

## 玉米赤霉烯酮间接竞争ELISA方法的建立

唐 颂, 李岩松, 尚翠玲, 胡 盼, 卢士英, 任洪林, 柳增善, 周 玉

### Establishment of an Indirect Competitive ELISA for Zearalenone

TANG Song, LI Yansong, SHANG Cuiling, HU Pan, LU Shiying, REN Honglin, LIU Zengshan, and ZHOU Yu

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021050177>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 玉米赤霉烯酮与黄曲霉毒素B<sub>1</sub>对HepG2细胞的联合毒性研究

Joint Toxicity of Zearalenone and Aflatoxin B<sub>1</sub> on HepG2 Cells

食品工业科技. 2019, 40(18): 91-96

#### 基于异源包被的 曲安奈德竞争酶联免疫检测方法

Detection of Triamcinolone Acetonide Indirect Competitive ELISA Based on Heterology Coating Strategy

食品工业科技. 2020, 41(8): 263-267

#### 鸡、鸭肉中金刚烷胺、金刚乙胺、索金刚胺间接竞争ELISA检测方法研究

Indirect Competitive ELISA for Detection of Amantadine, Rimantadine and Soramantadine in Chicken and Duck Meat

食品工业科技. 2021, 42(1): 286-291

#### QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法检测奶粉中玉米赤霉烯酮及其代谢物

Determination of Zearalenone and Its Metabolites in Milk Powder by HPLC-MS/MS with QuEChERS Cleanup

食品工业科技. 2020, 41(7): 233-238

#### 降解玉米赤霉烯酮菌株的鉴定及其发酵条件优化

Identification of Degradation Zearalenone Strain and Its Fermentation Conditions Optimization

食品工业科技. 2018, 39(21): 119-123

#### 呋喃唑酮代谢物间接竞争化学发光酶免疫法的建立

Synthesis of furazolidone metabolite artificial antigen and development of indirect competitive chemiluminescence enzyme immunoassay

食品工业科技. 2017(09): 294-299



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

唐颂, 李岩松, 尚翠玲, 等. 玉米赤霉烯酮间接竞争 ELISA 方法的建立 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(4): 300–304. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021050177

TANG Song, LI Yansong, SHANG Cuiling, et al. Establishment of an Indirect Competitive ELISA for Zearalenone[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(4): 300–304. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021050177

· 分析检测 ·

# 玉米赤霉烯酮间接竞争 ELISA 方法的建立

唐 颂<sup>1</sup>, 李岩松<sup>1</sup>, 尚翠玲<sup>1</sup>, 胡 盼<sup>1</sup>, 卢士英<sup>1</sup>, 任洪林<sup>1</sup>, 柳增善<sup>1</sup>, 周 玉<sup>1,2,\*</sup>

(1. 吉林大学人兽共患病研究所, 吉林长春 130062;

2. 长江大学动物科学学院, 湖北荆州 434023)

**摘 要:** 本研究以玉米面为例, 建立了玉米赤霉烯酮间接竞争 ELISA (ic-ELISA) 方法。采用棋盘滴定法确定抗原和单抗的最佳工作浓度, 并确定了抗原 37 ℃ 包被 1 h、不封闭、酶催化底物作用时间 15 min 的反应条件进行检测。该方法的检测范围 ( $IC_{20} \sim IC_{80}$ ) 为 11~292 pg/mL, 检测限 ( $IC_{10}$ ) 为 6 pg/mL。玉米赤霉烯酮在玉米面中的加标回收率为 81.29%~105.80%。本研究建立的 ic-ELISA 方法与赭曲霉毒素 A、黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>、呕吐毒素、伏马毒素 B<sub>1</sub>、T-2 毒素无交叉反应, 可用于玉米面中玉米赤霉烯酮的初筛检测。

**关键词:** 玉米赤霉烯酮, 真菌毒素, 检测, 间接竞争酶联免疫分析 (ic-ELISA)

中图分类号: S513

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)04-0300-05

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021050177

本文网刊:



## Establishment of an Indirect Competitive ELISA for Zearalenone

TANG Song<sup>1</sup>, LI Yansong<sup>1</sup>, SHANG Cuiling<sup>1</sup>, HU Pan<sup>1</sup>, LU Shiyang<sup>1</sup>, REN Honglin<sup>1</sup>,

LIU Zengshan<sup>1</sup>, ZHOU Yu<sup>1,2,\*</sup>

(1. Institute of Zoonosis, Jilin University, Changchun 130062, China;

2. College of Animal Science, Yangtze University, Jingzhou 434023, China)

**Abstract:** In this study, an indirect competitive ELISA (ic-ELISA) was developed for the detection of zearalenone in corn flour. The optimal working concentration of antigen and monoclonal antibody was determined by chessboard method. Antigen 37 ℃ coated for 1 h, unsealed and enzyme catalyzed substrate action time of 15 min were determined the optimal conditions. The results showed that the detection range ( $IC_{20} \sim IC_{80}$ ) was 11~292 pg/mL, and the minimum detection limit ( $IC_{10}$ ) was 6 pg/mL. The recoveries of the zearalenone from corn flour were 81.29%~105.80%. There was no cross reaction with ochratoxin A, aflatoxin B<sub>1</sub>, deoxynivalenol, fumonisin B<sub>1</sub>, T-2 toxin. The ic-ELISA could be used for detection of zearalenone in corn flour.

**Key words:** zearalenone; toxin; detection; indirect competitive enzyme linked immunosorbent assay (ic-ELISA)

真菌毒素是一类由真菌产生的在自然界广泛存在的小分子代谢产物, 世界上近 1/4 的粮食作物受到真菌毒素的污染, 其中玉米赤霉烯酮 (Zearalenone, ZEN) 是玉米、小麦等粮食作物中污染最为广泛的真菌毒素之一<sup>[1]</sup>。朱风华等对 2017~2019 年我国山东省 6000 余份饲料样品进行真菌毒素污染状况调查, 发现玉米中 ZEN 污染率接近 50%, 并有逐年增高的趋势<sup>[2-4]</sup>。ZEN 具有很高的热稳定性, 在粮食生产、加工和储存运输过程中很难被完全去除, 通过食物进

入人体后严重危害人类的健康<sup>[5-6]</sup>。而 ZEN 通过饲料进入动物体内会影响动物的生长和繁殖机能, 导致流产<sup>[7-8]</sup>; 并抑制动物的免疫功能, 诱发肿瘤<sup>[9]</sup>。

目前, 全球 100 多个国家和地区都制定了 ZEN 的限量标准。如欧盟对原粮玉米中的 ZEN 限量为 350 μg/kg, 对粗加工玉米粉产品及人类食用需要再加工的其他玉米研磨制品的 ZEN 限量为 200 μg/kg, 对原粮谷物与可直接食用的玉米的 ZEN 限量为 100 μg/kg, 对婴幼儿加工食品中的 ZEN 限量为

收稿日期: 2021-05-21

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFC1602500); 国家自然科学基金项目 (31871888)。

作者简介: 唐颂 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 兽医公共卫生, E-mail: stangal@163.com。

\* 通信作者: 周玉 (1969-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品及水环境安全快检技术, E-mail: zhouyurunye@sina.com。

20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[10]</sup>;我国对玉米、玉米面、小麦和小麦粉中 ZEN 的限量为 60  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[11]</sup>。除婴幼儿食品外,单纯从数值上看我国限量标准比欧盟更严格,但粮食的限量种类仅玉米和小麦两种,原粮与成品粮的品种限量标准还不够完善,且粮食在生产加工和贮存中会使毒素的含量增多,另外欧盟对婴幼儿这类特殊人群食品的限量标准远低于我国的限量标准。因此,建立一种 ZEN 的高灵敏度检测法对保障粮食安全十分必要。

基于仪器分析技术的高效液相色谱法、荧光光度计法、液相色谱-质谱法是食品中 ZEN 的国标检测方法<sup>[12]</sup>,薄层色谱法和 ELISA 是国标饲料中的检测方法<sup>[13]</sup>,这些仪器分析方法具有检测灵敏度高的优点,但检测所需时间长,同时需要大型的仪器设备和专业的操作人员,不便于基层或现场检测<sup>[14]</sup>。而间接竞争酶联免疫分析法(indirect competitive enzyme linked immunosorbent assay, ic-ELISA)在 ZEN 的检测中具有操作简单快捷、普通从业人员便可操作、能够满足基层或现场检测中大批样品的初筛鉴定等优势。为了增加 ic-ELISA 灵敏度,多使用各种生物传感元件或纳米材料在 ELISA 中起到信号放大的目的,在此基础上可以使传统 ic-ELISA 方法<sup>[15]</sup>的灵敏度由 1900 ng/mL 提高了一个数量级<sup>[16-17]</sup>,但是这些改进的 ELISA 方法使 ELISA 的操作变得更加复杂。传统 ic-ELISA 在快速免疫检测中仍然是最简单实用、成本低廉、商业化产品最多的检测类型。提高 ELISA 检测灵敏度最核心的问题还是提高目标抗体的特异性和灵敏度。本实验将优选一组高质量的商品化的抗原、抗体,以期建立高灵敏的 ic-ELISA 检测方法并用于后续相关免疫检测方法研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

ZEN、赭曲霉毒素 A(Ochratoxin A, OTA)、黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>(Aflatoxin B<sub>1</sub>, AFB<sub>1</sub>)、呕吐毒素(Deoxynivalenol, DON)、伏马毒素 B<sub>1</sub>(Fumonisin B<sub>1</sub>, FB<sub>1</sub>)、T-2 毒素(T-2)标准品 青岛普瑞邦生物工程有限公司;牛血清白蛋白偶联 ZEN 抗原(ZEN-BSA)、ZEN 单抗 大连百奥思科生物有限公司;辣根过氧化物酶标二抗(HRP-IgG) 北京中杉金桥生物技术有限公司;ZEN 试剂盒 北京华安麦科有限公司;玉米面 吉林省长春市某大型超市。

微孔板分光光度计 美国 Biotek 公司;高速离心机 美国 Thermo 公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 ic-ELISA 检测基本程序 用碳酸盐缓冲液将 ZEN-BSA 包被于 96 孔板上,每孔 100  $\mu\text{L}$ , 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温温育 2 h。洗液(含 0.05% 吐温-20 的磷酸盐缓冲液)清洗三次,每孔 200  $\mu\text{L}$ ,将板内残余液体拍干。5% 脱脂乳作为封闭剂,每孔 200  $\mu\text{L}$ , 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温封闭 1 h,洗液清洗三次,拍干。竞争孔加入 ZEN 待测

样品和磷酸盐缓冲液稀释的单抗各 50  $\mu\text{L}$ ,非竞争孔加入 50  $\mu\text{L}$  磷酸盐缓冲液和 50  $\mu\text{L}$  单抗,阴性孔中加 100  $\mu\text{L}$  磷酸盐缓冲液, 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温温育 1 h。洗液清洗三次,拍干。加入用 5% 脱脂乳稀释 2000 倍的 HRP-IgG,每孔 100  $\mu\text{L}$ , 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温温育 1 h。洗液清洗三次,拍干。加入 100  $\mu\text{L}$  TMB 底物溶液, 37  $^{\circ}\text{C}$  避光显色 15 min。加入终止液(2 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>),每孔 50  $\mu\text{L}$ ,酶标仪读取 450 nm 处的 OD 值<sup>[13]</sup>。

#### 1.2.2 ic-ELISA 检测条件优化

1.2.2.1 包被抗原和单抗最佳工作浓度的确定 包被抗原 BSA-ZEN 用碳酸盐缓冲液梯度稀释至 300、150、75、37.5、18.75、9.375、4.6875 ng/mL。ZEN 单抗用磷酸盐缓冲液稀释至 1000、500、250、125、62.5、31.25、0 ng/mL。棋盘滴定法确定抗原和单抗的最佳工作浓度。

#### 1.2.2.2 包被条件、封闭条件和底物作用时间的确定

在“1.2.2.1”的基础上,进一步确定包被条件、封闭条件和底物作用时间。包被条件设置为 4  $^{\circ}\text{C}$  12 h、4  $^{\circ}\text{C}$  24 h、37  $^{\circ}\text{C}$  0.5 h、37  $^{\circ}\text{C}$  1 h、37  $^{\circ}\text{C}$  2 h。封闭条件设置为 1% BSA、0.5% BSA、5% 脱脂乳、3% 脱脂乳各 1 h,同时做不封闭对照组。底物作用时间设置为 5、10、15、20 min。最适条件确定以 P/N 比值最大进行判定。

$$\frac{P}{N}(\%) = \frac{\text{阳性孔 OD}_{450}}{\text{阴性孔 OD}_{450}} \times 100 \quad \text{式 (1)}$$

1.2.3 标准曲线的建立 将标准品的浓度稀释至 500、250、125、62.5、31.25、15.63、7.81 pg/mL,用优化后的 ic-ELISA 进行测定。横坐标为 ZEN 标准品浓度的对数值,纵坐标为抑制率,绘制标准曲线。

$$\text{抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{\text{竞争孔 OD}_{450}}{\text{非竞争孔 OD}_{450}}\right) \times 100 \quad \text{式 (2)}$$

1.2.4 特异性 为确定该检测方法的特异性,对 500、250、125、62.5、31.25、15.63、7.81 pg/mL 的 ZEN 以及 10000、1000、100、10、1 ng/mL 的 OTA、AFB<sub>1</sub>、DON、FB<sub>1</sub>、T-2 标准品进行 ic-ELISA 检测,分别绘制标准曲线,并计算各毒素的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>),通过以下公式计算交叉反应率(CR)。

$$\text{CR}(\%) = \frac{\text{IC}_{50}(\text{ZEN})}{\text{IC}_{50}(\text{其他毒素})} \times 100 \quad \text{式 (3)}$$

1.2.5 加标回收 称取 4 份玉米面,每份 1 g,将不同浓度 ZEN 标准品加入到玉米面中,使玉米面 ZEN 含量为 20、15、5、2.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  后,加入 5 mL 体积分数为 70% 的甲醇-水溶液中,充分振荡 5 min,超声 5 min,室温下 4000 $\times$ g 离心 10 min,取磷酸盐缓冲液稀释 20 倍的上清,进行 ic-ELISA 检测<sup>[18]</sup>。通过以下公式计算回收率。并用试剂盒进行验证分析,绘制拟合曲线。

$$\text{回收率(\%)} = \frac{\text{加标后检出的ZEN含量} - \text{未加标检出的含量}}{\text{实际上加入ZEN的含量}} \times 100$$

式(4)

**1.2.6 方法验证分析** 用本方法和北京华安麦科ZEN商品化试剂盒同时检测3份ZEN加标量为120、80、60  $\mu\text{g/kg}$ 的玉米面样品,每份3个重复,试剂盒检测步骤参考说明书进行操作。

### 1.3 数据处理

本实验中的数据均为3次平行实验结果,并采用Microsoft Excel软件进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 包被抗原与单抗的最佳工作浓度

棋盘滴定法测定的 $\text{OD}_{450}$ 结果见表1,取 $\text{OD}_{450}$ 值接近1.0所对应的抗原、单抗质量浓度<sup>[19]</sup>,本着节省单抗的原则,确定抗原质量浓度为75  $\text{ng/mL}$ ,单抗质量浓度为250  $\text{ng/mL}$ 。

表1 包被抗原和单抗最佳浓度的确定

Table 1 Optimal amount of coating antigen and monoclonal antibody

抗原质量浓度 ( $\text{ng/mL}$ )	单抗质量浓度( $\text{ng/mL}$ )						
	1000	500	250	125	62.5	31.25	0
300	2.29	2.07	1.27	0.58	0.22	0.09	0.06
150	2.29	1.87	1.26	0.50	0.20	0.09	0.07
75	1.98	1.62	1.13	0.43	0.18	0.14	0.05
37.5	1.59	1.26	0.76	0.29	0.14	0.10	0.05
18.75	1.03	0.83	0.43	0.19	0.08	0.06	0.05
9.375	0.67	0.41	0.24	0.12	0.08	0.05	0.05
4.6875	0.30	0.22	0.15	0.07	0.06	0.05	0.05

### 2.2 包被条件、封闭条件和底物作用时间的确定

包被条件与P/N值结果见图1。从图1中可以看出,4℃包被12和24 h的P/N值一致,37℃包被0.5 h P/N值较低,1和2 h的P/N值较高并接近,综合37℃和4℃两种条件下的P/N值,同时为了缩短检测所需时间,选择了37℃1 h的最佳包被条件。

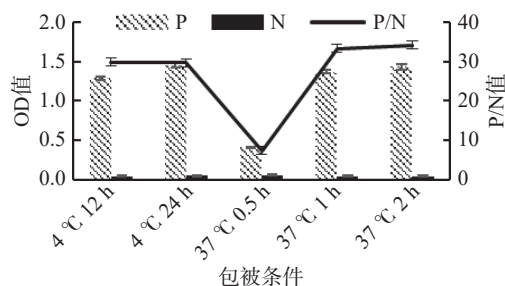


图1 抗原最佳包被条件的选择

Fig.1 Selection of optimal conditions for coating antigen

不同封闭条件与P/N值结果见图2。从图2中可以看出,不封闭和其他四种封闭P/N值之间不具有明显差异,为节省反应时间,故本方法不需要封闭。

酶催化底物的反应时间与P/N值结果见图3。

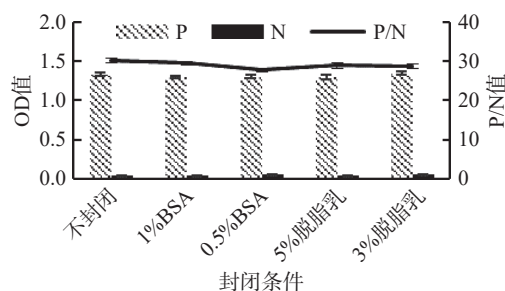


图2 最佳封闭条件的选择

Fig.2 Selection of optimal conditions for blocking plate

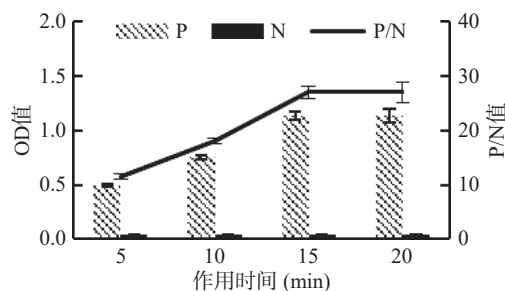


图3 底物最佳作用时间的选择

Fig.3 Selection of optimal reaction time of substrate

5~15 min, P/N值随着酶作用时间的延长而增大,在15~20 min时P/N趋于平衡。因此,选择酶催化底物的作用时间确定为15 min。

### 2.3 标准曲线

标准曲线如图4,以 $\lg(\text{ZEN的浓度})$ 为自变量x,以抑制率的百分数为因变量y建立的曲线回归方程为:  $y=42.19x-23.994$ ,  $R^2=0.9919$ 。线性检测范围( $\text{IC}_{20}\sim\text{IC}_{80}$ )为11~292  $\text{pg/mL}$ ,检测限( $\text{IC}_{10}$ )为6  $\text{pg/mL}$ ,灵敏度( $\text{IC}_{50}$ )为57  $\text{pg/mL}$ 。

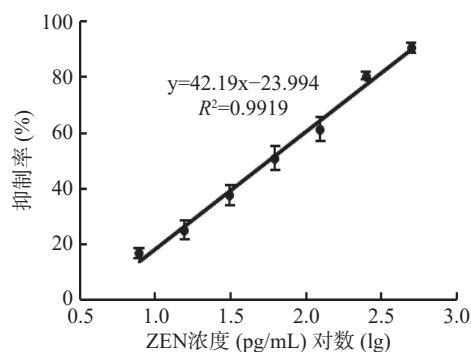


图4 标准曲线

Fig.4 Standard curve

### 2.4 特异性

该方法与5种常见真菌毒素的交叉反应见表2。与OTA、AFB<sub>1</sub>、DON、FB<sub>1</sub>、T-2毒素均无交叉反应,表明本方法具有良好特异性。

### 2.5 回收率

玉米面ZEN加标回收实验结果见表3。从表中可以看出平均回收率为81.29%~105.80%,变异系数小于10%,建立的ic-ELISA方法可满足实际样品中ZEN的检测需要。



表 2 单抗与其他 5 种真菌毒素的交叉反应率  
Table 2 Cross-reactivity of monoclonal antibody with 5 mycotoxins

真菌毒素名称	IC <sub>50</sub> (pg/mL)	CR(%)
ZEN	57	100
OTA	>10 <sup>6</sup>	<0.04
AFB <sub>1</sub>	>10 <sup>6</sup>	<0.04
DON	>10 <sup>6</sup>	<0.04
FB <sub>1</sub>	>10 <sup>6</sup>	<0.04
T-2	>10 <sup>6</sup>	<0.04

表 3 玉米面中添加 ZEN 回收率  
Table 3 ZEN recovery added in corn flour

添加量(μg/kg)	回收率(%)	变异系数(%)
20	81.29±3.85	4.74
15	105.80±7.29	6.89
5	99.76±6.01	6.02
2.5	94.95±8.94	9.42

2.6 方法验证分析

采用 ZEN 商品化 ELISA 试剂盒和本文建立方法同时对 ZEN 加标样品进行验证分析,结果如图 5 所示:以本方法的检测值为自变量 x,以商品化试剂盒的检测值为因变量 y 建立的曲线回归方程为  $y=1.0267x-1.8403$ ,  $R^2=0.972$ (相关性较好)。因此,本方法适用于在玉米面中快速筛查 ZEN。

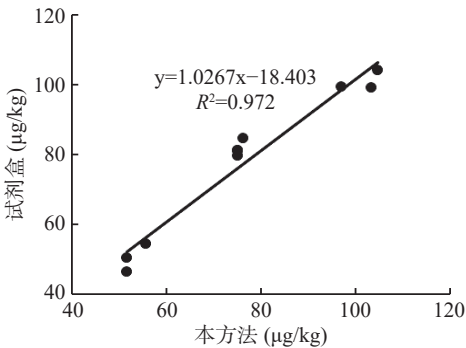


图 5 ic-ELISA 与商品化 ELISA 试剂盒相关性  
Fig.5 Correlation between ic-ELISA and commercial ELISA kit

3 结论与讨论

本实验建立的 ZEN 常规 ic-ELISA 方法灵敏度 (IC<sub>50</sub>)达到了 57 pg/mL, 优于文献 [15,20] 报道的常规 ELISA 方法灵敏度 1900 pg/mL 和 130 pg/mL。此外,为提高 ELISA 检测灵敏度,一些生物传感器被引入 ELISA 中<sup>[21]</sup>。Liu 等<sup>[17]</sup>基于亲和素-生物素放大系统使 IC<sub>50</sub> 达到 180 pg/mL;肖佳丽等<sup>[16]</sup>基于纳米磁珠偶联 ZEN 抗原和 ZEN 单抗双标探针使 IC<sub>50</sub> 达到 220 pg/mL;Liu 等<sup>[22]</sup>基于纳米磁珠-偶联噬菌体模拟物(替代抗原)和化学发光底物建立 ZEN 的磁性噬菌体化学发光酶免疫(P-MCLEIA)检测方法中 IC<sub>50</sub> 达到 31.4 pg/mL,这些生物传感器的引入都相对于传统 ELISA 方法提高了灵敏度,但也增加了

额外的探针制备过程和检测步骤。本实验建立的 ic-ELISA 方法,其灵敏度与国家标准中液相色谱-质谱法<sup>[12]</sup>相当,优于国家标准规定的荧光光度计法、高效液相法<sup>[12]</sup>、薄层色谱法和 ELISA<sup>[13]</sup>,能够满足玉米面中 ZEN 的痕量快速检测。

传统 ELISA 方法灵敏度主要受抗原、抗体性质决定,实验结果说明该 ZEN 抗体具有较好的特异性和灵敏度。后续将在前期完成 ic-ELISA 的基础上,开发其它快速免疫学检测方法。

参考文献

[1] PLACINTA C M, D'MELLO J P F, MACDONALD A M C. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 1999, 78(1): 21-37.

[2] 朱风华, 陈甫, 刘文华, 等. 2017 年山东省饲料原料及配合饲料霉菌毒素污染状况调查[J]. *中国畜牧杂志*, 2018, 54(6): 154-160. [ZHU F H, CHEN F, LIU W H, et al. Investigation on mycotoxin contamination of feed raw materials and compound feeds in Shandong Province in 2017[J]. *Chinese Journal of Animal Husbandry*, 2018, 54(6): 154-160.]

[3] 朱风华, 陈甫, 徐进栋, 等. 2018 年山东省饲料原料及配合饲料霉菌毒素污染状况调查[J]. *中国畜牧杂志*, 2019, 55(8): 151-156. [ZHU F H, CHEN F, XU J D, et al. Investigation on mycotoxin contamination of feed raw materials and compound feeds in Shandong Province in 2018[J]. *Chinese Journal of Animal Husbandry*, 2019, 55(8): 151-156.]

[4] 朱风华, 朱连勤. 2019 年山东省饲料原料及配合饲料主要霉菌毒素污染状况调查[J]. *中国畜牧杂志*, 2020, 56(11): 189-194. [ZHU F H, ZHU L Q. 2019 Investigation on mycotoxin contamination of feed raw materials and compound feeds in Shandong Province[J]. *Chinese Journal of Animal Husbandry*, 2020, 56(11): 189-194.]

[5] BULLERMAN L B, BIANCHINI A. Stability of mycotoxins during food processing[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2007, 119(1-2): 140-146.

[6] HUSSEIN H S, BRASEL J M. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals[J]. *Toxicology*, 2001, 167(2): 101-134.

[7] CAO H, ZHI Y, XU H, et al. Zearalenone causes embryotoxicity and induces oxidative stress and apoptosis in differentiated human embryonic stem cells[J]. *Toxicology in Vitro*, 2019, 54: 243-250.

[8] WOZNY M, DOBOSZ S, HLIWA P, et al. Feed-borne exposure to zearalenone impairs reproduction of rainbow trout[J]. *Aquaculture*, 2020, 528: 735522.

[9] WENTZEL J F, LOMBARD M J, DU PLESSIS L H, et al. Evaluation of the cytotoxic properties, gene expression profiles and secondary signalling responses of cultured cells exposed to fumonisin B<sub>1</sub>, deoxynivalenol and zearalenone mycotoxins[J]. *Archives of Toxicology*, 2017, 91(5): 2265-2282.

[10] 尚艳娥, 杨卫民. CAC、欧盟、美国与中国粮食中真菌毒素限量标准的差异分析[J]. *食品科学技术学报*, 2019, 37(1): 10-15. [SHANG Y E, YANG W M. Analysis of difference of lim-

- it standard of mycotoxin in grain of CAC, EU, USA and China[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2019, 37(1): 10–15.]
- [11] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 2761-2017 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017. [National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, The State Food and Drug Administration. GB 2761-2017 National Standard for Food Safety. Limit of Mycotoxin in Food[S]. Beijing: China Standards Press, 2017.]
- [12] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 5009.209-2016 食品安全国家标准 食品中玉米赤霉烯酮的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. [National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, The State Food and Drug Administration. GB 5009.209-2016 National Standard for Food Safety. Determination of zearalenone in Food[S]. Beijing: China Standards Press, 2016.]
- [13] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 19540-2004 饲料中玉米赤霉烯酮的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004. [General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. GB/T 19540-2004 Determination of zearalenone in feed[S]. Beijing: China Standards Press, 2004.]
- [14] 宋卫得, 苏征, 惠希东, 等. 液质联用技术在食品真菌毒素检测中的研究进展[J]. 食品工业科技, 2016, 37(17): 395-399. [SONG W D, SU Z, HUI X D, et al. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(17): 395-399.]
- [15] 王元凯, 王君, 王雨晨, 等. 玉米赤霉烯酮单克隆抗体的制备及间接竞争 ELISA 检测方法的建立[J]. 微生物学通报, 2011, 38(12): 1793–1800. [WANG Y K, WANG J, WANG Y C, et al. Preparation of monoclonal antibody against zearalenone and development of indirect competitive ELISA assay[J]. Microbiology Bulletin, 2011, 38(12): 1793–1800.]
- [16] 肖佳丽, 叶青, 方云, 等. 基于纳米磁珠和双标记抗体的玉米赤霉烯酮快速、高灵敏检测方法的建立及应用[J]. 菌物学报, 2019, 38(3): 440–450. [XIAO J L, YE Q, FANG Y, et al. Establishment and application of a rapid and highly sensitive detection method for zearalenone based on nanometer magnetic beads and double-labeled antibody[J]. Acta Mycology, 2019, 38(3): 440–450.]
- [17] LIU N, NIE D, ZHAO Z, et al. Ultrasensitive immunoassays based on biotin-streptavidin amplified system for quantitative determination of family zearalenones[J]. *Food Control*, 2015, 57: 202–209.
- [18] 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): 255–260. [ZHEN Y P, PEI S C, WANG Y, et al. Effects of corn sample pretreatment and masking agent on detection of zearalenone by ELISA[J]. *Food Science*, 2015, 36(16): 255–260.]
- [19] WANG X, CHEN F, WAN P J, et al. Development of monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for gossypol analysis in cottonseed meals[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(26): 7793–7797.
- [20] 刘琦, 生威, 李志, 等. 基于单克隆抗体的玉米赤霉烯酮检测方法研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(21): 111–115. [LIU Q, SHENG W, LI Z, et al. Food Research and Development, 2017, 38(21): 111–115.]
- [21] 冯林, 陈雪岚. 新型纳米材料与噬菌体展示技术在真菌毒素检测中的应用[J]. 食品与发酵工业: 1-8. [FENG L, CHEN X L. Application of novel nanomaterials and phage display technology in mycotoxin detection[J]. Food and Fermentation Industries: 1-8.]
- [22] LIU R, SHI R, ZOU W, et al. Highly sensitive phage-magnetic-chemiluminescent enzyme immunoassay for determination of zearalenone[J]. *Food Chemistry*, 2020, 325: 126905.