

高效液相色谱-荧光法检测咖啡及其制品中 3 种赭曲霉毒素

张迎周¹, 李艳美², 史华进³, 李芳², 李庆¹, 樊定艳¹, 陈曦^{*1}

(1.普研(上海)标准技术服务有限公司,上海 201318;2.伊宁海关技术中心,新疆 伊宁 835000;

3.赛默飞世尔科技(中国)有限公司,上海 201206)

摘要:通过前处理和液相色谱条件的优化,建立高效液相色谱-荧光检测咖啡及其制品中赭曲霉毒素 A、赭曲霉毒素 B 和赭曲霉毒素 C 含量的方法。样品经过 $V(1\% \text{碳酸氢钠水溶液}):V(\text{乙腈})=40:60$ 提取,赭曲霉毒素 A 免疫亲和柱富集净化,以 2% 乙酸水溶液-乙腈为流动相,采用梯度洗脱方式在 C_{18} 色谱柱分离,荧光检测法对 3 种赭曲霉毒素进行定性和定量分析。结果表明:赭曲霉毒素在 0.1~10.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内呈现良好的线性关系($R^2>0.999$),方法检出限均为 0.1 $\mu\text{g/kg}$,定量限均为 0.3 $\mu\text{g/kg}$,加标平均回收率为 88.6%~95.0%,相对标准偏差为 1.71%~3.15%。方法操作简单、灵敏度高、重现性好,适用于咖啡及其制品中赭曲霉毒素 A、赭曲霉毒素 B、赭曲霉毒素 C 含量的测定。

关键词:高效液相色谱;赭曲霉毒素 A;赭曲霉毒素 B;赭曲霉毒素 C;咖啡

中图分类号:O65 文献标识码:A 文章编号:0258-3283(2025)02-0079-06

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2024.0365

Determination of Three Ochratoxins in Coffee and its Products by High Performance Liquid Chromatography with**Fluorescence Detection** ZHANG Ying-zhou¹, LI Yan-mei², SHI Hua-jin³, LI Fang², LI Qing¹, FAN Ding-yan¹, CHEN Xi^{*1}

(1.GRA (Shanghai) Standard Technology Service Co., Ltd., Shanghai 201318, China; 2. Yining Customs Technology Center, Yining 835000, China; 3. Thermo Fisher Scientific (China) Co., Ltd., Shanghai 201206, China)

Abstract: A method for determining the content of ochratoxin A, ochratoxin B, and ochratoxin C in coffee and its products was established using high performance liquid chromatography-fluorescence detection. This method involved optimizing the pre-treatment and liquid chromatography conditions. The ochratoxins were extracted using $V(1\% \text{ sodium bicarbonate}):V(\text{acetonitrile})=40:60$ and then enriched and purified using ochratoxin A immunoaffinity column. The separation was achieved using a C_{18} chromatography column with a gradient elution consisting of 2% acetic acid aqueous solution-acetonitrile as the mobile phase. Three ochratoxins were analyzed using fluorescence detection. The results demonstrated a good linear relationship among three ochratoxins within 0.1~10.0 $\mu\text{g/L}$, with $R^2>0.999$. The limits of detection and the limits of quantification were 0.1 and 0.3 $\mu\text{g/kg}$, respectively. The average recovery rate of spiked samples ranged from 88.6% to 95.0%, and the relative standard deviation was in the range of 1.71%~3.15%. This method is simple, highly sensitive, and exhibits good reproducibility, making it suitable for the determination of ochratoxin A, ochratoxin B, and ochratoxin C in coffee and its products.

Key words: high performance liquid chromatography; ochratoxin A; ochratoxin B; ochratoxin C; coffee

赭曲霉毒素是由青霉素属和曲霉属的真菌所生的一组结构类似的次级代谢产物,主要包括赭曲霉毒素 A (Ochratoxin A, OTA)、赭曲霉毒素 B (Ochratoxin B, OTB) 和赭曲霉毒素 C (Ochratoxin C, OTC) 等至少 7 种结构类似的代谢产物^[1,2], OTA 是由二氢异香豆素的衍生物和 L- β -苯丙氨酸通过肽键连接形成的,OTB 和 OTC 分别是 OTA 的脱氯取代物和乙酯化物^[3],其中赭曲霉毒素毒性强弱依次是 OTA、OTC、OTB。赭曲霉毒素 A 具有肾毒性、肝毒性、致癌、致畸、致突变以及免疫毒性,世界卫生组织将其列为 2B 类可能致癌物^[4]。咖啡及其制品在生产、加工、贮藏过程中容易受到

霉菌的侵染,会产生赭曲霉毒素等多种真菌毒素。GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》^[5]中规定 OTA 的限量指标:烘焙咖啡中限量为 5.0 $\mu\text{g/kg}$ 、速溶咖啡中限量为 10.0 $\mu\text{g/kg}$ 。

赭曲霉毒素的检测方法有薄层色谱法^[6,7]、

收稿日期:2024-07-15;修回日期:2024-08-27

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2021D01A188)。

作者简介:张迎周(1987-),男,上海人,硕士,中级工程师,主要研究方向为食品检测。

通讯作者:陈曦,E-mail:xi.chen@gratech.com.cn。

液相色谱-串联质谱法^[8-11]、酶联免疫法^[12,13]、生物传感器法^[14-16]、液相色谱法^[17-21]。薄层色谱法设备简单、易于普及,但操作要求高,前处理繁琐,灵敏度和重现性不佳。液相色谱-串联质谱法灵敏度高、定性能力强,但设备成本高、仪器维护要求高,而且一般需要使用同位素内标,其价格较为昂贵。生物传感器法操作简单、灵敏度高,特异性好,但生物传感器对环境变化敏感,稳定性不佳。酶联免疫法简单易行,选择性强,样品前处理简单,但定量困难、重现性差,容易出现假阳性。液相色谱法具有相对较好定性和定量能力、检测结果准确、重现性好,是赭曲霉毒素常用的检测方法。

液相色谱法同时检测咖啡及其制品中 OTA、OTB 和 OTC 的文献尚未见报告,为了评估赭曲霉毒素总体污染水平,通过实验条件优化和方法学考察,建立前处理简单、灵敏度高、重现性好的分析方法,能够高效、准确地检测咖啡及其制品中 OTA、OTB、OTC 的含量。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Vanquish Core 型高效液相色谱仪(配有荧光检测器,美国 Thermo Fisher 科技公司);PE28 型 pH 计、ME55 型电子天平、ME303E 型电子天平(瑞士梅特勒托利多集团);SBEQ-CG1824 型固相萃取装置(上海安谱实验科技股份有限公司);24UV 型超纯水仪(美国 Millipore 公司);KQ5200E 型超声波发生器(昆山市超声仪器有限公司);SY-2000 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);WH-861 型涡旋混合器(太仓市华利达实验设备有限公司);LR10M 型离心机(湖南赫西仪器装备有限公司);赭曲霉毒素 A 免疫亲和柱(货号:R-Biopharm P119、P14,德国拜发公司)。

乙腈、甲醇(色谱纯,德国默克公司);乙酸、吐温 20、碳酸氢钠、氯化钠、氯化钾(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);磷酸二氢钾、磷酸氢二钠(分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司);玻璃纤维滤纸(直径 11 cm,孔径 1.6 μm ,无荧光特性英国 Whatman 公司);乙腈中 OTA、OTB、OTC 液体标准溶液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$,坛墨质检标准物质中心);实验室用水为超纯水(电阻率 $R \geq 18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$),通过美国密理博 Milli-Q 超纯水系统制取;咖啡及其制品来自实验室日常检测样本。

1.2 实验方法

1.2.1 实验试剂配制

PBS 缓冲溶液:精确称取 0.2 g 氯化钾、0.2 g 磷酸二氢钾、1.2 g 磷酸氢钠、8.0 g 氯化钠溶解于约 900 mL 水中,调至 pH 7.0,用水定容至 1 L;吐温 20 磷酸盐缓冲溶液:精确移取 1 mL 吐温 20 加入到 1 L PBS 缓冲溶液当中,混匀密封备用;1% 碳酸氢钠水溶液:精确称取 10 g 碳酸氢钠溶解于约 900 mL 水中,加水定容至 1 L; $V(1\% \text{ 碳酸氢钠水溶液}) : V(\text{乙腈}) = 40 : 60$;精确移取 400 mL 1% 碳酸氢钠溶液,用乙腈定容至 1 L;60% 乙腈水溶液:精确移取 600 mL 乙腈,用水定容至 1 L;80% 甲醇水溶液:精确移取 800 mL 甲醇,用水定容至 1 L;2% 乙酸水:移取 20 mL 乙酸至 980 mL 水中,混匀。

1.2.2 混合标准工作溶液配制

混合标准工作溶液:取 OTA、OTB、OTC 标准溶液,用初始流动相逐步稀释,混合标准工作溶液浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1.0、5.0、10.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

1.2.3 样品前处理

称取 5.0 g 样品于 50 mL 离心管中,加入 25 mL 提取液($V(1\% \text{ 碳酸氢钠水溶液}) : V(\text{乙腈}) = 40 : 60$),涡旋振荡 1 min,超声提取 30 min,4 000 r/min 离心 5 min,上清液经过玻璃纤维滤纸过滤,收集滤液。移取 5 mL 滤液于 50 mL 容量瓶中,加 PBS 缓冲溶液定容至刻度,混匀,待净化。

将上述待净化液体以约 1 滴/s 的流速通过免疫亲和柱,依次用 5 mL 吐温 20 磷酸盐缓冲液、5 mL 水淋洗免疫亲和柱,吹干水分;加入 4 mL 甲醇洗脱,收集甲醇洗脱液,使用旋转蒸发仪旋蒸干,加入 1 mL 初始比例流动相,过膜,待上机测试。

1.2.4 仪器条件

液相色谱条件:Agilent Proshell 120 EC- C_{18} (4.6 mm $\times$ 100 mm,2.7 μm);流速为 0.4 mL/min;进样量 50 μL ;柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$;荧光检测器激发和发射波长见表 1;流动相:A 为 2% 乙酸水溶液、B 为乙腈,梯度洗脱,洗脱程序见表 2。

表 1 荧光检测器波长条件

Tab.1 Wavelength conditions of fluorescence detector

t/min	Excitation wavelength/nm	Emission wavelength/nm	Sensitive
0	313	462	6
7.0	331	467	6
25.0	331	467	6

表 2 液相色谱洗脱程序

Tab.2 Elution program of liquid chromatography

t/min	A/%	B/%	t/min	A/%	B/%
0	50	50	21.0	5	95
10.0	50	50	21.1	50	50
20.0	5	95	25.0	50	50

2 结果与讨论

2.1 实验条件优化

2.1.1 荧光检测波长优化

参考 OTA 荧光检测激发波长和发射波长,优化 3 种赭曲霉毒素的荧光检测激发波长和发射波长。固定激发波长 331 nm,发射波长 400~500 nm,运行赭曲霉毒素混合标准工作溶液 10 μg/L,OTA、OTB、OTC 最佳发射波长分别为 467、462、467 nm。固定发射波长 467 nm,激发波长 300~350 nm,运行赭曲霉毒素混合标准工作溶液 10 μg/L,OTA、OTB、OTC 最佳激发波长分别为 331、313、331 nm。10 μg/L 赭曲霉毒素混合标准工作溶液按照上述色谱条件注入液相系统,色谱图如图 1 所示。

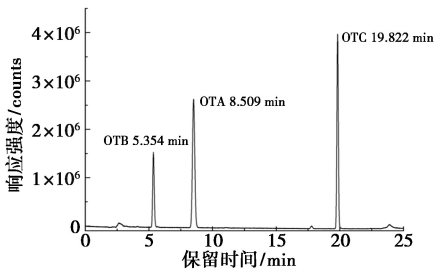


图 1 3 种赭曲霉毒素色谱图

Fig.1 Chromatogram of three ochratoxins

2.1.2 免疫亲和柱的选择

3 种赭曲霉毒素结构类似,赭曲霉毒素结构式如图 2 所示。使用 OTA 免疫亲和柱同时富集净化 OTA、OTB、OTC,验证其回收率,选择合适的 OTA 免疫亲和柱。

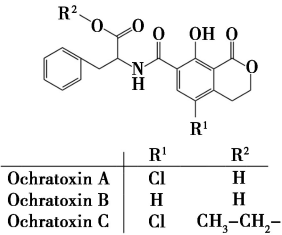


图 2 赭曲霉毒素结构式

Fig.2 Structural formula of ochratoxins

采用空白加标的方法对两种 R-Biopharm OTA

免疫亲和柱进行筛选,OTA、OTB、OTC 绝对加标量为 10 ng,按照上述试验方法进行前处理,加标回收率见表 3。从表 3 中可以看出,采用 R-Biopharm P119 免疫亲和柱时,3 种赭曲霉毒素回收率较高,相对标准偏差在 0.96%~1.19% 范围内,所以选择 R-Biopharm P119 免疫亲和柱进行后续试验。

表 3 空白样品中 3 种赭曲霉毒素的加标回收率和精密度

Tab.3 Spiking recoveries and precision of three

ochratoxins in blank samples (n=3)

Immunoaffinity column	OTA		OTB		OTC	
	Average recovery rate/%	RSD/%	Average recovery rate/%	RSD/%	Average recovery rate/%	RSD/%
R-Biopharm P14	95.7	1.52	92.5	1.06	89.5	1.40
R-Biopharm P119	94.1	0.96	93.4	1.19	97.4	1.13

2.1.3 洗脱液体积的确定

OTA 免疫亲和柱上赭曲霉毒素的洗脱效率直接影响检测结果的准确性,通过空白加标的方法考察洗脱液体积对 3 种赭曲霉毒素回收率的影响。OTA、OTB、OTC 绝对加标量 10 ng,在相同试验条件下,甲醇洗脱液体积分别为 2、3、4、5、6 mL 时,赭曲霉毒素回收率结果如图 3 所示。结果显示,洗脱液体积为 4 mL 时,3 种赭曲霉毒素的回收率均在 93.0% 以上,进一步增加洗脱液体积,赭曲霉毒素回收率无明显增加,因此洗脱液体积确定为 4 mL。

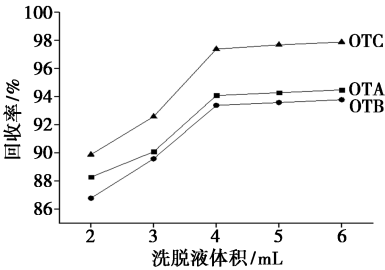


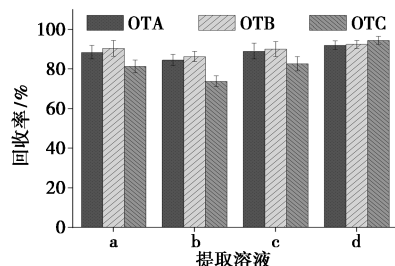
图 3 采用不同洗脱液体积时 3 种赭曲霉毒素的回收率

Fig.3 Recoveries of three ochratoxins on different elution volumes

2.1.4 提取溶液的选择

由于咖啡及其制品基质的复杂性以及 3 种赭曲霉毒素的极性差异,因此选择合适的提取溶液至关重要^[22]。选择 60%乙腈水、80%甲醇水、1%碳酸氢钠水溶液和 V(1%碳酸氢钠水溶液):V(乙腈)=40:60 溶液 4 种提取溶液,称取 5.0 g 烘焙咖啡阴性样品,加标水平 1 μg/kg 进行 6 次平行

试验,结果见图 4。结果显示, $V(1\%$ 碳酸氢钠水溶液) $:V(\text{乙腈})=40:60$ 作为提取溶液时,3 种赭曲霉毒素的回收率最好,因此选择 $V(1\%$ 碳酸氢钠水溶液) $:V(\text{乙腈})=40:60$ 作为赭曲霉毒素的提取溶液。



a.60%乙腈水溶液;b.80%甲醇水溶液;c.1%碳酸氢钠水溶液;
d. $V(1\%$ 碳酸氢钠水溶液) $:V(\text{乙腈})=40:60$

图 4 采用不同提取溶液时 3 种赭曲霉毒素的回收率

Fig.4 Recoveries of three ochratoxins on different extraction solution

2.2 方法学考察

2.2.1 标准曲线、检出限及定量限

配制不同浓度赭曲霉毒素标准工作溶液进样分析,赭曲霉毒素峰面积(Y)为纵坐标,浓度(X)为横坐标,绘制标准工作曲线,建立回归方程。结果表明赭曲霉毒素在 $0.1 \sim 10 \mu\text{g/L}$ 线性关系良好,相关系数 R^2 均大于 0.999。以 3 倍和 10 倍信噪比分别计算方法的检出限和定量限,得到 3 种赭曲霉毒素的检出限和定量限均为 $0.1, 0.3 \mu\text{g/kg}$,结果见表 4。

2.2.2 方法回收率和精密度

以烘焙咖啡阴性样品进行 4 个水平赭曲霉毒素加标回收试验,加标水平分别为 $0.1, 0.3, 1.0$ 和 $5.0 \mu\text{g/kg}$,每个水平进行 6 次平行试验,回收率和精密度结果见表 5,3 种赭曲霉毒素加标回收率为 $88.6\% \sim 95.0\%$,相对标准偏差在 $1.71\% \sim 3.15\%$ 范围内,这些值均在 GB 5009.295—2023 标准方法中正确度和精密度要求限量范围内^[23]。

表 6 食品中赭曲霉毒素不同检测方法的比较

Tab.6 Comparison of different detection methods for ochratoxin in food

Sample matrix	Analyte	Analytical technique	Pretreatment method	LOD	LOQ	Recovery/%	Precision/%	Reference
Wine	OTA, OT α	LC-MS/MS	SPE	$0.1 \mu\text{g/kg}$	$0.35 \mu\text{g/kg}$	$88.6 \sim 108.0$	$2.1 \sim 9.2$	[8]
Wine	OTA	DART-MS/MS	QuEChERS	—	$0.5 \mu\text{g/kg}$	$88.7 \sim 105.7$	$8.5 \sim 12.8$	[9]
Rapeseed, Flaxseed	OTA	LC-MS/MS	Mycotoxin multifunctional purification column, MFC	$0.2 \mu\text{g/kg}$	$0.6 \mu\text{g/kg}$	$65.0 \sim 85.1$	$7.6 \sim 8.9$	[11]
Chinese medicinal materials and its products	OTA	ELISA	IAC	0.2 ng/g	0.4 ng/g	75.9	—	[12]

表 4 3 种赭曲霉毒素的线性回归方程、相关系数(R^2)、检出限和定量限

Tab.4 Linear regression equations, correlation coefficients (R^2), limits of detection, and limits of quantification of three ochratoxins

Compound	Linear range/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	Linear equation	Correlation coefficient R^2	Limits of detection/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	Limits of quantification/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
OTA	$0.1 \sim 10$	$Y = 57\,560X + 1\,224$	0.999 7	0.1	0.3
OTB	$0.1 \sim 10$	$Y = 22\,688X + 1\,135$	0.999 6	0.1	0.3
OTC	$0.1 \sim 10$	$Y = 55\,186X + 1\,500$	0.999 9	0.1	0.3

表 5 回收率和精密度实验结果

Tab.5 Results of recoveries and precision

Compound	Spiked amount/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	Average measured value/($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	Average recovery/%	RSD/%
OTA	0.1	0.089 4	89.4	3.09
	0.3	0.272	90.7	2.80
	1.0	0.921	92.1	2.12
	5.0	4.65	92.9	2.06
OTB	0.1	0.088 6	88.6	2.96
	0.3	0.269	89.7	3.15
	1.0	0.925	92.5	2.02
	5.0	4.66	93.2	1.90
OTC	0.1	0.090 4	90.4	3.07
	0.3	0.281	93.7	2.52
	1.0	0.945	94.5	2.03
	5.0	4.75	95.0	1.71

2.3 与其他方法比较

食品中赭曲霉毒素的检测方法有很多,其中常用的有酶联免疫法^[12]、液相色谱串联质谱法^[3,8,9,11]、液相色谱-荧光检测法^[3,17,19,22],3 种方法进行比较,结果见表 6。通过检出限、定量限、回收率、精密度对比发现,本文方法具有灵敏度高、准确度和精密度好等优点,适合咖啡及其制品中 3 种赭曲霉毒素的测定。

续表

Sample matrix	Analyte	Analytical technique	Pretreatment method	LOD	LOQ	Recovery/%	Precision/%	Reference
Red wine	OTA、OTB、MeOTA、OTC	HPLC-FLD	IAC	0.16~0.32 ng/L	0.50 ng/L	73.4~93.5	—	[17]
Cereal	OTA	HPLC-FLD	IAC	0.24 μg/kg	—	80.1~106.9	2.4~8.2	[19]
Roasted coffee	OTA	HPLC-FLD	LLE-IAC	—	1.0 ng/g	74.1~78.0	5.2~9.6	[22]
Wine	OTA、OTB、OTC	HPLC-FLD、HPLC-MS/MS	QuEChERS	—	2.0 μg/kg	74.5~120	2.01~7.52	[3]
Coffee and its products	OTA、OTB、OTC	HPLC-FLD	IAC	0.1 μg/kg	0.3 μg/kg	88.6~95.0	1.71~3.15	This work

2.4 实际样品测试

选取 42 份咖啡及其制品按照试验建立方法进行赭曲霉毒素测试分析,测试结果见表 7。从表中可以看出,1 份烘焙咖啡样品 OTA 含量 7.84 μg/kg,超出烘焙咖啡中 OTA 限量指标,11 份样品 OTA 有检出,5 份样品 OTB 有检出,OTA 含量在 1.0 μg/kg 以上的样品往往 OTB 有检出,OTC 测试含量均小于检出限,表明咖啡及其制品中 OTC 污染的概率较低。Wongworapat 等^[24]采用高效液相色谱法测定越南、泰国烘焙咖啡和速溶咖啡中 OTA 和 OTB 的含量,OTA 阳性值和阳性率均大于 OTB,越南烘焙咖啡中 OTA>0.6 μg/kg 的样品往往含有 OTB,也是首次报道咖啡中存在 OTB 污染,这与本文建立分析方法测试实际样品的结果类似。

表 7 咖啡及其制品中 3 种赭曲霉毒素的检测结果^注
Tab.7 Detection results of three ochratoxins in coffee and its products

Coffee and its products	OTA/(μg·kg ⁻¹)	OTB/(μg·kg ⁻¹)	OTC/(μg·kg ⁻¹)
Roasted coffee-1	<LOD ¹⁾	<LOD	<LOD
Roasted coffee-2	7.84	1.57	<LOD
Roasted coffee-3	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-4	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-5	0.50	<LOD	<LOD
Roasted coffee-6	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-7	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-8	0.55	<LOD	<LOD
Roasted coffee-9	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-10	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-11	0.76	<LOD	<LOD
Roasted coffee-12	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-13	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-14	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-15	2.57	1.04	<LOD
Roasted coffee-16	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-17	<LOD	<LOD	<LOD

续表

Coffee and its products	OTA/(μg·kg ⁻¹)	OTB/(μg·kg ⁻¹)	OTC/(μg·kg ⁻¹)
Roasted coffee-18	1.71	0.15	<LOD
Roasted coffee-19	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-20	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-21	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-22	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-23	0.46	<LOD	<LOD
Roasted coffee-24	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-25	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-26	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-27	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-28	1.21	0.29	<LOD
Roasted coffee-29	<LOD	<LOD	<LOD
Roasted coffee-30	0.42	<LOD	<LOD
Instant coffee-1	<LOD	<LOD	<LOD
Instant coffee-2	<LOD	<LOD	<LOD
Instant coffee-3	1.01	0.12	<LOD
Instant coffee-4	<LOD	<LOD	<LOD
Instant coffee-5	<LOD	<LOD	<LOD
Instant coffee-6	<LOD	<LOD	<LOD
Instant coffee-7	0.19	<LOD	<LOD
Instant coffee-8	<LOD	<LOD	<LOD
Instant coffee-9	<LOD	<LOD	<LOD
Instant coffee-10	<LOD	<LOD	<LOD
Instant coffee-11	<LOD	<LOD	<LOD
Instant coffee-12	<LOD	<LOD	<LOD
阳性平均值/(μg·kg ⁻¹)	OTA:1.56;OTB:0.63;OTC:<LOD		
阳性检出数/份	OTA:11 份;OTB:5 份;OTC:0 份		

注:1) 小于检出限。

3 结论

建立免疫亲和-高效液相色谱-荧光检测法检测咖啡及其制品中 OTA、OTB 和 OTC 含量的方法,OTA 免疫亲和柱同时富集净化样品中 3 种赭曲霉毒素。方法学验证结果表明,检出限和定量限低,准确度和精密度高,方法操作简单、净化效

果佳,适用于咖啡及其制品中 3 种赭曲霉毒素的定性和定量分析,对 42 份咖啡及其制品进行检测,OTA 阳性值和阳性率大于 OTB,OTC 均是未检出。后续使用本文方法分析批量样品,全面监控咖啡及其制品中赭曲霉毒素污染水平,为制定 3 种赭曲霉毒素限量指标提供参考依据。

参考文献:

- [1] Gao J, Liu H Q, Zhang Z Z, Liang Z H. *Microbiol. China*, 2023, **50**(3): 1 265-1 280.
高婧,刘惠卿,张真真,梁志宏.微生物学通报,2023, **50**(3): 1 265-1 280.
- [2] Malir F, Ostry V, Pfohl-leszkowicz A, Malir J, Toman J. *Toxins*, 2016, **8**(7): 191.
- [3] Liu Q, Pang S Q, Xiong X, He S M, Chen W R, Zhang G W. *Chin. J. Food Hygiene*, 2018, **30**(5): 481-486.
刘青,庞世琦,熊欣,何素媚,陈文锐,张广文.中国食品卫生杂志,2018, **30**(5): 481-486.
- [4] Wu F Q, Yue Z F, Zhang Y, Huang Y X, Wen J L. *Chin. J. Chromatogr.*, 2020, **38**(7): 759-767.
吴凤琪,岳振峰,张毅,黄远祥,温景岚.色谱,2020, **38**(7): 759-767.
- [5] GB 2761—2017. Beijing: Standards Press of China, 2017-03-17.
GB 2761—2017. 北京: 中国标准出版社, 2017-03-17.
- [6] Jiang C Y, Hu H X, Zhao J J, Li Y. *J. Guizhou Norm. Univ., Nat. Sci.*, 2023, **41**(4): 58-63.
蒋彩云,胡海祥,赵津津,李琰.贵州师范大学学报(自然科学版),2023, **41**(4): 58-63.
- [7] Nesheim S. *J. Aoac. Int.*, 1973, **56**: 822-826.
- [8] Chen D, Xin S Y, Liu P, Li B, Fan S, Zhao R, Wang Z. *J. Hygiene Res.*, 2019, **48**(4): 646-650.
陈东,辛爽英,刘平,李兵,范赛,赵榕,王正.卫生研究,2019, **48**(4): 646-650.
- [9] Gong X M, Ma R H, Wang H T, Guo L Q, Li K, Wu Z X, Zhao H, Sun J. *Chin. J. Chromatogr.*, 2017, **35**(2): 185-190.
宫小明,马荣桢,王洪涛,郭礼强,李凯,吴振兴,赵晗,孙军.色谱,2017, **35**(2): 185-190.
- [10] Zhang K. *Toxins*, 2021, **13**(8): 547-547.
- [11] Ding X Y, Shao R T, Zhang H L. *Food Sci.*, 2022, **43**(24): 325-334.
- 丁学妍,邵瑞婷,张涵璐.食品科学,2022, **43**(24): 325-334.
- [12] Zhang Y Z, Zhang X Z, Yuan Y W, Zhang W. *Food Sci.*, 2024, **45**(10): 257-264.
张蕴哲,张先舟,袁耀武,张伟.食品科学,2024, **45**(10): 257-264.
- [13] Sun Z C, Wang X R, Tang Z W, Chen Q, Liu X. *Ecotox. Environ. Safe.*, 2019, **171**: 382-388.
- [14] Mao W W, Wei X H, You J K, Zhang H Y. *Chem. Commun.*, 2020, **83**(12): 1 081-1 088.
毛伟伟,魏小红,尤金坤,张红艳.化学通报,2020, **83**(12): 1 081-1 088.
- [15] Lv L R, Wang X Y. *J. Agric. Food Chem.*, 2020, **68**(17): 4 769-4 787.
- [16] Liu W, Zhang Y Z, Yang Q, Fan S H, Tian Y L, Zhang W. *J. Chin. Inst. Food Sci. Technol.*, 2024, **24**(1): 232-241.
刘伟,张蕴哲,杨倩,范少华,田益玲,张伟.中国食品学报,2024, **24**(1): 232-241.
- [17] Remiro R, Ibáñez-vea M, González-peñas E, Lizarraga E. *J. Chromatogr. A*, 2010, **1 217**(52): 8 249-8 256.
- [18] Ruan C Q, Diao X, Li N, Zhang H, Pang Y, Liu C L, . *Anal. Methods*, 2016, **8**(7): 1 586-1 594.
- [19] Xie G, Li L, Li R, Wang S X, Wang S. *J. Chin. Cereals Oils Assoc.*, 2019, **34**(6): 114-119.
谢刚,李丽,黎睿,王松雪,王硕.中国粮油学报,2019, **34**(6): 114-119.
- [20] Zhao X B, Yuan Y H, Zhang X L, Yue T L. *Food Control*, 2014, **46**: 332-337.
- [21] Remiro R, Irigoyen A, González-peñas E, Lizarraga E, López C A. *Food Control*, 2013, **32**(1): 63-68.
- [22] Fan X, Chu Q H, Zhou Y, Chen D, Wang M, Wang X, Shen J Y, Yong K L. *Phys. Test. Chem. Anal. Part B*, 2008, **44**(8): 736-739.
樊祥,褚庆华,周瑶,陈迪,王敏,王雄,沈建英,雍克岚.理化检验(化学分册),2008, **44**(8): 736-739.
- [23] GB 5009.295—2023. Beijing: Standards Press of China, 2023-09-06.
GB 5009.295—2023. 北京: 中国标准出版社, 2023-09-06.
- [24] Wongworapat K, Ho T H M, Soontornjanagit M, Kawamura O. *Jsm Mycotoxins*, 2016, **66**(1): 1-6.