

胶体金免疫层析技术在真菌毒素快速检测中的应用

李康¹, 应美蓉², 盛慧萍^{3*}, 桑丽雅³

(1. 杭州市质量技术监督检测院, 杭州 310022; 2. 浙江省粮油产品质量检测中心, 杭州 310012;
3. 杭州南开日新生物技术有限公司, 杭州 310051)

摘要: 胶体金免疫层析技术具有快速、简便、特异、敏感等特点, 弥补了真菌毒素传统检测方法的不足, 适用于真菌毒素快速现场筛选。本文主要介绍了胶体金免疫层析技术的原理及其在真菌毒素快速检测中的应用及发展前景。

关键词: 胶体金; 免疫层析; 快速检测; 真菌毒素

Application of colloidal gold immunochromatographic assay in rapid detection of mycotoxins

LI Kang¹, YING Mei-Rong², SHENG Hui-Ping^{3*}, SANG Li-Ya³

(1. Hangzhou Institute of Calibration and Testing for Quality and Technical Supervision, Hangzhou 310022, China;
2. Zhejiang Cereals Oil's Products Quality Inspection Center, Hangzhou 310012, China;
3. Hangzhou Nankai Biotech Co., Ltd., Hangzhou 310051, China)

ABSTRACT: Colloidal gold immunochromatographic assay(GICA), which is a fast, simple, specific and sensitive detection method and which can make up for the deficiency of traditional methods of mycotoxins, is suitable for the rapid detection of mycotoxins. This paper mainly introduced the principle of the colloidal gold immunochromatographic assay, its application and prospect in detection of mycotoxin.

KEY WORDS: colloidal; immunochromatographic assay; rapid detection; mycotoxins

真菌毒素(mycotoxin)是一些真菌(主要为曲霉属、青霉属及镰刀属)在生长过程中产生的, 易引起人和动物病理变化和生理变态的次级代谢产物, 毒性很高, 可通过污染农作物和那些来源于被真菌毒素污染了的饲料喂饲的动物性食物(如牛奶、肉和蛋)而进入食物链, 危害人类健康。其主要的毒性作用包括致癌作用、遗传毒性、致畸作用、肝细胞毒性、中毒性肾损害、生殖紊乱和免疫抑制等, 有时以地方性发病的形态出现^[1-2]。真菌毒素污染面广, 易与食品中有机化合物结合, 对消费者的健康造成很大威胁。

因此要防止食品受污染或食入已被污染的食品, 需加强对真菌毒素的检测。进行食品中真菌毒素的现场快速检测对食品中真菌毒素风险监测及食品质量安全监管具有重要意义^[3-4]。

真菌毒素检测方法主要有: 薄层色谱分析法(TLC)、高压液相色谱法(HPLC)、液相色谱-质谱法(LC-MS)、气相色谱(GC)、酶联免疫吸附测定法(ELISA)等。

薄层层析法(TLC), 具有经济、对设备和检验人员要求不高等优点。AOAC 官方方法中 TLC 是分析

基金项目: 浙江省科技计划项目 (2010C33187)

Fund: Supported by the Science and Technology Plan of Zhejiang (2010C33187)

*通讯作者: 盛慧萍, 本科, 主要研究方向为食品安全快速检测技术。E-mail: huipingsheng@126.com

*Corresponding author: SHENG HUI-Ping, Hangzhou Nankai Biotech Co., Ltd., 4 F, 6th Building, Huoshui Industry Park, 95 Binwen Road, Binjiang District, Hangzhou 310051, China. E-mail: huipingsheng@126.com

花生及其制品中的总黄曲霉毒素, 谷物中的玉米赤霉烯酮和杂色曲霉毒素, 苹果汁中的展青霉素等的法定方法。但由于 TLC 法的精确度低、操作过程复杂、分析结果的可重复性和再现性差, 近年来国际上用 TLC 方法检测真菌毒素在逐渐减少^[5]。高压液相色谱法(HPLC)、气相色谱法(GC)等仪器法是定量分析真菌毒素常用的方法, 其分离检测效能高, 分析结果准确性高, 为同时测定多种真菌毒素提供了条件。此外, 与质谱联用还可以大大提高分析的灵敏度和可靠性。AOAC 官方方法中 HPLC 法被用于检测食品中的黄曲霉毒素和伏马菌素, 许多国家用该法检测谷物中的 OTA、ZEN、DON、展青霉素等真菌毒素^[6-7]。但由于仪器法都需配备价格昂贵仪器设备、操作过程复杂、检测时需专业的技术人员在实验室中进行, 不适用于大规模现场快速检测。

免疫学检测方法与 TLC、HPLC、LC-MS 法比较, 具有前处理简单、样品用量少等特点, 特别适合大规模的检测。近年来, 在真菌毒素的检测技术方面, 免疫检测技术因其灵敏度高, 特异性强, 快速、经济简便等特点, 格外受到研究者青睐^[8]。ELISA 法是把抗原抗体的免疫反应和酶的高效催化作用原理有机结合起来的一种检测技术^[9-10], 具有精确、灵敏, 检测时间大大缩短等优点, 但 ELISA 法中酶的活性易受反应条件影响, 由此易造成测定结果重复性较差。此外 ELISA 试剂寿命短, 因此需要低温保藏。免疫胶体金技术是一种新的免疫学方法, 在生物医学、药物检测各领域得到了日益广泛的应用。现已应用到电镜、光镜、凝集试验、体外诊断、斑点渗滤及免疫层析等方面^[11-15]。

胶体金免疫层析技术是当今最快速、灵敏方便的免疫学检测技术之一, 并开始被逐渐应用于农药残留、激素、兽药和毒素等的检测。胶体金免疫层析技术具有快速简便、单样本检测、灵敏度高、特异性强、无需辅助试剂和仪器、可肉眼观察、结果可长期保存等特点, 特别适合于对真菌毒素污染监控中大量样本的筛检工作, 易于普及推广。

1 胶体金免疫层析技术原理及特点

胶体金是氯金酸 (HAuCl_4) 在还原剂如白磷、抗坏血酸、枸橼酸钠、鞣酸等作用下, 聚合成一定大小的金颗粒, 并由于静电作用成为一种稳定的胶体状态, 形成带负电的疏水胶溶液, 故称胶体金。胶体金

在弱碱环境下带负电荷, 可与蛋白质分子的正电荷基团牢固结合^[16-17]。胶体金标记, 实质上是蛋白质等高分子被吸附到胶体金颗粒表面的包被过程。用还原法可以方便地用氯金酸制备各种不同粒径、也就是不同颜色的胶体金颗粒。这种球形的粒子对蛋白质有很强的吸附功能, 可以与葡萄球菌 A 蛋白、免疫球蛋白、毒素、糖蛋白、酶、抗生素、激素、牛血清白蛋白多肽缀合物等非共价结合, 因而在基础研究和临床实验中成为非常有用的工具。

胶体金免疫层析技术是免疫金标记技术和抗原抗体反应相结合的一种应用形式, 它是将特异性的抗原或抗体以条带状固定在膜上, 胶体金标记试剂(抗体或单克隆抗体)吸附在结合垫上, 当待检样本加到试纸条一端的样本垫上后, 通过毛细作用向前移动, 溶解结合垫上的胶体金标记试剂后相互反应, 移动至固定的抗原或抗体的区域时, 待检物与金标试剂的结合物又与之发生特异性结合而被截留, 聚集在检测带上, 可通过肉眼观察到显色结果^[18]。与其他标记技术相比, 有以下特点: 易制备, 成本低; 可同时检测多种物质; 对组织细胞的非特异性吸附作用小, 具有高度特异性和高敏感性; 不仅可用于光镜, 也可用于透射电镜和扫描电镜; 检测结果直接用颜色显示, 肉眼判断直观可靠; 操作简单, 耗时少。胶体金免疫层析技术具有快速、简便、特异、敏感等优点, 因此广泛应用到生物学的各个领域^[19-20]。

根据抗原抗体反应的原理, 可以将胶体金免疫层析法分为以下几个类型: 双抗体夹心法、双抗原夹心法、捕获法以及竞争抑制法^[21]。

2 典型真菌毒素及检测方法

目前已知的真菌毒素有 400 余种, 按其主要产毒菌种可分为曲霉属毒素、青霉属毒素、镰刀菌属毒素及其它类。其中, 毒性强、对人类危害大、污染频率高的毒素主要有以下几种: 黄曲霉毒素(aflatoxins, AF)、赭曲霉毒素 A(ochratoxina, OA)、玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(dexynivalenone, DON)、T-2 毒素(T-2 toxin, T-2)等。

2.1 黄曲霉毒素

黄曲霉毒素主要由黄曲霉和寄生曲霉代谢产生的, 特曲霉也能产生, 但产量较少。该毒素有 17 种衍生物, 其中 2 种衍生物毒性最大且与人类生活密切相关

关, 一种是 AFB₁, 另一种是在牛奶中产生的 AFM₁。AFB₁ 被公认为是目前致癌力最强的天然物质, 它常常存在于土壤、动植物、各种坚果中, 特别是在花生和核桃中, 在大豆、玉米、奶制品、食用油等制品中也经常发现黄曲霉毒素。欧盟国家规定, 人类生活消费品中的 AFB₁ 的含量不能超过 2 μg/kg, 总量不能超过 4 μg/kg; 牛奶和奶制品中的含量不能超过 0.05 μg/kg。中国也制定了相应的 AFB₁ 限量标准^[22-23]。

2.2 赭曲霉毒素

赭曲霉毒素是赭色曲霉属和几种青霉属真菌产生的一种毒素, 包括 A、B、C 等 7 种结构类似物; 其中以赭曲霉毒素 A 毒性最大, 一般容易感染赭曲霉毒素 A 的食品主要有大豆、绿豆、绿咖啡豆、啤酒、葡萄汁、调味品、草本植物等。欧盟国家对赭曲霉毒素在食品中的限量标准极其严格, 如: 在谷物中不得超过 5 μg/kg, 在谷物制品中不得超过 3 μg/kg, 并且在干鲜果品中不得超过 10 μg/kg^[24]。

2.3 玉米赤霉烯酮

玉米赤霉烯酮是真菌禾谷镰刀菌产生的一种雌激素真菌毒素。它有 15 种以上的衍生物, 其主要存在于玉米及其制品中, 小麦、大麦、高粱和大米中也有一定程度的分布。玉米赤霉烯酮具有较强的生殖毒性和致畸作用, 可使动物发生雌激素亢进症, 导致动物不孕或流产, 对家畜特别是对猪和羊的影响较大, 它会给畜牧业带来经济损失^[25-26]。

2.4 脱氧雪腐镰刀菌烯醇

脱氧雪腐镰刀菌烯醇又名呕吐毒素(vomintoxin), 是 *F* 镰刀菌霉(主要是 *F. graminearum* 和 *F. culmorum*) 的二级代谢产物。这类真菌大多在低温、潮湿和收割季节时在谷物庄稼中慢慢生长。呕吐毒素一般在大麦、小麦、玉米、燕麦中含有较高的浓度。大多数国家一般要求动物饲料中的 DON 不得超过 2 mg/kg, 而人类消费品中的含量不得超过 1 mg/kg^[27]。

2.5 T-2 毒素

T-2 毒素是一种单端孢霉烯族化合物, 由多种真菌主要是镰刀菌产生, 主要污染谷物类食品。对人类健康危害很大, 导致人类的食物中毒性白细胞缺乏病, 主要临床症状表现为骨髓空虚、白血球减少症、粒性白血球缺乏症、脓血症^[28]。

3 胶体金免疫层析技术在真菌毒素快速检测中的应用

真菌毒素是由产毒真菌产生的代谢物, 广泛存在于粮油食品和饲料中。据联合国粮农组织估算, 全球每年约有 25% 的农产品受到真菌毒素的污染, 我国农产品中真菌毒素污染严重, 已成为农业可持续发展的重要限制因素之一, 严重威胁着人类与动物的健康。

针对粮食质量安全问题, 《粮食管理流通条例》和粮食卫生标准都明确规定粮食收购要对真菌毒素进行检验。粮食中真菌毒素含量的检测方法一直是制约真菌毒素与人类疾病研究进展的关键, 现有的真菌毒素的典型检测方法包括: 薄层色谱法、高压液相色谱法、酶联吸附免疫法、毛细管电泳法、液相-质谱法等。随着科技的进步, 也衍生出了其他各种检测方法, 如光化学衍生-高压液相色谱法、电化学衍生-高压液相色谱法、荧光光度法、液相色谱-三重串联四极杆质谱法等^[29]。不过, 这些方法均须在实验室条件下操作, 样品前处理操作复杂, HPLC、质谱法等还需配备昂贵的仪器设备^[30-32], 检测成本较高、耗时长、操作复杂, 在实际应用过程中有很大的限制性, 不适宜大规模现场快速检测, 无法及时检测粮食中真菌毒素含量。

胶体金免疫层析技术是 20 世纪 80 年代在酶联免疫吸附试验、乳胶凝集试验、单克隆抗体技术、胶体金免疫技术和新材料技术基础上发展起来的一项新型体外诊断技术。采用竞争抑制免疫层析原理制备的胶体金免疫快速检测试剂条, 整个检测过程一步加样, 具有检测时间短、稳定性好、灵敏度高、结果准确、易于判定、经济实用等优点, 非常适合于大批量样品的现场快速检测。虽然, 目前这种方法还只能半定量, 但作为一种快速筛查手段, 可以有效地筛除真菌毒素污染的农产品, 防止毒素中毒事件的发生, 保护人民的身体健康。胶体金免疫层析技术在食品安全检测领域已得到了很好的应用, 如畜禽产品中盐酸克伦特罗、莱克多巴胺残留含量, 水产品中氯霉素、孔雀石绿、硝基呋喃类代谢物残留含量等的检测。该方法最大特点是简单快速、特异敏感, 不需任何仪器设备和试剂, 几分钟就可用肉眼观察到实验结果, 并可保存实验结果, 特别适合广大基层单位、野外作业人员以及大批量快速检测和大面积普查等^[33-36]。

随着免疫胶体金技术的不断发展, 其在真菌毒

素检测中已有相关应用^[37]。应用胶体金免疫层析技术检测黄曲霉毒素、赭曲霉毒素等真菌毒素已有文献报道。

邓省亮等^[38]应用胶体金免疫层析技术,建立了一种快速检测食品中黄曲霉毒素 B₁ 的方法。用胶体金颗粒标记抗黄曲霉毒素 B₁ 单克隆抗体并喷于玻璃纤维上,黄曲霉毒素 B₁ 偶联抗原和二抗鼠抗驴分别结合于硝酸纤维膜上,依次将样本垫、胶金垫、硝酸纤维膜和吸水纸组装切割成胶体金试纸条。试纸条的灵敏度为 5 ng/mL,检测时间为 10 min,批内和批间重复性为 100%,假阳性率和假阴性率均为 0。

舒文祥等^[39]应用胶体金免疫层析技术建立一种快速检测食品和饲料中赭曲霉毒素 A 方法。用柠檬酸三钠还原法制备胶体金溶液,标记抗赭曲霉毒素 A 单克隆抗体。胶体金标记单克隆抗体喷涂于玻璃纤维上,赭曲霉毒素 A 偶联抗原 OA-OVA 和二抗抗鼠 IgG 分别喷涂于硝酸纤维膜上作为检测限和质控线,依次将样品垫、胶体金垫、硝酸纤维膜和吸水纸组装成试纸条。试纸条灵敏度为 5 ng/mL,检测时间为 10 min,批内和批间重复性为 100%,假阳性率和假阴性率均为 0。

吴文晔^[40]等应用胶体金免疫层析技术研究制备了同时检测黄曲霉毒素 B 和赭曲霉毒素 A 两种真菌毒素的胶体金快速检测卡。以人工合成抗原 OVA-AFB₁、OVA-OA 和抗 AFB₁ 单克隆抗体、抗 OA 单克隆抗体为原料,用硝酸纤维膜和玻璃纤维纸作为载体,制作出同时检测 AFB₁ 和 OA 的胶体金快速检测卡。检测卡能同时检测 AFB₁ 和 OA 两种真菌毒素,且两者之间互不干扰,灵敏度均可达到 2.5 μg/L,重复性、稳定性均良好。一次操作能检测两种毒素,节省了检测时间和检测成本。

为了确定胶体金免疫检测试剂的可行性及适用性,刘坚^[41]等用高压液相色谱法和免疫层析试纸法对粮食中黄曲霉毒素 B₁ 测定方法进行了对照研究,对免疫层析试纸法进行了可行性验证。结果表明:免疫层析试纸法和高压液相色谱法的相符率可达 90.5% 以上,免疫层析试纸法操作简单,检测准确、方便、快速,可用于现场快速检测和初筛粮食中的黄曲霉毒素 B₁。郭建^[42]等采用国家标准方法对粮食中脱氧雪腐镰刀菌烯醇和玉米赤霉烯酮两种真菌毒素的胶体金快速测试卡效果进行了验证,研究胶体金检测卡在粮食中的适用性、准确性、稳定性、重复性。结果表明真菌毒素胶体金快速测试卡能够满足快速筛

选的技术要求,方法简便快捷,适合粮食收购环节现场快速筛选工作。

4 展 望

食品安全关系到广大人民群众的身体健康和生命安全,关系到经济健康发展和社会稳定。保障农产品质量安全在很大程度上依赖快速、准确、灵敏的检测技术。胶体金快速检测方法由于其快速、便捷,不需特殊设备,结果判断直观等优点,近年来越来越受到人们的重视,在临床诊断、检验检疫等领域中得到了广泛应用。胶体金免疫层析技术是基于抗原抗体特异性反应的原理,因此在检测实际样品时,由于待检样品种类繁多,成分复杂,容易影响抗原抗体反应以及胶体金颗粒与蛋白的吸附,造成假阳性结果,因此,在采用胶体免疫层析技术进行检测时,要提高检测的特异性和灵敏度,提高质量,减少假阴、假阳性^[43]。进一步提高检测灵敏度、实现多元检测、实现定量或半定量检测是将来免疫层析分析发展的方向。

胶体金免疫层析技术作为一种新型的免疫学快速诊断和检测技术,具有操作简单快速,可单份测定,无须特殊仪器等优点,在食品安全检测领域的应用已得到了很好的发展。如动物源性食品中违禁药物(β-激动剂、抗生素、激素等)的残留检测,在真菌毒素检测方面,胶体金免疫层析技术也显示出了它的优势。总之,随着胶体金免疫层析技术的发展,作为一种简单快速的检测技术,将会在真菌毒素的快速检测领域中得到充分的发展和广泛的应用。

参考文献

- [1] 张臻, 陆利霞, 熊晓辉. 食品中霉菌毒素检测技术研究新进展[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(6): 3597-3599.
Zhang Z, Lu LX, Xiong XH. The advances of mycotoxin detection technology in foods [J]. Anhui Agr Sci, 2012, 40(6): 3597-3599.
- [2] 张道宏, 李培武, 张奇, 等. 污染粮油食品的主要真菌毒素及胶体金免疫层析技术在快速检测中的应用[J]. 中国油料作物学报, 2010, 32(4): 577-582.
Zhang DH, Li PW, Zhang Q, et al. Major mycotoxins contaminating the cereal and oil foods and application of colloidal-gold immunochromatography assay in mycotoxins detection [J]. Chin J Oil Crop Sci, 2010, 32(4): 577-582.
- [3] 郑楠, 王加启, 韩荣伟, 等. 牛奶中霉菌毒素检测方法的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2012, 39(3): 14-18.
Zheng N, Wang JQ, Han RW, et al. Determination of mycotoxins

- in milk: A Review [J]. *China Anim Husb Vet Med*, 2012, 39(3): 14–18.
- [4] Miguel MJ, Lucia MVS, Esuardo SS, *et al.* Aflatoxins, ochratoxin and zearalenone in Brazilian corn cultivars [J]. *Sci Food Agri*, 2001, 81: 1001–1007.
- [5] 马惠蕊, 王玉坤, 刘淑艳, 等. 食源性真菌毒素检测技术研究进展[J]. *福建分析测试*, 2011, 20(1): 40–43.
Ma HL, Wang YK, Liu SY, *et al.* Progress of researches on mycotoxin detection technology [J]. *Fujian Anal Test*, 2011, 20(1): 40–43.
- [6] Trucksess MW. Natural toxins [C]. Horwitz Weds. *Official Methods of Analysis* [M]. 17th edition. Gaithersburg: AOAC International, 2000.
- [7] Scott PM. Gas chromatography of mycotoxins [A]. *Betina V ed. Chromatography of Mycotoxins. Techniques and Applications* [M]. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1993.
- [8] 陈新建, 陈梅英, 赵会杰. 免疫学技术在植物科学中的应用 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1998.
Chen XJ, Chen MY, Zhao HJ. Application of immunology technology in plant science [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 1998.
- [9] 赵晓联, 赵春城, 蔡建荣, 等. 酶联免疫吸附测定法在饲料毒素检测中的应用[J]. *中国饲料*, 2000, (3): 21–22.
Zhao XL, Zhao CC, Cai JR, *et al.* Application of Enzyme-linked immunosorbent assay immunology technology in mycotoxin detection of feed [J]. *China Feed*, 2000, (3): 21–22.
- [10] 赵东豪, 陈培基, 黄珂, 等. 饲料中霉菌毒素的检测方法研究 [J]. *广东农业科学*, 2009, (6): 184–186.
Zhao DH, Chen PJ, Huang K, *et al.* The determination methods of mycotoxin in feedstuff [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2009, (6): 184–186.
- [11] Faulk WP, Taylor GM. An immunocolloid method for the electron microscope [J]. *Immunochem*, 1971, 80(11): 1081–1083.
- [12] Faulk W, Taylor GM. An immunocolloidal gold method for the electron microscope [J]. *Immunochem*, 1971, 8: 1081–1087.
- [13] Hughes D. Preparation of colloidal gold probes [J]. *Methods Mol Biol*, 2005, 295: 155–172.
- [14] 曾宪智, 蔡青, 高尔静. 单侧损伤大鼠黑质纹状体多巴胺能通路新纹状体多巴胺受体在光镜、电镜下的变化[J]. *解剖学报*, 2009, 40(5): 702–708.
Zeng XZ, Cai Q, Gao EJ, *et al.* A light and electron microscopic study on changes of dopamine receptors in the rat neostriatum after unilateral lesion of the nigrostriatal dopaminergic pathway [J]. *Acta Anatomica Sinica*, 2009, 40(5): 702–708.
- [15] Weller MG. Immunochromatographic techniques—a critical review [J]. *Fresenius J Anal Chem*, 2000, 366: 635–645.
- [16] 聂玉梅, 刘中成, 王佳伦, 等. 胶体金标记技术及原理[J]. *养殖技术顾问*, 2012, 6: 174.
Nie YM, Liu ZC, Wang JL, *et al.* Technology and principle of the colloidal gold [J]. *Tech Advisor Anim Husb*, 2012, 6: 174.
- [17] 朱文钊, 孔繁德, 林祥梅, 等. 免疫胶体金技术的应用及展望 [J]. *生物技术通报*, 2010, (4): 81–87.
Zhu WC, Kong FD, Lin XM, *et al.* Prospect and application of immune colloidal gold technique [J]. *Biotechnol Bull*, 2010, (4): 81–87.
- [18] 汪琳, 周琦, 赖平安, 等. 免疫胶体金技术及其在检验检疫中的应用[J]. *检验检疫科学*, 2004, 14(4): 56–58.
Wang L, Zhou Q, Lai PA, *et al.* Immune colloidal gold technique and its application in the inspection and quarantine [J]. *Insp Quar Sci*, 2004, 14(4): 56–58.
- [19] 曾辉, 翟晓巧, 刘艳萍, 等. 免疫胶体金技术及其应用[J]. *河南林业科技*, 2006, 26(3): 37–38.
Zeng H, Zhai XQ, Liu YP, *et al.* Immune colloidal gold technique and its application [J]. *J Henan Forest Sci Technol*, 2006, 26(3): 37–38.
- [20] Glad C, Grubb AO. Immune capillary migration with enzyme-labeled antibodies: rapid quantification of C-reactive protein in human plasma [J]. *Anal Biochem*, 1981, 116: 335–340.
- [21] 祁光宇, 智晓莹, 任维维, 等. 胶体金免疫层析技术在动物源性食品中的应用[J]. *东北农业大学学报*, 2010, 41(4): 156–160.
Qi GY, Zhi XY, Ren WW, *et al.* Application progress of colloidal gold immunochromatographic assay (GICA) in animal-derived food [J]. *J Northeast Agr Univ*, 2010, 41(4): 156–160.
- [22] (EU) No 165/2010 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards aflatoxins [S].
- [23] GB 2761-2005 食品中真菌毒素限量[S].
GB 2761-2005 Mycotoxins in food limited [S].
- [24] (EU) No 105/2010 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards ochratoxin A [S].
- [25] 周晓, 谢体三, 刘运龙. ELISA 技术在食品真菌毒素检测中的应用[J]. *粮食与食品工业*, 2007, (5): 49–52.
Zhou X, Xie TS, Liu YL. Application of ELISA in mycotoxins detection in food [J]. *Cereal Food Ind*, 2007, 5: 49–52.
- [26] 姜淑贞, 杨维仁, 杨在宾. 玉米赤霉烯酮的代谢、毒性及其预防措施[J]. *动物营养学报*, 2011, 23(2): 196–202.
Jiang SZ, Yang WR, Yang ZB. Metabolism, Toxicity and preventive measures of zearalenone [J]. *Chin J Anim Nutr*, 2011, 23(2): 196–202.
- [27] 罗松明, 肖付刚. 粮油食品中真菌毒素的 LC-MS 法检测[J]. *粮食加工*, 2007, 32(3): 95–99.
Luo SM, Xiao FG. Determination of mycotoxins in grain and

- food using liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Grain Proc*, 2007, 32(3): 95-99.
- [28] 王敏辉, 李吕木, 丁小玲. T-2 毒素研究进展[J]. *动物营养学报*, 2011, 23(1): 20-24.
Wang MH, Li LM, Ding XL. Research advances on T-2 toxin [J]. *Chin J Anim Nutr*, 2011, 23(1): 20-24.
- [29] 李鹏, 赖卫华, 金晶. 食品中真菌毒素的研究[J]. *农产品加工·学刊*, 2005, 3: 12-15.
Li P, Lai WH, Jin J. Progress of studying on mycotoxins in food [J]. *Farm Prod Proc*, 2005, 3: 12-15.
- [30] 刘岚. 粮油食品中黄曲霉毒素检测方法[J]. *农产品加工*, 2010, (4), 66-67.
Liu L. Detection method of aflatoxin in cereal and oil food [J]. *Farm Prod Proc*, 2010, (4), 66-67.
- [31] 夏凡, 杨丽君, 王静, 等. 电化学衍生-高效液相色谱和荧光光度法检测花生酱中的黄曲霉毒素[J]. *分析实验室*, 2010, 29(4): 119-122.
Xia F, Yang LJ, Wang J, *et al.* Determination of aflatoxins in peanut butter by combining HPLC with electrochemical derivatization and fluorometry [J]. *Chin J Anal Lab*, 2010, 29(4): 119-122.
- [32] 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 XP, Li PW, Yang Y, *et al.* Determination of aflatoxins in cereals and oils by liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2011, 29(6): 517-522.
- [33] 李秋生. 苯二氮卓类药物残留免疫分析方法的研究[D]. 江南大学, 2008.
Li QS. Study on Immunoassay method for Benzodiazepine drug residues [D]. Jiangnan University, 2008.
- [34] 熊国华. 单增李斯特菌及溶血素 O 与葡萄球菌三种肠毒素免疫胶体金检测技术研究[D]. 沈阳农业大学, 2007.
Xiong GH. Immune colloidal gold detection technology research for three enterotoxin are *Listeria monocytogenes*, Hemolysin O and *Staphylococcus* [D]. Shenyang Agricultural University, 2007.
- [35] 黄建华, 陈雪岚. 利用胶体金层析法快速检测尿样中的甲基苯丙胺[J]. *南昌高专学报*, 2009, (1): 166-168.
Huang JH, Chen XL. Use colloidal gold chromatography rapid detection methamphetamine in urine sample [J]. *J Nanchang Junior Coll*, 2009, (1): 166-168.
- [36] 杨军, 何志刚, 黄建华. 浅议快速检测在水产品质量安全监管中的作用及意义[J]. *渔业致富指南*, 2012, (8): 15-17.
Yang J, He ZG, Huang JH. Brief discussion the role and significance of rapid detection in aquatic product quality safety supervision [J]. *Fish Guide Rich*, 2012, (8): 15-17.
- [37] 许艳丽, 鲍蕾, 吴振兴, 等. 免疫胶体金技术及其在真菌毒素检测中的应用[J]. *中国酿造*, 2010, (7): 13-17.
Xu YL, Bao L, Wu ZX, *et al.* Immune colloidal gold technique and its application in mycotoxin detection [J]. *China Brewing*, 2010, (7): 13-17.
- [38] 邓省亮, 赖卫华, 许杨. 胶体金免疫层析法快速检测黄曲霉毒素 B1 的研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(2): 232-235.
Deng SL, Lai WH, Xu Y. Study on gold immunochromatography assay for rapid detection of aflatoxin B1 [J]. *Food Sci*, 2007, 28(2): 232-235.
- [39] 舒文祥, 徐炜, 李艳, 等. 胶体金免疫层析法快速检测赭曲霉毒素 A 研究[J]. *粮食与油脂*, 2011, 10: 20-22.
Shu WX, Xu W, Li Y, *et al.* Study on gold immunochromatography assay for rapid detection of ochratoxin A [J]. *J Cereals Oils*, 2011, 10: 20-22.
- [40] 吴文晔, 徐炜, 李艳, 等. 同时检测两种真菌毒素的胶体金试纸条的研制[J]. *食品工程*, 2011, (4): 46-49.
Wu WY, Xu W, Li Y, *et al.* Developing gold immunochromatography assay for simultaneously rapid detection of aflatoxin B1 and ochratoxin A [J]. *Food Eng*, 2011, (4): 46-49.
- [41] 刘坚, 熊宁, 刘利, 等. 免疫层析试纸法快速检测粮食中黄曲霉毒素 B1 的验证研究[J]. *河南工业大学学报*, 2011, 32(5): 51-57.
Liu J, Xiong N, Liu L, *et al.* Verification of rapid detection of aflatoxin B1 in grain by immunochromatographic test paper method [J]. *J Henan Univ Technol*, 2011, 32(5): 51-57.
- [42] 郭建, 尚艳娥, 张燕, 等. 胶体金快速测试卡检测粮食中真菌毒素的应用[J]. *粮食科技与经济*, 2012, 37(1): 42-44.
Guo J, Shang YE, Zhang Y, *et al.* Application of colloidal gold rapid test card detection mycotoxins in food [J]. *Grain Technol Econ*, 2012, 37(1): 42-44.
- [43] Lou SC, Patel C, Cling S, *et al.* One-step competitive immunochromatographic assay for semiquantitative determination of lipoprotein(a) in plasma [J]. *Clin Chem*, 1993, 39: 619-624.

(责任编辑: 赵静)

作者简介

李康, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量安全检测技术。

E-mail: lik@hzzjy.net

盛慧萍, 本科, 主要研究方向为食品安全快速检测技术。

E-mail: huipingsheng@126.com