

基于磁性固相萃取的赭曲霉毒素 A 检测方法构建及优化

王丙辰,王逸凡,张秀媛,何扩*

(河北北方学院 河北省农产品食品质量安全分析检测重点实验室,河北 张家口 075000)

摘要: 为实现对葡萄酒中赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA) 的定量检测,使用具有三层核壳结构的磁性金属有机框架 (metal-organic framework, MOF) 材料对葡萄酒中的目标毒素进行磁固相萃取,并结合高效液相色谱法构建一种操作便捷、特异性强、灵敏度高的检测方法。以 GB 5009.96—2016《食品安全国家标准 食品中赭曲霉毒素 A 的测定》为基础,对试验过程进行优化,得到最佳前处理条件。结果表明,在反应溶液为中性、磁性 MOF 材料用量为 0.8 mg 时可在 10 min 内达到最大吸附效率,随后使用 2 mL 洗脱液 (乙腈+1.5% 甲酸) 洗脱 6 min 达到最大洗脱效率。在上述条件下,OTA 的检测质量浓度在 0.05~10.00 ng/mL 时线性关系良好 ($R^2=0.9985$)。当加标量为 0.06 ng/mL 时,测定值的相对标准偏差 ($n=3$) 为 3.32%,回收率为 95.83%;当加标量为 0.10 ng/mL 时,测定值的相对标准偏差为 2.09%,回收率为 96.70%;当加标量为 0.20 ng/mL 时,测定值的相对标准偏差为 2.51%,回收率为 101.5%。该方法操作简便、特异性强,通过对 OTA 的快速磁分离-富集可有效避免共存元素的影响并提高测定的灵敏度。

关键词: 赭曲霉毒素 A; 纳米材料; 金属有机框架; 磁固相萃取; 液相色谱法

Construction and Optimization of a Detection Method for OTA Based on Magnetic Solid Phase Extraction

WANG Bingchen, WANG Yifan, ZHANG Xiuyuan, HE Kuo*

(Hebei Key Laboratory of Quality & Safety Analysis-testing for Agro-products and Food, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China)

Abstract: To achieve the quantitative determination of ochratoxin A (OTA) in wine, a magnetic metal-organic framework (MOF) material with a three-layer core-shell structure was used for magnetic solid phase extraction of the target toxin from the wine. Combined with high-performance liquid chromatography, a simple, specific, and highly sensitive detection method for OTA in wine was developed. Based on GB 5009.96—2016 *Determination of Ochratoxin A in Food Safety National Standard*, the experimental process was optimized to obtain the best pretreatment conditions. The results showed that the maximum adsorption efficiency was achieved within 10 min when the reaction solution was neutral and the amount of magnetic MOF material was 0.8 mg. Following this, the maximum elution efficiency was achieved at the 6 min using 2 mL of eluent (acetonitrile+1.5% formic acid). Under these conditions, the detection of OTA showed a good linear relationship in the range of 0.05 to 10.00 ng/mL ($R^2=0.9985$). At a spiked concentration of 0.06 ng/mL, the relative standard deviation of the measurements ($n=3$) was 3.32%, and the recovery rate was 95.83%. At a spiked concentration of 0.10 ng/mL, the relative standard deviation was 2.09% and the recovery rate was 96.70%. At a spiked concentration of 0.20 ng/mL, the relative standard deviation was 2.51% and the recovery rate was 101.5%. This method was easy to operate and highly specific, effectively avoiding the influence of coexisting elements and improving the sensitivity of the determination through rapid magnetic separation and enrichment of OTA.

Key words: ochratoxin A; nano materials; metal-organic framework; magnetic-solid phase extraction; liquid chromatography

引文格式:

王丙辰,王逸凡,张秀媛,等.基于磁性固相萃取的赭曲霉毒素A检测方法构建及优化[J].食品研究与开发,2025,46(4):162-168.

WANG Bingchen, WANG Yifan, ZHANG Xiuyuan, et al. Construction and Optimization of a Detection Method for OTA Based on Magnetic Solid Phase Extraction[J]. Food Research and Development, 2025, 46(4): 162-168.

赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA) 是一种带有极强毒性的小分子物质,广泛污染谷物、葡萄、坚果等农产品,在目前已发现的真菌毒素中危害性较大^[1-3]。它具有高度致癌、致畸、致突变的作用,且在人体中代谢缓慢^[4-6]。联合国粮农组织和世界卫生组织建议^[7]OTA 的周摄入量不超过 100 ng/kg 体质量,GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》规定谷物等粮食及制品中 OTA 的限量为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[8]。目前常用的 OTA 检测方法有超高效液相色谱 (ultra performance liquid chromatography, UPLC)^[9]和液相色谱-串联质谱 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)^[10]。色谱法灵敏度高且准确性强,但该方法受环境因素影响较大,同时现有的 OTA 提取工艺并不稳定,使得检测分析的灵敏度和复现性较差。因此建立一种高选择性、高效率的样品前处理技术是目前的重要任务。

针对待测物浓度低、生物组分复杂、前处理阶段繁琐导致检测分析结果不理想的情况,对目标待测物进行分离富集可有效提高检测的灵敏度。Frisk 等^[11]将来自 synaptotagmin II (Syt II)、对目标毒素具有特异性识别的短链肽底物,与 5 μm 磁珠结合构建一种肉毒杆菌神经毒素 B 型 (BoNT/B) 富集平台,该方法在全脂牛奶中的检出限为 0.4 ng/mL,在保持成本效益的同时具有较高的检测灵敏度。Appell 等^[12]将 β -环糊精与疏水性聚氨酯聚合物复合,用于固相萃取饮品中的 OTA。因新型环糊精具备纳米级疏水腔,利用疏水效应可以实现水条件下对疏水性毒素 OTA 进行直接吸附。试验表明,该方法可有效检测葡萄汁或葡萄酒中 0.5~20 ng/mL 的 OTA,检测限为 0.2 ng/mL。然而目前使用的前处理方法在原料成本、合成难度、分离效果等方面不够理想,无法满足大批量、快速检测的需求^[13-14]。

磁性金属有机框架 (metal-organic framework, MOF) 材料具有孔隙丰富、吸附性强、可调节性好、磁性稳定等特点,本试验以具有超顺磁性的 Fe_3O_4 作为磁芯,在超声辅助下依次在外层包覆 SiO_2 和 $\text{UiO}_{66}\text{-NH}_2$,通过水热法合成一种具有三层核壳结构的磁性纳米材料 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{UiO}_{66}\text{-NH}_2$,并对其表征。结合高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC),建立一种快速、灵敏、经济、环保的葡萄酒中 OTA 的测定方法,以期降低样品基质对 HPLC 检测结

果的影响,实现对葡萄酒中 OTA 的监测与控制。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

三氯化铁 ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、柠檬酸钠 ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、乙二醇 ($(\text{CH}_2\text{OH})_2$)、无水醋酸钠 (CH_3COONa)、正硅酸四乙酯 (tetraethyl orthosilicate, TEOS)、氯化锆 (ZrCl_4)、2-氨基对苯二甲酸 (2-aminoterephthalic acid)、N,N-二甲基甲酰胺 (N,N-dimethylformamide, DMF) (均为化学纯):上海国药集团化学试剂有限公司;无水甲醇 (CH_3OH)、丙酮 ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$)、乙腈 (CH_3CN)、甲酸 (CH_2O_2)、赭曲霉毒素 A (OTA) 标准品 (均为分析纯):上海阿拉丁生化科技股份有限公司;葡萄酒:张家口长城桑干葡萄庄园。

1.2 仪器与设备

水热反应釜 (KH-50 mL):西安常仪仪器设备有限公司;台式电热鼓风干燥箱 (DHG-9240A):上海叶拓仪器仪表有限公司;立式冷冻干燥机 (BK-FD12S):山东博科再生医学有限公司;扫描电子显微镜 (Regulus8100):日本 HITACHI 公司;纳米粒度电位仪 (Zetasizer Nano ZS90):英国 Malvern 公司;高效液相色谱仪 (CTO-20A):日本 Shimadzu 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{UiO}_{66}\text{-NH}_2$ 的制备

250 mL 烧杯中加入 65 mL 乙二醇和 1.95 g 的 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$,再缓慢加入 0.6 g 柠檬酸钠。在 80 $^\circ\text{C}$ 水浴中加热 30 min,并用玻璃棒碾碎固体颗粒。之后加入 3.65 g 无水醋酸钠,用超声波辅助溶解后,磁力搅拌 40 min。随后将混合物全部转移至水热反应釜中,在 200 $^\circ\text{C}$ 电热鼓风干燥箱中加热 12 h。反应结束后通过磁分离收集固体颗粒,使用冷冻干燥机进行干燥。

量取 0.1 kg 纳米磁珠和 20 mL 超纯水,加入到 500 mL 烧杯中,超声处理 15 min 直至颗粒分散均匀。之后加入 80 mL 无水乙醇和 1 mL 氨水,并逐滴加入 0.6 mL TEOS,在 25 $^\circ\text{C}$ 下振荡 14 h。对分离得到的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 固体颗粒进行冷冻干燥。

将 0.08 g 的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 溶于 20 mL DMF 后,加入 0.12 g 的 ZrCl_4 ,持续超声处理 30 min。最后缓慢加入 0.093 g 的 2-氨基对苯二甲酸,将混合物不断搅拌均匀后转移到反应釜中,120 $^\circ\text{C}$ 加热 24 h。反应完成后,将

磁分离得到的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{UiO}_{66}\text{-NH}_2$ 在 DMF 中浸泡一段时间,进行冷冻干燥,并在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下避光保存。

1.3.2 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{UiO}_{66}\text{-NH}_2$ 的表征

使用扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)和纳米粒度电位仪对制备的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{UiO}_{66}\text{-NH}_2$ 进行表征。SEM 可以对样品的表面形貌和结构进行观察,测试前使用鼓风干燥箱在 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 下对样品烘干并研磨,用导电胶将处理后的样品固定于载物台上喷金处理 5 min,随后通过场发射扫描电子显微镜进行检测。电位测试可以确定材料在层层包覆过程中的粒径变化,其结果与 SEM 进行相互验证,测试前使用分散剂将样品预处理,并进行超声分散 20 min。

1.3.3 磁固相萃取条件

首先将 OTA 标准品用乙腈-水(50:50,体积比)溶液稀释,配制成浓度为 200 ng/mL 的标准工作液。取一定量磁性 MOF 材料 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{UiO}_{66}\text{-NH}_2$ 置于鼓风干燥箱中,在 $120\text{ }^\circ\text{C}$ 下活化 30 min,待冷却后进行研磨,随后配制成所需浓度的溶液供后续使用。

将一定量的磁性 MOF 材料溶液于离心管中,以 $8\ 000\text{ r/min}$ 离心 5 min 后弃去上清液,随后加入 1 mL 不同质量浓度的 OTA 标准工作液,并用 $\text{pH}7.4$ 的磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffer saline, PBS)配合 0.05 mg/L 的 HCl 和 NaOH 溶液调节反应液的 pH 值。将反应液置于恒温振荡器中,在室温条件下振荡进行磁固相萃取^[15]。反应完成后对反应液中的磁性 MOF 材料进行磁分离,弃去上清液后用洗脱剂(乙腈+15% 甲酸)洗脱,再次进行磁分离并收集全部洗脱液。随后将洗脱液移至离心管中,定容后作为待测组。重复 3 次磁性 MOF 材料在不同条件下对 OTA 的富集纯化过程,同时以等体积、等浓度的 OTA 标准工作液作为对应的空白对照样,并配制 3 个重复样。

使用 HPLC 检测待测组中 OTA 质量浓度,同时测量未经 MOF 材料吸附的空白对照组中 OTA 质量浓度,根据下列公式计算该材料对 OTA 的吸附效率。

$$Q = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100$$

式中: Q 为磁性 MOF 材料对毒素 OTA 的吸附效率,%; C_0 为未经磁性 MOF 材料吸附的空白对照样品中 OTA 质量浓度, ng/mL ; C_e 为该材料对 OTA 富集纯化后所得洗脱液中 OTA 质量浓度, ng/mL 。

1.3.4 色谱分离条件

将 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{UiO}_{66}\text{-NH}_2$ 富集纯化后得到的洗脱液置于 5 mL 离心管中,用 PBS 缓冲溶液稀释后,在常温下进行荧光光谱扫描。以 333 nm 为激发波长,记录 $11\sim 15\text{ min}$ 内出现的特征峰,用于 OTA 的分析检测。色谱柱选用 C_{18} 色谱柱($4.6\text{ mm}\times 250\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$),柱温为 $40\text{ }^\circ\text{C}$,进样量选择 $25\text{ }\mu\text{L}$,流动相及梯度洗脱如

表 1 所示,流动相 A 液和 B 液分别选择水+0.5% 乙酸溶液和乙腈。

表 1 梯度洗脱条件

Table 1 Gradient elution conditions

时间/min	流速/(mL/min)	流动相 A 液/%	流动相 B 液/%
0.01	0.20	80.0	20.0
2.50	0.20	80.0	20.0
5.00	0.20	50.0	50.0
7.50	0.20	10.0	90.0
10.0	0.20	10.0	90.0
12.5	0.20	50.0	50.0
15.0	0.20	80.0	20.0

1.3.5 不同 MOF 用量和溶液 pH 值对 OTA 吸附效率的影响

在 10 mL 离心管中分别配制浓度依次为 0.4 、 0.6 、 0.8 、 1.0 、 1.2 mg/mL 的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{UiO}_{66}\text{-NH}_2$ 溶液,之后取 1 mL 溶液分装到 1.5 mL 离心管中。经过磁分离弃去上清液后,向离心管中加入 OTA 标准品,振荡提取 10 min。富集结束后通过磁分离收集上清液,HPLC 检测其中剩余 OTA 含量来计算材料吸附效率。

按照上述操作,选用磷酸盐缓冲溶液($\text{pH}7.4$)并用 0.05 mg/L 的 HCl 和 NaOH 稀溶液构建 pH 值分别为 5、6、7、8、9 的吸附环境,经富集分离后检测上清液中剩余 OTA 含量。

1.3.6 不同洗脱剂成分和用量对 OTA 洗脱效率的影响

用 5 mL 离心管量取 0.8 mg 的 MOF,加入 1 mL 浓度为 200 mg/mL 的 OTA 标准品,富集 10 min 后进行磁分离。弃去上清液后依次用 2 mL 分别含有 0%、1.0%、1.5%、2.0%、3.0% 甲酸的乙腈溶液洗脱 6 min。经磁分离后检测上清液中 OTA 含量并计算洗脱效率。

按照上述操作进行固相萃取,依次使用 1.0 、 1.5 、 2.0 、 2.5 、 3.0 mL 的洗脱剂(乙腈+1.5% 甲酸)洗脱 6 min,经磁分离后检测上清液中 OTA 含量。

1.3.7 不同处理时间对 OTA 吸附效率和洗脱效率的影响

按照 1.3.5 进行富集,分别在富集 2、5、10、30、120 min 后进行磁分离,检测上清液中剩余 OTA 含量。

按照 1.3.6 进行洗脱,使用 2 mL 的洗脱液进行洗脱,洗脱时间分别为 2、6、10、20、40 min,经磁分离后检测上清液中的 OTA 含量。

1.3.8 实际样品检测

葡萄酒经抽滤去除杂质及难溶物后使用 PBS ($\text{pH}7.4$)稀释 10 倍,分别加入不同浓度的 OTA 标准品,使葡萄酒中 OTA 浓度分别为 0.06 、 0.10 、 0.20 ng/mL 。采用优化后的富集条件对含有不同浓度 OTA 的葡萄酒进行目标物的富集分离,并使用 HPLC 对纯化后的 OTA 进行检测。采用定量检测方法构建标准曲线,根

据实际检测葡萄酒中 OTA 所得到的特征峰面积计算 OTA 的初始浓度,再与葡萄酒样品中实际添加的 OTA 正式浓度比较。从配制待测毒素的葡萄酒稀释液开始,每个待测样重复富集和 HPLC 检测 3 次。

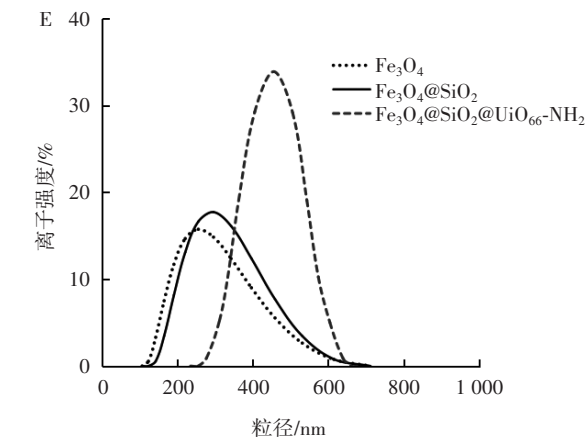
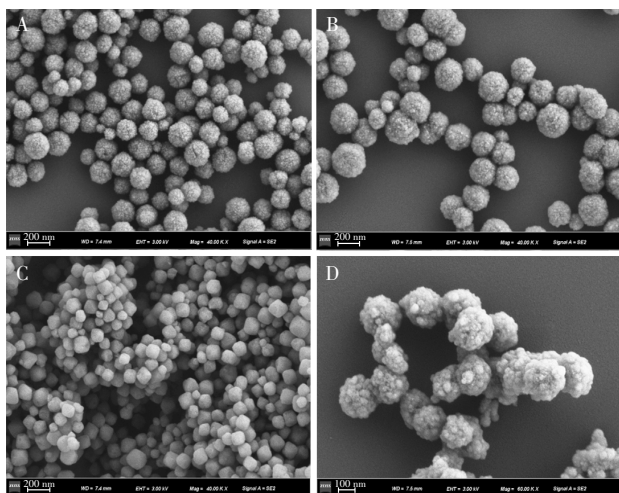
1.4 数据处理

所有试验均重复 3 次,结果以平均值±标准差形式呈现,并使用 Origin 2021 软件进行数据分析与图形绘制。

2 结果与分析

2.1 表征结果

材料的微观形貌和粒径分别通过 SEM 和电位仪进行表征,结果见图 1。



A. Fe₃O₄; B. Fe₃O₄@SiO₂; C. UiO₆₆-NH₂; D. Fe₃O₄@SiO₂@UiO₆₆-NH₂;
E. 材料合成中的粒径变化。

图 1 表征结果

Fig.1 Characterization results

由图 1A 可知,制备得到的磁性纳米颗粒大小较为均一,无明显团聚现象,直径为 255 nm 左右。借助 Fe₃O₄ 纳米颗粒^[16]具备的超顺磁性能够在外加磁场下实现快速磁分离富集,取代依赖离心机的离心分离操作,简化试验步骤。由图 1B 可知,包覆二氧化硅包层后的 Fe₃O₄@SiO₂,颗粒明显增大,且分散性增强,直径

为 295 nm 左右。借助包覆 SiO₂ 对材料进行改性能赋予其亲水性^[17],从而更高效地吸附目标物。由图 1C 可知,试验所合成的 MOF 材料 UiO₆₆-NH₂,主要为菱形。由图 1D 可知,本试验成功在 Fe₃O₄@SiO₂ 表面偶联 UiO₆₆-NH₂,此时颗粒表面明显变得粗糙,同时粒径增至 455 nm 左右。该 MOF 材料具备的较高比表面积、多级孔道结构以及对目标物的特异性亲和力,赋予了 Fe₃O₄@SiO₂@UiO₆₆-NH₂ 能够定向富集纯化 OTA 的能力^[18-20]。

2.2 磁性固相萃取条件的优化

2.2.1 磁性 MOF 材料用量和溶液 pH 值

磁性 MOF 材料用量和溶液 pH 值对材料吸附效率的影响见图 2。

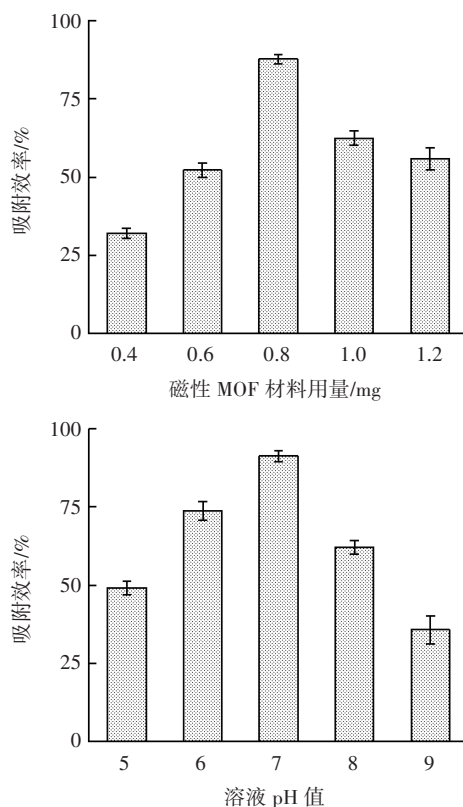


图 2 磁性 MOF 材料用量和溶液 pH 值对材料吸附效率的影响
Fig.2 Effect of MOF dosage and solution pH on the absorption efficiency of the material

由图 2 可知,磁性 MOF 材料用量在 0.8 mg 时对 OTA 吸附效率达到最大,继续增大用量反而导致吸附效率下降。可能因为有效吸附表面积并没有增大相应的倍数,同时材料添加过多会降低溶液的流通性。随着 pH 值增大,该材料对 OTA 的吸附性能逐渐提高,pH 值为 7 时吸附效率达到最大,但 pH 值继续增大吸附性能开始急剧下降。这可能是由于 pH 值继续升高使环境偏碱性,去质子化^[21]的存在阻碍了磁性 MOF 材料通过和 OTA 共有的官能团—NH₂ 之间形成氢键实现毒素的富集。

2.2.2 洗脱剂成分和用量

洗脱剂中甲酸添加量和总用量对材料吸附效率的影响见图3。

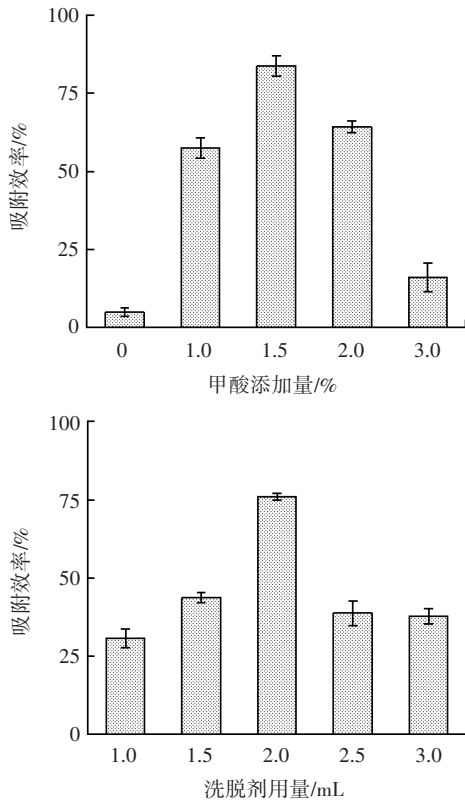


图3 洗脱剂中甲酸添加量和洗脱剂用量对材料吸附效率的影响
Fig.3 Effect of formic acid concentration and eluent amount on the absorption efficiency of the material

由图3可知,选用添加1.5%甲酸的乙腈溶液能实现最大效率洗脱。可能是因为OTA和MOF骨架上的苯环间形成的 $\pi-\pi$ 堆积是影响该材料吸附OTA的主要因素之一,甲酸可以使被吸附的阴离子形成羧基,通过破坏离子增强脱附效果^[22-23]。洗脱剂用量为2 mL时洗脱效果最佳,继续增大用量反而会造成洗脱效率降低。

2.2.3 富集时间和洗脱时间

富集和洗脱时间对材料吸附效率的影响见图4。

由图4可知,吸附效率随着富集时间延长而逐渐提高并在10 min时达到最大,继续延长富集时间吸附效率略有下降,可能是部分被材料吸附的OTA重新溶解于溶液中导致。洗脱时间在6 min时对OTA的洗脱效率最好,继续延长洗脱时间会导致洗脱下来的OTA被材料重新吸附,致使吸附效率下降。

2.3 方法验证

在最优材料用量、富集时间、溶液pH值、洗脱成分、洗脱剂用量和洗脱时间下,以 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{UiO}_{66}-\text{NH}_2$ 为富集材料对工作液中的OTA进行富集分离。之后通过HPLC测定加入OTA、材料富集、洗脱分离后

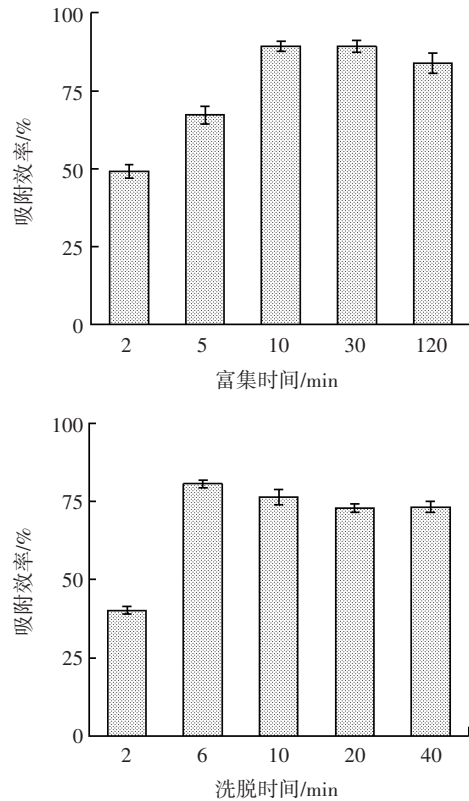


图4 富集时间和洗脱时间对材料吸附效率的影响
Fig.4 Effect of enrichment time and elution time on the adsorption efficiency of the material

待测溶液的色谱图,根据特征峰的峰面积与对应OTA浓度间的关系建立标准曲线,HPLC检测条件和OTA标准曲线如图5所示。

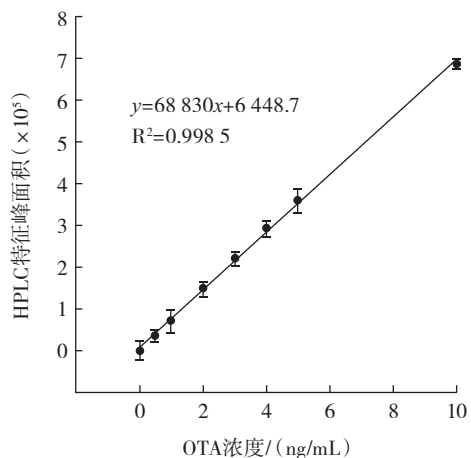


图5 OTA的标准曲线
Fig.5 Standard curves for OTA

由图5可知,该标准曲线在0.05~10.00 ng/mL范围内,所得到的线性方程为 $y=68.830x+6.448.7$, $R^2=0.9985$,检出限为0.06 ng/mL。因此将所合成的磁性MOF材料 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{UiO}_{66}-\text{NH}_2$ 应用于目标物的前处理阶段并与HPLC结合所建立的方法,可以实现对

OTA 的定量检测。该检测方法具有较低的检测限和较宽的线性范围,在 OTA 的检测中展现出了优良的性能,且可以通过外加磁场进行便捷的磁分离,进一步提升检测效率。

2.4 实际样品检测

为了进一步验证所建立的磁性 MOF 材料富集纯化与 HPLC 测量相结合在实际样品中检测的可靠性,根据 GB 5009.96—2016《食品安全国家标准 食品中赭曲霉毒素 A 的测定》测定葡萄酒中的 OTA 含量,所得结果如表 2 所示。

表 2 加标葡萄酒样品中 OTA 检测的准确度和精密度

Table 2 Accuracy and precision for OTA determination in spiked wine samples

样品	OTA 加标浓度/ (ng/mL)	OTA 浓度 测定值/(ng/mL)	OTA 准确度/%	相对标准 偏差/%
1	0.06	0.057 5	95.83	3.32
2	0.10	0.096 7	96.70	2.09
3	0.20	0.203 1	101.5	2.51

由表 2 可知,所制备 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{UiO}_{66}\text{-NH}_2$ 在经过 3 次循环使用后对 OTA 的富集效率并无明显降低,说明该材料具有良好的稳定性且可以重复使用。

3 结论

对目标物进行富集纯化再通过 HPLC 进行定量检测,在食品安全检验中具有重要意义。该磁性 MOF 材料对 OTA 具有快速、可逆结合的特性,在反应溶液为中性、材料用量为 0.8 mg 时可在 10 min 内达到最大吸附效率,随后使用 2 mL 洗脱液(乙腈+1.5% 甲酸)洗脱 6 min,在最佳条件下使用该材料对葡萄酒中 OTA 进行分离纯化后使用 HPLC 进行定量检测,当待测的 OTA 浓度处于 0.05~10.00 ng/mL 时,其质量浓度与峰面积呈良好的线性关系,最低检测限可达 0.06 ng/mL,低于 GB 5009.96—2016 中酒类规定的检出限。同时该材料具有一定的水溶性和超顺磁性,进一步提高了对葡萄酒中 OTA 的富集效率,并简化了分离操作,通过加标回收试验,OTA 的回收率为 87.2%~93.9%,进一步验证了本研究所构建的方法能够应用于葡萄酒中 OTA 的实际检测。本研究所建立方法准确性和可靠性较强,适用于实际生产、生活中对葡萄酒含有的 OTA 的定量检测,可为发展葡萄酒中 OTA 现场快速检测技术提供一定的理论依据。

参考文献:

[1] QIAO M X, LIU M W, WAN Z G, et al. A novel fluorescent aptasensor based on 3D porous nitrogen-sulfur Co-doped carbon mesh and hybridization chain reaction for sensitive detection of ochratoxin A[J]. *Mikrochimica Acta*, 2023, 190(8): 313.

[2] TIAN C Y, WEI M G, WANG X B, et al. Electrochemiluminescence aptasensor based on $\text{Gd}(\text{OH})_3$ nanocrystalline for ochratoxin A detection in food samples[J]. *Biosensors*, 2022, 12(12): 1141.

[3] 闫静, 阎贺静, 王薇薇, 等. 组学技术在赭曲霉毒素 A 研究中的应用进展[J]. *核农学报*, 2023, 37(8): 1551-1561.

YAN Jing, YAN Hejing, WANG Weiwei, et al. Application progress of omics technology in ochratoxin A research[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2023, 37(8): 1551-1561.

[4] 赵盼盼, 黄志伟, 张华, 等. 2020-2022 年 11 种植物性饲料原料中黄曲霉毒素 B₁、赭曲霉毒素 A、伏马毒素(B₁+B₂)检测分析及污染防控措施[J]. *粮食与饲料工业*, 2023(5): 64-68.

ZHAO Panpan, HUANG Zhiwei, ZHANG Hua, et al. Detection and pollution control measures of aflatoxin B₁, ochratoxin A and fumaronin(B₁+B₂) in 11 plantfeed materials from 2020 to 2022[J]. *Cereal & Feed Industry*, 2023(5): 64-68.

[5] ZHANG B Y, LI H Y, ZHU L Y, et al. Single-cell transcriptomics uncovers potential marker genes of ochratoxin A-sensitive renal cells in an acute toxicity rat model[J]. *Cell Biology and Toxicology*, 2021, 37(1): 7-13.

[6] SEDOVA I, KISELEVA M, TUTELYAN V. Mycotoxins in tea: Occurrence, methods of determination and risk evaluation[J]. *Toxins*, 2018, 10(11): 444.

[7] CAPPOZZO J, JACKSON L, LEE H J, et al. Occurrence of ochratoxin A in infant foods in the United States[J]. *Journal of Food Protection*, 2017, 80(2): 251-256.

[8] 中华人民共和国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 食品中真菌毒素限量: GB 2761—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.

National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, State Food and Drug Administration. National food safety standard Limits for mycotoxins in food: GB 2761—2017 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.

[9] 李文廷, 农蕊瑜, 申颖, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定普洱茶中赭曲霉毒素 A[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(6): 2240-2245.

LI Wenting, NONG Ruiyu, SHEN Ying, et al. Determination of ochratoxin A in Pu-erh tea by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2021, 12(6): 2240-2245.

[10] OUA KHSSASE A, FATINI N, AIT ADDI E. A facile extraction method followed by UPLC-MS/MS for the analysis of aflatoxins and ochratoxin A in raw coffee beans[J]. *Food Additives & Contaminants Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 2021, 38(9): 1551-1560.

[11] FRISK M L, LIN G Y, JOHNSON E A, et al. Synaptotagmin II peptide-bead conjugate for botulinum toxin enrichment and detection in microchannels[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2011, 26(5): 1929-1935.

[12] APPELL M, EVANS K O, JACKSON M A, et al. Determination of ochratoxin A in grape juice and wine using nanosponge solid phase extraction clean-up and liquid chromatography with fluorescence detection[J]. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2018, 41(15/16): 949-954.

[13] LU L X, YUAN W, XIONG Q, et al. One-step grain pretreatment for ochratoxin A detection based on bipolar electrode-electrochemiluminescence biosensor[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2021, 1141: 83-90.

[14] YE J, XUAN Z H, ZHANG B, et al. Automated analysis of ochratoxin A in cereals and oil by immunoaffinity magnetic beads coupled to UPLC-FLD[J]. *Food Control*, 2019, 104: 57-62.

- [15] ZHANG J, CHEN Z P, TANG F R, et al. Fabrication of highly fluorinated porphyrin - based covalent organic frameworks decorated Fe_3O_4 nanospheres for magnetic solid phase extraction of fluoroquinolones[J]. *Mikrochimica Acta*, 2022, 189(12): 449.
- [16] HONG Y, SHI H B, SHU X, et al. Tunable synthesis of hierarchical superparamagnetic Fe_3O_4 nanospheres by a surfactant-free solvothermal method[J]. *Journal of Superconductivity and Novel Magnetism*, 2018, 31(9): 2959-2967.
- [17] YU H Y, LIANG H O, BAI J, et al. Controllable growth of coral-like CuInS_2 on one-dimensional SiO_2 nanotube with super-hydrophilicity for enhanced photocatalytic hydrogen evolution[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2022, 47(66): 28410-28422.
- [18] 刘威, 徐之薇, 王睿, 等. 多孔有机框架材料在真菌毒素分离富集与检测中的研究进展[J]. *色谱*, 2023, 41(10): 891-900.
LIU Wei, XU Zhiwei, WANG Rui, et al. Research advances of porous organic framework materials on enrichment and detection of mycotoxins[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2023, 41(10): 891-900.
- [19] PANG X Y, LIU H Y, YU H, et al. Monolithic column prepared with UiO-66-2COOH MOF as monomer for enrichment and purification of ursolic acid in plants by online solid-phase extraction[J]. *Chromatographia*, 2020, 83(9): 1121-1131.
- [20] LI C Y, LIU J M, WANG Z H, et al. Integration of $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{UiO-66-NH}_2@ \text{MON}$ core-shell structured adsorbents for specific preconcentration and sensitive determination of aflatoxins against complex sample matrix[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 384: 121348.
- [21] 张亮亮, 张禾, 徐曼, 等. 电位滴定法研究单宁酸去质子化特性[J]. *林产化学与工业*, 2021, 41(1): 1-6.
ZHANG Liangliang, ZHANG He, XU Man, et al. Determination of deprotonation characteristics of tannic acid by potential titration method[J]. *Chemistry and Industry of Forest Products*, 2021, 41(1): 1-6.
- [22] HASHEM T, VALADEZ SÁNCHEZ E P, WEIDLER P G, et al. Liquid - phase quasi - epitaxial growth of highly stable, monolithic UiO-66-NH_2 MOF thin films on solid substrates[J]. *ChemistryOpen*, 2020, 9(5): 514.
- [23] XIE Y Q, LIU Q J, LI Y, et al. Core-shell structured magnetic metal-organic framework composites for highly selective detection of N-glycopeptides based on boronic acid affinity chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 2018, 1540: 87-93.

责任编辑:冯娜
收稿日期:2023-12-25