DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260121004
引用格式: 高云慨, 符吉科, 王之阳, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定龙眼及其干制品中 50 种真菌毒素[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(13): 30–40.
Gao Yunkai, Fu Jike, Wang Zhiyang, et al. Simultaneous determination of 50 kinds of mycotoxins in *Dimocarpus longan* Lour. and its dried products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(13): 30–40. (in Chinese with English abstract).

超高效液相色谱-串联质谱法同时测定龙眼及其干制品中 50 种真菌毒素

高云慨[1,2], 符吉科[1,2], 王之阳[3], 尹青春[1,2], 汤祝华[1,2], 黄勇平[1,2*]

[1. 海南省检验检测研究院食品检验检测中心, 海口 570100; 2. 国家市场监督管理总局重点实验室(热带果蔬质量与安全), 海口 570100; 3. 海南医学院热带医学院, 海口 571199]

摘 要: 目的 建立一种基于超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)同时测定龙眼及其干制品中 50 种真菌毒素的分析方法。**方法** 样品经甲酸-乙腈-水(1:79:20, *V*:*V*:*V*)超声提取, 采用 Oasis PRiME HLB 固相萃取柱净化, 以 0.1%甲酸水和甲醇乙腈(4:6, *V*:*V*)混合溶液为流动相进行梯度洗脱, 在 Waters CORTECS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 2.7 μm)上分离。采用电喷雾正、负离子多反应监测模式, 基质匹配外标法进行定量分析。**结果** 在优化条件下, 50 种真菌毒素在一定质量浓度范围内线性关系良好(相关系数均大于 0.995), 检出限和定量限分别在 0.03~3.48 μg/kg 和 0.10~11.59 μg/kg; 低、中、高 3 个加标水平的平均回收率为 76.3%~119.6%, 相对标准偏差为 0.45%~9.02%。采用所建立的方法对 62 份龙眼及其干制品进行检测, 21 份样品共检出 16 种真菌毒素, 平均含量为 0.42~13.51 μg/kg。**结论** 该方法操作简单、灵敏度好、结果准确, 适用于龙眼及其干制品中 50 种真菌毒素的高通量筛查及定量检测。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱法; 龙眼及其干制品; 真菌毒素; 高通量筛查
中图分类号: TS201.6 **文献识别码:** A **文章编号:** 2095–0381(2026)13–0030–11

Simultaneous determination of 50 kinds of mycotoxins in *Dimocarpus longan* Lour. and its dried products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

GAO Yun-Kai[1,2], FU Ji-Ke[1,2], WANG Zhi-Yang[3], YIN Qing-Chun[1,2], TANG Zhu-Hua[1,2], HUANG Yong-Ping[1,2*]

收稿日期: 2026-01-21
基金项目: 海南省“南海新星”科技创新人才平台项目(NHXXRCXM202346); 国家市场监督管理总局重点实验室(热带果蔬质量与安全)自主研究课题项目(ZZ-2024001)

第一作者: 高云慨(1988—), 男, 硕士, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 827951452@qq.com
***通信作者:** 黄勇平(1981—), 男, 硕士, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: hyp16210@163.com

(1. *Institute of Food Testing*, *Hainan Academy of Inspection and Testing*, *Haikou* 570100, *China*; 2. *Key Laboratory of Tropical Fruits and Vegetables Quality and Safety*, *State Administration for Market Regulation*, *Haikou* 570100, *China*; 3. *China School of Troplcal Medicine*, *Hainan Medical University*, *Haikou* 571199, *China*)

ABSTRACT: Objective To establish an analytical method for the simultaneous determination of 50 kinds of mycotoxins in *Dimocarpus longan* Lour. and its dried products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** Samples were ultrasonically extracted with formic acid-acetonitrile-water (1:79:20, *V*:*V*:*V*), and purified with an Oasis PRiME HLB solid-phase extraction column. Chromatographic separation was performed on a Waters CORTECS T3 column (2.1 mm×100 mm, 2.7 μm) with gradient elution using 0.1% formic acid aqueous solution and methanol-acetonitrile (4:6, *V*:*V*) as mobile phases. Detection was carried out in positive and negative electrospray ionization modes with multiple reaction monitoring, and quantification was achieved using the matrix-matched external standard method. **Results** Under optimized conditions, the 50 kinds of mycotoxins exhibited good linearity in a certain mass concentration (r^2>0.995). The limits of detection and limits of quantitation were 0.03–3.48 μg/kg and 0.10–11.59 μg/kg, respectively. The average recoveries at 3 spiked levels (low, medium and high) ranged from 76.3%–119.6%, with relative standard deviations of 0.45%–9.02%. The established method was applied to the analysis of 62 batches of *Dimocarpus longan* Lour. and its dried products and 16 kinds of mycotoxins were detected in 21 samples, with the average contents ranging from 0.42–13.51 μg/kg. **Conclusion** The established method is simple in operation, high in sensitivity and accurate in results, which is suitable for high-throughput screening and quantitative detection of 50 kinds of mycotoxins in *Dimocarpus longan* Lour. and its dried products.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; *Dimocarpus longan* Lour. and its dried products; mycotoxins; high throughput screening

0　引　言

龙眼(*Dimcarpus longan* Lour.), 又称桂圆, 主要种植在广东、广西、福建、台湾、海南等地区[1]。龙眼中富含活性物质, 具有免疫调节、降血糖、抗衰老等功效, 因其较高的药食同源价值备受消费者喜欢[2–4]。

真菌毒素是一系列有毒次级代谢产物, 主要由产毒真菌在适宜的湿度和温度条件下产生, 如曲霉属、青霉属、镰刀菌属和交链孢菌属[5]。水果和水果制品中常见且对人类健康构成威胁的真菌毒素主要包括黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、展青霉素和链格孢霉毒素[6–7]。GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》规定, 水果及其制品中展青霉素的限量为 50 μg/kg, 葡萄酒中赭曲霉毒素 A 的限量为 20 μg/kg, 熟制坚果中黄曲霉毒素 B_1 的限量为 5 μg/kg, 其他真菌毒素目前未见要求。水果表面可能存在青霉菌、炭疽菌、地霉菌、曲霉菌、交链孢、拟盘多毛孢、枝孢霉、镰刀菌、根霉菌、粉红聚端孢、假链格孢、霜疫霉、酵母菌等多种真菌的污染[8], 特别是在采摘、储藏和运输过程中产生的机械损伤更容易受到真菌侵染, 随之产生的真菌毒素会进一步污染相关产品[9], 其中水果干制品因其加工工艺及贮藏周期较长, 更容易积累真菌毒素[10–15]。

目前, 针对龙眼及其干制品开展的真菌毒素高通量检测方法研究较少, 现有相关研究仅聚焦于龙眼干中少数几种常见真菌毒素(如黄曲霉毒素类)的检测, 检出率及覆盖范围有限, 难以反映真菌毒素共污染的实际情况[16]。值得注意的是, 在大多数研究中发现部分水果及其制品通常存在真菌毒素共污染现象, 其复杂的相互作用, 可改变整体毒性[17–20]。越来越多的研究表明, 除了常见具有明显毒性的真菌毒素外, 还有许多新型及隐蔽性毒素也可能对人类健康构成潜在威胁, 但尚未得到足够的关注[21]。

真菌毒素检测的分析技术包括色谱法如薄层色谱法[22]、液相色谱-荧光检测[23]、气相色谱电子捕获检测器[24]和液相色谱-质谱法[25–26]、免疫化学技术[27]、传感器技术[28]以及其他新兴技术[29]。其中, 液相色谱-串联质谱法由于其在灵敏度和选择性方面的优异表现, 在同时检测多种化合物方面具有广泛应用[30–31]。

基于此, 本研究建立了Oasis PRiME HLB 固相萃取柱前处理结合超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)检测龙眼及其制品中 50 种真菌毒素的高通量分析方法, 并将其应用于实际样品检测, 旨在为龙眼及其干制品中真菌毒素的监控及风险评估提供技术支持。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

龙眼及其干制品购自超市、农贸市场及网络平台。

50 种生物毒素标准品(天津阿尔塔公司), 见表 1; 甲酸、乙腈、甲醇(色谱纯, 德国 Merck 公司); 无水硫酸镁、氯化钠(分析纯, 美国 Sigma-Aldrich 公司); N-丙基乙二胺(N-propylethylenediamine, PSA)、十八烷基硅烷键合硅胶

(C_{18})(苏州纳谱分析技术有限公司)。

1.2 仪器与设备

AB Sciex Triple Quad™ 4500 超高效液相色谱串联质谱仪(美国 AB SCIEX 公司); 5804R 离心机(德国 Eppendorf 公司); SK3200 LHC 超声提取器(上海科导超声仪器有限公司); Auto EVA 80 氮吹仪(睿科集团股份有限公司); Cleanert® MC 固相净化柱(2 mL, 天津博纳艾杰尔科技有限公司), PriboFast® MFC100 固相净化柱(5 mL, 青岛普瑞邦生物工程有限公司); Waters Oasis PRiME HLB 固相净化柱(500 mg, 6 mL)、Waters Acquity UPLC BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)、Waters Acquity UPLC BEH HSS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)、Waters CORTECS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 2.7 μm)、Waters XBridge BEH C_{18} 色谱柱(3 mm×100 mm, 2.5 μm)(美国 Waters 公司)。

1.3 方 法

1.3.1 仪器条件

(1)质谱条件

电离模式: 电喷雾电离源(electrospray ionization, ESI)正、负离子; 扫描方式: 多反应离子监测(multiple reaction monitoring, MRM); 毛细管电压: 5500 V(正离子)、–4500 V(负离子); 离子源温度: 550 ℃(正离子)、450 ℃(负离子); 雾化气与加热气压力: 0.34 MPa; 碰撞室出口电压: 10 V; 50 种毒素的详细质谱参数见表 1。

(2)色谱条件

色谱柱: Waters CORTECS T3 (2.1 mm×100 mm, 2.7 μm); 流速: 0.6 mL/min; 进样量: 5.0 μL; 流动相: A 相(0.1%甲酸水溶液), B 相(甲醇、乙腈 4:6, *V*:*V*); 柱温: 35 ℃; 梯度洗脱程序: 0~1.0 min, 3% B; 1.0~2.0 min, 3%~10% B; 2.0~4.0 min, 10%~50% B; 4.0~9.0 min, 50%~80% B; 9.0~9.1 min, 80%~100% B; 9.1~11.0 min, 100% B; 11.1~13.0 min, 100%~3% B。

1.3.2 标准溶液的配制

混合标准储备溶液: 分别准确移取适量的 50 种真菌毒素标准品原液, 用乙腈稀释配制成 300 ng/mL 的混合标准储备液, 于 4 ℃避光保存。

基质混合标准工作溶液: 分别移取一定体积的 50 种真菌毒素混合标准储备液, 再用空白基质提取液配制成 50 种真菌毒素质量浓度分别为 0.1、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0、200.0 ng/mL 的系列基质混合标准工作溶液。

1.3.3 样品制备

龙眼及其干制品分别预先进行果肉及果壳分离, 随后采用高速粉碎机均质混匀。分装至无菌离心管中并进行编号, 每组设 3 个平行。

1.3.4 样品前处理

准确称取样品 2.0 g 于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 甲酸-乙腈-水(1:79:20, *V*:*V*:*V*)提取液, 涡旋混合 10 min 并超声提取 10 min, 于 10000 r/min 下离心 5 min; 取 6 mL 上清液转移至 Waters Oasis® PRime HLB 固相萃取柱过柱。收集后段 5 mL 净化液, 40 ℃氮吹至近干, 加入 50%乙腈溶液定容至 2.0 mL, 涡旋混匀, 过 0.22 μm 有机尼龙膜后供 UPLC-MS/MS 分析。

1.3.5 方法学验证

选取龙眼及其干制品阴性样品, 参照各真菌毒素定量限浓度范围分别添加低、中、高 3 个水平的标准溶液, 按照 1.3.4 步骤方法进行处理和测定, 每个水平 6 次平行, 计算平均加标回收率和相对标准偏差。

1.4 数据处理

数据处理采用 SPSS 22.0 软件, 绘图采用 Origin 8.0 软件。

2 结果与分析

2.1 质谱条件优化

通过单进样方式对 50 种真菌毒素混合标准溶液进行正负离子一级全扫描, 确定各真菌毒素的最佳离子化方式和母离子, 通过子离子二级扫描找到响应较好的 2 个子离子碎片。再使用 MRM 扫描模式优化各个子离子对的最佳去簇电压和碰撞能。对于同一个化合物, 优先选择响应值高的离子对作为定量离子, 响应值略低的作为定性离子。结果显示, 50 种真菌毒素有 37 种采用正离子模式, 13 种采用负离子模式效果最佳。最终确定了 50 种真菌毒素的质谱优化参数, 见表 1。

2.2 色谱条件优化

2.2.1 色谱柱的选择

结合前期研究和文献资料, 本研究考察了 Waters Acquity UPLC BEH C_{18} (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)、Waters Acquity UPLC BEH HSS T3 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)、Waters XBridge BEH C_{18} (3 mm×100 mm, 2.5 μm)、Waters CORTECS T3 (2.1 mm×100 mm, 2.7 μm) 4 种不同型号、不同粒径反向色谱柱对 50 种真菌毒素的分离效果。结果如图 1 所示, 发现 Waters CORTECS T3 (2.1 mm×100 mm, 2.7 μm)色谱柱对 50 种真菌毒素的分离效果整体要明显优于其他 3 种色谱柱, 50 种真菌毒素不仅能在 13 min 内得到较好分离, 且色谱峰形更加尖锐、响应较高; 使用其他 3 种色谱柱时, 出现部分真菌毒素响应低、峰形宽大不对称或无保留。故选择 Waters CORTECS T3 (2.1 mm×100 mm, 2.7 μm)色谱柱进行后续分析。

2.2.2 流动相的选择

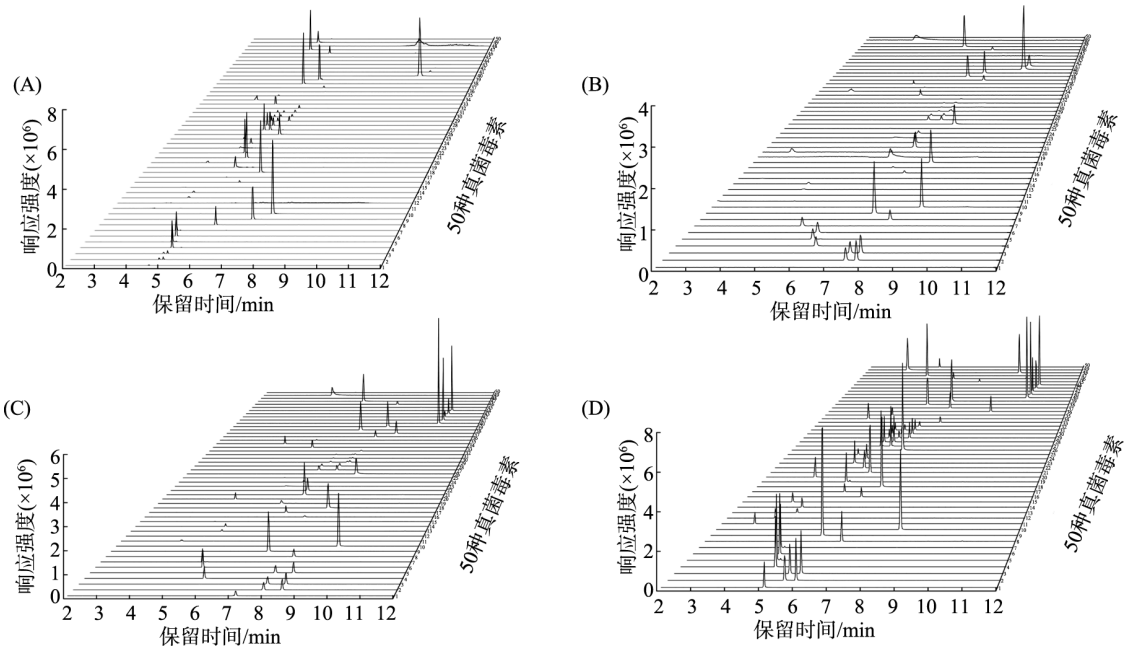
本研究考察了水-乙腈、0.1%甲酸水-乙腈、0.1%甲酸水-甲醇和 0.1%甲酸水-甲醇:乙腈 4 组不同流动相体系对 50 种真菌毒素色谱峰峰形和分离的影响。结果如图 2 所示, 当采用水-乙腈作为流动相时, FB_1、FB_2、FB_3、FUS-X、TeA、PAT、ENNB、BEA、$ENNB_1$、ENNA、$ENNA_1$、FUS-A 及 WOR 13 种毒素均无响应; 当采用 0.1%甲酸水-乙腈作为流动相时, 甲酸能促进多种真菌毒素的离子化效率, 整体响应效果明显提升、峰形对称、无拖尾, 但 FB_1、FB_2 分离度较小; 当采用 0.1%甲酸水-甲醇作为流动相时, FB_1、FB_2、FB_3 均无响

应, DOM、FUS-X、NEO、NIV 及 FUS-A 峰型出现拖尾, *α*-ZOL、*β*-ZOL 及 ZEN 同分异构体没有完全分离, BEA、$ENNB_1$ 及 WOR 响应较低; 当采用 0.1%甲酸水-甲醇:乙腈(4:6, *V*:*V*)作为流动相时, 既能保证整体良好的峰形及目标物的响应强度, 同时又能够改善同分异构体的分离度。因此, 最终选用 0.1%甲酸水-甲醇:乙腈(4:6, *V*:*V*)作为流动相。

表 1　50 种真菌毒素的 MS

Table 1　MS parameters for the 50 kinds of mycotoxins

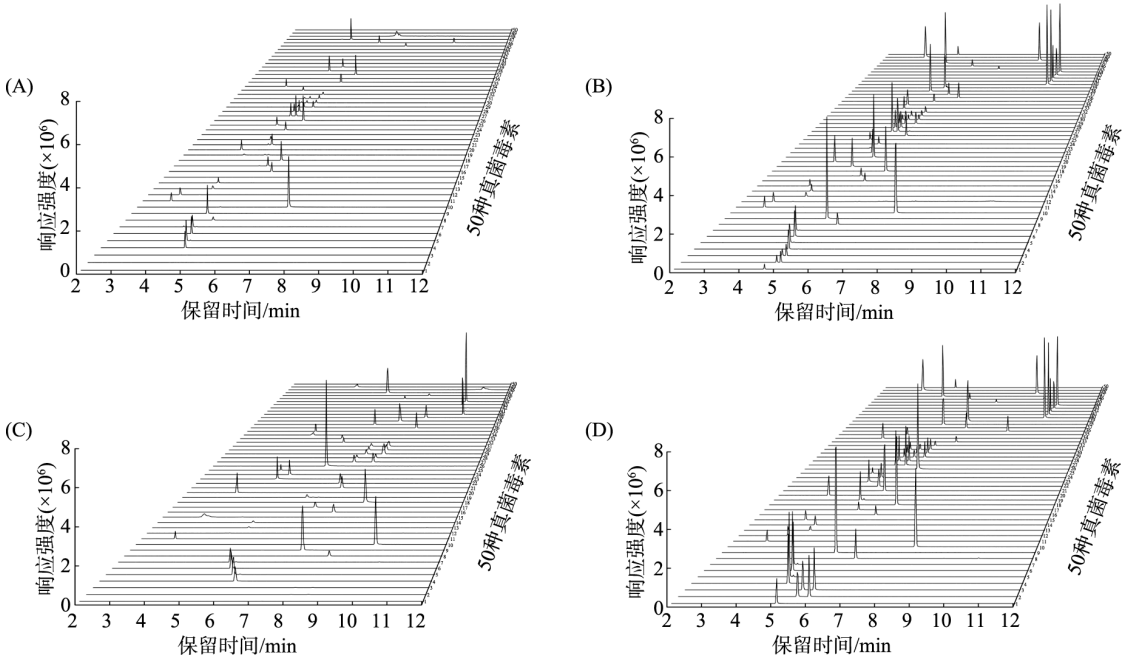
化合物	英文名称	简称	保留时间/min	母离子 (*m*/*z*)	子离子 (*m*/*z*)	去簇电压/V	碰撞能量/V	扫描模式
伏马毒素 B_1	fumonisin B_1	FB_1	5.04	722.0	352.0/334.0	50/50	50/50	正
伏马毒素 B_2	fumonisin B_2	FB_2	5.77	706.3	336.2/352.0	50/50	44/45	正
伏马毒素 B_3	fumonisin B_3	FB_3	5.45	706.4	336.2/318.4	50/50	48/47	正
黄曲霉毒素 B_1	aflatoxin B_1	AFB_1	4.92	313.0	241.0/269.0	50/50	47/40	正
黄曲霉毒素 B_2	aflatoxin B_2	AFB_2	4.80	315.0	287.0/259.0	50/50	35/40	正
黄曲霉毒素 G_1	aflatoxin G_1	AFG_1	4.75	329.0	243.1/311.0	90/90	35/30	正
黄曲霉毒素 G_2	aflatoxin G_2	AFG_2	4.62	331.1	313.0/245.0	90/90	32/40	正
赭曲霉毒素 A	ochratoxine A	OTA	6.37	404.0	358.0/239.0	50/50	20/33	正
赭曲霉毒素 B	ochratoxine B	OTB	5.63	370.0	205.0/187.0	50/50	28/48	正
赭曲霉毒素 C	ochratoxine C	OTC	8.03	432.0	358.0/239.0	60/60	25/36	正
脱氧雪腐镰刀菌烯醇	deoxynivalenol	DON	3.19	297.0	249.2/203.0	30/30	13/19	正
去环氧脱氧雪腐镰刀菌烯醇	deepoxy-deoxynivalenol	DOM	3.68	281.1	109.1/137.1	60/60	16/20	正
15-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇	deoxynivalenol-15-acetyl	15-ADON	4.96	339.0	137.0/321.0	60/60	14/13	正
3-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇	deoxynivalenol-3-acetyl	3-ADON	4.23	339.0	231.0/203.0	60/60	15/17	正
镰刀菌酮 X	fusarenone X	FUS-X	3.78	354.9	136.9/174.9	70/70	31/19	正
T2-毒素	T-2 toxin	T-2	5.97	489.2	327.2/387.1	50/50	29/29	正
HT-2 毒素	HT-2 toxin	HT-2	5.26	447.1	345.1/285.1	50/50	27/28	正
杂色曲霉	sterigmatocystin	SMC	6.44	325.1	310.0/281.1	50/50	32/50	正
桔青霉素	citrinin	CIT	5.07	249.0	205.0/176.9	84/88	22/31	负
青霉酸	penicillic acid	PCA	3.82	171.0	125.1/153.1	40/40	17/12	正
维吉霉素 M_1	virginiamycin M_1	VGM M_1	5.63	526.1	508.0/355.3	50/50	14/26	正
腾毒素	tentoxin	TeN	5.33	415.1	312.2/256.1	50/50	23/45	正
细交链孢菌酮酸	tenuazonic	TeA	4.83	196.0	112.0/139.0	50/50	28/25	负
交链孢酚	alternariol	AOH	5.14	256.9	214.8/146.9	60/60	35/42	负
交链孢霉烯	altenuene	ALT	4.70	291.2	202.9/248.0	60/60	43/34	负
链孢酚单甲醚	alternariol monomethyl ether	AME	6.25	270.8	255.9/228.0	90/90	30/38	负
玉米赤霉醇	alpha-zearalanol	*α*-ZAL	5.68	321.1	277.2/303.2	125/130	30/28	负
β-玉米赤霉醇	beta-zearalanol	*β*-ZAL	5.31	321.1	277.2/303.2	125/130	30/28	负
α-玉米赤霉烯醇	alpha-zearalenol	*α*-ZOL	5.76	319.1	275.1/301.1	140/140	27/27	负
β-玉米赤霉烯醇	beta-zearalenol	*β*-ZOL	5.39	319.1	275.1/301.1	140/140	27/27	负
玉米赤霉烯酮	zearalenone	ZEN	6.17	319.1	275.1/301.1	140/140	27/27	负
玉米赤霉酮	zearalanone	ZAN	6.25	317.1	174.9/273.1	150/100	30/27	负
蛇形菌素	diacetoxyscirpenol	DIA	4.94	384.2	307.0/107.0	40/40	14/25	正
新茄镰孢菌醇	neosolaniol	NEO	3.95	400.2	305.0/185.1	50/50	16/23	正
胶霉毒素	gliotoxin	GLI	4.80	327.0	245.0/263.0	50/61	15/25	正
展青霉素	patulin	PAT	8.69	152.8	108.9/53.0	40/40	17/12	负
疣孢青霉原	verruculogen	VER	6.96	534.3	392.1/360.0	80/80	18/33	正
绿僵菌素 A	destruxin A	DA	5.91	578.4	465.3/437.2	90/90	28/39	正
绿僵菌素 B	destruxin B	DB	6.82	594.4	481.3/453.2	100/110	27/42	正
恩镰孢菌素 B	enniatin B	ENNB	9.91	640.4	196.2/527.2	141/141	31/31	正
白僵菌素	beauvericin	BEA	10.16	784.3	244.1/134.0	155/155	33/85	正
恩镰孢菌素 B_1	enniatin B_1	$ENNB_1$	10.06	655.6	196.1/210.0	146/146	31/31	正
恩镰孢菌素 A	enniatin A	ENNA	10.37	682.3	210.0/555.4	147/147	33/31	正
恩镰孢菌素 A_1	enniatin A_1	$ENNA_1$	10.27	669.4	210.0/100.0	150/150	31/75	正
烟曲霉素	fumagillin	FUM	7.52	459.3	131.0/177.0	82/82	27/16	正
黄绿青霉素	citreoviridin	CIT-R	9.59	403.2	139.0/83.0	110/110	28/58	正
异烟曲霉素 C	roquefortine C	RC	4.94	390.1	193.0/322.2	86/86	34/29	正
雪腐镰刀菌烯醇	nivalenol	NIV	9.14	371.1	281.1/187.1	80/80	14/29	负
镰刀菌酸	fusaric acid	FUS-A	3.85	180.1	134.0/162.0	50/50	21/17	正
渥曼青霉素	wortmannin	WOR	5.24	429.3	266.8/295.0	72/72	40/32	正



注: (A) Waters Acquity UPLC BEH C_{18}; (B) Waters Acquity UPLCBEH HSS T3; (C) Waters XBridge BEH C_{18}; (D) Waters CORTECS T3。1~50 为 FB_1、FB_2、FB_3、AFB_1、AFB_2、AFG_1、AFG_2、OTA、OTB、OTC、DON、DOM、15-ADON、3-ADON、FUS-X、T-2、HT-2、SMC、CIT、PCA、VGM M1、TeN、TeA、AOH、ALT、AME、*α*-ZAL、*β*-ZAL、*α*-ZOL、*β*-ZOL、ZEN、ZAN、DIA、NEO、GLI、PAT、VER、DA、DB、ENNB、BEA、$ENNB_1$、ENNA、$ENNA_1$、FUM、CIT-R、RC、NIV、FUS-A、WOR; 下同。

图 1 50 种真菌毒素在不同色谱柱中的离子流图

Fig.1 Total ion chromatograms of 50 kinds of mycotoxins in different column



注: (A)水-乙腈; (B) 0.1%甲酸水-乙腈; (C) 0.1%甲酸水-甲醇; (D) 0.1%甲酸水-甲醇:乙腈(4:6, *V*:*V*)。

图 2 50 种真菌毒素在不同流动相中的总离子流图

Fig.2 Total ion chromatograms of 50 kinds of mycotoxins in different mobile phases

2.3 样品前处理方法优化

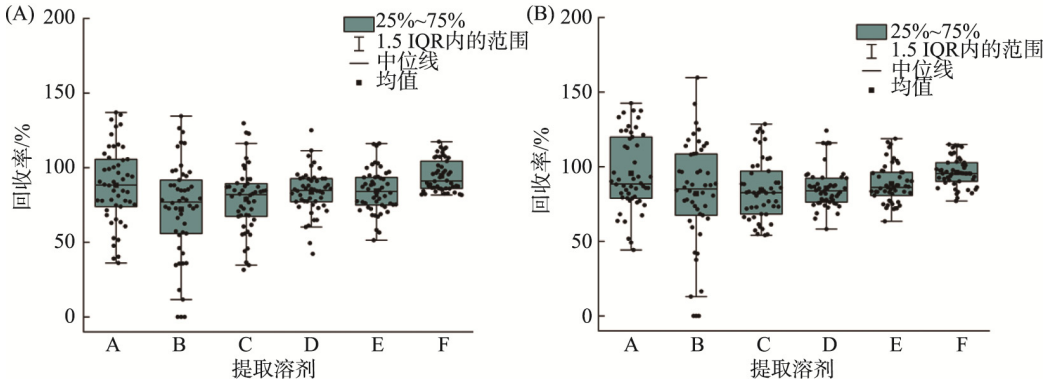
2.3.1 提取溶剂的优化

真菌毒素常用甲醇和乙腈作为提取溶剂，提取溶液 pH 会影响到真菌毒素的解离状态，可适当添加一些酸来提高毒素的提取效果[32–33]。本研究涉及的真菌毒素种类较多、化学性质差异大，需要同时兼顾各类真菌毒素的提取效率才能获得较好的灵敏度和准确度。本研究比较了甲醇、乙腈、甲醇:水(79:21, *V*:*V*)、乙腈:水(79:21, *V*:*V*)、甲醇:水:

甲酸(79:20:1, *V*:*V*:*V*)、乙腈:水:甲酸(79:20:1, *V*:*V*:*V*) 6 种不同提取溶剂对龙眼及其干制品两种基质中 50 种真菌毒素提取效果的影响。结果如图 3 所示, 研究发现, 单纯使用甲醇和乙腈为提取溶剂时, 真菌毒素整体回收率较为离散。甲醇为提取溶剂时龙眼(A)及干制品(B)基质中分别有 33 种和 31 种真菌毒素回收率为 70%~120%; 乙腈为提取溶剂时分别有 29 种和 31 种真菌毒素回收率为 70%~120%, 其中 FB_1、FB_2、FB_3、CIT 和 TeA 的回收率较低, 不足 20%; 甲醇:水(79:21, *V*:*V*)和乙腈:水(79:21, *V*:*V*)为提取溶剂时整体提取效果优于甲醇、乙腈, 离散程度明显降低, 其中 FB_1、FB_2、FB_3、CIT 和 TeA 在两种基质中的回收率均大于 60%; 甲酸的加入使得甲醇:水:甲酸(79:20:1, *V*:*V*:*V*)、乙腈:水:甲酸(79:20:1, *V*:*V*:*V*)对 50 种真菌毒素具有更好的整体提取效果, 其中甲醇:水:甲酸(79:20:1, *V*:*V*:*V*)为提取溶剂时龙眼及其干制品基质中真菌毒素回收率为 70%~120%数量分别提升到 43 种和 49 种, 乙腈:水:甲酸(79:20:1, *V*:*V*:*V*)回收率均在 70%~120%之间, 因此选择乙腈:水:甲酸(79:20:1, *V*:*V*:*V*)作为最优提取溶剂。

2.3.2　净化条件的优化

龙眼及龙眼干中含丰富的有机酸和糖, 需要采取有效的净化方式减少基质带来的干扰, 提高灵敏度和准确性。参考文献[34–36]报道, 本研究以回收率为指标比较了未净化方式及 PRiME HLB、Cleanert MC 固相萃取柱、QuEChERS 分散型固相萃取 3 种不同净化方式对 50 种真菌毒素的净化效果。QuEChERS 法按照 1.3.4 步骤提取后加入 2.0 g 无水硫酸镁和 0.5 g 氯化钠进行盐析萃取, 上清液经含有 85 mg C_{18}、15 mg PSA 的填料净化。结果如图 4 所示, 使用未净化方式时龙眼基质仅 18 种真菌毒素回收率达 71.3%~116.2%, 28 种真菌毒素的回收率仅 24.3%~68.7%, 其余 4 种真菌毒素的回收率为 126.1%~174.0%, 龙眼干基质 25 种真菌毒素回收率达 70.0%~111.9%, 其余 15 种真菌毒素的回收率仅 28.7%~68.5%, 说明未净化方式下龙眼及龙眼干存在明显的基质效应, 影响整体回收率; 使用 Cleanert MC 固相萃取柱净化方式时, 龙眼及龙眼干基质整体回收率较为接近, 33 种真菌毒素回收率均可达 71.6%~116.1%, 但 FB_1、FB_2、FB_3、PCA、TEN、NIV 和 FUS-A 7 种真菌毒素完全没有回收, 另外 8 种真菌毒素的回收率仅为 36.4%~63.7%, 2 种真菌毒素的回收率为 128.6%~136.8%; 使用 QuEChERS 净化方式时, 龙眼基质有 31 种真菌毒素回收率为 2.30%~168.6%, SMC、AME、ZAN、BEA、ENNB、$ENNB_1$、ENNA、$ENNA_1$ 8 种真菌毒素没有回收, 另外 11 种真菌毒素的回收率为 75.2%~134.1%, 龙眼干基质有 29 种真菌毒素回收率仅 2.53%~65.7%, OTA、OTB、OTC、SMC、AOH、AME、ZAN、BEA、ENNB、$ENNB_1$、ENNA、$ENNA_1$ 12 种真菌毒素没有回收, 仅 9 种真菌毒素的回收率在 85.9%~116.2%; 说明以上两种不同净化方式对回收率的影响



注: (A)龙眼基质; (B)龙眼干基质; IQR 为四分位区间(interquartile range); 图 4 同。A. 甲醇; B. 乙腈; C. 甲醇:水(79:21, *V*:*V*); D. 乙腈:水(79:21, *V*:*V*); E. 甲醇:水:甲酸(79:20:1, *V*:*V*:*V*); F. 乙腈:水:甲酸(79:20:1, *V*:*V*:*V*)。

图 3　不同提取溶剂对 50 种真菌毒素回收率的影响

Fig.3　Effects of different extraction solvent on the recoveries of 50 kinds of mycotoxins

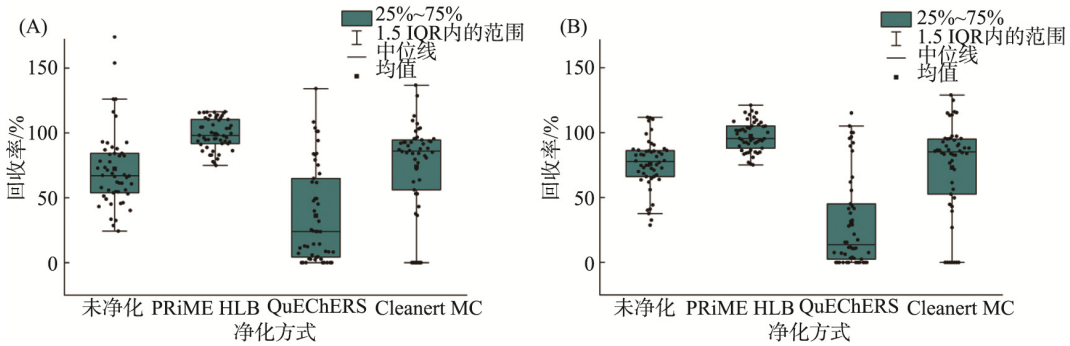


图 4　不同净化方式对 50 种真菌毒素回收率的影响

Fig.4　Effects of different purification methods on the recoveries of 50 kinds of mycotoxins

可能是净化材料的吸附以及基质干扰所导致。PRiME HLB 是一种亲水-亲脂平衡新型吸附材料固相萃取柱，具有能选择性除去杂质降低基质效应，并能高效保留极性和非极性化合物的优势，使用 PRiME HLB 固相萃取柱净化方式时，龙眼及龙眼干基质均显示出较好的整体回收率，全部 50 种真菌毒素回收率均分别达到 74.9%~116.3%和 75.2%~118.7%。因此，选择 PRiME HLB 固相萃取柱作为最终净化方式。

2.4 基质效应

为考察基质效应(matrix effects, ME)的影响，试验参考 ME 评价方法[37]，通过在纯试剂和不同基质提取液中配制系列标准溶液，采用公式(ME=(基质匹配标准曲线的斜率/溶剂标准曲线的斜率–1)×100%)对 50 种真菌毒素的 ME 进行量化评估。当 ME 为正值时，代表存在基质增强效应；当 ME 为负值时，代表存在基质抑制效应；其中 ME 绝对值大于 50%表现为强 ME，20%~50%表现为中等 ME，小于 20%则为弱 ME。结果如图 5 所示，龙眼基质中，10 种真菌毒素存在强 ME，16 种真菌毒素产生中等 ME，24 种真菌毒素表现弱 ME；龙眼干基质中，2 种真菌毒素存在强 ME，13 种真菌毒素表现中等 ME，35 种真菌毒素表现弱 ME。尽管采用优化的净化方法能有效减少样品提取液中的干扰组分，但部分真菌毒素仍受到 ME 的影响。因此，为尽可能降低 ME 所带来的干扰，本研究采用基质匹配法来补偿 ME 产生的影响。

2.5 线性范围、检出限及定量限

按照 1.3.4 中的步骤操作获得空白基质提取液，根据各真菌毒素的响应强弱程度，配制不同质量浓度的基质匹配标准溶液进行分析测定。以质量浓度为横坐标(X, ng/mL)、峰面积为纵坐标(Y)绘制校准曲线。选择最低质量浓度混合标准溶液分别以信噪比(S/N)=3 和(S/N)=10 对应的浓度计算各真菌毒素方法检出限(limit of detection, LOD)和定量限(limit of quantitation, LOQ)。由表 2 可知，50 种真菌毒素在不同基质中各线性范围内线性关系良好(r^2>0.995)，龙眼基质方法的 LODs 和 LOQs 分别为 0.03~1.82 μg/kg 和 0.10~6.06 μg/kg；龙眼干基质方法的 LODs 和 LOQs 分别为 0.03~3.48 μg/kg 和 0.11~11.59 μg/kg(表 2)，满足 GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》等国家及行业相关限量标准的检测需求。

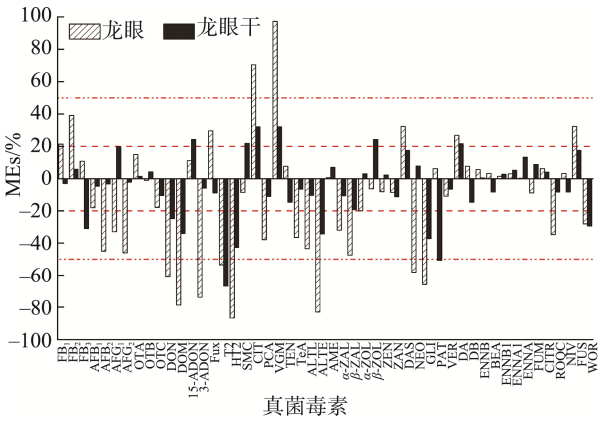


图 5 50 种真菌毒素在龙眼和龙眼干中的 MEs

Fig.5 MEs of 50 kinds of mycotoxins in *Dimocarpus longan* Lour. and its dried products

表 2 50 种真菌毒素在 2 种基质中的线性范围、相关系数、LODs 和 LOQs

Table 2 Linear ranges, correlation coefficients, LODs and LOQs of 50 kinds of mycotoxins in 2 kinds of matrices

真菌毒素	线性范围/(ng/mL)	龙眼				龙眼干			
		决定系数(r^2)	线性方程	LODs/(μg/kg)	LOQs/(μg/kg)	决定系数(r^2)	线性方程	LODs/(μg/kg)	LOQs/(μg/kg)
FB_1	0.5~200.0	0.9955	Y=1.08×10^4X–4.85×10^4	0.25	0.83	0.9964	Y=1.24×10^4X–5.62×10^3	0.20	0.67
FB_2	0.5~200.0	0.9965	Y=1.92×10^4X–8.79×10^3	0.24	0.81	0.9955	Y=1.96×10^4X–8.68×10^3	0.18	0.62
FB_3	0.5~200.0	0.9952	Y=1.41×10^4X–6.54×10^4	0.24	0.79	0.9957	Y=1.77×10^4X–8.40×10^3	0.15	0.49
AFB_1	0.1~100.0	0.9987	Y=2.26×10^4X+1.20×10^4	0.04	0.15	0.9989	Y=2.34×10^4X+4.51×10^3	0.05	0.17
AFB_2	0.1~100.0	0.9969	Y=3.12×10^4X+1.78×10^4	0.06	0.18	0.9955	Y=3.64×10^4X+7.29×10^3	0.10	0.32
AFG_1	0.1~100.0	0.9959	Y=2.90×10^4X+2.25×10^4	0.04	0.15	0.9977	Y=2.74×10^4X+2.17×10^3	0.08	0.26
AFG_2	0.1~100.0	0.9978	Y=2.07×10^4X+1.40×10^4	0.05	0.17	0.9954	Y=1.70×10^4X+9.70×10^3	0.09	0.30
OTA	0.5~100.0	0.9974	Y=1.77×10^4X–8.03×10^3	0.18	0.60	0.9977	Y=1.60×10^4X–5.55×10^3	0.16	0.53
OTB	0.1~100.0	0.9993	Y=8.04×10^4X–1.76×10^4	0.04	0.13	0.9987	Y=7.39×10^4X–1.07×10^4	0.04	0.13
OTC	0.1~100.0	0.9991	Y=7.30×10^4X–1.32×10^3	0.03	0.11	0.9984	Y=7.33×10^4X–2.66×10^3	0.04	0.12
DON	5.0~200.0	0.9996	Y=1.77×10^3X+1.80×10^2	1.82	6.06	0.9986	Y=2.27×10^3X–6.47×10^2	3.48	11.59
DOM	2.0~200.0	0.9958	Y=8.74×10^2X+2.37×10^3	1.05	3.51	0.9964	Y=2.33×10^3X+9.36×10^2	3.26	10.85
15-ADON	2.0~200.0	0.9960	Y=1.07×10^3X+1.34×10^3	1.18	3.92	0.9955	Y=1.28×10^3X+1.64×10^3	1.32	4.38
3-ADON	2.0~200.0	0.9976	Y=1.50×10^3X–1.09×10^3	0.92	3.08	0.9992	Y=1.30×10^3X+4.90×10^3	3.33	11.09
FUS-X	5.0~200.0	0.9954	Y=1.35×10^3X–2.86×10^2	1.71	5.71	0.9954	Y=1.39×10^3X–2.90×10^2	1.21	4.03
T-2	0.5~100.0	0.9964	Y=2.76×10^3X–1.06×10^3	0.39	1.29	0.9957	Y=6.25×10^3X+2.36×10^3	0.27	0.91
HT-2	2.0~2000	0.9969	Y=1.06×10^3X–2.59×10^2	1.13	3.77	0.9990	Y=1.57×10^3X+5.66×10^1	2.13	7.09
SMC	0.1~100.0	0.9956	Y=5.34×10^4X–5.14×10^3	0.05	0.18	0.9979	Y=5.08×10^4X–3.00×10^3	0.07	0.24

表 2(续)

真菌毒素	线性范围/(ng/mL)	龙眼				龙眼干			
		决定系数(r^2)	线性方程	LODs/(μg/kg)	LOQs/(μg/kg)	决定系数(r^2)	线性方程	LODs/(μg/kg)	LOQs/(μg/kg)
CIT	0.5~100.0	0.9987	Y=1.86×10^4X–1.82×10^3	0.43	1.44	0.9982	Y=1.54×10^4X–4.41×10^3	0.33	1.12
PCA	2.0~200.0	0.9959	Y=1.34×10^4X+5.75×10^4	1.03	3.42	0.9989	Y=1.55×10^4X–3.35×10^3	1.47	4.90
VGM M_1	1.0~200.0	0.9991	Y=3.89×10^4X–2.00×10^3	0.53	1.76	0.9978	Y=2.84×10^4X–4.73×10^3	0.35	1.18
TeN	0.5~100.0	0.9965	Y=4.88×10^3X–3.32×10^3	0.21	0.69	0.9964	Y=4.91×10^3X–3.16×10^3	0.16	0.54
TeA	2.0~200.0	0.9973	Y=1.06×10^4X–1.83×10^2	0.82	2.74	0.9951	Y=1.17×10^4X–7.90×10^2	1.21	4.04
AOH	0.5~100.0	0.9932	Y=9.23×10^3X+1.42×10^3	0.23	0.78	0.9954	Y=9.36×10^3X+2.36×10^3	0.37	1.23
ALT	1.0~100.0	0.9979	Y=1.96×10^3X+2.61×10^3	0.76	2.53	0.9978	Y=1.83×10^3X+4.37×10^2	2.93	9.76
AME	0.1~100.0	0.9968	Y=6.48×10^4X+3.72×10^3	0.03	0.10	0.9995	Y=6.06×10^4X–2.76×10^2	0.03	0.11
α-ZAL	1.0~200.0	0.9983	Y=220×10^4X +5.25×10^3	0.11	0.38	0.9958	Y=2.20×10^4X–6.05×10^1	0.15	0.50
β-ZAL	1.0~200.0	0.9935	Y=1.35×10^4X+1.56×10^3	0.11	0.37	0.9962	Y=1.31×10^4X–1.73×10^3	0.17	0.56
α-ZOL	1.0~200.0	0.9995	Y=5.39×10^3X+7.68×10^2	0.35	1.17	0.9973	Y=5.31×10^3X–9.07×10^2	0.45	1.50
β-ZOL	1.0~200.0	0.9946	Y=3.30×10^3X+6.30×10^3	0.55	1.82	0.9963	Y=3.06×10^3X+2.09×10^3	0.72	2.42
ZEN	1.0~200.0	0.9994	Y=7.39×10^3X+8.66×10^2	0.10	0.32	0.9984	Y=6.80×10^3X–1.94×10^2	0.11	0.36
ZAN	1.0~200.0	0.9972	Y=3.87×10^3X+3.18×10^1	0.13	0.42	0.9985	Y=3.64×10^3X+1.85×10^1	0.12	0.40
DIA	0.1~100.0	0.9973	Y=1.00×10^4X–1.60×10^3	0.18	0.59	0.9971	Y=9.93×10^3X–1.65×10^3	0.16	0.52
NEO	0.5~100.0	0.9969	Y=1.47×10^4X–2.37×10^3	0.15	0.50	0.9957	Y=1.30×10^4X–5.37×10^3	0.38	1.28
GLI	5.0~200.0	0.9978	Y=1.54×10^3X+1.07×10^3	1.62	5.41	0.9951	Y=2.02×10^3X–1.14×10^2	2.99	9.98
PAT	1.0~200.0	0.9978	Y=1.51×10^3X+1.97×10^2	0.38	1.28	0.9957	Y=1.46×10^3X+7.74×10^2	0.18	0.60
VER	0.5~100.0	0.9975	Y=1.05×10^4X–5.45×10^2	0.26	0.88	0.9981	Y=1.00×10^4X–1.64×10^2	0.28	0.92
DA	0.1~100.0	0.9981	Y=5.52×10^4X+1.66×10^4	0.04	0.12	0.9998	Y=4.88×10^4X–4.19×10^2	0.03	0.11
DB	0.1~100.0	0.9957	Y=3.90×10^4X+2.36×10^3	0.05	0.16	0.9984	Y=4.13×10^4X–2.71×10^3	0.04	0.13
ENNB	0.1~100.0	0.9981	Y=1.82×10^5X+6.96×10^3	0.04	0.12	0.9995	Y=1.82×10^4X–3.86×10^3	0.03	0.12
BEA	0.1~100.0	0.9960	Y=6.33×10^4X+2.56×10^3	0.05	0.18	0.9972	Y=4.82×10^4X+1.51×10^3	0.05	0.16
$ENNB_1$	0.1~100.0	0.9967	Y=1.88×10^4X+2.34×10^3	0.05	0.17	0.9951	Y=1.69×10^4X+1.17×10^3	0.05	0.17
ENNA	0.1~100.0	0.9950	Y=1.07×10^5X+9.67×10^2	0.05	0.17	0.9957	Y=8.43×10^4X–1.50×10^3	0.05	0.17
$ENNA_1$	0.1~100.0	0.9962	Y=2.48×10^4X+8.05×10^2	0.04	0.14	0.9963	Y=2.21×10^4X–2.91×10^2	0.05	0.16
FUM	0.5~100.0	0.9995	Y=3.16×10^3X+5.79×10^2	0.15	0.50	0.9958	Y=2.79×10^3X+8.34×10^2	0.18	0.59
CIT-R	1.0~200.0	0.9997	Y=5.24×10^3X–1.16×10^3	0.09	0.31	0.9964	Y=4.81×10^3X–3.07×10^2	0.09	0.31
RC	0.1~200.0	0.9957	Y=7.00×10^4X+3.06×10^3	0.04	0.12	0.9960	Y=7.94×10^4X–4.16×10^2	0.05	0.17
NIV	0.5~200.0	0.9955	Y=7.52×10^4X–2.11×10^3	0.21	0.69	0.9984	Y=7.43×10^4X–2.65×10^3	0.18	0.61
FUS-A	1.0~200.0	0.9966	Y=7.08×10^4X–3.73×10^4	0.33	1.09	0.9956	Y=5.88×10^4X–2.60×10^4	0.29	0.97
WOR	1.0~200.0	0.9993	Y=1.24×10^3X–1.48×10^2	0.38	1.28	0.9990	Y=1.36×10^3X+4.02×10^2	0.38	1.26

2.6　回收率与精密度

本研究根据各真菌毒素的在两种基质中的方法 LOQs, 分别添加低、中、高 3 个水平(1、5、10 倍 LOQ)的混合标准溶液进行加标回收率实验, 每个加标水平进行 6 次重复实验, 计算相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)考察方法精密度。如表 3 所示, 50 种真菌毒素在龙眼基质中的平均加标回收率为 77.1%~119.3%, RSDs 为 0.45%~8.95%, 在龙眼干基质中的平均加标回收率为 76.3%~119.6%, RSDs 为 0.66%~9.02%, 符合 GB 5009.295—2023《食品安全国家标准 化学分析方法验证通则》规定, 说明该方法的准确性和稳定性较好, 可满足实际样品的分析。

2.7　实际样品的检测

利用所建立方法对采集的 62 份龙眼及龙眼干样品(龙眼 30 份、龙眼干 32 份)进行测定。结果如表 4 所示, 共有 9 份(30.0%)龙眼及 12 份龙眼干(37.5%)样品共检出 16 种真菌毒素。龙眼样品检出 8 种真菌毒素, 其中果皮检出率为 6.7%~20.0%, 平均含量除了 FUS-X 小于定量限外, 其余为 3.24~13.41 μg/kg, 1 份龙眼果肉检出 PAT 但含量低于定量限, 可能是由果皮污染带入; 龙眼干样品共检出 13 种真菌毒素, 果皮中检测到 DON、15-ADON、3-ADON 但含量均小于定量限, 其余 10 种真菌毒素检出率为 3.1%~21.9%, 平均含量为 0.42~13.51 μg/kg, 干果肉共检出 5 种真菌毒素, 检出率为 9.1%~18.2%, 平均含量为 0.82~10.32 μg/kg。结果表明, 龙眼在生长、销售、加工等环节均可能受到多种真菌侵染而产生真菌毒素。从真菌毒素污染情况看, 龙眼干样品更容易受到真菌毒素的污染, 同时真菌毒素的污染主要存在于果皮, 部分样品存在共污染现象, 存在一定的风险隐患, 需引起重视。

表 3 50 种真菌毒素在 2 种基质中的平均回收率和 RSDs (*n*=6)

Table 3 Average spiked recoveries and RSDs of 50 kinds of mycotoxins in 2 kinds of matrices (*n*=6)

真菌毒素	添加量 /(μg/kg)	龙眼		龙眼干	
		回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%
FB_1	0.5/2.5/5.0	87.7/81.6/93.6	3.39/6.22/3.95	81.5/83.0/79.6	3.66/8.77/4.69
FB_2	0.5/2.5/5.0	90.1/96.7/91.8	5.45/5.38/5.14	83.9/85.5/88.9	8.26/3.24/3.03
FB_3	0.5/2.5/5.0	96.4/84.7/91.9	2.37/7.19/5.62	77.2/83.7/83.8	2.63/0.68/2.95
AFB_1	0.1/0.5/1.0	81.7/94.5/87.7	5.11/3.35/3.10	90.2/87.5/90.3	7.07/3.34/2.23
AFB_2	0.1/0.5/1.0	97.0/105.8/99.2	4.13/3.30/2.41	90.6/96.7/83.6	7.86/1.76/3.17
AFG_1	0.1/0.5/1.0	92.8/106.0/107.6	4.86/2.40/2.10	95.2/89.6/99.9	6.59/1.59/2.07
AFG_2	0.1/0.5/1.0	77.1/84.9/82.6	6.17/8.94/7.86	108.2/107.6/103.3	2.15/2.08/2.00
OTA	0.5/2.5/5.0	81.0/81.0/86.8	4.32/2.86/0.45	119.3/113.9/111.7	7.76/2.17/1.49
OTB	0.1/2.5/5.0	98.4/102.5/95.2	7.68/4.73/3.27	99.2/96.6/90.5	4.61/1.45/1.88
OTC	0.1/2.5/5.0	83.2/84.9/90.7	8.33/1.99/3.52	96.8/92.8/87.5	7.04/4.36/4.20
DON	5/25/50	115.0/109.2/110.9	2.11/2.55/5.39	88.1/93.5/94.3	5.05/2.37/2.30
DOM	2/10/20	87.7/81.7/83.7	8.12/4.71/5.60	93.8/98.0/95.7	4.83/1.14/1.91
15-ADON	2/10/20	77.1/76.6/82.3	3.20/7.37/7.18	115.1/111.9/119.6	1.13/2.78/2.14
3-ADON	2/10/20	77.1/81.2/81.4	8.27/8.95/4.68	101.4/89.8/93.7	3.27/2.08/1.05
FUS-X	5/25/50	103.8/98.6/108.8	4.32/0.60/2.22	93.4/89.4/90.3	4.68/0.92/1.63
T-2	0.5/2.5/5.0	102.0/110.2/106	5.11/3.88/4.73	100.2/102.0/95.7	3.50/4.62/4.46
HT-2	2/10/20	88.9/80.9/83.5	3.55/3.24/3.09	86.5/97.1/85.1	1.30/1.29/3.39
SMC	0.1/0.5/1.0	83.2/81.8/86.7	4.97/6.65/6.72	93.1/92.9/93.2	3.96/3.96/3.92
CIT	0.5/2.5/5.0	94.8/102.2/92.9	7.96/3.39/3.01	108.8/110.2/114.5	6.74/1.57/1.39
PCA	2/10/20	115.3/112.9/108.1	3.99/6.27/5.59	107.2/112.0/105.3	6.26/2.70/3.75
VGM M1	1/5/10	108.0/104.0/105.1	3.61/7.73/2.63	96.1/96.0/100.9	4.58/1.99/1.65
TeN	0.5/2.5/5.0	88.3/84.1/84.6	7.78/5.70/6.71	94.8/92.9/94.4	9.02/4.08/4.82
TeA	2/10/20	94.3/102.1/101.3	5.41/3.03/7.65	92.2/88.3/91.7	6.43/2.73/3.76
AOH	0.5/2.5/5.0	80.6/82.1/90.7	2.05/2.79/6.01	78.0/80.6/77.7	2.35/1.67/1.81
ALT	1/5/10	83.0/82.8/84.8	8.23/2.90/3.29	76.6/77.9/76.3	5.91/0.93/1.37
AME	0.1/0.5/1.0	93.4/90.7/90.0	3.90/2.87/2.51	90.9/84.1/88.9	7.10/1.91/2.49
α-ZAL	1/5/10	83.5/77.9/87.1	2.68/4.39/4.93	108.4/107.3/111.5	2.20/1.86/0.66
β-ZAL	1/5/10	107.1/111.9/107.5	7.33/4.51/7.64	106.1/99.6/111.3	5.32/5.70/4.56
α-ZOL	1/5/10	112.1/114.2/118.4	2.67/5.61/1.18	112.8/108.8/102.7	5.43/5.31/5.51
β-ZOL	1/5/10	87.1/94.7/93.5	2.02/6.63/7.82	112.4/112.7/112.0	3.10/2.42/2.78
ZEN	1/5/10	91.4/85.8/88.6	7.33/7.24/2.49	89.0/97.7/91.5	6.19/3.97/3.94
ZAN	1/5/10	92.2/91.1/95.5	8.05/1.46/4.15	91.4/99.2/101.0	6.29/2.10/1.90
DIA	0.1/0.5/1.0	113.7/119.3/111.9	6.37/4.76/1.06	94.0/98.7/92.2	3.84/1.53/2.20
NEO	0.5/2.5/5.0	93.2/94.3/96.9	7.61/8.60/5.21	83.9/78.4/82.8	2.24/4.11/3.91
GLI	0.5/2.5/5.0	81.7/86.9/86.3	8.14/5.22/5.42	99.7/100.8/96.6	8.52/2.52/2.55
PAT	1/5/10	95.2/92.4/85.2	2.94/7.64/3.38	81.6/78.0/77.0	6.90/3.98/3.03
VER	0.5/2.5/5.0	103.1/98.2/104.3	1.04/4.02/2.96	108.5/113.8/111.1	5.69/3.50/3.57
DA	0.1/0.5/1.0	89.2/87.3/93.9	2.23/3.81/5.38	103.9/103.3/96.1	3.73/2.97/2.40
DB	0.1/0.5/1.0	88.3/98.0/89.8	2.06/4.23/2.63	115.2/113.2/108.4	7.19/3.98/4.55
ENNB	0.1/0.5/1.0	88.9/92.4/102.2	3.67/4.94/3.31	97.1/99.3/101.7	2.78/3.09/2.40
BEA	0.1/0.5/1.0	93.5/95.0/100.9	5.20/0.99/2.80	92.1/94.5/95.7	3.55/2.80/1.79
$ENNB_1$	0.1/0.5/1.0	113.5/104.3/115.1	6.64/0.60/2.58	90.4/92.7/92.2	5.87/1.45/2.73
ENNA	0.1/0.5/1.0	108.0/110.1/95.5	6.46/7.53/3.58	97.2/98.1/91.0	3.38/3.09/2.66
$ENNA_1$	0.1/0.5/1.0	105.5/100.4/106.4	8.26/2.65/6.95	106.2/98.1/102.1	2.38/0.35/1.08
FUM	0.5/2.5/5.0	79.2/79.8/85.2	7.14/2.47/6.67	81.4/81.2/82.9	6.73/1.37/2.44
CIT-R	1/5/10	83.4/85.8/84.0	2.36/4.51/6.63	105.4/102.9/107.8	5.38/3.19/2.71
RC	0.1/0.5/1.0	80.9/85.1/79.1	2.06/8.39/6.04	105.4/97.4/100.1	8.75/2.76/1.90
NIV	0.5/2.5/5.0	84.6/84.8/80.2	6.76/6.20/7.14	86.4/81.3/83.5	6.38/4.18/3.51
FUS-A	1/5/10	80.7/79.9/84.1	6.03/7.82/2.02	95.9/97.6/101.8	7.54/1.38/0.99
WOR	1/5/10	105.5/103.8/95.8	3.66/2.57/4.41	85.9/85.8/82.7	4.84/3.94/4.19

表 4　实际样品中真菌毒素的检测结果

Table 4　Determination results of the mycotoxins in real samples

真菌毒素	龙眼果肉		龙眼果皮		龙眼干果肉		龙眼干果皮	
	检出率/%	平均含量/(μg/kg)	检出率/%	平均含量/(μg/kg)	检出率/%	平均含量/(μg/kg)	检出率/%	平均含量/(μg/kg)
AFB_1	–	–	–	–	9.1	0.82	12.5	0.42
AFB_2	–	–	–	–	–	–	12.5	<LOQ
OTA	–	–	–	–	18.2	4.41	9.4	2.05
PAT	10.0	<LOQ	10.0	6.41	–	–	–	–
CIT	–	–	13.3	7.12	–	–	–	–
DON	–	–	–	–	–	–	9.4	<LOQ
DOM	–	–	6.7	3.24	–	–	21.9	13.51
15-ADON	–	–	–	–	–	–	9.4	<LOQ
3-ADON	–	–	–	–	–	–	6.2	<LOQ
FUS-X	–	–	13.3	<LOQ	–	–	21.9	6.12
T-2	–	–	–	–	–	–	9.4	2.13
AME	–	–	16.7	13.41	13.6	5.14	18.8	2.45
TeN	–	–	10.0	4.23	–	–	–	–
TeA	–	–	20.0	12.96	18.2	10.32	18.8	7.81
AOH	–	–	20.0	13.24	9.1	3.21	18.8	1.83
ALT	–	–	–	–	–	–	3.1	1.52

注: – 表示未检出。

3　结　论

本研究基于固相萃取净化前处理结合 UPLC-MS/MS 检测技术, 成功建立了可同时测定采后龙眼及其干制品中 50 种真菌毒素的检测方法。该方法操作简单、灵敏度高、结果准确, 适用于龙眼及其干制品中真菌毒素的高通量筛查以及定量检测。实际样品检测发现, 龙眼及龙眼干样品共检测出 16 种真菌毒素, 部分样品存在共污染现象, 其污染来源主要存在于果皮。因此, 采后龙眼在采收、加工、销售等环节存在真菌毒素污染的风险隐患, 需要加强管理和防控。针对这一问题, 下一步的工作将尝试结合高通量测序技术分析龙眼及制品中真菌多样性与毒素产生种类及含量之间的相关性, 以期能够为龙眼及其干制品中真菌毒素的风险评估和防控提供技术支持。

参考文献

[1] 冯婷, 王宁香, 陈雅萍, 等. 长期冰冻贮藏对龙眼肉多酚含量及抗氧化活性的影响[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(17): 29–34.
Feng Ting, Wang Ningxiang, Cheng Yaping, et al. Effects of long term frozen storage on polyphenol content and antioxidant activity of longan pulp [J]. Food Research and Development, 2024, 45(17): 29–34.

[2] Zhang Xiaofang, Guo Sen, Ho C T, et al. Phytochemical constituents and biological activities of longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit: a review [J]. Food Science and Human Wellness, 2020, 9(2): 95–102.

[3] 沈玉彬, 郝二伟, 杜正彩, 等. 龙眼多糖化学结构、构效关系与药理活性研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(23): 7624–7632.
Shen Yubin, Hao Erwei, Du Zhengcai,et al. Research progress on chemical structure, structure-activity relationship and pharmaco logical activity of *Dimocarpus longan* polysaccharides [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2022, 53(23): 7624–7632.

[4] Al-Khayri J M, Sahana G R, Nagella P, et al. Flavonoids as potential anti-inflammatory molecules: a review [J]. Molecules, 2022, 27(9): 2901.

[5] Arley D M V, Victor J B B, Vasconcelos E M S, et al. Current role of modern chromatography and mass spectrometry in the analysis of mycotoxins in food [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2020, 130: 116156.

[6] Georg A, Giorgia F D, Benedikt W, et al. Alternaria toxins-still emerging? [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2021, 20(5): 4390–4406.

[7] Zhang Zhiqi, Nie Dongxia, Fan Kai, et al. A systematic review of plant-conjugated masked mycotoxins: occurrence, toxicology, and metabolism [J]. Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 2020, 60(9): 1523–1537.

[8] Cheng Jiayi , Luo Pengjie, Liu Zhiwei,, et al. Rainbow latex microspheres lateral flow immunoassay with smartphone-based device for simultaneous detection of three mycotoxins in cereals [J]. Analytica Chimica Acta, 2022, 1221: 340138.

[9] 王刚, 王玉龙, 张海永, 等. 真菌毒素形成的影响因素[J]. 菌物学报, 2020, 39(3): 477-491.
Wang Gang, Wang Yulong, Zhang Haiyong, et al. Influencing factors of mycotoxin formation [J]. Mycosystema, 2020, 39(3): 477–491.

[10] Mahato D K, Kamle M, Sharma B, et al. Patulin in food: a mycotoxin concern for human health and its management strategies [J]. Toxicon, 2021, 198: 12–23.

[11] Naralice H, Jorge F C F, Carvalho C C, et al. Dry fruit as source of fungal contaminants or functional compounds? [J]. Food Science and Technology, 2020, 40(1): 76-83.

[12] 谢曦, 谢必新, 余威祥, 等. 基于高通量测序技术比较不同品种龙眼干化学特征与菌群组成变化[J]. 现代食品科技, 2025, 41(11): 242–250.
Xie Xi, Xie Bixing, Yu Weixiang, et al. Comparative analysis of changes in the chemical characteristics and microbial community composition of different varieties of dried longans based on high-throughput sequencing technology [J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2025, 41(11): 242–250.

[13] Li Xianjiang, Ma Wen, Ma Zhiyong, et al. The occurrence and

contamination level of ochratoxin A in plant and animal-derived food commodities [J]. Molecules, 2021, 26(22): 6928.

[14] Qiao Xiaoting, Ying Jie, Yang Yunjia, et al. Determination of alternaria mycotoxins in fresh sweet cherries and cherry-based products: method validation and occurrence [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(44): 11846–11853.

[15] Agriopoulou S, Stamatelopoulou E, Varzakas T. Advances in occurrence, importance, and mycotoxin control strategies: prevention and detoxification in foods [J]. Foods, 2020, 9(2): 137.

[16] 王玉娇. 坚果和干果真菌毒素污染及风险评估研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2018: 12–22.
Wang Yujiao. Contamination and risk assessment of mycotoxins in nuts and dried fruits [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2018: 12–22.

[17] Sumantri I, Hidayat A A A, Kusumawardhani E. Co-existence of mycotoxins in the diet of layer farms in Java Provinces of Indonesia [J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2024, 1360(1): 012016.

[18] Murtaza B, Li X, Nawaz Y M, et al. Toxicodynamic of combined mycotoxins: microRNAs and acute-phase proteins as diagnostic biomarkers [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2024, 23(3): e13338.

[19] Nan Mina, Xue Huali, Bi Yang. Contamination detection and control of mycotoxins in fruits and vegetables [J]. Toxins, 2022, 14(5): 309.

[20] 张国卿, 朱雨辰, 罗颖华, 等. 水果制品中真菌毒素污染及控制研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(18): 5992–5999.
Zhang Guoqing, Zhu Yuchen, Luo Yinghua, et al. Research progress on contamination and control of mycotoxins in fruit products [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(18): 5992–5999.

[21] Lu Qian, Qin Jiaan , Fu Yanwei, et al. Modified mycotoxins in food stuffs, animal feed, and herbal medicine: a systematic review on global occurrence, transformation mechanism and analysis methods [J]. Trends in Analytical Chemistry, 2020, 133: 116088.

[22] Stroka J, Anklam E. Development of a simplified densitometer for the determination of aflatoxins by thin-layer chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2000, 904(2): 263–268.

[23] Thanapoom M, Chananya C, Warapa M. Optimization and validation of dispersive liquid-liquid microextraction for simultaneous determination of aflatoxins B_1, B_2, G_1, and G_2 in senna leaves and pods using HPLC-FLD with pre-column derivatization [J]. Toxins, 2023, 15(4): 277.

[24] Yue Yantao, Zhang Xiaofei , Zhen Ouyang, et al. Determination of T-2 toxin in traditional chinese herbal medicines by GC-ECD [J]. Chromatographia, 2009, 70(9-10): 1495–1499.

[25] Michael S, David S, DAVID S, et al. Validation of an LC-MS/MS-based dilute-and-shoot approach for the quantification of > 500 mycotoxins and other secondary metabolites in food crops: challenges and solutions [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2020, 412(11): 2607–2620.

[26] Luo Xiaohu, Wang Ren, Wang Li, et al. Analyses by UPLC Q TOF MS of products of aflatoxin B_1 after ozone treatment [J]. Food Additives and Contaminants: Part A-Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, 2014, 31(1): 105–109.

[27] Edyta J, Marcin N, Marcin P, et al. The existing methods and novel approaches in mycotoxins' detection [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2021, 26(13): 3981.
Wang Danni, Li Wenhui, Cheng Wenqian, et al. Guest adaptative supramolecular sensing strategy for warning the risky aflatoxins in contaminated cereals [J]. Journal of Hazardous Materials, 2023, 464: 133015.

[28] Szelenberger R, Cichon N, Zajaczkowski W, et al. Application of biosensors for the detection of mycotoxins for the improvement of food safety [J]. Toxins, 2024, 16(6): 249.

[29] Qiu Nannan, Sun Danlei, Zhou Shuang, et al. Rapid and sensitive UHPLC-MS/MS methods for dietary sample analysis of 43 mycotoxins in China total diet study [J]. Journal of Advanced Research, 2022, 39: 15–47.

[30] Jia Qi, Qiu Jing, Zhang Lin, et al. Multiclass comparative analysis of veterinary drugs, mycotoxins, and pesticides in bovine milk by ultrahigh-performance liquid chromatography–hybrid quadrupole-linear ion trap mass spectrometry [J]. Foods, 2022, 11(3): 331.

[31] 汪薇, 余婷婷, 张莉, 等. QuEChERS联合UPLC-Orbitrap/MS同时测定检测坚果和干制水果中 60 种真菌毒素[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(4): 707–714.
Wang Wei, Yu Tingting, Zhang Li, et al. Simultaneous determination of 60 mycotoxins in nuts and dried fruits by QuEChERS combined with UPLC-orbitrap/MS [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2022, 34(4): 707–714.

[32] 赵芮, 黄晴雯, 余智颖, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水果中 36 种真菌毒素[J]. 色谱, 2023, 41(9): 760–770, 823–830.
Zhao Rui, Huang Qingwen, Yu Zhiying, et al. Simultaneous determination of 36 mycotoxins in fruits by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2023, 41(9): 760–770, 823–830.

[33] 胡巧茹, 曹鹏, 丛中笑, 等. 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱对粮谷产品中 20 种真菌毒素的快速筛查和确证[J]. 色谱, 2019, 37(11): 1241–1248.
Hu Qiaoru, Cao Peng, Cong Zhongxiao, et al. Rapid screening and confirmation of 20 mycotoxins in cereal products by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2019, 37(11): 1241–1248.

[34] 许莉, 黄晓婧, 罗霄, 等. 使君子中 22 种真菌毒素 UHPLC-MS/MS 同步检测与风险评估[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(4): 984–987.
Xu Li, Huang Xiaojing, Luo Xiao, et al. Simultaneous detection and risk assessment of 22 mycotoxins in *Quisqualis indica* L. by UHPLC-MS/MS [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2021, 32(4): 984–987.

[35] 张丹, 刘柏林, 赵紫微, 等. PRiME HLB 柱净化-超高效液相色谱-串联质谱法快速测定果蔬制品中 5 种新型真菌毒素[J]. 分析化学, 2023, 51(8): 1343–1357.
Zhang Dan, Liu Bolin, Zhao Ziwei, et al. Rapid determination of 5 novel mycotoxins in fruit and vegetable products by PRiME HLB column purification-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2023, 51(8): 1343–1357.

[36] 李心恬, 黄科, 黄刚, 等. QuEChERS dSPE EMR-Lipid-液相色谱-四极杆飞行时间质谱法定性筛查粮谷中 29 种真菌毒素[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(8): 76–83.
Li Xingtian, Huang Ke, Huang Gang, et al. Qualitative screening of 29 kinds of mycotoxins in grain by QuEChERS dSPE EMR-Lipid and liquid chromatography-quadrupole time of flight-mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(8): 76–83.

(责任编辑: 韩晓红 曹岱琳)