

时间分辨荧光免疫层析试纸条在油料饼粕 黄曲霉毒素 B₁ 检测中的应用

李 静^{1,2,4}, 李培武^{1,2,3,4,5*}, 张 奇^{1,2,3*}, 丁小霞^{1,2,4}, 张 文^{1,2,5}, 张兆威^{1,2,5}

(1. 中国农业科学院油料作物研究所, 湖北 武汉, 430062; 2. 农业部生物毒素检测重点实验室, 湖北 武汉, 430062; 3. 农业部油料作物生物学与遗传育种重点实验室, 湖北 武汉, 430062; 4. 农业部油料产品质量安全风险评估实验室, 湖北 武汉, 430062; 5. 农业部油料及制品质量监督检验测试中心, 湖北 武汉, 430062)

摘要: 采用黄曲霉毒素时间分辨荧光免疫层析试纸条及配套的时间分辨荧光速测仪, 对油料饼粕中黄曲霉毒素 B₁ 的快速检测进行了应用研究。该时间分辨荧光免疫分析技术是基于时间分辨荧光免疫层析试纸条和载有 Eu(Ⅲ) 标记特异性单克隆抗体的样品瓶建立的检测技术。时间分辨荧光速测仪可内置标准曲线, 直接输出检测结果。对 6 种油料饼粕做黄曲霉毒素 B₁ 添加回收率实验, 回收率在 70% ~ 120% 之间, 批间、批内变异系数 < 15%。在实际样品的检测中, 时间分辨荧光免疫层析试纸条检测技术与液相色谱 - 串联质谱法相比, 检测结果相对误差 < 15%。时间分辨荧光免疫层析试纸条检测技术测定快速、准确, 技术稳定、可靠, 设备经济、小型, 适用于大批量油料饼粕样品的快速检测和风险评估。

关键词: 油料饼粕; 黄曲霉毒素 B₁; 时间分辨荧光免疫层析试纸条; 时间分辨荧光速测仪; 定量检测

中图分类号: S379.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-9084(2014)02-0256-07

Investigation of time - resolved fluoro - immunochromatographic assay strip for quantitative determination of aflatoxin B₁ in oilseed meals

LI Jing^{1,2,4}, LI Pei - wu^{1,2,3,4,5*}, ZHANG Qi^{1,2,3*}, DING Xiao - xia^{1,2,4}, ZHANG Wen^{1,2,5}, ZHANG Zhao - wei^{1,2,5}

(1. *Oil Crops Research Institute of the Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, China;*

2. *Key Laboratory of Detection for Mycotoxins, Ministry of Agriculture, Wuhan 430062, China;*

3. *Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Oil Crops, Ministry of Agriculture, Wuhan 430062, China;*

4. *Laboratory of Risk Assessment for Oilseeds Products (Wuhan), Ministry of Agriculture, Wuhan 430062, China;*

5. *Quality Inspection and Test Center for Oilseeds Products, Ministry of Agriculture, Wuhan 430062, China)*

Abstract: This research used time - resolved fluoro - immunochromatographic assay strip and assorted time - resolved fluoroimmunoassay (TRFIA) portable quick tester to detect aflatoxin B₁ in oilseed meals. The TRFIA technology was based on the sample bottle which contained specific monoclonal antibody marked by Eu(Ⅲ) and the time - resolved fluoro - immunochromatographic assay strip. The standard curve could be built in the TRFIA portable quick tester and the machine could output the results directly. In the standard addition experiments of six kinds of oilseed meals, the recovery rate of standard addition was 70% - 120% (CV < 15%). In the determination of practical samples, compared with LC - MS/MS method, the relative error of the time - resolved fluoro - immunochromatographic assay strip method was less than 15%. The results showed that the new method was fast, accu -

收稿日期: 2013-09-29

基金项目: 国家科技支撑计划(2012BAB19B09, 2011BAD02D02, 2010BAD01B07)

作者简介: 李 静(1988 -), 女, 河南罗山人, 硕士研究生, 主要从事农产品质量标准与检测技术研究, E - mail: lj15985147904@163.com

* 通讯作者: 李培武(1961 -), 男, 山东成武人, 二级研究员, 博士生导师, 研究方向为农产品质量标准与检测技术, E - mail: peiwuli@oilcrops.cn; Tel: 027 - 86812943;

张 奇(1975 -), 男, 江苏淮安人, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向为农产品质量标准与检测技术, E - mail: zhangqi521x@yahoo.cn; Tel: 027 - 86711839

rate, stable and reliable, and the instrument was cheap and small-sized. Because of these advantages, time-resolved fluoro-immunochromatographic assay strip could be used for aflatoxin B₁ screening in oilseed meals and risk assessment, and the application prospect would be very broad.

Key words: Oilseed meals; Aflatoxin B₁; Time-resolved fluoro-immunochromatographic assay strip; TR-FIA portable quick tester; Quantitative determination

我国油料饼粕资源丰富,主要品种有花生饼粕、大豆饼粕、菜籽饼粕、棉籽饼粕、葵花籽饼粕、芝麻饼粕、胡麻饼粕、大麻籽饼粕、茶籽饼粕等。各种油料饼粕富含蛋白质,是配混合饲料中的主要植物蛋白质来源之一,随着饲料工业的发展,饼粕在饲料中的应用越来越广泛。油料作物在收获前或收获后被霉菌感染产生真菌毒素,或油料饼粕在生产、加工、储运过程中感染霉菌产生真菌毒素,都会影响油料饼粕的品质,从而影响饲料的质量。

黄曲霉毒素是由曲霉属的黄曲霉和寄生曲霉所产生的有毒代谢产物,是一种强致癌性物质^[1]。黄曲霉毒素有 20 多种^[2],常见的有黄曲霉毒素 B₁ (Aflatoxin B₁, AFB₁)、黄曲霉毒素 B₂ (Aflatoxin B₂, AFB₂)、黄曲霉毒素 G₁ (Aflatoxin G₁, AFG₁)、黄曲霉毒素 G₂ (Aflatoxin G₂, AFG₂)、黄曲霉毒素 M₁ (Aflatoxin M₁, AFM₁) 和黄曲霉毒素 M₂ (Aflatoxin M₂, AFM₂)。黄曲霉毒素 B₁ 检出率高,毒性大,具有强致癌性,可抑制动物免疫功能,降低动物生产性能,引起动物继发感染,甚至死亡,还可在动物产品中残留而威胁人类健康,破坏人及动物肝脏,严重时可导致肝癌甚至死亡^[3]。黄曲霉毒素广泛存在于土壤、动植物及其制品中,我国油料产品及饼粕、饲料制品中常有黄曲霉毒素检出。世界已有 70 多个国家和地区对食品及饲料中黄曲霉毒素的含量作了限量要求,我国饲料卫生标准 (GB13078-2001) 对饲料原料及配合饲料中黄曲霉毒素 B₁ 的限量作了规定:饲料原料如玉米、花生饼粕、棉籽饼粕、菜籽饼粕,允许限量 ≤ 50 μg/kg,豆粕允许限量 ≤ 30 μg/kg,配合饲料如仔猪配合饲料允许限量 ≤ 10 μg/kg,其他的配合饲料允许限量 ≤ 20 μg/kg。

为维护人类健康,行之有效的检测技术是控制黄曲霉毒素污染的一种途径。目前,黄曲霉毒素的检测技术有薄层层析 (TLC) 法^[4]、高效液相色谱 (HPLC) 法^[5,6]、质谱 (MS) 法^[7,8]、酶联免疫吸附测定 (ELISA) 法^[9,10] 等。这些方法有的检测准确性不高,有的前处理过程复杂,费时费力,需要大型精密仪器和专业人员操作,有的需要用到毒素标准品,危害环境,威胁试验人员的健康,因此迫切需要建立简单、准确、快捷、经济、高效的速测方法。随着纳米材

料标记技术的发展和高灵敏抗体的研制,新型免疫检测技术在农产品和食品质量安全中得到了日益广泛的应用。时间分辨荧光免疫分析^[11,12] (time-resolved fluoroimmunoassay, TRFIA) 是超微量检测领域中一项新兴的检测技术,它是利用免疫反应的高度特异性和标记示踪物的高度灵敏性相结合而建立的一类微量物质检测技术。TRFIA 是以三价稀土离子如 Eu (III)、Tb (III)、Sm (III) 等为标志物,这些离子可以产生荧光,其荧光不仅强度高,而且荧光衰变时间长,利用延缓测量时间,等待测样品中自然荧光衰变后再测稀土离子的荧光,可消除自然荧光的干扰。TRFIA 采用非放射性原子标记技术,标记位点多,极大地提高了方法的灵敏度^[13]。

本研究基于免疫层析技术的时间分辨荧光免疫分析方法,采用时间分辨荧光免疫层析试纸条和配套的时间分辨荧光速测仪进行定量检测。用 Eu (III) 标记特异性单克隆抗体,时间分辨荧光免疫层析试纸条与装有冻干品 (已标记的抗体体系) 的样品瓶配套使用,时间分辨荧光速测仪可内置标准曲线,直接输出检测结果。这种新型时间分辨荧光免疫分析技术,与传统的时间分辨荧光免疫分析技术相比,操作简单,可进行现场检测。采用此方法对油料饼粕中黄曲霉毒素 B₁ 进行了快速测定,并对检测结果进行了比对分析。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

花生饼粕、大豆饼粕、菜籽饼粕、棉籽饼粕、葵花籽饼粕、芝麻饼粕等样品购于武汉农贸市场;黄曲霉毒素标准品 (美国 Sigma 公司), 色谱级甲醇、色谱级乙腈、色谱级甲酸、冰乙酸、正己烷 (天津市德恩化学试剂有限公司), 氯化钠 (国药集团化学试剂北京有限公司), 氧化铝 (上海陆都化学试剂厂), TWEEN-20 (武汉博能创新生物有限公司); 中速定量滤纸 (天津特种纸业有限公司), 有机相滤膜 (0.45 μm) (广州标迈生物耗材有限公司); 时间分辨荧光免疫层析试纸条、黄曲霉毒素免疫亲和柱由农业部生物毒素检测重点实验室和农业部油料及制品质量监督检验测试中心提供。

1.2 主要仪器

黄曲霉毒素时间分辨荧光速测仪(中国科学院油料作物研究所和上海优你生物科技有限公司联合研制),九阳料理机(九阳 JYL-C090),电子天平(德国 Sartorius 公司),Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司),旋涡混合器(北方同正生物科技发展有限公司),固相萃取仪(美国 Agilent 公司),KQ-800KDE 超声波清洗器(昆山市超声波仪器有限公司),BF-2000 氮吹仪(北京八方世纪科技有限公司),TSQ Quantum ULTRA 液相色谱-串联质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司,配有电喷雾电

离源)。

1.3 原理与方法

1.3.1 检测原理 在时间分辨荧光免疫层析试纸条的“中央判读区”喷有 2 条线,对照线(C 线)和测试线(T 线)。T 线位置条带荧光强度与样品中黄曲霉毒素 B₁ 的浓度成反比,作为测试线;无论样品中是否有黄曲霉毒素 B₁ 存在,C 线都会出现荧光条带,作为对照线。如图 1 所示,为时间分辨荧光免疫层析试纸条装置示意图;如图 2 所示,为紫外灯下的时间分辨荧光免疫层析试纸条,T 线不同的亮度反映样品中黄曲霉毒素 B₁ 的不同浓度。

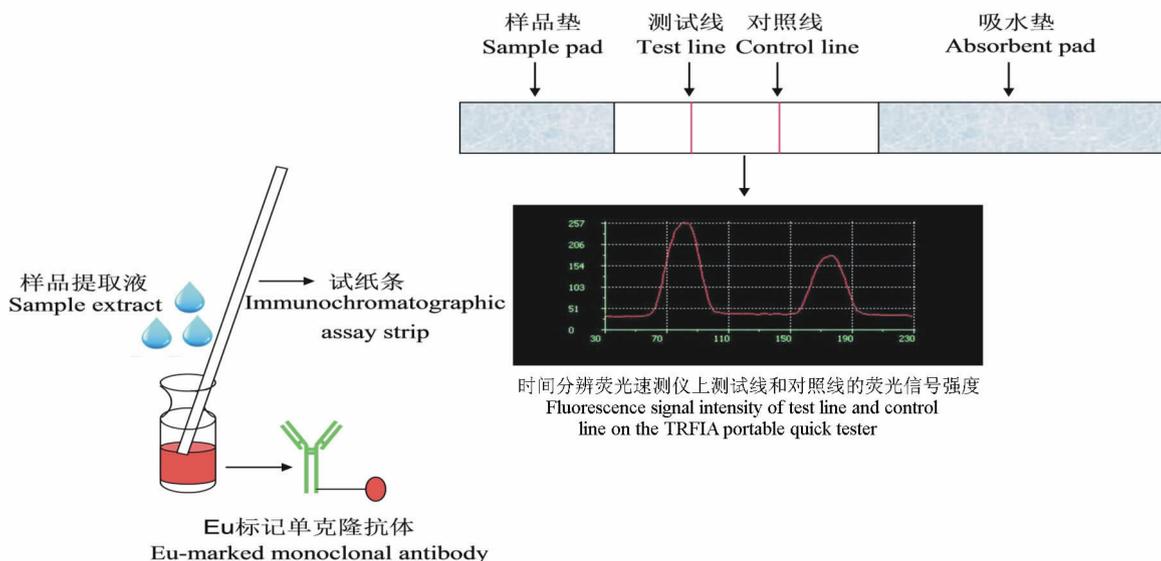


图 1 时间分辨荧光免疫层析试纸条装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of time-resolved fluoro-immunochromatographic assay strip

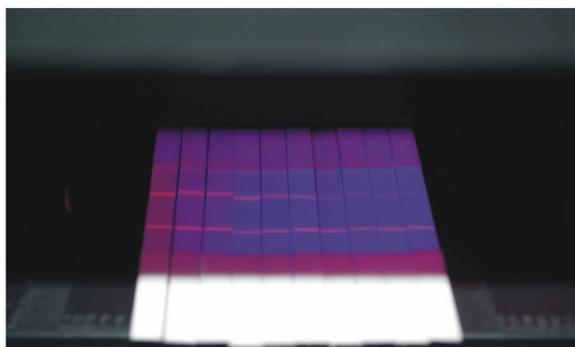


图 2 紫外灯下的时间分辨荧光免疫层析试纸条

Fig. 2 Time-resolved fluoro-immunochromatographic assay strips in UV lamp

1.3.2 样品的前处理 称取 20g 饼粕样品于样品杯中,加入 100mL 70% 甲醇水(V/V,含 4% NaCl),用九阳料理机提取 2min 后,用滤纸过滤,取滤液 0.5 mL,用 2.5mL 的 0.5% TWEEN-20 溶液稀释,过 Al₂O₃ 样品净化柱后,过一次有机相滤膜(0.45μm),该滤液即为待检样品溶液。

1.3.3 时间分辨荧光免疫层析定量分析方法 打开时间分辨荧光速测仪,先进行仪器自检。用扫描枪读入相应的油料饼粕黄曲霉毒素 B₁ 测定条码,即将标准曲线内置入仪器。取 300μL 经过前处理得到的待检样品溶液,加入装有冻干品的样品瓶中,涡旋混匀,放入孵育器中。从试纸条筒内取出时间分辨荧光免疫层析试纸条,按箭头向下插入到样品瓶中,37℃ 孵育 6min,取出试纸条,放置于吸水纸上,拭去试纸条末端多余液体,将试纸条放入速测仪配套卡槽中,点读数按钮进行读数,输出的数值即为样品中黄曲霉毒素 B₁ 的浓度。

每批试纸条产品附带相应的测定条码,内含已经建立好的标准曲线,标准曲线的线性范围为 0.6~60μg/kg, R² > 0.99。

1.3.4 时间分辨荧光免疫层析试纸条检测的批内准确度和精密度 选取空白样品,进行加标回收试验,用同一批时间分辨荧光免疫层析试纸条进行定量检测。添加黄曲霉毒素 B₁ 标准溶液于空白花生

饼粕、大豆饼粕、菜籽饼粕、棉籽饼粕、葵花籽饼粕、芝麻饼粕中,使其在样品中的最终含量为 2、5、10、20、40 μg/kg,5 次重复,计算加标回收率和变异系数(CV)。

1.3.5 时间分辨荧光免疫层析试纸条检测的批间准确度和精密度 选取空白花生饼粕样品,添加黄曲霉毒素 B₁ 标准溶液,使其在样品中的最终含量为 2、5、10、20、40 μg/kg,用 3 个不同批次的试纸条进行定量测定,每批试纸条都进行 5 次重复试验,计算加标回收率和批间变异系数。

1.3.6 与液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)对比 选取花生饼粕、大豆饼粕、菜籽饼粕、棉籽饼粕、葵花籽饼粕、芝麻饼粕共 20 份样品,分别采用时间分辨荧光免疫层析试纸条法和 NY/T 2071-2011^[14]中液相色谱-串联质谱法进行检测,将检测结果进行线性回归分析,比较两种方法的差异。

表 1 花生饼粕、大豆饼粕、菜籽饼粕、棉籽饼粕、葵花籽饼粕和芝麻饼粕加标回收试验结果
Table 1 Recoveries of standard addition for peanut cake, soybean meal, rapeseed meal, cottonseed meal, sunflower seeds meal and sesame meal

样品 Sample	添标浓度/(μg/kg) Concentration of standard addition	TRFIA 检测平均值/(μg/kg) Average value by TRFIA	回收率/% Recovery	批内变异系数/% CV for within-run assays
花生饼粕 Peanut cake	2	1.54	77.00	12.35
	5	5.83	116.60	11.24
	10	11.04	110.40	10.06
	20	21.22	106.10	8.45
	40	35.7	89.25	14.28
大豆饼粕 Soybean meal	2	1.52	76.00	13.25
	5	5.37	107.40	10.45
	10	10.89	108.90	9.27
	20	22.35	111.75	11.23
	40	30.57	76.43	13.52
菜籽饼粕 Rapeseed meal	2	1.64	82.00	12.85
	5	4.76	95.20	11.36
	10	10.51	105.10	9.92
	20	23.28	116.40	11.47
	40	31.41	78.53	14.63
棉籽饼粕 Cottonseed meal	2	1.53	76.50	13.23
	5	4.32	86.40	11.40
	10	11.07	110.70	9.43
	20	21.65	108.25	8.34
	40	32.98	82.45	13.90
葵花籽饼粕 Sunflower seeds meal	2	1.56	78.00	14.54
	5	4.55	91.00	10.35
	10	11.13	111.30	11.27
	20	22.47	112.35	9.32
	40	34.49	86.23	14.11
芝麻饼粕 Sesame meal	2	1.54	77.00	13.56
	5	4.26	85.20	12.12
	10	10.85	108.50	10.78
	20	23.45	117.25	9.85
	40	31.80	79.50	13.89

2 结果与分析

2.1 时间分辨荧光免疫层析试纸条检测的准确度和精密度

时间分辨荧光免疫层析试纸条检测的准确度以回收率表示,精密度以变异系数表示。选取空白样品,进行加标回收试验,用同一批次和不同批次的时间分辨荧光免疫层析试纸条进行定量检测,计算回收率和变异系数(表 1、表 2)。由表 1 中回收率及变异系数数据可以看出,同一批次时间分辨荧光免疫层析试纸条测定不同样品中黄曲霉毒素 B₁ 的回收率在 76.00% ~ 117.25% 之间,变异系数在 8.34% ~ 14.63% 之间,批内准确度和精密度良好。由表 2 数据可知,不同批次试纸条测定样品时,回收率为 72.50% ~ 116.75%,批间变异系数为 5.55% ~ 9.70% 重复性良好。

2.2 时间分辨荧光免疫层析试纸条法与液相色谱-串联质谱法结果比对分析

选取花生饼粕、大豆饼粕、菜籽饼粕、棉籽饼粕、葵花籽饼粕、芝麻饼粕共 20 份样品,分别采用时间分辨荧光免疫层析试纸条法和液相色谱-串联质谱法进行比对分析,进一步考察验证方法的科学性和适用性。由表 3 数据可知,时间分辨荧光免疫层析试纸条法与液相色谱-串联质谱法测定结果的相对误差小于 15%。将两种方法对 20 份样品的检测结果进行线性回归分析,结果见图 3。两种方法的线性回归方程为: $y = 1.00783x - 0.21482$ ($R^2 =$

0.98372),其中 y 表示液相色谱-串联质谱法测定结果,x 表示时间分辨荧光免疫层析试纸条法测定结果。通过比较得知,时间分辨荧光免疫层析试纸条法与标准方法液相色谱-串联质谱法对油料饼粕中黄曲霉毒素 B₁ 的检测结果具有很好的一致性,时间分辨荧光免疫层析试纸条法能满足油料饼粕中黄曲霉毒素 B₁ 快速筛查测定准确度的要求。与液相色谱-串联质谱法相比,本方法操作简便、灵敏度高、不接触毒素标准品、对环境及检验人员安全性高,尤其是检测时间短,能达到 15min 内检测一个样品,适合油料饼粕中黄曲霉毒素 B₁ 的现场筛查。

表 2 不同批次试纸条测定花生饼粕加标回收试验结果

Table 2 Recovery analysis of peanut cake by time-resolved fluoro-immunochromatographic assay strips of different batches

样品 Sample	添标浓度/($\mu\text{g}/\text{kg}$) Concentration of standard addition	批次 Batches	TRFIA 检测平均值 /($\mu\text{g}/\text{kg}$) Average value by TRFIA	回收率/% Recovery	批间变异系数/% CV for between-run assays
花生饼粕 Peanut cake	2	1	1.62	81.00	5.58
		2	1.45	72.5	
		3	1.52	76.00	
	5	1	4.37	87.40	9.70
		2	5.26	105.20	
		3	4.61	92.20	
	10	1	10.38	103.8	6.54
		2	9.27	92.70	
		3	10.43	104.3	
	20	1	23.35	116.75	5.55
		2	22.68	113.40	
		3	20.95	104.75	
	40	1	32.65	81.63	6.97
		2	35.24	88.10	
		3	37.55	93.88	

表 3 时间分辨荧光免疫层析试纸条法与液相色谱-串联质谱法比对

Table 3 Comparison of time-resolved fluoro-immunochromatographic assay strip method and LC-MS/MS method

样品 Sample	TRFIA 检测平均值/($\mu\text{g}/\text{kg}$) Average value by TRFIA	LC-MS/MS 检测平均值/($\mu\text{g}/\text{kg}$) Average value by LC-MS/MS	相对误差/% Relative error
花生饼粕 Peanut cake-1	30.07	34.18	12.02
花生饼粕 Peanut cake-2	20.05	18.50	8.38
花生饼粕 Ppeanut cake-3	10.17	8.85	14.92
花生饼粕 Ppeanut cake-4	ND	ND	-
花生饼粕 Peanut cake-5	26.06	22.83	14.15
大豆饼粕 Soybean meal-1	ND	ND	-
大豆饼粕 Soybean meal-2	ND	ND	-
大豆饼粕 Soybean meal-3	3.02	3.45	12.46
大豆饼粕 Soybean meal-4	ND	ND	-
菜籽饼粕 Rapeseed meal-1	1.03	1.20	14.17
菜籽饼粕 Rapeseed meal-2	ND	ND	-
菜籽饼粕 Rapeseed meal-3	ND	ND	-
棉籽饼粕 Cottonseed meal-1	8.36	7.58	10.29
棉籽饼粕 Cottonseed meal-2	ND	ND	-
棉籽饼粕 Cottonseed meal-3	5.24	6.11	14.24
葵花籽饼粕 Sunflower seeds meal-1	ND	ND	-
葵花籽饼粕 Sunflower seeds meal-2	1.11	1.30	14.62
芝麻饼粕 Sesame meal-1	ND	ND	-
芝麻饼粕 Sesame meal-2	ND	ND	-
芝麻饼粕 Sesame meal-3	ND	ND	-

注/note:ND 为未检出 Not detected

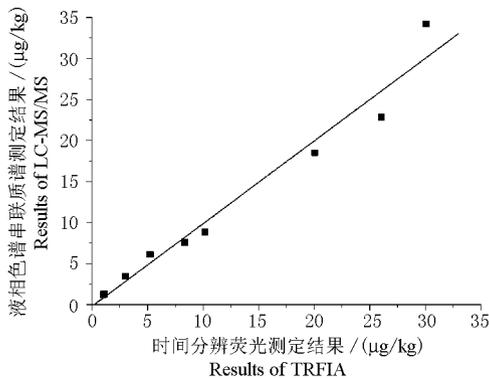


图3 时间分辨荧光免疫层析试纸条法与液相色谱-串联质谱法检测结果相关性

Fig. 3 Correlation of results obtained by both time-resolved fluoro-immunochromatographic assay strip method and LC-MS/MS method

目前 TRFIA 技术已经在真菌毒素的检测上有应用,如黄飏等人^[15-17]将抗原包被在 96 孔酶标板上,封闭后加入毒素标准品或待测液,标准品或待测液中游离的毒素与固定在酶标板上的抗原共同竞争有限的特异性的单克隆抗体,以稀土离子 Eu 标记的羊抗鼠进行示踪,采用间接竞争免疫分析方法建立 TRFIA 技术。时间分辨荧光免疫层析试纸条技术与前者有明显的不同。新技术将时间分辨荧光技术与免疫层析技术结合起来,竞争反应在时间分辨荧光免疫层析试纸条上进行,与传统的 TRFIA 技术相比,省去了繁琐的加样、洗涤步骤,操作简单,再采用时间分辨荧光速测仪,快速定量获得检测结果。时间分辨荧光免疫层析试纸条技术前处理过程简单,检测时间短,能在 15min 内完成全部检测过程。并且该技术减少了有毒有害试剂的使用,能更好地保证操作人员和环境的安全。

3 结论

用时间分辨荧光免疫层析试纸条技术对油料饼粕做黄曲霉毒素 B₁ 添加回收实验,回收率在 70%~120% 之间,批间、批内变异系数 < 15%,准确度和精密度良好。在实际样品检测中,该技术与液相色谱-串联质谱法检测结果相比,相对误差 < 15%,具有良好的-一致性。时间分辨荧光免疫层析试纸条技术测定快速、准确,技术稳定、可靠,且配套的时间分辨荧光速测仪经济、小型,非常适合现场检测。适用于大批量油料饼粕样品的快速检测和风险评估,具有广阔的应用前景。

参考文献:

[1] Nesbitt B F, O'Kelly J, Sargeant K, et al. *Aspergillus flavus* and Turkey X disease; toxic metabolites of *Aspergillus*

flavus [J]. Nature, 1962, 195(4846): 1 062 - 1 063.

- [2] 陈宁庆. 实用生物毒素学 [M]. 北京: 中国科技出版社, 2001. 251 - 275.
- [3] Betina V. Mycotoxins - production, isolation, separation and purification [M]. Elsevier, 1984. 25 - 36.
- [4] Stroka J, Anklam E. Development of a simplified densitometer for the determination of aflatoxins by thin-layer chromatography [J]. J Chromatogr A, 2000, 904: 263 - 268.
- [5] Gomez - Catalan J, Pique E, Falco G, et al. Determination of aflatoxins in medicinal herbs by HPLC. An efficient method for routine analysis [J]. Phytochem Anal, 2005, 6: 196 - 204.
- [6] Sobolev V S, Dorner J W. Cleanup procedure for determination of aflatoxins in major agricultural commodities by liquid chromatography [J]. J AOAC Int, 2002, 85: 642 - 645.
- [7] Spanjer M C, Rensen P M, Scholten J M. LC - MS/MS multi - method for mycotoxins after single extraction, with validation data for peanut, pistachio, wheat, maize, cornflakes, raisins and figs [J]. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2008, 25: 472 - 489.
- [8] Lattanzio V M, Solfrizzo M, Powers S, et al. Simultaneous determination of aflatoxins, ochratoxin A and Fusarium toxins in maize by liquid chromatography/tandem mass spectrometry after multitoxin immunoaffinity cleanup [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2007, 21: 3 253 - 3 261.
- [9] Bhattacharya D, Bhattacharya R, Dhar T K. A novel signal amplification technology for ELISA based on catalyzed reporter deposition. Demonstration of its applicability for measuring aflatoxin B₁ [J]. J Immunol Methods, 1999, 230: 71 - 86.
- [10] Thirumala - Devi K, Mayo M A, Hall A J, et al. Development and application of an indirect competitive enzyme - linked immunoassay for aflatoxin M₁ in milk and milk - based confectionery [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50: 933 - 937.
- [11] Pettersson K, Siitari H, Hemmilla I, et al. Time - resolved fluoroimmunoassay of human choriongonadotropin [J]. Clinical Chemistry, 1983, 29(1): 60 - 64.
- [12] Eskola J U, Nevala Inen T J, Lovgrenn T N. Time - resolved fluoroimmunoassay of human pancreatic phospholipase A₂ [J]. Clinical Chemistry, 1983, 29(10): 1 777 - 1 780.
- [13] 时 瑾, 黄 飏, 张莲芬, 等. 盐酸克伦特罗的高灵敏时间分辨荧光免疫分析 [J]. 卫生研究, 2006, 35(6): 798 - 801.

- [14] NY/T 2071 - 2011. 饲料中黄曲霉毒素、玉米赤霉烯酮和 T-2 毒素的测定 液相色谱 - 串联质谱法[S].
- [15] 黄 飏,陶文沂,张莲芬,等. 黄曲霉毒素 B₁ 的高灵敏时间分辨荧光免疫分析[J]. 核技术,2006,29(4): 295 - 300.
- [16] 屠 蔷,黄 飏,金 坚,等. 玉米赤霉烯酮的高灵敏时间分辨荧光免疫分析[J]. 农业生物技术学报, 2007,15(4):689 - 693.
- [17] 张 珏,朱 岚,陈 蕴,等. 伏马毒素 B₁ 时间分辨荧光免疫分析超微量检测方法的建立[J]. 环境与健康杂志,2009,26(12):1 112 - 1 115.

(责任编辑:肖唐华)