

赭曲霉毒素 A 检测方法的研究进展

桑晓霞^{1,2}, 马江媛^{1,2}, 黄登宇^{1,2*}

(1. 山西大学生命科学学院, 太原 030006; 2. 山西大学食品药品快检技术中心, 太原 030006)

摘 要: 赭曲霉毒素 A(ochratoxin A, OTA)是一种具有极端毒性、污染广泛及危害严重的次级代谢产物。由于赭曲霉毒素 A 具有这些特点且食品安全问题越来越被人们广泛关注, 所以确定食品和商品中的 OTA 污染水平非常重要。目前对于 OTA 的检测, 已经建立了非常多的分析手段, 如薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、酶联免疫技术(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、时间分辨荧光免疫分析技术(time-resolved fluoroimmunoassay, TRFIA)等。本文综述了多种赭曲霉毒素 A 的检测分析方法, 简介了它们的优缺点及研究进展, 并进行了比较, 以期为食品中赭曲霉毒素 A 的检测研究提供一些参考。

关键词: 赭曲霉毒素 A; 检测; 研究进展

Research progress on detection methods of ochratoxin A

SANG Xiao-Xia^{1,2}, MA Jiang-Yuan^{1,2}, HUANG Deng-Yu^{1,2*}

(1. School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China;

2. The Food & Drug Safety Rapid Inspection Center, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

ABSTRACT: Ochratoxin A (OTA) is a secondary metabolite with extreme toxicity, extensive contamination and serious hazards. Since ochratoxin A has these characteristics and food safety issues are gaining widespread attention, it is important to determine the level of OTA contamination in foods and commodities. At present, a lot of analytical methods have been established for the detection of OTA, such as thin layer chromatography (TLC), high performance liquid chromatography (HPLC), and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), time-resolved fluoroimmunoassay (TRFIA), and the like. This paper reviews the various detection and analysis methods of ochratoxin A, introduces their advantages and disadvantages and research progress, and compares them to provide some references for the detection of ochratoxin A in food.

KEY WORDS: ochratoxin A; detection; research progress

1 引 言

赭曲霉毒素(ochratoxins A, OTA)是由曲霉属和青霉属等有毒的真菌产生的一组结构类似的有毒次级空间代谢产物^[1]。赭曲霉毒素是在黄曲霉毒素之后又一个引起了广泛关注的真菌毒素。赭曲霉毒素有 A、B、C、D 4 种,其中

与人类和动植物健康情况息息相关的是赭曲霉毒素 A, 它的毒性最大、在自然界中的分布最为广泛且对农产品、动物饲料和动物性食品等的污染很严重^[2]。目前已经发现有多种曲霉菌和青霉菌都能够产生赭曲霉毒素 A。研究表明, 赭曲霉毒素 A 对人和动物的毒性作用主要表现为肾脏毒、肝毒、致畸、致癌、致突变和免疫抑制作用^[3,4]。早在 1993

*通讯作者: 黄登宇, 副教授, 主要研究方向为食品安全管理与检测。E-mail: Huangdy1110@126.com

*Corresponding author: HUANG Deng-Yu, Associate Professor, Shanxi University, College of Life Sciences, Shanxi University, Taiyuan 030006, China. E-mail: Huangdy1110@126.com

年, OTA 就被列为了 IIB 类致癌物^[5]。由于赭曲霉毒素 A 广泛存在于谷物及其制品、水果、动物饲料、咖啡、香料、酒类和中草药等中, 使得其影响范围更加宽广。

当谷物原料、各种饲料被赭曲霉毒素 A 严重污染, 动物食用后会残留在肉制品中, 如蛋类、奶类, 进而可以通过食物链危害到人类的健康, 所以确定食品和商品中的 OTA 污染水平非常重要。在 2013 年, 宜宾就发生了“山地乌骨鸡赭曲霉毒素 A 中毒”的事件, 其原因正是由于饲料中混合的玉米发生霉变。赭曲霉毒素 A 污染食品的现象在世界各地几乎无处不在, 已经给世界人们造成巨大的经济损失。2013 年, 程传民等^[6]对全国 27 个省的饲料样品 OTA 污染的情况进行了统计, 采用酶联试剂盒初筛和液质联用仪验证 2 种方法, 结果发现玉米、小麦、饼粕类等样品中 OTA 的检出率均高于 20%。2014 年, Iqbal 等^[7]对巴基斯坦 237 份早餐样品受霉菌污染的情况进行了分析, 发现约有 48% 的样品被 OTA 污染, 其中污染最严重的为粗面粉早餐。本文总结了国内外赭曲霉毒素 A 的检测方法, 并提出相关建议, 以期对赭曲霉毒素 A 检测新技术的开发研究提供参考。

2 赭曲霉毒素 A 检测方法

2.1 化学分析法

薄层色谱法是选择适合的固定相, 将之涂布于支物上(如玻璃板), 使之形成薄的一层, 然后用点样器进行点样, 待展开后, 晾干, 显色后进行定性、定量。是根据比移值(retention factor, Rf)进行对比, 对样品进行分离、鉴定和定量的一种层析分离技术^[8]。薄层色谱法是最早出现的和最经典的检测赭曲霉毒素 A 的方法。Pittet 等^[9]应用薄层色谱法检测绿咖啡中赭曲霉毒素 A。Santos 等^[10]采用一种基于免疫亲和柱纯化的薄层色谱方法对绿咖啡中的 OTA 进行了测定。薄层色谱法具有对仪器设备要求不高、成本低、易被普及、操作简单、对样品预处理要求低、既有分离功能又有鉴定功能、结果显示较为直观等优点。但是也存在所需的试剂较多且繁杂, 检测周期长, 对操作人员的技术水平有一定要求, 重现性和灵敏度难以让人满意, 且难以达到自动化等缺点, 近几年该方法较少应用, 逐渐被其它的方法而取代。

2.2 仪器分析法

2.2.1 高效液相色谱法

高效液相色谱法(high performance Liquid Chromatography, HPLC)是一种最常用的定量分析赭曲霉毒素 A 的方法。HPLC 可配套使用不同的检测系统。OTA 较常采用荧光检测器进行检测。稳定而又快速的样品前处理是保障高效液相色谱法检测结果准确有效的前提, 比如液-液萃取法、固相萃取技术、免疫亲和层析净化技术等。谢刚 等^[11]建立了粮食中 OTA 的全自动免疫亲和在线净化-高效液相色谱法。

梁桂娟等^[12]建立了大米中的赭曲霉毒素 A 的高效液相色谱-荧光检测法, 结果显示, 该方法满足了对样品快速准确的检测。蔡伟谊等^[13]建立了在线免疫亲和固相萃取-高效液相色谱快速测定食品中 OTA 的分析方法。高效液相色谱法的优点是灵敏度高, 可进行定性和定量分析, 结果精确。但需要价格昂贵的仪器, 对于前处理部分要求较高, 耗时长, 成本也高, 无法达到快速筛查的要求。

2.2.2 液相-质谱联用法

液相-质谱联用法(liquid chromatograph mass spectrometer, LC-MS)结合了液相色谱和质谱两者优点, 也在 OTA 的检测中广泛应用。LC-MS 具有灵敏度高、准确性好、抗干扰能力强的优点, 但是仪器价格昂贵, 难以推广^[14]。

孙月等^[15]建立了一种检测粮食中赭曲霉毒素的固相萃取-高效液相色谱串联质谱的检测方法。莫瑾等^[16]采用 LC-MS 技术检测茶叶中 OTA, 检出限为 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 该方法准确性好、灵敏度高。薛良辰^[17]等采用 LC-MS 技术检测中草药中 OTA, 优化了液相色谱条件和质谱条件, 克服了基质效应的干扰。

检测赭曲霉毒素 A 的仪器分析方法还有很多, 详见表 1。表 1 中列举了部分学者使用仪器分析法检测。从表中可以看出, 在线免疫亲和固相萃取-高效液相色谱法测定豆类、谷物中 OTA 的检测限最低, 说明该方法灵敏度较高, 可以作为一种高效的检测方法。同样地, 列举的其他方法也是可行的, 但是要推广还要考虑很多实际问题, 例如仪器的价格及操作的简易程度等等。因此要综合考虑各方面因素选取最佳的推广方案, 让其更好的检测 OTA, 为食品安全提供一定保障。

2.3 免疫学法

2.3.1 酶联免疫分析技术

酶联免疫分析技术(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)是让抗体与酶复合物结合, 然后通过显色来检测的一种免疫测定技术。是目前赭曲霉毒素 A 快速检测领域的主流应用技术。Pavón 等^[18]建立了无花果干中 OTA 检测的直接竞争酶联免疫法, 检出限可达 3.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 结果显示, 该方法可以有效地应用于无花果干中的 OTA 筛选。叶光斌等^[19]采用酶联免疫法检测了泸州老窖大曲、入窖酒醅、丢糟等浓香型白酒生产各个环节的样品中 OTA 的含量, 检测灵敏度为 0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 相对标准偏差在 1.497%~3.369%之间, 平均回收率达 96.4%。冯莉^[20]等采用酶联免疫法测定大豆中赭曲霉毒素 A, 具有检测速度快、灵敏度高、准确性强的优点。ELISA 技术以其所需设备简单、操作简便、易于携带、灵敏度高、产生的污染少和特异性强等优点在进行大批量的样品检测时展示出了其强大的优势, 但存在所需的抗体和抗原制备技术较难, 过程复杂, 重现性较差, 检测时只能针对单一毒素和假阳性等缺陷。

表 1 仪器分析法检测赭曲霉毒素 A
Table 1 Instrumental analysis of ochratoxin A

基质	检测方法	线性范围	检测限/(μg/kg)	回收率/%	参考文献
小麦、玉米	全自动免疫亲和在线净化-高效液相色谱法	0.0125~0.5000 μg/kg	0.24	80.1~106.9	[11]
大米	高效液相色谱-荧光检测法	0~200 ng/mL	0.80	77.7~81.1	[12]
豆类、谷物	在线免疫亲和固相萃取-高效液相色谱	12.5~500.0 ng/L	0.02	87.4~109.8	[13]
小麦、玉米、大豆	固相萃取-高效液相色谱串联质谱	0.5~10.0 μg/kg	0.25	83.2~98.6	[15]
茶叶	高效液相色谱-串联质谱	0.5~10.0 ng/mL	0.10	83.6~92.5	[16]
中草药	超高效液相色谱-串联质谱法	0.1~50.0 μg/L	1.00	78.5~98.0	[17]

2.3.2 时间分辨荧光免疫分析技术

时间分辨荧光免疫分析技术 (time-resolved fluoroimmunoassay, TRFIA) 是一种具有高特异性, 高灵敏度, 用于微量检测的技术^[21]。TRFIA 是用镧系元素及其螯合物结合标记蛋白质、抗原、抗体等, 在发生抗原抗体免疫反应、生物素亲和素反应后, 用时间分辨荧光仪测定荧光强度, 推测被分析物的浓度, 从而进行定量分析^[22]。黄飏等^[23]建立了 OTA 全自动检测方法, 采用的是时间分辨荧光免疫分析技术。该方法的灵敏度为 0.03 μg/L, 只与赭曲霉毒素 B 的平均交叉反应为 3.7%, 抗体的特异性很好。黄飏等^[24]建立了高灵敏的 OTA 时间分辨荧光免疫分析法。该方法的灵敏度高、特异性强、可测范围宽、具有很好的应用前景。Annalisa 等^[25]研究了一种新型 DNA 配体系统, 该系统是利用时间分辨荧光免疫分析法测赭曲霉毒素 A, 并且用于测量小麦中的 OTA。TRFIA 方法分析灵敏度高、特异性强、稳定性好、适合于大批量样品的筛查。但具有荧光寿命短、背景荧光干扰、使用了有毒有害物质、对健康有害等缺点。

2.3.3 胶体金免疫层析技术

胶体金免疫层析技术 (gold-immuno chromatographic assay, GICA) 是一种以胶体金作为示踪标志物, 应用于抗原抗体反应中的一种新型免疫标记技术。赖卫华等^[26]研制了赭曲霉毒素 A 无毒体系胶体金试纸条, 并与传统的胶体金试纸条进行了比较, 结果表明, 赭曲霉毒素 A 无毒体系胶体金试纸条适合于赭曲霉毒素 A 现场筛查。扶胜等^[27]建立了一种快速检测谷物和饲料中 OTA 的胶体金免疫层析方法, 该法使用简单方便, 非常适合现场快速检测。Zhang 等^[28]优化和建立了二联胶体金免疫层析试纸条, 并且对玉米、面粉中的赭曲霉毒素 A 和玉米赤霉烯酮进行了检测, 结果显示该方法简单、快速且成本低且便于基层推广。胶体金免疫层析技术具有灵敏度高、特异性强、操作简便、污染较少、效率高等优点, 而且无需大型仪器和特殊的试剂, 能一目了然的观察实验结果。胶体金免疫层析技术最初被运用在医学领域中, 最近几年才开始运用于食品领域。

2.3.4 化学发光酶免疫分析技术

化学发光酶免疫分析技术 (chemiluminescence

Enzyme Immunoassay, CLEIA) 是一种用化学发光剂直接标记抗原或抗体, 进行免疫反应的免疫分析方法^[29]。胡娜等^[30]采用直接竞争法, 建立了 OTA 的酶促化学发光免疫分析技术。该方法线性范围在 10~640 pg/mL 范围内, 平均灵敏度为 4 pg/mL, 回收率高, 稳定性好。张景等^[31]建立了一种测定 OTA 的新型高灵敏化学发光间接竞争酶联免疫分析方法。结果表明, 该方法检测 OTA 时发光强度更大、发光时间更长, 可用于食品中 OTA 的高灵敏度痕量检测。邱云青等^[32]采用化学发光酶免疫方法对食品中 OTA 进行了检测。具有化学发光测定技术的高灵敏度, 免疫反应的高特异性, 仪器构造简单, 分析方法简便而快速, 光信号可以持续很长时间, 安全性高, 使用期长对于谷物中 OTA 的现场检测体现出了很大的优越性。但具有化学发光时间短, 有底物干扰, 过程中需使用有害试剂, 对健康有害等缺点。

2.3.5 免疫传感器检测技术

免疫传感器检测技术是一种利用抗原对抗体或抗体对抗原的识别功能而进行物质鉴定的新兴生物传感器技术^[33]。Liu 等^[34]使用超敏电化学免疫传感器检测玉米样本 OTA, 线性范围 0.01~0.1 μg/L, 检出限低至 8.2×10^{-3} μg/L。张弦等^[35]建立一种新型电化学免疫传感器用于 OTA 的快速检测。结果显示, 电化学免疫传感器检测 OTA 的灵敏度显著增加, 构建的电化学免疫传感器能够快速、简便检测 OTA。Francesca 等^[36]研制了用于定量测定 OTA 的一次性丝网印刷碳电极上的阻抗标记免疫传感器。免疫传感器以其鉴定物质的高度特异性、灵敏度高、预处理过程简单、减少分析时间、设备小型化、过程可实现自动化等而受到青睐, 能快速、有效地筛查食品中的 OTA, 但同时也有消除干扰不彻底、稳定性较差、设备小型但仍不好携带等问题。

2.3.6 免疫亲和柱层析净化-荧光光度法

免疫亲和柱层析净化-荧光光度法 (immunoaffinity column-fluorescence detector, IAC-FD) 是一种将免疫亲和柱净化和荧光光度测定结合起来, 以达到快速、准确分析 OTA 的方法。Chiavaro 等^[37]采用 IAC-FD 对火腿、谷物、酒类和香辛料等物质中的 OTA 进行测定, 回收率和检测限均较理想。张巧艳等^[38]建立并完善 4 类真菌毒素免疫亲

和净化与荧光法快速检测技术,检测样本数为 48 个,OTA 检出率为 22.9%,检测限为 0.47 ng/mL,检测时间平均为 20~30 min。褚庆华等^[39]采用免疫亲和柱层析净化-荧光光度法对谷物和酒类中的 OTA 的测定,结果显示,在 1~50 μg/kg 范围内的添加回收率为 60.3%~118.9%,方法快捷,能快速筛选、快速确证。详见表 2,列举了部分学者使用免疫学法检测赭曲霉毒素 A。该方法具有灵敏高、有毒有害试剂使用较少、设备便于携带、操作简单和自动化程度高等优点,但是免疫亲和柱价格昂贵,成本较高,对于精确定量效果较差。

2.4 基于适配体的快速检测方法

核酸适配体通常是指利用指数富集的配体系统进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)在体外筛选,从核酸分子文库中得到能够与 T4-DNA 聚合酶特异性结合的寡核苷酸片段^[40]。表 3 列举了部分学者使用基于适配体的快速检测方法检测赭曲霉毒素 A。核酸适配体一般是一段 DNA 或 RNA 序列。核酸适配体可与大分子、重金属元素、化学小分子、真菌毒素等多种类型靶标高亲和力、高特异性结合,具有受环

境影响少,稳定性好,筛选过程简单,可重复利用,保存期长等优点^[41]。但也存在处理过程繁琐和耗时长等缺点。

2.4.1 光学检测

Lv 等^[42]开发了一种检测 OTA 的荧光标记方法。利用 FAM 作为能量供体,金纳米颗粒作为能量受体。Guo 等^[43]在荧光检测方法的基础上,利用单壁碳纳米管为荧光淬灭剂,建立一种基于适配体的荧光淬灭方法,用于赭曲霉毒素 A 检测。检测有效线性范围为 25~200 nmol/L,检测限为 24.1 nmol/L。Cheng 等^[44]构建了一种基于比色的适配体传感器检测 OTA。结果表明线性范围在 20~625 nmol/L,检测限为 20 nmol/L,该方法以未被修饰的金纳米粒子作为指示器,在缓冲溶液中,当存在 OTA 时,适配体构象会发生变化并形成反平行的 G-四联体结构,金纳米粒子会在盐溶液聚集,溶液颜色会由红色变到蓝色;当不存在 OTA 时,溶液则呈现红色。Ma 等^[45]建立了 Apt-RT-q PCR 酶信号放大检测体系。Galarreta 等^[46]建立了基于适配体技术的表面增强拉曼光谱检测方法。把光学检测运用到 OTA 的检测中,大大提高了检测的灵敏度和速度,是一种快速检测的分析方法。

表 2 免疫学法检测赭曲霉毒素 A
Table 2 Immunological detection of ochratoxin A

基质	检测方法	线性范围	检测线	回收率/%	参考文献
白酒生产中各个阶段样品	ELISA	—	0.30 μg/kg	95.3~98.3	[19]
小麦、玉米	TRFIA	0.03~1000 μg/L	0.03 μg/L	85.0~106.0	[23]
玉米、大麦	TRFIA	0.02~400 μg/L	0.02 μg/L	82.0~104.6	[24]
玉米、小麦、饲料	二联定量胶体金试纸条	0.53~12.16 ng/mL	0.32 ng/mL	77.~106.3	[28]
葡萄干	CLEIA	0.05 ~ 6.08 ng/m L	0. 01 ng/mL	84. 55 ~ 91. 36	[31]
玉米	CLEIA	6 ~ 400 ng/mL	0.02 ng/mL	83.6 ~ 105.8	[32]
玉米	电化学免疫传感器	0.01~0.1 μg/L	8.20 pg/mL	85 ~ 105.	[34]
火腿	IAC-FD	0.7~9.7 μg/kg	0.70 μg/kg	77~89	[37]
谷物、酒类	IAC-FD	1~50 μg/kg	1.00 μg/kg	60.3~118.9	[39]

注:—表示无。

表 3 基于适配体的快速检测方法检测赭曲霉毒素 A
Table 3 Detection of ochratoxin A by aptamer-based rapid detection method

检测方法	线性范围	检测限	参考文献
Apt-FAM-SWNTs 荧光淬灭检测	25~200 nmol/L	24.1 nmol/L	[43]
Apt-GNPs 比色法	20~625 nmol/L	20 nmol/L	[44]
Apt-RT-q PCR 酶信号放大检测	5×10 ⁻⁶ ~5 ng/mL	1 fg/mL	[45]
Apt-SERS 微流控光学检测	0.05~4 μmol/L	0.05 μmol/L	[46]
Apt-GNPs 电化学检测	0.1~20 ng/mL	30 pg/mL	[47]
Apt-ABE 电化学发光检测	0.02~3.0 ng/mL	0.007 ng/mL	[48]
Apt-MB 电化学发光检测	0.1~1000 pg/mL	0.095 pg/mL	[49]
Apt-MBs 电化学检测	0.78~8.74 ng/mL	0.07±0.01 ng/mL	[50]

2.4.2 电化学检测

Kuang 等^[47]在基于纳米金标记适配体技术的基础上建立了一种用于特异性检测 OTA 的超灵敏快速电化学检测方法,检测的有效线性范围为 0.1~20 ng/mL,检测限为 30 pg/mL。Wang 等^[48]开发了一种用于检测 OTA 的高选择性电化学发光生物传感器,结果显示,检测的有效线性范围 0.02~3.0 ng/mL,检测限 0.007 ng/mL。Wu 等^[49]建立了 Apt-MB 电化学发光检测方法,用于监测红葡萄酒样品中的 OTA 水平,无需任何特殊的预处理。Bonel 等^[50]建立了基于磁珠标记适配体技术的电化学检测方法。值得等多相关部门借鉴,以加快 OTA 的检测进程,减少甚至杜绝被 OTA 污染的食品进入市场。

2.5 其他检测方法

除了上述的检测方法以外,流式微球技术、近红外光谱技术等也可用于赭曲霉毒素 A 的检测。肖昌彬等^[51]建立了一种基于间接竞争原理的流式微球技术快速检测麦芽中 OTA 的方法。结果显示,IC₅₀ 为 1.20 ng/mL,相关系数 R²=0.9892,检出限为 0.12 ng/mL,加样回收率 93.9%、97.4%,RSD<3.6%。Senthilkumar 等^[52]使用近红外(NIR)高光谱成像系统对小麦中的白曲霉、青霉菌和 OTA 污染进行了检测研究。结果显示可以 100%分类精度检测 OTA 污染的样品、可以区分不同真菌感染阶段和储存小麦中不同水平的 OTA 污染。王耀等^[53]从噬菌体随机七肽库中筛选得到赭曲霉毒素 A 的模拟表位,并以其替代毒素标品建立 OTA 免疫学快速检测方法。鼓励专业人员开发研究更多的检测方法,让 OTA 的污染降到最低,保障人们的食品卫生安全。

3 展 望

由于 OTA 极大的危害性和广泛分布特点,会对人类健康、食品安全和国际贸易产生严重的影响。使得 OTA 检测方法的发展受到了极大的重视。本文综述了多种 OTA 检测方法,它们各有优缺点,薄层色谱法已不能满足当代检测的需求,高效液相色谱法和质谱联用法虽然具有高成本、操作复杂、时间长的缺点,但是具有结果精确、回收率高、重现性好等优点。这是免疫学方法没有办法取代的地方,基于免疫学原理的检测方法具有简便、快速、灵敏等特点,可以大量快速现场筛查,但具有检测结果假阳性多和无法精确定量的缺点。基于适配体的快速检测方法稳定性好,筛选过程简单,可重复利用,但也存在处理过程繁琐和耗时长等缺点。

大型精密仪器的精准检测技术和各种快速检测技术是目前 OTA 检测的 2 大主流方向。而其中快速检测技术是现场实地监控 OTA 有效的技术手段。但是当前的各种各样的速测技术也有需要改进的地方,如成本较高、便携性较差、无法精确定量、难以普及等,针对这些问题,我

们需要积极研究改进,同时开发各种新型的快速检测技术和适合现场快速筛查的便携式小型设备、提高 OTA 快速检测技术领域的发展。我们需要建立更准确、经济、方便、耐用的 OTA 检测方法,控制 OTA 的污染,保障人类健康。

参考文献

- [1] 庞世琦,刘青,李志勇,等.葡萄酒中赭曲霉毒素 A 检测方法优化[J].食品科学,2013,34(24):193-196.
Pang SQ, Liu Q, Li ZY, et al. Optimization of DETECTION METHODS FOR OCHRatoxin A in wine [J]. Food Sci, 2013, 34(24): 193-196.
- [2] 王郑平,郭健,曹阳,等.高效液相色谱法快速测定粮食中赭曲霉毒素 A[J].粮食科技与经济,2014,39(4):31-32.
Wang ZP, Guo J, Cao Y, et al. Rapid determination of ochratoxin A in food by high performance liquid chromatography [J]. Grain Sci Technol Econ, 2014, 39(4): 31-32.
- [3] 高翔,李梅,张立实.赭曲霉毒素 A 的毒性研究进展[J].国外医学卫生学分册,2005,32(1):51-55.
Gao X, Li M, Zhang LS. Advances in research on toxicity of ochratoxin A [J]. Foreign Med Sci (Sect Hyg), 2005, 32(1): 51-55.
- [4] Mally A, Hard GC, Dekant W. Ochratoxin A as a potential etiologic factor in endemic nephropathy: lessons from toxicity studies in rats [J]. Food Chem Toxicol, 2007, 45(11): 2254-2260.
- [5] 疏秀林,施庆珊,欧阳友生,等.赭曲霉毒素的产生及鉴别[J].中国卫生检验杂志,2008(10):2183-2185.
Shu XL, Shi QS, Ouyang YS, et al. Production and identification of ochratoxin [J]. Chin J Health Lab Technol, 2008, (10): 2183-2185.
- [6] 程传民,柏凡,李云,等.2013 年赭曲霉毒素 A 在饲料原料中的污染分布规律[J].饲料广角,2014,(7):34-37.
Cheng CM, Bai F, Li Y, et al. Pollution distribution of ochratoxin A in feed ingredients in 2013 [J]. Feed Wide Angle, 2014, (7): 34-37.
- [7] Iqbal SZ, Rabbani T, Asi MR, et al. Assessment of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in breakfast cereals [J]. Food Chem, 2014, 157: 257-262.
- [8] 黄丹.薄层色谱法在药品分析中的应用研究[J].化学工程与装备,2009,(8):139-140.
Huang D. Application of thin layer chromatography in pharmaceutical analysis [J]. Chem Eng Equip, 2009, (8): 139-140.
- [9] Pittet A, Royer, Delphine B. Rapid, low cost thin-layer chromatographic screening method for the detection of ochratoxin a in green coffee at a control level of 10 µg/kg [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(2): 243-7.
- [10] Santos EA, Vargas EA. Immunoaffinity column clean-up and thin layer chromatography for determination of ochratoxin A in green coffee [J]. Food Addit Contam Part A, 2002, 19(5): 447-458.
- [11] 谢刚,李丽,黎睿,等.全自动免疫亲和在线净化—高效液相色谱法快速测定粮食中赭曲霉毒素 A[J].中国粮油学报,2019,34(6):114-119.
Xie G, Li L, Li R, et al. Rapid determination of ochratoxin A in food by automatic immunoaffinity online purification-high performance liquid chromatography [J]. J Chin Cereal Oil Ass, 2019, 34(6): 114-119.
- [12] 梁桂娟,张琼,杨波.高效液相色谱-荧光检测法检测大米中的赭曲霉毒素 A[J].中国酿造,2015,34(8):136-138.
Liang GJ, Zhang Q, Yang B. Determination of ochratoxin A in rice by high performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. China

- Brew, 2015, 34(8): 136–138.
- [13] 蔡伟谊, 毛新武, 林子豪, 等. 在线免疫亲和固相萃取-高效液相色谱法快速测定食品中赭曲霉毒素 A[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(12): 3100–3106.
- Cai WY, Mao XW, Lin ZH, *et al.* Rapid determination of ochratoxin A in food by online immunoaffinity solid phase extraction-high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(12): 3100–3106.
- [14] 李丽, 叶金, 辛媛媛, 等. 高效液相色谱法测定粮食及其制品中赭曲霉毒素 A 提取条件的优化[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(21): 5602–5607.
- Li L, Ye J, Xin YY, *et al.* Optimization of extraction conditions of ochratoxin A in grain and its products by high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(21): 5602–5607.
- [15] 孙月, 赵晋铭, 贾雯晴, 等. 固相萃取-高效液相色谱串联质谱法检测粮食中赭曲霉毒素 A[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(6): 1416–1420.
- Sun Y, Zhao JM, Jia WQ, *et al.* Determination of ochratoxin A in food by solid phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Jiangsu J Agric Sci, 2016, 32(6): 1416–1420.
- [16] 莫瑾, 龚强, 周慧平, 等. 高效液相色谱-串联质谱法检测茶叶中的赭曲霉毒素 A[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(1): 182–187.
- Mo J, Gong Q, Zhou HP, *et al.* Determination of ochratoxin A in tea by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(1): 182–187.
- [17] 薛良辰, 刘陆, 郑璇, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测中草药中赭曲霉毒素 A[J]. 现代食品科技, 2016, 32(10): 297–303.
- Xue LC, Liu L, Zheng X, *et al.* Determination of ochratoxin A in Chinese herbal medicine by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Mod Food Sci Technol, 2016, 32(10): 297–303.
- [18] Pavón MÁ, González, Isabel, *et al.* Competitive direct ELISA based on a monoclonal antibody for detection of Ochratoxin A in dried fig samples [J]. Food Agric Immunol, 2012, 23(1): 83–91.
- [19] 叶光斌, 罗惠波, 杨晓东, 等. 酶联免疫法检测赭曲霉毒素 A 在浓香型白酒生产中的变化[J]. 现代食品科技, 2013, (5): 1144–1147.
- Ye GB, Luo HB, Yang XD, *et al.* Changes of ochratoxin A in the production of luzhou-flavor liquor by enzyme-linked immunosorbent assay [J]. Mod Food Sci Technol, 2013, (5): 1144–1147.
- [20] 冯莉. 酶联免疫法测定大豆中赭曲霉毒素 A[J]. 现代畜牧科技, 2018, (8): 26.
- Feng L. Determination of ochratoxin A in Soybean by enzyme-linked immunosorbent assay [J]. Mod Anim Husb Sci Technol, 2018, (8): 26.
- [21] 李振甲, 陈洋藻, 高平, 等. 时间分辨荧光分析技术与应用[M]. 北京: 科学技术出版社, 1996.
- Li ZJ, Chen YZ, Gao P, *et al.* Time-resolved fluorescence analysis technology and application [M]. Beijing: Science and Technology Press, 1996.
- [22] 王坤, 侯玉泽, 胡晓飞, 等. 时间分辨荧光免疫分析技术在真菌毒素检测的应用[J]. 中国免疫学杂志, 2013, 29(2): 197–201.
- Wang K, Hou YZ, Hu XF, *et al.* Application of time-resolved fluorescence immunoassay in the detection of mycotoxins [J]. Chin J Immun, 2013, 29(2): 197–201.
- [23] 黄飏, 陶文沂, 张莲芬, 等. 赭曲霉毒素 A 的高灵敏时间分辨荧光免疫分析[J]. 生物化学与生物物理进展, 2005, 32(7): 662–666.
- Huang B, Tao WY, Zhang LF, *et al.* Highly sensitive time-resolved fluorescence immunoassay for ochratoxin A [J]. Prog Biochem Biophys, 2005, 32(7): 662–666.
- [24] 黄飏, 时瑾, 朱岚, 等. 赭曲霉毒素 A 时间分辨荧光免疫分析法的建立及其考核[J]. 标记免疫分析与临床, 2008, (3): 174–177.
- Huang B, Shi J, Zhu L, *et al.* Establishment and evaluation of time-resolved fluorescence immunoassay for ochratoxin A [J]. Lab Immun Clin Med, 2008, (3): 174–177.
- [25] Annalisa D, Girolamo LL, Gregory P, *et al.* Analytical performances of a DNA-ligand system using time-resolved fluorescence for the determination of ochratoxin A in wheat [J]. Anal Bioanal Chem, 2012, 403(9): 2627–2634.
- [26] 赖卫华, 许杨, 熊勇华, 等. 赭曲霉毒素 A 无毒体系胶体金试纸条的研制及与传统胶体金试纸条的比较[J]. 食品科学, 2008, (9): 465–468.
- Lai WH, Xu Y, Xiong YH, *et al.* Preparation of colloidal gold test strip for ochratoxin A non-toxic system and comparison with traditional colloidal gold test strips [J]. Food Sci, 2008, (9): 465–468.
- [27] 扶胜, 冯才伟, 杨梅, 等. 胶体金免疫层析法快速检测赭曲霉毒素 A 在谷物及饲料中的研究[J]. 食品安全导刊, 2016, (12): 120–122.
- Fu S, Feng CW, Yang M, *et al.* Rapid detection of ochratoxin A in cereals and feed by colloidal gold immunochromatography [J]. Chin Food Saf Magaz, 2016, (12): 120–122.
- [28] Zhang X, He K, Fang Y, *et al.* Dual flow immunochromatographic assay for rapid and simultaneous quantitative detection of ochratoxin A and zearalenone in corn, wheat, and feed samples [J]. J Zhejiang Univ SCI, 2018, 19(11): 60–72.
- [29] 刘星, 许杨, 何庆华. 谷物中赭曲霉毒素 A 化学发光酶免疫分析法的建立[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(4): 204–208.
- Liu X, Xu Y, He QH. Establishment of immunoassay for ochratoxin A chemiluminescent enzyme in cereals [J]. Food Ferment Ind, 2011, 37(4): 204–208.
- [30] 胡娜, 刘仁荣, 常军, 等. 赭曲霉毒素 A 化学发光免疫分析技术的建立[J]. 食品科技, 2010, 35(7): 300–302.
- Hu N, Liu RR, Chang J, *et al.* Establishment of chemiluminescence immunoassay technique for ochratoxin A [J]. J Food Sci Technol, 2010, 35(7): 300–302.
- [31] 张景, 潘姝丽, 马良, 等. 新型高灵敏赭曲霉毒素 A 间接竞争化学发光免疫分析法[J]. 食品与发酵工业, 2019, (3): 223–230.
- Zhang J, Pan SL, Ma L, *et al.* Indirect competitive chemiluminescence immunoassay for novel highly sensitive ochratoxin A [J]. Food Ferment Ind, 2019, (3): 223–230.
- [32] 邱云青, 王伟, 李凤琴. 化学发光酶免疫分析法检测食品中赭曲霉毒素 A[J]. 食品科学, 2010, 31(24): 432–435.
- Qiu YQ, Wang W, Li FQ. Detection of ochratoxin in food by chemiluminescent enzyme immunoassay [J]. Food Sci, 2010, 31(24): 432–435.
- [33] 韩鹏飞, 李洪军, 邹忠义. 免疫传感器在食品真菌毒素检测中的应用[J]. 食品工业科技, 2011, 32(4): 430–432.
- Han Pf, Li HJ, Zou ZY. Application of immunosensor in the detection of food mycotoxins [J]. Sci Technol Food Ind, 2011, 32(4): 430–432.
- [34] Liu XP, Deng YJ, Jin XY, *et al.* Ultrasensitive electrochemical immunosensor for ochratoxin A using gold colloid-mediated hapten immobilization [J]. Anal Biochem, 2009, 389: 63–68.
- [35] 张弦, 杨弦弦, 卿颖, 等. 一种用于检测赭曲霉毒素 A 的新型电化学免

- 疫传感器的构建及表征分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(20): 2950–2952.
- Zhang X, Yang XX, Qing Y, *et al.* Construction and characterization of a novel electrochemical immunosensor for detecting ochratoxin A [J]. *Int J Lab Med*, 2015, 36(20): 2950–2952.
- [36] Francesca M, Albanese D, Crescitelli A, *et al.* Impedimetric label-free immunosensor on disposable modified screen-printed electrodes for ochratoxin A [J]. *Biosens*, 2016, 6(3): 33.
- [37] Chiavaro E, Lepiani A, Colla F, *et al.* Ochratoxin A determination in ham by immunoaffinity clean-up and a quick fluorometric method [J]. *Food Addit Contam*, 2002, 19(6): 575–581.
- [38] 张巧艳, 王钊, 陈健文, 等. 杭州市粮油类农产品真菌毒素快速检测与安全性评估[J]. 浙江农业学报, 2011, 23(3): 582–587.
- Zhang QY, Wang W, Chen JW, *et al.* Rapid detection and safety assessment of mycotoxin in grain and oil agricultural products in Hangzhou [J]. *Zhejiang J Agric Sci*, 2011, 23(3): 582–587.
- [39] 褚庆华, 郭德华, 王敏, 等. 谷物和酒类中赭曲霉毒素 A 的测定[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2006, (2): 109–112.
- Chu QH, Guo DH, Wang M, *et al.* Determination of ochratoxin A in cereals and alcohols [J]. *Chin Health Lab Technol*, 2006, (2): 109–112.
- [40] 朱超, 白文芸, 张桂兰, 等. 核酸适配体技术在霉菌毒素检测中的应用[J]. 中国食品学报, 2018, 18(5): 208–221.
- Zhu C, Bai WH, Zhang GL, *et al.* Application of nucleic acid aptamer technology in detection of mycotoxins [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2018, 18(5): 208–221.
- [41] Pennacchio A, Varriale A, Scala A, *et al.* A novel fluorescence polarization assay for determination of penicillin G in milk [J]. *Food Chem*, 2016, 190(16): 381–385.
- [42] Lv Xi, Zhang Yuanfu, Liu GF, *et al.* Aptamer-based fluorescent detection of ochratoxin A by quenching of gold nanoparticles [J]. *RSC Adv*, 2017, 7(27): 16290–16294.
- [43] Guo Z, Ren JT, Wang JH, *et al.* Single-walled carbon nanotubes based quenching of free FAM-aptamer for selective determination of ochratoxin A [J]. *Talanta*, 2011, 85(5): 2517–2521.
- [44] Yang C, Wang Y, Marty JL, *et al.* Aptamer-based colorimetric biosensing of ochratoxin A using unmodified gold nanoparticles indicator [J]. *Biosens Bioelectron*, 2011, 26(5): 2724–2727.
- [45] Ma W, Yin H, Xu L, *et al.* Femtogram ultrasensitive aptasensor for the detection of ochratoxin A [J]. *Biosens Bioelectron*, 2013, 42(1): 545–549.
- [46] Galarreta BC, Mohammadali Ta. Microfluidic channel with embedded SERS 2D platform for the aptamer detection of ochratoxin A [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2013, 405(5): 1613–1621.
- [47] Kuang H, Chen W, Xu D, *et al.* Fabricated aptamer-based electrochemical "signal-off" sensor of ochratoxin A [J]. *Biosens Bioelectron*, 2011, 26(2): 710–716.
- [48] Wang Z, Nuo D, Xu H, *et al.* Electrochemiluminescent aptamer biosensor for the determination of ochratoxin A at a gold-nanoparticles-modified gold electrode using N-(aminobutyl)-N-ethylisoluminol as a luminescent label [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 398(5): 2125–2132.
- [49] Wu J, Chu HQ, Mei ZL, *et al.* Ultrasensitive one-step rapid detection of ochratoxin A by the folding-based electrochemical aptasensor [J]. *Anal Chim Acta*, 2012, 753(21): 27–31.
- [50] Bonel L, Vidal JC, Duato P, *et al.* An electrochemical competitive biosensor for ochratoxin A based on a DNA biotinylated aptamer [J]. *Biosens Bioelectron*, 2011, 26(7): 3254–3259.
- [51] 肖昌彬, 刘秋桃, 豆小文, 等. 基于间接竞争原理的流式微球技术快速检测麦芽中赭曲霉毒素 A[J]. 分析化学, 2016, 44(4): 625–632.
- Xiao CB, Liu QT, Dou XW, *et al.* Rapid detection of ochratoxin A in malt by flow microsphere technology based on indirect competition principle [J]. *Chin J Anal Chem*, 2016, 44(4): 625–632.
- [52] Senthilkumar T, Jayas DS, White NDG, *et al.* Detection of fungal infection and ochratoxin A contamination in stored wheat using near-infrared hyperspectral imaging [J]. *J Stored Prod Res*, 2016, 65: 30–39.
- [53] 王耀, 胡晓飞, 裴亚峰, 等. 赭曲霉毒素 A 模拟表位的筛选及免疫学鉴定[J]. 核农学报, 2012, 26(9): 1271–1277.
- Wang Y, Hu XF, Pei YF, *et al.* Screening and immunological identification of ochratoxin A mimotope [J]. *J Nucl Agric Sci*, 2012, 26(9): 1271–1277.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



桑晓霞, 硕士研究生, 主要研究方向为食品快速检测。
E-mail: 2433264587@qq.com



黄登宇, 副教授, 主要研究方向为食品安全管理与检测。
E-mail: Huangdy1110@126.com