

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黄曲霉毒素 B₁

刘明珠, 成亚倩, 王永辉, 白家磊, 高志贤, 周焕英*

(军事科学院, 军事医学院, 环境医学与作业医学研究所, 天津 300050)

摘要: **目的** 设计并合成一种功能化免疫磁性微球, 结合超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)快速提取和检测花生和花生油中黄曲霉毒素 B₁ (aflatoxin B₁, AFB₁)。 **方法** 样品经过甲醇-水溶液(70:30, V:V)提取, 1.6 mg 免疫磁性微球富集净化, 用 1.00 mL 甲醇洗脱, 采用 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm)分离, 电喷雾离子源在正离子模式下分析 AFB₁ 的含量。 **结果** 该材料能够在 15 min 实现 AFB₁ 的快速提取净化。与 UPLC-MS/MS 联用, 本方法的线性范围在 0.1~50.0 μg/L, 检出限为 0.04 μg/kg, 定量限为 0.14 μg/kg, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 2.2%。将本研究建立的方法用于检测花生及花生油中 AFB₁, 方法回收率大于 80%, 重复性数据满足实验要求。与基于免疫亲和柱的国家标准方法进行了性能比较, 结果与国家标准方法基本一致。 **结论** 该方法操作简单、用时短, 可用于花生和花生油中 AFB₁ 的检测。

关键词: 黄曲霉毒素; 免疫磁性微球; 超高效液相色谱-串联质谱法; 样品预处理

Rapid determination of aflatoxin B₁ in peanut and peanut oil by an immunomagnetic beads purification sample pretreatment method combined with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LIU Ming-Zhu, CHENG Ya-Qian, WANG Yong-Hui, BAI Jia-Lei,
GAO Zhi-Xian, ZHOU Huan-Ying*

(Institute of Environmental Medicine and Occupational Medicine, Academy of Military Medicine, Academy of Military Sciences, Tianjin 300050, China)

ABSTRACT: Objective To design and synthesize a functional immunomagnetic beads, and combine with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) to quickly extract and detect aflatoxin B₁ (AFB₁) in peanut and peanut oil. **Methods** The samples were extracted with methanol-water solution (70:30, V:V), enriched and purified with 1.6 mg immunomagnetic beads, and eluted with 1.00 mL methanol, the samples were separated on a Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ column (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm), and the content of AFB₁ was analyzed by an electrospray ion source in positive ion mode. **Results** The material enabled rapid extraction and purification of AFB₁ in 15 min. When combined with UPLC-MS/MS, the linearity was in the range of

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFC1601101)、天津市自然科学基金项目(20JCQNJC00860)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program (2017YFC1601101), and the Tianjin Natural Science Foundation Project (20JCQNJC00860)

*通信作者: 周焕英, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全。E-mail: zhouhytj@163.com

*Corresponding author: ZHOU Huan-Ying, Ph.D, Professor, Institute of Environmental and Operational Medicine, Academy of Military Medical Science, Academy of Military Science, Dali Road, Heping District, Tianjin 300050, China. E-mail: zhouhytj@163.com

0.1–50.0 $\mu\text{g/L}$, the limit of detection was 0.04 $\mu\text{g/kg}$, the limit of quantification was 0.14 $\mu\text{g/kg}$, and the relative standard deviation (RSD) was 2.2%. The method established in this study was applied for the determination of AFB₁ in peanut and peanut oil with the recovery rates of over 80% and repeatable data meet experimental requirements. The performance of the proposed method was compared with that of the national standard method based on immunoaffinity column, and the results were basically consistent with that of the national standard method.

Conclusion This method is simple and can be used to detect AFB₁ in peanut and peanut oil.

KEY WORDS: aflatoxin; immunomagnetic beads; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; sample pretreatment

0 引言

黄曲霉毒素(aflatoxins, AFs)是黄曲霉和寄生曲霉等某些菌株产生的次级代谢产物,主要包括黄曲霉毒素 B₁(aflatoxin B₁, AFB₁)、黄曲霉毒素 B₂(aflatoxin B₂, AFB₂)、黄曲霉毒素 M₁(aflatoxin M₁, AFM₁)、黄曲霉毒素 M₂(aflatoxin M₂, AFM₂)、黄曲霉毒素 G₁(aflatoxin G₁, AFG₁)、黄曲霉毒素 G₂(aflatoxin G₂, AFG₂)等多种毒素。其中黄曲霉毒素 B₁毒性最强,是砒霜毒性的 64 倍,被国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)定为 I 类致癌物^[1]。黄曲霉毒素极易污染粮油,吴雪等^[2]选取天津地区销售量较大的花生油、大豆油、菜籽油、芝麻油等食用植物油共 511 份调查了天津地区粮油中真菌毒素污染情况。发现市售食用植物油中 AFB₁ 的检出率达到了 17.0%。我国 GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》规定植物油脂中 AFB₁ 的限量为 0.5~20 $\mu\text{g/kg}$ 。鉴于食品中 AFB₁ 对人类健康具有潜在威胁,因此迫切需要建立快速、简单的检测方法。

目前,检测 AFB₁ 的方法主要有液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、酶联免疫法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)等^[3]。HPLC 检测 AFB₁ 需要进行衍生化处理,ELISA 容易出现假阳性结果。超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)则可以减少样品检测时间、提高检测效率,被越来越多应用到食品样品的检测中^[4]。然而,检测食品中少量的 AFB₁ 的关键步骤是从基质中将其进行提取和净化的过程^[5-8]。样品基质中含有碳水化合物、蛋白质、矿物质、脂肪等多种营养成分,容易在分析时造成严重干扰。并且,当样品中 AFB₁ 浓度低于分析方法的定量限时,提取及净化效果会直接影响检测结果的精密度和准确度^[9]。因此,能够高效富集、提取被分析物的前处理技术非常重要。

目前已经开发了多种前处理技术来减少基质效应。例如液-液萃取^[10]、固相萃取^[11]和免疫亲和层析^[12]。液-液萃取、固相萃取等方法耗时、复杂且需要大量有机溶剂。免

疫亲和柱法虽不需要大量的有机溶剂,但用于常规分析时,操作复杂且价格昂贵,不适合大批量样品快速处理,因此建立简单实用的前处理方法具有重要的实践意义。免疫磁性微球(immunomagnetic beads, IMBs)分离技术自发现以来,由于其独特的物理化学性质,如颗粒粒径均匀、表面积大、操作简单、相容性优越、灵敏度好、可均匀分布于胶体悬浮液中等^[13],已被成功地用于分离肿瘤细胞^[14-15]、细菌^[16]、病毒^[17]、淋巴细胞^[18]、蛋白质^[19]、激素^[20]等。免疫磁性微球分离技术是纳米磁性微球与抗体结合的免疫学技术,不仅具备了免疫反应的高度专一性,同时兼有固相萃取的优点^[21]。其基本原理是将修饰在 Fe₃O₄ 纳米磁性微球表面的官能团与抗体结合,构成免疫磁性微球。当施加外加磁场时,纳米磁性微球会定向运动,从而实现快速分离,然后通过有机溶剂将被抗体捕获的检测物洗脱^[22-24]。与其他前处理技术相比,免疫磁性微球处理方法操作简单,可显著缩短前处理时间,为快速提取和检测花生和花生油中 AFB₁ 提供了机会。

本研究构建了一种免疫磁性微球用于提取净化花生和花生油中的 AFB₁, 并通过对免疫磁性微球用量、吸附时间、洗脱时间、洗脱体积的优化,得出最优富集提取条件,并通过结合 UPLC-MS/MS 进行定量分析,以期实现 AFB₁ 的快速高灵敏检测。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

从天津市超市中随机采购花生和花生油,花生采购量大于 1 kg;花生油采购量大于 1 L。

黄曲霉毒素 B₁ (98%, 北京百灵威科技有限公司);黄曲霉毒素同位素内标 ¹³C₁₇-AFB₁ (>98%, 0.5 $\mu\text{g/mL}$, 青岛普瑞邦生物工程有限公司); AFB₁ 单克隆抗体(北京百诺威生物科技有限公司);乙腈、甲酸(色谱纯,美国赛默飞世尔科技公司);磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS) (pH=7.4, 武汉塞维尔生物科技有限公司);免疫磁性微球参考文献方法制备^[24-25];实验所用水均为一级水。

1.2 仪器与设备

Waters-Xevo-TQ-MS 超高效液相色谱-三重四极杆质谱仪、Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm)(美国 Waters 公司); 3 mL-25 T 黄曲霉毒素 B₁ 免疫亲和柱(天津赛奥斯生物科技有限公司); KQ-500E 超声仪(昆山市超声仪器有限公司); Milli-Q 去离子水发生器(美国 Millipore 公司); CR21GIII 大容量高速离心机(日本 Hitachi 公司); QL-866 涡旋混合仪(海门市其林贝尔仪器制造有限公司); HH-100 恒温混匀仪(杭州佑宁仪器有限公司)。

1.3 液相色谱条件

色谱条件: Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 柱温: 35 °C; 样品室温度: 15 °C; 进样量: 5 μL; 流动相: A: 0.1%甲酸; B: 乙腈; 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%~95% B; 1.8~3.0 min 95%~15% B; 3.0~5.0 min 15%~15% B; 流速: 0.3 mL/min。

1.4 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI⁺); 检测方式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式; 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; AFB₁ 及内标的质谱参数优化结果见表 1。

1.5 样品测定

花生样品用粉碎机粉碎后, 取 5 g 样品于 50 mL 聚丙烯瓶中; 花生油样品直接称取 5 g, 加入 50 mL 聚丙烯瓶中。花生和花生油后续处理方法相同: 即加入 20.0 mL 甲醇-水溶液(70:30, V:V)涡旋混匀, 超声混合 20 min, 6000 r/min 离心 10 min, 上清液备用。取 2 mL 上清液氮吹近干, 用 10 mmol/L 的 PBS (pH=7.4)定容至 1.0 mL 后, 加入免疫磁性微球悬浮液 1.6 mg, 37 °C 孵育 5 min 后磁分离, 弃去上清液。加入 1.0 mL 甲醇涡旋振荡 10 min。磁分离后取上清液, 过 0.22 μm 有机滤膜, 按照 1.3、1.4 条件 UPLC-MS/MS 上机测定。

1.6 数据处理

数据通过外标法定量, 样品测定完成以后, 经过 UPLC-MS/MS 中数据处理软件 Masslynx 进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 免疫磁性微球提取净化条件的优化

免疫磁性微球是基于抗原抗体特异性结合进行富集净化, 因此抗原和抗体的结合条件直接影响微球的富集净化效果。基于已有文献报道^[21,26], 抗原和抗体的结合反应通常在 pH 为 6~8 时效果最好, pH 过高或过低都将影响抗原与抗体的结合能力, 目前常用抗原、抗体反应的 pH 为 7.4, 因此在后续的实验本研究中本研究也选择 pH=7.4 的 PBS 作为反应缓冲溶液。对于抗原和抗体的结合温度, 通常抗原与抗体结合温度范围在 15~40 °C 间, 温度过高会影响抗体活性, 本研究选择 37 °C 作为抗原抗体结合的反应温度。在以上条件下, 本研究从免疫磁性微球的用量、提取时间、洗脱体积与洗脱时间 4 个方面对方法进行优化。实验首先研究了免疫磁性微球用量对吸附效果的影响。选择 0.1~2.0 mg 免疫磁性微球, 加入 5.0 μg/L AFB₁ (1.0 mL), 保证反应体系为 1.0 mL, 结果如图 1a 所示。随着免疫磁性微球的用量从 0.1 mg 增加到 1.6 mg, AFB₁ 的吸附效率逐渐增加, 但是免疫磁性微球用量超过 1.6 mg 之后, AFB₁ 吸附效率几乎保持不变。因此选择 1.6 mg 免疫磁性微球用量。

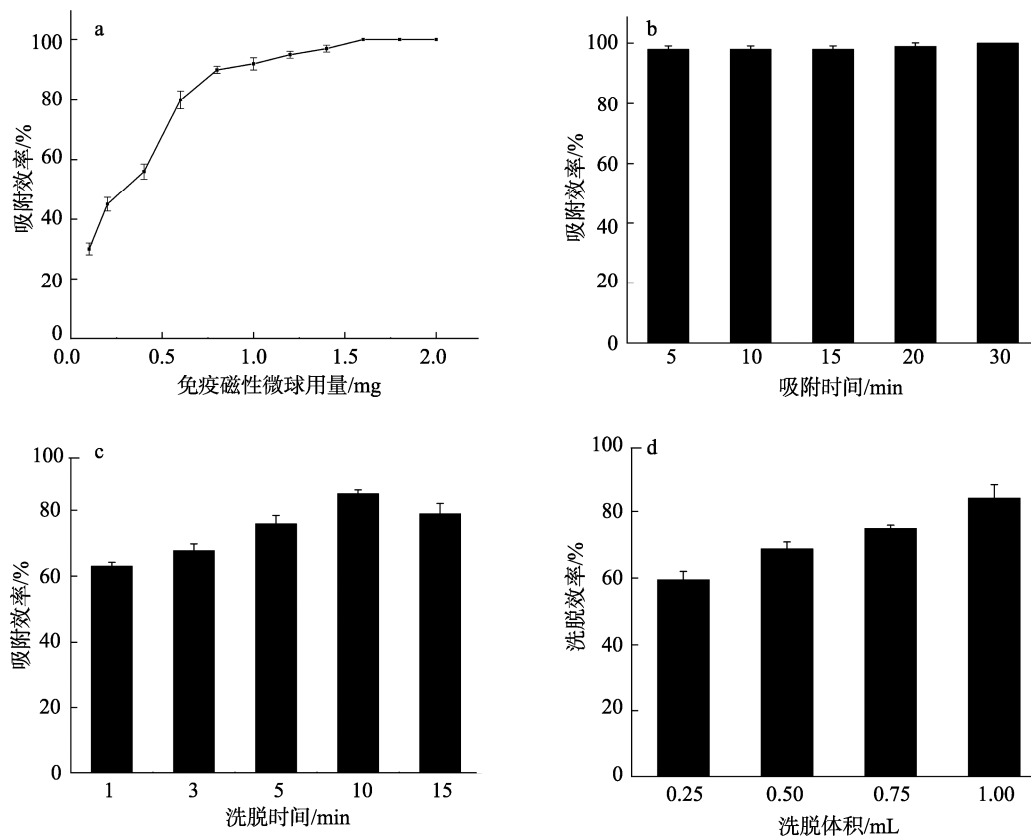
实验进一步考察了吸附时间对提取结果的影响。分别选择 5、10、15、20、30 min 的反应时间, 结果如图 1b 所示。从图 1b 可以看出, 5 min 时吸附已达到平衡, 吸附效率为 98%, 因此下一步实验选择吸附时间为 5 min。

有机溶剂能够破坏抗体的蛋白结构, 从而使得 AFB₁ 在免疫磁性微球上释放出来。因此, 在选择洗脱溶剂时, 同时对比了甲醇、乙腈、甲醇-乙腈(1:1, V:V) 3 种洗脱剂的洗脱效果。结果发现, 当使用乙腈为洗脱溶剂时, 洗脱效率为 69%; 使用甲醇-乙腈(1:1, V:V)时, 洗脱效率为 49%; 使用甲醇时的洗脱效果最好, 洗脱效率能够达到 84%, 所以选择甲醇作为洗脱溶剂。在以上优化基础上, 进一步对洗脱时间进行了优化。分别选择 1、3、5、10、15 min 的洗脱时间, 结果如图 1c 所示。结果表明, 10 min 时获得较好的洗脱效果。洗脱时间大于 10 min 时, 洗脱效率降低。可能是由于甲醇对抗原抗体相互作用具有高度破坏性, 在甲醇的作用下抗体发生变性, 将 AFB₁ 包裹。同时对免疫磁性微球的洗脱体积进行了优化, 研究了不同洗脱体积(图 1d)对 AFB₁ 洗脱效率的影响。结果表明, 当使用 1.00 mL 甲醇洗脱时, 被分析物洗脱效率最高, 为 84%, 因此确定洗脱体积为 1.00 mL。

表 1 质谱参数
Table 1 Mass spectrometry parameters

| 化合物 | 相对分子质量 | 母离子(<i>m/z</i>) | 子离子(<i>m/z</i>) | 锥孔电压/V | 碰撞电压/V |
|---|--------|-------------------|-------------------|--------|--------|
| AFB ₁ | 312.27 | 313.15 | 241.19* | 50 | 36 |
| | | 313.15 | 285.09 | 50 | 20 |
| ¹³ C ₁₇ -AFB ₁ | 329 | 330 | 255* | 50 | 20 |

注: *为定量离子对。



注: a: 免疫磁性微球的加入量对 AFB₁ 吸附效率的影响; b: 吸附时间对 AFB₁ 吸附效率的影响; c: 洗脱时间对 AFB₁ 洗脱效率的影响; d: 洗脱体积对 AFB₁ 洗脱效率的影响。

图 1 免疫磁性微球条件优化($n=3$)

Fig.1 Optimization of immunomagnetic beads conditions ($n=3$)

2.2 方法性能研究

配制 AFB₁ 储备液(100 $\mu\text{g/L}$), 用甲醇稀释成系列质量浓度(0.1、0.5、1.0、5.0、10.0、25.0、50.0 $\mu\text{g/L}$)的标准使用溶液, 进样体积为 5 μL 。以浓度($\mu\text{g/L}$)为横坐标 X , 峰面积为纵坐标 Y , 绘制标准曲线, 得到线性方程 $Y=3825X+2277.2$ 、线性范围为 0.1~50.0 $\mu\text{g/L}$ 和相关系数为 0.9980。以 $S/N=3$ 计算检出限, 为 0.04 $\mu\text{g/kg}$; $S/N=10$ 计算定量限, 为 0.14 $\mu\text{g/kg}$ 。取质量浓度为 1 $\mu\text{g/L}$ 的 AFB₁ 样品, 平行测定 6 次, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 2.2%。

为了验证该方法的可行性, 取花生和花生油样品, 以高、中、低 3 种不同水平(20、10、2 $\mu\text{g/kg}$)向样品中加入 AFB₁, 进行样品回收率和日内精密度分析。精密度用相对标准偏差百分比表示。

通过 UPLC-MS/MS 检测获得的分析结果见表 2。所有实验均平行测定 6 次, 测定的花生和花生油的平均回收率分别为 81.97%~95.06%和 95.48%~104.47%之间, 回收率和重复性数据满足检测要求。

表 2 不同质量浓度 AFB₁ 的加标样品中 AFB₁ 的测定($n=6$)
Table 2 Determination of AFB₁ in spiked samples with different mass concentrations of AFB₁ ($n=6$)

| 样品 | 添加水平/ $(\mu\text{g/kg})$ | 回收率/% | RSDs/% |
|-----|--------------------------|--------|--------|
| 花生 | 20 | 81.97 | 3.05 |
| | 10 | 93.29 | 6.62 |
| | 2 | 95.06 | 5.72 |
| 花生油 | 20 | 95.48 | 1.41 |
| | 10 | 104.47 | 6.02 |
| | 2 | 101.37 | 7.85 |

2.3 方法对照

为了研究免疫磁性微球检测方法对实际样品的适用性, 在优化条件下, 系统比较了国家标准方法中免疫亲和柱和免疫磁性微球的前处理效果。选择花生油和花生作为加标样品, 分别加入 20、10、2 $\mu\text{g/kg}$ AFB₁, 免疫亲和柱的处理方法参照 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》方法,处理完成后,装入样品瓶,进行UPLC-MS/MS测定。表3是免疫亲和柱和免疫磁性微球两种预处理方法下 AFB₁ 的处理时间、检出

限及回收率情况。如表3所示,两种方法的检出限和回收率没有明显差异,并表明免疫磁性微球适用于提取和预浓缩真实样品中痕量的 AFB₁。

表3 不同预处理条件下 AFB₁ 相关参数(n=6)
Table 3 AFB₁ related parameters under different pretreatment conditions (n=6)

| 前处理方法 | 样品 | 添加水平/(μg/kg) | 前处理时间/min | 检出限/(μg/kg) | 回收率/% |
|--------|-----|--------------|-----------|-------------|--------|
| 免疫亲和柱 | 花生 | 20 | 40 | | 101.26 |
| | | 10 | 40 | 0.03 | 101.13 |
| | | 2 | 40 | | 93.30 |
| | 花生油 | 20 | 40 | | 89.36 |
| | | 10 | 40 | 0.03 | 102.68 |
| | | 2 | 40 | | 114.01 |
| 免疫磁性微球 | 花生 | 20 | 15 | | 81.97 |
| | | 10 | 15 | 0.04 | 93.29 |
| | | 2 | 15 | | 95.06 |
| | 花生油 | 20 | 15 | | 95.48 |
| | | 10 | 15 | 0.04 | 104.47 |
| | | 2 | 15 | | 101.37 |

3 结论与讨论

本研究利用制备的 AFB₁ 免疫磁性微球,建立了食品中 AFB₁ 的免疫磁性微球预处理结合 UPLC-MS/MS 的检测方法。与国家标准方法相比,加标回收率和检出限方面没有显著差异,但国家标准方法前处理用时为 40 min,而本法仅需要 15 min,本研究建立的方法提取净化用时更短,且有机溶剂用量少等,操作简便,能够满足大量样品快速检测。同时,本研究建立的方法具有通用性,可为食品中其他污染物的提取净化提供参考。

参考文献

- [1] EOM T, CHO HD, KIM J, *et al.* Multiclass mycotoxin analysis in edible oils using a simple solvent extraction method and liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *Food Addit Contam Part A*, 2017, 34(11): 2011–2022.
- [2] 吴雪, 赵昆, 林肖惠. 天津地区粮油中真菌毒素的污染情况[J]. *职业与健康*, 2019, 35(21): 2996–2998.
WU X, ZHAO K, LIN XH. Contamination of mycotoxins in cereals and oils in Tianjin [J]. *J Occup Health*, 2019, 35(21): 2996–2998.
- [3] NOLANP, AUERS, SPEHARA, *et al.* Current trends in rapid tests for mycotoxins [J]. *Food Addit Contam Part A*, 2019, 36(5): 800–814.
- [4] 李双青, 李晓敏, 张庆合. 植物油中真菌毒素检测技术的研究进展[J]. *色谱*, 2019, 37(6): 569–580.
LI SQ, LI XM, ZHANG QH. Advances in the development of detection techniques for mycotoxins in vegetable oil [J]. *Chin J Chromatogr*, 2019, 37(6): 569–580.
- [5] ZHAO J, ZHU Y, JIAO Y, *et al.* Ionic-liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction combined with magnetic solid-phase extraction for the determination of aflatoxins B₁, B₂, G₁, and G₂ in animal feeds by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *J Sep Sci*, 2016, 39(19): 3789–3797.
- [6] YE J, XUAN Z, 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.
- [7] DENG Q, QIU M, WANG YL, *et al.* A sensitive and validated immunomagnetic-bead based enzyme-linked immunosorbent assay for analyzing total T-2 (free and modified) toxins in shrimp tissues [J]. *Ecotox Environ Saf*, 2017, 142: 441–447.
- [8] SONG LX, HE J, CHEN NN, *et al.* Combined biocompatible medium with molecularly imprinted polymers for determination of aflatoxins B₁ in real sample [J]. *J Sep Sci*, 2019, 42(24): 3679–3687.
- [9] HASHEMI M, TAHERIMASLAK Z. Separation and determination of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ in pistachio samples based on magnetic solid phase extraction followed by high performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *Anal Methods*, 2014, 6: 7663–7673.
- [10] VEACH BT, MUDALIGE TK, RYE P. Rapidfiremass spectrometry with enhanced throughput as an alternative to liquid-liquid salt assisted extraction and LC/MS analysis for sulfonamides in honey [J]. *Anal Chem*, 2017, 89: 3256–3260.
- [11] GIONFRIDDO E, BOYACI E, PAWLISZYN J. New generation of solid-phase microextractioncoatings for complementary separation approaches: Astep toward comprehensive metabolomics and multiresidueanalyses in complex matrices [J]. *Anal Chem*, 2017, 89: 4046–4054.
- [12] AMAIKE S, KELLER NP. *Aspergillus flavus* [J]. *Annu Rev Phytopathol*,

- 2011, 49: 107–133.
- [13] LI M, ZHANG YY, ZHAO RJ, *et al.* Immunomagnetic bead-based biotin-streptavidin system for highly efficient detection of aflatoxin B₁ in agricultural products [J]. *RSC Adv*, 2018, 8: 26029–26036.
- [14] XIONG K, WEI W, JIN YJ. Biomimetic immuno-magnetosomes for high-performance enrichment of circulating tumor cells [J]. *Adv Mater*, 2016, 28: 7929–7935.
- [15] YANG HW, LIN CW, HUA MY, *et al.* Combined detection of cancer cells and a tumor biomarker using an immunomagneticsensor for the improvement of prostate-cancer diagnosis [J]. *Adv Mater*, 2014, 26: 3662–3666.
- [16] PAPEPRT G, RIEGER M, NIESSNER R, *et al.* Immunomagnetic nanoparticle-based sandwich chemiluminescence-ELISA for the enrichment and quantification of *E. coli* [J]. *Microchim Acta*, 2010, 168: 1–8.
- [17] BANIKUEVIC J, HAKKIBOYACI I, GOKTUG BOZKURT A, *et al.* Magnetic gold nanoparticles in SERS-based sandwich immunoassay for antigen detection by well oriented antibodies [J]. *Biosens Bioelectron*, 2013, 43: 281–288.
- [18] SEPRONI F, ELVIRI L, CARERI M, *et al.* Magnetic particles functionalized with PAMAM-dendrimers and antibodies: A new system for an ELISA method able to detect Ara h3/4 peanut allergen in foods [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 397: 3035–3042.
- [19] DE S, LAUBE T, YAMANAKA H, *et al.* Magneto immunoassays for plasmodium falciparum histidine-rich protein 2 related to malaria based on magnetic nanoparticles [J]. *Anal Chem*, 2011, 83(14): 5570–5577.
- [20] 陈聪洁, 易华山, 张立定, 等. 抗苗勒管激素免疫磁珠的制备及其初步应用[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2020, 36(4): 310–316.
CHEN CJ, YI HS, ZHANG LD, *et al.* Preparation and application of anti-mullerian hormone immunomagnetic beads [J]. *Chin J Cell Mol Immunol*, 2020, 36(4): 310–316.
- [21] 邢言言, 佟玲, 陈楠, 等. 免疫磁珠富集净化-超高效液相色谱法同时测定陈皮中 4 种黄曲霉毒素[J]. *色谱*, 2015, 33(12): 1320–1326.
XING YY, TONG L, CHEN N, *et al.* Simultaneous determination of four aflatoxins in citrus reticulatablanco by ultra performance liquid chromatography coupled with immunomagnetic beads for enrichment and purification [J]. *Chin J Chromatogr*, 2015, 33(12): 1320–1326.
- [22] 赵晓娟, 洗燕萍, 罗海英, 等. 液相色谱-串联质谱法同时检测花生油中 4 种黄曲霉毒素[J]. *食品科学*, 2011, 32(14): 194–197.
ZHAO XJ, XIAN YP, LUO HY, *et al.* Simultaneous determination of four aflatoxins in peanut oil by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2011, 32(14): 194–197.
- [23] XIE F, LAI WH, SAINI J, *et al.* Rapid pretreatment and detection of trace aflatoxin B₁ in traditional soybean sauce [J]. *Food Chem*, 2014, 150: 99–105.
- [24] ZHANG B, YU LT, LIU ZJ, *et al.* Rapid determination of aflatoxin B₁ by an automated immunomagnetic bead purification sample pretreatment method combined with high-performance liquid chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(17): 3377–3584.
- [25] XIE G, ZHU M, LIU ZJ, *et al.* Development and evaluation of the magnetic particle-based chemiluminescence immunoassay for rapid and quantitative detection of aflatoxin B₁ in foodstuff [J]. *Food Agric Immunol*, 2018, 29: 564–576.
- [26] 刘伟伟, 孙秀兰, 张银志, 等. 超顺磁性免疫磁珠体系用于植物油中黄曲霉毒素 B₁ 的检测研究[J]. *分析测试学报*, 2011, 30(12): 1345–1350.
LIU WW, SUN XL, ZHANG YZ, *et al.* Research of the super paramagnetic immune magnetic beads system for detection of aflatoxin B₁ in vegetable oil [J]. *J Instrum Anal*, 2011, 30(12): 1345–1350.

(责任编辑: 张晓寒 韩晓红)

作者简介



刘明珠, 硕士, 助理实验师, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: 1972875741@qq.com



周焕英, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: zhouhytj@163.com