

# 酶联免疫吸附法在食品安全性指标检测中的研究进展

冯敏<sup>1,2</sup>, 李亚楠<sup>1,2</sup>, 高丽霞<sup>1,2</sup>, 黄登宇<sup>2,3\*</sup>

(1. 山西大学生命科学学院, 太原 030006; 2. 山西大学食品药品快速检测中心, 太原 030006;  
3. 山西省食品药品监督管理局, 太原 030006)

**摘要:** 随着我国社会经济的快速发展和人们生活水平的提高, 食品安全问题日益成为人们关注的焦点。酶联免疫吸附法是在免疫学和细胞工程学基础上发展的一种微量检测技术, 具有操作简便、灵敏度高等优点。本文总结了酶联免疫吸附法在农药残留、兽药残留、致病微生物、生物毒素、非法添加的非食用物质、重金属、过敏原和转基因食品等检测中的研究进展, 评价了该检测方法的优缺点, 并对其未来的发展方向进行了展望和建议。

**关键词:** 酶联免疫吸附法; 抗原; 抗体; 食品安全

## Research progress of enzyme-linked immunosorbent assay in food safety indices detection

FENG Min<sup>1,2</sup>, LI Ya-Nan<sup>1,2</sup>, GAO Li-Xia<sup>1,2</sup>, HUANG Deng-Yu<sup>2,3\*</sup>

(1. College of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2. The Food and Drug Safety Rapid Inspection Center, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 3. Shanxi Food and Drug Administration, Taiyuan 030006, China)

**ABSTRACT:** With the development of society and the improvement of people's living standards, food safety problem has become the focus of the attention. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) is a trace detection technology based on immunology and cell engineering, which is simple and sensitive. In the paper, the research progress of ELISA in analysis of food safety were reviewed, including the detection of pesticide residues, veterinary drug residues, pathogenic microbes, biological toxin, illegally added inedible substance, heavy metal pollution, allergen, genetically modified food, etc. The advantages and disadvantages of ELISA were evaluated, and its future perspective was also prospected and suggested.

**KEY WORDS:** enzyme linked immunosorbent assay; antigen; antibody; food safety

## 1 引言

食品安全主要包括食品卫生安全、食品供应质量安全和食品供应总量安全<sup>[1]</sup>。针对食品安全问题, 检测技术的

开发是当今迫切需要解决的技术壁垒<sup>[2]</sup>。目前常用的食品安全质量检测技术包括色谱、质谱技术、光谱分析法、生物检测技术等<sup>[3]</sup>, 这些方法检测时间长、仪器昂贵、操作复杂, 不能满足快速检测的要求<sup>[4,5]</sup>。20世纪70年代, Engval

\*通讯作者: 黄登宇, 副教授, 主要研究方向为食品卫生检测。E-mail: Huangdy1110@126.com

\*Corresponding author: HUANG Deng-Yu, Associate Professor, Shanxi University & Shanxi Food and Drug Administration, No.85, Longcheng Avenue, Xiaodian District, Taiyuan 030006, China. E-mail: Huangdy1110@126.com

等<sup>[6]</sup>建立了酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)定量测定 IgG 的方法,该方法具有干扰性小、灵敏度高、操作快捷、污染小、安全性高等特点,被广泛用于食品安全检测。ELISA 分类标准不统一,但可根据试剂来源、标本性状及检测条件等将现有的检测技术分为夹心法、间接法、竞争法和捕获法 4 种方法<sup>[7]</sup>。

## 2 ELISA 在食品安全性指标检测中的应用

### 2.1 农药残留检测

每年我国都会发生因食用农药残留超标的蔬菜而引起人畜中毒的事件,另外在蔬菜的出口贸易中也存在因农药残留超标而使贸易受阻的问题。农药残留对我国蔬菜产品的质量和人民的饮食安全都有重要的影响<sup>[8]</sup>。农药残留常用的快速检测方法有酶抑制法和 ELISA<sup>[9]</sup>。果蔬中的有机磷和氨基甲酸酯类农药的酶抑制率检测方法比较成熟,但需要注意的是,样品取样的规范操作及取样部位会影响检测的准确度,酶试剂易失活导致反应不稳定,检测结果误差较大,重复性差<sup>[10]</sup>。ELISA 操作步骤简便,适用于样品量较大的分析筛选,但是 ELISA 受限于抗体和抗原制备和提取<sup>[11,12]</sup>。

Otieno 等<sup>[13]</sup>建立了检测毒死蜱残留的 ELISA 方法,该方法对于水和沉积物样本的检测限(limit of detection, LOD)是 0.37  $\mu\text{g/L}$  和 0.42  $\mu\text{g/kg}$ (干重),平均回收率和变异系数(coefficient of variation, CV)分别为(96.0 $\pm$ 5.8)%和(108.0 $\pm$ 3.4)%,与高效液相色谱法相比无显著差异( $P>0.05$ )。Alexandra 等<sup>[14]</sup>建立了检测滴滴涕(dichlorodiphenyltrichloroethane, DDT)及其相关化合物的 ELISA 方法,结果显示 LOD 是 0.06  $\mu\text{g/L}$ ,线性范围为 0.1~2  $\mu\text{g/L}$ ,DDT 相关化合物的 LOD 是 0.04  $\mu\text{g/L}$ ,线性范围为 0.07~1  $\mu\text{g/L}$ 。曾俊源等<sup>[15]</sup>建立了测定桃中氰戊菊酯直接竞争 ELISA 法,线性范围为 0.01~10  $\text{mg/L}$ ,相对标准偏差(RSD,  $n=5$ )为 4.5%, $\text{IC}_{50}$  为 193  $\mu\text{g/L}$ 。在 2、0.2 和 0.05  $\text{mg/kg}$  添加水平下,回收率分别为 81%~89%、85%~98%和 85%~106%,RSD 分别为 5.1%、5.6%和 7.7%( $n=5$ ),LOD 是 0.014  $\text{mg/kg}$ 。

### 2.2 兽药残留检测

兽药残留包括兽药原药、兽药在动物体内的代谢物以及与兽药有关的杂质等物质<sup>[16]</sup>。兽药残留会引起中毒,其次长期的兽药残留会产生耐药性的菌株,从而提高了疾病治疗的难度,还会导致过敏反应,并影响生态环境,最终制约畜牧业的发展<sup>[17]</sup>。兽药残留常用的方法有微生物法、仪器分析法<sup>[18]</sup>。微生物法适用于对畜禽组织中的抗菌药物进行筛选检验,该方法虽然能检测高浓度的残留,但是检测限高于样品所规定的最高残留限量<sup>[19]</sup>。建立对兽药残留快速检测的方法已较为紧迫,ELISA 已经成为广泛应用的

快速检测兽药残留的方法<sup>[20]</sup>。

硝基咪唑类兽药是一类人工合成的广谱抗菌药,主要用于预防和治疗由大肠杆菌和沙门氏菌引起的肠道感染,主要包括咪唑妥因、咪唑唑酮、咪唑它酮、咪唑西林<sup>[21,22]</sup>。李亚楠等<sup>[23]</sup>建立了检测动物组织中的咪唑妥因代谢物的直接竞争化学发光酶免疫法(chemiluminescent enzyme-linked immunoassay, CLEIA),线性检测范围为 0.030~10.595  $\text{ng/mL}$ , $\text{IC}_{50}$  为 0.559  $\text{ng/mL}$ ;鸡肉样品中的 LOD 为 0.015  $\mu\text{g/kg}$ ;加标回收率为 84.9%~103.4%,批内 CV 为 3.4%~7.8%,批间 CV 为 4.7%~11.8%;除与咪唑妥因原药交叉反应率为 36.2%,与其他结构类似物及衍生试剂交叉反应率均小于 0.1%。王瑞等<sup>[24]</sup>建立了检测动物组织中的咪唑妥因代谢物的间接竞争 CLEIA 法, $\text{IC}_{50}$  为 0.753  $\text{ng/mL}$ ,在鸡肉组织中的 LOD 为 0.028  $\mu\text{g/kg}$ ,添加回收率在 80.54%~102.64%之间, CV 均小于 10%。李亚楠等<sup>[25]</sup>建立了检测动物组织中的咪唑妥因代谢物的直接 ELISA 法,线性方程为  $Y=-34.723X+158.01(r^2=0.9922)$ ,线性检测范围为 0.177~11.508  $\text{ng/mL}$ , $\text{IC}_{50}$  为 1.291  $\text{ng/mL}$ ;猪肉、鸡肉、鱼肉的 LOD 分别为 0.115、0.113、0.109  $\mu\text{g/kg}$ ,加标回收率在 82.6%~104.7%之间,批内 CV 在 3.6%~9.3%之间,批间 CV 在 4.3%~12.4%。Liu 等<sup>[26]</sup>建立了检测咪唑妥因代谢物残留的间接竞争 CLEIA 法,线性范围 0.03~64  $\mu\text{g/L}$ ,LOD 是 0.01  $\mu\text{g/L}$ ,添加回收率为 92.1%~107.7%。任海涛等<sup>[27]</sup>建立了 ELISA 法检测咪唑西林代谢物, $\text{IC}_{50}$  为 12.37  $\text{ng/mL}$ ,线性范围为 0.439~110.78  $\text{ng/mL}$ ,LOD 为 0.07  $\text{ng/mL}$ 。闫叶娜<sup>[28]</sup>建立了检测咪唑西林代谢物的间接竞争 ELISA 法和 CLEIA 法。ELISA 最适检测范围为 0.1~80  $\text{ng/mL}$ ,LOD 为 0.03  $\mu\text{g/L}$ ,批内 CV 和批间 CV 分别为 2.480%和 3.385%, $\text{IC}_{50}$  为 2.19  $\text{ng/mL}$ ;CLIA 的最适检测范围 0.1~80  $\text{ng/mL}$ ,LOD 为 0.02  $\mu\text{g/L}$ , $\text{IC}_{50}$  为 1.85  $\text{ng/mL}$ 。李敏等<sup>[29]</sup>建立了检测咪唑唑酮代谢物的间接竞争 ELISA 法,线性范围为 0.25~10  $\text{ng/mg}$ , $\text{IC}_{50}$  为 0.5881~1.1333  $\text{ng/mL}$ ;此外经检测与其他类似物的交叉反应率,特异性良好。

直接竞争 CLEIA 法的灵敏度和最低检测限均优于间接竞争 CLEIA 法,与 ELISA 法相比,CLEIA 法具有更高的灵敏度和更低的检测下限,其灵敏度比 ELISA 法高出一个数量级左右。在操作过程中,CLEIA 法不需要长时间和较高温度的孵育显色,加入化学发光液后,室温避光反应 4 min 即可检测。因此,CLEIA 法在检测时间、灵敏度及最低检测限方面表现出了较大的优越性。其中,直接竞争 CLEIA 法的灵敏度和最低检测限又优于间接竞争 CLEIA 法,因此在实际检测和产品试剂盒的研发中,优先选择直接竞争 CLEIA 法。

### 2.3 致病微生物检测

目前不论是在发展中国家还是发达国家,对食品安全影响较大的是致病微生物引起的食源性疾

食物链中, 单增李斯特菌、空肠弯曲菌、沙门氏菌都是重要的食源性致病菌<sup>[30]</sup>。伍燕华等<sup>[31]</sup>建立了检测沙门氏菌的双抗夹心 ELISA 法, 该法以抗沙门氏菌多克隆抗体作为捕获抗体, 以抗沙门氏菌单克隆抗体 C1359 作为检测抗体, 对 A、B、C、D、E5 种典型的沙门氏菌进行了检测, 结果表明对沙门氏菌纯培养液的最低检测量为  $1 \times 10^4$  CFU/mL, 且无交叉反应。陈钢等<sup>[32]</sup>建立了检测单增李斯特菌的 ELISA 法, 单核细胞增生李斯特菌检测范围为  $10^8 \sim 10^5$  CFU/mL, 该研究建立的双抗夹心检测方法与金黄色葡萄球菌和阪崎肠杆菌有较严重的交叉反应, 而与志贺氏菌和沙门氏菌交叉反应不明显。李建科等<sup>[33]</sup>建立了耐热菌间接竞争 ELISA 快速检测方法, LOD 为  $5 \times 10^4$  CFU/mL, 可在 24h 内给出果汁中耐热菌是否超过 1 CFU/10 mL 的检测结果, 满足国内外果汁标准中耐热菌不超过 1 CFU/10 mL 的检测要求, 检测时间比目前国内外普遍采用的 KFL(Krueger Food Laboratories)法缩短 3~4 d, 检测结果与 KFL 法完全相符。

ELISA 法由于酶的催化效率很高, 可极大放大反应效果, 使测定方法达到较高的灵敏度<sup>[34]</sup>。但是 ELISA 法常出现假阴性结果, 这可能与所用单克隆抗体的特异性有关, 因此需要设置阳性和阴性对照试验<sup>[35]</sup>。ELISA 法与致病菌传统检测法中的分离培养生化鉴定法相比<sup>[36]</sup>, ELISA 检测不能作为最后的确诊, 因为实际情况样本分散以及样本量不均、监管分散, 因此使用快速检测可以先对样本进行初步筛选, 先筛选出可疑的样本, 再对可疑的样本进行分离培养, 从而提高检测效率<sup>[37]</sup>。

## 2.4 生物毒素检测

检测生物毒素的方法有薄层层析法、微柱层析法、高效液相色谱法和毛细管电泳法等。薄层层析法灵敏度低, 微柱层析法需要用其他的方法进行验证, 高效液相色谱法要求样品的纯度比较高, 样品的前处理比较繁琐, 操作复杂, 仪器昂贵, 毛细管电泳成本比较高<sup>[38]</sup>。近年来出现了许多新型的检测新技术, 仪器分析法仍然是实验室检测中最常用的方法。以免疫学为基础的方法如 ELISA 法由于其具有实验周期短、设备简单、操作简便等特点而被广泛应用<sup>[39]</sup>。

Stachowiak 等<sup>[40]</sup>建立了检测黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 直接竞争 ELISA, 通过对单克隆抗体准确度的实验确定了两种单克隆抗体, IC<sub>50</sub> 分别是 0.037 ng/mL 和 0.031 ng/mL。宋晓丽<sup>[41]</sup>建立了检测猪肉和鸡肉中脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (deoxynivaleno, DON) 和 T-2 毒素的直接竞争 ELISA 法, 在猪肉和鸡肉样本中 DON 的 LOD 分别为 34.9 μg/kg 和 43.5 μg/kg, 添加回收率为 72.7%~97.1%, CV<8.7%; T-2 毒素的 LOD 分别为 33.7 μg/kg 和 28.7 μg/kg, 添加回收率为 72.1%~95.0%, CV<11.3%。王吕等<sup>[42]</sup>建立了基于噬菌体展示技术的酶联免疫吸附分析检测赭曲霉毒素 A(OTA) 的方

法, IC<sub>50</sub> 为 (0.15±0.02) ng/mL, 线性范围为 0.03~0.50 ng/mL, OTA 的 LOD 为 0.03 ng/mL, 无交叉反应, 批内加标回收率为 97.0%~115.2%, 批间加标回收率为 107.2%~123.1%。

## 2.5 非法添加的非食用物质检测

ELISA 作为一种经济快速的检测方法在食品中违法添加的非食用物质检测中也有应用。孙凤霞<sup>[43]</sup>利用获得的单克隆抗体建立了三聚氰胺的间接竞争 ELISA 法并制备了试剂盒, IC<sub>50</sub> 为 (6±0.55) ng/mL, 奶粉 LOD 为 100 μg/kg, 液态奶 LOD 为 20 ng/mL。奶粉样品和液态奶样品的添加回收率分别为 93%~101.9% 和 83.6%~96.9%, CV<10%, 完全满足三聚氰胺残留检测的实际要求。裘雪梅等<sup>[44]</sup>建立了检测苏丹红 I 的直接竞争 ELISA 法, 线性范围为 0.5~10 ng/mL, LOD 为 0.1 ng/mL, 加标回收率为 52.3%~110%, CV 为 3.2%~8.9%。贡东军等<sup>[45]</sup>建立了间接竞争 ELISA 法测定碱性橙 II 的含量, 采用戊二醛法将牛血清蛋白与碱性橙 II 连接为完全抗原, LOD 为 0.01 ng/mL。

## 2.6 重金属检测

重金属污染不仅能够改变土壤的组成、功能和结构, 而且还会抑制作物根系生长和光合作用, 影响作物的正常生长。重金属还能够通过食物链进入人体和动物已经成为物体内, 最终危害人体的健康<sup>[46]</sup>。重金属难降解和持续污染是当前重金属残留最为关注的问题, 重金属的检测方法主要有原子吸收光谱法、原子荧光法、阳极溶出伏安法、催化极谱法和电感耦合等离子体质谱法等<sup>[47]</sup>, 这些方法不能满足快速检测的要求, 而酶联免疫吸附方法对于重金属残留的检测具有重要的研究意义<sup>[48]</sup>。

王津<sup>[49]</sup>建立了检测重金属镉的间接竞争 ELISA 法, IC<sub>50</sub> 为 4.18 μg/L, LOD 为 0.38 μg/L, 除了与金属汞螯合物和铬螯合物分别有 10.6% 和 1.8% 的交叉反应率外, 与其他金属螯合物的交叉反应率都小于 0.3%。重金属镉的平均回收率为 90.54%~115.36%, CV 为 1.35%~9.33%。翟一凡<sup>[50]</sup>初步建立了 Pb<sup>2+</sup> 和 Cr<sup>3+</sup> 的间接竞争 ELISA, 与其他重金属离子的交叉反应率均小于 1%, LOD 为 0.1 ng/mL, IC<sub>50</sub> 为 5 ng/mL。Darwish 等<sup>[51]</sup>采用一步竞争 ELISA(dc-ELISA) 对环境水样中的 Cd<sup>2+</sup> 进行检测, LOD 为 0.3 μg/L, 水中常见的 Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup> 在相对高浓度下对检测结果也无干扰。Cd<sup>2+</sup> 平均回收率为 100.29%±3.60%, 批内 CV 和批间 CV 分别为 3.6%~10.9% 和 4.81%~10.21%。

## 2.7 过敏原检测

食品中过敏原已经严重危及人们的生活, 这一食品安全性指标也是一个需要高度关注的食品营养卫生和食品安全的问题<sup>[52]</sup>。目前临床中治疗过敏症的最有效方法是直接避免食用含有过敏源的食物, 这就要求生产厂家在食品的标签中直接标明食物中存在的过敏原成分, 避免消费者因误食而导致过敏。避免食物过敏的首要任务就

是对食物进行过敏原检测<sup>[53]</sup>。ELISA 已经广泛应用于临床化学和食品分析中,也是检测食品中过敏原的一种快速有效的方法<sup>[54]</sup>。

Shibahara 等<sup>[55]</sup>建立了对鱼过敏原小清蛋白的双抗夹心 ELISA 法,这种方法使用抗太平洋鲑鱼小清蛋白的多克隆抗体,LOD 为 0.23~0.70  $\mu\text{g/g}$ ,添加回收率为 69.4%~84.8%,RSD<10.5%。Chen 等<sup>[56]</sup>建立了鱼过敏原的双抗夹心 ELISA 法检测,LOD 为 0.1  $\mu\text{g/g}$ ,该方法的批间 CV 和批内 CV 分别低于 8.9%和 9.3%,该方法无假阳性和假阴性,没有交叉反应。张洁琼等<sup>[57]</sup>建立了检测杏仁过敏原苦杏仁球蛋白的双抗体夹心 ELISA 法,甜杏仁中苦杏仁球蛋白的 LOD 为(6.36±1.02)  $\mu\text{g/L}$ ;中国苦杏仁及美国大杏仁中苦杏仁球蛋白的 LOD 分别为(12.11±1.70)  $\mu\text{g/L}$  和 (18.95±1.52)  $\mu\text{g/L}$ ,没有交叉反应,苦杏仁球蛋白的添加回收率为 78.94%~125.15%,RSD<5.81%。

ELISA 方法的准确性和特异性主要依赖于抗体识别食物过敏原,但某些食品工业常利用热加工、超高压和酶解等深加工技术使过敏原蛋白发生变性和降解,而蛋白质结构的改变又可干扰蛋白提取物或抗体结合部位,同时会导致假阴性结果的出现。此外,由于某些过敏原缺少特异性的单克隆抗体,无法利用 ELISA 法进行检测<sup>[58]</sup>。

## 2.8 转基因检测

顾炜炜等<sup>[59]</sup>建立了用于检测转基因食品中 Btcr2Ab/2Ac 杀虫蛋白的直接竞争 ELISA,LOD 为 40 ng/mL,线性范围 40~2000 ng/mL,回收率在 98.52%~102.27%。王新桐等<sup>[60]</sup>建立了高灵敏度定量检测转基因棉花(*Gossypium* sp.)中新霉素磷酸转移酶(NPT II)双抗体夹心 ELISA 法,检测范围为 3.370~108.125 ng/mL,LOD 为 1.97 ng/mL;回收率为 96.11%~104.69%;CV 为 6.58%~7.33%;与非转基因棉花内源蛋白质及其他种类转基因蛋白质均无交叉反应。吕雪飞等<sup>[61]</sup>建立了定量检测转基因植物蛋白 Cry1Ac 的双抗体夹心 ELISA 法,CV<3%,LOD 为 9.49 ng/mL,对玉米样品提取液中 Cry1Ac 蛋白含量的测定回收率为 102.5%~103%。

检测转基因物质的双抗体夹心 ELISA 具备多克隆抗体费用较低、单克隆抗体亲和力高的特点,使得后续研究开发的试剂盒检测成本低廉,灵敏可靠,而且可以稳定、方便地提供标准化试剂,便于实现工业化生产。双抗体夹心 ELISA 检测方法的研究和建立,为制备免疫胶体金试纸条提供了便利,为建立转基因动物的现场、快速查验技术打下基础,所以这种检测方法将成为转基因检测领域研究的主要方向之一<sup>[62]</sup>。

## 3 结论

ELISA 灵敏度高、特异性强、成本低,设备简单,不需要专业的人员操作,是可以用于实验室的快速检测以及

拥有实验室的其他部门或者企业进行快速检测。但 ELISA 也有不足,如吸附方法需要一些基础的仪器如恒温箱、冰箱、酶标仪等,因此不适用于基层的现场快速检测;基于酶联免疫吸附方法的原理是抗原抗体的特异性结合,一些小分子物质需要与牛血清蛋白等大分子蛋白偶联之后才有免疫原性,但并不是所有的小分子物质都能够制出相应的抗体;另外,还需考虑到待测物质结构类似物的干扰会影响检测的特异性及灵敏度,不能满足同时检测多种物质的要求<sup>[63]</sup>。

随着蛋白质工程和基因工程的发展,制备单克隆抗体的技术越来越成熟,会出现越来越多的 ELISA 新技术。ELISA 技术与气相色谱(gas chromatography,GC)、聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,PCR)等技术的联用,会有效地提高 ELISA 技术的检测效率<sup>[64]</sup>。ELISA 法需从以下几方面进一步完善:(1)研发具有高度免疫性的重组抗原提高免疫原性;(2)将酶体外的定向进化应用到检测中,避免与特异性抗体或抗原的交联;(3)加强标准化,促进 ELISA 相关快检产品商品化的应用。酶联免疫的检测方法从全手动半自动到全自动发展,目前还不是很成熟,需进一步研究。随着对酶联免疫吸附方法的研究,灵敏度、精确度、特异性、重复性会越来越好,费用会逐步降低,ELISA 在食品安全检测方面将会得到进一步发展。

## 参考文献

- [1] 丁明,钟冬莲,汤富彬,等.固相萃取-高效液相色谱-串联质谱联用测定竹笋中残留的7种杀虫剂农药[J].色谱,2013,31(2):117-121.  
Ding M, Zhong DL, Tang FB, et al. Determination of seven pesticides residues in bamboo shoots by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with solid-phase extraction [J]. Chin J Chromatogr, 2013, 31(2): 117-121.
- [2] 李月娟,吴霞明,王君.食品分析及安全检测关键技术研究[J].中国酿造,2012,31(12):13-17.  
Li YJ, Wu XM, Wang J, et al. The research of key technology on food analysis and security detection [J]. China Brew, 2012, 31(12): 13-17.
- [3] 宋素泉.重要违禁兽药红霉素和氯丙嗪的分子印迹聚合物的制备、表征及在食品安全检测中的应用[D].上海:上海交通大学,2008.  
Song SQ. Preparation, characterization and application of molecularly imprinted polymers toward key veterinary drugs of erythromycin and chlorpromazine in food safety detection [D]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University, 2008.
- [4] 宣伟,王军,汪秀月,等.食品安全检测技术研究进展[J].肉类研究,2011,25(9):47-51.  
Xuan W, Wang J, Wang XY, et al. Progress in research on detection techniques for food safety [J]. Meat Res, 2011, 25(9): 47-51.
- [5] 刘聪,祖文川,汪雨.环境水体中草甘膦农药残留的检测方法进展[J].现代科学仪器,2015,5:37-55.  
Liu C, Zu WC, Wang Y. Advances in analytical methods for determination of glyphosate pesticide residue in environmental water [J]. Mod SciInstrum, 2015, 5: 37-55.
- [6] Engvall, Perlmann. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

- quantitative assay of immunoglobulin G [J]. *Immunochem*, 1971, 8(9): 871–874.
- [7] 林壮森, 张焜, 赵肃清, 等. 食品中生物毒素的 ELISA 分析方法研究进展[J]. *食品科学*, 2009, 30(3): 281–283.  
Lin ZS, Zhang K, Zhao SQ, *et al.* Research progress on ELISA method for analysis of biotoxins in foodstuffs [J]. *Food Sci*. 2009, 30(3): 281–283.
- [8] 石超, 吕常鑫, 冯叙桥, 等. 酶联免疫吸附技术在食品检测分析中的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2014, 5(10): 3269–3275.  
Shi C, Lv CX, Feng XQ, *et al.* Advances in food determination and analysis of enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *J Food Saf Qual*, 2014, 5(10): 3269–3275.
- [9] 吴鹏, 秦智伟, 周秀艳, 等. 蔬菜农药残留研究进展[J]. *东北农业大学学报*, 2011, 42(1): 138–144.  
Wu P, Qin ZW, Zhou XY, *et al.* Research progress of pesticide residues in vegetables [J]. *J Northeast Agric Univ*, 2011, 42(1): 138–144.
- [10] 王芳, 李道敏, 李兆周, 等. 食品中有机磷农药残留检测方法的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(9): 3587–3593.  
Wang F, Li DM, Li ZZ, *et al.* Research advances on detection methods for organophosphorus pesticides residue in food [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(9): 138–144.
- [11] 麦昌青, 陈盛, 陈燕. 豇豆中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留酶抑制率快速检测方法[J]. *现代农药*, 2016, 15(1): 41–43.  
Mai CQ, Chen S, Chen Y. Rapid detection of organic phosphorus and carbamate pesticides in cowpea by enzyme inhibition rate method [J]. *Mod Agrochem*, 2016, 15(1): 41–43.
- [12] 陆小磊, 周卫龙. 中国茶叶农药残留检测方法标准概述[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(5): 1548–1553.  
Lu XL, Zhou WL. Overview of Chinese determination standards of pesticides residues in tea [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(5): 1548–1553.
- [13] Otieno PO, Owuor PO, Lalah JO, *et al.* Comparative evaluation of ELISA kit and HPLC DAD for the determination of chlorpyrifos ethyl residues in water and sediments [J]. *Talanta*, 2013, (117): 250–257.
- [14] Alexandra EB, Sergei AE, Angel M, *et al.* Development of chemiluminescent ELISAs to DDT and its metabolites in food and environmental samples [J]. *J Immun Methods*, 2003, (283): 45–57.
- [15] 曾俊源, 崔巧利, 刘曙照. 直接竞争酶联免疫吸附分析法测定桃萘戊菊酯的残留量[J]. *农药学报*, 2014, 16(1): 61–65.  
Zeng JY, Cui QL, Liu SZ. Determination of fenvalerate residue in peach by direct competitive enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *Chin J Pest Sci*, 2014, 16(1): 61–65.
- [16] 张忠梅. 兽药残留的危害及控制措施[J]. *山东畜牧兽医*, 2015, (8): 83–84.  
Zhang ZM. The damage of veterinary drug residues and control measures [J]. *Shandong J Anim Vet Sci*, 2015, (8): 83–84.
- [17] 何俊莎. 兽药残留危害及原因剖析[J]. *中国畜牧兽医文摘*, 2015, 31(8): 222.  
He JS. The harm and reason of veterinary drug residue analysis [J]. *Chin J Anim Vet Sci*, 2015, 31(8): 222.
- [18] 蒋小武. 浅析氟喹诺酮类兽药残留检测方法[J]. *中国畜牧兽医文摘*, 2011, 27(3): 188–190.  
Jiang XW. Analyze Fluoroquinolone veterinary drug residue detection methods [J]. *Chin J Anim Vet Sci*, 2011, 27(3): 188–190.
- [19] 王蕊, 廖笑萍, 刘雅虹. 氟喹诺酮类兽药残留检测方法研究进展[J]. *广东农业科学*, 2010, (10): 41–43.  
Wang R, Liao XP, Liu YH. Advances in the study on the residue determination of the veterinary drugs of fluoroquinolones [J]. *Guangdong Agric Sci*, 2010, (10): 41–43.
- [20] 刘冬梅. 兽药残留酶联免疫吸附试验影响因素分析[J]. *甘肃畜牧兽医*, 2015, 45(10): 69–70.  
Liu DM. Veterinary drug residue enzyme-linked immunosorbent assay influence factors analysis [J]. *Gansu Anim Vet Sci*, 2015, 45(10): 69–70.
- [21] Cheng CC, Hsienh KH, Lei YC, *et al.* Development and residuescreening of the furazolidone metabolite, 3-amino-2-oxazolidinone(AOZ), in cultured fish by an enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(13): 5687–5692.
- [22] Jiang WX, LuoPJ, Wang X, *et al.* Development of anenzyme-linkedimmunosorbent assay for the detection of nitrofurantoinmetabolite, 1-amino-hydantoin, in animal tissues [J]. *Food Control*, 2012, 23: 20–25.
- [23] 李亚楠, 王瑞, 李涛, 等. 直接竞争化学发光酶免疫法检测呋喃妥因代谢物[J]. *食品科学*, 2016, 36(8): 231–235.  
Li YN, Wang R, Li T, *et al.* Detection of furantoin metabolite by direct competitive chemiluminescenceenzyme immunoassay [J]. *Food Sci*, 2016, 36(8): 231–235.
- [24] 王瑞, 吕月霞, 黄登宇, 等. 呋喃妥因代谢物化学发光酶免疫检测方法的研究[J]. *中国兽药杂志*, 2015, 49(4): 35–41.  
Wang R, Lv YX, Huang DY, *et al.* study of chemiluminescent enzyme immunoassay method for nitrofurantoin metabolite [J]. *J ChinVet Med*, 2015, 49(4): 35–41.
- [25] 李亚楠, 王瑞, 孙元媛, 等. 直接竞争酶免疫法测定呋喃妥因代谢物[J]. *食品安全质量检测学报* 2015, 6(9): 3723–3729.  
Li YN, Wang R, Sui YY, *et al.* Determination of nitrofurantoin metabolite by direct competitiveenzyme-linked immunosorbent assay [J]. *J food Saf Qual*, 2015, 6(9): 3723–3729.
- [26] Liu YC, Jiang W, Chen YJ, *et al.* A novel chemiluminescent ELISA for detecting furaltadonemetabolit3-amino-5-morpholinomethyl-2-oxazo- lidone (AMoz) in fish, egg, honey and shrimp samples [J]. *J Immun Methods*, 2013, (395): 29–36.
- [27] 任海涛, 沈玉栋, 徐振林, 等. 呋喃西林代谢物多克隆抗体制备及酶联免疫吸附分析方法[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(5): 330–370.  
Ren HT, Sheng YD, Xu ZL, *et al.* Production and identification of polyclonal antibody detect nitrofurazonemetabolite and development of enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2012, 33(5): 330–370.
- [28] 闫叶娜. 呋喃西林代谢物单克隆抗体的制备及其免疫分析方法的建立[D]. 南京: 南京农业大学, 2010.  
Yan YN. Preparation of monoclonal antibody fornitrofurazone and development of its immunity analysis [D]. Nanjing: Nanjing Agriculture University, 2010.
- [29] 李敏, 何小维. 间接竞争 ELISA 法检测呋喃唑酮代谢物[J]. *现代食品科技*, 2012, 28(4): 476–479.  
Li M, He XW. Indirect competitive ELISA method to detect furazolidone metabolites [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2012, 28(4): 476–479.
- [30] Xu YG, Cui LC, Tian CY, *et al.* A multiplex polymerasechain reaction coupled with high-performance liquid chromatography assay for simultaneous detection of six foodborne pathogens [J]. *Food Control*, 2012,

- 25(2): 778–783.
- [31] 伍燕华, 牛瑞江, 赖卫华, 等. 双抗夹心酶联免疫吸附法检测沙门氏菌[J]. 食品工业科技, 2014, 35(10): 62–65.  
Wu YH, Niu RJ, Lai WH, *et al.* Detection of *Salmonella* by double antibody sandwich ELISA [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2014, 35(10): 62–65.
- [32] 陈钢. 单增李斯特菌酶联免疫吸附法的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2010.  
Chen G. Study on enzyme-linked immuno-sorbent assay of *Listeria monocytogenes* [J]. Nanchang: Nanchang University, 2010.
- [33] 李建科, 王峰, 夏凯. 苹果浓缩汁中耐热菌的间接 ELISA 快速检测方法[J]. 中国农业科学, 2011, 44(24): 24669–4677.  
Li JK, Wang F, Xia K. An indirect and accurate ELISA for detection of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in apple juice concentrate [J]. *Sci Agric Sin*, 2011, 44(22): 4669–4677.
- [34] 张也, 刘以祥. 酶联免疫技术与食品安全快速检测[J]. 食品科学, 2008, 24(8): 200–204.  
Zhang Y, Liu YX. Rapid determination of enzyme-linked immunosorbent assay on food safety [J]. *Food Sci*, 2008, 24(8): 200–204
- [35] 钱程, 马晨, 汤永娇, 等. 果蔬中食源性致病微生物的研究进展[J]. 热带农业科技, 2014, 34(12): 85–93.  
Qian C, Ma C, Tang YJ, *et al.* Research progress of foodborne pathogenic microorganism research in fruits and vegetables [J]. *Trop Agric Sci Technol*, 2014, 34(12): 85–93.
- [36] 陈玉婷, 程楠, 许文涛. 食源性致病微生物的检测新技术[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(9): 3405–3413.  
Chen YT, Chen N, Xu WT. Novel technologies for foodborne pathogenic microorganism detection [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(9): 3405–3413.
- [37] 魏子溟, 李泮生. 食品性致病微生物的快速检测方法及其研究现状[J]. 现代食品科技, 2013, 29(2): 438–451.  
Wei ZH, Li BS. Reviews of rapid detection methods for foodborne pathogenic microorganisms [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2013, 29(2): 438–451.
- [38] 林壮森, 张焜, 赵肃清, 等. 食品中生物毒素的 ELISA 分析方法研究进展[J]. 食品科学, 2009, 30(3): 281–283.  
Lin ZS, Zhang K, Zhao SQ, *et al.* Research progress on ELISA method for analysis of biotoxins in foodstuffs [J]. *Food Sci*, 2009, 30(3): 281–283.
- [39] 李少晖, 任丹丹, 谢云峰, 等. 食品中黄曲霉毒素检测方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(4): 1107–1115.  
Li SH, Ren DD, Xie YF, *et al.* Research progress on determination methods of aflatoxins in foodstuffs [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(4): 1107–1115.
- [40] Stachowiak MO, NerminSajic, Xu Y, *et al.* Fast and sensitive aflatoxin B<sub>1</sub> and total aflatoxins ELISAs for analysis of peanuts, maize and feed ingredients [J]. *Food Control*, 2016, (63): 239–245.
- [41] 宋晓丽, 刘梅轩, 罗湘蜀, 等. 猪肉和鸡肉中脱氧雪腐镰刀菌烯醇和 T-2 毒素酶联免疫吸附检测方法的建立[J]. 中国畜牧兽医, 2015, 42(3): 525–530.  
Song XL, Liu MX, Luo XS, *et al.* Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of deoxynivalenol and T-2 toxin in pork and chicken [J]. *China Anim Husb Vet Med*, 2015, 42(3): 525–530.
- [42] 王吕, 熊斯诚, 邹旭强, 等. 赭曲霉毒素 A 模拟抗原表位及噬菌体展示酶联免疫吸附分析法的建立[J]. 分析化学, 2015, 43(6): 856–861.  
Wang L, Xiong SC, Zhou XQ, *et al.* Mimic epitope of ochratoxina and its application in phage enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *Chin J Anal Chem*, 2015, 43(6): 856–861.
- [43] 孙凤霞. 三聚氰胺单克隆抗体制备及其高灵敏快速检测技术研究[D]. 无锡: 江南大学, 2011.  
Sun FX. Study on preparation of melamine monoclonal antibody and high-sensitive and rapid detection methods [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2011.
- [44] 裘雪梅, 刘仁荣, 徐玲, 等. 苏丹红 I 单克隆抗体的制备及其间接竞争 ELISA 检测[J]. 食品科学, 2010, 31(18): 258–261.  
Qiu XM, Liu RR, Xu L, *et al.* Monoclonal antibodies against sudan I: preparation of and application in indirect competitive ELISA detection [J]. *Food Sci*, 2010, 31(18): 258–261.
- [45] 贡东军, 赵志磊, 王庭欣, 等. 碱性橙 II 的酶联免疫检测方法的研究[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(10): 80–82.  
Dong J, Zhao ZL, Wang TX, *et al.* Study on the ELISA determination of chrysoidin II [J]. *Food Res Dev*, 2013, 34(10): 80–82.
- [46] 宋伟, 陈百明, 刘琳. 中国耕地土壤重金属污染概况[J]. 水土保持研究, 2013, 20(2): 293–298.  
Song W, Chen BM, Liu L. Soil heavy metal pollution of cultivated land in China [J]. *Res Soil Water Conserv*, 2013, 20(2): 293–298.
- [47] 王玉红, 王延风, 陈华. 海水中重金属检测方法研究及治理技术探索[J]. 环境科学与技术, 2014, 37(6): 237–241 .  
Wang YH, Wang YF, Chen H. The study progress of detection methods of heavy metal in sea and exploration of management control [J]. *Environ Sci Technol*, 2014, 37(6): 237–241.
- [48] 车晓青, 郭明. 重金属残留的酶联免疫吸附检测技术研究进展[J]. 福建分析测试, 2009, 18(4): 61–66.  
Che XQ, Guo M. Recent progress of enzyme-linked immunosorbent assay technique for heavy metal residues [J]. *Fujian Anal Test*, 2009, 18(4): 61–66.
- [49] 王津. 重金属镉免疫检测方法的研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2012  
Wang J. Development of immunoassay for the determination of cadmium [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2012.
- [50] 翟一凡. 重金属铅和铬单克隆抗体的制备及免疫学检测方法的初步建立[D]. 广州: 暨南大学, 2010  
Zhai YF. Preparation and established primary immunoassay of monoclonal antibodies against ion lead and chromiu [D]. Guangzhou: Jinan University, 2010.
- [51] Darwish IA, Blake DA. One-step competitive immunoassay for Cadmium ions: development and validation for environmental water samples [J]. *Anal Chem*, 2001, 73: 1889–1895 .
- [52] 谢秀玲, 李欣, 高金燕, 等. 非热加工对食物过敏原影响的研究进展[J]. 食品科学, 2014, 43(17): 344–349.  
Xie XL, Li X, Gao JY, *et al.* A review of studies on the effect of non-thermal processing on food allergens [J]. *Food Sci*, 2014, 43(17): 344–349.
- [53] 郑义成, 华萍, 杨安树, 等. 食物中过敏原检测技术研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(21): 417–421.  
Zheng YC, Hua P, Yang AS, *et al.* Research advance in detection technologies for allergen in food [J]. *Food Sci*, 2010, 31(21): 417–421.
- [54] Immer U, Lacorn M. 10–Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) for detecting allergens in food [J]. *Handbook Food Allerge Detect Control*, 2015: 199–217.

- [55] Shibahara Y, Uesaka Y, Wang J, *et al.* A sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of fish protein in processed foods [J]. *Food Chem*, 2013, (136): 675–681.
- [56] Chen YT, Yun-Hwa Peggy Hsieh. A sandwich ELISA for the detection of fish and fish products [J]. *Food Control*, 2014, (140): 265–273.
- [57] 张洁琼, 高淑霞, 生威, 等. 双抗体夹心酶联免疫吸附法检测杏仁过敏原苦杏仁球蛋白[J]. *食品科学*, 2013, 34(16): 173–177.  
Zhang JQ, Gao SX, Sheng W, *et al.* Development of double-antibody sandwich ELISA for the detection of the almond allergen amandin [J]. *Food Sci*, 2013, 34(16): 173–177.
- [58] 陈颖, 王玮. 食物过敏原检测方法研究进展[J]. *检验检疫学刊*, 2011, 21(3): 4–7.  
Chen Y, Wang W. *Inspection and quarantine science* [J]. *Inspect Quarant Sci*, 2011, 21(3): 4–7.
- [59] 顾炜炜, 潘家荣. 转基因食品中 Bt cry2Ab/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. Development of the detection of ELISA kit for Bt cry2Ab/2Ac insecticidal protein in transgenic food [J]. *Food Sci Technol*, 2007, (6): 203–206.
- [60] 王新桐, 孙佳芝, 高丽丽, 等. 转基因棉花中新霉素磷酸转移酶(NPT II)双抗体夹心 ELISA 定量检测方法的建立[J]. *农业生物技术学报*, 2014, 22(3): 372–379.  
Wang XT, Sun JZ, Gao LL, *et al.* Development of monoclonal antibody-based sandwich ELISA for detection of neomycin phosphotransferase (NPT II) protein in genetically modified cotton (*Gossypium sp.*) [J]. *J Agric Biotechnol*, 2014, 22(3): 372–379.
- [61] 吕雪飞, 周晓萍, 满燕, 等. 定量检测转基因植物蛋白 Cry1Ac 的双抗体夹心 ELISA 方法建立[J]. *现代食品科技*, 2014, 30(10): 257–262.  
Lv XH, Zhou XP, Mang Y, *et al.* Double-antibody sandwich ELISA for the quantitative detection of Cry1Ac protein in transgenic plants [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2014, 30(10): 257–262.
- [62] 薛振华, 史文清, 王晓凤, 等. 双抗体夹心 ELISA 在转基因生物检测中的应用研究[J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(12): 3476–3540.  
Xue ZH, Shi QW, Wang XF, *et al.* Application of double antibody sandwich ELISA method in testing genetically modified organisms [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2014, 42(12): 3476–3540.
- [63] 张强. ELISA 技术在食品安全检测中的应用研究进展[J]. *长江大学学报(自然科学版)*, 2015, 12(33): 45–49.  
Zhang Q. The application and study advance of ELISA in food safety detections [J]. *J Yangtze Univ (Nat Sci Ed)*, 2015, 12(33): 45–49.
- [64] 何紫薇, 郭琦. 酶联免疫吸附(ELISA)技术在食品检验的发展应用[J]. *科协论坛: 下半年*, 2011, (11): 380–381.  
He ZW, Guo Q. Research progress of ELISA in food safety detection [J]. *Sci Technol Ass Forum*, 2011, (11): 380–381.

(责任编辑: 姚菲)

## 作者简介



冯 敏, 硕士, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 15135101066@163.com



黄登宇, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向为食品卫生检测。

E-mail: Huanggy1110@126.com