



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101949924 A

(43) 申请公布日 2011. 01. 19

(21) 申请号 201010295977. 2

(22) 申请日 2010. 09. 29

(71) 申请人 江南大学

地址 214122 江苏省无锡市滨湖区蠡湖大道  
1800 号江南大学食品学院

(72) 发明人 胥传来 林菲 许宙 陈莲君  
宋姗姗 刘丽强 王利兵

(74) 专利代理机构 无锡市大为专利商标事务所  
32104

代理人 时旭丹 刘品超

(51) Int. Cl.

G01N 33/558 (2006. 01)

G01N 21/31 (2006. 01)

G01N 33/531 (2006. 01)

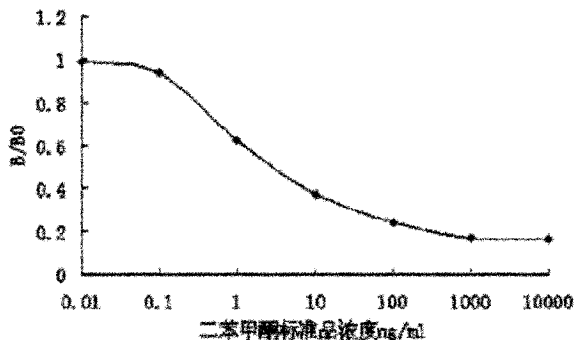
权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 1 页

(54) 发明名称

一种二苯甲酮的酶联免疫检测方法

(57) 摘要

一种二苯甲酮的酶联免疫检测方法,属于有毒化学品残留检测技术领域。本发明公开了利用合成的 4-氨基二苯甲酮与 BSA 偶联物免疫原免疫得到多克隆抗体,以 4-氨基二苯甲酮半抗原与 OVA 的偶联物作为包被抗原,以二苯甲酮为标准品,建立了包装材料中二苯甲酮的间接竞争酶联免疫检测方法。本发明为二苯甲酮在包装材料中的残留检测提供了快速高效的检测手段,由于采用的是多克隆抗体,费用较低并且稳定性和重复性较好。灵敏度为 0.5ppm,线性范围为 1-100ppm。免疫反应的高特异性和亲和性使 ELISA 具有极高的选择性和灵敏度。



1. 一种二苯甲酮的酶联免疫检测方法,其特征在于利用合成的 4-氨基二苯甲酮与 BSA 偶联物免疫原免疫得到多克隆抗体,以 4-氨基二苯甲酮半抗原与卵清蛋白 OVA 的偶联物作为包被抗原,以二苯甲酮为标准品,建立了包装材料纸中二苯甲酮的间接竞争酶联免疫检测方法;步骤如下:

(1)以 0.05M 的碳酸盐缓冲溶液稀释包被抗原 1:1000~1:64000,加入酶标板中,每孔加入 100  $\mu$  L,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,按照常规 ELISA 方法封闭洗涤;

(2)用 PBST 将二苯甲酮标准品稀释成 0.5、1、5、10、20、50ng/mL 系列浓度,将系列浓度之一的二苯甲酮标准品或待测样品加入酶标板中,每孔加 50  $\mu$  L;同时加入以抗体稀释液稀释 1:1000~1:4000 的多克隆抗体,每孔加 50  $\mu$  L,37 $^{\circ}$ C 孵育 1h 后以 PBST 洗涤 3~5 次;

(3)以抗体稀释液将辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 GAR-HRP 稀释为 1:3000,每孔加 100  $\mu$  L,37 $^{\circ}$ C 孵育 1h 后以 PBST 洗涤 3~5 次;

(4)配置显色液

A 液:0.933 g 柠檬酸,3.68 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ,18  $\mu$  L 30% $\text{H}_2\text{O}_2$  用超纯水定容至 100 mL;

B 液:60 mg 3,3',5,5'-四甲基联苯胺 TMB 溶于 100 mL 乙二醇中;

使用前将 A 液与 B 液以 5:1 体积混合;

(5)每孔加入显色液 100  $\mu$  L,37 $^{\circ}$ C 显色 15min;每孔加入终止液 2M 硫酸溶液 100  $\mu$  L;酶标仪 450nm 测吸光值 OD。

2. 根据权利要求 1 所述的二苯甲酮的酶联免疫检测方法,其特征在于包装材料纸中待测样品的提取方法为:

(1)取阴性样本-白纸为代表性样品,将其剪碎至 5mm $\times$ 5mm 大小,混匀,分别称取 1.0g 试样置于 100mL 具塞锥形瓶中,然后将一定浓度的二苯甲酮标准品的甲醇溶液加入其中,使二苯甲酮在纸试样体系中的终浓度分别为 10ng/mL、50ng/mL、100ng/mL,室温静置 15 min;

(2)在上述锥形瓶中继续加入 20mL 四氢呋喃,于超声波发生器中提取 20min,将提取液滤出,残渣再用 10mL 四氢呋喃超声提取 5min,再将提取液滤出,将两次滤液合并;

(3)将滤液在 40 $^{\circ}$ C 水浴旋转蒸发器中浓缩至近干,用甲醇溶解并定容至 1mL,然后用氮气吹干,以含 10% - 20% 甲醇的 PBS 溶解,即为待测样品,用于 ELISA 检测。

3. 根据权利要求 2 所述二苯甲酮的酶联免疫检测方法,其特征在于抗原抗体反应的 pH 值必须在中性或弱碱性的条件下进行。

## 一种二苯甲酮的酶联免疫检测方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及二苯甲酮残留检测方法,更具体的说是用酶联免疫吸附方法(ELISA)检测包装材料纸中的二苯甲酮的残留,属于有毒化学品残留检测方法技术领域。

### 背景技术

[0002] 二苯甲酮主要用于塑料等作为光稳定剂,能有效保护食品塑料包装以及有机玻璃等因光照变质,也是紫外线吸收剂、有机颜料、医药、香料、杀虫剂的中间体。由于二苯甲酮具有挥发性,在不具功能性阻碍的情况下会从食品包装迁移到食品中。经研究发现二苯甲酮会严重损害动物的肝肾组织,并会慢性致癌以及生殖毒性。欧盟食品安全局制定了含二苯甲酮及4-氨基二苯甲酮的印刷油墨食品包装的最大迁移限量,规定食品包装印刷油墨材料内的二苯甲酮迁移极限值须低于每公斤0.6毫克。目前,国内外有关二苯甲酮及4-氨基二苯甲酮的检测主要有高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱法(GC)、气-质联用法(GC-MS)、液-质联用法(LC-MS)等,但这些方法不仅需要昂贵的仪器设备,专业的操作人员,对检材的要求也比较高,并且需要进一步的样本前处理才能进行,这已经不能达到现代检测对快速、方便、准确的要求。目前尚未见国内外有二苯甲酮残留的酶联免疫检测的报道。

### 发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供一种快速检测包装材料中二苯甲酮残留的免疫学检测方法,使样品无需经过繁琐的提纯或浓缩步骤,并且保证较高的敏感性和特异性。

[0004] 本发明的技术方案如下:利用胥传来、许宙、林菲、陈莲君等“一种4-氨基二苯甲酮人工抗原的制备方法”,中国专利申请号201010182488.6,以4-氨基二苯甲酮为半抗原,此半抗原与BSA偶联物作为免疫原免疫健康新西兰大白兔得到多克隆抗体,此半抗原与OVA的偶联物作为包被抗原,建立了包装材料纸中二苯甲酮的间接竞争酶联免疫检测方法。

[0005] 一种二苯甲酮的酶联免疫检测方法,利用合成的4-氨基二苯甲酮与BSA偶联物免疫原免疫得到多克隆抗体,以4-氨基二苯甲酮半抗原与卵清蛋白OVA的偶联物作为包被抗原,以二苯甲酮为标准品,建立了包装材料纸中二苯甲酮的间接竞争酶联免疫检测方法;步骤如下:

(1)以0.05M的碳酸盐缓冲溶液稀释包被抗原1:1000~1:64000,加入酶标板中,每孔加入100 $\mu$ L,4 $^{\circ}$ C孵育过夜,按照常规ELISA方法封闭洗涤;

(2)用PBST将二苯甲酮标准品稀释成0.5、1、5、10、20、50ng/mL系列浓度,将系列浓度之一的二苯甲酮标准品或待测样品加入酶标板中,每孔加50 $\mu$ L;同时加入以抗体稀释液稀释1:1000~1:4000的多克隆抗体,每孔加50 $\mu$ L,37 $^{\circ}$ C孵育1h后以PBST洗涤3~5次;

(3)以抗体稀释液将辣根过氧化物酶标记的羊抗兔GAR-HRP稀释为1:3000,每孔加100 $\mu$ L,37 $^{\circ}$ C孵育1h后以PBST洗涤3~5次;

(4)配置显色液

A 液 :0.933 g 柠檬酸,3.68 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ,18  $\mu\text{L}$  30% $\text{H}_2\text{O}_2$  用超纯水定容至 100 mL ;

B 液 :60 mg 3,3',5,5'-四甲基联苯胺 TMB 溶于 100 mL 乙二醇中 ;

使用前将 A 液与 B 液以 5:1 体积混合 ;

(5) 每孔加入显色液 100  $\mu\text{L}$ ,37 $^\circ\text{C}$  显色 15min ;每孔加入终止液 2M 硫酸溶液 100  $\mu\text{L}$  ;酶标仪 450nm 测吸光值 OD。

[0006] 所述的二苯甲酮的酶联免疫检测方法,包装材料纸中待测样品的提取方法为 :

(1) 取阴性样本 - 白纸为代表性样品,将其剪碎至 5mm $\times$ 5mm 大小,混匀,分别称取 1.0g 试样置于 100mL 具塞锥形瓶中,然后将一定浓度的二苯甲酮标准品的甲醇溶液加入其中,使二苯甲酮在纸试样体系中的终浓度分别为 10ng/mL、50ng/mL、100ng/mL,室温静置 15 min ;

(2) 在上述锥形瓶中继续加入 20mL 四氢呋喃,于超声波发生器中提取 20min,将提取液滤出,残渣再用 10mL 四氢呋喃超声提取 5min,再将提取液滤出,将两次滤液合并 ;

(3) 将滤液在 40 $^\circ\text{C}$  水浴旋转蒸发器中浓缩至近干,用甲醇溶解并定容至 1mL,然后用氮气吹干,以含 10% - 20% 甲醇的 PBS 溶解,即为待测样品,用于 ELISA 检测。

[0007] 所述二苯甲酮的酶联免疫检测方法,抗原抗体反应的 pH 值必须在中性或弱碱性的条件下进行。

[0008] 更详细的步骤为 :

主要溶液配制

1) 配制 0.01M 磷酸盐 (PBS) 缓冲液 :

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	3.62 g
$\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.2 g
NaCl	0.2g
KCl	8.0g

加超纯水稀释至 1000 mL。

[0009] 2) 配制 pH9.6、0.05M 碳酸盐 (CBS) 缓冲溶液 :

$\text{Na}_2\text{CO}_3$	1.59g
$\text{NaHCO}_3$	2.93g

加超纯水稀释至 1000 mL。

[0010] 3) 配制 PBST 溶液 :含 0.05% Tween - 20 的 PBS 溶液。

[0011] 4) 配制封闭液 :含 0.1% 明胶的 0.05M 碳酸盐缓冲溶液 (即包被缓冲液)。

[0012] 5) 配制抗体稀释液 :含 0.1% 明胶的 PBST 溶液。

[0013] 6) 显色液 :

A 液 :0.933 g 柠檬酸,3.68 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ,18  $\mu\text{L}$  30% $\text{H}_2\text{O}_2$  用超纯水定容至 100 mL。

[0014] B 液 :60 mg 3,3',5,5'-四甲基联苯胺 (TMB) 溶于 100 mL 乙二醇中。

[0015] 使用前将 A 液与 B 液以 5:1 体积混合。

[0016] 7) 终止液 :2M 的  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 。

[0017] 间接竞争 ELISA 实验方法的步骤如下 :

预先将二苯甲酮标准品配制成 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的甲醇溶液作为工作母液,在 4 $^\circ\text{C}$  保存待用。配制 PBST 溶液 (0.01mol/L,含 0.05%Tween-20),以此为基础配制系列反应液,用以稀

释竞争物标准液和抗血清。

- [0018] a、包被：用设定浓度的包被原包被酶联反应板，100  $\mu$  L / 孔，4 $^{\circ}$ C 过夜。
- [0019] b、洗涤：用 PBST 洗涤反应板三次，每次 3min，200  $\mu$  L/ 孔，然后甩干反应板。
- [0020] c、封闭：含 0.1% 明胶的 CBS，200  $\mu$  L/ 孔，37 $^{\circ}$ C 封闭 2h。
- [0021] d、洗涤：同 b。
- [0022] e、竞争：用 PBST 将二苯甲酮母液稀释成 0.5、1、2.5、5、10、50ng/mL 系列浓度，另设一个 PBST 空白对照，50  $\mu$  L/ 孔。然后每孔加入 50  $\mu$  L 稀释 1000-4000 倍的抗血清，于 37 $^{\circ}$ C 温育 1h。
- [0023] f、洗涤：同 b。
- [0024] g、加酶标二抗（羊抗兔 HRP-IgG，1:3000），100  $\mu$  L/ 孔，37 $^{\circ}$ C 反应 1h。
- [0025] h、洗涤：同 b。
- [0026] i、显色：加底物 TMB 100  $\mu$  L/ 孔，37 $^{\circ}$ C 显色 15min。
- [0027] j、终止：加终止液 2M 的  $H_2SO_4$  100  $\mu$  L/ 孔。
- [0028] k、测定：用酶标仪检测  $OD_{450nm}$ 。

[0029] 取阴性样本（白纸）为代表性样品，将其剪碎至 5mm $\times$ 5mm 大小，混匀。分别称取 1.0g 试样置于 100mL 具塞锥形瓶中，然后将一定浓度的二苯甲酮标准品的甲醇溶液加入其中，使二苯甲酮在纸试样体系中的终浓度分别为 10ng/mL、50ng/mL、100ng/mL，室温静置 15 min。在锥形瓶中加入 20mL 四氢呋喃，于超声波发生器中提取 20min，将提取液滤出。残渣再用 10mL 四氢呋喃超声提取 5min，再将提取液滤出，将两次滤液合并。将滤液在 40 $^{\circ}$ C 水浴旋转蒸发器中浓缩至近干，用甲醇溶解并定容至 1mL，然后用氮气吹干，以含 10%—20% 甲醇的 PBS 溶解，即为待测样品，用于 ELISA 检测。

[0030] 本发明的有益效果：本发明建立了包装材料中二苯甲酮的间接 ELISA 方法，为包装材料中二苯甲酮残留检测提供了快速高效的检测手段，由于采用的是多克隆抗体，费用较低并且稳定性和重复性较好。灵敏度为 0.5ppb，线性范围为 1 ~ 100ppb，半数抑制量 ( $IC_{50}$ ) 为 14.5ng/mL，回收率为 90.9%，与其他苯酮类几乎无交叉反应。免疫反应的高特异性和高亲和性使 ELISA 具有极高的选择性和灵敏性，样本前处理过程简单。

## 附图说明

[0031] 图 1 二苯甲酮的标准曲线。

## 具体实施方式

[0032] 以下通过实施例进一步说明本发明。

[0033] 一、仪器：

TGL - 40B 台式低速离心机，上海安亭科学仪器厂

KFLOW 纯水机，凯佛隆公司

ZD - 9556 水平摇床，太仓科教器材厂

Costar96 孔 8 $\times$ 12 可拆酶标板，上海吉泰生物科技有限公司

MuLtiska Mks 酶标仪，Thermo Labsystems 公司

可调试移液器，Thermo Labsystems 公司

涡旋混合器,上海沪西仪器分析厂

## 二、试剂:

辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG (HRP - IgG),康成生物工程公司

四甲基联苯胺 (TMB),华美生物工程公司

其他试剂均为分析纯试剂

## 三、步骤

### 1、人工抗原的制备

A 液:取 0.1mmol 4-氨基二苯甲酮溶于 6mL N,N-二甲基甲酰胺,冰浴,加入 1mL 2mol/L HCl,再加 13mL 水,冰浴,滴加质量浓度 1%NaNO<sub>2</sub> 溶液,冰浴中持续搅拌,NaNO<sub>2</sub> 溶液的加入量用淀粉-碘化物试纸进行监控,试纸变成蓝黑色以后,4℃下搅拌孵育 15 分钟为 A 液;

B 液:牛血清白蛋白 BSA 0.002mmol 溶于 0.05 mol/L、pH 9.6 的碳酸盐 CBS 缓冲液中,为 B 液,4℃保存待用;

将 A 液逐滴加入 B 液中,调 pH 9.0 然后置 4℃下孵育半小时,室温反应 4 小时,即得 4-氨基二苯甲酮人工抗原混合液;

透析袋前处理:取 10cm 的透析袋,于沸水中煮沸 5min,再用 60℃的去离子水冲洗 3min,保存在 4℃去离子水中备用。

[0034] 将 4-氨基二苯甲酮人工抗原混合液移入透析袋中,用 2×2L 的 0.01M 的 PBS 溶液和 2×2L 的去离子水透析 3 天。最后使用冻干法将透析袋中的液体制成粉末,即得到 4-氨基二苯甲酮人工抗原。分装冻干保存于 -20℃冰箱中。

### [0035] 2. 抗血清的制备

1) 实验动物:选 3 只 2 月龄、体重为 1.5 - 2 kg 的健康新西兰大白兔为实验动物。

[0036] 2) 抗原配置:将免疫原用生理盐水稀释,配成 2 mg/mL 的溶液。

[0037] 3) 乳化:将上述溶液与等量完全或不完全福氏佐剂用混合搅拌法将其乳化,直至将一滴乳剂滴入水中,不散开漂在水面上为止。

[0038] 4) 免疫方法:初次免疫将乳化好的试剂于兔子背部多点注射,1 mL/只。初次免疫后的免疫称为加强免疫,加强免疫用福氏不完全佐剂乳化,加强免疫为肌肉注射,每两周加强免疫一次,剂量与初次免疫相同。

[0039] 5) 采血:4 次加强免疫后从耳缘静脉采血,采用间接非竞争酶联免疫法测定抗血清效价。待效价达到要求后,采用耳静脉放血与心脏放血相结合获得抗血清,收集于 50 mL 灭菌塑料离心管中。

[0040] 6) 抗体的纯化和保存:将抗血清 X mL 用等量的生理盐水稀释至 2X mL,然后在搅拌下逐滴加入与稀释后血清等量 (2X) 的饱和硫酸铵,4℃放置 3 小时使其充分沉淀。离心 (3000r/min) 20min,弃上清以生理盐水溶解沉淀至 X mL,再逐渐滴加饱和硫酸铵 X/2 mL。4℃放置 3 小时使其充分沉淀,重复上述第二步过程 1 次,将末次离心后所得沉淀物以 0.02mol/L PBS (pH 7.4) 溶解至 X mL,装入透析袋中 0.02mol/L PBS (pH 7.4) 充分透析,期间换液 3 次,透析完浓缩,分装放 -20℃冰箱保存备用。

### [0041] 3、ELISA 反应过程:

抗体效价测定步骤:

1) 将包被原用包被缓冲液作系列稀释包被 96 孔酶标板,100 μL/孔,于 4℃冰箱过

夜。次日取出酶标板回至室温,每孔注入 200  $\mu$ L PBST 溶液,摇床上振荡 3 min,用力甩掉洗涤液,在吸水纸上拍干,继续洗涤 2 次。以下洗涤方法相同。

[0042] 2) 充分洗涤后,用封闭缓冲液封闭酶标板,200  $\mu$ L/孔,于 37  $^{\circ}$ C 温育箱内温育 2 h 后取出烘干待用。

[0043] 3) 将阳性血清系列稀释对应加入到酶标板的前 7 行列,第 8 行加入阴性血清,100  $\mu$ L/孔,37  $^{\circ}$ C 孵育 1 h 后洗涤、拍干。

[0044] 4) 每孔加入 100  $\mu$ L,1:3000 稀释的 HRP 标记的羊抗兔 IgG,37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h 后洗涤、拍干。

[0045] 5) 每孔加入 100  $\mu$ L 显色液 (TMB 与底物液比例为 1:5),暗处 37  $^{\circ}$ C 反应 15 min,取出后每孔加入 100  $\mu$ L 终止液 (2 mol/L 的硫酸),用酶标仪测定吸光值  $A_{450}$ 。

[0046] 抗体特异性测定步骤:

a、包被:用设定浓度的包被原包被酶联反应板,100  $\mu$ L / 孔,4 $^{\circ}$ C 过夜。

[0047] b、洗涤:用 PBST 洗涤反应板三次,每次 3min,200  $\mu$ L / 孔,然后甩干反应板。

[0048] c、封闭:含 0.1% 明胶的 CBS,200  $\mu$ L/孔,37 $^{\circ}$ C 封闭 2h。

[0049] d、洗涤:同 b。

[0050] e、竞争:用 PBST 将二苯甲酮标准品稀释成 0.5,1,5,10,20,50ng/mL 系列浓度,另设一个 PBST 空白对照,50  $\mu$ L / 孔。然后每孔加入 50  $\mu$ L 稀释 4000 倍的抗血清,于 37 $^{\circ}$ C 温育 1h。

[0051] f、洗涤、同 b

g、加酶标二抗 (羊抗兔 HRP-IgG,1:3000),100  $\mu$ L/孔,37  $^{\circ}$ C 反应 1h。

[0052] h、洗涤:同 b

i、显色:加底物 TMB 100  $\mu$ L/孔,显色 15min。

[0053] j、终止:加终止液 100  $\mu$ L/孔。

[0054] k、测定:用酶标仪检测  $OD_{450nm}$ 。

[0055] 回收率及样品提取方法的确定

1) 取阴性样本(白纸)为代表性样品,将其剪碎至 5mm $\times$ 5mm 大小,混匀。分别称取 1.0g 试样置于 100mL 具塞锥形瓶中,然后将一定浓度的二苯甲酮标准品的甲醇溶液加入其中,使二苯甲酮在纸试样体系中的终浓度分别为 10ng/g、50ng/g、100ng/g,室温静置 15 min。

[0056] 2) 在锥形瓶中加入 20mL 四氢呋喃,于超声波发生器中提取 20min,将提取液滤出。残渣再用 10mL 四氢呋喃超声提取 5min,再将提取液滤出,将两次滤液合并。

[0057] 3) 将滤液在 40 $^{\circ}$ C 水浴旋转蒸发器中浓缩至近干,用甲醇溶解并定容至 1mL,然后用氮气吹干,以含 10% - 20% 甲醇的 PBS 溶解,即为待测样品。

[0058] 4) 移取 50  $\mu$ L 样品溶液,直接加样于微孔中,进行 ELISA 测定。

[0059] 5) 回收率的计算:根据不同添加浓度的样品 OD 值计算相应的抑制率,再根据相应的抑制率从标准曲线上查到各自的浓度。检测浓度与真实浓度之比为对应浓度的回收率。

[0060] 试验结果如下:

1、标准曲线:本实验所获得的抗原检测的线性范围是为 1 ~ 100ng/mL,具体请见说明书附图。

[0061] 2、灵敏度:灵敏度是所得 90% 最大吸光值所对应的标准品的浓度,即  $IC_{90}$  为 0.5ng/mL。

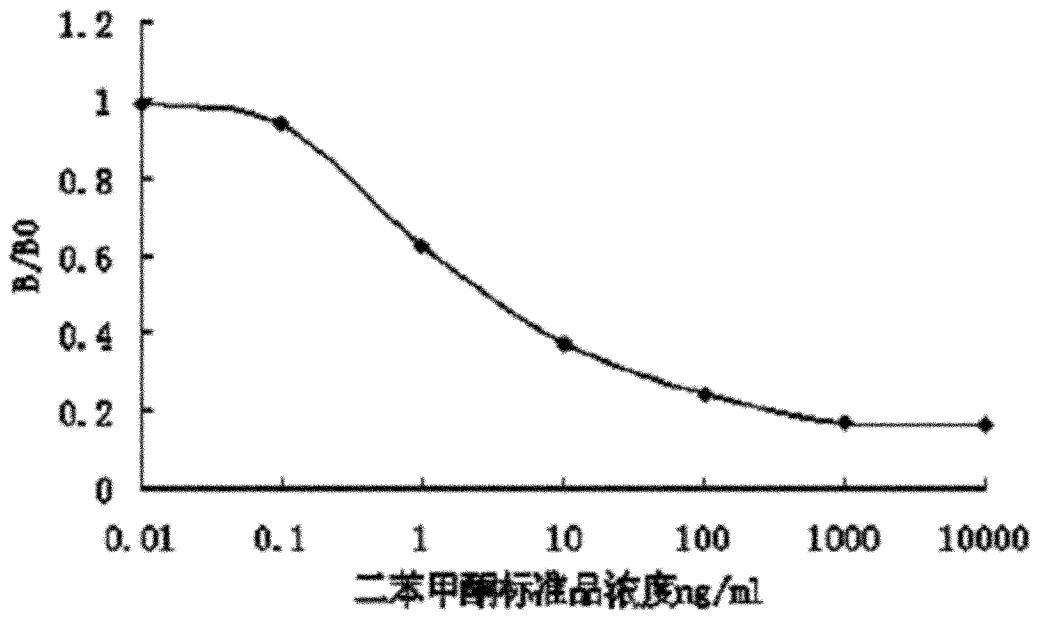


图 1

专利名称(译)	一种二苯甲酮的酶联免疫检测方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN101949924A</a>	公开(公告)日	2011-01-19
申请号	CN201010295977.2	申请日	2010-09-29
[标]申请(专利权)人(译)	江南大学		
申请(专利权)人(译)	江南大学		
当前申请(专利权)人(译)	江南大学		
[标]发明人	胥传来 林菲 许宙 陈莲君 宋姗姗 刘丽强 王利兵		
发明人	胥传来 林菲 许宙 陈莲君 宋姗姗 刘丽强 王利兵		
IPC分类号	G01N33/558 G01N21/31 G01N33/531		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

一种二苯甲酮的酶联免疫检测方法，属于有毒化学品残留检测技术领域。本发明公开了利用合成的4-氨基二苯甲酮与BSA偶联物免疫原免疫得到多克隆抗体，以4-氨基二苯甲酮半抗原与OVA的偶联物作为包被抗原，以二苯甲酮为标准品，建立了包装材料中二苯甲酮的间接竞争酶联免疫检测方法。本发明为二苯甲酮在包装材料中的残留检测提供了快速高效的检测手段，由于采用的是多克隆抗体，费用较低并且稳定性和重复性较好。灵敏度为0.5ppm，线性范围为1-100ppm。免疫反应的高特异性和亲和性使ELISA具有极高的选择性和灵敏度。

