

实验技术与方法

基于石墨烯净化的超高效液相色谱串联质谱快速测定乳制品中黄曲霉毒素

杨昊^{1,2}, 公丕学^{1,2}, 王骏^{1,2}, 姜俊^{1,2}, 王德利^{1,2}, 冷佳蔚^{1,2}

(1. 山东省食品药品检验研究院, 山东 济南 250101;

2. 山东省特殊医学用途配方食品质量控制工程技术研究中心, 山东 济南 250101)

摘要:目的 基于石墨烯新型吸附材料,建立了乳制品中6种黄曲霉毒素的超高效液相色谱串联质谱定量分析方法。方法 样品经水溶解后,乙腈提取,经氮吹浓缩后,以乙腈:0.1%甲酸(1:1)溶液复溶,经石墨烯新型吸附材料净化,利用超高效液相色谱分离,串联质谱检测。结果 在0.05~100 ng/mL浓度范围内,线性相关系数(r)>0.998;加标回收为91.0%~118.5%,相对标准偏差为2.39%~6.00%;定量限为0.01~0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。结论 该方法简便、快速、灵敏,适用于乳制品中6种黄曲霉毒素的测定。

关键词:黄曲霉毒素;石墨烯;乳制品;超高效液相色谱串联质谱法

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2023)03-0396-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2023.03.012

Fast determination of aflatoxin in dairy products by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry based on purification of graphene

YANG Hao^{1,2}, GONG Pixue^{1,2}, WANG Jun^{1,2}, JIANG Jun^{1,2}, WANG Deli^{1,2}, LENG Jiawei^{1,2}

(1. Shandong Institute for Food and Drug Control, Shandong Ji'nan 250101, China; 2. Shandong Research Center of Engineering and Technology for Quality Control of Food for Special Medical Purposes, Shandong Ji'nan 250101, China)

Abstract: Objective An ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric (UPLC-MS/MS) method was developed to quantitatively determine the six kinds of aflatoxins in dairy products by employing a novel graphene based adsorbent. **Methods** The samples were dissolved in water and extracted by acetonitrile. After concentrated with nitrogen, the extracts were re-dissolved in the mixture of acetonitrile and 0.1% formic acid (1:1), and purified by graphene adsorbent. The analytes were separated by UPLC, and detected with triple quadrupole mass spectrometer. **Results** The linear range was 0.05-100 ng/mL with correlation coefficients (r) above 0.998. The recoveries of aflatoxins in spiked dairy product ranged from 91.0% to 118.5% with relative standard deviations of 2.39%-6.00%. The limits of quantitation were in the range of 0.01-0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$. **Conclusion** This simple and sensitive method can be used for rapid determination of six kinds of aflatoxins in dairy products.

Key words: Aflatoxins; graphene; dairy products; UPLC-MS/MS

黄曲霉毒素为黄曲霉、寄生曲霉等真菌代谢产生的一类有剧毒的真菌类毒素^[1],黄曲霉毒素及其衍生物有20多种^[2],自然界中黄曲霉毒素B₁(Aflatoxin B₁, AFB₁)^[3]、黄曲霉毒素B₂(Aflatoxin B₂, AFB₂)、黄曲霉毒素G₁(Aflatoxin G₁, AFG₁)、黄曲霉毒素G₂(Aflatoxin G₂, AFG₂)、黄曲霉毒素M₁(Aflatoxin M₁,

AFM₁)、黄曲霉毒素M₂(Aflatoxin M₂, AFM₂)比较常见,这类化合物的基本结构是由一个双呋喃环和一个氧杂萜邻酮(香豆素)组成。AFB₁对人和动物毒性较大^[4],主要是损害肝脏,人的原发性肝癌很可能与黄曲霉毒素有关。AFM₁是AFB₁羟基化的代谢物,兼具毒性和致癌性,牛乳中的AFM₁通常是奶牛食用含有AFB₁的饲料,产生的乳汁和尿液中会有部分AFB₁转化为AFM₁,转化率为1%~6%^[5-6]。

黄曲霉毒素检验方法主要有免疫化学分析法^[7-8]和仪器分析法^[9-11]。免疫化学分析法包含酶联免疫吸附测定法(Enzyme linked immunosorbent assay,

收稿日期:2021-12-29

作者简介:杨昊 男 高级工程师 研究方向为食品安全检测及仪器设备研发 E-mail:yanghao@shandong.cn

通信作者:王骏 男 工程技术应用研究员 研究方向为食品安全检测 E-mail:sdzywj@163.com

ELISA)等,具有特异性强、稳定性高、操作简便等特点,但是存在灵敏度和准确度不高的劣势。仪器分析方法有薄层色谱法^[12]、高效液相色谱-荧光光度法^[1]、液相色谱-串联质谱法^[13-20]和高效液相色谱-光化学衍生-荧光检测法^[1,11,21]。随着检测仪器稳定性的提高和普及化,液相色谱串联质谱法的高灵敏度、高准确度的优势越来越明显。

乳制品中黄曲霉毒素的检测因乳制品基质复杂,通常需使用免疫亲和柱净化,虽然净化效果较好,但检测成本较高。本文拟使用石墨烯净化技术,建立液相色谱-串联质谱检测乳制品中6种黄曲霉毒素含量的方法,以期达到在检测灵敏度、准确度相当的情况下降低检测成本的目的,能够满足乳制品中6种黄曲霉毒素同时检验的需求。

1 材料与方 法

1.1 主要仪器与试剂

Acquity I-Class 超高效液相色谱仪、色谱柱 Waters ACQUITY UPLC HSS T₃ (2.1 mm×100 mm, 3.0 μm)、Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)、TQ-S 串联四级杆质谱仪(Waters 公司);电子天平(德国 Sartorius 公司);低转速涡旋混合器(IKA 公司);超声波清洗器(新芝生物科技有限公司);3-18K 型冷冻型离心机(德国 Sigma 公司);MILLI-Q 超纯水(美国 Millipore 公司);HGC-28 型氮吹仪(天津市恒奥科技发展有限公司);石墨烯(单层)(片径 0.5~5 μm,厚度 0.8 nm,南京先丰纳米材料科技有限公司);石墨化炭黑(GCB,100~300 目,长沙华学生物科技有限公司);黄曲霉毒素 M₁ 免疫亲和柱(100 ng×1 mL/支,北京华安麦科科技有限公司);黄曲霉毒素总量(B₁、B₂、G₁、G₂、M₁、M₂)免疫亲和柱(300 ng×1 mL/支,北京华安麦科科技有限公司)。

黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂、M₁、M₂ 标准物质(纯度≥99.0%,德国 Dr. Ehrenstorfer 公司);同位素内标 ¹³C₁₇-黄曲霉毒素 M₁、B₁ 标准物质(纯度≥99.0%,德国 Dr. Ehrenstorfer 公司);乙腈配置储备液(4 °C 保存);乙腈(色谱纯,美国 Fisher 公司)、甲醇(美国默克公司)、甲酸(色谱纯,美国奥德里奇公司);超纯水;高纯氮气(>99.999%);高速离心管(美国康宁);有机微孔滤膜(0.22 μm,上海安谱科学仪器有限公司)。

1.2 标准溶液

取一定量 ¹³C₁₇-黄曲霉毒素 M₁、B₁ 标准物质,使用乙腈溶液配制成浓度分别为 50、5 ng/mL 的内标工作液。

称取 10.0 mg(精确至 0.1 mg)黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂、M₁、M₂ 标准品,使用少量乙腈溶解后用乙腈定容至 10 mL,配制成 1 mg/mL 的标准储备溶液,移取标准储备溶液,用空白基质溶液配成浓度分别为 0.05、0.1、0.5、1、10、50、100 ng/mL 的标准工作溶液,现用现配。

1.3 样品前处理

1.3.1 提取

准确称取乳粉样品 5.00 g(精确至 0.01 g)于具塞离心管(50 mL)中,准确加入 10 mL 60 °C 温水涡旋 3 min 溶解,待处理。

准确称取液体乳及发酵乳样品 5.00 g(精确至 0.01 g)于具塞离心管(50 mL)中,准确加入 5 mL 60 °C 温水涡旋 3 min,待处理。

向上述具塞离心管中分别加入 20 mL 乙腈,超声提取 10 min,4 000 r/min 离心 5 min,将上清液全部转移至另一 50 mL 离心管中,加入 24 g 无水硫酸钠,振摇 2 min,4 000 r/min 离心 5 min(相对离心力为 4 383×g),取全部清液于氮吹管中,45 °C 下用氮气缓缓吹至近干,残留物用的乙腈-0.1% 甲酸水(1:1)定容至 1 mL,超声 5 min,待净化。

1.3.2 净化

向含有待净化液的离心管中准确加入 3 mg 石墨烯,涡旋混匀 1 min,用 0.22 μm 有机滤膜过滤,滤液供测定。

1.4 色谱-质谱条件

液相色谱条件:色谱柱:BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm,1.7 μm);流动相:乙腈(A)和 0.1% 甲酸水溶液(B),洗脱(梯度):0~5 min,流动相(A):20% 线性递增至 80%;5.1 min,流动相(A)增至 95%,保持 2.5 min;7.5 min,流动相(A)降至 20%,保持 2.5 min。流速:0.25 mL/min;柱温:40 °C;进样量:5 μL。

质谱条件:离子化模式:ESI⁺;电喷雾电压值:2.5 kV;脱溶剂气温度:500 °C;锥孔电压:25 V;Source offset:60.0;雾化气:850 L/H;锥孔气:150 L/H;碰撞气:0.15 mL/min。黄曲霉毒素的定性定量离子对及锥孔电压、碰撞电压见表 1。

2 结果

2.1 液相色谱条件的优化

为选择最佳分离条件,对比了 Waters ACQUITY UPLC HSS T₃ (2.1 mm×100 mm, 3.0 μm) 和 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) 两种色谱柱对 6 种黄曲霉毒素的分离效果。实验结果表明,BEH C₁₈ 色谱柱对 6 种黄曲霉毒素分离效果要优于 HSS T₃ 色谱柱,因为 HSS T₃ 色谱柱适

表1 黄曲霉毒素的定性定量离子及监测条件

Table 1 The optimized mass parameters of aflatoxin

化合物	母离子/ (m/z)	子离子/ (m/z)	锥孔 电压/V	碰撞 电压/V	驻留 时间/ms
AFB ₁	313.0	241.0	25	25	50
	313.0	285.0	25	25	50
AFB ₂	315.0	259.0	25	26	50
	315.0	287.0	25	26	50
AFM ₁	329.0	259.0	25	20	50
	329.0	273.0	25	21	50
AFG ₁	329.0	243.0	25	25	50
	329.0	283.0	25	24	50
AFG ₂	331.0	245.0	25	20	50
	331.0	285.0	25	25	50
AFM ₂	331.0	261.0	25	20	50
	331.0	275.0	25	20	50

用于反相色谱分离中增强对极性化合物和代谢物的保留,黄曲霉类毒素不容易从色谱柱上洗脱下来,出峰时间较晚,黄曲霉毒素分离效率低。故选择 BEH C₁₈ 色谱柱作为分离黄曲霉毒素的分离色谱柱。

比较乙腈-0.1% 氨水、乙腈-0.1% 甲酸、乙腈-水 3 种流动相,结果表明乙腈-0.1% 甲酸水作为流动相时,6 种黄曲霉类毒素分析物在 10 min 内获得较好色谱分离并有较强的质谱响应。

2.2 样品加水量的优化

黄曲霉毒素在水、乙腈等极性溶剂中具有较好的溶解性。液体乳和发酵乳,含有大量水,不存在溶解提取问题,而乳粉需要预先复溶,以提高提取效率。在空白全脂乳粉中添加 0.1 μg/kg 的黄曲霉毒素标液,比较了 1、2、5、10、20、30 mL 不同加水量的提取效果,结果见图 1。当加水体积小于 10 mL 时,黄曲霉毒素回收率低于 85%,当加水体积为 10 mL 时,回收率达到 90% 以上,当体积继续增大时,回收率几乎稳定在 90% 以上。原因可能是由于乳粉中含有大量的蛋白和脂肪,当加水体积低于 10 mL 时,样品复溶效果不理想,可能存在结块,此时加入乙腈会造成蛋白变性凝固,形成团块,导致内部的目标物提取不完全,回收率偏低。

2.3 石墨烯净化条件考察

2.3.1 优化石墨烯加入量

石墨烯具有特殊的石墨表面和高比表面积,对有机小分子具有天然的吸附优势,是新型的吸附分离材料。在空白全脂乳粉中添加 0.1 μg/kg 的黄曲霉毒素标液,放置 30 min 后进行测定,比较不同石墨烯加入量对方法回收率的影响,结果见图 2。随着石墨烯加入量的增加,6 种黄曲霉毒素回收率逐渐提高,说明石墨烯加入量少时,对黄曲霉毒素吸附不完全;当加入量达到 3 mg 时,黄曲霉毒素回收率均达到 90% 以上;石墨烯加入量继续增加时,吸

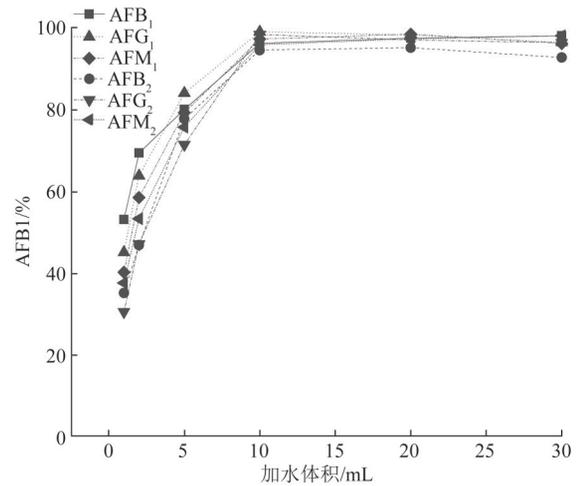


图1 加水体积的优化

Figure 1 Optimization of water volume

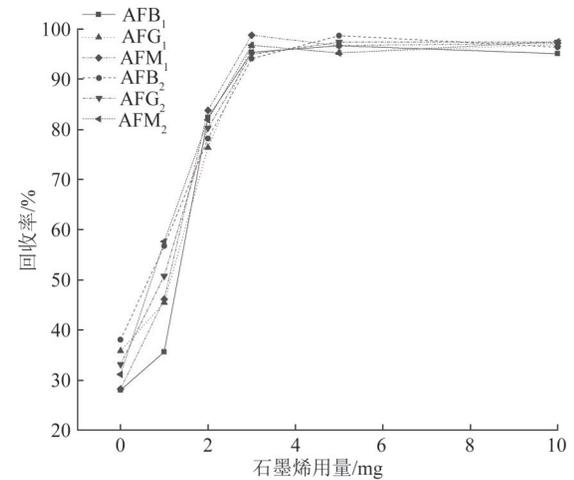


图2 石墨烯用量的优化

Figure 2 Optimization of graphene dosage

附剂已经足够,能够足够吸附目标化合物,回收率不再提高。因此确定石墨烯使用量为 3 mg。

2.3.2 石墨烯和 GCB 的选择

对 GCB 净化材料使用量进行测试,在空白全脂乳粉中添加 0.5 μg/kg 的黄曲霉毒素标液,放置 30 min 后进行测定,比较不同 GCB 加入量对方法回收率的影响,结果见图 3。当加入量为 400 mg 时 6 种黄曲霉毒素回收率较高,当加入量达到 600 mg 时,黄曲霉毒素回收率降低到 30% 以下;GCB 加入量继续增加时,吸附剂吸附目标化合物,回收率降低。因此 GCB 较优使用量为 400 mg。

在空白全脂乳粉中添加 0.5 μg/kg 水平的黄曲霉毒素,分别使用 3 mg 石墨烯和 400 mg GCB 进行测试,结果见表 2,数据显示石墨烯的效果更为理想。

2.3.3 石墨烯和免疫亲和柱净化效果比较

在空白全脂乳粉中添加 0.1 μg/kg 的黄曲霉毒素,石墨烯使用量为 3 mg,免疫亲和柱选用华安麦

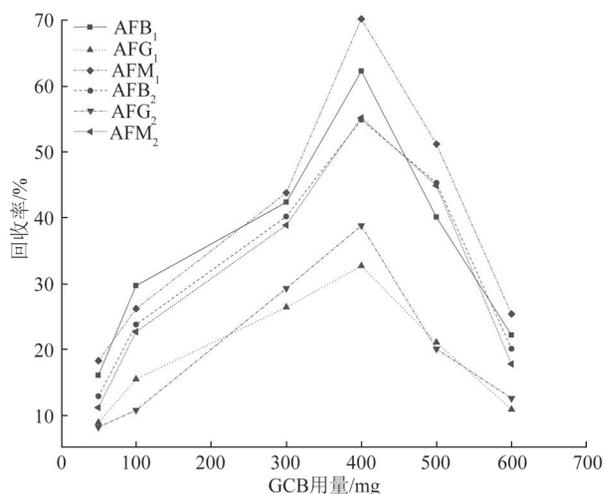


图3 GCB用量的优化

Figure 3 Optimization of GCB dosage

表2 两种净化材料回收率

Table 2 Recoveries of two purification materials

目标物	GCB回收率/%	石墨烯回收率/%
AFB ₁	62.3	92.5
AFB ₂	54.9	91.8
AFG ₁	32.6	94.1
AFG ₂	38.7	95.8
AFM ₁	70.6	95.1
AFM ₂	55.2	96.8

科黄曲霉毒素总量(B₁、B₂、G₁、G₂、M₁、M₂),对两种净化方法进行结果比对,结果见图4,表明本方法具有良好的准确度。

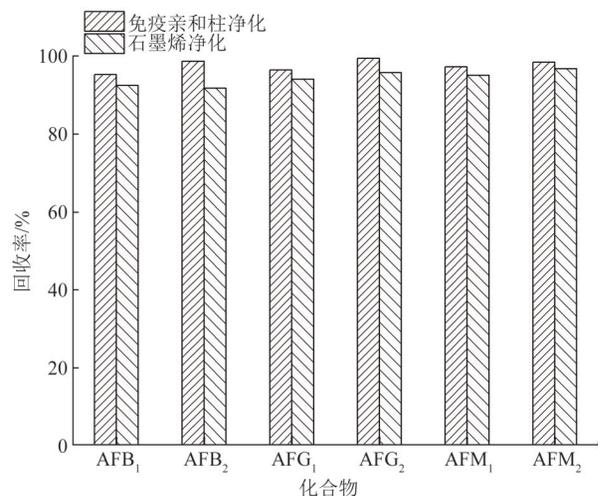


图4 两种净化方式黄曲霉毒素的回收率

Figure 4 Recoveries of aflatoxin by two purification methods

2.4 样品复溶剂的选择

样品氮吹至近干后,复溶使用的溶剂会影响色谱峰形和质谱信号的强弱。空白基质黄曲霉毒素加标量为 0.1 μg/kg,比较了乙腈、水、乙腈-0.1%乙酸水(1:1)3种不同复溶剂,当使用乙腈和水做复溶剂时,目标化合物的色谱峰峰形展宽严重,峰形不对称出现前伸和拖尾现象;当用乙腈-0.1%乙酸

水(1:1)为复溶剂时,6种目标物色谱峰峰形得到了明显的改善,响应值也显著提高。

2.5 质谱条件优化

根据黄曲霉毒素类的分子结构,以 50 ng/mL 的标准溶液注入质谱,优化毛细管电压和锥孔电压,进而通过调整碰撞电压获得最佳的定性离子、定量离子及采集参数。优化的定性定量离子均与 GB 5009.22—2016^[22]、GB 5009.24—2016^[23]中一致,结果见表1。

2.6 基质效应考察

对建立的液相色谱-质谱方法进行基质效应考察。向经过处理后的样品溶液中加入标准溶液,通过比较标准溶液和样品基质稀释标准溶液的响应值,定量评价6种黄曲霉毒素的ME。基质效应通过公式1计算。

$$ME/\%=(A-B)/A \times 100(\%) \quad \text{式1}$$

式中:A表示标准溶液的响应值;B表示样品基质标准溶液的响应值。

在奶粉、纯牛奶和酸牛乳3种基质中添加10 ng/mL 6种黄曲霉毒素标准溶液,测得各组分ME范围为32.4%~95.2%,说明乳制品样品对6种黄曲霉毒素存在不同程度的基质抑制效应,不适合采用标准溶液定量。

使用AFM₁同位素内标和AFB₁同位素内标再次进行了评价,在奶粉、纯牛奶和酸牛乳3种空白基质中加入100 μL, ³C₁₇-AFTM₁、B₁内标工作液(5 ng/mL)按照1.3进行样品前处理,在标准系列溶液中也加入相同量的内标溶液,进行定量测定。数据通过公式2进行计算ME范围为93.9%~98.2%,结果基本一致。

$$ME/\%=(C-D)/C \times 100(\%) \quad \text{式2}$$

式中:C表示内标校准后标准溶液响应的值;D表示内标校准后样品基质标准溶液响应的值。

2.7 线性范围与定量下限

6种黄曲霉毒素的基质标准曲线见表3,线性相关系数均大于0.998。按照定性定量离子均满足信噪比大于3和10,初步确定了方法的检出限(Limit of detection, LOD)和定量限(Limit of quantitation, LOQ)。在代表性基质中添加定量限水平的标准溶液,测定相应的回收率和精密度,结果见表4。表明本方法在不同基质中均可满足定量限要求,6种目标物的定量限见表3。

2.8 回收率与精密度

分别在乳粉、牛乳和酸牛乳阴性样品中,添加0.01、0.10、0.50 μg/kg 3个浓度水平的黄曲霉毒素标准物质,每个水平浓度进行6次重复测试,回收

表3 不同基质中黄曲霉毒素的线性方程、线性相关系数、定量限

Table 3 Linear equations, correlation coefficients (r) and LOQs of aflatoxin in different sample matrix

样品基质	待测目标物	线性方程	线性相关系数(r)	LOQs/($\mu\text{g}/\text{kg}$)
乳粉	AFB ₁	$y=1.573e^4x+3.405e^3$	0.998 9	0.01
	AFB ₂	$y=2.311e^4x+2.243e^3$	0.999 2	0.01
	AFG ₁	$y=1.018e^4x+1.028e^3$	0.999 5	0.01
	AFG ₂	$y=1.275e^4x+0.905e^3$	0.999 3	0.01
	AFM ₁	$y=1.861e^4x+2.659e^3$	0.999 7	0.01
	AFM ₂	$y=1.467e^4x+2.113e^3$	0.998 8	0.05
纯牛乳	AFB ₁	$y=6.627e^4x+2.991e^3$	0.999 3	0.01
	AFB ₂	$y=5.742e^4x+1.983e^3$	0.999 7	0.01
	AFG ₁	$y=6.182e^4x+2.171e^3$	0.999 6	0.01
	AFG ₂	$y=6.332e^4x+1.854e^3$	0.998 5	0.01
	AFM ₁	$y=5.554e^4x+1.443e^3$	0.999 8	0.01
	AFM ₂	$y=4.924e^4x+3.225e^3$	0.998 6	0.05
酸牛乳	AFB ₁	$y=3.824e^4x+3.591e^3$	0.998 1	0.01
	AFB ₂	$y=2.917e^4x+2.934e^3$	0.999 3	0.01
	AFG ₁	$y=4.011e^4x+3.087e^3$	0.999 8	0.01
	AFG ₂	$y=3.213e^4x+2.884e^3$	0.998 2	0.01
	AFM ₁	$y=4.233e^4x+1.989e^3$	0.998 9	0.01
	AFM ₂	$y=3.558e^4x+2.971e^3$	0.999 0	0.05

率、精密度的相关数值见表4,加标的回收率范围为91.0%~118.5%,相对标准偏差(Relative standard

deviations, RSD)为2.39%~6.00%。0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的纯牛乳样品加标质量色谱图见图5。

表4 添加回收率与精密度(n=6)

Table 4 Average recoveries and RSDs of aflatoxin in spiked samples (n=6)

样品	待测目标物	加标水平/($\mu\text{g}/\text{kg}$)					
		0.01		0.10		0.50	
		平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%
乳粉	AFB ₁	99.8	4.79	96.2	2.95	107.4	2.51
	AFB ₂	91.0	5.73	93.8	3.76	106.6	4.34
	AFG ₁	93.2	5.36	98.3	3.42	93.9	4.03
	AFG ₂	107.4	5.56	106.2	2.44	117.6	2.67
	AFM ₁	108.2	3.52	100.6	2.75	118.4	2.50
	AFM ₂	106.9	4.37	112.9	3.58	109.6	2.97
纯牛乳	AFB ₁	103.9	4.07	101.0	3.05	110.6	2.84
	AFB ₂	107.0	5.51	116.8	5.38	101.9	4.09
	AFG ₁	93.0	2.39	100.7	3.32	98.3	4.92
	AFG ₂	116.8	3.45	105.9	2.87	96.6	2.85
	AFM ₁	116.5	5.84	99.9	4.84	111.5	3.03
	AFM ₂	95.3	4.68	114.0	2.91	91.4	2.41
酸牛乳	AFB ₁	91.2	5.65	111.8	4.04	117.9	4.37
	AFB ₂	113.0	3.45	95.3	4.63	116.3	4.74
	AFG ₁	112.1	5.79	100.6	3.28	95.7	2.67
	AFG ₂	104.5	6.00	112.1	3.50	97.6	4.12
	AFM ₁	104.7	4.46	113.0	4.51	98.8	4.49
	AFM ₂	94.7	2.76	118.5	5.44	92.6	3.49

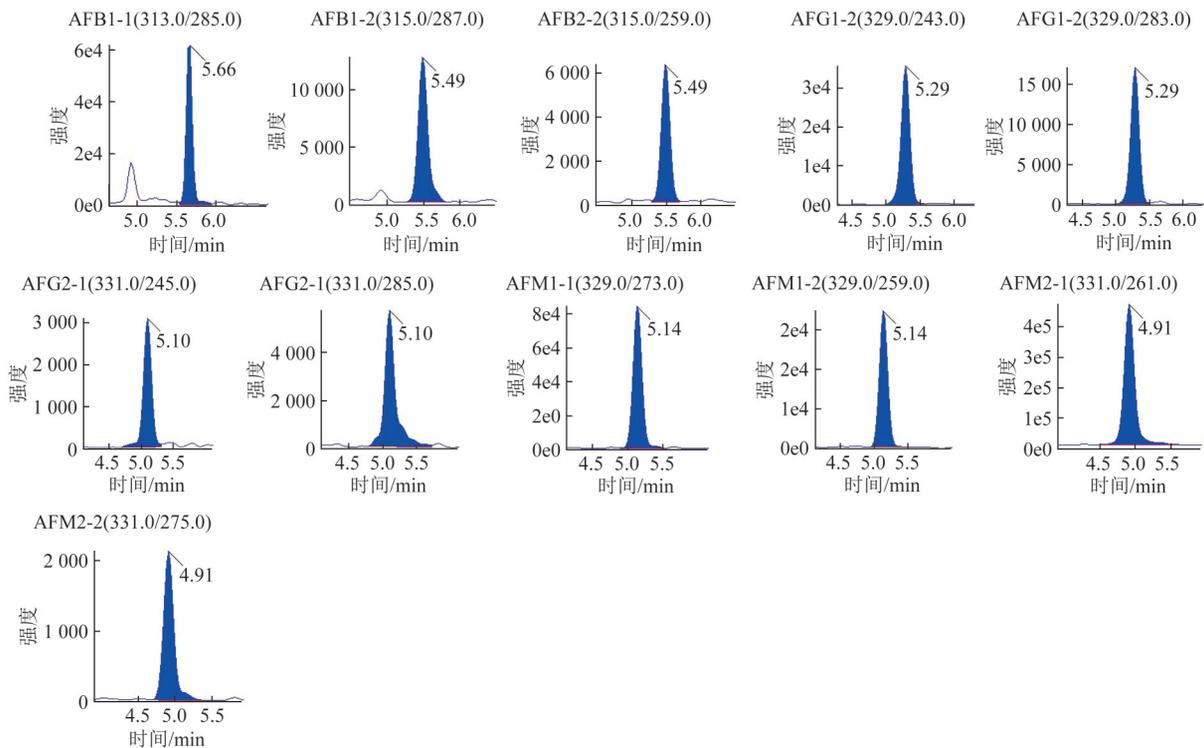


图5 纯牛乳样品加标质量色谱图
Figure 5 MRM labeling of milk samples

2.9 样品测定

在本文建立的方法条件下,对20批次市售含乳制品进行测定,包括婴幼儿配方乳粉、巴氏杀菌乳、发酵乳等样品,检出1批次巴氏杀菌乳黄曲霉

毒素M₁阳性样品,含量为0.056 $\mu\text{g}/\text{kg}$,其他样品均未检出。对阳性样品采用GB 5009.24—2016《食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素M族的测定》第一法同位素稀释液相色谱-串联质谱法进行验证,

其检测值为 0.053 $\mu\text{g}/\text{kg}$,与结果一致。

3 结论

本文建立了乳制品中 6 种黄曲霉毒素的测定方法。样品加水后,乙腈直接提取目标物,大大提高了样品的提取效率。通过引入新型净化材料,不使用免疫亲和净化柱,大幅降低了检测成本,同时降低了方法的定量限。该方法样品前处理简便快速,定性、定量准确,可满足各种乳制品中 6 种黄曲霉毒素的定性定量分析。

参考文献

- [1] 丁轶聪,王桂苓,张伟伟. 荧光光谱-柱后光化学衍生法测定食品中的黄曲霉毒素 B₁[J]. 化学分析计量, 2013, 22(6): 56-58.
DING Y C, WANG G L, ZHANG W W. Determination of aflatoxin B₁ in food by fluorescence chromatography-post-column photochemical derivatization method[J]. Chemical Analysis and Meterage, 2013, 22(6): 56-58.
- [2] 徐尧国. 禽黄曲霉毒素中毒的诊治及预防措施[J]. 吉林畜牧兽医, 2020, 41(4): 34.
XU Y G. Diagnosis, treatment and prevention of avian aflatoxin poisoning [J]. Jilin Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2020, 41(4): 34.
- [3] 刘丽娜,金红宇,孙磊,等. 中药材及部分制剂中黄曲霉毒素残留筛查报告及初步风险评估[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(17): 1541-1546.
LIU L N, JIN H Y, SUN L, et al. General investigation and preliminary risk assessment of aflatoxins in traditional Chinese medicines and their preparations [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2015, 50(17): 1541-1546.
- [4] 徐明芳,耿梦梦. 黄曲霉毒素的细胞毒性及机制[J]. 乳业科学与技术, 2018, 41(3): 1-9.
XU M F, GENG M M. Cytotoxicity and mechanism of aflatoxin [J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2018, 41(3): 1-9.
- [5] 王丽,刘文娇. 黄曲霉毒素 B₁在奶牛体内的代谢及转化为乳中黄曲霉毒素 M₁机制的研究进展[J]. 中国奶牛, 2018(8): 17-19.
WANG L, LIU W J. Research progress on the mechanism of aflatoxin B₁ transforming into aflatoxin M₁ in dairy cows [J]. China Dairy Cattle, 2018(8): 17-19.
- [6] 郭耀东,任嘉瑜,韩晓江,等. 乳制品中黄曲霉毒素 M₁风险评估研究进展与趋势[J]. 湖北农业科学, 2019, 58(20): 9-13.
GUO Y D, REN J Y, HAN X J, et al. Research development and trend on risk assessment of aflatoxin M₁ in dairy products [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2019, 58(20): 9-13.
- [7] 陈曦,侯玉泽,蔡齐超,等. 黄曲霉毒素 M₁免疫学检测方法研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2015, 31(3): 413-416.
CHEN X, HOU Y Z, CAI Q C, et al. Advances in immunological detection of aflatoxin M₁[J]. Chinese Journal of Immunology, 2015, 31(3): 413-416.
- [8] 戴煌,黄周梅,李占明,等. 免疫法在食品黄曲霉毒素检测中的应用[J]. 中国食品学报, 2021, 21(10): 287-304.
DAI H, HUANG Z M, LI Z M, et al. Application of immunoassays in food aflatoxins detection [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(10): 287-304.
- [9] 刘笑笑,丁辉,吴福祥,等. 杂质吸附固相萃取-液相色谱串联质谱法同时测定粮食中 15 种真菌毒素[J]. 粮油食品科技, 2021, 29(1): 155-167.
LIU X X, DING H, WU F X, et al. Simultaneous determination of 15 mycotoxins in grains by solid phase extraction with impurity adsorption and UPLC/MSMS [J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2021, 29(1): 155-167.
- [10] 王志强. 高效液相色谱-柱后衍生法测定食品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂[J]. 河南预防医学杂志, 2018, 29(11): 828-831.
WANG Z Q. Determination of aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂ in food by high performance liquid chromatography with post-column derivatization[J]. Henan Journal of Preventive Medicine, 2018, 29(11): 828-831.
- [11] 杨娟. 高效液相色谱-柱后光化学衍生法测定变性淀粉中黄曲霉毒素含量的研究[J]. 工业微生物, 2021, 51(3): 31-35.
YANG J. Determination of aflatoxin contents in modified starch by high performance liquid chromatography and post-column photochemical derivatization [J]. Industrial Microbiology, 2021, 51(3): 31-35.
- [12] 冯莉. 薄层色谱法检测玉米中黄曲霉毒素 B₁[J]. 现代畜牧科技, 2018, (8): 20.
FENG L. Determination of Aflatoxin B₁ in maize by thin layer chromatography [J]. Modern Animal Husbandry Science & Technology, 2018, (8): 20.
- [13] 谭丽盈. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定醋延胡索药材中 4 种黄曲霉毒素[J]. 化学分析计量, 2021, 30(10): 27-32.
TAN L Y. Simultaneous determination of four kinds of aflatoxins in vinegar corydalis by UPLC-MS/MS [J]. Chemical Analysis and Meterage, 2021, 30(10): 27-32.
- [14] 宗万里,鲁刚. 液相色谱-三重四级杆串联质谱法测定液态乳中黄曲霉毒素 M₁含量[J]. 中国奶牛, 2021, (6): 58-61.
ZONG W L, LU G. Determination of aflatoxin M₁ in liquid milk by LC-MS/MS[J]. China Dairy Cattle, 2021, (6): 58-61.
- [15] 王秀嫔,李培武,杨扬,等. 液相色谱-三重串联四极杆质谱测定粮油中的黄曲霉毒素[J]. 色谱, 2011, 29(6): 517-522.
WANG X P, LI P W, YANG Y, et al. Determination of aflatoxins in cereals and oils by liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2011, 29(6): 517-522.
- [16] 吴基任,潘望,谭高好,等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定花生及土榨花生油中 9 种真菌毒素[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(10): 3927-3935.
WU J R, PAN W, TAN G H, et al. Determination of 9 kinds of mycotoxins in peanuts and flavor peanut oil by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(10): 3927-3935.

- [17] BUSMAN M, BOBELL J R, MARAGOS C M. Determination of the aflatoxin M₁ (AFM₁) from milk by direct analysis in real time-mass spectrometry (DART-MS)[J]. Food Control, 2015, 47: 592-598.
- [18] 陈佩佩, 陈琳珊, 陈茹. 分散液微萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定茶饮料中黄曲霉毒素 B₁ 和 B₂[J]. 食品安全导刊, 2021(19): 67-69, 71.
CHEN P P, CHEN L S, CHEN R. Determination of Aflatoxin B₁ and B₂ in tea beverage by dispersing liquid-liquid microextraction with ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. China Food Safety Magazine, 2021(19): 67-69, 71.
- [19] 廖淑琴, 石雪芬. 植物油中黄曲霉毒素 B₁ 液相色谱-串联质谱法的优化[J]. 食品安全导刊, 2021(21): 71-72.
LIAO S Q, SHI X F. Optimization of aflatoxin B₁ in vegetable oil by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. China Food Safety Magazine, 2021(21): 71-72.
- [20] 王浩, 杨红梅, 郭启雷, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定植物油中苯并芘与黄曲霉毒素 B₁, B₂, G₁, G₂[J]. 分析测试学报, 2014, 33(8): 911-916.
WANG H, YANG H M, GUO Q L, et al. Simultaneous determination of benzo(a) pyrene and aflatoxins (B₁, B₂, G₁, G₂) in vegetable oil by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2014, 33(8): 911-916.
- [21] MAGGIRA M, IOANNIDOU M, SAKARIDIS I, et al. Determination of aflatoxin M₁ in raw milk using an HPLC-FL method in comparison with commercial ELISA kits-application in raw milk samples from various regions of Greece[J]. Veterinary Sciences, 2021, 8(3): 46.
- [22] 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 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定: GB 5009.22—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Health and Family Planning Commission, National Food and Drug Administration. National food safety standard- National food safety standard Determination of aflatoxin B and G in foods: GB 5009.22—2016 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [23] 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 食品中黄曲霉毒素 M 族的测定: GB 5009.24—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Health and Family Planning Commission, National Food and Drug Administration. National food safety standard- National food safety standard Determination of M-group aflatoxins in foods: GB 5009.24—2016 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.