

基于核酸适配体杂交链式反应比色法 检测鼠伤寒沙门氏菌

孙博, 陈萍*

(吉林农业大学食品科学与工程学院, 吉林长春 130118)

摘要: 该研究探讨了基于核酸适配体特异性识别机制和杂交链式反应 (hybridization chain reaction, HCR) 扩增策略, 以金纳米粒子 (gold nanoparticles, AuNPs) 颜色变化为比色信号, 设计了一种无标记、无酶、灵敏的鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*, *S. typhimurium*) 比色检测法。根据鼠伤寒沙门氏菌核酸适配体设计引发链和两个发夹探针, 核酸适配体捕获鼠伤寒沙门氏菌, 触发引发链打开发夹探针, 发生杂交链式反应, 在实现目标菌信号放大同时, 利用反应前发夹探针粘性末端以及反应后形成的杂交长链对金纳米粒子结合差异性, 产生比色信号, 实现鼠伤寒沙门氏菌的快速检测。通过对杂交链式反应时间、发夹探针与金纳米粒子结合时间以及发夹探针浓度等实验参数进行优化, 提高实验灵敏度。在最优实验条件下, 鼠伤寒沙门氏菌浓度对数值与紫外吸光比值 (A630/525) 在 $10^3\sim 10^7$ CFU/mL 范围内呈现良好的线性关系, 检测限为 6.3×10^1 CFU/mL, 在牛奶样品中加标回收率为 90.05%~109.97%。本比色法操作方便, 无需要化学修饰以及复杂仪器且实验结果可视, 为鼠伤寒沙门氏菌监测提供一种新的方法。

关键词: 核酸适配体; 杂交链式反应; 金纳米粒子; 鼠伤寒沙门氏菌

文章编号: 1673-9078(2021)12-294-300

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.12.0094

Colorimetric Detection of *Salmonella typhimurium* Based on Hybridization Chain Reactions and Aptamer

SUN Bo, CHEN Ping*

(Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: A label-free, enzyme-free, and sensitive colorimetric detection method of *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) detection was proposed based on the recognition mechanism of the aptamer and the amplification strategy of hybridization chain reactions (HCRs) using the color variations of gold nanoparticles (AuNPs) as the colorimetric signals. An initiator and two hairpin probes in the HCR system were designed based on the aptamer of *S. typhimurium*. The aptamer binds to *S. typhimurium* DNA, thereby triggering the initiator to open the hairpin probes. This way, HCRs are initiated. While achieving the signal amplification for the target bacteria, the differences in the binding of the sticky ends of the hairpin probes before the reaction and the hybrid long chain formed after the reaction with gold nanoparticles was used to obtain the colorimetric signals, which results in rapid detection of *S. typhimurium*. Experimental parameters, such as the hybridization chain reaction time, binding time of the hairpin probes with gold nanoparticles, and concentrations of hairpin probes, have been optimized to improve the detection sensitivity. Under the optimal conditions, the logarithmic value of the *S. typhimurium* concentration and UV absorbance ratio (A630/525) exhibited a good linear relationship in the range of $10^3\sim 10^7$ CFU/mL. The detection limit equals 6.3×10^1 CFU/mL, and the spike recovery rate for milk samples ranges between 90.05%~109.97%. The proposed colorimetric method is easy and simple, and it does not require any chemical modification and complicated equipment. Furthermore, the experimental results are visible. This research provides a new method for rapid

引文格式:

孙博,陈萍.基于核酸适配体杂交链式反应比色法检测鼠伤寒沙门氏菌[J].现代食品科技,2021,37(12):294-300

SUN Bo, CHEN Ping. Colorimetric Detection of *Salmonella typhimurium* based on hybridization chain reactions and aptamer [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(12): 294-300

收稿日期: 2021-01-27

基金项目: 吉林省省级产业创新专项资金项目 (2018C045-2)

作者简介: 孙博 (1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 致病菌检测, E-mail: 929172635@qq.com

通讯作者: 陈萍 (1968-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品质量与安全, E-mail: win20200406@163.com

detection of *S. typhimurium*.

Key words: aptamer; hybridization chain reaction; gold nanoparticles; *Salmonella typhimurium*

鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*, *S. typhimurium*) 是一种全球性食源性致病菌, 可引起腹泻、伤寒、腹部绞痛、恶心、呕吐等多种临床症状, 严重者可危及生命^[1]。鼠伤寒沙门氏菌主要通过污染食品感染人类, 其中牛奶是鼠伤寒沙门氏菌的主要感染源之一^[2]。由鼠伤寒沙门氏菌引起的健康和安全事件频繁被报道, 对食品安全和公众健康造成严重威胁^[3]。因此, 开发一种操作简便、高效灵敏的鼠伤寒沙门氏菌的检测方法是食品安全监测的一项紧迫任务。

常见的鼠伤寒沙门氏菌检测方法主要有平板检测法、仪器分析法、免疫学检测方法、分子生物学检测方法等^[4-5]。上述方法为现阶段针对鼠伤寒沙门氏菌检测的有效方法, 但仍存在不足, 为此针对鼠伤寒沙门氏菌更完善、更高效的检测方法仍在持续研究中。

适配体是指通过指数富集的配体系统进化技术筛选获得的寡核苷酸, 可以形成凸环、发夹、假节和 G-四聚体等结构^[6-7]。对特定的金属离子、有机物、蛋白质或细胞等目标分子具有高特异性和亲和力^[8]。与抗体相比, 适配体具有可体外人工合成和修饰, 纯度高、亲和力强、稳定性好、特异性高的特点^[9-10], 近年来核酸适配体被广泛应用于鼠伤寒沙门氏菌的检测中^[11-12]。杂交链式反应是一种核酸信号放大技术, 通过单链 DNA 引发两个发夹探针生成杂交双链, 实现信号放大^[13-15]。金纳米粒子 (gold nanoparticles, AuNPs) 是最常用的纳米材料之一, 由于独特的光学性能和良好的生物相容性已广泛应用于比色检测中^[16]。近年来国内外研究者对于核酸适配体技术、杂交链式反应、金纳米粒子三者构成的检测方法作出大量研究, 例如: 田润等^[17]以核酸适配体为引发剂, 构建基于杂交链式反应的比色检测方法用于检测卡那霉素, 检测限低至 0.9 nmol/mL; Wang 等^[18]建立基于核酸适配体的杂交链式反应, 以 AuNPs 为比色信号, 用于检测 Hg⁺, 检测限为 30 nmol/mL; Gao 等^[19]应用杂交链式反应研制出 5'-三磷酸腺苷的 AuNPs 比色法适配体传感器, 检测限达到 10 nmol/mL。由此可知, 这三种技术结合的方法检测限低灵敏度高。本研究根据鼠伤寒沙门氏菌核酸适配体设计引发序列以及两个发夹探针, 利用杂交链式反应前后链与 AuNPs 之间的相互作用, 构建一种灵敏度高、操作成本低、高效的鼠伤寒沙门氏菌比色检测方法。

1 材料与方

1.1 仪器与试剂

UV-1800 紫外可见分光光度计, 日本岛津公司; 数显恒温磁力搅拌器, 金坛市科析仪器有限公司; 台式高速冷冻离心机, 上海力中科仪器有限公司; KYC-100B 空气恒温振荡仪, CIMO 新苗仪器有限公司; DYY-11 型电泳仪, 北京六一仪器厂; IQ350 凝胶成像系统, 美国 GE 公司。

氯金酸 ($\text{AuCl}_3\text{HCl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$)、柠檬酸钠 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7\cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、氯化钠 (NaCl)、Ultra GelRed、TE Buffer (pH=8.0)、50×TAE Buffer (pH=8.5) 均购买于北京鼎国药业有限公司; 蛋白胨、酵母浸粉、琼脂粉均购买于长春市华益生物科技有限责任公司。本研究设计的寡核苷酸均购自库美生物技术有限公司, 并且通过高效液相色谱 (HPLC) 技术纯化, 寡核苷酸的序列如下: *Salmonella typhimurium* aptamer (aptamer)^[20]: 5'-TAT GGC GGC GTC ACC CGA CGG GGA CTT GAC ATT ATG ACA G-3'; Single-stranded DNA (ssDNA): 5'-CGG TGA CGC CGC CAT CCG-3'; Hairpin DNA1 (Hp1): 5'-CGC CGC CAT CCG TGT TGT CGG ATG GCG GCG TCA CCG-3'; Hairpin DNA2 (Hp2): 5'-ACA ACA CGG ATG GCG GCG CGG TGA CGC CGC CAT CCG-3'

1.2 试验菌株

鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*, *S. typhimurium*) ATCC10376、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*, *S. aureus*) CICC21600、铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*, *Paeruginosa*) CICC21636、痢疾志贺氏菌 (*Shigella dysenteriae*, *S. dysenteriae*) CICC23829、大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*, *E. coli*) CICC23657、嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*, *S. thermophilus*) CICC20174、福氏志贺氏菌 (*Shigella flexneri*, *S. flexneri*) CMCC51252 均来自吉林农业大学食品科学与工程学院食品质量与安全实验室保藏菌株。

1.3 AuNPs 的制备

参照文献^[19]采用氯金酸还原柠檬酸三钠制备 AuNPs。取 0.01% 的氯金酸溶液 100 mL 于 250 mL 锥形瓶中, 在加热磁力搅拌器上加热至沸腾, 然后迅速

向沸腾的溶液中滴加 1.0% 柠檬酸钠溶液 4.0 mL; 当无色溶液逐渐变为酒红色, 继续磁力搅拌加热, 保持沸腾状态 30 min 停止加热。将得到的 AuNPs 室温下冷却, 4 °C 冰箱保存备用。

1.4 琼脂糖凝胶电泳

将 Hp1、Hp2 在 95 °C 下加热 10 min 变性处理, 然后室温下冷却 1 h。取 100 nmol/L 的 Hp1、100 nmol/L 的 Hp2、100 nmol/L 的 Hp1 和 100 nmol/L 的 Hp2、100 nmol/L 的 Hp1 和 100 nmol/L 的 Hp2 以及 50 nmol/L 的 ssDNA, 分别 37 °C 震荡孵育 45 min。杂交链式反应后用 1×TAE 缓冲液制备 2% 琼脂糖凝胶, 110 V 电泳 40 min。

1.5 杂交链式反应时间的优化

杂交链式反应是本实验采用的信号放大方法, 所以杂交链式反应的时间对检测的灵敏度以及信号放大效率, 起到重要作用。杂交链式反应时间短, 不利于双链的形成, 灵敏度低。因而我们对杂交链式反应的时间进行优化, 使检测体系达到最佳状态。在进行检测时, 我们分别取时间: 20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70 min 分别进行杂交链式反应的反应时间。反应结束后加入 AuNPs 室温下孵育后, 0.75 mol/L NaNO₃ 作用下, 静置 5 min, 测定体系在 400~800 nm 波长下吸光度。根据吸光度比值, 确定杂交链式反应的最佳反应时间。

1.6 Hp1/Hp2 与 AuNPs 反应时间

Hp1/Hp2 与 AuNPs 反应达到动态平衡时间是比色体系的关键。我们采用 10、20、30、40、50、60、70 min 不同时间进行 Hp1/Hp2 与 AuNPs 孵育反应。反应结束后将加入 0.75 mol/L NaNO₃ 溶液, 静置 5 min, 测定体系在 400 nm~800 nm 波长下吸光度, 根据吸光度比值选出最佳孵育时间。

1.7 Hp1/Hp2 的浓度

杂交链式反应中 Hp1、Hp2 的浓度同样会影响反应的灵敏度, 取 Hp1/Hp2 浓度为 60、70、80、90、100、110、120 nmol/L 分别进行杂交链式反应, 37 °C 孵育 45 min; 反应结束后加入 70 μL AuNPs 室温下孵育 50 min。最后加入 0.75 mol/L NaNO₃ 溶液, 静置 5 min, 测定体系在 400 nm~800 nm 波长下吸光度, 根据吸光度比值选出最适浓度。

1.8 基于核酸适配体和杂交链式反应比色方

法建立

取不同浓度的鼠伤寒沙门氏菌分别加入 50 nmol/L aptamer, 37 °C 恒温孵育 10 min, 向溶液中加入浓度为 50 nmol/L 的 ssDNA, 37 °C 恒温震荡 30 min。加入 100 nmol/L 的 Hp1/Hp2 各 10 μL 进行杂交链式反应, 37 °C 孵育 45 min; 反应结束后加入 70 μL AuNPs 室温下孵育 50 min。最后加入 0.75 mol/L NaNO₃ 溶液, 静置 5 min, 测定体系在 400 nm~800 nm 波长下吸光度。

1.9 人工污染牛奶样品检测

从牛奶样品中取检样 25 g(mL), 加入 225 mL 缓冲蛋白胍水于均质袋内进行均质, 均质后于 36±1 °C 培养 12 h。分别取 900 μL 样品分别添加 100 μL 鼠伤寒沙门氏菌 (浓度为 2.74×10³、3.01×10⁴、3.24×10⁵、2.65×10⁶、2.98×10⁷ CFU/mL), 用基于核酸适配体结合杂交链式反应体系进行检测, 结果与平板计数法对比, 计算加标回收率。

1.10 数据处理与分析

实验数据采用 Origin 2018 和 IBS SPSS 24.0 软件进行统计分析。ANOVA 进行方差分析, Duncan 进行显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 比色法原理

单链 DNA 由于其暴露的含氮碱基带有正电, 通过分子之间静电吸附在带有负电的 AuNPs 表面, 单链 DNA 可以保护 AuNPs 在盐诱导下不发生聚集。双链 DNA 和核酸适配体具有更高级的结构, 很难与 AuNPs 发生吸附作用。因此根据鼠伤寒沙门氏菌特异性核酸适配体 (aptamer) 序列利用 NUPACK 分析设计引发序列 (ssDNA) 和单链 Hp1、Hp2。在鼠伤寒沙门氏菌存在下, aptamer 与鼠伤寒沙门氏菌特异性结合后, 在体系中加入 ssDNA 引发 Hp1、Hp2 打开发夹结构, 发生杂交链式反应, 形成带负电的双螺旋长链 DNA, 与溶液中负电 AuNPs 相互排斥。Hp1、Hp2 不再保护 AuNPs, 盐的诱导作用下, 溶液颜色由红色变为蓝色。当溶液中不存在鼠伤寒沙门氏菌时, aptamer 与 ssDNA 杂交, ssDNA 不在引发 Hp1、Hp2 打开发夹发生杂交链式反应, 因此 Hp1、Hp2 与带负电的 AuNPs 静电吸附, 在盐作用下保护 AuNPs 不发生聚集, 颜色不发生变化。基于适配体的杂交链式反应比色法检测鼠伤寒

沙门氏菌的原理如图 1 所示。

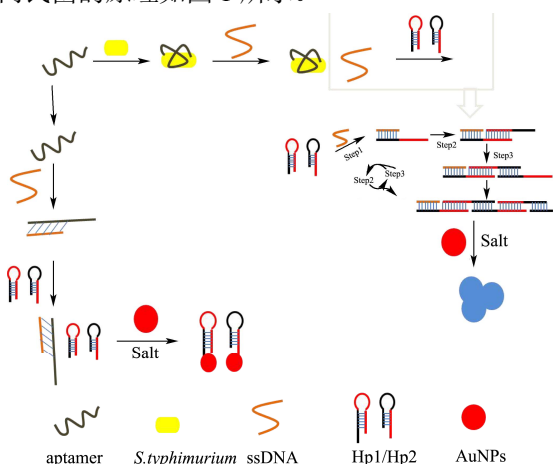


图 1 基于适配体的杂交链式反应比色法检测鼠伤寒沙门氏菌的原理图

Fig.1 Schematic illustration of colorimetric assay for *S.typhimurium* detection based on aptamer and hybrid chain reaction

2.2 柠檬酸三钠还原法制备 AuNPs

由 AuNPs 在 400~800 nm 的紫外-可见光谱(图 2)可知: AuNPs 在约为 525 nm 处有明显的紫外吸收峰, 根据文献^[21-23]中可知胶体金的最大吸收峰波长与平均粒径具有良好的线性相关性, 线性关系回归方程为 $Y=0.4271X+514.56$, 其中 X 为纳米金平均粒径、Y 为最大吸收峰波长。根据 AuNPs 最大吸收峰波长 525 nm 计算得出平均粒径为 24.4 nm。

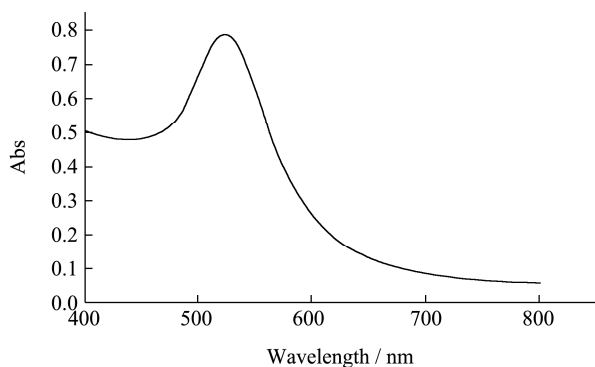


图 2 AuNPs 的紫外-可见光表征图

Fig.2 UV absorption spectrum of colloidal gold particles

2.3 凝胶电泳实验

琼脂糖凝胶电泳用来验证杂交链式反应中 Hp1、Hp2 可以在 ssDNA 引发下形成的杂交长螺旋。由图 3 所示, 泳道 1 是分子量 50~500 的 Marker; 泳道 2 是 100 nmol/L 的 Hp1 和 100 nmol/L 的 Hp2 以及 50 nmol/L 的 ssDNA; 泳道 3 是 100 nmol/L 的 Hp1/Hp2; 泳道 4 和 5 分别是 100 nmol/L 的 Hp2 和 100 nmol/L

的 Hp1。由图 2 可知: 只有 Hp1/Hp2 存在时不发生杂交链式反应, 当加入 ssDNA 到 Hp1 和 Hp2 中, 发生杂交链式反应。由此说明 ssDNA 可以成功引发 Hp1、Hp2 发生杂交链式反应。

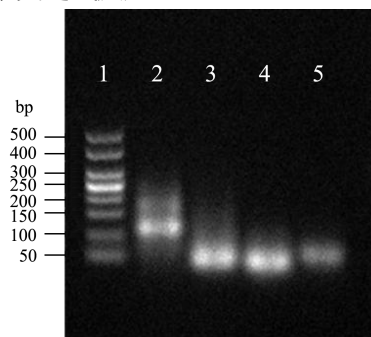


图 3 凝胶电泳实验

Fig.3 Gel electrophoresis experiment

注: 泳道 1: marker 50-500; 泳道 2: ssDNA-Hp1-Hp2; 泳道 3: Hp1-Hp2; 泳道 4: Hp2; 泳道 5: Hp1。

2.4 基于核酸适配体杂交链式反应体系验证

为验证研究建立的比色方法将 0 CFU/mL 与 10^7 CFU/mL 浓度的鼠伤寒沙门氏菌加入体系中, 经过杂交链式反应后, 在进行纳米金比色。由图 4 可知: 当不存在鼠伤寒沙门氏菌时, 溶液颜色为红色, 在紫外可见吸收光谱中, 525 nm 处形成特征峰; 当存在鼠伤寒沙门氏菌时, 溶液颜色变为蓝色, 在 630 nm 处出现新的特征峰, 并且在 525 nm 处的特征峰下降。由此表明: 鼠伤寒沙门氏菌可以使体系的颜色以及吸光度发生改变。

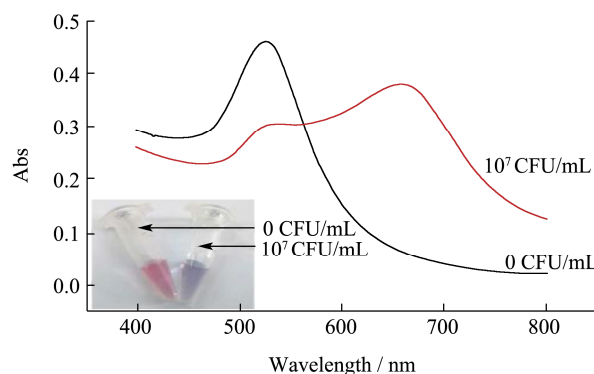


图 4 基于核酸适配体杂交链式反应结合纳米金比色检测鼠伤寒沙门氏菌

Fig.4 Absorption spectra and photographs of AuNPs based on aptamer and hybrid chain reaction colorimetric in *S.typhimurium*

注: a 线: 0 CFU/mL 鼠伤寒沙门氏菌反应紫外吸光度曲线; b 线: 10^7 CFU/mL 鼠伤寒沙门氏菌反应紫外吸光度曲线(插图: a 管: 0 CFU/mL 鼠伤寒沙门氏菌反应紫外吸光度曲线; b 管: 10^7 CFU/mL 鼠伤寒沙门氏菌反应紫外吸光度曲线)。

2.5 杂交链式反应时间的优化

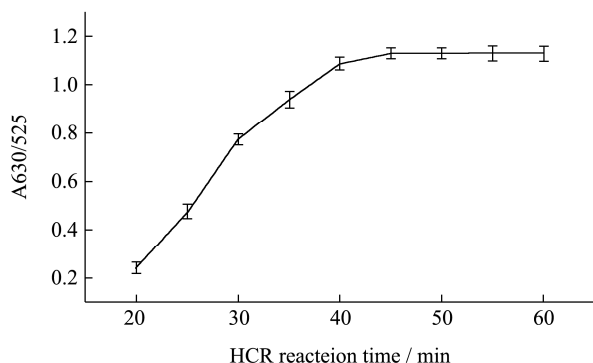


图5 杂交链式反应时间优化

Fig.5 Optimization of HCR hybridization time

杂交链式反应的反应时间直接影响了体系的信号。如图5所示，A630/525值随着孵育时间的增长而增大，当杂交链式反应时间达到45 min后，A630/525值不再增加。说明杂交链式反应时间在45 min左右，杂交链式反应几乎达到饱和状态。因此，杂交链式反应最佳反应时间为45 min。

2.6 Hp1/Hp2 与 AuNPs 反应时间

Hp1/Hp2 与 AuNPs 的结合时间对体系的信号也存在影响，如图6所示，A630/525值随着孵育时间的增长而增加，当 Hp1/Hp2 与 AuNPs 的结合时间达到50 min后，A630/525值不再增加。因此，Hp1/Hp2 与 AuNPs 最佳反应时间为50 min。

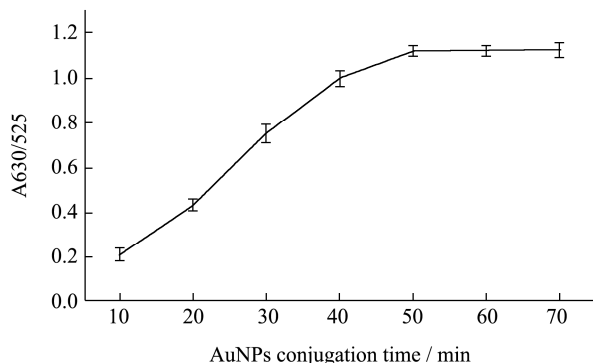


图6 Hp1/Hp2 与 AuNPs 反应时间优化

Fig.6 Optimization of Hp1/Hp2-AuNPs incubation binding time

2.7 Hp1/Hp2 的浓度

Hp1/Hp2 是杂交链式反应的重要组成部分，在 AuNPs 聚集过程中起着至关重要的作用。如图7所示，A630/525值随着 Hp1/Hp2 的浓度的增加而增大，但当 Hp1/Hp2 浓度大于100 nmol/L时，体系的 A630/525值最大。当 Hp1/Hp2 的浓度继续增大，A630/525值降低。因此，选择100 nmol/L的 Hp1/Hp2 作为体系的最佳浓度。

佳浓度。

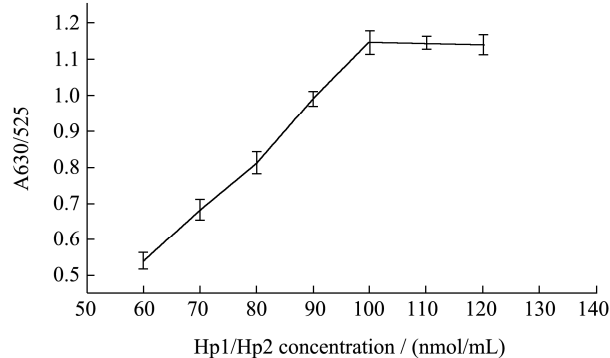


图7 Hp1/Hp2 的浓度优化

Fig.7 Optimization of Hp1/Hp2 concentration

2.8 鼠伤寒沙门氏菌测定的标准曲线

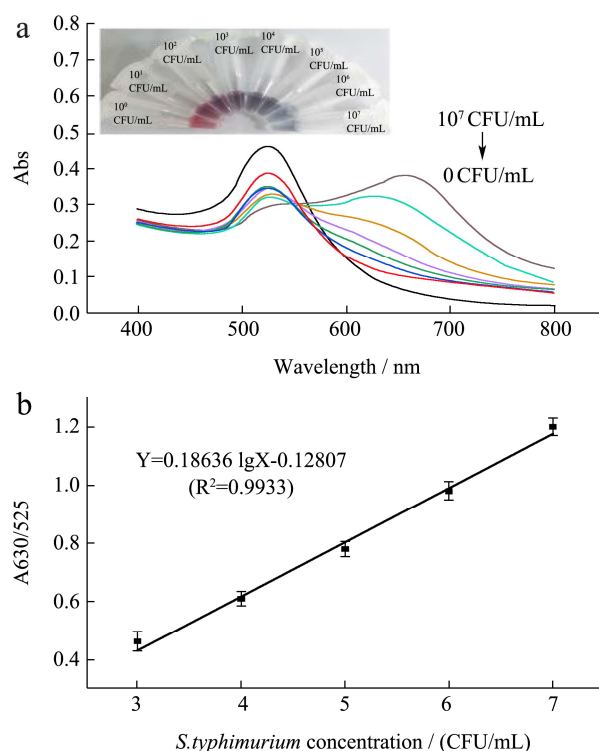


图8 (a) 不同浓度的鼠伤寒沙门氏菌紫外可见吸收光谱、(b) 鼠伤寒沙门氏菌浓度与吸光度比(A630/525)关系曲线图

Fig.8 (a) UV vis absorption spectra for colorimetric assay toward *S. typhimurium* with different concentrations; (b)

Linear calibration curve of the degree of absorbance ratio (A630/525) versus *S. typhimurium* concentration concentration

注：a中插图：对应的颜色变化照片。

在最佳条件下，采用适配体结合杂交链式反应以及 AuNPs 比色法检测鼠伤寒沙门氏菌。图8a给出了基于核酸适配体杂交链式反应以及纳米金比色体系对不同浓度的鼠伤寒沙门氏菌的紫外可见吸收光谱。吸光度 A630/525 值与鼠伤寒沙门氏菌浓度在 $10^3 \sim 10^7$ CFU/mL 范围内可以达到良好的线性关系(图8b)。线

性方程为 $Y=0.18636 \lg X-0.12807$ ($R^2=0.9933$), 检测限为 6.3×10^1 CFU/mL。

2.9 比色法对鼠伤寒沙门氏菌检测的特异性

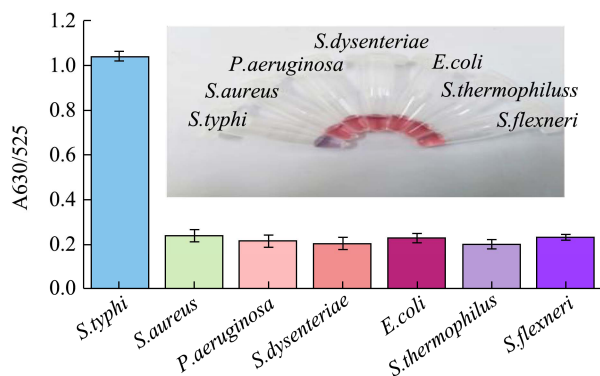


图9 不同菌存在下 AuNPs 溶液的吸光度 (A630/525)

Fig.9 The absorption ratio (A630/525) of AuNPs solution in the presence of different strains

选用 *S.aureus*、*P.aeruginosa*、*S.dysenteriae*、*E.coli*、*S.thermophilus*、*S.flexneri* 几种菌作为对照组, 检验本方法的特异性。实验结果如图9所示: 只有鼠伤寒沙门氏菌实验出现颜色变化, 并且具有显著的高吸光度比(A630/525); 对照组存在的情况下, 体系的颜色在相同的条件下依然是红色, 吸光度比无显著变化。结果表明本方法具有特异性。

2.10 人工污染牛奶中的鼠伤寒沙门氏菌检测

采用本方法检测人工污染牛奶样品中的鼠伤寒沙门氏菌并且与平板检测方法对比。结果见表1: 加标回收率在 90.05%~109.97%之间, 与平板计数法相比, 结果没有显著差异性, 表明本方法灵敏度较高, 准确性较好, 可用于牛奶中鼠伤寒沙门氏菌的检测。

表1 人工污染牛奶中检测结果

Table 1 Test results of artificially infected milk samples

样品编号	加入量/(CFU/mL)	检测量/(CFU/mL)	回收率/%
1	2.74×10^3	2.48×10^3	90.51
2	3.01×10^4	3.31×10^4	109.97
3	3.24×10^5	2.97×10^5	91.67
4	2.65×10^6	2.89×10^6	109.06
5	2.98×10^7	3.22×10^7	108.05

3 结论

本研究建立了基于鼠伤寒沙门氏菌核酸适配体的杂交链式反应比色检测方法。在优化条件下比色法检测鼠伤寒沙门氏菌的最低检测限为 6.3×10^1 CFU/mL, 线性范围为 $10^3 \sim 10^7$ CFU/mL, $R^2=0.9933$, 在人工污染牛奶中加标回收率为 90.05%~109.97%。本

研究通过杂交链式反应实现信号放大, 反应不需要酶的参与, 不需要变温调控, 操作简单, 利用紫外光谱定量分析, 也可以肉眼直接判断实验结果, 建立一种快捷有效的鼠伤寒沙门氏菌检测方法。

参考文献

- [1] Wang L J, Wang R H, Chen F, et al. QCM-based aptamer selection and detection of *Salmonella typhimurium* [J]. Food Chemistry, 2017, 221: 776-782
- [2] Chen S H, Yang X Y, Fu S Q, et al. A novel AuNPs colorimetric sensor for sensitively detecting viable *Salmonella typhimurium* based on dual aptamers [J]. Food Control, 2020, 115: 107281
- [3] Bayraç C, Eyidoğan F, Öktem H A, et al. DNA aptamer-based colorimetric detection platform for *Salmonella enteritidis* [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2017, 98: 22-28
- [4] Aaydha C V, Tien A N, Krishna K, et al. Rapid detection of *Salmonella enterica* in food samples by a novel approach with combination of sample concentration and direct PCR [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2019, 129: 224-230
- [5] Chunglok W, Wuragil D K, Oaew S, et al. Immunoassay based on carbon nanotubes-enhanced ELISA for *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2011, 26(8): 3584-3589
- [6] Yuan J L, Tao Z, Yu Y, et al. A visual detection method for *Salmonella typhimurium* based on aptamer recognition and nanogold labeling [J]. Food Control, 2014, 37: 188-192
- [7] Ge C, Yuan R, Yi L, et al. Target-induced aptamer displacement on gold nanoparticles and rolling circle amplification for ultrasensitive live *Salmonella typhimurium* electrochemical biosensing [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2018, 826: 174-180
- [8] Zhang Y, Luo F F, Zhang Y Y, et al. A sensitive assay based on specific aptamer binding for the detection of *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* in milk samples by microchip capillary electrophoresis [J]. Journal of Chromatography A, 2018, 1534
- [9] Zhang Z L, Liu D L, Bai Y L, et al. Identification and characterization of two high affinity aptamers specific for *Salmonella enteritidis* [J]. Food Control, 2019, 106: 106719-106719
- [10] Zon G. Recent advances in aptamer applications for analytical biochemistry [J]. Analytical Biochemistry, 2020, 5: 113894
- [11] Wu W H, Li M, Wang Y, et al. Aptasensors for rapid detection of *Escherichia coli O157:H7* and *Salmonella*

- typhimurium* [J]. Nanoscale Research Letters, 2012, 7(1): 658
- [12] Labib M, Zamay A S, Kolovskaya O S, et al. Aptamer-based viability impedimetric sensor for bacteria [J]. Analytical Chemistry, 2012, 84(4): 1813-1816
- [13] Duan N, Sun W J, Wu S J, et al. Aptamer-based F0F1-ATPase biosensor for *Salmonella typhimurium* detection [J]. Sensors and Actuators: B. Chemical, 2018, 255: 2582-2588
- [14] Miti A, Thamm S, Müller P, et al. A miRNA biosensor based on localized surface plasmon resonance enhanced by surface-bound hybridization chain reaction [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2020, 167: 112465
- [15] Yu S, Tang Y Z, Yan M Y, et al. A fluorescent cascade amplification method for sensitive detection of *Salmonella* based on magnetic Fe₃O₄ nanoparticles and hybridization chain reaction [J]. Sensors & Actuators: B. Chemical, 2019, 279: 31-37
- [16] Ortiz Castillo J E, Gallo Villanueva R C, Madou M J, et al. Anisotropic gold nanoparticles: a survey of recent synthetic methodologies [J]. Coordination Chemistry Reviews, 2020, 425: 213489
- [17] 田润,陶晴,卞晓军,等.基于杂交链式反应的适配体传感器用于卡那霉素的比色检测[J].分析化学,2020,5:608-614
TIAN Run, TAO Qing, BIAN Xiaojun, et al. Aptasensor based on hybrid chain reaction for colorimetric detection of kanamycin [J]. Analytical Chemistry, 2020, 5: 608-614
- [18] Wang Q, Yang X, Yang X, et al. Colorimetric detection of mercury ion based on unmodified gold nanoparticles and target-triggered hybridization chain reaction amplification [J]. Spectrochimica Acta Part A Molecular & Biomolecular Spectroscopy, 2015, 136: 283-287
- [19] Gao Z, Qiu Z, Lu M, et al. Hybridization chain reaction-based colorimetric aptasensor of adenosine 5'-triphosphate on unmodified gold nanoparticles and two label-free hairpin probes [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2017, 89(2): 1006-1012
- [20] Yuan J L, Tao Q, Yu Y, et al. A visual detection method for *Salmonella typhimurium* based on aptamer recognition and nanogold labeling [J]. Food Control, 2014, 37: 188-192
- [21] 张静,程琳,林琳,等.基于谷胱甘肽识别系统的胶体金比色法快速检测水中重金属铅离子[J].食品科学,2017,38(24): 202-207
ZHANG Jing, CHENG Lin, LIN Lin, et al. Gold nanoparticles-based glutathione recognition for rapid colorimetric detection of lead ion in water [J]. Food Science, 2017, 38(24): 202-207
- [22] 刘爱平,叶子熊,马榆,等.基于抗单增李斯特菌单链抗体的胶体金探针制备及其活性鉴定[J].食品科学,2017,38(4): 301-305
LIU Aiping, YE Zixiong, MA Yu, et al. Preparation and activity determination of colloidal gold probe based on anti-*Listeria monocytogenes* single chain fv antibody fragment [J]. Food Science, 2017, 38(4): 301-305
- [23] Vaikundamoorthy R. Multifunctionality of gold nanoparticles: plausible and convincing properties [J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2019, 271: 101989

(上接第 239 页)

- [45] Calzada J, Del Olmo A, Picon A, et al. Effect of high pressure processing on the lipolysis, volatile compounds, odour and colour of cheese made from unpasteurized milk [J]. Food and Bioprocess Technology, 2015, 8(5): 1076-1088
- [46] Laboissiere L H E S, Deliza R, Barros-Marcellini A M, et al. Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on sensory characteristics of yellow passion fruit juice [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2007, 8(4): 469-477