

时间分辨荧光免疫层析快速检测 牛奶中地塞米松

周芳^{1*}, 窦彩云²

(1. 江苏农牧科技职业学院动物药学院, 泰州 225300; 2. 瑞莱生物江苏科技有限公司, 泰州 225300)

摘要: **目的** 建立基于时间分辨荧光微球对牛奶中的地塞米松残留进行快速检测的方法, 并对该方法性能进行评估。**方法** 使用地塞米松抗体标记时间分辨荧光微球, 分别采用湿法和干法制备检测试纸条, 比较两种方法的灵敏度, 同时确定微球的最佳抗体标记量, 并对试纸条的重复性、检测灵敏度进行评估。**结果** 以 20 μg 抗体/mg 微球的标记量, 湿法制备的试纸条检测灵敏度更佳。该方法重复性检测中变异系数(coefficient of variation, CV)为 8.2%, 地塞米松溶液的检出限为 0.07 ng/mL, 检测牛奶中地塞米松的半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})为 0.24 ng/mL。**结论** 该方法具有测试简单、灵敏度高等特点, 制备的试纸条可满足牛奶中地塞米松残留的检测要求。

关键词: 时间分辨荧光微球; 地塞米松; 牛奶; 快速检测

Rapid detection of dexamethasone in milk by time-resolved fluorescence immunochromatography

ZHOU Fang¹, DOU Cai-Yun²

(1. College of Animal Pharmacy, Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College, Taizhou 225300, China;
2. ReLIA Biological Jiangsu Technology Co., Ltd., Taizhou 225300, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for rapid detection of dexamethasone residues in milk based on time-resolved fluorescent microspheres, and evaluate the performance of the method. **Methods** The time-resolved fluorescent microspheres were labeled with dexamethasone antibodies and the test strips were prepared by wet format and dry format, respectively. The sensitivity of the two methods was compared, and the optimal amount of antibody labeling of the microspheres was determined. The repeatability and detection sensitivity of the test strips were evaluated. **Results** With the labeling amount of 20 μg antibody/mg microspheres, the test strip prepared by wet format was more sensitive. The coefficient of variation (CV) of the method was 8.2%, and the limit of detection of dexamethasone solution was 0.07 ng/mL, the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) for the dexamethasone detection in milk was 0.24 ng/mL. **Conclusion** The method has the characteristics of simple test and high sensitivity, and the prepared test strip can meet the detection requirements of dexamethasone residues in milk.

KEY WORDS: time-resolved fluorescent microspheres; dexamethasone; milk; rapid detection

基金项目: 江苏省大学生创新创业训练计划项目(202112806020Y)

Fund: Supported by the Jiangsu College Students Innovation and Entrepreneurship Training Program (202112806020Y)

*通信作者: 周芳, 硕士, 讲师, 主要研究方向为药学。E-mail: 105397493@qq.com

*Corresponding author: ZHOU Fang, Master, Lecturer, College of Animal Pharmacy, Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College, No.8 Fenghuang East Road, Hailing District, Taizhou 225300, China. E-mail: 105397493@qq.com

0 引言

地塞米松(dexamethasone)又称氟美松、氟甲强的松龙,是一种人工合成的糖皮质激素,药理作用主要是抗炎、抗过敏、免疫抑制、抗休克等作用,在兽医临床上广泛应用于治疗母畜代谢病,或与抗生素联合用于治疗感染性疾病,并且能提高饲料的转化率,促进畜禽的生长。但是动物生长过程中过量使用该类药物会导致其在动物源性食品中残留,尽管动物性食品中这类药物的残留量很低,但是长期、低水平的食用还是会产生各种慢性、蓄积性毒性、免疫毒性、发育毒性、生态毒性,对健康产生危害^[1-4]。很多国家都严格禁止地塞米松作为生长激素使用,同时普遍限制此药用于动物源性食品中,并提出了严格的限量要求;我国 GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》中对地塞米松在食品中的最高残留限量也有明确的规定^[5-7]。GB 31650—2019 中对牛、猪、马肌肉和肾脏中地塞米松的最高残留限量是 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,肝脏中最高残留限量是 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$,牛奶中的最高残留限量是 0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

目前动物源性食品中地塞米松残留检测方法主要有仪器分析法和免疫分析法。仪器分析法主要是液相色谱法^[8-9]、气相色谱与质谱联用技术^[10-11]、液相色谱与质谱联用技术^[12-16]、超高效液相色谱与质谱联用技术^[17-20],这类方法具有分离度高、结果准确、灵敏度高等优点,法定的检测方法多采用该类技术,但是此类方法设备昂贵,且前处理方法复杂,操作烦琐费时,对操作人员专业技术要求高等,限制了其在基层的推广及现场高通量检测。免疫分析法常用的有免疫层析法和酶联免疫吸附法。免疫层析法具有操作简单、检测快速的优点,适合现场快速检测,但灵敏度欠佳^[21-23]。酶联免疫分析法具有通量高、易于自动化等优点,适合大规模的养殖场检测^[24-25],但需要专业人员操作,且需要积累样本量,容易造成浪费,检测时间也较长。近 10 多年来基于荧光材料的免疫层析技术快速发展,尤其是对时间分辨荧光免疫技术的研究较多,它依赖于镧系元素(铕、钐、铽等)独特的荧光性质,具有荧光寿命长、斯托克斯位移大、发射信号峰尖锐的特点,与普通荧光免疫技术相比,能够提高检测信噪比,从而提高检测的灵敏度和准确度^[26-28]。该技术在临床医学检验、动物源性食品中药物残留检测、农产品中真菌毒素的检测等方面得到了长足的发展和应用^[29-32],但目前关于采用时间分辨荧光技术测定牛奶中的地塞米松残留鲜有报道。因此,本研究采用铕时间分辨荧光微球为抗体标记物,建立一种简单、快速、灵敏地直接对牛奶中地塞米松进行检测的方法,并对其制备技术、检测性能进行探索和评价,以期提供一种准确快速检测牛奶中地塞米松残留的分析方法,为食品安全监管提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

牛奶(泰州本地市场)。

地塞米松标准品(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司);牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)偶联地塞米松(地塞米松-BSA)抗原(14.6 mg/mL)、地塞米松单抗 68G6 细胞株(8.6 mg/mL)(广州优抗多公司);时间分辨荧光微球 FCEU002(粒径 196 nm, 固含量 1%, m/V ; 激发波长 365 nm, 发射波长 615 nm; 美国 Bangs Laboratories 公司);羊抗鼠免疫球蛋白抗体(immunoglobulin, IgG)(纯度 $\geq 90\%$, 美国 Arista 公司);CN95 硝酸纤维素膜(nitrocellulose filter membrane, NC 膜)(德国 Sartorius 公司);玻璃纤维、吸水纸、聚酯纤维、聚氯乙烯底板(polyvinyl chloride, PVC 底板)、检测卡壳(上海捷宁公司);BSA(纯度 $\geq 98\%$, 美国 Sigma 公司);1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐[1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, EDC]、2-(N-吗啡啉)乙磺酸[2-(N-morpholine) ethanesulfonic acid, MES]、Tween-20、硼酸、硼砂、磷酸氢钠、磷酸二氢钠、氯化钠、氯化钾、聚乙二醇 4000 (polyethylene glycol-4000, PEG4000)、蔗糖(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

HM3030 划膜喷金机、ZQ2002 斩切机(上海金标公司);AFS-100 荧光免疫分析仪(广州蓝勃公司);DHG-9000 鼓风干燥箱、DZF-6050 真空干燥箱(上海恒一公司);UV-3300 分光光度计(上海美普达仪器有限公司);KQ-250DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);TG16-WS 台式高速离心机(湖南湘仪仪器开发有限公司);PHS-3C 型酸度计(上海越平科学仪器有限公司);QB-128 旋转培养器(海门其林贝尔仪器有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 结合垫制备

(1) 荧光微球标记

清洗: 取 300 μL 的荧光微球加入 1000 μL pH 6.0 0.05 mol/L 的生物缓冲液 MES, 超声分散(超声 5 s 停 3 s, 连续 5 次), 以 15650 $\times g$ 离心 10 min 后弃去上清液, 加 600 μL pH 6.0 0.05 mol/L MES 复溶微球, 按上述方法超声分散。

标记: 将荧光微球均匀分于 3 个离心管中, 分别加入 20、40、80 μg 的地塞米松抗体(均溶解在 100 μL 反应液中), 超声分散(超声 5 s 停 3 s, 连续 5 次), 37 $^{\circ}\text{C}$ 旋转反应 30 min; 再分别加入新鲜配制的 3 μL 10 mg/mL EDC 溶液, 按上述方法超声分散, 室温旋转反应 30 min。

封闭: 以 15650 $\times g$ 离心荧光微球 10 min, 弃上清液, 加入 100 μL 封闭液缓冲液(0.005 mol/L 的硼酸盐缓冲液中含有 1% BSA, pH 8.0), 室温旋转反应 30 min。

(2) 荧光微球喷点

使用 0.005 mol/L 的硼酸盐缓冲液(含 1% BSA、0.05%

Tween-20、0.02% PEG4000, pH 8.0)作为标记物稀释液对标记抗体后的荧光微球进行 10 倍稀释;以 $6\ \mu\text{L}/\text{cm}$ 的喷量将稀释后的标记物喷点于玻璃纤维垫上即为结合垫,于真空干燥箱中常温干燥 12 h。

1.2.2 NC 膜包被

将地塞米松抗原用含 1%蔗糖的 $0.01\ \text{mol}/\text{L}$ 的 PBS 稀释为 $0.5\ \text{mg}/\text{mL}$,用划膜喷金一体机将稀释好的抗原溶液以 $1\ \mu\text{L}/\text{cm}$ 的喷量涂在 NC 膜上,作为检测线(test line, T 线);将羊抗鼠 IgG 用含 1%蔗糖的 $0.01\ \text{mol}/\text{L}$ 的 PBS 稀释为 $0.5\ \text{mg}/\text{mL}$,用划膜喷金一体机将稀释好的溶液以 $1\ \mu\text{L}/\text{cm}$ 的喷量涂在 NC 膜上,作为质控线(control line, C 线),T 线与 C 线间隔 4 mm。喷好 T、C 线的 NC 膜置于鼓风干燥箱中 37°C 干燥 4 h。

1.2.3 试纸条组装

(1)干法试纸条制备

在 PVC 底板上先后粘贴 NC 膜、喷点荧光微球的结合垫、样品垫、吸水纸;用斩切机将其切割成宽度为 0.4 cm 的试纸条(试纸条组装见图 1 所示),将试纸条装入检测卡壳中即为检测卡。

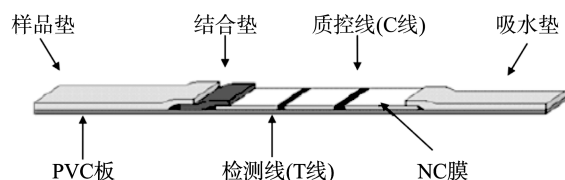


图 1 荧光免疫层析试纸条组成

Fig.1 Structure of fluorescence immunochromatography test strips

(2)湿法试纸条制备

在 PVC 底板上先后粘贴 NC 膜、空白结合垫(未喷点荧光微球)、样品垫、吸水纸;用斩切机将其切割成宽度为 0.4 cm 的试纸条,将试纸条装入检测卡壳中即为检测卡。湿法试纸条使用时,需要将喷点荧光微球的结合垫先与待测样品溶液反应后,再进行加样,所以将喷点荧光微球的结合垫切割为 $0.8\ \text{cm}\times 0.4\ \text{cm}$ 大小的形状,另装于密封袋中备用。

1.2.4 检测方法与结果判定

(1)干法检测

将地塞米松标准储备液用 $0.01\ \text{mol}/\text{L}$ 的 PBS 配制为 0、0.1、1.0、10.0、100.0 ng/mL 的不同质量浓度的地塞米松样本溶液,在干法试纸条加样孔中加 $80\ \mu\text{L}$ 待测样本溶液,10 min 后用时间分辨荧光微球试纸条检测仪读取试纸条上 T 线和 C 线的荧光信号,记录 T/C,绘制地塞米松样本溶液质量浓度与 T/C 关系曲线。

(2)湿法检测

将地塞米松标准储备液用 $0.01\ \text{mol}/\text{L}$ 的 PBS 配制为 0、

0.05、0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 ng/mL 的不同质量浓度的地塞米松样本溶液,在酶标板孔中加 $80\ \mu\text{L}$ 待测样本溶液,放入裁剪好的已喷点荧光微球的结合垫,反应 2 min,将反应液加到湿法试纸条的加样孔中,10 min 后用时间分辨荧光微球试纸条检测仪读取试纸条上 T 线和 C 线的荧光信号,记录 T/C,绘制地塞米松样本溶液质量浓度与 T/C 关系曲线。

1.2.5 试纸条性能评价

(1)微球最佳抗体标记量确定

使用 3 种抗体标记量,即每 mg 荧光微球中分别加入 20、40、80 μg 地塞米松抗体,检测 0、0.05、0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 ng/mL 质量浓度的地塞米松样本溶液,记录 T/C,比较半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50}), IC_{50} 最低者为灵敏度最佳者。

(2)重复性测定

使用湿法制备的试纸条对阴性样本重复检测 10 次,记录 T/C,计算平均值、标准偏差(standard deviation, SD)和变异系数(coefficient of variation, CV)。

(3)检出限

将地塞米松标准储备液用 $0.01\ \text{mol}/\text{L}$ 的 PBS 配制为 0、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.10 ng/mL 的不同质量浓度的地塞米松样本溶液,使用湿法制备的试纸条对不同质量浓度的地塞米松样本溶液进行检测,绘制标准曲线。以阴性样本的检测 T/C 均值减去 2SD,再减去 0.06~0.10 ng/mL 附近多个质量浓度样本检测 T/C 值的 2SD,得到样本 T/C 值,代入标准曲线方程,计算对应的浓度,即为地塞米松样本溶液的检出限。

(4)牛奶样本灵敏度及准确度检测

向牛奶中添加地塞米松标准储备液,并用牛奶稀释成 1.0、0.5、0.4、0.3、0.2、0.1 ng/mL ,使用湿法制备的试纸条测定含不同质量浓度地塞米松的牛奶及未添加地塞米松牛奶的 T/C 值,考查牛奶样本检测的灵敏度及准确度。

1.2.6 数据处理

试验数据采集通过荧光免疫分析仪自带软件完成,通过 Microsoft office Excel 2019 整理汇总,采用 Origin 2022 软件进行数据统计分析并绘图。

2 结果与分析

2.1 干法与湿法试纸条检测灵敏度比较

采用 3 种抗体标记量的荧光微球,分别使用干法和湿法试纸条测定不同质量浓度的地塞米松溶液。干法检测的结果见表 1 和图 2;使用湿法试纸条测定质量浓度为 1.00 ng/mL 地塞米松溶液时 T 线消线,故将湿法检测的地塞米松溶液质量浓度确定在 0~1.00 ng/mL ,结果见表 2 和图 3。在考察干法和湿法两种方法时,湿法中待测溶液和

表 1 干法试纸条检测不同质量浓度地塞米松的 T/C 结果
Table 1 T/C results of different dexamethasone concentrations detected by dry format

不同质量浓度地塞米松溶液/ 抗体标记量 (ng/mL)	0	0.1	1.0	10.0	100.0
20 μg 抗体/mg 微球	1.4103	1.3833	1.0155	0.3104	0.0000
40 μg 抗体/mg 微球	1.4089	1.5440	1.4187	0.4018	0.0379
80 μg 抗体/mg 微球	1.8036	1.6733	1.4665	0.4382	0.0323

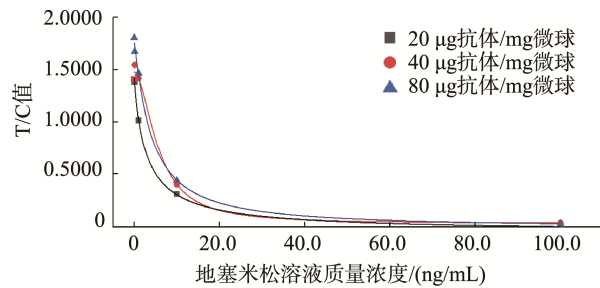


图 2 地塞米松质量浓度与 T/C 相关性图(干法)
Fig.2 Correlation diagram of dexamethasone concentration and T/C (dry format)

结合垫单独在酶标板孔中反应 2 min, 增加了待测溶液中地塞米松和结合垫上的地塞米松抗体荧光微球的接触时间, 使两者结合更充分; 而干法中待测溶液的地塞米松随着层析的进行, 可能存在地塞米松和结合垫上的荧光微球抗体结合不完全充分, 所以采用湿法能提高检测的灵敏度。干法试纸条的 IC_{50} 都大于 2.7 ng/mL; 当以 20 μg 抗体/mg 微球为标记量时, 湿法试纸条的 IC_{50} 约为 0.10 ng/mL, 当以 40、80 μg 抗体/mg 微球为标记量时, IC_{50} 约为 0.40 ng/mL, 都小于干法试纸条的 IC_{50} , 由此可知湿法灵敏度更高, 因此选择湿法制备的试纸条进行后续试验。

表 2 湿法试纸条检测不同质量浓度地塞米松的 T/C 结果
Table 2 T/C results of different dexamethasone concentrations detected by wet format

不同质量浓度地塞米松溶液/ 抗体标记量 (ng/mL)	0	0.05	0.10	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00
20 μg 抗体/mg 微球	2.1953	1.3556	1.0352	0.3532	0.0330	0.0000	0.0000	0.0000
40 μg 抗体/mg 微球	0.8932	0.8961	0.8200	0.6739	0.3929	0.0802	0.0653	0.0111
80 μg 抗体/mg 微球	0.8918	0.8689	0.8139	0.8226	0.4278	0.1786	0.1598	0.0226

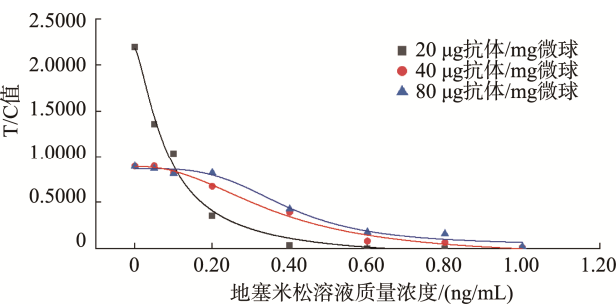


图 3 地塞米松质量浓度与 T/C 相关性图(湿法)
Fig.3 Correlation diagram of dexamethasone concentration and T/C (wet format)

的地塞米松样本溶液时, 20 μg 抗体/mg 微球标记量的试纸条, T 线已消线, 而 40、80 μg 抗体/mg 微球标记量的试纸条, T 线清晰可见, 由此可知 20 μg 抗体/mg 微球的标记量的微球灵敏度最佳。利用表 2 中显示的 3 种抗体标记量的微球制备的湿法试纸条检测不同质量浓度地塞米松溶液, 20 μg 抗体/mg 微球标记量的试纸条, IC_{50} 约为 0.10 ng/mL, 40、80 μg 抗体/mg 微球标记量的试纸条, IC_{50} 约为 0.40 ng/mL, 也表明 20 μg 抗体/mg 微球的标记量的微球灵敏度最佳。故将 20 μg 抗体/mg 微球的标记量的微球, 作为后续性能分析的条件。

2.2 微球最佳抗体标记量

使用 3 种抗体标记量, 在湿法制备的试纸条上检测不同质量浓度地塞米松溶液, 结果见图 4 所示, 可以看出不管何种标记量的荧光微球制备的试纸条, 随着检测地塞米松质量浓度的增高, T 线的颜色逐渐减弱。检测 0.40 ng/mL

2.3 重复性试验

使用 20 μg 抗体/mg 微球的标记量的微球制备湿法试纸条, 对阴性样本进行重复性检测。经计算 10 个阴性样品的 T/C 值为 1.9891 ± 0.1634 , 变异系数 CV 为 8.2%, 重复性较好, 说明本研究使用的 20 μg 抗体/mg 微球的标记量的微球制备湿法试纸条重复性较佳且适用于检测地塞米松。

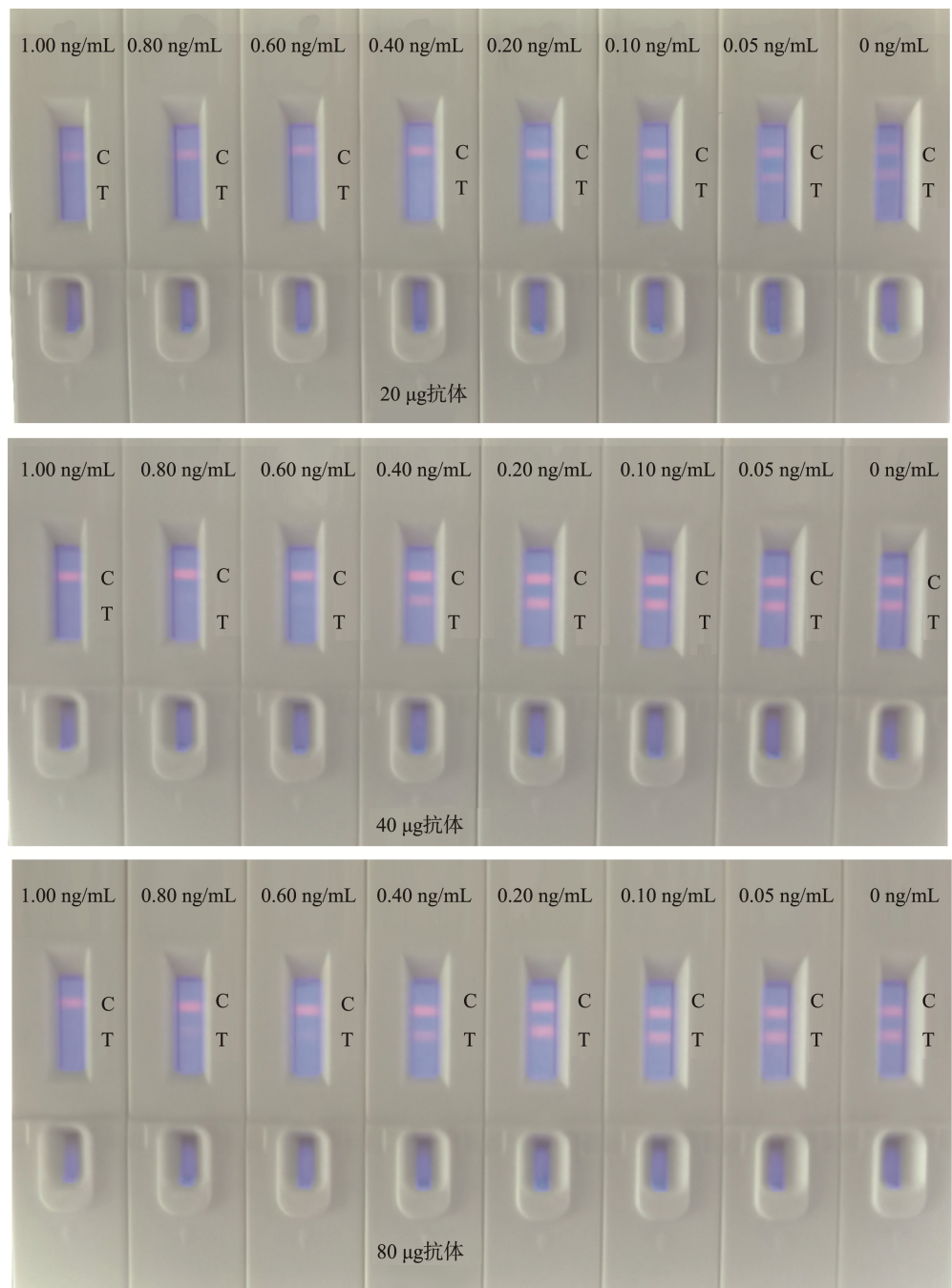


图 4 3 种抗体标记量的微球检测不同质量浓度地塞米松的结果

Fig.4 Results of different dexamethasone concentrations detected by 3 kinds of microspheres labeled with different amount of antibody

2.4 检出限

以地塞米松的质量浓度(X , ng/mL)为横坐标, 以 T/C 值(Y)为纵坐标作图, 建立标准曲线, 如图 5 所示。按 1.2.5 中(3)中的方法计算检出限为 0.07 ng/mL。该方法检测地塞米松溶液灵敏度较高。

2.5 牛奶样本灵敏度和准确度检测结果

对含有不同质量浓度地塞米松的牛奶进行检测, 以添加

地塞米松的质量浓度(X , ng/mL)为横坐标, 以 T/C 值(Y)为纵坐标, 做非线性拟合分析, 曲线见图 6, 得到 4 参数拟合曲线方程为: $Y=(A_1-A_2)/[1+(X/X_0)^p]+A_2$, 式中 $A_1=4.4903$ 、 $A_2=0.4805$ 、 $X_0=0.2366$ 、 $p=3.1146$ 、 $r^2=0.9967$; 其中 A_1 为地塞米松质量浓度为 0 ng/mL 对应的 T/C , A_2 为地塞米松质量浓度为 1.0 ng/mL 对应的 T/C ; X_0 为牛奶中地塞米松半抑制浓度 IC_{50} , p 为 IC_{50} 处对应的斜率。由拟合曲线方程可知 $IC_{50}=0.24$ ng/mL, 能够满足对牛奶中的地塞米松的最高残留限量的检测。

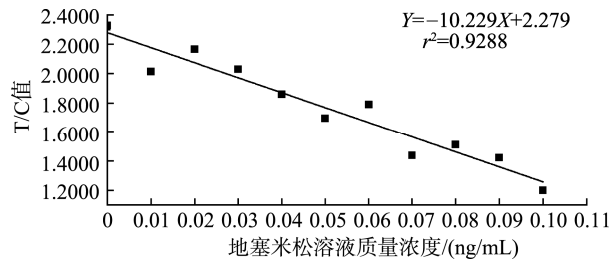


图 5 地塞米松溶液响应曲线
Fig.5 Response curve of dexamethasone solution

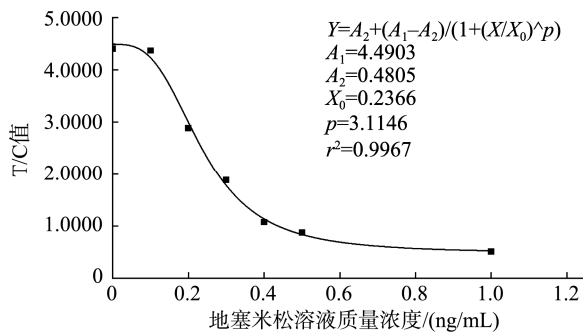


图 6 牛奶中地塞米松质量浓度响应曲线
Fig.6 Response curve of dexamethasone concentration in milk

向空白牛奶中分别添加不同质量浓度的地塞米松标准溶液, 计算回收率, 结果见表 3, 回收率在 77.63%~121.58%, 分析结果显示, 在 0.3 ng/mL 左右时地塞米松的回收率更好, 结合灵敏度的结果, 表明该方法准确度较好。

表 3 测定牛奶样品中地塞米松的回收率
Table 3 Spiked recoveries of dexamethasone in milk samples

添加地塞米松 质量浓度/(ng/mL)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	1.0
地塞米松质量浓度 测定值/(ng/mL)	0.078	0.210	0.290	0.420	0.480	1.220
回收率/%	77.63	103.67	96.34	103.84	96.67	121.58

2.6 实际样品测定

应用本法制备的试纸条对 3 种市售的牛奶进行测定, 3 种牛奶均未检出地塞米松药物残留。

3 结 论

本研究通过对时间分辨荧光微球标记地塞米松抗体的筛选、干法与湿法制备试纸条灵敏度的比较, 建立了一种时间分辨荧光免疫层析快速检测牛奶中地塞米松的方法。该方法重复性检测中变异系数 CV 为 8.2%, 地塞米松

溶液的检出限为 0.07 ng/mL, 回收率为 77.63%~121.58%, 检测牛奶中地塞米松的 IC₅₀ 为 0.24 ng/mL(即 0.24 μg/kg)。该方法能够满足牛奶中的最高残留限量(0.3 μg/kg)检测要求, 且操作简便快捷, 加样 10 min 后即可出结果, 适合现场快速检测, 为牛奶中地塞米松药物残留的快速检测提供了新途径。

参考文献

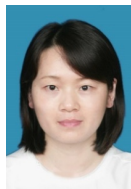
- [1] 李存, 吴银良, 杨挺. 同位素稀释高效液相色谱串联质谱法测定猪肝中地塞米松和倍他米松残留量[J]. 分析化学, 2010, 38(2): 271-274.
LI C, WU YL, YANG T. Simultaneous determination of dexamethasone and betamethasone in swine liver by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry with isotope dilution [J]. Chin J Anal Chem, 2010, 38(2): 271-274.
- [2] 马育松, 葛娜, 郭春海, 等. 液相色谱-质谱/质谱法测定牛奶和奶粉中地塞米松残留量[J]. 检验检疫学报, 2011, 21(6): 21-24.
MA YS, GE N, GUO CH, et al. Determination of dexamethasone residues in milk and milk powder using LC-MS-MS [J]. J Insp Quar, 2011, 21(6): 21-24.
- [3] 肖和良. 正确使用地塞米松的方法[J]. 中国畜牧业, 2019, (18): 72-73.
XIAO HL. How to use dexamethasone correctly [J]. China Anim Husb, 2019, (18): 72-73.
- [4] 张燕, 徐幸, 陈朋云, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定畜禽肉和牛奶中地塞米松和氯丙嗪残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(20): 7946-7951.
ZHANG Y, XU X, CHEN PY, et al. Simultaneous determination of dexamethasone and chlorpromazine residues in livestock and poultry meat and milk by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(20): 7946-7951.
- [5] 陈凤燕, 盘焯晖, 陆曼芝, 等. 食品中糖皮质激素残留检测方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(19): 7541-7548.
CHEN FY, PAN ZH, LU MZ, et al. Research progress on the detection methods of glucocorticoids in food [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(19): 7541-7548.
- [6] 罗晓琴, 郝士元, 杨昌松, 等. 酶联免疫法检测鸡肉中的地塞米松残留[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2013, (19): 77-78.
LUO XQ, HAO SY, YANG CS, et al. Detection of dexamethasone residue in chicken by enzyme-linked immunosorbent assay [J]. Heilongjiang Anim Sci Vet Med, 2013, (19): 77-78.
- [7] 周芳, 邢晓玲, 余春苗, 等. 动物源性食品中地塞米松残留检测技术的研究进展[J]. 食品安全导刊, 2022, (16): 171-176.
ZHOU F, XING XL, YU CM, et al. Research progress on detection technology of dexamethasone residues in animal-derived foods [J]. China Food Saf Mag, 2022, (16): 171-176.
- [8] 农业部. 猪可食性组织中地塞米松残留检测方法高效液相色谱法(农

- 业部 985 号公告-6-2007)[EB/OL]. [2007-12-29]. http://www.moa.gov.cn/gk/tzgg_1/gg/200801/t20080110_952083.htm [2022-03-08].
- Ministry of Agriculture. Determination of dexamethasone residues in pig edible tissue by high performance liquid chromatography (Ministry of Agriculture Announcement No. 985-6-2007) [EB/OL]. [2007-12-29] http://www.moa.gov.cn/gk/tzgg_1/gg/200801/t20080110_952083.htm [2022-03-08].
- [9] 周佳, 许敬东, 张祖花. 同时检测畜禽肉中呋喃唑酮、地塞米松残留高效液相色谱法的建立[J]. 肉类工业, 2010, (10): 46-49.
- ZHOU J, XU JD, ZHANG ZH. Simultaneous detection of furazolidone and dexamethasone residues in animal edible tissues by HPLC [J]. Meat Ind, 2010, (10): 46-49.
- [10] MCLAUGHLIN LG, HENINO JD. Determination of dexamethasone in bovine tissues by coupled-column normal-phase high-performance liquid chromatography and capillary gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Chromatogr, 1990, 529(1): 1-19.
- [11] THOMAS ME, JOHN SD, ROGER TW, *et al.* Determination of dexamethasone in liver and muscle by liquid chromatography and gas chromatography/mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 1995, 43: 140-145.
- [12] DRAISCI R, MARCHIAFAVA C, PALLESCHI L, *et al.* Accelerated solvent extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry quantitation of corticosteroid residues in bovine liver [J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 2001, 753(2): 217-223.
- [13] ANTIGNAC JP, BIZEC BL, MONTEAU F, *et al.* Multi-residue extraction-purification procedure for corticosteroids in biological samples for efficient control of their misuse in livestock production [J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 2001, 757(1): 11-19.
- [14] 任宏彬, 花锦, 杨蒲晨, 等. 固相萃取-高效液相色谱-质谱联用检测牛奶中地塞米松残留[J]. 农产品质量与安全, 2021, (2): 45-48.
- REN HB, HUA J, YANG PC, *et al.* Determination of dexamethasone residues in milk by SPE-HPLC-MS/MS [J]. Qual Saf Agro-prod, 2021, (2): 45-48.
- [15] 陈妍, 倪伟华, 王丽丽, 等. 高效液相色谱串联质谱法快速测定牛奶中地塞米松残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(11): 3672-3677.
- CHEN Y, NI WH, WANG LL, *et al.* Rapid determination of dexamethasone residues in milk by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(11): 3672-3677.
- [16] URAL MN, KOTAN AA. Simple and rapid LC-MS/MS method for determination of dexamethasone in bovine milk [J]. Mac Vet Rev, 2020, 43(1): 69-73.
- [17] 仲伶俐, 郭灵安, 毛建霏, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定牛奶中替米考星、地塞米松、氟苯尼考和氯霉素残留[J]. 中国畜牧兽医, 2018, 45(9): 2645-2652.
- ZHONG LL, GUO LAN, MAO JF, *et al.* Simultaneous determination of tilmicosin, dexamethasone, florfenicol and chloramphenicol residues in milk by UPLC-MS/MS method [J]. China Anim Husband Vet Med, 2018, 45(9): 2645-2652.
- [18] 陈少莉, 吴学贵, 王一晨, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定动物源性食品中的地塞米松残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(21): 7395-7400.
- CHEN SL, WU XG, WANG YC, *et al.* Rapid determination of dexamethasone residue in animal-origin foods by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(21): 7395-7400.
- [19] 杨毅青, 王莉佳, 马增辉, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源基质中地塞米松的残留量[J]. 食品安全导刊, 2021, (31): 93-95.
- YANG YQ, WANG LJ, MA ZH, *et al.* Determination of dexamethasone residues in animal matrix by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. China Food Saf Mag, 2021, (31): 93-95.
- [20] 曹丽丽, 周鑫达, 张爱芝, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-大气压化学电离-串联质谱法测定多种动物源性食品中的地塞米松残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(15): 5080-5087.
- CAO LL, ZHOU XD, ZHANG AIZ, *et al.* Determination of dexamethasone residues in various animal derived foods by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(15): 5080-5087.
- [21] WANG ZX, ZHENG QK, GUO LL, *et al.* Preparation of an anti-dexamethasone monoclonal antibody and its use in development of a colloidal gold immunoassay [J]. Food Agric Immunol, 2017, 28(6): 958-968.
- [22] ZHANG SW, YAO TQ, WANG SF, *et al.* Development of an upconversion luminescence nanoparticles-based immunochromatographic assay for the rapid detection of dexamethasone in animal tissue [J]. Food Anal Methods, 2019, 12: 752-760.
- [23] LI X, CHEN X, WU J, *et al.* Portable, rapid, and sensitive time-resolved fluorescence immunochromatography for on-site detection of dexamethasone in milk and pork [J]. Foods, 2021, 10(6): 1339.
- [24] SOLOMUN B, BILANDZIC N, VARENINA I. Validation of a multi-residue enzyme-linked immunosorbent assay for qualitative screening of corticosteroids in liver, urine and milk [J]. Food Addit Contam A, 2011, 28(9): 1175-1186.
- [25] VDOVENKO MM, GRIBAS AV, VYLEZHANINA AV, *et al.* Development of a chemiluminescent enzyme immunoassay for the determination of dexamethasone in milk [J]. Anal Methods, 2012, 4(8): 2550-2554.
- [26] 赖晓虹. CK-MB 时间分辨荧光免疫层析试纸条的研制[D]. 广州: 广州中医药大学, 2016.

- LAI XH. Development of CK-MB time-resolved fluorescent immunochromatography strip [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2016.
- [27] 米亚双. CA19-9 时间分辨荧光免疫层析检测方法的建立[D]. 新乡: 河南师范大学, 2018.
- MI YS. Establishment of a time-resolved fluorescence immunochromatographic assay for detection of CA19-9 [D]. Xinxiang: Henan Normal University, 2018.
- [28] 李媛, 毛翔, 胡军, 等. 时间分辨荧光在免疫分析中的应用进展[J]. 公共卫生与预防医学, 2021, 32(3): 111–116.
- LI Y, MAO X, HU J, *et al.* Application progress of time-resolved fluorescence in immunoassay [J]. J Public Health Prev, 2021, 32(3): 111–116.
- [29] 陈俊珺. 基于时间分辨荧光微球免疫层析试纸条对食品中两种抗生素残留的检测方法研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2021.
- CHEN JJ. Development of a time-resolved fluorescent microsphere immunochromatographic strip test for simultaneous detection of two antibiotics in food [D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2021.
- [30] 赖科洋, 陈媛. 时间分辨荧光微球免疫层析法定量检测克伦特罗[J]. 江西科学, 2018, 36(2): 244–247.
- LAI KY, CHEN Y. Lateral flow assay based on time-resolved fluorescent nanobeads for quantitative detection of clenbuterol [J]. Jiangxi Sci, 2018, 36(2): 244–247.
- [31] 李森. 基于荧光免疫层析定量检测牛奶中真菌毒素的方法研究及试纸条研制[D]. 无锡: 江南大学, 2021.
- LI M. Research on quantitative detection of mycotoxins in milk and development of test strips based on fluorescence immunochromatography [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.
- [32] 崔乃元, 赵义良, 马立才, 等. 水产品中氯霉素时间分辨荧光免疫层析定量检测方法[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(24): 241–245.
- CUI NY, ZHAO YL, MA LC, *et al.* Quantitative determination of chloramphenicol in aquatic products by time-resolved fluorescence immunochromatography [J]. Food Ferment Ind, 2019, 45(24): 241–245.

(责任编辑: 黄周梅 于梦娇)

作者简介



周 芳, 硕士, 讲师, 主要研究方向为药学。

E-mail: 105397493@qq.com