

基于特异性识别生物探针检测食品中 雌激素残留研究进展

Research progress in detection of estrogen residues in food by biological probes based on specific molecular recognition

陈婷婷^{1,2} 王鑫¹ 陶晓奇¹

CHEN Ting-ting^{1,2} WANG Xin¹ TAO Xiao-qi¹

(1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2. 西南大学国家级食品科学与工程实验教学示范中心, 重庆 400715)

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. National Food Science and Engineering Experimental Teaching Demonstration Center, Southwest University, Chongqing 400715, China)

摘要:文章综述了近几年基于特异性识别生物探针的主流检测方法,包括酶联免疫吸附法、侧流免疫层析法以及电化学生物传感器,分析了各类方法的特点,并对其发展方向进行了展望。

关键词:雌激素;快速检测;食品

Abstract: In this study, the main detection methods based on specific molecular recognition of biological probes in recent years are reviewed, including enzyme-linked immunosorbent assay, lateral flow immunoassay and electrochemical biosensor. The advantages and disadvantages of each method are analyzed.

Keywords: estrogen; rapid detection; food

雌激素种类繁多,总体可分为内源性激素和环境雌激素两类。内源性激素由机体分泌产生,包括雌酮(E_1)、雌二醇(E_2)和雌三醇(E_3)等;环境雌激素是生物体通过外界环境摄取,并与机体分泌的雌激素具有相同作用,包括双酚 A(BPA)、己烯雌酚(DES)等^[1-2]。由于 10^{-12} 级别的残留即可对人类内分泌系统产生不良影响^[3],因此食品中雌激素的残留备受关注,且已被美国环境保护局列为紧急关注的污染物。

由于雌激素的非法使用,在地表水甚至是饮用水中均有发现,其浓度范围一般为 $10^{-12} \sim 10^{-9}$ ^[2],并造成了

水生动物体内富含雌激素;同时,西方饮食中 60%~70% 的食源性雌激素来源于牛奶和乳制品^[4]。1996 年欧盟规定禁止使用雌激素作为促生长剂,2002 年《中华人民共和国农业部公告第 235 号》也明确指出,己烯雌酚及其盐、酯为禁止使用药物,在动物食品中不得检出^[5]。

目前,雌激素的检测方法包括高效液相色谱法^[6]、液质联用法^[7]、超高效液相色谱—质谱联用法^[8]等,但仪器昂贵、耗时长和前处理复杂,不适合现场快速检测^[9]。文章拟综述近几年基于特异性识别生物探针的酶联免疫吸附法(ELISA)^[10-11]、侧流免疫层析技术^[12]以及电化学生物传感器^[13]在相关检测中的应用,并分析其原理和特性,以期食品安全监控提供参考。

1 酶联免疫吸附法(ELISA)

ELISA 法操作简单、灵敏度高、成本较低且不需大型仪器设备,适合现场大批量样品的快速检测^[14]。根据检测原理的不同,ELISA 又分为直接竞争 ELISA 和间接竞争 ELISA。

1.1 直接竞争 ELISA

直接竞争 ELISA 是将特定酶标记的抗原或抗体与待测物直接竞争结合抗体或抗原,根据酶催化底物的显色程度对待测物进行定量分析。Chatchaporn 等^[15]通过 ELISA 和重组酵母筛选法相结合的方法,研究了 7 种酶结合物对 8 种抗体的影响,其中酶标抗体($Ab \propto E_2$ -ACT1 #3/EE₂-乙酸 HRP 对)的灵敏度最佳,检测限为 $(0.04 \pm 0.02) \mu\text{g/L}$ 。当加标河水浓度为 $1 \sim 50 \text{ ng/L}$ 时,回收率为 68.6%~252.0%,相对标准偏差为 0.5%~86.3%,该方法与采用气相色谱—质谱法得到的结果具有良好的相关性($r=0.909$)。与间接竞争 ELISA 相比,由于省去了二抗的使用,该方法大大简化了试验操作,缩短了检测时

基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:31672605);重庆市自然科学基金项目(编号:cstc2018jcyjAX0242);重庆市基础科学与前沿技术研究项目(编号:cstc2017jcyjAX0313)

作者简介:陈婷婷,女,西南大学在读本科生。

通信作者:陶晓奇(1986—),男,西南大学副教授,博士。

E-mail:77179000@qq.com

收稿日期:2019-10-10

间,并且可以进行定量分析,检测结果准确可靠,适用于现场众多样品初筛,但检测灵敏度不如间接竞争 ELISA。

生物素—亲和素系统(BAS)是以生物素与亲和素之间高亲和力的牢固结合为基础的系统,并且一个亲和素分子最多可以标记 4 个生物素分子,即 BAS 与 ELISA 联用具有多级放大效应,提高灵敏度。梁祖培等^[16]利用此方法测定牛奶中雌三醇含量,即用经过生物素化的雌三醇单克隆抗体代替 ELISA 中常规的酶标记抗体,再与亲和素—辣根过氧化物酶结合,该方法的 IC_{50} 值为 0.689 ng/mL,检测范围为 0.149~3.270 ng/mL,与单克隆抗体 ELISA 相比,灵敏度提高了 2 倍左右。在实际牛奶样品检测中,平均回收率为 94.9%~115.2%,变异系数为 10.5%~12.8%,该方法不仅可以提高灵敏度,还具有稳定性高、回收率高和重复性好的特点,但亲和素—酶结合物的孵育时间较长(30 min),且样品中存在的复杂多变成分会对反应产生影响。

1.2 间接竞争 ELISA

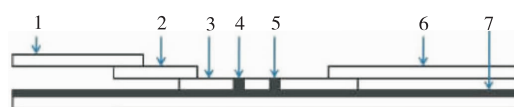
间接竞争 ELISA 是一种利用已知抗原检测未知抗体的检测方法,待检物与抗原在载体表面发生抗原抗体特异性结合,加入酶标二抗及显色底物后,观察显色反应^[17]。白宇等^[18]利用单克隆抗体建立间接竞争 ELISA 来满足食品中残留雌二醇的检测要求,通过优化一抗孵育时间、吐温-20 洗涤液浓度、二抗孵育时间以及 TMB 显色时间 4 个 ELISA 参数以获得特异性高的雌二醇抗体。结果显示,与雌三醇、乙炔雌二醇的交叉反应率为 0.31%,0.25%,与雌酮、雌雌醚等交叉反应率<0.10%。雌二醇标准溶液的 IC_{50} 值为 1.636 ng/mL,线性范围为 0.202~13.281 ng/mL。何方洋等^[19]通过对雌三醇分子结构进行改造得到雌三醇抗原,并对动物免疫得到灵敏度为 0.05 μ g/L 的单克隆抗体,将该抗体与辣根过氧化物酶偶联得到酶标抗体从而建立间接竞争 ELISA 进行雌三醇的测量。雌三醇标准品的检测限为 0.05 μ g/L,测定范围为 0.05~1.35 μ g/L;环境水样品中雌三醇的检测限为 0.25 μ g/L,回收率为 72.00%~108.00%,变异系数<15.00%。

酶联免疫吸附法快速简便且灵敏度高,可以定量检测食品中残留的雌激素;但特异性欠佳,易发生交叉反应,且存在难以实现多组分同时检测、完全自动化以及检测时间较长等问题^[20]。目前该方法需要研究具有高度免疫性的重组抗原来提高免疫原性、开发不同底物显示不同颜色的酶制剂以实现多组分同时检测、与其他检测技术如 PCR 相结合来有效提高检测效率。

2 侧流免疫层析技术

侧流免疫层析技术借助毛细作用使样品在硝酸纤维素膜上泳动,层析过程中免疫复合物被富集在 T 线区域,根据颜色深浅或荧光信号强度,短时间便可得到直观结

果(见图 1)^[21]。目前,示踪材料除传统的荧光素和胶体金外,还有稀土元素、荧光微球、量子点以及磁珠等^[22]。由于其操作简单和快速检测的特点,已被广泛应用于残留雌激素检测中。



1. 样品垫 2. 结合垫 3. 分析膜 4. 质控线(C) 5. 检测线(T) 6. 吸水垫 7. 底板

图 1 免疫层析试纸条结构图^[22]

Figure 1 Immunochromatographic strip structure

2.1 胶体金免疫层析技术

胶体金免疫层析技术是一种用胶体金标记抗体,与待测物形成免疫复合物后被富集在检测带处,达到一定程度时出现肉眼可见的颜色,从而具有直观试验现象的技术^[23]。Wang 等^[24]使用胶体金作为抗体标记物,开发了测定牛奶中 E_1 、 17β - E_2 和 E_3 的 3 种胶体金免疫层析试纸条。 E_1 、 17β - E_2 、 E_3 的检测限分别为 0.053, 0.061, 0.038 ng/mL,线性范围分别为 0.107~1.964, 0.123~1.066, 0.076~2.032 ng/mL。加标牛奶的 E_1 、 17β - E_2 、 E_3 回收率分别为 81.0%~87.9%, 86.8%~99.0%, 87.0%~93.0%,且所测结果与气相色谱—质谱法和 IC-ELISA 的结果一致,10 min 内就能完成对样品的筛选。白宇等^[25]将柠檬酸三钠还原法制备的胶体金颗粒与 E_2 兔多克隆抗体偶联,并优化抗原包被量和多克隆抗体标记量等反应条件组装成试纸条以检测牛奶中雌二醇含量,检测限为 10 μ g/L,对雌酮、己烯雌酚等类似物具有较好的特异性。且该方法不需要复杂的前处理,只需对牛奶进行 2 倍稀释就可直接用于检测,样品判定值为 20 μ g/L,适合现场对大批量牛奶中 E_2 残留的初筛。

由于部分检测结果仍需用肉眼观察,只能用于定性或半定量的检测,且会造成假阳性和假阴性现象;因此,提高检测的灵敏度、实现多元检测以及定量检测等成为该方法的发展方向,目前可以通过联合其他技术或者改进膜结构来提高灵敏度和特异性,且随着胶体金读数仪的发展,可以建立针对现场定量、智能化和功能多样化的快速检测体系,实现胶体金免疫层析技术在基层的广泛应用^[26]。

2.2 荧光免疫层析技术

2.2.1 上转换发光免疫层析法 上转换发光材料是由稀土元素掺杂在惰性材料中形成的纳米级示踪材料^[20],上转换发光免疫层析法是基于上转换发光材料与抗原或抗体结合的一种新型检测方法。姜会聪等^[27]采用戊二醛法将上转化颗粒标记单克隆抗体结合物作为荧光信号探针,以此建立上转换发光免疫层析法检测牛奶中残留雌

二醇。以雌二醇标准溶液为样品,最低检测限为 2.75 ng/mL,线性范围为 5~2 000 ng/mL,变异系数<10%,15 min 内即可完成全部检测,加标牛奶回收率达 88.88%~103.50%,表明该方法适用于现场大批量检测。王瑜等^[28]基于上转换免疫层析试纸条定量检测牛奶中残留的己烯雌酚(DES),将表面功能化修饰后的转换纳米颗粒(UCNPs)-NaYF₄:Yb,Er 与己烯雌酚单克隆抗体偶联制备出新型的荧光探针用于 DES 标准溶液的检测,以牛血清白蛋白-己烯雌酚偶联物和羊抗鼠二抗分别喷涂硝酸纤维膜,形成试纸条检测线和质控线。线性范围为 25~10 000 ng/mL,检测限为 20.84 ng/mL,单个样品检测时间为 15 min,批内和批间样品变异系数均<10%;加标牛奶的平均回收率为 90.1%~115.2%,相对标准偏差<5.0%,与高效液相色谱法相比具有较好的一致性。

由于上转换发光材料具有稳定的发光特性,可以完全消除背景荧光的干扰,从而具有耐用性强、有效期长、灵敏度高和可重复检测等优点。目前,上转换发光免疫层析法主要应用于核酸和病原菌检测,食品安全的现场检测较少,大都停留在实验室阶段。

2.2.2 时间分辨免疫层析法 时间分辨免疫层析法是用镧系稀土元素如[铕(Eu³⁺)]螯合物作为标记示踪物,螯合物经激发后可发射特征性的荧光,根据荧光强度可测得待测物含量^[9]。Janne 等^[29]开发了用于雌二醇检测的高性能非竞争性免疫分析法—时间分辨荧光免疫分析法,并进行了雌二醇残留检测。该方法的灵敏度和特异性较高,检测限为 3.0 pg/mL。同时,该方法也可以对不太复杂的基质(废水等)进行 E₂ 的残留检测。由于稀土离子螯合物荧光寿命长,该方法既具有波长分辨又具有时间分辨,能消除背景荧光干扰,大幅提高检测灵敏度,并且可以实现多组分同时检测。目前对于时间分辨免疫层析技术有望从新型材料的应用、标记物的更新、更理想螯合剂的设计和多组分检测等方面进行研究。

3 电化学生物传感器

电化学生物传感器的原理是待测物质与修饰在电极上的抗体、核酸适配体、分子印记聚合物等生物识别元件结合,导致生物识别元件的结构或活性发生改变,进而转变为电学信号实现对待测物的定量检测。该方法具有检测速度快、抗干扰能力强、响应好和灵敏度高的特点,被广泛应用^[30]。

3.1 生物电化学传感器

Donini 等^[31]基于还原氧化石墨烯(RGO)和银纳米粒子(AgNPs)的协同组合开发了一种改性玻碳电极,用于测定自来水样品中的雌三醇,用扫描电镜和循环伏安法对 RGO-AgNPs 复合材料的形貌和电化学行为进行了表征,表明 RGO 被 Ag 纳米粒子修饰。在最优条件下,检测限为

21.0 nmol/L,线性范围为 0.1~3.0 μmol/L,与传统方法相比,该方法获得了 1.5%的重现性和 1.3%的可重复性,加标自来水的回收率为 96.4%~108.2%。Jodar 等^[32]提出了一种稳定的还原氧化石墨烯(RGO)、金纳米粒子(GNPs)和马铃薯淀粉(PS)传感薄膜,对自来水中的雌三醇进行检测。所得的 RGO-GNPs-PS 电极具有较高的阳极和阴极峰电流,最佳条件下,检测限为 0.48 μmol/L,线性范围为 1.5~22.0 μmol/L。加标自来水的回收率为 100.7%~106.5%,证明该方法可检测水生环境中雌三醇含量。

3.2 免疫电化学传感器

食品安全检测的电化学传感器种类繁多,其中免疫传感器的研究相对较早,发展也相对成熟,它具有方便、体积小、成本低、可实时在线检测以及制备简单等优点^[33]。秦艺菲等^[34]通过在金电极表面修饰羧基化氧化石墨烯—硫堇—纳米金—抗体—抗原的过程,构建了一种应用于水和牛奶中 17β-雌二醇微量检测的电化学免疫传感器。在最优的抗体抗原结合时间和 PBS 缓冲液 pH 条件下,根据电化学工作站测得的电流大小可确定 17β-雌二醇含量,其线性范围为 0.3~3.0 μg/mL,检测限为 50 pg/mL,加标自来水和牛奶的回收率分别为 93.0%~100.8%,99.0%~100.3%,证明该装置可用于实际样品的检测。电化学免疫传感器具有操作简单、灵敏度高、特异性高等特点,但仍存在一些问题,如电极表面抗原抗体的稳定性差、装置构成复杂和未应用到实际现场检测等缺点。

3.3 分子印记电化学传感器

分子印记电化学传感器是以分子印记聚合物(MIPs)作为生物识别元件的检测技术,MIPs 能特异性地与目标物质结合,具有耐受能力强、稳定性好、可重复使用等特点,被广泛用于雌激素检测中。Wen 等^[35]在纳米金薄膜固定到金电极表面形成的纳米电极上合成了 MIPs,检测水、猪肉和牛奶中 17β-雌二醇残留量。最优条件下,检测范围为 1×10⁻¹²~1×10⁻⁵ mol/L,最低检测限为 1×10⁻¹³ mol/L。该方法对与 17β-雌二醇结构相似的化合物不具有亲和力,特异性好。水、猪肉以及牛奶 3 种实际样品的加标回收率为 95.1%~106.0%,相对标准偏差均<6.09%。Messaoud 等^[36]将超声辅助磁性分子印记聚合物固定在用炭黑纳米颗粒和金纳米颗粒组成的纳米复合材料修饰的电极上,检测双酚 A 含量。最优条件下,线性范围为 0.07~10.00 μmol/L,检测限为 8.8 nmol/L,实际水和矿泉水的回收率为 96.4%~104.3%,相对标准偏差为 3.18%~8.30%。

MIPs 具有稳定性好、耐受能力强等优点,故分子印记电化学传感器兼备操作简单、检测快速、灵敏度高、特异性强等特点。但目前的研究主要集中于小分子领域,有望通过印记和识别机理的研究实现新型交联剂和功能

单体的开发,从而逐步过渡到大分子领域的应用探索^[37-38]。

3.4 核酸适配体电化学传感器

核酸适配体是利用体外筛选技术—指数级富集系统进化技术从核酸分子文库获得的单链寡核苷酸序列,其特异性强、亲和力高^[39],在某些应用中可代替抗体作为修饰在电极上的生物识别元件。Alinezhad 等^[40]将雌二醇的裂解 DNA 适配体作为识别探针并固定在金电极表面形成电化学核酸适配体传感器。E₂ 存在时,裂解适配体与 E₂ 结合,在电极表面形成复合物作为桥联物,导致弱电流;无 E₂ 存在时,电流增强。该传感器无需复杂的操作程序和昂贵的设备,可在 30 min 内识别雌二醇。其线性范围为 $1.2 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-4} \mu\text{mol/L}$ 和 $1.0 \times 10^{-4} \sim 7.0 \times 10^{-3} \mu\text{mol/L}$,检测限为 $5.0 \times 10^{-7} \mu\text{mol/L}$ 。自来水样品的检测限为 $5.0 \times 10^{-7} \mu\text{mol/L}$;牛奶的检测限为

$7.0 \times 10^{-7} \mu\text{mol/L}$,线性范围为 $3.0 \times 10^{-6} \sim 3.0 \times 10^{-4} \mu\text{mol/L}$ 和 $3.0 \times 10^{-4} \sim 9.0 \times 10^{-3} \mu\text{mol/L}$,回收率为 89.4%~101.7%,相对标准偏差为 1.8%~6.4%。电化学核酸适配体传感器简便快捷、成本低廉并可实现现场大批量检测,核酸适配体的寡核苷酸性质使其十分易于与各种核酸、核酸酶等生物信号放大技术相结合,从而大大提高生物传感器的分析灵敏度^[41]。但核酸适配体链和互补链杂交时间较长,导致响应时间长,同时该方法对环境条件变化敏感,稳定性欠佳。

电化学生物传感器具有灵敏度高和检测重复性好等优势,但目前研制出的电化学生物传感器大多只能检测一种物质,不能满足同时检测多种物质的需求,研究电极新型修饰材料、改变电极表面微观结构、实现电化学生物传感器智能化、高效化、商业化、便携化是推动其广泛应用的主要发展方向。

表 1 雌激素的快速检测方法比较

Table 1 Comparison of rapid detection methods for estrogen

检测方法	优点	缺点
酶联免疫吸附法	操作简单、灵敏度高、成本低 ^[14]	难以实现自动化、难以多组分同时检测 ^[20]
胶体金免疫层析技术	操作简单、结果直观、快速便捷、耗时短 ^[23]	灵敏度相对不高 ^[26]
上转换发光免疫层析技术	可实现定量检测、稳定性好、灵敏度高、耗时短 ^[22]	制备成本较高
时间分辨免疫层析技术	可实现多组分检测、灵敏度高 ^[9]	成本高
电化学生物传感器	操作简单、响应快、实时动态定量检测 ^[30]	装置构成复杂、多步修饰电极

4 结论与展望

文章综述了基于特异性识别生物探针的 ELISA、侧流免疫层析法以及电化学生物传感器 3 种检测方法(见表 1),ELISA 操作简单灵敏度高,但检测时间过长;侧流免疫层析法在检测时间上取得优势,却难以实现定量检测;电化学生物传感器可达到线上定量检测,却存在操作复杂等缺点。基于目前的雌激素快速检测方法,未来可从以下几个方面进行突破:① 发展既能实现多组分同时检测,又能达到特异性强、灵敏度高、结果准确可靠、不容易出现假阳性或假阴性结果的快速检测方法;② 减少样品前处理等复杂操作步骤,提高现场自动化检测能力;③ 利用量子点、核酸适配体、分子印记聚合物等新型生物识别分子和纳米材料的结合开发研究新型分析技术,比如应用在电化学生物传感器的电极修饰上;④ 研制相关电子设备以实现线上直接分析结果,推动现场检测智能化。

参考文献

[1] 卢安根,黄志标,杜寒春,等. 水产品中环境雌激素特性及检测技术研究进展[J]. 广西科学院学报, 2011, 27(3): 269-272.

[2] 李建平. 水中雌激素类内分泌干扰物检测技术研究进展[J]. 职业与健康, 2018, 34(17): 2 440-2 444.

[3] WANG Shu, LI Yun, DING Mei-juan, et al. Self-assembly molecularly imprinted polymers of 17 β -estradiol on the surface of magnetic nanoparticles for selective separation and detection of estrogenic hormones in feeds[J]. Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2011, 879(25): 2 595-2 600.

[4] 白宇,胡景炎,张井. 食源性雌二醇残留检测技术研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(12): 253-261.

[5] 宫向红,徐英江,张秀珍,等. 气相色谱-质谱法测定水产品中的己烯雌酚[J]. 食品科学, 2009, 30(2): 168-169.

[6] 邓维琴,李阿霜,彭贤,等. 高效液相色谱-紫外检测法测定微生物降解体系中己烯雌酚含量[J]. 食品与机械, 2016, 32(1): 51-55.

[7] 徐鸿. 固相萃取-液相色谱-串联质谱法检测水中 4 种雌激素[J]. 供水技术, 2017, 11(2): 56-58.

[8] 韩智,王会霞,龚蕾,等. UPLC-MS/MS 同时测定红糖中 9 种雌性激素[J]. 食品与机械, 2019, 35(5): 96-100.

[9] 张泸文,余婉松,夏苏捷,等. 基于表面增强拉曼光谱的养殖水中五氯酚残留检测[J]. 食品与机械, 2019, 35(12): 82-86, 157.

[10] HOLGER H, CHRISTIAN K, MAREN K, et al. LC-ELISA as a contribution to the assessment of matrix effects

- with environmental water samples in an immunoassay for estrone (E_1) [J]. Accreditation and Quality Assurance, 2018, 23(6): 349-364.
- [11] MANICKUM T, JOHN W. The current preference for the immuno-analytical ELISA method for quantitation of steroid hormones (endocrine disruptor compounds) in wastewater in South Africa[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2015, 407(17): 4 949-4 970.
- [12] CHAINGAM J, KITISIRIPANYA T, KRITTANAI S, et al. Development of a simple and rapid method for the detection of isomiroestrol in Pueraria candollei by an immuno-chromatographic strip test [J]. Journal of Natural Medicines, 2019, 73(3): 577-583.
- [13] ALIREZA N, RAHIM N, BEHROUZ G, et al. Nanomaterial-based aptasensors and bioaffinity sensors for quantitative detection of 17β -estradiol[J]. Trends in Analytical Chemistry, 2017, 94: 95-105.
- [14] 戚平, 刘佳, 毛新武, 等. 食品中色素检测的研究进展[J]. 食品与机械, 2018, 34(11): 167-173.
- [15] CHATCHAPORN U, ROBIN D A, CHUNHUA L, et al. 17β -Estradiol residues and estrogenic activities in the Hawkesbury River, Australia[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 164: 363-369.
- [16] 梁祖培, 冯观萍, 吴民富, 等. 生物素-亲和素放大酶联免疫吸附法测定牛奶中雌三醇[J]. 广东化工, 2018, 45(11): 72-75.
- [17] 顾建华. 酶联免疫吸附方法检测卵黄蛋白原在研究环境雌激素中的应用[J]. 生命科学仪器, 2006, 4(2): 12-14.
- [18] 白宇, 胡景炎, 许永鹏, 等. 雌二醇单克隆抗体制备及间接竞争 ELISA 检测方法的建立[J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44(10): 3 100-3 105.
- [19] 何方洋, 杨昌松, 韩深, 等. 应用酶联免疫法测定环境水样中雌三醇的残留量[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(6): 1 422-1 426.
- [20] 王佳, 陶晓奇. 动物源食品中磺胺类药物残留的免疫分析方法研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(10): 260-267.
- [21] 黄超, 张文帅, 张黎, 等. 基于上转化发光免疫层析技术建立发热伴血小板减少综合征病毒总抗体快速检测方法[J]. 江苏预防医学, 2015, 26(4): 1-3.
- [22] 任志奇, 吴英松, 刘天才. 新型免疫层析技术的研究进展[J]. 广东医学, 2013, 34(2): 312-314.
- [23] 李靖靖, 郭林. 免疫法检测瘦肉精的现状及其发展[J]. 食品与机械, 2012, 28(3): 266-269.
- [24] WANG Zhong-xing, GUO Ling-ling, LIU Li-qiang, et al. Colloidal gold-based immunochromatographic strip assay for the rapid detection of three natural estrogens in milk[J]. Food Chemistry, 2018, 259: 122-129.
- [25] 白宇, 张井, 胡景炎, 等. 牛奶中雌二醇胶体金试纸条快速检测技术研究[J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44(11): 3 351-3 357.
- [26] 陆必科. 胶体金免疫层析技术在兽药残留检测中的应用及发展前景[J]. 饲料博览, 2014(7): 46-50.
- [27] 姜会聪, 任舒悦, 王瑜, 等. 上转换发光免疫层析法快速检测牛奶中雌二醇[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(3): 119-123.
- [28] 王瑜, 任舒悦, 姜会聪, 等. 上转换发光免疫层析试纸条快速定量检测己烯雌酚[J]. 分析化学, 2017, 45(1): 35-41.
- [29] LEIVO J, KIVIMÄKI L, JUNTUNEN E, et al. Development of anti-immunocomplex specific antibodies and non-competitive time-resolved fluorescence immunoassay for the detection of estradiol [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2019, 411(22): 5 633-5 639.
- [30] 王紫梦, 鲁迨, 石星波, 等. 食品中丙烯酰胺检测新技术研究进展[J]. 食品与机械, 2016, 32(10): 210-214, 220.
- [31] CARUANE A D, MARTIN K L D S, RAFAEL P S, et al. Reduced graphene oxide modified with silver nanoparticles for the electrochemical detection of estriol[J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2018, 809: 67-73.
- [32] LETÍCIA V J, FABRÍCIO A S, VALTENCIR Z, et al. Electrochemical sensor for estriol hormone detection in biological and environmental samples[J]. Journal of Solid State Electrochemistry, 2018, 22(5): 1 431-1 438.
- [33] 王延新, 谢书宇, 陈冬梅, 等. 电化学免疫传感器在食品安全检测中的研究进展[J]. 畜牧兽医学报, 2018, 49(7): 1 334-1 342.
- [34] 秦艺菲, 冷雪琪, 宋晓蕾, 等. 无标电化学免疫传感器灵敏检测 17β -雌二醇[J]. 曲阜师范大学学报: 自然科学版, 2017, 43(2): 78-83.
- [35] WEN Tao, WANG Meng-long, LUO Mei, et al. A nanowell-based molecularly imprinted electrochemical sensor for highly sensitive and selective detection of 17β -estradiol in food samples[J]. Food Chemistry, 2019, 297: 1-7.
- [36] NAJIB B M, ABDELLATIF A L, CHÉRIF D, et al. Ultrasound assisted magnetic imprinted polymer combined sensor based on carbon black and gold nanoparticles for selective and sensitive electrochemical detection of Bisphenol A[J]. Sensors and Actuators B-chemical, 2018, 276: 304-312.
- [37] 田艳丽, 朱秋劲, 台红杏, 等. 选择性识别酪胺分子印迹聚合物的制备及其表征[J]. 食品与机械, 2014, 30(3): 54-58, 210.
- [38] 李俣珠, 李增威, 曾月, 等. 分子印迹传感器的制备方法与应用进展[J]. 化学世界, 2019, 60(8): 465-475.
- [39] 季兆洁, 王雷, 陈云娜, 等. 基于核酸适配体的生物分析新方法研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(7): 1 387-1 391.
- [40] NAMEGHI M A, DANESH N M, RAMEZANI M, et al. An ultrasensitive electrochemical sensor for 17β -estradiol using split aptamers[J]. Analytica Chimica Acta, 2019, 1 065: 107-112.
- [41] 陈志超. 基于生物信号放大技术的核酸适配体传感新方法研究[D]. 黄石: 湖北师范大学, 2019: 1.