

高灵敏黄曲霉毒素 B₁ 免疫层析定量检测法的建立

Development of Quantitative Sensitive Immunochromatographic Assays for Detection of Aflatoxin B₁

刘 静¹ 王树颖¹ 刘道峰² 赖卫华¹

LIU Jing¹ WANG Shu-ying¹ LIU Dao-feng² LAI Wei-hua¹

(1. 南昌大学食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047; 2. 江西省疾病预防控制中心, 江西 南昌 330029)

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330047, China;

2. Jiangxi Province Center for Disease Control and Prevention, Nanchang, Jiangxi 330029, China)

摘要:以胶体金为标记物,借助于胶体金读取仪,建立了高灵敏的定量检测黄曲霉毒素 B₁ 的胶体金免疫层析方法。试纸条制备时,当标记溶液 pH 为 6.0,检测线全抗原的使用浓度为 1.5 mg/mL,金标抗体浓度为 4 μg/mL、用量为 1.2 μL 时,所建立方法的灵敏度为 5.7 ng/L。通过加速保存试验,结果显示该试纸条的保存期大于 1 年。该试纸条应用于实际谷物及酱油加标样本检测,证明该方法可满足食品快速检测的需要。

关键词: AFB₁; 免疫层析; 胶体金; 加标回收

Abstract: The aim of this work was to establish a highly sensitive quantitative colloidal gold immunochromatographic assay with a test strip reader for the detection of aflatoxin B₁ using colloidal gold as label. When the labeling pH was 6.0, the concentration of antigen on T-line was 1.5 mg/mL, the concentration of antibody labeled on the colloidal gold was 4 μg/mL, and the dosage of gold-labeled antibody was 1.2 μL, the sensitivity of the assay was 5.7 ng/L. The results of accelerated aging experiment indicated that the strips shelf time was more than a year. It was proved that this method can meet the needs of the rapid detection of food when the strip was applied to detect cereals and soybean sauce.

Keywords: AFB₁; immunochromatographic assay; colloidal gold; recovery rate

黄曲霉毒素 B₁ (Aflatoxin B₁, AFB₁) 是由黄曲霉 (*Aspergillus flavus*) 和寄生曲霉 (*Aspergillus parasiticus*) 等真

菌产生的次级代谢产物^[1-2]。AFB₁ 易存在于小麦、大米、花生等农作物和酱油等食品中,具有致癌性、致突变性和致畸性^[3-5]。黄曲霉毒素无色、无嗅、无味,有良好的热稳定性,通常的烹饪方式以及高压灭菌都不能降解黄曲霉毒素^[6]。由于 AFB₁ 对食品及饲料的污染范围较广,会危害人畜健康,所以许多国家和组织制定了食品和饲料中 AFB₁ 的最高限量标准。欧盟规定直接提供给人类食用的食物及其成分中 AFB₁ 的含量不能超过 2 μg/kg, AFB₁、B₂、G₁、G₂ 的总量不得超过 4 μg/kg; 日本规定食品中 AFB₁ 的含量不能超过 10 μg/kg。中国食品中 AFB₁ 允许量标准 (GB 2761—2011) 规定:玉米、花生及其制品中不得超过 20 μg/kg,大米、植物油(除玉米、花生油)中不得超过 10 μg/kg,其他粮食、豆类、发酵食品及婴幼儿配方食品中不得超过 5 μg/kg^[7]。

AFB₁ 主要的测定方法有高效液相色谱法^[8-9]、液相色谱-质谱联用法^[10-11]、酶联免疫吸附法^[12-13]、免疫层析方法^[14-16]等。高效液相色谱法和液相色谱-质谱联用法等仪器法灵敏度高、重复性好、可实现准确的定量检测,但样品前处理相对复杂,检测周期长,需要专业人员操作。酶联免疫吸附法具有灵敏度高、检测时间较短等优点,但需要专业人员操作,不能现场检测,因此限制了该方法的普及推广。以膜为固相载体的免疫层析法由于其快速、便捷的优点,越来越受到人们的重视。近年来发展迅速的胶体金试纸条检测技术,其灵敏度高、对操作人员要求低,并且不需要昂贵的仪器设备,被认为是目前最具应用价值和发展潜力的分析技术之一。大多数已报道的 AFB₁ 试纸条检测以定性检测为主^[15-16],定量检测方法研究较少。王督等^[17]采用自主研制的 AFB₁ 胶体金免疫定量检测卡,建立花生、玉米、大米、小麦等粮油农产品中 AFB₁ 的定量分析方法,4 种样品检测的线性范围为 1.0~20.0 μg/kg,方法的定量限为 1.0 μg/kg。徐振斌等^[18]立了定量检测玉米中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 总量的胶体金免疫层析法,方法的检出限为 1.0 μg/kg,定量限

基金项目:江西省主要学科科学技术带头人培养计划项目(编号:20113BCB22007);江西省教育厅落地项目(编号: KJLD13009)

作者简介:刘静,女,南昌大学在读硕士研究生。

通信作者:赖卫华(1968—),男,南昌大学教授,博士生导师。

E-mail: talktolaiwh@163.com

收稿日期: 2016-12-09

为 3.0 $\mu\text{g/kg}$ 。本试验建立了 AFB₁ 的胶体金免疫层析定量检测法,且灵敏度较高,可以通过稀释来降低基质干扰,满足检测要求,有效地扩大了检测范围。

本试验拟采用免疫层析的方法,以胶体金为标记材料,通过金纳米颗粒在检测线的富集显示出颜色信号,结合胶体金信号读取仪器量化信号强度,最后经计算检测线和控制线信号强度的比值(T/C 值)来分析待测物的具体浓度。在优化系列参数的基础上,建立 AFB₁ 的胶体金免疫层析定量检测方法,并用于实际样本中 AFB₁ 的检测,结合较为简单的前处理方法,可有效提高筛查的效率,同时其灵敏度也符合中国对 AFB₁ 的检测标准,可用于大批量现场筛查。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料

AFB₁ 标准品:纯度 $\geq 99\%$,美国 Sigma 公司;
牛血清白蛋白(BSA):纯度 96%,美国 Amresco 公司;
PEG 20000: 纯度 $\geq 99\%$,德国 Merck 公司;
抗 AFB₁ 单克隆抗体、AFB₁-BSA 检测抗原、胶体金复溶液、30 nm 胶体金:无锡中德伯尔生物技术有限公司;
驴抗鼠 IgG:北京中衫金桥生物技术有限公司;
PVC 黏性底板、聚酯膜、吸水纸、玻璃纤维膜:上海金标生物技术有限公司。

1.1.2 仪器

三维喷点平台:XYZ3050 型,美国 Bio-Dot 公司;
真空干燥机:DZX-6090B 型,上海福玛实验设备有限公司;
胶体金试纸条读取仪:HG-8 型,上海互幅科学仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 胶体金标记抗体 取 2 mL 胶体金溶液于润洗好的烧杯中,用 0.2 mol/L 的 K₂CO₃ 调节 pH,在室温下用磁力搅拌器搅拌均匀;在磁力搅拌下逐滴缓慢加入 AFB₁ 单抗,室温下搅拌反应 1 h,抗体的加入体积是胶体金总体积的 1/10;之后逐滴加入 1% 的 PEG 20000 进行封闭,室温下搅拌反应 30 min,PEG 20000 的加入体积是胶体金总体积的 1/10;再逐滴加入 10% 的 BSA 进行第二步封闭,加完后搅拌反应 30 min,BSA 的加入量是胶体金总体积的 1/10;经过 8 000 r/min、4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 30 min 后弃上清,沉淀用 200 μL 胶体金复溶液进行复溶。

1.2.2 胶体金免疫层析试纸条的组装及检测 用 XYZ3050 型三维喷点平台在结合垫上喷上一定量的金标抗体,将一定浓度的 AFB₁-BSA 和驴抗鼠二抗喷在 NC 膜上作为检测线(T 线)和质控线(C 线)。胶体金免疫层析试纸条的组装过程,首先将吸水纸、上述制备的 NC 膜、结合垫、样本垫和聚酯纤维膜依次粘贴在 PVC 底板上,然后用切条机切割成 3.9 mm 宽的细条并组装在塑料卡壳中。检测时,将制备好的胶体金试纸条取出,将 100 μL 待检样品加入到加样孔中,反应一定时间后用胶体金读取仪读取 T、C 线数值以及 T/C

比值。

1.2.3 胶体金免疫层析法工艺参数的选择

(1) 胶体金标记抗体 pH 值:固定胶体金标记抗体量 4 $\mu\text{g/mL}$,金标抗体用量 1.2 μL ,检测抗原浓度 1.5 mg/mL,胶体金标记抗体 pH 值分别选取 5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0,将 100 μL 阴性样品加入到加样孔中,反应 20 min 后用胶体金读取仪读取 T、C 线数值以及 T/C 值,每组做 3 个平行。

(2) 胶体金标记抗体量:固定胶体金标记抗体 pH 值为 6.0,金标抗体用量 1.2 μL ,检测抗原浓度 1.5 mg/mL,胶体金标记抗体量分别选取 2、4、6、8、10 $\mu\text{g/mL}$,反应 20 min 后用胶体金读取仪读取 T、C 线数值以及 T/C 值,每组做 3 个平行。

(3) 金标抗体用量:固定胶体金标记抗体 pH 值为 6.0,胶体金标记抗体量 4 $\mu\text{g/mL}$,检测抗原浓度 1.5 mg/mL,金标抗体添加体积分别选取 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0、2.4 μL 。反应 20 min 后用胶体金读取仪读取 T、C 线数值以及 T/C 值,每组做 3 个平行。

(4) 检测抗原浓度:固定胶体金标记抗体 pH 值为 6.0,金标抗体用量 1.2 μL ,胶体金标记抗体量 4 $\mu\text{g/mL}$,检测抗原浓度分别选取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mg/mL,反应 20 min 后用胶体金读取仪读取 T、C 线数值以及 T/C 值,每组做 3 个平行。

(5) 免疫动力学曲线的研究:制备胶体金免疫层析试纸条,加样后,每个试纸条每隔 1.5 min 读取一次 T 线值和 C 线值,根据 T 线值和 C 线值的比值数据(T/C 值),得到免疫动力学曲线。

1.2.4 AFB₁ 定量标准曲线的建立 经 LC—MS/MS 确证为 AFB₁ 阴性的样品中添加 AFB₁ 标准品,制备 AFB₁ 系列标准溶液(0.00、0.02、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00 $\mu\text{g/L}$)。取 AFB₁ 标准溶液用胶体金试纸条检测,记录试纸条 T/C 值,每个浓度重复检测 3 次。以 AFB₁ 浓度对数为横坐标,T/C 值为纵坐标,建立标准曲线。

1.2.5 胶体金免疫层析方法的性能评价

(1) 胶体金免疫层析方法灵敏度:配制不同浓度的 AFB₁ 标准溶液(0.00、0.02、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00 $\mu\text{g/L}$)。分别用胶体金免疫层析试纸条进行检测,每个浓度重复检测 3 次。加样 20 min 后用胶体金读取仪读取数值。平行试验结果取平均值后,绘制标准曲线,参考 Anfossi 等^[19]的方法计算该层析方法的灵敏度。

(2) 胶体金免疫层析方法可重复性:配制不同浓度的 AFB₁ 标准溶液(0.00、0.02、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00 $\mu\text{g/L}$)。每个浓度做 10 个平行检测。

(3) 胶体金免疫层析方法稳定性:在 37 $^{\circ}\text{C}$ 和 60 $^{\circ}\text{C}$ 下进行加速保存试验。37 $^{\circ}\text{C}$ 时,测试的时间为:第 0、7、14、28、56、105 天,以及第 6 个月和第 12 个月。60 $^{\circ}\text{C}$ 时,测试的时间为:第 0、1、2、3、5、7 天。

1.2.6 样本前处理及加标回收试验 用不含 AFB₁ 的大米,小米样品作为空白样品进行加标回收试验,每个加标浓度同时做 3 组平行。首先将谷物样本研磨,过 20 目筛。加入

AFB₁ 标准品,使 AFB₁ 含量为 5 μg/kg。然后准确称取 2 g 谷物样本于 100 mL 三角瓶中,加入 30 mL 60% 甲醇—水溶液对谷物中的 AFB₁ 进行萃取,充分振荡 20 min。取 1 mL 收集好的滤液于离心管中,最后加入 2 mL 蒸馏水稀释。此稀释液即为待检样。用制备好的胶体金免疫层析试纸条进行检测,根据加标浓度计算出加标回收率。

从本地超市购得鲁花酱油、厨邦酱油两个品牌的酱油,经 LC—MS/MS 确证为 AFB₁ 阴性样品。加入 AFB₁ 标准品,使酱油样本中的 AFB₁ 含量最终为 5 μg/L。用水稀释 100 倍,用制备好的胶体金免疫层析试纸条进行检测,根据加标浓度计算出加标回收效率。

结合绘制好的标准曲线和线性回归方程得出提取液中待检物质的浓度。

加标回收率根据式(1)计算:

$$R = \frac{v_1 \times n}{v_2} \times 100 \%, \tag{1}$$

式中:

R——加标回收率,%;

v₁——检出浓度,μg/kg;

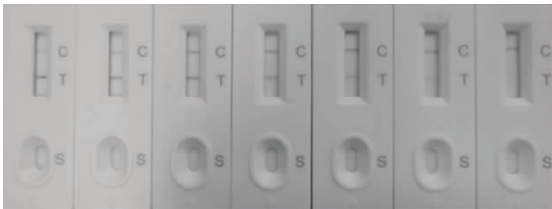
v₂——加标浓度,μg/kg;

n——稀释倍数。

2 结果与分析

2.1 胶体金免疫层析试纸条的制备及检测

由图 1 可知,当待测样本为阴性(0 μg/L)时,T 线出现很强的红色条带,随着待测物浓度的升高,T 线条带的强度越来越弱,C 线条带的强度越来越强,相应的 T/C 值呈现一定的梯度变化,符合定量检测的要求。



从左至右,样本加标浓度依次为 0.00,0.02,0.05,0.10,0.20,0.50,1.00 μg/L

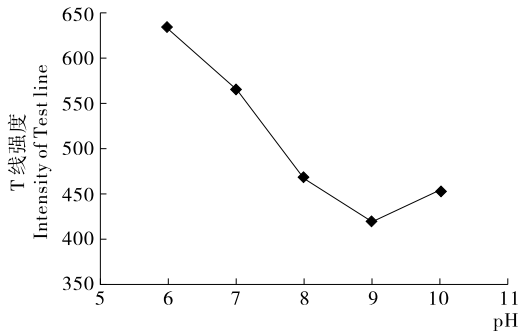
图 1 胶体金免疫层析试纸条检测结果

Figure 1 Detection result of the colloidal gold immunochromatographic test strips

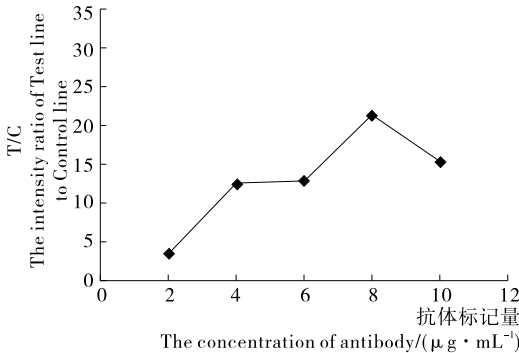
2.2 胶体金免疫层析法条件优化

2.2.1 胶体金标记抗体 pH 值的优化 由图 2(a)可知,T 线的信号强度随着 pH 的降低而增强,在 pH 6.0 时,T 线的信号值最强,即抗体的标记效率最高,因此选取 pH 6.0 为最佳。这是由于随着 pH 的降低,蛋白表面聚集的正电荷增多,在静电吸附下能够更有效地与表面带负电的胶体金颗粒结合。但是当胶体金在 pH 5.0 的条件下标记抗体时出现了死金的现象。

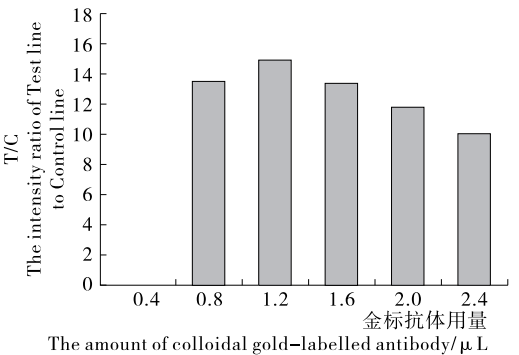
2.2.2 胶体金标记抗体量的优化 由图 2(b)可知,随着抗体标记量的增加,T/C 值呈上升趋势。随着 T/C 值的增大,



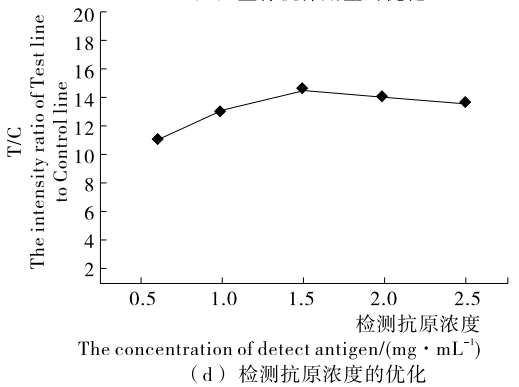
(a) pH 值的优化



(b) 抗体标记量的优化



(c) 金标抗体用量的优化



(d) 检测抗原浓度的优化

图 2 胶体金免疫层析法条件的优化
Figure 2 Optimization of the colloidal gold immunochromatographic test strips

平行试验之间的变异系数也逐渐增大,意味着检测结果的重复性降低。这可能是在抗体用量达到一定水平时,T 线上呈现的信号强度达到读取仪的临界值,从而得到不准确且偏差较大的读数。因此,综合考虑节省抗体、检测结果的 CV 值和灵敏度,最终选取 4 μg/mL 为最佳抗体标记量。

2.2.3 金标抗体用量的优化 由图 2(c)可知,T/C 值随着

金标抗体用量的增加呈现先变大后减小的趋势,在金标抗体用量为 1.2 μL 时,T/C 值较大且抗体用量较少。这可能是在金标抗体用量达到一定程度后,T 线上的全抗原被结合完全,剩余的金标抗体随层析反应移动到 C 线上,与二抗结合,使得 C 线显示的信号值随金标抗体用量的增加而逐渐升高,从而导致 T/C 逐渐降低,因此选用 1.2 μL 为最佳的金标抗体用量。

2.2.4 检测抗原浓度的优化 由图 2(d)可知,随着全抗原浓度的增加,试纸条的 T/C 值有所升高,在 1.5 mg/mL 之后,T/C 值趋于平稳。这是由于 T 线上全抗原浓度越高,结合的金标抗体越多,T 线上呈现的信号强度就越强,同时移动到 C 线上的金标抗体量就减少,C 线的信号强度也越弱,两者共同导致 T/C 值变大。在 T 线抗原浓度为 1.5 mg/mL 时,T/C 值较大,且平行试验间的变异系数(CV 值)较小(5 个浓度检测结果 CV 值分别为:9%,10%,5%,8%,11%),所以选择 1.5 mg/mL 为最佳的 T 线抗原浓度。

2.2.5 免疫动力学曲线 在免疫层析分析中,反应时间的确定非常重要,若时间过短,抗原抗体之间的反应不完全。由图 3 可知,在前 7 min,T/C 值逐渐变大,在 7~15 min 时一直处于下降趋势,在 15 min 后 T/C 值趋于稳定,说明 15 min 后抗原抗体反应达到平衡,因此选取 15 min 为本试纸条的检测时间。

2.3 胶体金免疫层析方法的性能评价

2.3.1 胶体金免疫层析方法灵敏度的评价 参考 Anfossi 等^[19]的方法,根据阴性的平均值减去 3 倍的标准偏差,计算出本检测方法的灵敏度为 5.7 ng/L 。检测方法的标准曲线见图 4。线性方程为 $Y=-0.563\ 9\ln(x)-0.335\ 3$,线性范围 0.02~0.20 $\mu\text{g/kg}$ 。

2.3.2 胶体金免疫层析方法可重复性的评价 用 20%甲醇—水溶液配制了不同浓度的标准溶液,每个浓度设置 10 个平行对照,用制备好的试纸条检测,计算平行数据之间的 CV 值,评价该试纸条的可重复性,试验结果见表 1。由表 1 可知,平行数据间的 CV 值均<13%,重复性较好。

2.3.3 胶体金免疫层析方法稳定性的评价 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下保存 100 d 后,检测结果并没有出现明显的差别(图 5),可见该试纸条的保存期在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下不小于 100 d。由图 6 可知,在 60 $^{\circ}\text{C}$ 条件下进行高温试验,保存 7 d,阴性样本的 T/C 值没有降低,说明该胶体金免疫层析产品在高温下具有很好的稳定性。

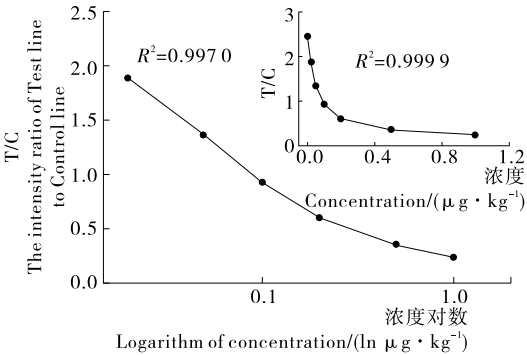


图 4 检测方法的标准曲线

Figure 4 Standard curve of the detection method

表 1 试验方法的 CV 值

Table 1 CV of the detection method

浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	T/C 平均值	SD	CV/%
0.00	2.03	0.15	7.26
0.02	1.81	0.04	2.01
0.05	1.34	0.10	7.44
0.10	1.02	0.08	7.82
0.20	0.71	0.06	8.70
0.50	0.38	0.05	12.19
1.00	0.16	0.01	9.26

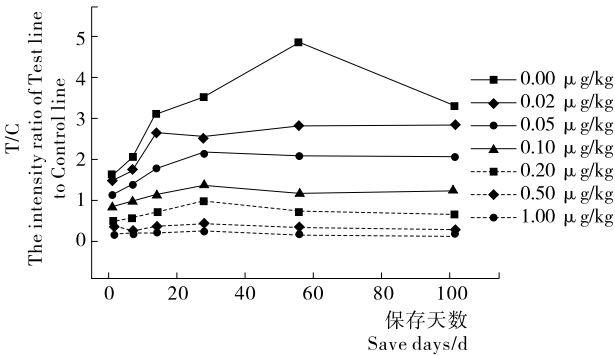


图 5 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下不同保存天数 T/C 值的变化

Figure 5 Changes of T/C values after different save days under 37 $^{\circ}\text{C}$

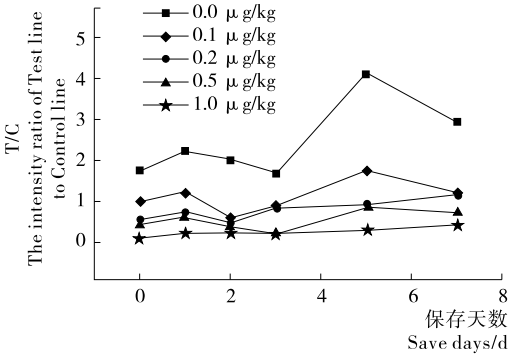


图 6 60 $^{\circ}\text{C}$ 条件下不同保存天数 T/C 值的变化

Figure 6 Changes of T/C values after different save days under 60 $^{\circ}\text{C}$

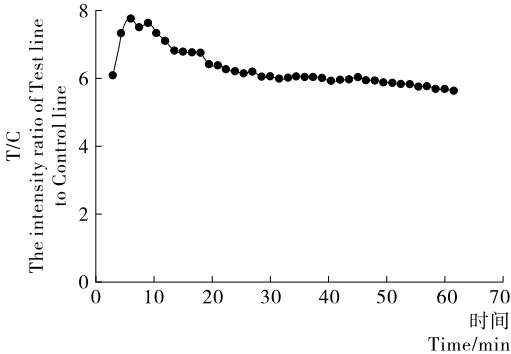


图 3 免疫动力学曲线结果

Figure 3 Optimization of immunoreaction time

2.4 样本的加标回收试验

应用已制备好的胶体金免疫层析试纸条进行检测,分别计算出了各个样品的加标回收效率。大米、小米的加标浓度为 5 μg/kg,回收率分别为 73.35%和 63.28%,CV 值为 5.95%和 7.74%,CV 值均小于 10%。厨邦酱油和鲁花酱油的加标浓度为 5 μg/L,回收率分别为 107.80%和 93.06%,CV 值为 8.51%和 8.24%,CV 值均小于 10%,说明本试验制备的胶体金免疫层析试纸条可用于实际样本的检测。

3 结论

小分子检测时试纸条定性分析单纯追求 T 线消线,而试纸条的定量检测则需要保证线性范围内 T/C 线颜色均不消失,且控制 T/C 值随着浓度的变化成梯度变化。本试验主要对用于定量检测的胶体金免疫层析试纸条的各项条件进行了优化。在最优条件下,建立了 AFB₁的胶体金免疫层析定量检测法,确定了该方法的灵敏度、可重复性,平衡时间等指标,并对试纸条的稳定性及保存时间做了初步评价。结果显示,在 pH 6.0 的条件下抗体的标记效率最高,抗体标记量为 4 μg/mL,T 线抗原的浓度为 1.5 mg/mL,金标抗体的用量为 1.2 μL 时,制备的试纸条灵敏度较好(5.7 ng/L)。由于灵敏度较高,该方法可以通过高稀释倍数来降低基质干扰,有效地扩大了检测范围。免疫层析技术存在的一个比较突出的问题是它的不稳定性,对胶体金免疫层析试纸条的稳定性可进一步研究,提高其稳定性,以用于产业化大生产,得到商业化的产品。

参考文献

[1] GOLGE O, HEPSAG F, KABAK B. Determination of aflatoxins in walnut sujuk and Turkish delight by HPLC-FLD method[J]. Food Control, 2016, 59: 731-736.

[2] WU Ling-xia, DING Xia-xia, LI Pei-wu, et al. Aflatoxin contamination of peanuts at harvest in China from 2010 to 2013 and its relationship with climatic conditions[J]. Food Control, 2016, 60: 117-123.

[3] BUMBANGI N F, MUMA J B, CHOONGO K, et al. Occurrence and factors associated with aflatoxin contamination of raw peanuts from Lusaka district's markets, Zambia[J]. Food Control, 2016, 68: 291-296.

[4] SALAS M P, POK P S, RESNIK S L, et al. Use of citrus flavanones to prevent aflatoxin contamination using response surface methodology[J]. Food Control, 2016, 60: 533-537.

[5] 赖先文, 张荷, 刘承兰. 稻米中黄曲霉毒素和赭曲霉毒素 A 的研究进展[J]. 食品工业科技, 2014, 35(22): 386-391.

[6] 曹铭, 樊明涛. 黄曲霉毒素脱除技术研究进展[J]. 食品与机械, 2015, 31(1): 260-264.

[7] 余以刚, 邱杨, 吴晖, 等. 几种传统食品中黄曲霉毒素 B₁的检测与安全评价[J]. 食品与机械, 2007, 23(4): 110-111.

[8] 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所. GB/T 5009.23—2006 食品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂的测定[S]. 北京: 中国

标准出版社, 2012.

[9] KABAK B. Determination of aflatoxins and ochratoxin A in retail cereal products from Turkey by high performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. Food Control, 2012, 28(1): 1-6.

[10] 康绍英, 周兴旺, 张继红, 等. 液相色谱—串联质谱法同时检测食品中的 4 种黄曲霉毒素[J]. 食品与机械, 2013, 29(2): 77-81, 120.

[11] FAN Su-fang, LI Qiang, SUN Lei, et al. Simultaneous determination of aflatoxin B₁ and M₁ in milk, fresh milk and milk powder by LC-MS/MS utilising online turbulent flow chromatography[J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2015, 32(7): 1 175-1 184.

[12] KOLOSOVA A Y, SHIM W B, YANG Z Y, et al. Direct competitive ELISA based on a monoclonal antibody for detection of aflatoxin B₁. Stabilization of ELISA kit components and application to grain samples[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2006, 384(1): 286-294.

[13] 江湖. 黄曲霉毒素 B₁间接竞争 ELISA 检测方法的建立与单克隆抗体免疫亲和柱的初步研制[D]. 南昌: 南昌大学, 2005: 31-51.

[14] LIU Dao-feng, HUANG Yan-mei, CHEN Ming-hui, et al. Rapid detection method for aflatoxin B₁ in soybean sauce based on fluorescent microspheres probe[J]. Food Control, 2015, 50: 659-662.

[15] 邓省亮, 赖卫华, 许杨. 胶体金免疫层析法快速检测黄曲霉毒素 B₁的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(2): 232-236.

[16] 赖卫华, 刘道峰, 邓省亮. 胶体金免疫层析法检测酱油中黄曲霉毒素 B₁[J]. 食品与机械, 2012, 28(1): 70-72.

[17] 王督, 张文, 李培武, 等. 胶体金免疫层析法快速定量分析粮油农产品中黄曲霉毒素 B₁[J]. 中国油料作物学报, 2014, 36(4): 529.

[18] 徐振斌, 胡东青, 里南, 等. 胶体金免疫层析法快速定量检测玉米中黄曲霉毒素[J]. 粮食科技与经济, 2013, 38(3): 24-26.

[19] ANFOSSI L, BAGGIANI C, GIOVANNOLI C, et al. Optimization of a lateral flow immunoassay for the ultrasensitive detection of aflatoxin M₁ in milk [J]. Analytica Chimica Acta, 2013, 772: 75-80.