

文章编号: 1004-0374(2012)02-0169-05

## L-谷氨酸氧化酶的研究进展

毕春元<sup>1\*</sup>, 李玲<sup>2</sup>, 李敬龙<sup>2</sup>

(1 山东省科学院生物研究所, 山东省生物传感器重点实验室, 济南 250014;

2 山东轻工业学院食品与生物工程学院, 济南 250353)

**摘要:** L-谷氨酸氧化酶(L-glutamate oxidase, GLOD)是一种以FAD为辅基的黄素蛋白酶类,可以专一性地氧化谷氨酸生成过氧化氢、氨和 $\alpha$ -酮戊二酸,广泛应用于食品、医药、发酵等领域。从谷氨酸氧化酶的微生物来源、酶学性质、发酵条件、分离纯化及分析应用等方面进行阐述,并对其研究前景进行展望。

**关键词:** 谷氨酸氧化酶; 酶学特性; 表达条件; 分离纯化; 应用; 研究前景

**中图分类号:** Q554<sup>+.4</sup>

**文献标志码:** A

## Research progress on L-glutamate oxidase

BI Chun-Yuan<sup>1\*</sup>, LI Ling<sup>2</sup>, LI Jing-Long<sup>2</sup>

(1 Key Laboratory for Biosensors of Shandong Province, Biology Institute of Shandong Academy of Sciences, Jinan

250014, China; 2 School of Food and Bioengineering, Shandong Institute of Light Industry, Jinan 250353, China)

**Abstract:** L-glutamate oxidase (GLOD) is a flavin protease with FAD for cofactor, and specifically catalyzes the reaction that one mole of L-glutamic acid was converted to one mole of hydrogen peroxide,  $\alpha$ -ketoglutaric acid and ammonia with the consumption of one mole of oxygen and water. It has been widely used in the area of food, medicine, fermentation, etc. In this overview, several research aspects of GLOD are summarized, including microbial sources, enzymatic properties, fermentation conditions, purification and analytical applications of the enzyme. In addition, the research prospects of the L-glutamate oxidase are proposed.

**Key words:** L-glutamate oxidase; enzymatic properties; express conditions; purification; application; research prospect

L-谷氨酸氧化酶(L-glutamate oxidase, GLOD)是一种以黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)为辅基的黄素蛋白酶类,可以专一性地氧化谷氨酸生成过氧化氢、氨和 $\alpha$ -酮戊二酸。GLOD对催化反应底物有高度的立体异构选择性,催化效率高,反应条件温和,已被广泛用于食品、轻工、化工、医药、环保、能源和科研等各个领域。该酶自20世纪80年代被发现以来,一直是工具酶研究的热点之一。现阶段酶的主要研究集中在,一是借由现代的观察及测定手段研究酶的结构以及作用机制,二是利用酶的特性以及工程学的方法研究如何利用酶来服务于人类的生产、生活。本文对GLOD的来源、生物学特性、表达条件及分离纯化的研究现状及其应用进行了综述,并对其应用前景进行展望。

### 1 谷氨酸氧化酶的来源及生物学特性

自20世纪40年代开始,人们就从鼠肾、蛇毒液、无脊椎动物和微生物等不同来源中分离得到L-氨基酸氧化酶,它们能使多种氨基酸脱氨,却几乎不作用于L-谷氨酸。

1974年,Jurtshuk和McManus从维涅兰德国固氮菌的膜制备物中观察到了GLOD活性,但他们得到的粗提酶除能作用于L-谷氨酸外,还能催化其他几种D-氨基酸,因此该酶根本不属于GLOD的

收稿日期: 2011-08-10; 修回日期: 2011-10-09

\*通信作者: E-mail: bichunyuan@163.com; Tel: 13065082327

范畴<sup>[1]</sup>。真正意义上的 GLOD 是在 1983 年由 Kamei 等<sup>[2]</sup>发现,他们在浅紫链霉菌发酵上清液中发现了一种能专一催化谷氨酸产生  $\alpha$ -酮戊二酸、氨和过氧化氢的 GLOD,经进一步研究表明,该酶相对分子质量约为 60 000,具有黄素蛋白的特征吸收光谱,并且不需要外源性辅助因子参与作用,但该酶对 L-谷氨酸、L-谷氨酰胺和 L-组氨酸均有作用,专一性不强。

同时代的 Kusakabe 等<sup>[3]</sup>从链霉菌 X-119-6 菌株中分离出另一种特异性更好的 GLOD,研究显示,它除能催化 L-谷氨酸外,仅对 L-天冬氨酸有微弱的催化作用。当以 L-谷氨酸为底物时,其  $K_m$  值为  $2.1 \times 10^{-4}$  mol/L,相对分子质量为 140 000,等电点 (pI) 为 5.2。该酶耐热,在 pH = 5.5 的条件下,65 °C 加热 15 min 不失活;85 °C 加热 15 min,活性仍能保留 47%。

随后, Böhmer 等<sup>[4]</sup>从内涂链霉菌中首次分离纯化得到对 L-谷氨酸完全特异的 GLOD,并对其生物学特性做了初步的研究,其相对分子质量为 90 000,由两个亚基构成,每个亚基含有一个非共价结合的 FAD。以 L-谷氨酸为底物时,其  $K_m$  值为  $1.1 \times 10^{-3}$  mol/L,等电点为 6.2,  $Ag^+$  和  $Hg^{2+}$  可抑制该酶的活性。

近年来,国内外科学家先后分别从土壤中分离到能产生 GLOD 的链霉菌、放线菌,并建立了较完善的液体发酵产酶体系,制备了 GLOD 粗品,通过对其酶学性质进行研究,纯化得到的该酶都具有以下特性:能专一性地催化 L-谷氨酸生成过氧化氢、氨和  $\alpha$ -酮戊二酸<sup>[5]</sup>,反应方程式如图 1 所示:



图1 L-谷氨酸氧化酶催化反应方程式

这个反应具有立体异构专一性。当反应体系中同时存在 D 型和 L 型谷氨酸时,它只作用于 L 型谷氨酸;等电点为 4.3,以 L-谷氨酸为底物时,其  $K_m$  值为  $5.6 \times 10^{-4}$  mol/L,最适 pH 为 4.5~7.5,最适宜温度为 50 °C;在 70 °C 条件下作用 60 min 全部失活;酶活不受 FAD 和 FMN 的影响。

日本的 Ishikawa 等<sup>[6]</sup>通过 DNA 重组技术构建编码 GLOD 的基因。高效表达产生的 GLOD 同样具有底物专一性,它是一种典型的氧化酶而不是脱氢酶,  $NAD^+$ 、 $NADP^+$  不能作为该酶的电子受体。每个酶分子结合大约 1~2 个 FAD,最适 pH 在 6.0~8.5,

耐热,  $Ag^+$ 、 $Hg^{2+}$  可抑制该酶的活性。

综上所述,自然界中许多微生物都有产 GLOD 的能力,但产酶能力相差较大,经研究显示,其中链霉菌产酶能力最高,更适合工业生产。目前, Sigma 公司已利用基因工程的方法,将 GLOD 的表达基因转入大肠杆菌中并得到了高效表达,这极大地提高了 GLOD 的产酶水平,为其深入研究及应用创造了条件。

## 2 谷氨酸氧化酶发酵条件及分离纯化的研究

发酵生产 GLOD 受很多因素影响。除了发酵菌种选育优良菌株,不可忽视的就是发酵培养基、发酵工艺条件和参数的优选确定、提取纯化方法以及设备的选择和确定。近年来,国内外在两方面都作过积极地研究。

### 2.1 谷氨酸氧化酶发酵条件的研究

目前, GLOD 发酵生产距工业化生产还有很大距离,这在很大程度上限制了其应用。因此需要进一步研究其发酵工艺,通过工艺优化,改进发酵培养基成分和发酵条件,创造适合菌体生长和生物代谢的最佳条件,充分发挥菌种的生产潜力,显著提高发酵产量。

优化发酵培养基组成是提高 GLOD 产量的首要步骤。早在 1993 年李青山等<sup>[7]</sup>就利用静息细胞培养研究过酶生物合成的影响因素。他们通过正交试验最终确定了 GLOD 液体发酵的最佳产酶条件: 3.0% 蔗糖、1.5% 淀粉、0.4% 硫酸铵、0.4% 玉米浆、0.12% 氯化镁、0.05% 谷氨酸或 0.1%  $\alpha$ -酮戊二酸,在这一优化发酵培养基中酶产量最高达到 14.6~14.84 U/mL,比当时国外报道的最好水平还要高很多。后徐水清和李友荣<sup>[8]</sup>相继研究了影响 GLOD 产量的其他因素,如:培养基中添加 0.2% 的谷氨酸时酶生成量最高,三角瓶中含水量为 100% 时最有利于产酶,选用 28 °C 为最适培养温度;在此基础上其余条件相同培养时间不同,培养到 6 d 时酶活力最高,当继续培养到 8 d 时,酶活力显著下降;此外,  $Mg^{2+}$  和  $Ca^{2+}$  能使酶活力比不添加任何无机盐的培养基增加约 30%。目前,发酵生产 GLOD 的培养条件研究已基本成熟,前人在这方面做的贡献为该酶的进一步深入研究打下了坚实的基础。

目前,山东省科学院生物研究所利用 *Streptomyces* sp. 作为 GLOD 的产生菌,优化得到一种新的发酵培养基:葡萄糖 1.5%、蔗糖 1.5%、硫酸铵 0.6%、氯化镁 0.1%、氯化钾 0.1%、玉米浆 1.0%、

磷酸二氢钠 0.09%、pH 6.7, 每个锥形瓶里添加 3% 的固体碳酸钙。28℃, 180 rpm/min, 培养 48 h, 得到了理想的发酵结果。

## 2.2 谷氨酸氧化酶分离纯化的研究

GLOD 作为一种十分有用的工具酶, 近几十年来受到人们越来越多的重视。但至今国内使用的 GLOD 主要是由国外几家公司生产, 价格非常昂贵, 主要是该酶的分离纯化问题还未从根本上得到解决, 因而使其应用也受到了限制。

目前为止, GLOD 的分离纯化多采用凝胶过滤层析、离子交换层析、亲和层析、高压液相层析等常规柱层析技术。例如 Kusakabe 等<sup>[3]</sup>用 *Streptomyces* sp.X-119-6 发酵液分离纯化 GLOD, 其纯化步骤依次是硫酸铵沉淀、DEAE 纤维素柱层析、DEAE-Sepharose CL-6B 层析及 Sephadex G-200 层析。采用此步骤分离纯化 GLOD 的纯化倍数可达到 984 倍, 产率为 15.3%。Wachiratianchai 等<sup>[9]</sup>从 *Strepto-mycetes* sp.18G 发酵提取物中分离纯化 GLOD 的步骤依次是硫酸铵分级沉淀、SP-SepharoseFF 和 Q-SepharoseFF 液相色谱柱、Superdex 200 离子交换层析。纯化倍数达到 990 倍, 产率为 16.65%, 酶活可达到 152.35 U/mg。

表 1 列举了文献中纯化前后酶活与纯化倍数较高的菌的一些相关数据。目前这方面的研究仍是一大研究热点。

## 3 谷氨酸氧化酶的应用

### 3.1 谷氨酸氧化酶在临床生化检验中的应用

随着研究的深入, 人们发现在脑液中谷氨酸是重要的神经传递物质, 其含量在医学上与一些疾病有关, 如谷氨酸含量略高或略低会导致神经系统损坏。另外, 在耳朵的发育过程中, 谷氨酸含量与内耳的发育有一定的关系, 谷氨酸含量的不同造成不同程度的损害。因此, 利用 GLOD 的以上作用制造生化检测仪或试剂盒来测定谷氨酸含量, 这具有重要的意义。

血清丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 和天冬氨酸氨基

转氨酶 (AST) 活性是临床常用的生化检验指标。早在 1986 年, Kamei 等<sup>[2]</sup>就利用 GLOD 为工具酶测定 Alt 和 Ast 的荧光分析法, 酶促反应原理<sup>[11]</sup>如下:



该指示反应中以高香草酸为色原, 在过氧化物酶的催化下,  $\text{H}_2\text{O}_2$  与高香草酸反应形成荧光物质, 在激发波长 315 nm、发射波长 415 nm 下测定荧光强度而得酶活。

李青山等用 GLOD 粗品建立了测定 ALT 和 AST 的分光光度法, 指示反应为经典的 Trinder 反应<sup>[12]</sup>, 即  $\text{H}_2\text{O}_2$  与 4-氨基安替比林偶联酚在过氧化物酶催化下生成红色化合物, 比色测定求得 ALT 和 AST 活性。另外, 在临床生化检测上, GLOD 可以用于测定丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶和  $\gamma$ -谷氨酰基转移酶等的活性以及肌酐等的浓度。20 世纪 80 年代, 冯德荣等利用固定化 GLOD 和过氧化氢电极, 研制出测定转氨酶活性的生物传感分析仪, 可分别测定 ALT 和 AST, 与美国 ABROTT 公司生产的 CLX 全自动生化分析仪<sup>[13]</sup>测定结果相比较, 相关系数分别为 0.9913 和 0.9620。

在医药工业上, GLOD 用于测定谷氨酸钠注射液中谷氨酸钠的含量, 使得临床生化检验变的简单易行, 大大节省了人力、物力的消耗。

### 3.2 谷氨酸氧化酶在生物传感器的应用

从 1962 年 Clark 和 Lyons 最先提出生物传感器的设想, 近 50 年来生物传感器技术已成为研究和工程技术领域一个非常活跃的课题, 据报道利用各种酶已成功研制出多种 L-谷氨酸生物传感器, 例如 L-谷氨酸氧化酶、L-谷氨酸脱氢酶、嗜热 L-谷氨酸脱氢酶等<sup>[14-17]</sup>。近年来利用 GLOD 作为传感元件制成酶电极测定谷氨酸在国外已引起广泛关注。

1995 年, Ye 等<sup>[18]</sup>就使用电子媒介体以及固定谷氨酸氧化酶研制出微小酶电极, 在流体注射分

表1 不同来源菌分离纯化前后酶活参数对比

来源菌	纯化前酶活/(U·mg <sup>-1</sup> )	纯化后酶活/(U·mg <sup>-1</sup> )	纯化倍数	回收率/%	文献
内涂链霉菌( <i>Streptomyces endus</i> )	0.0024	6.00	2500	21	[4]
X-119-6链霉菌( <i>Streptomyces</i> sp. X-119-6)	0.056	55.10	984	15.3	[3]
18G链霉菌( <i>Streptomyces</i> sp.18G)	0.15	152.36	990	16.65	[9]
浅紫链霉菌( <i>Streptomyces violascens</i> )	0.066	60.3	914	27.5	[10]



析系统测定 L-谷氨酸显示出较高的准确性和稳定性。德国的 Scheller 等<sup>[19]</sup>研制出了基于 GLOD 的酶电极,响应时间短,选择性好,但其线性范围窄,仅达到 0.8 mmol/L,使其推广应用受到限制;日本的 Karabe 应用集成电路技术研制出 GLOD 电极,线性范围在 5~50 mmol/L,但响应时间长<sup>[20]</sup>;李华清等<sup>[21]</sup>以聚乙二醇二缩水甘油醚为交联剂固定辣根过氧化物酶(HRP)和 GLOD,制得双酶电流型谷氨酸传感器;1991年, Vahjen 等<sup>[22]</sup>利用固定化链霉菌中的 GLOD,开发了在多种食品原料中测定谷氨酸的介体酶电极,其线性范围 0.2~2 mmol/L;Chen 等<sup>[23]</sup>以 1,12-二氨十二烷为载体、戊二醛为交联剂将 GLOD 共价固定在三醋酸纤维素膜上,与氧电极组合测定 L-谷氨酸,响应时间少于 3 min,线性范围在 1.2~8.5  $\mu\text{mol/L}$ ;山东省科学院生物研究所利用固定化 GLOD 为作用酶,并以  $\text{H}_2\text{O}_2$  电极复合传感器为关键元件研制的 SBA 系列生物传感器,分辨率为 0.01 mmol/L,测定结果准确,误差小于 2%,操作方便,分析速度快<sup>[24]</sup>。目前以谷氨酰胺水解酶-谷氨酸氧化酶复合酶为基础的谷氨酰胺传感器也已研制成功,这大大拓宽了 GLOD 的应用范围<sup>[24]</sup>。近年来有研究发现利用纳米金极佳的比表面积,高表面自由能,将酶固定在纳米金颗粒表面,能大大增加固定酶的分子数量,实现信号的放大,这为谷氨酸传感器的研究提供了一条新的思路<sup>[25]</sup>。

目前,生物传感器在发酵工艺、环境监测、食品工程、临床医学、军事及军事医学等方面得到了高度重视和广泛应用。例如,味精发酵中采用谷氨酸传感器测定发酵过程中谷氨酸含量已取代了传统的分析方法——华勃式呼吸器测定法<sup>[26]</sup>,使谷氨酸分析速度从半小时缩短到一分钟,同时解决了谷氨酸发酵过程中发酵液及离子交换上清液要求快速测定谷氨酸含量的问题,稳定了发酵生产,大大提高了收率。据实验证实使用生物传感分析可以使离交回收率提高 30%~50%,由此产生的效益相当于使工厂净增收益 4%<sup>[27]</sup>。另外,利用生物传感器测定酱油制备和食品发酵过程中谷氨酸含量、谷氨酰胺酶和亮氨酸氨基肽酶活性等指标,达到了节约原酶和连续监测的目的<sup>[28]</sup>。

在最初 15 年里,生物传感器主要是以研制酶电极制作的生物传感器为主,但是由于酶存在稳定性差且提取困难等弱点,以酶作为敏感材料的传感器的应用受到一定的限制。随着微生物固定化技术的不断发展,产生了以微生物活体作为分子识别元

件的微生物电极。

随着在精神疾病及癌症治疗方面的研究越来越深入,生物传感器在医学方面的应用也逐步被人们认识,生物医用纳米传感器正成为新的研究热点。

#### 4 前景与展望

酶制剂产业现已成为一个朝气蓬勃的高新技术产业,特别是进入 21 世纪以来,工业酶制剂产业作为生物技术中最重要的部分得到迅猛发展,目前国际酶制剂市场保持着 9% 的增长速度,我国酶制剂产业在近 20 年发展速度更快。2010 年,我国各种工业酶制剂总产量 60 多万吨,应用覆盖了洗涤剂、纺织、酒精、啤酒、味精、有机酸、淀粉糖、制药、饲料、造纸等诸多工业领域,创造工业附加值数千亿元。

进入 21 世纪后,以基因工程和蛋白质工程为代表的分子生物学技术不断完善,以及物理学、化学等多个学科的引入,使酶制剂产业进入了一个崭新的发展阶段。人们已意识到 GLOD 是一种非常有用的工具酶,但目前其生物学作用机制还不是很清楚,希望在不久的将来,运用分子生物学方法,对该酶基因进行克隆、表达及通过结构分析或定点突变等方法明确其催化机理并进行合理改造,以获得更符合生理研究和生产应用要求的酶蛋白,能够进行更深入更广泛的学术研究,在各个领域发挥更新的用途,也将为工业化生产提供更有利条件。

#### [参 考 文 献]

- [1] 郑强,严卫民,徐东,等. L-谷氨酸氧化酶的来源及其在生化检验中的应用. 检验医学教育, 2003, 10(2): 32
- [2] Kamei T, Asano K, Suzuki H, et al. L-glutamate oxidase from *Streptomyces violascens*, I. Production, isolation and some properties. Chem Pharm Bull, 1983, 31(4): 13-4
- [3] Kusakabe H, Midorikawa Y, Fujishima T, et al. Purification and properties of a new enzyme, L-glutamate oxidase from *Streptomyces* sp.X-119-6 grown on wheat bran. Agric Biol Chem, 1983, 47(6): 1323-8
- [4] Böhmer A, Müller A, Passarge M, et al. A novel L-glutamate oxidase from *Streptomyces endus* purification and properties. Eur J Biochem, 1989, 182(2): 328-9
- [5] Basu AK, Chattopadhyay P, Roychudhuri U, et al. Development of biosensor based on immobilized L-glutamate oxidase for determination of monosodium glutamate in food. Indian J Exp Biol, 2006, 44(5): 392-8
- [6] Ishikawa H, Misaki H, Muto N, et al. L-glutamate acid oxidase, its production and analytical method therefore[P]. United States: US4605615A, 1986-08-12
- [7] 李青山, 李晓波, 李友荣, 等. 用静息细胞培养法研究 L-谷氨酸氧化酶的生物合成. 华东理工大学学报, 1994,

- 20(2): 168-72
- [8] 徐水清, 李友荣. L-谷氨酸氧化酶产生菌的筛选与产酶条件. 微生物学报, 1993, 33(4): 309-12
- [9] Wachiratianchai S, Bhumiratana A, Udomsopagit S. Isolation, purification and characterization of L-glutamate oxidase from *Streptomyces* sp.18G. *Eletron J Biotech*, 2004, 7(3): 275
- [10] Moges G, Wodajo N, Gorton L, et al. Glutamate oxidase advances the selective bioanalytical detection of the neurotoxic amino acid  $\beta$ -ODAP in grass pea: A decade of progress. *Pure Appl Chem*, 2004, 76(4): 765-75
- [11] 丁建英, 沈唐, 顾春海. 电化学酶免疫传感器在食品安全检测中的研究进展. 食品工业科技, 2010, 31(10): 5-7
- [12] 包智建. 胆碱酯酶试剂对Trinder反应类项目自动分析的影响. 现代检验医学杂志, 2009, 24(6): 13
- [13] 王继荣, 崔涛, 李靖. 美国魅力2000型全自动生化分析仪性能评价. 齐鲁医学检验, 2004, 15 (4): 64
- [14] Castillo J, Blochl A, Dennison S, et al. Glutamate detection from nerve cells using a planer electrodes array integrated in a microtiter in a microtiter plate. *Biosens Bioelec*, 2005, 20(10): 6-9
- [15] Castillo J, Isik S, Blöchl A, et al. Simultaneous detection of the release of glutamate and nitric oxidase from adherently growing cells using an array of glutamate and nitric oxide selectve electrode. *Biosens Bioelec*, 2005, 20(8): 59-65
- [16] O'Neill RD, Chang SC, Lowry JP, et al. Comparisons of platinum, gold, palladium and glassy carbon as electrode materials in the design of biosensors for glutamate. *Biosens Bioelec*, 2004, 19(11): 1-8
- [17] Qhobosheane M, Wu DH, Gu YR, et al. A two-dimensional imaging biosensor to monitor enhanced brain glutamate release stimulated by nicotine. *J Neurosci Methods*, 2004, 135(1-2): 1-8
- [18] Ye BC, Li QS, Li YR, et al. L-glutamate biosensor using a novel L-glutamate oxidase and its application to flow injection analysis system. *J Biotechnol*, 1995, 42(1): 45-52
- [19] Scheller FW, Bauer CG, Wollenberger U, et al. Immunoassays using enzymatic amplification electrodes [M]// Gizeli E, Lowe CR. *Biomolecular sensors*. New York: Taylor & Francis Ltd., 2002
- [20] 李陈鑫, 张芬芬, 万巧, 等. 中性红掺杂SiO<sub>2</sub>纳米粒子修饰的L-谷氨酸生物传感器在I型糖尿病模型大鼠脑渗析液分析中的应用研究. 化学传感器, 2004, 24(4): 48
- [21] 李华清, 郭宗慧, 刘春秀, 等. 基于氧化还原聚合物固定双酶的谷氨酸传感器的研究. 分析化学研究报告, 2006, 9(S1): 1
- [22] Vahjen W, Bradley J, Bilitewski U, et al. Mediate enzyme electrode for the determination of L-glutamate. *Anal Lett*, 1991(43): 283-9
- [23] Chen Y, Xu JH, Pan J, et al. Catalytic resolution of (RS)-HMPC acetate by immobilized cells of *Acinetobacter* sp. CGMCC 0789 in a medium with organic cosolvent. *J Mol Catal B-Enzymatic*, 2004, (30): 203-8
- [24] 史建国, 马耀宏, 孟庆军, 等. 氨基酸、有机酸发酵过程中的生物传感器. 发酵科技通讯, 2009, 39(4): 47-8
- [25] 怀红霞, 张秀明, 贺晓蕊, 等. 纳米金增效的谷氨酸生物传感器性能研究与应用. 传感器与微系统, 2010, 29(2): 72
- [26] Beyene NW, Moderegger H, Kalcher K. A new amperometric  $\beta$ -ODAP biosensor. *Lathyrus Lathyrism Newslett*, 2003, 3: 1163
- [27] 张珩, 陶桓齐. 生物传感器在发酵工业中的应用. 科技信息, 2007(32): 52
- [28] 陈天华, 欧阳建文, 唐海涛. 现代生物传感器在食品安全检测中的应用. 北京工商大学学报(自然科学版), 2011, 29 (1): 2-3