

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2020.03.012

基于荧光分子开关和核酸适配体的镉离子快速检测方法

Rapid detection of cadmium based on fluorescence molecular switch and aptamer

涂东堃¹ 鲁悦¹ 郑晓亮¹ 黄敏丽¹

TU Dong-kun¹ LU Yue¹ ZHENG Xiao-liang¹ HUANG Min-li¹

王奕婧¹ 曾绍校^{1,2,3} 徐晖^{1,2,3}

WANG Yi-jing¹ ZENG Shao-xiao^{1,2,3} XU Hui^{1,2,3}

(1. 福建农林大学食品科学学院, 福建 福州 350002;

2. 闽台特色海洋食品加工及营养健康教育工程研究中心, 福建 福州 350002;

3. 福建省特种淀粉品质科学与加工技术重点实验室, 福建 福州 350002)

(1. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China;

2. Engineering Research Centre of Fujian-Taiwan Special Marine Food Processing and Nutrition, Ministry of Education, Fuzhou, Fujian 350002, China; 3. Fujian Provincial Key Laboratory of Quality Science and

Processing Technology in Special Starch, Fuzhou, Fujian 350002, China)

摘要:考查了不同 pH 值、噻唑橙—适配体浓度比、噻唑橙与适配体结合时间、适配体与镉离子结合时间对体系荧光强度的影响。结果表明:荧光检测的最佳条件为 pH 值 7、噻唑橙—适配体浓度比 7 : 3、噻唑橙与适配体结合时间 15 min、适配体与镉离子结合时间 20 min。该条件下,荧光强度与镉离子浓度表现出良好的线性关系,线性范围为 2.00~80.00 ng/mL,检测限为 0.23 ng/mL。该方法不需要对适配体进行荧光标记,操作简单。

关键词:噻唑橙;核酸适配体;荧光检测;镉离子

Abstract: In order to study the fluorescent dye thiazole orange as a fluorescent molecular switch and a cadmium ion nucleic acid aptamer for the detection of cadmium ions. The effects were examined, from different pH values, thiazole orange-aptamer concentration ratio, binding time of thiazole orange to aptamer, and binding time of aptamer to cadmium ion on the fluorescence in-

tensity of the system. The results showed that when the pH value was 7, the thiazole orange-aptamer concentration ratio was 7 : 3, the binding time of thiazole orange and aptamer was 15 min, and the binding time of aptamer and cadmium ion was 20 min. Under these conditions, the fluorescence intensity and cadmium ion concentration showed a good linear relationship, with a linear range from 2.00 ng/mL to 80.00 ng/mL, and the detection limit was 0.23 ng/mL. This method does not require fluorescent labeling of the aptamer, and the operation is simple.

Keywords: thiazole orange; aptamer; fluorescence detection; cadmium ion

镉是一种有毒的重金属元素,长期暴露在镉污染的环境中会对人的肾脏、肺、骨骼造成损伤,严重的还会致癌^[1-3]。中国镉离子在环境、粮食乃至食品的污染情况也不容乐观,Wei 等^[4]对北京人口密度高的交通区、居民区的街道粉尘进行采样,测定结果表明镉的含量处于重度污染。陆素芬等^[5]研究了南丹县粮食作物玉米中重金属离子的含量,结果表明镉离子的超标率为 8.4%,在镉的影响下玉米中蛋白质、淀粉、脂肪含量均会发生变化。李颖等^[6]对邯郸市某冶炼厂周边的小麦进行检测,结果表明小麦中镉离子和铅离子的含量均有超标的情况。世界卫生组织国际癌症研究机构(IARC)已将镉离子分类

基金项目:福建省教育厅省中青年教育科研项目(编号: JAT170195);福建省科技厅青年创新项目(编号: 2019J05046)

作者简介:涂东堃,男,福建农林大学在读硕士研究生。

通信作者:徐晖(1984—),女,福建农林大学讲师,博士。

E-mail: xhufst@163.com

曾绍校(1980—),男,福建农林大学教授,博士。

E-mail: zsxst@163.com

收稿日期:2020-01-03

为第一类致癌物质^[7],中国生活饮用水卫生标准中规定饮用水中镉的限量标准为 5 ng/kg,食品污染物限量标准中大米中镉的限量标准为 0.2 mg/kg。综合以上原因,对环境和食品中的镉离子进行监测和控制具有十分重要的意义。

传统的镉离子检测方法有原子吸收光谱法^[8]、电感耦合等离子体质谱法^[9]、电感耦合等离子体原子发射光谱分析^[10]、原子荧光光谱法^[11]。这些检测方法是相对较为成熟的方法,能够对环境中的镉离子进行有效的分析,灵敏度、准确性、选择性都比较好,但这些方法一般都要有大型的仪器设备,专业的操作人员,检测成本高,检测过程繁琐。

近些年,许多学者对环境和食品中重金属残留快速检测技术进行了研究,其中主要有电化学法^[12]、比色法^[13]、试纸条方法^[14]等。Si 等^[12]研制了一种基于还原氧化石墨烯(rGO)/金纳米颗粒(AuNPs)/四苯基卟啉(TPP)(rGO/AuNPs/TPP)纳米共轭物的电化学传感器,通过 TPP 对 Cd²⁺ 的选择性富集,以及 rGO 对 Cd²⁺ 与卟啉衍生物配位作用的加强,对镉离子进行定量检测。Guo 等^[13]利用 Cd²⁺ 与四分子的谷胱甘肽(GSH)形成球形复合物的原理,研制出了一种基于 GSH 保护的纳米金比色传感器,并对水样和消化后的大米样品中的 Cd²⁺ 进行检测。Xiao 等^[14]研制了一种基于金纳米星和量子点的集成免疫层析试纸条,对 Cd²⁺ 进行检测,检测线达到 0.18 ng/mL,线性范围为 0.25~8.00 ng/mL。这些方法具有方便、简单、快捷等特点,但部分方法准确性和稳定性较差,需要对其进行优化和改进。

核酸适配体是能够特异性识别靶标分子具有较高亲和力和力的一类 RNA 或 DNA 分子,其识别靶分子的机理与抗原抗体相似,具有稳定性好、易于合成和修饰等优点^[15]。近年发展起来的基于核酸适配体的检测方法食源性致病菌、生物毒素、重金属、药物残留检测等领域显示了良好的应用前景^[16]。Bayramoglu 等^[17]通过磁捕获和基于适配体的亲和力对牛奶样品中沙门氏菌的病原体细胞进行快速检测,在没有任何培养的情况下,在低至 10³ CFU/mL 的牛奶样品中实现了沙门氏菌的检测。核酸适配体能对一些小分子物质进行识别,如重金属等。Wu 等^[18]通过固定寡核苷酸链库,建立了一种新方法进而筛选出了镉离子核酸适配体。目前,用该核酸适配体对镉离子进行检测的研究比较少^[19]。

噻唑橙(TO)是一种不对称的花菁类阳离子染料,用作荧光检测时可消除染料自身的背景干扰,提高荧光检测灵敏度,是一种流行的核酸荧光探针,广泛运用于检测不同的 DNA 和 RNA 结构^[20]。Kang 等^[21]研制了一种基于噻唑橙和 i-motif DNA 构象改变的传感器,用于检测 Ag⁺。

试验拟基于镉离子核酸适配体和噻唑橙染料构建一种镉离子检测的荧光方法,以期核酸适配体在镉离子快速检测应用提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

噻唑橙:90%,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

二甲基亚砷:顶空气相色谱级,上海安谱实验科技股份有限公司;

乙醇、CdCl₂·H₂O、FeCl₃·H₂O、BaCl₂·H₂O、CaCl₂等:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

HEPES:1 mol/L,北京索莱宝生物科技有限公司;

磷酸盐缓冲溶液:1 mol/L,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

超纯水:18.2 mΩ,由 Millipore 净水系统制备;

镉离子适配体:5'-GGACTGTTGTGGTAT-TATTTTGGTTGTGC-SH-3',上海生工生物工程技术有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

电子天平:SQP 型,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;

涡旋振荡器:MS 3 basic 型,厦门精艺兴业科技有限公司;

pH 计:ST3100 型,奥豪斯仪器(常州)有限公司;

超纯水机:UV 24 型,厦门精艺兴业科技有限公司;

冷冻离心机:UNIVERSAL 320R 型,德国 Hettich 科学仪器有限公司;

超声波清洗机:KQ5200E 型,昆山舒美超声仪器有限公司;

荧光分光光度计:RF-5301PC 型,日本岛津公司;

石墨炉原子吸收分光光度计:AA-6300C 型,日本岛津公司。

1.2 方 法

1.2.1 镉离子荧光检测 在 EP 管中加入 35 μL 的 100 mmol/L HEPES 溶液,同时加入 25 μL 2 μmol/L 的核酸适配体,再加入镉离子标准溶液,控制反应体系酸度 pH=7.0,充分混合,室温下反应 80 min;在上一步的混合溶液中加入 60 μL 4 μmol/L 噻唑橙溶液充分振荡,用超纯水定容至 200 μL,继续在室温下反应 25 min,同时配制空白。将混合的溶液转移至超微量荧光比色皿中,用分光光度计记录 500~630 nm 内的荧光光谱,分别测定溶液荧光强度 F 和空白值 F_0 。

1.2.2 体系 pH 值优化 在 EP 管中加入核酸适配体和噻唑橙溶液充分振荡,加入相同量的不同 pH 的磷酸盐缓冲溶液(0.1 mol/L),控制 pH 为 3~9,加超纯水至总体积

为 200 μL , 室温下反应 25 min, 测定不同 pH 下的荧光强度。

1.2.3 噻唑橙—适配体浓度比的优化 固定噻唑橙与适配体混合物的总体积, 加入不同体积的噻唑橙与适配体, 使其摩尔比分别为 9 : 1, 8 : 2, 7 : 3, 6 : 4, 5 : 5, 4 : 6, 3 : 7, 2 : 8, 1 : 9, 加入 35 μL 100 mmol/L 的 HEPES 溶液, 定容, pH 值控制为 7, 室温下反应 25 min, 测定体系荧光强度。

1.2.4 噻唑橙与适配体结合时间的优化 在 EP 管中加入相同核酸适配体, 加入适当的噻唑橙溶液使其摩尔比为 7 : 3, 加入 35 μL 100 mmol/L 的 HEPES 溶液, 控制溶液 pH 为 7, 加超纯水至总体积 200 μL , 选择不同的时间点测体系的荧光强度。

1.2.5 适配体与镉离子结合时间的优化 向一系列 EP 管中加入相同的核酸适配体和镉离子标准溶液, 常温下分别反应 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 min, 加入相同量的噻唑橙溶液, 使噻唑橙与适配体浓度比为 7 : 3, 加入 35 μL 100 mmol/L 的 HEPES 溶液, 定容, 室温下反应 25 min, 测定体系荧光强度。

1.2.6 荧光检测的特异性 向不同的 EP 管中加入等量的核酸适配体, 加入 35 μL HEPES 溶液使体系 pH 为 7, 分别加入 50 ng/mL 的 8 种不同的金属离子(钾、钙、镁、锌、铁、铜、铅、铬)和镉离子混合均匀, 常温下反应 20 min, 再加入等量噻唑橙溶液使噻唑橙与适配体浓度比为 7 : 3, 继续反应 15 min, 测定荧光强度, 并与空白相比较。

1.2.7 实际样品前处理 用试验建立的方法对水样 A、B、C 中的重金属镉离子含量进行检测分析。将水样用 0.2 mm 注射过滤器对水样品进行过滤, 添加 2 ng/mL 浓度的镉离子标品, 用试验建立的方法检测, 测得镉离子的浓度值并计算回收率, 与石墨炉原子吸收光谱进行比较。

1.2.8 石墨炉原子吸收光谱法检测 将水样放置于自动进样器中, 调整自动进样器与石墨管的距离, 设置试验参数分别为进样体积 10 μL , 波长 228.8 nm, 电流 4 mA 等, 随后开始进行水样中镉的检测。

2 结果与分析

2.1 镉离子荧光检测设计原理

如图 1 所示, 当噻唑橙溶液在 485 nm 的激发光下, 在 510~610 nm 的范围内没有发射峰; 当噻唑橙与适配体结合后, 荧光强度显著增强, 在 535 nm 处出现峰值; 当有镉离子存在时, 体系荧光强度降低。噻唑橙在游离状态下, 荧光产率低, 与适配体结合后, 通过插入碱基对、与带负电的磷酸骨架结合或与小沟槽结合而产生荧光效应^[22], 当有 Cd^{2+} 存在时, 适配体优先与 Cd^{2+} 结合, 阻碍噻唑橙与适配体的结合, 荧光强度降低。

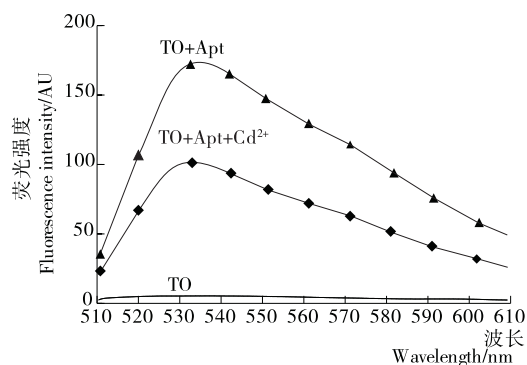


图 1 镉离子检测荧光光谱图

Figure 1 Fluorescence spectrogram of cadmium ion detection

2.2 体系 pH 对荧光强度的影响

由图 2 可知, pH 在 3~4 时检测体系的荧光值随 pH 的升高而升高, 当 $\text{pH} > 4$ 时, 随着 pH 的升高而降低, 当 $\text{pH} = 4$ 时荧光值最大。该结果与 Kang 等^[21]的试验结果一致, 在酸性条件下噻唑橙与适配体结合产生的荧光较中性及碱性条件下大。体系 $\text{pH} > 7$ 时, 荧光强度变化小, 比在酸性条件下更为稳定, 因此检测镉离子的最佳 pH 值为 7。

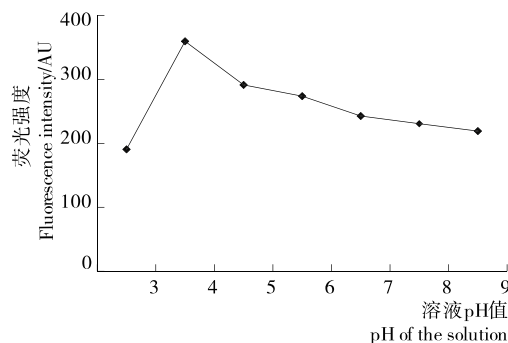


图 2 溶液 pH 对荧光强度的影响

Figure 2 Effect of solution pH on fluorescence intensity

2.3 噻唑橙与适配体浓度比对荧光强度的影响

由图 3 可知, 体系在最大发射波长的荧光强度随噻唑橙与适配体的浓度比增加先升高后降低, 当噻唑橙与适配体的比值为 7 : 3 时荧光强度最大。噻唑橙与适配体的浓度比对荧光强度起着重要作用, 浓度比太低时, 核酸浓度低产生的噻唑橙—适配体复合物浓度低, 荧光强度弱; 浓度比高时, 适配体浓度大, 影响荧光检测的灵敏度。当噻唑橙与适配体处于 7 : 3 的比值时, 荧光强度最强, 适配体浓度约为 0.46 $\mu\text{mol/L}$, 与 Sun 等^[23]采用的适配体浓度相近。因此试验中以 7 : 3 作为噻唑橙与适配体的最佳摩尔比。

2.4 噻唑橙与适配体结合时间的优化

如图 4 所示, 体系的荧光强度在 10 min 以内迅速增

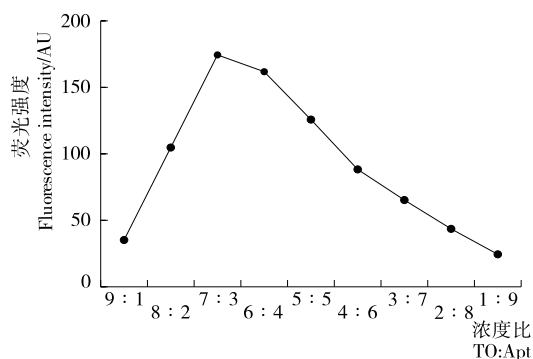


图 3 噻唑橙与适配体浓度比对荧光强度的影响

Figure 3 Effect of concentration ratio of TO and Aptamer on fluorescence intensity

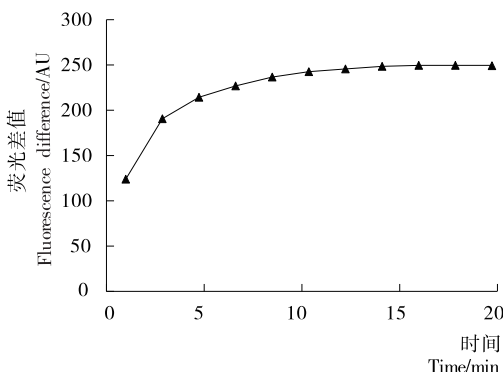


图 4 噻唑橙与适配体结合时间的优化

Figure 4 Optimization of TO and Aptamer binding time

加,在 10~15 min 时荧光增强速度变缓,15 min 后混合液的荧光强度基本保持不变,此时适配体与噻唑橙充分反应,荧光强度达最大值。噻唑橙与适配体结合的时间对荧光产率的影响是很重要的因素^[24],反应时间太短,噻唑橙与适配体结合不够完全,荧光信号未达到稳定,所以试验中以 15 min 作为噻唑橙与适配体反应的最佳反应时间。

2.5 适配体与镉离子反应时间的优化

如图 5 所示,随着孵育时间的增加,荧光差值($F - F_0$)增大,当孵育时间 > 20 min 时,荧光差值保持稳定无变化,此时溶液中镉离子与适配体反应充分,荧光强度不再降低。若适配体与镉离子反应时间不足,体系未达到平衡,将影响检测结果。为此,选择 20 min 为适配体与靶标物质镉离子的最佳孵育时间。

2.6 检出限与线性范围

在最佳的试验条件下,用试验建立的方法对不同浓度的镉离子标准液进行检测,发现镉离子浓度与体系的荧光强度在 2.00~80.00 ng/mL 的范围内呈良好的线性(见图 6),校正曲线方程 $y = -2.3406x + 284.73$,检出限为 0.23 ng/mL,与 Zhu 等^[25]通过对适配体修饰检测的方

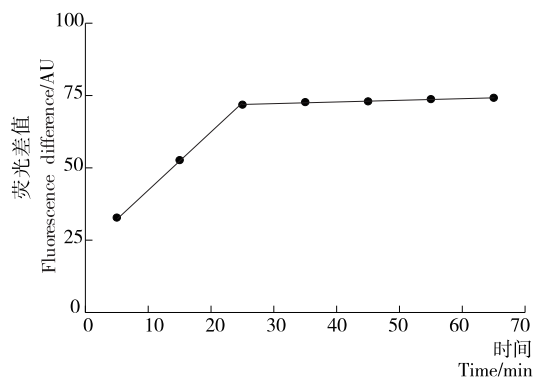


图 5 适配体与镉离子反应时间的优化

Figure 5 Optimization of reaction time between Aptamer and cadmium ions

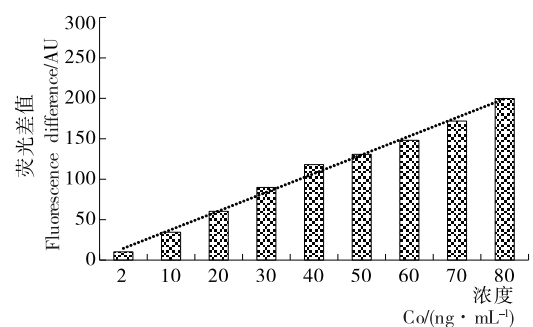


图 6 荧光强度与镉离子的线性关系图

Figure 6 Linear relationship between fluorescence intensity and cadmium ion

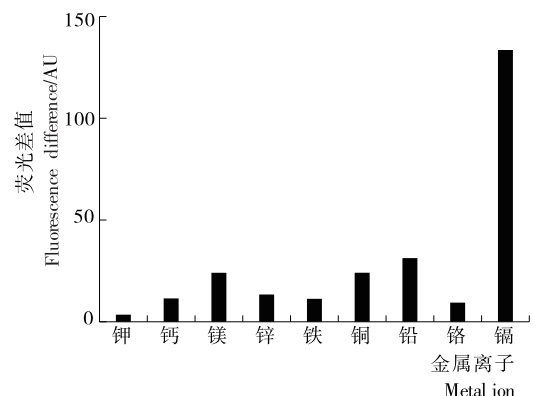


图 7 选择性分析

Figure 7 Selectivity analysis of the fluorescence sensors

法相比较,检出限接近,但试验建立的方法不需要对适配体进行修饰,只需简单的混合,操作方便,而且线性范围较广。

2.7 特异性

选择了 8 种不同的金属离子(钾、钙、镁、锌、铁铜、铅、铬)与镉离子在最优试验条件下进行检测,结果如图 7 所示。与其他金属离子相比,加入镉离子的体系荧光差值最大,荧光强度变化(ΔF)明显, Mg^{2+} 等对 Cd^{2+} 的检测

有一定的影响,加入 Mg^{2+} 和 Pb^{2+} 的检测体系也引起了不可忽视的荧光强度变化,与 Wu 等^[18]的研究结果相似。除 Mg^{2+} 与 Pb^{2+} 外,试验建立的方法具有较好的特异性。为了提高方法的选择性,Cao 等^[26]通过使用螯合剂的策略掩盖部分离子,在后续的研究中可以利用螯合剂(如:PDCA 和 NTA 等)降低 Pb^{2+} 、 Mg^{2+} 对荧光检测的影响。

2.8 实际样品检测

用试验建立的方法对 3 种不同的水样品进行加标回

收试验,将所得的结果与石墨炉原子吸收光谱法相比较(GB 5009.15—2014)。经检测未加标的水样品中本底值分别为 3.082 2、3.568 4、2.646 4 ng/mL,扣除本底值所得的结果见表 1。

由表 1 可知,试验建立的方法检测实际样品所得结果与原子吸收光谱法相比较差异小,有较好的回收率,且具有较好的准确性和稳定性,表明所建方法可用于镉离子的实际样品检测。

表 1 镉离子加标回收率

Table 1 Recovery results for Cd^{2+} detection

样品	本底值/(ng·mL ⁻¹)	添加浓度/(ng·mL ⁻¹)	检测浓度/(ng·mL ⁻¹)	加标回收率/%	原子吸收光谱法加标回收率/%
A	3.082 2	2	5.154 0	103.59	100.07
B	3.568 4	2	5.374 8	90.32	98.97
C	2.646 4	2	4.476 9	91.53	95.21

3 结论

试验建立了一种基于镉离子核酸适配体无标记检测镉离子的荧光方法,其最佳荧光检测条件为:pH 值 7、噻唑橙—适配体浓度比 7 : 3、噻唑橙与适配体结合时间 15 min、适配体与镉离子结合时间 20 min。在此条件下,荧光强度与镉离子浓度表现出良好的线性关系,线性范围为 2.00~80.00 ng/mL,检测限为 0.23 ng/mL,但对镉离子检测的特异性还有待加强,后续研究可通过对干扰离子进行屏蔽或者信号扩增等方法增强。

参考文献

- [1] MONTSERRAT G E, TRASOBARES E, FUENTES M, et al. Blood lead and cadmium levels in a six hospital employee population. PESA study, 2009 [J]. Journal of Trace Elements in Medicine & Biology Organ of the Society for Minerals & Trace Elements, 2011, 25(S1): S22-S29.
- [2] STRIŽAK Ž, IVANKOVIĆ D, PRÖFROCK D, et al. Characterization of the cytosolic distribution of priority pollutant metals and metalloids in the digestive gland cytosol of marine mussels: Seasonal and spatial variability[J]. Science of the Total Environment, 2014, 470/471: 159-170.
- [3] ARA C, ANDLEEB S, TAHIR M, et al. Cadmium induced teratogenic effects in developing mus musculus[J]. Pakistan Journal of Zoology, 2016, 48(1): 73-81.
- [4] WEI Xin, GAO Bo, WANG Peng, et al. Pollution characteristics and health risk assessment of heavy metals in street dusts from different functional areas in Beijing, China[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2015(5): 186-192.
- [5] 陆素芬, 张云霞, 余元元, 等. 广西南丹土壤—玉米重金属积累特征及其健康风险[J]. 生态与农村环境学报, 2017(8): 36-44.
- [6] 李颖, 刘国, 谢强, 等. 邯郸市某冶炼厂周边小麦体内重金属含量研究[J]. 四川环境, 2017(4): 43-46.
- [7] IQBAL J, SHAH M H, AKHTER G. Characterization, source apportionment and health risk assessment of trace metals in freshwater Rawal Lake, Pakistan[J]. Journal of Geochemical Exploration, 2013, 125: 94-101.
- [8] MOHAMMADI S Z, SHAMSPUR T, BAGHELANI Y M. Determination of copper, nickel, manganese and cadmium ions in aqueous samples by flame atomic absorption spectrometry after simultaneous coprecipitation with $Co(OH)_2$ [J]. Arabian Journal of Chemistry, 2014, 22(12): 1 197-1 202.
- [9] SUZUKI Y, ENDO Y, OGAWA M, et al. Determination of sub-ppb cadmium in urine by solid-phase extraction and inductively coupled plasma-mass spectrometry[J]. Analytical Sciences, 2008, 24(8): 1 049-1 052.
- [10] TÜRKMEN M, CIMINLI C. Determination of metals in fish and mussel species by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry[J]. Food Chemistry, 2007, 103(2): 670-675.
- [11] SUN Rui, MA Guo-peng, DUAN Xu-chuan, et al. Determination of cadmium in seawater by chelate vapor generation atomic fluorescence spectrometry[J]. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 2018, 141: 22-27.
- [12] SI Yan-mei, LIU Jing, CHEN Yuan, et al. rGO/AuNPs/Tetraphenylporphyrin nanoconjugates-based electrochemical sensor for high-sensitive detection of cadmium ions [J]. Analytical Methods, 2018, 10(29): 3 631-3 636.
- [13] GUO Yong-ming, ZHANG Yi, SHAO Hua-wu, et al. La-

- bel-free colorimetric detection of cadmium ions in rice samples using gold nanoparticles[J]. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(17): 8 530-8 534.
- [14] XIAO Meng, FU Qiang-qiang, SHEN Hai-cong, et al. A turn-on competitive immunochromatographic strips integrated with quantum dots and gold nano-stars for cadmium ion detection[J]. *Talanta*, 2017, 178: 644-649.
- [15] MEEK K N, RANGEL A E, HEEMSTRA J M. Enhancing aptamer function and stability via in vitro selection using modified nucleic acids[J]. *Methods*, 2016, 106: 29-36.
- [16] 张辉, 叶华, 吴世嘉, 等. 核酸适配体及其在食品安全领域中的应用研究进展[J]. *食品与机械*, 2016, 32(10): 194-199.
- [17] BAYRAMOGLU G, OZALP V, DINCIBAL U, et al. Fast and sensitive detection of Salmonella in milk samples using aptamer functionalized magnetic silica solid phase and MCM-41-aptamer gate system [J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2018, 4: 1 437-1 444.
- [18] WU Yuan-gen, ZHAN Shen-shan, WANG Lu-mei, et al. Selection of a DNA aptamer for cadmium detection based on cationic polymer mediated aggregation of gold nanoparticles[J]. *The Analyst*, 2014, 139(6): 1 550-1 561.
- [19] 赵旭, 吴世嘉, 乐琳, 等. 基于核酸适配体的镉离子可视化检测方法[J]. *食品与机械*, 2018, 34(6): 35-38.
- [20] PANG Yuan-feng, RONG Zhen, WANG Jun-feng, et al. A fluorescent aptasensor for H5N1 influenza virus detection based-on the core-shell nanoparticles metal-enhanced fluorescence (MEF)[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, 66: 527-532.
- [21] KANG Bei-hua, GAO Zhong-feng, LI Na, et al. Thiazole orange as a fluorescent probe: Label-free and selective detection of silver ions based on the structural change of imotif DNA at neutral pH[J]. *Talanta*, 2016, 156/157: 141-146.
- [22] NYGREN J, SVANVIK N, KUBISTA M. The interactions between the fluorescent dye thiazole orange and DNA[J]. *Biopolymers*, 2015, 46(1): 39-51.
- [23] SUN Chun-yan, SU Rui-fang, BIE J, et al. Label-free fluorescent sensor based on aptamer and thiazole orange for the detection of tetracycline[J]. *Dyes and Pigments*, 2017, 149: 867-875.
- [24] XING Yun-peng, LIU Chun, ZHOU Xiao-hong, et al. Label-free detection of kanamycin based on a G-quadruplex DNA aptamer-based fluorescent intercalator displacement assay[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 8 125-8 132.
- [25] ZHU Yu-feng, WANG Yong-sheng, ZHOU Bin, et al. A multifunctional fluorescent aptamer probe for highly sensitive and selective detection of cadmium (II)[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2017, 409: 4 951-4 958.
- [26] CAO Dong-yu, FAN Jun, QIU Jun-ru, et al. Masking method for improving selectivity of gold nanoclusters in fluorescence determination of mercury and copper ions[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2013, 42: 47-50.
-
- (上接第 42 页)
- [10] ABDESSALEM M, RODRIGUEZ-GUTIERREZ G, RUBIO-SENENT F, et al. Enzymatic conversion of date fruit fiber concentrates into a new product enriched in antioxidant soluble fiber[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2017, 75(1): 727-734.
- [11] SWENNEN K, COURTIN C M, DELCOUR J A. Non-digestible oligosaccharides with prebiotic properties [J]. *Critical Reviews in Food Science Nutrition*, 2006, 46(6): 459-471.
- [12] 赵欣锐, 王秋阳, 杨晰茗, 等. 木聚糖酶改性红松松仁膜衣膳食纤维工艺优化及结构分析[J]. *东北农业科学*, 2019(5): 111-115, 122.
- [13] 周笑犁, 王瑞, 高蓬明, 等. 刺梨果渣膳食纤维的体外吸附性能[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(2): 187-191.
- [14] 罗磊, 王雅琪, 马丽苹, 等. 绿豆皮可溶性膳食纤维提取工艺优化及其物理特性研究[J]. *食品与机械*, 2017, 33(8): 144-149.
- [15] CHU Jia-xi, ZHAO Hai-zhen, LU Zhao-xin, et al. Improved physicochemical and functional properties of dietary fiber from millet bran fermented by *Bacillus natto*[J]. *Food Chemistry*, 2019, 294(10): 79-86.
- [16] DAOU C, ZHANG Hui. Study on functional properties of physically modified dietary fibres derived from defatted rice bran[J]. *Journal of Agricultural Science*, 2012, 4(9): 85-97.
- [17] 黄冬云, 钱海峰, 苑华宁, 等. 木聚糖酶制取米糠膳食纤维的功能性质[J]. *食品与发酵工业*, 2013, 39(12): 30-34.
- [18] 梁志宏, 茹慧玲, 王俊宇, 等. 残次裂枣膳食纤维的酶解法提取及其品质分析[J]. *保鲜与加工*, 2019, 19(6): 175-180.
- [19] 孙杰, 韩苗苗, 龚超, 等. 莲蓬膳食纤维的高温改性及其理化和应用特性研究[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(2): 141-145.
- [20] 包怡红, 冯雁波. 响应面试验优化红松松仁膳食纤维制备工艺及其理化性质分析[J]. *食品科学*, 2016, 37(14): 11-17.
- [21] 黄清霞, 雷激, 李华鑫, 等. 高生物活性柠檬膳食纤维的功能特性研究[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(5): 226-229.