

超高效液相色谱 - 离子淌度飞行时间质谱法 测定辅料中 22 种真菌毒素*

胡佳哲, 刘亚雄, 赖宇红, 叶秀金, 王淼, 杨志业

(广东省药品检验所, 国家药监局药用辅料质量控制与评价重点实验室, 广州 510663)

摘要 目的: 建立超高效液相色谱 - 离子淌度飞行时间质谱法同时检测药用辅料中 22 种真菌毒素的分析方法。方法: 采用 Waters CORTECS® UPLC® C₁₈ (100 mm × 2.1 mm, 1.6 μm) 色谱柱, 以 0.1% 甲酸水溶液 - 乙腈甲醇混合溶液 (60:40) 为流动相, 梯度洗脱, 流速 0.25 mL · min⁻¹, 柱温 35 °C。采用电喷雾离子源, MSe 数据采集模式, 正、负离子扫描模式, 外标法定量。结果: 22 种真菌毒素在质量浓度为 0.2 ~ 500 μg · L⁻¹ 范围内, 线性关系良好 (r 均大于 0.998 5); 检测限为 0.1 ~ 2.0 μg · kg⁻¹; 平均回收率为 80.4% ~ 118.2%, RSD 为 0.20% ~ 8.8%; 22 种真菌毒素的基质效应不明显。应用该方法检测了 32 批次玉米淀粉和 167 批次糊精, 其中一些批次检出黄曲霉毒素 B1、伏马毒素 B1、伏马毒素 B2 和玉米赤霉烯酮。结论: 该方法准确、高效和稳定, 可为药用辅料中真菌毒素风险评估提供方法参考。
关键词: 药用辅料; 真菌毒素; 糊精; 玉米淀粉; 玉米赤霉烯酮; 伏马毒素; 黄曲霉毒素; 超高效液相色谱 - 离子淌度飞行时间质谱; 有毒有害污染物

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254 - 1793 (2024) 03 - 0434 - 08

doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2024.03.08

Determination of 22 mycotoxins in pharmaceutical excipients by UHPLC - IM TOF MS*

HU Jia - zhe, LIU Ya - xiong, LAI Yu - hong,
YE Xiu - jin, WANG Miao, YANG Zhi - ye

(Guangdong Institute for Drug Control, Key Laboratory of Quality Control and Evaluation of Pharmaceutical Excipients, SFDA, Guangzhou 510663, China)

Abstract Objective: To establish a method for the determination of 22 mycotoxins in pharmaceutical excipients by ultra - high performance liquid chromatography - ion mobility time - of - flight mass spectrometry (UHPLC - IM TOF MS). **Methods:** The samples were separated on a Waters CORTECS® UPLC® C₁₈ (100 mm × 2.1 mm, 1.6 μm) column by gradient elution at a flow rate of 0.25 mL · min⁻¹ using 0.1% formic acid and a mixture of acetonitrile and methanol (60:40) as the mobile phase. The column temperature was maintained at 35 °C. MSe data acquisition mode was chosen and electrospray ion source operating in the positive/negative ionization mode for data acquisition was applied. The external standard method was used for quantification. **Results:** 22 mycotoxins showed good linear relationships within their respective ranges ($r > 0.998 5$). The limits of detection

* 广东省药品监督管理局科技创新项目 (2023TDZ04); 广东省药品检验所科研项目 (ZA20200025)

第一作者 Tel: (020) 32447981; E - mail: hujiazhe@gdldc.org.cn

were 0.1–2.0 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. The recoveries of 22 mycotoxins at three levels were in the range of 80.4%–118.2%, and the RSDs were 0.20%–8.8%. The matrix effect of 22 mycotoxins was not obvious. The method was applied to the detection of 32 batches of corn starch and 167 batches of dextrin. Aflatoxin B1, fumonisins B1 and B2, and zearalenone were detected in some batches. **Conclusion:** The method is accurate, efficient and stable. It can be used in quality control of mycotoxins in pharmaceutical excipients, and provides technical supports for the risk assessment of mycotoxins.

Keywords: pharmaceutical excipients; mycotoxin; dextrin; corn starch; zearalenone; fumonisin; aflatoxin; UHPLC – IM TOF MS; toxic and harmful pollutants

药用辅料作为药物制剂的重要组成部分,在药品制剂中的成分占比最高,有些可以达到90%以上,对确保药品安全有效具有重要的作用。药用辅料中有一类是以粮油类为原料制成的辅料,比如淀粉、糊精、大豆油等,粮油中真菌毒素的污染状况十分严重^[1-2],在食品中已有相应的标准和限量^[3-4],但在药用辅料中尚无相关报道。自然环境下,粮油作物如玉米、小麦、油菜籽、花生等,在种植后生长、收获的过程中,很容易被产毒真菌污染,气候、种植方式、贮藏条件等均能影响真菌毒素的产生^[5]。被污染的谷物,在储藏、加工、运输等过程通过食物链各个环节传递,最终危害人类健康^[6]。目前,《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)尚未收载药用辅料中真菌毒素分析及限量标准。

液相色谱-串联质谱法(LC-MS)是最常见的分析多种真菌毒素的检测方法^[7-11],三重四极杆-串联质谱法(QqQ-MS)是真菌毒素检测工作法定的标准方法,电喷雾多反应监测模式能实现同步定量和定性,灵敏度高,选择性强,目前应用较多。而低分辨质谱通常较适用于少量目标化合物的分析,近年来,全扫描技术的发展弥补了低分辨质谱的劣势,高分辨质谱(HRMS),如TOF-MS和Orbitrap-MS利用全扫描模式获得高灵敏度,高分辨率,高质量数精确度($<5 \times 10^{-6}$),已被成为真菌毒素多组分分析的利器^[12-14],已大量应用于DON毒素及其修饰型毒素、ZEN毒素及其修饰型毒素、HT-2毒素的检测。采用高效的T-Wave离子淌度分离技术,增加了分离维度,可提供更详细的信息,显著提高了分析的峰容量、灵敏度和特异性^[15-16]。因此,本文以药用辅料为研究对象,采用超高效液相-离子淌度飞行时间质谱法检测22种真菌毒素,为药品中真菌毒素多

组分分析提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

SYNAPT G2-Si HDMS 离子淌度-飞行时间质谱仪(Waters公司);2D Acquity UPLC H-Class 二维超液相色谱仪(Waters公司);Talboys 涡旋混合器(Talboys公司);64R 高速低温离心机(BECKMAN COULTER公司);MS204S 万分之一电子天平(Mettler Toledo公司);KQ-500DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);A10 纯水仪(Millipore公司)。

1.2 试剂

对照品黄曲霉毒素G1(aflatoxin G1, AFG1,批号110D26)、黄曲霉毒素G2(aflatoxin G2, AFG2,批号2J0A15)、黄曲霉毒素B1(aflatoxin B1, AFB1,批号2J0A07)、黄曲霉毒素B2(aflatoxin B2, AFB2,批号110H30)、伏马毒素B1(fumonisin B1, FB1,批号111B27)、伏马毒素B2(fumonisin B2, FB2,批号110G05)、伏马毒素B3(fumonisin B3, FB3,批号110I25)、赭曲霉毒素A(ochratoxin A, OTA,批号2J0A07)、赭曲霉毒素B(ochratoxin B, OTB,批号1G0C25)、赭曲霉毒素C(ochratoxin C, OTC,批号110H16)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON,批号2J0B05)、3-乙酰-脱氧雪腐镰刀菌烯醇(3-acetyl-deoxynivalenol, 3-A-DON,批号1G1A24)、15-乙酰-脱氧雪腐镰刀菌烯醇(15-acetyl-deoxynivalenol, 15-A-DON,批号1G0A17)、玉米赤霉酮(zearalanone, ZAN,批号2J0A12)、玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN,批号110I16)、 α -玉米赤霉醇(α -zearalanol, α -ZAL,批号110I09)、 β -玉米赤霉醇(β -zearalanol, β -ZAL,批号110D17)、 α -玉米赤霉烯醇(α -zearalenol, α -ZOL,批号

110D25)、T-2 毒素(T-2 toxin, T-2, 批号 110G09)、HT-2 毒素(HT-2 toxin, HT-2, 批号 111J17)、杂色曲霉毒素(sterigmatocystin, ST, 批号 110C15), 纯度均大于 99%, Pribolab 公司; 甲醇、乙腈, 色谱纯, Honeywell 公司; 甲酸, 色谱纯, 麦克林公司; 胺丙基键合硅胶(-NH₂)、硅胶, Agela Technologies 公司; 辅料, 国抽和省抽样品。

2 方法与结果

2.1 色谱-质谱条件

2.1.1 色谱条件 采用 Waters CORTECS® UPLC® C₁₈(100 mm × 2.1 mm, 1.6 μm) 色谱柱; 以 0.1% 甲酸水溶液(A) - 乙腈甲醇混合溶液(60:40)(B) 为流动相, 梯度洗脱(0 ~ 1.0 min, 10% B; 1.0 ~ 2.0 min, 10% B → 25% B; 2.0 ~ 2.5 min, 25% B → 40% B;

2.5 ~ 4.5 min, 40% B → 50% B; 4.5 ~ 7.0 min, 50% B; 7.0 ~ 9.0 min, 50% B → 80% B; 9.0 ~ 9.1 min, 80% B → 95% B; 9.1 ~ 11.0 min, 95% B; 11.0 ~ 11.1 min, 95% B → 10% B; 11.1 ~ 13.0 min, 10% B), 流速 0.25 mL · min⁻¹, 柱温 35 °C, 进样量 1 μL。

2.1.2 质谱条件 采用电喷雾离子源, 采用 LockSpray 模式进行质量校正, 数据采集: MSE, 离子化模式为正、负离子模式, 扫描范围: *m/z* 50 ~ 1 200, 扫描时间: 0.2 s, High Energy CE: 15 ~ 50 V, Analyser Mode: Sensitivity, 毛细管电压: 2.50 kV, 锥孔电压: 40 V, 离子源温度: 120 °C, 脱溶剂温度: 450 °C, 锥体气流速: 50 L · h⁻¹, 脱溶剂气体流速: 800 L · h⁻¹, 雾化器气流速: 0.65 MPa, 各成分的电离方式、实测相对分子质量、偏差等参数见表 1。

表 1 22 种真菌毒素的色谱质谱参数

Tab. 1 The chromatographic and mass spectral parameters of 22 mycotoxins

成分 (component)	保留时间 (retention time)/min	电离方式 (ionization mode)	实测相对分子质量 (observed relative molecular mass) <i>m/z</i>	偏差 (mass error)/ × 10 ⁻⁶
AFB1	4.15	+ Na	335.053 2	1.8
AFB2	3.99	+ Na	337.069 1	2.6
AFG1	3.92	+ Na	351.048 5	2.9
AFG2	3.76	+ Na	353.063 9	2.2
OTA	6.62	- H	402.075 1	0.2
OTB	5.12	- H	368.114 2	0.7
OTC	7.92	- H	430.105 6	-1.7
FB1	4.11	+ H	722.397 2	2.1
FB2	5.84	+ H	706.400 4	-0.6
FB3	4.86	+ H	706.401 0	0.2
DON	2.07	+ HCOO	341.123 9	-0.8
3-A-DON	2.95	+ HCOO	383.135 1	0.8
15-A-DON	2.95	+ HCOO	383.135 1	0.8
ZAN	6.35	- H	319.155 2	0.3
ZEN	6.45	- H	317.139 4	-0.2
α-ZAL	5.24	- H	321.170 6	-0.4
β-ZAL	4.39	- H	321.171 2	1.5
α-ZOL	5.48	- H	319.154 8	-0.9
β-ZOL	4.55	- H	319.155 3	0.7
T-2	6.5	+ Na	489.209 8	0.7
HT-2	4.44	+ HCOO	469.208 3	0.8
ST	7.13	+ H	325.071 0	1.1

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取 22 种真菌毒素对照品适量置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 配制成质量浓度均为 100 μg · mL⁻¹ 的对照品储备溶

液, 再分别吸取上述各对照品储备溶液, 用初始流动相稀释成系列混合对照品溶液, 其中 AFB1、AFG1、OTA、OTB、OTC 的系列浓度为 0.2、0.4、1、2、5、10、20 μg · L⁻¹, AFB2、AFG2、ST、T-2、ZEN、ZAN、

α -ZOL、 β -ZOL、 α -ZAL、 β -ZAL 的系列浓度为 0.5、1、2.5、5、12.5、25、50 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, FB1、FB2、FB3、HT-2、DON、3-A-DON、15-A-DON 的系列浓度为 5、10、25、50、125、250、500 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.2.2 供试品溶液 精密称取 2 g(精确到 0.01 g) 样品粉末置于 50 mL 离心管中,加入乙腈-甲醇-水(3:2:5,含 2% 甲酸)10 mL,涡旋混匀 2 min,超声提取 20 min,然后在 4 $^{\circ}\text{C}$ 、8 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min。吸取上清液 2 mL 置于含净化材料(硅胶 0.15 g, NH_2 0.05 g)的 2 mL 离心管中,剧烈振摇,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 、16 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,上清液经 0.22 μm 的有机微孔

滤膜过滤,即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系 按照“2.2.1”项下配制 22 种真菌毒素的系列混合标准溶液,以“2.1”项下条件检测,以目标化合物的峰面积(Y)为纵坐标,以对应的质量浓度(X , $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)为横坐标,绘制标准工作曲线。根据 3 倍信噪比($S/N \geq 3$) 确定方法检测限(LOD)。结果得 22 种真菌毒素的线性关系良好,相关系数(r)均大于 0.998 5, LOD 为 0.1 ~ 2.0 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。22 种真菌毒素的线性回归方程、线性范围、相关系数、检出限结果见表 2。

表 2 22 种真菌毒素线性回归方程、线性范围、相关系数、检测限

Tab. 2 Regression equations, linear ranges, correlation coefficients and LODs of 22 mycotoxins

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	线性范围 (linear range)/($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	r	LOD/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
AFB1	$Y = 283\ 448X + 1\ 250$	0.2 ~ 20	0.999 7	0.1
AFB2	$Y = 116\ 251X + 10\ 837$	0.5 ~ 50	0.999 7	0.2
AFG1	$Y = 218\ 668X - 5\ 262$	0.2 ~ 20	1.000 0	0.1
AFG2	$Y = 86\ 460X - 11\ 022$	0.5 ~ 50	0.999 5	0.2
FB1	$Y = 44\ 228X - 52\ 997$	5 ~ 500	0.999 6	2.0
FB2	$Y = 95\ 834X - 145\ 118$	5 ~ 500	0.999 5	2.0
FB3	$Y = 80\ 111X - 80\ 629$	5 ~ 500	0.999 0	2.0
OTA	$Y = 313\ 480X + 10\ 835$	0.2 ~ 20	0.999 5	0.1
OTB	$Y = 535\ 236X - 8\ 517$	0.2 ~ 20	0.999 3	0.1
OTC	$Y = 9\ 091\ 202X - 20\ 607$	0.2 ~ 20	0.998 6	0.1
ST	$Y = 350\ 492X - 35\ 918$	0.5 ~ 50	0.999 0	0.2
T-2	$Y = 18\ 774X + 1\ 678$	0.5 ~ 50	0.999 8	0.2
HT-2	$Y = 2\ 292X + 438.7$	5 ~ 500	0.999 6	2.0
DON	$Y = 11\ 543X + 29\ 809$	5 ~ 500	0.999 3	2.0
3-A-DON	$Y = 16\ 068X + 10\ 139$	5 ~ 500	0.999 6	2.0
15-A-DON	$Y = 13\ 511X - 782.5$	5 ~ 500	0.999 9	2.0
ZEN	$Y = 148\ 905X - 18\ 935.58$	0.5 ~ 50	0.999 5	0.2
ZAN	$Y = 185\ 489.45X + 9\ 358$	0.5 ~ 50	0.999 7	0.2
α -ZOL	$Y = 118\ 201X + 28\ 939$	0.5 ~ 50	1.000	0.5
β -ZOL	$Y = 109\ 360X + 48\ 955$	0.5 ~ 50	0.999 5	0.5
α -ZAL	$Y = 188\ 131X + 18\ 047$	0.5 ~ 50	0.999 5	0.2
β -ZAL	$Y = 340\ 20X + 1\ 486$	0.5 ~ 50	0.999 5	0.2

2.3.2 基质效应 选取未检出目标真菌毒素的样品,按照“2.2.2”项方法制备阴性基质溶液和初始流动相溶液,按照“2.2.1”项方法分别用上述 2 种溶液制备系列浓度对照品溶液上机检测,结果表明,22 种真菌毒素的斜率比值均在 80% ~ 120% 范

围内,说明辅料样品用该方法检测的基质效应不明显。

2.3.3 加标回收试验 精密称取未检出目标真菌毒素的阴性样品 2 g,加入适量的混合对照品溶液,配制成低、中、高 3 个不同浓度水平,每个浓度

水平分别进行6次平行实验,按照“2.2.2”项下方法操作并上机检测。加标回收试验的平均回收

率结果及RSD如表3所示,22种真菌毒素的回收率在80.4%~118.2%,RSD在0.2%~8.8%。

表3 22种真菌毒素的加标回收结果

Tab.3 Recovery of 22 mycotoxins

成分 (component)	添加浓度 (added concentration)/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	回收率 (recovery)/%	RSD/ %	成分 (component)	添加浓度 (added concentration)/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	回收率 (recovery)/%	RSD/ %
AFB1	1	90.3	3.2	T-2	2.5	111.0	0.20
	2	89.1	4.5		5	109.5	2.0
	10	85.7	3.0		25	84.2	5.3
AFB2	2.5	113.0	1.9	HT-2	25	91.1	8.7
	5	106.7	7.3		50	100.5	2.5
	25	91.1	6.4		250	106.2	3.0
AFG1	1	85.1	3.3	DON	25	118.2	5.6
	2	87.4	2.5		50	116.0	4.9
	10	88.3	6.4		250	87.9	6.7
AFG2	2.5	81.2	1.3	3-A-DON	25	80.9	5.4
	5	102.6	7.9		50	83.2	4.7
	25	86.6	2.9		250	80.4	7.4
FB1	25	94.4	4.2	15-A-DON	25	83.8	7.5
	50	102.4	8.8		50	87.5	5.7
	250	85.6	7.2		250	82.6	8.4
FB2	25	85.3	2.0	ZEN	2.5	82.9	3.4
	50	94.2	2.1		5	87.1	2.6
	250	91.9	4.7		25	83.3	8.6
FB3	25	89.5	4.7	ZAN	2.5	109.5	6.4
	50	106.2	1.4		5	102.6	4.0
	250	84.6	8.4		25	81.3	7.1
OTA	1	88.4	5.6	α -ZOL	2.5	84.0	2.7
	2	88.7	2.5		5	80.9	2.0
	10	95.6	7.1		25	88.1	1.5
OTB	1	84.4	8.0	β -ZOL	2.5	99.7	4.2
	2	81.3	1.6		5	85.1	5.3
	10	89.5	5.7		25	83.7	4.5
OTC	1	87.1	4.4	α -ZAL	2.5	87.8	7.5
	2	92.2	5.1		5	93.0	4.2
	10	96.8	1.7		25	86.3	1.9
ST	2.5	82.1	7.4	β -ZAL	2.5	86.5	3.0
	5	96.2	4.2		5	96.0	5.1
	25	87.8	2.0		25	84.2	4.2

2.3.4 精密度试验 取 AFB1、AFG1、OTA、OTB、OTC 浓度为 $1\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、AFB2、AFG2、ST、T-2、ZEN、ZAN、 α -ZOL、 β -ZOL、 α -ZAL、 β -ZAL 浓度为 $2.5\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、FB1、FB2、FB3、HT-2、DON、3-A-DON、

15-A-DON 浓度为 $25\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合对照品溶液,按照“2.1”项下条件连续进样6次,22种真菌毒素峰面积的RSD均小于5.0%,表明仪器精密度良好。

2.3.5 稳定性试验 按“2.2.2”项下方法制成阴性

基质溶液,添加 AFB1、AFG1、OTA、OTB、OTC 浓度为 $1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、AFB2、AFG2、ST、T-2、ZEN、ZAN、 α -ZOL、 β -ZOL、 α -ZAL、 β -ZAL 浓度为 $2.5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、FB1、FB2、FB3、HT-2、DON、3-A-DON、15-A-DON 浓度为 $25 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合对照品溶液,于 0、2、4、8、16、24、36、48 h 进样,计算各成分峰面积的 RSD,结果 22 种真菌毒素的峰面积在 48 h 内 RSD 均小于 9.4%,表明 22 种真菌毒素在 48 h 内的稳定性良好。

2.4 样品测定

用所建立的方法,分别对 22 批玉米淀粉和 167 批糊精(玉米淀粉来源)样品进行检测。其中 22 批玉米淀粉中有 8 批检出 AFB1,含量在 $1.1 \sim 6.3 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$;有 4 批检出 FB1,含量在 $13.1 \sim 24.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$;有 10 批检出 FB2,含量在 $15.6 \sim 47.8 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$;有 26 批检出 ZEN,含量在 $6.5 \sim 136 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。167 批糊精中有 166 批检出 ZEN,含量在 $3.0 \sim 750 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。其他毒

素均未检出。

3 讨论

3.1 加和离子的选择

在 ESI 电离源下,正离子模式有些毒素加质子离子信号较弱,而结合金属离子信号较强,比如 $[\text{AFB1} + \text{H}]^+$ 响应为 1 824,而 $[\text{AFB1} + \text{Na}]^+$ 响应为 73 603; $[\text{AFB2} + \text{H}]^+$ 响应为 1 302,而 $[\text{AFB2} + \text{Na}]^+$ 响应为 24 757; $[\text{AFG1} + \text{Na}]^+$ 和 $[\text{AFG2} + \text{Na}]^+$ 响应依次为 58 495 和 64 087,而他们的 +H 信号检测不到; $[\text{T-2} + \text{H}]^+$ 响应为 3 832,而 $[\text{T-2} + \text{Na}]^+$ 响应为 115 504;负离子模式有些毒素 -H 信号较弱, +HCOO 信号较强,比如 $[\text{DON} - \text{H}]^-$ 响应为 1 268,而 $[\text{DON} + \text{HCOO}]^-$ 响应为 83 079; $[\text{3-A-DON} + \text{HCOO}]^-$ 和 $[\text{15-A-DON} + \text{HCOO}]^-$ 响应为 76 416,而他们的 -H 信号检测不到; $[\text{HT-2} + \text{HCOO}]^-$ 响应为 306 002,而 -H 信号检测不到,典型图谱如图 1。

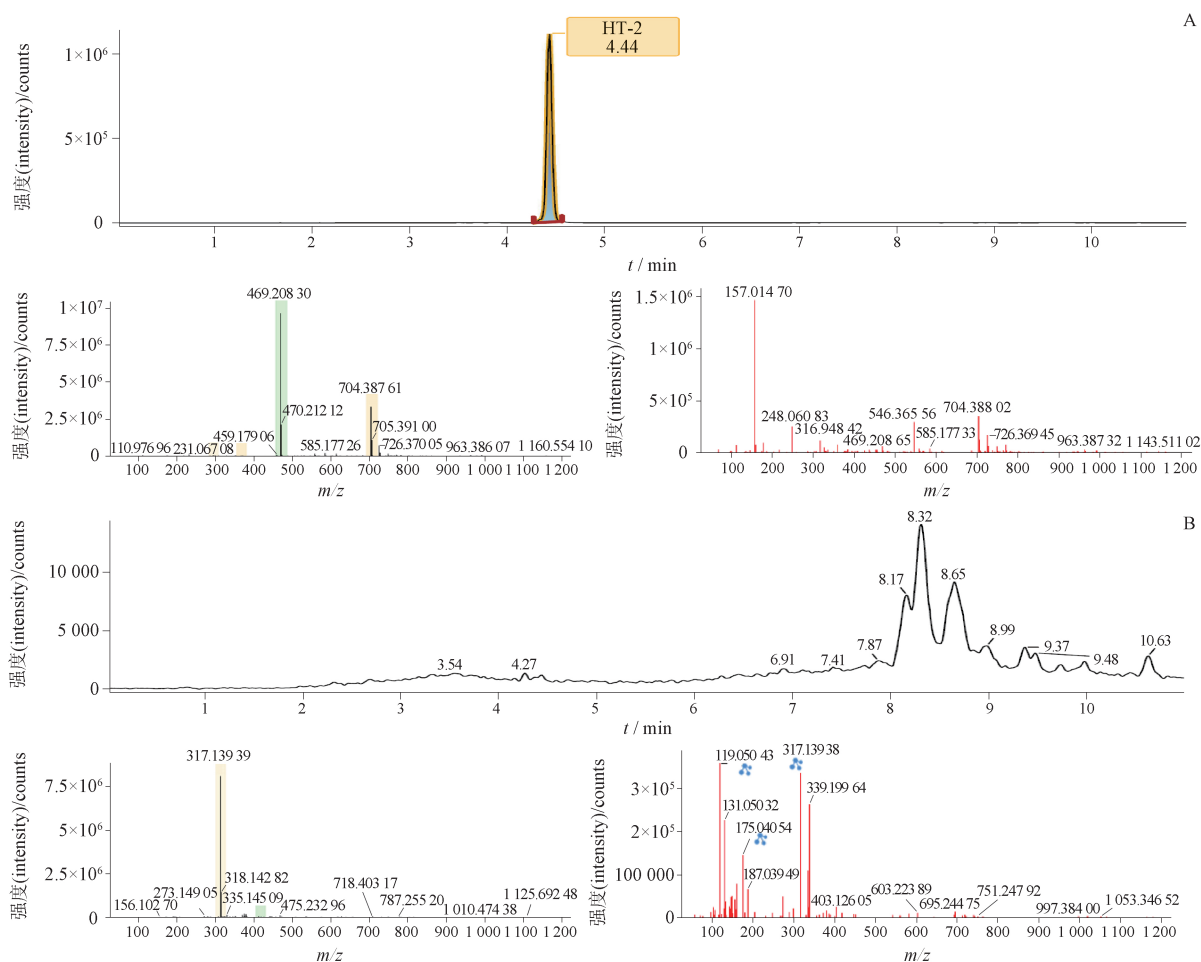


图 1 $[\text{HT-2} + \text{HCOO}]^-$ (A) 和 $[\text{HT-2} - \text{H}]^-$ (B) 谱图

Fig. 1 The MS spectra of $[\text{HT-2} + \text{HCOO}]^-$ (A) and $[\text{HT-2} - \text{H}]^-$ (B)

3.2 样品结果分析

目前我国尚无药用辅料真菌毒素限量标准,参照中国食品标准、《中国药典》中药标准和国外标准,《GB 2761-2017 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》^[17]中规定玉米制品中 AFB₁ 限量为 20 μg·kg⁻¹,《中国药典》(2020 年版)^[18]规定远志、大枣、肉豆蔻、决明子、麦芽等药材中 AFB₁ 限量为 5 μg·kg⁻¹,检测的玉米淀粉 AFB₁ 含量在 1.1~6.3 μg·kg⁻¹,有 1 批在 5~20 μg·kg⁻¹ 范围内。国际食品法典委员会(CAC)规定玉米粉和玉米面中伏马毒素限量为 2 000 μg·kg⁻¹^[19],欧盟规定玉米粉、玉米面、玉米粒等伏马毒素限量为 1 000 μg·kg⁻¹^[20],我们检测的 FB₁ 含量在 13.1~24.0 μg·kg⁻¹、FB₂ 在 15.6~47.8 μg·kg⁻¹,远低于标准规定。《GB 2761-2017 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》中规定玉米、玉米面(渣、片)中 ZEN 限量为 60 μg·kg⁻¹,欧盟规定粒径≤500 μm 的玉米粉及其他不直接供人类食用的粒径小于等于 500 μm 的玉米研磨制品的 ZEN 限量值为 300 μg·kg⁻¹,《中国药典》(2020 年版)规定薏苡仁 ZEN 不得过 500 μg·kg⁻¹,我们检测的糊精中 ZEN 含量在 3.0~750 μg·kg⁻¹,根据上述不同限量值,我们划分几个含量范围,具体见图 2,辅料中 ZEN 的污染情况需要持续监测。

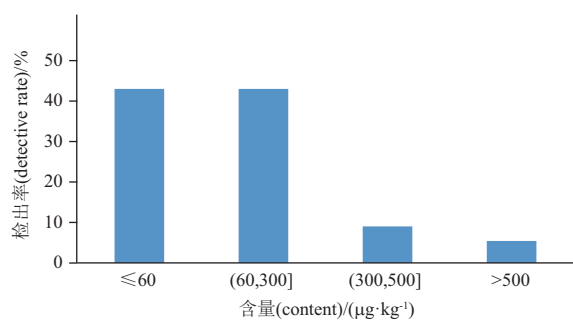


图 2 糊精 ZEN 检出含量分布

Fig. 2 Distribution of detected content of dextrin ZEN

4 结论

本实验建立了超高液相色谱-离子淌度飞行时间质谱检测药用辅料中 22 种真菌毒素的定性定量方法,该方法具有高灵敏度、高精确性、高精密度、高准确性、操作简便的特点,可用于药用辅料中多种真菌毒素污染监测及风险评估分析,为相关研究人员提供参考,为限量标准制定提供数据支撑。

参考文献

- [1] 李俊玲,王书舟,吴俊威,等. 河南省粮食及其制品中真菌毒素污染情况调查[J]. 中国食品卫生杂志, 2020, 32(4): 418
LI JL, WANG SZ, WU JW, *et al.* Investigation of mycotoxins in grain and its products in Henan Province[J]. Chin J Food Hygiene, 2020, 32(4): 418
- [2] 魏娜,岳晓凤,余秋玉,等. 西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
WEI N, YUE XF, YU QY, *et al.* Study on mycotoxin contamination and toxigenic fungi pollution of main crops in Tibet Plateau[J]. J Triticeae crops, 2020, 40(4): 510
- [3] 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
WU XX, LIN QJ, GUO CJ, *et al.* Analysis of limits, detection standards and risk assessment of mycotoxins in main grain and oil products at home and abroad[J]. J Chin Cereals Oils Assoc, 2019, 34(9): 130
- [4] 刘莹,王珮玥,刘雪平,等. 我国现行食品与饲料中真菌毒素限量及检测标准概述[J]. 中国酿造, 2014, 33(7): 10
LIU Y, WANG PY, LIU XP, *et al.* Review of current Chinese regulations of maximum residue levels and testing standard of mycotoxin in foods and feeds[J]. China Brewing, 2014, 33(7): 10
- [5] LÜ C, JIN J, WANG P, *et al.* Interaction of water activity and temperature on the growth, gene expression and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* on paddy and polished rice [J]. Food Chem, 2019, 293: 472
- [6] 张牧臣,郑楠,王加启. 食品中黄曲霉毒素 B₁ 污染研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(7): 312
ZHANG MC, ZHENG N, WANG JQ. Aflatoxin B₁ contamination in foods: a review[J]. Food Sci, 2018, 39(7): 312
- [7] 胡佳哲,赖宇红. 高效液相色谱-串联质谱法测定淀粉类药用辅料中 22 种真菌毒素的含量[J]. 中国药品标准, 2023, 24(4): 444
HU JZ, LAI YH. Determination of 22 mycotoxins in starch pharmaceutical excipients by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Drug Standards China, 2023, 24(4): 444
- [8] 覃冬杰,张鹏,钟文俊,等. QuEChERS-LC-MS/MS 法同时测定陈香露白露片中 10 种真菌毒素[J]. 中成药, 2022, 44(7): 2282
QIN DJ, ZHANG P, ZHONG WJ, *et al.* QuEChERS-LC-MS/MS method was used to determine 10 mycotoxins in Chenxianglu Bailu tablets[J]. Chin Tradit Patent Med, 2022, 44(7): 2282
- [9] 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
XU L, HUANG XJ, LUO X, *et al.* Simultaneous detection and

- risk assessment of 22 mycotoxins in Quisquite by UHPLC – MS/MS [J]. *Lishizhen Med Materia Medica Res*, 2021, 32(4):984
- [10] 胡佳哲,陈俏,曹雅静,等. 首批立法保护岭南中药材中真菌毒素的 LC – MS/MS 法检测[J]. *药物分析杂志*, 2020, 40(3): 477
- HU JZ, CHEN Q, CAO YJ, *et al.* The first legislation to protect the detection of mycotoxins in Lingnan traditional Chinese medicine by LC – MS/MS[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2020, 40(3):477
- [11] 沈立,汤燕,陈铁柱,等. 固相萃取液质联用测定川产道地药材黄精、麦冬中 10 种真菌毒素[J]. *药物分析杂志*, 2023, 43(8): 1369
- SHEN L, TANG Y, CHEN TZ, *et al.* Determination of 10 mycotoxins in Polygonati Rhizoma and Ophiopogonis Radix as a genuine regional drug of Sichuan by solid – phase extraction coupled with LC – MS/MS[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43(8):477
- [12] 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
- HU QR, CAO P, CONG ZX, *et al.* Rapid screening and confirmation of 20 mycotoxins in grain products by ultrahigh performance liquid chromatography – quadrupole/electrostatic field orbitrap high – resolution mass spectrometry[J]. *Chin J Chrom*, 2019, 37(11): 1241
- [13] NARVÁEZ A, RODRÍGUEZ – CARRASCO Y, IZZO L, *et al.* Target quantification and semi – target screening of undesirable substances in pear juices using ultra – high – performance liquid chromatography – quadrupole orbitrap mass spectrometry [J]. *Foods*, 2020, 9(7): 841
- [14] TOLOSA J, RODRÍGUEZ – CARRASCO Y, GRAZIANI G, *et al.* Mycotoxin occurrence and risk assessment in gluten – free pasta through UHPLC – Q – exactive orbitrap MS[J]. *Toxins*, 2021, 13(5): 305
- [15] 台湾质谱学会. 质谱分析技术与应用[M]. 北京: 科学出版社, 2019,1:161
- Taiwan Society for Mass Spectrometry. Principles and Applications of Mass Spectrometry[M]. Beijing: Science Press, 2019, 1:161
- [16] WINTER DL, MASTELLONE J, KABIR KMM, *et al.* Separation of isobaric mono – and dimethylatedrgg – repeat peptides by differential ion mobility – mass spectrometry[J]. *Anal Chem*, 2019, 91(18): 11827
- [17] GB 2761 – 2017 食品安全国家标准 – 食品中真菌毒素限量[S]. 2017
- GB 2761 – 2017 National Food Safety Standards – Mycotoxin Limit in Food[S]. 2017
- [18] 中华人民共和国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020: 23
- ChP 2020. Vol I [S]. 2020: 23
- [19] Codex Stan 193 – 2017 Codex General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed[S]. 2007
- [20] COMMISSION REGULATION (EC) No 1881 /2006 of 19 December 2006 Setting Maximum Levels for Certain Contaminants in Foodstuffs[S]. 2006

(本文于 2024 年 1 月 15 日收到)