

免疫分析技术在金刚烷胺残留检测中的应用

Application of immunoassay in the detection of amantadine residues

王琳^{1,2,3} 王耀^{1,2} 胡晓飞³ 王成宾^{1,2,3} 吴佳蓓^{1,2,3}

WANG Lin^{1,2,3} WANG Yao^{1,2} HU Xiao-fei³ WANG Cheng-bin^{1,2,3} WU Jia-bei^{1,2,3}

(1. 河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471000;

2. 河南省食品绿色加工与质量安全控制国际联合实验室, 河南 洛阳 471000;

3. 河南省农业科学院动物免疫学重点实验室, 河南 郑州 450002)

(1. Food and Bioengineering College, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan

471000, China; 2. Henan International Joint Laboratory of Food Green Processing and Quality Safety

Control, Luoyang, Henan 471000, China; 3. Key Laboratory of Animal Immunology, Henan Academy

of Agricultural Sciences, Zhengzhou, Henan 450002, China)

摘要:文章总结并分析了应用于金刚烷胺残留检测中的酶联免疫、免疫层析、化学发光免疫分析技术等,并对其发展进行了展望。

关键词:金刚烷胺; 残留; 检测; 免疫分析

Abstract: This review summarized and analyzed the immunoassay techniques, such as enzyme-linked immunosorbent assay, immunochromatographic assay, and chemiluminescence immunoassay, which have been applied in the detection of amantadine residue, and provides an outlook on their development.

Keywords: amantadine; residues; detection; immunoassay

病毒感染是影响畜禽健康的主要威胁^[1-2]。近年来爆发的 H7N9、H5N2、H5N8 禽流感及口蹄疫等病毒性疾病造成大量畜禽死亡,给养殖业带来严重的经济损失^[3]。为预防和治疗畜禽病毒性疾病,在畜禽饲养过程中常将金刚烷胺等人用抗病毒类药物添加至饲料中,但将人用药物移植兽用尚缺乏规范有效的科学支撑,并且违禁使用药物残留在动物源性食品中会通过食物链在人体内蓄积,对人体神经系统等产生毒害作用^[4]。原农业部发布的第 560 号公告《兽药地方标准废止目录》中明确规定金刚烷胺不得用于食品动物。但由于金刚烷胺价格低廉,

抗病毒效果显著,金刚烷胺在饲料中违规添加现象仍频繁发生,食品安全部门监督抽检就发现在乌骨鸡、农家鸡蛋、冻鸡大腿等动物源性食品中均有金刚烷胺残留^[5-6]。

目前动物源性食品中金刚烷胺残留检测大多采用仪器检测^[7],主要包括液相色谱法^[8]、超高效液相色谱—串联质谱法^[9-10]等。仪器检测方法虽然精准度高,但具体操作流程复杂、检测时间长、成本高,相对于目前市场检测需求,该类方法难以满足大批量样品的快速检测。免疫分析技术具有快速、高灵敏、强特异等优势,在兽药残留的高效监控工作中发挥着重要作用^[11]。近年来,在检测金刚烷胺残留的免疫学技术领域,多种在传统检测方法的原理基础上进行创新的检测方法也用于抗病毒类兽药检测^[12]。研究对目前在金刚烷胺残留检测中应用较为广泛的免疫分析技术进行归纳总结,以期对抗病毒类兽药残留检测的深入研究提供参考。

1 酶联免疫吸附技术

酶联免疫吸附技术(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)是食品安全快速检测领域最主要的分析技术之一^[13],其中,间接竞争 ELISA(ic-ELISA)被广泛应用于食品和饲料中小分子危害物的检测^[14-15],其原理如图 1 所示,游离抗原与固相载体包被原竞争结合特异性抗体,酶标二抗再与特异性抗体结合后催化底物显色,显色程度与待测抗原浓度成反比(图 1)。抗体是影响 ELISA 检测效果至关重要的因素。对于金刚烷胺等小分子化合物,因其不能引起免疫应答,所以必须通过偶联蛋白,制备有效的人工抗原,才能刺激机体产生特异性强、亲和力高的抗体。Peng 等^[16]利用金刚烷胺分子结构上的活性基团(氨基),将琥珀酸酐作为间隔臂,采用活泼酯法直接

基金项目:国家自然科学基金(编号:31702218);河南省青年人才托举工程(编号:2020HYTP029);河南省自然科学基金(编号:212300410137);河南省研究生教育改革与质量提升工程项目(编号:HNYS2020JD06)

作者简介:王琳,女,河南科技大学在读硕士研究生。

通信作者:王耀(1986—),男,河南科技大学副教授,博士。

E-mail: wangyao@haust.edu.cn

收稿日期:2022-06-06 **改回日期:**2022-09-22

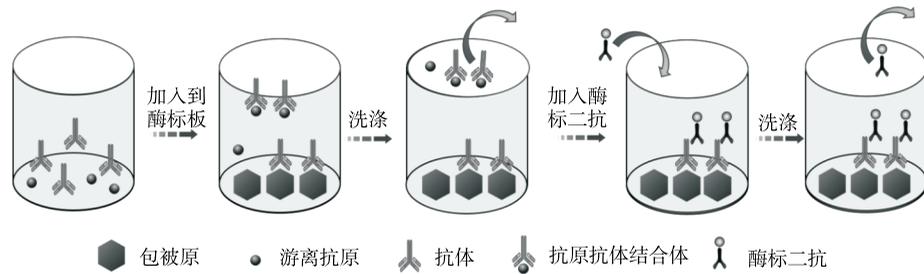


图 1 间接竞争 ELISA 试验原理示意图

Figure 1 Indirect competition ELISA principle schematic diagram

进行半抗原和蛋白分子偶联成人工抗原,最大程度地保留了小分子的原有结构。并用该人工抗原免疫小鼠制备鼠源单抗,建立的 ic-ELISA 检测鸡肉与鸡肝中金刚烷胺残留的检出限为 15.8 ng/mL。崔乃元等^[17]利用马来酸酐作为间隔臂合成人工抗原,并进一步制备单抗,建立了能够同时检测鸡肉和鸭肉中金刚烷胺及其结构类似物的 ic-ELISA,检出限低于 0.6 μg/kg。大多数人工抗原是利用不同的物质作为间隔臂制备而成,除此之外,也可以通过改变间隔臂连接位点制备人工抗原。Xu 等^[18]使用二碳酸二叔丁酯对金刚烷胺的氨基进行保护,并在其对位碳上引入 6-溴己酸乙酯作为间隔臂合成新型人工抗原,所建立的 ic-ELISA 的检出限为 0.62 ng/mL。在人工抗原制备的过程中,不仅可以对小分子本身直接进行改造,还能对小分子的结构类似物进行改造,并在一定程度上提高单抗的灵敏度。谭庶等^[19]改造金刚烷胺结构类似物 N-(1-金刚烷基)胍甲酰胺合成新型的金刚烷胺人工抗原,再通过免疫小鼠获得了灵敏度高和特异性强的单抗,并建立了能够检测鸡肉中金刚烷胺的 ic-ELISA。该方法的检出限为 0.21 ng/mL,IC₅₀可达 0.69 ng/mL,具有较高的灵敏度。

2 化学发光免疫分析技术

化学发光免疫分析技术 (Chemiluminescence immunoassay, CLIA)是集 ELISA 法和化学发光测定技术二者之长的新兴技术^[20],该方法采用鲁米诺发光体系,依赖化学反应所产生辐射光的强度来确定物质含量。崔廷婷等^[21]利用磁性微粒制备金刚烷胺磁标抗体,提高了抗原抗体的结合效率,进一步提高免疫反应的速率,建立了一种可以在动物组织、兽药、饲料中检测的竞争化学发光酶免疫技术,原理如图 2 所示,发光强度与待测抗原浓度成反比,该方法的检出限为 0.1 μg/kg,IC₅₀为 0.481 μg/L。许小炫等^[22]为提高检测灵敏度,将碳酸钾和乙酸乙酯提取药物的方法用于金刚烷胺的样品预处理中,所建立方法的检出限为 0.06 μg/L,IC₅₀为 0.33 μg/L。CLIA 可放大化学发光信号,所以具有灵敏度高、准确度高,试验结果稳定等优势,但是在操作过程中需特定仪器,不仅增加检测成本,对检测人员的要求也较高^[23]。

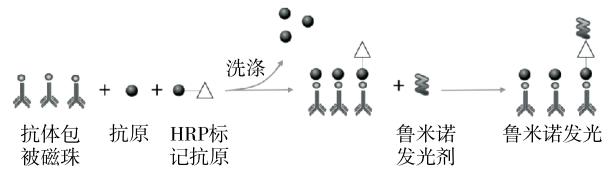


图 2 竞争 CLIA 试验原理示意图

Figure 2 Schematic diagram of the principle of the competitive CLIA experiment

3 免疫层析技术

免疫层析技术 (Immunochromatography assay, ICA)是一种将免疫分析技术和色谱层析技术结合起来的快速定量检测方法,基于抗原抗体的特异性结合,通过检测线 (T 线)和质控线 (C 线)显色情况进行定性或定量分析 (如图 3 所示)^[24-25]。与传统的 ELISA 相比,ICA 对检测人员技术要求更低,设备更简单便携,因此在食品安全现场快速筛查领域发展迅速^[26-28]。随着材料学的发展,各种标记物相继出现,目前,免疫层析标志物报道得最多的是胶体金,近些年报道的还有荧光标记物。实现了免疫层析定性至定量检测的转变,并进一步提高了免疫层析试纸的灵敏度、特异性。

3.1 胶体金免疫层析技术

胶体金免疫层析技术是以胶体金作为示踪标志物应

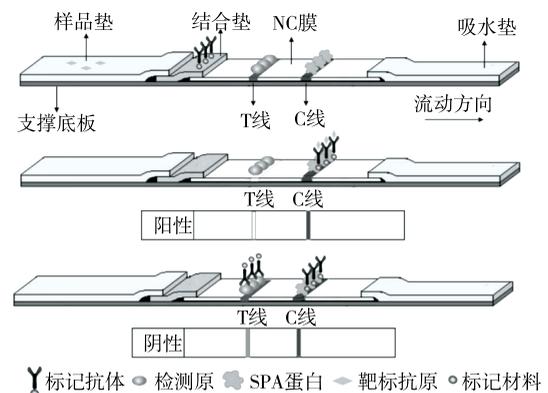


图 3 ICA 试验原理示意图

Figure 3 Schematic diagram of the principle of the ICA experiment

用于检测分析的一种免疫标记技术。胶体金几乎可以标记所有的蛋白分子,使用方便,成本较低,并且检测结果直观,可以肉眼观测^[29]。Wu等^[30]采用胶体金的定量检测方法对鸡肉中的金刚烷胺进行检测,该方法检出限为1.80 ng/mL,IC₅₀为11.93 ng/mL。但这种定量检测方法需要通过读条仪读取数据,并绘制标准曲线,计算目标物的含量,在整个检测过程中的工作量较大,因此定量方法虽然灵敏度高,却不适用于现场大规模检测。彭双^[31]与朱芳菲^[32]³¹⁻⁴⁵研发出胶体金免疫层析快速检测试纸,实现了无需仪器就能进行抗病毒类兽药残留的快速检测。在检测过程中,T线的颜色深浅反映了样品中待测物的含量,可用肉眼观察T线变浅或消失,初步筛查样品呈阳性。由于二者对金刚烷胺人工抗原的制备方法不同,所以得到的抗体也不同,彭双^[31]所建立的方法检出限为5 μg/kg。朱芳菲^[32]³⁷⁻⁴¹经过对试纸条的优化,在最优条件下对金刚烷胺的检出限可达1.5 ng/mL,在实际样本中的检出限可达5 μg/kg。但是通常采用物理吸附的方法将胶体金与抗原或抗体进行偶联,这就导致抗原或抗体容易从金颗粒表面脱离,所形成的标记物稳定性较差,并且只能给出定性或者半定量结果,而且针对小分子靶标,T线处颜色变浅或者消失来判断样品中的含量,从视觉角度不是很灵敏。

3.2 时间分辨荧光免疫层析技术

时间分辨荧光免疫层析技术是以镧系元素作为标记物,时间分辨荧光微球标记与普通荧光相比,具有标记结合物稳定,Stocks位移大,荧光寿命长等特点,可以有效避免样品中的本底荧光,以及激发光等杂散光的影响,因此相比普通荧光具有更高的灵敏度和抗干扰能力^[33]。丁亚芳等^[34]利用免疫磁珠分离技术对样品进行前处理,大大提高了样品处理效率。然后采用羧基化钕微球标记抗体,建

立了时间分辨荧光免疫层析技术的检出限为0.46 μg/kg, IC₅₀为2.327 μg/kg。但是时间分辨荧光免疫层析技术对仪器设备要求较高,其成本也要高于其他种类标记物。

4 其他免疫分析技术

为了达到超高灵敏度、良好重复性、适合现场快速筛查等检测目的,研究人员在传统免疫分析技术的基础上,研发出多种新型免疫分析技术应用于金刚烷胺残留检测^[35]。

4.1 基于磁标记物的免疫分析技术

寻找新型标记物促进抗原与单克隆抗体亲和力是提高免疫分析技术灵敏度的有效途径。Xie等^[36]通过使用辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素-生物素与单链可片段抗体进行偶联,并制备金刚烷胺功能化的磁珠,将二者特异性结合,形成免疫复合物,然后用磁铁将免疫复合物从基质溶液中分离出来(如图4所示),辣根过氧化物酶所产生的信号强度和金刚烷胺的浓度呈负相关。该方法的检出限为0.64 ng/mL,相比传统酶联免疫吸附技术,灵敏度提高了12倍。

4.2 基于荧光反应的免疫分析技术

采用荧光信号与免疫分析技术相结合,可以实现信号放大,另外,荧光信号的免疫分析技术能达到较高的检测灵敏度。Dong等^[37]以常规ELISA为基础,建立了一种产生荧光信号的新型免疫分析技术。辣根过氧化物酶通过内滤效应有效地将荧光碳点淬灭,使常规ELISA的吸收信号转换成荧光信号来提高常规ELISA的灵敏度(如图5、图6所示)。基于不同浓度的金刚烷胺导致对应产生的荧光强度存在差异,建立的荧光酶联免疫吸附技术的检出限为0.02 ng/mL, IC₅₀为0.3 ng/mL,约为常规ELISA的1/4。

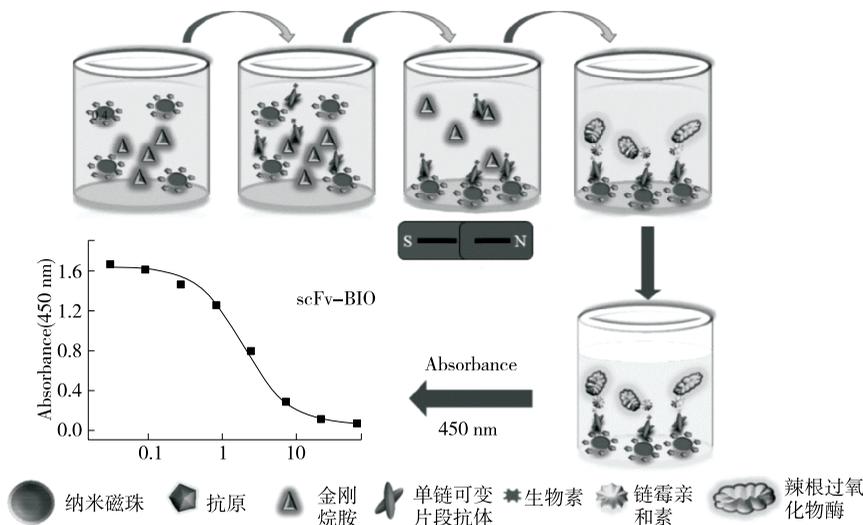


图4 磁珠包被间接竞争ELISA程序示意图

Figure 4 Schematic illustration of MBs-icELISA procedure

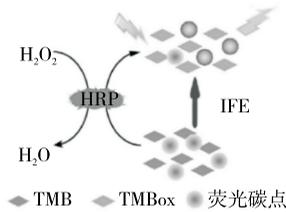


图 5 基于内滤效应的碳量子荧光信号的淬灭

Figure 5 Quenching of carbon quantum fluorescence signal based on internal filtration effect

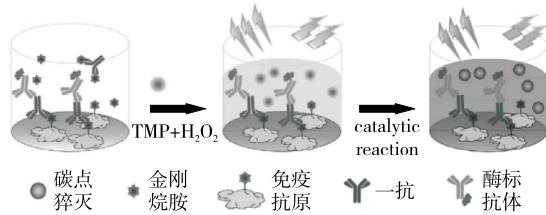


图 6 基于碳量子点的荧光免疫分析技术

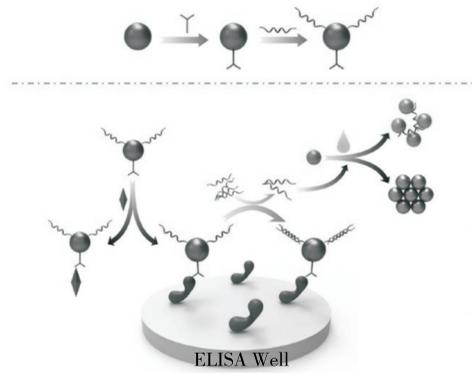
Figure 6 Fluorescence immunoassay based on carbon quantum dot

4.3 基于比色反应的免疫分析技术

比色反应利用溶液颜色与其浓度的比例关系,来确定样品待测物质的浓度,所产生的比色信号更加适用于食品安全现场检测,具有检测快速且检测结果肉眼可观察等优点。Zhu 等^[38]建立了一种将 DNA 杂交和金纳米颗粒比色反应相结合的 ELISA 用于检测金刚烷胺(如图 7 所示)。人工抗原和金刚烷胺共同竞争由 18 nm 金颗粒、抗体和引物 1 三者所组成的免疫复合物,引物 2 与结合在酶标板上的引物 1 互补配对,再加入 13 nm 金颗粒与未配对的引物 2 相结合,并且在 NaCl 溶液的作用下聚沉,溶液颜色由红变蓝。这种新方法可以通过肉眼观察颜色变化从而测定金刚烷胺的含量,具有无需精密仪器,试验步骤简便,检测时间短等优势。该方法的检出限为 0.033 μmol/L。Yu 等^[39]建立了一种将芬顿反应与酶联免疫吸附技术相结合的可视化方法。芬顿反应调节的半胱氨酸氧化和金纳米粒子聚集,在设计免疫分析中实现了信号放大(如图 8 所示)。因此,级联反应显著提高了检测灵敏度,并导致溶液颜色从红色变为深紫色。采用此方法肉眼判断的最低检出限为 0.51 nmol/L。

5 展望

动物源性食品安全是中国食品安全监管工作的重中之重^[40-41],近年来动物源性食品中金刚烷胺残留问题已引起普遍关注。开发快速便携、灵敏特异、适用于现场大批量样品快速筛查的金刚烷胺残留检测技术有利于强化监管部门的监督抽检,督促生产企业的遵纪守法,保障动物源性食品安全。免疫分析技术由于具有操作简单、成本低廉等优点,已被广泛用于金刚烷胺残留的快速检



Y 抗体 ◆ 金刚烷胺 ~ 引物1 ~ 引物2
 ● 18 nm金纳米颗粒 ● 13 nm金纳米颗粒 ● 人工抗原 ● 氯化钠

图 7 基于 DNA 碱基互补配对和胶体金聚集检测原理示意图

Figure 7 Schematic diagram of the detection principle based on DNA base complementary pairing and colloidal gold aggregation

I 酶催化葡萄糖氧化 II 芬顿反应控制半胱氨酸氧化 III 巯醇基团触发金纳米颗粒聚集

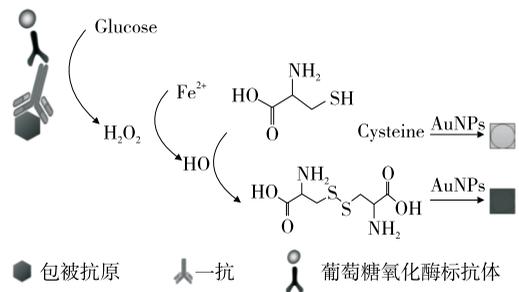


图 8 基于芬顿反应可视化检测原理示意图

Figure 8 Schematic diagram of visual detection principle based on Fenton reaction

测。随着分析技术的不断创新,金刚烷胺残留检测技术将在检测效率、重复性、灵敏度等方面进一步提高,一方面利用新型纸基等载体材料或将比色技术、DNA 杂交技术等与免疫层析技术相结合,省略微孔板包被、封闭、孵育和洗涤等步骤,实现快速、廉价和简单的检测,更加适合现场高效检测,另一方面利用核酸适配体、分子印迹聚合物等代替抗体进行特异性识别,具有良好的重复性,可以解决抗体批间差异较大,不稳定的弊端。此外,信号放大是关系到检测灵敏度的一个重要因素,传统免疫分析技术是使用酶催化底物产生显色,若将纳米酶、碳量子点及新型荧光标记材料用于信号放大策略,将显著提升检测灵敏度。

参考文献

[1] 吕佳乐. 禽肉中抗病毒类、抗生素类药物多残留检测方法的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2020: 1-2.

- LU J L. Study on multi-residue detection of antiviral drugs and antibiotic drugs in poultry meat[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2020: 1-2.
- [2] 吕辰, 李钰金, 宋明燕, 等. 基于核酸适配体-SYBR Green I 快速检测金刚烷胺的荧光传感技术[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(22): 249-253.
- LU C, LI Y J, SONG M Y, et al. Rapid detection of amantadine by fluorescence sensing technology based on nucleic acid aptamer-SYBR Green I [J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(22): 249-253.
- [3] YANG J Y, PAN M F, LIU K X, et al. Core-shell AuNRs@ Ag-enhanced and magnetic separation-assisted SERS immunosensing platform for amantadine detection in animal-derived foods[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2021, 349(15): 130783.
- [4] LIU Z C, YANG F, YAO M N, et al. Simultaneous determination of antiviral drugs in chicken tissues by ultra high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. Journal of Separation Science, 2015, 38(10): 1784-1793.
- [5] 国家市场监督管理总局. 市场监管总局关于 17 批次食品不合格情况的通告[EB/OL]. (2019-10-09) [2022-05-21]. https://gkml.samr.gov.cn/nsjg/spcjs/201910/t20191009_307230.html. State Administration for Market Regulation. Announcement of the state administration for market regulation on the unqualified situation of 17 batches of food[EB/OL]. (2019-10-09) [2022-05-21]. https://gkml.samr.gov.cn/nsjg/spcjs/201910/t20191009_307230.html.
- [6] 国家市场监督管理总局. 市场监管总局关于 5 批次食品不合格情况的通告[EB/OL]. (2019-10-28) [2022-05-21]. https://gkml.samr.gov.cn/nsjg/spcjs/201910/t20191028_307949.html. State Administration for Market Regulation. Announcement of the state administration for market regulation on the unqualified situation of 5 batches of food[EB/OL]. (2019-10-28) [2022-05-21]. https://gkml.samr.gov.cn/nsjg/spcjs/201910/t20191028_307949.html.
- [7] MA M F, SUN J F, CHEN Y Q, et al. Highly sensitive SERS immunosensor for the detection of amantadine in chicken based on flower-like gold nanoparticles and magnetic bead separation [J]. Food and Chemical Toxicology, 2018, 118: 589-594.
- [8] PAOLETTI F, SDOGATI S, BAROLA C, et al. Two-procedure approach for multiclass determination of 64 antibiotics in honey using liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry[J]. Food Control, 2022, 136: 108893.
- [9] 马凯, 包娜, 黄永桥, 等. 同位素稀释—超高效液相色谱—串联质谱法测定鸡蛋中金刚烷胺的不确定度评定[J]. 食品与机械, 2021, 37(5): 60-65.
- MA K, BAO N, HUANG Y Q, et al. Uncertainty evaluation for determination of amantadine in egg by isotope dilution-UPLC-MS/MS[J]. Food & Machinery, 2021, 37(5): 60-65.
- [10] 张璐, 付晓燕, 何强, 等. 超高效液相色谱—串联质谱法检测动物源性食品中的金刚烷胺[J]. 环境化学, 2018, 37(3): 614-616.
- ZHANG L, FU X Y, HE Q, et al. Determination of amantadine residue in animal-derived food by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Environmental Chemistry, 2018, 37(3): 614-616.
- [11] 蒋文慧, 吴小胜, 崔娜, 等. 一种多菌灵酶联免疫快速检测方法的建立[J]. 食品与机械, 2021, 37(1): 94-98.
- JIANG W H, WU X S, CUI N, et al. Establishment of arapid detection method for carbendazim enzyme-linked immunosorbent [J]. Food & Machinery, 2021, 37(1): 94-98.
- [12] LI X M, WANG J, YI C Q, et al. A smartphone-based quantitative detection device integrated with latex microsphere immunochromatography for on site detection of zearalenone in cereals and feed[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2019, 290: 170-179.
- [13] WANG X F, WANG Y N, WANG S Y, et al. Indirect competitive ELISA for the determination of total chromium content in food, feed and environmental samples[J]. Molecules, 2022, 27(5): 1585.
- [14] 郭鹏利, 路云龙, 李想, 等. 基于纳米抗体的酶联免疫吸附法检测食品中金黄色葡萄球菌肠毒素 B[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(20): 250-255.
- GUO P L, LU Y L, LI X, et al. Detection of Staphylococcal enterotoxin B in foodstuffs by nanobody-based ELISA[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(20): 250-255.
- [15] 赵静, 赵其阳, 张耀海, 等. 螺虫乙酯单克隆抗体的制备及酶联免疫分析方法的建立[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(10): 247-254.
- ZHAO J, ZHAO Q Y, ZHANG Y H, et al. Monoclonal antibody-based immunoassay development for the determination of spirotramat[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(10): 247-254.
- [16] PENG D P, WEI W, PAN Y H, et al. Preparation of a monoclonal antibody against amantadine and rimantadine and development of an indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay for detecting the same in chicken muscle and liver[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2017, 133: 56-63.
- [17] 崔乃元, 刘怡菲, 王萍, 等. 鸡、鸭肉中金刚烷胺、金刚乙胺、索金刚胺间接竞争 ELISA 检测方法研究[J]. 食品工业科技, 2021, 42(1): 286-291.
- CUI N Y, LIU Y F, WANG P, et al. Indirect competitive ELISA for detection of amantadine, rimantadine and soramantadine in chicken and duck meat[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(1): 286-291.
- [18] XU L G, PENG S, LIU L Q, et al. Development of sensitive and fast immunoassays for amantadine detection [J]. Food and Agricultural Immunology, 2016, 27(5): 678-688.
- [19] 谭庶, 杨金易, 许吉华, 等. 鸡肉中金刚烷胺间接竞争 ELISA 检测方法的建立[J]. 食品科学, 2020, 41(10): 304-310.
- TAN S, YANG J Y, XU J H, et al. Development of an indirect competitive enzyme linked immunoassay for the analysis of amantadine in chicken muscle[J]. Food Science, 2020, 41(10): 304-310.
- [20] PEI Y Q, ZENG L J, WEN C F, et al. Detection of enrofloxacin by flow injection chemiluminescence immunoassay based on cobalt hydroxide nanozyme[J]. Microchimica Acta, 2021, 188(6): 194.
- [21] 崔廷婷, 冯才伟, 吴小胜, 等. 金刚烷胺残留化学发光酶免疫

- 法的建立[J]. 食品工业科技, 2019, 40(14): 275-279.
- CUI T T, FENG C W, WU X S, et al. Establishment of chemiluminescent enzyme immunoassay for determination of amantadine residues[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(14): 275-279.
- [22] 许小炫, 苏晓娜, 谭庶, 等. 间接竞争化学发光酶联免疫分析方法检测禽肉中金刚烷胺和氯霉素残留[J]. 食品科学, 2021, 42(4): 305-312.
- XU X X, SU X N, TAN S, et al. Determination of amantadine and chloramphenicol residues in poultry meat by indirect competitive chemiluminescence enzyme-linked immunosorbent assay[J]. Food Science, 2021, 42(4): 305-312.
- [23] GUO Y, LI J P. Sandwich-type homogeneous chemiluminescence immunoassay based on nanoparticle toward detection of *Aspergillus galactomannan* antigen[J]. Talanta, 2022, 243: 123392.
- [24] 李雨芮, 刘晓雅, 张文劲, 等. 免疫层析技术及应用的研究进展[J]. 中国兽医学报, 2021, 41(1): 192-198.
- LI Y R, LIU X Y, ZHANG W J, et al. Research progress and clinical application of immunochromatographic technology [J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2021, 41(1): 192-198.
- [25] 李向梅, 刘志威, 陈晓敏, 等. 食品安全免疫层析检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(15): 4 939-4 955.
- LI X M, LIU Z W, CHEN X M, et al. Advances of immunochromatography assay for food safety[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2020, 11(15): 4 939-4 955.
- [26] HE F, ZOU T T, YANG J Y, et al. Development of a skeleton-specific antibody and Au nanoparticle-based immunochromatographic sensor for simultaneous detection of various tadalafil adulterants in health food [J]. Food Agric Immunol, 2019, 30(1): 349-368.
- [27] GUO L L, LIU L Q, XU L G, et al. Gold immunochromatography assay for the rapid detection of spiramycin in milk and beef samples based on a monoclonal antibody [J]. Biotechnology Journal, 2020, 15(1): 1-7.
- [28] PAN Y T, WANG Z P, DUAN C F, et al. Comparison of two fluorescence quantitative immunochromatographic assays for the detection of amantadine in chicken muscle [J]. Food Chemistry, 2022, 377: 131931.
- [29] MAO X Y, WU Y X, CHEN H T, et al. A mix-and-detect method based on colloidal gold immunochromatographic assay for on-site detection of zearalenone in edible oils [J]. Analytical Methods, 2020, 12(46): 5 628-5 634.
- [30] WU S S, ZHU F F, HU L M, et al. Development of a competitive immunochromatographic assay for the sensitive detection of amantadine in chicken muscle [J]. Food Chemistry, 2017, 232: 770-776.
- [31] 彭双. 利巴韦林、金刚烷胺和氢氯噻嗪的免疫检测[D]. 无锡: 江南大学, 2016: 33-38.
- PENG S. Immunoassay for ribavirin, amantadine and hydrochlorothiazide[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2016: 33-38.
- [32] 朱芳菲. 金刚烷胺的新型酶联免疫吸附方法的建立和胶体金免疫层析检测卡的研发[D]. 南昌: 南昌大学, 2018.
- ZHU F F. Establishment of novel enzyme-linked immunosorbent assay and development of colloidal gold immunochromatographic assay card for detection of amantadine[D]. Nanchang: Nanchang University, 2018.
- [33] 陈婷婷, 王鑫, 陶晓奇. 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[J]. 食品与机械, 2020, 36(4): 221-225.
- CHENG T T, WANG X, TAO X Q. Research progress in detection of estrogen residues in food by biological probes based on specific molecular recognition [J]. Food & Machinery, 2020, 36(4): 221-225.
- [34] 丁亚芳, 贾良羲, 邢维维, 等. 基于免疫磁珠前处理的荧光免疫层析法定量检测牦牛肉中金刚烷胺[J]. 食品科技, 2021, 46(6): 294-300.
- DING Y F, JIA L X, XING W W, et al. Quantitative detection of amantadine in yak beef by fluorescence immunochromatography based on pretreatment of immunomagnetic beads[J]. Food Science and Technology, 2021, 46(6): 294-300.
- [35] XIONG J C, HE S, WANG Z L, et al. Dual-readout fluorescence quenching immunochromatographic test strips for highly sensitive simultaneous detection of chloramphenicol and amantadine based on gold nanoparticle-triggered photoluminescent nanoswitch control[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 429: 128316.
- [36] XIE S L, WEN K, XIE J, et al. Magnetic-assisted biotinylated single-chain variable fragment antibody-based immunoassay for amantadine detection in chicken[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2018, 410(24): 6 197-6 205.
- [37] DONG B L, LI H F, GHULAM M M, et al. Fluorescence immunoassay based on the inner-filter effect of carbon dots for highly sensitive amantadine detection in foodstuffs [J]. Food Chemistry, 2019, 294: 347-354.
- [38] ZHU F F, PENG J, HUANG Z, et al. Specific colorimetric ELISA method based on DNA hybridization reaction and non-crosslinking gold nanoparticles aggregation for the detection of amantadine[J]. Food Chemistry, 2018, 257: 382-387.
- [39] YU W B, ZHANG T T, MA M F, et al. Highly sensitive visual detection of amantadine residues in poultry at the ppb level: A colorimetric immunoassay based on a Fenton reaction and gold nanoparticles aggregation[J]. Analytica Chimica Acta, 2018, 1 027: 130-136.
- [40] 孙星雅, 刘睿, 张素霞, 等. 中国与欧盟和美国牛奶中兽药残留限量标准的对比研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(24): 9 317-9 325.
- SUN X Y, LIU R, ZHANG S X, et al. Comparative study of veterinary drug residue limit standards for milk in China, the European Union and the United States[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2021, 12(24): 9 317-9 325.
- [41] 刘正才, 杨方, 林永辉, 等. 鸡肉糜样中金刚烷胺检测能力验证研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(14): 3 611-3 615.
- LIU Z C, YANG F, LIN Y H, et al. Proficiency testing of determination of amantadine residues in chicken muscle[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2018, 9(14): 3 611-3 615.