

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241118003

引用格式: 茶绍桢, 杨双艳, 陆淑林, 等. 环介导等温扩增法可视化快速检测玉米中的黑曲霉[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(15): 301–307.

CHA SZ, YANG SY, LU SL, *et al.* Visual rapid detection of *Aspergillus niger* in *Zea mays* L. by loop-mediated isothermal amplification [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(15): 301–307. (in Chinese with English abstract).

环介导等温扩增法可视化快速检测 玉米中的黑曲霉

茶绍桢, 杨双艳, 陆淑林, 雷佳文*

(中南民族大学生命科学院, 武汉 430074)

摘要: **目的** 建立环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)快速可视化检测玉米中黑曲霉(*Aspergillus niger*)的方法。**方法** 基于 LAMP 技术, 针对赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA)产毒关键基因 *OTAh1* 设计特异性引物, 通过对引物序列、引物比例、反应温度、目视染料等条件的优化, 确定最佳检测条件; 以黑曲霉总 DNA 和人工污染玉米样品为模板, 验证方法的检测灵敏度和实际应用的可行性。**结果** 最佳引物比例为 8:4:1, 最佳反应温度为 64 °C, 方法可在 30 min 内完成目标 DNA 扩增, 阳性样本的颜色由紫罗兰色转变为蓝紫色。该方法可检测低至 6.87×10^{-3} ng/ μ L 的 DNA 质量浓度, 应用于玉米实际样品测定时, 可检测低至 10^1 个/mL 的孢子浓度。**结论** 该方法操作简单、灵敏度高、无需大型仪器, 能应用于玉米实际样品中 OTA 的检测, 具有广阔的应用前景。

关键词: 黑曲霉; 环介导等温扩增; 赭曲霉毒素; 可视化; 快速检测

Visual rapid detection of *Aspergillus niger* in *Zea mays* L. by loop-mediated isothermal amplification

CHA Shao-Zhen, YANG Shuang-Yan, LU Shu-Lin, LEI Jia-Wen*

(College of Life Sciences, South-Central Minzu University, Wuhan 430074, China)

ABSTRACT: Objective To establish a rapid visual detection method for *Aspergillus niger* in *Zea mays* L. by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) technology. **Methods** Based on LAMP technology, specific primers targeting the key ochratoxin A (OTA) biosynthesis gene *OTAh1* were designed. Through screening of the primers and optimization of conditions such as primer sequence, primer ratio, reaction temperature and visual dye, the optimal detection conditions were determined. Using the total DNA of *Aspergillus niger* and artificially contaminated corn samples as templates, the sensitivity of the detection method and the feasibility of its practical application were validated. **Results** The optimal primer ratio was 8:4:1, the optimal reaction temperature was 64 °C, and the method could complete the amplification of target DNA within 30 minutes. The color of the positive sample

收稿日期: 2024-11-18

基金项目: 中南民族大学中央高校基本科研业务费项目(CZQ22014)

第一作者: 茶绍桢(2001—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全快速检测技术。E-mail: 2276524377@qq.com

*通信作者: 雷佳文(1987—), 男, 博士, 讲师, 主要研究方向为食品安全快速检测技术。E-mail: jiawenlei@scuec.edu.cn

changed from violet to blue-purple. This method could detect DNA concentrations as low as 6.87×10^{-3} ng/ μ L. When applied to actual *Zea mays* L. sample testing, it achieved a detection limit as low as 10^1 spores/mL. **Conclusion** This method is simple to operate, highly sensitive, and does not require sophisticated instruments. It can be applied to the detection of OTA in actual *Zea mays* L. samples, indicating broad application prospects.

KEY WORDS: *Aspergillus niger*; loop-mediated isothermal amplification; ochratoxin; visualization; rapid detection

0 引言

赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA)广泛存在于小麦、玉米、大麦、豆类、坚果、葡萄、香料和咖啡等食品中,人类通过进食被 OTA 污染的农作物而受到危害^[1-2],国际食品法典委员会(Codex Alimentarius Commission, CAC)指出,谷物是每日摄入的 OTA 的最重要来源^[3-5]。OTA 对多种动物具有遗传毒性、致畸性、肝毒性、免疫毒性和致癌性^[6-8]。世界卫生组织食品添加剂联合专家委员会(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA)在 2001 年将该毒素列为人类可能致癌物(2B)^[9-10]。根据以往的研究,黑曲霉(*Aspergillus niger*)是中国地区玉米、小麦和水稻等谷物中分离到的最常见的真菌之一,并被认为是中国谷物中最重要的 OTA 产毒真菌^[11]。

传统产毒真菌的检测方法主要依赖平板计数和生化培养法^[12-13],虽然这些方法在食品安全监管中发挥了重要作用,但存在检测周期长、操作烦琐、成本高等缺点,难以满足现代食品安全快速检测的需求。近年来,分子生物学技术的快速发展为产毒真菌的检测提供了新的思路。聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)、实时荧光定量 PCR (real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, qPCR)等技术通过扩增目标基因,实现了对产毒真菌的高灵敏度、高特异性检测^[14-17]。其中,环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)技术因其快速、简便、灵敏度高等特点,在食品安全快速检测领域备受关注^[18-19]。LAMP 技术利用 6 种特异性引物,在恒温条件下(60~65 °C)可实现 DNA 的指数级扩增,通过肉眼观察即可获得检测结果^[20-24]。相较于传统的 PCR 技术, LAMP 技术无需复杂的仪器设备,操作简便,更适合现场检测^[25-30]。与直接检测 OTA 相比,通过检测产毒菌,可以提前预警食品污染风险,及时采取措施防止 OTA 的产生和积累,从而有效降低食品中 OTA 的含量,保障食品安全。此外,检测产毒菌还可以用于原料筛选、生产过程监控等环节,为食品安全管理提供科学依据。

目前已报道的产毒菌检测方法,多针对真菌通用基因进行检测^[31],虽能实现菌种鉴定,却无法精准区分产毒菌株与非产毒菌株。部分方法依赖浊度判读或荧光染料进行终点检测^[31-32],虽实现可视化但需借助荧光读数仪辅助判读,难以满足现场快速筛查需求。本研究基于 LAMP 技术,针对 OTA 产毒关键基因 *OTAh_{al}* 设计特异性引物,

用于检测玉米中的黑曲霉,可以在 OTA 污染的早期进行防控和预警,对保障粮食安全具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黑曲霉 CBS513.88(广东省微生物菌种保藏中心);禾谷镰孢(*Fusarium graminearum*)、绿色木霉(*Trichoderma viride*)、黄绿青霉(*Penicillium citreo-viride*)、棒曲霉(*Aspergillus clavatus*)(中国工业微生物菌种保藏管理中心)。

2×Tolo Super LAMP 预混液、50×LAMP 荧光染料、2×Q3 SYBR qPCR 预混液(上海吐露港生物科技有限公司);苯酚红、中性红(分析纯,上海麦克林生化科技有限公司);钙黄绿素(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);铬黑 T (eriochrome black T, EBT)(分析纯,天津希恩思生化科技有限公司);羟基萘酚蓝(hydroxynaphtholblue, HNB)(纯度 80%,北京索莱宝科技有限公司);琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒[B511139, 生工生物工程(上海)股份有限公司];马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar, PDA)(青岛海博生物技术有限公司)。

1.2 仪器与设备

T100 PCR 仪、CFX Opus 96 荧光定量 PCR 仪[伯乐生命科学产品(上海)有限公司];DB1 恒温金属浴(群安实验仪器有限公司);H1850R 高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);HX-21G 快速组织细胞破碎仪(天津欧诺仪器股份有限公司);THZ-98A 恒温培养箱(上海恒一精密仪器有限公司);Nano Drop one 超微量紫外分光光度计(美国赛默飞世尔科技公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 引物的设计与合成

几种产 OTA 的真菌其 OTA 产量均被证明与各自卤化酶基因 *OTAh_{al}* 的表达量有相关性, *OTAh_{al}* 被证实存在多种产 OTA 的真菌中^[33],是产 OTA 菌株的关键基因。CBS513.88 *OTAh_{al}* 基因的 GenBank 登录号为 MG701892.1,选取 800 bp 大小的序列,在 LAMP 引物在线设计平台(<http://primerexplorer.jp/lampv5e/index.html>)进行引物设计,每套 LAMP 引物包括两个外引物(F3, B3)、两个内引物(FIP, BIP)以及两个环引物(LF, LB)。一共设计 7 套 LAMP 引物(PM1~PM7),一组 PCR 引物(hal-F: GAGTACCTCGCGGG CAGACA, hal-R: TTGAAGAATGTCGCCAGCTGG),一组

qPCR 引物 (hal-qF: TGTCACATGCTCTGTAGGATTGG, hal-qR: CCCTACCTGATCCGAGGTCAA), 委托生工生物工程(上海)股份有限公司进行引物合成。

1.3.2 真菌的培养和基因组 DNA 提取

将活化的冻干菌粉接种于活化培养, 在菌丝生长旺盛时刮取新鲜菌丝或者在产孢时洗脱孢子用以提取 DNA; 称取约 100 g 菌丝体加入 600 μL 溴化十六烷基三甲铵 (cetyltrimethylammonium bromide, CTAB) 裂解液和 6 μL β -巯基乙醇, 用研磨仪研磨后充分振荡 1 h, 然后水浴 1 h, 加入 600 μL 苯酚:氯仿:异戊醇(25:24:1, *V:V:V*)剧烈振荡混匀, 4 $^{\circ}\text{C}$ 下 12000 r/min 离心 10 min, 取上清液转移至新的 1.5 mL 离心管中, 重复此步骤 5 次; 向上清液中加入等体积预冷的异丙醇, 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中过夜, 然后在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下 12000 r/min 离心 10 min, 弃去上清; 用 70%乙醇吹洗沉淀 2 次, 待残留乙醇挥发后加入 30 μL 纯水, 得到基因组总 DNA, 再通过琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒对 *OTAh* 基因片段进行回收, 超微量紫外分光光度计测定 DNA 浓度后于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.3.3 LAMP 引物筛选、引物比例和反应温度优化

常规 LAMP 和目视检测体系反应总体积均为 25 μL , 按照 TOLOBIO 反应体系: 2 \times Tolo Super LAMP 预混液 12.5 μL , 10 \times LAMP Primers 2.5 μL , 50 \times LAMP 荧光染料 0.5 μL , Target DNA 1 μL , ddH₂O 补足至 25 μL 。为了防止气溶胶污染, 在加样完成后另外添加 25 μL 矿物油对反应体系进行油封, 封盖后于荧光定量 PCR 仪上设定 30 s 为 1 个循环采集荧光信号, 反应结束后 90 $^{\circ}\text{C}$ 终止反应。引物浓度比例(FIP/BIP: LF/LB: F3/B3)按 8:1:1、8:4:1、8:6:1、8:8:1 进行优化, 在 61、62、63、64、65 $^{\circ}\text{C}$ 条件下进行温度优化。

1.3.4 LAMP 灵敏度实验

确定最佳引物和最适温度后, 将提取的总 DNA(质量浓度为 6.87×10^2 ng/ μL)用超纯水(ddH₂O)连续 10 倍梯度稀释至 6.87×10^{-7} ng/ μL , 将切胶回收的 *OTAh* 基因片段(浓度为 1.37×10^{10} copies/ μL)同样梯度稀释至 1.37×10^4 copies/ μL , 分别通过实时荧光 LAMP 测定灵敏度。

1.3.5 目视 LAMP 染料筛选

分别向 LAMP 反应体系中加入钙黄绿素、苯酚红、EBT、中性红、HNB 作为目视指示剂, 通过 LAMP 进行可视化检测分析。以 30 min 为反应终止时间, 通过反应终点与起点 LAMP 体系颜色的变化, 筛选最适合的 LAMP 目视染料。

1.3.6 目视 LAMP 灵敏度实验

将 1.3.5 中筛选到的目视染料加入到 LAMP 体系中, 对梯度稀释的总 DNA(原液为 6.87×10^2 ng/ μL , ddH₂O 10 倍梯度稀释至 6.87×10^{-4} ng/ μL)进行可视化 LAMP 检测, 测定目视 LAMP 灵敏度。

1.3.7 目视 LAMP 特异性实验

选取玉米和小麦中常见的 4 种真菌: 禾谷镰孢、绿色木霉、黄绿青霉、棒曲霉, 培养后提取 DNA 为模板, 同时设置 CBS513.88 总 DNA 为阳性对照, ddH₂O 为阴性对照, 按目视

LAMP 方法进行扩增反应, 对方法的特异性进行验证。

1.3.8 实际样品检测及方法学对比

精确称取 0.2 g 空白玉米粉末, 将其转移至无核酸酶的 2.0 mL 离心管中。将获得的孢子溶液 10 倍梯度稀释(由 10^5 个/mL 稀释至 10^0 个/mL), 接种 200 μL 至玉米样品中, 在 28 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育 2 h 后, 用 CTAB 法提取总 DNA 作为检测模板, 同时提取未被污染的玉米 DNA 作为阴性对照, 用本研究中建立的目视 LAMP 方法及常规 qPCR 方法进行检测和对比, qPCR 反应体系见表 1。

表 1 qPCR 反应体系
Table 1 qPCR reaction system

组分	体积/ μL
2 \times Q3 SYBR qPCR 预混液	10.0
hal-qF	0.4
hal-qR	0.4
ddH ₂ O	8.8
DNA	1

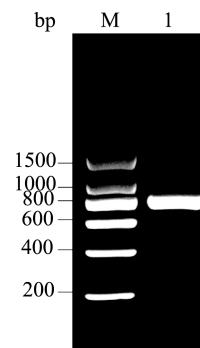
1.4 数据处理

每组实验均设置 3 个重复, 目视 LAMP 图片由 Canon EOS R6 拍摄, 为保证图片效果一致, 所有拍摄参数均固定为: 焦距 35 mm, 光圈 f/4, 曝光时间 1/250 s, 感光度 100, 数据分析及绘图由 Origin 2024 软件进行。

2 结果与分析

2.1 *OTAh* 基因片段 PCR 扩增结果

由图 1 可知 PCR 产物达到预期效果, 扩增段为 800 bp 大小, 未出现非特异性扩增, 说明 PCR 引物设计合理, 可以通过切胶回收 *OTAh* 基因片段用于下一步实验。



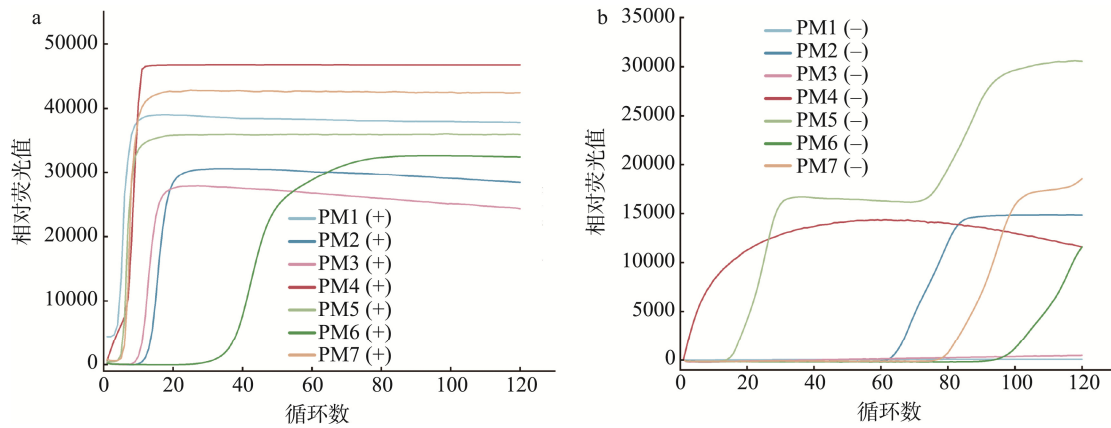
注: M. DNA Marke; 1. *OTAh* 基因条带。

图 1 *OTAh* 基因条带(800 bp)

Fig.1 Gene bands of *OTAh* (800 bp)

2.2 LAMP 引物筛选

根据实时荧光 LAMP 结果(图 2), 引物 PM1 在 4 个循环内即发生扩增, 且阴性对照在 120 个循环内无扩增, 对比其他几套引物, PM1 不仅在扩增起始阶段更为迅速, 且没有发生非特异性扩增, 综上, 选取 PM1 作为后续实验的最佳引物, 引物相关序列见表 2。



注: a. 阴性对照组; b. 阳性对照组; 其中-代表阴性, +代表阳性。

图 2 7 套引物 LAMP 反应曲线

Fig.2 LAMP response curves of 7 sets of primers

表 2 *Aspergillus.niger* CBS513.88 LAMP 引物名称及序列
Table 2 Primer name and sequence of *Aspergillus.niger* CBS513.88 LAMP

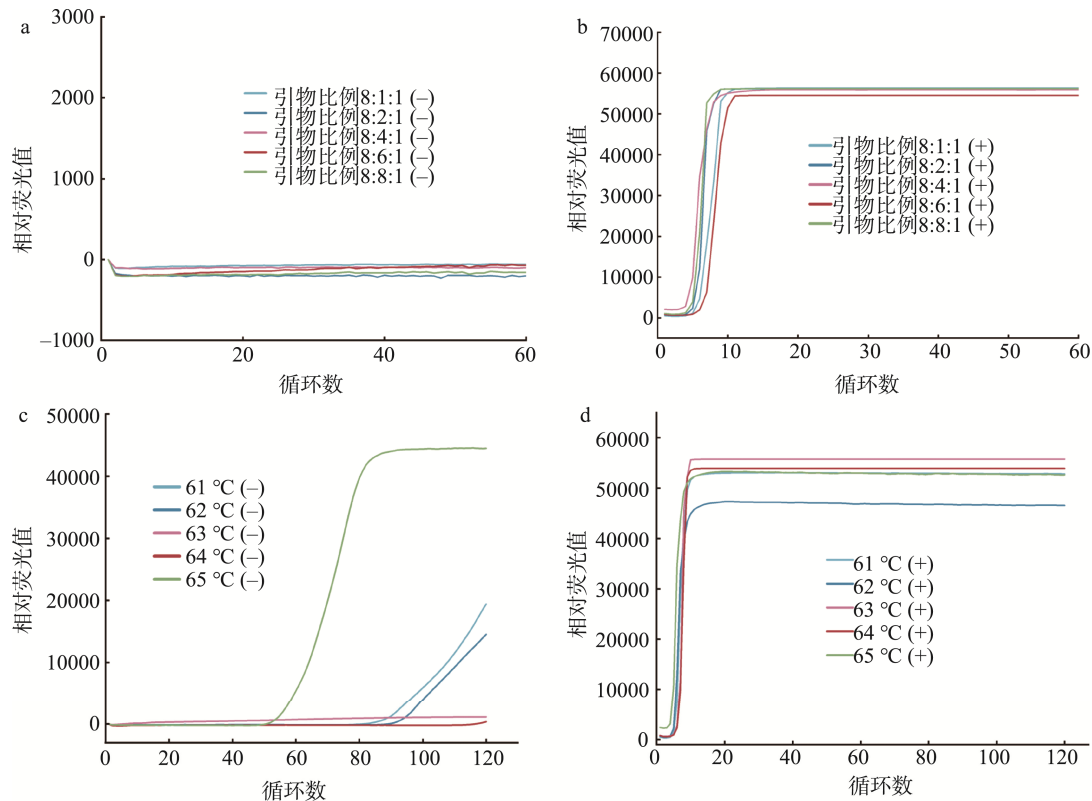
引物	名称	序列(5'-3')
	F3	TCCGAGCACCACGAGAAG
	B3	CCGTACCTCCGCATTGTC
PM1	FIP	TATCCGGGGTGACTGTCCCAGAAACGTCCG TATCTGTTCGC
	BIP	GGCAATGGATACCGCCGAGAGCCTTTAT CGACCCGTACT
	LF	CTGGCAGTGGCATTCCCAA
	LB	CTGCCAAATGCACGCCAGAT

2.3 LAMP 反应体系优化

由图 3a~b 可以看出, 引物浓度比例(FIP/BIP: LF/LB: F3/B3)为 8:4:1 时, 荧光信号出现时间最早, 且阴性在 120 个循环内无扩增, 故选取最佳引物比例为 8:4:1。由图 3c~d 可知, 反应温度为 64 °C 时, 相对荧光值峰值明显高于其他温度, 且阴性对照无非特异性扩增, 故选择 64 °C 为最佳反应温度。

2.4 LAMP 灵敏度实验

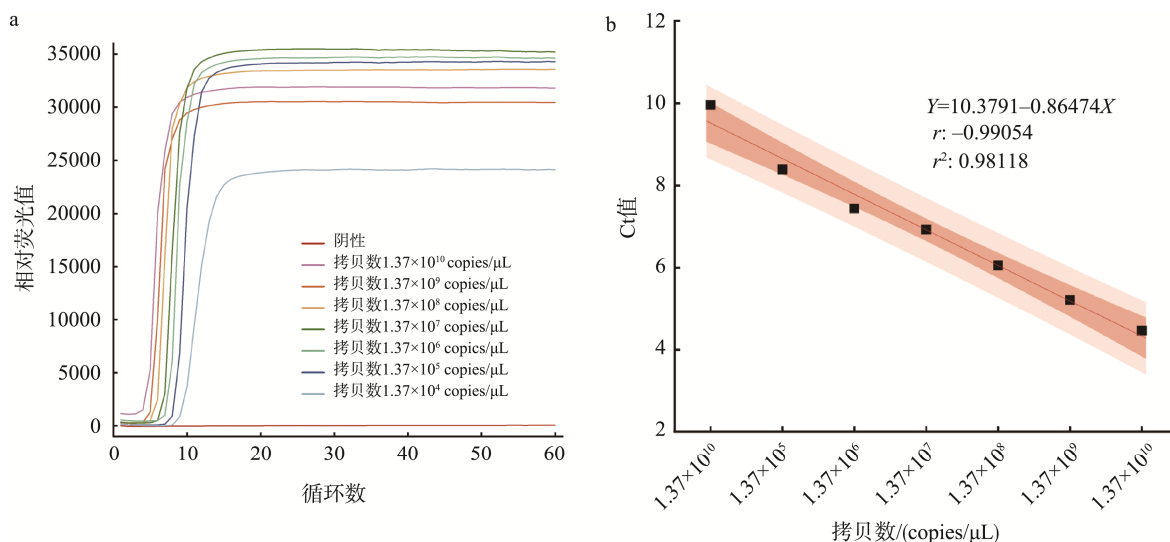
将 *OTAh1* 基因拷贝数进行梯度稀释后, 如图 4a 所示,



注: a. 5 种引物比例阴性对照, b. 5 种引物比例阳性对照, c. 5 种温度阴性反应曲线, d. 5 种温度阳性反应曲线。

图 3 LAMP 反应体系优化

Fig.3 Optimization of LAMP reaction system



注: a 不同拷贝数 LAMP 反应曲线, b 不同拷贝数 Ct 值线性方程。

图 4 *OTA1* 基因拷贝数检出限

Fig.4 Limit of detection of *OTA1* gene copy number

检出限为 1.37×10^4 copies/ μ L, 以拷贝数和 Ct 值做标准曲线, 如图 4b 所示, $r^2 \geq 0.98$, 拷贝数和 Ct 值存在良好线性关系。将总 DNA 梯度稀释后进行 LAMP 反应, 如图 5 所示, 最低检出限为 6.87×10^{-4} ng/ μ L。

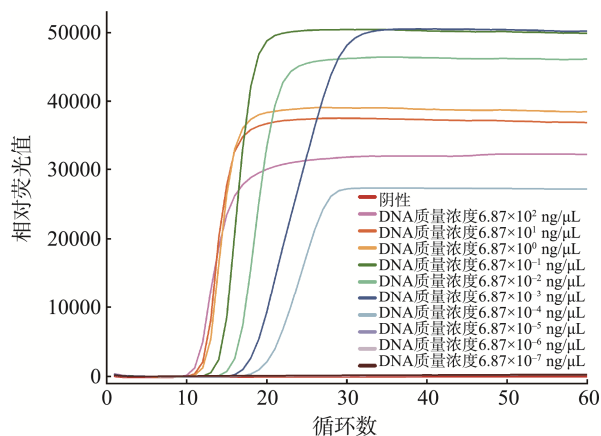


图 5 总 DNA 检出限

Fig.5 Limit of detection of total DNA

2.5 目视 LAMP 染料筛选

如图 6 所示, 5 种染料在反应 30 min 后均发生了较为明显的颜色变化。钙黄绿素反应前为无色, 反应后为黄绿

色荧光; 苯酚红反应前为深粉色, 反应后为浅粉色; EBT 反应前为紫罗兰色, 反应后为蓝紫色; 中性红反应前为黄色, 反应后为橙红色; HNB 反应前为浅蓝色, 反应后为天蓝色。其中钙黄绿素荧光需要在黑暗环境下, 由紫外灯照射产生, 不适用于实验室条件外的实际检测。其余 4 种染料中, 终点颜色变化最为明显, 且最容易被肉眼区分的为 EBT, 因此在后续所有 LAMP 反应中, 选择 EBT 为最佳目视染料。

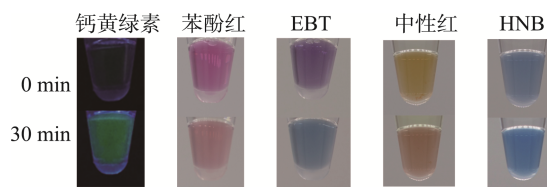


图 6 LAMP 可视化染料筛选

Fig.6 Screening of LAMP visual dyes

2.6 目视 LAMP 灵敏度

如图 7 所示, 目视 LAMP 总 DNA 检出限为 6.87×10^{-3} ng/ μ L, 在之后的稀释度下没有明显颜色变化, 与实时荧光 LAMP 结果基本相符, 但目视 LAMP 灵敏度要略低于实时荧光 LAMP (6.87×10^{-4} ng/ μ L)。

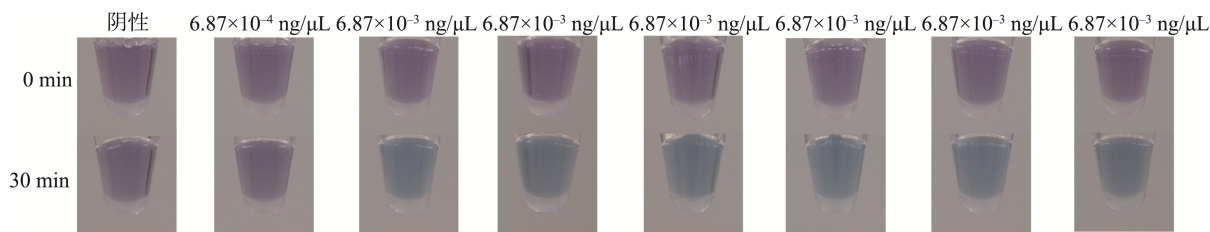


图 7 目视 LAMP 反应的灵敏度

Fig.7 Sensitivity of the visual LAMP reaction

2.7 目视 LAMP 特异性

实验结果表明(图 8), 只有黑曲霉 CBS513.88 发生了明显颜色变化(由紫罗兰色变为蓝紫色), 其他 4 株菌株均与阴性颜色保持一致(紫罗兰色), 表明本研究建立的黑曲霉可视化 LAMP 检测方法具有良好的特异性, 不与其他 4 种真菌发生交叉反应。

2.8 实际样品检测及方法学对比

由图 9 可以看出, 孢子浓度越高, LAMP 反应体系由紫罗兰色转变为天蓝色的时间越快, 以 30 min 为反应终止时间, 当孢子浓度为 10^0 个/mL 时, 反应体系颜色与阴性保持一致

(紫罗兰色), 本方法能检测到的最低孢子浓度为 10^1 个/mL。表 3 为 qPCR 与本研究建立的目视 LAMP 方法对比, 可以看出, qPCR 最低能检出 10^2 个/mL 的孢子浓度, 目视 LAMP 的实际样品检测灵敏度比普通 qPCR 法要高出一个数量级。

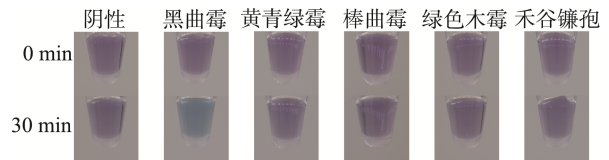


图 8 目视 LAMP 反应的特异性
Fig.8 Specificity of visual LAMP reaction

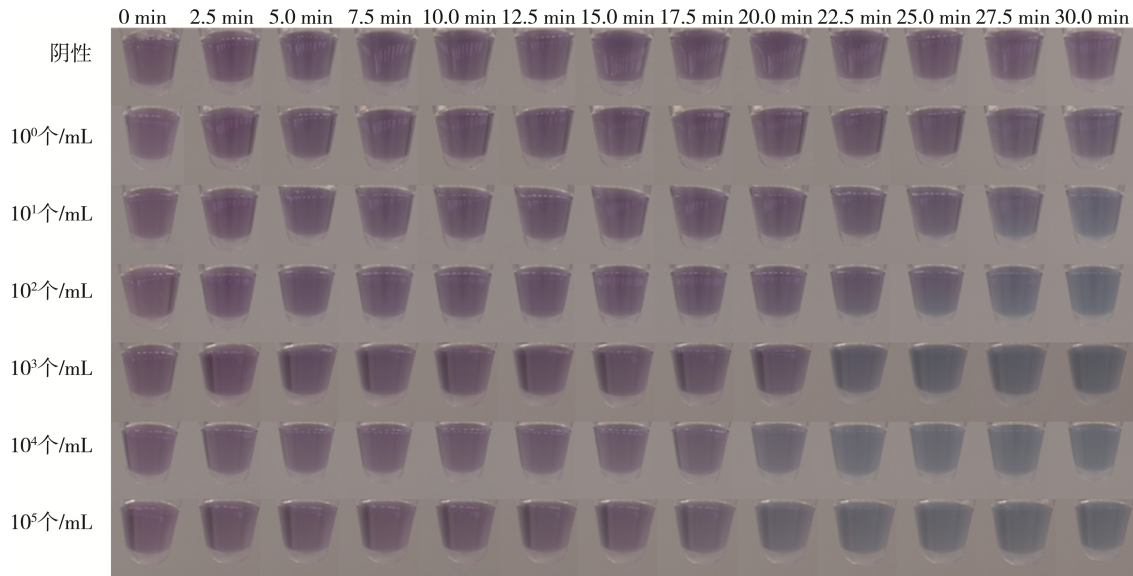


图 9 梯度孢子污染的玉米样品目视 LAMP 颜色变化
Fig.9 Gradient spore contaminated *Zea mays* L. samples with visual LAMP color variation

表 3 实际样品检测目视 LAMP 与 qPCR 方法对比结果
Table 3 Comparative results of visual LAMP and qPCR methods for actual sample detection

方法	孢子浓度/(个/mL)					
	10^0	10^1	10^2	10^3	10^4	10^5
qPCR	-	-	+	+	+	+
目视 LAMP	-	+	+	+	+	+

注: -, 未检出, +, 检出。

3 结论

黑曲霉是中国地区谷物中重要的 OTA 产毒菌之一, 本研究通过在 OTA 产毒关键基因 *OTAh1* 区域设计特异性引物, 结合 LAMP 技术, 实现了黑曲霉的可视化快速检测。相比传统方法, 本研究无需昂贵设备, 实验周期短, 通过颜色变化即可直接判断结果, 显著提高了检测效率和便捷性。本研究不仅能提前预警 OTA 污染, 还有助于及时防控, 减少经济损失, 对于保障粮食安全、控制食品中 OTA 含量具有重要意义。

参考文献

- [1] 杨家玲. 我国主要食品中赭曲霉毒素 a 调查与风险评估[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2008.
YANG JL. Investigation and risk assessment of ochratoxin a in main foods in china [D]. Xianyang: Northwest Agriculture and Forestry University, 2008.
- [2] OBAFEMI BA, ADEDARA IA, ROCHA JBT. Neurotoxicity of ochratoxin a: Molecular mechanisms and neurotherapeutic strategies [J]. *Toxicology*, 2023, 497: 153630
- [3] PETZINGER E, WEIDENBACH A. Mycotoxins in the food chain: The role of ochratoxins [J]. *Livestock Production Science*, 2002, 76(3): 245–250.
- [4] BANAHENE JCM, OFOSU IW, ODAI BT, *et al.* Ochratoxin a in food commodities: A review of occurrence, toxicity, and management strategies [J]. *Heliyon*, 2024, 10(20): e39313.
- [5] DUARTE SC, LINO CM, PENA A. Mycotoxin food and feed regulation and the specific case of ochratoxin A: A review of the worldwide status [J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2010, 27(10): 1440–1450.
- [6] BERGER V, GABRIEL AF, SERGENT T, *et al.* Interaction of ochratoxin

- a with human intestinal caco-2 cells: Possible implication of a multidrug resistance-associated protein (MRP2) [J]. *Toxicology Letters*, 2003, 140: 465–476.
- [7] GENG L, LIU J, ZHANG W, *et al.* Preparation of dual recognition adsorbents based on molecularly imprinted polymers and aptamer for highly sensitive recognition and enrichment of ochratoxin A [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 476: 135112.
- [8] 梁志宏, 黄昆仑, 何云龙, 等. 黑曲霉及其食品安全领域的赭曲霉毒素问题[J]. *食品科技*, 2008(10): 191–194.
LIANG ZH, HUANG KL, HE YL, *et al.* *Aspergillus niger*: Can produce the ochratoxin A [J]. *Food Science and Technology*, 2008(10): 191–194.
- [9] SHARAFI H, ALIZADEH N, MORADI M, *et al.* The prevalence and concentration of ochratoxin A in meat and edible offal: A global systematic review and meta-analysis [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2023, 178: 113921.
- [10] ZHIHONG L, KUNLUN H, YUNBO L. Ochratoxin A and ochratoxin-producing fungi on cereal grain in China: A review [J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2015, 32(4): 461–470.
- [11] ALADHADH M. A review of modern methods for the detection of foodborne pathogens [J]. *Microorganisms*, 2023, 11(5): 1111.
- [12] ZHU T, WU X, MA L, *et al.* Rapid mold detection in Chinese herbal medicine using enhanced deep learning technology [J]. *Journal of Medicinal Food*, 2024, 27(8): 797–806.
- [13] AFSAH-HEJRI L, RAJARAM P, O'LEARY J, *et al.* Identification of volatile organic compounds (VOCs) by SPME-GC-MS to detect *Aspergillus flavus* infection in pistachios [J]. *Food Control*, 2023, 154: 110033.
- [14] CAILLET A, BELLANGER AP, NAVELLOU JC, *et al.* Refractory invasive pulmonary aspergillosis due to *Aspergillus flavus* detected with the combination of two in-house *Aspergillus* qPCR [J]. *Journal of Medical Mycology*, 2023, 33(1): 101350.
- [15] MIRKHAH SM, OMAR TJ. Screening of aflatoxin production by *aspergillus flavus* isolates from petroleum-contaminated soil [J]. *ARO-The Scientific Journal of Koya University*, 2023, 11(2): 25–30.
- [16] LEHARANGER A, PAUMIER D, ORLANDO B, *et al.* Two new qPCR assays for detecting and quantifying the *aspergillus flavus* and *aspergillus parasiticus* clades in maize kernels [J]. *Plant Pathology*, 2024, 73(9): 2372–2381.
- [17] 安红玉, 陶泽, 陈晨, 等. 环介导等温扩增技术在食品安全检测领域的研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2024: 1-12. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.037897
AN HY, TAO Z, CHEN C, *et al.* Application of loop-mediated isothermal amplification in the detection of food safety [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2024: 1-12. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.037897
- [18] 管昭巍, 齐丽娟, 张玉, 等. 等温核酸扩增技术在食品安全中的应用研究进展[J]. *分析化学*, 2023, 51(7): 1077–1085.
GUAN ZW, QI LJ, ZHANG Y, *et al.* Research progress in application of isothermal nucleic acid amplification technology in food safety [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2023, 51(7): 1077–1085.
- [19] ZHANG X, ZHAO Y, ZENG Y, *et al.* Evolution of the probe-based loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assays in pathogen detection [J]. *Diagnostics*, 2023, 13(9): 1530.
- [20] NOTOMI T, OKAYAMA H, MASUBUCHI H, *et al.* Loop-mediated isothermal amplification of DNA [J]. *Nucleic Acids Research*, 2000, 28(12): e63–e63.
- [21] YANG N, ZHANG H, HAN X, *et al.* Advancements and applications of loop-mediated isothermal amplification technology: A comprehensive overview [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1406632.
- [22] NWE MK, JANGPROMMA N, TAEMAITREE L. Evaluation of molecular inhibitors of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) [J]. *Scientific Reports*, 2024, 14(1): 5916.
- [23] NAM D, KIM S, KIM JH, *et al.* Low-temperature loop-mediated isothermal amplification operating at physiological temperature [J]. *Biosensors*, 2023, 13(3): 367.
- [24] ATCEKEN N, MUNZER-ALSEED M, DABBAGH SR, *et al.* Point-of-care diagnostic platforms for loop-mediated isothermal amplification [J]. *Advanced Engineering Materials*, 2023, 25(8): 2201174.
- [25] SEN A, MASETTY M, WEERAKOON S, *et al.* Paper-based loop-mediated isothermal amplification and CRISPR integrated platform for on-site nucleic acid testing of pathogens [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2024, 257: 116292.
- [26] TANG J, ZHU J, WANG J, *et al.* Development and clinical application of loop-mediated isothermal amplification combined with lateral flow assay for rapid diagnosis of SARS-CoV-2 [J]. *BMC Infectious Diseases*, 2024, 24(1): 81.
- [27] YIGCI D, ATCEKEN N, YETISEN AK, *et al.* Loop-mediated isothermal amplification-integrated CRISPR methods for infectious disease diagnosis at point of care [J]. *ACS Omega*, 2023, 8(46): 43357–43373.
- [28] XIE M, CHEN T, CAI Z, *et al.* A digital microfluidic platform coupled with colorimetric loop-mediated isothermal amplification for on-site visual diagnosis of multiple diseases [J]. *Lab on a Chip*, 2023, 23(12): 2778–2788.
- [29] 贾博涵, 张琳, 陈耀, 等. 环介导等温扩增技术结合乳胶微球试纸条检测副溶血性弧菌[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(1): 74–84.
JIA BL, ZHANG L, CHEN Y, *et al.* Detection of *Vibrio parahaemolyticus* using loop-mediated isothermal amplification combined with latex microsphere test strips [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(1): 74–84.
- [30] LIU PQ, LI BJ, YIN RM, *et al.* Development and evaluation of ITS- and affP-based LAMP assays for rapid detection of *aspergillus flavus* in food samples [J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2014, 60(9): 579–584.
- [31] SHAN L, ABDUL-HASEEB H, ZHANG J, *et al.* A loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the rapid detection of toxigenic *Fusarium temperatum* in maize stalks and kernels [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2019, 291: 72–78.
- [32] 孔文平, 李裕, 郭锦材, 等. 基于基因探针扫描技术高通量检测乳制品中赭曲霉毒素 A 产生菌[J]. *乳业科学与技术*, 2022, 45(1): 20–25.
KONG WP, LI Y, GUO JC, *et al.* High-throughput detection of ochratoxin a-producing fungi in dairy products using gene probe scanning technology [J]. *Journal of Dairy Science and Technology*, 2022, 45(1): 20–25.

(责任编辑: 韩晓红 蔡世佳)