

文章编号:1673-1689(2009)04-0444-07

农产品质量安全分子生物检测的研究现状和发展趋势

陈兆波

(中国农村科学技术开发中心,北京 100045)

摘要:农产品质量问题正在成为全世界关注的焦点,也是涉及人民健康和营养的重要问题。现代农业及其加工技术的发展,农产品质量与安全控制的要求越来越高,传统的检测手段具有灵敏度低、特异性差、成本高、费时费工等明显缺点,聚合酶链式反应检测技术(PCR)、分子免疫技术、基因芯片(Gene Chips)技术、核酸杂交技术为代表的现代生物科学尤其是分子生物学检测技术的突飞猛进为保障国家农产品质量安全,提高人民生活质量提供了可靠的科技保障。文章主要概述了农产品质量安全和分子生物检测技术研究现状和发展趋势,并针对中国现状提出了建议。

关键词:农产品;质量安全;分子生物检测技术

中图分类号:S 85

文献标识码:A

Molecular Detection of the Quality and Safety of Agricultural Produces: Advances and Trends

CHEN Zhao-bo

(China Rural Technology Development Center, Beijing 10045, China)

Abstract: The quality of agricultural produces, as a key issue to human health and nutrition, has attracted worldwide major concerns. Advancements in modern agriculture and relevant technology has raised the standards of quality and safety control of agricultural produces. Among the methods of detection for the quality and safety of agricultural produces, various conventional ones show lower sensitivity, lower specificity, higher costs, and lower time — and labor — efficiency; yet methods based on molecular biological detection, as typified by polymerase chain reaction (PCR), molecular immunoassay, gene chips, and nucleic acid hybridization, etc., has undergone development at fast pace and thus provides dependable scientific foundation for guaranteeing the quality and safety of national agricultural produces and the living standards of the people. The present situations, together with the achievements and trends in connection with molecular detection are summarized in this paper.

Key words: agricultural products, quality, safety, molecular detection

收稿日期:2009-04-06

作者简介:陈兆波(1973-),男,山东临沂人,农学博士,副研究员,主要从事农业科技管理工作。

Email:chzhaobo@126.com

“国以民为本,民以食为天”,农产品是人类赖以生存和发展的物质基础,农产品质量安全不仅关系到人体健康,更是关系国计民生的重大问题。由于农产品的特殊性,使得农业成为永远的“朝阳产业”。国家科技部、农业部等部门对农产品质量安全也积极支持和大力推动,“十一五”期间,农业部确定了主要鲜活农产品质量合格率要达到96%以上的目标,并重点在农产品质量安全风险评估体系、农业标准体系、检验检测体系等7个方面的能力建设来夯实农产品质量安全工作的基础,从源头上为食品安全提供可靠的保障。

从技术层面来说,农产品质量检测手段和技术成为监控和保障农产品质量安全的关键因素。现代农业中影响农产品安全性的化学危害因子(农药、兽药、重金属等)和生物危害因子(微生物、寄生虫、生物毒素等)成为农产品质量安全最大的威胁,其检测与监控也已成为农产品加工和使用过程中世界关注的问题,对于此类检测,由于检测对象种类多、结构组成复杂、痕量、动态、浓度波动范围大,而且样品基质复杂,干扰多等影响因素存在,使得快速检测技术研究具有复杂性,另一方面,农产品的成分分析、新产品的开发、农产品的全程质量控制、食品安全全程控制体系(GMP、ISO9000、HAC-CP)等方面对农产品分子生物检测手段提出更多、更高的要求。传统化学等检测方法已经不能满足现代农产品质量安全控制发展的要求,而分离培养、形态观察、生理生化、选择培养基等检测病原菌的手段具有灵敏度低、特异性差、费时费力等明显缺点。近年来,随着生命、环境、新材料等科学的发展,以及生物学、信息学、计算机技术的引入,分子生物检测技术在农产品质量安全方面逐渐地得以应用,分子生物检测技术作为保障农产品质量安全的重要现代技术支撑,在农产品生产、流通全过程控制和监管以及进出口贸易中发挥着越来越重要的作用,其研究和发展备受全世界关注和重视。

1 农产品质量安全问题的现状

1.1 动物性农产品的药物残留过量

农业部第193号公告发布的食品动物禁用的兽药及其它化合物清单共有21类,包括兴奋剂类、性激素类、蛋白同化激素、精神药品、汞制剂类和各种抗生素滤渣等。2006年全国饲料产品中违禁药物检出率为1.45%,禽饲料违禁药物检出率为2.09%,鱼饲料违禁药物检出率为5.92%,这导致我国相当量的肉禽蛋奶等产品含有过量激素而难

以彻底去除^[1-2],并通过人类的食物链在体内不断蓄积,从而对人体健康产生危害。近几年,瘦肉精、红心蛋、福寿螺、大闸蟹、桂花鱼、多宝鱼、禽流感、口蹄疫等畜产品质量安全事件相继发生,动物性农产品质量安全问题已经成为社会广泛关注的一件大事,提高畜产品质量安全是一件系统工程。

1.2 农畜产品中残留的重金属离子超标

重金属是一类有毒的、难以降解并具有潜在危害性的环境污染物,具有隐蔽性、长期性和不可逆的特点,在农畜等产品中都有不同程度的残留。现已知至少20种左右的重金属有很大的毒性,它们通过食物链的生物放大作用进入人体,在人体内长期积累,能够导致各种“公害病”和癌症等,对人类健康构成严重威胁^[3]。

1.3 真菌毒素对农产品的污染

真菌毒素(Mycotoxin)是一类由真菌产生的毒性二次代谢产物,毒性很高。广泛污染农作物、食品及饲料等植物源性产品。目前已知的真菌毒素有200多种,按其主要产毒菌种可分为曲霉毒素(如黄曲霉毒素、棕曲霉毒素等)、青霉菌毒素(如展青霉素、桔青霉素等)、镰刀菌毒素(如脱氧雪腐镰刀菌烯醇、玉米赤霉烯酮等)及其它类(如孢子毒等)。真菌毒素可通过污染谷物和被真菌毒素污染了的饲料喂饲的动物性食物(如牛奶、肉和蛋)进入食物链。真菌毒素的化学、生物学和毒理学性质多种多样,其共同毒性主要是致DNA损伤和细胞毒性两个方面^[4-5]。许多真菌毒素(黄曲霉毒素、棕曲霉毒素、伏马霉毒素、玉米烯酮)在较低水平上的慢性毒性一般要比其急性毒性更为引人注目,这是因为有些真菌毒素具有确定的潜在致癌性,并且对他们的暴露是很广泛的,由于完全去除食品中的真菌毒素是不可能的,因此,控制其在一个不对健康构成威胁的水平就十分重要。

1.4 植物性农产品的农药、化肥污染严重

目前,化肥、农药用量有不断加大趋势,不少农户在生产农产品时往往只考虑经济效益,违规使用禁用的高毒、高残留农药和化肥,且不注意安全间隔期和最高限制标准,使农产品中农药、化肥残留,成为威胁人体健康的一大隐患^[6-7]。农药残留分析是应用现代分析技术对残存于各种介质中微量、痕量及超痕量水平的农药进行定性、定量测定。农药残留分析有以下几个特点:(1)农残分析的样品浓度很低;(2)样品所包含的农药品种通常未知,由于农药种类繁多,给分析造成了复杂性;(3)随着农药品种不断增加,对农药残留的分析提出了更高的技

术要求^[8]。

1.5 农产品加工过程中有毒细菌的污染和配料的超量、违规添加

由于粮食、油料、水果、蔬菜,还是畜禽、水产品等农产品加工的粗放,加工过程中设备、工艺操作和管理不合标准等问题比较突出。国际上许多国家要求农产品加工业采用国际统一标准或较高的国家(地区)标准进行生产和经营,HACCP体系和ISO9000体系的建立显得尤为重要。农产品加工过程中极易带进有毒细菌等而产生新的污染,同时在生产制作、加工处理的环节中超量、违规地使用食品的色素、防腐剂等成分,如用甲醛、工业级磷酸钙盐,甚至“吊白块”冒充面粉增白剂等,为农产品的安全性埋下隐患,如的奶粉中违规添加三聚氰胺造成的严重后果更是引起了全社会的广泛关注。农产品加工过程中涉及的质量和安全问题也至关重要。

1.6 转基因农产品的安全问题

转基因是利用现代分子生物学技术将有利于人类的外源基因转入受体生物体内,改变其遗传组成,使其在性状、营养品质、消费品质等方面向人们所需要的目标转变。转基因农业是转基因技术在农业科研以及农产品种植养殖过程中的应用,通过转基因技术生产的农产品已经大量进入市场,制成的食品已经进入人们的餐桌。然而到目前为止,在转基因操作中对外源基因的插入位点尚无法准确控制^[9],对外源基因与植物基因组之间可能存在的各种复杂的相互作用以及由此产生的各种非预期效应也了解甚少。虽然通过对外源基因特性的分析可以在一定程度上对转基因植物可能产生的代谢特性等方面的变化进行预测,但是对于转基因操作中外源基因插入位点的不确定性等因素引起的非预期效应却难以准确预测^[10]。这些非预期效应可以引起植物的营养成分和代谢产物的含量发生变化,甚至可能使转基因植物产生一些新的毒性物质,因此转基因植物中外源基因的非预期效应是引起转基因植物食品安全性问题的主要原因之一。

2 分子生物检测技术在农产品质量安全中的应用现状与趋势

2.1 农产品残留药物的分子生物检测技术

农药残留快速检测技术主要包括化学检测技术、酶抑制技术和免疫技术。化学快速检测技术化学快速检测技术的研究主要用于有机磷的检测,该方法局限于果蔬中的有机磷,灵敏度低。酶联免疫

技术、PCR技术、基因差异显示技术、生物传感器、基因探针、生物芯片等分子生物检测技术,已成为国内外研究的热点之一。其中酶联免疫技术(ELISA)、PCR技术的研究和应用发展最为迅猛,也称为农药残留快速检测技术的主流方法,具有灵敏度高、特异性好,是除质谱方法外特异性最好的方法^[11]。ELISA是将分子免疫技术与现代测试手段相结合而建立的一种微量的测定技术,其核心技术是抗原抗体的特异性反应。此技术特异性强,灵敏度高,因而被广泛应用于检测污染物的残留中,其中以测定农药残留表现最为活跃^[12-14]。近年来在此基础上又衍生出了多种方法,如斑点酶联免疫吸附试验(dot-ELISA)^[15]、亲和素生物素系统ELISA(ABC-ELISA)^[1]、双夹心酶联免疫吸附试验(DS-ELISA)等,并在农产品加工中得到了应用。有些发达国家如美国、德国已开发出商品检测试剂盒,应用于食品、蔬菜和环境中的农药残留的检测分析^[17]。PCR技术的产生是整个分子生物学领域的一次重大革命,发展极快,已衍生出一系列相关的生物技术,在2.3中有叙述。

2.2 农畜产品中残留重金属离子的分子生物检测技术

目前常用的重金属检测方法为石墨炉原子吸收光谱法、ICP-AES、X射线荧光光谱法等,这些检测方法能精确测量样品中单种金属的总量,但存在耗时、样品预处理繁琐,且这些检测方法不能提供重金属的氧化状态或者演变信息^[18],导致在随后进行的重金属污染程度和风险的评估工作存在较大的不确定性。国外研究较多的是酶抑制检测技术和免疫学检测技术,但这些技术仍处于研究阶段,还没有经过认证的快速检测方法。在重金属残留快速检测方法中,化学、酶等传感器及免疫分析技术研究最多,重金属酶抑制法主要包括脲酶抑制法测定土壤和水中的汞以及基于此技术发展的生物传感器技术,但是这些技术主要用于饮用水中汞的测定;免疫学检测技术已经成功用于水中的镉(Ⅲ)、汞(Ⅱ)、镉(Ⅱ)、铅(Ⅱ)和铀(VI)等的检测。当前开发的重金属残留快速检测产品大部分为便携式或在线检测设备,主要集中在环境如水样和液体样本的快速检测,用于农产品等固体样品中重金属的快速高效提取方法仍有待进一步研究^[11]。

2.3 农产品真菌毒素的分子生物检测技术

传统的真菌检测方法大都需要经过前增菌、增菌、选择性平板分离、生物化学试验和血清学定型鉴定4个步骤,检测周期长,工作量大,成本较高,

且由于主观判断的影响,检测准确性不高,灵敏度也相对较低。真菌毒素的分子生物检测技术主要有免疫学方法和以核酸为基础的分子生物学方法两类,前者包括 ELISA、免疫荧光法、同位素标记抗体法、乳胶凝集法、免疫传感器法、免疫扩散法及免疫色谱法等,后者主要有核酸探针法和聚合 PCR 法。食品样品中真菌数量往往很少,不能直接利用于核酸探针法来检测,此时聚合 PCR 法更具优势。

聚合酶链式反应(PCR)又称无细菌克隆技术(Bacteria Free Cloning Technique),是一种根据生物体内 DNA 复制的某些特点而设计的在体外对特定 DNA 序列进行快速扩增的技术^[19]。它具有快速、简便、灵敏度高的特点,能够弥补 DNA 分子直接杂交技术的不足。陈长卿等(2005)^[20]根据大豆疫霉 ITS 保守序列设计特异性引物,建立了 PCR 检测体系,为我国大豆疫霉的检验检疫提供了可行的技术方法。PCR 技术的产生是整个分子生物学领域的一次重大革命,发展极快,已衍生出一系列相关的生物技术。实时 PCR 技术^[21-22]、电化学发光——聚合酶链式反应(ECL-PCR)技术^[23-24]、免疫 PCR 技术(Immuno Polymerase Chain Reaction)^[25-26]、依赖核酸序列的扩增(Nucleic Acid Sequence-Based Amplification, NASBA)技术^[27]。随着分子生物学和其他相关学科的技术进步,研究人员将分子生物学技术、免疫学技术以及一些物理科学综合应用,将免疫 PCR 技术进行了拓展,研究的 PCR 技术也逐渐丰富和深入,新的检测技术方法不断出现和发展。目前主要的研究方法主要包括 PCR-基因扫描^[28]、等位基因特异性扩增(AAllele-Specific PCR)技术^[29]、套式引物 PCR 技术^[30]、竞争 PCR(C-PCR)技术^[31]、反转录 PCR(RT-PCR)技术^[32]等。

2.4 转基因农产品的分子生物检测技术

转基因产品的检测方法要求快速、准确、灵敏,适应样品量大、目标基因种类繁多等特点。一些转基因产品经过深加工、各种条件处理与保存后,转基因成分部分或完全降解,所以检测难度很大。目前转基因检测方法主要有两种,即检测是否有外源蛋白质(基因表达的产物)和是否有外源基因 DNA,前者包括 Western 杂交、酶联免疫吸附法(ELISA)和侧流(Lateral flow)法,后者包括聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction, PCR)、Southern 杂交法以及基因芯片法^[33]。

随着人类基因组计划(Human Genome Project)即全部核苷酸测序的即将完成,人类基因组研

究的重心逐渐进入后基因组时代(Postgenome Era),向基因的功能及基因的多样性倾斜^[34]。基因芯片的工作原理与经典的核酸分子杂交方法(Southern、Northern)是一致的,基因芯片从最初的 DNA 生物传感器演变而来,它将大量核酸片段(寡聚核苷酸、cDNA、基因组 DNA)以预先设计的方式固定在玻片、硅片、聚丙烯酰胺凝胶、尼龙膜等载体上组成密集的点阵排列,通过靶分子与芯片上的探针分子的特异性结合,对芯片表面特征识别信号进行检测分析,从而判断样品中靶分子的性质和数量^[35]。该方法具有检测信息高通量和自动化程度高,一次性检测可检测出多个位点突变,具有很大的发展潜力。目前,转基因农产品检测技术主要以 PCR 技术为基础,检测外源基因序列 PCR 技术简单方便,灵敏度高,但无法实现转基因农产品高通量检测,基因芯片技术的发展为转基因农产品高通量检测提供了技术平台。

2.5 农产品加工过程有毒细菌和配料的分子生物检测技术

农产品加工过程有毒细菌的分子生物检测技术与农产品真菌毒素的分子检测技术相近。农产品加工的配料由于种类繁多,依其结构特征,相应的分子生物检测技术分别与残留药物、残留重金属离子、真菌毒素、残留农药、化肥的分子生物检测技术相近。

3 发展趋势与建议

3.1 发展趋势

近年来,关于农产品质量安全快速分子生物检测技术的研究日益活跃,特别是在食源性微生物、霉菌毒素以及农兽药的快速检测试剂盒和自动化检测系统方面得到了很大的发展。分子生物检测技术,尤其是快速分子生物检测技术,已得到世界范围内的广泛重视和研究,检测的手段和方法正向着多样化、检测速度越来越快、检测限越来越低、检测范围越来越广以及便携、高通量、具“类特异性”的方向发展。此外,分子生物检测方法还需要继续完善,使之标准化。随着分子生物学的不断发展和成熟,新技术层出不穷,综合交叉运用 PCR 技术、基因芯片技术、分子免疫技术等新的分子生物检测技术以进一步提高检测灵敏性、特异性,实现快速、便捷、低成本检测,将是今后相关研究的一个重要发展趋势。

虽然分子生物检测方法在农产品安全方面具有广阔的发展前景,但是目前也存在着诸多的局限

性。分子生物检测方法如酶抑制法、免疫分析法只能达到定性和半定量的水平,还无法取代常规气相色谱和高效液相色谱方法,例如,ELISA用于农药检测具有快速、灵敏的优越性,但是由于制备抗体困难、缺乏共同的试剂以及还不适用于多残留分析等缺点,因此ELISA只能是其它分析方法的补充,而并非是取代。

3.2 建议

21世纪的农业正面临着重大的变革,并呈现出两个重要的趋势:一是增强农产品的营养保健性,二是提高农产品的安全性。农产品安全,从广义上讲,一是要有数量的安全,即要有充足食品供应,解决人类的贫穷、饥饿,保证人人有饭吃;二是要有农产品质量方面的安全性和营养两个方面。狭义上的农产品安全,则是指农产品应当无毒无害,不对人体造成任何危害。目前,我国人民的温饱问题已基本解决,农产品的质量安全问题已经成为人们关注的焦点,也成为我国农业加工发展水平的标志,因此,只有尽快建立快速、准确的检测方法及其相关产品,才能有效保障农产品从生产到进入市场全过程安全,保障人类健康和减少贸易争端。对于分子生物检测技术我们可以从如下几方面促进和提高该方向的发展:

1)加大投入,强化管理 分子生物检测技术在美国和欧洲早已投入大量的人力和物力开展相关研究,在美国已经有为数众多的检测产品得到了美国农业部(USDA)、美国环保总署(EPA)、美国食药局(FDA)的认证,或被美国官方分析化学家协会(AOAC)等国际组织所采纳作为官方的快速检测方法。我国在这方面虽然起步较晚,但也取得了诸多

成绩,国家“863计划”现代农业技术领域开展了基于靶标发现和分子识别的农产品质量安全检测前沿技术研究,在动植物检疫性疫病、化学农药、禁用兽药等分子生物检测方面取得了重要进展和阶段性成果,形成了一批具有自主知识产权的技术产品。但从我国农产品加工状况和水平来说,该方面的研究,尤其是应用性技术研究和产品开发仍旧需要大大推动,国家给予重点支持,并从政府层面推动其应用,尽快形成我国农产品分子生物检测技术控制技术的体系和稳定发展局面。

2)合理规划,重点突破 分子生物检测技术涉及范围广,技术体系较为复杂,可以首先选择大宗、日用必需的农产品分子生物检测技术开展研究,同时开展具有普遍适用性和紧迫性的重点分子生物检测技术研究,首先形成一批具有自主知识产权的农产品分子生物检测技术和产品。经过一定时期的发展也逐步形成我国具有自主研发能力的研发团队,全面开展农产品分子生物检测技术基础、应用和产品开发的研究,形成我国农产品分子生物检测技术控制体系建设和研发的可持续发展模式。

3)协作推进,逐步实施 强化研发和应用的协调统一,加强质检部门和科技研发部门之间的合作和沟通,努力形成应用要求研发,研发服务应用,形成相互推进、相互依赖的研发和应用模式,加快我国农产品分子生物检测技术发展的步伐,减少重复研发、脱离实际研发等现象,遵循合理规划和重点突破原则,逐步实施推进,逐步形成我国农产品分子生物检测控制体系,对我国农产品加工和市场提供有力支撑。

参考文献(References):

- [1] 沈建忠,何继红. 浅谈兽药残留分析技术研究进展[J]. 中国禽业导刊, 2004, 21(21): 15-16.
SHEN Jian-zhong, HE Ji-hong. Analysis development of animal medicine remainder[J]. *Guide to Chinese Poultry*, 2004, 21(21): 15-16. (in Chinese)
- [2] 甘宾宾,杨玉霞,唐健等. 动物性食品中抗生素和激素残留污染及检测[J]. 中国公共卫生, 2006, 22(8): 1014-1015.
GAN Bing-bing, YANG Yu-xia, TANG Jian, et al. Contamination and determination of antibiotic and hormone residues in animal foods [J]. *Chinese Journal of Public Health*, 2006, 22(8): 1014-1015. (in Chinese)
- [3] 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, 2006, 22(6): 877-881.
LIU Gong-liang, WANG Ju-fang, LI Zhi-yong. Advances in heavy metal ions immunoassay [J]. *Advances in heavy metal ions immunoassay*, 2006, 22(6): 877-881. (in Chinese)
- [4] 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 Hong-xin, MA Na. A review on rapid detection of pathogenic microbe in food[J]. *Food Research and Development*, 2005, 26(2): 127-130. (in Chinese)
- [5] 鲍蕾,梁成珠,刘学惠等. 出入境农产品中真菌毒素的污染、检测及控制[J]. 中国食品工业, 2005, (1): 60-61.
万方数据

- BAO Lei, LIANG Chen-zhu, LIU Xue-hui, et al. Testing & control of mycotoxins[J]. **Chinese Food Industry**, 2005, (1): 60-61. (in Chinese)
- [6] 王兴华, 曹彦波, 马隽等. 农产品品质与安全快速检测技术的进展 [J]. 现代科学仪器, 2006, 16(1): 121-123.
WANG Xing-hua, CAO Yan-bo, MA Jun, et al. New advances in fast detection techniques for quality and security control of farm produce [J]. **Modern Scientific Instruments**, 2006, 16(1): 121-123. (in Chinese)
- [7] 张鑫, 冯利青, 刘岩. 我国果蔬农药残留速测技术综述 [J]. 郑州轻工业学院学报: 自然科学版, 2005, 20(4): 19-22.
ZHANG Xin, FENG Li-qing, LIU Yan. On the determination technique of pesticide residue in fruits and vegetables in China [J]. **Journal of Zhengzhou Institute of Light Industry: Natural Science Edition**, 2005, 20(4): 19-22. (in Chinese)
- [8] 成云峰. 农药标准品研制及水中有机磷农药多残留检测方法的研究 [D]: [硕士学位论文]. 上海: 上海交通大学, 2008.
- [9] Nolan J P, Mandy F F. Suspension array technology: new tools for gene and protein analysis [J]. **Cellular and Molecular Biology**, 2001, 47(7): 1241-1256.
- [10] Johnson S C, Marshall D J, Harms G, et al. Multiplexed genetic analysis using an extended genetic alphabet [J]. **Clinical Chemistry**, 2004, 50: 2019-2027.
- [11] 王静, 金芬, 邵华, 等. 国外农产品质量安全快速检测技术发展 [J]. 农业质量标准, 2007, (5): 52-55.
WANG Jing, JIN Fen, SHAO Hua, et al. Progress in high-speed testing technique on quality and safety of agricultural products in other countries [J]. **Agricultural Quality & Standards**, 2007, (5): 52-55. (in Chinese)
- [12] Shan G, Stoutamire D, Wengatz I, et al. Development of an immunoassay for the pyrethroid insecticide esfenvalerate [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1999, 47(5): 2145-2155.
- [13] Lee H J, Shan G, Watanabe T, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for the pyrethroid deltamethrin [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2002, 50: 5526-5532.
- [14] 周培, 陆贻通. 农药残留的酶联免疫检测技术研究进展 [J]. 环境污染与防治, 2002, 24(4): 248-251.
ZHOU Pei, LU Yi-tong. Study progress on determination of pesticide residue by ELISA [J]. **Environmental Pollution & Control**, 2002, 24(4): 248-251. (in Chinese)
- [15] 周宏琛, 闫秋成, 田晓林等. 动物源性食品安全快速检测及酶联免疫吸附方法的应用 [J]. 肉类研究, 2006, 3: 29-32.
ZHOU Hong-chen, YAN Qiu-cheng, TIAN Xiao-lin. Rapid determination of animal food safety and the application of ELISA [J]. **Meat Research**, 2006, 3: 29-32. (in Chinese)
- [16] 张晓春, 陆燕蓉. 生物素-亲和素技术的研究进展 [J]. 现代预防医学, 2001, 28(4): 485-486.
ZHANG Xiao-chun, LU Yan-rong. Progress on biotin-avidin complex technology [J]. **Modern Preventive Medicine**, 2001, 28(4): 485-486. (in Chinese)
- [17] Lee H J, Shan G, Ahn K, et al. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the pyrethroid cypermethrin [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2004, 52: 1039-1043.
- [18] Blake D A, Jones R M, Blake II R C, et al. Antibody-based sensors for heavy metal ions [J]. **Biosensors & Bioelectronics**, 2001, 16: 799-809.
- [19] 陈长卿, 康振生, 王晓杰等. 大豆疫霉的分子检测 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2005, 33(8): 73-77.
CHEN Chang-qing, KANG Zhen-sheng, WANG Xiao-jie. Molecular detection of phytophthora sojae [J]. **Journal of North-west Sci-Tech University of Agriculture and Forestry: Natural Science Edition**, 2005, 33(8): 73-77. (in Chinese)
- [20] 于莉, 熊国华, 刘志恒等. SYBR Green I 实时 PCR 鉴定检测转基因油菜 RT73 品系 [J]. 安徽农业科学, 2007, 35(10): 3010-3011.
YU Li, XIONG Guo-hua. Identification for genetically modified rape RT73 line with SYBR green I real time PCR [J]. **Journal of Anhui Agricultural Sciences**, 2007, 35(10): 3010-3011. (in Chinese)
- [21] Norman W, Reid S, Frederick D. Real-time PCR and its application for rapid plant disease diagnostics [J]. **Canadian Journal of Plant Pathology**, 2002, 24: 250-258.
- [22] 朱德斌, 邢达, 唐亚兵等. 电化学发光-聚合酶链式反应方法检测胰腺癌中 K-ras 基因点突变 [J]. 分析化学, 2007, 35(5): 751-753.
Zhu De-Bin, Xing Da, Tang Ya-Bing. Detection of K-ras point mutation in pancreatic cancer by electrochemiluminescence-polymerase chain reaction [J]. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, 2007, 35(5): 751-753. (in Chinese)
- [23] 朱德斌, 邢达. 高灵敏度电化学发光 PCR 方法检测基因点突变研究 [J]. 激光生物学报, 2007, 16(2): 234-237.
ZHU De-bin, XING Da. Study on the highly sensitive ECL-PCR method for point mutation detection [J]. **Acta Laser Biology Sinica**, 2007, 16(2): 234-237. (in Chinese)
- [24] Sano T, Smith C L, Cantor C R. Immunoprecipitation-PCR very sensitive antigen detection by means of specific antibody-DNA conjugate

- gates[J]. *Science*, 1992, 258(5079): 120-122.
- [25] Case M, Major G N, Bassendine M F, et al. The universality of immuno-PCR for ultrasensitive antigen detection[J]. *Biochemical Society Transactions*, 1997, 25(2): 374.
- [26] Cao Y, Kopplov K, Liu GY. In-situ immuno-PCR to detect antigens [J]. *The Lancet*, 2000, 356(9234): 1002-1003.
- [27] Zhang H T, Kacharina J E, Miyashiro K, et al. Protein quantification from complex protein mixtures using a proteomics methodology with single cell resolution[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 2001, 98(10): 5497-5502.
- [28] Sabine V, Josef S. Genetically modified organisms in food-screening and specific detection by polymerase chain reaction [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47: 5038-5043.
- [29] Xu R, Ogino S, Lip V, et al. Comparison of PCR-RFLP with allele-specific PCR in genetic testing for spinal muscular atrophy[J]. *Genetic Testing*, 2003, 7(4): 277-281.
- [30] Llop P, Bonaterra A, Pe alver J, et al. Development of a highly sensitive Nested-PCR procedure using a single closed tube for detection of *erwinia amylovora* in asymptomatic plant material [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(6): 2071-2078.
- [31] 侯文辉, 丁祖泉, 邢军等. 竞争 PCR 用于乙肝病毒 DNA 定量检测初探 [J]. 同济大学学报: 医学版, 2004, 25(6): 509-512.
- HOU Wen-hui, DING Zu-quan, XING Jun, et al. Detection of serum hepatitis B virus DNA by quantitative competitive polymerase chain reaction[J]. *Journal of Tongji University: Medical Science*, 2004, 25(6): 509-512. (in Chinese)
- [32] Menzel W, Jelkmann W, Maiss E. Detection of four apple viruses by multiplex RT-PCR assays with coamplification of plant mRNA as internal control [J]. *Journal of Virological Methods*, 2002, 99: 81-92.
- [33] 徐景升. 转基因农产品检测基因芯片研制 [D]. [博士学位论文]. 福建: 福建农林大学, 2004.
- [34] Cheung V G, Morley M, Aguilar F, et al. Making and reading microarrays[J]. *Nature Genetics (Supplement)*, 1999, 21: 15-19.
- [35] Marshall A, Hodgson J. DNA chips: An array of possibilities[J]. *Nature Biotechnology*, 1998, 16: 27-31.

(责任编辑: 杨萌)

《食品与生物技术学报》2009 年征稿征订启事

《食品与生物技术学报》(双月刊)是教育部主管、江南大学主办的有关食品科学与工程、生物技术与发酵工程及其相关研究的专业性学术期刊,为 CSCD 核心期刊、全国中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国期刊方阵双效期刊,目前被美国化学文摘(CA)等国内外 10 余家著名检索系统收录。主要刊发食品科学与工程,食品营养学,粮食、油脂及植物蛋白工程,制糖工程,农产品及水产品加工与贮藏,动物营养与饲料工程,微生物发酵,生物制药工程,环境生物技术等专业最新科研成果(新理论、新方法、新技术)的学术论文,以及反映学科前沿研究动态的高质量综述文章等,供相关领域的高等院校、科研院所、企事业单位的教学、科研等专业技术人员、专业管理人员以及有关院校师生阅读,热忱欢迎广大读者订阅。

《食品与生物技术学报》,双月刊,A4(大 16K)开本,144 页,全年 6 期,每册定价 15.00 元,全年定价 90 元。邮发代号:28-79,全国各地邮局均可订阅。

《食品与生物技术学报》编辑部