

# 胶体金侧向流免疫层析技术检测有机磷农药残留

王 菡<sup>1\*</sup>, 李高华<sup>1</sup>, 张 阳<sup>2</sup>, 陈 涛<sup>2</sup>, 薛小平<sup>2</sup>

(1. 陕西出入境检验检疫局检验检疫技术中心, 西安 710068; 2. 西安立邦制药有限公司, 西安 710077)

**摘 要:** **目的** 在已制备出抗一类有机磷农药的组特异性单克隆抗体的基础上, 制备胶体金, 从而快速地对上述有机磷农药进行检测。**方法** 通过鞣酸-柠檬酸三钠还原法制备出直径  $16.08 \pm 0.64$  nm、质地均一的胶体金, 并且以此标记单克隆抗体, 组装胶体金免疫层析检测板。利用紫外光谱、荧光光谱、透射电镜、动态光散射等方法对胶体金及金标抗体进行鉴定。**结果** 该检测板对标准毒死蜱的检测限为  $4 \mu\text{g/mL}$ , 检测时间为 5 min。**结论** 胶体金试纸条对毒死蜱具有较好的检测灵敏度, 并且基质的干扰效应不明显。

**关键词:** 胶体金免疫层析; 有机磷农药; 单克隆抗体

## Detection of organophosphorus pesticides residual using lateral flow immune colloidal gold chromatography technology

WANG Han<sup>1\*</sup>, LI Gao-Hua<sup>1</sup>, ZHANG Yang<sup>2</sup>, CHEN Tao<sup>2</sup>, XUE Xiao-Ping<sup>2</sup>

(1. *The Inspection and Quarantine Technology Center of Shaanxi Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Xi'an 710068, China*; 2. *Xi'an Libang Pharmaceutical Co., Ltd., Xi'an 710077, China*)

**ABSTRACT: Objective** To prepare the colloidal gold for the rapid detection of organophosphorus pesticides on the basis of the specific monoclonal antibodies against a class of organophosphorus pesticides. **Methods** Uniform texture colloidal gold with a diameter of  $16.08 \pm 0.64$  nm was prepared by tannin-sodium citrate reduction method, then labeled monoclonal antibody, and assembled colloidal gold immune chromatography testing board. The colloidal gold and gold labeled antibodies were identified by ultraviolet spectrum, fluorescence spectroscopy, transmission electron microscopy, and dynamic light scattering. **Results** The testing board was validated to complete a detection assay within 5 min, and the LOD value of chlorpyrifos-ethyl was  $4 \mu\text{g/mL}$ . **Conclusion** Colloidal gold test strip had a high sensitivity, and the matrix interference effect was not obvious.

**KEY WORDS:** gold immune chromatography assay; organophosphorus pesticides; monoclonal antibody

## 1 引 言

胶体金免疫层析技术(gold immune chromatography assay, GICA)是一种将胶体金标记技术、免疫

检测技术和层析分析技术等多种方法有机结合在一起的固相标记免疫检测技术。

它的原理是: 以条状纤维层析材料为固相, 通过毛细作用使样品溶液在层析条上泳动, 并同时使

基金项目: 国家质检总局科技计划项目(2013IK179)

**Fund:** Supported by the Science and Technology Planning Project of General Administration of Quality Supervision and Quarantine of the People's Republic of China (2013IK179)

\*通讯作者: 王菡, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测技术。E-mail: wanghan128@126.com

\*Corresponding author: WANG Han, Master, Engineer, The Inspection and Quarantine Technology Center of Shaanxi Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Xi'an 710068, China. E-mail: wanghan128@126.com

样品中的待测物与层析材料上针对待测物的受体(抗原或抗体)发生高特异性、高亲和性的免疫结合反应,层析过程中形成的免疫复合物被富集或截留在层析材料的一定区域(检测带),运用可目测的标记物(胶体金)而直观的观察检测结果(显色条带),也可以借助专用检测设备判读检测结果。该方法无需精密检测仪器以及对操作人员的培训,可以在很短的时间内进行现场检测。

本文在已制备出抗一类有机磷农药的组特异性单克隆抗体的基础上,又通过鞣酸—柠檬酸三钠还原法制备出直径  $16.08 \pm 0.64$  nm、质地均一的胶体金,并且以此标记单克隆抗体,组装胶体金免疫层析检测板,从而快速地对上述有机磷农药进行检测。

## 2 材料与方 法

### 2.1 材料、试剂和仪器

#### 2.1.1 试 剂

乙基毒死蜱、辛硫磷、三唑磷(西安交通大学医学院环境与劳动卫生教研室惠赠);甲基对硫磷(西北农林科技大学农药研究中心惠赠);甲醇、柠檬酸三钠、鞣酸(西安化学试剂厂);牛血清白蛋白(BSA)(Roche);氯化金( $\text{AuCl}_4$ )(上海生工)。

#### 2.1.2 仪 器

酶标仪(680型,美国 Bio-Rad);紫外分光光度计(U-3310,日本 HITACHI);超纯水机(Milli-Q,美国密理博);紫外分光光度计(U-3310,日本 HITACHI);荧光分光光度计(F-4500,日本 HITACHI);透射电镜(JEM-EX2000,日本 JEOL);动态光散射仪(英国 Malvern)。

### 2.2 方 法

#### 2.2.1 胶体金制备

以鞣酸-柠檬酸三钠还原法制备胶体金,依下表配置 A 液及 B 液。

将配置好的 A、B 液在水浴内加热到  $60\text{ }^\circ\text{C}$  以

上,在电磁搅拌器上快速搅拌 B 液,迅速将 A 液加入,继续加热搅拌直至溶液变成葡萄酒色,时间大约  $7\sim 10$  min。

#### 2.2.2 胶体金标记单克隆抗体

标记前先用  $0.1\text{ mol/L K}_2\text{CO}_3$  或  $0.1\text{ mol/L HCl}$  将胶体金的调至 pH 值 8.3,用精密 pH 试纸测定 pH 值即可。在  $1\text{ mL}$  胶体金溶液中加入  $0.1\text{ mL}$  不同浓度的单克隆抗体(McAb)溶液,加入  $10\%$  NaCl 溶液  $0.1\text{ mL}$ ,  $4\text{ h}$  后不聚沉的最小质量(mg)的抗体的量为絮凝点(flocculation point, FP)。标记时再将此量提高  $10\%$  即为标记量。根据以上目测结果,取  $10\text{ mL}$  胶体金溶液及  $1\text{ mg/mL McAb } 0.5\text{ mL}$  进行标记。在电磁搅拌下,将蛋白质溶液加入已调 pH 的胶体金溶液中,加入蛋白时应逐滴加入,  $1\text{ mg}$  蛋白大约  $5\text{ min}$  加完。在电磁搅拌下加入  $5\%$  BSA,使其终浓度为  $1\%$ 。将标记的胶体金溶液  $1500\text{ r/min } 4\text{ }^\circ\text{C}$  离心  $15\text{ min}$ ,吸出上清液,弃去沉淀,以去除较大的聚合物。再将吸出的上清  $12000\text{ r/min } 4\text{ }^\circ\text{C}$  离心  $15\text{ min}$ ,弃上清,将沉淀以原体积  $0.02\text{ mol/L TBS(pH } 8.2, \text{ 内含 } 1\% \text{ BSA, } 0.05\% \text{ 叠氮钠)}$  溶解,重复离心  $2\sim 3$  次,沉淀溶于  $1\text{ mL TBS}$  中,加  $50\%$  甘油,  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  保存。

#### 2.2.3 胶体金单克隆抗体结合物的免疫性鉴定

测定金标抗体的滴度和灵敏度。根据结果判断胶体金-单克隆抗体的免疫性。

#### 2.2.4 紫外-可见光谱扫描

分别将胶体金( $0.5\text{ mmol/L, pH } 8.3$ )及胶体金标记的单克隆抗体 pH 8.3 在  $200\sim 700\text{ nm}$  可见光范围进行扫描,扫描速率为  $225\text{ nm/min}$ ,扫描间距为  $1\text{ nm}$ 。

#### 2.2.5 荧光光谱分析

激发光和发射光谱带宽为  $5\text{ nm}$ ,扫描速率为  $240\text{ nm/min}$ ,狭缝宽度为  $1\text{ nm}$ ,激发光波长为  $295\text{ nm}$ ,荧光发射光谱扫描范围在  $300\sim 500\text{ nm}$ 。分别将胶体金( $0.05\text{ mmol/L, pH } 8.3$ )和胶体金单标记的克隆抗体进行扫描。

表 1 鞣酸-柠檬酸三钠还原法  
Table 1 Tannin-sodium citrate reduction method

A 液			B 液		
1%柠檬酸钠(mL)	$0.1\text{ mol/L K}_2\text{CO}_3$ (mL)	1%鞣酸(mL)	$\text{H}_2\text{O}$ (mL)	1%HAuCl <sub>4</sub> (mL)	$\text{H}_2\text{O}$ (mL)
4	0.0025	0.01	15.987	1	79

### 2.2.6 电镜鉴定

用预先处理好的覆有 Formavar 膜的镊网分别浸入适当稀释的胶体金溶液及胶体金标记单克隆抗体溶液内, 取出放在 37 °C 烤箱烤干。然后在透射电镜下观察, 加速电压为 80.2 kV, 放大倍数为 100 k。主要观察金颗粒的大小、形态是否均匀一致, 有无椭圆及多角形金颗粒存在, 并拍片。分别测量 50 个胶体金颗粒及耦联单抗的胶体金颗粒的直径, 用 SPSS13.0 进行统计学处理。

### 2.2.7 Dynamic light scattering (DLS)分析

使用动态光散射仪对胶体金及 gold-McAb 的粒度及的 zeta 电位进行分析, 测量温度为 25 °C, 所有样品均为 pH 8.3。

### 2.2.8 侧向层流胶体金免疫试纸条的制备

胶体金免疫试纸条依照 Sun<sup>[1]</sup>所描述的方法制备和组装: 金标抗体溶液(OD<sub>519</sub>=40)喷洒于玻璃纤维上, 室温干燥; 包被抗原溶于 PBS 溶液(1 mg/mL) 在硝酸纤维薄膜用点膜机划检测线(T 线), 距 1 cm 处以羊抗鼠 IgG (0.5 mg/mL)点出对照线(C 线); 点好线的硝酸纤维膜置于 1% BSA 中, 室温孵育 2 h 以封闭其他活性位点。PBST 洗膜一次, 超纯水洗膜两次, 室温干燥; 依次将滤样纸、吸水玻璃纤维(固相的胶体金-单克隆抗体结合物)、硝酸纤维薄膜和吸水滤纸粘贴于白色的塑料片支持材料上。切成 0.25 cm×6 cm 的测试条, 装入塑料盒中, 加入干燥剂密封保存。

### 2.2.9 胶体金试纸条对毒死蜱标准液的反应

如图所示, 滴加待测液于试纸条上的加样区, 在毛细作用下液体向上移动, 溶解玻璃纤维膜上的金标抗体并携带它一起上移到达 T 线: 如果样品中没有待测有机磷农药, 金标抗体与固定在 T 线上的抗原结合、聚集并在此处呈现一条红线; 如果样品中有待测有机磷农药, 农药作为半抗原与包被抗原竞争结合金标抗体, 当样品中所含的有机磷农药超过一定量时(检测限), 金标抗体不与包被抗原结合或很少结合而不出现红线。过量的金标抗体继续随液体移动, 到达 C 线, 与固定在这里的羊抗鼠 IgG 结合, 聚集产生另一条红线(对照线)。

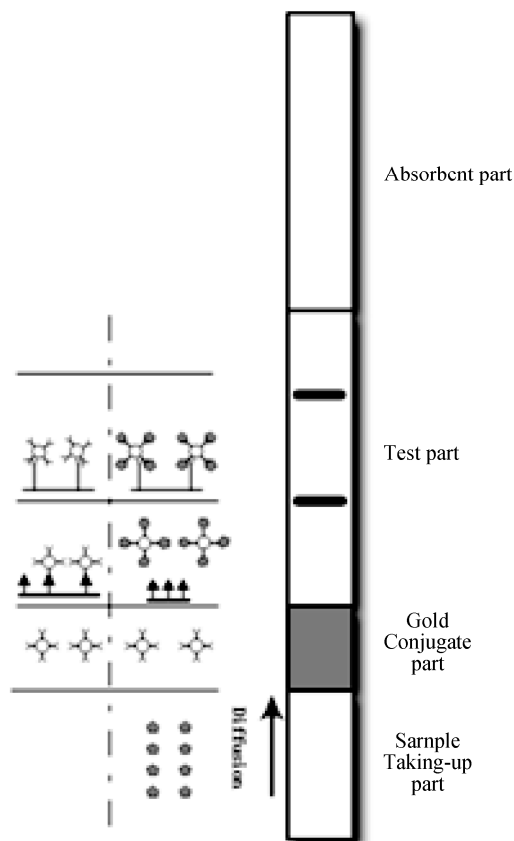


图 1 侧向层流免疫胶体金试纸条的结构。

Fig. 1 Configuration of the lateral laminar immune colloidal gold strip test

分别将毒死蜱和甲基对硫磷的甲醇溶液(1 mg/mL)用 PBS 稀释成 0、10、4、1 μg/mL, 分别滴加到测试条的加样区, 静置少许, 待对照线清晰呈现后观察结果。

将样品用 20% 甲醇进行萃取, 于样品提取液中加入适量浓度毒死蜱, 用免疫试纸条测试。

## 3 结果与分析

### 3.1 胶体金单克隆抗体结合物的免疫性

gold-McAb 的抗体滴度结果见表 2。经过标记, McAb 的滴度未见明显下降。以  $1:8 \times 10^3$  为抗体工作浓度, 测定抑制率, 结果 McAb 在标记前后, 灵敏度无显著性变化。

表 2 抗体滴度  
Table 2 Antibody titer

稀释倍数( $\times 10^3$ )	1	4	8	16	32	64	128
Gold - McAb	1.527	1.190	1.064	0.892	0.785	0.718	0.609
McAb	1.794	1.458	1.228	1.208	0.841	0.838	0.667

### 3.2 仪器扫描鉴定

#### 3.2.1 紫外-可见光谱扫描结果

如图 2 所示, A 为未标记的胶体金溶液的紫外-可见扫描光谱, B 为标记单抗后立即进行紫外-可见光谱扫描的结果, 在 280 nm 处出现一新的吸收峰, 与蛋白吸收峰相符。C 是将 gold-McAb 离心弃去未结合的抗体以后, 进行紫外-可见光谱扫描得到的, 它分别于 519 nm 左右和 280 nm 左右有两个较低的吸收峰。

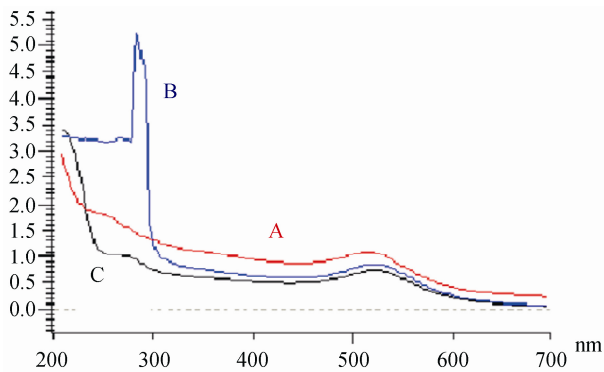


图 2 胶体金颗粒及其标记单克隆抗体的紫外光谱

Fig. 2 UV-vis spectrum of colloidal gold and antibody-colloidal gold conjugates

A 为胶体金, B 为 CG-McAb 且标记后未洗涤, C 为 CG-McAb 且标记后洗涤去除未标记抗体, 以上均不含稳定剂。

#### 3.2.2 荧光光谱分析

如图 3 所示, 295 nm 激发光作用下, 可在 300~500 nm 范围内观察到抗体的发射光谱。

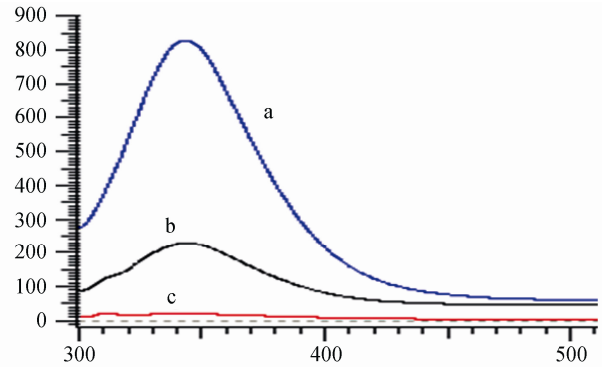
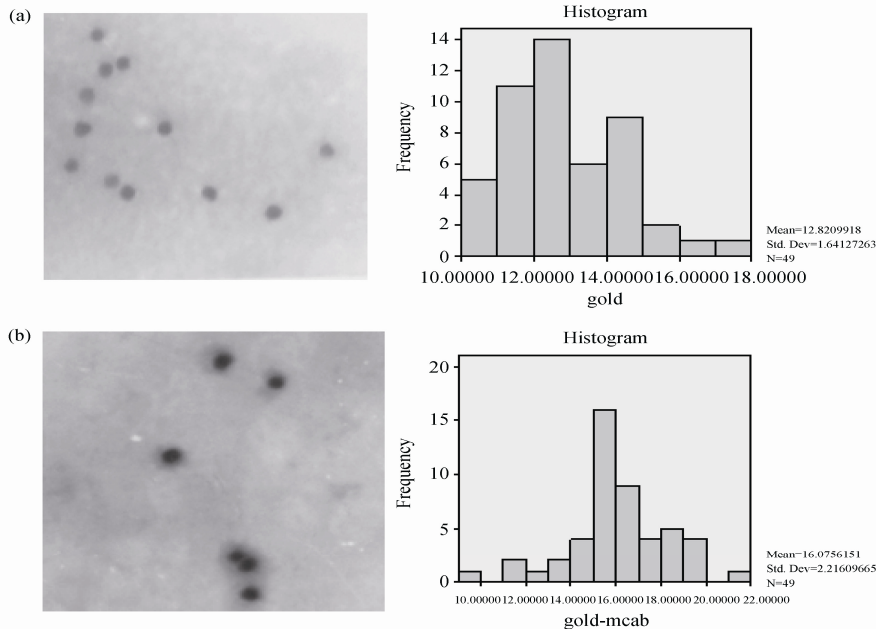


图 3 胶体金颗粒及其标记单克隆抗体的荧光光谱

Fig. 3 Fluorescence spectrum of free antibody, antibody-colloidal conjugates and colloidal gold  
a. 未标记抗体; b. CG-mAb; c. 胶体金

#### 3.2.3 电镜鉴定

胶体金和 gold-McAb 的 TEM 图片见图 4。两种形式金颗粒的粒度和形状都比较均匀, 标记前粒径平均值为  $12.82 \pm 0.48$  nm; 标记后粒径平均值为  $16.08 \pm 0.64$  nm, 经方差分析, 两者有显著性差异,  $P < 0.001$ 。



A 未结合抗体的胶体金, B 结合抗体的胶体金颗粒, 即 CG-McAb

图 4 TEM 图象及标记前后胶体金颗粒的粒径分布

Fig. 4 TEM images and size distribution of colloidal gold particles and conjugated antibody-colloidal gold particles

### 3.2.4 DSL 分析

如图 5, DSL 测量结果显示: 未标记的金颗粒直径为  $15.0 \pm 3.4$  nm, 标记抗体的金颗粒直径为  $25.0 \pm 6.45$  nm, 分布体积均为 100%, 从图中可看出两种胶体金颗粒粒度均匀。

如图 6 所示测量结果, 胶体金溶液的 zeta 电位为  $-57.4$  mV, 而标记抗体后的溶液 zeta 电位为  $-8.8$  mV, 向标记后的溶液中加入 1% BSA 作稳定剂后, 测其 zeta 电位为  $-12.5$  mV。

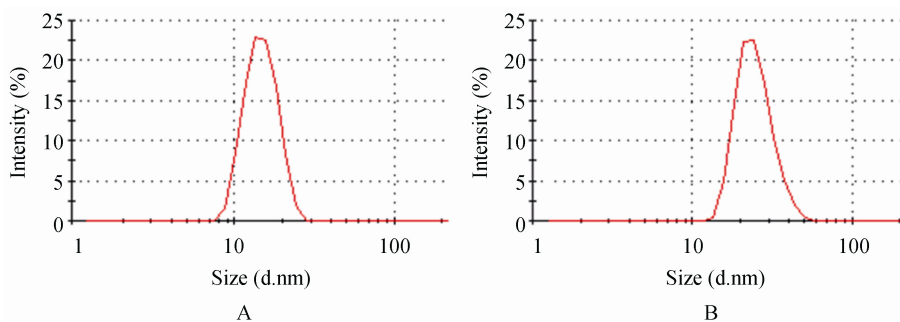
### 3.3 胶体金试纸条对毒死蜱标准液的反应

使用侧向层流免疫胶体金试纸条检测毒死蜱标准液的最低检测限为  $4 \mu\text{g/mL}$ (图 7), 对甲基对硫磷的检测限为  $10 \mu\text{g/mL}$ , 检测时间为 5 min。以 20%

甲醇提取样品, 于提取液中添加毒死蜱和甲基对硫磷, 浓度分别达到  $6 \mu\text{g/mL}$ 、 $15 \mu\text{g/mL}$ , 测试基质效应(图 8)。

## 4 讨 论

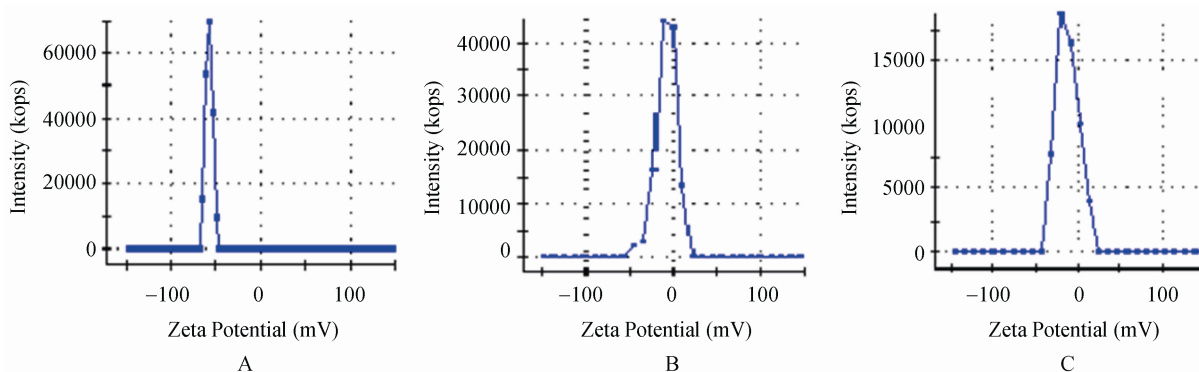
1) 蛋白质和胶体金之间不需要其他试剂加以交联, 它们之间的作用力主要有 3 种。(1)静电作用: 金颗粒的最外层带负电荷, 会和蛋白质的正电荷区(富含碱性氨基酸)结合, 使蛋白质结合到胶体金表面上。(2) 疏水作用: 金颗粒除了带负电荷的特性外, 本身还是疏水性胶体, 因此蛋白质能通过疏水作用与胶体金结合。(3) 金硫键: 金和蛋白质中的硫共用电子对, 能产生很强的作用力<sup>[2]</sup>。蛋白质和胶体金之



A: 胶体金颗粒, B: CG-McAb

图 5 粒度测量结果

Fig. 5 Particle size by DLS



A:胶体金, B: CG-McAb 不加稳定剂 BSA, C: CG-McAb 加稳定剂 BSA

图 6 zeta 电位测量结果

Fig. 6 Zeta potential result

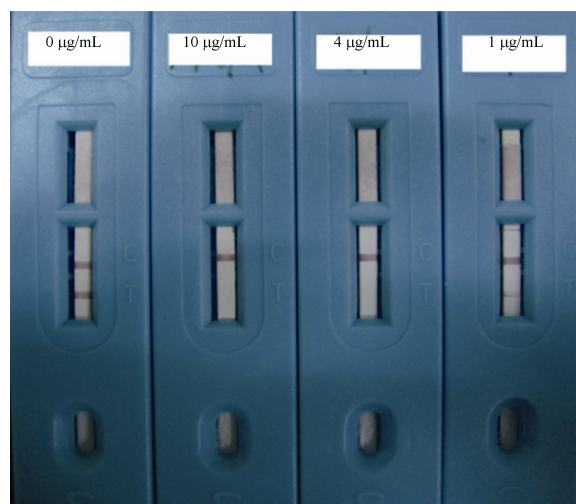


图7 侧向层流胶体金试纸条对不同浓度毒死蜱的反应  
(毒死蜱浓度从左至右为: 0、10、4、1 µg/mL)

Fig. 7 Lateral laminar colloidal gold strip test results at CE concentrations of 0, 10, 4, 1 µg/mL (from the left)



图8 土壤提取液中添加标准毒死蜱后加入侧向层流胶体金试纸条反应(左侧: 空白土壤提取液、右侧: 添加6 µg/mL毒死蜱后土壤提取液)

C: control line; T: test line

Fig. 8 Evaluation of lateral laminar colloidal gold strip with blank soil extract (left strip) and soil extract spiked with chlorpyrifos-ethyl at a concentration of 6 µg/mL (right strip)

间主要由上述三种作用力维持, 因此在金标的缓冲液中避免加入会破坏这些作用力的物质, 比如避免使用高盐缓冲液、表面活性剂和含有巯基或汞的防腐剂等。胶体金标记抗体时, 不能有过量的待标记抗体存在。过量游离的抗体会和胶体金上的抗体竞争反应

抗原, 容易出现假阴性, 而且过量的抗体蛋白质还会影响到金标的稳定性。蛋白质和胶体金结合的最佳pH值条件在蛋白质的等电点附近或略高于等电点。这样蛋白质的净电荷为0或偏负, 避免了因静电作用而引起聚集。蛋白质结合上胶体金后, 要用BSA、凝胶、聚乙二醇或酪蛋白等稳定剂稳定金标溶液。这些稳定剂能封闭胶体金表面未和蛋白结合的位点而减弱非特异性反应, 还能为胶体金标记物提供一种更稳定的环境。

2) 紫外—可见图谱中曲线B和C于280 nm处出现蛋白质特征峰(由色氨酸和酪氨酸中的电子迁移所致), 说明单克隆抗体已吸附在胶体金颗粒表面<sup>[3]</sup>; 在曲线C中弃去了未偶联的单抗, 因而280 nm吸收峰低于B。A即未标记的胶体金于519 nm处出现的吸收峰可归因于胶体金表面基质的共振现象<sup>[4]</sup>。曲线C中519 nm左右的吸收峰较A中的低, 是因为在标记后的洗涤过程中, 一些胶体金颗粒被丢弃; 同时, 曲线B、C中525 nm左右的吸收峰与A相比有一定程度红移, 且峰型变宽, 可能是由于标记后胶体金直径增大, 均匀度降低<sup>[5]</sup>。

偶联胶体金后抗体的三级结构是否发生改变直接决定了抗体的免疫反应性, 而抗体的三级结构可通过荧光光谱进行研究<sup>[3,6]</sup>。由于蛋白结构中存在酪氨酸和色氨酸残基, 当用特定波长激发光照射样品时, 可在300~400 nm范围内观测到荧光发射光谱。图3示偶联物的荧光光谱与未标记抗体在相同激发条件下得到的荧光光谱相比, 曲线的形状与峰的位置都极其相似, 说明在耦联后, 抗体的三级结构完好, 推测其免疫反应性基本不受影响。比较二者发射光谱强度, 耦联后出现明显的荧光淬灭, 再对照胶体金的荧光谱线可推测, 胶体金对抗体的色氨酸和酪氨酸残基具有荧光淬灭作用<sup>[7]</sup>。

透射电镜鉴定 gold-McAb 的平均直径为  $16.08 \pm 0.64$  nm; 据文献报道, 制备免疫层析试纸条使用的胶体金标记物粒径的经典范围应在 10 nm ~ 20 nm 之间, 本实验制作的胶体金标记物粒径符合次范围且质地均匀, 可以用作制备免疫层析试纸条。

动态光散射也称相关光谱学(photon correlation spectroscopy), 其原理是通过测量胶体颗粒在液相中的布朗运动速率从而计算出颗粒的粒径分布<sup>[8]</sup>; 这种对粒径的估计方法是基于对所测量的纳米颗粒均为球形的假设, 因而所给出的信息并未涉及颗粒的几

何形态<sup>[9]</sup>。虽然 DLS 无法给出像透射电镜那样直观、准确的结果, 但是此方法具有快速、低成本等特点, 并且其测得的粒径分布与电镜结果效为接近<sup>[10]</sup>, 因而可以作为鉴定胶体金的替代方法。

分散于液相中的带电颗粒可将离子紧密吸附在它表面, 而距颗粒表面较远处, 颗粒对离子的吸附力逐渐减弱, 形成弥散层; 在弥散层里又人为地规定了一个理论界限, 此界限内任何离子都受到颗粒地吸引作用, 而此界限外的离子不受颗粒的影响, 这个界限被称作滑层。而滑层相对于液相介质的电位差被成为 zeta 电位。zeta 电位的测量原理是通过对样品进行电泳实验, 测得样品的电泳速度, 并将其应用于 Herry 方程式, 计算出 zeta 电位, 其中电泳速度是通过 LDV(laser doppler velocimetry)测量得到的<sup>[9]</sup>。zeta 电位反映了分散相在介质中的稳定程度。通常, zeta 电位大于+30 mV 或小于-30 mV 的分散系被认为是稳定的<sup>[8]</sup>。如图 5 所示测量结果, 胶体金溶液的 zeta 电位为-57.4 mV, 由此可判断分散系较稳定。不易聚凝。而标记抗体后的溶液 zeta 电位为-8.8 mV, 向标记后的溶液中加入 1%BSA 作稳定剂后, 测其 zeta 电位为-12.5 mV。标记后分散系的稳定性较差, 加入稳定剂 BSA 后, 胶体稳定性略有改善, 但 4 ℃放置一月后, 仍有肉眼可见的沉淀产生。因而标记后的溶液应尽快使用。

3) 目前, 小分子免疫层析在检测毒品方面已经得到广泛的应用<sup>[11]</sup>, 并已初步应用在食品安全和激素检测上。1996 年 Mika 等<sup>[12]</sup>首次应用胶体金竞争免疫层析检测牛奶中的孕酮以来, 研究小分子胶体金免疫层析的文章日益增多。近年来, 国内也有利用胶体金竞争免疫层析检测农药残毒, Zhou 等<sup>[13]</sup>对克百威进行检测的最低限值为 0.25 μg/mL。本实验中, 胶体金试纸条对标准毒死蜱的检测限为 4 μg/mL, 并且基质的干扰效应均不明显。如前面所讨论的, 在实际应用中, 还应考虑到农药的分解产物以及提取效率等因素。此外, 还应进一步改进该方法对几种农药反应的均一性。

## 参考文献

- [1] Sun XL, Zhang XL, Tang J, *et al.* Preparation of gold-labeled antibody probe and its use in immunochromatography assay for detection of aflatoxin B<sub>1</sub> [J]. *Int J Food Microbiol*, 2005, 99(2): 185-194.
- [2] James C, Helen B, Joanna S. Present and future applications of

gold in rapid assays [J]. *IVD Tech*, 2006, 11 (2): 41-51.

- [3] Gole A, Sumant P, Lachke A, *et al.* Studies on the formation of conjugates of endoglucanase with colloidal gold [J]. *Colloid Surface B*, 2002, (25): 129-138.
- [4] Pattarawarapan M, Cressey TR, Tayapiwatana C. Development of a one-step immunochromatographic strip test for the rapid detection of nevirapine (NVP), a commonly used antiretroviral drug for the treatment of HIV/AIDS [J]. *Talanta*, 2007, 71(1): 462-470.
- [5] 赵晓联, 孙蔚榕, 孙秀兰, 等. 抗微囊藻毒素单克隆抗体胶体金标记物的制备及鉴定 [J]. *卫生研究*, 2006, 35(4): 442-445. Zhao XL, Sun WR, Sun XL, *et al.* Production and characterization of gold labeled monoclonal antibody against MC-LR [J]. *J Hyg Res*, 2006, 35 (4): 442-445.
- [6] Johne B, Hansen K, Mark E, *et al.* Colloidal gold conjugated monoclonal antibodies, studied in the BIAcore biosensor and in the nycocard immunoassay format [J]. *J. Immunol Methods*, 1995, 183(1): 167-174.
- [7] Szabo A. Theory of diffusion-influenced fluorescence quenching [J]. *J Phy Chem*, 1989, 93: 6929-6939.
- [8] What is Particle Size, Zeta potential and Molecular weight? [Z]. 2005.
- [9] Tsai DS, Chen CH, Chou CC. Preparation and characterization of gold-coated silver triangular platelets in nanometer scale [J]. *Mater Chem Phys*, 2005, 90: 361-366.
- [10] Aryal S, Khil MS, Dharmaraj N., *et al.* Radical scavenger for the stabilization of gold nanoparticles [J]. *Mater Lett*, 2007, 61(19): 4225-4230.
- [11] 陈小锋, 刘曙照. 胶体金标记免疫分析及其在小分子化合物快速检测中的应用[J]. *药物生物技术*, 2004, 11 (4): 278-280. Chen XF, Liu SZ. Colloidal gold labelling immunoassay and its application in rapid detection of small molecule [J]. *Pharm Biotechnol*, 2004, 11(4): 278-280.
- [12] Laitinen MPA, Vuento M. Affinity immunosensor for milk progesterone: identification of critical parameters [J]. *Biosens Bioelectron*, 1996, 11 (12): 1207-1214.
- [13] Zhou PL, Lu YT, Zhu J, *et al.* Nanocolloidal gold-based immunoassay for the detection of the n-methylcarbamate pesticide carbofuran [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52 (14): 4355-4359.

(责任编辑: 白洪健)

## 作者简介



王 菡, 硕士, 工程师, 主要从事食品安全检测技术研究。

E-mail: wanghan128@126.com