapid and quantitative determination of fumonisin and T-2/HT-2 toxin in *Triticum aestivum* L. and *Zea mays*.

KEY WORDS: colloidal gold; method joint verification; *Triticum aestivum* L.; *Zea mays*

0 引言

伏马毒素和 T-2/HT-2 毒素是常见的两种真菌毒素, 主要污染农作物、谷物(小麦、玉米等)及动物饲料^[1-3]。它们是对人、畜健康威胁较大的真菌毒素^[4-6], 人们越来越重视其危害性^[7-9]。国际上把伏马毒素归属于 2B 类致癌物质^[10-12]。根据结构可以将伏马菌素分为 A、B、C 和 P 四组, 其中 B 族伏马菌素 FB_1 、 FB_2 和 FB_3 毒性最强^[13], 是粮食和饲料中伏马毒素存在的主要形式^[14-15]。HT-2 毒素是 T-2 毒素的主要代谢产物, 结构上十分类似^[16-17], HT-2 毒素时常是伴随着 T-2 毒素存在玉米、小麦等谷物中^[18-20]。2024 年 4 月, 欧盟委员会发布(EU)2024/1038 号条例新增了某些食品包括未加工谷物、谷物碾磨产品等 T-2 和 HT-2 毒素总和的最大残留限量。

目前, 小麦、玉米中伏马毒素、T-2/HT-2 毒素的检测技术包括高效液相色谱-质谱法、液相色谱法等, 具有检测灵敏度高的优点, 但并不适用于粮食收购现场快速检测。胶体金检测卡法作为比较流行的检测技术, 在食品安全领域得到了广泛应用^[21]。近年来, 在粮食的真菌毒素快速检测应用较多, 包括呕吐毒素^[22-23]、黄曲霉毒素^[24]等。根据《食品法典委员会程序手册》(第二十版)中要求, 在选择分析方法时应考虑建立在精确度、检出限等指标之上的方法, 其中精确度包括实验室内重复性和实验室间再现性。据报道, 在评价胶体金检测卡法检测粮食中伏马毒素、T-2/HT-2 毒素时, 尚未对其实验室间的精密密度做深入研究, 这也是方法建立过程必须进行的一个步骤^[25-26]。前期课题组在单个实验室内研究了胶体金检测卡法检测粮食中小麦、玉米的初步可行性^[27-28], 对于其在多个实验室间的应用尚未研究, 不利于该方法普遍应用于小麦、玉米的伏马毒素、T-2/HT-2 毒素的检测。基于此, 本研究在 6 家国家级标准联合验证中心开展胶体金检测卡法检测小麦和玉米中伏马毒素、T-2/HT-2 毒素方法学联合验证研究。通过多家实验室联合测定方法的检出限、定量限、方法精密密度、准确性

等指标, 利用柯克伦检验和格拉布斯检验统计该方法的重复性与再现性的数据, 更加系统地评价该方法的科学性、适宜性和可行性, 对该方法的应用性及稳定性进行分析, 以期胶体金检测卡法检测技术在粮食收购现场快速检测中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

玉米、小麦(随机在福建福州购买); 伏马毒素(FB_1 、 FB_2 和 FB_3)混合标准溶液(伏马毒素标准溶液质量浓度为 10 mg/L , 上海安普实验科技股份有限公司); T-2、HT-2 毒素标准溶液(T-2、HT-2 毒素标准溶液质量浓度分别为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 青岛普瑞邦生物工程有限公司); 乙腈、甲醇和甲酸[色谱纯, 默克化工技术(上海)有限公司]; 伏马毒素、T-2/HT-2 毒素快速检测条(美国 Charm Sciences 公司)。

1.2 仪器与设备

Genius NM32LA-A 氮气发生器[毕克气体仪器贸易(上海)有限公司]; Milli-Q 超纯水机(美国 MILLIPURE 公司); ROSA-M 真菌毒素快速定量检测仪、JJ200 电子天平(精确至 0.01 g)(常熟市双杰测试仪器厂); 1290II 超高效液相色谱仪-6470 三重四极杆质谱仪(美国 Agilent 公司)。

1.3 方法

1.3.1 样品前处理

按照 GB 5491—1985《粮食、油料检验扦样、分样法》和 GB/T 5494—2019《粮油检验 粮食、油料的杂质、不完善粒检验》规定, 对样品进行分样、除杂。取代表性样品不少于 500 g, 用粉碎机将待测样品粉碎至全部通过孔径为 1.0 mm 的实验筛, 充分混合均匀, 放入聚乙烯瓶或自封袋中。

1.3.2 胶体金检测卡检测小麦、玉米中伏马毒素和 T-2/HT-2 毒素

准确称取粉碎后的样品 10.00 g 于 100 mL 离心管中,

加入 20 mL 70% 甲醇水溶液, 旋紧盖子, 用振荡器 2500 r/min 振荡提取 1~2 min。用移液器移取 1.0~1.5 mL 样品提取混合液于 1.5 mL 离心管中, 用离心机 2500 r/min 离心 1 min。取离心后上清液 100 μ L 于另一 1.5 mL 离心管中, 加入 1.0 mL 稀释缓冲液, 充分混匀, 待测。

准确移取 300 μ L 待测溶液, 加入检测条加样孔中, 关闭加样孔及孵育器盖, 孵育 5 min。

根据胶体金检测卡的说明书操作进行样品前处理, 确保数据的准确性。选择真菌毒素胶体金读数仪对应的真菌毒素检测频道进行检测。试样中伏马毒素、T-2/HT-2 毒素含量由读数仪自动显示, 单位为 μ g/kg。

1.3.3 超高效液相色谱-串联质谱法检测小麦、玉米中伏马毒素和 T-2/HT-2 毒素

根据 LS/T 6133—2018《粮油检验 主要谷物中 16 种真菌毒素的测定 液相色谱-串联质谱法》检测小麦、玉米的伏马毒素和 T-2/HT-2 毒素。

1.4 验证方案

利用实验室间联合验证, 对于发现检测中存在的共性及特殊问题^[29-30]、实现不同实验室间结果互认具有重要意义^[30-31]。本研究在 6 个联合验证实验室, 分别使用伏马毒素和 T-2/HT-2 毒素的小麦、玉米基质实物标准物质, 伏

马毒素的小麦、玉米实物标准物质浓度分别为 511、1264、3160 μ g/kg 和 430、2000、4300 μ g/kg。T-2/HT-2 毒素的小麦、玉米实物标准物质浓度分别为 230、110、49 μ g/kg 和 185、83、36 μ g/kg。每个验证实验室对每个浓度水平的小麦、玉米基质的实物标准物质分别重复 6 次检测, 记录检测结果, 并计算均值, 进行一致性与离群值检查和精密度验证。

1.5 数据处理

对 6 家实验室得到的定量检测结果进行统计分析, 采用 Origin 9.0、GraphPad Prism 9 和 Microsoft Excel 2007 进行分析作图。

2 结果与分析

2.1 检出限与定量限

分别使用 6 台真菌毒素胶体金快速定量仪对 20 个独立的空白样品进行伏马毒素、T-2/HT-2 毒素含量测定。参照 LS/T 6402—2017《粮油检验 设备和方法标准适用性验证及结果评价一般原则》进行评价。检出限(即样品的检测结果平均值加 3 倍标准偏差)和定量限(即样品的检测结果平均值加 10 倍标准偏差)的计算结果见表 1。伏马毒素和

表 1 胶体金快速检测仪测试的检出限和定量限
Table 1 Limits of detection and limits of quantitation of colloidal gold rapid detector testing

空白样品	毒素	测定值/(μ g/kg)						
		仪器 1	仪器 2	仪器 3	仪器 4	仪器 5	仪器 6	
1~20 (小麦基质)	伏马毒素	50, 100, 150, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0	50, 100, 50, 0, 0, 50, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 50, 0, 0, 0, 0, 0	50, 0, 50, 0, 0, 50, 0, 0, 0, 0, 0, 100, 0, 50, 0, 0, 0, 0, 150	50, 0, 50, 0, 0, 0, 0, 50, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0	50, 0, 50, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0	50, 0, 50, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0	
		平均值/(μ g/kg)	15.0	15.0	22.5	7.5	5.0	5.0
		检出限/(μ g/kg)	135.2	100.7	146.3	62.4	51.2	51.2
		定量限/(μ g/kg)	415.7	300.6	435.3	190.1	158.9	158.9
	1~20 (玉米基质)	伏马毒素	50, 50, 50, 0, 50, 0, 150, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 100	50, 0, 50, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0	50, 0, 50, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 100, 0, 50, 0, 0, 0, 0, 0	50, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0	50, 0, 50, 0, 0, 0, 0, 100, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0	50, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0
平均值/(μ g/kg)	22.5	5.0	12.5	2.5	10.0	2.5		
检出限/(μ g/kg)	146.3	51.2	95.0	36.0	88.5	36.0		
定量限/(μ g/kg)	435.3	158.9	287.6	114.3	271.6	114.3		
1~20 (小麦基质)	T-2/HT-2 毒素	1, 3, 2, 1, 0, 2, 1, 2, 1, 2, 3, 1, 2, 0, 3, 1, 1, 2, 1, 0	1, 1, 1, 1, 1, 1, 2, 1, 0, 1, 0, 3, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1	1, 2, 1, 2, 1, 3, 1, 2, 0, 2, 2, 2, 3, 3, 1, 1, 0, 1, 0, 1	0, 1, 1, 1, 1, 1, 2, 1, 0, 2, 2, 2, 0, 0, 1, 0, 1, 1, 3, 0	1, 1, 0, 1, 3, 2, 2, 1, 2, 2, 2, 3, 2, 2, 2, 1, 2, 2, 0, 2	1, 2, 1, 2, 1, 3, 1, 2, 0, 2, 2, 2, 3, 0, 1, 0, 1, 0, 1, 1	
		平均值/(μ g/kg)	1.5	1.0	1.4	1.0	1.6	1.3
		检出限/(μ g/kg)	4.3	2.9	4.3	3.6	4.1	4.1
		定量限/(μ g/kg)	10.9	7.1	10.9	9.6	9.8	10.5
1~20 (玉米基质)	T-2/HT-2 毒素	0, 2, 0, 1, 0, 2, 1, 0, 1, 1, 2, 0, 1, 0, 1, 1, 0, 1, 0, 0	1, 1, 1, 1, 1, 1, 0, 1, 0, 2, 1, 1, 0, 1, 1, 2, 1, 1, 1, 1	0, 0, 1, 1, 0, 2, 2, 1, 0, 1, 0, 1, 2, 1, 0, 1, 0, 0, 1, 0	1, 1, 1, 1, 1, 0, 0, 1, 2, 1, 0, 1, 1, 1, 0, 1, 0, 3, 1, 0	1, 2, 2, 1, 1, 1, 3, 1, 2, 2, 1, 0, 1, 2, 0, 1, 1, 1, 0, 2	1, 2, 0, 1, 1, 1, 3, 1, 2, 2, 1, 0, 1, 2, 0, 3, 1, 1, 0, 3	
		平均值/(μ g/kg)	0.7	1.0	0.7	0.8	1.2	1.2
		检出限/(μ g/kg)	2.9	2.5	2.9	3.1	3.6	3.7
		定量限/(μ g/kg)	8.0	6.0	8.0	8.3	9.1	9.5

T-2/HT-2 毒素方法的检出限分别为 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限分别为 450 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 11 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 满足美国食品与药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)伏马毒素限量规定食用玉米中伏马毒素的最高限量为 2000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以及欧盟规定的未加工谷物 T-2/HT-2 毒素限量为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的检测要求(国内尚未颁布)。

2.2 重复性与再现性

2.2.1 一致性与离群值检查

在 6 家有资质的实验室进行比对验证, 实验验证样品采用有证基体标准物质, 小麦、玉米两种谷物基体进行方法精密度实验。根据 GB/T 6379.2—2004《测量方法与结果的准确度 第 2 部分: 确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法》采用柯克伦检验和格拉布斯检验剔除离群值^[32-33], 对 6 个实验室返回的检测结果进行统计分析。

(1)柯克伦检验

首先, 应先采用柯克伦检验对实验室内所得的检测数据进行变异检验^[34]。查表得, 当 $n=6, p=6$ 时, 柯克伦检验 5%和 1%的临界值分别为 0.445, 0.520。含量最大值 S_{\max} 、各实验室(i)测试结果的标准偏差 S_i 按公式(1)计算检验统计量值(C), 进行柯克伦检验。

$$C = \frac{S_{\max}^2}{\sum_{i=1}^p S_i^2} \quad (1)$$

(2)格拉布斯检验

对 6 家联合验证实验室检测结果进行格拉布斯检验。查表得, 当 $n=6, p=6$ 时, 格拉布斯检验 5%和 1%的临界值分别为 1.887, 1.973。最大值 $y(p)$ 、最小值 y_i 格拉布斯统计量(G)的计算如公式(2)^[35-36]:

$$G = \frac{|y_i - \bar{y}|}{S} \quad (2)$$

各含量柯克伦检验和格拉布斯检验结果见表 2~3, 6 家联合验证实验室最大柯克伦检验统计量为 0.328, 小于 5%临界值 0.445 ($n=6$), 最大格拉布斯检验统计量为 1.867, 小于 5%临界值 1.887 ($n=6$)。结果表明 6 家实验室所得数据均通过柯克伦检验和格拉布斯检验, 可以判定所有联合验证实验室每组数据没有歧离值或离群值, 可用作联合验证检测数据进一步分析。

2.2.2 方法精密度

计算 6 个联合验证实验室小麦、玉米样品中伏马毒素、T-2/HT-2 毒素含量平均值(\hat{m})、重复性标准偏差(S_r)和再现性标准偏差(S_R)结果, 见表 4、5。从表 4 可以看出, 随着伏马毒素含量(m)的增加, S_r 和 S_R 在成一定比例变化, 建立 m 与 S_r 和 S_R 之间的函数关系。参照 GB/T 6379.2—2004 规定的方法, 在 Microsoft Excel 2007 软件中分别拟合 \hat{m} 与 S_r 和 S_R 的不同函数关系。本研究选择包括线性关系式、对数或指数关系式^[37-39]。

表 2 6 家实验室小麦、玉米中伏马毒素含量的柯克伦检验统计及格拉布斯检验统计量

Table 2 Cochran and Grubbs test statistics of fumonisin content in *Triticum aestivum* L. and *Zea mays* from 6 laboratories

伏马毒素 样品种类	S_i						S_{\max}	ΣS^2	C	G
	1	2	3	4	5	6				
玉米 1	52.44	51.63	44.72	51.64	44.72	60.55	60.55	15748.36	0.233	1.551
玉米 2	81.65	103.68	86.12	91.74	116.90	97.04	116.90	56331.52	0.243	1.250
玉米 3	253.80	243.76	260.77	256.26	249.00	198.53	260.77	358918.72	0.189	1.435
小麦 1	49.16	52.44	52.44	60.55	58.45	60.55	60.55	18665.62	0.196	1.775
小麦 2	93.09	97.04	68.92	98.32	75.38	115.83	115.83	51598.03	0.250	1.341
小麦 3	171.51	171.51	86.12	188.19	178.89	222.30	222.30	183082.41	0.270	1.867

表 3 6 家实验室小麦、玉米中 T-2/HT-2 毒素含量的柯克伦检验统计及格拉布斯检验统计量

Table 3 Cochran and Grubbs test statistics of T-2/HT-2 toxins content in *Triticum aestivum* L. and *Zea mays* from 6 laboratories

T-2/HT-2 毒素 样品种类	S_i						S_{\max}	ΣS^2	C	G
	1	2	3	4	5	6				
玉米 1	3.85	2.43	3.56	6.43	5.05	5.95	6.43	135.65	0.305	1.458
玉米 2	2.58	3.27	2.74	3.83	2.86	2.83	3.83	55.71	0.263	1.623
玉米 3	1.97	1.94	2.88	1.72	2.28	1.63	2.88	26.75	0.310	1.162
小麦 1	3.27	1.47	1.41	2.17	1.87	3.08	3.27	32.53	0.328	1.423
小麦 2	1.87	2.48	1.94	2.32	2.88	2.37	2.88	32.70	0.254	1.744
小麦 3	1.47	1.47	1.05	1.17	1.94	1.17	1.94	11.93	0.316	1.415

表 4 小麦、玉米中伏马毒素 \hat{m} 、 S_r 和 S_R 值

Table 4 \hat{m} , S_r and S_R values of fumonisin in *Triticum aestivum* L. and *Zea mays*

伏马毒素样品	实验室数量	\hat{m}	S_r	S_R
玉米 1	6	426.39	51.23	139.35
玉米 2	6	916.67	96.90	264.67
玉米 3	6	3901.39	244.58	651.00
小麦 1	6	422.22	55.78	150.50
小麦 2	6	912.50	92.72	262.61
小麦 3	6	3897.22	174.68	469.71

表 5 小麦、玉米中 T-2/HT-2 毒素 \hat{m} 、 S_r 和 S_R 值

Table 5 \hat{m} , S_r and S_R values of T-2/HT-2 toxins in *Triticum aestivum* L. and *Zea mays*

T-2/HT-2 毒素样品	实验室数量	\hat{m}	S_r	S_R
玉米 1	6	20.19	2.11	6.24
玉米 2	6	35.97	3.05	9.65
玉米 3	6	198.47	4.75	24.41
小麦 1	6	36.89	1.41	6.85
小麦 2	6	77.31	2.33	8.62
小麦 3	6	175.42	3.05	9.65

在分析重复性和再现性标准差, 可从拟合的决定系数 R^2 进行比较, 即 R^2 值较大的拟合关系较优^[39]。因此, 当小麦、玉米中伏马毒素含量在 426.39~3897.22 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 乘幂拟合的函数关系 R^2 大于线性拟合的函数关系 R^2 , 说明乘幂拟合效果明显好于线性拟合效果。胶体金检测卡法检测小麦、玉米中伏马毒素方法精密度最终值关系式选择乘幂拟合的函数关系见图 1, 即重复性标准差 $S_r=1.478m^{0.600}$, 再现性标准差 $S_R=4.269m^{0.591}$ 。同样分别在小麦、玉米中建立 T-2/HT-2 毒素含量 m 与 S_r 和 S_R 的不同函数拟合关系。当小麦、玉米中 T-2/HT-2 毒素含量在 20.19~198.47 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 方法精密度最终值关系式选择乘幂拟合的函数关系, 具体表示如下(图 2、3):

(1) 小麦基质: 乘幂拟合的函数关系 R^2 大于线性拟合的函数关系 R^2 , 故重复性标准差 $S_r=3.1901m^{0.218}$, 再现性标准差 $S_R=0.2507m^{0.492}$;

(2) 玉米基质: 两种关系拟合效果都很好, 乘幂拟合效果最好, 即重复性标准差 $S_r=0.8357m^{0.333}$, 再现性标准差 $S_R=1.1231m^{0.585}$ 。伏马毒素和 T-2/HT-2 毒素的重复性标准差与再现性标准差结果均符合《食品法典委员会程序手册》(第二十版)中关于联合验证的要求。说明本方法在各实验室验证均有很好的重复性和再现性。

2.3 回收率

在空白小麦、玉米样品中, 分别加入伏马毒素和 T-2/HT-2 毒素标准溶液, 伏马毒素的小麦、玉米添加浓度分别为 500、1300、3200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 450、2000、4300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

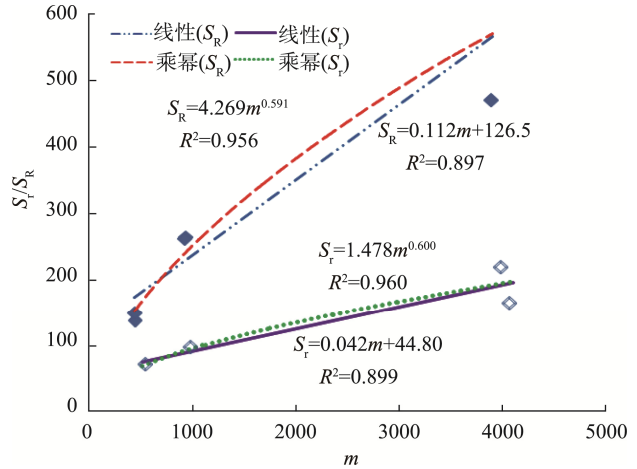


图 1 S_r 和 S_R 与 \hat{m} 的拟合关系(伏马毒素)

Fig.1 Fitting relationship of S_r , S_R and \hat{m} of fumonisin

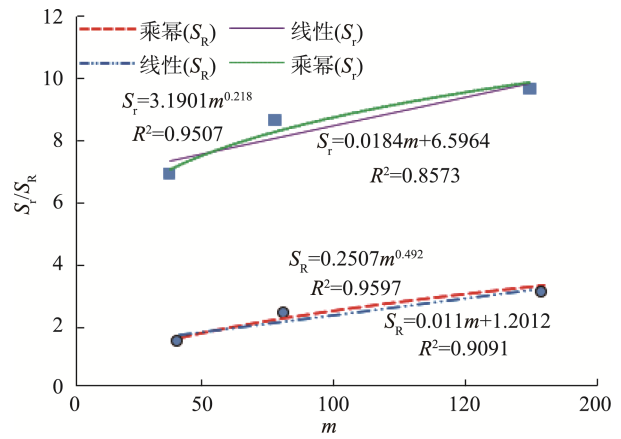


图 2 S_r 和 S_R 与 \hat{m} 的拟合关系(T-2/HT-2 毒素小麦基质)

Fig.2 Fitting relationship of S_r , S_R and \hat{m} of T-2/HT-2 toxins in *Triticum aestivum* L.

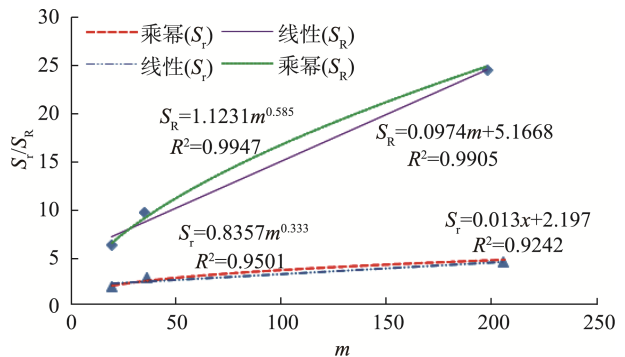


图 3 S_r 和 S_R 与 \hat{m} 的拟合关系(T-2/HT-2 毒素玉米基质)

Fig.3 Fitting relationship of S_r , S_R and \hat{m} of T-2/HT-2 toxins in *Zea mays*

T-2/HT-2 毒素的小麦、玉米添加浓度分别为 230、110、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 190、80、40 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 每个浓度重复测定 3 次。结果见图 4~5, 伏马毒素的回收率在 95.42%~101.90%之间, T-2/HT-2

毒素的回收率在 83.30%~118.20%之间。回收率结果均符合 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范食品理化检测》中规定的相关要求,说明本方法具有较好的准确度和重复性。

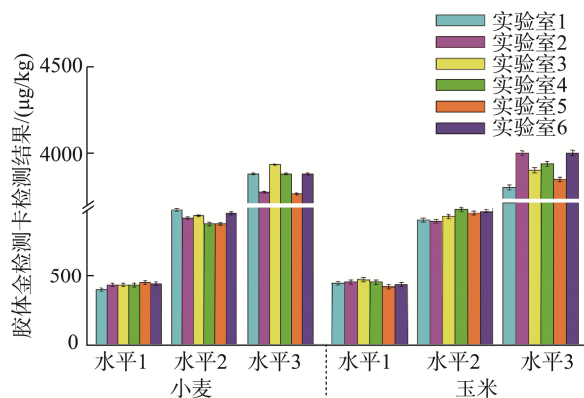


图4 伏马毒素样品实验室间方法
Fig.4 Inter laboratory methods for fumonisin samples

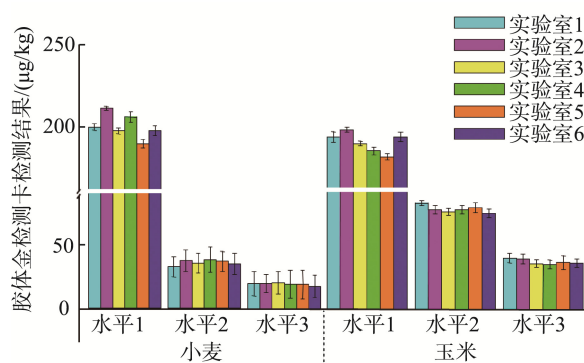
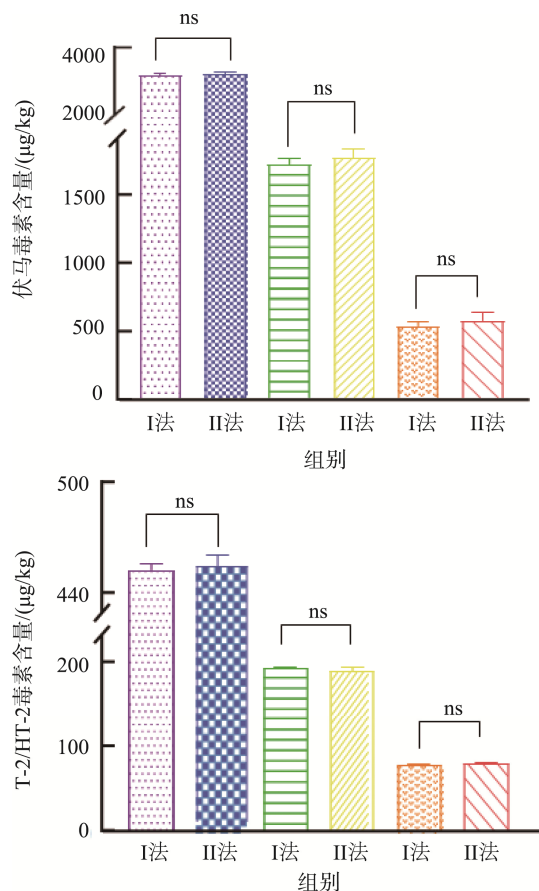


图5 T-2/HT-2 毒素样品实验室间方法
Fig.5 Inter laboratory methods for T-2/HT-2 toxin samples

2.4 特异性及准确性

前期课题组已对胶体金检测卡检测法检测伏马毒素、T-2/HT-2 毒素的特异性进行研究,结果表明其对几种常见的、在粮食中有检出的真菌毒素如呕吐毒素、黄曲霉毒素 B₁、玉米赤霉烯酮、赭曲霉毒素 A 并无交叉反应,其方法特异性可以满足检测要求^[27-28]。分别采用超高效液相色谱-串联质谱法(I法)和胶体金检测卡检测法(II法)检测 6 组小麦、玉米中伏马毒素、T-2/HT-2 毒素。每组样品重复测定 6 次,同时采用配对 *t* 检验法统计分析二者的检测结果是否存在显著性差异。结果见图 6,说明在显著性水平 $\alpha=0.05$ 下,两种方法检测伏马毒素和 T-2/HT-2 毒素结果无显著性差异,胶体金检测卡检测小麦、玉米中伏马毒素、T-2/HT-2 毒素方法准确性较高。



注: ns 表示无显著性差异($P>0.05$)。

图6 准确性分析

Fig.6 Analysis of accuracy

3 结论

对胶体金检测卡法测定小麦和玉米中伏马毒素、T-2/HT-2 毒素开展方法学联合验证研究,评价了该方法的检出限、定量限、精密度和准确性。联合验证实验结果表明胶体金检测卡法检测伏马毒素、T-2/HT-2 毒素方法的检出限分别为 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限分别为 450 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 11 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 满足实际检测需求。通过 6 家实验室间胶体金检测卡法检测验证分析,当小麦、玉米中伏马毒素含量在 426.39~3897.22 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时,得出精密度(以 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 表示)关系式: 重复性标准差 $S_R=1.478m^{0.600}$, 再现性标准差 $S_R=4.269m^{0.591}$; 当小麦、玉米中 T-2/HT-2 毒素含量在 426.39~3897.22 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时,得出测量方法精密度(以 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 表示)关系式分别为 $S_R=3.1901m^{0.218}$, 再现性标准差 $S_R=0.2507m^{0.492}$ (小麦基质); 重复性标准差 $S_R=0.8357m^{0.333}$, 再现性标准差 $S_R=1.1231m^{0.585}$ (玉米基质),说明该方法具有较好的精密度。在 3 个浓度水平下进行加标回收实验,伏马毒素的回收率在 95.42%~101.90%之间, T-2/HT-2 毒素的回收率在 83.30%~118.20%之间。与标准方法进行配对 *t*

检验,结果无显著性差异,说明该方法具有较高的准确性。因此,在粮食收购需要现场快速筛查小麦、玉米中伏马毒素、T-2/HT-2 毒素含量时可采用胶体金检测技术。

参考文献

- [1] 任贝贝,王丽英,路杨,等.河北省小麦、玉米及其制品中 16 种真菌毒素污染水平调查与分析[J].食品安全质量检测学报,2021,12(5): 1669-1676.
REN BB, WANG LY, LU Y, *et al.* Investigation and analysis of 16 kinds of mycotoxins pollution levels in wheat, corn and products in Hebei Province [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2021, 12(5): 1669-1676.
- [2] 朱燕,姚香澳,宫智勇.稻谷中真菌毒素的暴露污染、检测技术及防控研究进展[J].食品安全质量检测学报,2024,15(15): 264-266.
ZHU Y, YAO XAO, GONG ZY. Research progress on exposure, detection and control of mycotoxins in rice grains [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(15): 264-266.
- [3] 李莉,李硕. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定玉米油中伏马毒素 B₁、B₂、B₃[J].食品安全质量检测学报,2020,11(19): 7006-7007.
LI L, LI S. Determination of fumonisins B₁, B₂ and B₃ in corn oil by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2020, 11(19): 7006-7007.
- [4] 权英,王硕,王向红.伏马毒素 B₁ 酶联免疫分析方法研究[J].食品工业科技,2006,33(3): 182.
QUAN Y, WANG S, WANG XH. Study on enzyme-linked immunoassay for fumonin B₁ [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2006, 33(3): 182.
- [5] 王春红,张宝善,孟泉科.常见真菌毒素对人体的危害及生物降解研究进展[J].陕西农业科学,2009(4): 99-100.
WANG CH, ZHANG BS, MENG QK. Research progress on harm to human body and biodegradation of common mycotoxins [J]. *Shaanxi Journal of Agricultural Sciences*, 2009(4): 99-100.
- [6] 丘福保,卢丽明,欧阳珮珮,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定婴幼儿谷物辅食中的 T-2 和 HT-2 真菌毒素[J].食品安全质量检测学报,2017,8(12): 4766-4770.
QIU FB, LU LM, OUYANG PP, *et al.* Determination of T-2 and HT-2 mycotoxins in infant cereal food by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2017, 8(12): 4766-4770.
- [7] 蒋艳成,陈志刚,许广人,等.伏马毒素对猪的毒性研究进展[J].中国饲料,2016(1): 35-37.
JIANG YC, CHEN ZG, XU GR, *et al.* Research progress of fumonisin toxicity in pigs [J]. *China Feed*, 2016(1): 35-37.
- [8] ZHANG J, LI XJ, XIE JH, *et al.* Rapid and simultaneous detection of aflatoxin B₁, zearalenone, and T-2 toxin in medicinal and edible food using gold immunochromatographic test strip [J]. *Foods*, 2023, 12(3): 633.
- [9] WENBO G, DISEN F, XIANLI Y, *et al.* Screening and dietary exposure assessment of T-2 toxin and its modified forms in commercial cereals and cereal-based products in Shanghai [J]. *Food Chemistry: X*, 2024, 21: 101199-101200.
- [10] 马理.真菌毒素多残留胶体金免疫层析试纸条的研制[D].天津:天津科技大学,2015.
MA L. Development of a colloidal gold-based immunochromatographic strip for multianalysis of mycotoxin [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2015.
- [11] MEGAN KR, TIMOTHY JH. Enhancing maize safety: the role of co-regulation as a regulatory strategy to manage fumonisin risk [J]. *Food Additives and Contaminants Part A-chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 2024. DOI: 10.1080/19440049.2024.2376159
- [12] SEBASTIANO CT, MARIO R, VICTOR D, *et al.* Characterization of mycotoxins produced by two *Fusarium* species responsible for postharvest rot of banana fruit [J]. *Journal of Plant Pathology*, 2024. DOI: 10.1007/S42161-024-01751-8
- [13] KATHERINE SZ, WILLIAM RM, STEFANY CB, *et al.* Factors influencing fumonisin B₁ contamination in maize: Insights from two production regions in Costa Rica [J]. *Mycotoxin Research*, 2024. DOI: 10.1007/s12550-024-00551-4.
- [14] 赵伟,厉学武,DESSALEGN Lamesgen,等.我国饲料原料和配合饲料中 T-2 毒素、赭曲霉毒素 A 和伏马毒素的污染研究[J].动物营养学报,2024,36(4): 2690-2698.
ZHAO W, LI XW, DESSALEGN L, *et al.* Study on the contamination of T-2 toxin, ochratoxin A and fumonisin in feed materials and compound feeds in China [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2024, 36(4): 2690-2698.
- [15] RYAN TP, HAMED KA, MG R, *et al.* Evaluating achetadomesticus (Orthoptera: Gryllidae) for the reduction of fumonisin B₁ levels in livestock feed [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2024, 117(2): 427-434.
- [16] 黄俊恒,黄广明.赭曲霉毒素 A 和 T-2 毒素毒性及近年污染程度分析[J].中国饲料,2015(11): 28-30.
HUANG JH, HUANG GM. Ochratoxin A and T-2 toxin toxicity and analysis of pollution levels in recent years [J]. *China Feed*, 2015(11): 28-30.
- [17] 杨宇翔,修福晓,孙宁,等. T-2 毒素毒性分子作用机制与脱毒的研究进展[J].饲料研究,2024,47(4): 166-171.
YANG YX, XIU FX, SUN N, *et al.* Research progress on molecular mechanism of T-2 toxin toxicity and detoxification [J]. *Feed Research*, 2024, 47(4): 166-171.
- [18] ADAM P, MARCIN B, BENEDIKT C, *et al.* O-occurrence of T-2 and HT-2 mycotoxins and α and β anomers of their glucosides in wheat and oat grains [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2024, 72(6): 3150-3159.
- [19] 朱萍,钟建军,李占明,等. T-2 毒素检测方法研究进展[J].食品安全质量检测学报,2022,13(14): 4511-4512.
ZHU P, ZHONG JJ, LI ZM, *et al.* Research progress on detection assay of T-2 toxin [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2022, 13(14): 4511-4512.
- [20] WANG YH, WANG B, WANG PL, *et al.* Review of neurotoxicity of T-2 toxin [J]. *Mycotoxin Research*, 2024, 40 (1): 85-95.
- [21] 张慧.影响胶体金快速定量法检测玉米呕吐毒素的因素[J].黑龙江粮食,2024(8): 79-81.
ZHANG H. Factors influencing the detection of maize vomitoxin by colloidal gold rapid quantification method [J]. *Heilongjiang Grain*, 2024(8): 79-81.
- [22] 谢婷婷.呕吐毒素胶体金三线定量检测条性能研究[J].粮食科技与经济,2017,42(5): 32-34.
XIE TT. Study on the performance of three line quantitative detection strip

- for vomiting toxin colloidal gold [J]. Food Science and Technology and Economy, 2017, 42(5): 32–34.
- [23] 李奕亭. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇胶体金检测试纸条的研制[D]. 厦门: 集美大学, 2016.
- LI YT. Development of deoxynivalenol colloidal gold test strip [D]. Xiamen: Jimei University, 2016.
- [24] 尹玉云, 陶健, 焦强, 等. 用于黄曲霉毒素 B₁ 快速检测的胶体金试剂盒质量评价[J]. 食品与生物技术学报, 2024, 43(5): 130–137.
- YI YY, TAO J, JIAO Q, *et al.* Quality evaluation of colloidal gold kit for rapid detection of aflatoxins B₁ [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2024, 43(5): 130–137.
- [25] 李波, 朴晋华. 中药生物活性质量控制的思考[J]. 中国药品标准, 2012, 13(1): 5–8.
- LI B, PIAO JH. Reflection on quality control of bioactivity of traditional Chinese medicine [J]. Drug Standards of China, 2012, 13(1): 5–8.
- [26] 国家药典委员会. 《中华人民共和国药典》(2020 年版). 四部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2020 Edition) [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020.
- [27] 谢婷婷. 粮食中伏马毒素胶体金快速定量法研究[J]. 粮食与饲料工业, 2019(9): 60–63.
- XIE TT. Rapid determination of fumonisin colloidal gold in grain [J]. Cereal & Feed Industry, 2019(9): 60–63.
- [28] 谢婷婷, 林滢, 林秀. 粮食中 T-2/HT-2 毒素胶体金快速定量法研究[J]. 福建分析测试, 2021(2): 40–44, 55.
- XIE TT, LIN H, LIN X. Study on the feasibility of determination of T-2/HT-2 toxins in grain by rapid quantitative method of colloidal gold technique [J]. Fujian Analysis & Testing, 2021, 30(2): 40–44, 55.
- [29] 黄冰, 迟晨, 蒋玉新, 等. 中国 14 家实验室基于同位素稀释质谱法检测人血清同型半胱氨酸水平的能力验证[J]. 现代检验医学杂志, 2023, 38(5): 195–198.
- HUANG B, CHI C, JIANG YX, *et al.* Proficiency testing of human serum homocysteine levels by 14 laboratories in china based on isotope dilution mass spectrometry [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2023, 38(5): 195–198.
- [30] 李育敏, 阚丽娟, 张水兰, 等. 荧光定量 PCR 测定 HBV DNA 室内质评结果的回顾分析[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(2): 153–155, 159.
- LI YM, KAN LJ, ZHANG SL, *et al.* Retrospective analysis on results in external quality assessment of HBV DNA determination by fluorescence quantitation PCR [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(2): 153–155, 159.
- [31] 郭华, 孙晶晶, 王晋平. 现场技术审核对 PCR 实验室质量管理的影响分析[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(5): 164–167.
- GUO H, SUN JJ, WANG JP. Analysis of the influence of field technical audit on PCR laboratory quality management [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(5): 164–167.
- [32] 李全双, 许靖, 吴燕, 等. 朗道血清质控品作为 ELISA 法检测血清可溶性 ST2 室内质控物的可行性探讨[J]. 现代检验医学杂志, 2022, 37(5): 190–193.
- LI QS, XU J, WU Y, *et al.* Feasibility study on RANDOX serum quality control products as ELISA method to detect serum soluble ST2 internal quality control materials [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2022, 37(5): 190–193.
- [33] 刘以晴, 黄亚伟, 王小庆, 等. 粮食中真菌毒素快速检测方法研究进展[J]. 粮食与食品工业, 2023(2): 66–67.
- LIU YQ, HUANG YW, WANG XQ, *et al.* Research progress on rapid detection methods of mycotoxins in grain [J]. Cereal & Food Industry, 2023(2): 66–67.
- [34] 吴波伟, 钱么. 检验实验室间比对测试结果中离群值的方法探讨[J]. 中国纤检, 2020(4): 82–84.
- WU BW, QIAN Y. Explore methods for testing outliers in inter-laboratory comparison test results [J]. China Fiber Inspection, 2020(4): 82–84.
- [35] 马文丽, 林立民, 孙艳勤, 等. 关于三种实验室间比对数据统计分析方法的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2021(1): 62–66.
- MA WL, LIN LM, SUN YQ, *et al.* Research on three methods of statistical analysis of inter laboratory comparison data [J]. Cereal & Feed Industry, 2021(1): 62–66.
- [36] RAYNER JCW, LIVINGSTON G. Relating the fried man test adjusted for ties, the cochran-mantel-haenszel mean score test and the ANOVA F test [J]. Communications in Statistics-theory and Methods, 2023, 12(52): 4369–4378.
- [37] LOPES LDS, RAMOS GLPA, ALVARENGA VO, *et al.* Quantitative risk assessment of the presence of fumonisin in corn produced in different regions of Brazil: Influence of climatic conditions [J]. Environmental Research, 2023, 237(1): 116907.
- [38] 张兰生, 喻生洁, 文占杰. 实验室内部化学分析方法重复性限和再现性限的确定[J]. 中国金属通报, 2012(33): 38–39.
- ZHANG LL, YU SJ, WEN ZJ. Determination of repeatability limits and reproducibility limits of chemical analytical methods in laboratory [J]. China Metal Bulletin, 2012(33): 38–39.
- [39] 路辉丽, 尹成华, 高敬铭, 等. X 射线荧光光谱法快速测定小麦(粉)中镉含量[J]. 河南工业大学学报自然科学版, 2022, 43(6): 95–100, 110.
- LU HL, YI CH, GAO JM, *et al.* Rapid determination of cadmium content in wheat (flour) by X-ray fluorescent spectrometry [J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2022, 43(6): 95–100, 110.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)