

食品安全现场快速检测技术研究进展 (续)

高志贤 周焕英

(四) 生物芯片

1994年美国能源部、防御研究计划署、俄罗斯科学院和俄罗斯人类基因组计划在1000多万美元的资助下研制出第一块用于测序的基因芯片。虽然当时的测序芯片在准确性方面尚有欠缺,但是它在疾病诊断、药物筛选、基因表达谱测定、环境监测、农作物优育优选和农业病虫害监测、刑侦、军事等方面的应用前景却引起了广泛关注。Science和Nature Genetics杂志分别在1998年10月和1999年1月出版了专集,系统介绍了生物芯片研究的重大进展。同时Science杂志还把生物芯片评选为1998年的世界十大科技突破之一。各国的政府、相关科研机构和企业对生物芯片技术都十分重视,以生物芯片为核心的各相关产业也在全球

迅速崛起,世界范围有几百家较大公司在从事相关研究,提供产品和技术服务。

1、免疫芯片

免疫芯片是一种特殊的蛋白芯片,芯片上的探针蛋白可根据研究目的选用抗体、抗原、受体等具有生物活性的蛋白质。芯片上的探针点阵,通过特异性免疫反应捕获样品中的靶蛋白,然后通过专用激光扫描系统和软件进行图像扫描、分析、结果解释,具有高通量、自动化、灵敏度高和多元分析等优点。由于单克隆抗体具有高度的特异性和亲和性,因此是比较好的一种探针蛋白,用其构筑的芯片可用于检测蛋白质表达丰度及确定新的蛋白质。

在免疫芯片的制作过程中,最关键的步骤

[作者简介] 高志贤:军事医学科学院卫生学环境医学研究所。

工作:(1)生产企业要了解、熟悉、关注企业相关食品的法规和规定。跟踪、关注法规和规定的动态变化,就是关注企业的生命。(2)强化自身的食品质量和食品安全意识,重视食品生产的质量管理,重视食品标签的完整和规范。

加强对消费者相关法规知识的宣传,使消费者了解食品标签的重要和基本常识,掌握如何利用标签选购食品^[5],增强消费者自我保护意识,有效引导市场消费。利用消费的选择性规律淘汰流通领域中不合格、不规范产品。

《国务院关于加强食品等产品质量监督管理的特别规定》出台,加强了对生产和流通领域的食品安全监管力度。所以,食品监督员要加强学习,提高专业素质;加强责任心和使命感,加强自身队伍建设,加大监督检查的针对性、覆盖面和检查力度,一旦发现问题,一查到底,对不合格食品实施市场召回制度;借助媒体的力量,曝光不合格食品,使不合格食品在流通领域无处安身;不断使食品市场得到净化,并向规范化、有序化的经营方向迈进。

参考文献:

- [1] 冯悦红,杨月欣,石磊等.北京市市场常见包装食品营养标识的调查[J].中国卫生监督杂志,2002,9(6):332-335.
- [2] 韩萍,陈萍萍,江苏娟等.郑州市市售预包装食品标签规范度调查分析[J].食品科学,1999,11:61-64.
- [3] 金红,刘金林,任兵.青岛市市售食品标签调查[J].预防医学文献信息,2000,6(3):247.
- [4] 刘建湖,叶丽华,嵇宏发等.市售定型包装食品标签调查分析[J].江苏预防医学,2000,11(3):41-42.
- [5] 王燕,薛云皓,胡建民等.保健食品标签现状与管理对策[J].中国公共卫生管理,2001,17(1):37.

是抗原或抗体的固定。根据固定原理可分为物理吸附法和共价结合法。物理吸附法简便易行,但是固定的抗原分子数少,在以后的洗涤过程中,固定分子容易脱落,影响结果的判读。近年来,免疫芯片的研制中多采用共价结合法进行抗原或抗体的固定,常用的材料包括玻璃片、硅片、金片、聚丙烯酰胺凝胶膜、尼龙膜等^[36]。在众多的共价固定材料中,通常采用的多是玻璃片及聚丙烯酰胺凝胶膜。采用聚丙烯酰胺凝胶膜固定抗原或抗体过程是通过光致聚合作用在玻璃片上制备众多的彼此分开的聚丙烯酰胺凝胶膜,然后用戊二醛进行膜的活化,活化膜上的醛基和抗原或抗体中的氨基反应形成酰胺键,从而完成识别分子的固定,其优点是固定的识别分子数量大,在其上进行的抗原抗体反应近似于液相中的反应,反应速度快,信号强^[37, 38]。另外许多研究者采用玻璃片固定识别分子,玻璃片表面羟基可以用N,N-二乙氧基氨丙基三乙氧基硅烷作表面处理,能够偶联核酸、酶、抗体(抗原)、蛋白质、多肽等各种分子,并且多数芯片需采用发光的检测方

法,而玻璃片适应了这一要求^[36]。

在免疫芯片中常用的标记物有放射性同位素、酶、荧光物质等,依据标记物的不同采用不同的检测方法。采用放射性同位素标记抗原或抗体具有特异性强、敏感性高的优点,但由于该方法有放射性污染和需要专门的检测设备等问题,其应用受到了一定的限制^[39]。采用酶及荧光物质(Cy3、Cy5)标记抗原或抗体具有敏感、简便、快速的优点,这两种标记方法克服了放射性同位素标记法的不足,已成为免疫芯片中常用的标记物,抗原与抗体反应结束后用扫描仪进行荧光信号的检测。针对小分子的免疫芯片检测,由于小分子多数不具备两个以上供抗体结合的位点,不能用双抗夹心法进行测定,因此,在芯片上对小分子的检测均采用竞争法。即分别对其进行化学衍生并使之与大分子蛋白相偶联合成各自的蛋白结合物,然后通过对蛋白的标记而间接标记小分子,检测时利用非标记小分子对检测液中偶联物产生的竞争强度来确定待测液中小分子的含量。表4列举了部分免疫芯片在食品检测中的应用。

表4 免疫芯片在食品快速检测中的应用

检测项目	方法说明	参考文献
阿特拉津 莠灭碱	竞争法,检出限:阿特拉津0.001 μg/mL, 莠灭碱0.01 μg/mL。	[40]
雌二醇	竞争法,检出限:0.001 μg/mL。	[41]
葡萄球菌肠毒素 (SEA、SEB、SEC)	竞争法,检出限:SEA为0.01 μg/mL, SEB为0.01 μg/mL, SEC为0.1 μg/mL。	[42]
蛋白质	光刻掩膜真空沉积技术沉积金膜, N-乙酰半胱氨酸分子自组装及EDC 偶联技术固定抗体,可同时测定三种抗体,最低可检出0.5 μg/mL的羊抗兔IgG, 测定时间2~3 h。	[43]
磺胺二甲基嘧啶 链霉素 泰乐菌素	偶联牛血清白蛋白的抗体溶于含20%丙三醇的PBS缓冲液, ProSys 5510点样仪固定于活化的琼脂糖玻璃平板,可实现磺胺二甲基嘧啶、链霉素、泰乐菌素的同时测定,方法对以上三种物质的检出限分别为3.26 ng/mL, 2.01 ng/mL和6.37 ng/mL。	[44]

目前,免疫芯片大多处于研究开发阶段,在技术不成熟的情况下,免疫芯片检测容易产生灵敏度下降,分析误差增多,统计数据偏差较大等一系列问题,所以必须从技术工艺、硬件设施和管理规范等多个环节严格把关,为免疫芯片技

术的日趋成熟和后续的产业化进程奠定坚实的基础。

2、DNA芯片检测方法

基因芯片(Gene chip, DNA chip),又称DNA微阵列(DNA microarray),是指按照预定位

置固定在固相载体上很小面积内的千万个核酸分子所组成的微点阵阵列。在一定条件下,载体上的核酸分子可以与来自样品的序列互补的核酸片段杂交。如果把样品中的核酸片段进行标记,在专用的芯片阅读仪上就可以检测到杂交信号。基因芯片技术由于同时将大量探针固定于支持物上,所以可以一次性对样品大量序列进行检测和分析。虽然基因芯片技术从本质上与Southern Blotting或Northern Blotting相同,只是探针密度极高而已,但它解决了传统核酸印迹杂交(Southern Blotting和Northern Blotting等)技术操作繁杂、自动化程度低、操作序列数量少、检测效率低等不足。基因芯片以其可同时、快速、准确地分析数以千计的基因组信息的本领而显示出了巨大的威力。这些应用主

要包括基因表达检测、突变检测、基因组多态性分析和基因文库作图以及杂交测序等方面。通过PCR扩增检测靶基因,采用研制的寡核苷酸基因芯片与扩增产物在一定条件下进行杂交,杂交结果通过ScanArray 3000芯片扫描仪读取并与标准杂交图谱比较,从而判定样品中细菌的种属,并对分离的20株细菌进行基因芯片的杂交检测,同时用传统方法对这些菌株进行了鉴定,基因芯片检测结果与传统方法鉴定结果的一致性为95% (19/20)。基因芯片技术检测水和食品中常见致病菌具有快速、准确、易于操作等优越性,值得推广应用。采用基因芯片技术检测细菌及其毒素、真菌毒素、病毒、支原体、衣原体、立克次氏体等微生物战剂,表5列举了部分DNA芯片在食品中应用。

表5 DNA芯片技术在食品分析中的应用

检测项目	检测装置	参考文献
金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、志贺氏菌属、副溶血弧菌等常见致病菌	军事医学科学院卫生学环境医学研究所设计并制备,同时测定20株菌株	[45]
金黄色葡萄球菌	法国生物梅里埃司GEN-PROBE系统	[46]
转基因农产品外源基因和表达调控元件	转基因农产品检测试剂盒	[47]
克伦特罗 链霉素 恩诺沙星 磺胺二甲基嘧啶	北京博奥生物芯片有限公司	[48]
蜡样芽胞杆菌	样品前处理简单,测定前不需要扩增,测定时间大约30分钟	[49]

3、液相悬浮芯片

Luminex悬浮芯片技术是美国Luminex公司开发的一种多功能的液相芯片分析平台,也称xMAP®(flexible Multiple-Analyte Profiling)、MASA (Multi-Analyte Suspension Arrays, 多功能悬浮点阵) 或液体芯片(Liquid Chip)。它有机地整合了有色微球(color-coded microspheres or beads)、激光技术、最新的高速数字信号处理和计算机技术,集中了分子生物学、免疫学、高分子化学、激光物理学、微流体学、计算机科学等多门学科,使得Luminex悬浮芯片技术的检测特异性和灵敏度得

到了前所未有的发展。它可以在一个25~50 μL 的样品内同时检测最多达100种不同的检测项目(最新的Luminex 200的可以同时检测200种),具有重复性与稳定性好、高通量、检测指标可灵活选择以及高灵敏度与高信噪比等诸多优点;与传统的固相芯片相比,克服了固相芯片在大分子检测时受表面张力、空间效应等对反应动力学的干扰;优化实验条件后,近似完全液相的反应体系对特异性生物学反应的影响几乎可以忽略,检测结果的稳定性和重复性也因此得到很大的提高。Luminex的多参数高通量分析、节约试剂和标本、

操作简单等多种优势,被越来越多的科研和临床工作者所接受。

液体悬浮芯片的技术原理并非等同于传统意义上的固相生物芯片。该系统的检测载体为2种被染上不同荧光染料、各10种不同浓度梯度的聚苯乙烯微球(直径为5.6 μm),也即每种检测微球上被定义上一个唯一的编码地址。理论上,不同荧光微球上包被不同的探针分子(可国外已开始将Luminex悬浮芯片技术应用于多种病原微生物和毒素的快速检测研究,并取得了重要研究进展。Zoltan等^[50]利用Luminex100™液相芯片系统对干燥10年以上的HIV-1(HIV1-p24和HIV1-gp41)、HCV(NS3,NS4和Core)和HBV(HBsAg)抗体阳性的血斑实现了即时定量检测,其结果与ELISA和Western Blot有很高的相符性操作简便快速而且价格低廉。Dirk等^[51]将寡核苷酸探针固定到微球表面对经典猪霍乱病毒(CSFV)、牛病毒性腹泻病毒1和2(BVDV₁ and BVDV₂)和绵羊瘟病毒(BDV)进行同时检测,最低检出限为0.2-10 TCID₅₀/mL(半数组织培养感染量)对黄病毒科病毒的检测和分型提供了灵敏和特异的方法;同时,Dirk等^[52]将液体芯片技术用在禽流感病毒的检测中,对包括H5N1型高致病性禽流感病毒在内的10种禽流感病毒亚型进行检测,并用cELISA进行方法比对,两种方法的灵敏度和特异度的一致性分别达到99.3%和93.1%Luminex液相芯片系统的应用与研究在国内刚刚起步,目前还未得到足够的重视。目前国内主要将该技术用于临床检验和

诊断,高志贤课题组在国家科技支撑计划的支持下,探索将悬浮芯片应用于食品卫生检测领域的农药、兽药分析等领域。

虽然悬浮芯片在多个生物医学的领域中具有明显的优势,但是在基因表达谱分析、基因诊断、获得的基因信息量等方面,仍然无法和传统的基因芯片相比。悬浮芯片最大的缺点是:不能连续在线监测待测样品中靶标物的浓度,或者监测样品中靶标物同beads上探针的结合情况,这也是悬浮芯片与大多数光纤、SPR、压电等以采集物理信号为主的生物传感器相比的劣势。另外,多元液相反应条件的优化与匹配、同一反应体系中交叉反应的抑制与消除也要研究者加以考虑和分析。

(五) 生物传感技术

生物传感器将生物感应元件的专一性与一个能够产生和待测物浓度成比例的信号传导器结合起来的一种分析装置。国际纯粹和应用化学联合会(IUPAC)对化学传感器的定义为:一种小型化的、能专一和可逆地对某种化合物或某种离子具有应答反应,并能产生一个与此化合物或离子浓度成比例的分析信号的传感器。生物传感器应用的是生物机理,与传统的化学传感器和离线分析技术(如HPLC或MS)相比有着许多不可比拟的优势,如高选择性、高灵敏度、较好的稳定性、低成本、能在复杂的体系中进行快速在线连续监测。它在现场快速检测领域里有着广阔的应用前景,表6列举了几种生物传感器在食品检测中的应用。

表6 生物传感器在食品快速分析中的应用

检测项目	传感器类型及说明	参考文献
葡萄球菌肠毒素B	双层类脂膜电化学基因传感器,相应时间不足10min	[53]
金黄色葡萄球菌C ₂	法国生物梅里埃司GEN-PROBE系统 石英晶体免疫传感器	[54]
左旋咪唑	瑞典 Biacore AB生产的SPR传感器,相应时间6min,检出限5×10 ⁻² μg/mL	[55]
丙烯酸胺	电化学传感器,检出限1.2×10 ⁻¹⁰ M	[56]
丁酰肼	分子印迹压电传感器,响应时间约10min,检出限5×10 ⁻⁵ μg/mL	[57]
食品中常见肠道细菌	压电免疫传感器,通过葡萄球菌蛋白A将抗肠道菌共同抗原的单克隆抗体包被在10 MHz的石英晶体表面,以大肠杆菌为例,菌液浓度在10 ⁻⁶ ~10 ⁻⁹ mL范围内响应。	[58]

(六) 便携式色谱—质谱联用仪

随着与检测技术相关的各种配套装备的不断发展,近几年针对食品安全的检测车使以前根本无法应用到现场的一些检测方法得到进一步应用,车载的色谱—质谱联用仪主要由主机、顶空设备、采样探头和专用笔记本电脑四部分组成,它的优点是可以较快速的检测到极低的污染,并能分析污染物质的化学成分,而且与仪器相配套的笔记本电脑里还储存有两千种有害化合物的分析材料,可以针对检测的物质立即从电脑里调出相关的资料进行分析,选取处置方法。随着国家对食品安全的重视,目前我国的多家单位已配备了食品安全检测车,这为便携式色谱—质谱联用仪的应用和推广提供了广阔的发展空间。

(七) 生物学发光检测法^[59]

生物学发光检测法,利用细菌细胞裂解时会释放出ATP,ATP自细菌细胞释放出来后,使用荧光虫素和荧光虫素酶可使之释放出能量,这些能量产生磷光,光的强度就代表ATP的量,从而推断出菌落总数。美国NHD公司推出ATP食品细菌快速检测系统的Profile—13560通过底部有筛孔的比色杯将非细菌细胞和细菌细胞分离,这种比色杯细菌细胞过不去,之后用细菌细胞释放液裂解细菌细胞,检测释放出的ATP量则为细菌的ATP量,得出细菌总数。此检测系统与标准培养法比对,相关系数在90%以上,且测定只需5min,已被美军采用。美国CharmScience Inc有一

系列通过检测细菌的ATP量来控制不同食品卫生安全的产品,如检验食物表面的PocetSwab Plus、检测水产品表面的WaterGieneTM、检测生肉的Charm CHEF等,操作方法都是使用专用药签刮抹待测部位,然后将药签装入笔形管内,插入便携检测仪读数即可。

三、展望

目前的食品现场快速检测主要呈现4大趋势:(1)由于高新技术的应用,检测能力不断提高,检测灵敏度越来越高,残留物的超痕量分析水平已达到 10^{-7} g;(2)检测速度不断加快,智能化芯片和高速电子器件与检测器的使用,使食品安全检测周期大大缩短;(3)选择性不断提高,高效分离分段、各种化学和生物选择性传感器的使用,使在复杂混合体中直接进行污染物选择性测定成为可能;(4)由于微电子技术、生物传感器、智能制造技术的应用,检测仪器向小型化、便携化方向发展,使实时、现场、动态、快速检测正在成为现实。针对我国的特殊国情,目前我国基层单位很多速测技术的应用还只处于定性或半定量水平,易用型的小型化仪器的应用是目前和今后快速检测技术的发展趋势。另外食品样品复杂多样,前处理烦琐费时,建立快速检测方法的同时进一步完善样品的前处理方法,研制适合的小型前处理装置,对于缩短现场快速测定时间及提高测定的准确性具有重要的意义。

参考文献

- [1] 汤丽玲,陈清,张宏彦等.采用试纸条—反射仪方法快速测定蔬菜硝酸盐含量.北方园艺,2001,5~9
- [2] Augustin J.C., Carlier V. Lessons from the organization of a proficiency testing program in food microbiology by interlaboratory comparison: analytical methods in use, impact of methods on bacterial counts and measurement uncertainty of bacterial counts. Food Microbiol, 2006, 23(1):1~38
- [3] Sasithom S., Sirirat R. Enumeration of coliforms and Escherichia coli in frozen black tiger shrimp penaeus monodon by conventional and rapid methods. Inter J Food Microbiol, 2003, 81(2): 113~121
- [4] Schroft H., Watterworth LA. Enumeration of heterotrophs. fecal coliforms and Escherichia coli in water; comparison of 3MTM PetrifilmTM plates with standard plating procedures. J Microbiol Meth. 2005, 60(3): 335~342
- [5] 于基成,边辞,赵娜,等.酶抑制法快速检测蔬菜中有机磷农药残留,江苏农业科学,2006,5:171~173
- [6] 何颖,张涛,康天放.蔬菜中有机磷农药残留的分光光度法快速检测,环境化学,2005,24(6):711~713

- [7] 彦军, 周焕英, 杨伟群. 试纸—光电检测仪快速测定食品中亚硝酸盐的研究, 解放军预防医学杂志, 2004, 22 (17) : 18~21
- [8] 陈秋生, 梁淑轩, 李 科. 蔬菜中硝酸盐和亚硝酸盐的不同提取方法及含量测定, 河北大学学报, 2007, 27 (2) : 176~178
- [9] 房彦军, 王红勇, 周焕英, 等. 试纸—光反射传感仪快速测定痕量甲醛的研究, 分析试验室, 2005, 24 (2) : 1~2
- [10] 杨阳, 胡国媛, 李静. 甲醛快速检测试剂盒测定食品中的甲醛, 中华医学与健康, 2006, 11 : 32~34
- [11] 马隽, 王兴华, 李宝华. 一种用于食品中二氧化硫快速测定的样品前处理方法[J], 高等学校化学学报, 2006, 27 : 39~42
- [12] 吴广臣, 夏立娅, 刘峥颖. 食品中吊白块的测定, 食品工业科技, 2006, 27(10):181~183
- [13] 王红勇, 高志贤. 污染食品中敌鼠的快速检测, 中国公共卫生, 2004, 20 (7) : 793
- [14] 方邢有, 高志贤. 食品中亚硫酸盐的三乙醇胺吸收法检测, 中国公共卫生, 2006.22 (6) : 245
- [15] 王民, 糜漫天, 高志贤. 食品中镉的快速检测方法研究, 第三军医大学学报, 2004, 26 (7) : 640 ~642
- [16] 陈茂义. 纸片法检测大肠菌群结果判断的实验研究, 中国卫生检验杂志, 2003, 13(4) : 438~439
- [17] 王会娟, 王丽, 路琳, 等. 实验室常用的微生物快速检验技术. 肉类工业, 2004, (9) : 40~42
- [18] Williams, Michael G, Hesselroth, et al. Device for propagation and storage of microorganisms. United States Patent, 2003, 6649406
- [19] 吴清平, 孙永, 蔡芷荷. 快速测试片在食品微生物检测中的应用, 中国卫生检验杂志, 2006, 16(5) : 635~637
- [20] 张彦峰. 典型污染物涕灭威、多环芳烃和三丁基锡的酶联免疫吸附分析研究, (中文学位论文), 2006:P31~35
- [21] 孙俐, 郑文杰. 动物源性食品的氯霉素ELISA检测及分析. 天津科技大学学报, 2007, 22 (7) : 76~79
- [22] Guglielmo V. V., Thullier P.. Comparison of an electrochemiluminescence assay in plate format over a colorimetric ELISA, for the detection of ricin B chain (RCA-B). Journal of Immunological Methods 2007, 328 : 70~78
- [23] 龚鹏飞. 孔雀石绿单克隆抗体的制备及其检测试剂盒的初步研制, (中文学位论文), 2005:P1~46
- [24] <http://www.wangerbio.com>
- [25] Lehotay S. T., Argauer R. J.. Detection of aldicarb sulfone and carbofuran in fortified meat and liver with commercial ELISA kits after rapid extraction. J. Agric. Food Chem., 1993,41:2006-2010.
- [26] ZHOU P., LU Y.T., ZHU J., Nanocolloidal Gold-Based Immunoassay for the Detection of the N-Methylcarbamate Pesticide Carbofuran, J. Agric. Food Chem. 2004, 52, 4355~4359
- [27] 孙思明, 周焕英, 房彦军, 等. 雌二醇的免疫胶体金试纸法检测, 中国公共卫生, 2007, 23 (1) : 126~127
- [28] Chao D.J., Shyu R.H., Hu C.S.. Colloidal gold-based immunochromatographic assay for detection of botulinum neurotoxin type B, Journal of Chromatography B, 2004, 809:37~41
- [29] <http://foodsafety.kangqiao.cn>
- [30] 方邢有, 高志贤. 胶体金免疫层析法检测罂粟碱的研究, 分析试验室, 2005, 24 (12) : 1~4
- [31] 李红玉, 肖曼, 李静贤. 检测幽门螺杆菌抗原的免疫胶体金试纸及其制备方法, 申请号 : 200510200228.6
- [32] Ahmed F.E.Detection of genetically modified organisms in foods. Trends in Biotechnology,2002,20(5): 215~223
- [33] Lipton C. R., Dautlick J. X., et al. Study on the detection of genetically modified soybean and maize by polymerase chain reaction methods, Food Agric Immunol, 2000, 12:153~164
- [34] www.whpm.com.cn
- [35] www.sdix.com
- [36] 马立人, 蒋中华 主编.生物芯片 (第一版).北京:化学工业出版社, 2000, 16~19

- [37] Arenkov P., Kukhtin A., Gemmell A. et al. Protein microchips: use for immunoassay and enzymatic reactions analytical biochemistry, 2000; 278(2): 123~131
- [38] Guschin D., Yershov G., Zaslavsky A. et al. Manual manufacturing of oligonucleotide, DNA, and protein microchips. Analytical Biochemistry, 1997; 250(2): 203~211
- [39] 刘纯杰. 葡萄球菌肠毒素检测方法的研究进展, 肉品卫生, 1997, 1: 24~30
- [40] 高志贤, 王艳, 房彦军, 等. 小分子阿特拉津和罂粟碱检测的免疫芯片技术研究, 分析化学, 2005, 33 (4) : 455~458
- [41] 张庆峰, 高志贤, 王升启, 用于雌二醇检测的免疫芯片技术, 中国生物工程杂志, 2004, 24, (9) : 86~88
- [42] 高志贤, 杨明星, 王升启, 免疫芯片技术检测葡萄球菌肠毒素研究, 中国生物工程杂志, 2004 24(8) : 99~101
- [43] 姜雄平, 许丹科, 马立人. 金自组膜免疫芯片的研制, 分析化学, 2002, 30 (7) : 784~787
- [44] Ye B.C., Li S.Y., Zuo P.. Simultaneous detection of sulfamethazine, streptomycin, and tylosin in milk by microplate-array based SMM-FIA, Food Chemistry, 2008 : (106) 797~803
- [45] 唐晓敏, 高志贤. 基因芯片快速检测常见水中致病菌的初步应用研究, 解放军预防医学杂志, 2003, 21(2) : 94~96
- [46] 王晶, 王林, 黄晓蓉. 食品安全快速检测技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000 : 4~5
- [47] 上海出入境检验检疫局动植物与食品检验检疫技术中心
- [48] 郭志红, 张荣, 张连彦, 等. 蛋白芯片在兽药残留检测中的应用. 中国兽药杂志, 2005, 39(10) : 9~12
- [49] Liu Y.L., Elsholz B., Enfors S.O.. Confirmative electric DNA array-based test for food poisoning *Bacillus cereus*, Journal of Microbiological Methods, 2007, 70: 55~64
- [50] Joubert O., Keller D., Pinck A., et al.. Sensitive and specific detection of staphylococcal epidermolysins A and B in broth cultures by flow cytometry-assisted multiplex immunoassay[J]. J. Clin. Microbiol., 2005, 43(3): 1076~1080
- [51] Wilson W., Erler A., Nasarabadi S., et al.. A multiplexed PCR-coupled liquid bead array for the simultaneous detection of four biothreat agents. Mol Cell. Probes., 2005(2), 19(2): 137~144
- [52] Zoltan L., Alexandra D., Rainer G., et al. Simultaneous determination of HIV antibodies, hepatitis C antibodies, and hepatitis B antigens in dried blood spots - a feasibility study using a multi-analyte immunoassay, Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2005, 43 (2): 141~145
- [53] Dirk D., Tara L., Furukawa S., et al., A multiplex DNA suspension microarray for simultaneous detection and differentiation of classical swine fever virus and other pestiviruses, J. Virol. Meth., 2006, 137(1): 88~94
- [54] Liu N., Gao Z.X., Zhou H.Y., et al.. Detection of SEB gene by bilayer lipid membranes nucleic acid biosensor supported by modified patch-clamp pipette electrode, Biosensors and Bioelectronics, 2007, 22: 2371~2376
- [55] Gao Z.X., Chao F.H., Zhang C.. Detection of staphylococcal enterotoxin C employing a piezoelectric crystal immunosensor. Sensors and Actuators B 66, 2000: 193~196
- [56] Crooks Steven R.H., McCarney B., Traynor I. M., Detection of levamisole residues in bovine liver and milk by immunobiosensor, Analytica Chimica Acta 483 (2003) 181~186
- [57] Lipton C. R., Dautlick J. X., et al. Guidelines for the Validation and Use of Immunoassays for Determination of Introduced Proteins in Biotechnology Enhanced Crops and Derived Food Ingredient, Food Agric Immunol, 2000, 12: 153~164
- [58] Yan S.L., Fang Y.Y., Gao Z.X., Quartz Crystal Microbalance for the Determination of daminozide using molecularly imprinted polymers as recognition element. Biosensors and Bioelectronics, 2007, 22: 1087~1091
- [59] Plomer M., Guilbault G.G., Hock B.. Development of a PZ immunosensor for detection of enterobacteria fJJ. Enzyme Microbiol Technol, 1992, 14(3): 230~234
- [60] 解立斌, 黄建, 霍军生. 食品快速检测技术应用进展, 国外医学卫生学分册, 2007, 34 (7) : 192~196