

基于胶体金适配体侧向层析试纸快速检测草甘膦

杜斌^{1*}, 陈海军¹, 陈涛英¹, 姚南南¹, 罗建芝^{2,3}, 杨梅⁴, 令狐克勇⁴

(1. 贵阳学院食品与制药工程学院, 贵州贵阳 550000)(2. 贵州绿通检测技术有限公司, 贵州贵阳 550000)

(3. 贵阳农产品物流发展有限公司, 贵州贵阳 550000)(4. 贵州国芯生物科技有限公司, 贵州贵阳 550000)

摘要: 该研究以金纳米颗粒标记的适配体作为探针, 开发了一种基于适配体的侧流检测条, 用于草甘膦 (GLY) 的快速检测。分析了实验过程中 NaCl 和适配体的浓度、链霉亲和素和生物素化 DNA 的摩尔比, 以及金纳米颗粒-适配体复合物 (AuNPs-Apt) 的加载量等对灵敏度的影响。最佳实验条件为: NaCl 浓度为 80 mmol/L, 适配体使用浓度为 500 nmol/L, 链霉亲和素与 Bio-DNAT 的摩尔比为 1:3, AuNPs-Apt 的加载量为 30 μ L。在最佳实验条件下, 视觉分辨质量浓度为 20 ng/mL, 线性范围为 5~200 ng/mL, 检出限为 5 ng/mL。用于添加 GLY 的茶叶样品的测定, 回收率在 95.13% 到 105.24% 之间, 相对标准偏差 (RSD) 为 4.73%~8.28%。所有的检测都可以在 5 min 内完成。结果表明, 开发的基于适配体的侧流检测条是一种快速灵敏检测 GLY 的潜在替代工具。

关键词: 侧流检测条; 适配体; 草甘膦; 金纳米颗粒

文章编号: 1673-9078(2025)05-337-344

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.5.0391

An Aptamer-based Lateral Flow Test Strip for Rapid Detection of Glyphosate

DU Bin^{1*}, CHEN Haijun¹, CHEN Taoying¹, YAO Nannan¹, LUO Jianzhi^{2,3}, YANG Mei⁴, LINGHU Keyong⁴

(1. Institute of Food and Pharmaceutical Engineering, Guiyang University, Guiyang 550000, China)

(2. Guizhou Greenway Testing Technology Co. Ltd., Guiyang 550000, China) (3. Guiyang Agricultural Products Logistics

Development Co. Ltd., Guiyang 550000, China) (4. Guizhou Guoxin Biotechnology Co. Ltd., Guiyang 550000, China)

Abstract: In this study, an aptamer-based lateral flow test strip was developed for the rapid detection of glyphosate (GLY) using gold nanoparticles labeled aptamers as probes. The effects of experimental conditions, including the concentrations of aptamer and NaCl used, the molar ratio of streptavidin and biotinylated DNA, and the loading quantity of gold nanoparticle-aptamer complexes (AuNPs-Apt) on the sensitivity were analyzed. The optimal experimental conditions were as follows: NaCl concentration, 80 mmol/L; aptamer concentration, 500 nmol/L; the molar ratio of streptavidin to Bio-DNAT, 1:3; the loading amount of AuNPs-Apt, 30 μ L. Under the optimal experimental conditions, the visual resolution concentration was 20 ng/mL, with a linear range of 5~200 ng/mL and a limit of detection as 5 ng/mL. This aptamer-based strip was applied to the determination of GLY in spiked tea samples, and the recoveries were from 95.13% to 105.24% with relative standards deviation (RSD) of 4.73%~8.28%. All tests could be completed within 5 min. The results showed that the developed aptamer-based lateral flow test strip has the potential to be an alternative tool for the rapid and sensitive detection of GLY.

Key words: lateral flow test strip; aptamer; glyphosate; gold nanoparticles

引文格式:

杜斌,陈海军,陈涛英,等.基于胶体金适配体侧向层析试纸快速检测草甘膦[J].现代食品科技,2025,41(5):337-344.

DU Bin, CHEN Haijun, CHEN Taoying, et al. An aptamer-based lateral flow test strip for rapid detection of glyphosate [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(5): 337-344.

收稿日期: 2024-03-28

基金项目: 贵州省科技计划项目 (黔科合支撑 [2023] 一般 009); 贵阳学院研究生科研项目 [GYU-2023-YJS02]

通讯作者: 杜斌 (1983-), 博士, 副教授, 研究方向: 食品质量与安全, E-mail: dubin_gyu@126.com

草甘膦 (Glyphosate, GLY), 即 N-(磷酰甲基)甘氨酸, 分子式为 $C_3H_8NO_5P$, 是一种非选择性、广谱有机磷除草剂。它是 5-烯醇丙酮酸-3-磷酸酰基酯酸盐合酶的竞争性抑制剂, 施用后, 会均匀分布并迅速转运到植物内部活跃生长的区域, 导致植物死亡, 在农业中广泛用于清除各种一年生和多年生杂草^[1-3]。研究表明, 草甘膦具有一定的毒性效应, 其残留物的积累可能会对生殖系统造成损伤同时也会对遗传行为造成不良影响, 并对自然生态系统和人类健康造成潜在的危害^[4-6]。然而, 强大的除草活性导致了草甘膦的滥用^[7], 其残留物已经在土壤甚至地下水被发现。因此, 为了减少草甘膦残留物对食品安全和人类健康的影响, 检测草甘膦残留水平至关重要。

目前, 通常采用仪器分析方法对样品中的 GLY 含量进行精准检测, 包括高效液相色谱法^[8]、气相色谱-质谱联用法^[9,10]、液相色谱串联质谱法^[11,12]、液相色谱法 (Liquid Chromatography, LC)^[13]、离子色谱法^[14]、毛细管电泳法^[15]、荧光检测法^[16]和电化学发光法^[17]等。尽管这些方法的灵敏度和特异性相对较高, 但它们通常存在如仪器昂贵、需要专业的操作人员、样品预处理耗时以及高昂的测试成本等缺点。除了仪器分析法, 免疫学分析也是 GLY 测定的常用分析技术, 例如电化学免疫分析法^[18]、荧光免疫分析^[19]、酶联免疫吸附测定法 (ELISA)^[20]和侧流免疫层析分析法^[21,22]。其中侧流免疫层析分析法因其具有便携、易保存、操作简便、成本低等优势而备受关注。该方法可以通过肉眼直接快速分析样品, 无需任何特殊仪器。岳绪辉等^[22]开发了一种 GLY 侧流免疫层析分析试纸条, 可以在 5 min 内获得结果。该试纸条成功应用于茶叶样品中 GLY 的检测, 检测限为 0.5 mg/kg。然而, 由于抗体生产周期长、成本高、稳定性易受物理和化学条件影响等, 使基于抗体的试纸条的应用受到限制。

寡核苷酸适配体是通过指数富集产生的单链 DNA 或 RNA 配体, 其通常仅含有 15~40 个碱基, 分子量为 6~30 ku, 可以和各种分子, 如细胞、金属离子、蛋白质、细菌和病毒等特异性结合^[23,24]。与抗体相比, 适配体具有筛选周期短、成本低、易于合成、稳定性好以及高亲和力和特异性的优点, 因此被广泛应用食品安全检测、药物生产、环境监测等领域^[25,26]。本研究以金纳米颗粒 (AuNPs) 标

记的核酸适配体为探针, 采用侧向层析技术研制了一种具备操作简便、速度快、成本低、特异性强、定性好等优点, 具有较好的实际应用价值的检测草甘膦的试纸条。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

草甘膦、啉虫脒、毒死蜱、乐果、敌百虫以及灭多威标准品, 坛墨质检科技股份有限公司; 氯金酸、柠檬酸钠、牛血清白蛋白 (BSA) 分析纯, 美国 Sigma 公司; 20×SSC 缓冲液, 上海碧云天生物技术有限公司; 其他试剂分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 样品垫、硝酸纤维素膜 (NC 膜)、吸收垫, 上海捷宁生物科技有限公司。Tween-20、牛血清白蛋白 (BSA)、三 (2-羧乙基) 磷酸酯 (TCEP) 和其他金属盐, 国药集团化学试剂有限公司; 所有寡核苷酸序列, 由上海生工生物技术有限公司合成并 HPLC 纯化 (见表 1)。

表 1 草甘膦适配体侧向层析试纸条所用核酸序列

Table 1 Nucleic acid sequence for glyphosate aptamer lateral chromatographic strip

DNA	序列*
草甘膦适配体 Apt ^[27]	5'-SH- <u>TTTTTTT</u> GCTAGACGATATTCGTCC ATCCGAGCCCCGTGGCGG GCTTTAGGACTCTGCGGGCTTCGCGGCGC TGTCAGACTGAATATGTC-3'
DNA 1	5'-biotin- <u>GACATATTCAGTCTGACAGCGCCGC</u> GAAGCCC-3'
DNA 2	5'-bio- <u>TTTAAAAAAAAA</u> -3'

注: *带下划线或斜体的序列表示互补序列。

1.2 仪器与设备

HC311 电子分析天平, 上海花潮实业有限公司; C-MAG HS7 磁力搅拌器, 德国艾卡 (IKA) 公司; HGS510 划膜喷金标机、HGS201 切条机, 杭州峰航科技有限公司; WGL-125B 干燥箱, 黄骅菲斯福实验仪器有限公司。JEM-2100 HR 透射电子显微镜, 日本 JEOL 有限公司; Shimadzu UV-2300 UV-vis 分光光度计, 日本岛津公司; GX-DGN-200 多功能食品安全快速检测仪, 贵州国芯生物科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 胶体金的制备

参照 Byzova 等^[28]报道, 并稍作改进。在磁力

搅拌下,将 197 mL 的 0.01 wt.% HAuCl_4 溶液加热煮沸后,立即向瓶中加入 3 mL 1 wt.% 柠檬酸钠溶液。当液体变为酒红色时,再继续加热 20 min,然后冷却至室温。制备好的胶体金 (AuNPs) 避光并存放在 4 °C 的冰箱中备用。

1.3.2 胶体金-适配体复合物 (AuNPs-Apt) 的制备

参考文献报道^[29]制备,简言之,10 μL 的 100 $\mu\text{mol/L}$ 硫化修饰的适配体溶液在室温下经 1 mmol/L 的三巯基乙酸 (TCEP) 活化 1 h 后,转移到预先制备的 1 mL 经 5 倍浓缩的金纳米颗粒溶液中,加入 NaCl (1 mol/L) 溶液至最终浓度为 80 mmol/L,4 °C 下孵育 24 h。10 000 r/min 离心 20 min 去除多余的硫化寡核苷酸,并将偶联物复溶于重悬液 (20 mmol/L Na_3PO_4 , 5% BSA, 10% 蔗糖, 0.25% Tween-20), 转移至暗色玻璃瓶中 4 °C 储存备用。

1.3.3 适配体与胶体金结合条件的优化

参照 Wu 等^[30]的方法,固定适配体的最终浓度为 500 nmol/L, 分别设置 NaCl 浓度为 0、20、40、60、80、100 和 120 mmol/L, 用于优化适配体与胶体金结合的最佳 NaCl 浓度; 固定 NaCl 浓度为 80 mmol/L, 设定适配体浓度为 100、300、500、700 以及 900 nmol/L, 用于优化适配体与胶体金结合的适配体最佳使用量。

1.3.4 硝酸纤维膜的制备

将 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 DNA 1 和 DNA 2 分别与 1.25 mg/mL 的链霉亲和素在室温下孵育 1 h。接下来,取制备好的 DNA 1-链霉亲和素复合物和 DNA 2-链霉亲和素复合物用喷膜仪以 1.0 $\mu\text{L/cm}$ 的喷量喷洒于 NC 膜上,分别形成检测线 (T) 和对照线 (C), 两者之间的距离约为 5 mmol/L。然后,将 NC 膜在 37 °C 下干燥 1 h 以进行固定。

1.3.5 层析试纸条的组装及检测过程

试纸条由 PVC 胶板、样品垫、NC 膜和吸收垫组成。把 NC 膜、样品垫、吸水垫贴在 PVC 底板上彼此之间相互重叠约 2 mm (长度方向上), 再将试纸条剪成 4 mm 宽, 并避光存放以备将来使用。AuNPs-Apt 复合物和检测样品混合后, 在室温下反应 20 min。然后将混合物加入样品垫中。3 min 后观察结果。

1.3.6 试纸条的性能评价

1.3.6.1 检测限

GLY 标准溶液用缓冲液 (含 0.5% Tween 20 的

4×SSC 缓冲液^[31]) 分别稀释至质量浓度为 5、20、50、100、150、200、300 ng/mL。将 100 μL 不同质量浓度的 GLY 标准溶液与 30 μL AuNPs-Apt 溶液混合孵育 20 min 后加入到样品垫进行检测, 5 min 后肉眼判定结果, 并测定相对信号强度 (T/C)。

1.3.6.2 特异性

把标准品啉虫脒、毒死蜱、乐果、敌百虫、灭多威以及 GLY 配制成质量浓度为 200 ng/mL 的标准溶液, 分别用试纸条进行检测。

1.3.6.3 稳定性

为了更好地测定实验研制试纸条的稳定性, 将试纸条保存于黑暗干燥环境, 常温 25 °C 条件下放置 2 个月后进行样品检测。

1.3.7 样品的加标回收实验

精确称 1 g 取不含 GLY 的茶叶样品, 分别加入 1 mL 的 GLY 标准品 (质量浓度分别为 50、500、1 000、2 000 以及 3 000 ng/mL), 在室温下孵育 4 h 后, 使用 5 mL 缓冲液对加标样品进行三次每次 30 min 的超声处理。将提取物用缓冲液稀释至 10 mL, 通过 0.22 μm 滤膜过滤后即得样品处理液。将 30 μL AuNPs-Apt 与 100 μL 样品溶液混合, 室温孵育 20 min 后于上述试纸条加样, 5 min 后检测显色信号。

1.3.8 数据分析

本实验中的数据均为至少 3 次平行实验结果, 并采用 Microsoft Excel 2019、SPSS 20.0 软件进行分析。

2 结果与讨论

2.1 AuNPs 的表征

采用柠檬酸钠还原法合成 AuNPs, 如图 1a 所示, 制备好的胶体金溶液呈现酒红色, 且透明度好, 在 520 nm 处有一个单一的吸收峰。其透射电镜结果如图 1b 所示, 胶体金颗粒分布均匀, 与文献报道一致^[28], 其粒径约为 30 nm 左右 (图 1c)。

2.2 胶体金-适配体结合条件的优化

NaCl 可以帮助在适配体上标记的巯基与 AuNPs 之间形成稳定的 Au-S 键, 从而增加负载能力。为了研究 NaCl 对胶体金-适配体结合的影响, 将不同浓度的 NaCl 添加到 AuNPs 和适配体的溶液中。经过孵育后, 混合物离心, 上清液在 260 nm 波长下通过紫外分光光度计进行测量。如图 2a 所

示, 随着 NaCl 浓度从 0 增加到 100 mmol/L, 上清液的吸光度强度降低, 报表明更多的适配体已附着在 AuNPs 的表面。当 NaCl 浓度达到 80 mmol/L 后, 吸光度变化不明显, 表明适配体的负载能力几乎饱和。因此, 选择在随后的研究中使用 80 mmol/L 的 NaCl。

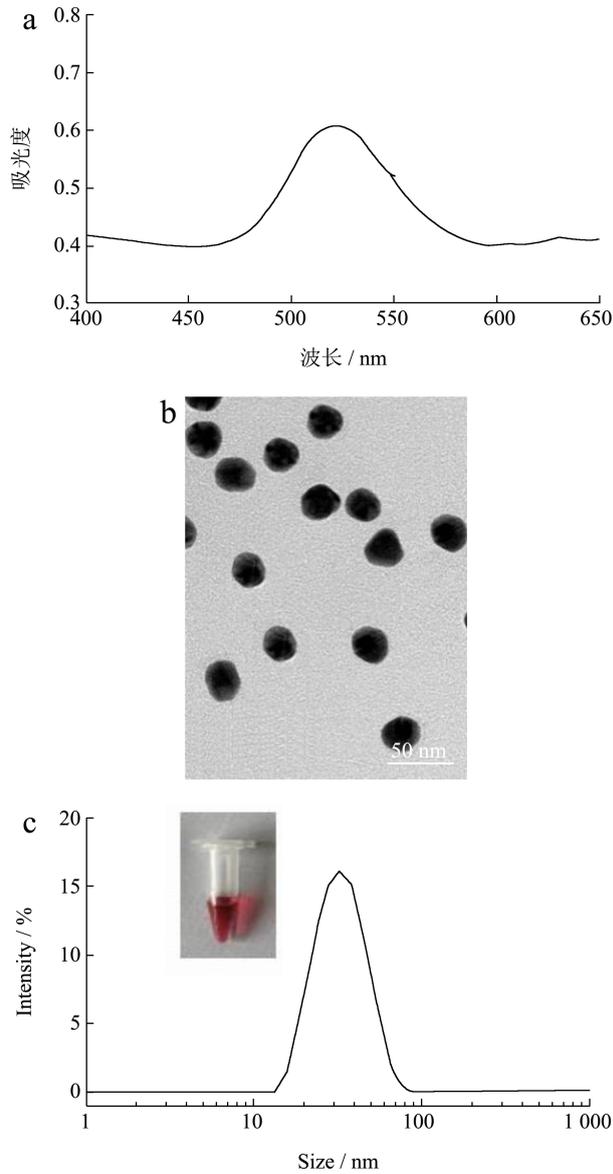


图1 胶体金紫外-可见吸收光谱 (a)、透射电镜照片 (b) 和胶体金粒径分布 (c)

Fig.1 UV-visible absorption spectra of the AuNPs (a); TEM images of AuNPs (b); size distribution of AuNPs (c)

添加 NaCl 在增加适配体的负载能力并帮助形成更稳定连接的同时, 钠离子和氯离子也会破坏离子环境, 导致 AuNPs 的聚集, 而位于 AuNPs 表面的适配体可以防止它们聚集。足量的适配体可以防止 AuNPs-Apt 聚集, 使溶液保持鲜艳的红色。因此,

在 80 mmol/L 的 NaCl 浓度下, 分别使用了不同的适配体最终浓度 (100~900 nmol/L) 来研究适配体和 AuNPs 之间的结合情况。如图 2b 所示, 在低适配体浓度下, 胶体金溶液由于 AuNPs-Apt 聚集呈现紫色, 当适配体浓度达到 500 nmol/L 时, 溶液在 520 nm 的吸光度值达到最大, 且呈鲜艳的红色, 浓度继续增加变化不明显。因此, 将适配体的最终浓度设定为 500 nmol/L。

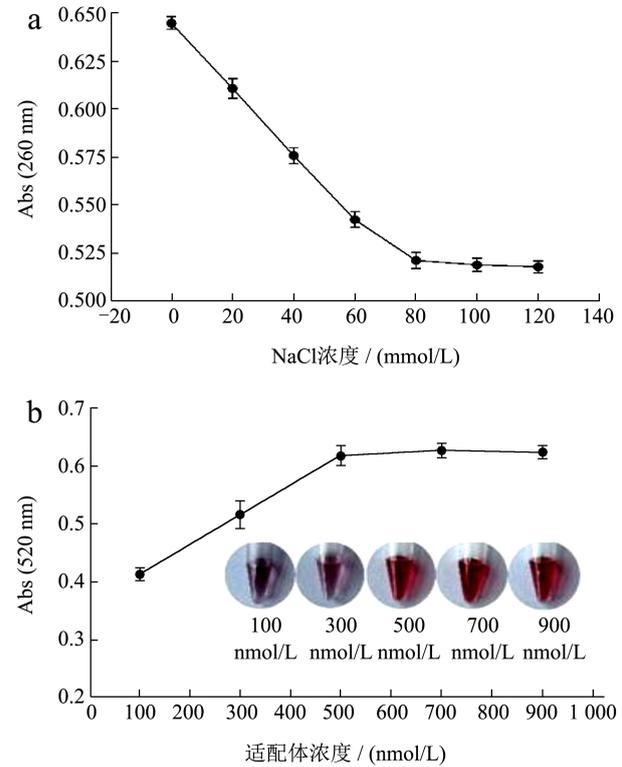


图2 胶体金与适配体结合条件的优化

Fig.2 Optimization of the binding conditions of aptamer and AuNPs

注: 插入图片为对应溶液照片。

2.3 SA 与 Bio-DNA 比例的影响

核酸直接喷洒到硝酸纤维膜上时, 容易被样品流动冲走, 因为它与硝酸纤维膜没有特异性结合力。因此, 选择了链霉亲和素作为媒介, 它可静电吸附固定在硝酸纤维膜上, 并通过与生物素的特异反应连接固定生物素修饰的 DNA (Bio-DNA)。链霉亲和素和生物素修饰的 DNA 的结合不仅影响其固定在硝酸纤维膜上的效率, 还影响 DNA 以及 AuNPs-Apt 之间的杂交效率。为了优化链霉亲和素与 DNA 构建的检测区 (T 线) 的性能, 将链霉亲和素 (0.125 mg/mL) 与 Bio-DNA (100 μmol/L) 以 2:1、1:1、1:3、1:5、1:7 至 1:9 的摩尔比混合后, 喷洒到

硝酸纤维膜上,再向样品垫添加了 30 μL 的 AuNPs-Apt。如图 3 所示,在 1:3 的比例下,对照线显示了良好的颜色强度表现。试纸线也呈现相同的结果。因此,链霉亲和素与 Bio-DNA 的摩尔比被设置为 1:3。

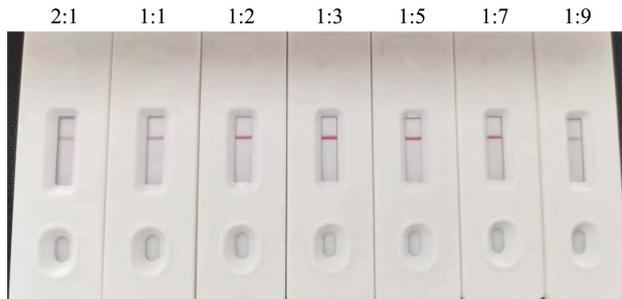


图 3 链霉亲和素和 Bio-DNA 使用比例的优化
Fig.3 Optimization of the molar ratio of streptavidin and Bio-DNA

2.4 AuNPs-Apt 加载量的优化

为了提高检测灵敏度,使用不同体积的 AuNPs-Apt (50、30 和 10 μL) 与 GLY 结合 (最终质量浓度为 50 ng/mL); 结果如图 4 所示。当 AuNPs-Apt 使用量较大时, GLY 与其结合后,游离状态的 AuNPs-Apt 存在较多,可与 DNA1 杂交,使得 T 线显色较深,导致假阴性结果。当 AuNPs-Apt 使用量较小时, T 线和 C 线的颜色强度都会降低甚至消失。如图所示当使用量为 30 μL 时获得了最明显和合适的线条颜色强度。因此,在随后的实验中选择了 30 μL 的 AuNPs-Apt。

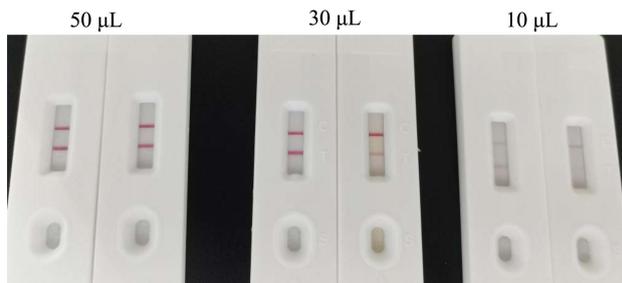


图 4 AuNPS-Apt 加载量的优化
Fig.4 Optimization of the loading quantity of AuNPs-Apt

2.5 试纸的检测性能

在最佳条件下,开发的基于适配体的侧流检测试纸条被用于检测样品溶液中的草甘膦 (GLY)。将各质量浓度的 GLY 与 AuNPs-Apt 混合至最终质量浓度为 0、5、20、50、100、150、200 和 300 ng/mL。将样品引入准备好的试纸条,记录结果。如图 5a 所示,随着检测溶液中 GLY 质量浓度的增加,试纸线上的颜色强度逐渐减弱。在质量浓度为

20 ng/mL (0.2 mg/kg, 以茶叶样品计) 下,肉眼可辨 GLY 显著抑制了 T 线区域的显色。因此,20 ng/mL 可以被视为视觉检出限 (LOD)。样品在 GX-DGN-200 多功能食品安全快速检测仪上进行相对强度 (试纸线值 / 对照线值) 分析。如图 5b 所示,随着 GLY 质量浓度的增加,试纸线逐渐减弱。相对强度与 GLY 质量浓度的对数之间的校准曲线显示了在 5~200 ng/mL 范围内的良好线性关系,并符合线性回归方程 $y = -0.2403x + 0.6659$, $R^2 = 0.997$,检测限为 5 ng/mL (0.05 mg/kg, 以茶叶样品计)。与其他 GLY 检测方法相比 (表 2),虽然本方法在检测灵敏度方面并不是最佳的,但它已达到了 GB 2763-2021 规定草甘膦在茶叶中的最大残留限量 1 mg/kg 所需的预期效果^[32]。此外,基于适配体的侧流试纸条非常简单方便,特别适用于现场检查。

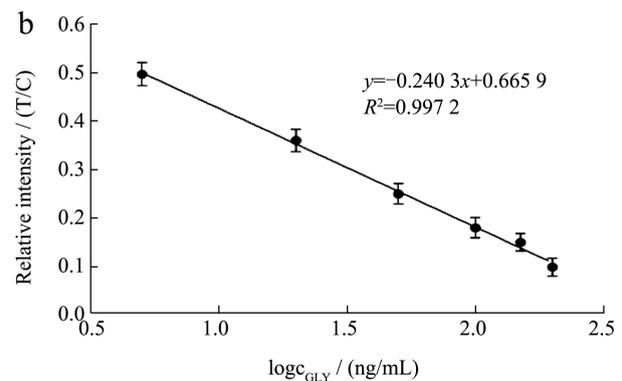
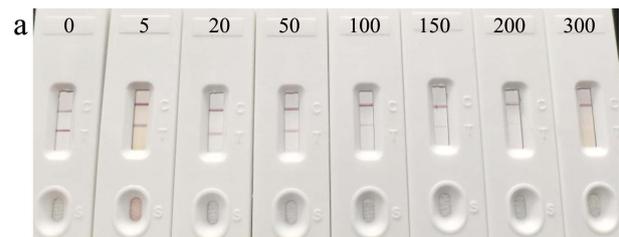


图 5 试纸条对不同质量浓度草甘膦的检测结果 (a) 以及相对强度 (T/C) 与草甘膦质量浓度对数的校准曲线 (b)

Fig.5 Detection results of different concentrations of glyphosate (a) and (b) Calibration curve of the relative intensity (T/C) versus the logarithm of the glyphosate concentration

2.6 特异性分析

为分析基于适配体的侧流试纸条的特异性,分别选用质量浓度为 200 ng/mL 的啉虫脒、毒死蜱、乐果、敌百虫和灭多威五种不同的农药进行评估。如图 6 所示,只有 GLY 会在 T 线区域出现明显的显色抑制,呈现阳性结果,而其他几种常见农药无检测信号。表明基于适配体的侧流试纸条对 GLY 具

有很高的特异性。

表 2 几种草甘膦检测方法的比较

Table 2 Comparison of several methods for GLY detection

检测方法	检测范围	检测限/ (ng/mL)	参考 文献
High-performance chromatography (HPLC)	2.5~80 ng/mL	2.5	[33]
ELISA	1~25 ng/mL	0.6	[34]
Electrochemistry	0.028~28 μ g/mL	10	[35]
Chemiluminescence	0.015~12 μ g/mL	15	[36]
SERS	0.016~16 μ g/mL	2.4	[37]
Fluorescence colorimetric	/	0.69	[38]
colorimetric	0.005~50 μ g/mL	2	[39]
AuNPs-Aptamer	5~200 ng/mL	5	本研究



图 6 基于适配体胶体金侧流层析试纸条检测草甘膦的特异性分析

Fig.6 Specificity of the aptamer-based lateral flow test strip for glyphosate

2.7 加标回收实验

为了验证该检测试纸的实际应用性能，将添加不同质量浓度 GLY 标准品处理后的样品溶液被加入到事先准备的试纸条中，结果如表 3 所示，未含有 GLY 的样品在试纸膜上显示出阴性结果。所有 GLY 质量浓度超过 5 ng/mL 的样品均呈现出阳性结果，并且随着 GLY 质量浓度的增加，测试线的颜色强度变得越来越弱。当质量浓度超过 200 ng/mL 时，检测线消失。所得回收率为 95.13%~105.24% 相对标准偏差 (RSD) 为 4.73%~8.28%。上述结果显示了开发的基于适配体的试纸条成功应用于实际样品的测试。

2.8 基于适配体的试纸条稳定性评估

为了评估了基于适配体的试纸条的稳定性，制备的试纸条在黑暗干燥条件下，室温存放两个月后，用于检测含有 50 ng/mL GLY 的样品。与新制

备的试纸条结果相比，无论是颜色强度还是灵敏度均没有明显差异。这意味着在两个月内，基于适配体的试纸条能够保持稳定。

表 3 实际样品添加回收实验结果

Table 3 Actual sample is added to the recovery test results

样品名称	添加量/ (ng/mL)	检测量/ (ng/mL)	回收率/%	RSDs/%
茶叶	5	5.12	102.40	8.28
	50	52.62	105.24	5.71
	100	95.13	95.13	4.73
	200	195.59	97.80	6.19
	300	/	/	/

注: RSD 为相对标准偏差。

3 结论

本文以胶体金标记的适配体为探针，构建了一种简单、灵敏和低成本草甘膦快速检测试纸条。与先前报道的使用抗体的侧向层析试纸不同，本文以适配体作为识别元件，不但具备适配体的特点，如高亲和力和特异性、低成本和易合成、易于修饰和在储存期间的稳定性等，使得侧流试纸条更具成本效益和稳定性，同时还保持了试纸条检测快速和简单的优势。在优化条件下，该检测试纸条视觉分辨质量浓度为 20 ng/mL，线性范围为 5~200 ng/mL，检出限为 5 ng/mL，检测时间仅需 5 min，并且成功应用于茶叶样品中 GLY 的检测。方法具有灵敏度高、特异性好、重复性好和构建简单等优点，克服了实验室基础设施对快速检测的限制，只需肉眼即可满足检测要求，可用于现场检测，为多种食品污染物和大量样品中草甘膦的快速、简便和灵敏检测提供了新的手段。

参考文献

- [1] BENBROOK C M. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally [J]. *Environ Sci Eur*, 2016, 28(1): 3.
- [2] LIU Z, YANG L, SHARMA A S, et al. A system composed of polyethylenimine-capped upconversion nanoparticles, copper (II), hydrogen peroxide and 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine for colorimetric and fluorometric determination of glyphosate [J]. *Mikrochim Acta*, 2019, 186(12): 835.
- [3] JIMÉNEZ-LÓPEZ J, LLORENT-MARTÍNEZ E J, ORTEGA-BARRALES P, et al. Graphene quantum dots-silver nanoparticles as a novel sensitive and selective luminescence probe for the detection of glyphosate in food samples [J].

- Talanta, 2020, 207(15): 120344.
- [4] REGIART M, KUMAR A, GONÇALVES J M, et al. An electrochemically synthesized nanoporous copper microsensor for highly sensitive and selective determination of glyphosate [J]. Chem Electro Chem, 2020, 7(7): 1558-1566.
- [5] SINGH S, KUMAR V, DATTA S, et al. Glyphosate uptake, translocation, resistance emergence in crops, analytical monitoring, toxicity and degradation: a review [J]. Environmental Chemistry Letters, 2020, 18: 663-702.
- [6] XU J, SMITH S, SMITH G, et al. Glyphosate contamination in grains and foods: An overview [J]. Food Control, 2019, 106: 106710.
- [7] CHANG Y C, LIN Y S, XIAO G T, et al. A highly selective and sensitive nanosensor for the detection of glyphosate [J]. Talanta, 2016, 161: 94-98.
- [8] KHROLENKO M V, WIECZOREK P P. Determination of glyphosate and its metabolite aminomethylphosphonic acid in fruit juices using supported-liquid membrane preconcentration method with high-performance liquid chromatography and UV detection after derivatization with p-toluenesulphonyl chloride [J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1093(1-2): 111-117.
- [9] CONNOLLY A, KOSLITZ S, BURY D, et al. Sensitive and selective quantification of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in urine of the general population by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography B, 2020, 1158: 122348.
- [10] MELISSA A M, COREY M G, MEREDITH M D, et al. Evaluating sub-lethal stress from Roundup (R) exposure in *Artemia franciscana* using H-1 NMR and GC-MS [J]. Aquatic Toxicology, 2019, 212: 77-87.
- [11] BRESSAN I G, LLESUY S F, RODRIGUEZ C, et al. Optimization and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of glyphosate in human urine after pre-column derivatization with 9-fluorenylmethoxycarbonyl chloride [J]. Journal of Chromatography B, 2021, 1171: 122616.
- [12] GORMEZ E, GOLGE O, KABAK B. Quantification of fosetyl-aluminium/phosphonic acid and other highly polar residues in pomegranates using Quick Polar Pesticides method involving liquid chromatography-tandem mass spectrometry measurement [J]. Journal of Chromatography A, 2021, 1642: 462038.
- [13] JOST U, HABEDANK F. Two-dimensional hydrophilic interaction and reversed phase liquid chromatography easily extracted pesticides and polar pesticides multi-residue method-A concept [J]. Journal of Chromatography A, 2020, 1621: 461040.
- [14] SCHUTZE A, MORALES-AGUDELO P, VIDAL M, et al. Quantification of glyphosate and other organophosphorus compounds in human urine via ion chromatography isotope dilution tandem mass spectrometry [J]. Chemosphere, 2021, 274: 129427.
- [15] WIMMER B, PATTKY M, ZADA L G, et al. Capillary electrophoresis-mass spectrometry for the direct analysis of glyphosate: method development and application to beer beverages and environmental studies [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2020, 412(20): 4967-83.
- [16] GUAN J, YANG J, ZHANG Y, et al. Employing a fluorescent and colorimetric picolyl-functionalized rhodamine for the detection of glyphosate pesticide [J]. Talanta, 2021, 224: 121834.
- [17] SAHOO D, MANDAL A, MITRA T, et al. Nanosensing of pesticides by zinc oxide quantum dot: An optical and electrochemical approach for the detection of pesticides in water [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(2): 414-423.
- [18] POUDYAL D C, DHAMU V N, SAMSON M, et al. Portable Pesticide Electrochem-sensor: A Label-Free Detection of Glyphosate in Human Urine [J]. Langmuir, 2022, 38(5): 1781-1790.
- [19] TAKÁCS E, GÉMES B, SZENDREI F, et al. Utilization of a novel immunofluorescence instrument prototype for the determination of the herbicide glyphosate [J]. Molecules, 2022, 27(19): 6514.
- [20] GONZÁLEZ-MARTÍNEZ M Á, BRUN E M, PUCHADES R, et al. Glyphosate immunosensor application for water and soil analysis [J]. Analytical Chemistry, 2005, 77(13): 4219-4227.
- [21] EL-GENDY K, MOSALLAM E, AHMED N, et al. Determination of glyphosate residues in Egyptian soil samples [J]. Anal Biochem, 2018, 557: 1-6.
- [22] 岳绪辉,杜斌,林栋,等.草甘膦胶体金免疫层析试纸条的研制[J].食品科技,2021,46(12):301-307.
- [23] HASANZADEH M, SHADJOU N, MIGUEL D L G. Aptamer-based assay of biomolecules: Recent advances in electro-analytical approach [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2017, 89: 119-132.
- [24] 杨昊,徐依琳,孙思瀚,等.稀土铽离子介导的非标记适配体传感器评估食品中的重金属银污染[J].现代食品科技, 2023,39(6):284-289.
- [25] ADACHI T, NAKAMURA Y. Aptamers: A review of their chemical properties and modifications for therapeutic application [J]. Molecules, 2019, 24(23): 4229.
- [26] SCHÜLING T, EILERS A, SCHEPER T, et al. Aptamer-based lateral flow assays [J]. AIMS Bioengineering, 2018, 5(2): 78-102.
- [27] SHAO Y, TIAN R, DUAN J, et al. A novel fluorescent sensor based on aptamer and qPCR for determination of glyphosate in tap water [J]. Sensors (Basel), 2023, 23(2): 649.

- [28] BYZOVA N A, ZHERDEV A V, KHLEBTSOV B N, et al. Advantages of highly spherical gold nanoparticles as labels for lateral flow immunoassay [J]. *Sensors (Basel)*, 2020, 20(12): 3608.
- [29] PEI H, LI F, WAN Y, et al. Designed diblock oligonucleotide for the synthesis of spatially isolated and highly hybridizable functionalization of DNA-Gold nanoparticle nanoconjugates [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(29): 11876-11879.
- [30] WU S, LIU L, DUAN N, et al. An aptamer-based lateral flow test strip for rapid detection of zearalenone in corn samples [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(8): 1949-1954.
- [31] 常芮, 蔡伊娜, 王周平, 等. 基于适配体胶体金侧向层析试纸快速检测卡那霉素的方法研究[J]. *分析测试学报*, 2021, 40(12): 1728-1735.
- [32] 李贝贝, 汪薇, 江丰, 等. 茶叶中草甘膦及其代谢物氨甲基磷酸的绿色检测分析[J]. *食品与机械*, 2024, 40(2): 43-50.
- [33] 黄鸣, 裴少芬, 邵增琅, 等. 草甘膦残留动态对茶叶安全风险的预警分析[J]. *现代食品科技*, 2020, 36(1): 288-295.
- [34] RUBIO F, VELDHUIS L J, CLEGG B S, et al. Comparison of a direct ELISA and an HPLC method for glyphosate determinations in Water [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2003, 51(3): 691-696.
- [35] CHIU H Y, LIN Z Y, TU H L, et al. Analysis of glyphosate and aminomethylphosphonic acid by capillary electrophoresis with electrochemiluminescence detection [J]. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1177(1): 195-198.
- [36] QIN Y, WU G, GUO Y, et al. Engineered glyphosate oxidase coupled to spore-based chemiluminescence system for glyphosate detection [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2020, 1133: 39-47.
- [37] XU M L, GAO Y, LI Y, et al. Indirect glyphosate detection based on ninhydrin reaction and surface-enhanced Raman scattering spectroscopy [J]. *Spectrochimica Acta Part A Molecular & Biomolecular Spectroscopy*, 2018, 197: 78-82.
- [38] GUAN J P, YANG J, ZHANG Y, et al. Employing a fluorescent and colorimetric picolyl-functionalized rhodamine for the detection of glyphosate pesticide-Science Direct [J]. *Talanta*, 2020, 224: 121834.
- [39] PORNCHANOK S, SANOE C, PURIM J, et al. Enhanced selectivity and sensitivity for colorimetric determination of glyphosate using Mn-ZnS quantum dot embedded molecularly imprinted polymers combined with a 3D-microfluidic paper-based analytical device [J]. *Talanta*, 2021, 225: 122077.