

酶联免疫吸附法检测动物源性食品中氨苯砒残留

陶光灿, 李勇, 崔廷婷, 王娇, 扶胜

(北京勤邦生物技术有限公司, 北京 102206)

摘要: 应用间接竞争酶联免疫吸附技术, 建立了一种快速检测动物源性食品中氨苯砒残留的方法, 并对其各项技术参数进行了评价。结果显示, 该方法的半数抑制浓度 IC_{50} 为 $0.369 \mu\text{g/L}$, 对鸡肉、猪肉样本的检测限为 $0.2 \mu\text{g/kg}$, 对鸡蛋、蜂蜜样本的检测限为 $2 \mu\text{g/kg}$, 对牛奶样本的检测限为 $0.6 \mu\text{g/L}$; 样本添加回收率为 $78.2\% \sim 104.0\%$, 变异系数为 $5.2\% \sim 13.5\%$; 对实际样本的检测方法与液相色谱-串联质谱法基本一致。该方法灵敏度高、快速准确, 适用于动物源性食品中氨苯砒残留的快速检测。

关键词: 酶联免疫吸附法; 氨苯砒; 动物源性食品

中图分类号: TS 207.3 文献标志码: A 文章编号: 1673—1689(2013)07—0778—06

Determination of Dapsone Residue in Animal-Originated Food by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

TAO Guang-can, LI Yong, CUI Ting-ting, WANG Jiao, FU Sheng

(Beijing Kwinbon Biotechnology Co. Ltd., Beijing 102206, China)

Abstract: A rapid detection method for dapsone residue in animal-originated food was established based on indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay. The results showed that the 50% inhibitory concentration (IC_{50}) of the method was $0.369 \mu\text{g/L}$. The detection limit for chicken and pork was $0.2 \mu\text{g/kg}$, for egg and honey was $2 \mu\text{g/kg}$, and for milk was $0.6 \mu\text{g/L}$. Sample recoveries were $78.2\% \sim 104.0\%$, and the coefficients of variation were $5.2\% \sim 13.5\%$. Results of the method were in accordance with those of liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). This method has the advantage of being sensitive and accurate, and suitable for the rapid detection of dapsone residue in animal-originated food.

Keywords: enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), dapsone, animal-originated food

氨苯砒 (dapsone, DDS) 为砒类抑菌剂, 对麻风杆菌有较强的抑菌作用, 大剂量使用时显示杀菌作用^[1]。由于其作用机制与磺胺类药物相似, 两者具有协同增效作用, 在动物和水产养殖中常作为磺胺增

效剂使用^[2]。然而氨苯砒毒性较大, 可引起血液系统反应, 如高铁血红蛋白血症和溶血性贫血, 还可能出现肝肾功能损害和精神障碍^[1,3], 因此我国农业部 235 号公告明确规定禁止在所有食品动物中使用,

收稿日期: 2013-01-07

作者简介: 陶光灿 (1976—), 男, 贵州赫章人, 农学博士, 副研究员, 主要从事食品安全检测研究。E-mail: tgcancan@126.com

且在动物性食品中不得检出^[4];欧盟 2377/90 也明确规定氨苯砒为禁用药物^[2]。

目前,国内外关于食品中氨苯砒残留检测的报道较少,且多与磺胺类药物同时检测,方法主要为高效液相色谱法^[5-6]和液质联用法^[2,7-8],仪器方法可以精确地进行定量分析,但设备昂贵、操作复杂、对样品纯度要求较高、检测成本高、周期长,只能用于小批量样本抽检,无法满足食品安全检测中对大批量样本现场快速筛查的需要^[9]。而酶联免疫吸附技术(ELISA)具有特异性高、敏感性强、快速方便、不需要昂贵仪器设备、检测成本低、适合于大批量样品的检测等优点,已在农兽药残留及微量毒素检测中被广泛应用,但目前尚未见该技术在动物源性食品中氨苯砒残留检测中应用的报道。因此,作者在利用合成的氨苯砒人工抗原,通过细胞融合技术制备出 DDS 单克隆抗体的基础上,建立了动物源性食品中氨苯砒残留的间接竞争酶联免疫吸附法,为商品化试剂盒的研制打下基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

氨苯砒(纯度 $\geq 99\%$)、琥珀酸酐、吡啶、二甲基亚砒、碳化二亚胺、N,N-二甲基甲酰胺、牛血清白蛋白(BSA)、卵清蛋白(OVA):Sigma 公司产品;其他常规化学试剂均为分析纯:北京化学试剂公司产品;复溶工作液:pH 7.6, 含质量分数 8%~12%酪蛋白、0.1~0.3 mol/L 的磷酸盐缓冲液。

1.2 仪器与设备

8010S 匀浆机:上海斯伯明仪器设备有限公司产品;2000SBL 电子天平:美国 Setra 公司产品;KS-振荡器:上海跃进医疗器械厂产品;QL-901 漩涡混合器:海门市其林贝尔仪器制造有限公司产品;Anke TDL-40B 低速离心机:上海安亭科学仪器有限公司产品;DSY-氮吹仪:北京金科精华苑科技有限公司产品;微量移液器(单道 20~200 μL 、100~1 000 μL ,多道 20~300 μL):美国 Thermo 公司产品;DHP-600 生化培养箱:天津市中环实验电炉有限公司产品;MK3 酶标仪:美国 Thermo 公司产品。

1.3 方法

1.3.1 氨苯砒半抗原的合成 0.50 g 氨苯砒、0.40 g 琥珀酸酐和 2 mL 吡啶在 10 mL 二甲基亚砒中混合,在 60 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌反应 10 h,蒸除溶剂,柱层析后

在乙醇-水体系中重结晶得到氨苯砒单琥珀酸酐,即为氨苯砒半抗原。

1.3.2 氨苯砒人工抗原的制备及鉴定

1) 氨苯砒免疫原的制备 取氨苯砒半抗原 12 mg 用 1.5 mL N,N-二甲基甲酰胺溶解,得到溶液;取质量分数 50%的戊二醛 10 μL 加入溶液中,室温下搅拌反应 18 h,得到溶液;取牛血清白蛋白 60 mg 用 4.5 mL 水稀释后加入溶液中,反应过夜后加入 24 mg NaBH_4 反应 3 h,用三蒸水透析 48 h,即得氨苯砒免疫原。

2) 氨苯砒包被原的制备 取碳化二亚胺 50 mg 用 2 mL 水使之充分溶解,得到溶液 A;取氨苯砒半抗原 13 mg 用 1 mL N,N-二甲基甲酰胺溶解,得到溶液 B;取卵清蛋白 30 mg 溶于 2 mL 0.01 mol/L PBS(pH=8.0)溶液中,得到溶液 C;将 B 液与 C 液混合,在磁力搅拌下逐滴加入 A 液中,室温下搅拌反应 24 h,用三蒸水透析 48 h,即得氨苯砒包被原。

3) 人工抗原的鉴定及偶联比测定 采用 TNBS 方法^[10]初步鉴定了人工抗原的合成情况,并测定了氨苯砒半抗原与牛血清白蛋白和卵清蛋白的偶联比。

1.3.3 单克隆抗体的制备 用 150 μg 的氨苯砒免疫原与等量弗氏完全佐剂(FCA)混合制成乳化剂,颈背部皮下多点注射。二免和三免时,将 FCA 换成弗氏不完全佐剂(FIA),剂量和方法同上,每次免疫间隔时间为 2 周,三免后第 7 d,小鼠尾部静脉采血,室温静置 1 h,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,12 000 r/min 离心 10 min,收集血清,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存,用间接 ELISA 法测定血清效价,待效价较高时,按照 150 μg /只的剂量腹腔注射加强免疫。3 d 后取小鼠脾脏进行细胞融合,以有限稀释法筛选阳性克隆,并按照常规方法制备腹水抗体^[11],用饱和硫酸铵法纯化后备用。

1.3.4 酶联免疫方法的建立

1) 抗原抗体最佳工作浓度的确定 采用方阵滴定法确定包被抗原(氨苯砒半抗原-卵清蛋白偶联物)与单克隆抗体的最佳工作浓度。每孔加入 100 μL 最佳工作浓度的包被原包被酶标板,37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 2 h;倾去包被液,经 PBST 洗涤液洗涤 3 次,用封闭液 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下封闭 2 h,洗涤 3 次,干燥备用。向包被有包被原的酶标板微孔中加入氨苯砒标准品溶液 50 μL ,随机加入辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠抗体溶液 50 μL ,再加入最佳工作浓度的单克隆抗

体溶液 50 μL , 用盖板膜封板, 25 $^{\circ}\text{C}$ 反应 30 min, 用洗涤液洗涤 4~5 次。每孔再加入底物液 A 液(过氧化脲)和 B 液(四甲基联苯胺)各 50 μL /孔, 25 $^{\circ}\text{C}$ 显色 15 min 后每孔加入 50 μL 2 mol/L H_2SO_4 终止液, 设定酶标仪于 450 nm 处测定每孔吸光度值。

2) 标准曲线的制作 采用间接竞争 ELISA 方法建立标准曲线, 分别选择标准品质量浓度 0、0.1、0.3、0.9、2.7、8.1 $\mu\text{g/L}$, 以质量浓度为 0 $\mu\text{g/L}$ 时的 OD 值为 B_0 值, 其它浓度氨苯砒标准品的 OD 值为 B 值, 以百分吸光度值(B/B_0)为纵坐标, 标准品浓度的对数值为横坐标, 绘制标准曲线。

1.3.5 样本前处理方法的建立

1) 鸡肉、猪肉前处理方法 称取(2.0 $\pm$ 0.05) g 样本至 50 mL 聚苯乙烯离心管中, 加入 7.5 mL 乙腈和 0.5 mL 水, 振荡 2 min, 4 000 r/min 室温(20~25 $^{\circ}\text{C}$)离心 5 min; 取出 2 mL 上层有机相至 10 mL 干净的玻璃试管中, 50 $^{\circ}\text{C}$ 下氮气吹干或旋转蒸发仪蒸干; 加入 1 mL 正己烷, 涡动 30 s, 再加入 1 mL 复溶工作液, 涡动 30 s; 室温(20~25 $^{\circ}\text{C}$) 4 000 r/min 离心 5 min; 除去上层有机相, 取下层 50 μL 用于分析。

2) 鸡蛋、蜂蜜前处理方法 称取(1.0 $\pm$ 0.05) g 样本至 10 mL 离心管中; 加入 4 mL 去离子水, 振荡 30 s, 取上层清液 200 μL 加入 600 μL 复溶工作液混匀; 取 50 μL 用于分析。

3) 牛奶前处理方法 取 100 μL 样本至 2 mL 离心管, 加入 500 μL 复溶工作液, 混匀; 取 50 μL 用于分析。

1.3.6 酶联免疫方法技术参数的确定

1) 样本检测限试验 取空白样本 20 份, 按 1.3.4 所述方法前处理后进行 ELISA 检测, 从标准曲线上查出对应于各百分吸光度值的氨苯砒浓度, 以 20 份样本的质量分数平均值($\bar{X}$)和标准差(S)表示检测限(MDL), 即 $\text{MDL}=\bar{X}+3S$ 。

2) 准确度和精密度试验 以 3 个不同质量分数的氨苯砒标准品分别对空白鸡肉、猪肉、鸡蛋、蜂蜜、牛奶样本进行添加回收试验, 计算回收率和变异系数。

$$\text{回收率}(\%)=(C_x-C_0)/C\times 100\%$$

式中: C_x 为添加了一定氨苯砒的样本经过标准曲线分析得到的实际质量分数, $\mu\text{g/kg}$; C_0 为空白样本经过标准曲线分析得到的实际质量分数, $\mu\text{g/kg}$; C 为实际添加的氨苯砒质量分数, $\mu\text{g/kg}$ 。

3) 稳定性试验 将酶联免疫方法相关的试剂组装成试剂盒后, 取足量保存于 37 $^{\circ}\text{C}$ 环境中, 每隔 1 d 取出适量, 分别测定零标准品的 OD 值、半数抑制浓度(IC_{50}), 及按 2) 所述方法进行添加回收试验所测得的回收率, 直到试剂盒的灵敏度和回收率开始下降为止, 根据试验结果判断试剂盒的稳定性。

4) 可靠性试验 随机抽取鸡肉、猪肉、鸡蛋、蜂蜜、牛奶样本各 20 份, 用本方法与标准方法《SN/T 2219—2008 进出口动物源性食品中氨苯砒及其代谢产物残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》(对鸡肉、猪肉、鸡蛋和牛奶中氨苯砒的测定低限为 0.5 $\mu\text{g/kg}$)^[12]和《GB/T 22940—2008 蜂蜜中氨苯砒残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》(方法检出限为 2.0 $\mu\text{g/kg}$)^[13]分别对其进行检测, 根据试验结果验证 ELISA 方法检测实际样本的有效性。

2 结果与分析

2.1 氨苯砒半抗原与载体蛋白偶联比的测定

通过 TNBS 法证明偶联反应是成功的, 并测得半抗原与 BSA 的偶联结合比为 10.45:1, 与 OVA 的偶联结合比为 7.28:1。TNBS 能特异性地与蛋白质分子上的自由氨基结合, 专一性比较强, 对仪器要求更低, 操作也较简单。

2.2 最佳工作质量浓度的选择

方法测定不同包被原和单克隆抗体的间接竞争抑制 ELISA 测定结果($A_{450\text{nm}}$ 值)见表 1。在 ELISA 包被过程中, 包被效果与浓度呈正相关, 但浓度过高, 不仅浪费试剂, 而且会降低待测物的竞争能力, 从而影响曲线灵敏度^[14]。考虑到酶标仪测定 $\text{OD}_{450\text{nm}}$ 值的敏感范围在 1.00 左右, 为了既保证测定结果的灵敏可靠, 又减少抗原的用量, 试验应选择的最适包被原稀释倍数为 1:40 000, 最佳抗体稀释倍数为 1:100 000。

2.3 标准曲线的建立

根据建议的间接竞争 ELISA 方法, 选择氨苯砒标准品质量浓度 0、0.1、0.3、0.9、2.7、8.1 $\mu\text{g/L}$, 以百分吸光度值(B/B_0)为纵坐标(Y), 标准品质量浓度的对数值为横坐标(X)绘制标准曲线如图 1。以 $\lg(B/B_0)$ 为纵坐标, 标准品浓度的对数值为横坐标, 将图 1 转换后可知, 在 0.1~8.1 $\mu\text{g/L}$ 质量浓度范围内, $\lg(B/B_0)$ 与氨苯砒浓度对数呈现良好的线性关系

(图 2), 得回归方程 $Y = -2.492\ 6X - 0.982\ 4$, $R^2 = 0.995\ 6$, IC_{50} 为 $0.369\ \mu\text{g/L}$ 。

表 1 不同包被原和单克隆抗体稀释浓度的 $A_{450\text{ nm}}$ 值

Table 1 OD_{450 nm} of dapsone-OVA and monoclonal antibody with different diluted concentration

包被原稀释倍数	单克隆抗体稀释倍数			
	1:10 000	1:50 000	1:100 000	1:500 000
1:10 000	3.054	2.263	1.825	1.157
1:20 000	2.419	2.035	1.604	0.841
1:40 000	1.836	1.508	1.092	0.630
1:80 000	1.172	0.743	0.516	0.354
1:160 000	0.548	0.391	0.187	0.145

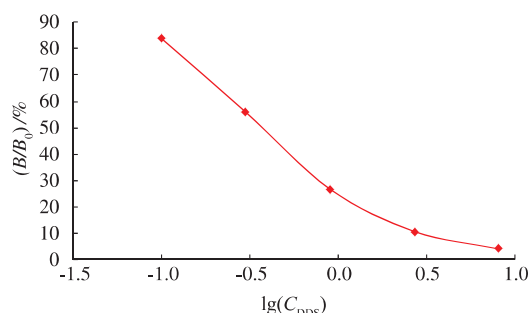


图 1 氯苯砒的标准曲线

Fig. 1 Calibration curve of dapsone by ELISA

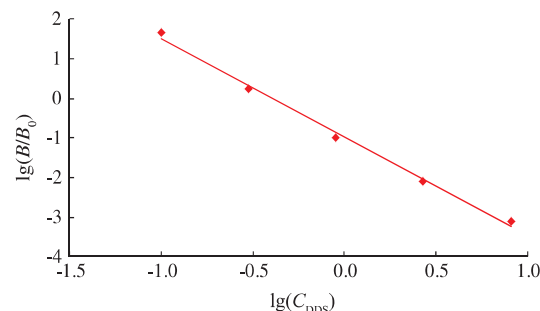


图 2 氯苯砒的检测标准曲线

Fig. 2 Calibration curve for detection of dapsone by ELISA

2.4 样本检测限

一定条件下, ELISA 方法检测限(MDL)符合正态分布的规律^[15], 因此用 20 个空白样本通过 ELISA 测定的光密度在标准曲线上对应的氯苯砒浓度的平均值($\bar{X}$)和标准差(S)来表示, 即 $MDL = \bar{X} + 3S$, 结果见表 2。综合考虑几种样本的检测限数据, 得本方法对鸡肉、猪肉样本的检测限为 $0.2\ \mu\text{g/kg}$, 对鸡蛋、蜂蜜样本的检测限为 $2\ \mu\text{g/kg}$, 对牛奶样本的检测限为 $0.6\ \mu\text{g/L}$ 。

表 2 酶联免疫方法对不同样本的检测限

Table 2 Detection limit for different samples of ELISA

样本	氯苯砒质量分数平均值/ $(\mu\text{g/kg})$	标准差	检测限/ $(\mu\text{g/kg})$
鸡肉	0.06	0.04	0.18
猪肉	0.08	0.04	0.20
鸡蛋	0.79	0.40	1.99
蜂蜜	0.82	0.35	1.87
牛奶	0.18	0.14	0.60

2.5 准确度和精密度

ELISA 测定的准确度以回收率表示, 精密度以变异系数表示。取空白鸡肉、猪肉、鸡蛋、蜂蜜、牛奶样本, 按表 3 所述的氯苯砒添加质量分数对其进行添加回收试验, 每个质量分数做 5 个平行, 用 3 个批次的产品测定, 分别计算回收率和批内、批间变异系数, 结果见表 3。

表 3 酶联免疫方法的准确度和精密度

Table 3 Accuracy and precision of ELISA

样本	质量分数/ $(\mu\text{g/kg})$	平均回收率($n=5$)/%	批内变异系数($n=5$)/%	批间变异系数($n=3$)/%
鸡肉	0.2	81.6	9.1	10.7
	0.4	94.3	6.5	9.4
	0.8	90.5	11.4	12.3
猪肉	0.2	95.7	7.3	8.6
	0.4	78.2	8.7	10.2
	0.8	86.9	5.2	9.9
鸡蛋	2.0	89.4	10.8	13.5
	4.0	93.8	6.9	11.3
	8.0	104.0	7.6	8.9
蜂蜜	2.0	95.1	5.7	7.4
	4.0	100.3	8.2	9.1
	8.0	91.7	9.0	9.6
牛奶	0.6	82.9	7.4	10.7
	1.2	94.6	6.8	8.2
	2.4	101.2	9.5	12.6

由表 3 可知, 以 3 个不同质量分数的氯苯砒标准品对空白鸡肉、猪肉、鸡蛋、蜂蜜、牛奶样本进行添加, 其加标回收率范围为 $78.2\% \sim 104.0\%$, 说明方法准确度较好; 批内变异系数范围为 $5.2\% \sim 11.4\%$, 批间变异系数范围为 $7.4\% \sim 13.5\%$, 均小于 15% , 说明方法精密度(重复性)较好。

2.6 稳定性试验

将 ELISA 方法涉及到的各种试剂组装成试剂

盒后在 37 ℃条件下存放,每隔 1 d 取出,测定灵敏度和回收率等参数,结果见表 4。经测定,该试剂盒能在 37 ℃条件下稳定保存 9 d,第 10 d 开始各项参数下降。根据生化试剂在 37 ℃每稳定 1 d,相当于 4~10 ℃保存一个半月^[16],可知,试剂盒可在 4 ℃下至少稳定保存 12 个月。

表 4 酶联免疫试剂盒稳定性测定

Table 4 Stability of the ELISA kit

时间/d	A	IC ₅₀ /(μg/L)	回收率范围/%
0	1.873	0.326	89.3~104.7
1	1.902	0.319	91.4~105.0
2	1.796	0.351	86.1~100.8
3	1.748	0.385	79.7~96.4
4	1.719	0.408	80.5~101.2
5	1.661	0.442	84.2~99.7
6	1.587	0.473	85.6~100.5
7	1.614	0.520	82.9~97.3
8	1.535	0.567	79.4~95.1
9	1.520	0.551	73.8~92.6
10	1.296	0.814	54.1~70.3

2.7 可靠性验证

通过 ELISA 方法和仪器方法对随机抽取的鸡肉、猪肉、鸡蛋、蜂蜜、牛奶样本进行测定,鸡肉、猪肉样本的阳性判定线为 0.5 μg/kg,鸡蛋、蜂蜜样本的阳性判定线为 2 μg/kg,牛奶样本的阳性判定线为 0.6 μg/L,结果筛选出 7 份阳性样本,比较结果见表 5。

表 5 ELISA 法和 LC-MS/MS 法检测结果比较

Table 5 Comparison determination results of ELISA with LC-MS/MS

样本号	ELISA 检测结果/ (μg/kg)	LC-MS/MS 检测结果/ (μg/kg)
猪肉 2	3.7	3.1
猪肉 7	9.2	10.5
鸡蛋 13	6.4	5.9
蜂蜜 6	2.8	2.3
蜂蜜 11	12.3	13.0
蜂蜜 15	5.6	4.8
牛奶 20	7.1	6.4

参考文献:

[1] 廉佳,张峻岭,卢桂玲. 羟氯喹、氨苯砒、沙利度胺在皮肤科的应用[J]. 中国皮肤性病杂志,2007,21(10):632-633.

LIAN Jia,ZHANG Jun-ling,LU Gui-ling. Hydroxychloroquine,dapsone and thalidomide applications in dermatology [J]. The Chinese Journal of Dermatovenereology,2007,21(10):632-633.

由表 5 可知,用 ELISA 法和 LC-MS/MS 法的测定结果基本一致,符合度达到 100%,适用于动物源性食品中氨苯砒残留的筛选。

3 结 语

氨苯砒(DDS)为小分子物质,不具备免疫原性,只有反应原性,因此需要与一大分子物质共价结合后才能使动物免疫系统识别,产生相应的抗体。合成免疫抗原通常采用小分子物质与载体蛋白直接偶联的方法,但是由于 DDS 相对分子质量较小,含有的可反应基团较少,使与载体蛋白偶联上的可能性大大降低;同时其结构简单,与载体蛋白偶联后由于缺少间接臂,可能影响 DDS 与抗体的特异性识别。因此,本研究先对 DDS 小分子物质进行结构改造,在保留其基本结构特征的基础上引入一定长度的间接臂,然后再与蛋白偶联,可以制备得到较高偶联比的人工抗原,在免疫时更易诱发产生特异性抗体。

目前,用高效液相色谱法、液相色谱-质谱联用法检测食品中氨苯砒的定量下限多在 0.12~5 μg/kg。作者建立的检测方法的半数抑制浓度(IC₅₀)为 0.369 μg/L,对鸡肉、猪肉样本的检测限为 0.2 μg/kg,对鸡蛋、蜂蜜样本的检测限为 2 μg/kg,对牛奶样本的检测限为 0.6 μg/L,与仪器方法相比,灵敏度较低。但由于 ELISA 方法对仪器、样品纯度和技术人员的要求不高,操作简便,检测时间短(45 min)、成本低,适合于大量样本中氨苯砒残留检测的快速筛选,能够更好地满足我国基层检测单位、政府职能部门等开展检测工作,具有较好的应用前景。

- [2] 田云,岳振峰,叶卫翔,等. 动物组织中氯苯砒及其代谢产物残留量的液相色谱串联质谱法测定[J]. 分析测试学报,2009,28(1):88-92.
TIAN Yun,YUE Zhen-feng,YE Wei-xiang,et al. Determination of dapsone and its metabolite residue in animal tissue by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. **Journal of Instrumental Analysis**,2009,28(1):88-92.(in Chinese)
- [3] Coleman M D. Dapsone toxicity:some current perspectives [J]. **General Pharmacology:The Vascular System**,1995,26(7):1461-1467.
- [4] 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国农业部第 235 号公告[B]. 北京,2002.
- [5] Hela W,Brandtner M,Widek R,et al. Determination of sulfonamides in animal tissues using cation exchange reversed phase sorbent for sample cleanup and HPLC-DAD for detection[J]. **Food Chemistry**,2003,83(4):601-608.
- [6] Suhren G,Heeschen W. Detection of eight sulphonamides and dapsone in milk by a liquid chromatographic method[J]. **Analytica Chimica Acta**,1993,275(1-2):329-333.
- [7] Hadjigeorgiou M,Papachrysostomou C H,Theodorou Z,et al. Determination of dapsone in meat and milk by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. **Analytica Chimica Acta**,2009,637(1-2):220-224.
- [8] Vanrhijn J A,Lasaroms J J P,Berendsen B J A,et al. Liquid chromatographic-tandem mass spectrometric determination of selected sulphonamides in milk[J]. **Journal of Chromatography A**,2002,960(1-2):121-133.
- [9] 涂顺,裘雪梅,谢少霞,等. 苏丹红 酶联免疫吸附检测方法的建立[J]. 食品与生物技术学报,2009,28(6):791-794.
TU Shun,QIU Xue-mei,XIE Shao-xia,et al. Enzyme linked immunosorbent assay for the detection of sudan [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2009,28(6):791-794.(in Chinese)
- [10] 李颖. 苦豆子生物碱间接竞争酶联免疫分析方法(IC-ELISA)初步研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2012.
- [11] 杨利国,胡永昶,魏平华,等. 酶免疫测定技术[M]. 南京:南京大学出版社,1998.
- [12] 中华人民共和国深圳出入境检验检疫局, 中华人民共和国重庆出入境检验检疫局, 中华人民共和国安徽出入境检验检疫局. SN/T 2219-2008 进出口动物源性食品中氯苯砒及其代谢物残留量的检测方法 液相色谱-质谱/质谱法[M]. 北京:中国标准出版社,2009.
- [13] 中华人民共和国秦皇岛出入境检验检疫局. GB/T 22940-2008 蜂蜜中氯苯砒残留量的测定 液相色谱-串联质谱法 [M]. 北京:中国标准出版社,2009.
- [14] 余鹏敏. 丙草胺和乙草胺的酶联免疫吸附分析方法研究[D]. 南京:南京农业大学,2010.
- [15] 国占宝,武玉香,田文礼,等. 食品中四环素类残留的酶联免疫检测试剂盒的研制[J]. 食品科学,2011,32(2):333-337.
GUO Zhan-bao,WU Yu-xiang,TIAN Wen-li,et al. Development of a new ELISA kit for tetracycline residue detection in foods [J]. **Food Science**,2011,32(2):333-337.(in Chinese)
- [16] 唐伟国. 医学检验诊断试剂的制备与应用[M]. 上海:上海科学技术文献出版社,1996.

科技信息

欧盟制定可用于食品的健康声称名单

据欧盟网站消息,6月12日欧盟发布(EU) No 536/2013号委员会条例,修订(EU) No 432/2012号条例,建立了 α -环糊精(Alpha-cyclodextrin)、二十二碳六烯酸(Docosahexaenoic acid (DHA))、二十二碳六烯酸和二十二碳五烯酸(Docosahexaenoic acid and Eicosapentaenoic acid (DHA/EPA))、李子干(Dried plums of 'prune' cultivars (Prunus domestica L.))、果糖(Fructose)等6种允许使用于食品上的健康声称名单及其具体使用或限制条件,不包括降低疾病风险及儿童成长及健康有关的声称。

本法规自发布后第20天起生效,并于2014年1月2日起实施,所有条款都将具有法律约束力并且直接适用于各成员国。

[信息来源]食品伙伴网. 欧盟制定可用于食品的健康声称名单 [EB/OL]. (2013-6-14). <http://www.foodmate.net/news/yujing/2013/06/234792.html>.