

崔晓娜, 郭礼强, 葛爱民, 等. QuEChERS - 高效液相色谱 - 四级杆飞行时间质谱同时测定饲料中 17 种霉菌毒素[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(3): 177 - 181.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.03.046

# QuEChERS - 高效液相色谱 - 四级杆飞行时间质谱同时测定饲料中 17 种霉菌毒素

崔晓娜<sup>1</sup>, 郭礼强<sup>2</sup>, 葛爱民<sup>1</sup>, 李 舫<sup>1</sup>

(1. 山东畜牧兽医职业学院, 山东潍坊 261061; 2. 潍坊出入境检验检疫局, 山东潍坊 261041)

**摘要:**建立同时检测饲料中黄曲霉毒素( $B_1$ 、 $B_2$ 、 $G_1$ 、 $G_2$ )、赭曲霉毒素 A、T-2 毒素、HT-2 毒素、橘青霉素、蛇形菌素、疣孢青霉原、新茄镰孢菌醇、O-甲基杂色曲霉素、杂色曲霉素、青霉酸、环匹阿尼酸、伏马菌素( $B_1$ 、 $B_2$ )等 17 种霉菌毒素的 QuEChERS(quick, easy, cheap, effective, rugged, safe, 简称 QuEChERS) - 高效液相色谱 - 四级杆飞行时间质谱(high performance liquid chromatography - quadrupole - time of flight mass spectrometry, 简称 HPLC - Q - TOF/MS)检测方法。待测样品经乙腈水溶液(含 1% 甲酸)提取, 采用 QuEChERS 方法净化后, 以 0.1% 甲酸水溶液和乙腈为流动相, 经 ACQUITY UPLC BEH  $C_{18}$  色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7  $\mu$ m)分离, 结合建立的 17 种霉菌毒素的标准谱图库, 在多反应监测模式进行分析, 采用外标法定量。该方法在 1.0 ~ 200.0  $\mu$ g/L 范围内呈线性, 相关系数均大于 0.990, 检出限在 0.5 ~ 3.0  $\mu$ g/kg 之间, 定量下限在 1.0 ~ 10.0  $\mu$ g/kg 之间。该方法简便、准确、灵敏、有效, 可适用于饲料中 17 种霉菌毒素的残留检测。

**关键词:**饲料; QuEChERS; 霉菌毒素; 高效液相色谱 - 四级杆飞行时间质谱; 残留检测

**中图分类号:** S816.17 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)03-0177-04

霉菌毒素对人和动物是有害的, 是霉菌在被污染的食品或饲料中产生的有毒代谢产物, 其不仅会对粮食、饲料等产生严重的污染, 引起人、畜中毒或死亡, 而且有些霉菌毒素还具有“三致”作用, 严重危害了人畜的健康。霉菌毒素的污染主要来自农作物、饲料、食品的生产、加工及储存等各个环节<sup>[1-2]</sup>。已发现的霉菌毒素约有 300 种<sup>[3]</sup>, 其中只有极少一部分被常规监管及残留监控。因此, 评估和筛查常用霉菌毒素在饲料及农产品中的残留, 对维护畜牧养殖业的健康发展及保护消费者的健康具有积极意义。

目前, 在对多种霉菌毒素同时检测的方法中以液相色谱法<sup>[4-5]</sup>和液相色谱 - 质谱法<sup>[6-9]</sup>为常用的检测方法, 但因其选择性差, 很难对多种毒素同时检测, 且灵敏度也达不到要求。液相色谱 - 质谱法方法的选择性好, 操作简单省时, 尤其是四极杆 - 飞行时间质谱属于高分辨质谱, 具有质量范围广、高通量、高质量精度和分辨率、分析全面等优点, 可根据毒素准分子离子的精确分子质量对其进行定性推导, 显著提高了复杂基质下的抗干扰能力, 而质谱获得的全扫描谱图可以用于建立化合物质谱数据库, 因此, 可以在不使用标准品的情况

下通过已有数据库的信息对未知样品中的化合物进行定性判断<sup>[10-12]</sup>。目前, 国内利用高效液相色谱 - 四极杆飞行时间质谱筛查饲料中霉菌毒素的报道较少, 但该方法开发利用具有良好的应用前景。因此, 本研究选择易污染粮谷饲料的常见产毒霉菌代谢物为研究对象, 建立 17 种霉菌毒素的一级和二级谱库, 并采用 QuEChERS(quick, easy, cheap, effective, rugged, safe, 简称 QuEChERS)前处理提取方法, 结合谱库检索建立饲料中 17 种霉菌毒素的快速高效液相色谱 - 四级杆飞行时间质谱(high performance liquid chromatography - quadrupole - time of flight mass spectrometry, 简称 HPLC - Q - TOF/MS)测定方法, 以期为企业及监管部门提供有效的技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

Agilent 1290-6530 高效液相色谱 - 飞行时间质谱仪, 配电喷雾离子源(electrospray ionization, 简称 ESI), 购自美国 Agilent 公司; 5810R 离心机, 购自德国 Eppendorf 公司; N-EVAP 氮吹仪, 购自美国 Organomation Associates 公司; Milli-Q 超纯水机, 购自美国 Millipore 公司; KQ-500 超声波清洗器, 购自江苏省昆山市超声仪器有限公司。

黄曲霉毒素( $B_1$ 、 $B_2$ 、 $G_1$ 、 $G_2$ )、赭曲霉毒素 A、T-2 毒素、HT-2 毒素、橘青霉素、蛇形菌素、新茄镰孢菌醇、疣孢青霉原标准品, 均购自 BioPure 公司; O-甲基杂色曲霉素、杂色曲霉素、环匹阿尼酸、青霉酸、伏马菌素( $B_1$ 、 $B_2$ ), 购自 Sigma 公司。

中性氧化铝, 购自杭州永星五交化有限公司; 石墨炭黑

收稿日期: 2016-09-21

基金项目: 山东省高等学校科技计划项目(编号: J16LE52); 山东省现代农业产业技术体系家禽创新团队建设项目(编号: SDAIT-13-011-05); 潍坊市科学技术发展计划(编号: 2014RKX094)。

作者简介: 崔晓娜(1980—), 女, 河北石家庄人, 硕士, 讲师, 主要从事动物源食品卫生检验工作。E-mail: sdwfcxn@163.com。

通信作者: 李 舫, 女, 硕士, 教授, 主要从事家禽生产中生物安全控制技术研究。E-mail: sdmylifang@163.com。

粉、C<sub>18</sub> 粉、N-丙基乙二胺(primary secondary amine, 简称 PSA)粉、氨丙基粉,均购自美国 Agilent 公司;甲醇、乙酸乙酯、乙腈、甲酸,均为色谱纯,均购自德国 Merck 公司;试验用水为超纯水。

将各标准品用乙腈溶解,配成质量浓度为 100 mg/L 的标准储备液,各 50 mL,存储期 6 个月;再用乙腈配制浓度为 100 μg/L 的标准品中间液,再根据实际需要用饲料提取液稀释成合适浓度的混合标准工作液,于 4 ℃ 保存,有效期 3 个月。

### 1.2 样品处理

准确称取 5.0 g 均质的试验样品置于 50 mL 离心管内,加入 20 mL 含 1% 甲酸的乙腈溶液(乙腈与水的体积比为 8:2),高速均质 1 min,以 10 000 r/min 离心 10 min,取 8 mL 上清液于 15 mL 干净的玻璃试管中,加入 500 mg C<sub>18</sub> 粉涡旋振荡,静置 2 min 后,取 4 mL 上层溶液于 10 mL 玻璃试管中,

30 ℃ 水浴氮气流吹干,用 1 mL 初始流动相溶液将其溶解,涡旋振荡 1 min,经 0.22 μm 滤膜过滤后供 HPLC-Q-TOF/MS 分析测定。

### 1.3 色谱条件

色谱柱:ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm);流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液;流动相 B 为 0.1% 乙腈水溶液;梯度洗脱程序:0~2 min,5% B;2~12 min,5%~80% B;12~16 min,80%~95% B;16~17 min,95%~5% B;平衡 3 min。进样体积为 10 μL,流速为 0.3 mL/min。参比质荷比范围为 121.050 9~922.009 8。

### 1.4 质谱条件

气体温度为 350 ℃,干燥气流量 10 L/min,雾化气压力为 310.26 kPa,电离方式为正离子模式,采用多反应监测模式采集,数据储存方式为柱状图,电压为 4 000 V,碰撞能量为 20 V。17 种霉菌毒素的部分质谱参数如表 1 所示。

表 1 17 种霉菌毒素的部分质谱参数

序号	化合物	英文名	分子式	母离子质荷比	子离子质荷比	扫描模式
1	黄曲霉毒素 B <sub>1</sub>	aflatoxin B <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	313.070 4	285.074 0	[M+H] <sup>+</sup>
2	黄曲霉毒素 B <sub>2</sub>	aflatoxin B <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	315.087 0	259.089 7	[M+H] <sup>+</sup>
3	黄曲霉毒素 G <sub>1</sub>	aflatoxin G <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	329.066 0	243.108 7	[M+H] <sup>+</sup>
4	黄曲霉毒素 G <sub>2</sub>	aflatoxin G <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	331.081 7	245.110 7	[M+H] <sup>+</sup>
5	赭曲霉毒素 A	ochratoxin A	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> ClNO <sub>6</sub>	404.090 2	239.045 7	[M+H] <sup>+</sup>
6	橘青霉素	citrinin	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	251.091 4	233.083 3	[M+H] <sup>+</sup>
7	T-2 毒素	T-2 toxin	C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> O <sub>9</sub>	467.227 6	215.210 7	[M+H] <sup>+</sup>
8	HT-2 毒素	HT-2 toxin	C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>8</sub>	442.244 0	263.124 3	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>
9	蛇形菌素	diacetoxysciroenol	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>7</sub>	367.175 1	247.103 7	[M+H] <sup>+</sup>
10	新茄镰孢菌醇	neosolanol	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>8</sub>	383.170 0	215.080 4	[M+H] <sup>+</sup>
11	疣孢青霉原	verruculogen	C <sub>27</sub> H <sub>35</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub>	514.254 8	351.742 0	[M+H] <sup>+</sup>
12	O-甲基杂色曲霉素	O-methyl sterigmatocystin	C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	339.086 3	295.220 7	[M+H] <sup>+</sup>
13	杂色曲霉素	sterigmatocystin	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	325.070 7	281.124 5	[M+H] <sup>+</sup>
14	环匹阿尼酸	cyclopiazonic acid	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	337.155 2	196.115 7	[M+H] <sup>+</sup>
15	青霉素	penicillic acid	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	169.050 6	93.034 4	[M+H] <sup>-</sup>
16	伏马菌素 B <sub>1</sub>	fumonisin B <sub>1</sub>	C <sub>34</sub> H <sub>59</sub> NO <sub>15</sub>	722.398 7	704.384 6	[M+H] <sup>+</sup>
17	伏马菌素 B <sub>2</sub>	fumonisin B <sub>2</sub>	C <sub>34</sub> H <sub>59</sub> NO <sub>14</sub>	706.401 0	688.389 2	[M+H] <sup>+</sup>

### 1.5 谱库建立

配制浓度为 1 mg/L 的霉菌毒素标准品,在不同碰撞能量(0、10、20、40 V)下分别对目标化合物进行测定,采集所需数据,建立目标化合物一级质谱全扫描筛查库和二级谱图库。通过谱库检索,以目标化合物的一级质谱精确分子量、保留时间、同位素丰度匹配、特征离子等信息进行定性分析,同时填写分子式和化学名称等。

## 2 结果与分析

### 2.1 提取条件的优化

饲料的基质成分较复杂,提取溶剂的选择对霉菌毒素回收率有重要影响。参考相关文献,排除毒性较大的四氯化碳、含苯环溶剂后,本试验先后采用甲醇、乙腈、异丙醇、甲醇水溶液<sup>[5]</sup>、乙腈水溶液<sup>[6-10,13]</sup>等 5 种溶液进行提取。结果表明,仅以甲醇、乙腈、异丙醇为提取溶剂时,17 种霉菌毒素的回收率在 15%~45% 之间;使用甲醇-水作为提取溶剂时,回收率在 44%~60% 之间;使用乙腈-水作为提取溶剂时,回收率在 50%~80% 之间,比甲醇-水作为提取溶剂时的回收率最低提高了 6%,且基质噪音更低,最终选用乙腈-水作为提取

溶剂。同时考察了提取溶液的 pH 值对霉菌毒素回收率的影响,试验发现在提取溶液中加入 1% 甲酸后,回收率和稳定性进一步提高,推测一些霉菌毒素(伏马菌素 B<sub>1</sub>、赭曲霉毒素 A 等)在中性或碱性环境下易分解,酸性环境更有利于提取。为提高净化效果,提高方法的灵敏度,本试验进一步考察了 C<sub>18</sub> 粉、石墨炭黑粉、中性氧化铝、PSA 粉、氨丙基粉等 5 种 QuEChERS 净化粉<sup>[14-15]</sup>对 17 种霉菌毒素的吸附回收率,通过在霉菌毒素混合标准溶液(15.0 μg/kg)中添加 5 种净化粉,与混合标准溶液对比来计算吸附率。由表 2 可知,C<sub>18</sub> 粉对 17 种霉菌毒素的吸附影响较低,目标分析物的回收率为 96.2%~114.5%,其他 4 种净化粉对一些霉菌毒素的吸附较严重,达不到试验要求。

### 2.2 色谱条件的优化

对于飞行时间质谱,相似目标分析物基质或同分异构体对采集精确分子量数据影响较大,干扰谱库的检索,同时所测定的 17 种霉菌毒素母离子质荷比在 169~723 之间(表 1),化学性质相差很大,这些对色谱条件都提出了一定要求。试验考察了甲醇和乙腈 2 种有机流动相对目标分析物的影响,发现流动相为甲醇-水时,疣孢青霉原的峰形偏宽,灵敏度偏

表 2 经 C<sub>18</sub>粉、石墨炭黑粉、中性氧化铝、PSA 粉、氨丙基粉等 5 种净化粉吸附后 17 种霉菌毒素的回收率

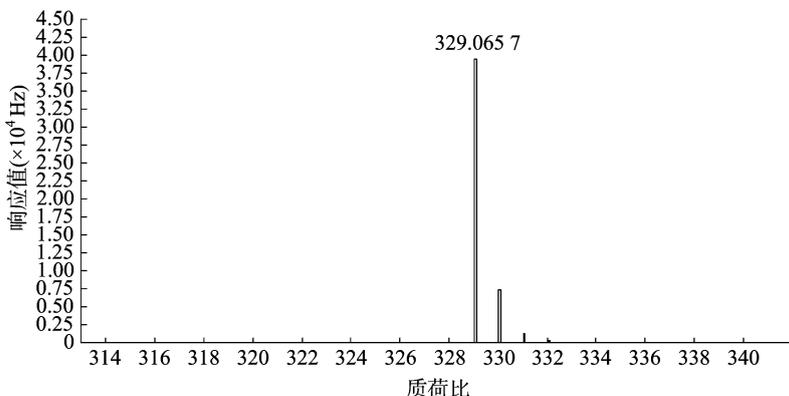
序号	化合物	回收率 (%)				
		C <sub>18</sub> 粉	石墨炭黑粉	中性氧化铝	PSA 粉	氨丙基粉
1	黄曲霉毒素 B <sub>1</sub>	107.0	1.5	71.9	93.1	100.8
2	黄曲霉毒素 B <sub>2</sub>	98.6	2.1	90.7	97.5	93.5
3	黄曲霉毒素 G <sub>1</sub>	100.0	4.0	58.7	91.5	91.6
4	黄曲霉毒素 G <sub>2</sub>	99.3	9.1	93.6	96.3	97.6
5	赭曲霉毒素 A	101.3	3.4	26.8	3.7	6.3
6	橘青霉素	104.2	7.2	2.1	44.8	47.5
7	T-2 毒素	103.8	87.1	98.4	89.2	91.3
8	HT-2 毒素	114.5	94.3	15.6	102.1	92.7
9	蛇形菌素	109.1	100.2	92.1	98.2	93.2
10	新茄镰孢菌醇	96.2	96.1	96.3	91.4	95.1
11	疣孢青霉菌	111.5	91.7	7.1	107.9	87.0
12	O-甲基杂色曲霉素	112.5	2.3	103.4	100.2	99.5
13	杂色曲霉素	106.0	0.0	2.7	96.2	95.1
14	环匹阿尼酸	109.3	0.3	6.3	2.2	1.2
15	青霉酸	109.2	101.3	2.1	73.0	16.3
16	伏马菌素 B <sub>1</sub>	113.8	20.5	54.9	87.0	99.3
17	伏马菌素 B <sub>2</sub>	107.1	16.8	76.8	21.9	56.3

低;黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 与黄曲霉毒素 B<sub>2</sub> 的保留时间相差不大,干扰二级碎片离子分析。调整流动相为乙腈-水<sup>[6]</sup>,经多次试验最终确定了“1.2”节中所述流动相比例及梯度洗脱条件,应用该方法时基线平稳,各目标物能有效分离,目标分析物的一级、二级谱图响应值较好。

### 2.3 质谱条件的优化

高分辨质谱筛查流程简单、通量高,非常适合做目标分析物和未知样品的筛查,对于已知化合物可以通过其标准品建立化合物的一级、二级谱图库,从而在未知样品质谱扫描后提

取质谱信息,通过谱图库比对结果,直接对化合物进行定性、定量分析,从而提高检测者的工作效率。将目标化合物分别配制质量浓度为 10 mg/L 的标准溶液。采用 HPLC-Q-TOF/MS 进行质谱数据的采集,以黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (精确质荷比为 329.065 7) 为例,如图 1 所示,通过谱库检索,可以初步推断化合物的精确分子量、分子式、同位素峰等信息。统计 17 种霉菌毒素的保留时间和质谱信息(表 1),建成质谱库,包含保留时间、母离子、子离子、结构式等。

图1 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 扫描提取离子流结果

### 2.4 线性关系、检出限与定量下限

对 17 种霉菌毒素质量浓度在 1.0 ~ 200.0 μg/L 之间的系列混合标准溶液(用饲料基质提取液配制)进行测定,以各目标分析物峰面积的平均值( $\gamma$ )与其质量浓度( $x$ )绘制标准曲线,其相关系数均大于 0.990(表 3)。在饲料基质中添加系列浓度的混合标准物质,以信噪比为 3 作为方法的检出限,以信噪比为 10 作为方法的定量下限。由表 3 可知,17 种霉菌毒素的检出限为 0.5 ~ 3.0 μg/kg,定量下限为 1.0 ~ 10.0 μg/kg。

### 2.5 实际样品的测定

对市场购买的 20 份饲料(全价饲料和玉米粉各 10 份)中

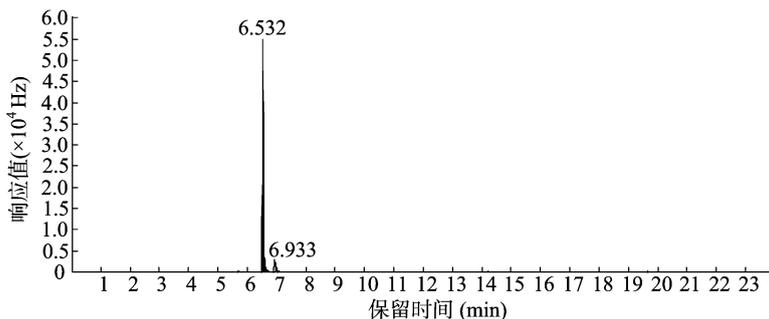
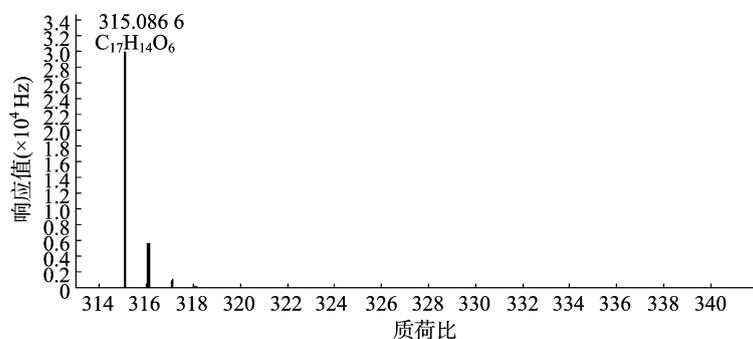
的霉菌毒素含量进行测定,在 1 份玉米粉样品中检出黄曲霉毒素 B<sub>2</sub>,含量为 4.1 μg/kg。如图 2 所示,其中图 2-a 为疑似黄曲霉毒素 B<sub>2</sub> 提取离子流图,图 2-b 为通过谱库检索疑似样品和谱库匹配后提供的精确分子量信息,由此推断为黄曲霉毒素 B<sub>2</sub>。为了检验结果的准确性,引用质检总局霉菌毒素行业标准<sup>[16]</sup>对阳性样品进行验证,检测结果为 4.3 μg/kg,小于国家标准(5.0 μg/kg),与筛查检测结果比较吻合。

## 3 结论

本试验使用 QuEChERS 前处理技术结合液相色谱-飞行时间质谱快速筛查了饲料中 17 种常见霉菌毒素,在无需标

表3 17种霉菌毒素的线性方程、相关系数、线性范围、检出限与定量下限

化合物	回归方程	相关系数	线性范围 ( $\mu\text{g/L}$ )	检出限 ( $\mu\text{g/kg}$ )	定量下限 ( $\mu\text{g/kg}$ )
黄曲霉毒素 B <sub>1</sub>	$y = 27\ 834x + 13\ 683$	0.999 3	1.0 ~ 200.0	0.5	1.0
黄曲霉毒素 B <sub>2</sub>	$y = 149\ 845x + 2\ 782$	0.999 1	2.0 ~ 100.0	0.7	2.0
黄曲霉毒素 G <sub>1</sub>	$y = 154\ 412x + 9\ 008$	0.999 6	1.5 ~ 200.0	0.5	1.5
黄曲霉毒素 G <sub>2</sub>	$y = 7\ 903x + 6\ 973$	0.999 9	2.0 ~ 100.0	0.7	2.0
赭曲霉毒素 A	$y = 118\ 816x + 23\ 267$	0.998 1	5.0 ~ 200.0	1.5	5.0
橘青霉素	$y = 470\ 490x + 16\ 631$	0.999 2	5.0 ~ 150.0	1.5	5.0
T-2 毒素	$y = 15\ 122x - 1\ 220$	0.994 3	4.0 ~ 200.0	1.5	4.0
HT-2 毒素	$y = 11\ 578x + 2\ 172$	0.995 7	5.0 ~ 200.0	2.0	5.0
蛇形菌素	$y = 51\ 262x + 7\ 510$	0.994 7	6.0 ~ 200.0	2.0	6.0
新茄镰孢菌醇	$y = 12\ 280x - 1\ 723$	0.999 0	10.0 ~ 200.0	3.0	10.0
疣孢青霉原	$y = 6\ 914x + 1\ 320$	0.991 7	4.0 ~ 200.0	1.2	4.0
O-甲基杂色曲霉素	$y = 267\ 812x + 58\ 321$	0.999 5	1.0 ~ 100.0	0.5	1.0
杂色曲霉素	$y = 187\ 134x + 25\ 213$	0.999 9	1.8 ~ 100.0	0.6	1.8
环匹阿尼酸	$y = 75\ 327x - 63\ 357$	0.995 8	2.0 ~ 200.0	0.6	2.0
青霉酸	$y = 35\ 006x + 52\ 768$	0.991 6	8.0 ~ 200.0	2.5	8.0
伏马菌素 B <sub>1</sub>	$y = 75\ 278x - 4\ 372$	0.993 7	5.0 ~ 200.0	1.5	5.0
伏马菌素 B <sub>2</sub>	$y = 21\ 380x + 54\ 235$	0.990 5	5.0 ~ 200.0	1.5	5.0

a.疑似黄曲霉毒素 B<sub>2</sub>的提取离子流结果

b.通过谱库检索疑似样品和谱库匹配后提供的精确分子量信息

图2 可疑阳性样品谱库检索结果

准品的情况下,通过谱库检索,能够同时实现对饲料中17种霉菌毒素的定性、定量分析。通过对提取溶剂、QuEChERS净化粉、色谱质谱条件等进行优化研究,提高了该方法的灵敏度和通用性,可以满足饲料中常见霉菌毒素残留检测的需求。

#### 参考文献:

- [1] Binder E M. Managing the risk of mycotoxins in modern feed production[J]. *Animal Feed Science & Technology*, 2007, 133 (1/2): 149 - 166.
- [2] Bryden W L. Mycotoxin contamination of the feed supply chain: implications for animal productivity and feed security[J]. *Animal*

*Feed Science and Technology*, 2001, 83 (2): 134 - 158.

- [3] Berthiller F, Sulyok M, Krska R, et al. Chromatographic methods for the simultaneous determination of mycotoxins and their conjugates in cereals[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2007, 119 (1/2): 33 - 37.
- [4] Trucksess M W, Scott P M. Mycotoxins in botanicals and dried fruits: a review[J]. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 2008, 25 (2): 181 - 192.
- [5] 郑荣, 毛丹, 王少敏, 等. 11种中药材中黄曲霉毒素 G<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>1</sub>的HPLC法测定[J]. *中国医药工业杂志*, 2010, 41 (5): 368 - 372.

侯温甫,李贝贝,刘伟,等. 加工工艺对冷鲜草鱼鱼腩微生物及鲜度品质的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(3):181-184.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.03.047

# 加工工艺对冷鲜草鱼鱼腩微生物及鲜度品质的影响

侯温甫<sup>1,2</sup>, 李贝贝<sup>1</sup>, 刘伟<sup>1</sup>, 何丽<sup>1</sup>, 王宏勋<sup>1,2</sup>

(1. 武汉轻工大学食品科学与工程学院,湖北武汉 430023; 2. 湖北省生鲜食品工程技术研究中心,湖北武汉 430023)

**摘要:**以冷鲜草鱼鱼腩为研究对象,探究减菌剂和保鲜剂分别以浸泡、喷淋及雾化等 3 种作用方式对分割加工过程中冷鲜草鱼鱼腩微生物的影响;同时,通过微生物数量、感官评分值和挥发性盐基氮(total volatile basic nitrogen,简称 TVB-N)含量的变化来反映不同加工工艺对鲜草鱼鱼腩在贮藏过程中品质的影响。结果表明,浸泡处理为减菌剂及保鲜剂作用于冷鲜草鱼鱼腩的最佳处理方式;整鱼片先后经减菌剂和保鲜剂浸泡后再进行分切的加工工艺更能使微生物数量在整个贮藏过程中保持较低水平,有效维持冷鲜草鱼鱼腩的品质。

**关键词:**冷鲜草鱼鱼腩;微生物;鲜度品质;减菌剂;保鲜剂;加工工艺;货架期

**中图分类号:** TS254.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)03-0181-04

草鱼为我国四大家鱼之一,因其肉质鲜嫩、营养丰富而深受消费者喜爱<sup>[1]</sup>。随着超市业的快速发展及消费者对食品方便、安全、健康需求的增大,冷鲜草鱼制品已逐渐成为重要的销售方式<sup>[2]</sup>。但冷鲜鱼肉的鲜度品质劣化、货架期较短、贮藏期间极易腐败变质的特性,成为制约其发展的重要因素<sup>[3]</sup>。

研究表明,微生物是影响草鱼鱼肉品质的主要因素,其中假单胞菌是冷鲜草鱼中的优势腐败菌<sup>[4-5]</sup>。冷鲜草鱼鱼腩中的微生物主要来源于 2 个方面,一是其生长环境;二是草鱼鱼腩加工过程中受到的来自生产环境的二次污染。目前,常用的鱼肉微生物控制技术主要包括减菌处理、保鲜剂及助剂处

理、气调包装和低温贮藏等<sup>[6-7]</sup>。李蓓蓓等研究了二氧化氯及臭氧水分别对鲈鱼和军曹鱼片的减菌效果,结果发现,二氧化氯处理鲈鱼可将鲈鱼细菌总数降低至  $10^{1.6}$  CFU/cm<sup>2</sup>,臭氧水处理 10 min 可使军曹鱼片中的微生物数量减少 80% 以上<sup>[8-9]</sup>。陈玮琦等研究发现,苹果幼果多酚、普鲁兰多糖及植物精油-EVOH 对草鱼鱼肉中的微生物数量有显著抑制作用,均可延长草鱼鱼肉的保质期<sup>[10-12]</sup>。赵莉君等研究发现,气调包装可有效地延长鲢鱼片及干银鱼的保质期<sup>[13-14]</sup>。虽然前人对鱼肉的保鲜技术进行了大量的研究,但大多集中于单一的加工工艺处理,而关于减菌剂及保鲜剂的处理方式对鱼肉中初始微生物数量减少的效果以及加工工艺对鱼肉品质影响的研究报道较少。笔者所在实验室前期的研究发现,以次氯酸钠、ε-聚赖氨酸分别作为减菌剂和保鲜剂可延长冷鲜草鱼鱼腩货架期 6 d 左右<sup>[15-16]</sup>。本研究以对冷鲜草鱼鱼腩中微生物数量的控制为出发点,探讨加工工艺对冷鲜草鱼

收稿日期:2016-08-30

基金项目:湖北省教育厅科学研究计划(编号:Q20141701)。

作者简介:侯温甫(1979—),女,河南洛阳人,博士研究生,副教授,研究方向为水产品加工与贮藏。E-mail:745682588@qq.com。

[6] Varga E G T, Glauner T, Berthiller F. Development and validation of a (semi-) quantitative UHPLC-MS/MS method for the determination of 191 mycotoxins and other fungal metabolites in almonds, hazelnuts, Peanuts and pistachios [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2013, 405(15): 5087-5104.

[7] Streit E, Schwab C, Sulyok M, et al. Multi-Mycotoxin screening reveals the occurrence of 139 different secondary metabolites in feed and feed ingredients [J]. Toxins, 2013, 5(3): 504-523.

[8] Storm I M, Rasmussen R R, Rasmussen P H. Occurrence of pre- and post-harvest mycotoxins and other secondary metabolites in Danish maize silage [J]. Toxins, 2014, 6(8): 2256-2269.

[9] Warth B, Parich A, Atehnkeng J, et al. Quantitation of mycotoxins in food and feed from Burkina Faso and Mozambique using a modern LC-MS/MS multitoxin method [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2012, 60(36): 9352-9363.

[10] 余璐,宋伟,吕亚宁,等. 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法快速筛查茶叶中的 204 种农药残留 [J]. 色谱, 2015, 33(6): 597-612.

[11] 彭兴,赵志远,康健,等. LC-TOF/MS 无标准品定性筛查

水果蔬菜中 210 种农药残留 [J]. 分析试验室, 2014, 33(3): 282-291.

[12] 赵志远,石志红,康健,等. 液相色谱-四极杆/飞行时间质谱快速筛查与确证苹果、番茄和甘蓝中的 281 种农药残留量 [J]. 色谱, 2013, 31(4): 372-379.

[13] 孟娟,张晶,张楠,等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法检测粮食及其制品中的玉米赤霉烯酮类真菌毒素 [J]. 色谱, 2010, 28(6): 601-607.

[14] 王连珠,黄小燕,陈泳,等. QuEChERS 前处理-液相色谱-串联质谱测定果蔬中 18 种弱酸性农药残留 [J]. 分析测试学报, 2014, 33(10): 1102-1108.

[15] 李静,张鸿,柴之芳,等. 分散固相萃取结合 HPLC-MS/MS 检测鸡蛋中 16 种全氟化合物 [J]. 分析测试学报, 2014, 33(10): 1109-1115.

[16] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 出口花生、谷类及其制品中黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、伏马菌素 B<sub>1</sub>、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、T-2 毒素、HT-2 毒素的测定: SN/T 3136—2012 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.