

doi: 10.12452/j.fxcxb.26020602

基于硫黄素T竞争置换的免标记荧光适配体传感器 用于肝毒性千里光碱快速检测

陈培瑶¹, 谢林惠¹, 谢杨^{1,2}, 龚婷¹, 罗莹萍^{1*}

(1. 川北医学院药学院, 四川南充 637000; 2. 四川尚锐分析检测有限公司, 四川成都 610000)

摘要: 肝毒性千里光碱(SEN)的快速检测对食品安全与公共卫生至关重要。该研究基于前期筛选获得的SEN特异性核酸适配体, 构建了一种新型、免标记荧光适配体传感器。其设计核心在于利用硫黄素T(ThT)与适配体的特异性结合产生强荧光信号, 当靶标SEN存在时, 可竞争性置换ThT, 导致荧光显著降低(“信号关闭”模式)。该传感器具有优异的SEN筛查能力, 检出限低至40 nmol/L, 样本亦可在蓝光照射下直接观察, 且特异性高。在蜂蜜实际样本中, 该方法仍保持良好的线性响应(0~10 μmol/L, $r^2=0.98$), 检出限为414 nmol/L, 加标回收率为99.2%~103%, 相对标准偏差低于3.0%, 证实了其在复杂基质中应用的准确性与可靠性。该研究发展了一种灵敏度高、特异性强、操作简便的SEN检测新方法, 为食品及中药材中吡咯里西啶类生物毒素的现场快速筛查提供了具有潜力的技术平台。

关键词: 千里光碱; 硫黄素T; 荧光传感器; 核酸适配体

中图分类号: O657.3; O626.413 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)06-0001-07

A Label-free Fluorescent Aptasensor Based on Competitive Displacement of Thioflavin T for Rapid Detection of Hepatotoxic Senecionine

CHEN Pei-yao¹, XIE Lin-hui¹, XIE Yang^{1,2}, GONG Ting¹, LUO Ying-ping^{1*}

(1. Department of Pharmacy, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, China; 2. Sichuan Shangrui Analysis and Testing Co., Ltd., Chengdu 610000, China)

Abstract: The rapid detection of hepatotoxic senecionine (SEN) is crucial for food safety and public health. In this study, a novel, label-free fluorescent aptasensor was developed based on a previously selected SEN-specific DNA aptamer. The core design principle relied on the strong fluorescence signal generated by the specific binding between thioflavin T (ThT) and the aptamer. In the presence of the target, SEN competitively displaced ThT from the ThT-aptamer complex, resulting in a significant fluorescence decrease (“signal-off” mode). The demonstrated sensor exhibited excellent screening capability for SEN, with a detection limit as low as 40 nmol/L, and samples could be directly observed under blue light irradiation. The sensor demonstrated high specificity. In actual honey samples, the method still maintained a good linear response (0–10 μmol/L, $r^2=0.98$), with a detection limit of 414 nmol/L. Spiked recoveries ranged from 99.2% to 103%, and the relative standard deviation was below 3.0%, confirming its accuracy and reliability in complex matrices. This study presents a new method for SEN detection with high sensitivity, strong specificity, and simple operation, offering a promising technological platform for the on-site rapid screening of pyrrolizidine alkaloid biotoxins in food and herbal medicines.

Key words: senecionine; thioflavin T; fluorescent probe; aptamer

千里光碱(SEN)作为一种典型的吡咯里西啶生物碱, 是广泛存在于草药、茶叶、牛奶、蜂蜜等中的一类天然植物毒素^[1-2]。其强肝毒性和潜在致癌性已在世界范围内先后多次引起大规模中毒事件, 对食品药品安全和公共健康构成严重威胁^[3-5]。由于缺乏特异性的解毒制剂, 目前严格控制SEN的摄入仍

收稿日期: 2026-02-06; 修回日期: 2026-04-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82104116)

* 通讯作者: 罗莹萍, 博士, 副教授, 研究方向: SELEX生物技术与分子探针, E-mail: lyiping@163.com

是降低其中毒的有效手段^[6-7]。然而,千里光碱在中药材、食品及环境中残留的痕量检测面临严峻挑战:千里光碱结构上无生色团,紫外响应弱^[8],传统方法以色谱-质谱联用^[9-11]为主,这种方法虽然准确,但高度依赖精密的仪器设备以及专业的操作,难以实现基层的现场快速筛查;基于抗原-抗体反应的免疫分析法^[12]及电化学发光法^[13]虽较为快捷,但针对千里光碱这类毒性小分子,其抗体制备周期长、批次差异大且易受复杂基质干扰。因此,开发高灵敏、快速响应、适用于复杂基质的千里光碱检测新策略,对保障公共健康安全及中药质量控制具有重要意义。

核酸适配体作为一种新型的“化学抗体”,因其高亲和力、高特异性、易合成、稳定性高、可针对小分子进行体外筛选等优势,为小分子毒素快检传感器的构建提供了新的契机^[14-16]。荧光检测法^[17-18]因灵敏度高、操作简便等优势被广泛应用于核酸适配体传感器的构建。传统的适配体荧光传感策略^[19-21]常依赖于复杂的核酸标记或传感器组装过程。与之相比,基于荧光染料与特定核酸结构(如G-四链体)特异性结合的“免标记”策略,因设计简单、成本低廉而显示出独特优势^[22-24]。硫黄素T(ThT)是一种经典的G-四链体荧光染料,其与G-四链体结构或具有适宜G碱基分布的序列结合后荧光可显著增强^[25-27]。这一特性使之成为构建免标记信号开关型传感器的理想报告分子。此外,本课题组前期通过指数富集的配体系统进化技术(SELEX)在体外成功筛选到的SEN适配体是一段富含G的序列,这为其构建基于ThT的快速、免标记核酸适配体荧光传感器奠定了物质基础^[28]。因此,本研究利用ThT与千里光碱适配体的相互作用,设计了一种基于硫黄素T竞争置换的免标记荧光适配体传感器,用于肝毒性千里光碱的快速检测,有望为千里光碱的高效监控提供一种适用于现场快检的工具。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Nano Drop 2000型超微量核酸蛋白检测仪(Thermo Fisher Scientific公司);FL 7100型荧光分光光度计(日立高新技术(上海)国际贸易有限公司);石英荧光比色皿(宜兴奥锐拓光学仪器有限公司),XK-400型医用离心机(手掌氏)(江苏新康医疗器械有限公司)。

千里光碱(SEN)购自成都普思生物科技股份有限公司;氯化钠(NaCl)、氯化镁(MgCl₂)、吐温-20(Tween-20)、二甲基亚砜(DMSO)、甲醇、硫黄素T(ThT)、绿原酸(CGA)、奎宁(QUI)、苦参碱(MAT)、咖啡因(CAF)、罗拉西坦(ROL)、款冬碱(TUS)和7A-双稠吡咯啉-乙酸(AA)购自上海麦克林生化科技股份有限公司;蜂蜜样品购自当地超市;适配体序列(Apt)由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,具体序列为5'-CTTACGACGGCATGCTGGTCGGGTAGGGAATTTTGGCAGTCGTAAG-3'。

1.2 实验方法

将1 μmol/L的Apt加入缓冲溶液(包含20 mmol/L NaCl、0.01% Tween-20、20 mmol/L Tris-HCl, pH=7.4、0.5 mmol/L MgCl₂)中,在95 °C条件下加热5 min,室温下冷却30 min,再加入终浓度为50 μmol/L ThT于30 °C条件下孵育30 min,最后加入SEN在30 °C条件下孵育30 min。使用荧光分光光度计测定荧光强度(激发波长425 nm,发射波长450~600 nm),收集492 nm处的荧光值,计算 F_0-F 值,其中 F_0 为对照组所测荧光强度, F 为实验组所测荧光强度。

2 结果与讨论

2.1 适配体荧光传感器的检测机制

课题组前期通过SELEX技术筛选获得的SEN特异性适配体(Apt)为一段富含G碱基的序列,可与ThT结合,亲和力为(0.55±0.34) μmol/L(图1A),低于Apt与SEN的结合亲和力^[28](0.24±0.13) μmol/L。因此,推测该适配体可通过和ThT结合增强其荧光信号(“荧光信号开启”);当靶标SEN存在时,由于其与Apt的结合亲和力更强,从而竞争性地使ThT从适配体结合腔中置换出来,导致体系荧光信号急剧降低(“荧光信号关闭”)(图1B)。为进一步证实这一假设,设置了不同的对照组。结果如图1C所示,ThT本身在溶液中的荧光强度最弱(蓝色线)。但当其与Apt结合后,荧光强度显著上升(红色线),说明ThT可以与SEN适配体结合,并进一步增强其荧光。当在ThT+Apt溶液中加入SEN后,体系的荧光强度明显下降(黑色线),这与提出的荧光适配体传感检测机制一致,充分证明了基于ThT竞争

置换的免标记荧光适配体传感器检测 SEN 的可行性。该策略无需对适配体或染料进行任何化学修饰, 实现了真正意义上的“免标记”检测。

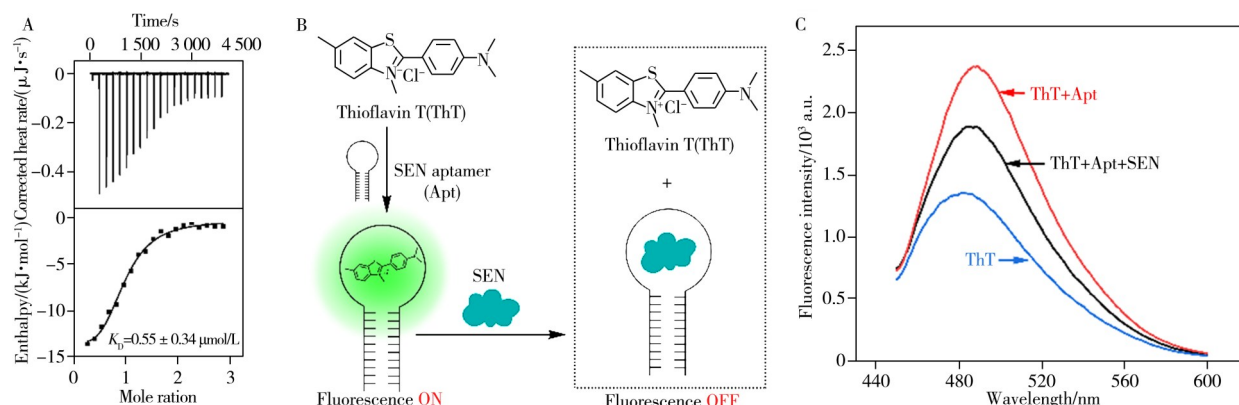


图1 APT与ThT的结合亲和力(A), SEN荧光检测传感器原理图(B); 不同样品(ThT、ThT+Apt及ThT+Apt+SEN)的荧光光谱(C)

Fig. 1 The binding affinities between Apt and ThT(A); schematic of SEN fluorescence detection sensor(B); the fluorescence spectra of different samples including ThT alone, ThT+Apt and ThT+Apt+SEN(C)

2.2 荧光适配体传感组装比例的优化

基于上述竞争置换检测机制可知, 本研究构建的荧光适配体传感器的检测性能高度依赖ThT和Apt的浓度配比。为优化该比例, 首先通过等摩尔连续变化法绘制了ThT与Apt的Job-plot曲线(图2A)。结果显示, 荧光信号变化值($F_0 - F$)随ThT与Apt摩尔比的增加呈先上升后下降的趋势, 经线性拟合计算, 两条趋势线的交点对应的理论最优比例为32:1。为验证该理论值的实际性能, 进一步选取其邻近比例(20:1、30:1、32:1、50:1)进行对比实验(图2B)。结果表明, 当ThT与Apt浓度比例为30:1时, 体系获得的荧光信号变化值最高, 检测灵敏度最优。值得注意的是, 该比例是信号响应最优比例而非结合化学计量比。因此, 本研究最终确定ThT:Apt的最优浓度为30:1, 并在此基础上开展后续实验。

2.3 实验条件的优化

为了获得更好的荧光检测性能, 对关键实验条件进行优化。考虑到Apt与靶标的结合往往需要 Mg^{2+} 参与^[29], 以及孵育温度对荧光信号值的影响, 本研究重点对 Mg^{2+} 浓度和孵育温度进行优化。结果如图3所示, Mg^{2+} 最佳浓度为 $0.5 \mu\text{mol/L}$, 与课题组前期SEN适配体筛选所用浓度一致, 进一步说明该浓度下靶标与Apt的结合能力最强。此外, 随着温度的增加, 体系对SEN的响应能力(荧光变化值)逐渐增加, 当温度为 30°C 时, 体系的荧光信号响应最强(图3B), 此后, 随着温度进一步增加至 37°C , 体系荧光变化值呈下降趋势。因此, 选取 30°C 作为最佳实验温度。

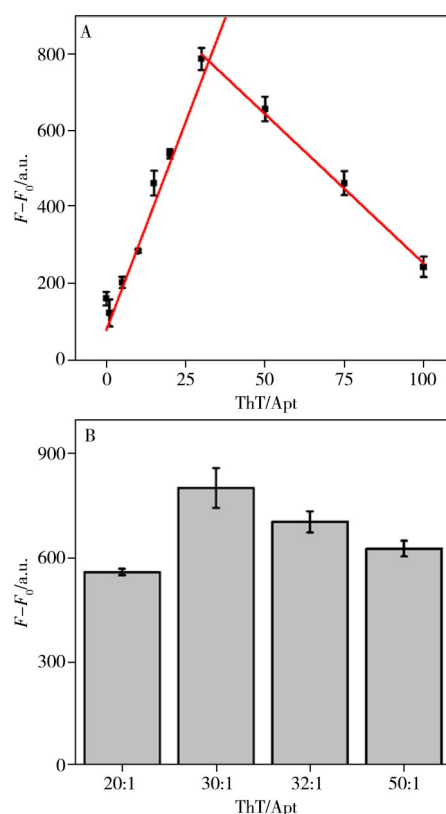


图2 ThT与Apt的Job-plot曲线(A)及不同ThT与Apt浓度比例下的荧光信号响应对比(B)
Fig. 2 Job-plot curve of ThT-Apt(A) and comparison of fluorescence signal responses at different concentration ratios of ThT-to-Apt(B)
error bars show the standard error of the mean from three repetitive experiments

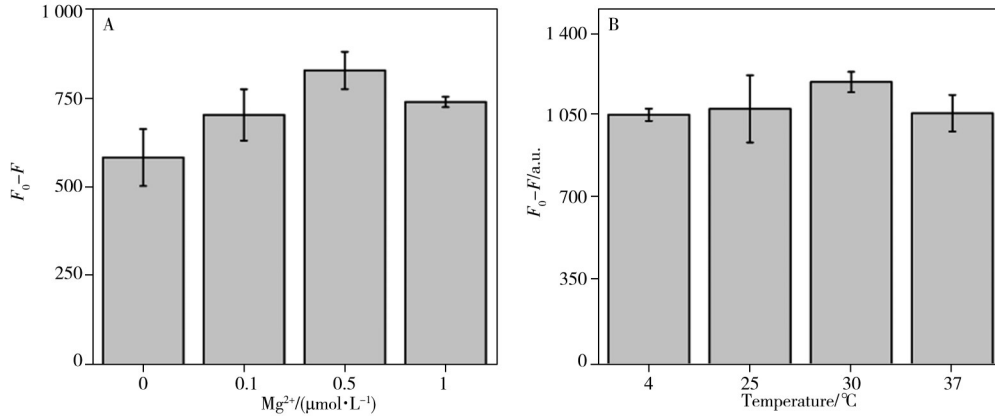


图3 Mg^{2+} 浓度(A)和孵育温度(B)对荧光信号响应的影响

Fig. 3 Effects of Mg^{2+} concentrations(A) and incubation temperature(B) on the fluorescence signal response error bars show the standard error of the mean from three repetitive experiments

2.4 SEN的定量分析

在最优的 Apt/ThT 浓度下, 加入的 SEN 与 Apt 的结合能力更强, 能够更有效地将 ThT 从 Apt-ThT 复合物中竞争性置换出来, 导致溶液荧光强度减弱(图 4A), 荧光信号变化值(F_0-F , y)随 SEN 浓度(x)增加呈单调递增趋势(图 4B), 在 SEN 浓度为 $50 \mu\text{mol/L}$ 处达到饱和。此外, 在 $0\sim 1 \mu\text{mol/L}$ 范围内, SEN 浓度($c, \mu\text{mol/L}$)与荧光信号值变化呈良好的线性关系($r^2=0.99$), 其标准曲线方程为 $(F_0-F)=506c+13.6$ (图 4B)。基于 $3\sigma/k$ 计算(σ 为空白样品的标准差, k 为校准曲线的斜率)得到本荧光适配体传感器的检出限(LOD)为 40 nmol/L , 其灵敏度较课题组前期构建的 FAM 标记型荧光检测传感器(LOD 为 $1.01 \mu\text{mol/L}$)提升约 25 倍。在蓝光照射下, 样品荧光随着 SEN 浓度的增加逐渐降低, 且在 $50 \mu\text{mol/L}$ 的 SEN 浓度下几乎完全消失, 这与仪器测定结果一致(图 4C), 同时体现了本荧光适配体传感在 SEN 现场快检中具有较好的应用前景。

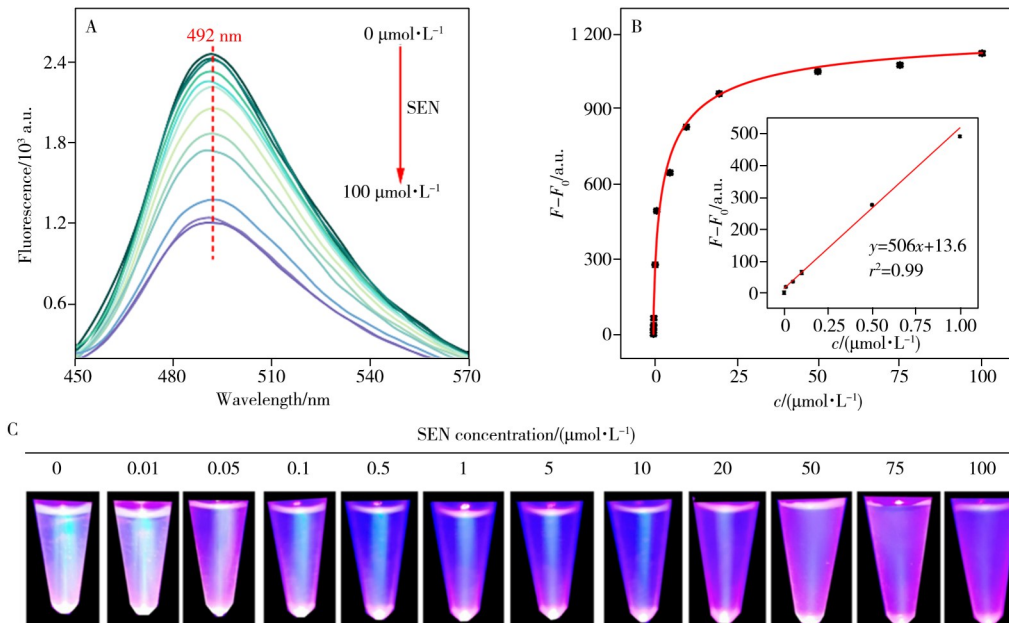


图4 425 nm 激发波长下, 荧光强度随 SEN 浓度的变化(A)及其线性关系(B); 蓝光照射下样品荧光随 SEN 浓度变化的可视化结果图(C)

Fig. 4 Variation of fluorescence intensity with SEN concentrations(A) and their linear relationship(B) at 425 nm excitation wavelength; the visualization results of sample fluorescence variation with SEN concentrations under blue light irradiation (C) error bars show the standard error of the mean from three repetitive experiments

2.5 传感器的特异性考察

采用与 SEN 相同浓度水平的绿原酸、奎宁、咖啡因、苦参碱、罗拉西坦、款冬碱和 7A-双稠吡咯

啉-乙酸作为代表性干扰物, 系统评估了本传感器对靶标的选择性。结果如图5A所示, 各干扰物所对应的荧光信号响应均维持在接近背景的较低水平。即使是母核结构相同的无毒型吡咯里西啉类生物碱(罗拉西坦、款冬碱和7A-双稠吡咯啉-乙酸, 图5B), 其响应也处于较低的水平。然而, 在添加SEN的样品中荧光信号变化值(F_0-F)显著增强。该结果证实本研究构建的荧光适配体传感器能有效区分靶标SEN与非目标干扰物。基于此优异的选择性, 该传感器有望在食品或中药材等复杂基质中实现SEN的高灵敏度、高特异性检测。

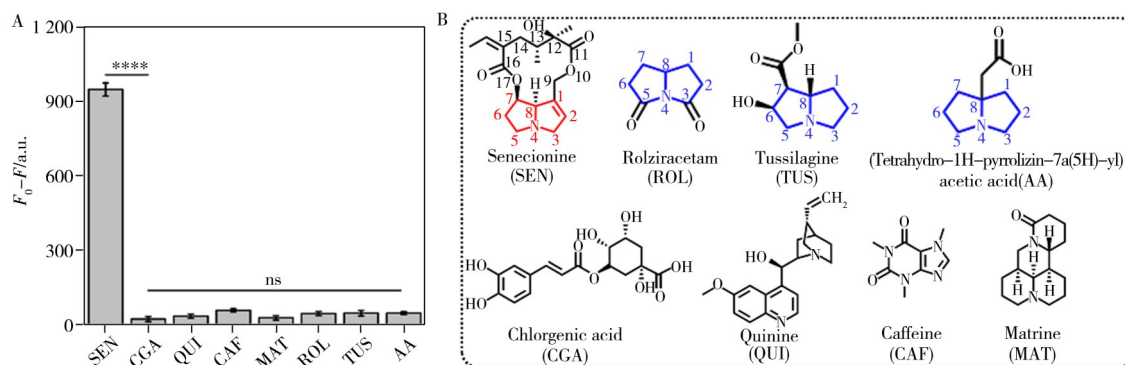


图5 免标记型荧光传感器对SEN的选择性实验(A), SEN及其干扰物的结构示意图(B)

Fig. 5 The selectivity experiment of the label free fluorescent sensor for SEN (A), structural schematic of SEN and its interferents (B)

error bars show the standard error of the mean from three repetitive experiments; * indicates a statistically significant difference between the two groups (**** $p < 0.0001$, ns: $p > 0.5$)

2.6 实际样品测定

为评估本研究设计的荧光适配体传感器在真实生物样本中的应用潜力, 以蜂蜜为复杂基质模型, 通过加标回收实验对方法性能进行系统考察。如图6A所示, 在5%的蜂蜜样本加入不同浓度的SEN标准溶液(0、0.01、0.05、0.1、0.5、1、5、10、20、50、75、100 $\mu\text{mol/L}$), 测定其荧光信号变化值并建立浓度-荧光信号变化值依赖曲线。该曲线在0~10 $\mu\text{mol/L}$ 的低浓度区间内呈良好的线性关系($r^2=0.98$), LOD为414 nmol/L(图6B), 低于欧盟法规规定的SEN在食品药材中的限量标准(约500 $\mu\text{g/kg}$)^[30]。

为进一步探究该传感器在真实样品测定中的准确性, 在5%的蜂蜜基质中分别加入1、5、10 $\mu\text{mol/L}$ 水平的SEN进行回收率测定。如表1所示, SEN在此3个加标水平下的平均回收率分别为101%、99.2%和103%, 相对标准偏差(RSD)为0.29%~2.8%。上述结果表明, 本传感器在复杂实际样本中仍具备良好的线性响应、高灵敏度与优异的准确度, 展现出较强的实用性与推广应用潜力。

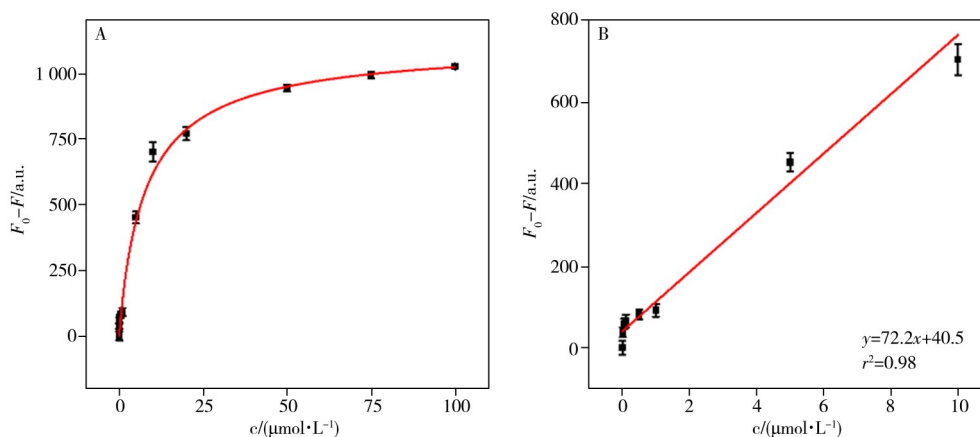


图6 蜂蜜样本在425 nm激发波长下, 荧光强度随SEN浓度的变化(A)及线性曲线(B)

Fig. 6 Variation of fluorescence intensity with SEN concentrations at an excitation wavelength of 425 nm (A) and the linear calibration curve (B) in honey samples

error bars show the standard error of the mean from three repetitive experiments

表 1 实际样品中的加标回收率($n=3$)
Table 1 Sample recovery in actual samples($n=3$)

Added/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	Found/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	Mean/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	Recovery/%	Average recovery/%	RSD/%
1	1.031 9	1.013 4	105	101	2.8
	1.045 7		103		
	0.962 6		96.3		
5	4.951 5	4.960 8	99.0	99.2	0.29
	4.979 2		99.6		
	4.951 5		99.0		
10	10.381 9	10.316 3	104	103	1.6
	10.117 7		101		
	10.450 1		105		

进一步探讨了所建方法在中药材中的实际应用。鉴于课题组筛选出的 SEN24.1 属于广谱型适配体,选择款冬花(*Farfarae Flos*)作为研究对象,并同时采用液相色谱-质谱联用法(LC-MS)对其肝毒性吡咯里西啶类生物碱含量进行测定。如表 2 所示,LC-MS 法分别以春千里光碱(SV)、千里光碱(SEN)及倒千里光碱(RET)为对照品进行定量分析,其总含量测定结果与 ThT 竞争置换适配体传感器测定结果无显著性差异($p=0.41$)。这一结果表明,所构建的 ThT 竞争置换适配体传感器在检测肝毒性吡咯里西啶类生物碱方面,与金标准 LC-MS 法具有高度一致性。此外,相较于传统的 LC-MS 法需要分步检测各标准品在生物样品中的含量,本研究设计的适配体传感器仅需一步即可获得总的肝毒性吡咯里西啶类生物碱(HPAs)含量,展现出快速、简便且易于推广的优势。特别是对食品和中药材中的此类物质进行快速筛查时,该方法具有重要的应用潜力,为相关领域的质量控制提供了高效的技术支持。

表 2 款冬花中 SEN 的检测结果

Table 2 The detection results of SEN in *Farfarae Flos*

Sample	This work	Name	LC-MS		t -test p value
	Measured total HPAs \pm SD/ $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$		Measured concentration \pm SD/ $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$	Measured total HPAs \pm SD/ $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$	
Farfarae Flos	4.71 \pm 0.33	SV	1.07 \pm 0.02	4.53 \pm 0.02	0.41
		SEN	0.11 \pm 0.001		
		RET	3.35 \pm 0.01		

2.7 不同检测方法的比较

此外,本研究基于 ThT 竞争置换策略构建的免标记荧光适配体传感器,在实用性与分析性能间取得了良好平衡(表 3)。相较于标记型(如 FAM 荧光传感器)和抗体依赖型方法(如电化学荧光法),本方法无需标记步骤及高耗仪器,成本大大降低,同时操作简便,适用于资源受限场景(如基层医疗机构),可实现现场初筛。虽然检出限和精度与课题组前期免标记荧光适配体酶传感器相当^[15],但前期方法需要孵育导致整个检测过程耗时较长(约 1.5 h)。这在一定程度上限制了其在现场快速检测中的应用。未来课题组将通过进一步优化,重点缩短检测时间,以更好地满足实际应用场景对高效、快速检测的需求。

表 3 其他检测方法的比较

Table 3 Comparison of other assay methods

Method	LOD	Naked-eye	Label-free	On-site usability	Ref.
UHPLC-MS/MS	0.015~0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$	YES	YES	NO	[31]
Antibody-based electrochemiluminescence	20~70 nmol/L	NO	NO	YES	[32]
Antibody-based fluorescent lateral flow immunoassay	0.083 $\mu\text{g}/\text{kg}$	NO	NO	NO	[33]
LC-MS/MS	0.013 4~0.030 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$	NO	NO	NO	[12]
FAM-labeled fluorescence	1.01 $\mu\text{mol}/\text{L}$	NO	NO	NO	[28]
Fluorescent aptazymes	43 nmol/L	YES	YES	YES	[15]
ThT label-free fluorescence	40 nmol/L	YES	YES	YES	This work

3 结论

本研究成功构建了一种基于 ThT 竞争置换策略的免标记荧光适配体传感器,用于检测肝毒性千里光碱。该传感体系通过系统优化 ThT 与 Apt 的结合比例(确定最优摩尔比为 30:1)、 Mg^{2+} 浓度(0.5 $\mu\text{mol}/\text{L}$)以及孵育温度(30 $^{\circ}\text{C}$),实现了对 SEN 的高灵敏度(缓冲液中 LOD 为 40 nmol/L、蜂蜜介质中 LOD 为 414 nmol/L)、高特异性检测。其作用机制在于,SEN 可竞争性地将 ThT 从预先形成的 Apt-ThT 复合

物中置换出来, 导致体系荧光信号显著降低(“信号关闭”模式)。在复杂的蜂蜜基质中, 所构建的荧光适配体传感器具有较高的准确性与可靠性, 回收率为99.2%~103%, RSD低于3.0%, 且对阳性样品的检测结果与LC-MS方法具有良好的一致性。本研究不仅为SEN的检测提供了一种新型、高效且经济的传感平台, 更充分证实了Apt-ThT竞争置换策略在发展适用于复杂基质中小分子毒素快速筛查方法方面的巨大应用潜力。

参考文献:

- [1] Jiao W, Zhu L, Li Q, Shi TX, Zhang Z, Wu X, Yang T, Hua R, Cao H. *J. Agric. Food Chem.*, **2023**, 71(48): 19045–19053.
- [2] He Y, Long Y, Zhang C, Ma J, Ke C, Tang C, Ye Y, Lin G. *J. Hazard. Mater.*, 2022, 424(Pt D): 127706.
- [3] Ghallab A. *Arch. Toxicol.*, **2019**, 93(12): 3639–3640.
- [4] Yang X, Wang X, Chen Y, Wang Z, Zhang D, Wang N, Wang Z, Xiong A, Li L, Yang L. *Analyst*, **2025**, 150(9): 1929–1938.
- [5] He X, Xia Q, Bryant M S, Fu P P. *J. Environ. Sci. Health C*, **2025**, 43(1): 117–132.
- [6] Jiang K Y, Ye X L, Xiong F, Zhang Y, Yang L, Xiong A Z, Wang Z T. *Acta Pharm. Sin. B*(姜凯元, 叶铨玲, 熊芬, 张祎, 杨莉, 熊爱珍, 王峥涛. *药学学报*), **2021**, 56(3): 823–830.
- [7] Chen Y, Jia X L, Xiong A Z, Wang C H, Yang L, Wang Z T. *Acta Pharm. Sin. B*(陈岩, 贾夏丽, 熊爱珍, 王长虹, 杨莉, 王峥涛. *药学学报*), **2022**, 57(12): 3626–3633.
- [8] Wan J Y, Feng C, Chen Y H, Xu Q, Lin Y J, Le S Y, Lu D S, Qiu X L. *J. Instrum. Anal.* (万静宜, 冯超, 陈宇航, 徐骞, 林元杰, 乐孙阳, 卢大胜, 邱歆磊. *分析测试学报*), **2023**, 42(10): 1351–1356.
- [9] Wang Y, Li Y, Cang S, Cai Q, Xu H, Wang Y, Liu R, Xu H, Li Q. *J. Mass Spectrom.*, **2020**, 55(10): e4532.
- [10] Mudge E M, Jones A M, Brown P N. *Food Addit. Contam A*, **2015**, 32(12): 2068–2074.
- [11] Kowalczyk E, Kwiatek K. *Food Addit. Contam A*, **2017**, 34(12): 853–863.
- [12] Zheng P, Peng T, Wang J, Zhang J, Wang Z, Zhang Y, Ren Z, Wang S, Jiang H. *Microchim. Acta*, **2021**, 188(1): 11.
- [13] Zheng H, Peng T, Wang T, Zhang J, Wang Z, Zhang Y, Ren Z, Wang S, Jiang H. *Microchim. Acta*, **2021**, 188(1): 11.
- [14] Fang P, Wang S, Mao Y, Liu C H. *Food Res. Dev.* (方鹏, 王帅, 毛瑜, 刘长虹. *食品研究与开发*), **2024**, 45(3): 174–180.
- [15] Zhang J, Xie L, Lai T, Chen P, Gong T, Tang J, Qian X, Su R, Luo Y. *Anal. Chem.*, **2025**, 97(45): 25257–25264.
- [16] Lai T, Sun Q, Lv Z, Xie L, Niu S, Zhang J, Tang J, Li S, Luo Y. *Sens. Actuators B*, **2025**, 424: 136880.
- [17] Li Q, Wang J, Zhang Z, Xu Y, Fu Y. *Spectrochim. Acta A*, **2025**, 339: 126278.
- [18] Zhang H, Wang X, Li H, Zhao L. *Food Chem.*, 2025, 492(Pt 3): 145588.
- [19] Chen L, Yuan A, Zhang D, Xie W, Peng H. *Anal. Methods*, **2024**, 16(37): 6356–6363.
- [20] Cheng X, Yao P, Jin C, Long J, Yan X, Zhao X, Wei T, Liu Q, Chen Y, Su H, Xuan H, Bian S, Li J, Liu W, Zheng Z, Zhang L. *Nat. Biomed. Eng.*, **2025**. doi: 10.1038/s41551-025-01503-8.
- [21] Ettayri K, Gu Z, Yang H, Chen Y, Ma M, Wang C, Long L, Wang K, Qian J. *Int. J. Biol. Macromol.*, **2025**, 327(Pt 1): 147398.
- [22] Guo L M, Yang Y Y, Li Y, Ren L, Wang Y L, Liu J Q. *Chin. Tradit. Pat. Med.* (郭丽敏, 杨圆圆, 李赟, 任蕾, 王颖莉, 刘计权. *中成药*), **2025**, 47(5): 1746–1750.
- [23] Yang Y Y, Deng Z R, Gao S C, Guo L M. *Chin. J. Chin. Mater. Med.* (杨圆圆, 邓峥嵘, 高仕超, 郭丽敏. *中国中药杂志*), **2024**, 49(7): 1818–1825.
- [24] Li Y N, Wang J P. *Chin. J. Anal. Lab.* (李亚楠, 王俊平. *分析试验室*), **2020**, 39(1): 12–16.
- [25] Li Y N, Wang J P. *Chin. J. Anal. Lab.* (李亚楠, 王俊平. *分析试验室*), **2020**, 39(3): 255–260.
- [26] Liu Y, Peng L Y, Ren Y. *J. Instrum. Anal.* (刘毅, 彭丽华, 任昀. *分析测试学报*), **2015**, 34(3): 352–356.
- [27] He X, Qi J, Yu Z H, Chen Y, Fu X L. *Chin. J. Anal. Chem.* (贺璇, 齐骥, 余子辉, 陈燕, 付秀丽. *分析化学*), **2024**, 52(8): 1094–1107.
- [28] Xie L, Chen P, Feng D, Gong T, Zhang J, Lai T, Tang J, Li S, Luo Y. *Anal. Chem.*, **2025**, 97(40): 21835–21842.
- [29] Hetzke T, Vogel M, Halbritter A J, Saha S, Suess B, Sigurdsson S T, Prisner T F. *J. Phys. Chem. Lett.*, **2023**, 14(50): 11421–11428.
- [30] Brugnerotto P, Silva B, Gonzaga L V, Costa A C O. *Food Chem.*, **2025**, 483: 144211.
- [31] Lin R, Peng J, Zhu Y, Dong S, Jiang X, Shen D, Li J, Zhu P, Mao J, Wang N, He K. *Foods*, **2025**, 14(7): 1147.
- [32] Xiao Y, Yi H, Wang G, Chen S, Li X, Wu Q, Zhang S, Deng K, He Y, Yang X. *Talanta*, **2022**, 249: 123645.
- [33] Griffin C T, Danaher M, Elliott C T, Glenn K D, Furey A. *Food Chem.*, **2013**, 136(3/4): 1577–1583.