

农产品中真菌毒素检测技术研究进展

潘程¹, 张云鹏^{2,3,4}, 刘晓萌^{2,3,4}, 印铁^{2,3,4}, 张晓琳^{2,3,4*}

- (1. 武汉轻工大学生物与制药工程学院, 武汉 430023; 2. 营养健康与食品安全北京市重点实验室, 北京 102209;
3. 老年营养食品研究北京市工程实验室, 北京 102209;
4. 北京市畜产品质量安全源头控制工程技术研究中心, 北京 102209)

摘要: 真菌毒素是一种由特定真菌产生的化学性质稳定的有毒次级代谢产物。在农产品生产、收储、运输及加工过程中真菌毒素污染时有发生, 存在安全隐患。因此建立准确、高效的真菌毒素检测方法对于真菌毒素防控具有重要意义。本文从样品前处理方法及真菌毒素检测技术 2 个方面对近年来国内外的研究进展进行了综述, 以期为检验人员进行真菌毒素的准确测定提供参考。

关键词: 真菌毒素; 前处理方法; 检测技术; 农产品

Recent progress of mycotoxin determination in agricultural products

PAN Cheng¹, ZHANG Yun-Peng^{2,3,4}, LIU Xiao-Meng^{2,3,4}, YIN Tie^{2,3,4}, ZHANG Xiao-Lin^{2,3,4*}

- (1. College of Biology and Pharmaceutical Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;
2. Beijing Key Laboratory of Nutrition & Health and Food Safety, Beijing 102209, China; 3. Beijing Engineering Laboratory of Geriatric Nutrition & Food, Beijing 102209, China; 4. Beijing Engineering Research Center of Livestock Products Quality and Safety Source Control, Beijing 102209, China)

ABSTRACT: Mycotoxin is a kind of stable secondary metabolite produced by certain fungi, which has high toxicity. Mycotoxin pollution happens occasionally during agricultural products producing, transportation and processing, which causes potential safety hazard in food and feed. So it is of great importance to set up precise and high-efficient mycotoxin determination technology. This paper reviewed recent progress of mycotoxin determination technology at home and abroad from 2 aspects of sample pretreatment method and mycotoxin detection technology, in order to provide a reference for the continuous testing personnel to accurately determine mycotoxin.

KEY WORDS: mycotoxin; pretreatment method; determination technology; agricultural products

1 引言

真菌毒素是一种由真菌产生的小分子有毒次级代谢产物, 化学性质稳定, 极易污染食品和饲料, 如果被人类直接食用或被动物食用后会存在致癌、致畸、致突变等危害, 因此, 真菌毒素污染问题逐渐引起人们的重视。研究发现, 高温、高湿等环境适宜真菌的生长, 并引起真菌毒

素污染, 据联合国粮农组织统计, 全球每年大约有 25% 农作物受到真菌毒素的污染, 造成约 10 亿吨农产品损失^[1-3]。因此, 检测并鉴定农产品中的真菌毒素具有重要意义。本研究从样品前处理方法及真菌毒素检测技术 2 个方面总结近年来国内外的研究进展, 以期为检验人员进行真菌毒素的准确测定提供参考。

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目(2017YFC1600600)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Projects During the 13th Five-year Plan (2017YFC1600600)

*通讯作者: 张晓琳, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品加工。E-mail: zhangxiaolin1@cofco.com

*Corresponding author: ZHANG Xiao-Lin, Ph.D, Professor, Beijing Engineering Research Center of Livestock Products Quality and Safety Source Control, Beijing 102209, China. E-mail: zhangxiaolin1@cofco.com

2 样品前处理方法

样品前处理是指通过不同的技术手段将目标真菌毒素从复杂样品中提取、纯化的过程,样品前处理直接影响检测结果的准确性与可靠性。目前,最常用的样品前处理方法有液-液萃取、固相萃取、基质固相分散纯化、免疫亲和柱纯化、QuEChERS 等。

2.1 液-液萃取

液-液萃取(liquid-liquid partition, LLP)是指利用不同物质在溶剂中溶解度不同来达到分离、提取的目的。传统液液萃取技术中常用的萃取剂有三氯甲烷、四氯乙烷、甲醇、乙腈、水、甲苯等^[4-10],这种萃取方式存在耗时,成本高等问题,而新型液-液萃取技术,主要包括仪器辅助萃取法和溶剂辅助萃取法,这些新方法不仅能减少有毒有害试剂的使用量,还缩短了萃取的时间并降低萃取成本。Mario 等^[9]采用溶质辅助萃取法在萃取液(1.5 mL 甲苯和 3.5 mL 丙酮溶液)中加入 1.0 g (NH₄)₂SO₄ 萃取 6 mL 啤酒样品中的赭曲霉毒素 A(ochratoxin A, OTA),该方法的检测限可达 0.2 μg/L,回收率在 90%左右,目前已成功地应用于啤酒样品的分析;Wang 等^[10]将植物油样品转移至含有 400 μL 二氯甲烷(萃取剂)、200 μL 三氟乙酸(衍生剂)和 0.8 mL 油提取物(分散剂)的混合体中,利用涡旋震荡仪辅助萃取黄曲霉毒素(aflatoxins, AFs),使样品预处理时间低于 20 min,

大大提高了纯化效率,回收率为 90.7%~121.5%。利用液-液萃取技术纯化真菌毒素的方法见表 1。

2.2 固相萃取

固相萃取(solid phase extraction, SPE)是以固体材料为吸附剂,利用分析物在不同介质中被吸附能力不同从而对目标分析物进行萃取。相比传统技术,新型固相萃取技术不仅能够提高样品的分离效果,还减少了有机溶剂的使用量。近年来,表面积大、易修饰、稳定性强的新型吸附材料成为了研究热点,如磁性纳米材料、石墨烯、有机聚合物、纳米复合材料等^[11-19]。Zhang 等^[14]利用双层二氧化硅包被的磁性纳米颗粒的磁性及比表面积大的特点对植物油样品中黄曲霉毒素 B₁、玉米赤霉烯酮(zearealenone, ZEN)和 OTA 进行了纯化;Jiang 等^[15]利用金纳米颗粒包被还原氧化石墨烯,增加了氧化石墨烯的层间距离,从而强化其吸附性能,成功萃取出牛奶样品中的 9 种真菌毒素;Wu 等^[17]将甲基丙烯与二乙烯基苯溶液通过加热聚合成甲基丙烯酸-共聚-二烯基-苯单体作为固相吸附剂整体柱,具有表面积大,柱内羰基、羟基、苯基丰富等特点,富集纯化了水稻样品中的 AFB₁、ZEN 等毒素;Du 等^[19]选用纳米氧化锆作为固相萃取剂,结合微波加热振荡加速萃取,缩短了萃取时间。新型固相萃取技术净化真菌毒素的方法见表 2。

表 1 液液萃取净化真菌毒素
Table 1 Purification of mycotoxins by LLP

基质	真菌毒素	提取液	纯化技术	回收率/%	参考文献
粮谷类	AFs, OTA	甲醇-水	三氯甲烷液-液萃取净化	71.73~115.37	[4]
粮食	AFs	三氯甲烷	液-液分配	80.3~97	[5]
红曲	AFB ₁	甲醇-水	液-液分配	101~146.8	[6]
谷物	单端孢霉烯族化合物	乙腈-水+二氯甲烷	液-液萃取	70	[7]
凉茶	AFs	氯仿-乙腈	涡旋辅助液-液萃取	70.06~115.65	[8]
啤酒	OTA	甲苯-丙酮+硫酸铵	溶剂辅助液-液萃取	90	[9]
植物油	AFs	二氯甲烷+三氟乙酸	涡旋辅助液-液萃取	83.6~96.3	[10]

表 2 固相萃取净化真菌毒素
Table 2 Purification of mycotoxins by SPE

基质	真菌毒素	提取液	纯化技术	洗脱溶液	回收率/%	参考文献
植物油	AFB ₁ 、ZEN、OTA	甲醇-水	磁性固相萃取柱	甲醇-乙腈-甲醇	89.4~97.1	[11]
牛奶	13 种真菌毒素	乙腈-水	PEG-MWCNTs-MNP 磁性萃取柱	乙酯(1%甲酸)	81.8~106.4	[12]
谷物样品	AFB ₁ 、ZEN、OTA	甲醇-水溶液	3DPCMs 磁性萃取柱	甲酸-乙腈	70.01~100.12	[13]
玉米、花生	OTA	乙酸乙酯	MIL-101 磁性萃取柱	甲醇	82.8~108	[14]
牛奶	9 种真菌毒素	乙酸(1%甲酸)	rGO/Au 萃取柱	5%甲醇	70.2~111.2	[15]
大豆	AFB ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂	75%乙腈	PU/GO 纳米纤维柱	甲醇	76~101	[16]
大米	AFB ₁ 、ZEN	乙腈-甲醇-水	MAA-co-DVB 固相萃取柱	乙腈	78.0~102.8	[17]
花生	AFB ₁	甲醇-水	CDs-DMIP 固相萃取柱	甲醇-乙酸	79.5~91.2	[18]
食物样品	6 种真菌毒素	甲醇-水	MA-d-μ 固相萃取柱	氯仿	84.27~104.96	[19]

2.2.1 基质固相分散萃取技术

基质固相分散萃取技术(matrix solid-phase dispersive extraction, MSPD)是一种将被测样品与固相萃取剂一起研磨后,使用不同的溶剂冲洗固相萃取柱最终达到除杂目的的固相萃取技术。基质固相分散萃取技术中常用的固相分散剂有 C₁₈、氧化铝等,适用于处理固体、半固体或是黏性样品,该方法操作简单、经济环保^[20-24]。Gabriel 等^[22]使用 1 g 硅胶作为固相分散剂,70%甲酸铵水缓冲液(50 mmol/L, pH 9.0)作为洗脱液,简单、低成本,对环境友好的基质固相分散法用于提取纯化玉米样品中的伏马毒素 B₁ (fumonisin B₁, FB₁)和 B₂,回收率达到 86%~106%。新型基质固相分散净化方法见表 3。

2.2.2 免疫亲和柱

免疫亲和柱(immunoaffinity column, IAC)是一种通过抗原和抗体特异性结合从而达到纯化目的的固相萃取柱,由于该技术具有较高的选择性,广泛应用于真菌毒素的富集和纯化。传统的免疫亲和柱虽然能够特异性吸附目标真菌毒素,但也存在着萃取成分单一,效率低等问题,同时也会吸附少量杂质,例如小分子蛋白质、多肽等。利用不同洗脱液可消除这些杂质的影响,如乙腈、甲醇、磷酸盐缓冲液等^[25-29]。新型免疫亲和柱采用多抗体净化柱能够同时吸附多种真菌毒素,大大提高了萃取效率,同时降低免疫亲和柱的成本。Hu 等^[27]采用含有多种抗体的免疫亲和柱对 80 个饲料样品中的 AFs、ZEN、OTA、杂色曲霉毒素(sterigmatocystin, STG)和 T-2 毒素进行同时提

取和净化,结果表明该免疫亲和柱具有较好的重复性和重现性,满足多国检测标准;Liu 等^[29]通过再生和重复使用的免疫亲和柱提取纯化复杂中草药中的 OTA,将使用后的免疫亲和柱用磷酸盐缓冲液浸泡,保存于 8 °C 的环境中,结果表明,该方法处理的免疫亲和柱可重复使用 3~8 次,并且回收率均在 70%以上。新型免疫亲和柱净化方法如表 4。

2.3 QuEChERS 方法

QuEChERS 方法是利用吸附填料之间的相互作用吸附杂质并达到样品快速预处理的目的,具有稳定、操作简单、快速等特点。目前已被广泛应用于食品和饲料中多种真菌毒素的净化^[30-35]。近年来,通过加入一些新型吸附材料或是有机溶剂使该技术的吸附效率大大提高,并且能够同时提取多种真菌毒素。Alcántara 等^[34]采用增强型脂质快速净化(enhanced matrix removal lipid, EMR-Lipid)前处理技术纯化食用坚果中的多种真菌毒素。与传统的分散固相萃取吸附剂 PSA+C₁₈ 对比,EMR-lipid 吸附剂能够更有效地降低基质成分。此外,Qian 等^[35]选用二氧化锆-四氧化三铁(ZrO₂-Fe₃O₄)作为固相吸附材料,含 3%乙酸的乙腈-水(80/20, V/V)作为萃取液,建立了一种用分散性磁性材料修饰的 QuEChERS 法,对饲料样品中的 13 种真菌毒素进行了纯化。该方法的回收率为 89.3%~112.6%,相对标准偏差为 0.9%~10.4%。新型真菌毒素 QuEChERS 净化方法如表 5。

表 3 基质固相分散净化真菌毒素
Table 3 Purification of mycotoxins by MSPE

基质	真菌毒素	提取方式	分散剂	洗脱溶液	回收率/%	参考文献
谷物	OTA	基质固相分散萃取	C ₁₈	甲醇	80~93.65	[20]
辣椒	AFs	基质固相分散萃取	氧化铝-石墨碳	乙腈	87.3~95.4	[21]
玉米	FB ₁ , FB ₂	基质固相分散萃取	硅胶	70%甲酸铵水缓冲液	86~106	[22]
小米、花生、菜籽	AFs	基质固相分散萃取	硅胶和硅藻土	乙腈	90.39~100.95	[23]
大米	AB ₁	基质固相分散萃取	C ₁₈	乙腈	78~83	[24]

表 4 免疫亲和柱净化真菌毒素
Table 4 Purification of mycotoxins by IAC

基质	真菌毒素	提取溶液	分散剂	洗脱溶液	回收率/%	参考文献
花生	AFs	80%甲醇	单克隆免疫亲和柱	乙腈	74.8~97.3	[25]
粮谷类	T-2 毒素	甲醇-水	单克隆免疫亲和柱	甲醇	79.7~94.5	[26]
饲料	5 种真菌毒素	乙腈/水/乙酸	多抗体免疫亲和柱	甲醇	70~110	[27]
粮谷类	4 种真菌毒素	乙腈/水/乙酸	多抗体免疫亲和柱	甲醇/水	80~110	[28]
生麦芽和干姜	OTA	甲醇/水	单克隆免疫亲和柱	磷酸盐缓冲液	70	[29]

表 5 QuEChERS 净化真菌毒素
Table 5 Purification of mycotoxins by QuEChERS

基质	真菌毒素	提取方式	填料	回收率/%	参考文献
玉米	7 种真菌毒素	乙腈-水-甲酸	无水硫酸镁、PSA、C ₁₈	89.7~112.9	[30]
谷物	8 种真菌毒素	1%乙酸乙腈	无水硫酸镁、醋酸钠	75.5~113.4	[31]
小麦、玉米、水稻	杂色曲霉素	95%乙腈, 正庚烷	硫酸镁、氯化钠	88~127	[32]
甘草	15 种真菌毒素	乙酸乙酯	PSA、硅胶、十八烷基硅烷、无水硫酸镁	81.0~104.7	[33]
坚果	16 种真菌毒素	乙腈-甲酸	EMR-Lipid	75	[34]
饲料	13 种真菌毒素	乙腈(3%乙酸)-水	二氧化锆	89.3~112.6	[35]

3 检测技术

目前, 国内外应用最广泛的检测技术主要包括 4 大类: 仪器检测技术、免疫化学检测技术、生物传感器检测技术及光谱检测技术。

3.1 仪器检测

3.1.1 高效液相色谱法

高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)是一种利用高压注入系统将具有不同极性的单一溶剂或不同比例的混合溶剂、缓冲液等作为流动相泵入到固定相的色谱柱中实现对样品的分离与检测的方法, 具有高效、高灵敏度和色谱柱可重复使用的特点, 根据待测样品理化性质的不同, 可以选用不同的检测器, 其中紫外检测器(ultraviolet detector, UVD)、荧光检测器(fluorescence detector, FLD)、二极管阵列检测器(diode array detector, DAD)最常用。目前, 该技术已应用于检测 AFs、呕吐毒素(deoxynivalenol, DON)、OTA、T-2、ZEN 等多种真菌毒素含量的测定^[36-41]。Somsusbin 等^[39]利用涡旋辅助低浓度微量有机溶剂萃取大米样品中的 AFs, 并结合 HPLC-FLD 技术进行含量检测, 该方法灵敏度高, 最低检测限可达 0.0011~0.1700 μg/L。Shuib 等^[41]采用高效液相色谱-柱后衍生荧光联用的方法测定了乳

制品中 AFM₁ 的含量, 选用甲醇代替乙腈作为流动相, 检测结果发现 AFM₁ 的检测限明显提高(峰面积提高 67%)。新型真菌毒素液相色谱检测方法如表 6。

3.1.2 液相色谱-质谱法

液相色谱-质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)是指将具有高分离性能与高灵敏度的液相色谱和质谱相结合的检测技术, 具有强大的定性、定量分析能力, 能够同时检测多种真菌毒素, 具有高效性。这种优势突出表现在某些高沸点、热不稳定、不易挥发的化合物上, 如 OTA、AFs、DON 等^[42-47]。液相色谱法-质谱法又可分为超高效液相色谱-质谱法和高效液相色谱-质谱法。Ana 等^[42]采用超高效液相色谱耦联飞行时间质谱(ultra performance liquid chromatography-time of flight-tandem mass spectrometry, UPLC-TOF-MS)的方式对玉米中 9 种真菌毒素进行了测定。该方法 17 min 即可完成定量检测, 目前已成功地应用于葡萄牙玉米生产厂家中真菌毒素的检测。Beatriz 等^[46]将含有 19 种真菌毒素的人类血浆经过 Captiva EMR-Lipid 技术提取净化后, 用 HPLC-MS/MS 成功对 19 种真菌毒素进行了定性定量分析。结果显示, AFB₁、HT-2 的检测限分别为 0.04、2.7 ng/mL, 除 DON 外, 其他真菌毒素检测限均为 9.1 ng/mL。新型真菌毒素液相-质谱检测方法如表 7。

表 6 高效液相色谱检测真菌毒素
Table 6 Detection of mycotoxins by HPLC

基质	真菌毒素	流动相	色谱柱	检测方法	检测波长/nm	检出限	回收率/%	参考文献
玉米	FB ₁	甲醇-磷酸二氢钠	Shimadzu STR ODS 柱 (4.6 mm×150 mm, 5 μm)	HPLC-FLD	<i>E</i> _x =335 <i>E</i> _m =440	0.02 mg/kg	82.1~87.8	[36]
坚果	AFs	甲醇-水	LaChrom C ₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)	HPLC-FLD	<i>E</i> _x =360 <i>E</i> _m =450	0.05~0.1 μg/kg	77.5~109.8	[37]
小麦样品	9 种镰刀菌毒素	水-乙腈	ZORBAX StableBond C ₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)	HPLC-FLD	<i>E</i> _x =220 <i>E</i> _m =440	1.5~20 μg/kg	75.78~118.24	[38]
大米	AFs	水-甲醇-乙腈	Symmetry C ₁₈ (150 mm×3.9 mm, 5 μm)	HPLC-FLD	<i>E</i> _x =365 <i>E</i> _m =435	0.0011~0.1700 μg/kg	70~104	[39]
麦麸	7 种真菌毒素	水-乙腈-甲醇	Nucleosil 100 C ₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)	HPLC-DAD-FLD	<i>E</i> _x =335 <i>E</i> _m =460	0.12~12.58 μg/kg	70.2~105.8	[40]
牛奶	AFM ₁	甲醇	C ₁₈ Hypersil gold (150 mm×4.6 mm, 5 μm)	HPLC-FLD	<i>E</i> _x =360 <i>E</i> _m =440	0.0015 μg/kg	85.2~107	[41]

表 7 LC-MS/MS 检测真菌毒素
Table 7 Detection of mycotoxins by LC-MS/MS

基质	真菌毒素	流动相	色谱柱	检测方法	检出限	回收率/%	参考文献
玉米	9 种真菌毒素	0.1%甲酸-乙腈	Zorbax EclipsePlus C ₁₈ (2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm)	UHPLC-TOF-MS	-	77.4~110.4	[42]
食用油	6 种真菌毒素	甲醇-甲酸铵水溶液	Zorbax EclipsePlus C ₁₈ (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm)	UHPLC-QqQ-MS	0.5、1 μg/L	80~120	[43]
啤酒	23 种真菌毒素	0.1%甲酸, 甲醇-甲酸铵水溶液	Macherey-Nagel C ₁₈ (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm)	UPLC-MS	0.038~ 30.43 μg/L	70	[44]
谷物	9 种真菌毒素	水(0.1%甲酸和甲酸铵)- 甲醇(0.1%甲酸和甲酸铵)	BGB Analytik Vertrieb GmbH C ₁₈ (100 mm × 2.1 mm, 5 μm)	HPLC-MS/MS	0.5 μg/L	56.5~109	[45]
血浆	19 种真菌毒素	水(0.1%甲酸)-甲醇/水 (甲酸铵+0.1%甲酸)	Ascentis Express C ₁₈ (150 mm × 2.1 mm, 2.7 μm)	HPLC-MS/MS	0.04~ 9.10 μg/L	68.8~109.3	[46]
大麦籽粒	链格孢霉毒	甲酸铵-水(0.1%甲酸)- 乙腈(0.1%甲酸)	Thermo Scientific BDS Hypersil C ₈ (3 mm × 50 mm, 3 μm)	HPLC-MS/MS	0.13~ 4.00 mg/L	83.5~99.2	[47]

3.1.3 超临界流体色谱法

超临界流体色谱法(supercritical fluid chromatography, SFC)是一种通过改变超临界流体溶剂的压力和温度来控制超临界流体中不同组分的溶解度从而达到分离目的的方法,具有快速、高效、对环境友好等特点,在真菌毒素检测的应用中,能够实现对不同真菌毒素异构体的分离检测。如 Marthe 等^[48]采用超高效-超临界流体色谱串联质谱的方法成功测定了啤酒样品中的 6 种镰刀菌毒素及其衍生物; Lei 等^[49]建立了一种基于超临界流体色谱技术检测食用油中 4 种 AFs 的方法。用异丙醇稀释 ¹³C 标记的食用油样品,经乙腈-饱和己烷萃取后,以超临界 CO₂ 和甲醇作为流动相对萃取液进行梯度洗脱,该方法不需要对真菌毒素进行纯化,30 min 内即可完成全部真菌毒素的检测。

3.1.4 气相色谱-质谱法

气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)是利用物料的沸点、极性和在色谱柱中吸附性能的差异来实现混合物的分离和鉴定,具有高灵敏度和极强的抗干扰能力,能够同时检测多种真菌毒素,并且误差小,回收率高^[50-52]。Tang 等^[52]采用气相色谱-质谱技术测定了谷物中 DON 及其代谢产物的含量。整个样品前处理过程简单,只需要真空干燥和衍生化 2 步即可完成,且分析时间低于 15 min,对 DON、3-epi-DON 和

3-keto-DON 的检出限分别为 0.80、3.00 和 0.05 pg/L,回收率为 89.5%~103.6%。但该检测方法不适用于稳定性强,难挥发的毒素,如链格孢霉毒素。新型气相-色谱检测方法如表 9 所示。

3.2 免疫化学检测技术

3.2.1 免疫胶体金技术

免疫胶体金技术(gold immune colloidal technique, GICT)是一种以胶体金作为抗原或抗体的示踪剂标记物的新型免疫检测技术。该检测方法操作简单,特异性强,灵敏度高,成本低,检测时间短,对环境无污染,常用于检测食品和饲料中 AFB₁、OTA、DON、FB₁ 等真菌毒素的含量^[53-57]。Huang 等^[55]应用胶体金免疫层析技术,建立了一种快速检测中药中 FB₁ 和 DON 的方法。采用柠檬酸三钠还原法在花枝状的金纳米颗粒上标记 FB₁ 和 DON 单克隆抗体,该试纸条的检测灵敏度为 5.0 μg/L,检测时间为 5 min。Duan 等^[56]采用胶体金免疫层析技术,建立了一种同时检测玉米中多种真菌毒素的方法。通过将 CdSe/ZnS QDs 封装到聚合物纳米粒子中,合成了黄色、橙色和红色 3 种可分辨的量子点纳米珠分别与 OTA、FB₁ 和 ZEN 单克隆抗体结合,10 min 即可完成玉米样品的检测。新型真菌毒素免疫胶体金检测方法如表 10。

表 9 气相色谱-质谱法检测真菌毒素
Table 9 Detection of mycotoxins by GC-MS

基质	真菌毒素	载气	衍生剂	回收率/%	参考文献
粮食	T-2、HT-2	氮气	七氟丁酰咪唑	47.2~110.8	[50]
尿液	11 种真菌毒素	氮气	硅烷化试剂	70~120	[51]
粮食	DON	氮气	硅烷化试剂	89.5~103.6	[52]

表 10 免疫胶体金法检测真菌毒素
Table 10 Detection of mycotoxins by GICT

基质	真菌毒素	还原剂	检测方法	回收率/%	检测限	参考文献
食品和饲料	OTA	柠檬酸三钠	竞争法、GICT	-	5 ng/mL	[53]
饲料	DON	-	GICT	75.7~96.1	200 µg/L	[54]
中药	FB ₁ 、DON	柠檬酸三钠	GICT	-	5.0 ng/mL	[55]
玉米	OTA、FB ₁ 、ZEN	-	竞争、GICT	-	5、20、10 ng/mL	[56]
根茎药材	AFB ₁	1%柠檬酸钠	GICT	-	0.1 mg/L	[57]

表 11 酶联免疫吸附法检测真菌毒素
Table 11 Detection of mycotoxins by ELISA

基质	真菌毒素	提取液	检测技术	回收率/%	检测限	参考文献
花生	AFB ₁	乙腈-水	间接竞争 ELISA	76~92.8	176.56 ng/L	[58]
大米、面粉	T-2	甲醇-水	直接竞争 ELISA	85~117.5、 98.1~102.5	0.125 µg/L	[59]
谷物	STG	乙腈-正庚烷	直接竞争 ELISA	88~127	1.5 µg/L	[60]
猪饲料和玉米	ZEN 及其类似物	甲醇-水	间接竞争 ELISA	62.9~113.6	114.2~812.3 ng/L、 237.1~1653.9 ng/L	[61]
小麦、燕麦和大麦	HT-2、T-2	甲醇-水	非竞争性 ELISA	-	0.1~0.3 ng/mL	[62]

3.2.2 酶联免疫吸附法

酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)是指将已知的抗原或抗体固定于固相载体表面,使酶标抗原或抗体与之发生特异性结合。目前的酶联免疫吸附技术主要分为 3 种:直接竞争、间接竞争和非竞争性酶联免疫吸附法。直接竞争酶联免疫吸附法通过等量的待测样品与酶标抗原同时竞争固定在酶标板上的抗体,从而达到快速检测的目的,可作为一种高通量的筛选技术应用于大批量样品的检测;间接竞争酶联免疫吸附法是指利用酶标记的抗体检测已与固定在酶标板上的抗原和样品结合的受检抗体,该方法灵敏度高、样品处理时间短,常用于真菌毒素定量检测;非竞争性酶联免疫吸附法是指通过抗原抗体直接反应来达到提取目的,该方法只有一种抗体,常用比色法特异性识别某种真菌毒素^[58-62]。Oplatowska 等^[60]建立了一种基于单克隆抗体的直接竞争酶联免疫吸附法,成功地对不同谷物中杂色曲霉毒素(sterigmatocystin, STG)进行了半定量筛选,结果显示准确率可达 98%以上。Dong 等^[61]开发了一种基于广谱单克隆抗体的间接竞争酶联免疫吸附方法,该方法只需简单的样品制备过程即可快速筛选出样品中的 ZEN 及其主要类似物,检出限分别为 114.2~812.3 ng/L 和 237.1~1653.9 ng/L。Henri 等^[62]

利用生物素化的 HT-2 特异性抗体,成功的对小麦、燕麦和大麦中污染的 HT-2 进行了简单比色非竞争性测定,检出限分别为 0.3、0.1、0.3 ng/mL。新型真菌毒素酶联免疫吸附检测方法如表 11。

3.3 生物传感器检测技术

生物传感器是一种将目标检测物浓度转换为电信号的检测仪器。生物检测器法具有特异性高、快速、准确、简单、成本低等优点,常应于 AFs 的检测。Wu 等^[63]开发了一种基于适配体的表面等离子体共振生物传感器,成功地用于醋中 AFB₁ 的直接检测,检出限为 0.9 µg/L。Zheng 等^[64]研制了一种检测 AFB₁ 的电化学末端传感器,其原理图如图 1 所示,该方法以适配体为识别单元,采用基于端粒酶和 EXOIII 的 2 轮信号放大技术对 AFB₁ 进行了跟踪检测,具体流程如图 1。该方法对 AFB₁ 的检测灵敏度非常高,可达 6×10^5 ng/L。Zhang 等^[65]建立了一种基于单壁碳纳米管/壳聚糖的电化学免疫传感器检测玉米样品中的 AFB₁,该传感器是通过间接竞争的形式将 AFB₁、AFB₁ 抗体、共价功能化碳纳米管/壳聚糖的玻璃碳电极和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AP)标记的抗鼠 IgG 二级抗体结合,通过 AP 催化底物水解,产生电化学信号来检测 AFB₁,检出限为 3.5 ng/L。该方法对比高效液相色谱法,具有检测时

间短, 检测结果准确的特点, 目前已广泛用于玉米粉中 AFB1 的检测。

3.4 光谱检测技术

光谱检测是指通过光源辐射出待测样品中元素的特征光谱, 以此来鉴别真菌毒素并确定其化学组成和相对含量, 多应用于 AFs、OTA 等毒素的现场检测。Souraya 等^[66]首先用紫外线照射受污染的无花果, 再利用高光谱成像技术成功检测到 AFs 和 OTA。Sieger 等^[67]提出了一种利用中红外可调节量子级联激光光谱的方法对玉米、小麦以及花生样品中 AFB₁ 的进行鉴定。该技术将量子级联激光器技术与砷化镓/砷化铝镓半导体材料 (GaAs/AlGaAs) 薄膜波导相结合, 并采用多元数据评价和分类策略对受污染的样品进行分类, 只需少量样品和提取液即可达到检测目的, 为现场分析真菌毒素提供便利。Qu 等^[68]开发了一种基于薄层色谱-表面增强拉曼光谱的技术, 能同时定性和定量检测花生样品中的 AFs。从样品分离到检测, 整个过程 5 min 即可完成, 目前已成功用于现场检测。

4 结论与讨论

本研究主要从样品预处理方法和检测技术 2 方面, 总结了最新的真菌毒素检测过程中样品预处理和检测技术研究进展。目前, 最常用的样品前处理方法有液-液萃取、固相萃取、基质固相分散纯化、免疫亲和柱纯化、QuEChERS 等, 需要根据不同基质和毒素的特点选择对于的前处理方法。真菌毒素检测方法可分为 4 类: 免疫化学分析, 仪器分析、生物传感器检测及光谱检测方法。以上技术在农产品真菌毒素检测过程中均需进行样品采集、预处理等过程, 将同一批产品中代表性样品的检测结果作为产品的检测结果, 具有以点带面的局限性, 无法对农产品中真菌毒素污染程度进行全面准确的判定, 导致农产品存在安全风险高、资源浪费等问题, 亟需开发精准高效的真菌毒素实时在线监测技术。真菌毒素的光谱检测技术基于真菌毒素污染样品的广谱特征, 可以对样品中真菌毒素进行准确定量, 实现样品的实时无损在线监测, 是真菌毒素监测技术的发展趋势。开发真菌毒素光谱检测技术具有良好的经济、社会前景。

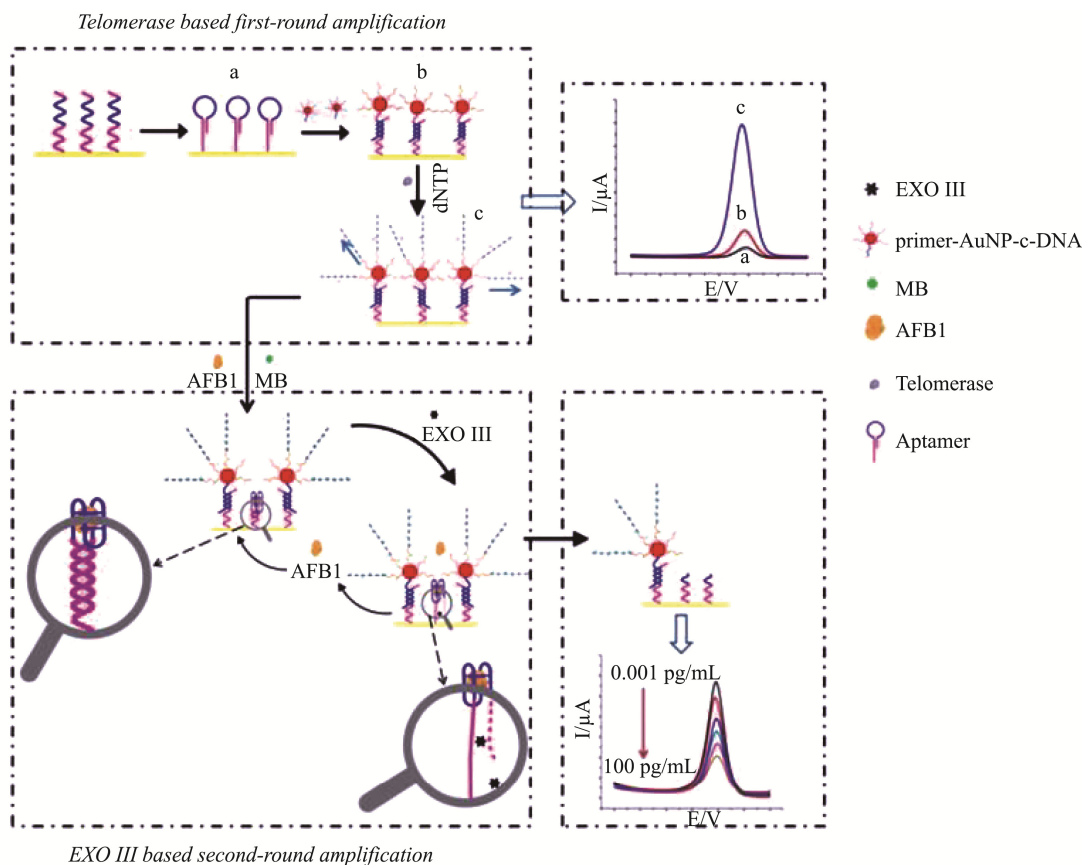


图 1 电化学末端传感器原理图^[64]
Fig.1 Schematic diagram of electrochemical terminal sensor^[64]

参考文献

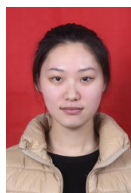
- [1] Sudharsan S, Malka B, Varda Z, *et al.* Rapid Detection and identification of mycotoxigenic fungi and mycotoxins in stored wheat grain [J]. *Toxins*, 2017, 9(10): 302.
- [2] Placinta CM, D'Mello JPF, Macdonald AMC. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins [J]. *Anim Feed Sci Technol*, 1999, 78(1-2): 21-37.
- [3] Suanthie Y, Cousin MA, Woloshuk CP. Multiplex real-time PCR for detection and quantification of mycotoxigenic *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium* [J]. *J Stored Prod Res*, 2009, 45(2): 139-145.
- [4] 杨琳, 张宇昊, 马良. 高效液相色谱法同时检测粮谷中的黄曲霉毒素和赭曲霉毒素[J]. *食品科学*, 2010, 31(24): 250-254.
- Yang L, Zhang YH, Ma L. Simultaneous determination of aflatoxins and ochratoxin A in cereal grains by high performance liquid chromatography [J]. *Food Sci*, 2010, 31(24): 250-254.
- [5] 彭志兵, 章焜, 蒋建云. 液液萃取-高效液相色谱法测定粮食中黄曲霉毒素的研究[J]. *粮食科技与经济*, 2012, (b12): 4-4.
- Peng ZB, Zhang X, Jiang JY. Study on the determination of aflatoxin in grain by liquid liquid extraction and high performance liquid chromatography [J]. *Grain Sci Technol Econ*, 2012, (b12): 4-4.
- [6] 龚燕, 蔡建荣, 赵晓联, 等. ELISA 法检测红曲中的黄曲霉毒素 B₁[J]. *食品与生物技术学报*, 2004, 23(4): 10-12.
- Gong Y, Cai JR, Zhao XL, *et al.* Determination of aflatoxin B₁ in red leaven by ELISA [J]. *J Food Biotechnol*, 2004, 23(4): 10-12.
- [7] 许焯, 李军, 隋凯, 等. 高效液相色谱法测定谷物中的 A-型单端孢霉烯族化合物[J]. *甘肃农业*, 2005, (11): 207.
- Xu Y, Li J, Sui K, *et al.* Determination of A-tricothecenes in grain by HPLC [J]. *Gansu Agric*, 2005, (11): 207.
- [8] Zhang R, Tan ZC, Huang KC, *et al.* A vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction followed by UPLC-MS/MS for simultaneous determination of pesticides and aflatoxins in herbal tea [J]. *Molecules*, 2019, 24(6): 1029.
- [9] Mario S, Ramos AJ, Cano SG, *et al.* Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, (60): 218-237.
- [10] Wang N, Duan CF, Geng XH, *et al.* One step rapid dispersive liquid-liquid micro-extraction with in-situ derivatization for determination of aflatoxins in vegetable oils based on high performance liquid chromatography fluorescence detection [J]. *Food Chem*, 2019, (287): 333-337.
- [11] Zhao Y, Wan LH, Bai XL, *et al.* Quantification of mycotoxins in vegetable oil by UPLC-MS/MS after magnetic solid-phase extraction [J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2017, 34(7): 1201-1210.
- [12] Zhao Y, Yuan YC, Bai XL, *et al.* Multi-mycotoxins analysis in liquid milk by UHPLC-Q-Exactive HRMS after magnetic solid-phase extraction based on PEGylated multi-walled carbon nanotubes [J]. *Food Chem*, 2020, (305): 125429.
- [13] Liu Y, Li W, Ding Z, *et al.* Three-dimensional ordered macroporous magnetic photonic crystal microspheres for enrichment and detection of mycotoxins (II): The application in liquid chromatography with fluorescence detector for mycotoxins [J]. *J Chromatogr A*, 2019, (1604): 460475.
- [14] Zhang QC, Yang YQ, Zhi YZ, *et al.* Aptamer-modified magnetic metal-organic framework MIL-101 for highly efficient and selective enrichment of ochratoxin A [J]. *J Sep Sci*, 2019, 42(3): 716-724.
- [15] Jiang KQ, Huang QW, Fan K, *et al.* Reduced graphene oxide and gold nanoparticle composite-based solid-phase extraction coupled with ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of 9 mycotoxins in milk [J]. *Food Chem*, 2018, (264): 218-225.
- [16] Nouri N, Sereshti H. Electrospun polymer composite nanofiber-based in-syringe solid phase extraction in tandem with dispersive liquid-liquid microextraction coupled with HPLC-FD for determination of aflatoxins in soybean [J]. *Food Chem*, 2019, (289): 33-39.
- [17] Wu F, Xu C, Jiang N, *et al.* Poly (methacrylic acid-co-diethenyl-benzene) monolithic microextraction column and its application to simultaneous enrichment and analysis of mycotoxins [J]. *Talanta*, 2017, (178): 1-8.
- [18] Liang GH, Zhai HY, Huang L, *et al.* Synthesis of carbon quantum dots-doped dummy molecularly imprinted polymer monolithic column for selective enrichment and analysis of aflatoxin B₁ in peanut [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, (149): 258.
- [19] Du LJ, Chu C, Elisa Warner, *et al.* Rapid microwave-assisted dispersive micro-solid phase extraction of mycotoxins in food using zirconia nanoparticles [J]. *J Chromatogr A*, 2018, (1561): 1-12.
- [20] 李尧, 张雪梅, 党献民, 等. 基质分散固相萃取净化液相色谱检测谷物中赭曲霉毒素 A[J]. *粮食与饲料工业*, 2012, (10): 57-60.
- Li Y, Zhang XM, Dang XM, *et al.* Determination of ochratoxin A cereal by high performance liquid chromatography with matrix solid-phase dispersion cleaning [J]. *Cere Feed Ind*, 2012, (10): 57-60.
- [21] 郑屏, 盛旋, 余晓峰, 等. 基质固相分散液相色谱法检测辣椒产品中的黄曲霉毒素[J]. *色谱*, 2006, 24(1): 62-64.
- Zheng P, Sheng X, Yu XF, *et al.* Detection of aflatoxins in hot chilli products by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography [J]. *Chin J Chromatogr*, 2006, 24(1): 62-64.
- [22] De OGB, Menezes DCGVC, Orlando RM, *et al.* Simultaneous determination of fumonisins B₁ and B₂ in different types of maize by matrix solid phase dispersion and HPLC-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2017, (233): 11-19.
- [23] Wu X, Zhang XX, Yang YQ, *et al.* Development of a deep eutectic solvent-based matrix solid phase dispersion methodology for the determination of aflatoxins in crops [J]. *Food Chem*, 2019, (291): 239-244.
- [24] Manoochehri M, Asgharinezhad AA, Safaei M. Determination of aflatoxins in rice samples by ultrasound-assisted matrix solid-phase dispersion [J]. *J Chromatogr Sci*, 2015, 53(1): 189-195.
- [25] 张鹏, 张艺兵, 赵卫东, 等. 免疫亲和柱净化、在线电化学衍生化高效液相色谱法检测花生中的黄曲霉毒素[J]. *色谱*, 2000, 18(1): 82-84.
- Zhang P, Zhang YB, Zhao WD, *et al.* Detection of aflatoxin in peanuts by immunoaffinity column purification and on-line electrochemical derivatization high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Chromatogr*, 2000, 18(1): 82-84.
- [26] 李军, 许焯, 隋凯, 等. 免疫亲和柱净化/柱前衍生化-高效液相色谱荧光检测法测定粮谷中的 T-2 毒素[J]. *色谱*, 2006, 24(3): 256-259.
- Li J, Xu Y, Sui K, *et al.* determination of T-2 toxin in cereal grains by HPLC with fluorescence detection after immunoaffinity column clean-up and precolumn derivatization [J]. *Chin J Chromatogr*, 2006, 24(3):

- 256–259.
- [27] Hu X, Hu R, Zhang Z, *et al.* Development of a multiple immunoaffinity column for simultaneous determination of multiple mycotoxins in feeds using UPLC-MS/MS [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2016, 408(22): 6027–6036.
- [28] Zhang Z, Hu X, Zhang Q, *et al.* Determination for multiple mycotoxins in agricultural products using HPLC-MS/MS via a multiple antibody immunoaffinity column [J]. *J Chromatogr B*, 2016, (1021): 145–152.
- [29] Liu X, Liu X, Huang P, *et al.* Regeneration and reuse of immunoaffinity column for highly efficient clean-up and economic detection of ochratoxin A in malt and ginger [J]. *Toxins*, 2018, 10(11): 462.
- [30] 张海霞, 杨静, 刘畅, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法快速检测玉米中 7 种真菌毒素[J]. *黑龙江农业科学*, 2017, (7): 61–65.
Zhang HX, Yang J, Liu C, *et al.* Rapid detection of seven mycotoxins in maize by QuEChERS with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Heilongjiang Agric Sci*, 2017, (7): 61–65.
- [31] 陈慧菲, 朱天仪, 陈凤香, 等. QuEChERS-超高效液相色谱串联质谱法测定谷物中的 8 种真菌毒素[J]. *粮食与油脂*, 2016, 29(5): 67–70.
Chen HF, Zhu TY, Chen FX, *et al.* Simultaneous determination of 8 mycotoxins in cereal with QuEChERS-based extraction and ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Cere Oils*, 2016, 29(5): 67–70.
- [32] Oplatowska SM, Reiring C, Sajic N, *et al.* Development and in-house validation of a rapid and simple to use ELISA for the detection and measurement of the mycotoxin sterigmatocystin [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2018, (410): 3017–3023.
- [33] Huang XJ, Wang SM, Mao D, *et al.* Optimized QuEChERS method combined with UHPLC-MS/MS for the simultaneous determination of 15 mycotoxins in liquorice [J]. *J AOAC Int*, 2018, 101(3): 633–642.
- [34] Alcántara DJ, Moreno GD, García RJF, *et al.* Use of a modified QuEChERS method for the determination of mycotoxin residues in edible nuts by nano flow liquid chromatography high resolution mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2019, (279): 144–149.
- [35] Qian M, Yang H, Li Z, *et al.* Detection of 13 mycotoxins in feed using modified QuEChERS with dispersive magnetic materials and UHPLC-MS/MS [J]. *J Sep Sci*, 2017, 41(3): 756–764.
- [36] 林维宣, 裴铁君, 董伟峰. 固相萃取-高效液相色谱法测定玉米中伏马毒素 B₁[J]. *大连工业大学学报*, 2004, 23(1): 15–17.
Lin WX, Pei ZJ, Dong WF. Determination of fumonisin B₁ in corn by solid phase extraction-high performance liquid chromatography [J]. *J Dalian Inst Light Ind*, 2004, 23(1): 15–17.
- [37] 王桂苓, 张岩岩, 李琳琳, 等. 坚果中黄曲霉毒素的光化学柱后衍生-高效液相色谱法测定[J]. *食品安全质量检测学报*, 2014, 5(3): 833–839.
Wang GL, Zhang YY, Li LL, *et al.* Determination of aflatoxins in nuts by high performance liquid chromatography coupled with post-column photochemical derivatization [J]. *J Food Saf Qual*, 2014, 5(3): 833–839.
- [38] Zhang Y, Pei F, Fang Y, *et al.* Comparison of concentration and health risks of 9 *Fusarium* mycotoxins in commercial whole wheat flour and refined wheat flour by multi-IAC-HPLC [J]. *Food Chem*, 2019, (275): 763–769.
- [39] Somsunsubin S, Seebunrueng K, Boonchiangma S, *et al.* A simple solvent based microextraction for high performance liquid chromatographic analysis of aflatoxins in rice samples [J]. *Talanta*, 2017, (176): 172.
- [40] Irakli MN, Skendi A, Papageorgiou MD. HPLC-DAD-FLD method for simultaneous determination of mycotoxins in wheat bran [J]. *J Chromatogr Sci*, 2017, 55(7): 690–696.
- [41] Shuib NS, Makahleh A, Salhimi SM, *et al.* Determination of aflatoxin M₁ in milk and dairy products using high performance liquid chromatography-fluorescence with post column photochemical derivatization [J]. *J Chromatogr A*, 2017, (1510): 51–56.
- [42] Ana SS, Carla B, Ana VP, *et al.* UHPLC-TOF-MS method for determination of multi-mycotoxins in maize: Development and validation [J]. *Curr Res Food Sci*, 2019, (1): 1–7.
- [43] José L, Hidalgo R, Romero GR, *et al.* A rapid method for the determination of mycotoxins in edible vegetable oils by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2019, (288): 22–28.
- [44] González JJM, Alfonso A, Inés R, *et al.* A QuEChERS based extraction procedure coupled to UPLC-MS/MS detection for mycotoxins analysis in beer [J]. *Food Chem*, 2019, (275): 703–710.
- [45] Birgitta MK, Felicitas W, Sabine K, *et al.* Development of a rapid multi-mycotoxin LC-MS/MS stable isotope dilution analysis for grain legumes and its application on 66 market samples [J]. *Food Control*, 2020, (109): 106949.
- [46] Beatriz AL, Elena L, Myra FF, *et al.* Development and validation of a methodology based on Captiva EMR-lipid clean-up and LC-MS/MS analysis for the simultaneous determination of mycotoxins in human plasma [J]. *Talanta*, 2020, (206): 120193.
- [47] Nguyen TTT, Kim J, Jeon SJ, *et al.* Mycotoxin production of *Alternaria*, strains isolated from Korean barley grains determined by LC-MS/MS [J]. *Int J Food Microbiol*, 2018, (268): 44–52.
- [48] Marthe DB, Christof VP, Njumbe EE, *et al.* Ultra-high-performance supercritical fluid chromatography as a separation tool for *Fusarium* mycotoxins and their modified forms [J]. *J AOAC Int*, 2018, 101(3): 627–632.
- [49] Lei F, Li C, Zhou S, *et al.* Hyphenation of supercritical fluid chromatography with tandem mass spectrometry for fast determination of four aflatoxins in edible oil: Hyphenation of supercritical fluid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Sp* 2016, 30(S1): 122–127.
- [50] 林纛, 陈佳, 吴弼东, 等. 固相萃取-气相色谱-串联质谱法检测粮食作物中的 T-2 与 HT-2 毒素[J]. *军事医学*, 2013, 37(5): 381–384.
Lin Y, Chen J, Wu BD, *et al.* Determination of T-2 and HT-2 toxins in cereal grains by solid phase extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Milit Med*, 2013, 37(5): 381–384.
- [51] Yelko RC, Juan CM, Jordi M, *et al.* Development of microextraction techniques in combination with GC-MS/MS for the determination of mycotoxins and metabolites in human urine [J]. *J Sep Sci*, 2017, 40(7): 1572–1582.
- [52] Tang K, Liu H, Li XZ, *et al.* An efficient gas chromatography-mass spectrometry approach for the simultaneous analysis of deoxynivalenol and its bacterial metabolites 3-keto-DON and 3-epi-DON [J]. *J Food Prot*, 2018, 81(2): 233–239.
- [53] 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. Study on gold immunochromatography assay for

- rapid detection of ochratoxin A [J]. *Cere Oils*, 2011, (10): 20–22.
- [54] 王雄, 程宗佳, 王彦斐, 等. 胶体金免疫层析法快速定量检测饲料中呕吐毒素[J]. *饲料工业*, 2013, 34(14): 40–42.
Wang X, Cheng ZJ, Wang YF, *et al.* Rapid quantitative determination of vomit toxin in feed by colloidal gold immunochromatography [J]. *Feed Ind*, 2013, 34(14): 40–42.
- [55] Huang XY, Huang T, Li XJ, *et al.* Flower-like gold nanoparticles-based immunochromatographic test strip for rapid simultaneous detection of fumonisin B₁ and deoxynivalenol in Chinese traditional medicine [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, (177): 112895.
- [56] Duan H, Li Y, Shao Y, *et al.* Multicolor quantum dot nanobeads for simultaneous multiplex immunochromatographic detection of mycotoxins in maize [J]. *Sensor Actuat B Chem*, 2019, (291): 411–417.
- [57] Hu SR, Dou XW, Zhang L, *et al.* Rapid detection of aflatoxin B₁ in medicinal materials of radix and rhizome by gold immunochromatographic assay [J]. *Toxicon*, 2018, (150): 144–150.
- [58] 谢体波, 刘红, 陆苇, 等. 间接竞争 ELISA 检测试剂盒测定粮油食品中的黄曲霉毒素 B₁[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(7): 2834–2839.
Xie TB, Liu H, Lu W. Determination of aflatoxin B₁ in cooking oil, peanut, and grain by using direct competitive ELISA kit [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(7): 2834–2839.
- [59] 曹艳红, 孟宪清, 冯杰, 等. 检测 T-2 毒素的直接竞争性酶联免疫吸附测定法的研究[J]. *中国人兽共患病学报*, 2006, 22(2): 132–135.
Cao YH, Meng XQ, Feng J, *et al.* Establishment of the monoclonal antibody based-enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of T-2 toxin in cereals [J]. *Chin J Zoono*, 2006, 22(2): 132–135.
- [60] Oplatowska SM, Reiring C, Sajic N, *et al.* Development and in-house validation of a rapid and simple to use ELISA for the detection and measurement of the mycotoxin sterigmatocystin [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2018, 410(12): 3017–3023.
- [61] Dong G, Pan Y, Wang Y, *et al.* Preparation of a broad-spectrum anti-zearalenone and its primary analogues antibody and its application in an indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *Food Chem*, 2018, (247): 8–15.
- [62] Henri A, Antti T, Alexis N, *et al.* A simple and specific noncompetitive ELISA method for HT-2 toxin detection [J]. *Toxins*, 2017, 9(4): 145.
- [63] Wu W, Zhu Z, Li B, *et al.* A direct determination of AFBs in vinegar by aptamer-based surface plasmon resonance biosensor [J]. *Toxicon*, 2018, (146): 26–30.
- [64] Zheng W, Teng J, Cheng L, *et al.* Hetero-enzyme-based two-round signal amplification strategy for trace detection of aflatoxin B₁ using an electrochemical aptasensor [J]. *Biosens Bioelectron*, 2016, (80): 574–581.
- [65] Zhang X, Li CR, Wang WC, *et al.* A novel electrochemical immunosensor for highly sensitive detection of aflatoxin B₁ in corn using single-walled carbon nanotubes/chitosan [J]. *Food Chem*, 2016, (192): 197–202.
- [66] Benalia S, Bernardi B, Cubero S, *et al.* Preliminary trials on hyperspectral imaging implementation to detect mycotoxins in dried figs [J]. *Chem Eng Trans*, 2015, (44): 157–162.
- [67] Sieger M, Kos G, Sulyok M, *et al.* Portable infrared laser spectroscopy for on-site mycotoxin analysis [J]. *Sci Rep*, 2017, (7): 44028.
- [68] Qu LL, Jia Q, Liu CY, *et al.* Thin layer chromatography combined with surface-enhanced Raman spectroscopy for rapid sensing aflatoxins [J]. *J Chromatogr A*, 2018, (1579): 115–120.

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介



潘程, 硕士研究生, 主要研究方向为药物化学。

E-mail: 1043648331@qq.com

张晓琳, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品加工。

E-mail: zhangxiaolin1@cofco.com