

胶体金免疫层析法快速检测韭菜中腐霉利残留

王兆芹^{1,2}, 朱亮亮^{1,3}, 冯才伟^{1,3}, 崔海峰^{1,3}, 魏力杰^{1,3}, 崔廷婷^{1,3}, 何方洋^{1*}

(1. 北京勤邦科技股份有限公司, 北京 102206; 2. 北京望尔生物技术有限公司, 北京 102206; 3. 北京市食品安全免疫快速检测工程技术研究中心, 北京 102206)

摘要:【目的】建立韭菜中腐霉利残留的胶体金免疫层析快速检测方法。【方法】通过合成两种不同结构的腐霉利半抗原, 并分别与载体蛋白耦联制得免疫原和包被原, 免疫小鼠获得腐霉利单克隆抗体。基于竞争性免疫抑制原理, 建立可视化胶体金免疫层析法。【结果】检测韭菜中腐霉利残留, 检测限为 5 mg/kg, 满足国家标准规定的最大残留限量; 对实际样品的检测结果与液相色谱-质谱法检测结果一致。【结论】本研究建立的方法具有简便、快速、准确等优点, 可实现对韭菜中腐霉利残留超标的高通量快速筛选。

关键词: 腐霉利; 韭菜; 胶体金免疫层析技术(GICA); 快速检测; 试纸条

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2023)03-0125-04

Rapid Detection of Procymidone Residue in Leek by Colloidal Gold Immunochromatography

WANG Zhaoqin^{1,2}, ZHU Liangliang^{1,3}, FENG Caiwei^{1,3}, CUI Haifeng^{1,3}, WEI Lijie^{1,3}, CUI Tingting^{1,3}, HE Fangyang^{1*}

(1. Beijing Kwinbon Technology Co., Ltd., Beijing 102206; 2. Beijing Wanger Biotechnology Co., Ltd., Beijing 102206; 3. Beijing Engineering Research Centre of Food Safety Immunodetection, Beijing 102206, China)

Abstract: To establish a colloidal gold immunochromatographic method for the rapid detection of procymidone residue in leek. Two haptens with different structures were synthesized and conjugated with a carrier protein. This process prepared the immunogen and coating antigen, leading to the production of a monoclonal antibody against procymidone. Using the principle of competitive inhibition, a visualized colloidal gold immunochromatography method was established. The detection limit of procymidone in leek was 5 mg/kg, which met the maximum residue limit of national standard. The results of this method were consistent with those of the liquid chromatography-mass spectrometry method. The established method is simple, rapid and accurate, which can be used for high-throughput screening of procymidone residues in leek.

Key words: Procymidone; Leek; Colloidal gold immunochromatography assay (GICA); Rapid detection; Strip

腐霉利是一种低毒内吸性杀菌剂, 兼具保护和治疗的三重作用, 主要用于防治果树及蔬菜作物的灰霉病、菌核病等^[1-2]。韭菜是多年生宿根植物, 主要病害是灰霉病, 种植过程中腐霉利等农药施用较多^[3], 我国国家标准 GB 2763.1-2022《食品安全国家标准 食品中 2,4-滴丁酸钠盐等 112 种农药最大残留限量》中规定, 腐霉利在韭菜上最大残留限量为 5 mg/kg^[4]。如果不遵守采摘间隔期或过量使用, 都可能导致韭菜中的腐霉利残留

超标, 对消费者身体健康造成严重危害^[5-6]。近年来各级抽检及调查数据显示, 韭菜中腐霉利的检出率和超标率均最高^[7-8], 因此, 建立快速检测腐霉利残留的方法对保障食品安全及消费者身体健康具有重要意义。

腐霉利的残留分析主要采用气相色谱法、气相色谱-质谱联用法、高效液相色谱法等仪器方法^[9-12], 具有检出限低、结果准确等优点, 但样品前处理烦琐费时, 需要专业技术人员和昂贵的仪器设备, 检测成本高, 不适合大批量样品的现场快速检测。与之相比, 免疫分析技术具有简便、快速、成本低等优点, 其包括酶联免疫吸附技术(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、免疫层析技术等, 均已广泛应用于高通量、现场检

收稿日期: 2020-09-24

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFC1605500)

作者简介: 王兆芹(1976-), 女, 工程师, 研究方向: 食品安全。

通讯作者: 何方洋, 男, 博士, 研究员, E-mail: beijingqinbang@163.com

com

测^[13-16],其中以胶体金免疫层析技术(colloidal gold immunochromatography assay, GICA)的实用性更强、应用更广。目前对腐霉利的免疫分析报道较少,且多为制备抗体并应用于ELISA检测,邹强^[16]通过设计半抗原获得单克隆抗体,建立的间接竞争ELISA方法对腐霉利的半数抑制浓度(IC₅₀)为71 ng/mL;专利20910961107.5中将获得的腐霉利单克隆抗体细胞株用于酶联免疫分析检测,IC₅₀值为16.58 ng/mL^[17]。ELISA方法仍然需要酶标仪等仪器及具有一定经验的技术人员,且结果受外界因素及样品基质影响较大^[18]。本研究基于胶体金免疫层析技术,建立一种快速检测韭菜中腐霉利残留的方法,为完善蔬果中腐霉利快速检测提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

腐霉利标准品(纯度≥99%,美国Sigma公司);羟基腐霉利、3,5-二氯-4-氟硝基苯、1,2-二甲基环丙烷-1,2-二羧酸、N,N-二甲基甲酰胺、琥珀酸酐、人血清白蛋白(human serum albumin, HSA)、卵清蛋白(ovalbumin, OVA)、牛血清白蛋白(bovine albumin, BSA)、羊抗鼠二抗、氯金酸(Sigma公司);PVC底板、样品垫、结合物释放垫、硝酸纤维素膜(NC膜)、吸水垫(上海捷宁生物科技有限公司);其他化学试剂均为国产分析纯;提取液:0.02 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.0)。

1.2 仪器与设备

2000SBL电子天平(美国Setra公司);SBCJ磁力搅拌加热器(河南圣亚仪器仪表有限公司);TGL16C台式高速冷冻离心机(湖南湘立科学仪器有限公司);XYZ3050胶体金点样系统(美国BioDot公司);CT 300数控切条机(上海金标生物科技有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 腐霉利免疫原的制备

取3,5-二氯-4-氟硝基苯2.08 g加80 mL乙醇溶解,加入NaOH 0.8 g搅拌,再加入氨基丁酸1.05 g充分搅拌,60 °C反应4 h,反应结束后,60 °C旋蒸除去乙醇,加入水100 mL,用乙酸乙酯70 mL萃取,收集水相,水相用6 mol/L盐酸调节pH到5,再用乙酸乙酯萃取,经无水硫酸钠干燥、蒸干,得到中间体1;将中间体1加90 mL甲醇溶解澄清,缓慢加入0.5 g钯碳,充分混匀后,抽取空气,通入氢气,室温搅拌6 h,反应结束后,抽滤除去钯碳,

60 °C旋蒸蒸干,得到中间体2;取1,2-二甲基环丙烷-1,2-二羧酸1.58 g加二氯甲烷100 mL溶解,0~5 °C恒温30 min,加入草酰氯2.48 g,充分搅拌,再加入N,N-二甲基甲酰胺0.5 mL,0~5 °C继续搅拌3 h;加入全部中间体2,加三乙胺2.8 mL,回流反应8 h,反应结束后,40 °C旋蒸除去有机溶剂,加入水120 mL,用乙酸乙酯100 mL萃取,蒸干,用硅胶柱纯化,用石油醚和乙酸乙酯体积比为5:1的混合溶剂洗脱分离,得到腐霉利半抗原I(分子结构式见图1)。然后采用活泼酯法^[19]将腐霉利半抗原I与HSA耦联,得到腐霉利半抗原I-HSA偶联物,即为免疫原,分装,-20 °C保存。

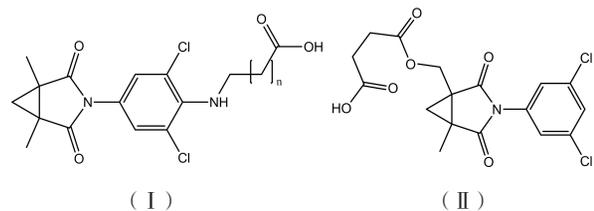


图1 腐霉利半抗原分子结构

1.3.2 腐霉利包被原的制备

取2.99 g羟基腐霉利加吡啶80 mL溶解,加入琥珀酸酐1.1 g,油浴加热,75 °C反应6 h,反应结束后,80 °C旋蒸除去吡啶,加入水100 mL和1 mol/L盐酸10 mL,用乙酸乙酯80 mL萃取,收集有机相,有机相加无水硫酸钠干燥蒸干,用硅胶柱纯化,用石油醚和乙酸乙酯体积比为5:1的混合溶剂洗脱分离,得到腐霉利半抗原II(分子结构式见图1)。然后采用混合酸酐法^[20]将腐霉利半抗原II与OVA耦联,得到腐霉利半抗原II-OVA偶联物,即为包被原,分装,-20 °C保存。

1.3.3 腐霉利单克隆抗体的制备

按照常规方法,用1.3.1制备的免疫原免疫Balb/c小鼠制备腹水抗体,用饱和硫酸铵法纯化后备用^[21],以间接竞争ELISA分析抗体的灵敏度。

1.3.4 胶体金溶液的制备

用双蒸水将1%的氯金酸稀释至质量分数为0.01%,取100 mL置于磁力加热搅拌器上煮沸,在持续高温和搅拌下加入1.5 mL 1%的柠檬酸三钠溶液,继续搅拌加热至溶液颜色变为红色时停止,冷却至室温,用双蒸水定容到100 mL,4 °C保存。

1.3.5 金标抗体的制备

1.3.5.1 胶体金标记最佳抗体浓度的确定

取10 mL胶体金溶液,用0.2 mol/L K₂CO₃调节pH至7.2,分装至10支试管中。向其中加入不同浓度的抗体,使其终浓度分别为0、5、10、15、20、

25、30、35、40 $\mu\text{g/mL}$, 5 min 后分别加入 0.1 mL 10% NaCl 溶液, 混匀, 静置 2 h 后目测观察结果, 确定胶体金标记最佳抗体浓度。

1.3.5.2 胶体金标记抗体的制备及纯化

在磁力搅拌下, 用 0.2 mol/L K_2CO_3 调节胶体金溶液的 pH 至 7.2, 按确定的胶体金标记最佳抗体浓度向其中加入腐霉利单克隆抗体, 搅拌混匀 30 min, 静置 10 min, 加入 10% BSA 使其终质量分数为 1%, 静置 10 min, 4 $^\circ\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 40 min, 沉淀用含有 0.5% BSA、4% 蔗糖、pH 7.2 的 0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液重悬, 4 $^\circ\text{C}$ 保存。

1.3.6 试纸条的制备

用喷膜仪以 0.01 mL/cm 将金标抗体均匀喷涂于结合物释放垫上, 37 $^\circ\text{C}$ 干燥 60 min 备用; 用 PBS 溶液分别将腐霉利包被原和羊抗鼠二抗稀释至 1.0 mg/mL 和 200 $\mu\text{g/mL}$, 以 1.0 $\mu\text{L/cm}$ 将二者包被在 NC 膜上作为检测线 (T 线) 和质控线 (C 线), 37 $^\circ\text{C}$ 干燥 2 h 备用。在 PVC 底板上依次粘贴样品垫、结合物释放垫、NC 膜和吸水垫, 切成 3.98 mm 宽的小条, 装在特制的塑料卡壳中。

1.3.7 样品处理与检测

取新鲜韭菜去泥, 剪碎成小于 1 cm 见方的碎片; 称取 (2.00 \pm 0.05) g 至 15 mL 聚苯乙烯离心管中, 加入 6 mL 提取液, 盖上盖子, 手动振荡 1 min, 静置 5 min; 取 20 μL 上清液和 980 μL 提取液, 混匀即为待测液。吸取 100 μL 待测液垂直滴于试纸条加样孔中, 液体流动开始计时, 反应 10 min, 通过比色判断结果。当 T 线消失或比 C 线浅时, 判定为阳性 (+); 当 T 线与 C 线一致或比 C 线深时, 判定为阴性 (-)。

1.3.8 试纸条性能指标的确定

1.3.8.1 检测限

取经液相色谱-质谱法 (liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS) 检测确定的阴性韭菜样本, 分别添加腐霉利至质量浓度为 0、2.5、5、10 mg/kg, 每个浓度重复 2 次, 用试纸条进行检测。

1.3.8.2 准确性

取阴性样本、加标阳性样本各 20 份和 1 个实际阳性样本, 用试纸条进行检测, 计算假阳性率、假阴性率。

1.3.8.3 比对试验

在超市、农贸市场随机购买 20 份韭菜盲样, 分别用试纸条和 LC-MS 检测腐霉利残留情况。以腐霉利在韭菜上最大残留限量 5 mg/kg 为判定依据, 阴性样本用“-”表示; 阳性样本试纸条用

“+”表示, LC-MS 用实测值表示。LC-MS 检测条件及前处理过程参考 GB/T 20769-2008《水果和蔬菜中 450 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》^[22], 在北京安为天检测技术有限公司完成。

2 结果与分析

2.1 间接竞争 ELISA 的抑制曲线

分别测定浓度梯度为 0、0.025、0.075、0.225、0.675、2.025 $\mu\text{g/L}$ 的腐霉利标准溶液的吸光度值 (B), 计算百分吸光率 (B/B_0)。以标准品百分吸光率为纵坐标, 腐霉利浓度的对数值 ($\lg C$) 为横坐标, 绘制标准曲线, 见图 2。由图 2 可以看出, 绘制出的标准曲线为免疫法典型的倒“S”曲线, 线性方程为 $y = -0.3881x + 0.1198$, $R^2 = 0.9671$; 以竞争抑制率达到 50% 时所对应的腐霉利浓度 (半数抑制浓度) 为抗体的灵敏度, 即 0.105 $\mu\text{g/L}$ 。

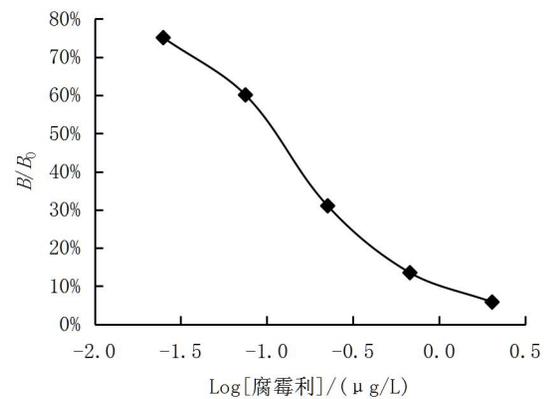
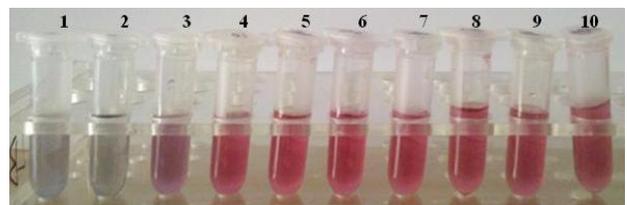


图2 腐霉利标准曲线

2.2 胶体金标记最佳抗体浓度的确定

观察图 3 各管的颜色差异发现, 第 1 管加入氯化钠后由于盐离子效应改变了胶体金的性质^[23], 出现由红变蓝的聚沉现象; 第 5~9 管的颜色与 10 号对照管基本一致, 说明从 5 号管以后加入的抗体量足以稳定胶体金, 则不会发生聚沉。因此,



注: 2~9 号管加入的抗体浓度分别为 5、10、15、20、25、30、35、40 $\mu\text{g/mL}$; 1 号和 10 号管为对照, 其中 1 号管不加抗体但加 10% NaCl, 10 号管既不加抗体也不加 10% NaCl

图3 胶体金标记最佳抗体浓度的确定结果

胶体金标记最佳抗体浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 即稳定 1 mL 胶体金最适抗体量是 20 μg , 一般情况下, 在此基础上再加上 20%^[24], 则加入的抗体量应为 24 μg 。

2.3 检测限试验

图 4 结果显示, 随腐霉利质量浓度不断上升, 试纸条 T 线颜色由深变浅。当腐霉利质量浓度为 5 mg/kg 时, 观察到 T 线颜色明显弱于 C 线, 因此确定本试纸条对韭菜中腐霉利的检测限为 5 mg/kg, 满足国家标准 GB 2763.1-2022 规定的最大残留限量。

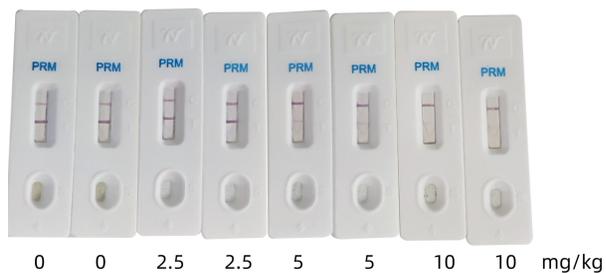


图 4 GICA 法检测限试验结果

2.4 准确性试验

测试结果显示, 对于加标阳性样本和实际阳性样本的检测结果均为阳性; 阴性样本判断结果均为阴性, 假阴性率、假阳性率均为 0, 说明本试纸条可对韭菜中腐霉利残留超标进行准确定性。

2.5 比对试验

试纸条和 LC-MS 盲样检测结果见表 1。试纸条检测 20 份盲样, 检出 1 份阳性样本; 用 LC-MS 法检测, 结果同样为阳性, 进一步说明本研究开发的胶体金免疫层析试纸条可对韭菜中腐霉利残留超标进行准确定性。但在实际应用中, 由于肉眼判断的主观性影响, 不能完全排除假阳性问题, 可配套胶体金读数仪进行半定量判定, 对于检测结果中出现的阳性样本, 还需要用 LC-MS 或

表 1 GICA 法与 LC-MS 法检测盲样结果 mg/kg

样本 编号	检测方法		样本 编号	检测方法	
	GICA	LC-MS		GICA	LC-MS
1	-	-	11	-	-
2	-	-	12	-	-
3	-	-	13	-	-
4	-	-	14	-	-
5	-	-	15	-	-
6	-	-	16	-	-
7	-	-	17	-	-
8	+	5.13	18	-	-
9	-	-	19	-	-
10	-	-	20	-	-

GC-MS 等仪器方法进行确证。

3 结 论

在免疫分析中, 通常将同种结构的半抗原与不同的载体蛋白偶联制备免疫原和包被原, 即同源免疫分析 (homologous immunoassay)^[25]。异源免疫分析 (heterologous immunoassay) 是指用于获得抗体的免疫半抗原结构与用于建立免疫方法的竞争半抗原结构不同^[26]。已有研究表明, 异源分析有利于提高免疫分析方法的检测灵敏度, 且间隔臂引入位点的异源分析比改变臂长度的异源分析更灵敏^[27], 王英姿等^[28]基于异源包被, 建立了曲安奈德的间接竞争 ELISA 方法, 灵敏度达到 0.53 ng/mL, 为同源分析的 10 倍。

本研究创造性地将两种不同结构的腐霉利半抗原分别与载体蛋白偶联后制得免疫原和包被原, 实现了异源免疫分析; 免疫获得的单克隆抗体对腐霉利的检测灵敏度达到 0.105 $\mu\text{g}/\text{L}$, 与邹强等^[16-17]的研究相比, 灵敏度更高, 由此建立的胶体金免疫层析试纸条对韭菜中腐霉利的检测限为 5 mg/kg, 满足国家标准规定的最大残留限量; 对实际样本的检测结果与液相色谱-质谱法检测结果一致, 可实现对韭菜中腐霉利的有效检测。

参考文献:

- [1] 白耀博, 陈学进, 凤舞剑, 等. 徐州地区草莓灰霉病菌对腐霉利的抗药性研究[J]. 东北农业科学, 2017, 42(1): 31-33.
- [2] 徐雪亮, 刘子荣, 黄衍章, 等. 不同杀菌剂对油菜菌核病菌的防治效果研究[J]. 湖北农业科学, 2019, 58(18): 62-64, 69.
- [3] 林永勤. 几种韭菜病虫害综合防治技术[J]. 河南农业, 2019(1): 34.
- [4] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 中华人民共和国农业农村部, 国家市场监督管理总局. GB 2763.1-2022 食品安全国家标准 食品中 2,4-滴丁酸钠盐等 112 种农药最大残留限量[S]. 北京: 中国农业出版社, 2022.
- [5] 胡彬, 李琳, 戚如诗, 等. 从韭菜腐霉利残留超标看农药登记及最大残留限量标准的科学制定[J]. 中国蔬菜, 2020(5): 9-11.
- [6] 吕冰峰, 刘敏, 邢书霞. 2018 年蔬菜国家食品安全监督抽检结果分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(17): 5715-5721.
- [7] 温雅君, 肖志勇, 马啸, 等. 韭菜中农药残留状况调查与分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(13): 4231-4235.
- [8] 孙大江, 任丹丹, 陈修红, 等. 固相萃取-气相色谱法测定桑葚等浆果中百菌清、腐霉利和联苯菊酯 3 种农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(17): 5908-5912.

- [21] 杨路平, 邵立君, 王国玲, 等. QuEChERS 结合液相色谱-串联质谱法测定食用菌中 13 种农药残留[J]. 食品工业科技, 2019, 40(14): 1-15.
- [22] 胡笑眉, 郭婧怡, 田英. 啮虫脲毒性效应及暴露水平研究进展[J]. 环境与职业医学, 2019, 36(6): 595-601.
- [23] Chen M, Tao L, Mclean J, et al. Quantitative analysis of neonicotinoid insecticide residues in foods: implication for dietary exposures[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(26): 6082-6090.
- [24] Seccia S, Fidente P, Montesano D, et al. Determination of neonicotinoid insecticides residues in bovine milk samples by solid-phase extraction clean-up and liquid chromatography with diode-array detection[J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1214(1/2): 115-120.
- [25] Jovanov P, Guzsvany V, Franko M, et al. Multi-residue method for determination of selected neonicotinoid insecticides in honey using optimized dispersive liquid-liquid microextraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Talanta, 2013, 111: 125-133.
- [26] 丁绍武, 张鹏. 新烟碱类杀虫剂吡虫啉的残留危害及降解特性分析[J]. 现代农业科技, 2019(3): 121-123.
- [27] 谭颖, 张琪, 赵成, 等. 蔬菜水果中的新烟碱类农药残留量与人群摄食暴露健康风险评估[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(6): 67-81.
- [28] Crosby E B, Bailey J M, Oliverian, et al. Neurobehavioral impairments caused by developmental imidacloprid exposure in zebrafish[J]. Neurotoxicology and Teratology, 2015, 49: 81-90.
- [29] 王开运, 姜兴印, 仪美芹, 等. 山东省主要菜区瓜(棉)蚜 (*Aphis gossypii* Glover) 抗性及其机理研究[J]. 农药学报, 2000, 2(3): 19-24.

(责任编辑: 王昱)

(上接第 128 页)

- [9] ÖZDOĞAN N, KAPUKIRAN F, MUTLUOĞLU G, et al. Simultaneous Determination of Iprodione, Procymidone, and Chlorflorene in Lake Water and Wastewater Matrices by GC-MS after Multivariate Optimization of Binary Dispersive Liquid-Liquid Microextraction[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2018, 190(10): 1-7.
- [10] 许文娟, 刘永强, 丁葵英, 等. 气相色谱-质谱法无基质效应测定冷冻韭菜中的腐霉利[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(21): 156-160.
- [11] 徐秋生, 贺慧琳, 朱吕, 等. 高效液相色谱法测定番茄中腐霉利和异菌脲的残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(2): 486-490.
- [12] 张铨哲, 韩晓旭, 郭衍锦, 等. 东北地区水稻、小麦和玉米镰孢菌鉴定与 ZEN 毒素检测[J]. 东北农业科学, 2018, 43(1): 16-23.
- [13] 李小宇, 张春雨, 张伟, 等. 大豆花叶病毒间接 ELISA 检测方法的建立及应用[J]. 东北农业科学, 2019, 44(1): 22-27.
- [14] Na G Q, Hu X F, Yang J F, et al. A Rapid Colloidal Gold-Based Immunochromatographic Strip Assay for Monitoring Nitroxylin in Milk[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(5): 1860-1866.
- [15] Ray M, Achary K G, Nayak S, et al. Development of a Colloidal Gold Strip-Based Immunochromatographic Assay for Rapid Detection of *Fusarium Oxysporum* in Ginger[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(14): 6155-6166.
- [16] 邹强. 抗百菌清和腐霉利单克隆抗体制备及其特性分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.
- [17] 江苏权正检验检测有限公司, 江南大学. 一株分泌腐霉利单克隆抗体的杂交瘤细胞株及其应用: 中国, 20910961107.5 [P]. 2020-02-21. <http://pss-system.cnipa.gov.cn/sipublicsearch/patent/search/showViewList-jumpToView.shtml>.
- [18] 朱海, 许稳健, 杨星星, 等. 快速检测联苯菊酯的胶体金层析试纸条研制[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(7): 59-62.
- [19] 蔡陈芳, 周常义, 曾磊, 等. 杀草丹半抗原及其人工抗原的制备与鉴定[J]. 食品工业科技, 2019, 40(14): 284-291.
- [20] 张美容. 不同偶联比的毒死蜱、杀螟硫磷人工抗原的制备及表征[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2008.
- [21] 杨利国, 胡少昶, 魏平华, 等. 酶免疫测定技术[M]. 南京: 南京大学出版社, 1998: 131-157, 176.
- [22] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 20769-2008 水果和蔬菜中 450 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [23] 李洁. 基于核酸适配体技术对食品中吊白块的胶体金试纸条研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2018.
- [24] 赵红艳. 玉米赤霉烯酮胶体金免疫层析试纸条的研制[D]. 南京: 南京农业大学, 2015.
- [25] Holthues H, Preifer-fukumura U, Sound I, et al. Evaluation of the Concept of Heterology in a Monoclonal Antibody-Based ELISA Utilizing Direct Hapten Linkage to Polystyrene Microtiter Plates[J]. Journal Immunol Methods, 2005, 304(1-2): 68-77.
- [26] 王春梅. 有机磷高特异性和宽谱单克隆抗体的筛选与比较研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- [27] 施海燕, 朱国念, 郑尊涛, 等. 同源与异源分析对 ELISA 检测灵敏度和特异性的影响[J]. 农药学报, 2005, 7(4): 349-352.
- [28] 王英姿, 闫剑勇, 张世伟. 基于异源包被的曲安奈德竞争酶联免疫检测方法[J]. 食品工业科技, 2020, 41(8): 263-267.

(责任编辑: 王昱)