粮油谷物饲料中霉菌毒素荧光定量快速检测方法

--8min 快速简便准确定量

一、粮油谷物饲料中霉菌毒素污染情况

霉菌毒素是由产毒真菌在适宜的环境条件下产生的有毒代谢产物．根据联合国粮农组织资料，世界上约有 25%的谷物不同程度地受到霉菌毒素的污染而不能食用，不仅在经济上造成了巨大的损失，而且由真菌产生的霉菌毒素还能引起人畜中毒，严重时甚至可以致癌。

目前已知能产生霉菌毒素的真菌有 150 余种，产生的霉菌毒素约有 300 种，其中包括黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、玉米赤霉烯酮及其衍生物类毒素、呕吐毒素、伏马菌素、T2 毒素等。真菌的生长和繁殖都需要一定的温、湿度条件，最适宜生长温度一般为 20～30℃，霉菌繁殖产毒的最适温度为 25～30℃。其中曲霉菌属最适宜生长温度为 30℃左右，青霉菌属为 25℃左右，镰刀菌属一般为 25℃左右。当真菌处于干燥、低温或处于与其他真菌竞争的应激情况时，就会产生霉菌毒素，由于真菌生长有一定的地域性，因此，不同区域占优势的霉菌毒素种类也不同，如在亚热带和热带地区，农产品和饲料主要被黄曲霉素和某些赭曲毒素污染;而玉米赤霉烯酮、呕吐霉素、赭曲霉毒素 A、T-2 毒素、烟曲霉毒素则在温带地区占有显著优势。

据我国粮油谷物饲料霉变情况调查报告，真菌的检出率和含量，南方地区都大大高于北方地区，特别是 5～9 月份，南方地区的平均气温都处于 20℃以上，平均相对湿度在 80%以上，这种高温高湿的环境

条件下，真菌生长繁殖最为旺盛，谷物饲料霉变大多发生在这个季节;北方的夏季虽然温度较高，但相对湿度较低，不易霉变，但常因加工、运输或贮存不当而产生霉菌毒素。

目前霉菌毒素的检测方法主要分为两大类：即确认方法和快速方法。确认方法主要基于理化仪器设备，如薄层色谱法(TLC)、气相色谱法(GC)、高压液相色谱法(HPLC)和各种联用技术如气质联用(GC-MS)、液质联用(HPLC-MS)等；快速方法主要是基于免疫化学基础上的免疫分析方法如免疫亲合柱-荧光检测(IAC-FLD)、酶联免疫吸附法(ELISA)和胶体金免疫层析法等。

结果准确、法定认可是理化方法最大的优点，但是仪器设备价格昂贵，前处理过程复杂、操作繁琐、效率低，成本极高，因此不适用于大规模样本的筛查和日常的内控检测，一般仅用于最终的确证。酶联免疫吸附法 ELISA 方法和胶体金快速检测卡是企业常用的快速检测方法，但也均存在各自的优缺点：ELISA 方法能灵敏度相对较高，且能定量检测，但操作过程相对复杂，对环境和人员要求高，环境干扰因素复杂，重复性较差；胶体金检测卡可以满足现场快速的要求，能在 5-10min 内快速测定，但是只能定性，且灵敏度较低，肉眼观察主观性较强，重复性差。

二、谷物饲料中霉菌毒素限量标准

2.1 粮油谷物等食品中霉菌毒素限量标准

食品类别	黄曲霉毒素 B1	玉米赤霉烯酮	呕吐毒素	赭曲霉毒素 A
植物油脂（花生油、玉米油除外）	10 ug/kg	--	--	--
花生油、玉米油	20 ug/kg	--	--	--
玉米及玉米制品	20 ug/kg	60 ug/kg	1000 ug/kg	5 ug/kg
稻谷、大米及其制品	10 ug/kg	--	--	5 ug/kg
小麦、大麦及其制品	5 ug/kg	60 ug/kg	1000 ug/kg	5 ug/kg
豆类及其制品	5 ug/kg	--	--	5 ug/kg

2.2 饲料及原料中霉菌毒素限量标准

饲料卫生标准中关于黄曲霉毒素B1限量规定（GB13078-2001）	
项目	最高限量μg/kg(ppb)
玉米、花生饼（粕）、菜籽饼（粕）	50
豆粕	30
仔猪配合饲料及浓缩料	10
生长育肥猪、种猪配合饲料及浓缩饲料	20
肉用仔鸡前期、雏鸡配合饲料及浓缩饲料	10
肉用仔鸡后期、生长鸡、产蛋鸡配合饲料及浓缩饲料	20
肉用仔鸭前期、雏鸭配合饲料及浓缩饲料	10
肉用仔鸭后期、生长鸭产蛋鸭配合饲料及浓缩饲料	15
鹌鹑配合饲料及浓缩饲料	20
奶牛精料补充料	10
肉牛精料补充料	50

玉米赤霉烯酮的限量（GB13078.2-2006）	
配合饲料，玉米	500ppb
赭曲霉毒素A（GB13078.2-2006）	
配合饲料，玉米	100ppb
呕吐毒素（GB13078.3-2007）	
猪配合饲料	1ppm
犊牛配合饲料	1ppm
泌乳期动物配合饲料	1ppm
牛配合饲料	5ppm
家禽配合饲料	5ppm
T-2毒素（GB21693-2008）	
猪配合饲料	1ppm
禽配合饲料	1ppm

三、上海飞测粮油谷物饲料中霉菌毒素荧光定量快速检测系统-8min 快速简便准确定量

上海飞测生物基于全球领先的荧光定量 FPOCT 技术平台，开发了霉菌毒素荧光定量快速检测系统，该系统结合了胶体金快速、酶联免疫定量以及色谱法准确的特点，可在 8min 内快速准确定量的测定出粮油谷物饲料中的霉菌毒素，包括黄曲霉毒素 B1、玉米赤霉烯酮、呕吐毒素、赭曲霉毒素 A、伏马菌素、T2 毒素等含量，样品前处理简单（仅需 7min），六种毒素一次提取即可，操作简便，只需一步加样，无需标准品，无需做标准曲线，采用荧光免疫定量分析仪读数，结果准确可靠且可现场打印，准确性高度符

合 HPLC 法的检测结果 ,为霉菌毒素的快速检测和控制提供了一种全新的技术手段 ,适用于各类原料收储、粮油加工企业、饲料加工企业、第三方检测机构及政府相关监管部门。

3.1. 荧光定量 FPOCT 检测原理

当将样品滴加在加样区时，样品中的待测物与结合垫中的荧光微球标记抗体结合并通过毛细作用向前层析，当达到检测区后，检测线 T 线上固定的抗原与剩余的部分荧光微球标记抗体结合，检测线 T 线上结合的荧光微球标记抗体的量与样品中待测物的量成反比，质控线 C 线结合的荧光标记物样品中待测物的量无关，其它荧光标记物继续层析达到吸收区。层析结束后，采用荧光读数仪的读取 T 线和 C 线的荧光强度并计算 T/C 值，通过仪器内置的标准曲线即可计算出样品中待测物的含量。

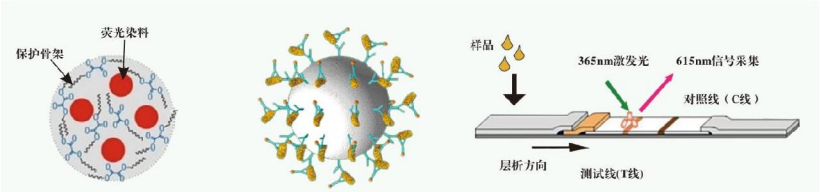
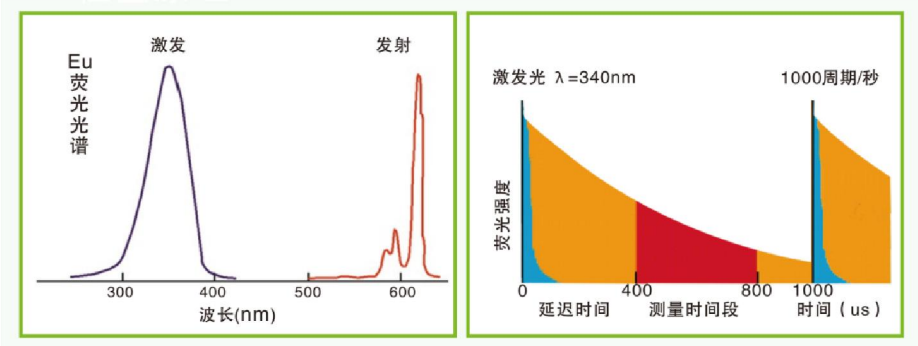


图1 荧光微球　图2 荧光微球标记抗体　图3 荧光试纸条

3.2. 稀土元素铕的特点



特点一：极宽的stoke位移　特点二：极长的荧光猝灭时间

1、稀土元素 Eu 的荧光强度比普通荧光染料高 1-3 个数量级，检测灵敏度更高；

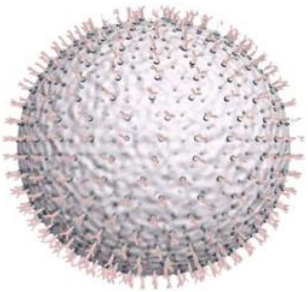
2、激发后的荧光寿命长达 1ms，比普通荧光染料的 10-50ns 长得多，通过读数仪的延迟读数功能，消除基质本底的干扰，检测结果的准确度和精确度更高；

3、激发光和发射光的 Stokes 位移宽达 270nm，远远大于普通荧光染料的 10-50nm，有效降低激发光

和发射光的互相干扰，同样可以提升检测结果的准确度和精确度；

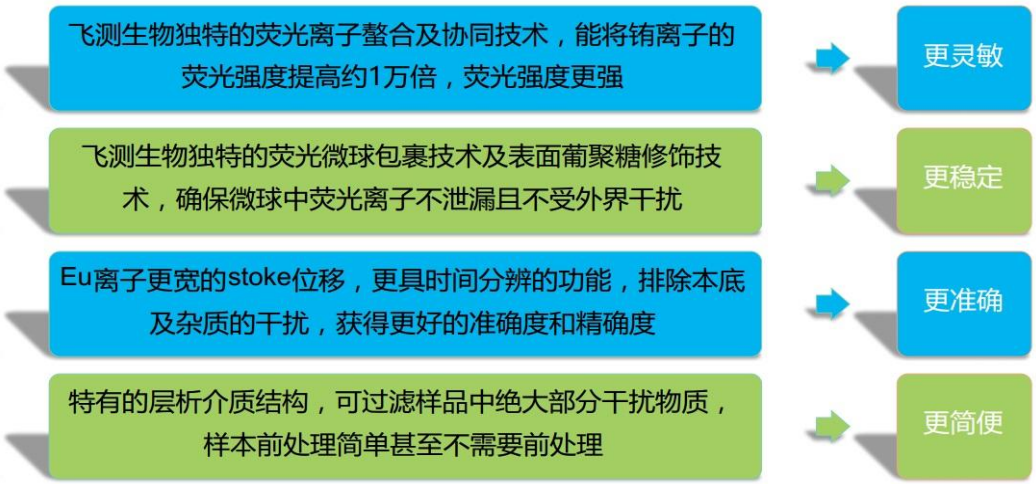
4、荧光的发射峰非常尖锐，更有利于检测仪器对荧光信号的采集和接收，提升检测结果的可靠性；

3.3. 荧光纳米微球的包裹和修饰



采用聚苯乙烯纳米微球对稀土荧光离子铕进行包裹，通过荧光预增强技术，提升单个荧光离子的荧光强度。通过对包裹技术的优化和改良，纳米微球中铕离子的密度可提升到 10 万个/微球，包裹完荧光离子后，在微球表面再进行葡聚糖修饰，大大提升了微球的稳定性和对可逆环境的抗干扰性。在此基础上可开发出灵敏度高于普通胶体金或有色乳胶免疫层析方法 2-3 个数量级的定量检测技术。

3.4. 荧光定量 FPOCT 技术平台的优势



3.5. 上海飞测荧光定量 FPOCT 技术平台与其他方法学技术性能的对比

性能指标	酶联免疫法	胶体金法	色谱法	上海飞测生物荧光定量 FPOCT 法
能否定量	是	定性或半定量	是	定量
灵敏度	高	低	中	高
准确度	中	低	高	高
重复性	中	低	高	高
检测时间	≥1H	≤10min	≥1H	8min
操作简易程度	繁琐	简便	繁琐	简便
是否需要专业检验人员	是	否	是	否
检验成本	中	低	高	中

3.6. 上海飞测粮油谷物饲料中霉菌毒素荧光定量检测系统技术性能

产品编号	产品名称	定量产品灵敏度	定量范围	检测时间
FAFB01	黄曲霉毒素 B1 荧光定量检测试纸条	0.5 μg/kg	1-75 μg/kg	8 min
FZEN01	玉米赤霉烯酮荧光定量检测试纸条	5.0 μg/kg	10-1000 μg/kg	8 min
FOTA01	赭曲霉素 A 荧光定量检测试纸条	5.0 μg/kg	10-500 μg/kg	8 min
FDON01	呕吐毒素荧光定量检测试纸条	25 μg/kg	100-5000 μg/kg	8 min
FTS201	T-2 毒素荧光定量检测试纸条	25μg/kg	100-5000 μg/kg	8 min
FFUM01	伏马菌素荧光定量检测试纸条	25 μg/kg	100-5000 μg/kg	8 min

注：μg/kg=ppb

3.7. 检测样本适用范围

3.8. 检测所需配备的仪器和耗材

序号	产品	厂家
	专用检测设备	
1	荧光免疫定量分析仪	上海飞测
2	试纸条恒温孵育器	上海飞测

	专用检测试剂	
3	黄曲霉毒素 B1 荧光定量检测试纸条	上海飞测
4	玉米赤霉烯酮荧光定量检测试纸条	上海飞测
5	呕吐毒素荧光定量检测试纸条	上海飞测
6	赭曲霉毒素 A 荧光定量检测试纸条	上海飞测
7	伏马菌素荧光定量检测试纸条	上海飞测
8	T-2 毒素荧光定量检测试纸条	上海飞测
	配套的实验室通用设备	
9	移液器 20-200ul	--
10	移液器 100-1000ul	--
11	移液器 1-5ml	--
12	漩涡混匀器	--
13	小型粉碎机（90%颗粒能过 20 目筛）	--
14	电子天平（精确到 0.01g）	--
15	台式低速离心机（4000rpm）	--
16	震荡摇床（检测量 > 5 个/天选用）	上海飞测定制

注：9-16 如客户已有的仪器设备，可以不需要重复采购。

荧光免疫定量分析仪

试纸条恒温孵育器

移液器

电子天平

小型粉碎机

旋涡混匀器

台式低速离心机

震荡摇床

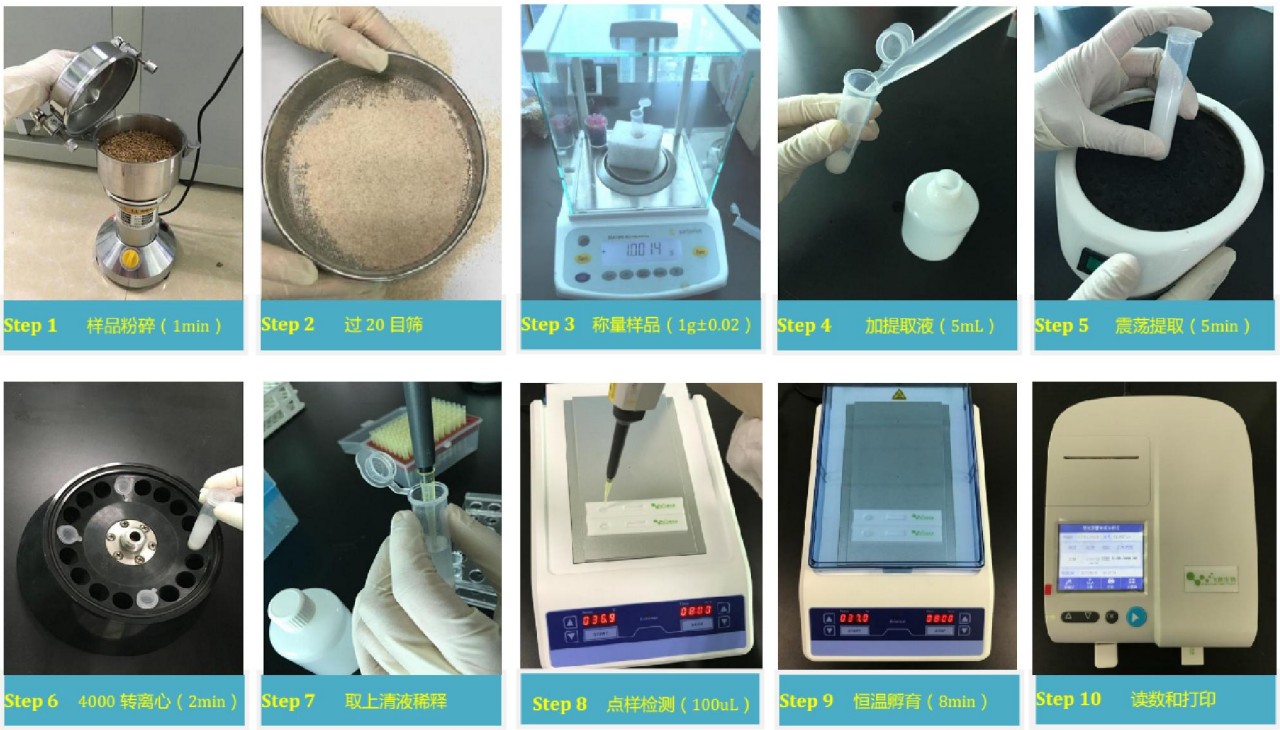
3.9. 检测操作过程

检测操作视频地址：http://v.youku.com/v_show/id_XMTc0Mzg5MDU2NA==.html

操作过程示意图如下：

上海飞测生物霉菌毒素荧光定量快速检测操作流程示意图

--粮食谷物饲料（提取多合一）15min 准确定量



3.10. 结果判读和输出

所有产品均采用便荧光免疫定量分析仪进行读数，使得检测结果更加准确、客观，避免人为的误判。

检测结果将呈现于荧光读数仪液晶显示屏上，同时可按打印键打印获得纸质的检测报告，另外，开通仪器的 WIFI 数据上传功能后，检测相关数据信息将自动上传至“食品安全溯源管理云平台”，便于溯源及质量管理。

便携式霉菌毒素荧光免疫定量分析仪

手持式霉菌毒素荧光免疫定量分析仪

台式霉菌毒素荧光免疫定量分析仪

3.11. 上海飞测生物霉菌毒素荧光定量快速检测系统优势

◆ **8min 快速准确定量检测：**集胶体金快速检测、酶联免疫定量检测、色谱质谱准确检测的特点于一身，可在 8min 内实现多种霉菌毒素的快速准确定量测定；

◆ **内置定量标准曲线：**仪器内置标准曲线，无需检测时再做标准曲线，既节省了成本，也避免了操作人员与霉菌毒素的接触，保护操作人员的安全；

◆ **多合一的样品前处理过程：**前处理方法统一，一种提取液一次提取即可检测所有种类的霉菌毒素，无需检验人员配制任何溶液，也无需对提取液进行任何 pH 的调节，大大提升检测的便捷性和效率；

◆ **随到随检：**无需做标准曲线，对检测样本量无要求，既可单个或少量样本随到随检，也可大量样本同时检测，检测成本无区别；既可用于实验室常规质控检测，也可用于收粮现场检测，确保原料收购的质量；

◆ **操作简便：**对配套的仪器设备和检测人员要求低，操作人员仅需短期培训就能熟练掌握；

◆ **行标支持：**基于 NY/T 2548-2014 行业标准，结果广泛认可；

◆ 样本适用范围广：采用时间分辨荧光专利技术，抗基质干扰强，样本适用性广，既可检测小麦、玉米、大米等原粮，也可检测各种粕类、麸皮、DDGS 等饲料原料，还可检测花生油、玉米油等各种植物油；

◆ **远程网络支持：**仪器可通过网络自动进行标准曲线读取、软件升级、问题故障诊断、质量控制等；

◆ **数据上传及溯源管理：**荧光定量分析仪具备数据无线上传的功能，可根据客户的需求定制开发相

应的数据管理和溯源管理系统，实现公司总部对各分公司、上级监管部门对下级监管部门或者监管部门对各监管对象检测数据的实时掌握和分析；性价比高：花胶体金试纸条的价格，获得色谱检测的质量和结果，并且节省人力物力，大幅降低检测费用；

◆ **性价比高：**花胶体金试纸条的价格，获得色谱检测的质量和结果，并且节省人力物力，大幅降低检测费用；

霉菌毒素荧光免疫定量分析仪基本参数

- 型号：FD-100
- 仪器尺寸：210mm×197mm×84mm
- 触屏尺寸：3.5 英寸
- 重量：1.4kg
- 激发光源 ：LED
- 激发光谱 中心波长λ_0=365nm
- 接收光谱 中心波长λ_1=610nm
- 接口：RS232、USB
- 打印：内置热敏打印机
- 数据储存：≥10000 条
- 检测时间：8 秒/个
- 检测通量：450 个/小时
- 台内精密度 CV≤0.5%（大于 50%光强）
- 台间精密度 CV≤1.0%（大于 50%光强）
- 仪器信噪比：0.01%（1:10000）
- 带一维码、二维码扫描参数输入模块
- 带无线传输模块

地址：上海市奉贤区生物科技园望园路 2165 弄 5 号 321 室

邮编：200401

电话：021-22810403

技术支持：18019236108

网址：www.femdetection.com

邮箱：winston@femdetection.com

霉菌毒素检测技术交流 QQ 群：493709339