

# LC-MS/MS 和 GICA 检测小麦中呕吐毒素 质量分数及分布规律

李小芳 张 嘉 刘丽强 李 丁 匡 华 胥传来 郭玲玲\*

(江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122)

**摘要:** 脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)通常被称为呕吐毒素, 主要由禾谷镰刀菌产生, 具有神经毒性、免疫毒性、胚胎毒性、致畸性和致癌性。DON 主要污染小麦, 不仅会导致小麦品质下降, 还会直接或间接危害人体健康。分别通过液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法和胶体金免疫层析(GICA)法检测小麦中的 DON 质量分数, 通过加标回收试验评估 2 种方法的准确度及稳定性, 2 种方法的回收率分别为 92.98%~97.43% 和 104.53%~108.92%, 且相对标准偏差(RSD)均小于 10%。分别用 2 种方法检测天然污染小麦加工后各部分的 DON 质量分数。磨粉加工后, 面粉与全麦粉中 DON 质量分数的平均比值为 0.56, 麸皮与全麦粉中 DON 质量分数的平均比值为 1.55。结果表明, 小麦经磨粉加工后, 面粉中 DON 质量分数与全麦粉相比显著降低, 而麸皮中 DON 质量分数与全麦粉相比显著升高, 因此小麦加工时将麸皮最大化分离可以有效降低面粉中 DON 质量分数。

**关键词:** 呕吐毒素; 小麦磨粉加工; 分布规律; 液相色谱-串联质谱; 胶体金试纸条; 胶体金免疫层析

## Determination of Mass Fraction and Distribution Pattern of Deoxynivalenol in Wheat by LC-MS/MS and GICA

LI Xiaofang ZHANG Jia LIU Liqiang LI Ding KUANG Hua  
XU Chuanlai GUO Lingling\*

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** Deoxynivalenol (DON), also known as vomitoxin, is produced by *Fusarium graminearum*. It is neurotoxic, immunotoxic, embryotoxic, teratogenic, and carcinogenic. DON mainly contaminates wheat, which not only leads to the quality deterioration of wheat but also jeopardizes the health of human beings directly or indirectly. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and gold immunochromatographic assay (GICA) were employed to determine the mass fraction of DON in wheat. The accuracy and stability of the two methods were evaluated by the spiked recovery test, and the recovery of the two methods was 92.98%~97.43% and 104.53%~108.92%, respectively, with the relative standard deviations (RSD) less than 10%. Then, the two methods were used to determine the mass fraction of DON in each part of naturally polluted wheat after processing. After milling and processing, the mass fraction ratio of DON in flour to whole wheat flour averaged 0.56, and that of DON in bran to whole wheat flour averaged 1.55. The results showed that the mass fraction of DON in flour was significantly lower than that in whole wheat flour after milling and processing of wheat, while the mass fraction of DON in bran was significantly higher than that in whole wheat flour. Therefore, the separation of bran from wheat after processing to the maximal

基金项目: 国家“十四五”重点研发计划项目(2020YFC1606804)。

通信作者: 郭玲玲(1988—), 女, 博士, 副研究员, 硕士研究生导师, 主要从事食品安全分析。E-mail: gling0329@jiangnan.edu.cn

收稿日期: 2023-08-20 修回日期: 2023-10-03

extent can effectively reduce the mass fraction of DON in flour.

**Keywords:** deoxynivalenol; wheat milling and processing; distribution pattern; LC-MS/MS; colloidal gold test strip; GICA

DON 属于单端孢霉烯族毒素,是禾谷镰刀菌繁殖过程中的次级代谢产物<sup>[1-2]</sup>。DON 性质稳定,耐热、耐酸、耐储藏,主要污染小麦、大麦、燕麦、玉米等谷物及其制品,同时在乳及乳制品、蛋中均有残留<sup>[3]</sup>。DON 具有神经毒性与免疫毒性,人类或牲畜摄入过量 DON 污染的食物时,会造成呕吐、腹痛腹泻、头痛头晕,甚至会导致死亡。同时, DON 还具有胚胎毒性、致畸性和致癌性,对人类及动物健康构成了巨大的威胁,被国际癌症研究机构(IARC)归为第 3 类致癌物质<sup>[4-7]</sup>。小麦作为人类三大主要食物来源之一,极易受到镰刀菌属等真菌污染<sup>[8-9]</sup>。在 2009—2011 年,欧洲、美洲和亚洲地区谷物的 DON 污染率达到 59%;在 2008—2009 年,饲料的 DON 污染水平为 1 670.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,污染发生率为 92.5%<sup>[10-11]</sup>。

鉴于 DON 的广泛污染性,世界上大部分国家或地区都制定了 DON 限量标准<sup>[12]</sup>。我国食品中 DON 的限量标准为 1 000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ;欧盟对食品中 DON 的限量为 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ;加拿大对食品中 DON 的限量为 600  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ;日本对 DON 的限量为 1 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ;美国和俄罗斯对 DON 的限量为 1 000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[13-14]</sup>。

目前 DON 的检测方法很多,主要包括理化检测和免疫学检测。理化检测包括高效液相色谱法(HPLC)<sup>[14]</sup>、液相色谱-质谱联用法(LC-MS)<sup>[15-17]</sup>等,这类方法检测限低、灵敏度高、定量准确、重现性好,但前处理复杂、检测时间长、操作复杂、所需试剂多。免疫学检测方法利用抗原抗体反应的原理,具有高通量快速检测的优点,主要包括酶联免疫吸附测定(ELISA)法<sup>[18]</sup>、胶体金免疫层析试纸条快速检测法<sup>[19]</sup>等,这类方法操作简单、特异性强、检测时间短、成本低,可以用于现场大量样品的检测,但其准确度和灵敏度与理化检测相比稍低<sup>[20-21]</sup>。

小麦中 DON 超标事件屡次发生,已成为关系粮食安全的重要问题。有研究表明,在小麦加工过程中 DON 质量分数会明显降低<sup>[22]</sup>,为了研究小麦加工过程中 DON 的具体流向,明确 DON 在麦粒中的分布特性,分别建立了用于检测小麦中 DON 质量分数的 LC-MS/MS 法和 GICA 法,并以

天然污染小麦为原料,经磨粉加工后,分别用 2 种方法检测小麦加工后各部分的 DON 质量分数,分析小麦加工前后 DON 的分布情况,为减少小麦加工制品中 DON 的污染提供思路,对保障人体健康具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

天然污染的小麦样品编号为 1、2、3、4、5; DON 标准品(CAS:51481-10-8):北京百灵威科技有限公司;无污染全麦粉:北京国家粮食和物资储备局科学研究院;样品垫、硝酸纤维素膜(NC 膜)、聚氯乙烯底板(PVC 底板)、吸水垫:上海金标生物科技有限公司;抗 DON 单克隆抗体及 DON 包被抗原:作者所在实验室制备;牛血清白蛋白、氯金酸、柠檬酸三钠、叠氮化钠( $\text{NaN}_3$ ):上海 Sigma-Aldrich 公司;羊抗鼠抗体 IgG:上海康成生物工程有限公司;其余试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

实验室小麦磨粉机:6FY-1820 型,四川盛新来机械设备有限公司;高速粉碎机:JFSD-70 型,上海嘉定粮油仪器有限公司;免疫亲和柱:BTR235Q 型,北京博尔西科技有限公司;磁力搅拌器:Eco-stir 型,北京大龙兴创实验仪器公司;氮吹仪:ND100-1 型,杭州瑞诚仪器有限公司;超纯水系统:Aquelix 5 型,上海默克密理博设备有限公司;超高效液相-三重四级杆复合线性离子阱质谱仪:5500 QTRAP 型,美国 SCIEX 公司;三维喷点平台:BioDot-XYZ3060 型,上海百道贸易有限公司;切条机:CM4000 型,上海百道贸易有限公司;手持式胶体金定量读数仪:GIC-H1 型,基因科技(上海)股份有限公司。

### 1.3 样品制备

取 1 kg 小麦用高速粉碎机全部粉碎过 20 目筛得到全麦粉。再取 1 kg 相同的小麦,润麦后用实验室小麦磨粉机磨粉,分别获得麸皮及面粉。麸皮继续用高速粉碎机粉碎后过 20 目筛得到麸皮粉,将全麦粉、麸皮粉、面粉分别混合均匀进行前处理操作<sup>[23]</sup>。

## 1.4 LC-MS/MS 法

### 1.4.1 标准样品配制

以甲醇为溶剂制备 1 mg/mL 的 DON 标准储备液,并用甲醇稀释制得 DON 标准中间液,质量分数分别为 1.0、10.0、100.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,于  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  避光保存。

### 1.4.2 色谱检测条件

ACQUITY BEH  $\text{C}_{18}$  色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm $\times$ 1.7  $\mu\text{m}$ ),柱温  $40\text{ }^\circ\text{C}$ ,流动相 A 为水,流动相 B 为乙腈,流量 0.3 mL/min,进样体积 2  $\mu\text{L}$ 。DON 梯度洗脱条件如表 1 所示。

表 1 DON 梯度洗脱条件

| 时间/<br>min | 流量/<br>(mL/min) | 流动相 A<br>体积分数/% | 流动相 B<br>体积分数/% |
|------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 0          | 0.30            | 95              | 5               |
| 1.00       | 0.30            | 95              | 5               |
| 6.00       | 0.30            | 5               | 95              |
| 7.00       | 0.30            | 5               | 95              |
| 7.10       | 0.30            | 95              | 5               |
| 10.00      | 0.30            | 95              | 5               |

### 1.4.3 质谱检测条件

采用负离子模式( $\text{ESI}^-$ );电喷雾电压(IS)  $-4\ 500\ \text{V}$ ;离子源温度(TEM)  $350.0\text{ }^\circ\text{C}$ ;碰撞室射入电压(EP)  $-10.0\ \text{V}$ ,碰撞室射出电压(CXP)  $-13.0\ \text{V}$ 。DON 质谱采集参数:保留时间为 3.32 min;去簇电压(DP)  $-80\ \text{V}$ ;母离子  $m/z$  为 294.94;定量离子  $m/z$  为 264.90,碰撞能量 16 V;定性离子 1 的  $m/z$  为 247.00,碰撞能量 26 V;定性离子 2 的  $m/z$  为 138.20,碰撞能量 16 V<sup>[24-25]</sup>。DON 的定量离子提取离子色谱图和总离子流图见图 1。

### 1.4.4 LC-MS/MS 法的标准曲线建立

取 1 mg/mL 的 DON 母液,分别配制 10、20、40、80  $\mu\text{g}/\text{L}$  的标准工作液,按照仪器条件进样。以 DON 标准工作液质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,建立 DON 标准曲线。

### 1.4.5 LC-MS/MS 法检测实际样品

分别称取 1 g 全麦粉、麸皮及面粉于 50 mL 离心管中,加入 20.0 mL 乙腈溶液(乙腈与水体积比 84:16),置于摇床上振荡 20 min,12 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,取 10 mL 于  $45\text{ }^\circ\text{C}$  下用氮气吹干,加入 5 mL 水溶解,待免疫亲和柱内原有液

体流尽后,取 1 mL 样液移入免疫亲和柱,待样液再次流尽后,分别用 5 mL PBS 缓冲液与 5 mL 超纯水先后淋洗免疫亲和柱,淋洗结束后,用 2 mL 甲醇洗脱,收集洗脱液,最后用 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜过滤<sup>[26-27]</sup>。收集滤液进样,得到样品峰面积,根据标准曲线方程计算实际样品中 DON 的质量分数。

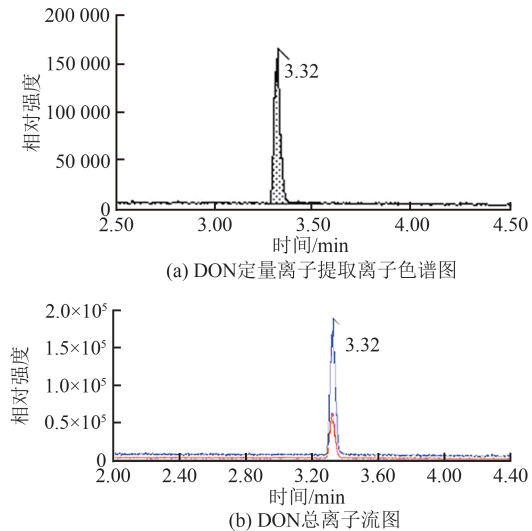


图 1 DON 定量离子提取离子色谱图和总离子流图

Fig. 1 Extracted ion chromatogram and total ion chromatogram of DON

## 1.5 GICA 法

### 1.5.1 胶体金合成

采用柠檬酸三钠还原法,先将 495 mL 超纯水加到三角烧瓶中,然后加入 5 mL 质量浓度为 4 g/L 的氯金酸溶液,用磁力搅拌器快速搅拌并加热至沸腾,迅速加入现配的 10 g/L 柠檬酸三钠溶液,持续磁力搅拌并加热至溶液颜色变为酒红色, $4\text{ }^\circ\text{C}$  保存备用<sup>[28]</sup>。

### 1.5.2 胶体金标记 DON 抗体

金纳米粒子与抗 DON 单克隆抗体通过静电相互作用进行标记,将抗体与 6 mL 金纳米粒子溶液混匀,用 0.1 mol/L 的  $\text{K}_2\text{CO}_3$  将溶液 pH 调至 8.0,轻微振荡 1 h。未结合抗体的金纳米粒子用 0.3 mL 质量浓度为 100 g/L 的 BSA 溶液阻断 2 h,然后将混合物于 8 000 r/min 离心 1 h,最后将底部金标抗体用 0.6 mL 缓冲液(包括 50 g/L 蔗糖、50 g/L PEG 6000、0.2 g/L  $\text{NaN}_3$ 、1 g/L 吐温、0.02 mol/L PBS, pH 7.4)复溶并在  $4\text{ }^\circ\text{C}$  保存备用<sup>[29-30]</sup>。

### 1.5.3 胶体金免疫层析试纸条组装

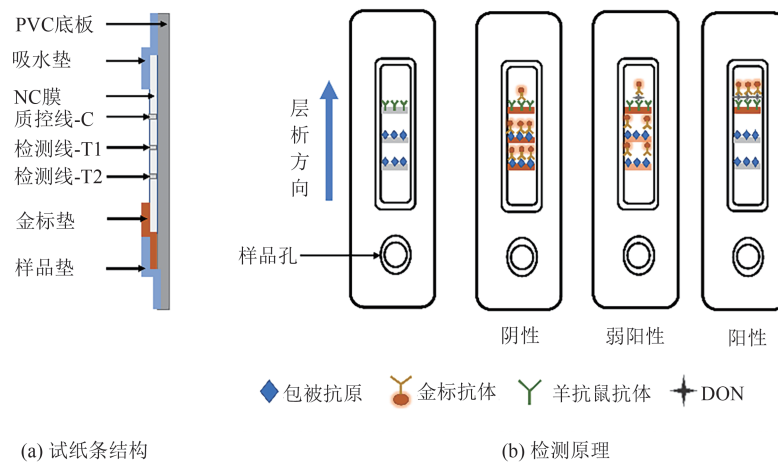
试纸条主要由 5 部分组成。PVC 底板在试纸

条最底部,吸水垫贴在 PVC 底板上端,NC 膜贴在 PVC 底板中间,金标垫贴在 NC 膜下端,样品垫贴在 PVC 底板下端,见图 2(a)。为了准确检测 DON 质量分数,设置了双检测线(T1 线和 T2 线)胶体金免疫层析试纸条,T1 线和 T2 线分别由 2 个不同质量浓度的包被抗原喷到 NC 膜下端构成,质控线(C 线)由羊抗鼠抗体喷到 NC 膜上端构成<sup>[31-32]</sup>。

#### 1.5.4 胶体金免疫层析试纸条检测原理

胶体金免疫层析试纸条是一种快速定性、定量检测技术,其检测原理是抗原与目标分析物竞争结合金标抗体。胶体金免疫层析试纸条检测原理如图 2(b)所示,样液滴加到样品孔后,沿 NC 膜

流向吸水垫,当样液流经金标垫时,金标抗体释放并与样液中目标分析物 DON 结合,剩余金标抗体被固定在 NC 膜上的包被抗原(T 线)捕获。当样液中含有目标分析物 DON 时,剩余金标抗体减少,被包被抗原捕获的量也相应减少,T 线颜色强度降低;而当样液中没有目标分析物时,释放的金标抗体都被包被抗原捕获,则 T 线上会出现清晰的红色条带,因此可以通过建立颜色强度与目标分析物质量浓度之间的线性关系进行定量分析。此外,固定在 C 线上的羊抗鼠抗体可同时捕获金标抗体以及与目标分析物结合的金标抗体,因此 C 线始终显示红色条带,否则视为无效。



(a) 试纸条结构

(b) 检测原理

图 2 胶体金免疫层析试纸条示意图

Fig. 2 Schematic diagram of the strip of gold immunochromatographic assay

#### 1.5.5 GICA 法的标准曲线建立

取 1 mg/mL 的 DON 母液,用 PBS 分别配制 0、5、10、20、40、80  $\mu\text{g/L}$  的标准工作液,分别取 100  $\mu\text{L}$  加入胶体金免疫层析试纸条的样品孔,孵育 15 min 后用试纸条读数仪读取 C 线、T1 线及 T2 线的显色强度值,以 DON 质量浓度为横坐标,以(T1 线显色强度值+T2 线显色强度值)/C 线显色强度值得到的  $Q_1$  值为纵坐标建立检测 PBS 中 DON 质量浓度的标准曲线。

#### 1.5.6 胶体金免疫层析试纸条检测判定

胶体金免疫层析试纸条可以进行定性和定量检测。实际样品检测时,在前处理将样品基质稀释 80 倍,此时基质效应对胶体金免疫层析试纸条的影响很小,因此可以直接用 PBS 中 DON 的标准曲线来检测实际样品中的 DON 质量分数。定性检测时,当试纸条 T1 线和 T2 线均与阴性样品有明

显色差时,样品中所含最低 DON 质量分数定义为肉眼可视最低检测限(vLOD);当试纸条 T1 线和 T2 线均消失时,样品中所含最低 DON 质量分数定义为消线值(cut-off)。定量检测时,将含有不同 DON 质量分数的试纸条用读数仪读取 T 线显色强度,根据标准曲线方程,计算样品的 DON 质量分数,将抑制阴性样品信号 10% 的 DON 质量分数定义为最低检测限(cLOD)。

#### 1.5.7 GICA 法检测实际样品

分别称取 1 g 全麦粉、麸皮及面粉于 15 mL 离心管中,加入 4 mL 甲醇溶液(甲醇与水体积比 70:30),12 000 r/min 离心 10 min,取 1 mL 上清液,用含 10 g/L ON-870 的 PBS 稀释液稀释 20 倍,取 100  $\mu\text{L}$  加入样品孔,孵育 15 min 后将试纸条插入试纸条读数仪,读取 C 线、T1 线及 T2 线的显色强度值,由标准曲线方程计算样品中 DON 质量分数<sup>[33]</sup>。



## 1.6 检测方法准确度判定

为评估 LC-MS/MS 法和 GICA 法的准确度及稳定性,对空白全麦粉进行 3 个水平(500、1 000、2 000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )的加标回收试验,每个添加质量分数分别用这 2 种方法检测,对比这 2 种检测方法的测量值、回收率及 RSD。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同检测方法的标准曲线及灵敏度

#### 2.1.1 LC-MS/MS 法的标准曲线

如图 3 所示,在 LC-MS/MS 法检测 DON 的标准曲线中,横坐标为 DON 质量浓度(10、20、40、80、160  $\mu\text{g}/\text{L}$ ),纵坐标为峰面积。此标准曲线方程为  $y = 1\,295.5x + 3\,504.6$ ,相关系数  $R^2 = 0.999\,2$ ,定量限(LOQ)为 2  $\mu\text{g}/\text{L}$ ,线性范围为 2~160  $\mu\text{g}/\text{L}$ 。实际样品中 DON 检测范围为 40~3 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

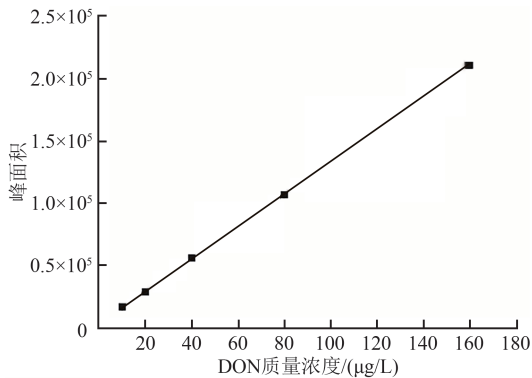


图 3 LC-MS/MS 检测 DON 的标准曲线

Fig. 3 Standard curve for the detection of DON by LC-MS/MS

#### 2.1.2 GICA 法的标准曲线

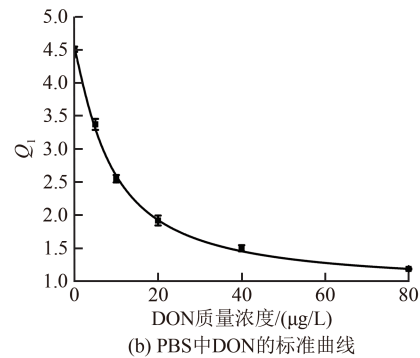
GICA 法可以定性和定量检测目标物。PBS 中 DON 的测定结果见图 4(a),当 DON 质量浓度大于 10  $\mu\text{g}/\text{L}$  时,裸眼可以看出试纸条有明显色差,当 DON 质量浓度大于 40  $\mu\text{g}/\text{L}$ ,裸眼可以看出 T 线消线,因此 GICA 法定性检测 PBS 中 DON 的 vLOD 和 cut-off 分别为 10  $\mu\text{g}/\text{L}$  和 40  $\mu\text{g}/\text{L}$ 。按照 1.5.5 的方法建立 PBS 中 DON 质量浓度的标准曲线。如图 4(b) 所示,标准曲线方程为  $y = 0.934 + 3.575 / (1 + (x/8.838)^{1.181})$ ,相关系数  $R^2 = 0.999\,3$ ,线性关系较好,cLOD 为 1.72  $\mu\text{g}/\text{L}$ ,线性范围为 2.73~28.60  $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

采用 GICA 法定性检测实际样品时,DON 的 vLOD 和 cut-off 分别为 800  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 3 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定性方法可以快速检测样品中的 DON 质量分数

是否大于 800  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。定量检测时,样品中 DON 质量分数是通过 PBS 中 DON 的标准曲线方程计算得出,实际样品中 DON 的 cLOD 为 137.60  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,检测范围为 218.40~2 288.00  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。



(a) PBS 中 DON 的测定结果



(b) PBS 中 DON 的标准曲线

图 4 GICA 检测 DON 的标准曲线

Fig. 4 Standard curve for the detection of DON by GICA

### 2.2 不同 DON 检测方法的比较

为了评估 LC-MS/MS 法和 GICA 法的性能,在空白全麦粉中分别添加 500、1 000、2 000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的 DON,分别用 LC-MS/MS 法和 GICA 法进行检测。如表 2 所示,LC-MS/MS 法和 GICA 法的 RSD 分别为 1.75%~3.17% 和 3.16%~5.22%,均小于 10%,表明 2 个检测方法比较稳定。LC-MS/MS 法和 GICA 法的回收率分别为 92.98%~97.43% 和 104.53%~108.92%,两者回收率范围均在 90%~110%,说明 2 个检测方法准确度高,具有可靠性。LC-MS/MS 法相较于 GICA 法的准确度更高,但是前处理比较复杂,所用试剂较多,且需要专业人员操作,价格比较昂贵,检测周期长,不适用于现场检测。虽然 GICA 法的灵敏度和准确度比 LC-MS/MS 法低,但是可以满足我国食品安全标准中 DON 的限量要求,并且 GICA 法检测速度快、试纸条及读数仪方便携带、检测成本低、不需

表 2 LC-MS/MS 法与 GICA 法的加标回收率与精密度 ( $n=5$ )  
Table 2 Spiked recovery and precision of LC-MS/MS and GICA ( $n=5$ )

| 添加质量分数/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | LC-MS/MS 法                      |       |       | GICA 法                          |        |       |
|------------------------------------|---------------------------------|-------|-------|---------------------------------|--------|-------|
|                                    | 测量值/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | 回收率/% | RSD/% | 测量值/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | 回收率/%  | RSD/% |
| 500                                | 479.67 $\pm$ 15.20              | 95.93 | 3.17  | 522.67 $\pm$ 20.66              | 104.53 | 3.95  |
| 1 000                              | 974.27 $\pm$ 17.04              | 97.43 | 1.75  | 1 089.20 $\pm$ 56.84            | 108.92 | 5.22  |
| 2 000                              | 1 859.67 $\pm$ 51.64            | 92.98 | 2.78  | 2 166.87 $\pm$ 68.45            | 108.34 | 3.16  |

要专业人员操作,且前处理步骤简单快速,可以减少工作人员接触有毒试剂的概率。当仅需判定待测样品中 DON 是否超标时,使用 GICA 法更便捷;当需出具检测报告时,应使用 LC-MS/MS 法。相较于 LC-MS/MS 法,GICA 法在小麦样品的 DON 抽检、大量样品筛查和现场监督方面具有更大优势,可以满足日益增长的粮食质量安全现场快速检测需求。

### 2.3 加工后各部分 DON 质量分数分析

全麦粉、麸皮及面粉中 DON 的质量分数见表 3。LC-MS/MS 法与 GICA 法检测的小麦加工过

程中各部分 DON 质量分数基本一致,进一步证实了 2 个检测方法的可靠性。全麦粉中 DON 质量分数为 796.41~2 180.56  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。比较制粉前后各部分中 DON 的质量分数可知,麸皮与全麦粉中 DON 质量分数的比值为 1.26~1.84,平均为 1.55;面粉与全麦粉中 DON 质量分数的比值为 0.40~0.73,平均为 0.56。小麦磨粉加工后,麸皮中 DON 质量分数升高,表明 DON 在小麦表皮中分布更多<sup>[34]</sup>。与全麦粉相比,面粉中 DON 质量分数降低,这与巩性涛等<sup>[22]</sup>的研究结果基本一致,表明磨粉加工是降低小麦中 DON 质量分数的有效措施。

表 3 小麦磨粉加工后麸皮和面粉中 DON 质量分数的比较  
Table 3 Comparison of DON mass fraction in bran and flour after milling

| 样品 | 检测方法       | 全麦粉                                      | 麸皮                                       | 比值   | 面粉                                       | 比值   |
|----|------------|--|--|------|--|------|
|    |            | DON 质量分数/<br>( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | DON 质量分数/<br>( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) |      | DON 质量分数/<br>( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) |      |
| 1  | LC-MS/MS 法 | 1 686.54                                 | 2 404.33                                 | 1.43 | 986.96                                   | 0.56 |
|    | GICA 法     | 1 726.25                                 | 2 616.39                                 | 1.52 | 1 038.86                                 | 0.60 |
| 2  | LC-MS/MS   | 796.41                                   | 1 082.00                                 | 1.36 | 408.24                                   | 0.51 |
|    | GICA 法     | 826.35                                   | 1 152.92                                 | 1.40 | 441.93                                   | 0.53 |
| 3  | LC-MS/MS   | 2 180.56                                 | 3 547.31                                 | 1.63 | 1 466.03                                 | 0.67 |
|    | GICA 法     | 2 063.45                                 | 3 256.40                                 | 1.58 | 1 380.09                                 | 0.67 |
| 4  | LC-MS/MS   | 1 213.12                                 | 1 558.25                                 | 1.28 | 840.09                                   | 0.69 |
|    | GICA 法     | 1 086.41                                 | 1 366.81                                 | 1.26 | 788.34                                   | 0.73 |
| 5  | LC-MS/MS   | 1 542.35                                 | 2 722.86                                 | 1.77 | 686.65                                   | 0.45 |
|    | GICA 法     | 1 334.23                                 | 2 456.34                                 | 1.84 | 531.74                                   | 0.40 |

注:比值为麸皮或面粉与全麦粉中 DON 质量分数的比值。

## 3 结论

为研究小麦加工过程中 DON 的分布规律,建立了 2 种 DON 检测方法并进行了比较,确定了不同检测方法的适用范围,其中 GICA 法更适用于市场快速检测以及大量样品的筛查。以天然污染小麦为原料,通过磨粉加工得到面粉及麸皮,分别用 LC-MS/MS 法及 GICA 法测定 DON 质量分数。天然污染的小麦通过磨粉加工分别得到副产物麸皮和

主要产物面粉,经检测,加工后麸皮中 DON 质量分数升高,而面粉中 DON 质量分数降低。制粉加工过程对各部分中 DON 质量分数有明显影响,因为 DON 的污染程度一般由外至里逐步降低。因此,通过磨粉加工可最大限度将小麦表层麸皮和胚乳分离,从而使较多 DON 集中在麸皮等副产物中,可以有效降低面粉中 DON 质量分数。今后需对 DON 质量分数变化机理进一步深入研究。

## 参考文献

- [1] 于小番,张琛,许慧卿,等. 处理方式对米根霉菌 *Rhizoctonia* 18 清除呕吐毒素的影响[J]. 食品与机械,2019,35(9):69-73,146.  
YU X F, ZHANG C, XU H Q, et al. Effect of treatment on the elimination of deoxynivalenol by *Rhizoctonia* 18[J]. Food & Machinery, 2019, 35(9): 69-73, 146. (in Chinese)
- [2] GAB-ALLAH M A, TAHOUN I F, YAMANI R N, et al. Natural occurrence of deoxynivalenol, nivalenol and deoxynivalenol-3-glucoside in cereal-derived products from Egypt[J]. Food Control, 2022, 137: 108974.
- [3] 季悦,杜雨乔,张颖,等. 免疫竞争比色传感用于测定小麦中呕吐毒素的方法研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(5): 138-144.  
JI Y, DU Y Q, ZHANG Y, et al. Determination of deoxynivalenol in grain by competitive immunoassay and colorimetric sensor[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(5): 138-144. (in Chinese)
- [4] 沈飞,刘潇,裴斐,等. ATR-FTIR 在小麦及其制品呕吐毒素污染水平快速测定中的应用[J]. 食品科学, 2019, 40(2): 293-297.  
SHEN F, LIU X, PEI F, et al. Rapid identification of deoxynivalenol contamination in wheat and its products by attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR)[J]. Food Science, 2019, 40(2): 293-297. (in Chinese)
- [5] 张东升,严艺琳,熊晓辉,等. 呕吐毒素时间分辨荧光免疫层析法的建立与评价[J]. 食品工业科技, 2018, 39(20): 233-239.  
ZHANG D S, YAN Y L, XIONG X H, et al. Establishment and evaluation of time-resolved fluorescence immunochromatographic assay for detecting deoxynivalenol [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(20): 233-239. (in Chinese)
- [6] 张颖,刘洪美,李丽,等. 基于金纳米棒金属化的呕吐毒素多色可视化检测方法研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(8): 187-194.  
ZHANG Y, LIU H M, LI L, et al. Multicolor visual detection of deoxynivalenol based on metallization of gold nanorods[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(8): 187-194. (in Chinese)
- [7] CHEN C, TURNA N S, WU F. Risk assessment of dietary deoxynivalenol exposure in wheat products worldwide: are new codex DON guidelines adequately protective? [J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 89: 11-25.
- [8] 唐语谦,刘晨迪,潘药银,等. 呕吐毒素降解微生物的研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2021, 40(6): 1-7.  
TANG Y Q, LIU C D, PAN Y Y, et al. Research progress on microbial degradation of deoxynivalenol[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2021, 40(6): 1-7. (in Chinese)
- [9] 蒋雪松,张斌,赵天霞,等. 小麦呕吐毒素污染可见/近红外光谱快速筛查方法研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2019, 39(12): 3904-3909.  
JIANG X S, ZHANG B, ZHAO T X, et al. Screening of DON contamination in wheat based on visible/near infrared spectroscopy [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2019, 39(12): 3904-3909. (in Chinese)
- [10] RODRIGUES I, NAEHRER K. A three-year survey on the worldwide occurrence of mycotoxins in feedstuffs and feed[J]. Toxins, 2012, 4(9): 663-675.
- [11] SANTOS R R, VERMEULEN S, HARITOVA A, et al. Isotherm modeling of organic activated bentonite and humic acid polymer used as mycotoxin adsorbents [J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2011, 28(11): 1578-1589.
- [12] 邵亮亮,杜京霖,盛林霞,等. 小麦中呕吐毒素的影响因素和污染特性分析[J]. 食品科学, 2021, 42(20): 316-323.  
SHAO L L, DU J L, SHENG L X, et al. Factors influencing of vomitoxin in wheat and its contamination characteristics [J]. Food Science, 2021, 42(20): 316-323. (in Chinese)
- [13] 吴丽华,赵胜娟,赵晶晶. 小麦中呕吐毒素含量与质量的关系及其在加工过程中的变化研究[J]. 粮油食品科技, 2021, 29(3): 157-162.  
WU L H, ZHAO S J, ZHAO J J. Relationship between vomiting toxin and quality in wheat and its changes during processing [J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2021, 29(3): 157-162. (in Chinese)
- [14] 赵佳. 小麦及其加工制品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇含量变化的研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2020.
- [15] FIBBY I, SOPEL M M, MICHLMAYR H, et al. Development and validation of an LC-MS/MS based method for the determination of deoxynivalenol and its modified forms in maize[J]. Toxins, 2021, 13(9): 600.
- [16] KAPPENBERG A, JURASCHEK L M. Development of a LC-MS/MS method for the simultaneous determination of the mycotoxins deoxynivalenol (DON) and Zearalenone (ZEA) in soil matrix[J]. Toxins, 2021, 13(7): 470.
- [17] 靳梦瞳,王建华,林善海,等. 室温下麦粒中脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON) 及其隐蔽型 (D3G) 毒素累积分析[J]. 食品工业科技, 2015, 36(17): 132-136, 141.  
JIN M T, WANG J H, LIN S H, et al. Analysis of deoxynivalenol (DON) and masked deoxynivalenol (D3G) accumulation in different treatment wheat grains at room temperature [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(17): 132-136, 141. (in Chinese)

- [18] 孙亚宁,李青梅,杨苏珍,等. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇单克隆抗体的制备及间接竞争ELISA方法建立[J]. 中国兽医学报,2021,41(4):689-696.  
SUN Y N, LI Q M, YANG S Z, et al. Preparation of monoclonal antibody against deoxynivalenol and establishment of indirect competitive ELISA [J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2021, 41(4): 689-696. (in Chinese)
- [19] MOKHTAR H E, XU A D, XU Y, et al. Preparation of monoclonal antibody against deoxynivalenol and development of immunoassays[J]. Toxins, 2022, 14(8):533.
- [20] 黄小林,李倩影,吴雨豪,等. 多重免疫层析试纸辅助食品安全快速检测的研究进展[J]. 食品与生物技术学报,2021,40(11):12-21.  
HUANG X L, LI Q Y, WU Y H, et al. Research progress of multiplex immunochromatographic test strips for rapid food safety detection[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2021, 40(11): 12-21. (in Chinese)
- [21] 赵赞,蔡伊娜,张存政,等. 基于比色和荧光双信号检测戊唑醇的免疫层析试纸条的构建[J]. 食品与生物技术学报,2022,41(1):36-43.  
ZHAO Y, CAI Y N, ZHANG C Z, et al. Fabrication of immunochromatography strip for tebuconazole based on colorimetric and fluorescent dual-signal detection [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2022, 41(1): 36-43. (in Chinese)
- [22] 巩性涛,王培,宋永泉,等. 小麦中呕吐毒素的分布规律及加工影响[J]. 粮食加工,2020,45(1):27-29.  
GONG X T, WANG P, SONG Y Q, et al. Distribution and processing effects of emetic toxin in wheat[J]. Grain Processing, 2020, 45(1): 27-29. (in Chinese)
- [23] 赵美凤,邵月亮,宁晖,等. 小麦在磨粉加工中呕吐毒素的含量和分布研究[J]. 粮食储藏, 2018, 47(3): 28-32.  
ZHAO M F, SHAO L L, NING H, et al. Study on the concentration and distribution of deoxynivalenol in wheat during milling processing[J]. Grain Storage, 2018, 47(3): 28-32.
- [24] 国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇及其乙酰化衍生物的测定:GB 5009.111—2016[S]. 北京:中国标准出版社,2017.
- [25] 封腾望,王新新,周锐东,等. 滤过型净化柱净化-超高效液相色谱-三重四极杆/复合线性离子阱质谱法测定草鱼中11种农药残留[J]. 农药学学报,2022,24(5): 1268-1277.  
FENG T W, WANG X X, ZHOU R D, et al. Determination of 11 pesticides residues in grass carp using ultra-performance liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry coupled with pass-through clean-up column [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2022, 24(5): 1268-1277. (in Chinese)
- [26] GAB-ALLAH M A, CHOI K, KIM B. Accurate determination of type B trichothecenes and conjugated deoxynivalenol in grains by isotope dilution-liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Food Control, 2021, 121: 107557.
- [27] LI W T, ZHAO L, ZHEN S, et al. Optimization of determination of deoxynivalenol in foods by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2019, 10(22): 7558-7563.
- [28] 孔德昭. 食品中真菌毒素抗体制备及其快速检测方法研究[D]. 无锡:江南大学,2017.
- [29] PAN M F, MA T Y, YANG J Y, et al. Development of lateral flow immunochromatographic assays using colloidal Au sphere and nanorods as signal marker for the determination of zearalenone in cereals[J]. Foods, 2020, 9(3):281.
- [30] LEI X L, XU X X, LIU L Q, et al. Rapid quantitative determination of fentanyl in human urine and serum using a gold-based immunochromatographic strip sensor [J]. Journal of Materials Chemistry B, 2020, 8(37):8573-8584.
- [31] WAN Y, SHI Z W, PENG G C, et al. Development and application of a colloidal-gold dual immunochromatography strip for detecting African swine fever virus antibodies[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2022, 106(2): 799-810.
- [32] LIN L, XU X X, SONG S S, et al. A multiplex lateral flow immunochromatography assay for the quantitative detection of pyraclostrobin, myclobutanil, and kresoxim-methyl residues in wheat [J]. Food Chemistry, 2022, 377: 131964.
- [33] HOU S L, MA J J, CHENG Y Q, et al. One-step rapid detection of fumonisin B<sub>1</sub>, deoxynivalenol and zearalenone in grains[J]. Food Control, 2020, 117: 107107.
- [34] TIBOLA C S, GUARIENTI E M, DIAS A R G, et al. Effect of debranning process on deoxynivalenol content in whole-wheat flours[J]. Cereal Chemistry, 2019, 96(4): 717-724.

(责任编辑:史润东东)