

# 胶体金快速试纸条法测定小麦及其制品中呕吐毒素

朱云<sup>1</sup>,徐琳娜<sup>1</sup>,师征杰<sup>2</sup>,沈静怡<sup>2</sup>,李秀林<sup>1</sup>

(1. 苏州市粮油质量监测所,江苏 苏州 215007;2. 苏州大学基础医学与生物科学学院,江苏 苏州 215006)

**摘要:**用胶体金快速试纸条法测定小麦及其制品中呕吐毒素,方法快速,定量结果较为准确,回收率在86.67%~120%。与高效液相法进行比较,结果表明这2种方法对呕吐毒素的检测没有显著差异,其回收率略高于高效液相法,但变异系数大。在较低浓度(<1 500 μg/kg)时,快速法与高效液相法有一定的线性关系 $Y=1.0773X+83.786$ ( $Y$ 为胶体金快速法测得值, $X$ 为高效液相法测得值, $R^2=0.9637$ )。

**关键词:**胶体金;快速定量;呕吐毒素;高效液相法;相关性

**中图分类号:**TS 207.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2017)03-0054-03

## Rapid determination of deoxynivalenol in wheat and its products by colloidal gold stripes

ZHU Yun<sup>1</sup>, XU Lin-na<sup>1</sup>, SHI Zheng-jie<sup>2</sup>, SHEN Jing-yi<sup>2</sup>, LI Xiu-lin<sup>1</sup>

(1. Suzhou Cereals and Oil Quality Supervision and Inspection Institute, Suzhou Jiangsu 215007;  
2. School of Biology and Basic Medical Sciences, Soochow University, Suzhou Jiangsu 215006)

**Abstract:** Determination of deoxynivalenol (DON) in wheat and its products by colloidal gold strips was very fast and accurate. Its recovery rate was between 86.67% ~ 120%. Compared with the HPLC method, the results showed that there was no significant difference between the two methods in the detection of DON. The recovery rate was a little higher than HPLC. But the coefficient of variation was bigger. At low concentrations (< 1 500 μg/kg), the rapid method had a linear relationship with the standard method:  $Y = 1.0773X + 83.786$  ( $Y$  represent the result by rapid method,  $X$  represent by HPLC method,  $R^2 = 0.9637$ ).

**Key words:** colloidal gold stripes; rapid quantification; deoxynivalenol (DON); high performance liquid chromatography (HPLC); relativity

脱氧雪腐镰刀烯醇(deoxynivalenol, DON)俗称呕吐毒素,是源于镰刀菌属产生的单端孢霉烯族化合物。许多谷类都会受到DON的污染,尤其是小麦<sup>[1]</sup>。被污染的小麦,其生长力和营养价值在很大程度上会受影响。人食用后,主要表现为恶心、腹泻、呕吐等急性症状。DON稳定,毒性为中等毒性,进入食物链后,对人和动物的健康造成威胁<sup>[2]</sup>。

我国国家标准检测谷物和食品中DON毒素的方法中有薄层色谱法、酶联免疫法、免疫亲和层析净化高效液相色谱法等。仪器法是目前准确度最高的1种方法,但它的缺点是:分析步骤多、费时、仪器昂

贵、专业性强,难以普及。目前普遍使用的是酶联免疫法,该方法具有特异性强、灵敏度高、重现性好、测定方便、快速等优点。免疫胶体金层析快速诊断试纸条是20世纪90年代以来,在单克隆抗体技术、胶体金免疫层析技术和新材料技术基础上发展起来的一项新技术。DON毒素定量快速检测条是以胶体金层析式免疫竞争为原理,以小分子化合物为检测对象,运用侧流技术,发展起来的一种真菌毒素快速检测方法<sup>[3-5]</sup>。胶体金免疫层析法和以上方法相比,具有检测速度更快(10 min)、检测成本更低,操作更简单等优点。在粮食收购期间:时间集中,收购量大,工作条件相对简单,快速试纸条对于粮食检测基层实验室来说,无疑是有巨大的实用性<sup>[6-7]</sup>。

收稿日期:2016-11-14

作者简介:朱云,1988年出生,女,工程师,硕士研究生。

本实验对胶体金快速试纸条法测定小麦及其制品中的呕吐毒素进行研究。通过研究其准确性,回收率以及与高效液相法的相关性,以得到该方法在检测小麦及其制品中的适用性。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 设备与试剂

ROSA - M 真菌快速检测仪:Charm Sciences 公司;ROSA - FAST5 呕吐毒素快速试纸条:Charm Sciences 公司;1260 液相色谱配荧光检测器:安捷伦科技有限公司;BS224S 万分之一天平:赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;HSC12A 氮吹仪:天津市恒奥科技发展有限公司;呕吐毒素免疫亲和柱:北京华安麦科科技有限公司;呕吐毒素标样:Sigma 公司;900、1 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  呕吐毒素质控样:赛默飞世尔科技有限公司;试剂均为分析纯,水为去离子水。

### 1.2 样品处理

#### 1.2.1 胶体金快速试纸条法

取小麦及小麦粉共 72 个,其中小麦样品研磨成粉末,并通过 1 mm 筛,混匀。取 25 g,加 125 mL 去离子水,涡旋震荡 2 min,静置,取上清,通过玻璃纤维膜过滤,得到滤液,取 1 mL,作为提取液。移取 100  $\mu\text{L}$  样品提取液,加入 1.0 mL 稀释缓冲液,混合均匀后,即可直接用试纸条读数。

#### 1.2.2 高效液相法

取样品 25 g,加入 5 g 聚乙二醇(分子量 > 8 000)及 125 mL 去离子水,160 r/min 振荡 30 min。用玻璃纤维滤纸过滤,收取大于 2.5 mL 的滤液。准确移取滤液 2.5 mL 上柱,调节流速 1 滴/s。用 10 mL 水分别淋洗两次,排空亲和柱。4 mL 色谱级甲醇洗脱,流速控制在 1~2 滴/s。氮吹,吹干。加 1 mL 甲醇水(2:8)溶解,用于上样。其中 HPLC 校准,用 5 点校准曲线法进行定量<sup>[8-10]</sup>。

### 1.3 样品检测

胶体金快速试纸条法:取上述稀释液 300  $\mu\text{L}$  至试纸条样品槽内,45  $^{\circ}\text{C}$  孵育 5 min,读数即可。

高效液相法:色谱柱条件为  $\text{C}_{18}$  柱;流动相为甲醇 + 水(20 + 80);流速 0.8 mL/min;柱温 35  $^{\circ}\text{C}$ ;进样量 50  $\mu\text{L}$ ;检测波长 218 nm。

### 1.4 数据处理与统计学分析

用 Excle2013 整理实验数据;用 SPSS13.0 进行组间单因素方差分析(One - way Analysis of variance, ANOVA),采用 Duncan 法进行组间显著性检验。

## 2 结果与分析

900、1 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  小麦质控样,实验用 72 份样品均按照 1.2.1 和 1.2.2 样品处理,质控样每次测定 6 次,其余实验样品每次测定双平行样,共计 288 次检测。

### 2.1 准确性与回收率

通过对质控样的测定,发现 900  $\mu\text{g}/\text{kg}$  浓度的胶体金快速检测法平均回收率为 99.07% (88.89% ~ 105.56%),比高效液相法(79.58% ~ 85.49%)回收率高,但是其偏差(SD = 6.49)也远高于后者(SD = 2.26);对于浓度为 1 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的质控样来说,快速检测法的回收率平均为 103.33% (86.67% ~ 120%)高于高效液相法的 86.25% (80.42% ~ 93.01%),但前者偏差(SD = 12.47)也高于后者(SD = 4.56)。

从表 1 的数据中可以看出:胶体金快速检测法的准确性和回收率都比较高;但相对于标准法来说该方法比较不稳定,浓度越高,胶体金快速法越不稳定。其测定值漂移程度很大。快速法的前处理比较简单,与高效液相法相比,对目标毒素的损耗会小很多。而高效液相法经过了氮吹步骤会加大损耗,较低的亲和柱柱效也会对结果有一定影响。从仪器方面来说,胶体金快速法是根据光电原理读数的,灵敏度和检测限都不如液相荧光检测器高,因此会有相对较大的偏差,这在一定程度上会增加检测的假阳性率。

表 1 质控样 2 种方法的对比  $\mu\text{g}/\text{kg}$

序号	900 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 质控样		1 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 质控样	
	快速法	HPLC	快速法	HPLC
1	900	723.6	1 800	1 395.2
2	950	759.3	1 600	1 206.4
3	850	769.4	1 500	1 267.5
4	800	746.8	1 700	1 242.9
5	900	716.3	1 300	1 334.2
6	950	744.8	1 400	1 316.8

### 2.2 与高效液相法的相关性

通过 T 检验方差分析,  $T = -7.873 < T_{0.05,80} = 1.990$ , 表明这 2 种方法无显著差别, 快速法比高效液相法测得值分散程度小(表 2)。从图 1 中可以观察到, 2 种方法具有一定的相关性: 胶体金快速法测得的值普遍高于高效液相法测得值。并且在较低浓度时, 2 种方法具有一定的线性关系。而在高浓度时, 胶体金快速法和高效液相法的测得值偏差较大, 且无明确的关系。主要是由于胶体金快速法在测定浓度大于 1 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  时, 需要对提取物进行二次稀释, 由于操作中所涉及的体积比较小, 这一步骤无疑将误差进一步放大。同时, 快速检测试纸条的读数仪在高浓度读数时, 使用的是另一个矩阵, 其误差比低浓度矩阵大, 因此在检测高浓度呕吐毒素时, 胶体金快速试纸条法的误差会相对放大很多, 从这一角度来说, 与标准法比较的意义不大。

表 2 2 种检测方法成对 T 检验结果

	均值 /( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	个数	标准错误 平均值	标准偏差	T 值	$T_{0.05,80}$
快速法	983.04	78	84.19	266.43	-7.873	1.990
HPLC 法	1181.25	78	98.96			

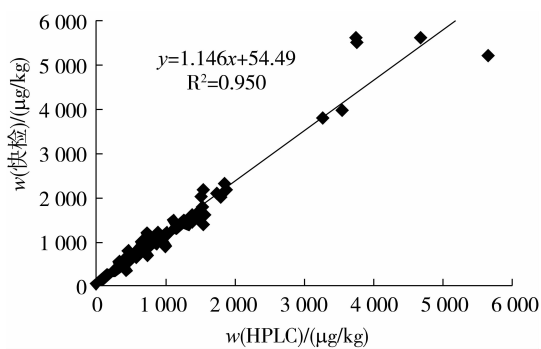


图 1 呕吐毒素 2 种方法的线性拟合

进一步研究发现, 当测得呕吐毒素浓度小于等于 1 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  时, 胶体金快速法与高效液相法具有良好的一般线性关系。利用一般线性模型拟合, 如图 2 所示, 得到公式:  $Y = 1.0773X + 83.786$  ( $Y$  为胶体金快速法测得值,  $X$  为高效液相法测得值,  $R^2 = 0.9637$ )。从线性公式中可以看出, 胶体金快速法测得的值会比高效液相法高, 且浓度越高相差越大。

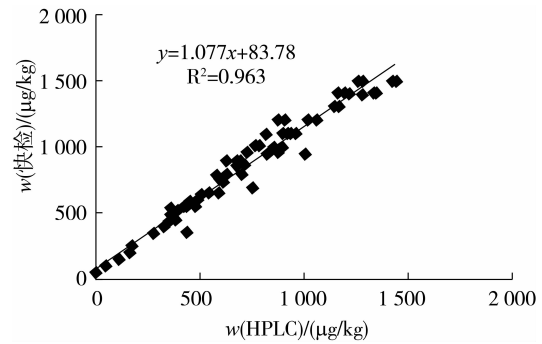


图 2 低浓度呕吐毒素两种方法的线性拟合

### 3 结论

采用胶体金快速试纸条法测定小麦及其制品中的呕吐毒素, 具有操作简单, 快速读数, 定量准确的特点, 符合粮食基层检测室的需求。尤其在收购季节, 数量大, 需要快速准确的检测手段, 快速检测试纸条能较好的满足粮食行业的需求。这种检测方法的检测结果和高效液相法没有显著的区别, 其准确性较高。在呕吐毒素相对较低浓度(1 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )的检测中, 与高效液相法有一定的线性关系, 国家标准规定的小麦及其制品的呕吐毒素含量不能超过 1 000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 因此能很好的为我们提供判断检测对象合格与否的依据。在今后的检测中, 不论是粮食收购现场还是在市场监控检测、临时抽查和排查工作中, 快速检测是一个大趋势。

### 参考文献:

- [1] 孙秀兰, 邵景东, 王俊双. 粮油食品中呕吐毒素危害及风险分析[J]. 粮食与油脂, 2006(3): 41-43.
- [2] 霍星华, 赵宝玉, 万学攀, 等. 脱氧雪腐镰刀烯醇的毒性研究进展[J]. 毒理学杂志, 2008, 22(2): 151-154.
- [3] 尚艳娥. 毒素检测技术研究进展[J]. 北京工商大学学报: 自然科学版, 2012, 30(4): 15-18.
- [4] 张道宏, 李培武, 张奇. 污染粮油食品的主要真菌毒素及胶体金免疫层析技术在快速检测中的应用[J]. 中国油料作物学报, 2010(4): 577-582.
- [5] 许艳丽, 鲍蕾. 免疫胶体金技术及其在真菌毒素检测中的应用[J]. 中国酿造, 2010(7): 13-17.
- [6] 李培真, 尚艳娥, 郭键, 刘美辰. 胶体金测试条快速定量测定呕吐毒素技术在粮食中的应用[J]. 食品科学技术学报, 2013, 31(4): 55-58.
- [7] 李萌, 冯才伟, 贾芳芳, 冯静, 扶胜. 一种快速检测呕吐毒素的胶体金试纸条[J]. 中国酿造, 2013, 32(11): 91-93.
- [8] 陈建伟, 黄伟, 陈谨华. 小麦与小麦粉中呕吐毒素含量的比较[J]. 现代面粉工业, 2011, 25(4): 51-52.
- [9] 张春艳, 周孝治, 陈菊芳. 免疫亲和柱-高效液相色谱法测定饲料及原料中的呕吐毒素[J]. 中国畜牧杂志, 2010, 46(17): 67-69.
- [10] GB/T 23503-2009, 食品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的测定免疫亲和层析净化高效液相色谱法[S].