

# 食用菌中硫酸链霉素残留的免疫快速检测

柳双<sup>1</sup>, 王敏思<sup>1</sup>, 谢春花<sup>1</sup>, 周永斌<sup>2</sup>, 柳桃<sup>3</sup>, 宋洋<sup>1,\*</sup>

(1. 天津师范大学 生命科学学院 天津市动植物抗性重点实验室, 天津 300387; 2. 天津市林业果树研究所, 天津 300384; 3. 中延菌菇业(天津)有限公司, 天津 301600)

**摘要:** 研究基于间接竞争酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)方法, 建立一种快捷、灵敏、准确的检测食用菌中硫酸链霉素残留的方法。以杏鲍菇、双孢菇、香菇等食用菌为样品原材料, 采用磷酸钠缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)提取和5%三氯乙酸净化的简单前处理方法即可基本消除基质影响。得到的校正曲线检测限为:  $(0.2 \pm 0.05) \mu\text{g/L}$ , 灵敏度为:  $(0.87 \pm 0.15) \mu\text{g/L}$ ; 5种食用菌样品中的硫酸链霉素的添加回收率为: 88.5%~99.5%, 变异系数小于7.7%, 其结果与高效液相色谱串联质谱法(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)一致。

**关键词:** 食用菌; 硫酸链霉素(STR); 酶联免疫吸附测定(ELISA); 抗生素; 快速检测

## Rapid Immunological Detection of Streptomycin Sulfate Residues in Edible Fungi

LIU Shuang<sup>1</sup>, WANG Min-si<sup>1</sup>, XIE Chun-hua<sup>1</sup>, ZHOU Yong-bin<sup>2</sup>, LIU Tao<sup>3</sup>, SONG Yang<sup>1,\*</sup>

(1. Tianjin Key Laboratory of Animal and Plant Resistance, College of Life Sciences, Tianjin Normal University, Tianjin 300387, China; 2. Tianjin Forestry Fruit Research Institute, Tianjin 300384, China; 3. Zhongyan Mushroom Industry (Tianjin) Co., Ltd., Tianjin 301600, China)

**Abstract:** A rapid, sensitive and accurate method for the detection of streptomycin sulfate residues in edible fungi was established based on the application of indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay (indirect competitive, ELISA) method. The edible fungi such as pleurotus eryngii, agaricus bisporus and lentinus edodes were used as sample raw materials, and the matrix pretreatment method can be basically eliminated by phosphate buffer sodium (PBS) extraction and 5% trichloroacetic acid purification. The obtained detection limit of the calibration curve was  $(0.2 \pm 0.05) \mu\text{g/L}$ , the sensitivity was  $(0.87 \pm 0.15) \mu\text{g/L}$ ; the recovery of streptomycin sulfate in the five edible fungi samples was 88.5%~99.5%, and the coefficient of variation was less than 7.7%, the results were consistent with high performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS).

**Key words:** edible fungi; streptomycin sulfate (STR); enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); antibiotics; rapid detection

基金项目: 天津市自然科学基金(18JCQNJC84400); 天津市“131”创新型人才团队(20180337)

作者简介: 柳双(1995—), 女(汉), 硕士研究生, 研究方向: 食品安全。

\* 通信作者: 宋洋(1983—), 女(汉), 副教授, 博士, 研究方向: 食品安全。

agglutination-PCR (ADAP) enables early diagnosis of HIV infection by oral fluid analysis [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2018, 115(6): 1250-1255

[19] Yan X W, Chris L X, Zhang H Q. Antibody-bridged Beacon for Homogeneous Detection of Small Molecules [J]. Analytical Chemistry, 2018, 90(16): 9667-9672

[20] Liu W, Li J, Wu Y, et al. Target-induced proximity ligation triggers recombinase polymerase amplification and transcription-mediated amplification to detect tumor-derived exosomes in nasopharyngeal carcinoma with high sensitivity [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2017, 102: 204-210

收稿日期: 2019-08-08

引文格式:

柳双,王敏思,谢春花,等.食用菌中硫酸链霉素残留的免疫快速检测[J].食品研究与开发,2020,41(14):163-168

LIU Shuang, WANG Minsi, XIE Chunhua, et al. Rapid Immunological Detection of Streptomycin Sulfate Residues in Edible Fungi[J]. Food Research and Development, 2020, 41(14): 163-168

硫酸链霉素(*Streptomycin*)是一种氨基酸糖苷类抗生素药物<sup>[1]</sup>,结构式如图1所示,分子量为728.7,是链霉素的硫酸盐形式。链霉素对结核杆菌具有强大的抗菌作用<sup>[2]</sup>,对多数革兰阳性球菌和杆菌的抗菌作用不强,对许多革兰阴性杆菌有较强的抗菌作用,曾被广泛用于结核病的治疗。在农业方面,硫酸链霉素可作为一种广谱抗菌素药剂<sup>[3]</sup>,应用于食用菌栽培及果蔬病害防治,可用于促进木耳菌丝生长<sup>[4-5]</sup>;抑制食用菌培养基中杂菌的生长<sup>[6]</sup>;防控食用菌栽培中的软腐病<sup>[7]</sup>、细菌性腐烂以及治疗平菇锈斑病<sup>[8]</sup>、红银耳病、大

白菜软腐病、水稻白叶枯病、棉花立枯病、瓜类霜霉病等<sup>[9]</sup>。随着硫酸链霉素在农业中的大量使用,农产品中的硫酸链霉素药物滞留和蓄积,并以食物链方式进入人体,危害人类健康<sup>[10]</sup>。硫酸链霉素及其衍生物有严重的肾毒性和耳毒性,长期摄入有链霉素残留的食物会造成肾脏及前庭功能和耳蜗神经永久性损伤<sup>[3]</sup>;食物中残留的硫酸链霉素可能会造成过敏反应甚至引起休克<sup>[11]</sup>;研究表明硫酸链霉素还具有潜在的致畸作用<sup>[12]</sup>。因此在临床上逐渐被其他效果类似的药物所取代,但在农药方面仍在继续利用<sup>[13]</sup>。

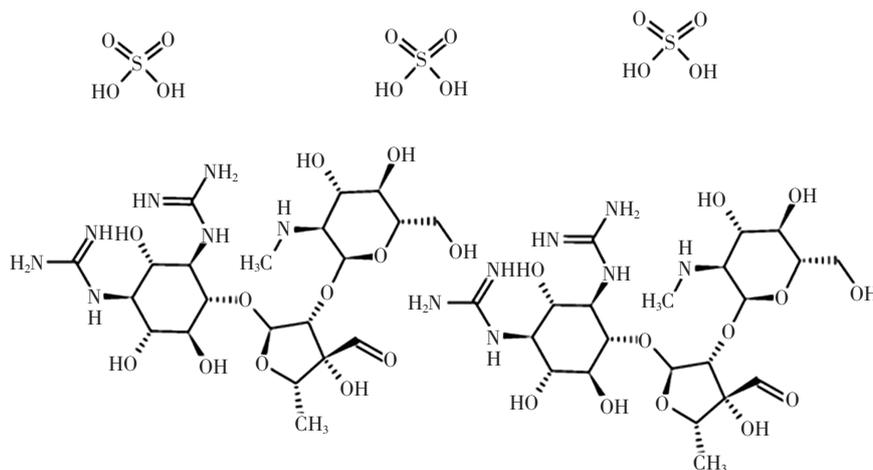


图1 硫酸链霉素结构式

Fig.1 The structure of streptomycin

目前,硫酸链霉素在我国及日本等多个国家(地区)均允许使用,但由于其对人体的危害性,我国及世界各国对其残留限量作出规定,其中我国农业部及欧盟国家仅规定了动物源食品中硫酸链霉素的最高残留限量<sup>[14-15]</sup>;仅日本肯定列表中规定了植物源食品中的硫酸链霉素残留限量,如白菜/大蒜和茄科蔬菜中硫酸链霉素的最高残留限量分别为50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和300  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。国内外针对于动物源性食品中硫酸链霉素残留检测的研究较多,且以色谱方法为主。但仪器方法存在成本高,自动化程度低等问题<sup>[16]</sup>。近年来,免疫分析方法因其简单、快速等特点被建立并广泛应用。2011年N. A. Byzova等<sup>[17]</sup>建立了胶体金免疫层析试纸条的方法检测牛奶和酸奶中硫酸链霉素残留,其检测范围在16  $\text{ng}/\text{mL}$ ~250  $\text{ng}/\text{mL}$ ,样品无需处理即可稀释用于检

测,与传统酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)相关性为0.935;2013年奚茜等<sup>[18]</sup>建立了直接竞争ELISA检测牛奶和蜂蜜中硫酸链霉素残留的方法,该方法 $\text{IC}_{50}$ 值为3.60  $\text{ng}/\text{mL}$ ,样品经提取、净化、干燥等处理后稀释用于检测,与液相色谱(liquid chromatography, LC)方法的相关系数分别为0.99和0.97;2019年Wei等<sup>[19]</sup>建立了视觉双点免疫分析法同时检测牛奶中硫酸链霉素和卡那霉素残留的方法,样品经简单除脂后稀释用以检测,该方法肉眼检测限为12.5  $\text{ng}/\text{mL}$ ,回收率为93.3%~124.5%,并可进行现场检测。

随着食用菌产业不断发展,食用菌的安全问题得到重视。由于硫酸链霉素可应用于食用菌软腐病和细菌感染等疾病的防控,因此建立针对食用菌中硫酸链

霉素残留建立快速准确的检测技术至关重要。本试验基于硫酸链霉素单克隆抗体,经简单快速的样品前处理及反应条件优化,建立食用菌中硫酸链霉素残留间接竞争 ELISA 检测方法,并对 25 个样品进行实际样品检测,对于实现食用菌中硫酸链霉素的高效、快速检测具有重要的意义,为针对食用菌的硫酸链霉素检测试剂盒的研发奠定了良好的基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

硫酸链霉素:河北百灵威超精细材料有限公司;酶标二抗(羊抗鼠):中国上海斯信生物技术有限公司;牛血清蛋白(bovine serum albumin,BSA):生工生物工程上海股份有限公司; $\beta$ -环糊精:德国 Merck 公司;过氧化氢脲:美国 Sigma 公司;3,3',5,5'-四甲基联苯胺(3,3,5,5-Tetramethylbenzidine, TMB):美国 Sigma 公司;二甲基亚砷(dimethyl sulfoxide,DMSO):中国 J&K 公司; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ :天津金海华兴科技发展有限公司; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ :天津市大茂化学试剂厂; $\text{NaCl}$ 、乙酸钠、硫酸(分析纯):中国天津市化学试剂供销公司;柠檬酸:成都格雷西亚化学技术有限公司;三氯乙酸:天津市津科精细化工研究所;样品:市售。

pH 9.6 碳酸钠缓冲液(包被缓冲液);0.01 mol/L 磷酸钠缓冲液,pH 7.4(phosphate buffer,PBS);1L PBS 加 0.5 g 吐温(PBS-tween-20,PBST);100 mL PBS+0.1 g BSA(PBS-BSA,PBSB);6 mg/mL 硫酸链霉素单克隆抗体:天津师范大学天津市动植物抗性重点实验室合成。

### 1.2 仪器与设备

Infinite 200 全波长酶标仪:英国雷勃公司;96 孔酶标板:丹麦 Nunc 公司;GHP-9050 恒温培养箱:上海一恒科学仪器有限公司;RH-KT 加热磁力搅拌器、MTS2/4 数显型酶标板振荡器:德国 IKA 公司;H1650 离心机:湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;XH-C 涡旋仪:上海联广认证有限公司;XBLL-23A 多功能食品加工机:中国帅佳电子科技有限公司。

### 1.3 硫酸链霉素间接竞争 ELISA 方法的建立

利用间接竞争 ELISA 法,具体方法参考自 Song 等<sup>[20]</sup>,酶标二抗稀释 5 000 倍,分别将包被原用包被液配制成 0.01、0.05、0.1  $\mu\text{g}/\text{L}$ ;将缓冲液离子浓度调为:10、20、30、40、50 mmol/L 用以稀释抗体、酶标二抗及硫酸链霉素标品;将缓冲液的 pH 值分别调成:4.5、5.5、6.5、7.4、8.5、9.5,用以稀释抗体、酶标二抗及硫酸链霉素标品;将竞争反应时间分别设置为 25、40、55、70 min。反

应在 96 孔酶标滴定板中进行,用酶标仪读取 A 450 nm 和 A 650 nm 值,最后根据结果中  $\text{IC}_{50}$  值的大小和吸光度的变化选择最佳反应条件。

利用以上优化条件,将硫酸链霉素配制成浓度为 0.07、0.22、0.67、2.00、6.00、18.00  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的溶液,进行间接竞争 ELISA 试验。试验结果以硫酸链霉素标准品的浓度( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )为横坐标,以抑制率(%)为纵坐标绘制标准曲线。

$$\text{抑制率}/\% = [(A_{\text{质控}} - A_x) / (A_{\text{质控}} - A_{\text{空白}})] \times 100 \quad (\text{式 } 1)$$

式中: $A_{\text{质控}}$ 为硫酸链霉素标品浓度为零时的吸光度; $A_x$ 为硫酸链霉素标品浓度为  $x$  时的吸光度; $A_{\text{空白}}$ 为空白孔的吸光度。

### 1.4 抗体特异性的评估

通过抗原以及其他抗原结构类似物与抗体的交叉反应率来判断抗体的特异性<sup>[21]</sup>。

$$\text{交叉反应率}/\% = [\text{IC}_{50(\text{硫酸链霉素})} / \text{IC}_{50(\text{其他标准品})}] \times 100 \quad (\text{式 } 2)$$

式中: $\text{IC}_{50(\text{硫酸链霉素})}$ 为硫酸链霉素的抑制率为 50% 时所对应的硫酸链霉素浓度; $\text{IC}_{50(\text{其他标准品})}$ 为其他标准品的抑制率为 50% 时所对应的标准品浓度。

### 1.5 样品的测定

#### 1.5.1 样品的准备与处理

分别选择 5 种食用菌(平菇、杏鲍菇、双孢菇、猴头菇、香菇)作为样品去评估间接竞争 ELISA 方法的各项性能指标。样品经 HPLC-MS 检测确保其不含硫酸链霉素和双氢链霉素。将样品的子实体部分用食品加工机切碎,储存在  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  备用。

#### 1.5.2 基质影响的消除

称取 1 g 经粉碎的样品,加入 2 mL PBS,涡旋 5 min,离心(5 000 r/min),取 1 mL 上清液加入 1 mL 5% 三氯乙酸溶液,涡旋 5 min,离心,取上清液。处理后的样品液体储存于棕色小瓶中  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  备用,用缓冲液稀释即可进行 ELISA 检测。

#### 1.5.3 添加回收试验

本研究利用添加回收试验评估了方法的准确度。具体步骤如下:利用 5 种食用菌样品进行加标回收试验,每种样品分别添加 3 个浓度(15、65、150  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ),每个浓度重复 3 次,样品提取液经间接竞争 ELISA 法分别检测后,计算其回收率,根据回收率接近 100% 的程度来检验方法的准确度。

$$\text{回收率}/\% = (\text{测定值} - \text{空白值}) / \text{添加量} \times 100 \quad (\text{式 } 3)$$

#### 1.5.4 实际样品的检测

对平菇、杏鲍菇、香菇、双孢菇及猴头菇进行抽样调查,每种抽取 5 个样品进行检测。

## 1.6 与 HPLC-MS 比对试验

检测条件及方法参考标准方法:GB/T 22995-2008《蜂蜜中链霉素、双氢链霉素和卡那霉素残留量的测定液相色谱-串联质谱法》<sup>[21]</sup>。

样品提取与净化方法同 1.5.2,处理后的样品液体过 0.22 μm 水系滤膜后即可进行 HPLC-MS 检测。

## 2 结果与分析

### 2.1 间接竞争 ELISA 法的建立

经优化了包被原包被量、缓冲液液离子浓度、pH 值以及竞争反应时间,最终确定的最优条件为:抗体稀释 108 000 倍;包被原包被量为 0.5 μg/well;缓冲液为 10 mmol/L, pH 7.4 的磷酸缓冲液;抗原抗体竞争反应时间为 55 min。绘制缓冲液标准曲线如图 2 所示,  $IC_{15}=(0.20 \pm 0.05) \mu\text{g/L}$ ,  $IC_{50}=(0.87 \pm 0.15) \mu\text{g/L}$ , 线性范围为 0.25 μg/L~4.25 μg/L(抑制率为 20%~90%所对应的硫酸链霉素浓度)。

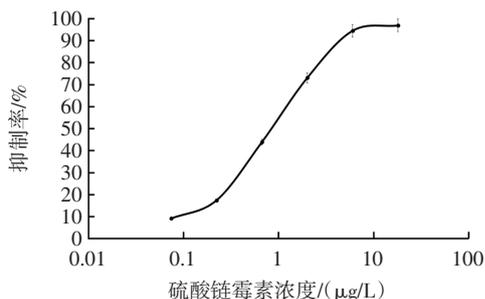


图 2 硫酸链霉素抑制曲线

Fig.2 Streptomycin sulfate inhibition curve

### 2.2 抗体特异性

利用间接竞争 ELISA 测定抗体与硫酸链霉素及其他结构类似物的交叉反应来评价抗体的特异性见表 1。

表 1 各化合物与抗体的交叉反应率和  $IC_{50}$  值

Table 1 The  $IC_{50}$  and coefficient of variation of compounds

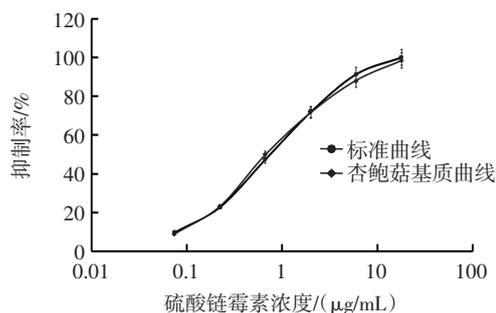
化合物	$IC_{50}/(\mu\text{g/L})$	交叉反应率/%
硫酸链霉素	0.87	100
双氢链霉素	0.88	98.9
庆大霉素	>10 000	<0.01
卡那霉素	>10 000	<0.01
氯霉素	>10 000	<0.01
硫酸新霉素	>10 000	<0.01
妥布霉素	>10 000	<0.01

由表 1 可知,该抗体可以特异性的识别硫酸链霉素,且对其类似物双氢链霉素有极高的交叉反应(98.9%),而与其他抗生素如庆大霉素、卡那霉素、氯霉素等的

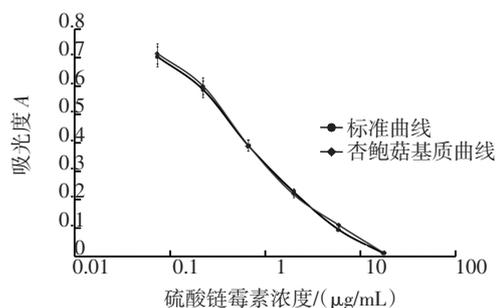
交叉反应率均小于 0.01%。

### 2.3 硫酸链霉素间接竞争 ELISA 的校正曲线及基质曲线

取 5 种食用菌样品进行处理,将获得的样品提取液经 PBS 稀释 20 倍后的溶液作为硫酸链霉素标品的稀释液,经间接竞争 ELISA 检测获得的抑制率曲线即为样品的基质曲线,结果如图 3、表 2 所示,5 种样品的基质曲线与校正曲线几乎重合。



(1)抑制率比较图



(2)吸光度比较图

图 3 硫酸链霉素间接竞争 ELISA 校正曲线(以杏鲍菇为例)

Fig.3 Indirect competitive ELISA calibration curve of streptomycin sulfate (taking pleurotus eryngium as an example)

表 2 硫酸链霉素间接竞争 ELISA 法校正曲线与各样品的基质曲线的比较

Table 2 Comparison of indirect competitive ELISA calibration curves of streptomycin with matrix curves of each sample

硫酸链霉素浓度/(μg/kg)	标准曲线	杏鲍菇	香菇	双孢菇	平菇	猴头菇
0.07	9.55	8.84	9.46	9.89	8.87	8.95
0.22	22.69	23.11	22.67	22.70	21.61	22.21
0.67	47.31	49.78	48.73	49.01	49.98	50.30
2	71.81	71.55	70.61	70.35	69.99	72.56
6	91.34	88.17	90.19	91.23	89.41	92.03
18	99.95	98.42	99.19	98.21	97.97	99.93

由表 2 可知,样品的前处理方法完全可以达到消除基质影响的目的,且该校正曲线至少可以用于这 5 种样品的硫酸链霉素残留检测。

## 2.4 添加回收试验

将 5 种食用菌样品匀浆分别添加 3 个水平(15、65、150  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )的硫酸链霉素标品,每个水平设置 3 个平行,25  $^{\circ}\text{C}$ 静置 30 min,分别处理样品,获得提取液,经 PBS 稀释 80 倍后用于间接 ELISA 检测,结果如表 3 所示。其中,回收率为 88.5%~99.5%,在误差允许内,

且变异系数小于 7.5%。

## 2.5 实际样品检测结果

本试验对平菇、杏鲍菇、香菇、双孢菇及猴头菇进行抽样调查,每种抽取 5 个样品进行检测。实际样品中的硫酸链霉素的检测见表 4。

由表 4 可知,在杏鲍菇、平菇、双孢菇、香菇中均检

表 3 硫酸链霉素在 5 种样品中的添加回收率

Table 3 Recovery of Streptomycin in 5 Samples

样品名称(n=3)	硫酸链霉素添加量/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	ELISA			HPLC-MS		
		检出量/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	回收率/%	变异系数 CV/%	检出量/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	回收率/%	变异系数 CV/%
平菇	15	13.70 $\pm$ 0.27	91.3	2.0	14.20 $\pm$ 0.68	94.7	4.7
	65	63.13 $\pm$ 1.77	97.1	2.8	64.10 $\pm$ 2.96	98.6	4.6
	150	149.33 $\pm$ 2.16	99.5	1.4	149.55 $\pm$ 1.35	99.7	0.9
杏鲍菇	15	13.27 $\pm$ 1.03	88.5	7.7	14.05 $\pm$ 1.01	93.7	7.1
	65	63.53 $\pm$ 1.54	97.7	2.4	65.86 $\pm$ 1.57	101.3	2.3
	150	147.20 $\pm$ 3.60	98.1	2.4	147.21 $\pm$ 0.95	98.1	0.6
香菇	15	13.57 $\pm$ 0.61	90.4	4.4	15.08 $\pm$ 0.41	100.5	2.7
	65	63.87 $\pm$ 1.86	98.3	2.8	63.75 $\pm$ 2.57	98.1	3.9
	150	148.67 $\pm$ 2.54	99.1	1.7	151.04 $\pm$ 1.66	100.7	1.1
双孢菇	15	13.87 $\pm$ 0.86	98.7	6.2	13.32 $\pm$ 0.14	88.8	1.1
	65	63.90 $\pm$ 1.74	92.5	2.7	66.47 $\pm$ 0.24	102.3	0.3
	150	146.87 $\pm$ 4.61	97.9	3.1	148.74 $\pm$ 2.10	99.2	1.4
猴头菇	15	13.60 $\pm$ 0.91	90.6	6.6	14.92 $\pm$ 0.73	99.5	4.8
	65	63.87 $\pm$ 2.85	98.3	4.4	63.64 $\pm$ 1.65	97.9	2.5
	150	143.13 $\pm$ 5.50	95.4	3.8	152.22 $\pm$ 1.18	101.4	0.7

表 4 实际样品中的硫酸链霉素的检测

Table 4 Detection of streptomycin in real samples

样品名称	编号	ELISA		HPLC-MS	
		硫酸链霉素检出量/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	检出率/%	硫酸链霉素检出量/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	检出率/%
平菇	1-4	-	20	-	20
	5	20.00		19.00	
杏鲍菇	1-4	-	20	-	20
	5	20.25		18.65	
香菇	1-3	-	40	-	40
	4	20.00		19.60	
	5	18.40		17.25	
双孢菇	1-4	-	20	-	20
	5	16.85		17.50	
猴头菇	1-5	-	0	-	0

注:-表示阴性样品,未检出。

出硫酸链霉素,其结果与高效液相色谱串联质谱法一致。

## 3 结论与展望

本研究基于间接竞争 ELISA 方法,建立了一种快

捷、灵敏、准确的检测食用菌中硫酸链霉素残留的方法。其中,样品仅需简单提取和酸化即可基本消除基质影响并用于间接竞争 ELISA 检测。实现了食用菌中硫酸链霉素残留的快速检测。由于目前仅日本肯定列表中规定了部分植物源性食品中硫酸链霉素的最大

残留限量,未规定食用菌中硫酸链霉素的最高残留限量,因此该结果对完善我国国家标准中食用菌中硫酸链霉素的残留限量提供一定的数据支持。

#### 参考文献:

- [1] 黄耀凌,刘智宏,叶妮,等. ELISA 法检测牛奶中链霉素残留量[J]. 中国乳品工业,2007(2): 54-56
- [2] 萨仁其其格. 内蒙古牧区土壤中链霉素残留的检测及吸附行为的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2010
- [3] 陈笑笑,赵芸,柳爱春,等. 食品中链霉素残留检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报,2016,7(12): 4815-4820
- [4] 甄文爽,董锡文,杜春梅,等. 4 种抗生素对黑木耳黑 29 菌丝生长的影响[J]. 安徽农业科学,2017,45(33): 57-59
- [5] 杜春梅,柏广波,董锡文,等. 毛木耳 958 对 4 种抗生素的敏感性研究[J]. 安徽农业科学,2018,46(23): 33-34,51
- [6] 戴水莲,林警,高丽. PDA 中加入抗菌素的抗菌作用试验[J]. 食用菌, 2008, 30(1): 28-29
- [7] 饶火火,卢建坤. 温控条件下金针菇软腐病的防治试验[J]. 中国食用菌, 2009, 28(5): 57-58
- [8] 严悦. 平菇对褐斑病的室内抗性分析及其药剂防治[D]. 南宁: 广西大学, 2013
- [9] 张勇. 水稻白叶枯病菌和条斑病菌对噻枯唑和链霉素的抗性机理研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011
- [10] 杨玉霞,甘宾宾,凌敏,等. 高效液相色谱法检测动物性食品中链霉素残留的研究进展[J]. 中国兽药杂志, 2006, 40(12): 44-47
- [11] 伍越,郑静,郑斌娇,等. 氨基糖苷类抗生素耳毒性的保护和修饰[J]. 中华耳科学杂志, 2012, 10(2): 260-269
- [12] 刘小兰,万宇平,刘文芳,等. 链霉素和双氢链霉素检测技术研究进展[J]. 新疆畜牧业, 2011(2): 21-23
- [13] 张慧莹. 链霉素酶联免疫分析方法的研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2013
- [14] 农业部畜牧兽医局. 农业部发布动物性食品中兽药最高残留限量[J]. 中国兽药杂志, 2003, 37(2): 7-9
- [15] Council of the European Parliament and Council. (EC) No 470/2009 Laying down Community procedures for the establishment of residue limits of pharmacologically active substances in foodstuffs of animal[S]. Brussels: Official Journal of the European Union, 2009
- [16] HUANG Y F, LOU X Y, ZHOU Z, et al. Determination of 11 Kinds of Aminoglycosides in Aquatic Products by Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry with Molecularly Imprinted Polymers Solid Phase Extraction[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2018, 46(3): 454-461
- [17] BYZOVA N A, ZYREVA E A, ZHERDEY A V, et al. Pretreatment-free immunochromatographic assay for the detection of streptomycin and its application to the control of milk and dairy products [J]. Analytica Chimica Acta, 2011, 701(2): 209-217
- [18] 奚茜,张明洲,李沐洁,等. 链霉素残留检测直接竞争 ELISA 法的建立[J]. 中国食品学报, 2013, 13(11): 124-131
- [19] WEI D L, MENG H, ZENG K, et al. Visual dual dot immunoassay for the simultaneous detection of kanamycin and streptomycin in milk[J]. Analytical Methods, 2018 11(1): 70-77
- [20] SONG Y, ZHANG Y, WANG S, et al. Determination of metolcarb residues by a biotin - streptavidin-amplified enzyme-linked immunosorbent assay in vegetables and edible fungus[J]. Food and Agricultural Immunology, 2016, 27(2): 194-204
- [21] JIN R Y, GUI W J, GUO Y R, et al. Comparison of monoclonal antibody-based ELISA for triazophos between the indirect and direct formats[J]. Food and Agricultural Immunology, 2008, 19(1): 49-60
- [22] 中华人民共和国卫生部. 蜂蜜中链霉素、双氢链霉素和卡那霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法:GB/T 22995-2008[S]. 北京:中国标准出版社,2008

收稿日期:2019-07-03

知信 用信 守信