

doi: 10.12452/j.fxcxb.24050826

基于中空金增敏的免疫层析技术用于化妆品中非法添加雌激素的检测研究

刘晓瑜¹, 何星月², 沈倩¹, 沈雁², 沈于兰¹, 陈国清^{1*}

(1. 无锡市药品安全检验检测中心, 江苏 无锡 214028; 2. 中国药科大学 药学院, 江苏 南京 211198)

摘要: 该文基于中空金增敏的免疫层析技术, 将中空金纳米粒应用于化妆品中非法添加雌激素的检测研究, 构建了一种检测化妆品中雌二醇的中空金免疫层析试纸条。优化了金标抗体标记pH值、标记抗体量、金标抗体添加量及金标垫处理液等条件。结果显示: 在最优条件下, 建立的中空金免疫层析法对雌二醇的检出限为10 ng/mL, 线性范围为0.01~10 ng/mL。该方法的检测特异性良好, 面膜液中雌二醇的加标回收率为89.0%~107%。该试纸条具有比胶体金显色法更低的检出限和较好的特异性, 且检测速度快, 适用于化妆品中雌二醇非法添加的现场大规模初筛。

关键词: 中空金; 免疫层析技术; 化妆品; 非法添加; 激素检测; 快速筛查

中图分类号: O657; TQ658 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2025)02-0294-08

Study on the Detection of Illegal Addition of Estrogen in Cosmetics Using Immunochromatography Assay Technology Based on Hollow Gold Nanoparticles

LIU Xiao-yu¹, HE Xing-yue², SHEN Qian¹, SHEN Yan², SHEN Yu-lan¹, CHEN Guo-qing^{1*}

(1. Wuxi Center for Drug Safety Control, Wuxi 214028, China; 2. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

Abstract: In this paper, immunochromatographic test strip (HGPNs-ICTS) based on hollow gold nanoparticles (HGPNs) for qualitative detection of estradiol in cosmetics was constructed. The effects of pH value, the amount of gold-labeled antibody, the addition amount of labeled antibody and the gold-labeled pad buffers were carefully investigated. The results showed that under the optimal conditions, the detection limit of estradiol was 10 ng/mL, and the linear range was 0.01–10 ng/mL. The detection specificity was good, and the recovery of estradiol was 89.0%–107%. HGPNs-ICTS has lower detection limit and better specificity than colloidal gold immunochromatographic assay (GICA), and the detection speed is fast. It is suitable for large-scale on-the-spot screening of estradiol illegally added in cosmetics.

Key words: hollow gold nanoparticles; immunochromatographic assay technology; cosmetics; illegal addition; hormones detection; rapid screening

随着生活条件的日益提高, 化妆品已从一种奢侈品转变为人们日常生活中的必需品。化妆品的功能与其成分密切相关, 但有些生产商过分地追求经济利益, 在化妆品中添加一些违禁成分, 特别是激素类成分的非法添加较为常见^[1]。市场上频现化妆品中非法添加激素类成分的乱象, 皮肤科门诊激素依赖性皮炎患者亦不断增多^[2]。现行的法定标准《化妆品安全技术规范》(2015版)^[3]中, 激素检测方法的操作要求严格、成本高, 无法开展现场快速筛查。

免疫层析法(Immunochromatographic assay), 也称侧流免疫层析(LFIA), 具有快速、成本低、使用方便、可高灵敏度定性^[4]或定量^[5]检测多种分析物等优点, 无需复杂仪器设备和专业人员, 不易受检测条件的限制^[6-7], 可以实现现场检测和大量化妆品样品的前期筛查。目前, 金纳米材料是LFIA中最常用的纳米标记材料, 具有独特的物理和化学性质, 如对特定波长光的光学吸收、具有丰富表面电子的

收稿日期: 2024-05-08; 修回日期: 2024-07-29

基金项目: 江苏省市场监督管理局科技计划项目(KJ2024068)

* 通讯作者: 陈国清, 主任药师, 研究方向: 药品、化妆品质量控制及研究, E-mail: 1003392530@qq.com

高导电性、易于用硫醇基团进行表面改性,且在纳米尺度上具有不同的形状和组成^[8]。它们的纳米尺寸属于生物分子和细胞器的典型尺寸范围。传统的胶体金免疫层析(GICA)通常使用20~40 nm的球形金纳米粒(GNPs)作为标记材料^[9],但GNPs在该粒径范围内的光信号强度不足以使其具有更强的颜色信号,抗体的捕获率不高(<5%),导致检测灵敏度不高,仅提供定性或半定量结果^[10]。近年来,为使GICA更灵敏、更准确、具有定量读取能力,并更好地适应快速即时检测(POCT)需求,研究人员做出了大量努力,提高GICA灵敏度的主要策略包括使用高灵敏度的金基纳米标记材料和信号放大策略。基于金纳米材料可调节的尺寸、形状和易于表面改性的特性,引入了一些具有更强光学和颜色信号的新型金基纳米材料作为标记纳米材料,如不同形态大小的金纳米材料(金纳米花、金纳米棒等)以及杂化金纳米材料(铂修饰的金纳米材料、金磁性纳米材料等)。这些新的金基纳米材料为化学和生物检测提供了理想的特性,例如显著的体表面积比、强SPR信号^[11],赋予的光学特性、电磁光谱可见光区域的宽吸收^[12]、精细可调的表面化学、结构的广泛兼容性和更高的胶体稳定性^[13]。目前,已开发了各种基于金纳米材料的LFIA生物传感器,具有更高的检测灵敏度和多种信号输出功能(如大量基于磁、荧光^[14]、SERS^[15]以及热信号^[16])的高灵敏LFIA体系被报道。基于金纳米材料的POCT技术的进一步发展将为现代实验室检测提供具有更高灵敏度和多路复用能力的独特分析方法。

中空金为多孔空心金纳米颗粒(HGNPs),合成过程简单,粒径在60~70 nm左右,稳定性良好;由于HGNPs具有比普通GNPs更复杂的三维结构,其总比表面积更大,使得HGNPs表面的蛋白质空间位阻降低,同时带来更多粗糙的表面结合部位,有利于提高生物分子的负载率^[17-19];此外,由于HGNPs较GNPs的摩尔消光系数(ϵ)更大,SPR效应更显著,光学信号更强,在检测领域被作为标记材料广泛用于生物传感器的制备^[20-22]。例如,Luo等^[22]将HGNPs作为标记材料用于LFIA,显示出较GNPs更强的颜色信号,视觉检出限提高25倍,可定量检测血清中低至0.14 ng/mL的C-反应蛋白,实现血清中C-反应蛋白和超敏C-反应蛋白的一步式检测。基于此,本研究将HGNPs作为LFIA中的免疫标记材料,以颜色及光密度(OD)作为输出信号,构建了一种中空金免疫层析试纸条(HGNPs-LFIA)用于定量检测化妆品中非法添加的雌激素,方法可更加简单、直观、准确地分析LFIA的结果,为化妆品快速筛查提供了新思路。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

四氯金酸三水合物(上海毕得医药科技有限公司),六水合氯化钴(麦克林生化科技股份有限公司),聚维酮K30(PVP-K30,上海源叶生物科技有限公司),硼氢化钠(南京化学试剂有限公司);牛血清白蛋白(BSA)、Proclin 300(P300)、曲拉通X-100(Sigma公司);雌二醇抗原E2-BSA(9.8 mg/mL)、鼠抗人雌二醇单克隆抗体E2-mAb(5.4 mg/mL)(上海羽朵生物科技有限公司),山羊抗小鼠IgG(5 mg/mL,杭州启泰生物技术有限公司);雌二醇(E2)、雌三醇(E3)、己烯雌酚(DES)、炔雌醚标准品购于中国食品药品检定研究院;4%羧基化乳胶微球(羧基含量90 $\mu\text{eq/g}$,上海涛宇国际贸易有限公司);样品垫、硝酸纤维素膜(NC膜)、底板、吸水纸等均购于上海杰一生物技术有限公司;其余试剂均为分析纯。

XYZ大平台三维划膜喷金仪、数控裁条机、微电脑自动斩切机(上海金标生物科技有限公司);烘箱、高速冷冻离心机(Thermo公司);微量移液器(大龙兴创实验仪器股份公司);ZR300手持式胶体金定量分析仪(武汉钟瑞生物科技有限公司);HT7700透射电子显微镜(日立科学仪器有限公司);ZS-90激光粒度分析仪(英国马尔文仪器有限公司)。

1.2 中空金的合成与表征

取100 mL超纯水于250 mL三颈烧瓶中,放入搅拌子,加入2 mL 0.05 mol/L柠檬酸钠溶液、100 μL 0.4 mol/L氯化钴溶液,进行搅拌并抽真空除去容器和溶液中的空气,加入0.4~1 mL 0.13 mmol/L硼氢化钠溶液,继续搅拌和抽真空,待溶液从无色逐渐变至深灰色后,搅拌12 min;然后通入空气并加入0.5 mL 25 mmol/L氯金酸溶液,剧烈摇晃,至溶液再次变色并保持稳定后,加入100 μL 的20% PVP-K30溶液搅拌30 min后,将上述溶液用高速冷冻离心机离心15 min(10 000 r/min, 4 $^{\circ}\text{C}$),弃去上清液,取沉淀用超纯水重新分散至2.5~3 mL,即得。观察制备得到的中空金分散液的外观,采用电子透射显

显微镜观察中空金的形貌特征,扫描中空金在400~900 nm范围内的紫外吸收光谱,并采用激光粒度分析仪测定中空金的粒径分布与Zeta电位。

1.3 免疫层析试纸条的制备

样品垫用样品垫处理液(0.2% BSA、1% 海藻糖、5% 蔗糖、0.3% PVP-K30的0.01 mol/L PBS、0.1% P300, pH 7.4)浸湿后40 °C干燥4 h,金标垫用处理液(20 mmol/L Na_3PO_4 、5% BSA、0.25%吐温-20、10% 蔗糖、0.1% P300, pH 8.5)处理后60 °C干燥2 h。将制备的雌二醇单克隆抗体标记物溶液滴加到预处理好的金标垫上,40 °C干燥20 min。取雌二醇抗原E2-BSA用0.1 mol/L、pH 7.4的PBS定容稀释至0.5 mg/mL,用划膜仪将抗原划在NC膜上,形成检测线(T线)。取山羊抗小鼠IgG抗体用0.1 mol/L、pH 7.4的PBS定容稀释至1 mg/mL,用划膜仪将抗体划在NC膜上,形成质控线(C线)。

样品垫、金标垫、NC膜和吸水垫依次首尾衔接粘贴在底板上,组装得到免疫层析试纸条。检测线上雌二醇抗原E2-BSA的用量为0.9 $\mu\text{L}/\text{cm}$,质控线上山羊抗小鼠IgG抗体的用量为0.8 $\mu\text{L}/\text{cm}$ 。

1.4 免疫层析试纸条的原理和检测过程

1.4.1 检测原理 将样品液滴加在样品孔中,在吸收垫和NC膜的毛细管作用下,样品溶液迁移到达金标结合垫时,金标抗体将被溶解,样品溶液和中空金-mAb混合后在毛细管作用下向吸水纸方向移动。当样品中没有雌二醇时,中空金-mAb被T区E2-BSA捕获,肉眼可见T区显蓝色,多余的中空金-mAb会被C区的抗体捕获从而C区显蓝色;当样品中含有雌二醇时,雌二醇与部分中空金-mAb竞争性结合从而减少了T区捕获的中空金-mAb总量,肉眼可见T区显浅蓝色甚至消线。随着样品中雌二醇浓度的增大,被捕获于T区的中空金-mAb减少,T区变淡,T区的颜色深浅与分析物浓度成反比。示意图见图1^[23]。

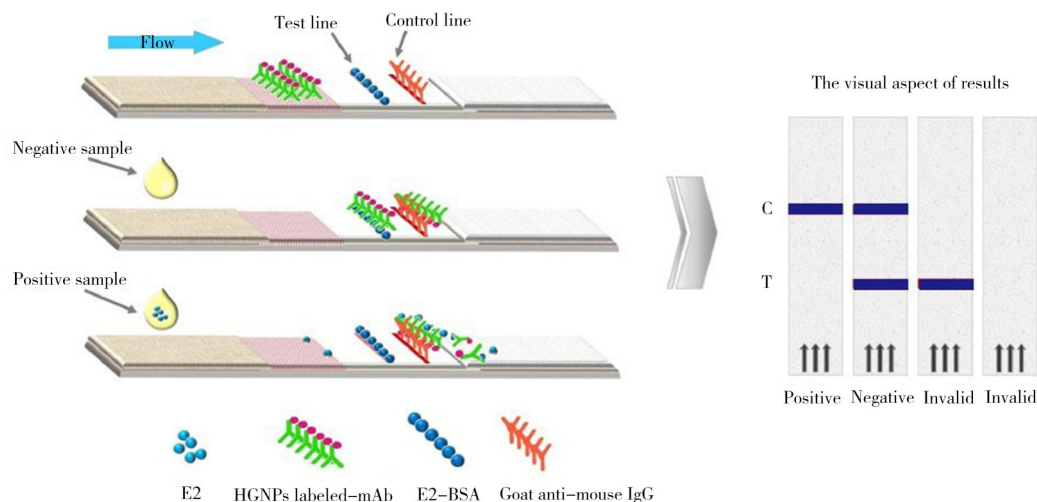


图1 基于侧流免疫层析法检测雌二醇的原理图

Fig. 1 The principle of competitive LFIA for estradiol detecting

1.4.2 检测过程 将试纸条置于在卡壳中,水平放置在桌面上。再向加样孔中加入80 μL 待测样品,然后水平静置15 min,观察试纸条T区显色结果。

1.5 金标抗体的制备

1.5.1 标记pH值的筛选 在125 μL 中空金原液中加入875 μL 超纯水制备得到中空金分散液,分别加入0.1 mol/L K_2CO_3 溶液0、1、3、5、7、9、11 μL 调节pH值。加入0.4 mg/mL的雌二醇抗体稀释液15 μL ,轻轻摇匀,孵化20 min。再加入100 μL 的10% BSA溶液封闭20 min,然后将蛋白标记的HGMPs在8 500 r/min、4 °C离心20 min。将HGMPs沉淀用50 μL 金标复溶液(3% BSA、5% 蔗糖、5% 海藻糖、0.1% P300, 0.01 mol/L Tris-HCl, pH 8.5)重新分散。

1.5.2 标记抗体量的筛选 在125 μL 中空金原液中加入875 μL 超纯水制备得到中空金分散液,用0.1 mol/L K_2CO_3 溶液调节pH至mAb的等电点附近,混匀。分别加入0.4 mg/mL的雌二醇抗体稀释液2.5、5、7.5、10、15、20、25 μL ,轻轻摇匀,孵化20 min。之后制法同“1.5.1”。

1.5.3 检测 将上述制备好的金标抗体分散液按“1.3”的方法处理, 处理好的金标垫烘干备用, 使用时将金标垫与试纸条组装在一起, 采用胶体金定量分析仪对其性能进行检测。

1.6 试纸条工艺参数的选择

1.6.1 金标抗体添加量 分别选取1、2、3、4、5 μL 金标抗体分散液滴加于金标垫上, 烘干组装备用。采用胶体金定量分析仪对其性能进行检测。

1.6.2 金标垫处理液 选取不同金标垫处理液处理的金标垫, 烘干组装备用。其中金标垫处理液分别为①20 mmol/L Na_3PO_4 、5% BSA、0.25% 吐温-20、10% 蔗糖、0.1% P300, pH 8.5; ②10 mmol/L PBS、3% BSA、0.5% 吐温-20、5% 蔗糖、5% 海藻糖、0.1% P300, pH 8.5; ③10 mmol/L PBS、3% BSA、1% 吐温-20、5% 蔗糖、5% 海藻糖、0.1% P300, pH 8.5。采用胶体金定量分析仪对其性能进行检测。

1.7 基于3种不同标记材料的试纸条的标准曲线及检出限考察

分别采用中空金、胶体金、乳胶微球标记抗体并制备雌二醇检测 LFIA 试纸条。使用无水乙醇溶液配制1 mg/mL的雌二醇标准品储备液, 以磷酸盐缓冲液(25 mmol/L PBST, pH 7.4)为溶剂, 梯度稀释得到不同质量浓度的雌二醇标准品样品溶液(0、0.01、0.05、0.1、0.5、1、5、10、25、50、100 ng/mL)。将80 μL 雌二醇标准品样品溶液滴加在处理好的样品垫上, 静置15~20 min, 肉眼观察T线显色情况进行定性分析, T线接近无色时的浓度为雌二醇的检出限, 并用胶体金定量分析仪记录C线以及T线的OD值, 以竞争抑制率 $B/B_0 (\times 100\%)$ (其中B为检测浓度下的 OD_T/OD_C ; B_0 为阴性样本的 OD_T/OD_C) 对雌二醇浓度拟合标准曲线, 定量分析基于不同标记材料的试纸条的半数抑制浓度 IC_{50} (竞争抑制率为50%时的雌二醇浓度), 通过肉眼观察以及定量分析比较3种不同试纸条的检测性能。

1.8 HG NPs-LFIA 试纸条的特异性试验

分别制备100 ng/mL的己烯雌酚、雌三醇、炔雌醚和雌二醇溶液, 各取80 μL 进行加样检测。另将己烯雌酚、雌三醇、炔雌醚作为3种干扰物质, 分别配制含0.1 ng/mL的雌二醇和每种干扰物质100 ng/mL的混合溶液, 取80 μL 进行加样检测, 对试纸条特异性进行考察。

1.9 试纸条测定面膜液中雌二醇的回收率

用25 mmol/L PBST缓冲液(pH 7.4)各配制3个浓度水平的雌二醇标准品溶液(5、100、1 000 ng/mL), 分别取1 mL, 加至精密称定的2 g面膜液样品中。对加样面膜液按以下方法进行处理, 取2 g面膜液置于10 mL量瓶中, 加入甲醇至约7 mL, 涡旋混匀, 超声(功率600 W, 频率40 kHz)15 min, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 以10 000 r/min离心8 min, 取0.2 mL上清液加至2 mL PBST缓冲液中, 选取80 μL 分别加样至中空金、胶体金标记抗体制备的雌二醇检测 LFIA 试纸条。

2 结果与讨论

2.1 中空金的表征

制得的HG NPs的外观以及透射电镜(TEM)图如图2所示。结果显示, 中空金分散液液体澄清, 颜色为深蓝色(图2A); 通过TEM图像(图2B)可以看出, 合成的中空金纳米球形貌良好, 粒径分布较均一。

HG NPs在400~900 nm范围内的紫外可见光谱扫描结果如图3A所示, 中空金纳米球在400~900 nm范围内有单一的等离子共振峰, 最大吸收波长为620 nm。通过激光粒度分析仪测定HG NPs的粒径以及Zeta电位, 结果如图3B所示, 中空金粒径为 (62.44 ± 0.25) nm, 多分散指数 $\text{PDI} = 0.181 \pm 0.012$; 电位为 (-26.1 ± 0.25) mV, 可见合成的HG NPs粒径均一稳定。

2.2 中空金标记抗体(HG NPs-mAb)的制备以及优化

2.2.1 金标抗体标记pH值和标记抗体量的优化 采用物理吸附的方式制备HG NPs-mAb, 文献表明,

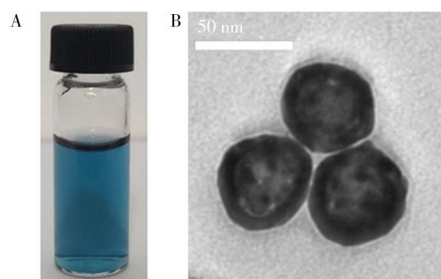


图2 制备的HG NPs的外观图(A)及TEM图(B)
Fig. 2 Appearance of prepared HG NPs(A) and TEM image of HG NPs(B)

抗体电荷可被调节从而影响吸附到GNPs上的量^[24-25],同时直接吸附可在无需共价连接物介导固定化的条件下形成稳固的GNPs-抗体复合物^[26-28]。目前,LFIA中GNPs与抗体结合的普遍原理是通过改变pH值调节抗体蛋白所带电荷。在最佳结合pH值下(一般略高于蛋白质的等电点(PI)),抗体上的正电荷部分可与GNPs表面所带负电荷形成牢固结合,同时所带负电荷与GNPs表面维持一定斥力,保持GNPs-抗体复合结构的稳定,由于这种结合是离子键结合,所以不影响蛋白质的生物特性^[29];但若抗体蛋白所带正电荷过多(低于最佳结合pH时),与带负电荷的GNPs结合紧密,将导致GNPs聚集;若抗体蛋白所带负电荷过多(高于最佳结合pH时),与带负电荷的GNPs斥力增大,则会导致结合效率降低。本文采用该原理制备HG NPs-mAb。

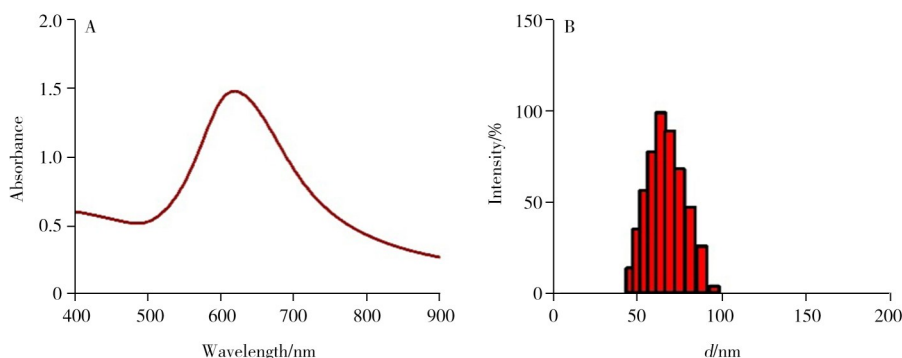


图3 HG NPs的紫外可见吸收光谱图(A)及粒径分布图(B)

Fig. 3 UV-Vis absorption spectrum(A) and particle size(B) of HG NPs

LFIA中的HG NPs-mAb制备通常分为两步,第一步为通过调节体系的pH等条件使HG NPs与mAb发生稳定的静电结合;第二步是对HG NPs表面未结合mAb的裸露活性位点进行“封闭”,减少非特异性吸附,降低背景、减少LFIA中出现的假阳性结果,常用封闭剂为BSA、酪蛋白等。以磷酸盐缓冲液(25 mmol/L PBST,由4.5 mmol/L KH_2PO_4 、25 mmol/L Na_2HPO_4 、342.5 mmol/L NaCl、6.75 mmol/L KCl、1%乙醇、0.2%吐温-20配制而成,pH 7.4)为空白样品缓冲液(阴性),比较不同pH值以及抗体添加量条件下试纸条的检测性能,用胶体金定量分析仪记录T线(OD_T)以及C线(OD_C)的光密度值。

综合考虑 OD_T 、 OD_C 值及 OD_T/OD_C 值^[30]实验结果,添加5 μL 0.1 mol/L K_2CO_3 调节体系至最佳pH值6.5(图4A)。在该pH条件下,mAb具有适量的正电荷和负电荷,在维持一定斥力保持稳定的同时,与带负电荷的HG NPs进行正负电荷结合,制备的HG NPs-mAb稳定性好,同时结合效率最高,T线及C线显色最强。结合用的抗体添加量过少,会影响探针在LFIA中对抗原的捕获效率,过多则会造成浪费,因此选择合适的mAb添加量很重要。图4B显示,随着mAb添加量的增加,T线显色逐渐加深、 OD_T 增大,但当抗体量进一步增大时, OD_T 几乎不变甚至呈减小的趋势,说明添加量过多,导致mAb在HG NPs表面过度堆积,增大了空间位阻,同时也会屏蔽部分mAb的结合位点,影响HG NPs-mAb与雌二醇分子的结合从而影响检测效果。因此,选择6 μg 作为mAb添加量。

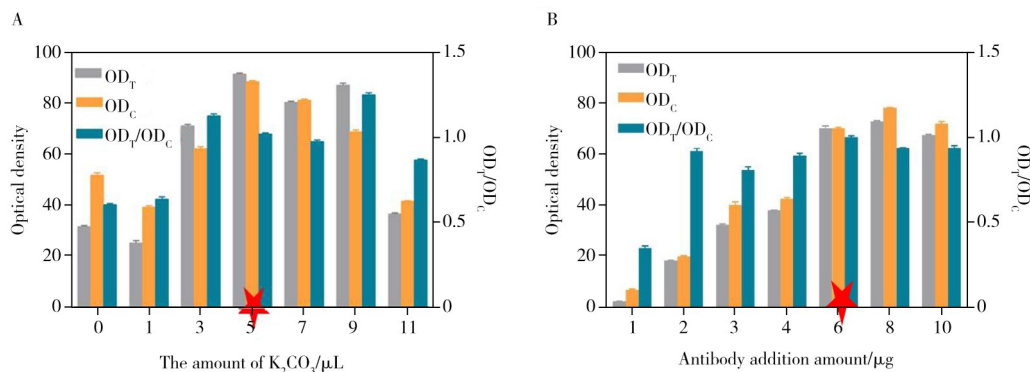


图4 金标抗体标记pH值(A)和标记抗体量(B)对性能的影响

Fig. 4 Effects of pH value(A) and amount of gold-labeled antibody(B) on performance

2.2.2 金标抗体添加量及金标垫处理液的筛选 以“2.2.1”中的空白样品缓冲液为阴性对照, 分别检测不同金标抗体添加量、不同金标垫处理液条件下试纸条的检测性能, 用胶体金定量分析仪记录 OD_T 、 OD_C 及 OD_T/OD_C 。

通过实验得出, 金标抗体添加 $3\ \mu\text{L}$ 可达到较优的检测效果(图5A), 金标垫处理液①($20\ \text{mmol/L}\ \text{Na}_3\text{PO}_4$ 、5% BSA、0.25% 吐温-20、10% 蔗糖、0.1% P300, pH 8.5)较“1.6.2”中②、③两种处理液的检测效果更好(图5B)。

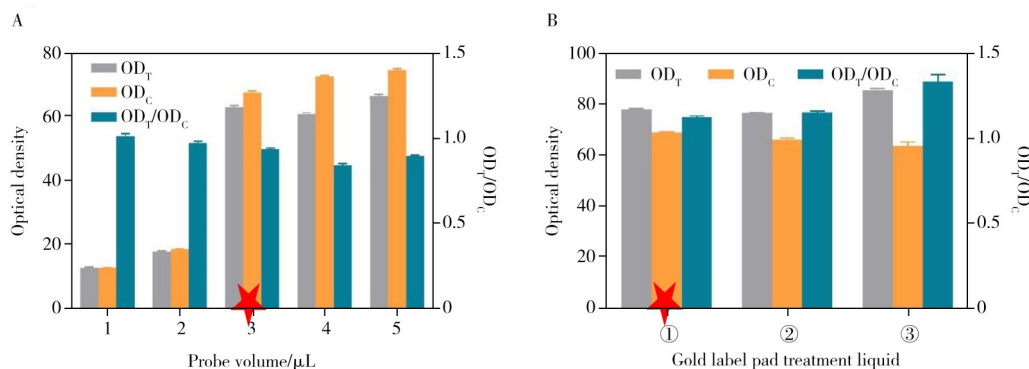


图5 金标抗体添加量及金标垫处理液对性能的影响

Fig. 5 Effects of gold-labeled antibody additive amount(A) and gold-labeled pad buffers(B) on performance

2.3 基于3种标记材料的试纸条最低检出限及线性范围对比

中空金试纸条、胶体金试纸条以及羧基化乳胶微球试纸条的检测实物图如图6所示, 在竞争体系中, 随着E2浓度的增加, T线的显色强度逐渐降低, T线接近无色时的浓度即为检出限。可见试纸条采用中空金、胶体金、乳胶微球作为标记材料时, 雌二醇的检出限分别为10、50、100 ng/mL 。以雌二醇的质量浓度为横坐标, 竞争抑制率 B/B_0 为纵坐标采用 Origin 拟合标准曲线, 中空金、胶体金以及乳胶微球试纸条分别在0.01~10 ng/mL 、0.01~50 ng/mL 以及0.01~100 ng/mL 范围内的线性良好, IC_{50} 分别为1.4、1.99、2.82 ng/mL , 可见中空金试纸条达到50%竞争抑制率的浓度最小^[31]。综上, 中空金作为标记材料的试纸条检出限为10 ng/mL , 检测灵敏度高于胶体金以及羧基化乳胶微球试纸条。

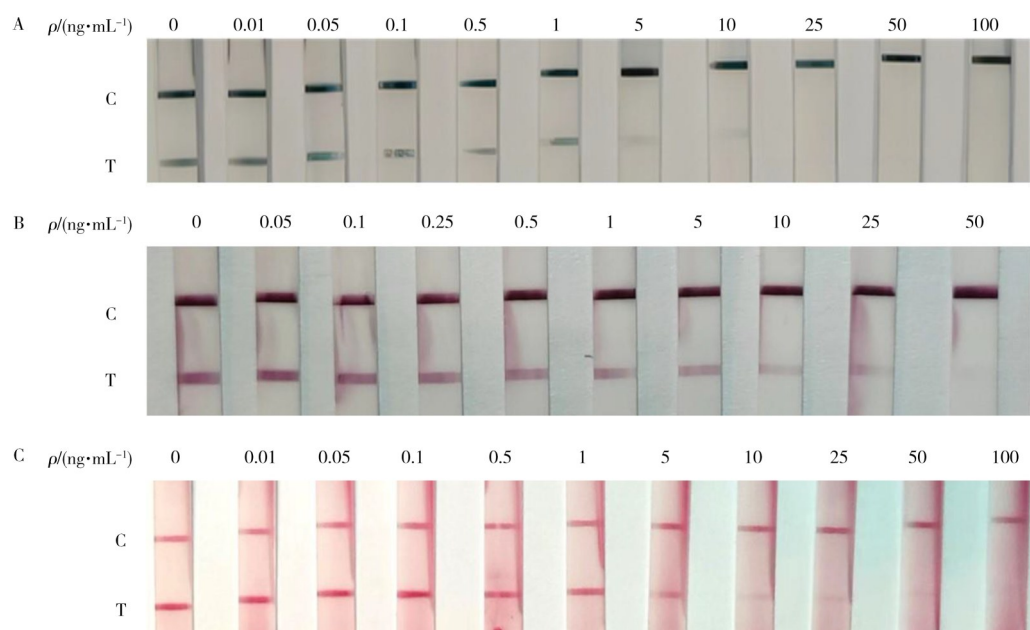


图6 中空金试纸条(A)、胶体金试纸条(B)以及羧基化乳胶微球试纸条(C)的检测实物图

Fig. 6 Test result pictures of LFIA signed by HG NPs(A), colloidal gold(B) and carboxylated latex microspheres(C)

2.4 HG NPs-LFIA 试纸条的特异性

按照“1.8”方法分别将己烯雌酚、雌三醇、炔雌醚和雌二醇(阳性对照)进行加样检测,结果均与实际情况一致(图7)。进行雌二醇中干扰物添加检测,以竞争抑制率 B/B_0 评估雌二醇检测的特异性,交叉反应的结果说明雌三醇、己烯雌酚以及炔雌醚对雌二醇的检测无干扰,中空金试纸条的特异性良好(图8)。

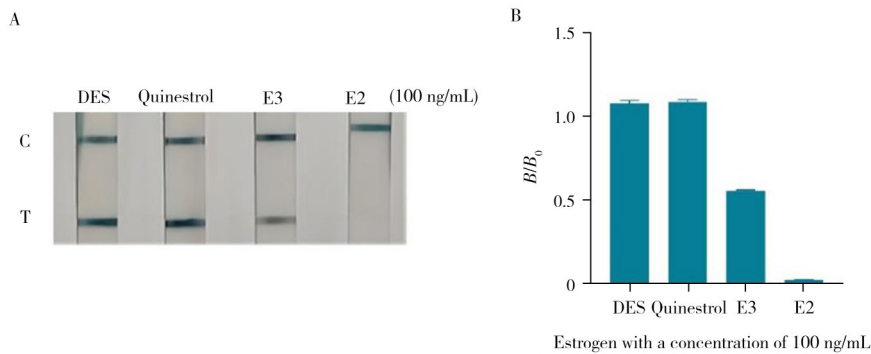


图7 干扰物质及雌二醇(阳性对照)检测结果

Fig. 7 Detection results of interfering substances and estradiol(positive control)

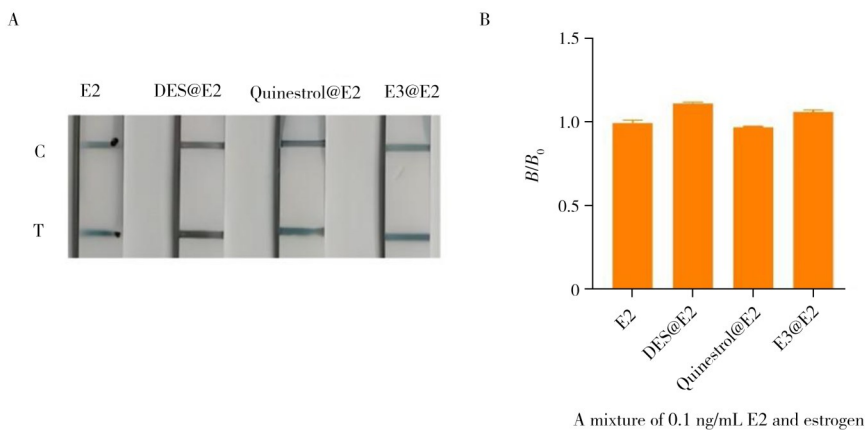


图8 雌二醇中干扰物添加检测结果

Fig. 8 Detection results of interferon addition in estradiol

2.5 面膜液中雌二醇的检测回收率

观察3个雌二醇浓度水平的面膜液检测试纸条的T线显色情况,用胶体金定量分析仪记录T线以及C线的OD值,计算竞争抑制率 $B/B_0 (\times 100\%)$,评估中空金试纸条的精密度。由表1可知,面膜液中雌二醇的加标水平分别为0.05、1、10 ng/mL时,采用中空金标记的试纸条检测的回收率为89.0%~107%,回收率较好,而胶体金标记的试纸条在加标10 ng/mL时的回收率超出范围。表明本文开发的雌二醇中空金试纸条的准确性优于传统胶体金试纸条,适用于化妆品中雌二醇的定量分析。

表1 不同试纸条的回收率结果

Table 1 Recovery results of different test strips

Type	Spiked/(ng·mL ⁻¹)	Inhibition rate(B/B_0 , %)	Average inhibition rate(B/B_0 , %)	Recovery/%
HG NPs	0.05	97.19	98.07	101
	1	57.57	61.57	107
	10	23.44	20.90	89.0
Colloidal gold	0.05	93.01	101.27	109
	1	69.34	72.80	105
	10	18.36	35.58	193

3 结 论

本研究引入粒径为60~70 nm、具有良好光学性能以及稳定性的中空金作为纳米标记材料,建立了定量检测化妆品中E2残留量的LFIA,并获得了良好的灵敏度。在最佳条件下,基于HG NPs-mAb探针

建立的 LFIA 在 15~20 min 内可检测到 E2, 视觉检出限为 10 ng/mL, IC_{50} 为 1.4 ng/mL, 检测灵敏度优于以胶体金以及羧基化乳胶微球作为标记材料的 LFIA。利用该 LFIA 体系检测相关雌激素干扰物, 结果显示该试纸条在雌二醇检测中显示出良好的特异性; 通过对加标面膜液样品的检测, 验证了所开发 LFIA 系统的可靠性和准确性。因此, 基于中空金标记抗体探针的 LFIA 系统在化妆品小分子违禁物非法添加检测中具有很大的潜力和应用前景。

参考文献:

- [1] Shen D D, Gong S S, Li Y C, Xue H Y, Yu B T, Jiang B H, Wang D, Zhang R, Mao X Q. *J. Instrum. Anal.* (沈丹丹, 宫珊珊, 李悦忱, 薛恒跃, 于本涛, 姜博海, 王冬, 张蓉, 毛希琴. 分析测试学报), **2024**, 43(7): 978–986.
- [2] Luo D P. *Family Life Guide* (罗东平. 家庭生活指南), **2023**, 39(3): 55–56.
- [3] China Food and Drug Administration. Safety and Technical Standards for Cosmetics (国家食品药品监督管理总局. 化妆品安全技术规范(2015版)), **2015**.
- [4] Sakamoto S, Yusakul G, Nuntawong P, Kitisripanya T, Putalun W, Miyamoto T, Tanaka H, Morimoto S. *J. Chromatogr. B*, **2017**, 1048: 150–154.
- [5] Zhang Y, Xiao W, Kong H, Cheng J J, Yan X, Zhang M L, Wang Q G, Qu H H, Zhao Y. *Molecules*, **2018**, 23(2): 338.
- [6] Shrivastava S, Trung Y Q, Lee N E. *Chem. Soc. Rev.*, **2020**, 49(6): 1812–1866.
- [7] Liu D, Zhang Y Q, Zhu M Y, Yu Z Z, Ma X M, Song Y L, Zhou S F, Yang C Y. *Anal. Chem.*, **2020**, 92(17): 11826–11833.
- [8] Huang X L, Aguilar Z P, Xu H Y, Lai W H, Xiong Y H. *Biosens. Bioelectron.*, **2016**, 75: 166–180.
- [9] Preechakasedkit P, Pinwattana K, Dungchai W, Siangproh, Chaicumpa W, Tongtawe P, Chailapakul O. *Biosens. Bioelectron.*, **2012**, 31(1): 562–566.
- [10] Choi D H, Lee S K, Oh Y K, Bae B, Lee S D, Kim S, Shin Y, Kim M. *Biosens. Bioelectron.*, **2010**, 25(8): 1999–2002.
- [11] Zhang D, Wang Z Q, Wang L, Wang Z H, Wang H Z, Li G B, Qiao Z Y, Xu W H, Wang H. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2018**, 10(34): 28331–28339.
- [12] Link S, Wang Z L, El-Sayed M A. *J. Phys. Chem. B*, **1999**, 103(18): 3529–3533.
- [13] Kim J E, Choi J H, Colas M, Kim D H, Lee H. *Biosens. Bioelectron.*, **2016**, 80: 543–559.
- [14] Zheng P M, Peng T, Wang J Y, Zhang J, Wang Z L, Zhang Y F, Ren Z H, Wang S H, Jiang H Y. *Microchim. Acta*, **2021**, 188: 11.
- [15] Sheng E, Lu Y X, Xiao Y, Li Z X, Wang H S, Dai Z H. *Biosens. Bioelectron.*, **2021**, 181: 113149.
- [16] Pang R Z, Zhu Q Y, Wei J, Wang Y Q, Xu F Q, Meng X Y, Wang Z X. *RSC Adv.*, **2021**, 11(45): 28388–28394.
- [17] Guarino-Hotz M, Zhang J Z. *Wiley Interdiscip. Rev.: Nanomed. Nanobiotechnol.*, **2021**, 13(4): e1694.
- [18] You J, Zhang G D, Li C. *ACS Nano*, **2010**, 4(2): 1033–1041.
- [19] Lindley S A, Cooper J K, Rojas-Andrade M D, Andrade R, Fung V, Leahy C J. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2018**, 10: 12992–13001.
- [20] Tu M H, Sun T, Grattan K T V. *Sens. Actuators B*, **2014**, 191: 37–44.
- [21] Guo M D, Dong J, Xie W, Tao L, Lu W B, Wang Y, Qian W P. *J. Mater. Sci.*, **2015**, 50(9): 3329–3336.
- [22] Luo C, Zhang R, Liu J, He X Y, Li S Z, Ran C J, Ma S B, Shen Y. *Int. J. Nanomed.*, **2024**, 19: 845–858.
- [23] Fana S E, Malekaneh M, Rasaee M J. *J. Planar Chromatogr.*, **2022**, 35(2): 197–202.
- [24] Parolo C, Escosura-Muñiz A D L, Polo E, Grazu V, Jesus M, Fuente D E, Merkoci A. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2013**, 5(21): 10753–10759.
- [25] Treuel L, Brandholt S, Maffre P, Wiegele S, Shang L, Nienhaus G U. *ACS Nano*, **2014**, 8(1): 503–513.
- [26] Siriwardana K, Wang A L, Vangala K, Fitzkee N, Zhang D M. *Langmuir*, **2013**, 29(35): 10990–10996.
- [27] Lopez A, Lovato F, Oh S H, Lai Y H, Filbrun S, Driskell E A, Driskell J D. *Talanta*, **2016**, 146: 388–393.
- [28] Ciaurris P, Fernández F, Tellechea E, Moran J F, Asensio A C. *Beilstein J. Nanotechnol.*, **2017**, 8: 244–253.
- [29] Jazayeri M H, Amani H, Pourfatollah A A, Pazoki-Toroudi H, Sedighimoghaddam B. *Sens. Bio-Sens. Res.*, **2016**, 9: 17–22.
- [30] Yang Q H, Gong X Q, Song T, Yang J M, Zhu S J, Li Y H, Cui Y, Li Y X, Zhang B B, Chang J. *Biosens. Bioelectron.*, **2011**, 30(1): 145–150.
- [31] Lu X, Ji J, Li M, Xu H W, Sun J D, Wang L P, Zhang Y Z, Sun X L. *Food Chem.*, **2022**, 370: 131027.

(责任编辑: 丁 岩)