

# 磁性固相萃取液质联用法测定植物油中的黄曲霉毒素

吴静娜, 杨秀娟, 韦璐阳, 蒋越华, 农耀京\*

[广西壮族自治区亚热带作物研究所, 农业农村部农产品质量安全风险评估实验室(南宁),  
农业农村部亚热带果品蔬菜质量监督检验测试中心, 南宁 530001]

**摘要: 目的** 建立基于磁性多壁碳纳米管的磁性固相萃取结合高效液相色谱串联质谱测定植物油中黄曲霉毒素的方法。**方法** 样品加入正己烷后, 用 pH 为 3.0、体积分数为 12.5%的乙腈-水溶液提取, 而后加入 MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 进行磁性固相萃取。对影响磁性固相萃取的条件如萃取剂、吸附剂用量、吸附时间、洗脱剂、洗脱时间等进行优化。**结果** 黄曲霉毒素 AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub> 在其线性范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.994, 方法检出限为 0.02~0.05 μg/kg, 定量限为 0.08~0.15 μg/kg。在 0.10、1.00 和 5.00 μg/kg 3 个添加水平下, 4 种黄曲霉毒素平均回收率在 75.1%~96.5%之间, 相对标准偏差在 3.2%~6.2%之间。**结论** 该方法简便、快速、高效、准确, 可用于植物油中黄曲霉毒素的检测。

**关键词:** 磁性固相萃取; 黄曲霉毒素; 多壁碳纳米管; 高效液相色谱串联质谱法

## Determination of aflatoxins in vegetable oil by liquid chromatography-mass spectrometry with magnetic solid phase extraction

WU Jing-Na, YANG Xiu-Juan, WEI Lu-Yang, JIANG Yue-Hua, NONG Yao-Jing\*

[Laboratory of Quality Risk Assessment for Agro-products (Nanning), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Quality Supervision and Testing Center of Subtropical Fruit and Vegetable, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangxi Subtropical Crops Research Institute, Nanning 530001, China]

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the determination of aflatoxin in vegetable oil by magnetic solid phase extraction combined with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry based on magnetic multi-walled carbon nanotubes. **Methods** After adding n-hexane, the samples were extracted with acetonitrile-water solution with pH of 3.0 and volume fraction of 12.5%, then MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> was added for magnetic solid phase extraction. The conditions affecting magnetic solid phase extraction were optimized, such as extractant selection, the amount of MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, adsorption time, eluent solvent selection and eluent time. **Results** Aflatoxin AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> and AFG<sub>2</sub> showed good linear relationship within their linear range, and the correlation coefficients were all higher than 0.994. The limits of detection and the limits of quantitation of pesticides were in the range of 0.02–0.05 μg/kg and 0.08–0.15 μg/kg, respectively. The average recoveries at spiked levels of 0.10, 1.00, 5.00 μg/kg ranged from 75.1%–96.5% with relative standard deviations between 3.2%–6.2%. **Conclusion** This method is

基金项目: 广西壮族自治区公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(桂热研 201810)

Fund: Supported by Basic Scientific Research of Public Welfare Research Institutes of Guangxi (GRY201810)

\*通信作者: 农耀京, 高级农艺师, 主要研究方向为农产品质量安全与风险评估。E-mail: 2455889212@qq.com

\*Corresponding author: NONG Yao-Jing, Senior Agronomist, Guangxi Subtropical Crops Research Institute, No.22, Yongwu Road, Xingning District, Nanning 530001, China. E-mail: 2455889212@qq.com

simple, fast, efficient and accurate, which could be applied to the determination of aflatoxin in vegetable oils.

**KEY WORDS:** magnetic solid phase extraction; aflatoxin; multi-walled carbon nanotubes; high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry

## 0 引言

黄曲霉毒素(aflatoxins, AFTs)是毒性极强的一类真菌毒素,是由黄曲霉菌或寄生曲霉菌产生的结构相似的高毒次生代谢产物<sup>[1]</sup>。玉米、花生、大米及植物油脂等粮油及其制品的生产、流通、储运等过程中,极易由于环境、保存条件等方式的操作不当,使农产品受到污染。目前发现的黄曲霉毒素约 20 多种,已确定结构的有 17 种<sup>[2]</sup>,常见的有 aflatoxin B<sub>1</sub>(AFB<sub>1</sub>)、aflatoxin B<sub>2</sub>(AFB<sub>2</sub>)、aflatoxin G<sub>1</sub>(AFG<sub>1</sub>)和 aflatoxin G<sub>2</sub>(AFG<sub>2</sub>)。其中以黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 毒性最强,被世界卫生组织的癌症研究机构认定为 I 类致癌物<sup>[3]</sup>。随着食品安全管控越来越严格,世界各国对 AFTs 制定了严格的限量标准。欧盟的黄曲霉毒素限量标准中没有针对油脂及其制品的分类,但标准里列出的谷物、豆类、坚果及其制品等食品中黄曲霉毒素的限量要求比我国更为严格,AFB<sub>1</sub> 的限量值为 2.0~12.0 μg/kg, AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub> 总量限量值为 4.0~15.0 μg/kg<sup>[4]</sup>。我国的限量标准<sup>[5]</sup>对油脂及其制品中的 AFB<sub>1</sub> 有明确的限量规定,其中植物油脂(花生油、玉米油除外),AFB<sub>1</sub> 限量值为 10.0 μg/kg;花生油、玉米油为 20.0 μg/kg;暂未对黄曲霉毒素 AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub> 的总量有限制要求。

黄曲霉毒素的标准检测方法<sup>[6]</sup>主要为高效液相色谱法<sup>[7]</sup>、同位素稀释液相色谱-串联质谱法<sup>[8-10]</sup>、酶联免疫吸附测定法<sup>[11]</sup>。色谱法和质谱法直接检测植物油中黄曲霉毒素的难度在于:一、真菌毒素含量低,如不经过富集,难以准确测定;二、对于基质干扰小的样品,可以采用同位素内标法,但是内标试剂种类稀缺,价格也比较昂贵;三、样品基质复杂,植物油中含有大量的油脂、脂肪酸和色素等<sup>[12]</sup>,不仅对测定造成干扰,降低分析的灵敏度,也容易对仪器造成损伤。酶联免疫分析法则存在假阳性高、灵敏度低、柱成本高、抗体种类少等缺点,目前只限于少数毒素的分离富集。因此,黄曲霉毒素的准确测定必须通过有效的前处理技术解决基质干扰等问题。近几年报道得较多的液相色谱串联质谱法测定黄曲霉毒素的前处理方法主要有: QuEChERS 法<sup>[13-15]</sup>,固相萃取法<sup>[10,16]</sup>,免疫亲和柱法<sup>[17-18]</sup>。这些方法主要针对基质比较简单的样品,如玉米、小麦、大米、高粱等。

磁性固相萃取(magnetic solid phase extraction, MSPE)技术<sup>[19]</sup>近几年来逐渐成为复杂基体样品前处理的研究热点。其原理是将磁性吸附剂分散于样品提取液中与目标物充分接触,通过分子扩散使目标物能快速地随提取液转移

至吸附剂,再用强磁铁吸附磁性吸附剂,弃去提取液,最后将目标物从吸附剂上洗脱下来。MSPE 技术克服了传统固相萃取技术在过柱、离心或过滤操作中耗时、易损失的缺点,提取效率高;洗脱过程去除了提取液,降低了基质、杂质的干扰。此外,通过改变吸附剂的种类,可以拓宽 MSPE 在有毒有害物质检测前处理的应用范围。目前应用于真菌毒素前处理方法的磁性固相萃取主要以碳基材料<sup>[20-22]</sup>(如石墨烯、碳纳米管、活性炭、石墨化炭黑等)作为表面功能修饰材料。本研究在羧基化多壁碳纳米管的基础上采用共沉淀法制备 MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁性纳米颗粒,利用多壁碳纳米管与目标物的 π-π 相互作用、氢键相互作用等作用力,提高吸附剂对黄曲霉毒素的选择性,为植物油中黄曲霉毒素的测定提供了一种新的前处理技术。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

超高压高效液相色谱仪、TRTracer100-AIM-9000 红外光谱仪-红外显微镜(日本岛津公司); AB SCIEX-API3200 三重四级杆串联质谱仪(美国 AB SCIEX 公司); Thermo Helios G4CX 电子显微镜(美国 Thermo Scientific 公司); 聚焦离子束纳米制备和加工系统(德国 CarlZeiss 公司); 振荡培养箱(上海知楚仪器有限公司); 真空干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司); 加热磁力搅拌器(德国 IKA 公司); 多壁碳纳米管(-COOH, 20~30 nm, >98%, 中国科学院成都有机化学有限公司)。

100 mg/L 黄曲霉毒素 AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub> 标准溶液(青岛普瑞邦生物工程有限公司)。

甲醇、无水乙醇、乙酸乙酯、丙酮、乙腈、三氟乙酸(色谱纯,美国 Thermo Fisher 公司); FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O、FeCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O、NaOH(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 WCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的制备

采用共沉淀法制备 WCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>: 称取 5.2 g FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 和 2.0 g FeCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 溶于 25 mL 除氧水中,加入 1.0 mL 12 mol/L HCl 加热溶解,配置成 Fe<sup>3+</sup>溶液备用。于 250 mL 1.5 mol/L NaOH 溶液加入 2.0 g WCNTs-COOH,转入三颈瓶,在 N<sub>2</sub> 保护下于 85 °C 水浴加热搅拌 30 min 后,将 Fe<sup>3+</sup>溶液逐滴加入,生成 MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米颗粒。用强磁铁吸附生成的纳米颗粒,弃去反应液,去离子水清洗直至 pH=7.0。最后将 MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 置于 50 °C 真空干燥

箱中干燥 24 h。

### 1.2.2 标准溶液的配制

混合标准曲线的工作配制:将质量浓度为 100 mg/L 的 AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub> 标准溶液分别用乙腈逐级稀释,配制上机浓度为 1.0、5.0、10.0、20.0、30.0、50.0 μg/L 的 AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub> 的混合标准溶液,上机溶液采用甲醇定容。

### 1.2.3 样品前处理

#### (1)提取

称取植物油 5 g(精确至 0.01 g),加入 3.0 mL 正己烷(去除脂溶性杂质,此外降低样品黏度对吸附剂磁性的影响,使吸附剂更好的分散在样品中),混匀 3 min 后,再加入 10.0 mL pH 为 3.0 体积分数为 12.5%的乙腈-水溶液,涡旋混匀。

#### (2)磁性固相萃取

加入 50.0 mg MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>,低速振荡吸附 15 min 后用强磁铁吸附磁性吸附剂,弃去上清液。加入 5.0 mL 乙腈振荡洗脱 5 min,洗脱完毕吸附剂用强磁铁吸附,转出洗脱液,氮吹近干,用甲醇定容至 1.0 mL, HPLC-MS/MS 上机检测。

### 1.2.4 液相色谱-串联质谱条件

#### (1)液相色谱条件

岛津 Shim-pack XR-ODSII-C<sub>18</sub> 色谱柱(2.0 mm×75 mm, 2.2 μm),流动相:乙腈(A)-0.1%甲酸水(B);流速:0.30 mL/min;进样体积:5.0 μL;柱温:40 °C。液相色谱梯度洗脱程序:0~1.0 min, 2%(A)-98%(B); 1.0~5.0 min, 75%(A)-25%(B); 5.0~5.5 min, 75%(A)-25%(B); 5.5~8.0 min, 2%(A)-98%(B)。

#### (2)质谱条件

离子源:电喷雾电离 ESI(+);离子源温度:550 °C;电喷雾电压:5.5 kV;气帘气压力:55 psi;雾化气压力:55 psi;加热气压力:55 psi;扫描模式:MRM 多反应监测模式。

## 2 结果与分析

### 2.1 质谱条件优化

分别将 4 种黄曲霉毒素标准溶液配制成 200 μg/L 质量

浓度的标准溶液,直接质谱进样,首先在正离子模式下进行全扫描,确定化合物的分子离子,将分子离子作为母离子,给予一定的碰撞能量和碰撞气体,全扫描二级离子,选取丰度较强、干扰较小的 2 个子离子分别作为定性及定量离子,并优化母离子电压和碰撞电压, AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub> 的质谱检测参数见表 1。

### 2.2 吸附剂 MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的表征

#### 2.2.1 MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 电镜扫描

将 1.2.1 所制备的 MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米颗粒,喷金预处理后经电镜扫描测定,得到扫描电镜图如图 1 所示,由图 1 可知,多壁碳纳米管团聚在强磁纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 周围,磁性纳米颗粒近似球形,平均粒径为 43 nm。

#### 2.2.2 MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 红外光谱

MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 吸附剂是磁性固相萃取萃取效率的保证。本研究采用的是含羧基(-COOH)的多壁碳纳米管,-COOH 的引入使多壁碳纳米管表面能接上各种结构的基团或大分子,减少团聚现象,能更好地分散在有机溶剂中,使多壁碳纳米管能更充分与 Fe<sup>3+</sup> 接触,形成均匀的纳米颗粒。由红外光谱图(图 2)可知,在 1300~1400 cm<sup>-1</sup> 附近有 -C=O 的伸缩振动,3300~3400 cm<sup>-1</sup> 附近有 -OH 的伸缩振动。

### 2.3 磁性固相萃取条件的优化

#### 2.3.1 萃取剂的选择

萃取溶剂的极性和浓度是目标物能从样品转入有机相的重要因素。黄曲霉毒素易溶于甲醇、乙腈等溶剂,因此,本研究比较了体积分数为 12.5%、30%、50%和 100% 的乙腈-水和甲醇-水作为萃取剂时对黄曲霉毒素回收率的影响。采用空白花生油样品中添加 AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub> 混合标样进行实验,添加水平均为 10 μg/kg。结果见图 3。由图 3 可知:①采用甲醇和乙腈提取,回收率基本能在 60%以上;②体积分数越大,即甲醇和乙腈的浓度越高,提取剂与磁性固相萃取剂的吸附竞争就越强,回收率会降低,12.5%的乙腈水作为萃取剂时,回收效果最佳。本研究选择 12.5%的乙腈-水体系作为萃取剂。

表 1 黄曲霉毒素质谱检测参数  
Table 1 MS detection parameters for aflatoxins

黄曲霉毒素	保留时间/min	母离子( <i>m/z</i> )	子离子( <i>m/z</i> )	碰撞能量/eV	去簇电压/eV
AFB <sub>1</sub>	4.07	313.2	285.0*/241.3	36.0/38.2	75.0/74.6
AFB <sub>2</sub>	3.98	315.2	259.3*/287.4	30.5/31.2	80.3/80.0
AFG <sub>2</sub>	3.88	329.3	243.3*/311.3	30.2/34.1	90.4/91.2
AFG <sub>1</sub>	3.75	331.3	245.3*/313.4	24.0/33.2	85.2/84.3

注: \*为定量离子。

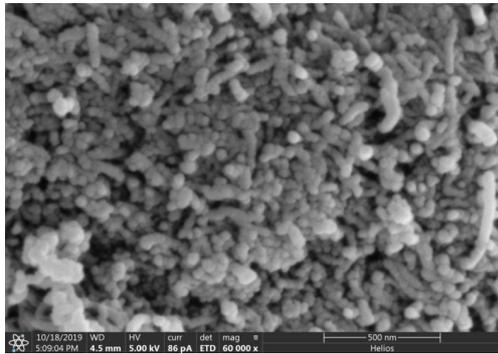


图 1 MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>扫描电镜图  
Fig.1 SEM image of MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

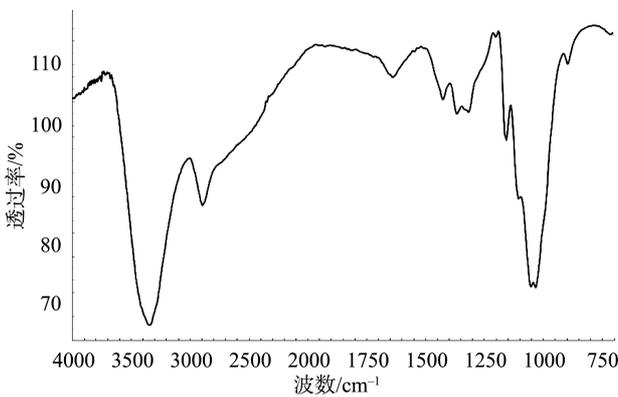


图 2 MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>红外光谱图  
Fig.2 Infrared spectrogram of MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

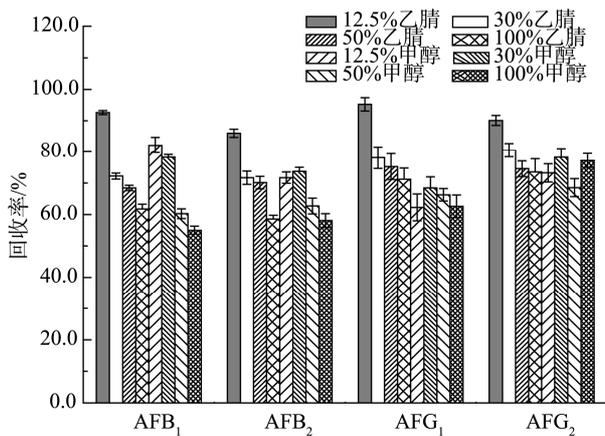


图 3 萃取剂对黄曲霉毒素萃取效率的影响(n=3)  
Fig.3 Effect of extractant on extraction efficiency of aflatoxins (n=3)

2.3.2 萃取剂 pH 的影响

黄曲霉毒素在酸性条件下能稳定存在。因此，需要对萃取剂的酸度选择进行优化，以保证萃取效率。本研究对比了 12.5%乙腈-水萃取剂 pH 值分别为 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 时的萃取效果，酸度对回收率的影响见图 4。

结果表明，pH 为 3.0 时回收率最高。pH 值继续增大，部分黄曲霉毒素分解，回收率开始有降低的趋势。因此，本研究选择萃取剂的 pH 为 3.0。

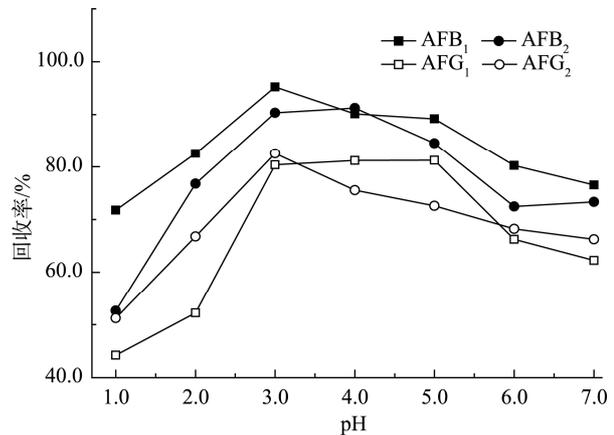


图 4 pH 对黄曲霉回收率的影响  
Fig.4 Effect of pH on the recoveries of aflatoxins

2.3.3 吸附时间的影响

吸附时间是影响萃取效率的因素之一，选择合理的吸附时间既能提高吸附率又能节省前处理的时间。在 pH=3.0 的 12.5%乙腈-水作为萃取剂的条件下，考察了吸附时间分别为 1、3、5、10、15、25 min 时对黄曲霉毒素回收率的影响。结果见图 5。由图 5 可知，1 min 至 10 min 时，AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub> 的回收率随着时间增加而增大，15 min 时 4 种黄曲霉毒素的回收率均达到 85%~95% 间，基本达到吸附平衡。随着吸附时间的延长，AFB<sub>1</sub> 的回收率基本不变，AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub> 的回收率降低，可能原因是 AFB<sub>1</sub> 与磁性吸附剂 MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的作用力相对于其他 3 种黄曲霉毒素更强。综上考虑，吸附时间选择 15 min。

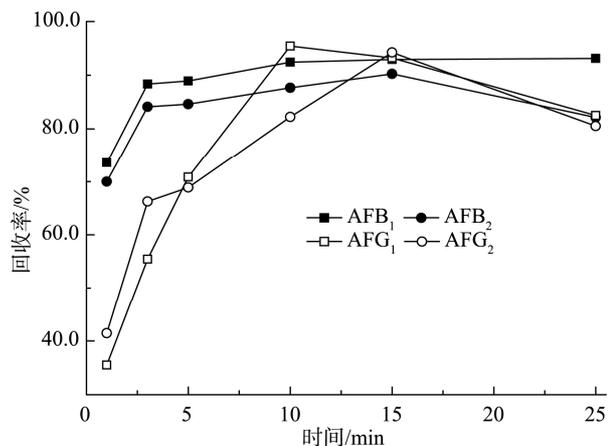


图 5 吸附时间对黄曲霉毒素回收率的影响  
Fig.5 Effect of adsorption time on the recoveries of aflatoxins

2.3.4 MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 吸附剂用量的影响

由于 4 种黄曲霉毒素在磁性吸附剂 MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

上存在吸附竞争, 吸附剂的用量会对萃取效率有显著影响。本研究考察了吸附剂用量分别为 5.0、10.0、50.0、100、120 mg 时的萃取效果。实验结果见图 6, 随着吸附剂用量的增加, 4 种黄曲霉毒素的回收率逐渐增大直至达到吸附平衡, 此时吸附剂用量为 50.0 mg。随着吸附剂用量继续增加, 黄曲霉毒素的回收率明显降低。其原因可能是由于吸附剂用量过多, 造成洗脱困难, 使回收率下降。因此, 吸附剂用量选择 50.0 mg。

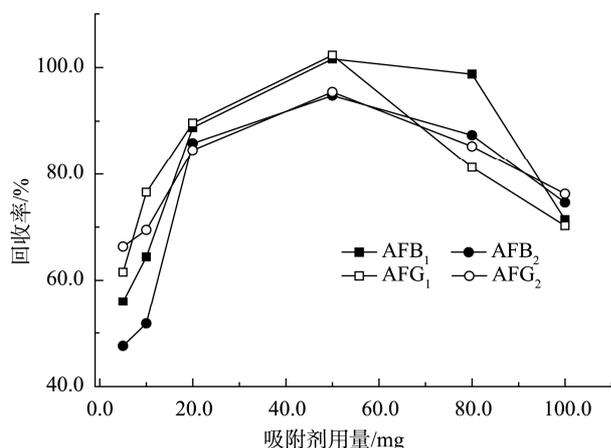


图 6 吸附剂用量的影响  
Fig.6 Effect of the WMCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> amount

### 2.3.5 洗脱剂的选择

洗脱剂的极性直接影响洗脱效率。本研究选择乙腈、甲醇、乙酸乙酯、二氯甲烷和丙酮作为洗脱剂, 考察洗脱效果, 见图 7。5 种洗脱剂洗脱效果为乙腈 > 甲醇 > 乙酸乙酯 > 二氯甲烷 > 丙酮。黄曲霉毒素为中等极性化合物, 洗脱剂极性越大, 洗脱能力越强。因此, 本研究选择乙腈为洗脱剂。

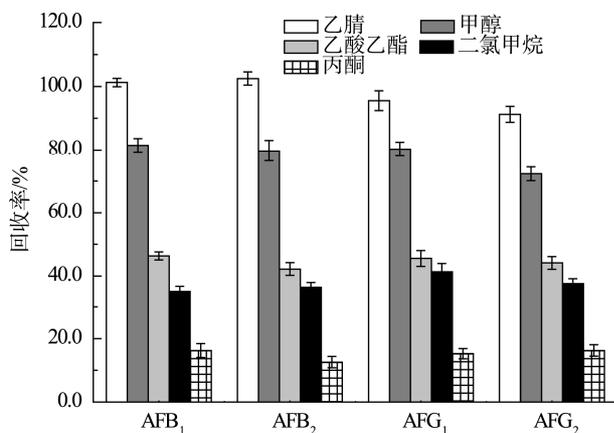


图 7 洗脱剂对黄曲霉毒素回收率的影响(n=3)  
Fig.7 Effect of the elution solvent on the recoveries of aflatoxins(n=3)

### 2.3.6 洗脱时间的影响

适合的洗脱时间是回收率的重要保证, 洗脱时间过长, 会导致已经洗脱的化合物重新被吸附, 造成回收率下降。本研究考察了洗脱时间分别为 1、5、10、15、20 min 时对 4 种黄曲霉毒素回收率的影响。由图 8 可知, 5 min 时, 4 种黄曲霉毒素的回收率最大, 洗脱效果最好。继续增加洗脱时间不仅耗时而且会导致 AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub> 的回收率降低。因此 5 min 为最佳洗脱时间。

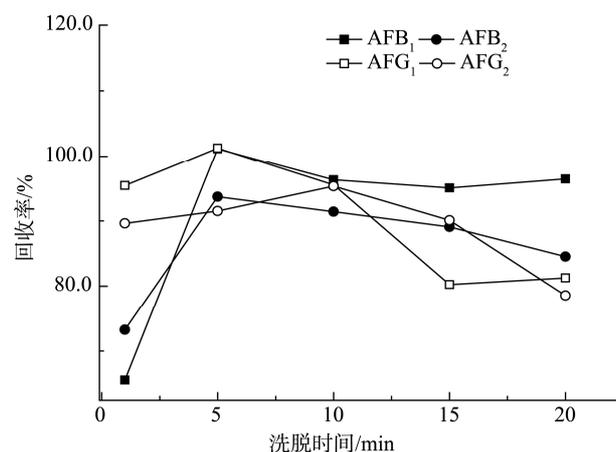


图 8 洗脱时间的影响  
Fig.8 Effect of elution time

## 2.4 方法的线性范围及检出限

配制浓度分为 1.0、5.0、10.0、20.0、50.0 μg/L 的 AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub> 的混合标准溶液, 标准溶液的色谱图见图 9。以质谱峰面积为纵坐标, 黄曲霉毒素的浓度为横坐标作线性回归, 回归方程、线性范围及相关系数见表 2。AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub> 在 0.5~50.0 μg/L 范围内呈良好的线性关系, 相关系数均在 0.9941 以上。分别以 3 倍信噪比和 10 倍信噪比对应的浓度做空白样品添加实验, 得到对应的方法检出限(limit of detection, LOD)为 0.02~0.05 μg/kg, 定量限(limit of quantitation, LOQ)为 0.08~0.15 μg/kg。

## 2.5 回收率及精密度实验

分别用食用调和油、花生油和玉米油的空白样品作为基质, 添加 3 个不同水平的黄曲霉毒素, 按照 1.2.3 进行样品前处理, 利用 HPLC-MS/MS 平行测定 6 次, 计算回收率以及相对标准偏差(relative standard deviation, RSD), 具体结果见表 3。

## 2.6 实际样品测定

对市售食用油样品 30 份(其中食用调和油 10 份、玉米油 10 份和花生油 10 份)进行检测, 并与 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》<sup>[6]</sup>中的高效液相色谱-柱前衍生法进行了对比。检出 1 份花生油样品含 AFB<sub>1</sub>, 采用本研究方法检测值为 3.88 μg/kg, 高效液相色谱-柱前衍生法检测值为

3.53 μg/kg, 2 种方法测定结果基本一致, 低于我国 GB 2761—2017<sup>[5]</sup>中规定的限量值 20 μg/kg。其余 19 份样品中 4 种黄曲霉毒素均未检出。

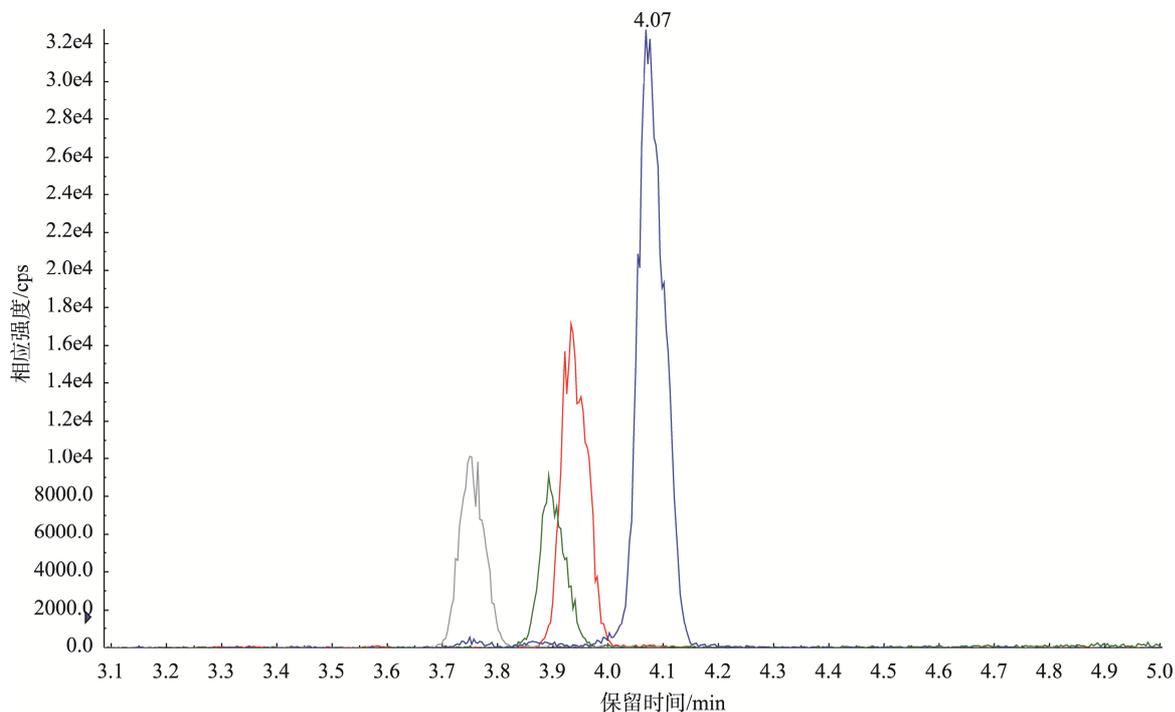


图 9 黄曲霉毒素的 HPLC-MS/MS 色谱图

Fig.9 HPLC-MS/MS chromatograms of aflatoxin

表 2 黄曲霉毒素的回归方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限

Table 2 Linear equations, linear ranges, correlation coefficients, limit of detections and limit of quantifications of aflatoxins

化合物	回归方程	线性范围/(μg/kg)	相关系数 <i>r</i>	检出限/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)
AFB <sub>1</sub>	$Y=391.05X+52.302$	0.5~50.0	0.9987	0.02	0.08
AFB <sub>2</sub>	$Y=129.37X+105.19$	0.5~50.0	0.9941	0.03	0.10
AFG <sub>1</sub>	$Y=51.485X+30.458$	0.5~50.0	0.9955	0.05	0.15
AFG <sub>2</sub>	$Y=61.541X+45.502$	0.5~50.0	0.9962	0.03	0.10

表 3 植物油样品中黄曲霉毒素的分析结果( $n=6$ )

Table 3 Analytical results of aflatoxins in vegetable oils samples ( $n=6$ )

黄曲霉毒素	添加水平(μg/kg)	食用调和油		花生油		玉米油	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
AFB <sub>1</sub>	0.10	83.2	4.6	79.5	5.4	84.1	4.8
	1.00	81.4	3.9	83.7	6.2	77.7	4.4
	5.00	86.2	4.2	83.5	5.5	87.8	4.3
AFB <sub>2</sub>	0.10	80.4	5.4	82.9	4.8	81.2	4.1
	1.00	79.8	4.5	81.5	6.1	75.4	5.5
	5.00	82.4	5.3	82.6	5.4	86.8	5.4
AFG <sub>1</sub>	0.10	79.3	4.9	75.1	4.9	76.8	4.7
	1.00	88.0	4.7	77.9	5.0	82.4	5.2
	5.00	82.3	4.6	88.5	4.6	95.2	4.8
AFG <sub>2</sub>	0.10	84.2	3.8	80.6	4.9	89.2	3.9
	1.00	85.7	5.4	81.4	6.1	78.5	4.4
	5.00	96.5	4.1	91.2	3.9	84.1	3.2

对市售食用油样品 30 份(其中食用调和油 10 份、玉米油 10 份和花生油 10 份)进行检测, 检出 1 份花生油样品含 AFB<sub>1</sub>, 采用本研究方法检测值为 3.88 μg/kg, 低于我国 GB 2761—2017<sup>[5]</sup>中规定的限量值 20 μg/kg。其余 29 份样品中 4 种黄曲霉毒素均未检出。

### 3 结论

本研究采用共沉淀法制备了磁性固相萃取吸附剂 MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 建立了磁性固相萃取结合 HPLC-MS/MS 检测食用植物油中黄曲霉毒素的检测方法。该方法具有样品前处理操作简单、有机溶剂消耗少、耗时短等优点, 同时由于磁性固相萃取的分离和富集作用, 降低了油脂样品中脂溶性物质、基质、杂质等的干扰, 使方法的灵敏度和精密度得到提高, 能够同时满足植物油中黄曲霉毒素的检测要求, 具有较强的实用价值。

### 参考文献

- [1] CREPPY EE. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe [J]. *Toxicol Lett*, 2002, 127(3): 19–28.
- [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): 3919–3927.  
LI YS, LU GZ, QU JR, *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): 48–64.
- [4] 吴隆鑫, 林秋君, 郭春景, 等. 国内外主要粮油产品中真菌毒素限量-检测标准及风险评估现状分析[J]. *中国粮油学报*, 2019, 34(9): 130–136.  
WU XX, LIN QJ, GUO CJ, *et al.* Analysis of limits, testing standards and risk assessment of mycotoxins in major grain and oil products at home and abroad [J]. *J Cere Oils Ass*, 2019, 34(9): 130–136.
- [5] GB 2761—2017 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量[S].  
GB 2761—2017 National food safety standards-Maximum residue limit recommended value of mycotoxins in food [S].
- [6] 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[S].  
GB 5009.22—2016 National food safety standards-Determination of aflatoxins B and G in food [S].
- [7] 杨媛媛, 谢志民, 胡静, 等. 高效液相色谱-柱后光化学衍生法测定茵栀黄口服液中的黄曲霉毒素 G<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>1</sub> 的含量 [J]. *中南药学*, 2020, 18(10): 1695–1698.  
YANG YY, XIE ZM, HU J, *et al.* Determination of aflatoxin G<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> and B<sub>1</sub> in Yinzhihuang oral solution by HPLC-post-column photochemical derivatization [J]. *Central South Pharm*, 2020, 18(10): 1695–1698.
- [8] 马作江, 黄山, 杨迪, 等. GPC-UPLC-MS/MS 法测定植物油中的黄曲霉毒素[J]. *食品工业*, 2020, 41(2): 276–279.  
MA ZJ, HUANG S, YANG D, *et al.* Determination of aflatoxins in vegetable oil by GPC-UPLC-MS/MS [J]. *Food Ind*, 2020, 41(2): 276–279.
- [9] 杨涛, 袁辉. 同位素稀释液相色谱-串联质谱法测定小麦粉中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的不确定度评定[J]. *粮食与饲料工业*, 2020, 3(3): 7–11.  
YANG T, YUAN H. Evaluation of the uncertainties in determination of aflatoxin B<sub>1</sub> in wheatmeal by liquid chromatography isotope dilution mass spectrometry [J]. *Cere Feed Ind*, 2020, 3(3): 7–11.
- [10] 宋月, 杨丽君, 吴平谷, 等. 复合柱净化-超高效液相色谱-串联质谱法测定粮油中黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮类毒素[J]. *中国食品卫生杂志*, 2020, 7(1): 39–44.  
SONG Y, YANG LJ, WU PG, *et al.* Determination of aflatoxin and gibberellin toxoid in grain and oil by compound column purification-SUPER high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Food Hygi*, 2020, 7(1): 39–44.
- [11] 杨东顺, 王莉丽, 马芙蓉, 等. 酶联免疫吸附法测定云南铁皮石斛中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 11(19): 7053–7056.  
YANG DS, WANG LL, MA FR, *et al.* Determination of aflatoxin B<sub>1</sub> in dendrobium candidum of Yunnan province by enzyme linked immunosorbent assay method [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 11(19): 7053–7056.
- [12] 何晓明, 倪娟娟, 赵月钧, 等. MSPE-UPLC-MS/MS 法测定植物油中 8 种真菌毒素[J]. *食品工业*, 2019, 40(5): 319–321.  
HE XM, NI JZ, ZHAO YJ, *et al.* Determination of 8 mycotoxins in vegetable oil by MSPE-UPLC-MS/MS [J]. *Food Ind*, 2019, 40(5): 319–321.
- [13] 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/OL]. *食品工业科技*, 1-10 [2021-01-10]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020050057>.  
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*, 1-10 [2021-01-10]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020050057>.
- [14] 孙夏荣, 葛晓明, 王建华. QuEChERS 超高效液相色谱串联质谱法检测中药饮片中的黄曲霉毒素[J]. *中国药业*, 2020, 29(11): 44–47.  
SUN XR, GE XM, WANG JH, *et al.* Determination of aflatoxins in traditional Chinese medicines prepared in ready-to-use forms by QuEChERS combined with UPLC-MS/MS [J]. *Chin Pharm*, 2020, 29(11): 44–47.
- [15] 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.
- [16] 易珊珊, 杜鑫. PRIM-HLB 固相萃取/超高效液相色谱-串联质谱法同时快速检测粮食中 4 种真菌毒素的含量[J]. *云南师范大学学报(自然科学版)*, 2020, 40(5): 47–52.  
YI SS, DU X. Simultaneous determination of 4 mycotoxins in grains by UPLC-MS/MS coupled with PRIME-HLB SPE clean-up [J]. *J Yunnan Norm Univ (Nat Sci Ed)*, 2020, 40(5): 47–52.
- [17] 李丽, 吴宇, 王海波, 等. 全自动免疫亲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 chromatography[J]. *J Cere Oils Ass*, 2020, 35(7): 157-164.
- [18] 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.
- [19] 刘勤, 何丽君, 杨君, 等. 离子液体基磁性固相萃取技术的研究进展[J]. *分析测试学报*, 2015, 34(7): 860-866.
- LIU Q, HE LJ, YANG J, *et al.* Research progress on ionic liquid-based magnetic solid-phase extraction [J]. *J Instrum Anal*, 2015, 34(7): 860-866.
- [20] 葛正法, 汪学德, 纪俊敏. 磁性氧化石墨烯固相萃取酶联免疫吸附法测定芝麻油中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 含量[J]. *粮食与油脂*, 2019, 32(3): 76-79.
- GE ZF, WANG XD, JI JM, *et al.* Determination of aflatoxin B<sub>1</sub> in sesame oil by solid-phase extraction with magnetic graphene oxide and enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *Cere Oils*, 2019, 32(3): 76-79.
- [21] 李清, 楚楚, 魏蒙蒙, 等. 功能化磁性纳米颗粒用于生脉饮(党参方)中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的含量测定[J]. *药物分析杂志*, 2017, 37(10): 1890-1896.
- LI Q, CHU C, WEI MM, *et al.* Application of functional magnetic nanoparticles in determination of aflatoxin B<sub>1</sub> in Shengmai decoction(Dangshen prescription) [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2017, 37(10): 1890-1896.
- [22] 杨代斌, 喻理, 马飞, 等. 磁性氧化石墨烯固相萃取高效液相色谱串联质谱法测定花生中黄曲霉毒素的含量[J]. *化学试剂*, 2019, 41(4): 33-337.
- YANG DB, YU L, MA F, *et al.* Determination of aflatoxins in peanuts by high performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spec-trometry with magnetic graphene oxide solid phase extraction materials [J]. *Chem Reagent*, 2019, 41(4): 33-337.

(责任编辑: 张晓寒)

## 作者简介



吴静娜, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为农产品质量安全与风险评估。  
E-mail: pikachujn@163.com

农耀京, 高级农艺师, 主要研究方向为农产品质量安全与风险评估。  
E-mail: 2455889212@qq.com