

化学发光免疫分析技术及其在食品安全检测中的研究进展

张 燕, 杨金易, 曾道平, 易 娜, 孙远明*

(华南农业大学食品学院 广东省食品质量安全重点实验室
农业部农产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室, 广州 510642)

摘 要: 近年来, 化学发光免疫分析因其具有特异性强、灵敏度高、线性范围宽、仪器简单、操作方便、无放射性污染等优点越来越受到人们的关注。本文简要介绍了化学发光免疫分析的类型及其原理, 根据化学发光体系中标记物质的不同以及检测体系的差别, 对化学发光免疫分析技术进行了系统的分类, 并且对各种方法进行了详细的介绍, 对其优点和不足做了透彻的分析。对该分析方法在食品安全检测中的运用, 包括检测食品中微生物、毒素、农药残留、兽药残留等进行了综述, 并展望其发展方向。

关键词: 化学发光免疫分析; 食品安全; 检测; 应用

Research progress on chemiluminescence immunoassay technique and its application in food safety detection

ZHANG Yan, YANG Jin-Yi, ZENG Dao-Ping, YI Na, SUN Yuan-Ming*

(College of Food Science, South China Agriculture University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Food Quality and Safety, Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment in Agricultural Products Preservation Ministry of Agriculture, Guangzhou 510642, China)

ABSTRACT: Chemiluminescence immunoassay (CLIA) received more and more attention in recent years for its high sensitivity, wide linear range, simplicity, feasibility and non-isotopic contamination. The classification and principle of chemiluminescence immunoassay were introduced briefly in this article, and the CLIAs were classified systematically according to different marker substances of the chemiluminescence system and the difference of detection systems. A variety of methods were also introduced in detail. Moreover, its advantages and disadvantages were analyzed and the application of CLIA in food safety detection, including the detection of microorganism, toxins, pesticide residues, animal drug residues and the genetically modified food were discussed. The future development of CLIA was also prospected.

KEY WORDS: chemiluminescence immunoassay; food safety; detection; application

基金项目: 国家自然科学基金项目(31201361)、广东省科技计划项目(2010A032000001-4, 2012A020100002)、广州市科技计划项目-珠江新星项目(1217000380)、星火计划(2012GA780001)

Fund: Supported by National Natural Science Foundation of China (31201361), the Science and Technology Project of Guangdong Province (2010A032000001-4, 2012A020100002), the Science and Technology Project of Guangzhou City (Zhu Jiang Xin Xing) (1217000380), and the National Spark Program (2012GA780001)

*通讯作者: 孙远明, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为食品安全、食品营养。E-mail: ymsun@scau.edu.cn

*Corresponding author: SUN Yuan-Ming, Professor, College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China. E-mail: ymsun@scau.edu.cn

1 引言

化学发光(chemiluminescence, CL)是指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在进行化学反应时,由于吸收了反应时产生的化学能,而使反应产物分子激发至激发态,受激分子由激发态回到基态时,便发出一定波长的光。化学发光分析方法主要是依据化学发光检测体系中待测物浓度与体系的化学发光强度在一定条件下呈线性定量关系的原理,利用仪器对体系化学发光强度进行检测,而确定待测物含量的一种痕量分析方法。1977年, Halman 等^[1]通过将高特异性的抗原抗体反应与高灵敏度的化学发光反应结合起来,创建了化学发光免疫分析方法(chemiluminescent immunoassay, CLIA)。CLIA 是将化学发光与免疫反应相结合的产物,因化学发光具有荧光的特异性,同时不需要激发光,从而避免了荧光分析中激发光杂散的影响。

CLIA 因具有特异性强、灵敏度高、线性范围广、设备仪器简单、操作方便、不具有放射性污染、易实现自动化等优点^[2-5],已广泛应用于食品中生物毒素、微生物、农药残留、兽药残留以及转基因食品等的快速检测^[6-8]。本文通过对 CLIA 方法及其应用的讨论,旨在促进该技术在食品安全检测领域的应用和推广。

2 CLIA 的类型及其原理

CLIA 包含两个部分,即化学发光分析系统和免疫反应系统^[9]。化学发光分析系统是利用化学发光物质经催化剂的催化和氧化剂的氧化,形成一个激发态的中间体,当这种激发态中间体回到稳定的基态时,同时发射出光子(hv)利用发光信号测量仪器测量光量子产额。免疫反应系统是将发光物质(在反应剂激发下生成激发态中间体)直接标记在抗原或抗体上,或酶作用于发光底物。化学检测系统通过光电信号检测仪检测发光强度,最后通过化学发光标记物与发光强度的关系确定被测物的含量。

CLIA 根据标记物的不同可分为三大类,即化学发光免疫分析、化学发光酶免疫分析和电化学发光免疫分析^[10]。

2.1 化学发光免疫分析

化学发光剂直接标记抗体或抗原的免疫测定方

法称为化学发光免疫分析。目前常见的标记物主要为鲁米诺类和吖啶酯类化学发光剂。但是鲁米诺类化合物标记抗原或抗体后发光强度大大降低,不适合直接标记。目前,利用化合物对鲁米诺的增强或抑制作用直接测定待测化学物和利用偶合作用或作为标记物进行间接测定是鲁米诺类化学发光分析的主要应用方面^[11]。吖啶酯类化合物发光效率高、背景小、可在中性或碱性条件下标记抗原和抗体,偶联物的发光量子产率和生物活性几乎不损失,是化学发光免疫分析中重要的化学发光标记物^[12]。吖啶酯类具有共同的吖啶环结构,与过氧化氢发生反应后激发态的 *N*-甲基吖啶酮,当后者回到基态时发出波长为 430 nm 的光子。吖啶酯类化合物通常用 $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ 和 NaOH 作为发光激发剂,有些在激发剂中加 Triton X-100, CTAC 等表面活性剂以增强发光^[13]。

2.2 化学发光酶免疫分析

化学发光酶免疫分析(chemiluminescent enzyme immunoassay, CLEIA)是以酶标记抗原或抗体进行免疫反应,免疫反应复合物上的酶再作用于发光底物,在信号试剂作用下发光,用发光信号测定仪进行发光测定,酶的浓度决定了化学发光的强度。辣根过氧化物酶(HRP)和碱性磷酸酶(ALP)为化学发光酶免疫分析常用的标记酶,发光底物分别为鲁米诺和 1,2-二氧环己烷及其衍生物^[14]。

为解决 HRP-CLEIA 体系发光时间短(几秒内瞬时闪光),发光强度低、不易测量等缺点^[15],通常在发光系统中加入发光增强剂。发光增强剂主要作用为放大光输出,增强光信号,提高发光持续性,从而提高分析灵敏度和可重复性。大量含苯基的化合物都对化学发光具有一定的增强作用,这可能与苯环分子的共轭结构有关。有的增强剂可以使发光信号增强几十倍,还能延长发光时间,其原因是增强剂增强了发光的强度,影响了化学发光反应的动力学^[16,17]。

碱性磷酸酶(ALP)和 1,2-二氧环己烷构成的发光体系是目前最重要、最灵敏的化学发光体系^[18]。在 ALP-CLEIA 体系中具有代表性的是 Bronstein 等^[19]提出的 ALP-AMPPD 发光体系,AMPPD 为 1,2-二氧环己烷衍生物,它反应速度很快^[17,20]。CLEIA 方法具有非常高的灵敏度,是最灵敏的免疫测定方法之一,已广泛用于医药、环境、食品的检测。

2.3 电化学发光免疫分析方法

在电极上施加一定的电压或电流时,在电极电化学反应产物之间或电极反应产物与溶液中某种组分之间发生化学反应而产生激发态,当激发态跃迁回基态时放出能量,此过程即为电化学发光(electrochemiluminescence, ECL)。电化学发光免疫分析(electrochemiluminescence immunoassay, ECLIA)是以电化学发光剂三联吡啶钌标记抗体(抗原),以三丙胺(TPA)为电子供体,在电场中因电子转移而发生特异性化学发光反应,它包括电化学和化学发光两个过程^[21]。

Leland 等^[22]已对三联吡啶钌体系的电化学发光机理进行了深入的研究。电化学发光免疫分析利用二价的三氯联吡啶钌标记抗原或抗体,与标本中的抗体或抗原结合,然后在电场的作用下发生电化学发光反应,产生高效、稳定的连续发光,发光强度与标本中待测物质的浓度成线性关系。电化学发光分析法除了具有灵敏度高、快速、准确等特点外,还有标记物稳定、光信号线性好、可重复测量、可实现全自动化等优点^[23,24]。目前,关于电化学发光免疫分析方法也得到较广泛的应用,特别是在蛋白质、激素、毒素分析方面^[25]。

3 在食品安全检测中的应用

3.1 食品中微生物的检测

食品中微生物的检验主要是检验一般的污染和致病菌。常规的微生物学检验通常以分离培养、生化实验以及血清学实验来进行判断,虽然准确性好,但是需要大量的手工劳动,检验周期长。准确、快速、定量地检测微生物是食品微生物检测方法研究需要解决重要问题,化学发光免疫分析技术能满足这些条件。

朱广华等^[26]建立了一种检测猪肉中的大肠杆菌的 CLIA 法,ELISA 法检测线比其高 9 倍。Gehring 等^[27]检测大肠杆菌 O157:H7 采用 CLEIA,检测限为 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个活菌/mL。用于牛肉中的检测,可检出的浓度为 400 CFU/mL,检测过程用时 6.5 h。

Magliulo 等^[28]建立一种简单快速的检测大肠杆菌 O157: H7、小肠结肠炎耶尔氏菌、鼠伤寒沙门氏菌以及李斯特单胞菌的化学发光免疫方法。该方法最低检测浓度在 104~105 CFU/L 范围,回收率在

90%~120%之间。朱林江等^[29]利用 CLIA 法和常规培养技术检测啤酒中的腐败菌,菌落计数在 3~100 CFU/100 mL 范围内,该法与培养法检测结果的相关系数为 0.994,而检测时间较培养法缩短 3~7 倍。综上所述,CLIA 法在特异性、灵敏度、分析时间等方面完全可以满足食品中病原微生物快速检测的要求。

3.2 食品中生物毒素的检测

目前检测生物毒素的常用方法有化学法、生物法、免疫化学法等。上述方法虽都有一定优点,但尚存在不足。CLIA 将高灵敏的化学发光技术与高特异性的免疫反应结合起来,具有灵敏度高、特异性强、线性范围宽、分析速度快、标记物稳定性好、检测结果稳定、仪器操作简单、价廉经济等优点,检测限可达 ng/kg,目前适用于食品中生物毒素检测。

Fang 等^[30]建立了农产品中黄曲霉毒素 B₁ 的化学发光免疫分析方法。该方法线性检测范围在 0.05~10.00 ng/g 之间,灵敏度为 0.01 ng/g,板间及板内变异系数分别为 12.2% 及 10.0%,回收率在 79.8%~115.4%之间。同时,与黄曲霉毒素商品化酶联免疫试剂盒进行了相关性试验,相关系数为 0.9098,显示其有较好的应用前景。Lu 等^[31]建立了一种基于以对碘苯酚为增强剂的 HRP-Luminol-H₂O₂ 化学发光体系的直接竞争化学发光酶免疫分析法检测农产品中的黄曲霉毒素 B₁。该方法的检测限为 0.01 ng/g,线性检测范围为 0.05 ~10.00 ng/g,样品添加回收率为 79.8%~115.4%,批内与批间变异系数均小于 15%。与 ELISA 法具有良好的相关性, $R^2=0.9098$ 。Magliulo 等^[32]建立了一个检测牛奶中的黄曲霉毒素 M₁ 的 CLEIA。该方法的定量检测限为 1 pg/L,线性范围为 1 ~200 pg/L; 牛奶样品的添加回收率为 96%~122%,批间批内变异系数均低于 9%。与高效液相色谱(HPLC)分析方法相关性良好,相关系数 $R^2=0.98$,CLEIA 非常适用于大量牛奶样品黄曲霉毒素 M₁ 的检测,具有假阳性率低,分析时间短,检测的成本降低且灵敏、准确。

Quan 等^[33]利用 CLEIA 检测伏马菌素 B₁, 线性范围为 0.14~0.90 $\mu\text{g/L}$,灵敏度为 0.32 $\mu\text{g/L}$,检测限为 0.09 $\mu\text{g/L}$,灵敏度比 ELISA 提高了 10 倍以上。何庆华等^[34]建立了一种检测谷物中伏马菌素 B₁ 的直接竞争化学发光酶免疫方法,方法的 IC₅₀ 为 1.43 ng/mL,检测限为 0.13 ng/mL,玉米样品的加标回收率为

100.2%~115.4%，与酶联免疫吸附检测试剂盒、高效液相色谱检测结果的相关系数分别为 0.9793、0.9851。

Yang 等^[35]建立了食品中葡萄球菌肠毒素 B(SEB)的碳纳米管的化学发光免疫分析方法，牛奶、苹果汁和婴儿食品中的 SEB 最低检测限为 0.01 ng/mL，而 ELISA 的最低检测限为 1 ng/mL。Luo 等^[36]建立了一种检测葡萄球菌肠毒素 C₁(SEC₁)的快速、灵敏、简单、高通量的化学发光免疫分析法，检测范围为 8.0~125.0 ng/mL，最低检测限为 0.5 ng/mL。添加回收率分别为 92%~108%和 92%~101%，与 ELISA 的结果一致。

Garber 等^[37]建立了检测 40 种食品中的相思子毒素的 ECL 和 ELISA 方法，结果 ECL 方法的检测范围 (0.1~0.5 ng/mL) 低于传统 ELISA 方法 (0.5~10.0 ng/mL)，表明 ECL 检测灵敏度高于 ELISA。刘星等^[38]建立了间接竞争化学发光酶免疫法检测赭曲霉毒素 A，该方法 IC₅₀ 为 112 pg/mL，检出限是 2.47 pg/mL，小麦和玉米样品的平均回收率为 66.97%~97.96%，与商品化 ELISA 试剂盒的相关系数 $R^2=0.9424$ 。

3.3 食品中农药残留的检测

农药的使用及农药在生产过程中由于工业排放而导致的环境污染导致了这些化学物质及其代谢物在食品中残留。美国、欧盟及其他国家已经理发来规范农药在食品中的残留。食品中农药残留可以造成化学性食物中毒，低浓度的残留对人体也具有潜在的危害。目前研究较多的农药残留检测技术主要化学检测法、酶抑制法和仪器分析法，这些方法在实际运用中都存在缺陷。因此，开发高灵敏度的免疫分析方法是兽药残留免疫分析领域发展的必然趋势。

Alexandra 等^[39]建立了 DDT 及其代谢产物如 DDD, DDE 的化学发光酶联免疫检测方法。该方法 DDT 和 DDT 类物质最低检测限分别为 0.06、0.04 μg/L，IC₅₀ 分别为 0.6、0.2 μg/L，检测范围分别为 0.1~2.0 μg/L、0.07~1.00 μg/L，灵敏度比 ELISA 高出 4 倍。方法具有很好的相关性。Tudorache 等^[40]建立一种检测阿特拉津的磁性粒子化学发光酶免疫法该方法的检测限 3 pg/L，IC₅₀ 为 37 pg/L，线性范围 10~1000 pg/L。Waseem 等^[41]采用流动注射化学发光免疫分析方法检测西草净，其检测范围为 0.01~2 μg/L，最低检测限为 7.5 ng/mL，回收率 97%~104%。

Chen 等^[42]建立了检测蔬菜中敌敌畏的 CLIA 方法，检测限达到 0.42 ng/L，线性范围为 5~8000 ng/L，检测时间较 ELISA 缩短。Jin 等^[43]建立了化学发光免疫分析方法检测蔬菜水果中三唑磷农药，其检测范围为 0.04~5.00 ng/mL，最低检测限为 0.063 ng/mL，添加回收率在 67%~122%范围内，与液质串联质谱法进行相关性分析，结果显示良好的相关性($R^2=0.8996$)。

3.4 食品中兽药残留的检测

兽药对改善动物的生存条件、降低动物的发病率和死亡率及促进养殖业增产等具有极其重要的作用，是当前养殖业不可缺少的物质基础。但由于科学用药知识的缺乏和经济利益的驱使，滥用兽药和非法使用禁用兽药，致使少量的药物原体、有毒代谢物、降解物及杂质等残留在动物的肉和各种组织中，即兽药残留。随着化学发光分析方法研究的深入，通过化学发光技术检测兽药残留的报道逐渐增多。化学发光分析用于兽药残留检测的方式通常有两种：一是根据化学发光反应，采用直接法或采用间接法检测兽药残留^[44]；二是化学发光作为检测器与其它技术联用，如化学发光还可与高效液相色谱联用，实现残留物的在线检测^[45]。

Liu 等^[46]建立了一种检测鸡肉和猪肉中磺胺二甲异恶唑、磺胺噻唑、磺胺-5-(对)甲氧嘧啶、磺胺甲氧嘧啶和磺胺吡啶残留的化学发光酶联免疫方法。在优化条件下，五个磺胺类药物的检测限为 0.10~0.43 μg/L，在鸡肉和猪肉的添加回收率为 62.1%~110.3%，与高效液相色谱具有良好的相关性($R^2=0.9379$)。Wu 等^[47]建立了化学发光免疫分析方法检测磺胺-5-甲氧嘧啶。该方法的最低检测限为 3.2 pg/mL，线性范围为 10~2000 pg/mL，变异系数小于 18%，牛奶鸡蛋中的添加回收率在 85%~105%之间。Zhang 等^[48]建立 CLIA 检测食品中的磺胺时，结果与 HPLC 的相关系数为 $r=0.93$ 。

Zhang 等^[49]建立了 CLEIA 检测鸡肉中的氯霉素的含量，检测极限是 6 ng/L，灵敏度比 ELISA 法提高 10 倍。Xu 等^[50]利用 CLEIA 测定虾体内的氯霉素残留，检测限可达 0.01 ng/mL，检测线性范围为 0.03~23.70 ng/mL，回收率为 95%~123%，优于 ELISA。

Cao 等^[51]建立了一种检测牛奶中恩诺沙星残留的化学发光酶联免疫吸附方法。优化后方法的 IC₅₀

为 0.1 $\mu\text{g/L}$, 线性范围为 0.025~0.500 $\mu\text{g/L}$, 特异性好, 与其他九个氟喹诺酮类药物无交叉反应, 牛奶中恩诺沙星残留检测回收率为 92.6~105.2%, 变异系数为 2.4~9.5%。Ding 等^[52]建立了一种间接竞争化学发光酶联免疫吸附法检测牛奶中加替沙星残留, 方法的 IC_{50} 为 0.4 $\mu\text{g/L}$, 检测限为 0.001 $\mu\text{g/L}$ 。所建立的方法在灵敏度和检测范围方面比酶联免疫吸附法有着显著的改善。这些方法检测限均低于我国及欧盟规定在动物性食品中 FQs 单个药物最高残留限量 0.01~1.90 mg/kg。

胥传来等^[53]建立了一种检测猪尿中盐酸克伦特罗残留的化学发光酶免疫方法, 方法线性范围为 0.04~25.8 $\mu\text{g/L}$, 检测限为 0.01 $\mu\text{g/L}$, 回收率为 98~120%, 完全可以满足食品中克伦特罗的检测要求, 比 ELISA 法时间短, 灵敏度高。Ji 等^[54]建立了一种检测克伦特罗的毛细管电泳-化学发光免疫分析方法。方法的检测线性范围为 1.57~12.55 $\mu\text{g/L}$, 最低检测限为 0.38 $\mu\text{g/L}$, 充分体现了毛细管电泳对样品高效分离性和化学发光免疫分析的高灵敏度的优点。

4 展 望

近年来, 常有形形色色的危及食品安全的事件发生, 其涉及面包括粮食、蔬菜、肉类和饮用水、饮料等几乎所有的生活必需品, 任何人都无法避免。因此, 卫生部的一些专家指出, 目前当务之急是建立全国统一的食品检测系统, 以及从速统一检测方法和质量控制措施, 当然, 完善检测手段也是当务之急。

CLIA 具有特异性强、灵敏度高、准确、操作简单、快速等优点, 它将化学分析方法和免疫学分析方法的优点融合了起来, 满足食品质量安全快速、准确检测的要求, 日益受到人们的青睐。CLIA 方法作为一种高选择、高灵敏度检测方法, 已经被广泛用于抗原、抗体和半抗原的免疫测定, 为食品安全检测提供了一种超痕量的免疫检测手段, 在食品安全分析方面具有广阔的应用前景。随着各种自动发光分析仪器的面市, 以及不同类型的化学发光免疫分析试剂盒的不断推出, 在食品安全检测中将不断显示其优越性, 起到越来越重要的作用, 这也是其他方法和手段不可比拟的, 势必进一步推动化学发光免疫分析技术的迅速发展, 成为快速检测技术发展的新趋势。

参考文献

- [1] Halmann M, Velan B, Sery T. Rapid identification and quantitation of small numbers of microorganisms by a chemiluminescent immune reaction [J]. Appl Environ Microbiol, 1977, 34(5): 473-477.
- [2] Roda A, Pasini P, Guardigli M, *et al.* Bio and chemiluminescence in bioanalysis [J]. Fresenius J Anal Chem, 2000, 366(6): 752-759.
- [3] Zhao LX, Sun L, Chu XG. Chemiluminescence immunoassay [J]. Trends Anal Chem, 2009, 28(4): 404-415.
- [4] Fan A, Cao ZJ, Li H, *et al.* Chemiluminescence platforms in immunoassay and DNA analyses [J]. Anal Sci, 2009, 25(5): 587-597.
- [5] Wu J, Fu ZF, Yan F, *et al.* Biomedical and clinical applications of immunoassays and immunosensors for tumor markers[J]. Trends Anal Chem, 2007, 26(7): 679-688.
- [6] Ji XH, He ZK, Ai XP, *et al.* Determination of clenbuterol by capillary electrophoresis immunoassay with chemiluminescence detection [J]. Talanta, 2006, 70(2): 353-357.
- [7] Sarter S, Zakhia N. Chemiluminescent and bioluminescent assays as innovative prospects for mycotoxin determination in food and feed [J]. Luminescence, 2004, 19(6): 345-351.
- [8] Xu CL, Peng CF, Liu YB. Chemiluminescence enzyme immunoassay (CLEIA) for the determination of chloramphenicol residues in aquatic tissues[J]. Luminescence, 2006, 21: 126-128.
- [9] 李美佳. 当代免疫学技术与应用[M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998: 549-561.
Li MJ. Technology and application of modern immunology [M]. Beijing: Unionsverlag of Peking Union Medical College and China Medical University Publishing House of Peking Union Medical College and China Medical University, 1998, 549-561.
- [10] 邱云青, 李凤琴. 化学发光免疫分析技术在食品有害因素检测中的应用[J]. 国外医学(卫生学分册), 2009, 36(6): 373-374.
Qiu YQ, Li FQ. Application of Chemiluminescence immunoassay technology in food detection of harmful factors [J]. Foreign Med Sci (Sect Hyg), 2009, 36(6): 373-374.
- [11] 邵晓东. 鲁米诺化学发光体系在药物和环境分析中的应用及反应机理研究[D]. 西北大学, 2008.
Shao XD. The thesis described the basic principles and the applications of chemiluminescence in pharmaceutical environmental analysis [D]. Northwestern University, 2008.
- [12] 林金明. 化学发光基础理论与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 26.
Lin JM. Chemiluminescence Basic Theory and Application [M]. Beijing: Chemical Engineering Press, 2004: 26.
- [13] Weeks I, Beheshti I, McCapra F, *et al.* Acridinium esters as high-specific-activity labels in immunoassay [J]. Clin Chem,

- 1983, 29(8): 1474–1479.
- [14] 尹东光, 贺佑丰, 刘一兵, 等. 几种主要化学发光物质的发光性能及其化学发光免疫分析体系[J]. 标记免疫分析与临床, 2002, 9(4): 225–230.
- Yi DG, He YF, Liu YB, *et al.* Several major light-emitting properties of chemical substance and Chemiluminescence Immunoassay Assay System [J]. Labeled Immunoassays Clin Med, 2002, 9(4): 225–230.
- [15] Vidziunaite R, Mikulskis P, Kulys J. Chemiluminescence immunoassay (CLIA) for the detection of brucellosis and tularaemia antigens[J]. J Biolumin Chemilumin, 1995, 10(4): 199–203.
- [16] Dotsikas Y, Loukas YL. Effect of the luminol signal enhancer selection on the curve parameters of an immunoassay and the chemiluminescence intensity and kinetics [J]. Talanta, 2007, 71(2): 906–910.
- [17] 金茂俊, 邵华, 金芬, 等. 化学发光免疫分析方法的研究及应用[J]. 农产品质量与安全, 2012, 2: 43–44.
- Jin MJ, Shao H, Jin F, *et al.* Application of chemiluminescence immunoassay [J]. Qual Safe Agri-prod, 2012, 2: 43–44.
- [18] Xiao Q, Li HF, Hu GM, *et al.* Development of a rapid and sensitive magnetic chemiluminescent enzyme immunoassay for detection of luteinizing hormone in human serum [J]. Clin Biochem, 2009, 42: 1461–1467.
- [19] Bronstein I, McGrath P. Chemiluminescence lights up [J]. Nature, 1989, 338(6216): 599–600.
- [20] 高荣, 赵一泽, 赵建增. 化学发光免疫分析技术应用研究进展[J]. 中国生物制品学杂志, 2008, 21(4): 339–342.
- Gao R, Zhao YZ, Zhao JZ. Application of chemiluminescence immunoassay [J]. Chin J Biologicals, 2008, 21(4): 339–342.
- [21] Bi S, Zhou H, Zhang SS, *et al.* Multilayers enzyme-coated carbon nanotubes as biolabel for ultrasensitive chemiluminescence immunoassay of cancer biomarker [J]. Biosen Bioelectron, 2009, 24: 2961–2966.
- [22] Leland JK, Powell MJ. Electrogenenerated chemiluminescence: an oxidative-Reduction type ECL reaction sequence using tripropyl amine [J]. J Electrochem Soc, 1990, 137(10): 3127–3131.
- [23] 赵利霞, 李振甲, 魏彦林, 等. 化学发光免疫分析[J]. 世界科技研究与发展, 2004, 26: 24–33.
- Zhao LX, Li ZJ, Wei YL, *et al.* Chemiluminescence Immunoassay [J]. World Sci-tech R & D, 2004, 26: 24–33.
- [24] 刘师文, 王刘花, 许杨. 化学发光免疫分析在食品安全检测中的运用[J]. 食品工业科技, 2010, 31(3): 372–374.
- Liu SW, Wang LH, Xu Y. Application of chemiluminescence immunoassay in food safety detection [J]. Sci Technol Food Ind, 2010, 31(3): 372–374.
- [25] 张军瑞, 陈健, 刘仲明. 电化学发光免疫检测技术研究进展[J]. 分析化学, 2010, 38(8): 1219–1226.
- Zhang JR, Chen J, Liu ZM. Progress of Electrochemiluminescence Immunoassay Technology [J]. Chin J Anal Chem, 2010, 38(8): 1219–1226.
- [26] 朱广华, 贺艳峰, 郭小英, 等. 化学发光磁酶免疫法检测 O157:H7 大肠埃希菌[J]. 高等学校化学学报, 2006, 27: 1453–1455.
- Zhu GH, He YF, Guo XY, *et al.* Determination of Escherichia Coli O157:H7 in Food Based on Chemiluminescent Magnetic Enzyme-linked Immunoassay [J]. Chem J Chin Univ, 2006, 27: 1453–1455.
- [27] Gehring AG, Albin DM, Irwin PL, *et al.* Comparison of enzyme-linked immunomagnetic chemiluminescence with US Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual method for the detection of Escherichia coli O157:H7 [J]. J Microbiol Meth, 2006, 67: 527–533.
- [28] Magliulo M, Simoni P, Guardigli M, *et al.* A rapid multiplexed chemiluminescent immunoassay for the detection of *Escherichia coli* O157: H7, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* pathogen bacteria [J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(13): 4933–4939.
- [29] 朱林江, 郑飞云, 李琦, 等. 啤酒腐败菌的检测方法[J]. 食品科学, 2007, 28: 360–366.
- Zhu LJ, Zheng FY, Li Q, *et al.* Methods Review for Beer Spoilage Detection [J]. Food Sci, 2007, 28: 360–366.
- [30] Fang LQ, Chen H, Ying XT, *et al.* Microplate chemiluminescence enzyme immunoassay for aflatoxin B₁ in agricultural products [J]. Talanta, 2011, 84(1): 216–222.
- [31] Lu Q, Chen H, Ying X. Microplate chemiluminescence enzyme immunoassay for aflatoxin B₁ in agricultural products [J]. Talanta, 2011, 84(1): 216–222.
- [32] Magliulo M, Mirasoli M, Simoni P, *et al.* Development and validation of an ultrasensitive chemiluminescent enzyme immunoassay for aflatoxin M₁ in milk [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(9): 3300–3305.
- [33] Quan Y, Zhang Y, Wang W, *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.
- [34] 何庆华, 许扬, 刘师文. 直接竞争化学发光酶免疫法检测谷物中的伏马菌毒素 B₁[J]. 食品科学, 2012, 33(22): 173–176.
- He QH, Xu Y, Liu SW. Determination of Fumonisin B₁ in Cereal Samples by Direct Competitive Chemiluminescence Enzyme Immunoassay [J]. Food Sci, 2012, 33(22): 173–176.
- [35] 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(22): 8532–8537.

- [36] Luo LR, Zhang ZJ, Chen LJ, *et al.* Chemiluminescent imaging detection of staphylococcal enterotoxin C1 in milk and water samples [J]. *Food Chem*, 2006, 97: 355–360.
- [37] Garbere A, Walker JL, O BRIENT W. Detection of abrin in food using enzyme-linked immunosorbent assay and electrochemiluminescence technologies [J]. *J Food Prot*, 2008, 71(9): 1868–1874.
- [38] 刘星, 许扬, 何庆华. 谷物中赭曲霉毒素A化学发光酶免疫分析法的建立[J]. *食品与发酵工业*, 2011, 37(4): 204–208.
Liu X, Xu Y, He QH. Development of Chemiluminescence Enzyme Immunoassay for the Determination of Ochratoxin A in Cereal [J]. *Food Ferment Ind*, 2011, 37(4): 204–208.
- [39] 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.
- [40] Tudorache M, Tencaliec A, Camelia B. Magnetic bead-based immunoassay as a sensitive alternative for atrazine analysis [J]. *Talanta*, 2008, 77: 839–843.
- [41] Waseem A, Yaqoob M, Nabi A. Photodegradation and flow-injection determination of simetryn herbicide by luminol chemiluminescence detection [J]. *Anal Sci*, 2008, 24(8): 979–983.
- [42] Chen XM, Lin ZJ, Cai ZM, *et al.* Electrochemiluminescence detection of dichlorvos pesticide in luminol 3/CTAB medium [J]. *Talanta*, 2008, 76: 1083–1087.
- [43] 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, 77(5): T99–T104.
- [44] 吴风武, 何治柯, 罗庆尧, 等. 化学发光分析新进展[J]. *分析测试学报*, 2000, 19(1): 81–88.
Wu FW, He ZK, Luo QY, *et al.* Recent Development of Chemiluminescence Analysis [J]. *J Instrum Anal*, 2000, 19(1): 81–88.
- [45] Nelstrop LJ, Greenwood PA, Greenway GM. An investigation of electroosmotic flow and pressure pumped luminol chemiluminescence detection for cobalt analysis in a miniaturised total analytical system [J]. *Lab Chip*, 2001, 1(2): 138–142.
- [46] Liu JW, Fang GZ, Zhang Y, *et al.* Development of a chemiluminescent enzyme-linked immunosorbent assay for five sulfonamide residues in chicken muscle and pig muscle [J]. *J Sci Food Agr*, 2008, 18(1): 80–87.
- [47] Wu Y, Yu S, Yu F, *et al.* Chemiluminescent enzyme immunoassay for the determination of sulfamethoxydiazine [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Mol Biomol Spectrosc*, 2011, 81: 544–547.
- [48] Zhang HY, Zhang Y, Wang S, *et al.* Validation and comparative studies of four sulfonamide immunoassays based on the same generic polyclonal antibody [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2008, 158(3): 642–652.
- [49] Zhang S, Zhang Z, Shi W, *et al.* Development of a chemiluminescent ELISA for determining chloramphenicol in chicken muscle [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(16): 5718–5722.
- [50] Xu CL, Peng CF, Liu YB, *et al.* Chemiluminescence enzyme immunoassay (CLEIA) for the determination of chloramphenicol residues in aquatic tissues [J]. *Luminescence*, 2006, 21: 126–128.
- [51] Cao Z, Meng M, Lu S, *et al.* Development of an indirect chemiluminescent competitive ELISA to detect danofloxacin residues in milk [J]. *Anal Letts*, 2011, 6(44): 1077–1084.
- [52] Ding K, Zhao C, Cao Z, *et al.* Chemiluminescent detection of gatifloxacin residue in milk[J]. *Anal Lett*, 2009, 3(42): 505–518.
- [53] 胥传来, 彭池方, 郝凯, 等. 化学发光酶免疫方法检测克伦特罗残留[J]. *分析化学*, 2005, 33(5): 699–702.
Xu CL, Peng CF, Hao K, *et al.* Determination of Clenbuterol Residual by Chemiluminescent Enzyme Immunoassay [J]. *Chin J Anal Chem*, 2005, 33(5): 699–702.
- [54] Ji XH, He ZK, Yang HY, *et al.* Determination of clenbuterol by capillary electrophoresis immunoassay with chemiluminescence detection [J]. *Talanta*, 2006, 70: 353–357.

(责任编辑: 赵静)

作者简介



张燕, 硕士研究生, 主要研究方向为食品质量安全。
E-mail: dearyz@126.com



孙远明, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为食品安全、食品营养。
E-mail: ymsun@scau.edu.cn