

伏马毒素 B₁ 新型荧光标记物制备及其在 荧光偏振分析技术中的应用

刘继红^{1,2,3}, Chris Maragos⁴, 王敏^{1,2,3}, 尹海燕^{1,2,3}, 张玲^{1,2,3},
张军锋^{1,2,3}, 洪慧杰^{1,2,3}, 王红旗^{1,2,3*}

(1. 河南省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 郑州 450002; 2. 河南省粮食质量安全与检测重点实验室, 郑州 450002; 3. 农业部农产品质量安全风险评估实验室, 郑州 450002; 4. 美国农业部(USDA) 国家农业应用研究中心(NCAUR)食源性病原菌与真菌毒素研究分部, 皮奥里亚 61604)

摘要: **目的** 针对玉米中常见真菌毒素——伏马毒素 B₁(FB₁)开发新型荧光标记物, 从而替代昂贵的 6-(4,6-二氯三嗪基)氨基荧光素(6-DTAF)标记物, 并在此基础上开发基于荧光偏振原理的伏马毒素快速检测技术。**方法** 采用一锅煮的合成方法, 以 5-(4,6-二氯三嗪基)氨基荧光素(5-DTAF)为荧光基团制备伏马毒素荧光标记物, 然后利用荧光偏振的原理建立基于 5-DTAF 的伏马毒素快速检测技术。**结果** 基于 5-DTAF 的 FB₁ 荧光标记物与基于 6-DTAF 的 FB₁ 荧光标记物的荧光偏振分析方法具有相同的分析性能, IC₅₀ 值基本相等。**结论** 采用 5-DTAF 成功制备了 FB₁ 荧光标记物, 同时利用该荧光标记物开发了伏马毒素荧光偏振快速检测技术。该分析与基于 6-DTAF 荧光标记物的 FB₁ 荧光偏振速测技术相比, 具有同样的分析性能, 但分析成本降低了一半。

关键词: 伏马毒素 B₁; 氨基荧光素; 荧光标记物; 荧光偏振

Preparation and application of new fluorescein-labeled fumonisins B₁ in fluorescence polarization analysis technique

LIU Ji-Hong^{1,2,3}, Chris Maragos⁴, WANG Min^{1,2,3}, YIN Hai-Yan^{1,2,3}, ZHANG Ling^{1,2,3},
ZHANG Jun-Feng^{1,2,3}, HONG Hui-jie^{1,2,3}, WANG Hong-Qi^{1,2,3*}

(1. *Institute of Quality Standard and Testing Technology for Agro-products, Henan Academy of Agricultural Science, Zhengzhou 450002, China*; 2. *Henan Key Laboratory of Grain Quality and Safety and Testing, Zhengzhou 450002, China*; 3. *Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Agro-Products (Zhengzhou), Ministry of Agriculture, Zhengzhou 450002, China*; 4. *Bacterial Foodborne Pathogens and Mycology Research Unit, Peoria IL 61604, USA*)

ABSTRACT: Objective To Prepare a new fluorescent tracer against common mycotoxins such as fumonisins B₁ for replace 6-(4,6-Dichlorotriazinyl) aminofluorescein (6-DTAF) expensive marker, and to develop a technique for quick detection of fumonisins B₁ based on the principle of fluorescence polarization.

Methods The one-pot method was used to synthesize 5-(4,6-Dichlorotriazinyl) aminofluorescein (5-DTAF)

基金项目: 农业部重点项目(2011-G5)、粮油作物产品未知危害因子识别与已知危害因子安全性评估(GJFP2015007)、河南省农业科学院优秀青年科技基金(2013YQ24)

Fund: Supported by the Key Project of the Ministry of Agriculture (2011-G5), Project of Unknown Hazards Factor Identification and the Known Hazard Factor Safety Assessment for Products of Grain and Oil Crops (GJFP2015007) and Science Technology Foundation for Outstanding Young Scientists of Henan Academy of Agricultural Sciences (2013YQ24)

*通讯作者: 王红旗, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量安全检测技术。E-mail: huda2000@126.com

*Corresponding author: WANG Hong-Qi, Associate Researcher, Institute of Quality Standard and Testing Technology for Agro-products, Henan Academy of Agricultural Science, No. 116, Huayuan Road, Jinshui District, Zhengzhou 450002, China. E-mail: huda2000@126.com

fluorescent marker, and then fluorescence polarization technique based on 5-DTAF was established to detect fumonisins B₁. **Results** Fluorescence polarization technology based on 5-DTAF and 6-DTAF fluorescent marker of fumonisins B₁ had almost the same analysis capability and the value of IC₅₀. **Conclusion** New fluorescent marker of fumonisins B₁ was successfully synthesized by using 5-DTAF, and fluorescence polarization technology for fumonisins B₁ quick detection was developed. Moreover, the fluorescence polarization technology based on 5-DTAF fluorescent marker had almost the same analysis capability comparing with that of 6-DTAF fluorescent marker, but cut the analysis cost to a half.

KEY WORDS: fumonisins B₁; aminofluorescein; fluorescent tracer; fluorescence polarization

1 引言

伏马毒素(fumonisin)是一类主要由串珠镰刀菌产生的真菌毒素^[1]。目前至少已鉴定出 15 种伏马毒素类似物,其中伏马毒素 B₁(FB1)的毒性最强。研究证实,伏马毒素可引起马脑白质软化症和猪肺水肿综合症。世界卫生组织国际肿瘤研究中心(IARC)于 1993 年评价了伏马毒素的毒性,并将其归类为可能的人类致癌物;国际食品法典委员会(CAC)的 JECFA 最近的评价结果指出其具有肾脏毒性^[2]。

伏马毒素除主要存在于玉米及其制品中外,在大米、小麦、大麦、高粱、豌豆、芦笋、啤酒、牛奶和饲料等农产品及其加工品中也有一定浓度的存在^[3]。调查表明:世界各国的玉米及其制品,无论是人食用的食品还是动物用的饲料,普遍都受到 FB1 的污染,其中玉米的污染率达 60%以上^[4]。从初步的调查结果看:我国玉米中伏马毒素的检出率平均也在 60%以上,其中肝癌高发区的玉米伏马毒素的最高值及平均值均显著高于肝癌低发区。农产品中存在的伏马毒素已成为相关农产品安全消费、国际贸易和现代农业产业发展的限制因素,对人的健康和畜牧业发展构成潜在危害。因此,引进、研究建立科学先进、准确可靠的伏马毒素系列监控技术,是控制我国农产品伏马毒素污染、保障农产品安全消费和人民身体健康的迫切需求。

由于伏马毒素不具有强的紫外吸收和荧光基团,因此不像其它真菌毒素那样易于分析检测^[5]。国外文献报道:伏马毒素的含量水平由于所采用的检测监测方法和操作程序不同,会使数据产生较大差异,有时甚至是数量级的。为了实施农产品、食品质量安全的风险管理,英、美等一些发达国家已建立国际领先的伏马毒素系列监控技术^[6-11]。我国在伏马毒素检测

技术方面也开展了相应研究工作,如建立了伏马毒素高效液相色谱的精确检测技术以及基于免疫学和荧光技术的快速检测技术^[12-14]。

基于抗体的免疫检测技术是真菌毒素的主流检测技术,其中作为快速检测技术的荧光偏振检测技术在国外已经比较成熟^[15],但是其所用的 FB1 荧光标记物如 6-DTAF 相当昂贵,导致检测成本较高,不利于该技术在我国的面积推广应用^[5]。为了解决上述问题,本论文开发了一种新型、廉价的 FB1 荧光标记物——5-DTAF 标记的 FB1,并在此基础上开发了基于荧光偏振原理的伏马毒素速测技术。基于 5-DTAF 荧光标记物的伏马毒素荧光偏振速测技术与基于 6-DTAF 荧光标记物的伏马毒素荧光偏振速测技术相比,具有几乎一样的荧光偏振变化幅度及 IC₅₀ 值。然而,5-DTAF 的价格仅仅是 6-DTAF 的一半,大大节约了分析成本。该荧光标记物的研发有助于建立适合我国国情的农产品伏马毒素监控技术体系,满足当前我国对农产品伏马毒素污染监控关键技术的迫切需要,对保障农产品消费安全和人民生命健康意义重大,应用前景广阔。

2 材料与方法

2.1 实验材料

FB1 标准品(美国 Santa 公司); FB1 单克隆抗体(美国农业部国家农业应用研究中心,食源性病原菌与真菌毒素研究分部,皮奥里亚); 5-DTAF、6-DTAF、二甲基甲酰胺、二氯甲烷、甲醇和乙酸(分析纯,西格玛奥德里奇中国公司)。填充柱净化柱(北京八方公司)。其他所有分析纯化学试剂均购自北京索莱宝科技有限公司。实验中所用的其他溶液均由超纯水(电阻不小于 18 MΩ)配制而成。

2.2 仪器与设备

超纯水系统(Milli-Q Synthesis, 美国密理博公司); 水浴恒温振荡器(SHZ-22, 精达仪器制造厂); 恒温金属浴(Comfort, 德国艾本德公司); 冷冻干燥机(BT6KEL, 美国 VIRTIS 公司); 旋转蒸发器(Hei-VAP Value, 德国 Heidolph 公司)台式微量高速离心机(H1650-W, 湘仪离心机仪器有限公司); 荧光偏振读数仪(SENTRY 200, 美国 Diachemix 公司)。

2.3 试验方法

2.3.1 伏马毒素荧光标记物的制备

6-DTAF 标记的伏马毒素制备过程如下: 称取 10 mg FB1, 加入 0.1 mL 二甲基甲酰胺, 再加入 0.1 mL 0.1 mol/L Na_2CO_3 溶液, 混匀, 称取 1 mg 6-DTAF(结构见图 1), 加入 0.1 mL 二甲基甲酰胺, 混匀。将 6-DTAF 溶液加入到伏马毒素溶液中, 搅拌反应 8 h。将反应液移入加有 0.3 g 硅胶 60(粒径 20-43 μm , 用二氯甲烷洗涤并干燥后使用)的小瓶中, 用 0.4 mL 甲醇洗涤反应瓶 2~3 次, 洗涤液并入小瓶中, 用冷冻干燥机干燥过夜。

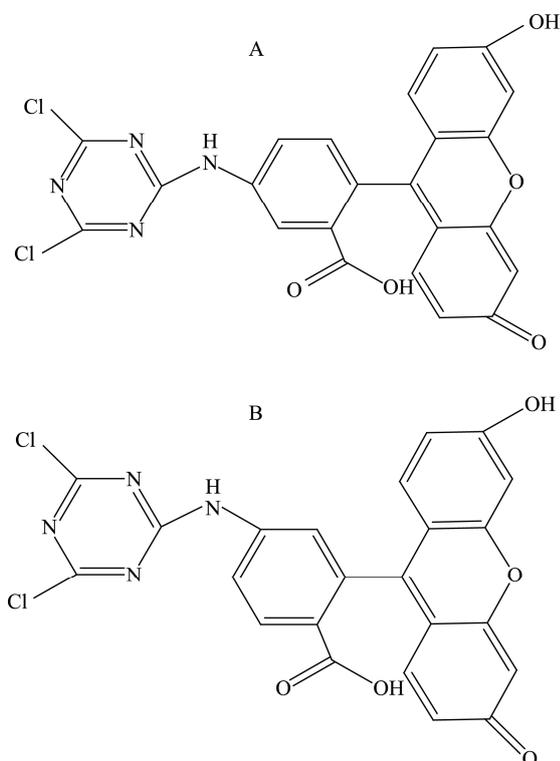


图 1 5-DTAF 和 6-DTAF 结构式

Fig. 1 Molecular structural formula of 5-DTAF(A) and 6-DTAF (B)

5-DTAF 标记的伏马毒素制备过程与 6-DTAF 标记的伏马毒素制备过程稍有不同, 简述如下: 称取 10 mg FB1, 溶解于 0.5 mL 0.5 mol/L Na_2CO_3 溶液中, 加入 1.0 mL 10 mg/mL 5-DTAF 溶液(结构见图 1), 搅拌反应 8 小时。将反应液移入加有 0.3 g 硅胶 60(粒径 20~43 μm , 用二氯甲烷洗涤并干燥后使用)的小瓶中, 用 0.4 mL 甲醇洗涤反应瓶 2~3 次, 洗涤液并入小瓶中, 用冷冻干燥机干燥过夜。

荧光标记物的纯化采用填充柱净化, 柱填料为硅胶 60(粒径 40~63 μm)。将约 10 g 填料溶解于二氯甲烷中, 搅拌赶除气泡后, 将溶液倾倒入填充柱中, 静置待填料沉淀。样品用 10 mL 甲醇溶解, 倾入柱中, 分别用 50 mL 二氯甲烷和 50 mL 淋洗液(二氯甲烷、甲醇和乙酸按 30:10:0.5 的比例混合)洗涤, 最后用 60 mL 洗脱液(二氯甲烷、甲醇和乙酸按 30:30:1 的比例混合)洗脱, 收集洗脱液。40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴减压旋转蒸发近干, 冷冻干燥机干燥过夜至荧光标记物为黄色粉状物。收集荧光标记物于瓶中, 在 -20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下保存。

2.3.2 FB1 样品的提取

称取 20 g 已粉碎的玉米样品, 加入 100 mL 磷酸盐缓冲液, 振荡提取 1 h, 过滤。

2.3.3 FB1 的荧光偏振检测

在试管中依次分别加入 900 μL 磷酸盐缓冲溶液(pH=7.2)、加入 100 μL 样品滤液、100 μL 抗体溶液, 在涡旋混合器上混匀, 用荧光偏振读数仪测定, 作为溶液空白, 取出试管, 加入 100 μL 荧光标记的 FB1 溶液, 在涡旋混合器上混匀, 用荧光偏振读数仪测定, 读取荧光偏振强度。

3 结果与分析

3.1 荧光偏振免疫分析技术原理

荧光偏振免疫分析技术是建立在偏振荧光的基础上, 是 1920 年由 Perrin 建立的。其原理为: 从光源发出的一束光线经垂直起偏器后成为垂直偏振光, 样品被垂直偏振光激发而产生偏振荧光, 此荧光经检偏器后可测出与样品浓度有关的水平或垂直方向的荧光偏振光强度。荧光偏振光强度(P)定义为:

$$P=(I_{\perp}-I_{//})/(I_{\perp}+I_{//})$$

其中, I_{\perp} 和 $I_{//}$ 分别为荧光子被激发后, 发射光在垂直和水平方向上的强度。当溶液的温度和粘度都

固定时, P 值主要取决于荧光子的分子体积。由于荧光偏振光强度与荧光物质受激发时分子转动速度成反比, 所以小分子物质在溶液中旋转速度快, P 值较小; 大分子物质在溶液中旋转速度较慢, P 值较大。荧光偏振免疫分析技术就是依据这一性质, 在小分子抗原标记上荧光基团, 与其相应抗体结合后, 所形成的大分子在溶液中旋转速度变慢, 可增大荧光偏振光强度。依据荧光标记抗原和其抗原抗体结合物之间荧光偏振程度的差异, 用竞争性方法可直接测量溶液中小分子的含量。

3.2 抗体溶液浓度优化

根据我们以前的研究, FB1 单克隆抗体与 FB1、FB2、FB3 的交叉反应率分别为 100%、38%和 50%^[16]。

为选择最佳抗体溶液浓度, 将抗体储备溶液用 0.1% 的磷酸盐缓冲液稀释为 1:100、1:200、1:300、1:400、1:500、1:1000 的溶液, 分别用于测定伏马毒素标准曲线。试验结果表明, 随着抗体溶液浓度降低, 荧光偏振强度变化范围(伏马毒素浓度为 0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 20000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时的荧光偏振强度的差值, ΔmP)逐渐缩小。抗体溶液浓度为 1:100 时, 荧光偏振强度变化范围为 216.95, 而抗体溶液浓度为 1:1000 时, 荧光偏振强度变化范围降低到 132.9。荧光偏振强度变化范围关系到测定结果的准确性, 荧光偏振强度变化范围越大, 测定误差越小。而随着抗体溶液浓度降低, 代表方法灵敏度的 IC_{50} 值逐渐降低。抗体溶液浓度为 1:100 时, 方法的灵敏度 IC_{50} 为 1647.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 而抗体溶液浓度为 1:1000 时, 方法的灵敏度 IC_{50} 为 258.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。这表明, 随着抗体溶液浓度降低, 检测灵敏度则逐渐增加, 综合考虑检测准确度和灵敏度, 选择抗体溶液浓度为 1:500, 方法灵敏度为 474.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

3.3 标准曲线的建立

称取一定量的伏马毒素标准品, 用甲醇溶解制成 1000 mg/kg 的母液, 再逐级稀释为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、2000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、20000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的标准溶液。在试管中依次分别加入 900 μL 磷酸盐缓冲溶液、加入 100 μL 不同浓度伏马毒素标准溶液、100 μL 抗体溶液, 在涡旋混合器上混匀, 用荧光偏振读数仪测定, 作为溶液空白, 取出试管, 加入 100 μL 荧光标记的伏马毒素

溶液, 在涡旋混合器上混匀, 反应 1 min, 用荧光偏振读数仪测定, 读取荧光偏振强度。以伏马毒素浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)—荧光偏振强度(mP)作标准曲线, 如图 2 所示。采用 6-DTAF 伏马毒素荧光标记物, 按照上述样品提取方法和测定方法, 建立的伏马毒素荧光偏振技术, 回归方程为 $y = \text{Lg} \text{stcDoseRsp}(a, b, c, d)$, 其中 $a=63.304879$, $b=197.19669$, $c=735.97987$, $d=1.4829537$, 相关系数 $R^2 = 0.9978$ 。采用 5-DTAF 伏马毒素荧光标记物, 按照上述样品提取方法和测定方法, 建立的伏马毒素荧光偏振技术, 回归方程为 $y = \text{Lg} \text{stcDoseRsp}(a, b, c, d)$, 其中 $a=62.126366$, $b=183.9207$, $c=500.76307$, $d=1.1633309$, 相关系数 $r^2 = 0.9981$ 。

表 1 不同浓度抗体溶液荧光偏振强度范围与灵敏度
Table 1 Fluorescence polarization intensity range and sensitivity of different concentration of antibody solution

抗体溶液浓度	荧光偏振强度变化范围(ΔmP)	$\text{IC}_{50}(\mu\text{g}/\text{kg})$
1:100	216.95	1647.0
1:200	208.3	1126.0
1:300	205.1	888.9
1:400	182.7	600.4
1:500	167.35	474.3
1:1000	132.9	258.1

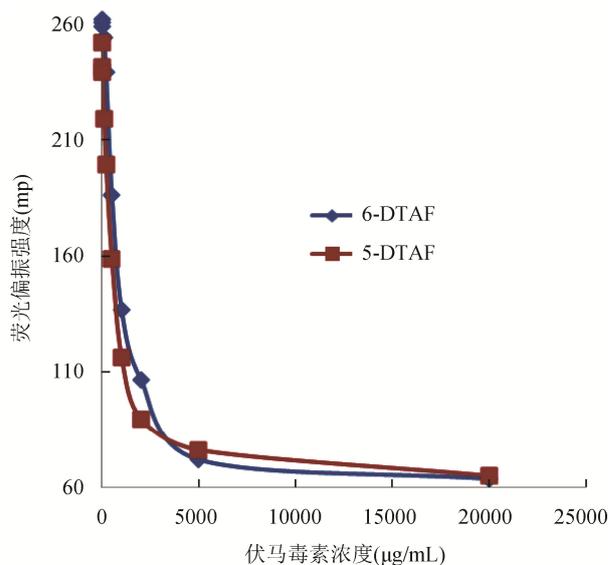


图 2 伏马毒素荧光偏振分析标准曲线

Fig. 2 Fluorescence polarization analysis standard curve for FB1

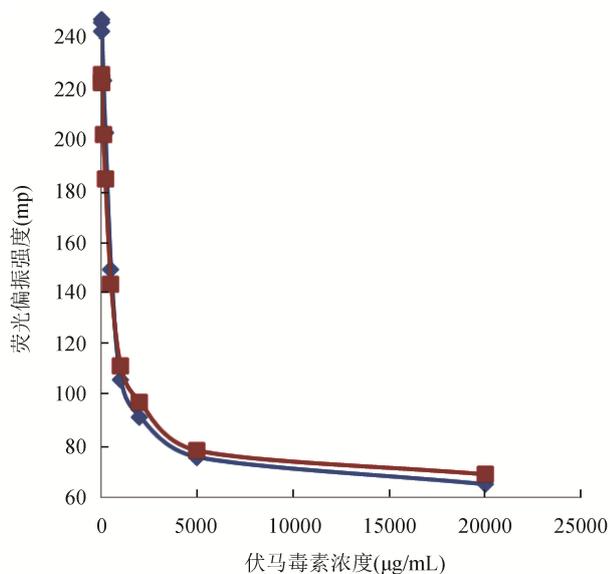


图3 不同基质伏马毒素标准曲线

Fig. 3 Standard curve of FB1 in different matrix

与采用 6-DTAF 伏马毒素荧光标记物测定的标准曲线比较, 5-DTAF 伏马毒素荧光标记物测定的标准曲线, 荧光偏振强度变化幅度为 186.8, IC₅₀ 为 420 μg/kg。6-DTAF 伏马毒素荧光标记物测定的标准曲线, 荧光偏振强度变化幅度为 182.3, IC₅₀ 为 419.5 μg/kg。这一结果表明, 5-DTAF 可代替 6-DTAF 作为伏马毒素荧光标记物用于伏马毒素荧光偏振免疫分析。

3.4 玉米基质对测定结果的影响

为探讨玉米基质对检测结果的影响, 分别采用磷酸盐缓冲溶液和玉米空白基质溶液, 配制伏马毒

素标准溶液。

玉米空白基质溶液的制备: 称取 20 g 玉米空白样品(空白样品是指采用液相色谱法测定的伏马毒素含量 < 25 μg/kg 的玉米), 加入 100 mL 磷酸盐缓冲溶液, 在振荡器上震荡提取 1 h, 过滤后得到的样品溶液。

按照标准曲线的测定方法, 测定磷酸盐缓冲溶液和玉米空白基质溶液伏马毒素标准曲线, 如图 3 所示。用 PBS 配制标准溶液时, 荧光偏振强度变化幅度为 182.3, IC₅₀ 为 419.5 μg/kg。用玉米基质配制的标准溶液, 荧光偏振强度变化幅度为 153.6, IC₅₀ 为 454.9 μg/kg。由于玉米基质的干扰, 导致荧光偏振强度变化范围缩小, 但二者灵敏度差别不大。

3.5 回收率、精密度的考察

在玉米空白对照样品中添加不同浓度的伏马毒素标准溶液, 摇匀, 放置过夜, 测定伏马毒素含量, 测得添加回收率见表 2。当添加水平均为 0.5 mg/kg、1.0 mg/kg、2.5 mg/kg 时, 用磷酸盐缓冲溶液配制的标准溶液测得的标准曲线计算, 测得平均回收率为 97.2% ~ 142.8%, 相对标准偏差为 3.9% ~ 9.8%; 用玉米基质溶液配制的标准溶液测得的标准曲线计算, 测得平均回收率为 93.4% ~ 105.1%, 相对标准偏差为 4.4% ~ 9.6%。实验结果表明, 由于玉米基质的干扰, 用磷酸盐缓冲液配制标准溶液测定标准曲线, 会导致测定结果偏高, 尤其是样品中伏马毒素含量在 1 mg/kg 时, 导致的结果偏差最大。采用玉米空白基质溶液配制标准溶液, 回收率和精密度可达到真菌毒素残留分析要求。

表 2 伏马毒素回收率和精密度
Table 2 Recovery rate and precision of FB1

采用的标准曲线	添加浓度 mg/kg	回收率(%)					平均值	RSD(%)
		1	2	3	4	5		
PBS 基质标准溶液	0.5	99.1	102	84.7	108	92.0	97.2	9.0
	1.0	137.5	140	145.5	144.5	146.5	142.8	3.9
	2.5	125.2	99.8	113.8	111.6	104.0	110.9	9.8
玉米空白基质标准溶液	0.5	97.0	100.0	79.9	103.0	87.0	93.4	9.6
	1.0	99.0	102.0	108.0	107.0	109.5	105.1	4.4
	2.5	102.0	92.0	107.4	104.6	95.2	100.24	6.5

4 结 论

采用 5-DTAF 代替 6-DTAF, 制备得到新型伏马毒素荧光标记物 5-DTAF 伏马毒素荧光标记物。将 5-DTAF 伏马毒素荧光标记物应用于伏马毒素荧光偏振免疫分析技术测定玉米中 FB₁, 样品前处理只需提取、过滤, 测定时只需 2~3 min 即可测定每一个样品, 方法简单、快速。可将抗体稀释 500 倍使用, 所需试剂少。方法灵敏度为 0.4 mg/kg, 采用玉米基质配标, 添加浓度为 0.5 mg/kg、1.0 mg/kg、2.5 mg/kg 时, 测得平均回收率为 93.4%~105.1%, 相对标准偏差为 4.4%~9.6%, 回收率和精密度可达到真菌毒素残留分析要求。结果表明 5-DTAF 伏马毒素荧光标记物可替代成熟、昂贵的 6-DTAF 伏马毒素荧光标记物, 且其性能与 6-DTAF 制得的荧光标记物相同, 但 5-DTAF 的市场价格是 6-DTAF 的一半, 大大节约了分析成本。

参考文献

- [1] Guo YC, Liu XM, Liu J. Preparation and identification of anti-fumonisin B₁ monoclonal antibody [J]. *J Hyg Res*, 1999, 28: 297.
- [2] Bolger M, Coker RD, DiNovi, M, *et al.* Fumonisin. WHO/IPCS safety evaluation of certain mycotoxins in food [J]. *WHO Food Addit Ser*, 2001, 47: 557-680.
- [3] Marasas WFO, Jackson LS, DeVries JW, *et al.* Fumonisin: history, worldwide occurrence and impact [M]. In *Fumonisin in Food*; Plenum Press: New York, 1996; pp 1-17.
- [4] 杨李梅, 苏建明, 雷红宇, 等. 伏马毒素研究进展 [J]. *动物医学进展*, 2014, 35: 97-100.
Yang LM, Su JM, Lei HY, *et al.* Progress on fumonisins [J]. *Prog Vet Med*, 2014, 35:97-100.
- [5] Chris MM, Michael EJ, Ronald DP, *et al.* Fluorescence polarization as a means for determination of fumonisins in maize [J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49: 596-602.
- [6] Shephard GS. Chromatographic determination of the fumonisin mycotoxins [J]. *J Chromatogr A*, 1998, 815: 31-39.
- [7] Plattner RD. Detection of fumonisins produced in fusarium moniliforme cultures by HPLC with electrospray MS and evaporative light scattering detectors [J]. *Nat Toxins*, 1995, 3: 294-298.
- [8] Wilkes JG, Sutherland JB, Churchwell MI, *et al.* Determination of fumonisins B₁, B₂, B₃, and B₄ by high-performance liquid chromatography with evaporative light-scattering detection [J]. *J Chromatogr A*, 1995, 695: 319-323.
- [9] Plattner RD, Norred WP, Bacon CW, *et al.* A method of detection of fumonisins in corn samples associated with field cases of equine leukoencephalomalacia [J]. *Mycologia*, 1990, 82: 698-702.
- [10] Musser SM, Jackson LS, DeVries JW, *et al.* Quantitation and identification of fumonisins by liquid chromatography/mass spectrometry [M]. In *Fumonisin in Food*; Plenum Press: New York, 1996; pp 65-74.
- [11] Maragos CM. Analysis of mycotoxins with capillary electrophoresis [J]. *Sem Food Anal*, 1998, 3: 353-373.
- [12] 郑荣, 毛丹, 王少敏, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定桃仁中 10 种真菌毒素 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2014, 5: 824-832.
Zheng R, Mao D, Wang SM, *et al.* Determination of 10 mycotoxins in peach kernel by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2014, 5: 824-832.
- [13] 权英, 詹月华, 张根华, 等. 谷物中伏马毒素 B₁ 化学发光酶免疫检测 [J]. *中国公共卫生*, 2011, 27: 552-553.
Qan Y, Zhan YH, Zhang GH, *et al.* Chemiluminescent enzyme immunoassay of fumonisins B₁ in grain [J]. *Chin J Public Health*, 2011, 27: 552-553.
- [14] 张珏, 朱岚, 陈蕴. 伏马毒素 B₁ 时间分辨荧光免疫分析超微量检测方法的建立 [J]. *环境与健康杂志*, 2009, 26: 1112-1115.
Zhang Y, Zhu L, Chen Y, *et al.* Ultra-sensitive determination of fumonisin B₁ by time-resolved fluoroimmunoassay [J]. *J Environ Health*, 2009, 26: 1112-1115.
- [15] Maragos CM. Fluorescence polarization for mycotoxin determination [J]. *Mycotoxin Res*, 2006, 22: 96-99.
- [16] Maragos CM, Bennett, GA, Richard JL. Affinity column cleanup for the analysis of fumonisins and their hydrolysis products in corn [J]. *Food Agric Immunol*, 1997, 9: 3-12.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



刘继红, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量安全检测技术研究及农产品质量安全风险评估。

E-mail: ljha3100@163.com



王红旗, 副研究员, 理学博士, 主要研究方向为农产品质量安全检测技术研究。

E-mail: huda2000@126.com