

化学发光免疫分析方法在食品安全检测中的研究进展

金茂俊, 王 静*, 杨丽华, 杜鹏飞, 邵 华, 金 芬, 王珊珊, 余永新
(中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 农业部农产品质量安全重点实验室, 北京 100081)

摘 要: 化学发光免疫分析方法作为一项具有高特异性和高灵敏度的免疫分析方法, 经过近几十年的发展, 目前已在食品安全检测领域得到了良好的应用。本文根据不同化学发光免疫分析方法所选择标记物的不同, 将化学发光免疫分析方法分为化学发光免疫分析、化学发光酶免疫分析和电化学发光免疫分析三个类别, 并对各方法常用的化学发光标记物及分析方法原理进行介绍。同时, 综述了化学发光免疫分析方法在农兽药残留、生物毒素、违禁添加物及微生物检测方面的应用进展情况。随着化学发光免疫分析方法在新型化学发光标记物及化学发光增敏体系方面取得进一步的研究进展, 其在食品安全检测领域必将得到更为广泛的应用。

关键词: 化学发光免疫分析; 食品安全; 研究进展

Latest progress of chemiluminescent immunoassay in food safety detection

JIN Mao-Jun, WANG Jing*, YANG Li-Hua, DU Peng-Fei, SHAO Hua, JIN Fen,
WANG Shan-Shan, SHE Yong-Xin

(Key Laboratory for Agro-Products Quality and Safety of Ministry of Agriculture, Institute of Quality Standards & Testing Technology for Agro-Products, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

ABSTRACT: Chemiluminescent immunoassay (CLIA) as the technology with high specificity and sensitivity, after decades of development, has got a good application in the field of food safety detection. According to the different labelled substances used in the CLIA system, the methods were divided into CLIA, chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA) and electrochemiluminescent immunoassay (ECLIA). This review briefly described the classical chemiluminescent labelled substances and the principles of various CLIA systems. Meanwhile, the application of CLIA in the detection of pesticide residue, veterinary drug residue, biological toxins, prohibited additives, and microorganisms were introduced. Accompanied with the further development of CLIA applied in novel chemiluminescent labelled substances and sensitized system, the technology will have a prosperous future in detection of food safety.

KEY WORDS: chemiluminescent immunoassay; food safety; research progress

基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(201203094)、国家国际科技合作专项资助(2012DFA31140)、吉林省世行贷款农产品质量安全项目(2011-Z50)

Fund: Supported by Public-interest industrial Science & Technology Project (201203094), International Science & Technology Cooperation Program of China (2012DFA31140) and World Bank Loan Project in Jilin Provincial Agro-products Quality & Safety Project (2011-Z50)

*通讯作者: 王静, 教授, 主要研究方向为食品安全检测技术。E-mail: w_jing2001@126.com

*Corresponding author: WANG Jing, professor, Institute of Quality Standards & Testing Technology for Agro-Products, Chinese Academy of Agricultural Sciences, No. 12, Southern Street of Zhongguancun, Haidian District, Beijing 100081, China. E-mail: w_jing2001@126.com

化学发光是在常温下由化学反应产生的光的发射。其发光机理是:反应体系中的某些物质分子,如反应物、中间体或者荧光物质吸收了反应释放的能量而由基态跃迁到激发态,当中间体由激发态回到基态时会,释放等能量的光子,对光子进行测定而实现定量分析^[1]。化学发光免疫分析方法是化学发光与免疫分析相结合的方法,具有灵敏度高、特异性强、线性范围宽、成本低、操作简单、应用广泛、检测时间短、易于实现自动化且无放射性污染等优点^[2],已在食品安全检测领域得到越来越广泛的应用。

1 化学发光免疫分析方法的类别

根据化学发光免疫分析体系中所选标记物的不同,将化学发光免疫分析方法分为化学发光免疫分析、化学发光酶免疫分析及电化学发光免疫分析三大类。

化学发光免疫分析是用化学发光标记物质直接标记抗体或抗原的一类免疫分析方法。作为化学发光标记物,目前使用最多的是鲁米诺类和吖啶酯类这两类物质。(1)鲁米诺类物质标记的化学发光为氧化反应发光。在碱性环境中,鲁米诺可被许多物质氧化发光,其中过氧化氢(H_2O_2)最为常用。为了提高化学发光反应速率,需向这一反应体系中添加某些酶类或无机催化剂。催化用的酶类主要选择辣根过氧化物酶(HRP),无机催化剂主要包括 O_3 、卤族元素及 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Co^{2+} 和它们的配合物。(2)吖啶酯类物质标记的化学发光是在碱性环境中,吖啶酯类物质被 H_2O_2 氧化,迅速产生光子,具有很好的量子产率。将吖啶酯类物质作为化学发光免疫分析的化学发光标记物,具有发光体系简单、反应速率快、无需催化剂、标记效率高、发光本底低等优点。

化学发光酶免疫分析是用酶标记抗原或抗体的一类化学发光免疫分析方法。酶标记抗原或者抗体进行特异性免疫反应后,免疫反应复合物上的酶催化化学发光底物在信号试剂作用下发光。目前应用最为广泛的标记酶是 HRP 和碱性磷酸酶(ALP),这两种酶都有各自的发光底物。HRP 最常用的发光底物是鲁米诺及其衍生物。在化学发光酶免疫分析中,使用 HRP 标记抗体或抗原,免疫反应后,将鲁米诺作为发光底物,在碱性环境及 HRP 存在下,鲁米诺被 H_2O_2 氧化发光,HRP 的浓度决定了化学发光的强度。这一传统的化学发光体系(HRP- H_2O_2 -鲁米诺)为持

续几秒的闪光型发光,存在发光强度低、不易测量等缺点。在这一化学发光反应体系中加入化学发光增强剂,可大大增强发光信号,并在较长的时间内保持发光稳定,从而提高这一化学发光反应体系的分析灵敏度和准确性。ALP 最常用的发光底物是 1,2-二氧环己烷类物质。这类化学发光体系中最经典的是 Bronstein 等提出的 3-(2-螺旋金刚烷)-4-甲氧基-4-(3-磷氧酰)-苯基-1,2-二氧环乙烷二钠盐(AMPPD)-ALP 发光体系。这一化学发光反应体系的特点是反应速度快,短时间可提供检测结果。

电化学发光免疫分析是将电化学发光与免疫分析相结合的一类化学发光免疫分析方法。电化学发光是一种在电极表面由电化学引发的特异性化学发光反应。电化学发光与化学发光的差异在于电化学发光是电启动发光反应,而化学发光是通过化合物混合启动发光反应,因此电化学发光反应易精确控制。电化学发光免疫分析最常用的发光底物是三联吡啶钌 $[Ru(bpy)_3^{2+}]$,三丙胺(TPA)用来激发这个体系的发光反应。在阳极表面, $Ru(bpy)_3^{2+}$ 和 TPA 同时失去电子, $Ru(bpy)_3^{2+}$ 被氧化成 $Ru(bpy)_3^{3+}$, TPA 被氧化成阳离子自由基($TPA^{+ \cdot}$), $TPA^{+ \cdot}$ 将自发地释放一个质子而变成非稳定分子($TPA^{\cdot}$),并将一个电子传递给 $Ru(bpy)_3^{3+}$,形成激发态的 $Ru(bpy)_3^{2+ \cdot}$, $Ru(bpy)_3^{2+ \cdot}$ 在衰减的同时发射一个波长为 620 nm 的光子,重新回到基态 $Ru(bpy)_3^{2+}$ 。这一反应过程在电极表面反复进行,从而产生高效、稳定的连续发光,发光强度不断增强。

2 化学发光免疫分析方法在食品安全检测中的应用

1977 年, Halman 等^[3]首先将化学发光与免疫分析方法相结合,建立了化学发光免疫分析方法,实现了对微生物的检测。自此以后,化学发光免疫分析方法在医学检测领域被大量成功应用^[4-10]。近年来,化学发光免疫分析方法受到食品安全研究领域科研人员的极大关注,实现了其对农兽药残留、生物毒素、违禁添加物和微生物的高灵敏度检测。

2.1 在农兽药残留检测中的应用

在农药残留检测方面, Schlaeppi 等^[11]将化学发光免疫分析方法应用于农药残留检测,利用磁性物质与化学发光免疫分析方法相结合,实现了醚苯磺

隆的快速检测,其在水样中的检测限为 0.02 ng/mL,并将建立的化学发光免疫分析方法与液相色谱法进行了比较研究,结果显示其有着较好的相关性($R^2=0.96$)。1999 年, Samsonova 等^[12]基于三氮苯类除草剂的混合抗体,建立了阿特拉津、草净津和莠灭净等三种除草剂的多残留免疫分析方法,方法回收率为 70%~100%。2003 年, Alexandra 等^[13]基于酶联免疫和化学发光酶免疫法,分别建立了 DDT 及其代谢物的两种免疫分析方法,并对食物样品中的 DDT 及其代谢物进行检测。结果显示:建立的酶联免疫法 IC_{50} 值为 0.6 ng/mL,而化学发光酶免疫法的 IC_{50} 值为 0.2 ng/mL。Barbora 等^[14]基于化学发光酶免疫分析,建立了氨基甲酸酯类农药的化学发光免疫分析方法,实现对克百威、甲萘威和灭虫威的检测,三种物质的检测限分别为 0.03 ng/mL、0.007 ng/mL 和 0.004 ng/mL。2012 年,王静等^[15]研究建立了三唑磷农药的化学发光酶免疫分析方法,该方法的线性检测范围为 0.04~5 ng/mL,最低检测限为 0.063 ng/mL,对生菜、胡萝卜、苹果、水和土壤的添加回收率分别为 78.71%、67.52%、118.3%、117.2% 和 122.0%。

在兽药残留检测方面, Lin 等^[16]基于化学发光免疫分析方法,实现了对食品中氯霉素的检测,其方法灵敏度为 0.05 ng/mL,且方法的精密度、特异性及准确度等指标均与酶联免疫分析方法相当,十个样品的板内和板间变异系数分别小于 8%和 20%,样品的添加回收率 87%~100%。Wutz 等^[17]基于化学发光免疫分析方法,建立了蜂蜜中恩诺沙星、磺胺二甲基嘧啶、磺胺嘧啶和链霉素的多残留检测方法。Tao 等^[18]基于化学发光酶免疫分析,建立了氟苯尼考及其代谢产物氟苯尼考胺的免疫分析方法,鸡肉中氟苯尼考的检测限为 0.526 ng/mL,添加回收率为 71.8%~102%,氟苯尼考胺的检测限为 0.453 ng/mL,添加回收率为 70.3%~100%。2013 年, Tao 等^[19]通过将氯霉素和氟苯尼考的抗体相混合,建立了可同时检测火腿肠中氯霉素、氟苯尼考及其代谢物氟苯尼考胺的化学发光酶免疫分析方法,该方法氯霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺的检测限分别为 0.01、2.8、3.0 $\mu\text{g/kg}$ 。

因目前国际食品法典委员会及我国主要贸易国对农兽药残留的最大残留限量值(MRL)标准的制定日趋严格,且农畜产品中可能存在的农兽药多残留现象,使得化学发光免疫分析方法在农兽药残留检

测方面朝着高灵敏度和多残留检测方向发展。因化学发光免疫分析方法本身存在高灵敏的优点,该方法在农兽药残留检测方面的研究将会进一步拓展和深化。

2.2 在生物毒素检测中的应用

Quan 等^[20]基于化学发光酶免疫分析,建立了食品中伏马菌素 B₁ 的免疫分析方法,该方法的线性范围为 0.14~0.9 $\mu\text{g/L}$,方法的灵敏度(以 IC_{50} 衡量)为 0.32 $\mu\text{g/L}$,方法的最低检测限(以 IC_{10} 衡量)为 0.09 $\mu\text{g/L}$,与建立的伏马菌素 B₁ 酶联免疫分析方法相比,其方法检测灵敏度提高 10 倍,且回收率满足相关要求。Magliulo 等^[21]基于化学发光酶免疫分析,建立了牛奶中黄曲霉毒素 M₁ 的免疫分析方法。通过将黄曲霉毒素 M₁-牛血清白蛋白(BSA)的偶联物包被在聚丙烯固相载体上,加入黄曲霉毒素 M₁ 抗体和待测样品,竞争反应后,加入酶标二抗,实现对黄曲霉毒素 M₁ 的定量检测。针对牛奶样品,该方法的最低检测限 1 pg/mL,批内批间的变异系数均小于 9%,添加回收率在 96%~122%之间。Wang 等^[22]基于生物素-亲和素及胶体金的放大作用,建立了食品中玉米雌霉烯酮的化学发光免疫分析方法,该方法的检测限为 0.008 ng/mL,线性范围为 0.02~0.51 ng/mL,添加回收率在 97%~117%之间。

Yang 等^[23]基于碳纳米管技术,建立了牛奶、苹果汁和婴儿食品中葡萄球菌肠毒素 B(SEB)的化学发光免疫分析方法,通过将 SEB 抗体包被在碳纳米管表面,进一步将包被有 SEB 抗体的碳纳米管固定在聚碳酸酯表面,最后通过增强化学发光免疫分析方法测定 SEB 含量。在牛奶、苹果汁和婴儿食品中,该方法的最低检测限为 0.01 ng/mL,相比于酶联免疫分析方法,其最低检测限提高了 100 倍。Kijek 等^[24]基于磁性纳米和电化学发光免疫分析方法,实现了对食品中葡萄球菌肠毒素 B 的检测。该方法的检测灵敏度为 1 pg/mL,线性范围为 0.1~100 ng/mL。Zhang 等^[25]基于化学发光酶免疫分析,建立了水、橙汁、牛肉、火腿及牛奶中葡萄球菌肠毒素 A 的免疫分析方法,该方法具有很高的检测灵敏度,其线性检测范围为 6.4~1600 pg/mL,最低检出限为 3.2 pg/mL。

化学发光免疫分析方法在伏马菌素、黄曲霉毒素、玉米雌霉烯酮、葡萄球菌肠毒素已得到了较好的应用,且具有很好的检测灵敏度,但仍需开展化学发

光免疫分析体系研究,进一步提高化学发光免疫分析方法的稳定性,更好实现化学发光免疫分析方法在生物毒素检测方面的应用。

2.3 在违禁添加物检测中的应用

Roda 等^[26]基于化学发光酶免疫分析,建立了克伦特罗的免疫分析方法,该方法的检测限为 0.08 ng/mL,变异系数小于 10%,添加回收率在 96%~110%之间。Pou 等^[27]基于化学发光酶免疫分析,建立了沙丁胺醇和克伦特罗的免疫分析方法,实现了对猪肝、猪肾及猪肉中两种物质的检测。Han 等^[28]基于时间分辨化学发光技术,建立了猪尿中克伦特罗和莱克多巴胺的化学发光免疫分析方法,所建立的方法线性检测范围为 1.0~500 ng/mL,检测限($S/N=2$)为 0.50 ng/mL。

Choi 等^[29]基于化学发光酶免疫分析,建立了牛奶中三聚氰胺的免疫分析方法。因牛奶中脂肪会干扰三聚氰胺及三聚氰胺抗体的免疫反应,该方法在化学发光反应体系添加草酰基二咪唑,以降低脂肪对免疫反应的干扰。该方法的检测限为 6.3 ng/mL,线性范围为 62.5~2000 ng/mL。

目前建立的克伦特罗、莱克多巴胺及三聚氰胺的化学发光免疫分析方法,方法检测限均低于 10 ng/mL,具有很高的检测灵敏度,可有效满足农产品质量安全监管的需求,随着将化学发光免疫分析方法应用于更多违禁添加物的检测,将可更加体现该方法的应用价值。

2.4 在微生物检测中的应用

杨秀岑等^[30]基于化学发光酶免疫分析,建立了食品中沙门氏菌的免疫分析方法。该方法先将沙门氏菌固定在聚氯乙烯固相载体上,再与沙门氏菌抗体温育 1 h,加入 HRP 标记二抗,利用间接化学发光免疫法实现对食品中沙门氏菌的快速检测。经对 62 份食品样品进行检测,将 $P/N \geq 3$ 作为阳性判定标准,结果符合率达到 85.5%。

郭小英等^[31]基于化学发光酶免疫分析,建立了食品中 O157:H7 大肠埃希菌的免疫分析方法。该方法利用 AMPPD-ALP 化学发光反应体系,通过磁珠酶联免疫分析法对 O157:H7 大肠埃希菌进行检测。方法检测灵敏度达 850 CFU/mL,线性范围为 1000~50000 CFU/mL,批间变异系数小于 15%,批内变异系数小于 20%,与人工计数培养检测结果相比

其相关系数达 0.98。Shelton 等^[32]基于电化学发光免疫分析方法,建立了水中大肠杆菌的检测方法,该方法的最低检出限为 1000 CFU/mL,线性范围在 1000~10000 CFU/mL 之间。

基于化学发光免疫分析方法,实现了对食品中沙门氏菌、大肠杆菌的检测,检测结果与人工计数培养相比有着较高的准确度,检测灵敏度高,并可大大节约检测时间,基于此,化学发光免疫分析方法将是微生物检测很有前途的发展方向。

3 化学发光免疫分析方法的发展方向

化学发光免疫分析方法作为一种具有良好发展前景的技术,已在食品安全检测领域得到了较好的应用。整体而言,化学发光免疫分析方法相对于传统的酶联免疫分析方法有着较高的灵敏度,但其方法的批内批间变异系数会高于酶联免疫分析方法。其原因主要是现有的化学发光标记物在发光达到顶峰衰减后,其发光值尚不十分稳定。因此,化学发光免疫分析方法仍需在以下几方面开展研究。1)继续筛选新的化学发光标记物;2)在现有化学发光反应体系中,开展化学发光增敏体系研究;3)加强电化学发光免疫分析方法在食品安全检测领域的应用研究。可以预计,随着科学家们更多的关注于解决化学发光标记物发光稳定性问题,化学发光免疫分析方法在食品安全领域将得到更为广泛全面的应用。

参考文献

- [1] 华东. 一种高效安全化学发光 EMSA 系统的建立及应用[D]. 南京: 东南大学, 2007.
Hua D. The development and application of a safe and efficient chemiluminescent EMSA system [D]. Nanjing: Southeast University, 2007.
- [2] 林金明, 赵利霞, 王翔. 化学发光免疫分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008.
Lin JM, Zhao LX, Wang X. Chemiluminescent Immunoassay [M]. Beijing: Chemistry Industry Press, 2008.
- [3] Halman M, Velan B, Sery T. Rapid identification and quantitation of small numbers of microorganisms by a chemiluminescent immunoreaction [J]. Appl Environ Microb, 1977, 34: 473-477.
- [4] Zhang Q, Wang X, Li Z, et al. Evaluation of alpha-fetoprotein (AFP) in human serum by chemiluminescence enzyme immunoassay with magnetic particles and coated tubes as solid phases [J]. Anal Chim Acta, 2009, 631: 212-217.

- [5] Zhan W, Bard A. Immunoassay of Human C-Reactive Protein by Using $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ -Encapsulated Liposomes as Labels [J]. *Anal Chem*, 2007, 79: 459–463.
- [6] Knight C, Crum M, Hardy R. Evaluation of the LIAISON Chemiluminescence Immunoassay for Diagnosis of Syphilis [J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2007, 14(6): 710–713.
- [7] Perschel F, Schemer R, Seiler L, *et al.* Rapid Screening Test for Primary Hyperaldosteronism: Ratio of Plasma Aldosterone to Renin Concentration Determined by Fully Automated Chemiluminescence Immunoassays [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 50(9): 1650–1655.
- [8] Iwata R, Hayashi T, Nakao Y, *et al.* Direct determination of plasma endothelin-I by chemiluminescence enzyme immunoassay [J]. *Clin Chem*, 1996, 42(8): 1155–1158.
- [9] Peter L, Christine B, Ingrid S, *et al.* 7 α -Biotinylated testosterone derivatives as tracers or a competitive chemiluminescence immunoassay of testosterone in serum [J]. *Clin Chem*, 1997, 43(12): 2345–2352.
- [10] Mirasoli M, Deo S, Lewis J, *et al.* Bioluminescence Immunoassay for Cortisol Using Recombinant Aequorin as a Label [J]. *Anal Biochem*, 2002, 306: 204–211.
- [11] Schlaeppli J, Kessler A, Foery W. Development of a Magnetic Particle-Based Automated Chemiluminescent Immunoassay for Triasulfuron [J]. *J Agr Food Chem*, 1994, 42: 1914–1919.
- [12] Samaonova JV, Rubtsova MY, Kiseleva AV, *et al.* Chemiluminescent multiassay of pesticides with horseradish peroxidase as a label [J]. *Biosens Bioelectron*, 1999, 14: 273–281.
- [13] Alexandra E, Sergei A, Angel M, *et al.* Development of chemiluminescent ELISAs to DDT and its metabolites in food and environmental samples [J]. *J Immunol Methods*, 2003, 283(1): 45–57.
- [14] Barbora M, Tomas K, Pavel R, *et al.* Analytical performances of validated chemiluminescent enzyme immunoassays to detect N-methylcarbamate pesticides [J]. *Anal Chim Acta*, 2005, 528: 243–248.
- [15] Jin M, Shao H, Wang J, *et al.* Enhanced competitive chemiluminescent enzyme immunoassay for the trace detection of insecticide triazophos [J]. *J Food Sci*, 2012, 7: 99–104.
- [16] Lin S, Han S, Liu Y, *et al.* Chemiluminescence immunoassay for chloramphenicol [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2005, 382: 1250–1255.
- [17] Wutz K, Niessner R, Seidel M. Simultaneous determination of four different antibiotic residues in honey by chemiluminescence multianalyte chip immunoassays [J]. *Microchim Acta*, 2011, 173: 1–9.
- [18] Tao X, Jiang H, Yu X. Development and validation of a chemiluminescent ELISA for simultaneous determination of florfenicol and its metabolite florfenicol amine in chicken muscle [J]. *Anal Methods*, 2012, 4: 4083–4090.
- [19] Tao X, Jiang H, Shen J, *et al.* Simultaneous determination of chloramphenicol, florfenicol and florfenicol amine in ham sausage with a hybrid chemiluminescent immunoassay [J]. *Food Addit Contam*, 2013, 30 (5): 804–812.
- [20] Quan Y, Zhang Y, Wang S, *et al.* A rapid and sensitive chemiluminescence enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of fumonisin B1 in food samples [J]. *Anal Chim Acta*, 2006, 580: 1–8.
- [21] Magliulo M, Mirasoli M, Simoni P, *et al.* Development and Validation of an Ultrasensitive Chemiluminescent Enzyme Immunoassay for Aflatoxin M1 in Milk [J]. *J Agr Food Chem*, 2005, 53: 3300–3305.
- [22] Wang Y, Yan Y, Sun J, *et al.* Novel Chemiluminescence Immunoassay for the Determination of Zearalenone in Food Samples Using Gold Nanoparticles Labeled with Streptavidin-Horseradish Peroxidase [J]. *J Agr Food Chem*, 2013, 61(18): 4250–4256.
- [23] Yang M, Kostov Y, Bruck H, *et al.* Carbon Nanotubes with Enhanced Chemiluminescence Immunoassay for CCD-Based Detection of Staphylococcal Enterotoxin B in Food [J]. *Anal Chem*, 2008, 80: 8532–8537.
- [24] Kijek T, Rossi C, Moss D, *et al.* Rapid and sensitive immunomagnetic electro-chemiluminescent detection of staphylococcal enterotoxin B [J]. *J Immunol Methods*, 2000, 236: 9–17.
- [25] Zhang C, Liu Z, Jin B, *et al.* High sensitivity chemiluminescence enzyme immunoassay for detecting staphylococcal enterotoxin A in multi-matrices [J]. *Anal Chim Acta*, 2013, 796 (24): 14–19.
- [26] Roda A, Manetta A, Piazza F, *et al.* A rapid and sensitive 384-microtiter wells format chemiluminescent enzyme immunoassay for clenbuterol [J]. *Talanta*, 2000, 52: 311–318.
- [27] Pou K, Ong H, Adam A. Combined immunoextraction approach coupled to a chemiluminescence enzyme immunoassay for the determination of trace levels of salbutamol and clenbuterol in tissue samples [J]. *Analyst*, 1994, 119: 2659–2662.
- [28] Han J, Gao H, Fu Z, *et al.* Time-resolved chemiluminescence strategy for multiplexed immunoassay of clenbuterol and ractopamine [J]. *Biosens Bioelectron*, 2013, 48 (15): 39–42.
- [29] Choi J, Kim Y, Lee J. Rapid quantification of melamine in milk using competitive 1,1'-oxalyldiimidazole chemiluminescent enzyme immunoassay [J]. *Analyst*, 2010, 245: 1335–1340.
- [30] 杨秀岑, 伍莉萍, 李军, 等. 食品中沙门氏菌的化学发光免疫快速检验[J]. *华西医学杂志*, 1991, 6(1): 4–6.
- Yang XC, Wu LP, Li J, *et al.* Rapid detection of Salmonella in food with chemiluminescent immunoassay [J]. *West China Med J*, 1991, 6(1): 4–6.

- [31] 郭小英, 王永宁, 顾林岗, 等. 化学发光磁酶免疫法检测 O157: H7 大肠埃希菌[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2006, 22(3): 395–398.
- Guo XY, Wang YN, Gu LG, *et al.* Chemiluminescent detection of *E.coli* O157:H7 in food based on magnetic enzyme-linked immuno method [J]. Chin J Cell Mol Immunol, 2006, 22(3): 395–398.
- [32] Shelton D, Vankessel J, Wachtel M, *et al.* Evaluation of parameters affecting quantitative detection of *Escherichia coli* O157 in enriched water samples using immunomagnetic electrochemiluminescence [J]. J Microbiol Methods, 2003, 55: 717–725.

(责任编辑: 邓伟)

作者简介



金茂俊, 副研究员, 博士, 主要研究方向为食品安全快速检测技术。
E-mail: katonking@163.com



王静, 教授, 博士, 主要研究方向为食品安全检测技术。
E-mail: w_jing2001@126.com