

基于不同纳米材料的侧流免疫层析技术 在真菌毒素检测中的应用

谢艳君^{1,2} 杨英^{2,3} 孔维军² 杨世海^{*1} 杨美华^{*2}

¹(吉林农业大学中药材学院, 长春 130118)

²(中国医学科学院中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100193)

³(成都中医药大学药学院, 成都 611137)

摘要 真菌毒素毒性强, 具有很强的致癌性和致畸性, 对人体的危害巨大。近年来, 其快速检测技术成为研究的热点, 在“批量检测”的趋势下, 侧流免疫层析技术以具有操作简便, 经济合理, 灵敏快速等优点, 广泛应用于食品、饲料、农产品中真菌毒素的检测。本文对侧流免疫层析检测技术的研究概况及不同纳米材料的侧流免疫层析技术在真菌毒素检测中的应用和发展前景进行综述, 以期对侧流免疫层析技术在真菌毒素检测的未来发展及应用提供参考。

关键词 纳米材料; 侧流免疫层析; 真菌毒素; 综述

1 引言

侧流免疫层析检测技术(LFIA)也称横向流动免疫检测技术^[1], 是出现于 20 世纪 60 年代初期的一种独特的免疫分析方式, 以条状纤维层析材料为固相, 借助毛细管的吸附作用使样品在层析材料上移动, 其中样品中的待测物与层析材料上一定区域的抗体结合, 通过酶促显色反应或直接使用着色标记物短时间获得直观的测试结果。1990 年, Beggs 等^[2]最先将其用于人绒毛膜促性腺激素(HCG)的测定, 随后该技术逐渐在环境监控^[3,4]、食品安全^[5,6]、临床诊断^[7,8]等领域得到广泛应用, 同时该技术也用于动物用药^[9,10]、农药残留^[11,12]、霉菌毒素^[13]等污染物以及核酸^[14,15]、蛋白^[16,17]等生物大分子的检测领域。

真菌毒素(Mycotoxins)是由真菌产生的次级代谢产物^[18], 主要包括黄曲霉毒素(Aflatoxins, AFs)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(Deoxynivalenol, DON)、赭曲霉毒素 A(Ochratoxin A, OTA)、玉米赤霉烯酮(Zearalenone, ZEN)、伏马毒素(Fumonisin, FBs)等, 对人和动物的毒性主要有致癌、致畸、致突变、肝细胞毒性、中毒性肾损害、免疫抑制和生殖紊乱等。这些真菌毒素会污染农作物、植物及其副产品等, 进而给人类和家畜健康带来威胁。世界各国对农产品、食品和饲料中的真菌毒素的含量做出了严格规定。

目前, 最常见的真菌毒素测定方法有仪器分析法和免疫分析法等。常用仪器分析法主要有高效液相色谱法(HPLC)^[19~24]和色谱-质谱法^[25~29]。仪器分析法作为常规真菌毒素检测方法^[30~32], 因其灵敏度高, 结果准确可靠而受到检测机构的青睐, 其缺点是: 需要对样品进行较为繁琐的预处理; 需要具有专业实验技能的人员操作; 仪器昂贵精密, 且所用仪器的检测费用和维修费用昂贵, 无法满足批量样品的快速筛查检测^[33]。随着特异性抗体技术的发展, 免疫相关方法得以迅速发展, 逐渐成为毒素检测的新趋势^[34]。侧流免疫层析检测技术具有简便、快速、灵敏、经济等优点, 特别适合于大批量样本的检测^[35]。本文简要介绍了侧流免疫层析检测技术, 并且列举出其在真菌毒素快速检测中的应用进展。

2 侧流免疫层析检测技术

侧流免疫层析技术是一种将免疫技术和色谱层析技术相结合的快速免疫分析方法, 主要用于病原体、激素、药物和代谢物等的检测, 原理是通过标记抗原或抗体来识别待检物。侧流免疫层析试纸条主要包括样品垫、结合垫、层析膜、吸收垫、背衬及应用于试纸条上的各种试剂, 见图 1。根据待检测物分

2014-11-25 收稿; 2015-01-14 接受

本文系国家自然科学基金 (Nos. 81274072, 81473346) 和 2014 中医药行业科研专项 (No. 201407003) 资助

* E-mail: jlyangs@163.com; yangmeihua15@hotmail.com

子的大小不同分为两种主要类型: 双抗体夹心法和竞争法。

2.1 双抗体夹心法

双抗体夹心实验法是利用捕获抗体和检测抗体进行测定。一般用于检测大分子量的抗体、抗原类物质。大分子量分析物包含有两个或两个以上的结合位点, 结合垫为着色标记物与待测抗原的特异性抗体(Ab_1)的偶联物, 检测线为待测抗原的另一表位特异性抗体(Ab_2), 质控线为抗 Ab_1 抗体(Ab_3)。当待测样品中含有一定量的抗原时, 样品通过层析作用到达结合垫位置, 抗原和 Ab_1 发生反应, 与检测线的抗体形成双抗体夹心复合物, 达到一定量后, 通过沉积的标记物显示待检物的量。残留的抗体继续泳动到质控线位置, 与 Ab_3 反应而显色, 得到阳性结果, 见图2。样品中不含抗原, 标记物和检测线抗体不发生反应, 而质控线显色, 得到了阴性结果。检测线和质控线均不显色时, 表示试纸条无效。

2.2 竞争法

小分子量分析物只有一个抗体结合位点, 使用竞争免疫试验进行检测。竞争法有两种类型, 一种是检测区固化的是待测抗原或待测抗原的类似物。结合垫上为着色标记物与待测抗原的特异性抗体(Ab_1)的偶联物。当样品中含有待测抗原, 样品待检测抗原与 Ab_1 结合, 由于竞争抑制作用, 检测线处抗原不再发生反应, 检测线处不显色, 随后, 抗原抗体复合物与抗 Ab_1 抗体 Ab_2 相结合, 在质控线处显色, 如图3。反之, 随着抗原浓度的显色加深。另一种在检测区固化的是待测抗原的特异性抗体(Ab_1)。结合垫上为着色标记物和待测抗原或待测抗原类似物偶联物。通过样品中抗原和抗原偶联标记物竞争结合检测线上抗体, 达到检测的目的。

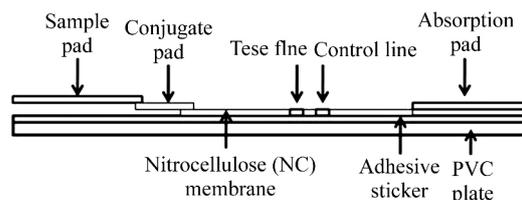


图1 试纸条结构组成图^[36]

Fig. 1 Strip structure diagram^[36]

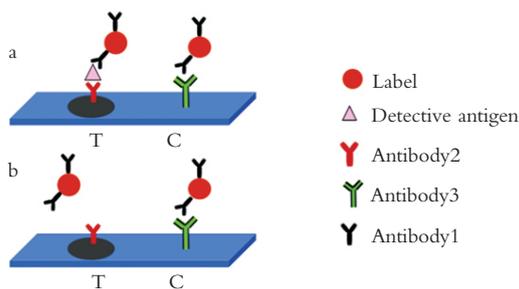


图2 双抗体夹心法原理示意图

Fig. 2 Diagram of double antibody sandwich principle

a. 阳性样品(Positive sample); b. 阴性样品(Negative sample)。

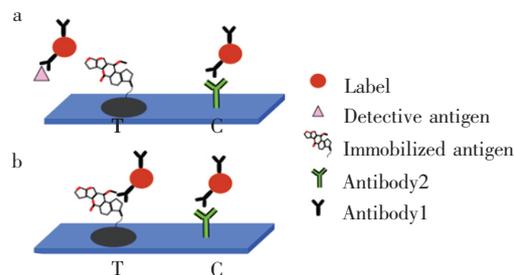


图3 竞争法原理示意图^[37]

Fig. 3 Diagram of competition law principle^[37]

a. 阳性样品(Positive sample); b. 阴性样品(Negative sample)。

3 侧流免疫层析技术在真菌毒素检测中的应用

侧流免疫层析是一种将免疫技术、色谱层析技术和免疫标记技术相结合的固相膜免疫分析方法, 这种层析技术常常是借助外来的标记物获得可测量的信号来分析结果。因此, 有必要寻求一种高灵敏的免疫标记物, 建立准确、快速、简便的真菌毒素检测方法。

纳米粒子一般是指颗粒尺寸在1~100 nm范围内的超微粒子。它具有表面效应、小尺寸效应、量子效应、宏观量子隧道效应等特性^[38]。与正常粒子相比, 纳米粒子具有大的比表面积, 其光、热、磁敏感特性和表面稳定性较高。同时, 纳米材料用于生物分析标记物质, 可大大改善标记物的性能, 显著提升现有分析方法的灵敏度及特异性, 其在抗原抗体的标记上具有很大的应用潜能。

纳米材料的引入为免疫层析技术实现高灵敏、高特异、快速检测奠定了良好的基础。采用侧流免疫

层析技术对真菌毒素进行检测当中应用最为广泛的标记物是纳米粒子。用于毒素检测的纳米粒子标记物按材料可分为荧光纳米粒子、金纳米粒子以及磁性纳米粒子等。其中荧光纳米粒子又包括量子点及其量子点微球、荧光微球以及时间分辨荧光微球等;金纳米粒子包括常规胶体金及 AgAu 复合纳米粒子等。以下介绍不同的免疫标记物的侧流免疫层析技术在真菌毒素检测当中的应用,见表 1。

3.1 荧光标记免疫层析技术

3.1.1 量子点层析技术 量子点(Quantum dots, QDs) 又称无机半导体纳米晶体,是一类由 II-VI 族(如 CdSe, CdTe, CdS, ZnSe 等) 或 III-V 族(如 InP, InAs 等) 元素组成的纳米颗粒。量子点的粒径一般介于 1~10 nm 之间,由于电子和空穴被量子限域,连续的能带结构变成具有分子特性的分立能级结构,受激后可以发射荧光。其中, CdTe 是最重要的纳米材料之一,常被用作生物标记探针。

量子点作为一类理想的新型荧光探针,与传统的荧光染料相比,它具有宽的紫外线激发光谱和狭窄对称的荧光发射光谱;可精确调谐的发射波长;可忽略的光漂白等优越的荧光特性;良好的光化学稳定性;高量子产率,量子点摩尔吸光系数高达 10^6 L/(mol·cm);荧光寿命长,可接受多次激发等优越的荧光特性,因此,可以很好地应用于荧光标记。在免疫分析中应用是一个值得引起重视的新领域。

由半导体材料构成的纳米荧光颗粒-量子点,因其具有更稳定、更强的荧光特性,并可以进行多信号的同时检测,已有研究者将其用于荧光免疫标记检测 AFB₁ 及 ZEN。Ren 等^[42] 制备了一种量子点微球免疫层析试纸条,用于快速检测玉米中 AFB₁。通过微乳液技术将数以万计的 CdSe/ZnS 量子点包裹在聚合物内形成量子点微球(QBs) 标记抗 AFB₁ 单克隆抗体(mAbs) 将抗原和驴抗鼠 IgG 二抗分别喷涂于硝酸纤维素膜上作为检测线和控制线。结果表明,该方法检测 AFB₁ 线性范围为 5~60 pg/mL,检测荧光强度与 AFB₁ 含量在该质量浓度范围内呈良好的线性关系,半抑制浓度(IC₅₀) (13.87 ± 0.16) pg/mL,检出限为 0.42 pg/mL,检测时间为 15 min,与胶体金标记试纸条相比检出限低两个数量级;将试纸条检测结果与 LC-MS/MS 及 ELISA 结果相比,表明试纸条的检测结果快速、准确。

Duan 等^[63] 建立了量子点微球免疫层析法对 ZEN 的标准溶液和玉米中 ZEN 进行检测,检出限分别达到 0.0625 ng/mL 和 3.6 mg/kg。表明该方法灵敏、快速,适合食物中 ZEN 的现场快速检测。

量子点探针用于层析法,既提高了灵敏度、特异性,又可实现快速、定量检测,在免疫层析中有广阔的应用前景和发展潜力。相比胶体金探针,量子点应用的报道较少,其研究刚刚起步,在制备、修饰及抗原抗体标记环节技术要求高,偶联结合物后的稳定性等方面有待进一步提高。

3.1.2 基于时间分辨荧光免疫分析的层析技术 时间分辨免疫层析快速检测技术(Time-resolved fluorescent immunochromatographic assay, TRFICA) 是集时间分辨荧光免疫分析技术和层析技术的优势,借助高灵敏的标记示踪物,用于微量物质检测的一种新兴技术。示踪物由两种不同镧系元素离子(分别作为光吸收子和发射子)及陶瓷颗粒(作为基质)掺杂组成,这种镧系螯合物也称为 UCP (Up-converting phosphor, UCP) 颗粒,优于免疫层析常用标记物胶体金,它具有较高的灵敏性、高稳定性,可通过时间分辨荧光免疫层析分析仪结合标准浓度曲线实现定量分析。

李静等^[54] 将时间分辨荧光技术与免疫层析技术结合起来,建立了时间分辨荧光免疫层析试纸条测定油料饼粕中 AFB₁ 的新方法。同时,采用时间分辨荧光速测仪实现了 AFB₁ 的定量检测。将待检测的样品加入到装有 Eu³⁺ 标记特异性单克隆抗体的样品瓶中,将喷涂有 T 线和 C 线的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,试纸条插入有内置标准曲线的速测仪配套卡槽中,输出数值即为样品中 AFB₁ 的浓度。T 线条带荧光强度与待测物浓度成反比。使用该试纸条对 6 种油料饼粕做 AFB₁ 添加回收实验,回收率在 70%~120%。在实际样品的检测中,该试纸条和液相色谱-质谱结果相比,相对误差低于 15%。单个样品检测时间不足 15 min。说明该试纸条能检测大批量油料饼粕样品。

张兆威等^[58] 采用 Eu³⁺ 包覆于硅胶形成的硅胶荧光微粒作为免疫标记物,将 AFB₁ 抗体与乳胶铕进行偶联标记,建立 AFB₁ 时间分辨荧光免疫层析快速检测法。与已有的胶体金免疫层析快速检测方法相比,该方法的灵敏度提高了 1~2 个数量级。该试纸条用于花生、稻米、植物油等农产品检测,检出限均为 0.3 μg/kg。相对误差小于 10%,说明该试纸条可用于农产品中 AFB₁ 快速检测。

Majdinasab 等^[66] 采用 TRFICA 法研制出快速检测 OTA 的试纸条,检出限为 1.0 μg/kg,检测时间为

8 min。该方法经济、方便、快速,适合 OTA 的现场快速检测。

3.1.3 荧光微球免疫层析法 荧光微球免疫层析技术是利用荧光微球表面修饰的羧基可共价结合抗体,通过该标记物发出稳定而强的荧光信号进行定量检测的新型检测技术。该标记物发光强度受激发光强度增强而增强,并且受外界影响小,已有用于毒素检测的研究。Liu 等^[61]建立了基于荧光微球探针的免疫层析法,该法可用于快速筛查受 AFB₁ 污染的酱油样品。所制试纸条的检测探针由荧光微球和抗 AFB₁ 的抗体交联组成,该探针的光学特性消除了酱油样品的颜色干扰,可视检出限达到 2.5 μg/L,低于我国政府制定的限量标准(5 μg/L)。结果表明,荧光微球作为标记物的免疫层析技术在有色样品的检测中有较高的研究价值和前景。Wang 等^[64]采用荧光微球免疫层析法对玉米中 FB₁ 进行定量检测,加标回收率在 91.4% ~ 118.2%。检测结果与 HPLC-MS/MS 检测结果相一致。

3.2 胶体金免疫层析技术

3.2.1 金免疫层析法 免疫胶体金技术是以胶体金作为示踪标记物,应用于抗原抗体反应中的一种新型免疫标记技术。随着纳米技术的兴起和单克隆技术的发展,免疫胶体金技术成为继荧光素标记技术、放射性同位素标记技术和酶标记技术后发展起来的又一种固相标记免疫测定技术,已广泛用于医学临床诊断、动植物检疫、微生物检测、食品安全监督等领域。

胶体金粒子对蛋白质具有较强吸附能力,可以与免疫球蛋白、毒素、酶、糖蛋白、抗生素、激素、牛血清白蛋白多肽缀合物等非共价结合。同时,胶体金颗粒具有高电子密度特性,即金标物在相应配体处大量聚集,肉眼可见红色或粉色斑点,因而,目前较多用于定性或半定量的快速免疫检测方法。胶体金免疫层析试纸条以其简便快速、成本低廉、结果直观、检测时间短、特异性强等优点,广泛用于 AFs、OTA^[65]、FBs、DON^[67~70]等真菌毒素检测。

Song 等^[39]建立了一种可同时定量或半定量检测谷物样品中 AFB₁、ZEA、DON 和它们的类似物的侧流免疫层析方法。该纸条对 AFB₁、ZEA 和 DON 可视检出限分别为 0.03、1.6 和 10 μg/kg,检出限均低于欧盟最大允许值。对玉米样品的检测结果与液相色谱-质谱法相符。

Urusov 等^[41]改进了传统的免疫层析方法,采用次级金标抗体提高了免疫层析试纸条对 AFB₁ 的检测灵敏度。先将非标记的黄曲霉毒素专一初级抗体与待测样品混合,将免疫层析试纸条插入混合液中,加入胶体金标记的次级抗体来结合检测膜上的复合物。该方法的可视检出限可达到 160 pg/mL,使用 Canon Lide 90 平板扫描仪及 Totallab 实验室软件包处理,检出限甚至可达到 30 pg/mL,而不加次级抗体的免疫层析检出限为 2 ng/mL。实验表明,这种处理方法避免了胶体金标记抗体与检测区抗原的非专一性结合,提高了试纸条检测的灵敏度。

Moon 等^[44]采用改良的竞争免疫层析法对 AFB₁ 进行检测,检出限可达到 10 μg/mL,10 min 内完成检测。将有限的 AFB₁ 多克隆抗体固定在硝酸纤维素膜上作为检测区,样品中待测物和胶体金偶联 AFB₁-BSA 竞争结合检测区抗体,相比样品中抗原,偶联抗原结合受抑制。当迁移通过硝酸纤维素膜时,被固定的有限抗体捕捉,而胶体金标记的 AFB₁-BSA 在检测区与抗体结合呈红色,待检物浓度与检测区呈色成反比。该方法与传统的胶体金免疫层析试纸条检测法相比,省去了检测线,笔者认为此法更为简便、准确,因此有必要在此方法的基础上,对抗体和毒素最佳浓度以及胶体金和毒素-BSA 偶联物之间的最佳结合条件进行最优化设计,建立多种毒素检测斑点法。

胶体金免疫层析技术已有半定量和定量研究的报道。Anfossi 等^[56]制备了定量检测 4 种主要黄曲霉毒素的试纸条,该试纸条与电脑相连的便携扫描仪,软件处理分析实现分析物定量检测。检测样品为玉米,检出限为 1 μg/kg。以水、NaCl 溶液、pH 7.4 的磷酸盐缓冲液(PBS)、磷酸/柠檬酸缓冲液(pH 5.0)等不同提取溶液测定回收率。在含水量在 76% ~ 94% 的水溶液进行提取有较高的回收率,提取效果好。pH 呈中性的提取液有较好的免疫层析效果。因而,选择 pH 呈中性的 PBS 溶液作为提取液,可有效提高方法的准确性。

Lee 等^[71]建立了一种半定量检测 AFB₁ 的斑点侧流免疫层析检测方法,基于智能手机的阅读系统(Smartphone-based reading system)实现及时、有效、准确的半定量检测。该系统由智能手机、侧流免疫层析检测阅读器和能够获得图像信息并且进行数据处理智能机应用程序组成。该方法的检出限是

5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 能够半定量分析样品中 AFB_1 浓度范围为 5 ~ 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

Zhang 等^[59] 制备了一种基于肉眼的半定量免疫层析试纸条 (NSI-strip) ,将标记有金标颗粒的抗黄曲霉毒素单克隆抗体 1C11 喷涂于结合垫上,硝酸纤维素膜上依然有两个区,检测区和控制区,控制区上固定兔抗鼠二抗,不同于传统的试纸条,检测区由 3 条检测线组成,它们均固定限量的 AFB_1 -BSA 偶联物作为捕获物,该试纸条的肉眼的检出限是 0.06 ng/mL , 3 条检测线的分界阈值分别为 0.125、0.5 和 2.0 ng/mL 。因而,可根据 3 条线显色情况将检测物浓度划分为 5 个浓度区段: 0 ~ 0.06 ng/mL , 0.06 ~ 0.125 ng/mL , 0.125 ~ 0.5 ng/mL , 0.5 ~ 2.0 ng/mL , > 2.0 ng/mL 。改良的试纸条能够提供更多毒素含量参照,较好地实现分析物的半定量检测。

贺亚萍等^[72] 制备试纸条,采用单光谱成像快速定量技术,对食醋中黄曲霉毒素进行定量检测。该技术为 DT211 型黄曲霉毒素单光谱成像速测仪以胶体金免疫层析试纸条为一级传感器,将记录的检测线显色图像信息转化为灰度信息,然后通过计算机等现代处理技术对图像进行处理和分析,将灰度信息和黄曲霉毒素标准浓度关联,达到毒素的定量检测。

胶体金免疫层析法检测真菌毒素已有较多报道,并有商品化的试纸出售。北京中检维康技术有限公司推出了 iCheck 毒素定量快检卡,此外还配有 II 型 iCheck 食品安全定量快检仪,可实现定量检测。德国拜发公司推出了 RIDAÓ QUICK Aflatoxin 免疫层析法黄曲霉毒素检测条,可用于检测谷物、豆粕、坚果、开心果、椰子粉、葵花籽、无花果、枣椰子及腰果等样品中的黄曲霉毒素,检出限 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$,检测时间 5 min,还可设定 4、10 和 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 等 3 个检出限,此外还配有读卡仪,可实现定量检测。

3.2.2 复合纳米粒子 (AgAu) 标记免疫层析技术 金包银纳米粒子可放大特异性抗原抗体的反应信号,增强胶体金的显色效果。Liao 等^[43] 制备了快速检测 AFB_1 的免疫层析试纸条。合成了 AgAu 复合纳米颗粒并用于 AFB_1 抗体的标记,和金纳米颗粒标记抗体技术相比,试纸条灵敏度、重复性和稳定性都相应提高。其原理为利用复合纳米粒子标记特异性抗体,检测样品液中特异性抗原,应用免疫层析技术制备、组装成试纸条。所制备的试纸条的检出限为 0.1 ng/mL ,检测时间为 15 min。该试纸条用于检测大米、小麦、向日葵、棉花、辣椒和杏仁中 AFB_1 ,检测结果与 ELISA 检测结果一致。

3.3 磁珠免疫层析技术

磁珠免疫层析技术,它是将磁性纳米材料 (Magnetic nanoparticle, MNs) 的磁信号与免疫层析技术相结合的技术。磁纳米探针通常由磁性元素 (如 Fe, Ni, Co) 和它们的氧化物组成^[73]。该探针具有粒径小、比表面积大、穿透性强、可快速移动及超顺磁性、生物相容性、单分散性良好等特性,可在磁场下定位、富集和分离^[74]。此免疫标记物具有灵敏、快捷、高效、检测范围宽等优点,应用在免疫层析技术中使该技术向定量化、高灵敏度、多元化检测、层析系统集成化等方向发展。

Tang 等^[52] 建立了一种快速检测食物中黄曲霉毒素 B_2 (AFB_2) 的免疫层析检测方法。 AFB_2 单克隆抗体的免疫标记物为磁纳米金微球 (MnGMs),这一微球以纳米 Fe_2O_3 颗粒为核,金标纳米颗粒为壳。将 AFB_2 抗原和羊抗鼠 IgG 分别喷涂于硝酸纤维素膜作为检出限和质控线。结果表明,该试纸条检出限为 0.9 ng/mL ,相比金标免疫层析试纸条灵敏度提高 3 倍,并且 15 min 内可得到定量检测结果。

Huang 等^[40] 用碳二亚胺 (EDC) /N-羧基琥珀酰亚胺 (NHS) 交联法,使黄曲霉毒素 M_1 (AFM_1) 的单克隆抗体偶联在纳米磁珠表面,将偶联物喷涂于结合垫, AFM_1 -BSA 和驴抗鼠抗体分别喷涂于检测线和控制线,建立了快速检测 AFM_1 的免疫层析方法。在检测中,免疫磁珠和样品混合以富集和分离 AFB_1 。试纸条对经磁分离后的牛奶样品液进行检测。在 10 min 后肉眼可观察结果,检出限为 0.1 ng/mL ,比国内制定的 AFM_1 限量标准 (0.5 ng/mL) 低,与其它毒素及非法添加剂没有交叉反应,检测结果和酶联免疫吸附法检测结果相一致,说明这种方法能用于现场快速检测牛奶中 AFM_1 。

磁珠免疫层析技术是一项新兴检测技术,磁珠制备工艺及其敏感性、高特异结合等方面的进一步研究,将使该技术在毒素检测中有更好的应用前景。

3.4 其它侧流免疫层析技术

脂质体具有与生物膜类似的膜结构,具有可塑性。它作为载体微球,能够包埋大量信号分子,放大了免疫信号,膜上能嵌合多个抗原抗体分子。与传统的荧光染料相比,脂质体还具有专一性和高效性的

优点, 只对抗原与抗体的特异性吸附进行检测, 避免了非特异性吸附的干扰, 提高了检测的灵敏度和选择性。Ho 等^[55]建立了用脂质体包被有色染料标记 AFB₁ 方法, 可用作农产品和食品 AFB₁ 成本低廉的快检方法。样品中待测物与一定量的脂质体标记 AFB₁ 共同竞争抗体。当迁移通过硝酸纤维素膜时, 被固定的有限抗体捕捉, 检测线上脂质体的荧光强度与待测物浓度成反比, 通过目测半定量分析毒素含量, 或仪器来检测荧光强度, 进而分析待测物含量。该方法能检出 20 ng 的 AFB₁, 检测时间不足 12 min。

表1 免疫层析试纸条在真菌毒素检测中的应用

Table 1 Application of immunochromatographic test strip in Mycotoxins detection

分析物 Analyte	标记物 Signal report	检出限 LOD	检测时间 Detection time (min)	检测样本 Food samples	参考文献 Reference
AFM ₁	胶体金颗粒 Gold nanoparticle	20 ng/mL	17	牛奶 Milk	[37]
AFB ₁ , ZEA, DON	胶体金颗粒 Gold nanoparticle	0.03 μg/kg 1.6 μg/kg 10 μg/kg	15	小麦、玉米 Wheat, corn	[39]
AFM ₁	磁珠颗粒 Magnetic Nanobead	0.1 ng/mL	10	原料奶样品 Raw milk	[40]
AFB ₁	胶体金颗粒 Gold nanoparticle	肉眼 160 pg/mL Detected visually 仪器 30 pg/mL Instrumental detection	10	不同浓度 AFB ₁ 稀释液 Serial dilutions of AFB ₁	[41]
AFB ₁	量子点微球 Quantum dot beads	0.42 pg/mL	15	玉米 Corn	[42]
AFB ₁	AgAu 纳米颗粒 A silver core and a gold shell (AgAu)	0.1 ng/mL	<15	大米、小麦、向日葵、棉花、辣椒、杏仁 Rice, wheat, sunflower, cotton, chillies, and almonds	[43]
AFB ₁	胶体金颗粒 Gold nanoparticle	10 μg/mL	<10	AFB ₁ -PBS 系列稀释液 AFB ₁ -PBS serial dilutions	[44]
AFB ₁	胶体金颗粒 Gold nanoparticle	1 ng/mL	<15	花生、普洱茶、植物油、饲料、玉米 Peanut, puer-tea, vegetable oil, feedstuff, corn	[45]
AFB ₁	吖啶二羧菁 (Cy5) Cyanine 5	0.1 ng/mL 0.3 ng/mL	<30	AFB ₁ 缓冲液 玉米 Corn	[46]
AFB ₁	胶体金颗粒 Gold nanoparticle	2.0 ng/mL	<10	咖啡、红曲米和玉米等食品和饲料 Coffee, red yeast rice, corn	[47]
AFB ₁ AFB ₂	胶体金颗粒 20 nm Gold nanoparticle	0.1 ng/mL	<5	大米, 玉米, 大麦, 花生, 小麦, 大豆, 牛奶 Rice, corn, barley, peanut, wheat, and soybean, milk	[48]
AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ , AFG ₂	金纳米颗粒 Gold nanoparticle	0.03 ng/mL 0.06 ng/mL 0.12 ng/mL 0.25 ng/mL	15	花生 Peanuts	[49]
AFB ₁ , OTA ^c , ZEA	胶体金颗粒 Gold nanoparticle	0.25 ng/mL 0.5 ng/mL 1 ng/mL	20	花生, 玉米, 大米 Peanuts, corn, rice	[50]
AFM ₁	金纳米颗粒 Gold nanoparticle	1.0 ng/mL	<10	牛奶 milk	[51]
AFB ₂	磁纳米金微球 Magnetic nanogold microspheres	0.9 ng/mL	<15	花生 榛子 开心果 杏仁 Peanuts, hazelnuts, pistacia, almonds	[52]
AFB ₁ ZEA	胶体金颗粒 Gold nanoparticle	5 μg/kg 50 μg/kg	-	玉米、水稻、小麦 Corn, rice, wheat	[53]
AFB ₁	Eu(III) 标记	可实现定量检测 Quantitative detection	<15	油料饼粕 Oilseed meals	[54]

续表 1(Continued to Table 1)

分析物 Analyte	标记物 Signal report	检出限 LOD	检测时间 Detection time (min)	检测样本 Food samples	参考文献 Reference
AFB ₁	封装可见染料的脂质体 Liposomes encapsulating a visible dye	20 ng	< 12	脱脂奶粉 Nonfat dry milk powder	[55]
总黄曲霉毒素 (AFB ₁ + AFB ₂ + AFG ₁ + AFG ₂)	40 nm 金纳米颗粒 Gold nanoparticle	1 μg/kg	10	玉米 Corn	[56]
AFB ₁	胶体金颗粒 Gold nanoparticle	0.5 ng/mL 10 μg/kg	-	AFB ₁ 标准液 AFB ₁ standard solution 食品 Foodstuff	[57]
AFB ₁	硅胶荧光微粒 Fluorescence particle	0.3 μg/kg	-	花生、稻米、植物油 Peanut, rice, vegetable oil	[58]
AFB ₁	金纳米颗粒 Gold nanoparticle	0.06 ng/mL	> 15	花生 Peanut	[59]
(AFB ₁ + AFB ₂ + AFG ₁ + AFG ₂)	金纳米颗粒 Gold nanoparticle	1.0 μg/kg	< 20	玉米 Corn	[60]
AFB ₁	荧光微球 Fluorescent micro-spheres	2.5 μg/L	- Not indicated	酱油 Soybean sauce	[61]
AFB ₁	40 nm 金纳米颗粒 Colloidal gold	5 μg/kg.	-	玉米 Corn	[62]
ZEN	量子点微球 Quantum-dot (QD) submicrobeads (QBs)	0.0625 ng/mL 3.6 mg/kg	10	ZEN 标准品 ZEN standard solution 玉米 Corn	[63]
FB ₁	荧光微球 Fluorescent micro-spheres	0.12 ng/mL	15	玉米 Corn	[64]
OTA	胶体金颗粒 Gold nanoparticle	肉眼 0.2 ng/mL 计算 0.25 ng/mL	15	大米、小麦、玉米、大豆 Rice, wheat, corn and soybean	[65]

PBS: 磷酸缓冲液(Phosphate buffer solution); AFM₁: Aflatoxin M₁; AFB: Aflatoxin B; AFG: Aflatoxin G; OTA: Ochratoxin; ZEA: Zearalenone; FB₁: Fumonisation.

4 前景与展望

近年来,随着纳米技术及单克隆抗体技术的成熟,为免疫层析技术真菌毒素的检测应用注入了新的元素,使得检测灵敏度和特异性不断提高,检出限甚至达到 pg 水平。侧流免疫层析法以其简便、快速、灵敏及经济等优点而被越来越多地应用于大量样品的快速检测,逐渐显示出其巨大的发展潜力和广阔的应用前景。但是,该技术在真菌毒素快速分析应用领域仍存在着一些问题,需要深入研究和开发。目前,主要面临的问题及发展的趋势简述如下:

(1) 受检毒素高效多元检测 真菌毒素污染范围较广,多种真菌毒素常常同时存在于同一种食品或饲料中,且存在多种共存效应,对人类健康和家畜构成严重威胁。目前,用于单一种类黄曲霉毒素检测的免疫层析试纸条较多,研究多种毒素同时检测的试纸条较少,进一步发挥试纸条快速检测的主要策略有:(i)采用单膜多元受体,可以在同一膜上实现多种毒素的同时检测^[39,48,50];(ii)利用纳米材料(如量子点 QDs)特有的量子尺寸效应,如不同粒子尺寸的 QDs 可以在同一波长被激发,发射出不同波长的光谱。如此,可以同时毒素分子进行分析;(iii)将纳米材料和层析方式有效结合在一起,无须质控线直接达到多检测的目的。采用斑点免疫法和多量子标记不同偶联抗原应用在检测区上,与传统胶体金免疫层析同时检测多种真菌毒素相比,省去了交联的检测线,节约了试纸条的空间。实现多种真菌联合检

测,不仅可有效节约检测成本,又可实现快速高效检测,是今后试纸条研究的方向。

(2) 适应检测基质的复杂性 目前,侧流层析检测技术集中于一些基质较简单的农产品、食品或饲料,诸如花生、玉米、小麦等的真菌毒素检测。而在基质较复杂的中药中的应用较少。本课题组前期研究发现,莲子、生姜等药食同源的药材极易受黄曲霉毒素的污染,而且中药中除 AF 以外同样存在着 OTA、DON、FB₁ 等多种真菌毒素的共同污染^[75,76]。这些受污染的中药不仅会对人的健康产生威胁,而且会阻碍中药现代化进展。在含有多样、复杂成分的中药中,如何降低性质迥异的复杂成分对超痕量、剧毒的真菌毒素检测的影响是免疫层析技术在中药中检测应用的棘手问题。有研究表明:(i)样品的提取采取水溶液而非有机溶剂^[56],可明显改善毒素的回收率,在提取过程中加入适量的 CaCl₂^[77],试纸条 T 线颜色梯度变化,不同浓度加标回收率等参数均有明显改善,前处理效果明显;(ii)采用 Tris-HCl 对样品进行稀释可以减少基质效应及有机溶剂甲醇对检测的影响^[46],对样品进行多倍稀释^[72],样品稀释液过 Al₂O₃ 样品净化柱^[58]可减少基质效应;(iii)在提取过程中剧烈震荡,提取时间较长,加较多的提取液,通过“不安定理论”可以了解到这些提取条件均会增加不安定系数,增强黄曲霉毒素结合到谷物或使用容器上的结合力,为此,在提取中缓和震荡,缩短提取时间,加入少量提取液及含吐温的 PB 液均可提高黄曲霉毒素回收率,降低基质效应^[48],为在更复杂的中药基质的检测奠定基础,因此,寻找一些更为有效的前处理方法,特异性亲和力更高的配体,新型标记纳米颗粒在侧流免疫层析技术应用于更多复杂基质的中药中有很深远的意义,将成为今后研究的重点。

(3) 寻找抗原替代品,实现“绿色化”检测 真菌毒素为小分子化合物,侧流免疫层析检测法需要将其偶联大分子蛋白(如牛血清白蛋白)作为竞争抗原,此类竞争抗原有毒害、获取困难、价格昂贵等问题^[78]。近来,噬菌体展示技术来产生模拟表位肽取代抗原,既降低了制备成本,又提升了抗体效能,真正实现无毒无害检测。Lai 等^[79]将 OTA 模拟表位肽用于胶体金免疫层析试纸条,该试纸条检出限为 10 ng/mL。为其它毒素无毒检测开辟了道路。Wang 等^[80]筛选出噬菌体展示纳米抗体 Phage2-5,将其用作黄曲霉毒素的替代抗原,用 ELISA 方法证明该抗体具有良好的模拟黄曲霉毒素抗原的生物活性,有望用于侧流免疫层析中黄曲霉毒素的替代品,实现黄曲霉毒素绿色免疫分析。

(4) 基于适配体层析技术的检测 侧流免疫层析法在真菌毒素检测中应用主要是抗原抗体法即免疫学方法,但这种方法需要制备特异性抗体,而抗体制备成本较高,时间长;抗体本身具有不稳定性;无法分离交叉反应的物质,受免疫源性等的限制,相比抗体,适配体易于合成和修饰,制备时间短,费用低;较稳定,由温度引起的变性是可逆的;没有明显的免疫源性;可以分离结构相似的或交叉反应的物质^[81]。Shim 等^[46]建立了基于适配体的简便、快速检测黄曲霉毒素的方法。样品中 AFB₁ 和吡啶二羧菁染料分子(cy5)标记的 DNA 探针竞争结合生物素修饰的适配子,链霉亲和素和 anti-cy5 的抗体分别固定在试纸条的膜上作为检测线和质控线,随后将该试纸条插入到含待测物溶液、适配体和 DNA 探针的混合液中,存在待测物的样品,待测物首先结合适配体上。而有 cy5 染料分子标记的探针结合在残留位点的适配体上,经 ChemiDoc™ MP System 荧光系统检测荧光强度,该试纸条的检出限为 0.1 ng/mL,检测时间只需 30 min。

(5) 实现半定量和定量检测 不同的纳米材料在检测真菌毒素中有不同的优缺点,磁珠、荧光素标记物的试纸条在进行定性或定量分析中,需要复杂、大型、或单一的仪器设备,难以满足基层单位对真菌毒素现场快速检测。目前,胶体金免疫层析试纸条可直接通过肉眼观察检测条带颜色深浅对检测结果进行判定,在真菌毒素检测中应用最为广泛,但较多试纸条只能定性或半定量,而新型微型化、便携化、自动化定量检测仪器研究成为免疫层析检测领域发展的新趋势。

总之,随着纳米技术、单克隆抗体及其它分子生物学技术的融合,侧流免疫层析技术将会在真菌毒素的检测方面显示其巨大的优越性,也将在更为广阔的领域得到发展和应用。

References

- 1 LI Rui, CUI Hua, XIE Gang, WANG Song-Xue. *Grain Sci. Tech. Eco.*, **2013**, 38(1): 21-23
黎睿,崔华,谢刚,王松雪. *粮食科技与经济*, **2013**, 38(1): 21-23

- 2 Beggs M , Novotny M , Sampedro S , Devore J , Gordon J , Osikowicz G. *Clin. Chem.* , **1989** , 36(6) : 1084 – 1085
- 3 Chen C X , Wu J. *Sensors* , **2012** , 12(9) : 11684 – 11696
- 4 Mirasoli M , Buragina A , Dolci L S , Guardigli M , Simoni P , Mintoya A , Maiolini E , Girotti S , Roda A. *Anal. Chim. Acta* , **2012** , 721: 167 – 172
- 5 Le T , Yan P F , Xu J , Hao Y J. *Food Chem.* , **2013** , 138: 1610 – 1615
- 6 Wang Z Z , Zhi D J , Zhao Y , Zhang H L , Wang X , Ru Y , Li H Y. *Int. J. Nanomed.* , **2014** , 9: 1699 – 1707
- 7 Lindsley M D , Mekha N , Baggett H C , Surinthong Y , Autthateinchai R , Sawatwong P , Harris J R , Park B J , Chiller T , Balajee S A , Poonwan N. *Clin. Infect. Dis.* , **2011** , 53(4) : 321 – 325
- 8 Kikkas I , Mallone R , Larger E , Valland H , Morel N. *PLoS One* , **2014** , 9(8) : e106611
- 9 Berlina A N , Taranova N A , Zherdev A V , Vengerov Y Y , Dzantiev B B. *Anal. Bioanal. Chem.* , **2013** , 405: 4997 – 5000
- 10 Chen R , Li H , Zhang H , Zhang S X , Shi W M , Shen J Z , Wang Z H. *Anal. Bioanal. Chem.* , **2013** , 405: 6783 – 6789
- 11 Hua X D , Qian G L , Yang J F , Hu B S , Fan J Q , Qin N , Li G , Wang Y R , Liu F Q. *Biosens. Bioelectron.* , **2010** , 26(1) : 189
- 12 Liu Y H , Xie R , Guo Y R , Zhu G N , Tang F B. *J. Environ. Sci. Health , Part B.* , **2012** , 47(5) : 475 – 483
- 13 Liu G , Han Z , Nie D X , Yang J H , Zhao Z H , Zhang J B , Li H P , Liao Y C , Song S Q , Saeger S D , Wu A. *Food Control* , **2012** , 27(1) : 200 – 205
- 14 Mao X , Wang W , Du T E. *Talanta* , **2013** , 114(30) : 248 – 253
- 15 Mens P F , de Bes H M , Sondo P , Laochan N , Keerecharoen L , Amerongen A V , Flint J , Sak J R S , Proux S , Tinto H , Schallig H D F H. *J. Clin. Microbiol.* , **2012** , 50(11) : 3520 – 3525
- 16 Bamrungsap S , Apiwat C , Chantima W. Dharakul T , Wiriyaichaiorn N. *Microchim Acta* , **2014** , 181: 223 – 230
- 17 Shibahara Y , Ii T , Wang J , Yamada S. Shiomi K. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* , **2014** , 55(2) : 88 – 93
- 18 Juan C , Raiola A , Mañes J , Ritieni A. *Food Control* , **2014** , 39: 227 – 236
- 19 Es' hagh Z , Sorayaei H , Samadi F , Masrounia M , Bakherad Z. *J. Chromatogr. B* , **2011** , 879(28) : 3034 – 3040
- 20 Anthony L , Anna Q , Alan F , Andrew A , Bert P , Mary T , Gordon S. *J. AOAC Int* , **2011** , 94(2) : 572 – 588
- 21 Khayoona W S , Saada B , Lee T P , Salleh B. *Food. Chem.* , **2012** , 133(2) : 489 – 496
- 22 Hashemi M , Taherimaslaka Z , Rashidi S. *J. Chromatogr. B* , **2014** , 960(1) : 200 – 208
- 23 Wang L Z , Wang Z , Gao W W , Chen J , Yang M H , Kuang Y , Huang L F , Chen S L. *Food. Chem.* , **2013** , 138(2-3) : 1048 – 1054
- 24 Beltrána E , Ibáñez M , Sancho J V , Cortés M Á , Yusà V , Hernández F. *Anal. Methods* , **2011** , 126(2) : 737 – 744
- 25 Bao L , Liang C Z , Trucksess M W , Xu Y L , Lv N , Wu Z X J P , Fry F S. *J. AOAC Int* , **2013** , 96(5) : 1017 – 1018
- 26 Nardiello D , Lo Magro S , Iammarino M , Palermo C , Muscarella M , Centonze D. *Curr. Anal. Chem.* , **2014** , 10(3) : 355 – 365
- 27 Leong Y H , Ismail N , Latiff A A , Manaf N A , Rosma A. *J. World Mycotoxin* , **2011** , 4(2) : 119 – 127
- 28 Soleimany F , Jinap S , Abas F. *Food. Chem.* , **2012** , 130(4) : 1055 – 1060
- 29 Biancardi A , Dall' Asta C. *Food Addit. Contam.* , **2014** , 31(10) : 1736 – 1743
- 30 GB/T 30955-2014 , *Determination of AF B1 , B2 , G1 , G2 in Feed. IC-HPLC*. National Standards of the People's Republic of China
饲料中黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 的测定 免疫亲和柱净化-高效液相色谱法[S]. 中华人民共和国国家标准. GB/T 30955-2014
- 31 GB/T 18979-2003 , *Determination of AFs in Food. General Administration of Quality Supervision , Inspection and Quarantine of the People's Republic of China*
食品中黄曲霉毒素的测定 免疫亲和层析净化净化高效液相色谱法和荧光光度法. 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 18979-2003
- 32 GB/T 23212-2008 , *Determination of AF B1 , B2 , G1 , G2 , M1 , M2 in Milk and Milk Powder*. General Administration of Quality Supervision , Inspection and Quarantine of the People's Republic of China
牛奶和奶粉中黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2、M1、M2 的测定 液相色谱-荧光检测法. 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 23212-2008

- 33 Gao X F, Xu L P, Zhou S F, Liu G D, Zhang X J. *Am. J. Biomed. Sci.*, **2014**, 6(1): 41–57
- 34 HAN Zhen, ZHAO Wen-Hong, QIAN Min, BAI Wei-Dong. *J. Guangzhou Agric. Sci.*, **2011**, 13: 93–96
韩珍, 赵文红, 钱敏, 白卫东. *广东农业科学*, **2011**, 13: 93–96
- 35 Ngom B, Guo Y C, Wang X L, Bi D. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2010**, 397: 1113–1135
- 36 SHAO Wei, BA Ze-Zhong, GUANG Shu-Fang, WANG Wei-Ping, HU Ye-Jun, SHENG Hui-Ping. *Cereal Feed Ind.*, **2013**, (8): 58–62
邵伟, 巴泽忠, 管树舫, 王伟萍, 胡叶军, 盛慧萍. *粮食与饲料工业*, **2013**, (8): 58–62
- 37 Anfossi L, Baggiani C, Giovannoli C, Biagioli F, D'Arco G, Gianfranco G. *Anal. Chim. Acta*, **2013**, 722(5): 75–80
- 38 SHEN Xing-Can, HE Xi-Wen, LIANG Hong. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2003**, 31(7): 880–885
沈星灿, 何锡文, 梁宏. *分析化学*, **2003**, 31(7): 880–885
- 39 Song S Q, Liu N, Zhao Z Y, Ediage E N, Wu S L, Sun C P, Saeger S D, Wu A. *Anal. Chem.*, **2014**, 86: 4995–5001
- 40 Huang Y M, Liu D F, Lai W H, Xiong Y H, Yang W C, Liu K, Wang S Y. *Chin. J. Anal. Chem.*, **2014**, 42(5): 654–659
- 41 Urusov A E, Zherdev A V, Dzantiev B B. *Microchim. Acta.*, **2014**, 181(15-16): 1939–1946
- 42 Ren M L, Xu H Y, Huang X L, Kuang M, Xiong Y H, Xu Y, Chen H Y, Wang A. *ACS Appl. Mater. Interfaces.*, **2014**, 6: 14215–14222
- 43 Liao J Y, Li H. *Microchim. Acta*, **2010**, 171: 289–295
- 44 Moon J, Kim G, Lee S. *Mater.*, **2012**, 5: 634–643
- 45 Zhang D H, Li P W, Yang Y, Zhang Q, Zhang W, Xiao Z, Ding X X. *Talanta*, **2011**, 85: 736–742
- 46 Shim W B, Kim M J, Mun H, Kim M G. *Biosens. Bioelectron.*, **2014**, 62: 288–294
- 47 Liu B H, Hsu Y T, Lu C C, Yu F Y. *Food Control.*, **2013**, 30(1): 184–189
- 48 Masinde L A, Sheng W, Xu X, Zhang Y, Yuan M, Kennedy I R, Wang S. *Microchim. Acta*, **2013**, 180(9-10): 921–928
- 49 Zhang D H, Li P W, Zhang Q, Zhang W. *Biosens. Bioelectron.*, **2011**, 26(6): 2877–2882
- 50 Li X, Li P W, Zhang Q, Li R, Zhang W, Zhang Z W, Ding X X, Tang X Q. *Biosens. Bioelectron.*, **2013**, 49: 426–432
- 51 Wang J J, Liu B H, Hsu Y T, Yu F Y. *Food Control*, **2011**, 22: 964–969
- 52 Tang D, Saucedo J C, Lin S O, Basova E, Goryacheva I, Biselli S, Lin J, Niessner R, Knopp D. *Biosens. Bioelectronics*, **2009**, 25(2): 514–518
- 53 ZHANG Zhen, ZHEN Li-Na, PEI Shi-Chun. *J. Heilongjiang Bayi Agri. Univ.*, **2010**, 22(2): 69–73
张甄, 郑丽娜, 裴世春. *黑龙江八一农垦大学学报*, **2010**, 22(2): 69–73
- 54 LI Jing, LI Pei-Wu, ZHANG Qi, DING Xiao-Xia, ZHANG Wen, ZHANG Zhao-Wei. *Chin. J. Oil Crop Sci.*, **2014**, 36(2): 256–262
李静, 李培武, 张奇, 丁小霞, 张文, 张兆威. *中国油料作物学报*, **2014**, 36(2): 256–262
- 55 Ho J A A, Wauchope R D. *Anal. Chem.*, **2002**, 74: 1493–1496
- 56 Anfossi L, D'Arco G, Calderara M, Baggiani C, Giovannoli C, Giraudi G. *Food Addit. Contam.*, **2011**, 28(2): 226–234
- 57 Chen X Q, Lu S S, Sun Q, Yang J C, Shi G Q. *Adv. Mater. Res.*, **2013**, 726: 1279–1282
- 58 ZHANG Zhao-Wei, LI Pei-Wu, ZHANG Qi, DING Xiao-Xia. *China Agri. Sci.*, **2014**, 47(18): 3668–3674
张兆威, 李培武, 张奇, 丁小霞. *中国农业科学*, **2014**, 47(18): 3668–3674
- 59 Zhang D H, Li P W, Zhang Q, Li Y, Zhang W, Ding X X, Li C M. *Anal. Chim. Acta*, **2012**, 740: 74–79
- 60 XU Zhen-Bin, HU Dong-Qing, LI Nan, LÜ Yao, WANG Xiong. *Grain Sci. Tech. Eco.*, **2013**, 38(3): 24–26
徐振斌, 胡东青, 里南, 吕瑶, 王雄. *粮食科技与经济*, **2013**, 38(3): 24–26
- 61 Liu D F, Huang Y M, Chen M H, Wang S Y, Liu K, Lai W H. *Food Control.*, **2015**, 50: 659–662
- 62 Beley M A J, Tevea F G, Madamba R S B. *Int. Res. J. Biol. Sci.*, **2013**, 2(5): 45–48
- 63 Duan H, Chen X, Xu W, Fu J H, Xiong Y H, Wang A. *Talanta*, **2015**, 132: 126–131
- 64 Wang Z H, Li H, Li C L, Yu Q, Shen J Z, De Saeger S. *J. Agr. Food Chem.*, **2014**, 62(27): 6294–6298
- 65 Majdinasab M, Sheikh-Zeinoddin M, Spleimanian-Zad S, Li P W, Zhang Q, Li X, Tang X Q. *J. Chromatogr. B*, **2014**, 974(1): 147–154

- 66 Majdinasab M , Sheikh-Zeinoddin M , Soleimani-Zad S , Li P W , Zhang Q , Li X , Tang X Q , Li J. *Food Control* , **2015** , 47: 126 – 134
- 67 Venkataramana M , Navya K , Chandranayaka S , Priyanka S R , Murali S , Batra H V. *J. Food Sci. Technol.* , **2014** , 51(9) : 1920 – 1928
- 68 Li Y S , Zhou Y , Lu S Y , Guo D J , Ren H L , Meng X M , Zhi B H , Lin C , Wang Z , Li X B , Liu Z S. *Food Control* , **2012** , 24(1) : 72 – 77
- 69 Wang Y K , Shi Y B , Zou Q , Sun J H , Chen Z F , Wang H A , Li S Q , Yan Y X. *Food Control* , **2013** , 31(1) : 180 – 188
- 70 Huang Z B , Xu Y , Li L S , Li Y P , Zhang H , He Q H. *Food Control* , **2012** , 28(1) : 7 – 12
- 71 Lee S , Kim G , Moon J. *Sensors* , **2013** , 13: 5109 – 5116
- 72 HE Ya-Ping , MA Liang , LI Pei-Wu. *Chin. J. Oil Crop. Sci.* , **2013** , 437 – 440
贺亚萍 , 马良 , 李培武. *中国油料作物学报* , **2013** , 437 – 440
- 73 WANG Ping , MAO Hong-Ju. *Chin. Biotechnol.* , **2011** , 31(9) : 85 – 88
王萍 , 毛红菊. *中国生物工程杂志* , **2011** , 31(9) : 85 – 88
- 74 LIU Ru-Ping , LIU Jun-Tao , Wang , Mi-Xia , LUO Jin-Ping , LIU Chun-Xiu , CAI Xin-Xia. *Chinese J. Anal. Chem.* , **2009** , 37(12) : 1749 – 1753
刘儒平 , 刘军涛 , 王蜜霞 , 罗金平 , 刘春秀 , 蔡新霞. *分析化学* , **2009** , 37(12) : 1749 – 1753
- 75 Kong W J , Wei R W , Logrieco A F , Wei J H , Wen J , Xiao X H , Yang M H. *Food. Chem.* , **2014** , 146: 320 – 326
- 76 Wen J , Kong W J , Hu Y C , Wang J , Yang M H. *Food Control.* , **2014** , 43: 82 – 87
- 77 LI Min , CHEN Ran , LI Pei-Wu , ZHANG Qi , ZHANG Wen , WANG Rui , LI Ran. *Chin. J. Oil Crop. Sci.* , **2014** , 36(1) : 117 – 121
李敏 , 陈冉 , 李培武 , 张奇 , 张文 , 王睿 , 李冉. *中国油料作物学报* , **2014** , 36(1) : 117 – 121
- 78 Anfossi L , Baggiani C , Giovannoli C , D'Arco G , Gianfranco G. *Anal. Bioanal. Chem.* , **2013** , 405: 467 – 480
- 79 Lai W H , Fung D Y C , Yang X , Liu R R , Xiong Y H. *Food Control* , **2009** , 20(9) : 791 – 795
- 80 Wang Y R , Li P W , Majkova Z , Bever C R , Kim H J , Zhang Q , Dechant J E , Gee S J , Hammock B D. *Anal. Chem.* , **2013** , 85: 8298 – 8303
- 81 LIU Teng-Fei , YANG Dai-Feng , DENG Jin-Hua , DONG Ming-Hui , DENG Qing-Qing. *Biotechnol Bull.* , **2013** , 4: 40 – 48
刘腾飞 , 杨代凤 , 邓金花 , 董明辉 , 邓青青. *生物技术通报* , **2013** , 4: 40 – 48

Application of Nanoparticle Probe-based Lateral Flow Immunochromatography Technology in Mycotoxins Detection

XIE Yan-Jun^{1,2} , YANG Ying^{2,3} , KONG Wei-Jun² , YANG Shi-Hai^{*1} , YANG Mei-Hua^{*2}

¹(College of Traditional Chinese Medicine , Jilin Agricultural University , Changchun 130118 , China)

²(Institute of Medicinal Plant Development , Chinese Academy of Medical Science &
Peking Union Medical College , Beijing 100193 , China)

³(Pharmacy College , Chengdu University of Traditional Chinese Medicine , Chengdu 611137 , China)

Abstract Mycotoxins , the secondary metabolites of fungi , are generally recognized as potent carcinogens and teratogens with great harm to human health. Under the trend of ‘batch testing’ , lateral flow immunochromatography (LFIC) technique has been widely used for the detection of mycotoxins in foods , feeds , and agricultural products because of its simplicity , low cost and rapidness. In this paper , the current research progress of LFIC is reviewed. The recent application advances of LFIC with various nanomaterial labeled in the detection of mycotoxins are overviewed and prospected. This review will provide useful references for the future development and application of LFIC for mycotoxin detection.

Keywords Nanomaterials; Lateral flow immunochromatography; Mycotoxin; Review

(Received 25 November 2014; accepted 14 January 2015)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 81274072 , 81473346)