

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2023.02.018

顾雨熹, 马志, 唐颜苹, 等. 基于超导体包被的免疫荧光快检试纸法同时测定玉米中 3 种毒素的适用性研究[J]. 粮油食品科技, 2023, 31(2): 137-145.

GU Y X, MA Z, TANG Y P, et al. Study on the applicability of simultaneous determination of three mycotoxin in maize by superconductor coated immunofluorescence rapid detection[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2023, 31(2): 137-145.

基于超导体包被的免疫荧光快检 试纸法同时测定玉米中 3 种 毒素的适用性研究

顾雨熹¹, 马志², 唐颜苹², 杨颖康², 李理¹, 王锦¹, 陈晋莹¹✉

(1. 中储粮成都储藏研究院有限公司, 四川 成都 610000;

2. 深圳市赛泰诺生物科技有限公司, 广东 深圳 518108)

摘要: 应用基于超导体包被的免疫荧光快速定量检测技术, 建立了一种 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法, 可同时快速测定玉米中的黄曲霉毒素 B1 (AFB1)、玉米赤霉烯酮 (ZEN)、呕吐毒素 (DON) 三种常见真菌毒素。对质控样准确度、加标回收率、检测限、定量限进行测定, 检测多个玉米样品并与液相色谱法的检测结果进行对比, 评估方法的适用性。结果表明, AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡检测 AFB1 含量在 0.5~30 $\mu\text{g}/\text{kg}$, ZEN 含量在 5~200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, DON 含量在 100~2 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的范围内线性良好。AFB1 在 5~20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标量范围时, 回收率为 97.62%~99.37%, ZEN 在 50~150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标量范围时, 回收率为 98.03%~104.07%, DON 在 500~2 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标量范围时, 回收率为 102.49%~108.53%。与液相色谱法相比, 使用该方法检测 AFB1 相对偏差在-2.84%~11.91%, ZEN 相对偏差在-3.43%~18.12%, DON 相对偏差在 1.83%~12.91%, 均在液相色谱法允许偏差 20%、15%和 23%之内。该方法检测 AFB1 检测限为 0.41 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 1.12 $\mu\text{g}/\text{kg}$; ZEN 检测限为 3.22 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 9.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$; DON 检测限为 35.42 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 100.84 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。通过研究证明, AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡是一种有效、准确、快速的方法, 能满足同时检测玉米中黄曲霉毒素 B1、玉米赤霉烯酮、呕吐毒素的要求。

关键词: 超导体包被免疫荧光试纸法; 快速定量; 黄曲霉毒素 B1; 玉米赤霉烯酮; 脱氧雪腐镰刀菌素

中图分类号: S-3 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2023)02-0137-09

网络首发时间: 2023-03-07 09:54:19

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3863.TS.20230306.1619.004.html>

Study on the Applicability of Simultaneous Determination of Three Mycotoxin in Maize by Superconductor Coated Immunofluorescence Rapid Detection

GU Yu-xi¹, MA Zhi², TANG Yan-ping², YANG Ying-kang², LI Li¹, WANG Jin¹, CHEN Jin-ying¹✉

收稿日期: 2022-12-02

基金项目: 2018-2020 年度中国科协青年人才托举工程项目 (2018QNRC001)

Supported by: 2018-2020 China Association for Science and Technology Young Talent Lift Project (No. 2018QNRC001)

作者简介: 顾雨熹, 女, 1993 年出生, 硕士, 助理工程师, 研究方向为食品质量与安全。E-mail: guyuxi61@163.com.

通讯作者: 陈晋莹, 男, 1987 年出生, 博士, 副研究员, 研究方向为食品质量与安全。E-mail: chen2331738@yeah.net.

1. Sinograin Chengdu Storage Research Institute Co., Ltd., Chengdu, Sichuan 610000, China;
2. Shenzhen Sitechno Biotechnology Co., Ltd., Shenzhen, Guangdong 518108, China)

Abstract: In order to rapidly determine aflatoxin B1 (AFB1), zearalenone (ZEN) and deoxynivalenol (DON) in maize, a AFB1-ZEN-DON three-in-one combined detection method has been established. This quantitative immunofluorescence assay based on superconductor coating was used to detect multiple maize samples. Combined with the recovery rate, stability, detection limit, precision and other indexes, the applicability of the method were evaluated and compared with the results of liquid chromatography. The results showed that the AFB1-ZEN-DON three-in-one combined detection method had the good linearity in the range of 0.5~30 $\mu\text{g/mL}$ for AFB1, 5~200 $\mu\text{g/kg}$ for ZEN and 100~2 500 $\mu\text{g/mL}$ for DON, respectively. The relative deviation of AFB1, ZEN and DON detected by this method was -2.84%~11.91%, -3.43%~18.12% and 1.83%~12.91%, respectively, which were within the allowable deviation of 20%, 15% and 23%. The detection limit of AFB1 was 0.41 $\mu\text{g/kg}$ and the corresponding limit of quantification was 1.12 $\mu\text{g/kg}$. The limit of detection of ZEN was 3.22 $\mu\text{g/kg}$ and the corresponding limit of quantitation was 9.15 $\mu\text{g/kg}$. The detection limit of DON was 35.42 $\mu\text{g/kg}$ and the corresponding limit of quantitation was 100.84 $\mu\text{g/kg}$. Compared with the results of liquid chromatography, the superconductor coated immunofluorescence test strip method is an effective, practical, rapid and quantitative analysis method within the allowable deviation range, suggesting that it could meet the requirements of simultaneous detection of AFB1, ZEN and DON in maize.

Key words: superconductor coated immunofluorescence test strip method; rapid quantification; aflatoxin B1; zearalenone; deoxynivalenol

真菌毒素是由曲霉属、青霉属、链格孢属、棒孢属和镰孢属等多种霉菌产生的有毒化合物^[1], 可导致慢性或急性中毒^[2-3], 严重威胁着人类和动物的健康和生命安全^[4]。在中国, 真菌毒素安全问题也受到越来越多的关注^[5]。

黄曲霉毒素 B1 (Aflatoxin B1, AFB1) 属于黄曲霉毒素 B 族, 被国际癌症研究机构列为一类致癌物^[6]。在黄曲霉毒素中 AFB1 是普遍且毒性最大的一种黄曲霉毒素, AFB1 会导致营养不良、免疫抑制、肝细胞坏死甚至肿瘤^[7-8]。玉米赤霉烯酮 (Zearalenone, ZEN) 主要是玉米赤霉菌的代谢产物^[9], 不仅会导致繁殖障碍^[10]、损害消化系统^[11], 还会影响脾、肝、肾的发育^[12]。脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (Deoxynivalenol, DON) 是饲料和食品中最普遍的真菌毒素之一^[13]。DON 会导致厌食、腹泻、发热等症状, 损害动物的造血系统, 有致癌、致畸、致突变风险, 严重会导致死亡^[14-18]。

AFB1、ZEN 和 DON 主要存在于小麦、玉米和大麦等谷物之中, 在全世界的谷物及其副产品污染广泛^[19-21]。玉米是我国最重要的粮食作物之一,

可以直接食用也能加工成多种的饲料和食品^[22]。近年来国内多项研究也表明, 我国玉米及原料中 AFB1、ZEN、DON 这三种毒素检出率较高^[23-26]。在快速、稳定、科学的基础上, 建立能够同时检测 AFB1、ZEN 和 DON 的定量分析方法, 对 AFB1、ZEN、DON 的暴露风险评估和预防控制都具有重要意义。

真菌毒素快速检测技术在粮食仓储、基础生产等已经有了大量的应用^[27], 但绝大多数以免疫层析法为主要检测方法^[28], 现有的免疫层析法使用的是单抗, 一张试纸只能针对一种真菌毒素进行快速检测, 成本较高且效率较低。而多毒素试纸条一般价格较高或其中一种毒素的检出限较高, 当毒素含量低时, 检测结果会受到影响。在此基础上, 我们研发了高特异性免疫识别真菌毒素快检试纸条如图 1, 在发光物与抗体构建偶联过程中, 利用超导体材料进行半包被, 超导体有极高的导电特性, 将发光物与抗体间静电荷聚集在抗体侧向吸附, 电荷对抗体中杂质及蛋白酶产生边缘控制吸附效应, 从而提高单抗或多抗的纯度,

增加抗体稳定度,同时突破性改变免疫法对温度的耐受,实现了真菌毒素检测耗材常温储存及运输转变,避免了低温储存等苛刻条件带来的检测准确度下降及数值偏差的风险。便于在日常使用场景如田间地头或仓储粮库的应用,大大的提高了便利性。运用此方法研发了 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡可实现玉米中 AFB1、DON、ZEN 的联合快速定量检测,为真菌毒素的风险检测和及时防范提供了有力的技术支撑。

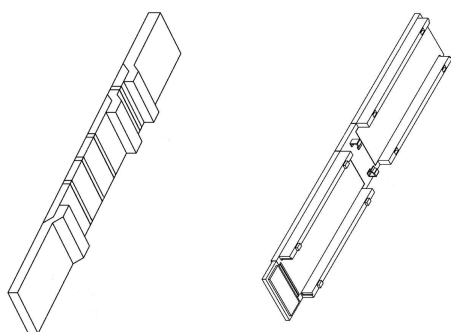


图 1 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡

Fig.1 AFB1-ZEN-DON three-in-one combined detection strips

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡, 2~30 °C 密封保存。

玉米样品: 天然收获玉米。

黄曲霉毒素 B1 (AFB1) 免疫亲和柱、玉米赤霉烯酮 (ZEN) 免疫亲和柱、呕吐毒素 (DON) 免疫亲和柱: 美国 Romer。

黄曲霉毒素 B1 玉米质控样品: 低浓度 AFB1 质控样品, (9.3±1.3) μg/kg, 编号 GBW(E)100808: 国家粮食和物资储备局; 中浓度 AFB1 质控样品, (17.5±2.4) μg/kg, 编号 STN093: 深圳市赛泰诺生物技术有限公司; 高浓度 AFB1 质控样品, (26.28±6.07) μg/kg, 编号 MRM-AC-1809: Pribolab。

玉米赤霉烯酮玉米质控样品: 低浓度 ZEN 质控样品, (46.5±6.3) μg/kg, 编号 GBW(E)100808、中浓度 ZEN 质控样品, (70±11) μg/kg, 编号 GBW(E)100385: 国家粮食和物资储备局; 高浓度 ZEN 质控样品, (108.6±18.8) μg/kg, 编号 STN108:

深圳市赛泰诺生物技术有限公司。

呕吐毒素玉米质控样品: 低浓度 DON 质控样品, (472±80) μg/kg, 编号 STN472: 深圳市赛泰诺生物技术有限公司; 中浓度 DON 质控样品, (990±130) μg/kg, 编号 GBW(E)100808: 国家粮食和物资储备局; 高浓度 DON 质控样品, (1845±277) μg/kg, 编号 STN1845: 深圳市赛泰诺生物技术有限公司。

QD-Infinity 系列霉菌毒素快速定量免疫荧光分析仪: 深圳市赛泰诺生物技术有限公司; 1260 II 高效液相色谱仪, 配 DAD、FLD 检测器和荧光检测器: 美国 Agilent。

1.2 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡的制备

配置质控线 C、检测线 DON、ZEN、AFB1 的划线液, C 划线液为 0.7 μL 的 0.4 mg/mL 羊抗兔抗体加上 3.5 μL 的质量比 10% 的海藻糖和 30.8 μL 的 PBS 缓冲液的混合液; DON 划线液为 2.33 μL 的 0.8 mg/mL 抗 DON 抗体与 32.67 μL PBS 的混合液; ZEN 划线液为 2.33 μL 的 0.8 mg/mL 抗 ZEN 抗体与 32.67 μL PBS 的混合液; AFB1 划线液为 2.33 μL 的 0.8 mg/mL 的抗 AFB1 抗体与 32.67 μL PBS 的混合液。再将硝酸纤维素膜贴到 PVC 快检试纸条上, 再将贴有 PVC 板的硝酸纤维素膜放至金标划膜仪上标记的指定位置, 启动划线至贴有 PVC 板的硝酸纤维素膜上, 完成 C-DON 划线环节。然后再进行 ZEN 划线和 AFB1 划线, 完成后在 37 °C 烘箱中烘干 12 h, 待用。

分别将 0.44 μL 18.18 mg/mL 羊抗兔抗体、11.11 mg/mL 抗 DON 抗体、9.09 mg/mL 抗 ZEN 抗体、10.08 mg/mL 抗 AFB1 抗体用 0.1 mol/L 碳酸钾调整 pH 为 7.4 按 3:1:1:1 进行配置, 再放入配置好的金颗粒于旋转盘上旋转混匀 15 min。将 BSA 封闭剂按每 1 mL 加 100 μL 的量加入标记好的金颗粒中涡旋 15 min。再放至冷冻离心机中离心 4 °C, 5 min。取上清液, 弃沉淀; 再 4 °C 离心 20 min, 弃去上清液, 取沉淀物复溶, 用复溶液按每标记 1 mL 复溶 100 μL 的量进行复溶。混合标记好的复溶金颗粒, 羊抗兔抗体、抗 ZEN 抗体、抗 DON 抗体、抗 AFB1 抗体混合金颗粒按

1 : 1 : 1 : 1 进行混合后, 取金标垫放到金标仪标记好的指定位置, 用磁铁压住, 以 4.5 μL/cm 进行喷金。完成后在 37 °C 烘箱中烘干 12 h。

1.3 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法测真菌毒素

选取玉米样品 500 g, 粉碎后过 20 目筛, 混匀样品。称取 5 g 样品粉末置于 50 mL 离心管中, 加入 25 mL 55% 甲醇水溶液, 涡旋震荡 5 min 充分混匀, 5 000 r/min 离心 2 min, 收集上层液体, 将 100 μL 提取的液体与 400 μL ST 缓冲液涡旋振荡充分混匀, 从中移取 75 μL 混合液体垂直滴入 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡的加样孔中, 静置反应 10 min 后, 联检卡放入 QD-Infinity 快速免疫荧光分析仪进行分析。

1.4 免疫亲和柱液相色谱法测真菌毒素

按标准 GB 5009.22—2016《食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》中的第三法高效液相色谱-柱后衍生法对 AFB1 进行检测。

按标准 GB 5009.209—2016《食品安全国家标准 食品中玉米赤霉烯酮的测定》中的第一法液相色谱法对 ZEN 进行检测。

按标准 GB 5009.111—2016《食品安全国家标准 食品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇及其乙酰化衍生物的测定》中的第二法免疫亲和层析净化高效液相色谱法对 DON 进行检测。

1.5 方法学考察

方法准确性测定: 用 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法分别检测 AFB1、ZEN、DON 的不同浓

度的质控样品, 每个样品平行测定 3 次, 计算三种真菌毒素不同浓度的质控样品变异系数, 从而判断检测结果与理论值的符合率。

回收率和方法精密度测定: 在阴性玉米样品中添加 AFB1 标准品、ZEN 标准品和 DON 标准品分别制成三个含量梯度的样品, 进行回收率和精密度测定, 每个梯度平行测定 6 次。

最低检测限和最低定量限测定: 分别测定 20 份天然阴性玉米样本, 分别按照国际纯粹与应用化学联合会 (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) 推荐的公式 $s+3\times b$ 和 $s+10\times b$ (s 为 20 份空白样品检测值的平均值; b 为标准偏差) [29-30], 计算确定检测限与定量限。

测定结果与液相色谱法对比: 将 25 份玉米样品同时用液相色谱法和 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法检测 AFB1、ZEN 和 DON, 对两种方法的检测结果进行比较, 计算相对偏差。

1.6 数据分析

进行 3 组平行实验, 数据采用 SPSS18.0 进行统计学分析, 若 $P<0.05$ 在统计学上认为数据具备显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 方法准确性测定

在相同实验条件下, 使用 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法检测不同浓度的真菌毒素玉米质控样品, 每个样品平行检测 3 次, 并计算三种真菌毒素不同浓度的质控样品变异系数, 检测数据见表 1。

表 1 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法检测玉米质控样品三种毒素的含量

Table 1 Determination of AFB1, ZEN and DON content in maize quality control samples by 3 in 1 combined detection method

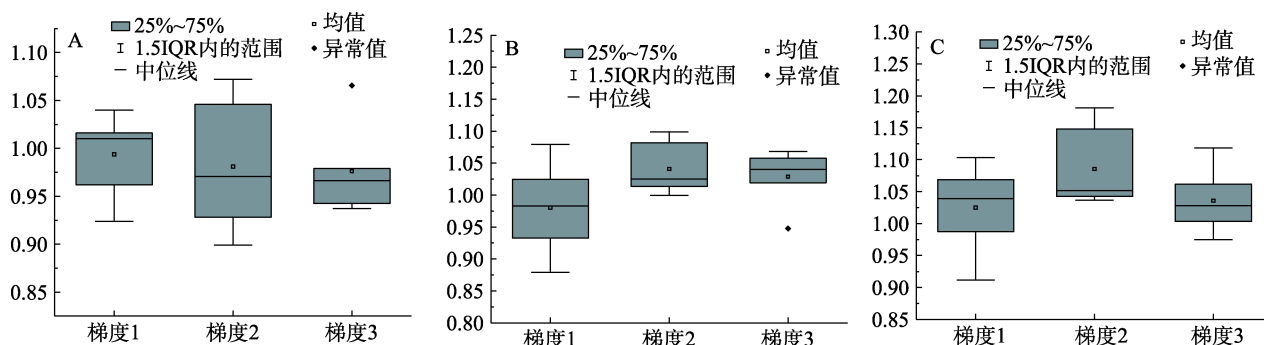
质控样品	理论值	平行 1	平行 2	平行 3	平均值	变异系数/%	平均变异系数/%
低浓度 AFB1	9.30±1.30	8.63	9.66	9.31	9.20	5.69	
中浓度 AFB1	17.50±2.40	17.79	17.19	17.88	17.62	2.13	4.29
高浓度 AFB1	26.28±6.07	24.65	25.33	27.16	25.71	5.05	
低浓度 ZEN	472.00±80.00	501.66	483.28	513.11	499.35	3.01	
中浓度 ZEN	990.00±130.00	986.46	1 035.87	1 010.62	1 010.98	2.44	3.26
高浓度 ZEN	1 845.00±277.00	1 659.64	1 764.53	1 805.34	1 743.17	4.31	
低浓度 DON	46.50±6.30	47.17	45.88	50.19	47.75	4.63	
中浓度 DON	70.00±11.00	71.17	61.77	68.34	67.09	7.19	6.08
高浓度 DON	108.60±18.80	113.49	103.65	100.43	105.86	6.43	

AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法检测结果与质控样的理论值符合率达 100%，质控样品的黄曲霉毒素 B1 含量重复测定的变异系数范围在 9.20%~25.71%之间，玉米赤霉烯酮含量重复测定的变异系数范围在 2.44%~4.31%之间，质控样品的呕吐毒素含量重复测定的变异系数范围在 4.63%~7.19%之间；黄曲霉毒素 B1 平均变异系数为 4.29%，玉米赤霉烯酮含量重复测定的平均变异系数为 3.26%，呕吐毒素平均变异系数为 6.08%，

检测的准确度符合实验要求。

2.2 回收率和方法精密度测定

在阴性玉米样品中添加 AFB1 标准品、ZEN 标准品和 DON 标准品分别制成三个含量梯度的样品，AFB1 理论含量分别为 5、10、20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，ZEN 理论含量分别为 50、100、150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，样品中 DON 理论含量分别为 500、1 000、2 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，进行回收率和精密度测定，每个梯度测定 6 次，数据分布见图 2。



注：A 为 AFB1 回收率分布图；B 为 ZEN 回收率分布图；C 为 DON 回收率分布图。

A: recovery distribution of AFB1; B: recovery distribution of ZEN; C: recovery distribution of DON.

图 2 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法检测加标玉米样品三种真菌毒素的回收率分布图

Fig.2 Recovery distribution of mycotoxin in spiked maize samples detected by 3 in 1 combined detection method

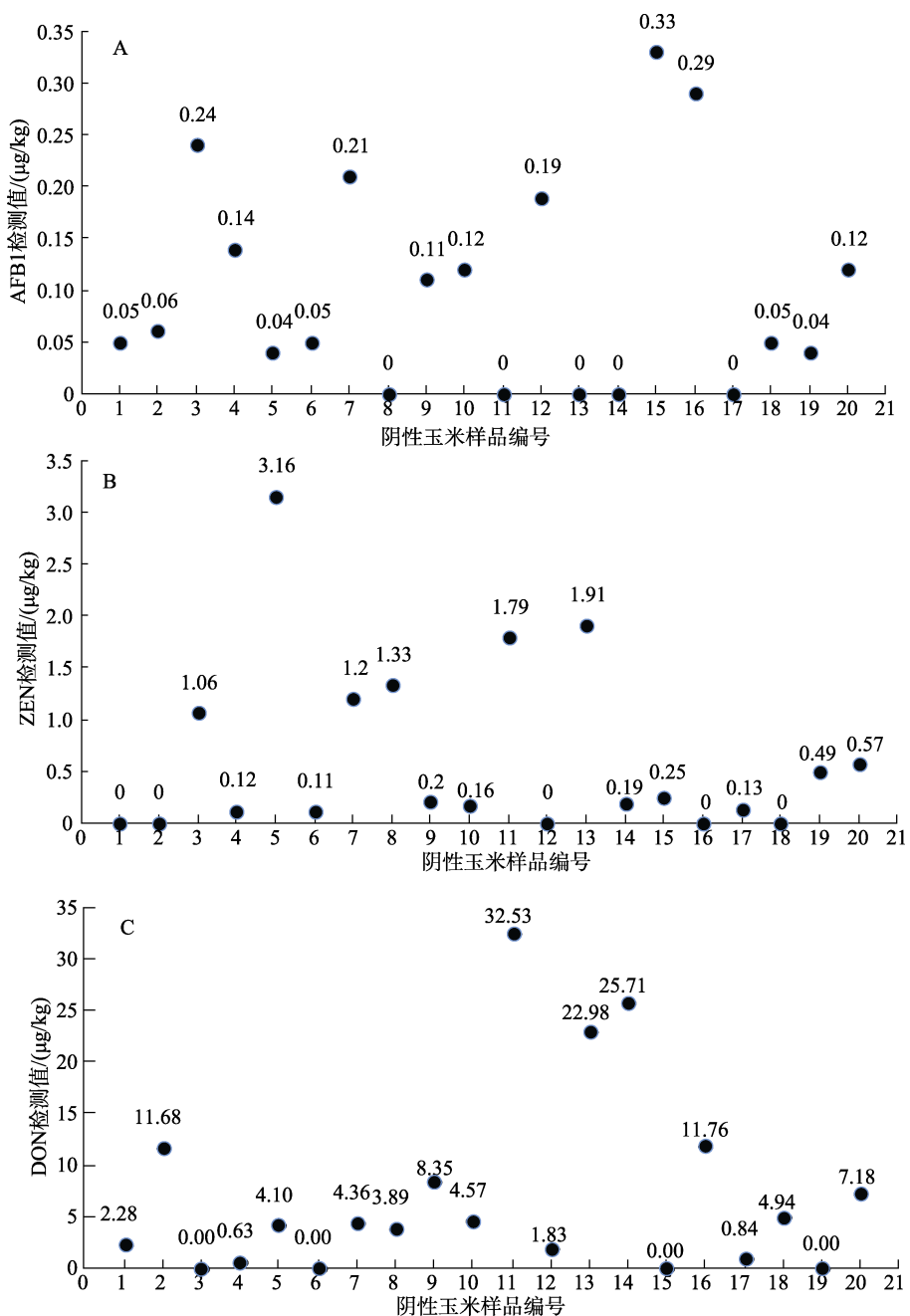
取 6 次结果的平均值得三个含量梯度的玉米样品中 AFB1 加标回收率分别为 99.37%、98.10%、97.62%，相对偏差分别为 -0.63%、1.90%、-2.38%，ZEN 加标回收率分别为 98.03%、104.07%、102.88%，相对偏差分别为 2.19%、11.27%、9.68%，DON 加标回收率分别为 107.45%、108.17%、103.72%，相对偏差分别为 -1.97%、4.07%、2.88%，符合国标定量检测标准要求。由图 2 箱形图可以看出，AFB1、ZEN 和 DON 回收率检测结果波动范围在 20%以内，回收率范围均在 80%~120%以内，符合加标回收要求。DON 在三个含量梯度的检测数据较 AFB1 和 ZEN 检测数据要更分散。从总体上看 AFB1、ZEN 和 DON 方法精密度，符合国标定量检测标准要求。

2.3 最低检测限和最低定量限测定

本研究连续独立测定 20 份天然阴性玉米样本，分别按公式 $s+3\times b$ 和 $s+10\times b$ (s 为 20 份空白样品检测值的平均值； b 为标准偏差)，计算确定

AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法的检测限与定量限。将检测数据整理绘制成数据分布情况，见图 3。

检测 20 份阴性玉米样品中 AFB1 的测定值在 0.00~0.33 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内，测定平均值为 0.10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，标准偏差为 0.10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；ZEN 的测定值在 0.00~3.16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内，测定平均值为 0.68 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，标准偏差为 0.85 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；DON 的测定值在 0.00~32.53 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内，测定平均值为 7.38 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，标准偏差为 9.35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法和液相色谱法测 DON 的检测限和定量限对比见表 2。AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法中 AFB1 检测限和定量限均优于国家标准中液相色谱法的规定值；ZEN 和 DON 的检测限和定量限均低于国家标准液相色谱法的规定。说明 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法中 AFB1 的检测限量水平优于液相色谱法，ZEN 和 DON 检测限量水平同液相色谱法相近。



注：A 为 AFB1 数据分布图；B 为 ZEN 数据分布图；C 为 DON 数据分布图。

A: data distribution of AFB1; B: data distribution of ZEN; C: data distribution of DON.

图 3 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法检测 20 份阴性玉米样品真菌毒素的数据分布图

Fig.3 Data distribution of 20 blank maize samples detected by 3 in 1 combined detection method

表 2 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法和液相色谱法 (HPLC) 测的检测限和定量限对比

Table 2 Comparison of LOD and LOQ of 3 in 1 combined detection method and HPLC

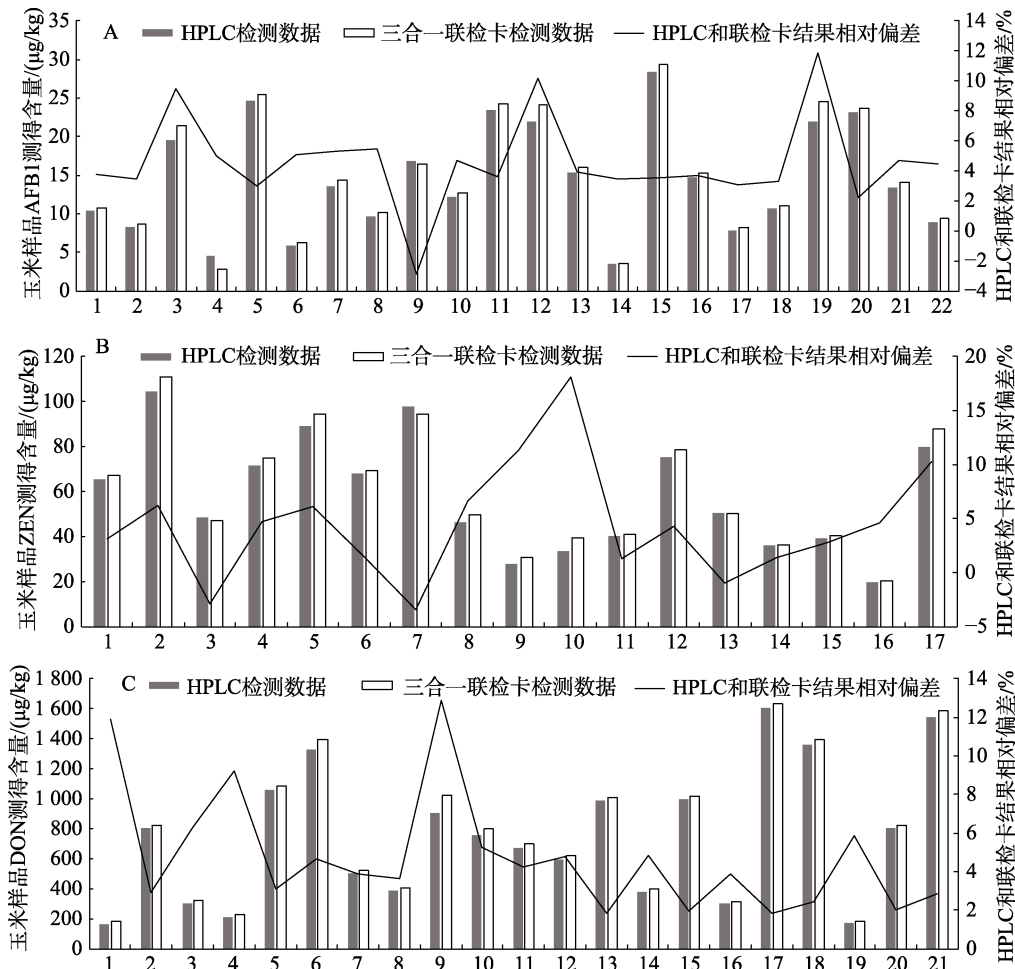
真菌毒素	检测方法	称样量/g	检测限/(µg/kg)	定量限/(µg/kg)
黄曲霉毒素 B1 (AFB1)	AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法	5±0.01	0.41	1.12
	HPLC 法	5±0.01	0.03	0.10
玉米赤霉烯酮(ZEN)	AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法	5±0.01	3.22	9.15
	HPLC 法	40±0.10	5.00	17.00
呕吐毒素(DON)	AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法	5±0.01	35.42	100.84
	HPLC 法	25±0.10	100.00	200.00

2.4 测定结果与液相色谱法对比

将 25 份玉米样品同时用液相色谱法和 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法检测 AFB1、ZEN 和 DON, 并对结果数据进行比较, 由于联检卡数据 AFB1 检测结果低于 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, ZEN 检测结果低于 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, DON 检测结果低于 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的无法读出, 故不做统计, 其余检测数据比较见图 4。

由图 4 可知在测定的 25 组数据中, 除去仪器

无法读数的数据, 液相色谱法和 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法检测 AFB1、DON 和 ZEN 的结果符合率达到 100%。两种方法的 AFB1 的相对偏差在 -2.84%~11.91% 之间, ZEN 的相对偏差在 -3.43%~18.12% 之间, DON 的相对偏差在 1.83%~12.91% 之间, 说明 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法的检测数据与液相色谱法的检测数据相一致, 方法间偏差较小, 精密度将近, 结果可靠, 符合国家标准偏差要求。



注: A 为 AFB1 数据对比及相对偏差图; B 为 ZEN 数据对比及相对偏差图; C 为 DON 数据对比及相对偏差图。

A: comparison and relative deviation of AFB1; B: comparison and relative deviation of ZEN; C: comparison and relative deviation of DON.

图 4 液相色谱法 (HPLC) 和 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法检测玉米样品中真菌毒素数据对比及相对偏差图 (A: AFB1; B: ZEN; C: DON)

Fig.4 Comparison and relative deviation of DON and ZEN data in maize samples detected by HPLC method and 3 in 1 combined detection method

3 结论

本研究表明 AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法能够同时快速定量检测玉米中 AFB1、DON 和

ZEN 三种真菌毒素, 该方法的检测结果准确、可靠。相较于国家标准中规定的液相色谱法, 本方法具有快速、灵敏、方便、科学、检测成本低的特点, 与单联、双联快检法相比, 具有省时、节

约成本、同时检测三个毒素指标的特点。可以在满足农产品及其制品中真菌毒素快速检测需求。此外,本方法为内置标准曲线,不需要在实验中制作标准曲线,减少人为检测误差,保持每台仪器的稳定性。本方法使用的试纸条和试剂耗材可在 2~30 °C 储存,便于在各种温度条件下的运输和使用,广泛适用不同检测环境如田间调查,市场抽查等。随着现代检测技术迅猛发展,人们对食品、饲料安全日益重视,快速筛查、实时监控是检测发展的趋势,AFB1-ZEN-DON 三合一联检卡法能同时快速定量检测玉米中 AFB1、DON 和 ZEN 三种毒素具有现实意义。

参考文献:

- [1] MARIN S, RAMOS A J, CANO-SANCHO G, et al. Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2013, 60: 218-237.
- [2] BHATR, RAI R V, KARIM A A. Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2010, 9(1): 57-81.
- [3] 李志霞, 聂继云, 闫震, 等. 果品主要真菌毒素污染检测、风险评估与控制研究进展[J]. *中国农业科学*, 2017, 50(2): 332-347.
LI Z X, NIE J Y, YAN Z, et al. Progress in research of detection, risk assessment and control of the mycotoxins in fruits and fruit products[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(2): 332-347.
- [4] WANG S, WU K T, XUE D F, et al. Mechanism of deoxynivalenol mediated gastrointestinal toxicity: Insights from mitochondrial dysfunction[J]. *Food Chem Toxicol*, 2021, 153: 112214.
- [5] SHI H, LI S, BAI Y, et al. Mycotoxin contamination of food and feed in China: Occurrence, detection techniques, toxicological effects and advances in mitigation technologies[J]. *Food Control*, 2018: S0956713518301439.
- [6] ZUCKERMAN, A J. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans[J]. *Journal of Clinical Pathology*, 1995, 48(7): 691.
- [7] GOURAMA H, BULLERMAN L B. *Aspergillus flavus* and *aspergillus parasiticus*: aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds: a review[J]. *Journal of Food Protection*, 1995, 58(12): 1395-1404.
- [8] YU J J. Current understanding on aflatoxin biosynthesis and future perspective in reducing aflatoxin contamination[J]. *Toxins*, 2012, 4(11): 1024-1057.
- [9] 涂华荣, 齐德生. 玉米赤霉烯酮的危害及其防治[J]. *饲料广角*, 2003(8): 3.
XU H R, QI D S. Harm of zearalenone and its control[J]. *Feed China*, 2003(8): 3.
- [10] 徐盛玉, 王定越, 吴德. 镰刀菌毒素对母猪繁殖性能的影响及其作用途径[J]. *动物营养学报*, 2010(1): 7.
XU S Y, WANG D Y, WU D. Effect of Fusarium toxin on reproductive performance of sows and its action pathway[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010(1): 7.
- [11] JIANG S Z, YANG Z B, YANG W R, et al. Effects of feeding purified zearalenone contaminated diets with or without clay enterosorbent on growth, nutrient availability, and genital organs in post-weaning female pigs[J]. *Asian-Australasian Association of Animal Production Societies*, 2009, 23(1): 74-81.
- [12] 赵虎, 杨在宾, 杨维仁, 等. 玉米赤霉烯酮对仔猪生产性能和内脏器官发育影响的研究[J]. *粮食与饲料工业*, 2008(10): 2.
ZHAO H, YANG Z B, YANG W R, et al. Effects of zearalenone on growth performance and internal organ development of piglets[J]. *Cereal & Feed Industry*, 2008(10): 2.
- [13] MARIN D E, PISTOL G C, NEAGOE I V, et al. Effects of zearalenone on oxidative stress and inflammation in weanling piglets[J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2013, 58: 408-415.
- [14] KROGH P, CHRISTENSEN D H, HALD B, et al. Natural occurrence of the mycotoxin fusarochromanone, a metabolite of *Fusarium equiseti*, in cereal feed associated with tibial dyschondroplasia[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 1989, 55(12): 3184-3188.
- [15] 马丽艳, 张耀伟, 崔崇士. 疫霉菌毒素研究进展[J]. *东北农业大学学报*, 2004, 35(2): 129-134.
MA L Y, ZHANG Y W, CUI C S. Research progress of phytophthora toxins[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2004, 35(2): 129-134.
- [16] 吴裕本, 张健. 家禽生产中霉菌毒素的现状与控制[J]. *中国家禽*, 2006, 28(11): 43-44.
WU Y B, ZHANG J. Status and control of mycotoxins in poultry production[J]. *China Poultry*, 2006, 28(11): 43-44.
- [17] 姚凤, 里菊芬. 几种常见的霉菌毒素对猪的影响[J]. *湖南畜牧兽医*, 2006(5): 25-27.
YAO F, LI J F. Effects of several common mycotoxins on pigs[J]. *Hunan Journal of Animal Science & Veterinary Medicine*, 2006(5): 25-27.
- [18] 敖志刚, 陈代文. 2006-2007 年中国饲料及饲料原料霉菌毒素污染调查报告[J]. *中国畜牧兽医*, 2008, 35(1): 152-156.
AO Z G, CHEN D W. Investigation report on mycotoxin contamination of feed and feed raw materials in China from 2006 to 2007[J]. *Chinese animal husbandry and veterinary medicine*, 2008, 35(1): 152-156.
- [19] LI X, ZHAO L, YU F. Occurrence of mycotoxins in feed ingredients and complete feeds obtained from the Beijing region of China[J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2014(4): 8.
- [20] MOSAAD A, AZIZA A, ASMAA S, et al. Protective capabilities

- of silymarin and inulin nanoparticles against hepatic oxidative stress, genotoxicity and cytotoxicity of deoxynivalenol in rats[J]. *Toxicol*, 2018, 142: 1-13.
- [21] 武亭亭, 杨丹. 粮食加工品中玉米赤霉烯酮和呕吐毒素污染情况调查[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(12): 3674-3678.
- WU T T, YANG D. Investigation on zearalenone and deoxynivalenol contamination in grain-related food[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2019, 10(12): 3674-3678.
- [22] CHEN R, MA F, LI P W, et al. Effect of ozone on aflatoxins detoxification and nutritional quality of peanuts[J]. *Food Chemistry*, 2014, 146, 284-288.
- [23] HAN Z, NIE D, EDIAGE E N, et al. Cumulative health risk assessment of co-occurring mycotoxins of deoxynivalenol and its acetyl derivatives in wheat and maize: Case study, Shanghai, China[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2014, 74: 334-342.
- [24] XING F G, LIU X, WANG L M, et al. Distribution and variation of fungi and major mycotoxins in pre-and post-nature drying maize in North China Plain[J]. *Food Control*, 2017, 80, 244-251.
- [25] WANG J, LIU X M. Contamination of aflatoxins in different kinds of foods in China[J]. *Biomedical & Environmental Sciences*, 2007, 20(6): 483.
- [26] HAN Z, JIANG K, FAN Z, et al. Multi-walled carbon nanotubes-based magnetic solid-phase extraction for the determination of zearalenone and its derivatives in maize by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food Control*, 2017.
- [27] 郭明伟, 康波, 胡晓维, 等. 真菌毒素快检仪在粮食收购过程中的应用[J]. *粮油仓储科技通讯*, 2019, 35(6): 3.
- GUO M W, KANG B, HU X W, et al. Application of mycotoxin rapid detection instrument in grain purchase process[J]. *Technology Communication of Grain and Oil Storage*, 2019, 35(6): 3.
- [28] SUN Y, HU X, ZHANG Y, et al. Development of an immunochromatographic strip test for the rapid detection of zearalenone in corn[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014.
- [29] CROSS L C, KLYNE W. Rules for the nomenclature of organic chemistry. Section E: Stereochemistry[J]. *Pure and Applied Chemistry*, 1976, 45(1): 11-30.
- [30] 漆红兰, 李佳妮, 张成孝. 检出限与灵敏度关系及影响因素的探讨[J]. *大学化学*, 2021, 36(9): 219-225.
- QI H L, LI J N, ZHANG C X. Discussion on the relationship and influence factors of the limit of detection and the sensitivity of analytical methods[J]. *University Chemistry*, 2021, 36(9): 219-225. ☉