

酶联免疫吸附技术在食品检测分析中的研究进展

石超, 吕长鑫*, 冯叙桥*, 李萌萌, 刘苏苏

(渤海大学化学化工与食品安全学院, 辽宁省食品安全重点实验室, 锦州 121013)

摘要: 酶联免疫吸附技术(ELISA)是酶免疫测定技术中应用最广泛的技术, 是将已知的抗原或抗体吸附在固相载体表面, 使酶标记的抗原抗体反应在固相表面进行, 通过酶与底物产生颜色反应, 用洗涤法将液相中的游离成分除去后再进行定量测定。主要分为夹心法、间接法和竞争法。本文简要介绍了几种常用方法及其基本作用机制, 详述了 ELISA 检测技术在食品检测中具体应用及发展历史与现状, 对其在食品中农药残留、病原微生物、生物毒素、转基因食品、重金属残留、过敏性残留物及违规添加成分检测等方面的应用情况进行系统总结, 并对其发展前景进行了分析。

关键词: 酶联免疫吸附; 食品检测; 研究进展

Advances in food determination and analysis of enzyme-linked immunosorbent assay

SHI Chao, LV Chang-Xin*, FENG Xu-Qiao*, LI Meng-Meng, LIU Su-Su

(College of Chemistry, Chemical Engineering and Food Safety, Bohai University, Food Safety Key Lab of Liaoning Province, Jinzhou 121013, China)

ABSTRACT: Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) is the most widely used technique in the enzyme immunoassay techniques. The antigen or antibody is adsorbed on the surface of the solid phase carrier, antigen-antibody reaction on the surface of the carrier, produce a color reaction by the enzyme and substrate, then quantitative determination after washed the free ingredients of the liquid phase. The ELISA technique is mainly divided into sandwich method, the indirect method and competition law. This paper describes the common method and basic mechanism of action of the enzyme-linked immunosorbent assay, and details their specific application and development in detection of pesticide residues, pathogenic microorganisms, biotoxins, genetically modified food, heavy metal residues, allergic residues and illegal additives, and finally summarizes and analyzes its prospects.

KEY WORDS: enzyme-linked immunosorbent assay; food detection; research progress

基金项目: 辽宁省科技厅农业攻关计划项目(2011205001)、渤海大学人才引进基金项目(BHU20120301)、“十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAD29B06)

Fund: Supported by Agriculture Brainstorm Project of Technology in Liaoning Province (2011205001), Talents Introduction Fund Project of Bohai University (BHU20120301) and “the Twelfth Five” National Key Technology R & D Project (2012BAD29B06)

*通讯作者: 吕长鑫, 教授, 主要研究方向为农产品贮藏加工与食品资源开发。E-mail: lvchangxin6666@163.com

冯叙桥, 教授, 主要研究方向为果蔬质量与安全控制。E-mail: feng_xq@hotmail.com

*Corresponding author: LV Chang-Xin, Professor, Food Science Research Institute of Bohai University, No.19, Science and Technology Road, Mstsuyama District, Jinzhou 121013, China. E-mail: lvchangxin6666@163.com

FENG Xu-Qiao, Professor, Food Science Research Institute of Bohai University, No.19, Technology Road, Songshan District, Jinzhou 121013, China. E-mail: feng_xq@hotmail.com

1 引言

酶是一种有催化作用的蛋白质,具有高效和专一等特点。目前,国际生物化学联合会把酶分成氧化还原酶类、转移酶类、水解酶类、裂合酶类、异构酶类和合成酶类六大类^[1]。自 1894 年日本学者高峰让吉首次应用酶制剂,到 20 世纪前半叶西方国家把木瓜酶、胰酶、细菌淀粉酶分别用于啤酒、制革和纺织行业中,至今,酶制剂已广泛应用于食品、印刷、医药、石油化工等各大领域^[2]。

近年来,国内外将酶制剂应用于食品的分析检测中,有效地提升了食品检测的速度和准确性,在特异性和灵敏性方面也明显优于其他检测方法,显著提高了检测的效率。酶联免疫吸附(ELISA)技术,又称酶标法,是一种在免疫酶学基础上发展起来的新型免疫测定技术,此法在食品检测方面更表现出很大优势,并在该领域迅速发展。本文将对 ELISA 在食品中检测应用及研究进展进行总结。

2 酶联免疫吸附(ELISA)技术

酶联免疫吸附技术起始于瑞典学者 Engvall 和 Perlmann 在 1971 年发表的《酶联免疫吸附试验用于 IgG 定量测定》的文章中^[3],这项技术的产生,使 1966 年用于抗原定位的酶标抗体技术发展成为可测定液体标本中微量物质的一种新方法^[4,5]。此项技术较之于传统的分析检测方法,具有实用性强、灵敏度高、选择性好、分析结果准确等一系列优点,故 ELISA 已广泛应用于生物学、临床医学、食品分析、分析化学等各大领域。

2.1 ELISA 基本原理及优点

酶联免疫吸附技术是将免疫活性未被破坏的抗原或者抗体结合到特定固相载体的表面,使其与某种酶结合成酶标抗原或抗体,此酶标抗原或抗体既保留其免疫活性,又保留了酶的活性。在测定时,将含待检抗体或抗原的受检标本和酶标抗原或抗体按照不同的程序步骤与固相载体表面的抗原或抗体反应,得到抗原或抗体的复合物,过程见图 1。接着,通过洗涤方式使固相载体上抗原或抗体的复合物与其他物质分离,最后固相载体上的酶量与标本中

待检物质的量成一定比例。加入酶反应底物后,底物经酶催化形成有色产物,此产物的量与标本中受检物质的量有直接关系,故可根据颜色反应对结果进行定性或定量分析。由于酶催化频率极高,因此反应效果可最大化显示,可使测定结果具有很高的敏感度,使结果高度可信^[6-9]。

2.2 ELISA 方法类型

ELISA 的测定方法分类并无统一标准,但可根据试剂来源、标本性状及检测条件等方面将现有的检测技术分为夹心法、间接法、竞争法和捕获法四种方法。每种 ELISA 检测方法的特点和应用见表 1。

除上述几种方法外还有 ELISA 与其他方法或成分相结合的检测方法,如 ABS (avidin biotin system)-ELISA 法、PCR-ELISA 法、斑点免疫酶结合试验(DIA)等^[12]。可根据条件及要求自主设计适当的测定方法,使检测过程更简单快捷,结果更准确。

3 ELISA 在食品检测中的发展及应用

3.1 食品中农药残留的检测

农药残留是在农业生产中施用农药后,一部分农药直接或间接的残留于谷物、果蔬等食品中的一种现象。农药残留目前已成为我国主要的食品安全问题之一,直接影响我国农副产品的质量^[13]。

自 1977 年,Ercegnovich 等^[14]首次将免疫技术应用于对硫磷的检测,打破了传统的复杂且需要昂贵仪器的检测技术,使农药残留检测技术迈入了一个新的高度。1994 年 Ibrahim 等^[15]采用杂交瘤技术制备对硫磷特异性单克隆抗体,并使用 ELISA 技术检测其含量,实现了将 ELISA 应用到有机磷农药的检测。2000 年, Katsoudas 等^[16]建立了检测新鲜食品中氨基甲酸酯类杀虫剂残留的 ELISA 方法,并在樱桃、香蕉、桃子和西红柿等水果中应用 ELISA 检测胺甲萘及虫螨威两种杀虫剂。2003 年, Lee^[17]等深入的研究了乙酰甲胺磷的酶联免疫分析方法,首先选择并合成了五种半抗原,通过免疫得到其抗体,成功建立乙酰甲胺磷的 ELISA 检测方法,在异源 ELISA 检测体系中,检测的 IC_{50} 为 25 ng/mL,最低检出限达到了 2 ng/mL,且此法的特异

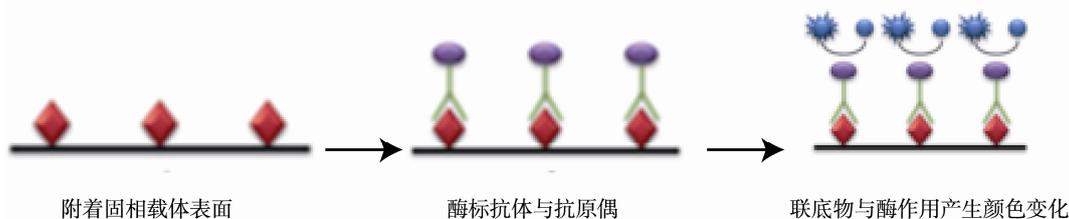


图 1 抗原或抗体复合物后显色反应

Fig. 1 Color reaction after the complex with the antigen or antibody

表 1 ELISA 检测方法及其特点^[10,11]
Table 1 The method and characteristics of ELISA^[10,11]

方法	特点	应用
夹心法	分别以两种抗体对检体中的抗原进行两次专一性辨认, 因此专一性相当高, 但此待测抗原必须是多价抗原, 如此才可获得两种以上的专一性抗体, 以分别进行夹心	夹心法 通常用于检测抗原。
间接法	此法只需更换不同的固相抗原, 可用一种酶标抗体对各种相应的抗体进行检测检测, 故称为间接法。	间接法 通常用于检测抗体。
竞争法	当需要侦测无法获得两种以上单一性抗体的抗原, 或是不易得到足够的纯化抗体以固著于孔盘上时, 一般会考虑使用竞争法 ELISA。	应用较少, 多数用于检测小分子抗原
捕获法	血清中针对某些抗原的特异性 IgM 常和特异性 IgG 同时存在, 后者会干扰 IgM 抗体的测定。先将所有血清 IgM(包括异性 IgM 和非特异性 IgM)固定在固相上, 在去除 IgG 后再测定特异性 IgM。	测定 IgM 抗体

表 2 主要农药残留的酶联免疫分析
Table 2 The main pesticide residue analysis by ELISA

农药类别	农药名称	测定方法	抗体类型	测定样本	检测限
杀虫剂	对硫磷	RIA ELISA	多抗、单抗	蔬菜、血浆	0.28~20 ng/mL
	杀螟松	ELISA	多抗、单抗	谷物	80~100 µg/kg
	甲胺磷	ELISA	多抗	蔬菜、谷物	0.032~500 ng/mL
	西维因	ELISA	多抗	奶、蜂蜜、肉类、水	0.01~100 ng/mL
	呋喃丹	ELISA	多抗	奶、肉类、血浆	0.01 mg/L
	灭多威	ELISA	多抗	兔毛	0.9 ng/g
	菊酯(总量)	ELISA	多抗	肉类	50~500 µg/kg
	氰戊菊酯	ELISA	多抗	水	0.1~4.8 µg/L
	甲基嘧啶硫磷	ELISA	多抗	谷物	30 µg/kg
	多菌灵	ELISA	多抗	果汁、土壤、水	0.1~300 ng/mL
杀菌剂	噻菌灵	ELISA	多抗、单抗	果汁、蔬菜、肉类	9~20 ng/g
	克菌丹	ELISA	多抗	果汁	1 mg/mL
	异菌脲	ELISA	多抗	啤酒、果汁	0.15~10 µg/kg
	硝苯唑	ELISA	单抗	肝脏	20 µg/kg
	福美双	ELISA	多抗	叶类蔬菜	5 ng/mL
	草甘膦	ELISA	多抗	水	0.076 mg/mL
	百草枯	ELISA	多抗	奶制品、肉制品	2.5 ng/mL
	2,4-D	ELISA	多抗	奶制品、土壤、水	1~50 ng/mL
	麦草畏	ELISA	多抗	水	0.23 mg/L
	除草剂	西玛津	ELISA	多抗	水、奶粉
莠去津		ELISA	多抗	土壤、水	0.01 ng/mL
吡草胺		ELISA	单抗	土壤、水	0.05~0.1 ng/mL
氯磺隆		ELISA	多抗	土壤	0.1 µg/mL
阿特拉律		ELISA	多抗	奶、果汁、玉米	0.5~2 µg/kg

性很好,对结构相类似的甲胺磷农药几乎无交叉反应。同年,国内学者朱国念等^[18]利用直接竞争 ELISA 试剂盒来检测克百威杀虫剂,结果表明,该试剂盒最低检测限为 0.01 mg/L,样品的检测结果表明其批内、批间、整体变异系数均小于 8%,回收率均达到 90%以上,符合农药残留的检测分析要求。随着研究的深入,越来越多的 ELISA 检测方法应用到了农药残留检测中,Kumar 等^[19]、Yang 等^[20]、Jee 等^[21]分别利用不同的单克隆抗体或多克隆抗体,建立了有机磷农药残留的 ELISA 检测方法,且结果表明此类方法灵敏度高、特异性好,对其他有机磷农药几乎无交叉反应。2008 年,张骏等^[22]研究了测定食品中硫丹残留 ELISA 检测方法,得到结果的样品添加回收率为 82.6%~112%,变异系数为 3.65%~16.97%,通过与气象色谱法的分析结果进行比对,确定了 ELISA 方法测定农药残留的可行性。文孟棠等^[23]在 2014 年通过间苯氧基苯甲酸(PBA)为半抗原,使用活性酯法、混合酸酐法和 6-氨基己酸法偶联鸡卵清蛋白(OVA)制备出三种抗原,成功建立了大白菜中拟除虫菊酯类农药残留的酶联免疫吸附检测试验。ELISA 至今已成为众多权威机构检测分析农药残留的首选方法,并已建立几十种检测方法,其中包括了几乎所有的杀虫剂、杀菌剂、除草剂等农药的 ELISA 检测方法。具体如表 2 所示^[24]。许多发达国家,如英、美、德国等已开发出相应的商品 ELISA 检测试剂盒可用于直接检测果蔬等植物性食品中的农药残留^[25]。

3.2 食品中病原微生物的检测

当食品被病原微生物污染后,被人体摄入体内会引起人体病变、中毒甚至突变、致癌等危害,所以病原微生物的检测在食品检测中尤为重要^[26]。

1986 年,Lin 等^[27]采用 ELISA 方法对番茄酱中的三种霉菌进行检测,结果表明该检测法灵敏度高于化学试剂检测,为病原微生物检测方式的创新提供了新的思路。随后,文其乙等^[28]1995 年从四株已获得的沙门氏菌属特异杂交瘤单克隆抗体中,筛选出 CB8 和 De7 两株合成的单克隆抗体酶标检测试剂,建立了一种直接 ELISA 方法用以检测沙门氏菌,结果表明此法快速、高效、灵敏且结果准确。而 Yu 等^[29]在 2004 年间接法 ELISA 测定 VBNC 大肠杆菌 O157: H7 的实验也充分揭示了 ELISA 在食品中病原微生物的检测中的优势及前景。2012 年,吴大成等^[30]建立了双抗夹心法 ELISA 检测肠出血性大肠杆菌 O157,结果显示此法只对 O157 菌株有特异性反应,与其他菌株无交叉反应。并通过敏感性试验确定其在牛肉、猪肉和鸡肉中的检出限为 0.4~4 CFU/g。目前 ELISA 法已可用于检测食品中沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、军团菌、大肠杆菌等致病微生物。传统的病原微生物检测方法检验周期长且精密度低,甚至通过肉眼观察计数,结果缺乏准确性。因此,在一定程度上使 ELISA 在病原微生物检测方面有了很大的利用价

值和发展空间。

3.3 食品中生物毒素的检测

生物毒素为一大类生物活性物质的总称,是各类生物产生菌在适合产毒的条件下所产生的次生代谢产物。其结构通常不会受到加热、烹调等热处理及一般的食品加工处理方式的影响,所以食品中生物毒素的检测在检验食品安全性中十分重要^[31]。

目前粮油类食品中污染最重、毒性最强的真菌毒素是黄曲霉毒素。1977 年,LaWell 等^[32]人首次应用 ELISA 法检测黄曲霉毒素,利用小分子黄曲霉毒素 B₁ 结合蛋白质免疫动物从而得到抗黄曲霉毒素 B₁ 的免疫球蛋白,合成了酶标黄曲霉毒素 B₁ 结合物,并建立直接竞争 ELISA 法以检测黄曲霉毒素 B₁。随后,Chu and Morge 等^[33]对此法进行改进,建立了间接竞争 ELISA 法。我国也在 1997 年出台了《食品卫生理化检验方法》(GB/T50009.22-1996),将两种 ELISA 检测方法列入国家标准。经过深入研究,国内学者刘冬儿^[34]在 2002 年使用 ELISA 法测定了食品中黄曲霉毒素 B₁,线性范围为 0.25~5.0 ng/mL,检测灵敏度达到了 0.015 μg/kg,是薄层色谱法的 300~400 倍,回收率高于 89.2%,精密度在 7.67%以上,且整个测定过程仅为 4 h,极大缩减了检测周期。其结果充分表明 ELISA 检测黄曲霉毒素 B₁ 高效、快捷且结果可信度高,效果理想。2009 年,董雪等^[35]采用直接竞争 ELISA 法检测河豚毒素。通过过碘酸钠氧化法合成了酶标记抗原,对合成的酶标记抗原使用直接 ELISA 法进行检测,以表明其与抗河豚毒素单克隆抗体之间存在特异性反应,在此基础上建立了直接竞争 ELISA 法用以检测河豚毒素。结果表明 ELISA 法检测河豚毒素具有高灵敏度、特异性好及高效率等优点,可用于河豚毒素的定量检测,并可进一步开发成为商品化的 ELISA 试剂盒。

3.4 转基因食品的检测

早在 1983 年世界上首个转基因作物诞生至今,转基因技术发展迅速,全世界已有 50 多个国家开展转基因实验,特别在农作物的基因改良方面更是突飞猛进^[36]。

在 1999 年,Rogan 等^[37]首次使用 ELISA 法检测出混有 2%Roundup Read 大豆的传统大豆制品中的 CP4-EPSPS 蛋白质。并通过此法的高选择性和灵敏性,证实了 ELISA 检测方法在转基因食品的检测中具有可利用性。2001 年,林良斌等^[38]采用 ELISA 方法检测到 Bt1 杀虫蛋白基因在转基因油菜中的表达。2002 年,刘光明等^[39]利用纯化的 Bt1 杀虫晶体蛋白作为免疫抗原,通过抗体-抗原-酶标抗体反应,建立了 ELISA 检测方法,定量检测转基因玉米中的 Bt1 蛋白,并用所建立的 ELISA 法分别对四种进口玉米产品进行了检测,结果与进口试剂盒方法的定量分析结果相一致,因而确定所建立的 ELISA 简便快捷且结果准确,证

明了 ELISA 检测技术在转基因食品检测中有很大发展前景。2007 年, 顾炜炜等^[40]在酶标抗原和多克隆抗体的基础上, 研制出 Btery2Ab/2Ac 杀虫蛋白的直接竞争 ELISA 试剂盒, 可对其转基因蛋白进行快速、大批量的检测分析。这一系列研究使 ELISA 技术在转基因食品的蛋白水平检测中迅速发展。美国率先研究出利用双夹心 ELISA 法检测食品中的转基因玉米成分, 并通过美国食品药品监督管理局(FDA)认证, EnviroLogix ELISA 试剂盒可以测定玉米中的 Cry9C 蛋白。目前世界各国的专家学者正在研究更多用于检测转基因食品的 ELISA 试剂盒。

3.5 食品中其他成分的检测

3.5.1 食品中重金属残留的检测

金属硫蛋白是一种对重金属离子有很强亲和力的低分子量蛋白质, 含丰富的半胱氨酸(约 1/3), 不含芳香族氨基酸和组氨酸。刘功良等^[41]介绍了以金属硫蛋白制备金属免疫原, 进而建立竞争性 ELISA 检测方法对重金属离子浓度进行检测^[42]。

3.5.2 食品中过敏性残留物的检测

牛奶、鸡蛋、鱼、甲壳类(虾、蟹、龙虾)、花生、大豆、核果类(杏、板栗、腰果等)及小麦八类食品中可能含有过敏性成分, 其中多数为蛋白质, 会引起食用者的过敏反应。目前已有建立夹心 ELISA 法以检测鸡蛋过敏性蛋白质、花生蛋白过敏物、 β -球蛋白过敏物等的相关报道^[43]。

3.5.3 食品中违规添加成分的检测

李霜等^[44]通过对灵敏度、特异性、可重复性、检出限等方面对市售的三聚氰胺 ELISA 检测试剂盒进行评价研究, 研究表明该试剂盒具有较好的准确性、特异性及重复性, 批间变异与耐变性也在可接受范围内, 结果表明该法可用于液态奶、乳粉中三聚氰胺残留的检测。

除上述几种食品中成分的检测外, ELISA 技术还可应用于食品中其他成分的测定, 如功能性因子、毒生物碱、违禁添加剂、营养素、抗生素残留等。目前也有相关研究报道, 但尚处于发展起步阶段且与其他检测方式相比优势并不明显, 故不在此一一赘述。

4 结语与展望

目前 ELISA 技术已被应用于诸多的食品检测领域, 与其他检测方式相比, 不需要昂贵的精密仪器, 降低了测定成本, 同时也显示出其本身的方便、快捷、灵敏度高、检测结果准确等众多优势。而对其研究却仍处于起步阶段, 尤其我国在这方面的研究较之国外存在一定的差距。

ELISA 法检测食品同样存在一定弊端, 如难以同时分析多种成分, 对某些结构类似物的分析检测仍会出现交叉反应影响检测结果, 过度依赖试剂的选择等。这些问题导致目前食品安全检测中 ELISA 检测技术具有一定的局限性, 这就需要更多学者对其进行深入研究。可通过研究开

发可催化不同底物反应生成不同颜色的酶制剂以达到同时测定多种成分; 开发高度免疫性的重组抗原来代替无法分离的原始抗原物质; 与其他检测方法如 PCR、色谱技术等相结合等一系列方式对 ELISA 检测技术进行深层次研究, 扩大其优势、改善弊端。相信通过不断深入的研究, ELISA 技术在未来食品安全的快速检测技术中将占据越来越重要的地位, 从而使食品安全检测技术愈加简单方便。

参考文献

- [1] 肖玫, 陈连勇. 酶在食品工业中的应用与前景[J]. 食品科学, 2007, 27(12): 916-919.
Xiao M, Chen LY. Application and Prospect of Enzymes In the Food Industry [J]. Food Sci, 2007, 27(12): 916-919.
- [2] 汪世华, 白文钊, 张俊, 等. 我国酶制剂的现状及其发展前景[J]. 冷饮与速冻食品工业, 2002, 8(2): 42-44.
Wang SH, Bai WZ, Zhang J, et al. Current Situation and Prospects of Enzymes [J]. Frozen Food Ind, 2002, 8(2): 42-44.
- [3] Engvall E, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immuno-globulin G [J]. Immunochemistry, 1971, 8(9): 871-874.
- [4] 高春燕, 张百刚. 酶制剂在食品分析检测中的应用[J]. 大理学院学报: 综合版, 2007, 6(2): 5-7.
Gao CY, Zhang BG. Enzymes in Food Analysis Detection [J]. J Dali UnivIntegration, 2007, 6(2): 5-7.
- [5] 陈怡婷. 简析食品检测新技术的应用[J]. 食品工程, 2014, 1(3): 10-11.
Chen YT. Analysis and application of new technology in food inspection [J]. Food Engineer. 2014, 1(3): 10-11.
- [6] 唐英章. 现代食品安全检测技术[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 364, 380-381
Tang YZ. Modern Food Safety Testing Technology [M]. Beijing: Science Press, 2004: 364, 380-381
- [7] 邹康平, 王冬. 食品检验中的生物检测技术应用[J]. 黑龙江科技信息, 2012, 34: 27-28.
Zou KP, Wang D, The technology of biological detection in food inspection [J]. Heilongjiang Sci Technol Inform, 2002, 8(23): 85-87.
- [8] 虞淼, 励建荣. 酶制剂在食品加工保鲜与检测中的应用[J]. 保鲜与加工, 2006, 3(6): 37-39.
Yu M, Li JR. Enzymes used in food processing preservation and detection [J]. Pres Process, 2006, 3(6): 37-39.
- [9] 江汉湖. 食品免疫学导论[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 192-193
Jiang HH. Introduction to Food Immunology [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2006: 192-193
- [10] 李玉珍, 林亲录, 肖怀秋. 酶联免疫吸附技术及其在食品安全检测中的应用研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2006, (3): 108-112.
Li YZ, Lin QL, Xiao HQ. Advances in technology and its application in ELISA food safety inspection [J]. China Food Addit, 2006, (3): 108-112.
- [11] 梁宝东, 张惟广. 酶联免疫技术及其在食品检测中的应用[J]. 肉类工业, 2005 (3): 42-44.
Liang BD, Zhang WG. Enzyme-linked Immunosorbent Technology and its application in food inspection [J]. Meat Ind, 2005, (3): 42-44.
- [12] 肖韩, 买娜, 王旭峰, 等. 酶联免疫吸附法在植物性食品安全, 检测中的应用[J]. 食品科学, 2007, 27(12): 920-923.

- Xiao W, Mai N, Wang XF, *et al.* Application of ELISA method in analysis of phytogetic food safety [J]. *Food Sci*, 2007, 27(12): 920–923.
- [13] 张占军, 王富花. 酶联免疫吸附技术及其在食品安全检测中的应用[J]. *食品研究与开发*, 2011, 32(1): 157–160.
- Zhang ZJ, Wang FH. ELISA technique and its application in food safety testing [J]. *Food Res Dev*, 2011, 32(1): 157–160.
- [14] Charles DE, Remo PV, Russell RG, *et al.* Development of a radioimmunoassay for parathion [J]. *Agric, Food Chem*, 1981, 29: 559–563.
- [15] Ibrahim AM, Morsy MA, Hewedi MM, *et al.* Monoclonal antibody-based ELISA for the detection of ethyl parathion [J]. *Food agri immunol*, 1994, 6(1): 23–30.
- [16] Katsoudas E, Abdelmesseeh HH. Enzyme inhibition and enzyme-linked immunosorbent assay methods for carbamate pesticide residue analysis in fresh produce [J]. *J Food Prot*, 2000, 63(12): 1758–1760.
- [17] Lee JK, Ahn KC, Stoutamire DW, *et al.* Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of the organophosphorus insecticide acephate [J]. *J Agri Food Chem*, 2003, 51(13): 3695–3703.
- [18] 朱国念. 克百威残留检测直接竞争 ELISA 试剂盒的研究[J]. *中国食品学报*, 2003, 3(3): 31–34.
- Zhu GN. Research Carbofuran residues direct competitive ELISA kit [J]. *J Chin Institute Food Sci Technol*, 2003, 3(3): 31–34.
- [19] Kumar MA, Chouhan RS, Thakur MS, *et al.* Automated flow enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) system for analysis of methyl parathion [J]. *Anal chim Acta*, 2006, 560(1): 30–34.
- [20] Yang ZY, Kolosova AY, Shim WB, *et al.* Development of monoclonal antibodies against pirimiphos-methyl and their application to IC-ELISA [J]. *J Agri Food Chem*, 2006, 54(13): 4551–4556.
- [21] Shim JY, Kim YA, Lee EH, *et al.* Development of enzyme-linked immunosorbent assays for the organophosphorus insecticide EPN [J]. *J Agri Food Chem*, 2008, 56(24): 11551–11559.
- [22] 张骏, 王硕, 郑文杰, 等. 食品中硫丹残留酶联免疫吸附检测方法的建立[J]. *食品研究与开发*, 2008, 29(10): 104–108.
- Zhang J, Wang S, Zheng WJ, *et al.* Research of endosulfan residues ELISA detection methods in food [J]. *Food Res Dev*, 2008, 29(10): 104–108.
- [23] 文孟棠, 刘媛, 寇莉萍, 等. 大白菜中拟除虫菊酯类农药残留半定量 ELISA 免疫检测方法的建立[J]. *江苏农业学报*, 2014, 30(2): 411–416.
- Wen MT, Liu Y, Kou LP, *et al.* Development of a semi-quantitative ELISA for detection of pyrethroid pesticides residue in chinese cabbage [J]. *Jiangsu J Agri Sci*, 2014, 30(2): 411–416.
- [24] 郭玉莲. 农药残留的酶联免疫分析技术及研究进展[J]. *农机化研究*, 2006, 2 (2): 201–203.
- Guo YL. Progress of Pesticide Residues and Enzyme-linked Immunoassay Technology [J]. *Agri Mech Res*, 2006, 2 (2): 201–203.
- [25] 王守法, 阚春月, 许学书. 酶联免疫吸附试验在食品检测中的应用[J]. *食品科学*, 2009, 23(30): 489–492.
- Wang SF, Kan CY, Xu XS. ELISA Applications in Food Detection [J]. *Food Sci*, 2009, 23(30): 489–492.
- [26] 宋宏新, 马娜. 食品中病原微生物快速检测方法研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2005, 26(2): 127–130.
- Song HX, Ma N. Advances in Rapid Detection of Pathogens in Food [J]. *Food Res Dev*, 2005, 26(2): 127–130.
- [27] Lin HH, Lister RM, Cousin MA. Enzyme - linked immunosorbent assay for detection of mold in tomato puree [J]. *J Food Sci*, 1986, 51(1): 180–183.
- [28] 文其乙, 焦新安. 直接 ELISA 检测沙门氏菌方法的建立及其在应用研究[J]. *中国兽医学报*, 1995, 15(2): 105–111.
- Wen QY, Jiao XA. Establishment and application of direct ELISA method to detect salmonella [J]. *J Vet Sci*, 1995, 15(2): 105–111.
- [29] Yu KY, Noh Y, Chung M, *et al.* Use of monoclonal antibodies that recognize p60 for identification of *Listeria monocytogenes* [J]. *Clin diagn lab immunol*, 2004, 11(3): 446–451.
- [30] 吴大成, 孙洋, 袁洁, 等. 双抗夹心 ELISA 检测肠出血性大肠杆菌 O157 方法的建立[J]. *中国兽医学报*, 2012, 31(12): 1745–1748.
- Wu DC, Sun Y, Yuan J, *et al.* Establishment of double-antibody sandwich ELISA detection of EHEC O157 method [J]. *J Vet Sci*, 2012, 31(12): 1745–1748.
- [31] 马硕, 任珊, 许美玉. 酶联免疫吸附技术在食品安全检测中的应用[J]. *食品科技*, 2008, 33(1): 200–204.
- Ma Q, Ren S, Xu MY. ELISA technique in the detection of food safety [J]. *Food Sci Tech*, 2008, 33(1): 200–204.
- [32] 宓晓黎. 黄曲霉毒素分析方法研究报告[J]. *粮食与饲料工业*, 1994, 10: 41.
- Mi XL. Report of Aflatoxin analysis [J]. *Food Feed Ind*, 1994, 10: 41.
- [33] Chu FS, Huang X, Wei RD, *et al.* Production and characterization of antibodies against microcystins [J]. *Appl environ microb*, 1989, 55(8): 1928–1933.
- [34] 刘冬儿. 酶联免疫吸附分析法测定食品中的黄曲霉毒素 B₁ [J]. *食品工业科技*, 2002, 23(10): 79–80.
- Liu DR. Determination of Aflatoxin B₁ by Enzyme-linked Immunosorbent Assay [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2002, 23(10): 79–80.
- [35] 董雪, 钟青萍, 黄安诚, 等. 河豚毒素直接竞争 ELISA 检测方法的研究[J]. *现代食品科技*, 2009, 25(8): 977–981.
- Dong X, Zhong QP, Huang AC, *et al.* Development of a direct competitive ELISA method for tetrodotxin detection [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2009, 25(8): 977–981.
- [36] 田银芳, 王翌明. ELISA 方法与国标法在检测鲜奶中沙门氏菌的比较[J]. *中国乳品工业*, 1998, 26(5): 32–33.
- Tian YF, Wang LM. Comparison of ELISA method with the national standard method in the detection of Salmonella in milk [J]. *China Dairy Ind*, 1998, 26(5): 32–33.
- [37] Rogan GJ, DudinYA, LeeTC, *et al.* Immuno-diagnostic methods for detection of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase in Roundup Ready soybeans [J]. *Food Control*, 1999, 10: 407–414.
- [38] 林良斌, 周小云. 转基因抗虫油菜的 ELISA 分析[J]. *湖南农业大学学报: 自然科学版*, 2001, 27(3): 179–181.
- Lin LB, Zhou XY. ELISA analysis of Insect-resistant Transgenic Oilseed Rape [J]. *Hunan Agric Univ: Nat Sci*, 2001, 27(3): 179–181.
- [39] 刘光明, 苏文金. 应用 ELISA 定量检测转基因玉米中 Bt1 蛋白的研究[J]. *食品科学*, 2002, 23(8): 217–221.
- Liu GM, Su WJ. Application of ELISA quantification of genetically modified maize Bt1 protein [J]. *Food Sci*, 2002, 23(8): 217–221.
- [40] 顾炜炜, 潘家荣. 转基因食品中 Btcr2Ab/2Ac 杀虫蛋白直接竞争 ELISA 试剂盒的研制[J]. *食品科技*, 2007, 6: 203–206.
- Gu WW, Pan JR. Developed of direct competitive ELISA kit of btcr2Ab/2Ac insecticidal protein in genetically modified foods [J]. *Food*

Sci Tech, 2007, 6: 203-206.

- [41] 刘功良, 王菊芳, 李志勇, 等. 重金属离子的免疫检测研究进展[J]. 生物工程学报, 2007, 22(6): 877-881.

Liu GL, Wang JF, Li ZY, *et al.* Progress of immunological detection of heavy metal ions [J]. J Biotechnol, 2007, 22(6): 877-881.

- [42] 赵之伟, 曹冠华, 李涛. 金属硫蛋白的研究进展[J]. 云南大学学报 (自然科学版), 2013, 35(3): 390-398.

Zhao ZW, Cao GH, Li T. Progress Metallothionein [J]. Yunnan Univ (Nat Sci), 2013, 35(3): 390-398.

- [43] 刘静, 陈庆森. 食品过敏原研究进展及其在食品安全重要性方面的探讨[J]. 食品科技, 2006, 31(4): 1-4.

Novel programs of food anaphylactogen and the importance of anaphylactogen in food security[J]. Food Sci Tech, 2006, 31(4): 1-4.

- [44] 李霜, 薛强, 李莉, 等. 三聚氰胺 ELISA 检测试剂盒评价研究[J]. 食品科技, 2014, 39(1): 317-321.

Li S, Xue Q, Li L, *et al.* Evaluation of melamine ELISA detection kit[J]. Food Sci Tech, 2014, 39(1): 317-321.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



石 超, 硕士研究生, 主要研究方向为农产品贮藏加工。

E-mail: shichao0147@163.com



吕长鑫, 教授, 主要研究方向为农产品贮藏加工与食品资源开发。

E-mail: lvchangxin6666@163.com



冯叙桥, 教授, 主要研究方向为果蔬质量与安全控制。

E-mail: feng_xq@hotmail.com