

水产品中麻痹性贝类毒素的微流体免疫检测技术研究

赵涵¹ 孙帅¹ 董益阳^{1*} 王斌^{1,2} 刘佳慧¹ 刘锐萍³

(1. 北京化工大学 生命科学与技术学院, 北京 100029; 2. 北京化工大学 环渤海生物产业研究院, 河北 秦皇岛 066004; 3. 秦皇岛市食品药品检验中心, 河北 秦皇岛 066004)

摘要: 鉴于我国在贝类毒素检测方面相对薄弱的现状,将微流体免疫芯片技术和化学发光分析法相结合来检测贝类毒素,旨在探索一种快速、高效、低耗以及灵敏的检测手段以弥补方法缺陷。选择研究最为广泛的麻痹性贝类毒素—石房蛤毒素(STX)作为研究对象,利用基于酶联免疫反应(ELISA)为原理的石房蛤毒素检测试剂盒在微流体免疫芯片—化学发光检测平台进行实验,绘制出STX标准曲线并计算出检测限。首先在羧基聚苯乙烯微球表面包被抗体并进行定性分析,然后对底物流速和底物溶液的稀释倍数等进行优化,最后对市场上的贝类进行了实际样品的检测。通过绘制标准曲线得到STX的检测限为0.005675 ng/mL,而传统方法的检测限为5 ng/mL,表明应用微流体芯片技术可以大幅度提高食品安全检测的灵敏度。

关键词: 食品安全; 微流体免疫技术; 化学发光; 麻痹性贝类毒素

中图分类号: R446.62 **DOI:** 10.13543/j.bhxbzr.2018.01.008

引言

近年来,我国沿海大部分地域频发贝类毒素中毒事件,不仅带来十分严峻的食品安全问题,还给沿海地区的水产加工业带来严重损失。因此,贝类毒素的检验排查成为众多学者争相研究的热点问题。贝类毒素主要包括麻痹性贝类毒素(PSP)、腹泻性贝类毒素(DSP)、健忘性贝类毒素(ASP)以及神经性贝类毒素(NSP)4种^[1]。其中PSP是贝类毒素中毒性很强的一类,对人体的毒害极强^[2]。石房蛤毒素(STX)为PSP的代表性毒素,占PSP毒素总量的85%左右^[3-4]。联合国卫生组织规定每100 g贝类可食部分PSP限量为80 μg ^[5]。目前检测PSP的方法主要有小鼠生物法^[6]、高效液相色谱法(HPLC)^[7]和免疫学检测方法即酶联免疫吸附法(ELISA)^[8]。小鼠生物法操作简单,但是误差较大,重复性差;HPLC测定毒素成分和种类最为准确,然而样品纯度要求高,前处

理较繁琐且仪器昂贵;ELISA抗原-抗体检测法特异性高,但是检测时间较长,试剂消耗量也较大^[4]。因此,常用的传统方法已不能满足商品质量安全符合性检验的需求。近年来微流体技术的出现为麻痹性贝类毒素的检测提供了新的思路。微流体技术是指在微观尺寸下进行控制以及操作流体的技术,又称芯片实验室(lab on a chip),其应用涉及了生物大分子分析、生物医学诊断以及环境监测等方面,在化学和生命科学等领域引起了众多学者的重视^[9-11]。本文以STX为研究对象,将微流体芯片技术与免疫分析方法相结合,借助微流体芯片平台,采用非均相免疫分析^[12],以羧基聚苯乙烯高分子微球为固相载体,在微球表面连接抗体蛋白^[13]进行STX的免疫分析检测,探索了贝类毒素检测的新方法。

1 微流体免疫芯片—化学发光检测平台

整个微流体检测系统主要由微流体微型注射泵(PHD22/2000型,美国Harvard公司)、注射器(250 μL , 瑞士Hamiltro公司)、光电倍增管(PMT,R1924A-20,滨松电子)、玻璃芯片、三通阀、暗盒等设备通过直径为500 μm 的毛细管连接。其中注射器的尺寸需要和微型注射泵的设置一致,以保证实验过程中各流

收稿日期: 2017-07-18

基金项目: 河北省食品药品监督管理局科技项目(ZD2015008)

第一作者: 女,1993年生,硕士生

* 通讯联系人

E-mail: yydong@mail.buct.edu.cn

体的体积能够准确控制^[14-15]。本文采用的微流体芯片是尺寸为 $200\ \mu\text{m} \times 200\ \mu\text{m}$ 的方形芯片,芯片内的微管道呈树枝状结构,如图 1 所示。其中,a 端与一个三通阀相连,进行取样、进样等操作,三通阀用于控制流体方向;微球由 b 端导入,之后处于封闭状态;c 端是废液口,实验过程中的反应液及洗涤液均由此排出;d 处为微坝,其控制的流路缝隙为 $20\ \mu\text{m}$,由于所使用的微球粒径为 $45\ \mu\text{m}$,故羧基聚苯乙烯微球会被阻挡在微坝处进行反应;e 处连接了光电倍增管,对反应产生的光信号进行放大,光电倍增管连接电脑进行数据的读取^[16]。实验结束后,洗出微球,并对全流路进行清洗,然后根据得到的信号响应值进行定性定量分析。

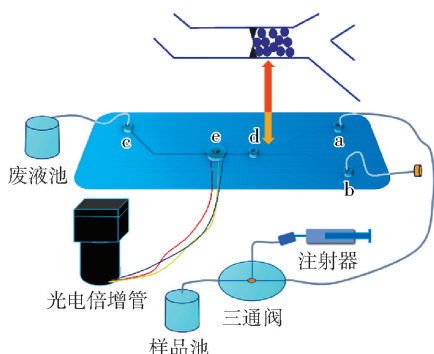


图 1 微流体装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the microfluidic device

本文微流体检测系统采用化学发光检测方法。鲁米诺在碱性环境中可被许多氧化剂氧化而发光,其中过氧化氢最为常用,但鲁米诺氧化发光的反应速度较慢,某些酶类或无机催化剂可以加速鲁米诺的化学反应速度,如辣根过氧化物酶(HRP)^[17]。辣根过氧化物酶首先与过氧化氢反应形成氧化态的 HRP(HRP-I),HRP-I 与鲁米诺阴离子反应生成半还原态的酶 HRP-II 和鲁米诺自由基。此半还原态的 HRP-II 可以继续被第二个鲁米诺分子还原至原状态。反应体系中鲁米诺吸收了反应中释放的能量而由基态跃迁至激发态,从激发态返回至基态时将能量以光辐射的方式释放出来,从而产生发光现象^[18]。

2 实验部分

2.1 材料与仪器

2-(N-吗啉基)乙磺酸(MES),N-羟基丁二酰亚胺(NHS),牛血清白蛋白(BSA),三羟甲基氨基甲烷(Tris),美国 Sigma-Aldrich 公司;Proclin 300,美国

Supelco 公司;1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDAC,99%),西亚试剂;鲁米诺(97%),美国 Sigma-Aldrich 公司;氢氧化钾(KOH),氯化钠(NaCl),磷酸二氢钾(KH_2PO_4),十二水合磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$),氯化钾(KCl),过氧化氢(30%),以上试剂均为分析纯,北京化工厂。吐温-20(Tween-20),化学纯,西陇化工股份有限公司。 $45\ \mu\text{m}$ 羧基聚苯乙烯羧基微球($1.45 \times 10^6\ \text{mL}^{-1}$),苏州纳微生物科技有限公司;麻痹性贝类毒素试剂盒,美国 Beacon 公司;羊抗兔 IgG 抗体($1.0\ \text{mg}$),上海斯信生物科技有限公司。

pH 计,PHS-3C 型,上海仪电科学仪器股份有限公司;电子天平,BT-25S 型,德国赛多利斯科学仪器公司;旋转培养器,QB-228 型,震荡器,VORTEX-6 型,海门市其林贝尔仪器制造公司;高速冷冻离心机,3K15 型,德国 Sigma 公司。

2.2 抗体包被聚苯乙烯微球

将微球溶液、反应缓冲液和洗涤液放置至室温($20\ ^\circ\text{C}$ 左右),量取 $172.4\ \mu\text{L}$ 微球溶液置于 $1.5\ \text{mL}$ 低蛋白吸附离心管中,将其放在离心机中离心 $10\ \text{min}$,离心机转速为 $4000\ \text{r/min}$,离心结束后除去上清液;然后向剩余的沉淀物中加入 $400\ \mu\text{L}$ 已配好的缓冲液,离心 $10\ \text{min}$ 并除去上清液;再次向沉淀物中加入 $170\ \mu\text{L}$ 的缓冲液,同时配制 $200\ \text{mg/mL}$ 的 EDAC 溶液,量取 $20\ \mu\text{L}$ EDAC 溶液于离心管中,在振荡器上震荡混匀 $15\ \text{min}$;然后向离心管中加入 $100\ \mu\text{L}$ 的 $2\ \text{mg/mL}$ 的羊抗兔 IgG 抗体(二抗抗体)溶液,震荡混匀,再将离心管放至旋转培养器,混匀反应 $1\ \text{h}$,结束后离心 $10\ \text{min}$ 并除去上清液;用 $400\ \mu\text{L}$ 洗涤液重悬微球,再次离心分离除去上清液,加入 $400\ \mu\text{L}$ 洗涤液将包被好的微球溶液放至 $-20\ ^\circ\text{C}$ 冰箱中保存备用。

对包被好的微球进行简单的定性分析,将空白羧基聚苯乙烯微球和共价连接了 IgG 抗体的微球在不加竞争抗原的情况下利用直接竞争酶联免疫的方法^[19-20]分别进行检测,采集 50 个数据点,对两者的信号强度进行对比。

2.3 底物流速的优化

将包被好抗体的微球导入至芯片中,并清洗多余微球;分别取 STX 抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记的 STX 抗原 $20\ \mu\text{L}$ 于离心管中混合 $20\ \text{min}$,从进样口导入至芯片中进行反应;从进样口导入相同体积的底物溶液,分别设置流速为 0.01 、 0.02 、

0.03、0.05、0.07、0.10 mL/min 进行测试,得到不同流速下的发光信号强度。

2.4 绘制标准曲线

将包被了羊抗兔 IgG 抗体的微球导入至芯片中,并清洗多余微球;分别取试剂盒中系列梯度浓度的标准品(分别为 0.02、0.04、0.08、0.16、0.32 ng/mL),HRP 标记的 STX 抗原和 STX 抗体 15 μ L 于离心管中混合 20 min,从进样口导入芯片中进行反应;然后用 200 μ L 缓冲液清洗,共 2 次;从进样口导入 30 μ L 底物溶液,进样 10 μ L 左右用光电倍增管检测发光信号强度。

2.5 实际样品检测

首先对样品进行前处理,将贝壳去除取出贝肉,将贝肉样品均质。然后称取 1 g 均质好的样品于 50 mL 离心管中,并加入 10 mL 0.1 mol/L 盐酸,剧烈震荡混合,在沸水浴中加热 5 min。待样品冷却后,于 3000 r/min 室温离心 5 min;取上清液 100 μ L 至 2.4 mL 样品稀释液中,剧烈振荡混合;取稀释后的贝肉样品进行测定。将稀释 250 倍的各项样品分别放至微流体平台上进行检测,检测结果带入标准曲线的拟合方程,得到对应于每一个样品的 PSP 浓度,并与限量标准作对比。

3 结果与讨论

3.1 微球包被的定性分析结果

图 2 为空白微球和包被 IgG 抗体微球在不加竞争抗原的情况下,分别在微流体-化学发光检测平台上进行检测后得到的信号强度对比图。由图可知,包被了抗体的微球的检测信号值集中在高强度信号区域,并且数据之间相差不大,而空白微球的信号值都低于 200000,明显低于包被了抗体的微球,说明 IgG 抗体成功包被在微球上,可以用于进行后续实验。

3.2 底物流速优化

以鲁米诺- H_2O_2 试剂作为底物溶液,由于检测过程的流体是动态的,同时还必须满足酶与底物能够充分反应的要求,所以底物流速的选择是一个关键因素。本文设置了 6 个不同的底物流速,按照相应的酶联免疫方法,在只改变流速的情况下得出各流速所对应的检测信号强度,结果如图 3 所示。

由图 3 可知,当底物流速小于 0.03 mL/min 时,光信号强度随着流速的增大而增大,并且增幅明显;

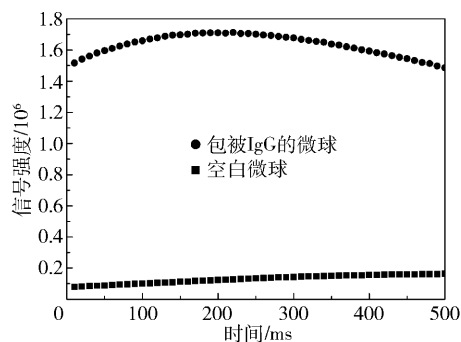


图 2 微球表面包被上 IgG 的确证分析

Fig. 2 The confirmatory analysis of IgG on the surface of the microspheres

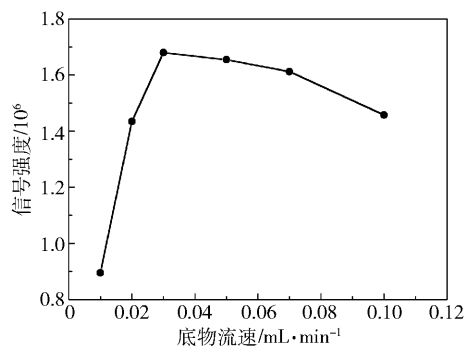


图 3 底物流速分析

Fig. 3 Velocity analysis of the substrate

当底物流速大于 0.03 mL/min 时,光信号随着流速的增加而缓慢下降。从中可以得出,在底物流速为 0.03 mL/min 时,体系中的酶与底物能够充分反应,达到最大发光强度。

3.3 STX 的标准曲线

本文采用的检测原理与传统的直接竞争法基本相同,主要区别在于:传统的 ELISA 方法是将抗体吸附在酶标板表面,而本文方法则是将抗体固定于羧基聚苯乙烯微球的表面。目前常用反应以非均相反应为主,通过对液相体系的不断更换与洗涤,将检测物固定于所选定的界面上,通过酶催化底物发光来得到检测值,从而进行定性定量分析。根据试剂盒中提供的 STX 标准品,对其进行稀释分别得到质量浓度为 0.04、0.06、0.08、0.12、0.24、0.32 ng/mL 的标准样,在微流体芯片内进行反应。然后以 IgY 为纵坐标(Y 为抑制率),标准品质量浓度为横坐标,绘制出标准曲线如图 4 所示。

由图可见,在 0.06 ~ 0.32 ng/mL 范围内曲线具有良好的线性,且线性范围较广。线性拟合后得到的方程为 $y = 0.7876x - 0.456$,相关系数 $R^2 = 0.9294$ 。将 3 倍的空白样品的标准差带入方程计算

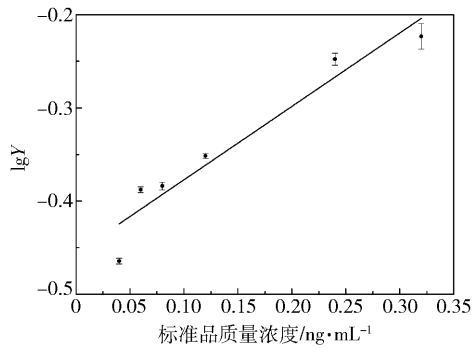


图4 STX 标准曲线
Fig. 4 STX standard curve

得到检测限为 0.005675 ng/mL。值得一提的是,微流体系统由于非常灵敏而极易受到周围环境的干扰。本文实验采取化学发光的检测方法,虽然是在暗盒中进行,环境光以及实验室外部条件对于检测信号的影响是不可避免的,另外不同批次的样品由于检测时段的差异而受不同程度的影响。因此,此方法测得的标准曲线的线性程度比现有的成熟方法的要低^[21]。

3.4 实际贝肉样品的测定结果

将进行了前处理的贝肉样品稀释 250 倍于微流体平台进行检测,根据联合国卫生组织规定每 100 g 贝类可食部分的 PSP 限量为 80 μg,本文匀浆液的质量浓度为 0.1 g/mL,经过换算得到 PSP 标准限量相当于 80 ng/mL。通过线性拟合方程计算出最终样品 PSP 含量并与贝类食品中 PSP 的限量标准做对比,评估其安全性。表 1 所示为各样品的测定结果。由表中数据可知,市场所售的样品中 PSP 的含量均低于限量标准,为安全食品对人体无害。

表1 样品测定数据表
Table 1 Sample assay data

样品	$\rho_{\text{计算}}/\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	$\rho_{\text{最终}}/\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	判断结果
1	0.2068	51.6888	合格
2	0.3130	78.2623	合格
3	0.3094	77.3627	合格

4 结束语

本文通过羧基聚苯乙烯微球与抗体的共价连接,将 IgG 抗体包被在微球表面,并以此作为固相载体在微流体芯片中形成免疫分析柱,用样品流经免疫分析柱的形式代替了传统免疫吸附中试剂

及洗涤剂的添加。本文实验条件下最佳的底物流速为 0.03 mL/min;由 STX 标准曲线计算出的检测限为 0.005675 ng/mL,而利用传统的 ELISA 法通过相同试剂绘制出的标准曲线的检测限仅为 5 ng/mL。微流体免疫检测方法的抗原抗体试剂用量由传统方法的 50 μL 减少为 15 μL,检测时间由 3 h 缩短为 30 min,大大节约了试剂用量和检测时间。

本实验的不足之处在于只能检测单批次的样品,由于微流体芯片本身的限制,每次实验只能形成一个免疫分析柱。在本文研究的基础上,可以将微流体芯片进行进一步优化,将其设计成多通路以使多个样品反应体系同时进行,实现高通量检测;并且通过改良微量进样装置,可以精确控制反应体系与试剂消耗量,从而进一步优化和稳定实验条件。针对麻痹性贝类毒素的定性以及定量检测方法的研究,也为其他海洋生物毒素的检测研究提供了新的研究思路和研究方法。此外,如今真菌毒素中毒现象愈演愈烈,针对微流体免疫芯片-化学发光技术的研究也对同样为小分子物质的真菌毒素检测有借鉴意义。

参考文献:

[1] 马敬军, 曾名勇, 周德庆. 贝类毒素检验及排除方法的研究进展[J]. 中国海洋药物, 2003, 22 (6): 41 - 45.
Ma J J, Zeng M Y, Zhou D Q. Advances in methods of assay and detoxification of shellfish poisons[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2003, 22 (6): 41 - 45. (in Chinese)
[2] 刘智勇, 计融. 麻痹性贝类毒素研究进展[J]. 中国热带医学, 2006, 6(2): 340-344.
Liu Z Y, Ji R. Advance in the research of paralytic shellfish poisons[J]. China Tropical Medicine, 2006, 6(2): 340-344. (in Chinese)
[3] 孟宪梅, 卢士英, 阎东明, 等. 石房蛤毒素研究及应用进展[J]. 食品科技, 2010, 35(8): 150-154.
Meng X M, Lu S Y, Yan D M, et al. Progress of saxitoxin research and application[J]. Food Science and Technology, 2010, 35(8): 150 - 154. (in Chinese)
[4] 欧小蕾, 章超桦, 张锐. 麻痹性贝类毒素(PSP)研究进展[C]//“食品工业新技术与新进展”学术研讨会暨 2014 年广东省食品学会年会论文集. 广州, 2014: 76-81.
Ou X L, Zhang C H, Zhang R. The research progress of paralytic shellfish poisoning[C] // Catalog of the Guangdong Provincial Food Association Annual Conference in

2014. Guangzhou, 2014: 76–81. (in Chinese)
- [5] World Health Organization (WHO). Paralytic shellfish poisoning [J/OL]. [2017–10–02]. <http://www.who.int/iris/handle/10665/220124>.
- [6] 朱敬萍, 金雷, 张小军, 等. 小鼠生物法检测麻痹性贝类毒素技术探讨及应用[J]. 中国渔业质量与标准, 2017, 7(2): 30–35.
- Zhu J P, Jin L, Zhang X J, et al. Investigation and application of mouse bioassay in the determination of paralytic shellfish poisoning[J]. Chinese Fishery Quality and Standards, 2017, 7(2): 30–35. (in Chinese)
- [7] 江天久, 尹伊伟, 陈菊芳, 等. 大亚湾麻痹性贝类毒素 HPLC 分析[J]. 海洋环境科学, 2000, 19(3): 16–19.
- Jiang T J, Yin Y W, Chen J F, et al. HPLC analysis of paralytic shellfish toxins in shellfish from Daya Bay[J]. Marine Environmental Science, 2000, 19(3): 16–19. (in Chinese)
- [8] 罗辉武, 向军俭, 唐勇, 等. 麻痹性贝类毒素 GTX2, 3 间接与直接竞争酶免疫学检测方法的比较研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(6): 663–664.
- Luo H W, Xiang J J, Tang Y, et al. Comparison of indirect and direct competitive enzyme-linked immunoassay for detection of GTX2, 3[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2006, 16(6): 663–664. (in Chinese)
- [9] 陈肇娜, 刘宝红, 吴会灵, 等. 微流控免疫芯片检测方法的研究进展[J]. 高等学校化学学报, 2011, 32(5): 1001–1007.
- Chen Z N, Liu B H, Wu H L, et al. Developments in microfluidics-based immunoassays[J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2011, 32(5): 1001–1007. (in Chinese)
- [10] Whitesides G M. The origins and the future of microfluidics[J]. Nature, 2006, 442(7101): 368–373.
- [11] Chiem N, Harrison D J. Microchip-based capillary electrophoresis for immunoassays: analysis of monoclonal antibodies and theophylline [J]. Analytical Chemistry, 1997, 69(3): 373–378.
- [12] 石晓彤. 基于缺口管阵列技术的微流控非均相免疫分析系统的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- Shi X T. Microfluidic heterogeneous immunoassay systems based on slotted vial array[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2010. (in Chinese)
- [13] 李贵平, 汪勇先, 任非, 等. 磁性纳米微粒的制备方法及其在放射免疫分析中的初步应用[J]. 核技术, 2004, 27(11): 828–832.
- Li G P, Wang Y X, Ren F, et al. Preparation of magnetic nanoparticles and its application in radioimmunoassay [J]. Nuclear Techniques, 2004, 27(11): 828–832. (in Chinese)
- [14] 李哲斐. 微流控芯片的制作及食品安全检测应用的研究[D]. 西安: 西北大学, 2005.
- Li Z F. Research of microfluidic chip fabrication and application in food safety detection[D]. Xi'an: Northwest University, 2005. (in Chinese)
- [15] 杨丽丽. 编码微球微流控芯片检测禽流感病毒方法的建立[D]. 长春: 吉林农业大学, 2007.
- Yang L L. A novel foundation of detecting avian influenza virus by microfluidic chip and encoded – microsphere [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2007. (in Chinese)
- [16] 陈启龙. 微流体免疫分析在动物源性食品安全检测中的应用研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2015.
- Chen Q L. The application research of microfluidic immunoassay technology in animal-borne food safety testing [D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2015. (in Chinese)
- [17] 刘翠兰. 鲁米诺类化学发光试剂的理论研究[D]. 山西 临汾: 山西师范大学, 2015.
- Liu C L. Theoretical study on chemiluminescence reagent of luminol[D]. Linfen, Shanxi: Shanxi Normal University, 2015. (in Chinese)
- [18] 高小飞. 鲁米诺化学发光体系在食品分析中的应用——快速灵敏测定苏丹红 I、过氧化苯甲酰、维生素 C、山奈酚等[D]. 西安: 西北大学, 2009.
- Gao X F. Applications of luminol chemiluminescence system in food analysis — rapid and sensitive determination of Sudan I, benzoyl peroxide, vitamin C, kaempferol and iron [III][D]. Xi'an: Northwest University, 2009. (in Chinese)
- [19] 计融, 王健伟, 罗雪云, 等. 鲉毒鱼类中河鲀毒素直接竞争抑制性酶联免疫吸附试验测定方法的研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2002, 14(5): 7–10.
- Ji R, Wang J W, Luo X Y, et al. Determination of tetrodotoxin in puffer fishes using monoclonal antibody-based direct competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2002, 14(5): 7–10. (in Chinese)
- [20] 罗奕铭, 王丽, 钟青萍. 直接竞争酶联免疫吸附法检测虾过敏蛋白[J]. 食品工业科技, 2012, 33(3): 337–339/347.
- Luo Y M, Wang L, Zhong Q P. Direct competitive enzyme linked immunoassay for detection of shrimp allergic protein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(3): 337–339/347. (in Chinese)
- [21] 刘帅师, 朱兰兰, 周德庆. 石房蛤毒素酶联免疫吸附测定方法的研究[J]. 农产品加工学刊, 2011(9):

12-14/36.

Liu S S, Zhu L L, Zhou D Q. ELISA detection method of

saxitoxin[J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2011(9): 12-14/36. (in Chinese)

Detection of paralytic shellfish toxins by microfluidic immunoassay

ZHAO Han¹ SUN Shuai¹ DONG YiYang^{1*} WANG Bin^{1,2} LIU JiaHui¹ LIU RuiPing³

- (1. College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029;
2. Bohai Institute of Biological Industry, Beijing University of Chemical Technology, Qinhuangdao, Hebei 066004;
3. Qinhuangdao Municipal Food and Drug Inspection Center, Qinhuangdao, Hebei 066004, China)

Abstract: In view of the relatively poor ability to detect shellfish toxins in China, shellfish poisoning has become a very serious food safety problem. In this article, we show how microfluidic immune chip technology and chemiluminescence analysis can be combined to detect shellfish toxins, giving a fast, efficient, low-power and sensitive detection method superior to conventional methods. The most widely studied paralytic shellfish toxin-Saxitoxin (STX) was selected as the research object. Experiments were carried out on a microfluidic chemiluminescence detection platform by using a kit for the detection of STX. Then the standard curve was plotted and the detection limit was calculated. In the early stages of the experiment, the antibodies were coated on carboxyl polystyrene microspheres and analyzed qualitatively. The optimization of flow rate and dilution ratio of the substrate solution was subsequently carried out. Finally, the shellfish in the market were studied. By plotting the standard curve, the detection limit of STX was found to be 0.005675 ng/mL, proving that sensitivity in food safety testing can be greatly improved by the use of microfluidic chip technology.

Key words: food safety; microfluidic immunoassay; chemiluminescence; paralytic shellfish toxins

(责任编辑:吴万玲)