

# 黄曲霉毒素荧光增敏技术研究进展

涂春蓉<sup>1</sup>, 董晓娟<sup>1</sup>, 马良<sup>1,2,3\*</sup>, 张宇昊<sup>1,2,3</sup>

(1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400716; 2. 农业部农产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室(重庆), 重庆 400716;  
3. 重庆市特色食品工程技术研究中心, 重庆 400716)

**摘要:** 黄曲霉毒素是农产品和粮油产品的重点监控污染物, 痕量污染即可造成严重后果, 对其实现监控的有效途径是高灵敏度检测技术。通过增强黄曲霉毒素的天然荧光提高检测技术的灵敏度是目前黄曲霉毒素增敏的重要途径。本文对黄曲霉毒素的各种传统荧光增强技术以及前沿的超分子荧光增强技术进行综述, 分析黄曲霉毒素快速荧光增强技术发展趋势。

**关键词:** 黄曲霉毒素; 荧光增强; 高灵敏度; 超分子

## Development of fluorescence enhancement techniques for aflatoxins determination

TU Chun-Rong<sup>1</sup>, DONG Xiao-Juan<sup>1</sup>, MA Liang<sup>1,2,3\*</sup>, ZHANG Yu-Hao<sup>1,2,3</sup>

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China; 2. Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Agro-products on Storage and Preservation (Chongqing), Ministry of Agriculture, Chongqing 400716, China; 3. Food Engineering and Technology Research Center of Chongqing, Chongqing 400716, China)

**ABSTRACT:** Aflatoxins are the strengthened monitored contaminants of agro-products especially grain and oil products. Trace aflatoxins contamination can cause serious consequences. High sensitivity detection technology is one of effective ways to solve and monitor. Enhancing the natural fluorescence of aflatoxins is one of important ways for improving sensitivity of aflatoxins determination techniques. A variety of traditional fluorescence enhancement technology and the forefront super-molecule fluorescence enhancement techniques were reviewed in this paper. The trend of aflatoxin fluorescence enhancement technology was analyzed.

**KEY WORDS:** aflatoxins; fluorescence enhancement; high sensitivity; super-molecule

黄曲霉毒素(aflatoxins, AFs)是众多真菌毒素中毒性最大、对人类危害极为突出的一类真菌毒素, 1993年被国际癌症研究组织确定为人类的I类致癌物<sup>[1]</sup>。其中以黄曲霉毒素B<sub>1</sub>(aflatoxin B<sub>1</sub>, AFB<sub>1</sub>)毒性

最大, 致癌性最强, 危害最为严重(痕量 AFB<sub>1</sub> 就可以造成急性死亡或慢性积累致癌等极严重的危害), 是威胁人类健康的巨型杀手。AFs 污染范围极广, 涉及到食物链各个环节, 尤其容易污染花生、玉米等粮油

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2013CB127803)、国家自然科学基金项目(31301476)、中央高校基本科研业务费专项(XDJK2013B035)、国家级大学生创新创业训练计划(201210635034)

**Fund:** Supported by National Basic Research Program of China(2013CB127803), the National Natural Science Foundation of China(31301476), "the Fundamental Research Funds for the Central Universities"(XDJK2013B035) and National Training Programs of Innovation and Entrepreneurship for Undergraduates(201210635034)

\*通讯作者: 马良, 副教授, 博士, 主要研究方向为现代食品检测技术及污染物分析。E-mail: zhyhml@163.com

\*Corresponding author: MA Liang, Associate Professor, Doctor, College of Food Science, Southwest University, No. 2, Tiansheng Road, Beibei District, Chongqing 400716, China. E-mail: zhyhml@163.com

产品和乳制品, 严重威胁消费者(包括婴幼儿)的日常主食来源, 是影响农产品质量与食品安全的最重大问题之一。2012 年 2 月深圳等地多批次餐饮用油, 包括花生油等多种食用油被检出 AFB<sub>1</sub> 超标或 AFs 总量超标<sup>[2]</sup>。2011 年 12 月份国内两家知名乳业生产的纯牛奶中黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> (aflatoxin M<sub>1</sub>, AFM<sub>1</sub>) 被检出超标, 某些批次甚至超标 140%<sup>[3]</sup>, 极大地威胁了消费者尤其是婴幼儿的健康与安全, 迫切需要对重点 AFs 污染进行监测!

目前主要通过各种基于免疫技术的速测产品和各种结合荧光检测的仪器分析技术实时 AFs 监控和现场筛查。其中, 基于免疫技术的各种快速检测产品, 如 ELISA 试剂盒、试纸条等, 灵敏度较高, 检测速度快, 是主流的快速检测技术<sup>[4-9]</sup>, 但目前免疫技术产品大多无法准确定量, 存在假阳性结果, 而且免疫产品保存和使用条件苛刻, 检测准确性受环境条件和检测物基质影响较大, 不能满足痕量 AFs 准确监控的需求<sup>[4-6,10-11]</sup>。通过各种衍生方式增强 AFB<sub>1</sub>、AFG<sub>1</sub> 等 AFs 的天然荧光, 大幅增强检测技术灵敏度, 探索相关关系与规律, 结合研发小型定量速测仪器和产品, 则有效解决了灵敏度和快速定量间的矛盾, 实现高灵敏度定量速测, 成为目前的热点研究领域, 也是食品安全领域小分子污染物高灵敏定量速测技术的

重要发展趋势方向。

## 1 AFs 的荧光检测

各种 AFs 在紫外光照射下发出强烈的荧光。根据 AFs 具有发荧光等各种光谱学特性, 可以进行高灵敏度的荧光检测研究。

从化学结构上看, 各种 AFs 彼此十分相似, 最常见的 AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub>、AFG<sub>2</sub>、AFM<sub>1</sub>、AFM<sub>2</sub> 结构如图 1 所示。前四种是自然界通常存在的, AFM<sub>1</sub>、AFM<sub>2</sub> 是人类或动物摄入 AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub> 后经过体内循环代谢产生的, 主要存在于动物的代谢产物中, 如乳汁、尿液和排泄产物。

激发光波长 365 nm 时, B 族 AFs 发射波长为 425 nm 蓝色荧光, G 族 AFs 为 450 nm 黄绿色荧光。根据 AFs 的荧光特性, 使用荧光检测器是提高灵敏度的好办法, 已经成为目前 AFs 仪器分析法中尤其是高压液相色谱法(HPLC)中的经典检测器。目前 AFs 检测常用的模式是反相高压液相色谱法(RP-HPLC)荧光检测。但黄曲霉毒素的荧光特性受溶剂的影响很大, 在反相的极性条件下, 不饱和的 AFs 如 AFB<sub>1</sub>、AFG<sub>1</sub> 等极易发生荧光淬灭, 荧光值减弱, 甚至检测不到。各国学者纷纷研究各种方法增强 AFs 的荧光值, 达到提高检测灵敏度的目的<sup>[10-14]</sup>。

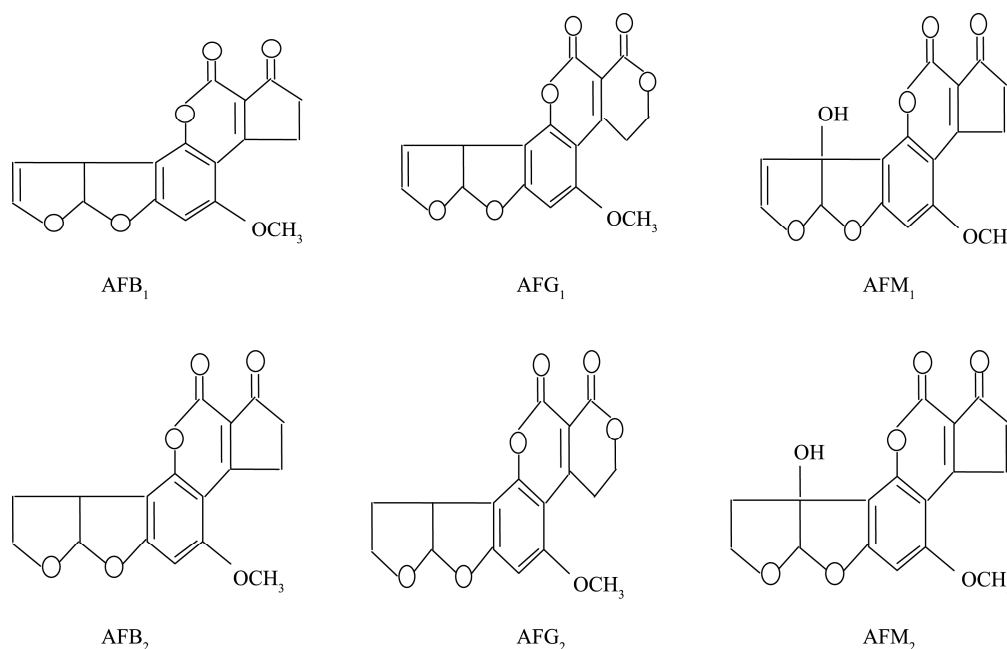


图 1 主要 AFs 的结构

Fig. 1 Structures of the main aflatoxins

## 2 AFs 荧光增强技术

目前对 AFB<sub>1</sub>、AFG<sub>1</sub> 等开展了许多相关研究, 主要有化学试剂衍生、光或电化学衍生、激光诱导荧光以及形成包合物、超分子等荧光增强方式增强 AFB<sub>1</sub>、AFG<sub>1</sub> 的荧光强度或降低基质屏蔽、干扰作用达到提高灵敏度的目的, 同时兼顾准确定量和快速检测, 在常规实验室或者现场实地进行应用。

### 2.1 传统的化学试剂衍生增强 AFs 荧光

1978 年 Manabe 等研究<sup>[14]</sup>发现在流动相中适当加入有机酸可以提高 B<sub>1</sub> 和 B<sub>2</sub> 的荧光强度, 并应用这种改进的方法进行农产品和饲料中 AFB<sub>1</sub> 的检测。现有的方法一般通过三氟乙酸(trifluoro-acetic acid, TFA)等强酸或卤族元素及衍生物(I<sub>2</sub>, Br<sub>2</sub> 等)在柱前或者柱后进行衍生得到较强的荧光。

研究结果和资料报道<sup>[1,5-6,10-15]</sup>, AFB<sub>1</sub> 和 AFG<sub>1</sub> 的二呋喃环上的双键结构在酸性溶液中很容易水解, 转化为富含羟基的衍生物 B<sub>2a</sub> 和 G<sub>2a</sub>, 这个反应被用作柱前的衍生方法。Takashi<sup>[13]</sup>建立了柱前 TFA 衍生化, 将 B<sub>1</sub>, G<sub>1</sub> 衍生为荧光强度很高的 B<sub>2a</sub>、G<sub>2a</sub>, 使检测灵敏度提高到 0.02 μg/kg。Tarter 等在此基础上加以改进, 选择 C<sub>18</sub> 反相柱, 成功应用于玉米和花生酱中 AFB<sub>1</sub> 的检测, 并被 AOAC 采纳为标准方法。TFA 方法应用较多; 但缺点在于衍生物 B<sub>2a</sub> 和 G<sub>2a</sub> 稳定性较差, 尤其在甲醇中。因此, 应避免使用甲醇溶液而采用乙睛溶液作进样溶剂, 并尽快测定。采用柱前衍生还会给分析过程多增加一个步骤, 因此柱后碘衍生的方法得到开发、应用和发展。用泵将饱和的碘溶液通过不锈钢或 PTFE 反应管和 T 型接头加入到柱后流动相中, 即可达到衍生反应的目的; 通过衍生反应, B<sub>1</sub> 和 G<sub>1</sub> 的荧光强度增强, 灵敏度将比衍生前提提高 25~50 倍。RP-HPLC 柱后碘衍生化方法<sup>[16]</sup>已经应用于玉米、花生等很多农产品和食品 AFB<sub>1</sub> 分析。但是由于柱后碘衍生需要每日制备新鲜的饱和碘溶液和配置两个泵, 与碘化物的长期接触使得柱后蠕动泵、连接管的物理和机械状况恶化而导致性能下降、衍生时需要高温等缺点, 随后, KOK 等创建了柱后溴衍生法<sup>[17]</sup>, 使用电化学发生系统(Kobra 池)来产生溴, 其灵敏度与碘衍生法相同。与碘衍生方法相比, 溴衍生方法的优点是不需要第二个泵, 减少了昂贵的设备, 不需每日制备饱和碘溶液, 日常运行和维护容易;

缺点是需增加一个电化学 Kobra 池, 因此另一种使用过溴化吡啶溴(per-brominated pyridinium bromine, PBPB)提供稳定溴溶液的柱后溴衍生法 1993 年得到开发和应用<sup>[18]</sup>。也有用环糊精作为衍生剂的研究。

### 2.2 光化学衍生和电化学衍生

利用光化学柱后衍生法来增强 AFB<sub>1</sub> 和 G<sub>1</sub> 的荧光性是美国 Aura 公司研发的一项新技术, 已逐步应用于实际生产中。这种方法需要专用的仪器, 分析快速简捷, 重复性好。国内许梓荣等将化学衍生法和 HPLC 结合起来测定食品和饲料中的 AFs<sup>[19-21]</sup>。目前电化学衍生主要是采用电化学衍生装置应用在 HPLC 柱后衍生中, 进行在线衍生, 自动化程度相对较高, 无须控制反应温度和流速比例等。据报道, 有学者利用该方法检测 AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub>、AFG<sub>2</sub> 能达到完全基线分离, 检出限分别为 0.150、0.115、0.150、0.115 μg/kg<sup>[22]</sup>。

### 2.3 激光诱导荧光

激光诱导荧光检测器(laser induced fluorescence detector, LIFD)具有比荧光检测器更高的灵敏度, 通过激光光源较高的光子流量, 产生激光诱导荧光(laser induced fluorescence, LIF)极大地增强了荧光检测的信噪比, 提高了检测技术的灵敏度, 并且具备高效、快速、环保等优点, 是提高检测技术检测灵敏度的一种发展趋势。

1992 年 Cole 等学者<sup>[23]</sup>、1997 年美国农业部 Maragos 团队<sup>[24-25]</sup>、2000 年 Wei 等<sup>[26]</sup>均采用 HPCE 方法, 结合 LIFD 实现了 AFs 的高效快速分离。但是由于在 HPCE 中, 虽然采用激光诱导荧光器检测, 灵敏度可以大大提高, 但商品化的激光光源通常是气体激光器, 体积大, 价格昂贵, 更重要的是激光器的输出波长选择性小, 与 AFs 的吸收光谱适合性差, 影响了 AFB<sub>1</sub> 的检测灵敏度提高。2009 年马良等<sup>[27]</sup>首次引入半导体泵浦激光器与毛细管电泳仪器搭建检测平台, 对 AFs 进行激光诱导荧光检测, 大大提高检测灵敏度; 采用胶束电动高效毛细管电泳模式(HPCE-MECC)检测分离 AFs, 建立高灵敏度 AFB<sub>1</sub> 的 LIF-HPCE 检测技术, 精密度 RSD<3%, 重复性 RSD<5%, 回收率为 84.1%~96.1%, R<sup>2</sup> 达 0.9988。最低检出质量 0.17 pg, 最低定量限 0.56 pg, 绝对检出量的灵敏度提高了 3 个数量级, 显著高于其他方法。但是 LIFD 和 HPCE 价格较高, 不适用于现场

快速筛查。

## 2.4 金属螯合作用增强 AFs 荧光

马良<sup>[1]</sup>研究了不同金属离子对 AFs 荧光值的影响, 首先发现了多种金属离子对 AFs 具有荧光增强作用, 其中  $\text{Hg}^{2+}$  离子对  $\text{AFB}_1$ 、 $\text{AFG}_1$ 、 $\text{AFM}_1$  均有明显的荧光增强作用, 反应摩尔比大于 1:1 时, 荧光增强反应体系 2 min 内快速、稳定达到平衡, 完成最大增强, 可增强荧光值 4 倍以上, 比传统的荧光增强剂  $\text{Br}_2$  水增强程度高 2 倍以上, 大大提高了 AFs 检测灵敏度, 研究反应机制为 AFs 与  $\text{Hg}^{2+}$  形成配合物荧光增强效应, 发生 AFs 到  $\text{Hg}(\text{II})$  的 LMCT 跃迁, 通过光氧化还原反应, 形成稳定的配合产物, 使反应物体系中刚性结构加强, 共轭体系增加, 荧光效率提高, 荧光值大大增强。该荧光增强剂成功应用于荧光光度法检测和 HPLC 柱后衍生实际农产品检测中<sup>[1,15]</sup>。但是该增强剂使用的安全性和环保性需要改进。研究新型绿色环保的增强剂是未来的发展趋势。

## 2.5 超分子荧光增强

### 2.5.1 环糊精对 AFs 的荧光增强

随着超分子化学和环糊精化学迅猛发展, 环糊精(cyclodextrins, CDs)在真菌毒素尤其是 AFs 检测中研究和应用越来越深入。环糊精具有巨大的空穴尺寸和内腔的疏水性, 可对 AFs 客体分子进行分子识别, 形成超分子复合物, 避免荧光分子与水性溶剂接触发生淬灭的特性, 具有荧光增强作用, 检测灵敏度被大大提高<sup>[28-31]</sup>。相关的荧光增强效应、机制、应用被报道。CDs 对  $\text{AFB}_1$ 、 $\text{AFG}_1$ 、OTA、ZEN、T-2 毒素等多种霉菌毒素具有或可能具有荧光增强作用, 不需要高温、高酸、强氧化等条件, 基本可以避免传统衍生技术存在的各种问题。

Dall'Asta 工作小组<sup>[32]</sup>采用 3 种 CD 母体和 10 种 CD 修饰衍生物, 分别对  $\text{AFB}_1$ 、 $\text{AFB}_2$ 、 $\text{AFG}_1$ 、 $\text{AFG}_2$ 、 $\text{AFM}_1$  作用, 结果显示大多数 AFs 与 CD 有强烈作用, 荧光增强, 发射波长蓝移, 通过荧光增强效应、KI 淬灭实验、结合常数等实验, 发现  $\beta$ -CD 似乎具有理想的空腔尺寸, 可以与 AFs 1:1 包含, AFs 咪喃环半内嵌与 CD 空腔中, 引起荧光强度增加, 功能图与 CD 空腔上或下边缘联接, 有利于 AF 是在 CD 空腔中的内包含。但同时发现, 对具有饱和咪喃环结构的  $\text{AFB}_2$ 、 $\text{AFG}_2$  没有明显的荧光增强,  $\text{AFM}_1$  与 CD 稳定常数结果与荧光增强显示为非线性相关或不相关。

Dall'Asta 小组<sup>[32]</sup>、Amadasi 工作小组<sup>[33]</sup>、Verrone 工作小组<sup>[34]</sup>分别研究了环糊精对 OTA、AFs、ZEN 的作用, 证明某些环糊精对真菌毒素有一定荧光增强作用, 可用于 HPLC 检测。但 Amadasi 研究中也报道, 环糊精对  $\text{AFB}_1$ 、 $\text{AFG}_1$  的天然荧光具有增强作用, 但是结合常数较低, 导致在复杂机制中的亲和性较低, 对食品等复杂基质应用尚不成功<sup>[33]</sup>。

Franco 等报道<sup>[35]</sup> CDs 作为 HPLC 柱后衍生试剂进行 AFs 检测。Janini<sup>[36]</sup>、Wei<sup>[26]</sup>、Maragos 等<sup>[24-25,37-40]</sup>分别报道 CDs 在极性较大或水相中有效增强 AFs 荧光, 常被添加在缓冲溶液中进行高效毛细管电泳分析, 经修饰后的  $\beta$ -CD 衍生物可作为  $\text{AFB}_1$  的增溶剂。近些年, 由于 CD 可以提高 AFs 水相条件下荧光响应值, 越来越多的研究报道出来<sup>[41-46]</sup>, 并进一步将 CD 应用电化学传感器上进行  $\text{AFM}_1$  的检测。Chiavaro 等<sup>[40]</sup>、Franco 等<sup>[35]</sup>报道 succinyl- $\beta$ -CD 是最有效的  $\text{AFM}_1$  荧光增强剂。

环糊精对 AFs 进行分子识别, 形成超分子包含物, 其稳定性除受环糊精和客体分子自身的性质影响, 还与温度及介质有关。温度越高, 介质中有机成分越多, 环糊精和客体分子形成的复合物的稳定性就越差。文献报道的热力学研究结果显示, 环糊精进行荧光增强反应时的包含行为是放热反应, 受温度影响很大, 极大影响了环糊精作为衍生试剂的使用时间和地域, 目前大多配合高压液相色谱、高效毛细管电泳等大型仪器在恒温下应用, 无法实现各种环境中的快速检测, 仍需对环糊精的分子识别作用及机制进一步研究, 扩大 CD 应用范围, 这对低成本高灵敏度快速定量检测技术的发展具有重大意义。

### 2.5.2 三元超分子包含物荧光增强效应

马良等率先研究和报道了构建超分子探针对 AF 进行识别检测和三元超分子包含物增强黄曲霉毒素荧光响应的现象<sup>[47-50]</sup>, 对  $\text{AFB}_1$ 、 $\text{AFG}_1$ 、 $\text{AFM}_1$  等分别进行了二元包含、二元配位以及三元超分子增敏研究, 研究结果显示  $\text{AFB}_1$ 、 $\text{AFG}_1$  等可与某些过渡金属(如  $\text{Hg}^{2+}$ )发生配位反应, 形成立体结构, 将  $\text{AFs-Hg}^{2+}$  配位物与 CD 协同作用构建荧光探针, 双重增敏, 大幅提高灵敏度, 同时反应速度极快, 稳定性增加, 不受环境温度的影响, 优化反应条件后,  $\beta$ -CD- $\text{Hg}^{2+}$  可使  $\text{AFB}_1$  的荧光强度增加近 15 倍, 显著高于目前其他衍生试剂, 适用于样品中高浓度和痕量  $\text{AFB}_1$  检测<sup>[47-49]</sup>。与国标方法、速测方法进行比较,

无显著性差异,可很好应用于AFs快速检测,实现AFB<sub>1</sub>、AFG<sub>1</sub>等AFs超高灵敏度快速定量检测,这对于提升我国食品安全检测能力,促进优势农产品出口,消除技术性贸易壁垒具有重要意义!

该技术中三元超分子包合物与二元包合物相比,其分析特性通常更为优越,如反应的灵敏度高,选择性好,对光的吸收大等,这些特性对分析测定都是十分有利的。但是目前三元络合物的理论研究,还远远落后于实际应用,不少反应机制、络合物的构型及其稳定性等尚不清楚,需要进一步深入的探讨和研究。

### 3 总结与展望

在真菌毒素尤其是AFs高灵敏度检测领域中,增强荧光响应值,降低基质干扰,是提高检测灵敏度的有效手段。传统荧光增强技术中,强酸、强氧化剂等化学试剂的使用较为成熟,但高毒、高腐蚀性或仪器昂贵等各种问题使得开发新型增强剂成为快速定量检测领域中的研究热点。 $\beta$ -CD及衍生物绿色环保、具有很好的包合选择性和很高的化学活性,因此受到越来越多的关注,但是目前也存在选择性较差,反应进程和速度受到环境温度影响等突出问题,难以在快速检测领域进行大量实际应用推广。研究利用 $\beta$ -CD及衍生物与无机离子(金属离子或稀土离子等)对AFs形成多元立体包合,提高反应的选择性,最终达到大幅增强灵敏度目的,成为提高AFs各种检测技术灵敏度的重要发展趋势之一。此外,系统深入研究三元超分子荧光增强作用机制及各种影响因素,完善荧光增敏作用的理论体系,对大幅度提高微量、痕量有害物质的检测灵敏度和选择性具有理论指导意义。

### 参考文献

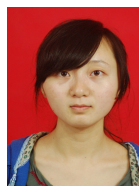
- [1] 马良. 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 高灵敏度检测技术研究[D]. 中国农业科学院, 2007.  
Ma L. Study on Detection Technology For Determination of Aflatoxin B<sub>1</sub> with High Sensitivity [D]. Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2007.
- [2] 王静. 多个批次食用油被检出黄曲霉毒素超标[EB/OL]. (2012-01-05)[2013-10-20]. <http://news.lanzhou.cn/system/2012/01/05/010069343.shtml>.  
Wang J. Multiple batches of edible oil was found to exceed the standard aflatoxin [EB/OL]. (2012-01-05) [2013-10-20]. <http://news.lanzhou.cn/system/2012/01/05/010069343.shtml>.
- [3] 朱钰. 蒙牛一批次纯牛奶被检出致癌物黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 超标 140%[EB/OL]. (2011-12-25) [2013-10-20]. <http://industry.caijing.com.cn/2011-12-25/111558864.html>.  
Zhu Y. A batch of Mengniu pure milk were detected carcinogens aflatoxin M<sub>1</sub> exceed the standard 140%.[EB/OL]. (2011-12-25) [2013-10-20]. <http://industry.caijing.com.cn/2011-12-25/111558864.html>.
- [4] 柳洁, 何碧英. 黄曲霉毒素免疫化学分析方法研究进展[J]. 现代预防医学, 2005, 32(5): 467-470.  
Liu J, He BY. Research progress on immunochemical analysis methods of aflatoxins [J]. Mod Prev Med, 2005, 32(5): 467-470.
- [5] 高秀芬, 计融. 黄曲霉毒素的分析方法[J]. 中国食品卫生杂志, 2005, 17(4): 347-352.  
Gao XF, Ji R. Analytical methods for aflatoxins in food and feed [J]. Chin J Food Hyg, 2005, 17(4): 347-352.
- [6] 李培武, 马良, 杨金娥, 等. 粮油产品黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 检测技术研究进展[J]. 中国油料作物学报, 2005, 27(2): 77-81.  
Li PW, Ma L, Yang JE, et al. A review on analytical methods for aflatoxin B<sub>1</sub> in grains and oilseeds products[J]. Chin J Oil Crop Sci, 2005, 27(2): 77-81.
- [7] Zhang DH, Li PW, Zhang Q, et al. Development of an ultrasensitive, nanogold probe-based immunochromatographic assay for simultaneous detection of total aflatoxins [J]. Bios Bioe, 2011, (26): 2877-2882.
- [8] 孙秀兰. 食品中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 金标免疫层析检测方法研究[D]. 江南大学, 2005.  
Sun XL. Study on Gold Labeled Immunochromatographic Assay for Detection of Aflatoxin B<sub>1</sub> in Foods[D]. Jiangnan University, 2005.
- [9] 谢光洪. 黄曲霉毒素免疫层析试纸条快速检测方法的研制[D]. 吉林大学, 2008.  
Xie GH. Development of Gold Immunochromatography Assay for Rapid Detection of Aflatoxin B<sub>1</sub> [D]. Jining University, 2008.
- [10] Reiter E, Zentek J, Razzazi E. Review on sample preparation strategies and methods used for the analysis of aflatoxins in food and feed [J]. Mol Nutr Food Res, 2009, 53(4): 508-524..
- [11] 柳洁, 何碧英. 黄曲霉毒素高效液相色谱检测方法研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(7): 891-896.  
Liu J, He BY. A review of HPLC method for aflatoxins in food products [J]. Chin J Health Lab Technol, 2005, 15(7): 891-896.
- [12] Jaimez J, Fente CA, Vazquez BI, et al. Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection in food analysis [J]. J Chromatogr A, 2000, 882: 1-10.
- [13] Takahashi DM. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic analytical system for aflatoxins in wines with fluo-

- rescence detection [J]. *J Chromatogr A*, 1977, 131: 147–156.
- [14] Manabe M, GoTo T, Matsuura S. High performance liquid chromatography of aflatoxins with fluorescence detection [J]. *Agric Biol Chem*, 1978, 42: 2003–2007
- [15] 马良, 李培武, 张文. 高效液相色谱法对农产品中黄曲霉毒素的测定研究[J]. *分析测试报*, 2007, 26(6): 774–778.  
Ma L, Li PW, Zhang W. Determination of Aflatoxins in Agricultural Products by High Performance Liquid Chromatography [J]. *J Instrum Anal*, 2007, 26(6): 774–778
- [16] Beaver RW, Wilson DM. Comparison of post-column derivatization liquid chromatography with thin-layer chromatography for determination of aflatoxins in naturally contaminated corn [J]. *J AOAC Int*, 1990, 73(4): 579–581
- [17] Kok WT. Derivatization reactions for the determination of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *J Chromatogr B*, 1994, 659: 127–137
- [18] Garner RC, Whattam MW, Taylor PJL, *et al.* Analysis of United Kingdom spices for aflatoxins using an immunoaffinity column clean-up procedure followed by high-performance liquid chromatographic analysis [J]. *J Chromatogr A*, 1993, 648: 485.
- [19] 许梓荣, 史莹华, 冯建蕾, 等. 光化学衍生法结合 HPLC 测定食品和饲料中的黄曲霉毒素[J]. *中国粮油学报*, 2005, 20(2): 71–75.  
Xu ZR, Shi YH, Feng JL, *et al.* Determination of Aflatoxins in Food and Feed by Using HPLC with Post-column Photochemical Derivatization [J]. *J Chin Cereals Oils Assoc*, 2005, 20(2): 71–75.
- [20] 范伟刚, 刘道杰. 光化学荧光分析法研究进展[J]. *理化检验 - 化学分册*, 2006, 42(1): 66–70.  
Fan WG, Liu DJ. Progress of Research and Application of Photochemical fluorimetry [J]. *Pica (Part B: Chem Anal)*, 2006, 42(1): 66–70.
- [21] 马占峰. 免疫亲和柱净化-在线柱后光化学衍生-高效液相色谱-荧光检测法快速测定食品中的黄曲霉毒素含量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2012, 3(3): 209–211.  
Ma ZF. Fast determination of aflatoxins in food by HPLC with fluorescence detection after immunoaffinity column with online post-column photochemical derivatization [J]. *J Food Safe Qual*, 2012, 3(3): 209–211.
- [22] 刘雪芬. 基于环糊精的黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 荧光增敏检测技术研究[D]. 中国农业科学院, 2011.  
Liu XF. Study on Cyclodextrins-based Fluorescence Enhancement Technology for AflatoxinB<sub>1</sub> Detection[D]. Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2011.
- [23] Cole RO, Holland RD, Sepaniak MJ. Factors influencing performance in the rapid separation of aflatoxins by micellar electrokinetic capillary chromatography [J]. *Talanta*, 1992, 39(9): 1139–1147.
- [24] Maragos CM, Greer JI. Analysis of aflatoxin B<sub>1</sub> in corn using capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection [J]. *J Agric Food Chem*, 1997, 45: 4337–4341.
- [25] Maragos CM, Appell M. Capillary electrophoresis of the mycotoxin zearalenone using cyclodextrin-enhanced fluorescence [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1143: 252–257.
- [26] Wei J, Okerberg E, Dunlap J, *et al.* Determination of biological toxins using capillary electrokinetic chromatography with multiphoton-excited fluorescence [J]. *Anal Chem*, 2000, 72: 1360–1363.
- [27] 马良, 张宇昊, 李培武. LIF-HPCE 法检测食品中的黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>[J]. *食品科学*, 2009, 30(10): 135–139.  
Ma L, Zhang YH, Li PW. Determination of Aflatoxin B<sub>1</sub> in Food by Laser Induced Fluorescence-High Performance Capillary Electrophoresis [J]. *Food Sci*, 2009, 30(10): 135–139.
- [28] 姜慧明.  $\beta$ -环糊精对典型芳香化合物的分子组装和识别研究[D]. 大连理工大学, 2012.  
Jiang HM. Molecular Assembly and Recognition Investigation of  $\beta$ -Cyclodextrin to Characteristic Aromatic Compounds [J]. Dalian University of Technology, 2012.
- [29] 金鑫. 环糊精类化合物主客体相互作用的理论研究[D]. 湖南: 湘潭大学, 2011.  
Jin X. Theoretical Study On a Series of cyclodextrins compounds interactions between host and guest [D]. Hunan: Xiangtan University, 2011.
- [30] 朱顺生, 颜冬云, 秦文秀, 等. 超分子环糊精的研究新进展[J]. *化学与生物工程*, 2012, 29(1): 1–6.  
Zhu XS, Han DY, Qin WX, *et al.* Research Progress of Supramolecular Cyclodextrin [J]. *Chem Bioeng*, 2012, 29(1): 1–6.
- [31] 张敏, 张宇昊, 马良.  $\beta$ -环糊精及其衍生物的荧光增敏作用研究进展[J]. *食品科学*, 2011, 32(1): 297–301.  
Zhang M, Zhang YH, Ma L. Research Advance in the Effects of  $\beta$ -Cyclodextrin and Its Derivatives on Fluorescence Enhancement [J]. *Food Sci*, 2011, 32(1): 297–301.
- [32] Dall’asta C, Ingletto G, Corradini R, *et al.* Fluorescence Enhancement of aflatoxins using native and substituted cyclodextrins [J]. *J Incl Phenom Macro Chem*, 2003, 45: 257–263.
- [33] Amadasi A, Dall’Asta C, Ingletto G, *et al.* Explaining cyclodextrin-mycotoxin interactions using a ‘natural’ force field [J]. *Bioorganic & Medicinal Chem*, 2007, 15: 4585–4594.
- [34] Verrone R, Catucci L, Cosma P, *et al.* Effect of  $\beta$ -cyclodextrin on spectroscopic properties of ochratoxin A in aqueous solution [J]. *J Incl Phenom Macro Chem*, 2007, 57: 475–479.
- [35] Franco CM, Fente FA, Vazquez BI, *et al.* Interaction between cyclodextrins and aflatoxins Q, M, and P Fluorescence and

- chromatographic studies [J]. *J Chromatogr A*, 1998, 815: 21–29.
- [36] Janini GM, Muschik GM, Hissaq HJ. Micellar electrokinetic chromatography in zeroelectroosmotic flow environment [J]. *J Chromatogr B*, 1996, 683: 29–35.
- [37] Maragos CM. Recent advances in the development of novel materials for mycotoxin analysis [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2009, 395: 1205–1213.
- [38] Maragos CM, Appell M, Lippolis V, *et al.* Use of cyclodextrins as modifiers of fluorescence in the detection of mycotoxins [J]. *Food Addit Contam*, 2008, 25(2): 164–171.
- [39] Appell M, Maragos CM. A closer look at cyclodextrins in mycotoxin analysis [C]. *American Chemical Society Symposium Series*, 2009: 293–305.
- [40] Chiavaro E, Dall'Asta C, Galaverna G, *et al.* New reversed liquid chromatographic method to detect aflatoxins in food and feed with cyclodextrins as fluorescence enhancers added to the eluent [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 937: 257–263.
- [41] Francis OJ, Kirschenheuter GP, Ware GM, *et al.* Beta-cyclodextrin post-column fluorescence enhancement of aflatoxins for reverse-phase liquid chromatographic determination in corn [J]. *J Assoc Off Anal Chem*, 1988, 71(4): 725.
- [42] Mohammad A, Naader AH. Fluorescence enhancement of the aflatoxin B<sub>1</sub> by forming inclusion complexes with some cyclodextrins and molecular modeling study [J]. *J Lumin*, 2007, 127: 575–582.
- [43] Vasquez MI, Franco CM, Cepeda A, *et al.* Liquid chromatographic study of the interaction between aflatoxins and betacyclodextrin [J]. *Anal Chim Acta*, 1992, 269: 239–247.
- [44] Javad H, Gholamreza AK, Naader A. Enhanced spectrofluorimetric determination of aflatoxin B<sub>1</sub> in wheat by second-order standard addition method [J]. *Talanta*, 2008, 75: 1075–1081.
- [45] Goryacheva IY, Rusanova TY, Pankin KE. Fluorescent properties of aflatoxins in organized media based on surfactants, cyclodextrins, and calixresorcinarenes [J]. *J Anal Chem*, 2008, 63(8): 751–755.
- [46] 刘雪芬, 李培武, 张文. 环糊精对花生黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 荧光增强作用与应用研究[J]. *中国油料作物学报*, 2010, 32(4): 546–550.
- Liu XF, Li PW, Zhang W. Development and application cyclodextrin fluorescence enhancement for aflatoxin B<sub>1</sub> test in peanuts [J]. *Chin J Oil Crop Sci*, 2010, 32(4): 546–550.
- [47] 张敏, 张宇昊, 马良.  $\beta$ -环糊精及其衍生物、金属离子协同增强黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的荧光光谱分析及应用研究[J]. *分析化学*, 2011, 39(12): 1907–1911.
- Zhang M, Zhang YH, Ma L. Studies and Application of Fluorescence of Aflatoxin B<sub>1</sub> Enhanced by Synergetic Effect of  $\beta$ -Cyclodextrin and its Derivatives and Metalions [J]. *Chin J Anal Chem*, 2011, 39(12): 1907–1911.
- [48] 张敏. 一种新型黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 荧光增强剂的开发研究[D]. 西南大学, 2012.
- Zhang M. The Research of a novel fluorescence enhancing agent for Aflatoxin B<sub>1</sub> determination [D]. Southwest University, 2012.
- [49] 张敏, 郭婷, 刘馨, 等.  $\beta$ -环糊精及其衍生物对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 荧光增强机制研究[J]. *食品科学*, 2012, 33(15): 28–33.
- Zhang M, Guo T, Liu X, *et al.* Mechanisms Underlying Fluorescence Enhancement of Aflatoxin B<sub>1</sub> by  $\beta$ -Cyclodextrin and Its Derivatives [J]. *Food Sci*, 2012, 33(15): 28–33.
- [50] 马良, 张敏, 张宇昊, 等. 黄曲霉毒素 G<sub>1</sub> 与  $\beta$ -环糊精及其衍生物超分子体系的荧光光谱研究[J]. *食品科学*, 2012, 33(12): 143–148.
- Ma L, Zhang M, Zhang YH, *et al.* Fluorescence Enhancement Mechanism of Aflatoxin G<sub>1</sub> by  $\beta$ -Cyclodextrin and Its Derivatives [J]. *Food Sci*, 2012, 33(12): 143–148.

(责任编辑: 张宏梁)

## 作者简介



涂春蓉, 本科, 主要研究方向为食品安全检测。  
E-mail: 1191771277@qq.com



马良, 博士, 副教授, 主要研究方向为现代食品检测技术及污染物分析。  
E-mail: zhyhml@163.com