

食品流通与包装

可食包装纸原料中玉米赤霉烯酮的快速检测研究

俞大海, 毛佳甜*, 王一铭, 徐丽广, 马伟, 刘丽强, 匡华, 胥传来
(江南大学, 无锡 214092)

摘要: **目的** 针对可食包装纸原料中的玉米赤霉烯酮进行检测, 采用以酶联免疫法为主, 胶体金试纸条检测法为辅的免疫分析方法, 为实时监控食品的包装、包装存储条件等提供有效技术手段。**方法** 实验主要选取可食包装纸原料玉米粉作为检测对象, 为提高酶联免疫法检测结果的准确性, 通过添加回收实验, 以最高的回收率为判断标准对应得到最优的前处理条件; 先通过标准曲线的封闭温度和温育时间的优化, 再进行玉米赤霉烯酮的前处理方式 (包括对提取液浓度、稀释液的 pH 值、稀释液中有机溶剂的浓度等 3 个方面进行优化, 以添加回收结果作为判断依据) 进行测试。同时, 将优化后的实验结果组装到胶体金试纸条, 并对掺杂玉米赤霉烯酮的玉米粉进行快速检测。**结果** 前处理最适条件, 甲醇溶液的体积分数为 50%, 缓冲液 pH 值为 8.0 且含甲醇的体积分数为 10%, 在该条件下测得的回收率最高。在该优化条件下, 组装的胶体金试纸条其检测灵敏度可达 0.75 ng/mL。**结论** 该检测结果与添加标品所测实验结果基本一致, 可以确定该胶体金试纸条是一种快速有效的检测方法。

关键词: 玉米赤霉烯酮; ELISA; 胶体金; 前处理

中图分类号: TB487; TS206 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2019)01-0087-06

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2019.01.013

Rapid Detection of Zearalenone in Edible Packaging Materials

YU Da-hai, MAO Jia-tian, WANG Yi-ming, XU Li-guang, MA Wei, LIU Li-qiang,
KUANG Hua, XU Chuan-lai

(Jiangnan University, Wuxi 214092, China)

ABSTRACT: The work aims to detect zearalenone in edible packaging materials, and provide effective technical means for real-time monitoring of food packaging and packaging storage conditions, etc., mainly through enzyme-linked immunosorbent assays, supported by colloidal gold test strips. Corn flour (edible packaging material) was mainly selected as the experimental detection object. Through the addition recovery experiments, the maximum recovery rate was used to obtain the optimal pretreatment conditions, thereby improving the accuracy of the detection results of enzyme-linked immunosorbent assays. After optimizing the closed temperature and incubation time of the standard curve, the pretreatment method of zearalenone (including optimizing the concentration of the extractive solution, the pH value of the dilution and the concentration of organic solvent in the dilution, with the addition recovery result as the judgment basis) was tested. Meanwhile, the optimized experimental results were assembled into the colloidal gold test strips, and the zearalenone-containing corn flour was quickly detected. Through experiments, it was determined that the optimal conditions for the pretreatment were 50% (volume fraction) methanol solution, and buffer solution at pH 8.0 and with 10% (volume

收稿日期: 2018-06-29

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (21673104); 国家自然科学基金重点研发项目 (2017YFC1601102)

作者简介: 俞大海 (1997—), 男, 江南大学本科生, 主攻食品科学与工程。

通信作者: 马伟 (1986—), 男, 江南大学副教授, 主要研究方向为食品检测; 刘丽强 (1979—), 男, 江南大学副研究员, 主要研究方向为食品包装安全检测。

*毛佳田与俞大海对这项工作做出同样的贡献。

fraction) methanol. The recovery rate measured under this condition was the highest. In such optimal conditions, the detection limit of the assembled colloidal gold test strip could reach 0.75 ng/mL. The detection results are basically the same as the experimental results measured by addition level. It can be confirmed that the colloidal gold test strip is an effective rapid detection method.

KEY WORDS: zearalenone; ELISA; colloidal gold; pretreatment

在食品(粮食谷物, 动物饲料)包装存储的过程中, 包装的有无以及好坏对保证食品的质量安全显得尤为重要。玉米赤霉烯酮(ZEN)是一种主要由玉米赤霉菌、禾谷镰刀菌、三线镰刀菌等真菌产生的一种次级代谢产物, 在大米、玉米、小麦和燕麦等粮食都发现这种毒素的存在, 且很容易被这种菌株污染而富集大量玉米赤霉烯酮^[1-2]。经过调查不同包装的玉米粉中玉米赤霉烯酮的含量表明: 散装玉米粉的检出率(74%)远高于预包装的检出率(34%)^[3]。另外, 研究调查市售食品中玉米赤霉烯酮的污染状况的表明: 在包装方面, 相对于定型包装制品, 散装食品也更容易受到玉米赤霉烯酮的污染, 主要是由于散装食品暴露于空气中, 高热高湿环境容易导致玉米制品的发霉而诱发玉米赤霉烯酮的产生^[4]。玉米赤霉烯酮的微量残留对人体以及畜牧的健康会造成较大的危害, 目前的可食用包装纸原料大多来源玉米, 有必要对其中玉米赤霉烯酮进行快速检测^[5-6]。

玉米赤霉烯酮的毒性在于激活雌激素受体并且影响细胞的合成和代谢, 从而产生严重的中毒症状^[7-8]。在食品领域, 如饲料和粮食谷物(燕麦、高粱、芝麻籽和青贮饲料等)能稳定且大量存在玉米赤霉烯酮。由于玉米赤霉烯酮对人和动物有毒害作用, 国家对玉米赤霉烯酮制定了一系列的限量标准, 我国食品安全标准《GB 2761—2017 食品中真菌毒素限量》中明确规定人食用小麦和玉米中玉米赤霉烯酮的限量为 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[9]。目前, 检测玉米赤霉烯酮常用检测方式主要分为仪器法和免疫法2种。仪器法又分为: 气相色谱法(GC)、气相色谱-质谱法(GC-MS)、薄层色谱法(TLC)、高效液相色谱法(HPLC)、高效液相色谱-质谱法(HPLC-MS)等。气相色谱法适合对饲料和食品中的ZEN做定量定性分析, 因为该方法的灵敏度和回收率都很高。由于该方法对设备的要求比较高, 且在实验室条件下不能顺利进行常规操作, 因此检测时经常与其他方法联用。Zhang等^[10]建立了免疫亲和柱(IAC)-气相色谱(GC)-质谱检测器(MS)方法, 发现玉米赤霉烯酮的最低检测限和定量限可以达到 0.5 ng/kg 和 1.0 ng/kg。薄层色谱法成本低廉, 可以进行定性、半定量或者定量检测。该方法操作过程琐碎费时, 对有机溶剂的消耗量较大, 且灵敏度、重现性和特异性较差, 人的主观因素对实验影响比较大,

容易出现大的误差, 目前只在特殊情况下使用该方法作为仲裁检验的方法。对于高效液相色谱法(HPLC)和超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS), 崔勇等^[11]对比了这2种检测方法的优缺点, 对于检测限 $\geq 5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品, HPLC和UPLC-MS/MS两者都适用, 检出率基本相符, 但是对于检测限 $< 5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品, UPLC-MS/MS具有相对较高的灵敏度, 但是使用成本高, 不适用大批量且快速的检测^[12-15]。目前已报道的免疫测定法包括放射免疫测定法、酶联免疫测定法、化学发光免疫测定法、分子印迹技术等。免疫测定法在快速检测中因具有高灵敏度、易操作、大容量、低成本等优势拔得头筹^[16-17]。胶体金标记技术是以胶体金作为示踪标记物, 应用于抗原、抗体反应一种新型免疫标记技术法。胶体金是由氯金酸在还原剂如白磷、抗坏血酸、鞣酸等作用下, 聚合成特定大小的金颗粒, 并由于静电作用成为一种稳定胶体状态, 故称为胶体金。利用它在碱性环境中带负电荷性质, 与蛋白质抗体分子正电荷基团即静电吸引而牢固结合, 不会发生其他非特异性反应。Anna Yu Kolosova等^[18]采用竞争免疫层析技术检测小麦中ZEN, 抗ZEN单克隆抗体作金标抗体, 玉米赤霉烯酮-牛血清白蛋白作检测带, IgG作质控带, 制得试纸条, 该试纸条最低检测限为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 因此针对酶联免疫法配合胶体金法的优化研究对实现玉米赤霉烯酮的快速检测具有重大意义。它以较低检测限, 迅速地检测出不同包装物中的玉米赤霉烯酮含量, 为评估包装效果的优良、食品的存储条件监控, 给出了高灵敏、快速的判断方法。

文中采用酶联免疫法为主, 胶体金试纸条检测法为辅的免疫分析方法检测可食用包装袋中玉米粉中的玉米赤霉烯酮含量, 优化ELISA法的前处理条件, 从稀释液中有有机溶剂含量、稀释液的pH和提取液浓度这3个方面进行优化。优化的结果通过回收率进行判断, 使检测结果更加准确。同时, 利用胶体金法, 将玉米赤霉烯酮的单克隆抗体修饰到金纳米粒子表面, 将抗原喷到硝酸纤维膜上, 组装成测流免疫层析试纸条, 结合优化的前处理方法, 利用金标记试纸条检测样本中的玉米赤霉烯酮的残留量, 评判玉米粉样品的添加水平和回收率水平, 对包装储存条件提供快速监控具有重要意义。

1 实验

1.1 材料与试剂

主要材料和试剂：辣根过氧化物标记的羊抗小鼠 IgG（艾博抗贸易有限公司）、ZEN 抗体（实验室自制）、ZEN 包被（实验室自制）、Tween-20（中联邦精细化工有限公司）、明胶、硫柳汞、十二水磷酸氢二钠、碳酸氢钠、磷酸二氢钠、一水合柠檬酸、磷酸氢二钠、氯化钠、氯化钾、碳酸钠、甲醇、十水合硼酸钠、乙腈、磷酸二氢钾、玉米粉（超市包装）。

1.2 仪器与设备

主要仪器和设备：MuLtiskan Mks 酶标仪，南京德铁实验设备有限公司；XW-80A 微型漩涡混合仪，上海达姆实业有限公司；DHG-9140A 电热恒温鼓风干燥箱，上海精宏实验设备有限公司；WF80-2 微孔板恒温孵育器，杭州佑宁仪器有限公司；Neofuge 高速冷冻离心机，宜兴市华鼎机械有限公司。

2 方法

主要通过以下几个方面进行试验：工作点的确定、标准曲线的建立、标准曲线的优化、ELISA 法的前处理优化、检测样品预处理、玉米赤霉烯酮样品添加回收实验、胶体金试纸条检测实验。其中将 ZEN 包被液逐步稀释，每个浓度滴加 3 列；将 ZEN 抗体稀释，每个浓度滴 2 行，多次重复实验，确定最稳定的工作点，即最佳包被浓度和抗体浓度。标准曲线的优化主要通过封闭温度（25, 30, 37, 43 ℃）和温育时间（15, 20, 30, 45 min）两方面进行优化，测定 3 种不同封闭温度和温育时间对应的 OD 值，观察比较半抑制率（IC₅₀）， $A_{\max}$ 和 $A_{\max}/IC_{50}$ 等参数的变化。ELISA 法的前处理优化，主要优化提取剂浓度、PBS 缓冲液中的有机溶剂浓度和 PBS 缓冲液的 pH 值等 3 个条件，通过优化这些条件，提高玉米赤霉烯酮的回收率。在胶体金试纸条检测试验，通过硝化纤维素膜上包被组装的玉米赤霉烯酮抗原作为检测线。然后检测已知含有浓度的玉米赤霉烯酮的样品，对比 T 线的显色范围，确定检测范围是否和已知浓度一致。

3 结果分析

3.1 工作浓度的确定

工作点浓度的确定通过多次实验计算取平均值。吸光值过低或过高都会导致不稳定所以都不能取，用 ELISA 法进行检测时，一般选择 1.6 左右的吸光值。随着包被浓度和抗体浓度的降低，对应的吸光值不断降低，只有当抗体质量浓度为 0.3 μg/mL 时，包被质量浓

度为 1 μg/mL，吸光值在 1.6 左右，多次实验的结果一致，且比较稳定，所以确定这 2 个浓度为理想浓度。

3.2 标准曲线的建立及优化

预实验期间在封闭温度 25 ℃，温育反应 20 min 条件下，标准曲线的拟合度为 $R^2=0.987$ ， $IC_{50}=0.43$ ng/mL。由于标准曲线对实验结果影响很大，而该条件下建立的标准曲线拟合度不算太高，所以针对封闭温度和温育时间这 2 个因素进行优化，提高实验结果的准确性。

3.2.1 封闭温度的优化

添加封闭液后，分别放置在 25, 30, 37, 43 ℃ 这 4 种不同温度的恒温干燥箱中，并测定 4 种不同温度对应的 OD 值，经分析对应的 $A_{\max}$ ， IC_{50} 和 $A_{\max}/IC_{50}$ 值，选择 37 ℃ 作为封闭温度。因为分析表 1 数据可知，温度从 25 ℃ 升高至 43 ℃ 时， $A_{\max}$ 和 IC_{50} 都降低，在 43 ℃ 时 $A_{\max}/IC_{50}$ 值最大，但是 43 ℃ 时 $A_{\max}$ 过小，所以选择 37 ℃ 作为封闭温度。

表 1 封闭温度的优化
Tab.1 Closed temperature optimization

封闭温度/℃	$A_{\max}$	$IC_{50}/(ng \cdot mL^{-1})$	$A_{\max}/IC_{50}$
25	1.786	0.422	4.23
30	1.752	0.41	4.294
37	1.768	0.398	4.365
43	1.455	0.185	7.864

3.2.2 温育时间的优化

加入酶标抗体后，放置在 37 ℃ 恒温干燥箱，干燥时间为 15, 20, 30, 45 min，测定对应的 OD 值，以及各个温度对应的 $A_{\max}$ ， IC_{50} 和 $A_{\max}/IC_{50}$ 等值。由表 2 可知，随着温育时间的延长， $A_{\max}$ 先升高后降低， IC_{50} 先降低后升高，温育 30 min 时 $A_{\max}/IC_{50}$ 值最高，因此选择温育时间为 30 min。

表 2 温育时间的优化
Tab.2 Incubation time optimization

温育时间/min	$A_{\max}$	$IC_{50}/(ng \cdot mL^{-1})$	$A_{\max}/IC_{50}$
15	1.67	0.399	4.185
20	1.721	0.296	5.231
30	1.765	0.262	6.737
45	1.695	0.345	4.913

3.3.3 优化后的 ELISA 标准曲线

经过 2 种优化后，确定 37 ℃ 和 30 min 分别是最佳封闭温度和加入酶标抗体后的最佳温育时间。确定好优化条件后，重新描绘了标准曲线，见图 1。新的标准曲线的拟合度（ $R^2=0.999$ ， $IC_{50}=0.36$ ng/mL）相

较于未优化的拟合曲线的拟合度 ($R^2=0.987$, $IC_{50}=0.43$ ng/mL) 有所提高, 这说明提高了标准曲线准确性, 从而达到了更好的检测效果。

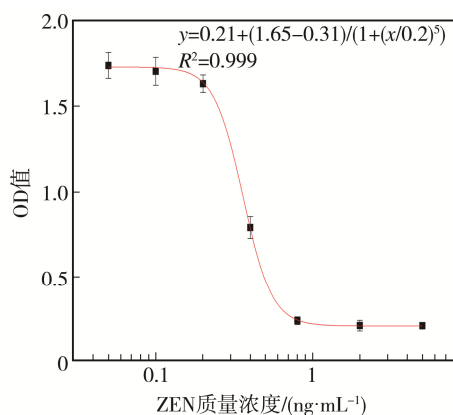


图 1 优化后的 ELISA 标准曲线
Fig.1 Optimized ELISA standard curve

3.4 前处理优化及添加回收结果

很多因素都能轻易影响到 ELISA 法, 它是一种灵敏度较高的检测方法, 实验主要选取提取液浓度、稀释液 pH 值、稀释液中有机溶剂的浓度这 3 个条件进行优化, 并且以添加回收结果作为判断依据。

3.4.1 提取剂浓度的优化

将一定浓度的玉米赤霉烯酮标准品以不同的剂量添加到称量好的玉米粉中, 使添加的玉米赤霉烯酮质量浓度分别为 0, 30, 60, 90, 120 ng/mL, 然后用质量分数为 40%, 50%, 60%, 70% 的甲醇溶液分别进行玉米赤霉烯酮的提取。甄玉萍等^[19]对比过不同有机溶剂作为提取剂提取 ZEN, 结果发现甲醇作为提取剂提取效果最好, 因为甲醇的穿透能力较强, 能直接穿透玉米细胞壁提取 ZEN。将最终得到的不同添加量对应的吸光值带入到同时建立的标曲中, 计算出对应的检测浓度, 然后计算回收率。多次实验取平均值, 计算结果见表 3, 由表 3 中数据分析可知: 质量分数为 40% 和 60% 的甲醇溶液提取效果都不好, 提取剂浓度过低, 则提取 ZEN 量较低, 回收率低, 质量分数为 50% 和 70% 的甲醇溶液提取效果较好, 其中以质量分数为 50% 甲醇溶液提取效果最佳, 因此确定质量分数为 50% 甲醇溶液为提取剂。

3.4.2 稀释液 pH 的优化

确定提取剂为 50% 甲醇溶液后, 以此作为实验条件, 提取后用不同 pH 的稀释液进行稀释, 计算回收率, 确定最佳 pH 值, 见表 4。经过实验发现, 随着 pH 值的增大, 回收率也逐渐增加, 但是增加幅度不大, 回收率最高是在 pH 值为 8.0 时, 因此, 8.0 为稀释液最佳 pH 值。综合以上的优化条件, 用质量分数为 50% 的甲醇溶液提取, pH 值为 8.0 且含有质量分

表 3 不同提取剂质量分数对应的回收率
Tab.3 Corresponding recovery results for different extractant concentrations %

加标量/(ng·mL ⁻¹)	甲醇质量分数/%			
	40	50	60	70
0	—	—	—	—
30	46.72	71.79	51.39	66.23
60	60.63	96.16	63.85	87.52
90	57.17	80.34	50.23	76.97
120	51.89	76.23	46.70	67.22

表 4 不同 pH 值的稀释液对应的回收率结果
Tab.4 Corresponding recovery results for dilution of different pHs %

加标量/(ng·mL ⁻¹)	pH 值		
	6.5	7.2	8.0
0	—	—	—
30	75.37	80.05	89.44
60	94.51	95.19	97.14
90	85.34	86.19	87.74
120	70.23	71.04	74.09

数为 10% 甲醇的 PBS 缓冲液稀释时, 用 ELISA 法测量玉米粉中玉米赤霉烯酮含量时结果更准确。玉米赤霉烯酮是一种酚的二羟基苯酸的内酯结构, 它不溶于水, 但溶于碱性水溶液。由于玉米赤霉烯酮是一种内酯的结构, 因此在碱性环境的条件下可以将酯键打开, 当碱的浓度下降时可将键恢复, 所以在偏碱性的稀释液中回收率高。

3.4.3 稀释液中甲醇质量分数的优化

选用质量分数为 50% 的甲醇溶液进行提取后, 在 pH 值为 8.0 的稀释液中加入甲醇, 因为甲醇极性很强, 溶解 ZEN 的能力强, 且稀释液直接作为 ELISA 检测的样品, 甲醇的浓度不能过高, 过高浓度的甲醇稀释液会破坏 ELISA 检测, 所以配制甲醇质量分数为 0 和 10% 的稀释液, 用该稀释液进行样品稀释, 一系列操作后最终计算回收率。从表 5 可知, 用含质量分

表 5 稀释液中不同甲醇质量分数的回收率
Tab.5 Recovery of different methanol concentrations in dilutions %

加标量/(ng·mL ⁻¹)	不含甲醇	质量分数为 10% 的甲醇
0	—	—
30	70.49	86.25
60	95.87	98.12
90	87.03	93.24
120	73.60	81.75

为 10% 甲醇的稀释液稀释后得到的回收率较高, 可见在 ZEN 稀释液中添加适量的甲醇溶液有利于后续实验的进行。

3.5 胶体金试纸条检测试验

3.5.1 检测限的确定

用制备好的胶体金试纸条检测稀释了不同浓度的玉米赤霉烯酮标准品, 其稀释质量浓度分别为 10, 5, 2.5, 1, 0.75, 0.6, 0.5, 0.1 ng/mL。胶体金试纸条检测限的确定结果见图 2, 随着玉米赤霉烯酮浓度升高, T 线颜色越来越淡, 当玉米赤霉烯酮的质量浓度大于等于 0.75 ng/mL 时, T 线开始不显色, 因此胶体金试纸条的检测灵敏度为 0.75 ng/mL。

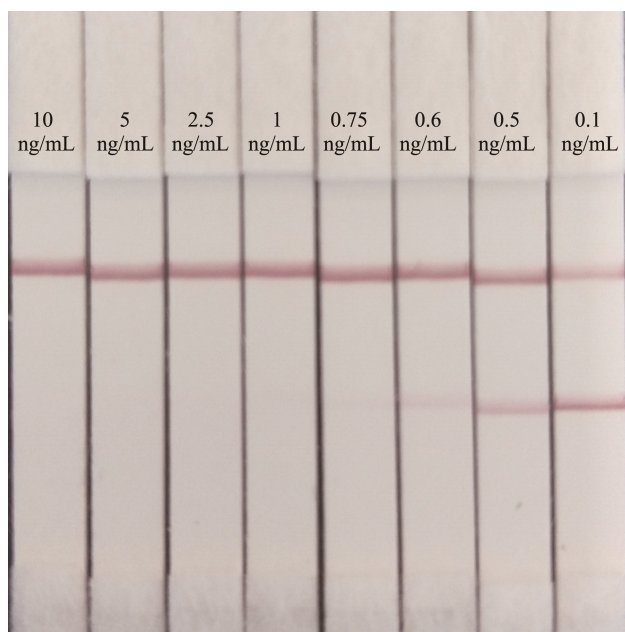


图 2 胶体金试纸条检测灵敏度示意
Fig.2 Schematic diagram of colloidal gold test strip detection limit

3.5.2 添加检测试验

称取 4 份用于可食包装纸的纯玉米粉样品, 添加不同剂量的玉米赤霉烯酮标准品, 使得混合物中玉米赤霉烯酮的添加量为 0, 30, 60, 120 ng/g, 然后用优化好的条件进行提取和稀释, 整体稀释因子为 60 倍, 经处理后的待测溶液中玉米赤霉烯酮质量浓度分别 0, 0.5, 1, 2 ng/mL。由图 3 所示, 经胶体金试纸条分别检测, 样品 1、样品 2、样品 3 的 T 线均有显色, 且颜色由深变浅, 说明经处理后的样品 1、样品 2 待测液中玉米赤霉烯酮的质量浓度均小于 0.75 ng/mL, 样品 3 和样品 4 的 T 线不显色, 说明经处理后的样品 4 待测液中玉米赤霉烯酮质量浓度大于等于 0.75 ng/mL, 所以检测结果和添加样品中的最终浓度范围一致, 证明组装的胶体金试纸条能快速检测出玉米粉中的玉米赤霉烯酮。

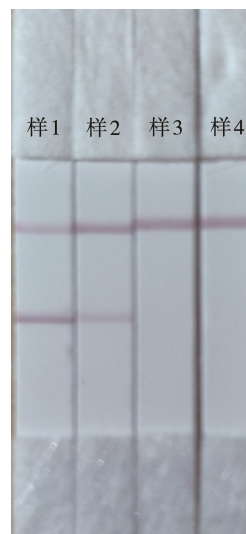


图 3 添加回收实验的检测
Fig.3 Detection of addition recovery experiment

4 结语

通过研究, 确定了封闭温度 37 °C、保温 30 min 为优化的 ELISA 标准曲线参数, 并且通过前处理和添加回收结果的实验, 用 ELISA 方法准确确定了提取剂质量分数为 50% 的甲醇溶液, 稀释液为 pH 值为 8.0、质量分数为 10% 甲醇的缓冲液为最适合免疫反应的前处理条件。结合 ELISA 法确定的前处理条件, 用金标试纸检测法可成功测定可食包装纸原料玉米粉中的玉米赤霉烯酮, 检测灵敏度为 0.75 ng/mL。

在 ELISA 实验中, 标准曲线和前处理的可优化条件都有很多, 但是由于该研究的目的是用 ELISA 方法精确确定适用于免疫反应的最佳前处理条件, 因此只针对封闭温度和温育时间进行优化, 以得到较好的拟合标准曲线。对比仪器检测方法, 免疫检测法具有操作简便、灵敏度高、特异性强、成本低廉等优点, 尤其是胶体金试纸条, 更适合基层进行快速检测, 并能快速投入市场, 在未来几年的发展中, 随着研究的不断深入, 凭借着其巨大的优势在包装、储存条件快速检测领域能发挥更大的作用。

参考文献:

- [1] 郑睿行, 周子焱, 傅晓, 等. HPLC 测定玉米中玉米赤霉烯酮和赭曲霉毒素[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(19): 139—142.
ZHENG Rui-xing, ZHOU Zi-yan, FU Xiao, et al. Determination of Zearalenone and Ochratoxin in Maize [J]. Food Research and Development, 2017, 38(19): 139—142.
- [2] 张思思, 陆继伟, 王少敏, 等. 国内外真菌毒素检测方法研究现状及进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(7): 2575—2586.

- ZHANG Si-si, LU Ji-wei, WANG Shao-ming, et al. Research Status and Progress of Mycotoxin Detection Methods in Domestic and at Abroad[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2016, 7(7): 2575—2586.
- [3] 斯兰兰. 拉萨市售面粉、玉米粉中呕吐毒素和玉米赤霉烯酮监测结果分析[J]. *西藏科技*, 2014(12): 25—27.
- SI Lan-lan. Analysis of Monitoring Results of Vomiting Toxin and Zearalenone in Flour and Corn Flour in Lhasa[J]. *Tibet Science and Technology*, 2014(12): 25—27.
- [4] 胡佳薇, 王彩霞, 田丽, 等. 2013—2016 年陕西省市售食品中玉米赤霉烯酮的污染状况及暴露评估[J]. *卫生研究*, 2017, 46(4): 585—588.
- HU Jia-wei, WANG Cai-xia, TIAN Li, et al. Pollution Status and Exposure Assessment of Zearalenone in Foods Marketed in Shaanxi Province from 2013 to 2016[J]. *Health Research*, 2017, 46(4): 585—588.
- [5] 张羽. 粮食中玉米赤霉烯酮检测方法的研究进展和展望[J]. *食品安全导刊*, 2015(18): 69.
- ZHANG Yu. Research Progress and Prospect of Zearalenone Detection Methods in Food[J]. *Food Safety and Security*, 2015(18): 69.
- [6] 李志勇. 食品安全 ELISA 快速检测技术[M]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- LI Zhi-yong. Food Safety ELISA Rapid Detection Technology[M]. Beijing: China Standard Press, 2009.
- [7] 黄哲, 孙长坡, 伍松陵, 等. 玉米赤霉烯酮降解微生物的筛选与鉴定[J]. *粮油食品科技*, 2013, 21(4): 88—91.
- HUANG Zhe, SUN Chang-po, WU Song-ling, et al. Screening and Identification of Zearalenone Degrading Microorganisms[J]. *Cereals, Oils, Food Science & Technology*, 2013, 21(4): 88—91.
- [8] 王月华, 孙冬梅, 温江涛, 等. 玉米油生产过程中对玉米赤霉烯酮及呕吐毒素的影响[J]. *粮食与食品工业*, 2015, 22(4): 19—22.
- HUANG Yue-hua, SUN Dong-mei, WEN Jiang-tao, et al. Effect of Zearalenone and Vomitoxin on Corn Oil Production Process[J]. *Grain & Food Industry*, 2015, 22(4): 19—22.
- [9] 李大和, 王超凯, 李国红, 等. 白酒生产检验(六): 食品安全指标(续)[J]. *酿酒科技*, 2013(7): 125—131.
- LI Da-he, WANG Chao-kai, LI Guo-hong, et al. Liquor Production Inspection (VI): Food Safety Index (Continued)[J]. *Brewing Technology*, 2013(7): 125—131.
- [10] ZHANG W, WANG H, WANG J, et al. Multiresidue Determination of Zearanol and Related Compounds in Bovine Muscle by Gas Chromatography/Mass Spectrometry with Immunoaffinity Cleanup[J]. *Journal of Aoac International*, 2006, 89(6): 1677—1681.
- [11] 崔勇, 刘智, 李青, 等. 高效液相色谱法和超高效液相色谱-串联质谱法测定玉米油中玉米赤霉烯酮的比较[J]. *中国卫生检验杂志*, 2015(18): 3075—3077.
- CUI Yong, LIU Zhi, LI Qing, et al. Comparison of High Performance Liquid Chromatography with Ultra Performance liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry for Determination of Corn Erythroenketone in Corn Oil[J]. *Chinese Journal of Health Inspection*, 2015(18): 3075—3077.
- [12] BIEHL M L, PRELUSKY D B, KORITZ G D, et al. Biliary Excretion and Enterohepatic Cycling of Zearalenone in Immature Pigs[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1993, 121: 152—159.
- [13] TSAKMAKIDIS I A, LYMBEROPOULOS A G, ALEXOPOULOS C, et al. In Vitro Effect of Zearalenone and Alpha-Zearalenol on Boar Sperm Characteristics and Acrosome Reaction[J]. *Reproduction in Domestic Animals (Print)*, 2006, 41(5): 394—401.
- [14] OUANES Z, AYED-BOUSSEMA I, BAATI T, et al. Zearalenone Induces Chromosome Aberrations in Mouse Bone Marrow: Preventive Effect of 17beta-estradiol, Progesterone and Vitamin E[J]. *Mutation Research-fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2005, 565(2): 139—149.
- [15] KIM I H, SON H Y, CHO S W, et al. Zearalenone Induces Male Germ Cell Apoptosis in Rats[J]. *Toxicology Letters*, 2003, 138(3): 185—192.
- [16] SUGENO M, KANG G T. Fuzzy Modeling and Control of Multilayer Incinerator[J]. *Fuzzy Sets Syst*, 1986, 18(2): 329—346.
- [17] KOUADIO J H, MOBIO T A, BAUDRIMONT I, et al. Comparative Study of Cytotoxicity and Oxidative Stress Induced by Deoxynivalenol, Zearalenone Or Fumonisin B1 In Human Intestinal Cell Line Caco-2[J]. *Toxicology*, 2005, 213(1): 56—65.
- [18] KOLOSOVA A Y, SAEGER S D, SIBANDA L, et al. Development of A Colloidal Gold-Based Lateral-Flow Immunoassay for the Rapid Simultaneous Detection of Zearalenone and Deoxynivalenol[J]. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 2007, 389(7/8): 2103—2107.
- [19] 甄玉萍, 裴世春, 王岩, 等. 玉米样品前处理方法和掩蔽剂对 ELISA 检测玉米赤霉烯酮的影响[J]. *食品科学* 2015, 36(16): 255—259.
- ZHEN Yu-ping, PEI Shi-chun, WANG Yan, et al. Effects of Maize Sample Pretreatment Methods and Masking Agents on ELISA Determination of Zearalenone[J]. *Food Science*, 2015, 36(16): 255—259.