

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2026.07.009

基于环状核酸适体的 Ara h1 快速检测

凤君妹, 毛瑜, 方鹏, 孙龙, 姚丽丽

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

摘要:为了能精准、快速检测出样品中的花生过敏原 Ara h1, 文章设计了一种基于环状核酸适体和磁性氧化石墨烯(magnetic graphene oxide, MGO)平台的无标记快速检测花生过敏原 Ara h1 的荧光传感器。特异性靶向 Ara h1 的环状核酸适体通过 π - π 堆积吸附在 MGO 上, 当样品中含有 Ara h1 时, 环状核酸适体与 Ara h1 结合形成复合物, 进而从 MGO 表面解吸附; 磁性分离去除 MGO, 再通过加热使 Ara h1 变性脱离其环状核酸适体, 此时环状核酸适体可以进一步作为滚环扩增(rolling circle amplification, RCA)的模板进行 RCA 反应, 加入 Sybr Gold 核酸染料即可产生荧光信号。该荧光传感器具有很好的特异性和灵敏度, 检测限低至 $0.02 \mu\text{mol/L}$, 检测线性范围为 $0.02 \sim 1.70 \mu\text{mol/L}$ 。该荧光传感器可用于实际样品中 Ara h1 的快速检测, 且操作简单、无需化学修饰, 在食物过敏原检测中有良好的应用前景。

关键词:花生过敏原 Ara h1; 环状核酸适体; 滚环扩增(RCA); 磁性氧化石墨烯(MGO); 快速检测

中图分类号:Q657.3; TS207.3

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2026)07-0924-06

Rapid detection of Ara h1 based on circular aptamers

FENG Junmei, MAO Yu, FANG Peng, SUN Long, YAO Lili

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: In this paper, a fluorescent biosensor based on circular aptamer and magnetic graphene oxide (MGO) platform was constructed for the rapid and accurate label-free detection of peanut allergen protein Ara h1 in the samples. Circular aptamer specifically targeting Ara h1 was adsorbed onto MGO by π - π stacking. When Ara h1 presented in the samples, the circular aptamer bound to Ara h1 to form a complex, which in turn desorbed from the MGO surface. MGO was then removed by magnetic separation. The Ara h1-circular aptamer complex was denatured by heating to detach the circular aptamer, which could then be further used as a template for rolling circle amplification(RCA). Finally, the fluorescent signals could be generated by adding Sybr Gold nucleic acid dye. The fluorescent biosensor has excellent specificity and sensitivity, with a detection limit as low as $0.02 \mu\text{mol/L}$ and a linear range of $0.02 \sim 1.70 \mu\text{mol/L}$. The biosensor can be used for the rapid detection of Ara h1 in real samples, which is simple to operate and does not require chemical modification, holding great potential for food allergen detection.

Key words: peanut allergen protein Ara h1; circular aptamer; rolling circle amplification(RCA); magnetic graphene oxide(MGO); rapid detection

食物过敏原是食物中能引发过敏反应的物质,即使是少量的食物过敏原也能引发过度的免

疫反应^[1]。其中,花生过敏原 Ara h1 存在于各种花生产品中,摄入 Ara h1 会引发严重的过敏反

收稿日期:2024-03-20;修回日期:2024-04-08

基金项目:国家重点研发计划资助项目(2020YFC1606802);安徽省自然科学基金青年基金资助项目(2108085QC139)

作者简介:凤君妹(1999—),女,安徽宣城人,合肥工业大学硕士生;

毛瑜(1989—),女,安徽合肥人,博士,合肥工业大学副研究员,硕士生导师,通信作者, E-mail:maoyu@hfut.edu.cn.

应,甚至威胁生命,因此已被确定为导致严重食物过敏的主要原因之一^[2]。Ara h1 通常在食物中形成稳定的同源三聚体,即使在高温和酶消化等苛刻条件下也能保持其致敏特性^[3]。在过去几年中,食物过敏的患病率在全球范围内逐渐增加,并且食物过敏还没有有效的治疗方法。因此,迫切需要开发一种有效的现场分析方法,用于快速和简便地检测微量花生过敏原 Ara h1。

目前,荧光免疫分析^[4]、电化学免疫分析^[5]和表面增强拉曼散射免疫分析^[6]等免疫分析方法被广泛应用于现场检测 Ara h1。虽然这些方法在特异性、灵敏度和易用性方面都有一定的优势,但都依赖于相对难以产生的抗体。此外,抗体易受温度和其他环境因素的影响而变性,由于其不稳定性可能导致假阳性或假阴性结果^[7]。核酸适体被视为“化学抗体”,是单链寡核苷酸,可以形成独特的空间构象,并以高亲和力和选择性结合其靶标^[8]。与抗体相比,核酸适体具有稳定性高、合成简单、易于修饰、批次间差异小等优点,有望成为 Ara h1 检测的优良的分子识别元件。环状核酸适体具有闭环结构,该环状特征具有以下优点:对核酸外切酶降解具有抗性、有更好的热力学稳定性以及可作为滚环扩增(rolling circle amplification, RCA)的模板使检测信号得以放大^[9]。

RCA^[10]是一种等温核酸扩增技术,需要引物以及特殊的环状单链 DNA 模板,在聚合酶作用下将游离的脱氧核糖核苷酸(dNTP)从引物的 3'端围绕环状模板互补延长。由于扩增模板是环状的,由此产生的 RCA 产物包含了成千上万重复的与扩增模板互补的单链 DNA 产物。目前 RCA 已经被广泛用信号放大工具来进行核酸的检测。磁性氧化石墨烯(magnetic graphene oxide, MGO)可通过 NH₂-磁珠与氧化石墨烯(graphene oxide, GO)的交联作用合成,不仅具有磁性纳米材料的顺磁性,而且具有 GO 独特的物理化学特性^[11]。单链 DNA 可通过 GO 与碱基之间的 π - π 堆叠和疏水相互作用而被吸附在 MGO 的表面,且 MGO 可被磁铁吸附,从而起到磁性分离单链 DNA 的效果^[12]。Sybr Gold 是一种具有良好生物相容性的核酸染料,可与单链 DNA 结合,增强检测的荧光信号^[13-14]。

为构建一种检测精准、灵敏且操作简单的 Ara h1 快速检测方法,本文利用环状核酸适体特殊的环状结构特征,将其作为靶标识别元件和 RCA 的扩增模板, MGO 作为分离介质降低背景

信号,结合 Sybr Gold 核酸染料增强荧光信号的特点进行信号放大,设计了环状核酸适体荧光传感器。当体系中不存在靶标 Ara h1 时,环状核酸适体被 MGO 吸附,磁性分离后则无法发生 RCA 反应,此时加入 Sybr Gold 核酸染料不能产生荧光信号。当体系中存在 Ara h1 时,环状核酸适体可与靶标结合形成复合物,从而不会被 MGO 吸附,此时磁性分离后在上清中加入 RCA 引物、dNTP 和聚合酶,则可发生 RCA 扩增反应,产生一条长的单链 DNA 产物,与 Sybr Gold 染料结合则可产生较强的荧光信号,实现对 Ara h1 的定量检测。该荧光传感器无需特殊的化学修饰、特异性好、灵敏度高且操作简便,为食物过敏原检测提供了新思路。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

本实验所用的纯化的花生过敏原 Ara h1 购于深圳市安提生物科技有限公司;单层氧化石墨烯粉末、NH₂-磁珠均购于江苏先锋纳米材料科技有限公司;闲趣饼干样品购于亿滋食品企业管理(上海)有限公司;特仑苏牛奶样品购于内蒙古蒙牛乳业(集团)股份有限公司;T4 多核苷酸激酶(T4 polynucleotide kinase, T4 PNK)缓冲液、T4 DNA 连接酶、腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine-triphosphate, ATP)、脱氧核糖核苷三磷酸(deoxy-ribonucleoside triphosphates, dNTPs)、10× RCA 反应缓冲液、phi29 DNA 聚合酶(phi29 DNA polymerase, phi29 DP)均购于新英格兰生物实验室;Sybr Gold 核酸染料购于美国赛默飞世尔科技公司;N-羟基琥珀酰亚胺钠盐(Su-flo-NHS)、1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC)均购于生工生物工程(上海)股份有限公司;实验中用到的所有 DNA 序列引物均购于生工生物工程(上海)股份有限公司,所用引物序列见表 1 所列。

表 1 实验中所用环状核酸适体和引物的序列

引物	序列(5'→3')
Ara h1 环状核酸适体	ATCCGATCGAGAGGATCCGAAACATGCGA ATTAATGAGGCCCAAGATAGCTAAGAGAT
RCA 引物 (LT1)	TCGATCGGATATCTCTTAGC

1.2 仪器与设备

本实验所用仪器与设备有: GENESYS 10S

紫外-可见分光光度计(美国赛默飞世尔科技公司);Multiskan FC 全自动酶标仪(美国赛默飞世尔科技公司);Tanon MINI SPACE 凝胶成像仪 2000(合肥吉象生物技术有限公司);Varioskan Flash 全波长多功能酶标仪(继圣(上海)医疗器械有限公司);ZF-5 手提紫外分析仪(上海嘉鹏科技有限公司);DYY-6C 电泳仪(北京六一生物科技有限公司);H1-16KR 台式高速冷冻离心机(湖南可成仪器设备有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 Ara h1 环状核酸适体的制备

本实验采用线性核酸适体的合环方法^[15]。将 15 μL 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 ssDNA 与 20 U T4 PNK、1 000 $\mu\text{mol/L}$ ATP 在 60 μL 1 $\times$ T4 PNK 缓冲液中 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 1 h,将孵育后的混合物在 95 $^{\circ}\text{C}$ 下加热 5 min 使酶失活;将上述 60 μL 混合物分装成 6 管,每管 10 μL ,均加入 3.5 μL 的 100 $\mu\text{mol/L}$ DNA 引物(DNA template1,LT1)和 326.5 μL 去离子水,混合后将混合物在 90 $^{\circ}\text{C}$ 下加热 3 min,在室温下冷却 15 min;然后加入 38 μL 10 $\times$ T4 DNA 连接酶缓冲液(4×10^5 $\mu\text{mol/L}$ Tris-HCl, 1×10^5 $\mu\text{mol/L}$ MgCl_2 , 1×10^5 $\mu\text{mol/L}$ DTT, 5 000 $\mu\text{mol/L}$ ATP, 25 $^{\circ}\text{C}$, pH 值 7.8)和 0.5 μL T4 DNA 连接酶(10 U/ μL),在室温下过夜孵育反应,孵育完成后在 90 $^{\circ}\text{C}$ 下加热 5 min 使连接酶失活;用标准乙醇沉淀法沉淀环状核酸适体,并通过 12% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳(denaturing polyacrylamide gel electrophoresis, dPAGE)对 Ara h1 环状核酸适体进行浓缩纯化;最后采用紫外-可见分光光度计测定纯化后环状核酸适体在 260 nm 处的吸光度 A_{260} ,并计算其浓度。

1.3.2 磁性氧化石墨烯的制备

本文采用文献^[16]方法合成 MGO。将 550 μL 的 GO(1 mg/mL)、250 μL 的 EDC(0.1 mol/L)和 125 μL 的 Suflo-NHS(0.1 mol/L)在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下混合 1 h;然后,加入 125 μL NH_2 -磁珠(50 nmol/L),并在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜;将合成的 MGO 用 200~300 μL H_2O 洗涤 3 次,重悬于 200 μL 1 $\times$ PBSMT 缓冲液中,最终制得的 MGO 终质量浓度为 2.75 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下储存以备进一步使用。

1.3.3 Ara h1 的检测方法

将 2 μL 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 的环状核酸适体和不同浓度的 Ara h1 在 20 μL 1 $\times$ PBSMT 缓冲液中孵育 30 min,将该混合物与 12 μL MGO 继续孵育 30 min;然后磁性分离取上清 14 μL ,95 $^{\circ}\text{C}$ 加热

10 min,使得靶标蛋白 Ara h1 变性脱离其环状核酸适体后,加入 2 μL 0.5 $\mu\text{mol/L}$ RCA 引物 LT1 (与环状核酸适体浓度比为 1:1)、2 μL dNTPs、2 μL 10 $\times$ RCA 反应缓冲液和 0.2 μL phi29 DP 启动 RCA 反应;在 30 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 30 min 后,在 95 $^{\circ}\text{C}$ 下加热 10 min 使聚合酶失活终止反应;将所得产物加入 70 μL 1 $\times$ PBSMT 和 10 μL 10 $\times$ Sybr Gold 混合液中,测量荧光强度(Sybr Gold 荧光染料的激发波长 λ_{ex} 、发射波长 λ_{em} 分别为 498、540 nm)。用 1 $\times$ PBSMT 缓冲液代替 Ara h1 溶液作为空白对照,其他步骤与上述实验步骤相同。每次实验均设置 3 个平行组,计算时实验组荧光值应扣去对照组荧光值,可得其相对荧光强度。

1.3.4 MGO 用量的优化

不同用量的 MGO 可吸附 ssDNA 的量也不同,当体系中 MGO 过量时,可能会导致环状核酸适体和 Ara h1 形成的复合物分离,从而影响检测的灵敏度,因此,需对 MGO 的用量进行优化。固定环状核酸适体(0.5 $\mu\text{mol/L}$)的用量为 2 μL ,加入不同体积的 MGO 在 20 μL 1 $\times$ PBSMT 缓冲液体系中孵育 30 min,孵育完成后磁性分离取上清,加入 10 μL 10 $\times$ Sybr Gold 混合液和去离子水使总体积为 100 μL ,采用 1.3.3 节方法进行荧光强度的测定。

1.3.5 Ara h1 定量检测及标准曲线的建立

将不同终浓度(0.02~1.70 $\mu\text{mol/L}$)的 Ara h1 与 2 μL 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 的环状核酸适体在 20 μL 1 $\times$ PBSMT 缓冲液中孵育 30 min,余下步骤与 1.3.3 节所述步骤相同。对数据进行处理分析,确定线性方程、检测限度和线性范围。

1.3.6 特异性验证

在优化后的最佳参数条件下,对 Ara h1、花生粗提蛋白、另一种过敏原蛋白 β -乳球蛋白(β -lg)以及花生中存在的营养物质苯丙氨酸(Phe)、葡萄糖(Glu)进行特异性检测。首先对花生粗提蛋白进行提取,将花生去壳以除去红色外壳,用液氮研磨成粉末;称量 10 g 花生粉末并添加 100 mL 丙酮溶液,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 温度下置于磁力搅拌器上搅拌 2 h 进行脱脂;4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷离心机,8 000 r/min 离心 30 min,除去上清液,将所得沉淀继续重复脱脂 2 次;将所得沉淀置于通风橱内吹干,得到脱脂花生粉末;将 1 g 脱脂花生粉与 10 mL 蛋白浸提液混合,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下磁力搅拌 12 h,将上清液在 4 $^{\circ}\text{C}$ 1 000 r/min 下离心 30 min 后使用。将 10 $\mu\text{mol/L}$ 不同靶标 5 μL 和 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 环状核酸适体 2 μL

在 20 μL 1 $\times$ PBSMT 体系中孵育 30 min,余下步骤与 1.3.3 节中所述步骤相同,以检测 Ara h1 所得的荧光浓度作为对照(相对荧光强度设为 100%),比较不同靶标和 Ara h1 的相对荧光强度的百分比,确定该荧光传感器的特异性。

1.3.7 实际样品分析

为验证构建的传感体系在检测复杂食品基质中的准确性和可行性,本文分别在饼干样品基质和牛奶样品基质中进行了加标回收实验。首先,对饼干和牛奶样品进行预处理,对购买的饼干进行研磨,使饼干样品均质化,称取 1 g 该样品,并与 20 mL 的 1 $\times$ PBSMT 缓冲液混合后在 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中孵育 15 min;然后将溶液以 4 000 r/min 离心 5 min 以收集上清液,再通过具有 0.2 μm 直径孔的过滤注射器过滤后备用。将牛奶样品在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下加热 30 min,然后以 8 000 r/min 离心 20 min,并在冰浴中冷却 15 min;然后将悬浮液用 2 mol/L HCl 酸化至 pH 值为 4.6,静置 20 min;将酸化的悬浮液进一步以 8 000 r/min 离心 20 min 以沉淀酪蛋白;收集上清液并用 0.2 mm 聚碳酸酯膜过滤后用 1 mol/L NaOH 进行中和并备用。将获得的 2 种食品基质用于加标不同浓度的 Ara h1 进行回收率测定,选取检测范

围内的中、高、低 3 个浓度进行加标检测,加标浓度分别为 0.20、0.60、1.40 $\mu\text{mol/L}$ 。通过 1.3.3 节的 Ara h1 检测方法和 1.3.5 节建立线性方程方法对 Ara h1 进行定量检测分析,验证该荧光传感器在实际样品中的实用性。

2 结果与分析

2.1 检测原理

检测 Ara h1 的荧光传感器原理示意图如图 1 所示。当样品中存在 Ara h1 及其特异性靶向环状核酸适体时,两者会特异性结合形成复合物,该复合物无法被 MGO 吸附;磁性分离去除 MGO 后,通过加热上清使 Ara h1 变性及其环状核酸适体分离,上清中存在的环状核酸适体即可在 RCA 引物、dNTP 以及 phi29 DNA 聚合酶存在的条件下发生 RCA 扩增反应,产生一条长的单链 DNA 产物,使检测信号放大,加入的 Sybr Gold 染料与 RCA 产物结合,可产生强烈的荧光信号。当样品中不含 Ara h1 时,检测体系中存在的 Ara h1 环状核酸适体可被 MGO 吸附完全,此时 RCA 无法启动,加入 Sybr Gold 染料无法产生荧光信号。因此,可通过监测荧光信号的变化来检测 Ara h1。

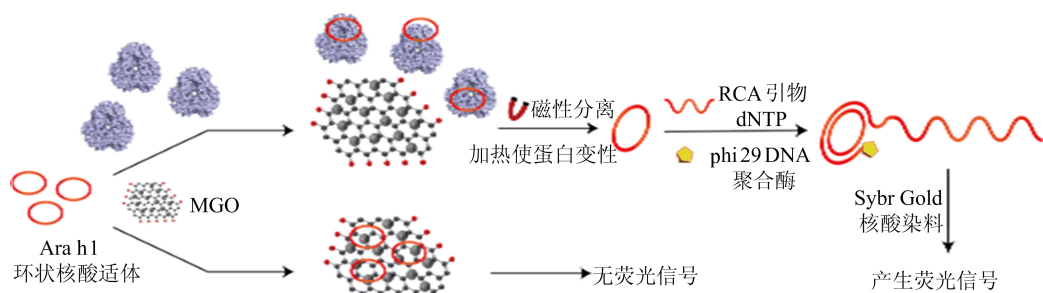


图1 环状核酸适体荧光生物传感器检测原理示意图

2.2 MGO 用量的优化

体系中加入不同量 MGO 后的相对荧光强度如图 2 所示。

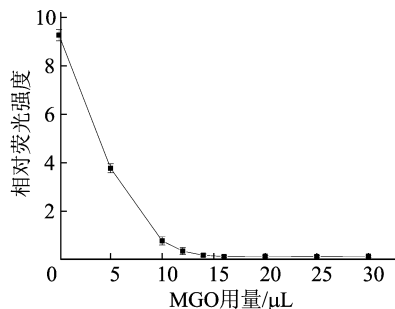


图2 加入不同量 MGO 后体系的相对荧光强度

从图 2 可以看出:当体系中不存在 MGO 时,体系的相对荧光强度处于一个较强的状态;当体系中逐渐加入 MGO 时,相对荧光强度随着 MGO 量的增大而降低,直至趋于一个稳定的平台期;当加入 MGO 的体积为 12 μL 时,体系的相对荧光强度处于一个稳定值,下降幅度约为 97.03%,说明此时适体基本已经被 MGO 吸附;若体系中加入过多 MGO,则会导致检测压力增大,使得环状核酸适体和靶标结合形成的复合物分离,更多环状核酸适体与 MGO 结合,从而影响检测的灵敏度。因此,MGO 的最佳用量为 12 μL ,此时环状核酸适体刚好可被吸附完全。

2.3 Ara h1 定量检测结果及标准曲线

为了验证基于环状核酸适体和 MGO 平台的无标记快速检测花生过敏原 Ara h1 的荧光传感器的灵敏性。本文在优化的实验参数基础上,考察 Ara h1 浓度在 0.02~1.70 $\mu\text{mol/L}$ 范围内变化时对荧光传感体系的影响,如图 3 所示。

从图 3 可以看出,当体系中 Ara h1 浓度较低时,相对荧光强度也较低,随着 Ara h1 的浓度不断增加,体系的相对荧光强度也不断增加。当 Ara h1 浓度从 0.02 $\mu\text{mol/L}$ 变化到 1.70 $\mu\text{mol/L}$ 时,相对荧光强度与 Ara h1 浓度呈正相关,其线性方程为 $y = 6.74 + 3.66x$ ($R^2 = 0.98$),检测限度为 0.02 $\mu\text{mol/L}$ 。

综上可知,本文设计的基于环状核酸适体和 MGO 平台的无标记快速检测花生过敏原 Ara h1 的荧光传感器具有较好的信号传递机制、灵敏度以及检出限。

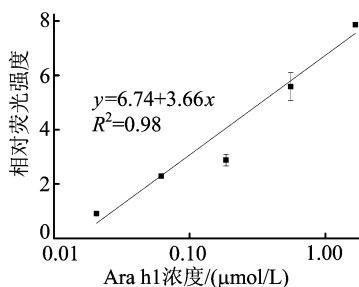


图 3 Ara h1 检测标准曲线

2.4 特异性验证分析

本文研究了所设计的荧光传感器对检测 Ara h1 的特异性和选择性。在相同浓度条件下检测 Ara h1、花生粗提蛋白、食物过敏原 β -lg 以及花生中存在的营养物质苯丙氨酸(Phe)和葡萄糖(Glu)的荧光信号,结果如图 4 所示。

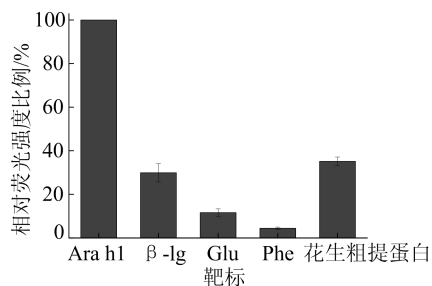


图 4 荧光传感器对不同靶标的荧光响应

从图 4 可以看出,Ara h1 环状核酸适体很难识别出非特异性靶标,其仅对 Ara h1 有较高的特

异性。因此,该传感器具有良好的特异性,可应用于实际样品的检测。

2.5 在实际样品中的检测应用

为了验证所构建荧光传感器的实际应用能力,选择饼干和牛奶基质作为实际样品,向其中加入不同终浓度(0.20、0.60、1.40 $\mu\text{mol/L}$)的 Ara h1 进行加标回收实验,每组实验重复 3 次,结果见表 2 所列,可以看出,测定的回收率在 90.00%~106.67%之间,相对标准偏差(relative standard deviation,RSD)不超过 10%。表明该传感器具有较好的准确度和精密度,可应用于实际样品中 Ara h1 的检测分析。

表 2 实际样品中 Ara h1 的检测结果

实际样品	Ara h1 浓度/($\mu\text{mol/L}$)		回收率/ %	RSD/ %
	加标值	检测值		
饼干	0.20	0.19	95.00	8.78
	0.60	0.64	106.67	2.14
	1.40	1.37	97.86	3.12
牛奶	0.20	0.18	90.00	8.42
	0.60	0.58	96.67	3.94
	1.40	1.34	95.71	1.80

3 结 论

本文利用环状核酸适体特殊的环状结构特征,将其作为靶标识别元件和 RCA 的扩增模板,MGO 作为分离介质降低背景信号,结合 Sybr Gold 核酸染料增强荧光信号的特点进行信号放大,设计环状核酸适体荧光传感器,以实现 Ara h1 的检测。该荧光传感器无需复杂化学标记,且灵敏度高、选择性强、操作简单,检测线性范围可达 0.02~1.70 $\mu\text{mol/L}$,且检测限低至 0.02 $\mu\text{mol/L}$ 。该荧光传感器成功用于牛奶样品和饼干样品的分析检测,可为食物过敏原现场快速检测提供参考,有望在未来用于更多过敏原的准确检测。

[参 考 文 献]

- [1] Melinte G, Hosu O, Cristea C, et al. Ara H1 peanut allergen detection using a labelled electrochemical aptasensor based on GO-COOH @ bimetallic composite platform[J]. Food Chemistry, 2023, 400: 134074.
- [2] Kleber-Janke T, Cramer R, Appenzeller U, et al. Selective cloning of peanut allergens, including profilin and 2S albumins, by phage display technology[J]. International Archives of Allergy and Immunology, 1999, 119(4): 265-274.

(下转第 975 页)

- 270-275.
- [8] 许后磊,舒德伟,唐季,等. 大体积混凝土入仓温度控制及水管冷却优化技术研究[J]. 水利水电技术(中英文),2024,55(增刊1):144-150.
- [9] 张超,常晓林,刘杏红. 大体积混凝土施工期冷却水管埋设形式的优化[J]. 天津大学学报(自然科学与工程技术版),2014,47(3):276-282.
- [10] 许继刚,王振红,汪娟,等. 大坝混凝土通水冷却方式和表面保温力度研究[J]. 人民黄河,2020,42(10):134-141.
- [11] 李硕,李同春,孙永明,等. 三洋港水闸底板水管冷却温控措施优化研究[J]. 水利水电技术,2015,46(3):65-69.
- [12] 陈渴鑫,田斌,陈博夫,等. 大体积混凝土冷却水管优化研究[J]. 三峡大学学报(自然科学版),2019,41(2):31-34.
- [13] 刘杏红,马刚,常晓林,等. 基于热-流耦合精细算法的大体积混凝土水管冷却数值模拟[J]. 工程力学,2012,29(8):159-164.
- [14] 傅少君,韩燕华. 热学参数的时间演变对混凝土温度场影响分析[J]. 武汉大学学报(工学版),2017,50(增刊1):347-351.
- [15] 杨婷婷. 基于遗传算法的碾压混凝土坝温度场反分析[D]. 西安:西安理工大学,2010:38-40.
- [16] Reinhardt H W, Blaauwendraad J, Jongendijk J. Temperature development in concrete structures taking account of state dependent properties [C]//RILEM International Conference of Concrete at Early Ages. Paris: [s. n.], 1982:211-218.
- [17] 庞超明,黄弘. 试验方案优化设计与数据分析[M]. 南京:东南大学出版社,2018:37-48.
- [18] 张尧. 水闸施工期温度场及多参数组合下水管冷却效果模拟研究[D]. 合肥:合肥工业大学,2016:47-64.
- [19] 陈伟,张燎军,卢斌,等. 大型泵站混凝土底板冷却水管布置方案研究[J]. 水电能源科学,2012,30(1):170-173,212.
- [20] 张玉平,张亚昕,李传习. 某桥支墩基础大体积混凝土温控及参数分析[J]. 交通科学与工程,2019,35(2):51-57.
- [21] GB 50496—2018 大体积混凝土施工标准[S].

(责任编辑 吴 亮)

(上接第 928 页)

- [3] Shi Y, Wang M, Ding Y, et al. Effects of Maillard reaction on structural modification and potential allergenicity of peanut 7S globulin (Ara h1)[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture,2020,100(15):5617-5626.
- [4] Hnasko R M, Lin A V, Mcgarvey J A, et al. Sensitive and selective detection of peanut allergen Ara h1 by ELISA and lateral flow immunoassay [J]. Food Chemistry, 2022, 396:133657.
- [5] Hu Y, Lin J, Peng L, et al. Nanobody-based electrochemical immunoassay for sensitive detection of peanut allergen Ara h1[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(19):7535-7545.
- [6] Xu S, Ji X, Xu W, et al. Surface-enhanced Raman scattering studies on immunoassay[J]. Journal of Biomedical Optics, 2005,10(3):031112.
- [7] Song Y, Li W, Xu H. Recent advances and trends in aptasensors for sensitive detection of foodborne pathogens in various foods [J]. Trends in Analytical Chemistry, 2023, 167:117268.
- [8] 雷雨燕,李晓晖,刘义,等. 基于核酸适配体的生物标志物检测方法研究进展[J]. 化学通报,2024,87(1):36-43.
- [9] 经男男,王静,汤新景. 环状寡聚核苷酸的研究进展[J]. 中国科学:化学,2018,48(11):1293-1306.
- [10] Mohsen M G, Kool E T. The discovery of rolling circle amplification and rolling circle transcription[J]. Accounts of Chemical Research,2016,49:2540-2550.
- [11] Gupta R, Singh V, Sarawagi N, et al. Salmonella typhimurium detection and ablation using OmpD specific aptamer with non-magnetic and magnetic graphene oxide [J]. Biosensors & Bioelectronics,2023,234:115354.
- [12] 叶华,刘洪顺,俞玥,等. 利用氧化石墨烯纳米片构建黄曲霉毒素 B1 荧光快速检测方法[J]. 食品研究与开发,2022,43(16):127-132.
- [13] Guo Z, Tian J, Cui C, et al. A label-free aptasensor for turn-on fluorescent detection of ochratoxin A based on SYBR Gold and single walled carbon nanohorns[J]. Food Control,2021,123:107741.
- [14] Lv L, Li D, Liu R, et al. Label-free aptasensor for ochratoxin A detection using SYBR Gold as a probe[J]. Sensors and Actuators B:Chemical,2017,246:647-652.
- [15] Mao Y, Liu M, Tram K, et al. Optimal DNA templates for rolling circle amplification revealed by in vitro selection [J]. Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany), 2015,21(22):8069-8074.
- [16] He Y, Yi C, Zhang X, et al. Magnetic graphene oxide: synthesis approaches, physicochemical characteristics, and biomedical applications[J]. Trends in Analytical Chemistry, 2021,136:116191.

(责任编辑 闫杏丽)