

# 微流控芯片液液萃取结合超高效液相色谱-串联质谱法检测玉米油中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>

王冠宇<sup>1,2</sup>, 刘越<sup>3</sup>, 周焕英<sup>2</sup>, 曹高芳<sup>1\*</sup>, 高志贤<sup>2\*</sup>

(1. 滨州医学院公共卫生与管理学院, 烟台 264000; 2. 军事科学院军事医学研究院环境医学与作业医学研究所, 天津 300050; 3. 滨州医学院附属医院, 烟台 264000)

**摘要:** **目的** 基于三相层流微流控芯片液液萃取技术在样品前处理上的优势, 建立超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)快速检测玉米油中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的方法。**方法** 设计了双通道和三通道入口的两种芯片, 将含有黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的样品溶液及萃取剂甲醇溶液引入芯片中进行 LLE, 溶液在芯片通道上分别形成单个和双个稳定的层流界面。将所得的萃取液进行 UPLC-MS/MS 检测。对样品溶液与萃取剂的流速、芯片萃取通道的宽度等因素进行考察, 同时对两种芯片。**结果** 样品溶液流速为 200  $\mu\text{L}/\text{h}$ 、甲醇流速为 300  $\mu\text{L}/\text{h}$ , 萃取通道宽度为 200  $\mu\text{m}$  的三相层流微流控芯片的萃取效果更好且前处理时间更短。在最优流速下平行实验 6 次, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 5.6%, 芯片对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的萃取率为 96.8%, 检出限为 0.05  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 前处理时间为 15 min。**结论** 三相层流微流控芯片比双 Y 型层流微流控芯片对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的萃取率更高、萃取时间更短, 可为检测其他食品污染物提供参考。

**关键词:** 微流控芯片; 液液萃取; 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>; 超高效液相色谱-串联质谱法; 玉米油

## Detection of aflatoxin B<sub>1</sub> in corn oil by microfluidic chip liquid-liquid extraction combined with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

WANG Guan-Yu<sup>1,2</sup>, LIU Yue<sup>3</sup>, ZHOU Huan-Ying<sup>2</sup>, CAO Gao-Fang<sup>1\*</sup>, GAO Zhi-Xian<sup>2\*</sup>

(1. School of Public Health and Administration, Binzhou Medical University, Yantai 264000, China; 2. Institute of Environmental and Operational Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Academy of Military Sciences, Tianjin 300050, China; 3. Affiliated Hospital of Binzhou Medical University School, Yantai 264000, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for rapid detection of aflatoxin B<sub>1</sub> in corn oil by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) based on the advantages of liquid-liquid extraction technology based on three-phase laminar flow microfluidic chip in sample pre-processing. **Methods** Two

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目(2019B020211001)

**Fund:** Supported by the Research and Development Projects in Key Areas of Guangdong Province (2019B020211001)

\*通信作者: 曹高芳, 教授, 主要研究方向医学信息教育。E-mail: caogaofang2003@163.com

高志贤, 研究员, 主要研究方向为食品安全快速检测。E-mail: gaozhx@163.com

\*Corresponding author: CAO Gao-Fang, Professor, School of Public Health and Administration, Yantai 264000, China. E-mail: caogaofang2003@163.com

GAO Zhi-Xian, Professor, Institute of Environmental and Operational Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Academy of Military Sciences, Tianjin 300050, China. E-mail: gaozhx@163.com

types of chips with dual and triple channel inlets were designed, and the sample solution containing aflatoxin B<sub>1</sub> and the extractant methanol solution were introduced into the chip for liquid-liquid extraction, and the solution formed a single and double stable laminar flow interface on the chip channel. The resulting extract was detected by UPLC-MS/MS. The flow rate of the sample solution and the extractant and the width of the chip extraction channel were investigated, and the 2 chips were compared simultaneously. **Results** The three-phase laminar flow microfluidic chips with 200 μm extraction channel width at a flow rate of 200 μL/h for sample solution and 300 μL/h for methanol had better extraction effect and shorter pre-processing time. The relative standard deviation (RSD) was 5.6% in 6 parallel experiments at the optimal conditions, the extraction rate of aflatoxin B<sub>1</sub> by the chip was 96.8%, the limit of detection was 0.05 μg/kg, and the pretreatment time was 15 min. **Conclusion** The three-phase laminar flow microfluidic chip shows higher extraction rate and shorter extraction time for aflatoxin B<sub>1</sub> than the double-Y laminar flow microfluidic chip, and provides a reference for the detection of other food contaminants.

**KEY WORDS:** microfluidic chip; liquid-liquid extraction; aflatoxin B<sub>1</sub>; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; corn oil

## 0 引言

黄曲霉毒素(aflatoxins, AFTs)是由黄曲霉菌(*Aspergillus flavus*)或寄生曲霉(*Aspergillus parasiticus*)等曲霉属真菌产生的一组密切相关的有毒且致命的次级代谢产物<sup>[1]</sup>。目前为止,已发现约 20 多种 AFTs,有 17 种结构被确定<sup>[2]</sup>,常见的有黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>)、黄曲霉毒素 B<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>)、黄曲霉毒素 G<sub>1</sub> (AFG<sub>1</sub>)、黄曲霉毒素 G<sub>2</sub> (AFG<sub>2</sub>)及黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>)和黄曲霉毒素 M<sub>2</sub> (AFM<sub>2</sub>)。据国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)报告,AFTs 具有致癌作用和肝毒性,其中 AFB<sub>1</sub> 的毒性最强,被认定为 I 类致癌物<sup>[3]</sup>。由于目前的农业生产方式和食品加工技术不能完全去除 AFTs,所以谷物、花生和植物油等粮油极易收到 AFTs 的污染<sup>[4]</sup>,因此世界各地的监管机构对 AFTs 均有严格的限量标准。欧盟规定花生中的 AFB<sub>1</sub> 的最高安全水平为 2 μg/kg,总黄曲霉毒素(AFB<sub>1</sub>+AFB<sub>2</sub>+AFG<sub>1</sub>+AFG<sub>2</sub>)的最高安全水平为 4 μg/kg<sup>[5]</sup>。我国 GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》对玉米油、花生油中 AFB<sub>1</sub> 的最高安全水平为 20 μg/kg;对豆类、发酵食品等谷物中 AFB<sub>1</sub> 的最高安全水平为 5 μg/kg。由于各国家之间采用的风险分析方法不同,因此所设置安全水平存在着很大的差异性<sup>[6]</sup>。

由于食品样品基质种类繁多、成分复杂。因此,在 AFTs 准确检测的过程中,对样品进行前处理十分必要。前处理过程可实现对目标物的提取、富集和纯化,减少杂质干扰和提高检测灵敏度<sup>[7-8]</sup>。常见的前处理方法有液液萃取(liquid-liquid extraction, LLE)<sup>[9]</sup>、固相萃取(solid phase extraction, SPE)<sup>[10]</sup>、QuEChERS 法<sup>[11-12]</sup>和免疫亲和层析(immunoaffinity column, IAC)<sup>[13-14]</sup>。LLE 操作简单,但有机溶剂消耗较大,目标物质丢失较多;SPE 和 IAC 虽然选择

性更好、富集效率更高,但稳定性较差、重复利用率较低、价格较昂贵<sup>[15]</sup>。微流控芯片(microfluidic chip)又可称为芯片实验室(lab-on-a-chip),芯片中的微通道、微反应室等功能部件的尺寸均在微米级范围内。它的主要特点是小型化、集成化和便携化<sup>[16-18]</sup>。微流控芯片具有流体可控、试样消耗少、反应分析速度快等优点,可同时实现样品采样<sup>[19]</sup>、样品稀释、样品反应<sup>[20-21]</sup>、样品分离<sup>[22]</sup>和检测等功能,也即将样品从预处理到分析检测等多个步骤同时进行,并在极短时间内对多个样品进行快速分析检测<sup>[23]</sup>。微流控芯片 LLE 是指样品溶液和萃取剂分别从不同的通道入口进入芯片,液体在主通道上相遇,形成两相稳定层流(水相/油相)或三相稳定层流(水相/油相/水相)模式,样品溶液中的目标物扩散至萃取界面,然后再由萃取界面扩散至萃取剂中实现目标物的萃取与分离。微流控芯片 LLE 技术克服了传统 LLE 技术在操作中有有机溶剂消耗大、易挥发和目标物易丢失的缺点,提取效率高;同时与其他前处理方式相比,微流控芯片 LLE 技术还具有操作简单、目标物移动距离短和分离时间短的优点,可显著缩短前处理时间,为快速提取和检测玉米油中 AFB<sub>1</sub> 提供了机会。

目前,食品中 AFTs 的测定方法主要为高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)<sup>[24-25]</sup>、液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)<sup>[26]</sup>、酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)<sup>[27]</sup>等。HPLC 是检测不同样品中 AFTs 最常用的方法,由于 AFTs 在食品中的残留量通常极小,所以 HPLC 通常需与复杂的预处理方法结合使用,以提高检测的灵敏度。ELISA 在测定时常会出现假阳性现象、柱成本高、灵敏度低的缺点<sup>[28]</sup>。超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)结合了色谱对复杂样品的

高效分离能力及质谱的高选择性和高灵敏度的特点, 减少了样品检测时间, 提高检测效率, 被越来越多应用到食品样品的检测中。

本研究拟构建两种微流控芯片, 利用微流控芯片 LLE 技术在前处理过程中可形成稳定层流界面的特点, 提取分离玉米油中的 AFB<sub>1</sub>, 并通过萃取过程中溶液流速、芯片通道宽度的优化及两种芯片的对比, 得出最优的分离提取条件, 为玉米油中 AFB<sub>1</sub> 的测定提供一种新的前处理技术, 同时结合 UPLC-MS/MS 进行定量分析, 实现 AFB<sub>1</sub> 的快速检测。另外, 本研究旨在从前处理时间和回收率等方面对比两种微流控芯片, 为微流控芯片前处理玉米油中的 AFB<sub>1</sub> 提供理论依据, 也可为食物中真菌毒素的前处理提供新思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与设备

从天津市超市中随机采购花生油, 花生油采购量大于 1 L。

AFB<sub>1</sub> 标准品(纯度 98%, 北京百灵威科技有限公司); 甲醇、甲酸、乙腈(色谱纯, 美国赛默飞世尔公司)。

Waters-Xevo-TQ-MS 超高效液相色谱-三重四极杆质谱仪、Waters ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm, 美国 Waters 公司); AFB<sub>1</sub> 免疫亲和柱(3 mL, 天津赛奥斯生物科技有限公司); Milli-Q 去离子水发生器(美国 Millipore 公司); SPLab06 多泵头注射泵(保定申辰泵业有限公司)。

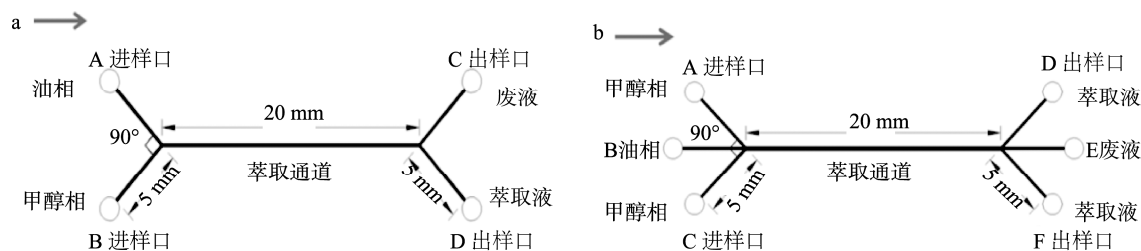
### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 芯片制备

参照文献[29-30], 设计双 Y 型层流微流控芯片及三相层流微流控芯片(图 1)。其中, 分支通道的进出口长度均为 5.0 mm, 宽度为 100 μm, 萃取通道的长度为 20.0 mm。3 种不同萃取通道宽度的芯片, 分别为 200、300、400 μm, 萃取通道深度 40 mm。芯片两端的进样口和出样口均钻有直径 1.0 mm 的小孔。

#### 1.2.2 标准溶液的制备

AFB<sub>1</sub> 标准曲线的制备: 将质量浓度为 1 mg/mL 的 AFB<sub>1</sub> 标准溶液分别用甲醇梯度稀释, 制备质量浓度分别为 1.0、5.0、10.0、25.0、50.0 ng/mL 的标准溶液。



注: a 为双 Y 型层流微流控芯片; b 为三相层流微流控芯片, 下同。

图 1 微流控芯片 LLE 示意图

Fig.1 Schematic diagrams of microfluidic chip LLE

#### 1.2.3 样品溶液的制备

取 50 μL 100 μg/mL AFB<sub>1</sub>, 加入到 10 mL 食用油中涡旋振荡 30 min, 得到质量浓度为 500 ng/mL 的 AFB<sub>1</sub> 样品。

#### 1.2.4 芯片的前处理

芯片在 LLE 的过程中, 使用丙酮、乙醇等有机溶剂冲洗通道后会出现界面不稳定的情况, 使得层流界面维持时间较短或无法形成层流界面。分析原因可能由于有机溶剂残留在芯片通道表面使通道表面的亲疏水性不同, 导致在 LLE 过程中形成不稳定的层流界面, 而用纯净水冲洗后的芯片形成的相界面更稳定和持久<sup>[29]</sup>。

因此, 本研究在实验前对芯片进行前处理操作: 用纯净水并以 200 μL/h 的流速冲洗芯片, 在显微镜下看不见任何杂质后, 用吹风机吹干芯片, 置通风处 20 min, 即可连接微流控毛细硅胶管和注射泵进行实验。

#### 1.2.5 微流控芯片的 LLE

如图 2 所示, 在双 Y 芯片及三相层流芯片进样口小孔的正上方用高 16.0 mm、外径 0.9、内径 0.4 mm 的钢针作为微流控毛细硅胶管的连接装置。然后连接上注射器和微流控毛细硅胶管, 并在注射器内分别装有 10 mL 甲醇溶液和 10 mL 加标的玉米油样品。注射器嵌入注射泵中, 在泵的驱动下分别在进样口导入样品和萃取液(甲醇溶液), 控制实验的反应条件(注射泵中液体的流速、萃取通道的压力等)使两相溶液在芯片中形成稳定的层流界面, 加标样品溶液经过萃取通道后在芯片的出样口端分别收集萃取液和废液。取 100 μL 萃取液到内称管里, 并进行 UPLC-MS/MS 检测。

#### 1.2.6 超高效液相色谱-串联质谱条件

##### (1) 色谱条件

按照参考文献[31]设定参数, Waters ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)。流动相 0.1% 甲酸(A); 乙腈(B); 流速: 0.3 mL/min; 进样量: 5 μL; 样品室温度: 15°C; 柱温: 35°C; 梯度洗脱条件: 0~1.0 min, 15% B; 1.0~1.5 min, 15%~95% B; 1.5~1.8 min, 95% B; 1.8~3.0 min, 95%~15% B; 3.0~5.0 min, 15% B。

##### (2) 质谱条件

按照参考文献[31]设定参数, 离子源: 电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI<sup>+</sup>); 离子源温度: 150°C; 毛细管电压 1.5 kV; 锥孔电压 30 V; 去溶剂气温度 350°C, 去溶剂气流速 650 L/hr; 检测方式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式。

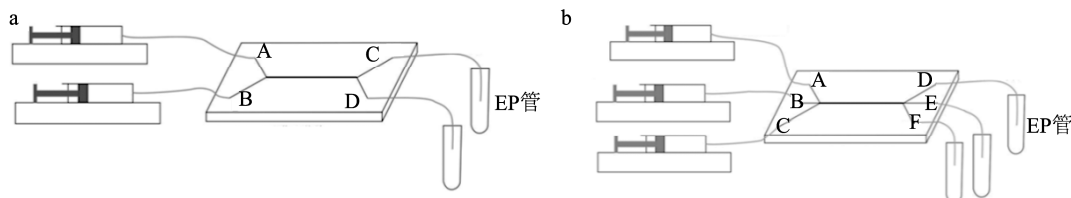


图 2 微流控芯片萃取过程和整体装备示意图

Fig.2 Sketch diagrams of the extraction process and overall equipment of microfluidic chip

### 1.3 数据处理

数据用外标法进行定量, 样品溶液经芯片萃取完成后, 收集到的萃取液通过 UPLC-MS/MS 中的 Masslynx 数据处理软件进行数据处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 萃取液与样品溶液流速的影响

由于萃取过程对两相接触时间和稳定性的特殊要求, 流速直接影响到萃取效果。本研究前期工作显示, 当溶液流速过低时( $<100 \mu\text{L/h}$ ), 玉米油(油相)和甲醇(水相), 两相溶液在微流控芯片的通道中不能形成稳定的层流, 使得两相溶液之间无法进行 LLE。当溶液流速过快时( $>400 \mu\text{L/h}$ ), 由于两相流速过快, 并且在微流控芯片通道的长度只有 2 cm 的情况下, 使得甲醇在芯片中的停留时间过短, 以至于甲醇来不及萃取样品溶液中的 AFB<sub>1</sub>。样品溶液同样也会以较高流速流出微流控芯片, 使目标物分散转移不充分, 从而导致 LLE 失败。因此, 本研究将样品溶液流速固定在  $200 \mu\text{L/h}$ ; 甲醇溶液分别定为  $400$ 、 $300$ 、 $200 \mu\text{L/h}$ , 用甲醇对样品溶液中的 AFB<sub>1</sub> 进行 LLE, 收集萃取液后, 结合 UPLC-MS/MS 进行检测。

在双 Y 型层流微流控 LLE 芯片和三相层流微流控 LLE 芯片中, 甲醇溶液从  $400 \mu\text{L/h}$  逐渐降低到  $200 \mu\text{L/h}$ 。当芯片通道宽度为  $400 \mu\text{m}$  时, AFB<sub>1</sub> 萃取率分别为  $57.6\%$ 、 $63.2\%$ 和  $64.8\%$ ;  $57.0\%$ 、 $65.0\%$ 和  $68.8\%$ 。当芯片通道宽度为  $300 \mu\text{m}$  时, AFB<sub>1</sub> 萃取率分别为  $64.4\%$ 、 $67.2\%$ 和  $72.0\%$ ;  $69.6\%$ 、 $69.6\%$ 和  $88.0\%$ 。当芯片通道宽度为  $200 \mu\text{m}$  时, AFB<sub>1</sub> 萃取率分别为  $66.0\%$ 、 $68.4\%$ 和  $82.0\%$ ;  $88.0\%$ 、 $96.8\%$ 和  $93.6\%$ 。结果显示, 在微流控 LLE 芯片中, 当微流控芯片的通道宽度不变的情况下, 随着甲醇流速的降低, AFB<sub>1</sub> 萃取率逐渐增大。这是由于随着流速的降低, 甲醇溶液在芯片通道中的停留时间增加, 使得甲醇有更长的时间对样品溶液中的 AFB<sub>1</sub> 进行萃取。与双 Y 型层流微流控芯片相比, 三相层流微流控芯片中三相溶液会形成两个稳定层流界面, 所以三相层流微流控芯片中的两相甲醇溶液同时对样品溶液中的 AFB<sub>1</sub> 进行萃取, 萃取率更高, 萃取时间也更短。在  $200 \mu\text{m}$  的三相层流微流控芯片中, 甲醇溶

液从  $300 \mu\text{L/h}$  降低到  $200 \mu\text{L/h}$ , AFB<sub>1</sub> 萃取率相差不大, 但是甲醇溶液流速越快, 萃取时间越短。故本研究选择样品溶液流速为  $200 \mu\text{L/h}$ 、甲醇流速为  $300 \mu\text{L/h}$  作为芯片层流萃取的最优萃取流速。

### 2.2 芯片通道宽度的影响

芯片萃取通道的宽度也是影响萃取结果的因素之一。本研究分别考察了  $200$ 、 $300$ 、 $400 \mu\text{m}$  3 种萃取通道宽度芯片的萃取效果, 当样品溶液流速和甲醇溶液流速固定不变的情况下, 随着芯片通道宽度从  $400 \mu\text{m}$  逐渐缩短到  $200 \mu\text{m}$ , AFB<sub>1</sub> 的萃取率逐渐上升。无论是双 Y 型层流微流控芯片还是三相层流微流控芯片, 萃取通道宽度越窄, 萃取效率越高, 但在前期研究工作中发现, 芯片萃取通道宽度过窄 ( $<200 \mu\text{m}$ ), 注射器与微流控毛细硅胶管之间及微流控毛细硅胶管与钢针之间的压力就会越大, 压力越大就容易导致两者连接处会出现漏液的情况, 从而导致两相溶液无法在芯片通道内形成稳定的层流。故本研究选择  $200 \mu\text{m}$  通道宽度作为芯片层流萃取的最佳通道宽度。

### 2.3 方法的线性范围及检出限

分别配制质量浓度为  $1.0$ 、 $5.0$ 、 $10.0$ 、 $25.0$ 、 $50.0 \mu\text{g/L}$  的 AFB<sub>1</sub> 标准溶液, 以 AFB<sub>1</sub> 质量浓度( $\mu\text{g/L}$ )为横坐标(X), 以质谱峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 得到线性方程  $Y=485.169X+175.600$ 。在  $0.5\sim 50.0 \mu\text{g/L}$  范围内呈良好的线性关系, 相关系数为  $0.9998$ 。以  $S/N=3$  计算检出限为  $0.05 \mu\text{g/kg}$ ;  $S/N=10$  计算定量限为  $0.15 \mu\text{g/kg}$ 。由此可知, 本方法灵敏度高, 可有效对玉米油中的 AFB<sub>1</sub> 进行定量检测。

### 2.4 三相层流芯片与双 Y 型芯片的比较

在相同溶液流速和相同通道宽度下, 与双 Y 型层流微流控芯片相比, 三相层流微流控芯片的萃取率有所提高。因为三相层流微流控芯片是两相甲醇溶液同时对样品溶液中的 AFB<sub>1</sub> 进行萃取, 所以三相层流微流控芯片的萃取率会更高。并且溶液在双 Y 型和三相层流微流控芯片通道上分别形成单个和双个稳定的层流界面, 因此三相层流微流控芯片的萃取时间会减半。结果显示, 三相层流微流控芯片前处理的时间仅为  $15 \text{ min}$ , 而双 Y 型层流微流控芯片前处理的时间为  $30 \text{ min}$ 。

## 2.5 三相层流微流控芯片萃取重现性的考察

在样品溶液流速为 200  $\mu\text{L}/\text{h}$ , 甲醇溶液流速为 300  $\mu\text{L}/\text{h}$  时, 用 200  $\mu\text{m}$  通道宽度的三相层流微流控芯片对 AFB<sub>1</sub> 进行萃取, 重复 6 次实验, 将收集到的萃取液经 UPLC-MS/MS 检测。结果显示, AFB<sub>1</sub> 的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 5.6%, 芯片的萃取方法重现性良好。

## 2.6 实际样加标回收

取超市售卖的玉米油样品, 以低、中、高 3 种不同水平(2、10、20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )向样品中加入 AFB<sub>1</sub>, 进行样品回收率的检测和日精密度分析。在三相层流微流控芯片的最优条件下对 AFB<sub>1</sub> 进行萃取, 重复实验 6 次, 将收集到的萃取液经 UPLC-MS/MS 检测。测得玉米油中的 AFB<sub>1</sub> 平均回收率在 91.56%~97.73%之间, RSDs 在 4.63%~7.84%之间。回收率和重复性数据均满足检测要求。并且 LLE 前处理方法的处理时间只需 15 min。

参照 GB 5009.22—2016《食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》中的免疫亲和柱的处理方法, 对加标的 AFB<sub>1</sub> (2、10、20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )进行 UPLC-MS/MS 检测。免疫亲和柱前处理方法的处理时间需要 40 min、检出限为 0.04  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、回收率在 88.45%~94.50%。本研究所建立方法前处理时间为 15 min、检出限为 0.05  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、回收率在 91.56%~97.73%。结果所示, 三相层流微流控芯片缩短了样品前处理时间, 且两种方法的检出限和回收率无显著差别, 表明微流控芯片 LLE 技术适用于快速提取真实样品中的 AFB<sub>1</sub>。

## 3 结论

本研究利用制备的两种微流控芯片建立了微流控芯片 LLE 技术结合 UPLC-MS/MS 检测玉米油中 AFB<sub>1</sub>, 并对样品溶液与萃取剂进入芯片的流速、芯片萃取通道的宽度等因素进行优化, 利用三相层流微流控芯片 LLE 在萃取通道上可形成两个稳定层流界面的优点, 与双 Y 型层流微流控芯片和国标方法中免疫亲和柱前处理方法进行对比。本研究建立的方法具有样品前处理操作简单、前处理时间短及有机溶剂消耗少等优点, 能够满足样品中 AFB<sub>1</sub> 快速检测。

## 参考文献

- [1] ALSHANNAQ A, YU JH. Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2017, 14(6): 632–652
- [2] 李彦伸, 卢国柱, 曲劲尧, 等. 霉菌毒素检测与脱毒技术研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(12): 3919–3929.
- LI YS, LU GZ, QU JY, *et al.* Research progress of mycotoxin detection and detoxification techniques [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(12):

3919–3927.

- [3] REN Y, ZHANG Y, SHAO S, *et al.* Simultaneous determination of multi-component mycotoxin contaminants in foods and feeds by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1143(1-2): 48–64.
- [4] KARLOVSKY P, SUMAN M, BERTHILLER F, *et al.* Impact of food processing and detoxification treatments on mycotoxin contamination [J]. *Mycotox Res*, 2016, 32(4): 179–205.
- [5] NO E. Commission regulation (EC) No. 1881/2006 of 19 December 2006. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (Text with EEA relevance) [J]. *Off J Eur Comm*, 1881, 364(20–12): 2006.
- [6] VANEGMOND HP, SCHOTHORST RC, JONKER MA. Regulations relating to mycotoxins in food [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 389(1): 147–157.
- [7] YE J, XUAN ZH, 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.
- [8] SONG LX, HE J, CHEN NN, *et al.* Combined biocompatible medium with molecularly imprinted polymers for determination of aflatoxins B<sub>1</sub> in real sample [J]. *J Sep Sci*, 2019, 42(24): 3679–3687.
- [9] MOHEBBI A, NEMATI M, FARAJZADEH MA, *et al.* Application of calcium oxide as an efficient phase separation agent in temperature-induced counter-current homogenous liquid-liquid extraction of aflatoxins from dried fruit chips followed by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination [J]. *J Sep Sci*, 2022, 45(11): 1894–1903.
- [10] WANG Y, HOU C, DAI Y, *et al.* Determination of aflatoxin B<sub>1</sub> by novel nanofiber-packed solid-phase extraction coupled with a high performance liquid chromatography-fluorescence detector [J]. *Anal Method*, 2023, 15(4): 472–481.
- [11] 谭莉, 孟繁磊, 范宏, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定玉米中 9 种真菌毒素[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(21): 302–309.
- TAN L, MENG FL, FAN H, *et al.* Determination of 9 mycotoxins in maize by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2022, 43(21): 302–309.
- [12] 王丽英, 任贝贝, 路杨, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测玉米油中的黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(12): 3924–3928.
- WANG LY, REN BB, LU Y, *et al.* Determination of aflatoxins and zearalenone in corn oil by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(12): 3924–3928.
- [13] 李丽, 吴宇, 王海波, 等. 全自动免疫亲和和固相萃取超高效液相色谱法测定粮油中黄曲霉毒素[J]. *中国粮油学报*, 2020, 35(7): 157–164.
- LI L, WU Y, WANG HB, *et al.* High throughput method for analysis of aflatoxins in cereals and oils using automated immunoaffinity cleaning up and ultra-high performance liquid chromatographyjournal of the Chinese cereals and oils association [J]. *J Cereal Oils Ass*, 2020, 35(7): 157–164.
- [14] 华丽霞, 曾华兰, 蒋秋平, 等. 免疫亲和净化-光化学衍生液相色谱检测不同样品中的黄曲霉毒素[J]. *中国农业科技导报*, 2020, 22(7): 181–187.
- HUA LX, ZENG HL, JIANG QP, *et al.* Detection of aflatoxin in different samples by immunoaffinity purification combines with photochemical

- derivatization high-performance liquid chromatography [J]. *J Agric Sci Technol*, 2020, 22(7): 181–187.
- [15] 胡文尧, 龙美名, 胡玉斐, 等. 食品中真菌毒素样品前处理方法的研究进展[J]. *色谱*, 2020, 38(3): 307–316.  
HU WY, LONG MM, HU YF, *et al.* Advances on preparation methods for mycotoxins in food samples [J]. *Chin J Chromatogr*, 2020, 38(3): 307–316.
- [16] ZHANG J, YAN S, YUAN D, *et al.* Fundamentals and applications of inertial microfluidics: A review [J]. *Lab Chip*, 2016, 16(1): 10–34.
- [17] ARALEKALLU S, BODDULA R, SINGH V. Development of glass-based microfluidic devices: A review on its fabrication and biologic applications [J]. *Mater Design*, 2023, 225: 111517.
- [18] WANG A, FENG X, HE G, *et al.* Recent advances in digital microfluidic chips for food safety analysis: Preparation, mechanism and application [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2023, 134: 136–148.
- [19] JIANG Y, WANG H, LI S, *et al.* Applications of micro/nanoparticles in microfluidic sensors: A review [J]. *Sensors*, 2014, 14(4): 6952–6964.
- [20] STERN L, BAKAL A, TZUR M, *et al.* Doppler-based flow rate sensing in microfluidic channels [J]. *Sensors*, 2014, 14(9): 16799–16807.
- [21] LIN YS, YANG CH, WANG CY, *et al.* An aluminum microfluidic chip fabrication using a convenient micromilling process for fluorescent poly(DL-lactide-co-glycolide) microparticle generation [J]. *Sensors*, 2012, 12(2): 1455–1467.
- [22] DASH S, MOHANTY S. Dielectrophoretic separation of micron and submicron particles: A review [J]. *Electrophoresis*, 2014, 35(18): 2656–2672.
- [23] MARK D, HAEBERLE S, ROTH G, *et al.* Microfluidic lab-on-a-chip platforms: requirements, characteristics and applications [J]. *Chem Soc Rev*, 2010, 39(3): 1153–1182.
- [24] SADOK I, SZMAGARA A, STANISZEWSKA MM. The validated and sensitive HPLC-DAD method for determination of patulin in strawberries [J]. *Food Chem*, 2018, 245(15): 364–370.
- [25] NARJIS N, AIZA K, KINZA K, *et al.* Quantitative scrutinization of aflatoxins in different spices from Pakistan [J]. *Int J Environ Anal Chem*, 2016, 2016: 4907425.
- [26] ROMERA D, MATEO EM, MATEO-CASTRO R, *et al.* Determination of multiple mycotoxins in feedstuffs by combined use of UPLCMS/MS and UPLCQTOF-MS [J]. *Food Chem*, 2018, 267: 140–148.
- [27] TARANNUM N, NIPA MN, DAS S, *et al.* Aflatoxin M<sub>1</sub> detection by ELISA in raw and processed milk in Bangladesh science direct [J]. *Toxicol Rep*, 2020, 7: 1339–1343.
- [28] 吴静娜, 杨秀娟, 韦璐阳, 等. 磁性固相萃取液质联用法测定植物油中的黄曲霉毒素[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(4): 1487–1494.  
WU JN, YANG XJ, WEI LY, *et al.* Research progress of mycotoxin detection and detoxification techniques [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(4): 1487–1494.
- [29] 萧金仪, 曾家健, 卢啟贤, 等. 双相层流微流控芯片快速提取人参皂苷[J]. *中药材*, 2015, 38(5): 1070–1072.  
XIAO JY, ZENG JJ, LU QX, *et al.* Rapid extraction of ginsenosides by biphasic laminar flow microfluidic chip [J]. *J Chin Med Mater*, 2015, 38(5): 1070–1072.
- [30] 秦卫卫, 卢啟贤, 萧金仪, 等. 微流控芯片三相层流用于人参中人参皂苷的提取研究[J]. *广东药科大学学报*, 2017, 33(5): 590–594.  
QIN WW, LU QX, XIAO JY, *et al.* Study on extraction of ginsenosides from panax ginseng by microfluidic chip three-phase laminar flow [J]. *J Guangdong Pharm Univ*, 2017, 33(5): 590–594.
- [31] 刘明珠, 成亚倩, 王永辉, 等. 免疫磁性微球预处理结合超高效液相色谱-串联质谱法快速检测花生和花生油中 AFB<sub>1</sub> [J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(2): 443–448.  
LIU MZ, CHENG YQ, WANG YH, *et al.* Rapid determination of aflatoxin B<sub>1</sub> peanut and peanut oil by an immunomagnetic beads purification sample pretreatment method combined with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(2): 443–448.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

## 作者简介



王冠宇, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全  
E-mail: W18772964301@163.com



曹高芳, 教授, 主要研究方向为医学信息教育。  
E-mail: caogaofang2003@163.com



高志贤, 研究员, 主要研究方向为食品安全快速检测。  
E-mail: gaozhx@163.com