

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>



# [12] 发明专利申请公开说明书

G01N 30/88

G01N 30/74

G01N 30/02

G01N 33/52

G01N 33/53

G01N 33/531

[21] 申请号 200510023579.4

[43] 公开日 2005 年 7 月 27 日

[11] 公开号 CN 1645134A

[22] 申请日 2005.1.26

[21] 申请号 200510023579.4

[71] 申请人 上海大学

地址 200072 上海市闸北区延长路 149 号

[72] 发明人 陈宇光 黎双华 顾 鸣

[74] 专利代理机构 上海上大专利事务所

代理人 顾勇华

权利要求书 2 页 说明书 7 页

[54] 发明名称 玉米赤霉烯酮的检测方法

[57] 摘要

发明涉及一种玉米赤霉烯酮的检测方法，它是利用玉米赤霉烯酮单克隆抗体制备的免疫亲和柱及荧光光度计来检测玉米赤霉烯酮的方法，属生物细胞学及微生物菌类毒性代谢产物检测方法技术领域。本发明方法的具有以下检测过程和步骤：一. 免疫亲和柱的准备和制备：1. 制备单克隆抗体：单克隆抗体的制备要通过抗原合成、小鼠免疫、细胞融合、杂交瘤筛选及获取杂交瘤细胞株、采集单克隆抗体等步骤来获得，2. 利用上述的单克隆抗体来制备免疫亲和柱；二. 样品中玉米赤霉烯酮的分离与检测方法：将玉米试样用甲醇/水溶液提取其中的ZEN，经过过滤步骤并进行适当稀释之后，将液体样品流经亲和柱，再用甲醇洗脱下来后，用荧光分光光度计测定样液中玉米赤霉烯酮的含量。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种玉米赤霉烯酮的检测方法，它是以单克隆抗体免疫亲和柱为分离装置，用荧光光度计为检测工具的检测方法，该方法的特征是具有以下检测过程和步骤：

A. 免疫亲和柱的准备和制备：

a. 制备单克隆抗体，单克隆抗体的制备通过抗原合成、小鼠免疫、细胞融合、杂交瘤筛选及获取杂交瘤细胞株、采集单克隆抗体步骤来获得，其具体步骤为：

(a). 抗原合成：

第一步是玉米赤霉烯酮—羧甲氧肟的制备：称取玉米赤霉烯酮标准品 18mg 和羧基甲氧胺 45mg 放置棕小瓶中，加入 0.6ml 吡啶使之溶解，在室温搅拌 24 小时后，用真空泵抽干，然后用 5ml 蒸馏水溶解，用 NaOH 调 PH 至 9.0，用二氯甲烷 4ml 连续抽提 3 次，上层水溶液再用 HCL 调节 PH 至 2.0，静止 5 分钟，再用二氯甲烷 4ml 连续抽提 3 次，合并收集 3 次二氯甲烷液，再用无水硫酸钠脱水，用真空泵将二氯甲烷抽干，残留物即是玉米赤霉烯酮-羧甲氧肟；

第二步：玉米赤霉烯酮免疫抗原的制备：称取玉米赤霉烯酮-羧甲氧肟 15mg 溶解在 1ml 二氧六环试剂中，加入溶解在 1.5ml 蒸馏水、PH6.0 的 BSA（牛血清白蛋白）或 OVA（卵白蛋白）约 22mg；在 1 小时内加入 180mgEDC（碳二亚胺），并用 HCL 维持 PH 为 6.0，室温搅拌 24 小时，然后再加 180mgEDC，不断使溶液维持在 PH6.0，继续搅拌 48 小时左右，用 0.01MPBS（PH7.2 磷酸缓冲液）充分透析，离心分离后无菌过滤、分装、待用；

(b). 小鼠免疫：以玉米赤霉烯酮，简称 ZEN 和牛血清蛋白 BSA 的偶联复合物，即 ZEN-BSA 为免疫原免疫小鼠；用 60ug 抗原 ZEN-BSA 与 50ul 弗氏完全佐剂乳化后腹腔注射每只 10 周龄 BALB/C 雄性小鼠，一个月后再次免疫，腹腔注射 60ug 抗原与弗氏不完全佐剂乳化后的抗原，再经过 2 个月后加强免疫，采用尾静脉注射剂量为 60ug 抗原，4 天后取出小鼠的脾脏细胞，进行下一步的细胞融合；

(c). 细胞融合：免疫小鼠脾细胞与骨髓瘤细胞 X63-Ag8.653 以 10:1 混匀，借助 50%聚乙二醇进行融合，融合细胞用 HAT 选择培养基于 5%CO<sub>2</sub>，37

℃培养箱中培养；7天后更换HT培养液，第10天进行阳性孔筛选；

(d). 杂交瘤筛选及获取杂交瘤细胞株：进行阳性孔筛选采用间接非竞争酶联免疫吸附法；将筛选得到的强阳性细胞进行有限稀释克隆化，反复克隆多次，获得多株能稳定分泌抗玉米赤霉烯酮抗体的杂交瘤细胞株，对其中的4E5进行系统鉴定后待用；

(e). 采集单克隆抗体：将上述4E5杂交瘤细胞株扩大培养后，注入预先注射有降植烷的小鼠腹腔内，使其生长腹水瘤；10天后采集腹水，该腹水中含有大量单克隆抗体；保存好该单克隆抗体备用；

b. 利用上述的单克隆抗体来制备免疫亲和柱，其步骤如下：

(a). 称取适量溴化氰活化的琼脂糖干粉，用1mM的稀盐酸使其溶胀，然后在烧结玻璃滤器上冲洗以除去杂质；

(b). 将溶胀后的琼脂糖凝胶在偶联缓冲液中与上述制备得到的单克隆抗体均匀混合，并在室温下震荡充分反应1小时，偶联缓冲液由0.1M NaHCO<sub>3</sub>和0.5M NaCl配成，PH值为8.3；

(c). 除去未与琼脂糖凝胶结合的游离抗体；

(d). 封闭琼脂糖凝胶珠上残余的活性基团，用0.1M PH值为8.0的Tris-HCl处理偶联复合物，并静置2小时；

(e). 用含有0.5M NaCl，PH值为4.0的0.1M的乙酸缓冲液淋洗偶联复合物一次，再用含有0.5M NaCl，PH值为8.0的0.1M Tris-HCl缓冲液淋洗一次，如此循环反复清洗3次；

(f). 最后将琼脂糖—抗体复合物填充入55×6mm层析柱中，即制成免疫亲和柱。平衡备用；

## B. 食品和饲料中玉米赤霉烯酮的分离与检测方法

称取适量样品，用一定比例的甲醇/水提取其中的ZEN，经过过滤步骤并进行适当稀释之后，将液体样品流经亲和柱达到净化的目的，再用甲醇将亲和柱上的ZEN洗脱下来，在洗脱液中加入氯化铝溶液衍生，提高检测灵敏度，然后用荧光分光光度计测定样液中玉米赤霉烯酮的含量。

## 玉米赤霉烯酮的检测方法

### 技术领域

本发明涉及一种玉米赤霉烯酮的检测方法，它是利用玉米赤霉烯酮单克隆抗体制备的免疫亲和柱及荧光光度计来检测玉米赤霉烯酮的方法，属生物细胞学及微生物菌类毒性代谢产物检测方法技术领域。

### 背景技术

玉米赤霉烯酮（zearalenone,ZEN）是由禾谷镰刀菌、三线镰刀菌、尖孢镰刀菌、黄色镰刀菌、串珠镰刀菌、燕麦镰刀菌、木贼镰刀菌等菌种产生的有毒代谢产物，是一类雌激素真菌毒素，又称 F2 毒素。玉米赤霉烯酮主要存在于玉米和玉米制品中，小麦、大麦、高粱、大米中也有一定程度的分布。

玉米赤霉烯酮具有较强的生殖毒性和致畸作用，可引起动物发生雌激素亢进症，导致动物不孕或流产，对家禽特别是猪、牛和羊的影响较大，给畜牧业带来了很大的损失。饲料中 1mg/kg 的玉米赤霉烯酮就会使动物产生雌性化，更高的浓度（50~100 mg/kg）将会对怀孕、排卵、移植、胎儿的发育、新生动物的生存力产生不利的影响。因此，为了加快我国畜牧业的发展，我国正在加大对饲料的监督抽查力度，同时饲料中玉米赤霉烯酮含量成为检验检疫的重点之一，所以选择适当可行的方法检验 ZEN 成为当务之急。

目前玉米赤霉烯酮的测定方法有薄层色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法等。薄层色谱法虽然具有简便经济的特点，但操作步骤多，灵敏度低。气相色谱法、高效液相色谱法灵敏度高，但样品处理烦琐，操作复杂，仪器昂贵。另外，这些测定方法在操作过程中需要使用剧毒 ZEN 作标准物，预处理时需要用到有毒、异味有机溶剂，这些物质不仅毒害操作人员，而且污染环境。以上这些方法只适合于实验室中测定，无法实现推广和普及，所以绝大部分企业根本不进行 ZEN 的监督 and 检测工作，一直处于放任自流的状态。因此寻找一种经济、快捷、准确并且易于普及推广的 ZEN 检测方法是当务之急。

### 发明内容

本发明的目的在于提供一种经济、快捷、精确、安全的玉米赤霉烯酮的检测方法。本发明的另一个目的是提供一种利用玉米赤霉烯酮单克隆抗体的免疫亲和柱和荧光

光度计来检测玉米赤霉烯酮的方法。

为达到上述目的，本发明采用如下技术方案：

本发明一种玉米赤霉烯酮的检测方法，它是以单克隆抗体免疫亲和柱为分离装置，用荧光光度计为检测工具的检测方法，该方法的特征是具有以下检测过程和步骤：

A. 免疫亲和柱的准备和制备：

a. 制备单克隆抗体，单克隆抗体的制备要通过抗原合成、小鼠免疫、细胞融合、杂交瘤筛选及获取杂交瘤细胞株、采集单克隆抗体等步骤来获得，其步骤为：

(a) 抗原合成：1. 玉米赤霉烯酮-羧甲氧肟的制备：称取玉米赤霉烯酮标准品 18mg 和羧基甲氧胺 45mg 放置棕小瓶中，加入 0.6ml 吡啶使之溶解，在室温搅拌 24 小时后，用真空泵抽干，然后用 5ml 蒸馏水溶解，用 NaOH 调节 PH 至 9.0，用二氯甲烷 4ml 连续抽提 3 次，上层水溶液再用 HCL 调节 PH 至 2.0，静置 5 分钟，再用二氯甲烷 4ml 连续抽提 3 次，合并收集 3 次二氯甲烷液，再用无水硫酸钠脱水，用真空泵将二氯甲烷抽干，残留物即是玉米赤霉烯酮-羧甲氧肟，即玉米赤霉烯酮-Oxime。2. 玉米赤霉烯酮免疫抗原的制备：称取玉米赤霉烯酮-羧甲氧肟，15mg 溶解在 1ml 二氧六环试剂中，加入溶解在 1.5ml 蒸馏水、PH6.0 的 BSA（牛血清白蛋白）或 OVA（卵白蛋白）约 22mg。在 1 小时内加入 180mgEDC（碳二亚胺），并用 HCL 维持 PH 为 6.0，室温搅拌 24 小时，然后再加 180mgEDC，不断使溶液维持在 PH6.0，继续搅拌 48 小时左右，用 0.01MPBS（PH7.2 磷酸缓冲液）充分透析，离心分离后无菌过滤、分装、待用。

(b) . 小鼠免疫：以玉米赤霉烯酮（简称 ZEN）和牛血清蛋白 BSA 的偶联复合物（ZEN-BSA）为免疫原免疫小鼠；用 60ug 抗原 ZEN-BSA 与 50ul 弗氏完全佐剂乳化后腹腔注射每只 10 周龄 BALB/C 雄性小鼠，一个月后再次免疫，腹腔注射 60ug 抗原与弗氏不完全佐剂乳化后的抗原，再经过 2 个月后加强免疫，采用尾静脉注射剂量为 60ug 抗原，4 天后取出小鼠的脾脏细胞，进行下一步的细胞融合；

(c) . 细胞融合：免疫小鼠脾细胞与骨髓瘤细胞 X63-Ag8.653 以 10:1 混匀，借助 50%聚乙二醇（PEG1500）进行融合，融合细胞用 HAT 选择培养基于 5%CO<sub>2</sub>，37℃培养箱中培养；7 天后更换 HT 培养液，第 10 天进行阳性孔筛选；

(d). 杂交瘤筛选及获取杂交瘤细胞株：进行阳性孔筛选采用间接非竞争酶联免疫吸附法；将筛选得到的强阳性细胞进行有限稀释克隆化，反复克隆多次，获得多株能稳定分泌抗玉米赤霉烯酮抗体的杂交瘤细胞株，对其中的4E5进行系统鉴定后待用；

(e). 采集单克隆抗体：将上述4E5杂交瘤细胞株扩大培养后，注入预先注射有降植烷的小鼠腹腔内，使其生长腹水瘤；10天后采集腹水，该腹水中含有大量单克隆抗体；保存好该单克隆抗体备用；

b. 利用上述的单克隆抗体来制备免疫亲和柱，其步骤如下：

(a). 称取适量溴化氰活化的琼脂糖干粉：用1mM的稀盐酸使其溶胀，然后在烧结玻璃过滤器上冲洗以除去杂质；

(b). 将溶胀后的琼脂糖凝胶在偶联缓冲液中与上述制备得到的单克隆抗体均匀混合，并在室温下震荡充分反应1小时，偶联缓冲液由0.1M NaHCO<sub>3</sub>和0.5M NaCl配成，PH值为8.3；

(c). 除去未与琼脂糖凝胶结合的游离抗体；

(d). 封闭琼脂糖凝胶珠上残余的活性基团，用0.1M PH值为8.0的Tris-HCl处理偶联复合物，并静置2小时；

(e). 用含有0.5M NaCl, PH值为4.0的0.1M的乙酸缓冲液淋洗偶联复合物一次，再用含有0.5M NaCl, PH值为8.0的0.1M Tris-HCl缓冲液淋洗一次，如此循环反复清洗3次；

(f). 最后将琼脂糖—抗体复合物填充入55×6mm层析柱中，即制成免疫亲和柱。平衡备用；

## B. 食品和饲料中玉米赤霉烯酮的分离与检测方法

称取适量样品，用一定比例的甲醇/水提取其中的ZEN，经过过滤步骤并进行适当稀释之后，将液体样品流经亲和柱达到净化的目的，再用甲醇将亲和柱上的ZEN洗脱下来，在洗脱液中加入氯化铝溶液衍生，提高检测灵敏度，然后用荧光分光光度计测定样液中玉米赤霉烯酮的含量。

同现有技术相比，本发明方法具有如下显而易见的特点和突出的优点：本发明方法具有快捷、经济、精确度高等并且易于推广普及。本发明方法操作简单，能直接读取测试结果，能实现现场检测。因此，能有效地在食品的生产、运输、储存和销售过程中对玉米赤霉烯酮实行监控和检测。

本发明方法可以进行玉米赤霉烯酮的测定，测量范围为 0.01~10mg/kg.

具体实施方式：

实施例一：

一、免疫亲和柱的准备和制备：

1. 制备单克隆抗体，单克隆抗体的制备要通过小鼠免疫、细胞融合、杂交瘤筛选及获取杂交瘤细胞株、采集单克隆抗体等步骤来获得，其步骤为：

- (1) 抗原合成：a. 玉米赤霉烯酮-羧甲氧肟的制备：称取玉米赤霉烯酮标准品 18mg 和羧基甲氧胺 45mg 放置棕小瓶中，加入 0.6ml 吡啶使之溶解，在室温搅拌 24 小时后，用真空泵抽干，然后用 5ml 蒸馏水溶解，用 NaOH 调 PH 至 9.0，用二氯甲烷 4ml 连续抽提 3 次，上层水溶液再用 HCL 调 PH 至 2.0，静置 5 分钟，再用二氯甲烷 4ml 连续抽提 3 次，合并收集 3 次二氯甲烷液，再用无水硫酸钠脱水，用真空泵将二氯甲烷抽干，残留物即是玉米赤霉烯酮-羧甲氧肟。
- b. 玉米赤霉烯酮免疫抗原的制备：称取玉米赤霉烯酮-羧甲氧肟 15mg 溶解在 1ml 二氧六环试剂中，加入溶解在 1.5ml 蒸馏水、PH6.0 的 BSA(牛血清白蛋白)或 OVA (卵白蛋白) 约 22mg。在 1 小时内加入 180mgEDC 碳二亚胺，并用 HCL 维持 PH 为 6.0，室温搅拌 24 小时，然后再加 180mgEDC，不断使溶液维持在 PH6.0，继续搅拌 48 小时左右，用 0.01MPBS (PH7.2 磷酸缓冲液) 充分透析，离心后无菌过滤、分装、待用。

(2) . 小鼠免疫：以玉米赤霉烯酮 (简称 ZEN) 和牛血清蛋白 BSA 的偶联复合物 (ZEN-BSA) 为免疫原免疫小鼠；用 60ug 抗原 ZEN-BSA 与 50ul 弗氏完全佐剂乳化后腹腔注射每只 10 周龄 BALB/C 雄性小鼠，一个月后再次免疫，腹腔注射 60ug 抗原与弗氏不完全佐剂乳化后的抗原，再经过 2 个月后加强免疫，采用尾静脉注射剂量为 60ug 抗原，4 天后取出小鼠的脾脏细胞，进行下一步的细胞融合；

(3) . 细胞融合：免疫小鼠脾细胞与骨髓瘤细胞 X63-Ag8.653 以 10:1 混匀，借助 50%聚乙二醇 (PEG1500) 进行融合，融合细胞用 HAT 选择培养基于 5%CO<sub>2</sub>, 37℃培养箱中培养；7 天后更换 HT 培养液，第 10 天进行阳性孔筛选；

- (4) .杂交瘤筛选及获取杂交瘤细胞株：进行阳性孔筛选采用间接非竞争酶联免疫吸附法；将筛选得到的强阳性细胞进行有限稀释克隆化，反复克隆多次，获得多株能稳定分泌抗玉米赤霉烯酮抗体的杂交瘤细胞株，对其中的 4E5 进行系统鉴定后待用；
  - (5) .采集单克隆抗体：将上述 4E5 杂交瘤细胞株扩大培养后，注入预先注射有降植烷的小鼠腹腔内，使其生长腹水瘤；10 天后采集腹水，该腹水中含有大量单克隆抗体；保存好该单克隆抗体备用；
- 2.利用上述的单克隆抗体来制备免疫亲和柱，其步骤如下：
- (1) .称取适量溴化氰活化的琼脂糖干粉：用 1mM 的稀盐酸使其溶胀，然后在烧结玻璃过滤器上冲洗以除去杂质；
  - (2) .将溶胀后的琼脂糖凝胶在偶联缓冲液中与上述制备得到得单克隆抗体均匀混合，并在室温下震荡充分反应 1 小时，偶联缓冲液由 0.1M NaHCO<sub>3</sub> 和 0.5M NaCl 配成，PH 值为 8.3；
  - (3) .除去未与琼脂糖凝胶结合的游离抗体；
  - (4) .封闭琼脂糖凝胶珠上残余的活性基团，用 0.1M PH 值为 8.0 的 Tris-HCl 处理偶联复合物，并静置 2 小时；
  - (5) .用含有 0.5M NaCl，PH 值为 4.0 的 0.1M 的乙酸缓冲液淋洗偶联复合物一次，再用含有 0.5M NaCl，PH 值为 8.0 的 0.1M Tris-HCl 缓冲液淋洗一次，如此循环反复清洗 3 次；
  - (6) .最后将琼脂糖—抗体复合物填充入 55×6mm 层析柱中，即制成免疫亲和柱。平衡备用；

## 二 玉米原料中玉米赤霉烯酮的分离与检测方法：

1. 样品提取：玉米磨细，使粒度小于 2mm，准确称取样品 50.0 克，加入氯化钠 5.0 克和 80%甲醇-水溶液 100ml，用高速均质器高速搅拌 1 分钟，然后定量滤纸过滤，准确移取 10ml 滤液，用 1%Tween-PBS 40ml 共混均匀，再用玻璃纤维滤纸过滤，滤液备用。
2. 试样滤液净化：将 ZEN 免疫亲和柱连接于 10ml 玻璃注射器下，准确移取上述滤液（相当于 1 克样品），注入玻璃注射器中，控制压力使溶液以 6ml/min 的流速缓慢通过 ZEN 免疫亲和柱，直至 2—3ml 空气通过柱体。以 10ml 1%的 Tween-PBS 溶液淋洗柱子 1 次，再用 10ml 蒸馏水淋洗柱子 1 次，弃去全部流

出液，再使 2—3ml 空气通过柱体。然后准确加入 1ml 甲醇进行洗脱，流速为 1—2ml/min，收集全部洗脱液于玻璃试管中备用。

### 3. 荧光光度计测定

- (1) 荧光光度计 (VICAM VI SERIES 4) 校准：在激发波长 360nm，发射波长 450nm 条件下，取荧光光度计校准溶液(绿色)，以此来调节荧光光度计的读数值为-0.05 ppm；取荧光光度计校准溶液(红色)，调节荧光光度计的读数值为 0.45 ppm；取荧光光度计校准溶液(黄色)，调节荧光光度计的读数值为 0.2 ppm。
- (2) 测定：取上述试样洗脱液加入 1.0ml 氯化铝衍生溶液，混合均匀后静置 5 分钟，于荧光光度计上测定样液中玉米赤霉烯酮含量。样品中玉米赤霉烯酮的检测结果如表 1 所示：

表 1 饲料中 ZEN 的检测结果

	荧光光度计测得的 ZEN 浓度 (mg/kg)
1	180
2	180
3	190
平均值	183.33
变异系数(%)	3.1

从测定结果可以得出，所检测饲料中的玉米赤霉烯酮的含量其平均值为 183.33ppm,且三个平行检测的结果批内变异系数为 3.1%，说明免疫亲和柱性能稳定，完全可以实际检测。

本发明中采用的免疫亲和柱的回收效果良好，它具有较高的回收率，可以通过荧光光度计检测免疫亲和柱的回收效果，检测方法如下：

将 ZEN 标准品以不同浓度添加到不含 ZEN 的样品中。根据标准提取方法提取 ZEN，用本发明的免疫亲和柱净化后，在真菌毒素荧光分析仪上直接读取 ZEN 浓度结果，计算回收率，其结果如下表 2 所示：

表 2 荧光光度计检测回收率结果

次数	添加 ZEN 浓度 (mg/kg)		
	50	100	200

	荧光计实际测得值 (mg/kg)		
1	45	96	190
2	43	93	190
3	47	93	195
平均值	45	11.67	191.67
平均回收率 (%)	90	94	95.8
变异系数 (%)	4.4	1.8	1.5

从上表检测结果可知，其回收率均在 90%以上，处于《中华人民共和国进出口商品检验行业标准》的范围之内。由此表明本发明所采用的免疫亲和柱完全可以满足 ZEN 快速检测的需要。

专利名称(译)	玉米赤霉烯酮的检测方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN1645134A</a>	公开(公告)日	2005-07-27
申请号	CN200510023579.4	申请日	2005-01-26
[标]申请(专利权)人(译)	上海大学		
申请(专利权)人(译)	上海大学		
当前申请(专利权)人(译)	上海大学		
[标]发明人	陈宇光 黎双华 顾鸣		
发明人	陈宇光 黎双华 顾鸣		
IPC分类号	G01N30/02 G01N30/74 G01N30/88 G01N33/52 G01N33/53 G01N33/531		
其他公开文献	CN1295511C		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

发明涉及一种玉米赤霉烯酮的检测方法，它是利用玉米赤霉烯酮单克隆抗体制备的免疫亲和柱及荧光光度计来检测玉米赤霉烯酮的方法，属生物细胞学及微生物菌类毒性代谢产物检测方法技术领域。本发明方法的具有以下检测过程和步骤：一.免疫亲和柱的准备和制备：1.制备单克隆抗体：单克隆抗体的制备要通过抗原合成、小鼠免疫、细胞融合、杂交瘤筛选及获取杂交瘤细胞株、采集单克隆抗体等步骤来获得，2.利用上述的单克隆抗体来制备免疫亲和柱；二.样品中玉米赤霉烯酮的分离与检测方法：将玉米试样用甲醇/水溶液提取其中的ZEN，经过过滤步骤并进行适当稀释之后，将液体样品流经亲和柱，再用甲醇洗脱下来后，用荧光分光光度计测定样液中玉米赤霉烯酮的含量。

	荧光光度计测得的ZEN浓度 (mg/kg)
1	180
2	180
3	190
平均值	183.33
变异系数(%)	3.1