挥发性铵盐盐析辅助液液萃取结合超高效液相色 谱-串联质谱法测定酱油中4种黄曲霉毒素

王东旭^{*},王新财,王凤丽,胡奇杰, 厉 芬 (湖州市食品药品检验研究院, 湖州 313000)

摘 要:目的 建立基于挥发性铵盐盐析辅助液液萃取结合超高效液相色谱-串联质谱法检测酱油中黄曲霉 毒素 B₁、B₂、G₁、G₂4种黄曲霉毒素含量的分析方法。**方法** 酱油样品用乙腈提取,乙酸铵作为盐析助剂分层, 提取液加水定容后,采用C₁₈反相色谱柱以5 mmol/L乙酸铵溶液-甲醇/乙腈为流动相进行梯度洗脱,采用电喷雾 正离子模式检测,外标法定量。实验考察了萃取溶剂、盐析助剂及 pH 对萃取效率的影响。结果 最优实验条件 下,在 0.5~20.0 ng/mL 范围内 4 种黄曲霉毒素线性良好,相关系数均大于等于 0.999,检出限为 0.01~0.04 μg/kg, 定量限为 0.03~0.12 μg/kg; 对空白酱油样品进行 0.8、4.0、8.0 μg/kg 3 个水平的加标实验,回收率为 73.2%~94.5%,相对标准偏差为 0.9%~5.9%。结论 该方法操作简捷、成本低、准确度高,可满足对酱油中 4 种黄曲霉毒素的快速准确分析要求。

关键词:酱油;黄曲霉毒素;盐析辅助液液萃取

Determination of 4 kinds of aflatoxins in soy sauce by volatile salting-out assisted liquid-liquid extraction combined with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

WANG Dong-Xu^{*}, WANG Xin-Cai, WANG Feng-Li, HU Qi-Jie, LI Fen

(Huzhou Institute for Food and Drug Control, Huzhou 313000, China)

ABSTRACT: Objective To establish an analytical method for the determination of aflatoxins B_1 , B_2 , G_1 and G_2 in soy sauce based on volatile ammonium salt salting-out assisted liquid-liquid extraction combined with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The soy sauce sample was extracted with acetonitrile, and ammonium acetate was used as the salting-out aid for stratification, after the extraction solution was fixed in volume by adding water, gradient elution was performed using a C_{18} reverse-phase chromatographic column with 5 mmol/L ammonium acetate solution–methanol/acetonitrile as the mobile phase, and electrospray positive ion mode detection was adopted, followed by external standard quantification. The effects of extraction solvent, salting-out aid and pH on extraction efficiency were investigated. **Results** Under the optimal experimental conditions, the linearity of the 4 kinds of aflatoxins were good in the range of 0.5–20.0 ng/mL, the correlation

基金项目:浙江省市场监督管理局科研计划项目(20200124、20190338)、湖州市科技计划项目(2019GZ30、2021GZ29)

Fund: Supported by the Scientific Research Project of Zhejiang Administration for Market Regulation (20200124, 20190338), and the Huzhou Science and Technology Project (2019GZ30, 2021GZ29)

^{*}通信作者: 王东旭, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量安全检测。E-mail: 11237122@zju.edu.cn

^{*}Corresponding author: WANG Dong-Xu, Ph.D, Senior Engineer, Huzhou Institute for Food and Drug Control, Huzhou 313000, China. E-mail: 11237122@zju.edu.cn

coefficients were all greater than or equal to 0.999, and the limits of detection were $0.01-0.04 \ \mu g/kg$, and the limits of quantitation were $0.03-0.12 \ \mu g/kg$; the standard addition experiments at the 3 levels of 0.8, 4.0 and 8.0 $\mu g/kg$ were performed on the blank soy sauce sample, and the recovery rates were 73.2%–94.5%, and the relative standard deviations were 0.9%–5.9%. **Conclusion** This method is simple, low in cost and high in accuracy, and can meet the requirements of rapid and accurate analysis of 4 kinds of aflatoxins in soy sauce.

KEY WORDS: soy sauce; aflatoxin; salting-out assisted liquid-liquid extraction

0 引 言

酱油拥有独特的风味和多种氨基酸,同时易于消化 吸收, 深受消费者喜爱^[1]。酱油的主要原料为大豆、小麦、 麸皮等农作物, 而农作物在种植和贮存过程中, 容易受到 真菌毒素的污染,再加上酱油在制作过程中需要酵母菌、 曲霉菌等真菌的参与,容易受到霉菌毒素的污染,造成真 菌毒素残留问题^[2]。黄曲霉毒素(aflatoxin, AFT)是由黄曲霉 和寄生曲霉次级代谢产生的一组具有二氢呋喃香豆素结构 的化合物[3], 是一种剧毒物质, 具有严重的致癌性、致畸性 和致突变性^[4-5]。目前已报道发现 20 余种黄曲霉毒素,常 见的主要有黄曲霉毒素 B1 (aflatoxin B1, AFTB1)、黄曲霉毒 素 B₂ (aflatoxin B₂, AFTB₂)、黄曲霉毒素 G₁ (aflatoxin G₁, AFTG₁)、黄曲霉毒素 G₂ (aflatoxin G₂, AFTG₂), 其中 AFTB₁ 毒性最强,是目前已知毒性最强的化合物之一^[6-8]。因此, 为了保障酱油食品安全, 我国 GB 2761—2017《食品安全 国家标准 食品中真菌毒素限量》中明确规定了酱油中 AFTB₁的最大限量值不超过 5 μ g/kg。

目前食品中黄曲霉毒素的定量检测主要为高效液相 色谱法和高效液相色谱-串联质谱法^[9-11]。由于食物样品多 样,成分基质复杂,而食物中的黄曲霉毒素浓度往往较低, 因此在仪器分析前需采取适当的样品前处理技术进行富 集和纯化^[12]。常见的前处理技术主要有液液萃取法^[13-14]、 固相萃取法[15-17]、免疫亲和层析法[18-19]、磁珠免疫净化 法^[20-23]、QuEChERS法^[24-26]等,由于酱油等发酵调味品 基质较为复杂,目前采用的前处理方法以免疫亲和层析 法^[27-28]为主,但该法检验成本高、操作相对烦琐,不适合 高通量检测。盐析液液萃取是一种通过向样品溶液与萃取 溶剂混合物中加人适当的无机盐,促使萃取溶剂更好地从 混合物中分离的萃取方法^[29]。该方法具有操作简单快速、 溶剂消耗少、萃取效率高等优点。目前盐析液液萃取法在 蜂蜜、血浆、白酒、水产品、婴幼儿食品、鱼类和肉类等 样品的有毒有害物质残留检测中应用较多[30],但采用氯化 钠、硫酸镁、碳酸钾等难挥发盐作为盐析剂与质谱联用时, 提取溶剂中残留的盐会导致较强的离子抑制效应,降低待 测物的灵敏度,限制了该方法的广泛使用。近年来挥发性 盐因在离子源中可以电离挥发避免了质谱的污染,逐步在 血浆、粪便中药物检测得到应用^[31],但针对调味品中真菌

毒素的检测应用还鲜见报道。本研究通过筛选挥发性铵盐 作为盐析剂,采用盐析辅助液液萃取法结合超高效液相色 谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatographytandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)建立了一种前处 理快速简单、成本低的酱油中黄曲霉毒素的检测方法,以 期为酱油中黄曲霉毒素的高通量检测提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

酱油样品购于湖州市超市。实验所用空白酱油样品采用 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》方法测定确证阴性。

黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂混合标准溶液(浓度 100 μg/mL, 青岛普瑞邦生物工程有限公司);甲醇、乙醇、正丙醇、乙 腈、丙酮(色谱纯,德国默克公司);甲酸铵、乙酸铵、氯化 铵、硫酸铵(分析纯,上海麦克林生化科技有限公司);实验 用水为超纯水; 0.22 μm 尼龙滤膜针式过滤器(天津市津腾 实验设备有限公司)。

1.2 仪器与设备

1260 型高效液相色谱仪、ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)、6470 型三重四极杆串联质谱 仪(美国安捷伦公司); ME204E 型电子分析天平(精度 0.0001 g, 瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司); Genius 3 漩 涡混合器(德国艾卡公司); KQ-500DB 型超声清洗仪(中国 昆山市超声仪器公司); Allegra X-12R 型台式冷冻离心机 (美国贝克曼库尔特公司); Simplicity 型超纯水仪(美国密 理博公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 混合对照品溶液的制备

AFTB₁、AFTB₂、AFTG₁、AFTG₂混合标准储备液的 配制:吸取采购的AFTB₁、AFTB₂、AFTG₁、AFTG₂混合 标准溶液适量,用乙腈稀释,配制质量浓度为1 μ g/mL的 AFTB₁、AFTB₂、AFTG₁、AFTG₂混合标准储备液,-20°C 下避光保存。吸取AFTB₁、AFTB₂、AFTG₁、AFTG₂混合 标准储备液适量,经空白基质溶液稀释,配制成质量浓度 分别为0.5、1.0、5.0、10.0、20.0、50.0 ng/mL的AFTB₁、 AFTB₂、AFTG₁、AFTG₂混合标准工作溶液。取1 mL标 准溶液经 0.22 µm 尼龙滤膜过滤后供仪器分析。

1.3.2 供试品溶液的制备

称取 5.00 g酱油(精确至 0.01 g)置于 15 mL 离心管中,先 后加入 2.0 g乙酸铵和 2.0 mL 乙腈溶液,涡旋至乙酸铵固体完 全溶解(约 1 min),然后 10000 r/min 转速下离心 5 min。移取 全部上层有机层(约 1.4 mL)置于 2.0 mL 容量瓶中,加水定 容至刻度,混匀,过 0.22 μm 尼龙滤膜后进仪器分析。 1.3.3 标准曲线的绘制

采取基质加标制备标准曲线:精密吸取上述混合标 准工作液各 5 μL 进超高效液相色谱-串联质谱仪检测,测 定定量离子出峰面积,以进样质量浓度(*X*, ng/mL)为横坐 标,定量离子峰面积(*Y*)为纵坐标,绘制 4 种黄曲霉毒素基 质标准溶液曲线图。

1.4 色谱及质谱条件

ZORBAX SB-C₁₈色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流 动相 A: 甲醇/乙腈混合液(50:50, *V:V*), 流动相 B: 5 mmol/L 乙 酸铵溶液; 梯度洗脱程序: 0.0~0.5 min, 40% A; 0.5~3.0 min, 40%~60% A; 3.0~4.0 min, 60% A; 4.0~4.2 min, 60%~100% A; 4.2~5.0 min, 100% A; 5.0~5.5 min, 100%~40% A; 5.5~9.0 min, 40% A; 流速 0.3 mL/min; 进样体积 5 μL; 柱温 35°C。

质谱条件:电喷雾正离子(electron spray ionization, ESI+)模式扫描,多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式检测;毛细管电压为 3.5 kV;干燥气温度 300℃; 干燥气流速 7 L/min;雾化器压力 45 psi; 鞘流气温度: 350℃; 鞘流气流速 11 L/min; AFTB₁、B₂、G₁、G₂的有关 质谱参数详见表 1。

表 1 待测物的监测离子对及最佳质谱参数 Table 1 Monitoring ion pairs and optimal mass spectral parameters of the object to be tested

	I	ĩ		
化合物	电离模式	离子对	碎裂电压/V	碰撞电压/V
AFTB ₁	ESI+	313.0>240.8ª	155	35
	ESI+	313.0>284.9 ^b	155	35
AFTB ₂	ESI+	315.0>287.0 ^a	155	30
	ESI+	315.0>259.0 ^b	155	35
AFTG ₁	ESI+	329.0>243.0ª	155	30
	ESI+	329.0>283.0 ^b	155	25
AFTG ₂	ESI+	331.0>244.9ª	155	30
	ESI+	331.0>285.0 ^b	155	35

注:^a:定量离子对;^b:定性离子对。

1.5 数据处理

试样中4种黄曲霉毒素含量按式(1)计算:

2

$$X_{i} = \frac{C_{i} \times V}{m} \tag{1}$$

Xi---试样中黄曲霉毒素的含量, µg/kg;

Ci--样品溶液中黄曲霉毒素的质量浓度, ng/mL;

V---样品溶液定容体积, mL;

m—称量样品质量,g。

1.6 数据统计与分析

采用 SPSS 26.0 软件对数据进行单因素方差分析 (one-way analysis of variance, ANOVA)、最小显著差异 (least significant difference, LSD)多重比较,显著水平设为 α =0.05,以 P<0.05 表示差异具有统计学意义;使用 Origin 9.0 进行数据绘图。

2 结果与分析

2.1 盐析剂类型的选取

盐析剂的选取直接影响目标物萃取效率的高低。由于 在盐析液液萃取当中,过量盐的使用会使得萃取溶剂中带 有盐析剂,而残留的难挥发盐会在质谱中降低目标物离子 丰度,并对仪器硬件造成腐蚀和污染。因此本研究选择易 挥发的铵盐作为盐析剂,分别考察了甲酸铵、乙酸铵、氯 化铵、硫酸铵 4 种铵盐对黄曲霉毒素的提取效率,结果见 图 1。结果显示,乙酸铵对 4 种黄曲霉毒素的提取回收率 均优于其他盐类,且在 AFTB₁、G₁、G₂提取回收率上具有 显著差异(*P*<0.05),因此选用乙酸铵作为盐析剂。



Fig.1 Screening of salt out agent type (n=3)

2.2 萃取溶剂类型的选取

萃取溶剂是影响萃取效率的重要因素之一。在盐析液 液萃取中,萃取溶剂一般要求密度小于水且与水混溶,同 时又要在加入盐后与水分层,因此本研究考察了乙腈、甲 醇、乙醇、正丙醇、丙酮5种常见的萃取溶剂。加入盐析 剂乙酸铵后,发现只有乙腈、正丙醇和丙酮分层,经过测 定 4 种目标物的提取回收率,结果见图 2,显示乙腈>丙酮>正丙醇,且 3 种溶剂均具有显著差异(P<0.05),因此,选取乙腈作为萃取溶剂。



2.3 盐析剂质量的优化

盐析剂质量对盐析效果至关重要。本研究进一步考察 了乙酸铵的用量(0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 g)对盐析液液萃 取富集效应和萃取效率的影响,结果见图 3。研究表明:不 同乙酸铵用量对盐析后的有机相体积影响较小,随着乙酸 铵用量由 0.5 g增加到 2.0 g时,提取回收率随乙酸铵用量 增大而提高,随着乙酸铵用量进一步加大时,提取回收率 增加并不显著(P>0.05)。因此,以节约试剂原则确定 2.0 g 为最佳盐析质量。





2.4 萃取溶剂体积的优化

过低的萃取溶剂体积会导致萃取不完全,降低萃取效 率,过高的萃取溶剂体积则降低富集倍数,浪费有机试剂。 因此,本研究比较考察了萃取溶剂乙腈的用量(0.8~2.4 mL) 对萃取溶剂与样品溶液分层效果和目标物萃取效率的影响, 结果见图 4。乙腈用量在 0.8 mL 时,盐析后有机层体积较 少、吸取误差大,增加乙腈用量,不同黄曲霉毒素的提取 回收率稍有差异,AFTG₁在 4 种乙腈用量下并无显著差异, 而 AFTB₁、B₂在乙腈用量在 2.0 mL 以上回收率较 2.0 mL 以下用量差异显著(P<0.05),乙腈用量继续增加到 2.4 mL 提取回收率差异不显著(P>0.05)。因此,为节省有机溶剂和 缩短提取时间,确定 2.0 mL 为最佳萃取体积。



图 4 乙腈体积条件筛选(n=3) Fig.4 Screening of acetonitrile volume condition (n=3)

2.5 样品 pH 的优化

样品的 pH 同样是影响萃取效率的因素。由于黄曲霉 毒素在碱性条件下不稳定,因此本研究考察了 pH 分别为 3.0、5.0、7.03 种条件下的回收率,结果见图 5。结果显示, pH 为 7.0 时回收率最高,且与其他 pH 条件下的回收率具 有显著差异(P<0.05)。因此,前处理中不需要额外调节 pH。



Fig.5 Screening of the pH of sample (n=3)

标准曲线、线性范围与检出限 2.6

由于酱油基质效应较强,通过比较基质标准曲线与 纯溶剂标准曲线的斜率, 测得 4 种黄曲霉毒素基质效应 (matrix effect, ME)在13%~62%之间,显示较强的基质抑制 效应,因此采用基质标准曲线定量。将5个浓度黄曲霉毒 素混合对照基质溶液依次进超高效液相色谱-串联质谱仪 测定,绘制 4 种黄曲霉毒素标准曲线图,通过仪器软件线 性拟合自动得到线性方程与相关系数,结果见表 2。由表 2

可知, 4 种目标物线性拟合良好, 相关系数(r²)均大于等于 0.999。AFTB₁、B₂、G₁、G₂对照品(5.0 ng/mL)总离子流色 谱图见图 6。由图 6 可见, 4 种黄曲霉毒素分离完全、峰形对 称、周围无杂峰干扰,可以满足定量检测要求。依据信噪比 (S/N=3), 通过降低进样浓度得出 4 种黄曲霉毒素的检出限, 是以3倍检出限来确定定量限,结果见表2,4种黄曲霉毒素 检出限为 0.01~0.04 µg/kg, 定量限为 0.03~0.12 µg/kg, 说明 方法灵敏度较高。

表 2 AFTB₁、AFTB₂、AFTG₁、AFTG₂的回归方程、线性范围、检出限与定量限 Table 2 Regression equations, linear ranges, limits of detection and limits of quantitation of AFTB1, AFTB2, AFTG1, AFTG2

分析物	线性方程	相关系数	线性范围/(ng/mL)	检出限/(µg/kg)	定量限/(µg/kg)
AFTB ₁	<i>Y</i> =63.656832 <i>X</i> -35.219110	0.999	0.5~20.0	0.01	0.03
AFTB ₂	<i>Y</i> =312.212971 <i>X</i> +134.665507	0.999	0.5~20.0	0.02	0.06
AFTG ₁	<i>Y</i> =413.056587 <i>X</i> -6.881921	0.999	0.5~20.0	0.01	0.03
AFTG ₂	<i>Y</i> =118.047919 <i>X</i> -4.848404	0.999	0.5~20.0	0.04	0.12



图 6 AFTB₁、B₂、G₁、G₂混合基质标准溶液色谱图(5.0 ng/mL) Fig.6 Chromatograms for the mixed standard solution of AFTB₁ B_{2x} G_{1x} G_2 (5.0 ng/mL)

2.7 回收率与精密度实验

在酱油阴性空白样品中分别加入高、中、低 3 种浓度 的黄曲霉毒素混合标准溶液,按照已建立的方法重复测定 6 次, 计算加标回收率和相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs),结果见表 3。由表 3 可知, 4 种黄曲霉毒 素的空白基质加标回收率为 73.2%~94.5%, RSDs 在 0.9%~5.9%之间。4种黄曲霉毒素精密度和回收率均能满足 定量检测要求。

2.8 样品检测与分析

为验证所建立方法的实用性和可靠性,采用该方法 用于实际样品中黄曲霉毒素的筛查。采集当地市场随机抽 取的酱油样品共计 20 批, 1 h 内即可完成所有样品的前处 理,采用本法检测各批次酱油样品中的4种黄曲霉毒素含 量,结果4种黄曲霉毒素均未检出,表明市面上酱油安全 状况总体良好。

2.9 与文献方法的比较

表 4 为本方法与已报道的酱油中黄曲霉毒素检测方 法的比较。由表 4 可知, 本方法具有检出限低和回收率高 等优点。更为重要的是,本方法的有机试剂用量更少、成 本更低、对环境更友好,具有较好的应用前景,可作为一 种简便、快速、高效检测酱油中痕量黄曲霉毒素的新方法。

表 3 精密度及回收率测试结果(n=6) Table 3 Results of tests for recoveries and precisions (n=6)						
化合物 -	0.8 µg/kg		4.0 µg/kg		8.0 µg/kg	
	回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%
AFTG ₂	73.6	2.6	73.2	1.7	74.9	2.0
AFTG ₁	82.4	1.9	83.5	1.1	86.5	0.9
$AFTB_2$	94.5	5.0	88.6	5.9	91.9	2.7
$AFTB_1$	83.7	4.3	81.0	1.5	82.8	2.7

Table 4 Comparison of this method with other methods for determination of aflatoxins in soy sauce						
化合物	前处理方法	检测方法	5g样品有机试 剂消耗量/mL	回收率/%	LODs/(µg/kg)	文献
$AFTB_1$	液液萃取	HPLC-FD	28	75.9~94.7	0.02	[13]
$AFTB_1$ $AFTB_2$ $AFTG_1$ $AFTG_2$	免疫亲和柱	UPLC-MS/MS	9	79.0~108.6	0.017~0.051	[27]
$\begin{array}{c} AFTB_{1} \ \ AFTB_{2} \\ AFTG_{1} \ \ AFTG_{2} \end{array}$	免疫亲和/净化柱	HPLC-MS/MS	14	/	0.03~0.1	GB 5009.22—2016 第 一法
$AFTB_1 \land AFTB_2 \land AFTG_1 \land AFTG_2$	液液萃取	UPLC-MS/MS	2	73.2~94.5	0.01~0.04	本研究

表 4 本方法与酱油中黄曲霉毒素其他检测比较 able 4. Comparison of this method with other methods for determination of aflatoxins in sov sauce

注: 高效液相色谱-荧光检测器法(high performance liquid chromatography-fluorescence detection method, HPLC-FD); 高效液相色谱-串联 质谱法(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS/MS); /为未注明。

3 结 论

本研究建立了以挥发性铵盐盐析辅助液液萃取结合 超高效液相色谱-串联质谱法检测酱油中 4 种黄曲霉毒素 的检测方法;该方法采用乙腈作为提取溶剂、挥发性铵盐 乙酸铵为盐析助剂,采用超高效液相色谱-串联质谱仪在 正离子模式下检测,基质标准曲线外标法定量,解决了质 谱中因难挥发盐析剂带来的离子信号抑制问题。同 GB 5009.22—2016 相比,该方法检出限达到现有国家标准,但 有机试剂消耗少,成本较国家标准方法大大降低,操作简 单快捷、实用性强,适用于酱油中黄曲霉毒素污染的高通 量检测。

参考文献

- 苗春雷,孙启星,李学伟,等.不同电渗析条件下酱油主要风味组分迁 移规律研究[J]. 中国酿造, 2022, 41(3): 125–129.
 MIAO CL, SUN QX, LI XW, *et al.* Migration of main flavor components of soy sauce under different electro dialysis conditions [J]. China Brew, 2022, 41(3): 125–129.
- [2] 滑欢欢, 梁亮, 区晓鸣, 等. 酿造酱油生产过程中黄曲霉毒素的分析与控制研究[J]. 农产品加工(学刊), 2014, (8): 14–15.
 HUA HH, LIANG L, OU XM, *et al.* Analysis of aflatoxin in the fermented soy sauce and its control [J]. Acad Period Farm Prod Process, 2014, (8): 14–15.
- [3] LIMA GPP, VIANELLO F. Food quality, safety and technology [M]. Wien: Springer-Verlag, 2013.
- [4] The International Agency for Research on Cancer. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene [M]. Geneva: IARC Press, 2002.
- [5] DAI YQ, HUANG KL, ZHANG BY, et al. Aflatoxin B₁-induced epigenetic alterations: An overview [J]. Food Chem Toxicol, 2017, 109: 683–689.
- [6] 刘立芳. 黄曲霉毒素的检测及其降解方法进展[J]. 中国酿造, 2014, 33(1): 23-26.

LIU LF. Progress on detection and degradation method of aflatoxin [J]. China Brew, 2014, 33(1): 23-26.

[7] BLAKE RR, MUSTAFA IS. Aflatoxin B1: A review on metabolism,

toxicity, occurrence in food, occupational exposure, and detoxification methods [J]. Food Chem Toxicol, 2019, 124: 81–100.

- [8] KHAN IM, NIAZI S, YU Y, et al. Aptamer induced multicolored AuNCs-WS2 "turn on" FRET nano platform for dual-color simultaneous detection of aflatoxin B₁ and zearalenone [J]. Anal Chem, 2019, 91(21): 14085–14092.
- [9] 王蓓蓓,陈琛,李崇勇. 食品中黄曲霉毒素的前处理与检测方法进展
 [J]. 粮食与油脂, 2021, 34(11): 1–5.
 WANG BB, CHEN C, LI CY. Advances in pretreatment and detection methods of aflatoxin in food [J]. Cere Oils, 2021, 34(11): 1–5.
- [10] RAYSYAN A, EREMIN SA, BELOGLAZOVA NV, et al. Immunochemical approaches for detection of aflatoxin B₁ in herbal medicines [J]. Phytochem Anal, 2020, 31(5): 662–669.
- [11] WANG C, LI Y, ZHAO Q. A competitive electrochemical aptamer-based method for aflatoxin B₁ detection with signal-off response [J]. Anal Methods, 2020, 12(5): 646–650.
- [12] 张萍, 彭西甜, 冯钰锜. 食品中黄曲霉毒素检测的样品前处理技术研究进展[J]. 分析科学学报, 2018, 34(2): 274-280.
 ZHANG P, PENG XT, FENG YQ. Research advances of sample preparation methods for detection of aflatoxin in food [J]. J Anal Sci, 2018, 34(2): 274-280.
- [13] 马海峰,陶唐平,方林明,等. 液液萃取-HPLC法测定食品中黄曲霉毒素 B₁[J]. 食品工业, 2020, 41(5): 296–299.
 MA HF, TAO TP, FANG LM, *et al.* Determination of aflatoxin B₁ in food by HPLC with liquid-liquid extraction [J]. Food Ind, 2020, 41(5): 296–299.
- [14] DU BB, WANG PL, XIAO C, et al. Antibody-free colorimetric determination of total aflatoxins by mercury (II)-mediated aggregation of lysine-functionalized gold nanoparticles [J]. Microchim Acta, 2016, 183: 1493–1500.
- [15] 李丽, 吴字, 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.
- [16] 高何刚, 徐来潮, 杜赛, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测霉千张 中 13 种真菌毒素[J]. 分析试验室, 2017, 36(8): 952–956.
 GAO HG, XU LC, DU S, *et al.* Simultaneous determination of 13 mycotoxins in fermented dried bean curd sheet by ultra-high performance

liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Anal Lab, 2017, 36(8): 952–956.

- [17] 郝铖, 王思齐, 李腾飞, 等. 分子印迹技术在黄曲霉毒素检测中的最新研究进展[J]. 分析试验室, 2022, 41(3): 350–356.
 HAO C, WANG SQ, LI TF, *et al.* Recent research advances in aflatoxin detection by molecular imprinting technique [J]. Chin J Anal Lab, 2022, 41(3): 350–356.
- [18] 王东旭, 陈晓平. 高效液相色谱法测定蚕蛹粉中的黄曲霉毒素含量[J].
 蚕业科学, 2020, 46(1): 124–128.
 WANG DX, CHEN XP. Determination of aflatoxin content in silkworm

pupa powder by high performance liquid chromatography [J]. Acta Seismol Sin, 2020, 46(1): 124–128.

- [19] MASSAROLO KC, MENDOZA JR, VERMA T, et al. Fate of aflatoxins in commeal during single-screw extrusion: A bioaccessibility approach [J]. Food Sci Technol, 2021, 138(10): 110734.
- [20] 程慧, 龚蕾, 李诗瑶, 等. 基于铜离子显色反应的磁珠免疫分析快速检测黄曲霉毒素 B₁[J]. 现代食品科技, 2018, 34(6): 212–217.
 CHENG H, GONG L, LI SY, *et al.* Rapid detection of alflatoxin B₁ by magnetic bead immunoassay based on copper chromogenic reaction [J]. Mod Food Sci Technol, 2018, 34(6): 212–217.
- [21] GUO L, SHAO YN, DUAN H, et al. Magnetic quantum dot nanobead-based fluorescent immunochromatographic assay for the highly sensitive detection of aflatoxin B₁ in dark soy sauce [J]. Anal Chem, 2019, 91(7): 4727–4734.
- [22] LIU Y, LI W, DING Z, et al. Three-dimensional ordered macroporous magnetic photonic crystal microspheres for enrichment and detection of mycotoxins (II): The application in liquid chromatography with fluorescence detector for mycotoxins [J]. J Chromatogr A, 2019, 1604: 460475.
- [23] 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 谐-串联质谱法快速检测花生和花生油中黄曲霉毒素 B₁[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 B₁ in 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.

[24] 王少敏, 杜春晓, 刘贤贤, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱 法同时测定三七中 26 种真菌毒素[J]. 世界中医药, 2019, 14(4): 798-804.

WANG SM, DU CX, LIU XX, *et al.* Simultaneous determination of 26 mycotoxins in *Notoginseng radix* et Rhizoma by QuEChERS-ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. World Chin Med, 2019, 14(4): 798–804.

[25] DONG XQ, ZOU B, ZHAO XY, et al. Rapid qualitative and quantitative

analysis of aflatoxin B_1 in Pu-erh tea by liquid chromatography-isotope dilution tandem mass spectrometry coupled with the QuEChERS purification method [J]. Anal Methods, 2018, 10(39): 4776–4783.

- [26] HIDALGO-RUIZ JL, ROMERO-GONZALEZ R, MARTINEZ VIDALJL, et al. A rapid method for the determination of mycotoxins in edible vegetable oils by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Chem, 2019, 288: 22–28.
- [27] 杨春林,李佳峻,胡强,等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定发酵调味品中黄曲霉毒素 B₁, B₂, G₁, G₂ 方法的研究[J]. 中国调味品, 2013, 38(2): 79–83.

YANG CL, LI JJ, HU Q, *et al.* Determination of four aflatoxins (B₁, B₂, G₁, G₂) in fermented condiment by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. China Cond, 2013, 38(2): 79–83.

- [28] XIONG ZW, WANG Q, XIE YJ, et al. Simultaneous detection of aflatoxin B₁ and ochratoxin A in food samples by dual DNA tweezers nanomachine [J]. Food Chem, 2021, 338: 128–122.
- [29] WANG DX, WANG XC, HU QJ, et al. Salting-out assisted liquid-liquid extraction coupled to dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of bisphenol a and six analogs (B, E, F, S, BADGE, BFDGE) in canned coffee drinks by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Anal Methods, 2021, (14): 441–452.
- [30] 杨霄,刘伶俐,李小玲,等. 盐析辅助液液萃取/高效液相色谱-串联质 谱法测定渔业水体中的 7 种喹诺酮类抗生素[J]. 分析测试学报, 2021, 40(10): 1509–1514.

YANG X, LIU LL, LI XL, *et al.* Determination of seven quinolones antibiotics in fishery water using salting-out assisted liquid-liquid extraction and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2021, 40(10): 1509–1514.

[31] NEMEŠKALOVÁ A, BURSOVÁ M, SÝKORA D, et al. Salting out assisted liquid-liquid extraction for liquid chromatography tandem-mass spectrometry determination of amphetamine-like stimulants in meconium [J]. J Pharm Biomed Anal, 2019, 172(5): 42–49.

(责任编辑:张晓寒 于梦娇)

作者简介



王东旭,博士,高级工程师,主要研究 方向为食品质量安全检测。 E-mail: 11237122@zju.edu.cn