

乳品中黄曲霉毒素 M₁ 残留检测方法研究进展

翟晓瑞*, 李 燕

(蒙牛乳业(太原)有限公司, 山西 030032)

摘 要: 黄曲霉毒素 M₁ (aflatoxin M₁, AFM₁)具有强致癌性和致突变性, 主要存在于动物的肉、尿、乳汁、肝脏、肾脏、肌肉、血液中, 其中以乳汁中最为常见。本文综述了薄层色谱法、高效薄层色谱法、高效液相色谱法、液相色谱-串联质谱法、免疫亲和柱-荧光光度法、酶联免疫吸附法、放射免疫法、免疫胶体金法、电化学法、化学发光法等检测残留在乳制品中 AFM₁ 方法的研究进展, 概述了各方法优缺点, 并对未来检测方法进行了展望, 为保证乳品安全和提高我国 AFM₁ 的检测能力提供技术支持。

关键词: 黄曲霉毒素 M₁; 乳制品; 检测方法

Research progress of detecting methods of aflatoxin M₁ in dairy products

ZHAI Xiao-Rui*, LI Yan

(Mengniu Dairy (Taiyuan) Co., Ltd., Shanxi 030032, China)

ABSTRACT: Aflatoxin M₁ has strong carcinogenicity and mutagenicity, and mainly exists in meat, urine, milk, liver, kidney, muscle and blood of the animal, especially in milk. This paper reviewed the research progress of detecting methods of aflatoxin M₁ in dairy products, including thin layer chromatography, effective thin layer chromatography, high performance liquid chromatography, liquid chromatography-tandem mass spectrometry, enzyme-linked immunosorbent method, radio immunity method, immune colloidal gold method, electrochemical method, chemiluminescence method, and so on, outlined the advantages and disadvantages, and gave the prospect of detection methods in the future, which provided a technical support to guarantee the dairy safety and improve the detection ability of aflatoxin M₁.

KEY WORDS: aflatoxin M₁; dairy product; detecting method

1 引 言

黄曲霉毒素 M₁ (aflatoxin M₁, AFM₁)是由 Alleroft 于 1963 年首先发现的一种真菌代谢产物, 1965 年被命名为 AFM₁^[1,2]。其分子式为 C₁₇H₁₂O₇, 分子量为 328.6, 熔点为 299 °C, 白色或微黄色的长方形片状结晶, 溶于氯仿、乙腈、甲醇和水, 不溶于正己烷、乙醚、石油醚等非极性溶剂^[3]。在波长 365 nm 的紫外光下产生蓝紫色荧光, 属于二氢呋喃杂萜邻酮衍生物, 理化性质稳定, 经巴氏消毒几乎

不被破坏。

有 34 个国家或地区牛奶中 AFM₁ 的限量值为 0.05 µg/kg^[4], 大多数为欧盟成员国及与欧盟有贸易来往的部分国家。在中国, 牛奶中 AFM₁ 的国家限量标准为 ≤ 0.5 µg/kg^[5,6]。

AFM₁ 主要存在于动物的肉、尿、乳汁、肝脏、肾脏、肌肉、血液中, 其中以乳中最为常见, 具有强致癌性和致突变性, 毒性仅次于黄曲霉毒素 B₁^[7], 是被公认的肝致癌物和 DNA 破坏剂, 能够导致肝脏坏死、肺癌、胃癌、结肠癌、肾肿瘤等^[8-11]。因此, 建立准确、快速、灵敏、安全、简便

*通讯作者: 翟晓瑞, 硕士, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: liyan1983.love@163.com

*Corresponding author: ZHAI Xiao-Rui, Master, Mengniu Dairy (Taiyuan) Co., Ltd., Tang Huai South Road, Xiaodian Distict, Shanxi 030032, China. E-mail: liyan1983.love@163.com

的 AFM1 检测方法尤为重要^[12,13]。

2 检测方法

2.1 色谱法

2.1.1 薄层色谱法

薄层色谱(thin layer chromatography, TLC)法是 20 世纪 60 年代国内外检测 AFM1 的主要方法之一,该方法具有设备简单、操作方便、价格较低等优点,被用于大规模的筛选研究^[14]。其原理是将 AFM1 从样本中提取出来,经过柱层析、洗脱、浓缩后再用单向或双向法在薄层上分离,并在波长 365 nm 的紫外光下产生蓝色或黄绿色荧光,根据薄层板上显示荧光的最低检出量与标准溶液的荧光强度比较来测定其含量。但该方法在检测婴幼儿乳品中 AFM1 时灵敏度和重现性较差,样品处理繁琐,无法满足国家规定的限量要求,逐渐被更高效、更灵敏的方法所代替^[15]。

2.1.2 高效薄层层析法

高效薄层层析是薄层层析的一个重要发展,高效薄层层析主要特点为使用力度较小 5~10 μm 的吸附剂制板,层析板的表面积大,可以得到较好的分离效果^[16]。

高效薄层层析法具有薄层层析法的优点^[17],但该方法前处理操作步骤多,处理繁琐,提取和净化效果不够理想,影响薄层上展开的斑点的荧光度,导致该方法的灵敏度低于液相和液质的方法。

2.1.3 高效液相色谱法

高效液相色谱(HPLC)法是目前国内外检测 AFM1 应用最广泛的仪器分析方法,具有高效、灵敏、快速、准确、检出限低、重现性好及特异性强等优点,同时自动化程度得到较大的提高,在同等条件下可以检测更多的样品^[18,19]。其原理是样本中 AFM1 提取、净化,经过高效液相色谱柱层析,选择适宜的流动相,荧光检测器捕获后通过色谱峰面积计算 AFM1 的含量^[20,21]。该方法在检测过程中用到较多的有毒有机溶剂,不仅污染环境,对操作者也存在伤害的可能。

郑荣等^[22]建立了操作简便、重复性好、回收率高且快速灵敏的 AFM1 的检测方法。该方法选用 50%甲醇作为标准品溶液及试样溶液的配制溶剂,并采用甲醇和水作为流动相,在此参数设置下,溶剂甲醇的浓度对色谱峰的影响较小,解决了国标^[23]中标准品溶液选用 10%乙腈配置、以 25%的乙腈作为流动相时色谱峰变宽的问题。洗脱时仅使用 1 mL 的甲醇即可将 AFM1 完全洗脱,与国标法相比,不仅避免了毒性较大的乙腈溶剂的使用,还节省了溶剂,省去氮吹的步骤,缩短操作流程的时间,提高检测效率。本方法检测乳中 AFM1 的线性范围为 0.1~1 $\mu\text{g/L}$,回收率在 90%~110%之间,定量限为 5 pg,检测限为 2 pg。

丁俭等^[24]建立在线固相萃取富集-高效液相色谱法测定牛奶中 AFM1 的方法,该方法检出限为 0.04 $\mu\text{g/kg}$,定量

限为 0.10 $\mu\text{g/kg}$,6 次加标回收率标准偏差在 0.79%~2.56%之间,样品萃取富集自动化、灵敏度高、操作简单快速,检测时间不超过 30 min,可以满足大量样品的检测需求。

周贻兵等^[25]创建的方法检出限为 0.01 $\mu\text{g/kg}$,线性范围宽,回收率为 89.1%~93.5%,相对标准偏差在 6.5%~9.7%之间,该方法低于十分之一现行食品安全国家标准中 AFM1 的限量标准,适用于牛奶中 AFM1 的检测。

2.1.4 液相色谱-质谱联用法

液相色谱-质谱联用法又叫液质联用法(LC-MS),该方法是将色谱的高分离能力和质谱的高选择性、高灵敏度、对目标物分子表示的确证、可用同位素标记作为内标及能够提供相对分子质量和结构信息的优点相结合,是分离科学方法中的一项突破性进展。该方法简化了实验步骤,节省了样品准备和分析时间,广泛应用于 AFM1 的检测^[26]。

液相色谱-质谱联用法和高效液相色谱法具有相似的缺点,同时所用的仪器价格昂贵,建立方法较困难,检测需要培训专门的技术人员,所以该方法在所有乳品企业很难得到普及。

陈慧玲等^[27]建立了免疫亲和层析净化液相色谱-串联质谱联用法测定液体奶及奶粉中 AFM1 的验证方法,该方法检出限为 0.003 $\mu\text{g/kg}$,定量限为 0.01 $\mu\text{g/kg}$,共检测 55 份样品,检出率为 20%,方法实用可靠。

2.2 免疫化学法

2.2.1 免疫亲和柱-荧光光度法

免疫亲和柱法是 20 世纪 90 年代分析领域的一种新的前处理技术,具有特异性高、灵敏度高、净化效果好等优点。该方法原理是将样品经过离心、脱脂、过滤,滤液经过免疫亲和柱层析净化,除去杂质后洗脱 AFM1,用荧光光度法测定 AFM1 的定量,该方法分析速度快,可以达到筛选阳性样品和定量分析的目的^[28-30],但成本较高,不能对单一毒素进行检测^[31]。

Scott 等^[32]建立的方法检出限为 0.05 $\mu\text{g/L}$,回收率达 97%,该方法先用免疫亲和柱分离样品,再用荧光光度计检测 AFM1 含量。

2.2.2 酶联免疫吸附法

酶联免疫吸附法是 20 世纪 70 年代出现的一种新免疫技术,70 年代中后期用于真菌毒素的检测^[33]。其原理是 AFM1 EIA 微孔板包被有特异性抗体,首先加入抗原 AFM1 标准样品,抗体和抗原进行特异性的结合,然后加入 AFM1 的酶结合物与抗体进行免疫反应,最后加入底物,颜色由蓝变黄,在 450 nm 波长下检测吸光度值,根据颜色的深浅进行半定量检测。该方法前处理简单、灵敏度高、特异性强、干扰小、检测成本低,一次可以检测多个样品,目前在检测 AFM1 已得到广泛应用^[34]。但酶联免疫法抗体寿命短且需要低温保存,测定时出现假阳性的概率比较高,对一些含盐量高、脂肪含量高的样品需要做另外的处理^[35]。

马芸等^[36]采用酶联免疫法测定生牛乳和巴氏杀菌乳中 AFM₁ 含量, 含量平均值分别为 4.33、4.39 ng/L, RSD 分别为 0.58%、0.33%, 加标回收率分别为 97.4%、94.1%, RSD 分别为 1.7%、1.2%, 检测结果精确度高, 准确性好, 能够满足乳制品中 AFM₁ 的检测要求。

李平等^[37]利用酶联免疫法检测牛奶、酸奶、奶粉、干酪 4 种样品中 AFM₁ 含量, 最低检测限分别为 0.039、0.192、0.306、0.199 μg/kg, 板间变异系数均小于 5%, 回收率均在 93%~120%之间, 变异系数均小于 10%, 该方法稳定、灵敏, 可满足食品中 AFM₁ 的快速检测需求。

2.2.3 放射免疫法

放射免疫法可以测定超微量的物质, 该方法是将抗原抗体反应的特异性和放射性同位素的高度灵敏性、精确性的特定相结合的新技术。其原理是过量的特异性抗体或受体选择性吸附样品中的 AFM₁, 然后加入 ³H 标记的抗原, 抗原和剩余的抗体或受体结合, 离心沉淀, 取沉淀剂加入闪烁剂放置到制定系统中进行 1 min 闪烁计数, 然后与基准值进行对照, 即可测定出样品中 AFM₁ 的含量。

放射免疫法前处理简单并易于操作, 高效、快速、灵敏、特异性强, 可以进行大批量的初筛, 主要用于牛奶中 AFM₁ 的测定^[38]。但该方法在检测过程中使用放射性标准品, 标准试剂寿命短且必须与闪烁计数器等昂贵仪器一起使用, 不便于在基层推广使用, 检测过程中使用的放射性废弃物处理复杂, 因此很难广泛应用^[39]。

1981 年 Pestka^[40]首次使用放射免疫法检测牛奶中 AFM₁, 检测范围为 5.0~50.0 μg/kg, 灵敏度为 1.0 μg/L。

2.2.4 免疫胶体金法

免疫胶体金法是 20 世纪 80 年代发展起来的一种快速免疫分析技术。该方法利用纳米金作为标记物, 在层析过程中, 标记物与待测物质结合被相应的配体捕获而显色, 以纤维膜上的显色深浅进行定性或定量。该方法检测结果与高效液相色谱法测得的结果相符率超过 90.5%, 重现性达到 100%^[41]。其操作简单、快捷、仪器设备简单、成本低, 适用于牛奶中 AFM₁ 的大量筛选, 但灵敏度相对偏低, 不能达到限量要求很低的样品检测。

黄艳梅等^[42]制备了免疫层析试纸条并采用 EDC/NHS 法制备偶联抗 AFM₁ 单克隆抗体的免疫磁珠。免疫磁珠和待检样品混合, 目标物被捕获、磁分离后, 浓缩重悬液用免疫层析试纸条检测, 检出限为 0.1 μg/L, 适用于乳品中 AFM₁ 的快速检测。

罗晓琴等^[43]应用胶体金免疫层析技术, 建立了一种快速检测牛奶中 AFM₁ 的方法。该方法检测限为 0.3 μg/L, 检测时间为 10 min, 适用于现场牛奶中 AFM₁ 的快速检测。

2.3 电化学方法

电化学方法是 20 世纪 90 年代使用的一种新检测方

法。该方法使用的核心设备为传感器, 传感器将免疫复合物转化为物理化学信号, 二次仪表将输出信号放大后检测出 AFM₁ 的含量。该方法选择性好、测试费用低、样品无需前处理, 但对使用的设备要求较高^[18]。Parker 等^[44]使用该方法检测牛奶中 AFM₁ 的检出限为 8 ng/L, 线性范围为 10~100 ng/L。

2.4 化学发光法

化学发光法是一种非标记的光学检测方法, 该方法将 AFM₁ 的抗体固定在特定膜表面, 加入含有 AFM₁ 的样品后, 抗原和抗体进行特异性吸附, 同时加入 AFM₁ 的酶结合物进行竞争性免疫反应, 最后检测有效折射率的变化对 AFM₁ 进行定量分析^[15]。Magliulo 等^[45]使用化学发光法检测牛奶中 AFM₁, 整个检测过程不需要对样品做净化处理, 定量下限为 1 μg/kg, 回收率范围 96%~122%。

3 展 望

目前, 乳及乳制品在市场上消费量越来越大, 品种也越来越多, 牛奶逐渐成为人们生活中不可缺少的食品之一, 为了确保市场上乳制品的安全, 在对牛奶生产过程进行严格把控的同时, 快速、准确的检测方法也是重中之重^[46]。

薄层色谱法和高效薄层色谱法样品前处理复杂, 灵敏度低, 花费时间较长。高效液相色谱法和液相色谱-串联质谱法样品前处理复杂, 检测过程中需用较多有机溶剂, 污染环境, 对人员的要求较高, 所需仪器昂贵, 成本较高, 不适合现场大量样品的快速检测。免疫亲和柱-荧光光度法不能检测单一毒素。酶联免疫法中使用的酶、抗体对保存温度、时间有一定的要求。放射免疫法在检测过程中使用放射性标准品, 放射性标准品废弃物处理复杂, 很难推广。免疫胶体金法只用于定性检测, 会有假阳性和假阴性情况出现。电化学法和化学发光法对设备要求较高, 成本较高。

因此, 乳制品中 AFM₁ 检测方法的研究可以从以下几个方面进行探索: (1)研制小型、便携式检测设备和胶体金试纸条, 对乳制品中 AFM₁ 做快速定量检测; (2)对乳制品的前处理方法进行统一, 为检测方法的标准化奠定基础; (3)制备 AFM₁ 印迹聚合物仿生抗体, 为 AFM₁ 的检测提供“抗体”来源。

参考文献

- [1] 闻玉梅, 陆德源. 现代微生物[M]. 上海: 上海医科大学出版社, 1991.
Wen YM, Lu DY. Modern microbiology [M]. Shanghai: Shanghai Medical University Press, 1991.
- [2] 聂晶. 黄曲霉毒素 M₁ 研究进展[J]. 国内外医学分册, 1992(3): 159~161.
Nie J. Research progress of aflatoxin M₁ [J]. Domest Foreign Med Sci, 1992(3): 159~161.
- [3] 张东升, 赵晓联, 赵春城, 等. 黄曲霉毒素 M₁ 的危害、污染现状及检测方法进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 14(3): 266~269.
Zhang DS, Zhao XL, Zhao CC, et al. Advancement in researches of

- hazards, polluting situation and detecting methods of aflatoxin M₁ [J]. Chin J Health Lab Technol, 2004, 14(3): 266–269.
- [4] GB 2761-2011 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量[S].
GB 2761-2011 The national food safety standards-Mycotoxins in food limited [S].
- [5] 梅文华, 叶万荣. 影响动物性食品安全的因素分析与控制建议[J]. 贵州畜牧兽医, 2005, 35(2): 39–40.
Mei WH, Ye WR. Analysis on the causes of influencing animal food safety [J]. Guizhou Anim Sci Vet Med, 2005, 35(2): 39–40.
- [6] 帕提古丽·托乎提. 生鲜牛乳中黄曲霉毒素 M₁ 快速检测报告[J]. 中国乳业科学, 2014, 40(1): 13–14.
Patiguli THT. Rapid detection of aflatoxin M₁ in fresh milk [J]. China Cattle Sci, 2014, 40(1): 13–14.
- [7] Prandini A, Tansini G, Sigolo S, *et al.* On the occurrence of aflatoxin M₁ in milk and dairy products [J]. Food Chem Toxicol, 2009, 47(5): 984–991.
- [8] Viridis S, Corgiolu G, Scarano C, *et al.* Occurrence of aflatoxin M₁ in tank bulk goat milk and ripened goat cheese [J]. Food Control, 2008, 19(1): 44–49.
- [9] 马建利. 奶牛场黄曲霉毒素的防控[J]. 中国奶牛, 2013, 31(10): 41–42.
Ma JL. Prevention and control of aflatoxin in dairy cattle farm [J]. China Dairy Cattle, 2013, 31(10): 41–42.
- [10] 陈爱民, 徐耀初. AFT 致肝癌的分子机制及其化学预防[M]. 国外医学: 卫生学分册, 1998, 25(5): 285–288.
Chen AM, Xu YC. Molecular mechanism of AFT induced liver cancer and its chemical prevention [M]. Foreign Med Sci: Sect Hyg, 1998, 25(5): 285–288.
- [11] 卿中全, 于炎湖. AFT 对家禽生产性能和健康的影响[J]. 中国饲料, 2000, (3): 35–37.
Qing ZQ, Yu YH. Effects of aflatoxin on production performance and health in poultry [J]. China Feed, 2000, (3): 35–37.
- [12] Mishra HN, Chitragada D. A review on biological control and metabolism of aflatoxin [J]. Crit Rev Food Sci Nutr
- [13] 武瑞霞, 李云姣, 霍超, 等. 乳及乳制品中黄曲霉毒素 污染及检测技术研究进展[J]
Wu RX, Li YJ, Huo C, *et al.* Research progress of detection technique and the contamination of aflatoxin M₁ in milk and dairy products [J]. Chin J Food Hyg, 2016, 28(1):124–128.
- [14] 孙建国, 兰芳. 生鲜牛乳中 β -内酰胺酶快速检测报告[J]. 中国乳业科学, 2012, 38(5): 43–44.
Sun JG, Lan F. Quickly test method to detect β -lactamase in raw and fresh milk [J]. China Cattle Sci, 2012, 38(5): 43–44.
- [15] 黄亚伟, 魏光, 王若兰. 乳品中黄曲霉毒素 M₁ 检测方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(3): 770–775.
Huang YW, Wei G, Wang RL. Review on detection methods of aflatoxin M₁ in dairy products[J]. J Food Safe Qual, 2014, 5(3): 770–775.
- [16] 吴双明, 张海华. 乳与乳制品中黄曲霉毒素检测的研究[J]. 中国乳业, 2012, 16: 60–63.
Wu SM, Zhang HH. Study on detection of aflatoxin in milk and dairy products [J]. China Dairy, 2012, 16:60–63.
- [17] 张鹏, 赵卫东, 张艺兵. 高效薄层色谱法测定黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂[J]. 分析化学, 2000, 10(3): 392–392.
Zhang P, Zhao WD, Zhang YB. Determination of aflatoxin B₁, B₂, G₁ and G₂ by high performance thin layer chromatography [J]. Chin J Anal Chem, 2000, 10(3): 392–392.
- [18] 鲍蕾, 张鹏, 雷质文, 等. 高效液相色谱法和荧光光度计法检测花生中黄曲霉毒素的比较研究[J]. 检验检疫科学, 2001, (5): 18–19.
Bao L, Zhang P, Lei ZW, *et al.* A comparative study on the detection of aflatoxin in peanut by high performance liquid chromatography and fluorescence spectrometry [J]. J Inspect Quarant, 2001, (5): 18–19.
- [19] 涂文升. 高效液相色谱法同时检测食品中四种黄曲霉毒素[J]. 中华预防医学, 2002, 36(5): 343–345.
Tu WS. Simultaneous detection of four kinds of aflatoxin in food by high performance liquid chromatography [J]. Chin J Prev Med, 2002, 36(5): 343–345.
- [20] 张丽, 朱姝, 张文海. 高效液相色谱后衍生法测定食品中的黄曲霉毒素 B₁[J]. 中国卫生检验, 2006, (1): 70–71.
Zhang L, Zhu S, Zhang WH. Determination of aflatoxin B₁ in food by high performance liquid chromatography with post column derivatization [J]. Chin J Health Lab Technol, 2006, (1): 70–71.
- [21] 武瑞霞, 李云姣, 霍超, 等. 乳及乳制品中黄曲霉毒素 M₁ 污染及检测技术研究进展[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(1): 124–128.
Wu RX, Li YJ, Huo C, *et al.* Research progress of detection technique and the contamination of aflatoxin M₁ in milk and dairy products [J]. Chin J Food Hyg, 2016, 28(1):124–128.
- [22] 郑荣, 毛丹, 王珂, 等. HPLC 法测定乳制品中黄曲霉毒素 M₁[J]. 中国食品卫生杂志, 2007, 19(4): 318–319.
Zheng R, Mao D, Wang K, *et al.* Determination of aflatoxin M₁ in milk and milk product by HPLC[J]. Chin J Food Hyg, 2007, 19(4): 318–319.
- [23] GB/T18980-2003. 乳和乳粉中黄曲霉毒素 M₁ 的测定-免疫亲和层析净化高效液相色谱法和荧光光度法[S].
GB/T18980-2003. Determination of aflatoxin M₁ content in milk and milk powder—Clean up by immunoaffinity chromatography and determination by high-performance liquid chromatography and fluorometer [S].
- [24] 丁俭, 李培武, 李光明. 在线固相萃取富集-高效液相色谱法快速测定牛奶中黄曲霉毒素 M₁[J]. 食品科学, 2013, 34(10): 289–293.
Ding J, Li PW, Li GM. Determination of aflatoxin M₁ in milk by high performance liquid chromatography using on-line solid phase extraction [J]. Food Sci, 2013, 34(10): 289–293.
- [25] 周贻兵, 林野, 李磊. 高效液相色谱法测定牛奶中黄曲霉毒素 M₁ 的含量[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(15): 96–98.
Zhou YB, Lin Y, Li L. Determination of aflatoxin M₁ content in milk by high-performance liquid chromatography [J]. Food Res Dev, 2014, 35(15): 96–98.
- [26] 万珊, 朱曦, 梁利妹. 牛奶中黄曲霉毒素 M₁ 常见检测方法比较[J]. 湖北畜牧兽医, 2013, 34(6): 78–80.
Wan S, Zhu X, Liang LM. Comparison of common detection methods of aflatoxin M₁ in milk [J]. Hubei J Anim Vet Sci, 2013, 34(6): 78–80.
- [27] 陈慧玲, 刘红河, 康莉. 液体奶及奶粉中黄曲霉毒素 M₁ 的液相色谱-串联质谱连用测定[J]. 实用预防医学, 2014, 21(6): 742–744.
Chen HL, Liu HH, Kang L. Determination of aflatoxin M₁ in liquid milk and milk powder by LC-MS /MS [J]. Pract Prev Med, 2014, 21(6): 742–744.
- [28] Mary WT, Michael ES, Stanley N. Immunoaffinity columncoupled with solution fluorometry or liquid chromatography postcolumn derivatization for determination of aflatoxins in corn, peanuts, and peanut butter: collaborative study [J]. J Assoc Off Anal Chem, 1991, 74(1): 81–88.

- [29] 赵飞, 焦彦朝, 连宾. 黄曲霉毒素检测方法的研究进展[J]. 贵州农业科学, 2006, 34(5): 123–126.
- Zhao F, Jiao YC, Lian B. Research progress in determination methods of aflatoxins [J]. Guizhou Agric Sci, 2006, 34(5): 123–126.
- [30] 张鹏, 张艺兵, 王晶, 等. 牛奶及奶粉中黄曲霉毒素 M₁ 的快速测定[J]. 中国乳品工业, 2002, 30(6): 30–32.
- Zhang P, Zhang YB, Wang J, *et al.* Rapid detecting aflatoxin M₁ in milk and milk powder [J]. China Dairy Ind, 2002, 30(6): 30–32.
- [31] 张鹏, 顾正志, 李震海, 等. 免疫亲和荧光光度法快速测定食品中的黄曲霉毒素[J]. 中国卫生检验杂志, 2000, (6): 677–678.
- Zhang P, Gu ZZ, Li ZH, *et al.* Rapid determination of aflatoxin in food by immuno affinity fluorescence spectrometry[J]. Chin J Health Lab Technol, 2000, (6): 677–678.
- [32] Scott PM. Application of immunoaffinity columns to mycotoxin analysis [J]. AOAC Int, 1997, 80(5): 9.
- [33] Chu FS, Ueno I. Production of antibody against aflatoxin B₁ [J]. Appl Environ Microbiol, 1977, 33(5): 1125–1128.
- [34] 廖妍俨, 黄家岭. 酶联免疫法测定牛奶中黄曲霉毒素 M₁ 的应用[J]. 贵州化工, 2012, 37(4): 33–34.
- Liao YY, Huang JL. Application of enzyme linked immunosorbent assay for determination of aflatoxin M₁ in milk [J]. Guizhou Chem Ind, 2012, 37(4): 33–34.
- [35] Mary W, Trucks S, Michael E. Enzymelinked immunosorbent assay of aflatoxin B₁, B₂ and G₁ in corn, cottonseed, peanuts, peanut butter, and poultry feed: collaborative study [J]. J Assoc Off Anal Chem, 1989, 72(6): 957–963.
- [36] 马芸, 赵营, 姜瑞. 乳制品中黄曲霉毒素 M₁ 含量的酶联免疫法评价[J]. 江苏农业科技, 2013, 41(10): 253–254.
- Ma Y, Zhao Y, Jiang R. Evaluation of enzyme linked immunosorbent assay for aflatoxin M₁ in dairy products[J]. Jiangsu Agric Sci, 2013, 41(10): 253–254.
- [37] 李平, 谢体波, 易重任. 黄曲霉毒素 M₁ ELISA 试剂盒的检测效果研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(6): 2297–2302.
- Li P, Xie TB, Yi ZR. Research on detection results of aflatoxin M₁ enzyme-linked immune sorbent assay detection kit [J]. J Food Safe Qual, 2015, 6(6): 2297–2302.
- [38] 闫磊, 李卓, 张燕. 牛奶中黄曲霉毒素的放射免疫法检测[J]. 食品研究与开发, 2010, (1): 135–137.
- Yan L, Li Z, Zhang Y. Aflatoxins in milk by radio immunoassay method [J]. Food Res Dev, 2010, (1): 135–137.
- [39] 王蕾. 牛奶中黄曲霉毒素 M₁ 检测方法的建立及饲料中黄曲霉毒素对牛奶品质的影响[D]. 郑州: 河南农业大学, 2008.
- Wang L. Establishment of detection method of aflatoxin M₁ in milk and effect of aflatoxin in feed on milk quality [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2008.
- [40] Pestka J, Li Y, Harder W, *et al.* Comparison of adioimmunoassay and enzyme-linked immunosorbent assay for determining aflatoxin M₁ in milk [J]. J Assoc Off Anal Chem, 1981, 64(2): 294–301.
- [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] 黄艳梅, 刘道锋, 赖卫华. 集成免疫磁珠富集和免疫层析的黄曲霉毒素 M₁ 快速检测[J]. 分析化学, 2014, 42(5): 654–659.
- Huang YM, Liu DF, Lai WH. Rapid detection of aflatoxin M₁ by immunochromatography combined with enrichment based on immunomagnetic nanobeads [J]. Chin J Anal Chem, 2014, 42(5): 654–659.
- [43] 罗晓琴, 赵正苗, 吴继华. 牛奶中黄曲霉毒素 M₁ 胶体金试纸条的研究[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(1): 76–79.
- Luo XQ, Zhao ZM, Wu JH. Study on gold immunochromatography assay for rapid detection of aflatoxin M₁ in milk [J]. Food Res Dev, 2014, 35(1): 76–79.
- [44] Parker CO, Lanyon YH, Manning M, *et al.* Electrochemical immunochip sensor for Aflatoxin M₁ detection [J]. Anal Chem, 2009, 81(13): 5291–5298.
- [45] Magliulo M, Mirasoli M, Simoni P, *et al.* Development and validation of an ultrasensitive chemiluminescent enzyme immunoassay for Aflatoxin M₁ in milk [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(9): 3300–3305.
- [46] 朱丹, 文字, 张佩华. 牛奶中黄曲霉毒素 M₁ 的危害与防治措施[J]. 江西饲料, 2014, 2: 17–21.
- Zhu D, Wen Y, Zhang PH. Hazard of aflatoxin M₁ in milk and its control measures [J]. Jiangxi Feed, 2014, 2: 17–21.

(责任编辑: 金延秋)

作者简介



翟晓瑞, 硕士, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: liyan1983.love@163.com