

QuEChERS-酶联免疫快速检测法测定茶叶中黄曲霉毒素 B₁

刘 辉^{1,2*}, 张 燕¹

(1. 广东产品质量监督检验研究院, 佛山 528300; 2. 华南农业大学食品学院, 广东省食品质量安全重点实验室, 农业部农产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室, 广州 510642)

摘 要: **目的** 建立 QuEChERS-酶联免疫快速检测茶叶中黄曲霉毒素 B₁ 的方法, 并对样品前处理条件进行优化。**方法** 茶叶样品用 70%乙腈水提取溶液进行提取目标物, 离心后取上清液并用 PSA+MgSO₄ 进行净化处理后, 采用酶联免疫快速检测方法进行分析测定。**结果** 本方法的检出限为 0.078 μg/kg, 线性范围为 0.125~0.854 μg/kg, IC₅₀ 值为 0.327 ng/mL。在三个不同添加水平下, 样品的平均回收率为 87.66%~97.17%, 相对标准偏差为 4.89%~7.16%。检测结果与高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)方法的相关系数 $r^2=0.9854$, 线性相关性良好。**结论** 该方法更加简便、快速、高效, 能够用于茶叶中黄曲霉毒素 B₁ 的检测。**关键词:** QuEChERS; 酶联免疫法; 黄曲霉毒素 B₁; 茶叶

Simultaneous determination for aflatoxin B₁ in tea leaf by QuEChERS-enzyme-linked immunosorbent assay

LIU Hui^{1,2*}, ZHANG Yan¹

(1. Guangdong Testing Institute of Product Quality Supervision, Foshan 528300, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Food Quality and Safety, Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment in Agricultural Products Preservation Ministry of Agriculture, College of Food Science, South China Agriculture University, Guangzhou 510642, China)

ABSTRACT: Objective To establish a QuEChERS-enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method for determining the aflatoxin B₁ (AFB₁) in tea leaf rapidly, and optimizing the sample pre-treatment conditions. **Methods** The samples were extracted with 70% acetonitrile in water, and the supernatant liquid was directly purified with PSA+MgSO₄ for detection of ELISA. **Results** The limit of detection (LOD) of method was 0.078 μg/kg, with linear range between 0.125 and 0.854 μg/kg, and IC₅₀ value was 0.327 ng/mL. Average recovery rate of samples was between 87.66% and 97.17% at 3 adding levels, and the relative standard deviation (RSD) was 4.89%~7.16%. The results showed a good coefficient with high performance liquid chromatography (HPLC) ($r^2=0.9854$). **Conclusion** This method proved to be suitable for the screening of tea leaf samples for the presence of AFB₁, which was easier, faster and more efficient.

KEY WORDS: QuEChERS; enzyme-linked immunosorbent assay; aflatoxin B₁; tea leaf

基金项目: 广东省科技计划项目(2013B090600059)

Fund: Supported by the Science and Technology Project of Guangdong Province (2013B090600059)

*通讯作者: 刘辉, 工程师, 主要研究方向为食品技术检测及食品安全风险评估。E-mail: lh403@163.com

*Corresponding author: LIU Hui, Food Quality Engineer, Guangdong Provincial Product Quality Supervision and Inspection Institute, Foshan 528300, China. E-mail: lh403@163.com

1 引言

黄曲霉毒素(aflatoxins, AFT)主要是黄曲霉、寄生曲霉等真菌产生的次生代谢产物^[1], 在自然界中主要以黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁ 和 G₂ 存在, 具有较强的致癌性^[2,3], 1993 年被世界卫生组织的癌症研究机构划定为 I 类致癌物, 其中 AFB₁ 毒性和致癌性最强^[4,5]。目前, 多国均对 AFB₁ 的限量标准做出规定。欧盟规定花生中 AFB₁ 的最高限量为 2 μg/kg, 我国对 6 类食品中 AFB₁ 的限量为 0.5~20 μg/kg, 但目前还没有对茶叶中的 AFB₁ 做出相应的规定。据目前文献可知, 茶叶易受到 AFB₁ 的污染。Benford 等^[5]对普洱茶中的 AFB₁ 的污染情况进行调查, 与发酵食品的限量标准比较, 超标达 11.43%; 陈若恒等^[6]对荔湾区普洱茶中的 AFB₁ 污染调查发现检测的 140 份样品中检出阳性样品 8 份; 陈建玲等^[7]也报道了茶叶中 AFB₁ 的污染状况, 均有不同程度的污染。此外, 美国等发达国家均对进口茶叶要求检测 AFB₁。针对目前情况, 对市场上的茶叶进行监管, 保证茶叶的质量安全, 保障人体健康和贸易壁垒显得尤为重要。

目前检测茶叶中 AFB₁ 的方法主要有薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)^[8]、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)^[9,10]、高效液相色谱-质谱法^[11]、超高效液相色谱-质谱法^[12]和酶联免疫(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)^[13]等。前几种方法存在操作过程繁琐、灵敏度低, 而仪器费用高、需要对样品进行柱前或柱后衍生, 耗费时间长、不能批量检测以及不能即时检测等缺点, ELISA 方法不仅能够克服以上缺点, 还具有快速、简便、高效、批量检测等优点, 广泛用于各类产品的检测, 便于在基层普及。目前大部分对 AFB₁ 的研究均集中在食用油、花生及大米等样品的检测, 而对茶叶样品的研究相对较少。由于茶叶基质复杂, 样品前处理过程一直是个难点。目前普遍的检测技术的是固相萃取、液液萃取等, 但都存在一些问题。Anastassiadas 等^[14]于 2003 年提出了一种快速(quick)、简单(easy)、廉价(cheap)、高效(effective)、可靠(rugged)和安全(safe)的分散固相萃取(QuEChERS)技术。而将该技术用于检测茶叶中 AFB₁ 药物残留的 ELISA 方法鲜有报道。

本文对样品前处理条件进行了改进和优化, 建立一种 QuEChERS 结合 ELISA 检测茶叶中 AFB₁ 药

物的方法, 具有快速、简单、高效等优点, 能够满足茶叶中 AFB₁ 药物残留检测要求, 适合大批样品的快速筛选, 为相关部门的监管提供一定的技术支持。

2 材料与方法

2.1 材料与仪器

黄曲霉毒素 B₁ 标准品: 国家标准物质研究中心; 黄曲霉毒素 B₁ ELISA 试剂盒: 广州万联生物科技有限公司; 茶叶样品: 广东省某零售店; 其他试剂均为国产分析纯。

离心机(美国 Sigma 公司); 酶标仪(Multiskan MK3); 微量移液器(美国 Eppendorf 公司); 高效液相色谱仪(美国安捷伦 1200)。

2.2 样品来源

茶叶随机购买于超市, 种类包括绿茶、红茶、乌龙茶等, 样品共计 10 份。

2.3 样品前处理

称取 5.0 g 样品(已粉碎)于具塞塑料离心管中, 准确加入 25 mL 乙腈:水(7:3)溶液, 涡旋 10 min, 离心取上清液 5 mL, 将上清液转入到装有分散固相萃取剂(250 mg PSA+450 mg MgSO₄)的 10 mL 离心管中, 涡旋 2 min。将 10 mL 离心管放入 4 °C 离心机中以 6000 r/min 的转速离心 5 min。取适量的萃取液稀释到合适的倍数, 待测。

2.4 ELISA 试剂盒的检验步骤

吸取样品稀释液、标准工作液及待测样液加入各自的滴定孔板内, 样品稀释液孔中加入酶标抗原稀释液, 其余各孔加入酶标抗原溶液, 轻轻振荡, 使反应物混匀, 将滴定板放入 37 °C 水浴箱中孵育 30 min, 取出滴定板, 甩掉反应液, 用洗涤液洗板 4 次, 拍干, 每孔加入底物液及底物缓冲液各 50 μL, 摇匀, 放入 37 °C 水浴箱中显色 15 min, 加入 50 μL 终止液, 摇匀后用波长为 450 nm 酶标仪测定各孔的吸光度 A 值。

以黄曲霉毒素药物的溶液浓度对数为横坐标, A_{450 nm} 值为纵坐标, 采用 Origin Pro 8.5 软件进行拟合, 绘制黄曲霉毒素 ELISA 方法的标准曲线, 以标准曲线测定样液中的黄曲霉毒素的浓度。

3 结果与分析

3.1 AFB₁-ELISA 标准曲线建立

以 AFB₁ 标准品溶液浓度对数为横坐标, A_{450 nm}

值为纵坐标, 进行拟合, 结果如图 1 所示。该方法的 IC₅₀ 值为 0.327 ng/mL; 检出限为 0.078 μg/kg, 检测范围为 0.125~0.854 ng/mL。

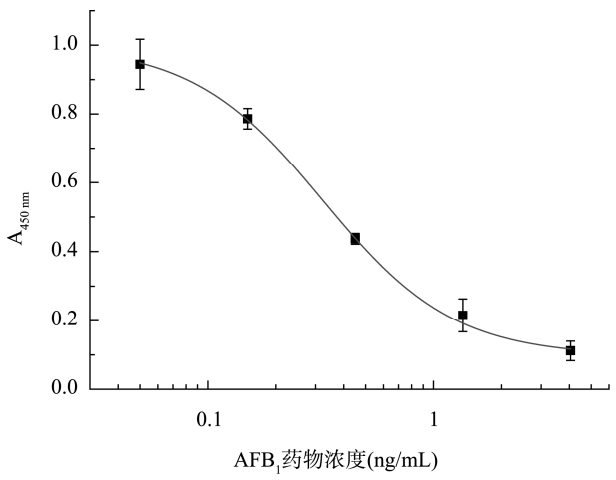


图 1 AFB₁-ELISA 法标准曲线(n=5)
Fig. 1 Standard curve of AFB₁ by ELISA (n=5)

3.2 样品前处理条件的优化

由于茶叶样品的基质复杂, 若要有效提取出 AFB₁, 就要提高提取效率, 把目标物的损失降到最小。实验考察提取溶剂、净化条件等各项实验条件对回收率的影响, 从而确定最优条件, 提高提取效率。

3.2.1 提取溶剂的优化

考察不同提取溶剂在茶叶样品中 AFB₁ 的提取效

果。分别采用石油醚、乙腈、乙醇、甲醇对样品中的 AFB₁ 进行提取, 测定回收率, 如表 1 所示。

结果显示, 甲醇、石油醚、乙醇提取效果不佳, 乙腈的提取效果较好, 和文献^[9,15,16]报道相一致。能够基本满足分析检测要求, 回收率为 76.44%~109.73%, 因此选择乙腈作为提取剂。

以乙腈和水的混合溶液为提取剂, 比较提取剂中乙腈的体积分数分别为 60%、70%、80%、90%、100%时, 对茶叶中 AFB₁ 的提取效率的影响, 如表 2 所示。由表 2 可知, 70%的乙腈水溶液的提取效果最好, 干扰较少, 因此选择 70%乙腈水溶液作为提取剂。

3.2.2 净化条件的优化

实验过程中发现如果直接用提取剂提取目标物时, 基质干扰较大, 导致回收率低, 因此采用 QuEChERS 技术进行样品净化, 提高回收率, 可以省时省力, 提高效率。本实验选择的净化填料有乙二胺-N-丙基硅烷(PSA)、C₁₈ 吸附剂及硫酸镁(MgSO₄), 而 MgSO₄ 的主要作用是吸收水分。采用 70%乙腈水溶液为提取溶液, 分别比较 C₁₈+MgSO₄、PSA+MgSO₄ 的两种吸附剂组合对样品基质的净化效果, 测定相应的回收率, 结果如表 3。实验结果表明, PSA+MgSO₄ 的净化效果是最好的, 回收率在 80%~120%之间, 因此选取 PSA 作为实验的净化吸附剂。并对 PSA 的用量进行优化, 结果如图 2 所示。综合考虑, 最终选择净化填料为 250 mg PSA+450 mg MgSO₄。

表 1 不同提取剂对 AFB₁ 回收率的影响(n=3)
Table 1 The effects of the extracting solvent on recovery (n=3)

药物	添加浓度/(μg/kg)	乙醇(%)	乙腈(%)	甲醇(%)	石油醚(%)
AFB ₁	1.0	70.36±6.91	76.44±8.79	75.86±5.69	53.61±8.82
	2.0	64.29±10.03	109.73±3.28	71.36±8.31	65.85±4.57
	5.0	68.83±6.78	78.69±6.47	67.34±6.28	58.39±6.91

表 2 不同比例提取剂对 AFB₁ 回收率的影响(n=3)
Table 2 The effects of different proportions of extracting solvent on recovery (n=3)

药物	添加浓度/(μg/kg)	60%乙腈水溶液	70%乙腈水溶液	80%乙腈水溶液	90%乙腈水溶液	乙腈
AFB ₁	1.0	70.81±8.93	86.44±4.88	78.86±7.61	73.61±12.82	76.92±5.72
	2.0	74.64±11.34	98.46±7.81	91.36±5.11	95.85±4.58	113.64±6.73
	5.0	82.92±4.82	94.92±4.43	87.34±13.73	88.39±9.91	79.23±8.21

表3 不同吸附剂对 AFB₁ 回收率的影响($n=3$)
Table 3 Recovery data of AFB₁ for different sorbents ($n=3$)

药物	添加浓度/($\mu\text{g/kg}$)	C ₁₈ +MgSO ₄ 回收率/%	PSA+MgSO ₄ 回收率/%
AFB ₁	1.0	74.37 $\pm$ 8.12	84.81 $\pm$ 3.97
	2.0	81.93 $\pm$ 10.61	94.83 $\pm$ 6.16
	5.0	85.44 $\pm$ 5.36	91.28 $\pm$ 7.47

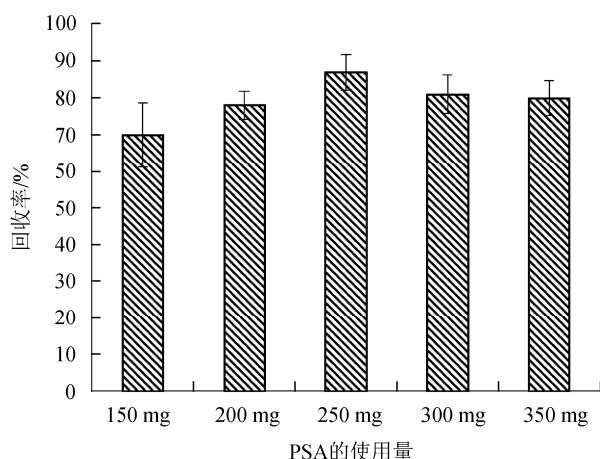


图2 PSA 使用量的优化

Fig. 2 Comparison of the abilities of different amount of PSA

C₁₈ 吸附剂是在硅胶基质上接有十八烷基, 具有较高的相覆盖率和碳含量, 对非极性物质有较高的容量, 对油脂和一些非极性基质成分去除效果很好。乙二胺-N-丙基硅烷(PSA)具有弱的阴离子交换能力, 它能与带有-OH、-NH 或-SH 官能团的分子形成氢键和化合物作用, 可清除有机酸、酚类、色素和糖类^[17]。对于茶叶样品来说, PSA 吸附剂除杂效果更好。

3.3 方法回收率和精密度

取空白样品, 分别加入 2.0、5.0 和 10.0 $\mu\text{g/kg}$ 的低、中、高 3 个水平的 AFB₁ 的标准溶液, 进行样品前处理, 稀释到合适的倍数, 测定其回收率, 重复测定 6 次, 结果见表 4 所示。结果可知, 该方法的平均回收率为 87.66%~97.17%, RSD 为 4.89%~7.16%。

3.4 基质效应

样品提取液成分复杂, 其中某些杂质可能会影响免疫反应过程中的抗原抗体特异性结合, 从而降低检测方法的灵敏度, 甚至产生假阳性。本实验选择各品种的空白样品, 进行样品预处理, 得到样品提取

液, 用此提取液和标准品稀释液将各标准品按照配制标准曲线的梯度稀释, 进行 ELISA 实验, 分别绘制标准曲线, 比较分析, 考察不同样品基质对标准曲线的影响^[18], 结果如下图 3 所示。由图可知, 所得到的标准曲线几乎全部重合, 表明经过前处理后不同样品的基质效应对 ELISA 检测 AFB₁ 基本无影响。

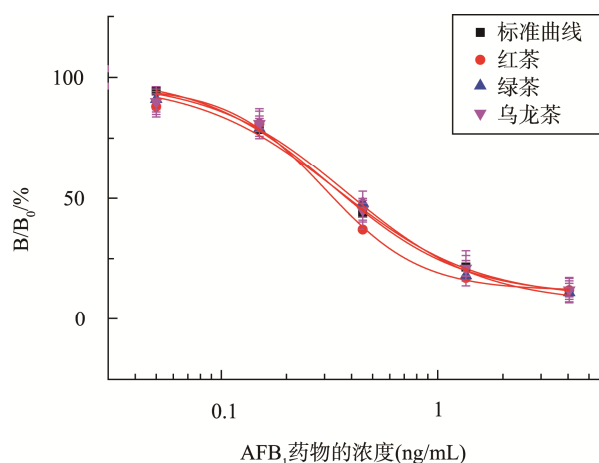


图3 不同基质标准曲线与 AFB₁ 标准曲线的比较

Fig. 3 Comparison of different normalised standard curve and AFB₁ standard curve by ELISA

3.5 方法验证

高效液相色谱法是检测 AFB₁ 的标准方法之一。为验证本研究建立的 ELISA 方法和前处理方法的准确性, 采用相同的样品前处理方法, 比较 HPLC 与 ELISA 的相关性以及样品前处理方法的准确性, 结果如图 4 和表 5 所示。

据相关文献报道, 当相关系数 $R^2 > 0.95$ 时, 判定两种方法的相关性良好。通过对两种方法测定结果进行线性回归分析, 以 ELISA 试剂盒测得的样品浓度为 X 轴, 以 HPLC 测得的样品浓度为 Y 轴, 绘制散点图, 做拟合曲线, 结果如图 5 所示。回归方程为 $Y=1.0433X-0.2313$, 相关系数 $R^2=0.9854$, 说明建立的 ELISA 方法检测 AFB₁ 结果准确可靠。

表 4 茶叶中 AFB₁ 的加标回收试验结果(n=6)
Table 4 Recovery data of AFB₁ in tea leaf (n=6)

药物	添加浓度/(μg/kg)	测定值(μg/kg)	平均回收率(%)	RSD(%)
AFB ₁	2.0	1.75	87.66	7.16
	5.0	4.79	95.81	4.89
	10.0	9.72	97.17	5.47

表 5 不同种类样品中 AFB₁ 添加回收实验结果(n=3)
Table 5 Recoveries of AFB₁ from spiked fish and shrimp by ELISA and HPLC (n=3)

样品	添加量(ng/g)	HPLC		ELISA	
		检测值±标准偏差	平均回收率(%)	检测值±标准偏差	平均回收率(%)
		(ng/g)		(ng/g)	
红茶	2.0	1.93±4.27	96.5	1.87±4.95	93.5
	5.0	4.53±4.32	90.6	4.86±8.53	97.2
	10.0	10.32±10.62	103.2	9.86±5.82	98.6
绿茶	2.0	1.76±6.52	88.0	1.85±8.67	92.5
	5.0	4.91±7.84	98.2	4.72±9.36	94.4
	10.0	8.94±8.94	89.4	9.43±7.32	94.3
乌龙茶	2.0	1.89±4.37	94.5	2.11±12.34	105.5
	5.0	4.76±3.98	95.2	5.15±6.73	103.0
	10.0	9.27±5.39	92.7	8.45±3.29	84.5

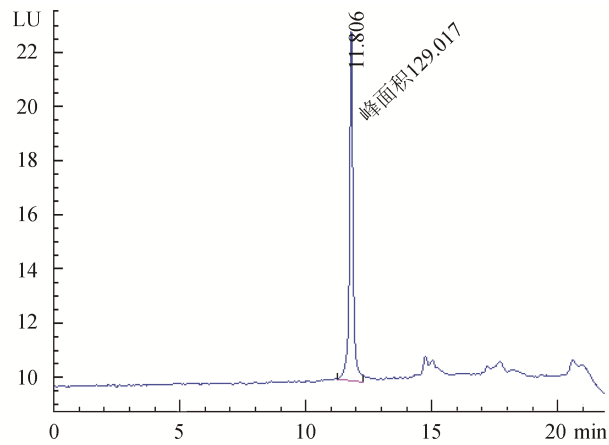


图 4 加标样品(5 ng/mL)色谱图
Fig. 4 Chromatogram data of AFB₁ (5 ng/mL) from tea leaf by HPLC

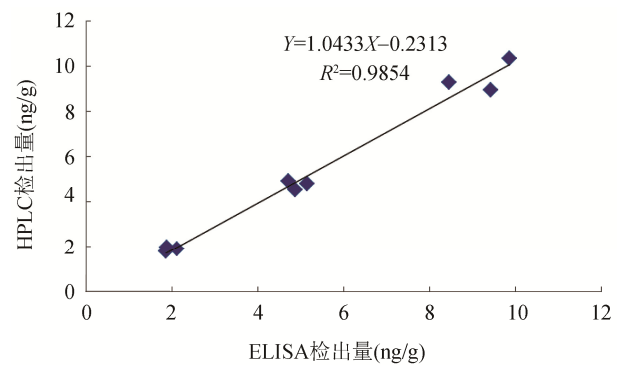


图 5 HPLC 与 ELISA 法检测样品中 AFB₁ 的线性相关性分析
Fig. 5 Analytical result of ELISA and HPLC methods

3.6 实际样品的检测

本研究分别采用所建立的 AFB₁ 药物 ELISA 方法和 HPLC 方法对购于某超市的 10 份茶叶样品进行对比实验, 结果见表 6。

表 6 AFB₁ 药物实际样品检测

Table 6 The results of AFB₁ detection from actual samples

样品编号	ELISA (μg/kg)	HPLC (μg/kg)
1	4.1	4.0
2	ND	ND
3	ND	ND
4	1.8	1.6
5	ND	ND
6	ND	ND
7	2.8	2.7
8	ND	ND
9	ND	ND
10	1.8	1.9

注: ND 表示未检出

通过对两个不同种类的 10 份样品进行检测, 结果发现有 4 份样品检出 AFB₁, HPLC 检出的 AFB₁ 含量介于 1.6~4.0 μg/kg 之间, ELISA 检出的 AFB₁ 含量介于 1.8~4.1 μg/kg 之间。通过实际样品的测定证实, 本文所建立的方法可用于实际样品中 AFB₁ 药物的检测。

4 结 论

本研究通过对样品前处理的提取净化过程进行优化, 首次建立一种快速有效的检测茶叶中 AFB₁ 的 QuEChERS-ELISA 法。相比于仪器检测的方法, ELISA 方法更方便、快速, 而采用 QuEChERS 前处理方法不仅可以避免使用繁琐的过柱过程, 而且价格更低廉、快速、简便。与王可、谭志熹等^[19,20]研究相比, 样品前处理过程简单、方便、省时。本文建立的方法的平均回收率为 87.66%~97.17%, RSD 为 4.89%~7.16%, 符合 AFB₁ 药物残留测定的要求, 并且经 HPLC 方法确证, 该方法准确可靠, 能够用于茶叶中 AFB₁ 药物的检测需求, 适于应用推广。

参考文献

[1] 马志科, 咎林森. 黄曲霉毒素危害、检测方法及生物降解研究

进展[J]. 动物医学进展, 2009, 30(9): 91-94.

Ma ZK, Zan LS. Progress on hazard, detection techniques and biodegradation of aflatoxin [J]. Prog Vet Med, 2009, 30(9): 91-94.

[2] 郑燕, 王远兴, 李瑾瑾. 液相色谱串联质谱法检测食品中的黄曲霉毒素[J]. 食品科学, 2010, 31(24): 385-388.

Zheng Y, Wang YX, Li JJ. Determination of aflatoxins in food by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2010, 31(24): 385-388.

[3] 高瑞英, 梁美琼, 张显策, 等. 药材中黄曲霉毒素的免疫亲和层析净化高效液相色谱法[J]. 环境与健康, 2010, 27(1): 66-69. Gao RY, Liang MQ, Zhang XC, et al. Determination of aflatoxins content in traditional Chinese medicine using immunoaffinity column cleanup and by high performance liquid chromatography [J]. J Environ Health, 2010, 27(1): 66-69.

[4] Milita NM, Mihaescu G, Chifiriuc C. Aflatoxins-health risk factors [J]. Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol, 2011, 1(1): 19-24.

[5] Benford D, Leblanc JC, Setzer RW. Application of the margin of exposure (MOE) approach to substances in food that are genotoxic and carcinogenic: example: aflatoxin B₁ (AFB₁) [J]. Food Chem Toxicol, 2010, 48(1): 34-41.

[6] 陈若恒, 谭志熹, 张秋丽. 荔湾区茶叶批发市场普洱茶中黄曲霉毒素 B₁ 污染调查[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(14): 2088-2093.

Chen RH, Tan ZX, Zhang QL. Contamination of aflatoxin B₁ in Pu'er tea from tea wholesale market of Liwan district [J]. Chin J Health Lab Technol, 2014, 24(14): 2088-2093.

[7] 陈建玲, 李文学, 杨光宇, 等. 广州某茶叶市场普洱茶中多种生物毒素污染现状调查[J]. 癌变·畸变·突变, 2011, 23(1): 68-71.

Chen JL, Li WX, Yang GY, et al. Bioligical contamination of Pu'er tea in a Guangzhou tea market [J]. Carcin Teratogen Mut, 2011, 23(1): 68-71.

[8] Fallah AA. Aflatoxin M₁ contamination in dairy products marketed in Iran during winter and summer [J]. Food Control, 2010, 21(11): 1478-1481.

[9] 何丰瑞, 陈艳, 李永波. 高效液相色谱法测定袋泡茶茶叶中的黄曲霉毒素[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(3): 335-340.

He RF, Chen Y, Li YB. Determination of aflatoxins in tea bags by high performance liquid chromatography [J]. Chin J Health Lab Technol, 2014, 24(3): 335-340.

[10] Lee JE, Kwak BM, Ahn JH, et al. Occurrence of aflatoxin M₁ in raw milk in South Lorea using an immunoaffinity column and liquid chromatography [J]. Food Control, 2009, 20(2): 136-138.

[11] Abia WA, Warth B, Sulyok M, et al. Determination of multi-mycotoxin occurrence in cereals, nuts and their products in

- Cameroon by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) [J]. Food Control, 2013, 31: 438–453.
- [12] 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.
- [13] Guan D, Li PW, Zhang Q, *et al.* An ultra-sensitive monoclonal antibody-based competitive enzyme immunoassay for aflatoxin M₁ in milk and infant milk products [J]. Food Chem, 2011, 125(4): 1359–1364.
- [14] 杨金易, 张燕, 曾道平, 等. 基于 QuEChERS 前处理技术的水产品中喹诺酮类药物多残留 ELISA 检测方法的建立[J]. 食品工业科技, 2015(1): 292–298.
- Yang JY, Zhang Y, Zeng DP, *et al.* Simultaneous determination of fluoroquinolones in seafood by modified QuEChERS and enzyme-linked immunosorbent assay [J]. Sci Technol Food Ind, 2015(1): 292–298.
- [15] 吴国华, 赵榕, 里南, 等. 茶叶中黄曲霉毒素 B₁ 的检测方法研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(3): 809–812.
- Wu GH, Zhao R, Li N, *et al.* Determination methods of aflatoxin B₁ in tea [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(3): 809–812.
- [16] 赵浩军, 王坤, 杨卫花, 等. 高效液相色谱柱后光化学反应-荧光检测茶叶中黄曲霉毒素 B₁[J]. 茶业科学, 2013, 33(3): 237–241.
- Zhao HJ, Wang K, Yang WH, *et al.* Determination of aflatoxins B₁ in tea by high performance liquid chromatography-fluorescence detector with post-column photochemical reaction [J]. J Tea Sci, 2013, 33(3): 237–241.
- [17] 易江华, 段振娟, 方国臻, 等. QuEChERS 方法在食品农兽药残留检测中的应用[J]. 中国食品学报, 2013, 13(2): 153–158.
- YI JH, Duan ZJ, Fang GZ, *et al.* Study of QuEChERS method for the detection of pesticide and veterinary drug residues in foods [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2013, 13(2): 153–158.
- [18] Tittlemier SA, Gelinat JM, Dufresne G, *et al.* Development of a direct competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of fluoroquinolone residues in shrimp [J]. Food Anal Method, 2008, 1(1): 28–35.
- [19] 王可, 魏永巨, 何燕, 等. 茶叶中黄曲霉毒素的高效液相色谱串联质谱法[J]. 环境与健康, 2014, 31(8): 718–719.
- Wang K, Wei YJ, He Y, *et al.* Determination of aflatoxins in tea by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Environ Health, 2014, 31 (8): 718–719.
- [20] 谭志熏, 江俊生, 陈若恒, 等. 免疫亲和柱净化-酶联免疫吸附法检测普洱茶中黄曲霉毒素 B₁[J]. 预防医学论坛, 2014, 20(6): 413–415.
- Tan ZX, Jiang JS, Chen RH, *et al.* Detection of aflatoxin B₁ in the puer tea using affinity column purification-enzyme linked immunosorbent assay [J]. Prev Med Forum, 2014, 20(6): 413–415.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



刘 辉, 工程师, 主要研究方向为食品技术检测及食品安全风险评估。
E-mail: lh403@163.com