DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251114001
引用格式: 胡建刚, 陈媛, 罗凯, 等. 量子点微球荧光免疫层析法检测生姜中噻虫胺和噻虫嗪[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(3): 300–308.
HU JG, CHEN Y, LUO K, *et al*. Detection of clothianidin and thiamethoxam in ginger by quantum beads based fluorescent immunochromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(3): 300–308. (in Chinese with English abstract).

量子点微球荧光免疫层析法检测生姜中噻虫胺和噻虫嗪

胡建刚[1], 陈　媛[2], 罗　凯[2,3], 娄行行[1], 姚　蕾[1], 陈珍珍[3], 赖卫华[3*]

(1. 绍兴市食品药品检验研究院, 国家黄酒产品质量检验检测中心, 绍兴　312000; 2. 江西维邦生物科技有限公司, 南昌　330029; 3. 南昌大学食品科学与资源挖掘全国重点实验室, 南昌　330047)

摘　要: 目的　建立一种可同时快速灵敏检测生姜中噻虫胺和噻虫嗪的量子点微球荧光免疫层析法。**方法**　本研究对 2 个项目的标记 pH、抗体标记浓度及反应缓冲液体系进行了优化, 通过量子点微球试纸条检测仪读取试纸条上检测线和质控线的荧光信号强度, 以噻虫胺、噻虫嗪的浓度为横坐标, 以检测线和质控线荧光信号强度的比值为纵坐标, 建立标准曲线。**结果**　该方法定量检测范围噻虫胺为 0.0625~8.0000 μg/L、噻虫嗪为 0.125~16.000 μg/L; 最低检出限噻虫胺为 0.032 μg/L、噻虫嗪为 0.070 μg/L; 加标回收率噻虫胺为 84.60%~124.05%、噻虫嗪为 88.27%~116.40%。与 8 种常见药物交叉反应率小于 1%。**结论**　该方法具有样本前处理统一、检测简便快速、灵敏度高、可同时出具 2 个项目定量结果等特点, 适合于大批量样品的现场筛查。

关键词: 量子点荧光微球; 噻虫胺; 噻虫嗪; 检测; 荧光免疫层析法

Detection of clothianidin and thiamethoxam in ginger by quantum beads based fluorescent immunochromatography

HU Jian-Gang[1], CHEN Yuan[2], LUO Kai[2,3], LOU Xing-Xing[1], YAO Lei[1], CHEN Zhen-Zhen[3], LAI Wei-Hua[3*]

(1. *Shaoxing Testing Institute of Food and Drug*, *National Center for Quality Inspection and Testing of Chinese Rice Wine*, *Shaoxing* 312000, *China*; 2. *Jiangxi Weibang Biotechnology Co*., *Ltd.*, *Nanchang* 330029, *China*; 3. *National Key Laboratory of Food Science and Resource Exploration*, *Nanchang University*, *Nanchang* 330047, *China*)

ABSTRACT: Objective　To establish a quantum dot microsphere based fluorescent immunochromatographic method for the rapid, sensitive and simultaneous detection of clothianidin and thiamethoxam in ginger. **Methods**　In this study, the labeling pH, antibody labeling concentration and reaction buffer system of the 2 items were optimized. The fluorescence signal intensity of the test line and quality control line on the test strip was measured by the quantum dot microspheres test strip detector. The concentration of clothianidin and thiamethoxam was used as the abscissa, and

收稿日期: 2025-11-14
基金项目: 浙江省市场监管政策研究课题项目(ZSJY2025059); 国家重点研发计划项目(2024YFF1105703)
第一作者: 胡建刚(1984—), 男, 高级工程师, 主要研究方向为食品检测。E-mail: Hujg0410@163.com
***通信作者:** 赖卫华(1968—), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为食品中高风险危害因子的快速检测。E-mail: laiweihua@ncu.edu.cn

the ratio of fluorescence signal intensity of the test line and quality control line was used as the ordinate to establish a standard curve. **Results** The quantitative detection ranges were 0.0625–8.0000 μg/L for clothianidin and 0.125–16.000 μg/L for thiamethoxam. The minimum limits of detection for thiamethoxam were 0.032 μg/L and for thiamethoxam were 0.070 μg/L. The recovery rates of standard addition for clothianidin ranged from 84.60% to 124.05%, and for thiamethoxam from 88.27% to 116.40%. The cross-reaction rate with 8 kinds of common drugs is less than 1%. **Conclusion** This method features unified sample pretreatment, simple and rapid operation, high sensitivity and simultaneous quantitative results for 2 analytes, making it suitable for on-site screening of large batches of samples.

KEY WORDS: quantum beads; clothianidin; thiamethoxam; detection; fluorescent immunochromatography

0 引　言

噻虫胺(clothianidin, CTD)和噻虫嗪(thiamethoxam, TMX)均为第二代新烟碱类杀虫剂, 作用于烟碱乙酰胆碱受体, 具有触杀、胃毒和内吸活性[1–2], 主要用于防治水稻、蔬菜、果树等作物上的蚜虫、叶蝉、蓟马、飞虱等半翅目、鞘翅目、双翅目及部分鳞翅目害虫[3–6]。CTD 与 TMX 用药不规范导致蔬菜水果中残留限量不符合食品安全国家标准的规定, 如果人长期食用 CTD 和 TMX 超标的食品, 会引起恶心、呕吐等胃肠道反应, 经皮肤吸收还可以引起慢性神经损伤[7–8]。中国、欧盟及国际食品委员会等国家和组织都制定了 CTD、TMX 在蔬菜水果中的最高残留限量标准, 2025 年 1 月, 英国政府宣布将采取立法措施, 永久终止 3 种新烟碱类农药的紧急使用授权, 具体涵盖含有 TMX、吡虫啉或 CTD 的产品(https://cn.agropages.com/News /NewsDetail-33648.htm), 其中我国 GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》中规定, 在生姜中 CTD 的最大残留限量为 0.2 mg/kg, TMX 的最大残留限量为 0.3 mg/kg[9]。CTD 和 TMX 的使用较为广泛, 特别是在生姜种植过程中使用, 因此生姜中检出 TMX 及 CTD 的报道较常见[10–11], 仅 2025 年, 全国多地市场监管部门查处了多起生姜中 CTD、TMX 超标的案件, 如: 2025 年 4 月, 上海市静安区检察院在专项监督中发现某生鲜店销售的生姜 CTD 含量为 1.0 mg/kg; 8 月, 陕西省白水县市场监管局对两家蔬菜店销售的生姜进行抽检, 发现 CTD 实测值分别为 0.56 mg/kg 和 0.39 mg/kg; 10 月, 江苏仪征市青山镇小汪蔬菜经营部销售的生姜被检出 CTD、TMX 双超标, 市场监管部门已立案调查。因此建立一种能够快速灵敏检测生姜中 CTD 和 TMX 的方法具有十分重要的意义。

目前, CTD 和 TMX 的检测主要有液相色谱法[12–13]、液相色谱-质谱法[14–16]、酶联免疫吸附法[17–18]及免疫层析法[19–20]等, 虽然液相色谱法和液相色谱-质谱法具有良好的灵敏度和特异性, 但由于其检测设备昂贵、检测时间长、需要专业的技术人员及无法实现现场检测等缺点, 难以在基层得到广泛应用。酶联免疫吸附法的检测时间较仪器方法缩短, 但也需要酶标仪等设备且需要在专业实验室中进行[21]。免疫层析法目前包括胶体金免疫层析法和荧光免疫层析法, 其中胶体金免疫层析法快速简便、经济适用、可肉眼判断检测结果, 适合在基层使用, 但是存在灵敏度低, 只能定性判断的缺点[22–23]。因此, 为提高产品检测灵敏度, 使用新型具有高荧光强度的标记材料作为信号探针, 是提高检测灵敏度最简便有效的方法, 通常采用的高荧光材料有时间分辨荧光微球[24–26]、异硫氰酸荧光红(fluorescent red isothiocyanate, FITC)荧光微球[27–29]等。量子点荧光微球(quantum beads, QBs)是由掺入大量量子点纳米颗粒组成的新一代荧光微球材料, 具有荧光强度高、斯托克位移大的优点, 有助于提高免疫层析产品的灵敏度和稳定性[30–31], 据报道使用量子点微球制备的竞争法免疫层析试纸条检测赭曲霉毒素 A 灵敏度达到 0.39 ng/mL。

本研究建立了一种基于量子点微球的荧光免疫层析快速检测方法, 将量子点材料的高荧光强度与免疫层析技术的便利性相结合, 在一张试纸条上可以同时检测 CTD 和 TMX, 使用时样本进行一次前处理,即可得到两项定量检测结果, 为生姜中 CTD 和 TMX 的快速筛查提供了可靠的技术保障, 具有广阔的应用前景。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

XYZ-3000 喷膜仪(德国 Bio-Dot 公司); AF-100 量子点微球荧光免疫分析仪(江西维邦生物科技有限公司); QYC-211 恒温振荡培养箱、DGX-9243B-2 恒温干燥箱(上海福玛实验设备有限公司); H2050R 离心机(湖南湘仪实验室仪器有限公司); JEM-2100 透射电镜(日本 JEOL 公司); Zetasizer Nano ZS 粒度仪(英国马尔文仪器有限公司)。

QBs(质量浓度 10 mg/mL, 200 nm, 激发波长: 365 nm, 发射波长: 610 nm)、CTD 单克隆抗体(CTD monoclonal antibody, mAb_{CTD})、CTD 抗原(CTD antigen, Ag_{CTD})、TMX 单克隆抗体(TMX monoclonal antibody, mAb_{TMX})、TMX 抗原(TMX antigen, Ag_{TMX})、羊抗鼠抗体(江西维邦生物科技有限公司); 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐、N-羟基硫代琥珀酰亚胺(纯度>98%, 德国 Sigma 公司); 硝酸纤维素膜(NC 膜, Sartorius 公司); 玻璃纤维垫、吸水纸、样本垫(上海金标生物技术有限公司); CTD、TMX、吡虫啉、

啶虫脒、克百威、多菌灵、腐霉利、水胺硫磷、嘧霉胺、甲萘威等标准品(纯度>99%, 德国 DR.E 公司); 牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)(纯度>98%, 上海生工生物科技有限公司); 磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、氯化钠、氯化钾、2-吗啉乙磺酸、3-吗啉丙磺酸、4-羟乙基哌嗪乙磺酸、三羟甲基氨基甲烷(分析纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 QBs-mAb$_{CTD}$及 QBs-mAb$_{TMX}$信号探针的制备

QBs-mAb$_{TMX}$信号探针的制备: 取 10 μL QBs (10 mg/mL), 加入 990 μL 0.01 mol/L PB (pH=6.0)中, 超声 2 min。加入 64 μL 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(0.05 mg/mL, 现配现用)和 64 μL N-羟基硫代琥珀酰亚胺(0.025 mg/mL, 现配现用), 在 37 ℃ 120 r/min 摇床中振荡 15 min 后加入 200 μL mAb$_{CTD}$ (20 μg/mg), 在 37 ℃ 120 r/min 摇床中振荡 1 h。加入 100 μL 封闭缓冲液(15% BSA)封闭 1 h, 取出后在 15000 r/min 离心 15 min, 弃去上清液, 沉淀用 500 μL 量子点微球复溶液复溶, 复溶后的探针喷涂到结合垫上。

QBs-mAb$_{TMX}$ 信号探针制备方法同上, 抗体加入量为 100 μL mAb$_{TMX}$ (10 μg/mg)。

1.2.2 量子点微球及探针的表征结果

QBs 的形貌大小通过透射电镜(transmission electron microscope, TEM)表征, QBs、QBs-mAb$_{CTD}$及 QBs-mAb$_{TMX}$水化粒径及 Zeta 电位通过粒度仪表征。

1.2.3 试纸条的制备

参照文献[32]制备试纸条, 并加以修改。具体操作如下: 将 Ag$_{CTD}$用 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲溶液(pH=7.4, PBS)稀释至 0.3 mg/mL, Ag$_{TMX}$用 0.01 mol/L PBS (pH=7.4)稀释至 0.15 mg/mL, 羊抗鼠抗体用 0.01 mol/L PBS (pH=7.4)稀释至 0.5 mg/mL, 随后均使用 XYZ 3000 喷膜仪, 以 1 μL/cm 的喷量分别将上述稀释液喷于 NC 膜上, 对应作为检测线 1 (T$_1$线)、检测线 2 (T$_2$线)与质控线(C 线); 将喷涂好的 NC 膜置于 37 ℃恒温干燥箱中干燥过夜后, 按样本垫、结合垫、NC 膜、吸水纸的顺序依次黏贴组装, 再用切条机切成如图 1 所示的试纸条, 最后装入卡壳中。

1.2.4 检测方法

向检测卡加样孔中加入 90 μL 样本溶液, 在 37 ℃孵育器中反应 10 min, 用量子点微球荧光免疫分析仪读取荧光信号, 得到 T 线和 C 线的信号强度以及比值。

1.2.5 最佳条件的优化

以 pH (5.0、6.0、7.0、8.0、9.0)、标记抗体质量浓度(5、10、20、40、80 mg/mL)、标记缓冲液配方: 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer, PB)、2-吗啉乙磺酸缓冲液(2-morpholinoethanesulfonic acid buffer, MES)、3-吗啉丙磺酸缓冲液(3-morpholinopropanesulfonic acid buffer, MOPS)、4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液[4-(2-hydroxyethyl) piperazine-1-ethanesulfonic acid buffer, HEPES]、三羟甲基氨基甲烷缓冲液[tris(hydroxymethyl) aminomethane buffer, Tris]为单因素, 对试纸条的工艺参数进行优化, 根据 T 线和 C 线荧光信号强度的比值和抑制率, 选取最优工艺参数。

1.2.6 量子点微球荧光免疫层析法定量检测生姜中 CTD 和 TMX

(1)样本的前处理

称取 2 g±0.1 g 生姜样本, 加入 5 mL 80%乙腈溶液, 振荡 2 min, 取上清液用 0.01 mol/L 的 PBS 溶液稀释 10 倍得到待测溶液进行检测。如果检测结果超出项目定量检测范围, 则使用 0.01 mol/L 的 PBS 将待测液再次进行稀释后检测, 将检测结果乘以稀释倍数为最终检测结果。

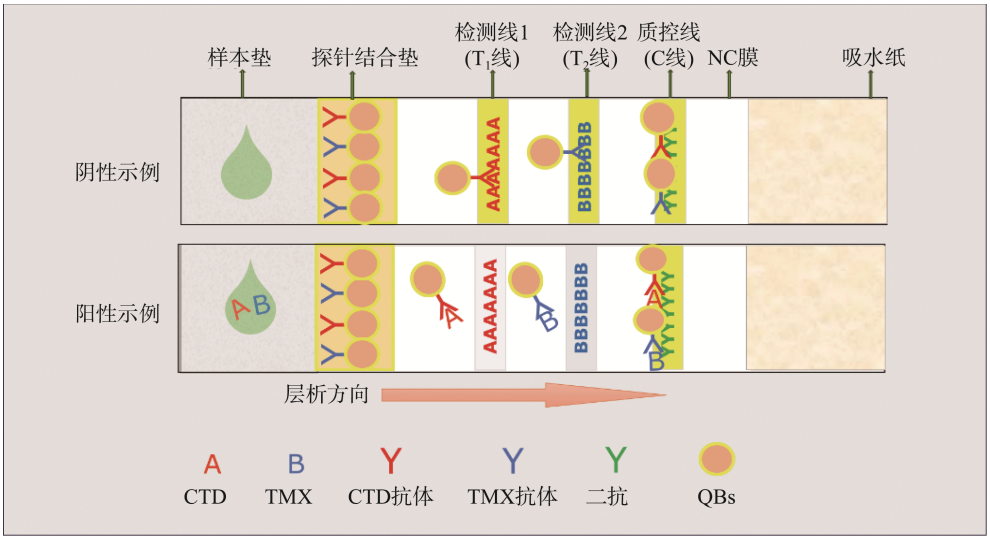


图 1 量子点微球免疫层析试纸条结构及原理图

Fig.1 Schematic and schematic diagram of quantum beads immunochromatographic test strip

(2)标准曲线的绘制

将 CDT 加标质量浓度设置为 0.0625、0.1250、0.2500、0.5000、1.0000、2.0000、4.0000 和 8.0000 μg/L 8 个质量浓度, 将 TMX 加标浓度设置为 0.125、0.250、0.500、1.000、2.000、4.000、8.000 和 16.000 μg/L 8 个质量浓度, 每个质量浓度用试纸条检测 3 次, 分别绘制标准曲线。

(3)方法的准确度

通过在 3 个阴性生姜样本中加标, 加标浓度 CTD 设置为 0.1、0.2、0.4、0.8 mg/kg, TMX 设置为 0.15、0.30、0.60 和 1.20 mg/kg 各 4 个浓度, 计算回收率得到方法的正确度, 计算变异系数(coefficient of variation, CV)得到方法的精密度。

(4)特异性评价

在空白样本中添加 8 种常见农药: 吡虫啉、啶虫脒、克百威、多菌灵、腐霉利、水胺硫磷、嘧霉胺和甲萘威, 使终质量浓度均为 100 μg/L, 用最佳条件的试纸条检测, 计算 T 线和 C 线信号强度的比值, 代入标准曲线中计算检测结果, 通过以下公式计算交叉反应率: 交叉反应率/%=(待测物的浓度/交叉反应物质的浓度)×100%, 每次检测重复 3 次, 评价方法的特异性。

(5)免疫动力学曲线的监测

从样本加入检测卡中反应 1 min 开始, 每隔 30 s 检测一次, 记录阴性和阳性测值的荧光信号比值, 一共监测 20 min, 评价免疫动力学曲线的变化, 以评估检测卡的最佳检测时间。

1.2.7　液相色谱-串联质谱测定方法

样本前处理: 称取 5 g(精确至 0.01 g)试样于 50 mL 离心管中, 如果为干燥样品则加 5~8 mL 水, 视具体样品而定, 浸泡 0.5 h。加入乙酸-乙腈溶液使乙腈和水总体积为 20 mL, 均质 0.5 min, 摇匀, 在 40 ℃以下超声提取 30 min, 4000 r/min 离心 10 min。取上清液 1.0 mL, 加适量基质分散固相萃取剂净化, 剧烈振摇 1 min, 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液用 0.2 μm 滤膜过滤, 用液相色谱-质谱/质谱仪测定。

色谱条件: 色谱柱: ZORBAX SB-C_{18} (3.0 mm×100 mm, 3.5 μm); 流速: 0.25 mL/min; 柱温: 35 ℃; 进样量: 5 μL ; 流动相: A: 10 mmol/L 乙酸铵(0.1%甲酸), B: 甲醇, 梯度洗脱。

质谱条件: 离子源: 电喷雾离子源; 扫描方式: 正离子扫描; 检测方式: 多反应监测; 鞘气温度: 350 ℃; 鞘气流量: 11 L/min; 干燥气温度: 300 ℃; 干燥气流量: 9 L/min; 雾化气压力: 35 psi; 毛细管电压: 3000 V。

1.3　数据处理

数据分析及绘图采用 Microsoft PowerPoint 2021 和 Origin 2024b 软件完成。除非另有说明, 误差线代表 3 次独立实验的结果。

2　结果与分析

2.1　量子点微球及探针的表征

图 2 为 QBs 及 QBs-mAb 的表征图, 旨在从微观形貌、表面电荷及流体力学尺寸 3 个维度验证 mAb_{CTD} 与 mAb_{TMX} 在 QBs 表面的偶联效果。其中, 图 2(a) TEM 表征结果显示, QBs 呈现规则的球形形貌, 量子点均匀分散状于微球内部; 图 2(b) Zeta 电位测试结果表明, 未偶联抗体的 QBs 因表面羧基等负电官能团解离呈现–37.2 mV 的稳定负电位, 而分别偶联 mAb_{CTD} 与 mAb_{TMX} 后, 其 Zeta 电位分别上升至 –29.6 mV、–28.9 mV, 电位的上升源于抗体分子可结晶片段(fragment crystallizable, Fc)氨基等弱正电基团与 QBs 表面负电基团通过共价结合从而中和部分负电荷, 这一变化既直接证明抗体成功接枝, 也表明偶联后复合物仍保持良好胶体稳定性; 与此同时, 图 2(c)动态光散射测试显示, 未偶联抗体的 QBs 水化粒径为 199.2 nm, 偶联 mAb_{CTD} 与 mAb_{TMX} 后形成的 QBs-mAb_{CTD}、QBs-mAb_{TMX} 水化粒径分别增至 226.6 nm、219.5 nm, 增幅分别达 27.4 nm 及 20.3 nm, 进一步证实 mAb_{CTD} 与 mAb_{TMX} 已成功偶联至 QBs 表面。偶联后 QBs-mAb 复合物保持良好分散性与胶体稳定性, 可作为后续荧光免疫层析检测的核心标记探针。

2.2　最佳条件优化

为实现 mAb_{CTD} 与 mAb_{TMX} 在 QBs 表面的高效偶联并提升后续检测性能, 分别对标记 pH、标记缓冲体系及抗体用量进行优化。

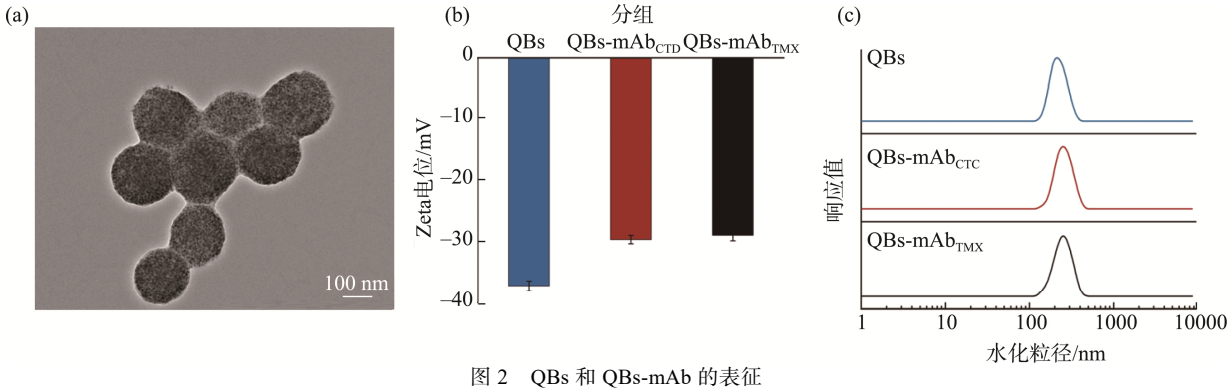


图 2　QBs 和 QBs-mAb 的表征

Fig.2　Characterization of QBs and QBs-mAb

2.2.1 pH 优化结果

如图 3 所示，设置 5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 5 个 pH 梯度水平对标记反应 pH 进行优化。实验以阴性样本检测线荧光强度及阳性抑制率作为关键评价指标，综合评判不同 pH 对检测性能的影响。结果显示，当 pH 为 6.0 时，CTD 与 TMX 对应的阴性 T 线荧光强度均达到峰值，表明该 pH 条件下抗体与 QBs 的偶联效率最高，标记复合物的荧光信号释放最充分；同时，两者的阳性抑制率也处于较高水平，说明偶联后的抗体仍保持良好的免疫活性，能高效结合靶标并实现高灵敏检测。综合荧光强度及阳性抑制率双重指标，确定 6.0 为 mAb_{CTD} 与 mAb_{TMX} 标记的最佳 pH 条件。

2.2.2 抗体标记缓冲体系的优化

如图 4 所示，设置 PB、MES、MOPS、HEPES、Tris 5 个常见缓冲体系进行抗体标记缓冲体系的优化。实验以阴性样本检测线荧光强度及阳性抑制率作为关键评价指标，综合评判不同缓冲液体系对检测性能的影响。结果显示，当采用 PB 缓冲液体系时，CTD 与 TMX 对应的阳性抑制率均达到峰值，表明该体系下免疫反应的灵敏度最优；同时，两者的阴性检测线荧光强度也处于较高水平，说明该缓冲液环境可保障抗体与 QBs 的偶联效率最高，标记复合物的荧光信号释放最充分。综合荧光强度及阳性抑制率双重指标，确定 PB 缓冲溶液为 mAb_{CTD} 与 mAb_{TMX} 标记的最佳探针标记缓冲体系。

2.2.3 标记抗体用量优化

如图 5 所示，设置 5、10、20、40、80 μg/mg 5 个浓度梯度水平进行标记抗体浓度用量优化。实验以阳性抑制率作为关键评价指标辅以阴性样本检测线荧光强度综合评判不同抗体标记浓度对检测性能的影响。结果显示，mAb_{CTD} 在 20 μg/mg 浓度下，阳性抑制率相对较高且阴性检测线荧光信号强度处于较高水平，表明该浓度下 mAb_{CTD} 与 QBs 偶联效率适宜，且偶联后抗体保持良好免疫活性；而 mAb_{TMX} 在 10 μg/mg 浓度时，可同时满足阳性抑制率相对较高与阴性检测线荧光信号强度较高的要求，对应偶联效率与免疫活性的平衡状态最优。综合荧光强度及阳性抑制率双重指标，确定 mAb_{CTD} 标记浓度为 20 μg/mg，mAb_{TMX} 标记浓度为 10 μg/mg。

2.3 标准曲线

以 CTD 和 TMX 质量浓度为横坐标(X, ng/mL)，以 T 线和 C 线荧光信号强度的比值为纵坐标(Y)，建立标准曲线，如图 6 所示。CTD 标准曲线线性回归方程为 $Y=0.044+2.966/(1+X/0.211)^{1.149}$，回归系数 r^2 为 0.9998，定量检测范围为 0.0625~8.0000 ng/mL，检出限(limit of detection, LOD)为 0.032 ng/mL (由 IC10 计算得出)，TMX 标准曲线线性回归方程为 $Y=0.004+3.555/(1+X/0.599)^{1.051}$，回归系数 r^2 为 0.9996，定量检测范围为 0.125~16.000 ng/mL，LOD 为 0.070 ng/mL，

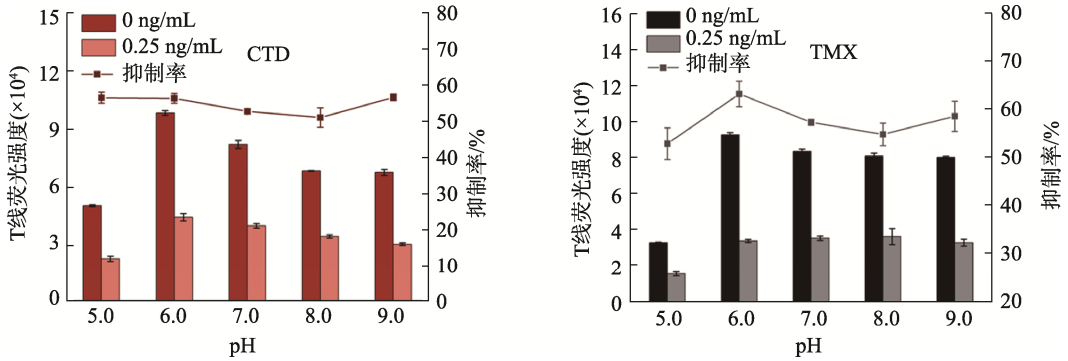


图 3 CTD 和 TMX 偶联 pH 的优化

Fig.3 Optimization of pH for CTD and TMX

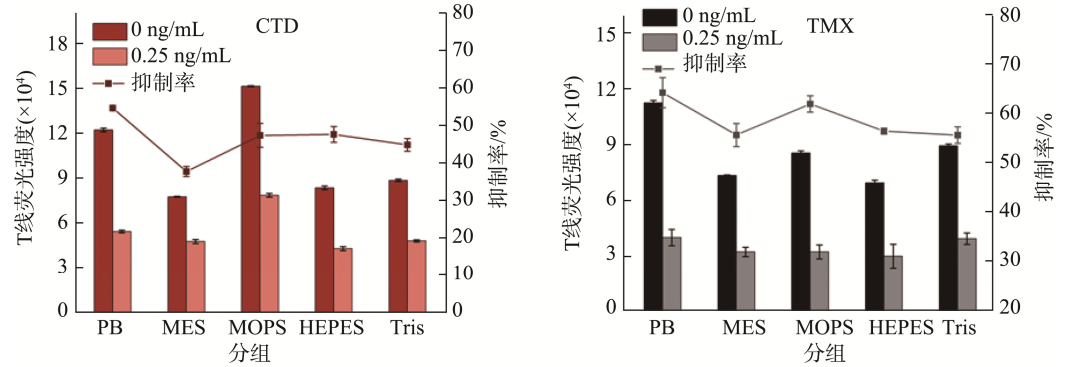


图 4 CTD 和 TMX 偶联缓冲体系的优化

Fig.4 Optimization of buffer system for CTD and TMX

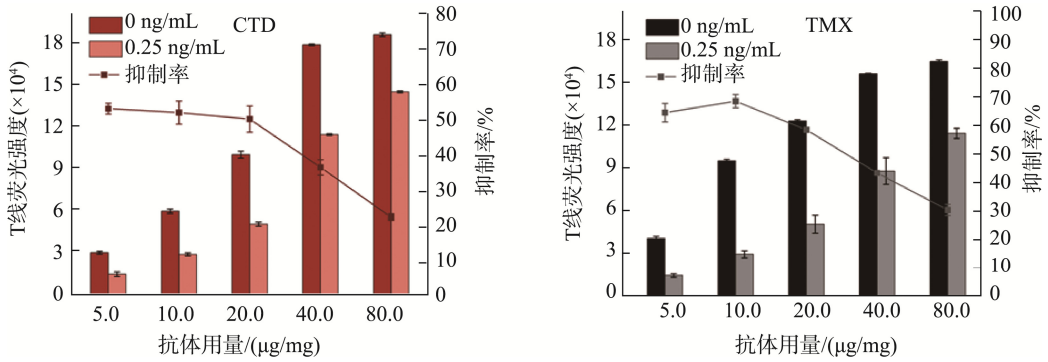
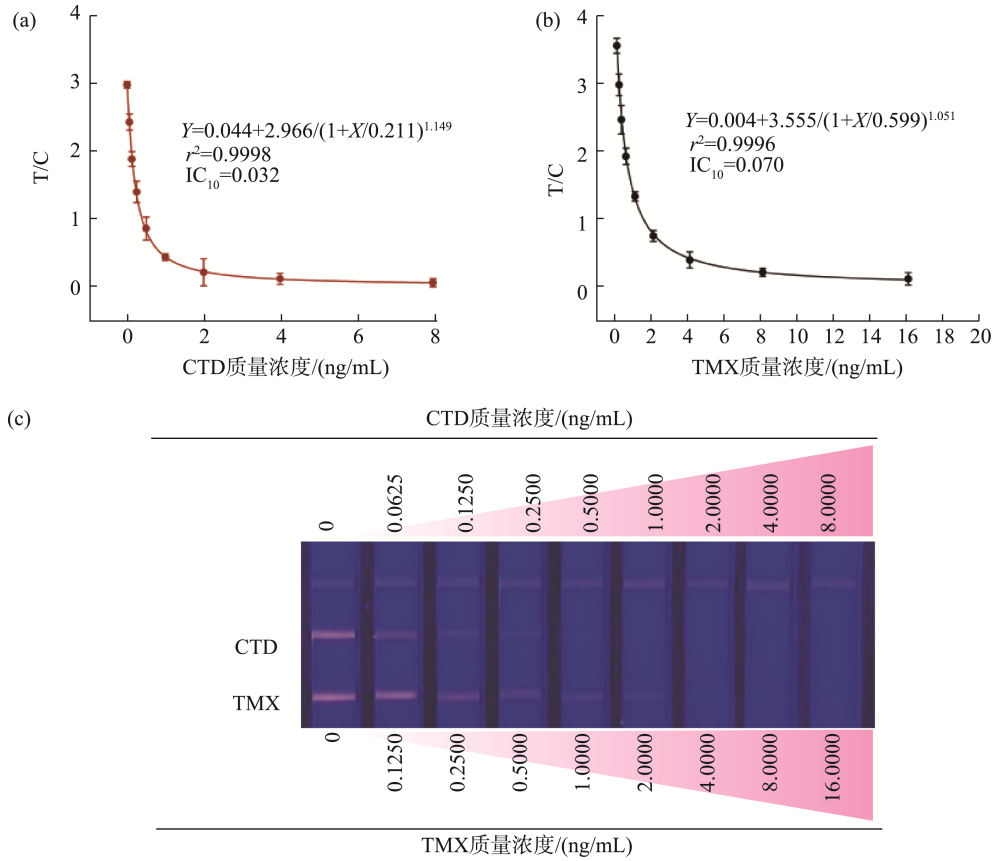


图 5　CTD 和 TMX 抗体标记浓度的优化

Fig.5　Optimization of antibody concentration for CTD and TMX



注: (a) CTD 的标准曲线; (b) TMX 的标准曲线; (c)检测试纸条在添加不同浓度 CTD 与 TMX 并完成层析反应后的图片。10%抑制率(10% inhibition rate, IC10)。

图 6　缓冲液标准曲线

Fig.6　Standard curve in buffer

该方法对两种目标物均表现出良好的检测灵敏度。结合标准曲线与样本前处理稀释倍数计算，确定本方法检测生姜样本时, CTD 的定量检测范围为 0.04~0.60 mg/kg, TMX 的定量检测范围为 0.1~1.0 mg/kg。

2.4　方法的回收率和准确度

通过加标回收实验并计算回收率与 CV 验证本方法的准确度，具体结果如表 1 所示: CTD 的加标浓度分别为 0.1、0.2、0.4、0.8 mg/kg, 对应回收率范围为 84.60%~124.05%, CVs 范围为 1.07%~9.38%; TMX 的加标浓度分别为 0.15、0.30、0.60、1.20 mg/kg, 对应回收率范围为 88.27%~116.40%, CVs 范围为 1.17%~ 12.48%。上述数据表明该方法的准确度满足检测需求。

2.5　特异性

如图 7 所示，为系统验证所建立的量子点微球荧光免疫层析法的特异性，选取 8 种广泛应用的常见农药作为干扰物开展交叉反应试验。结果表明，该方法对所选 8 种常

表 1 方法回收率和准确度

Table 1 Recovery rate and accuracy of the method

样本	TMX				CTD			
	加标浓度/(mg/kg)	测值/(mg/kg)[a]	回收率/%	CVs/%	加标浓度/(mg/kg)	测值/(mg/kg)[a]	回收率/%	CV/%
生姜 1	0.15	0.14	96.53	1.17	0.1	0.10	99.50	4.55
	0.3	0.32	107.25	3.58	0.2	0.21	104.43	6.20
	0.6	0.62	102.91	5.58	0.4	0.38	95.20	5.24
	1.2	1.20	100.09	5.71	0.8	0.84	105.45	9.07
生姜 2	0.15	0.17	116.40	4.78	0.1	0.12	124.05	4.73
	0.3	0.34	111.72	6.52	0.2	0.23	114.53	4.97
	0.6	0.63	104.88	2.98	0.4	0.42	104.16	1.07
	1.2	1.07	89.21	11.49	0.8	0.75	93.27	8.01
生姜 3	0.15	0.13	88.27	5.02	0.1	0.08	84.60	2.51
	0.3	0.31	104.27	12.48	0.2	0.21	107.38	9.38
	0.6	0.64	107.21	1.62	0.4	0.41	101.44	2.28
	1.2	1.15	95.76	8.36	0.8	0.79	98.85	2.72

注: [a]为 3 个测值的均值。

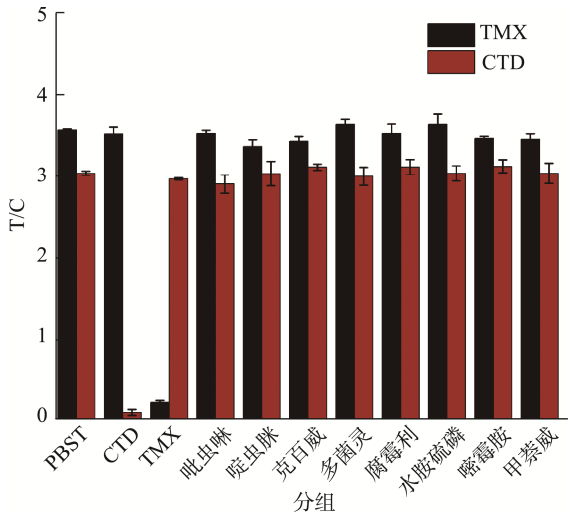


图 7 方法特异性

Fig.7 Specificity of the method

见农药的交叉反应率均小于 1%，这一数据充分印证了标记于量子点微球表面的 mAb_{CTD} 与 mAb_{TMX} 具有高特异性，可有效规避实际样品检测中，因生姜等农产品基质中可能存在的其他农药残留而导致的假阳性结果，为 CTD 与 TMX 的精准定量检测筑牢基础，也进一步保障了该方法在实际农田样品筛查中的可靠性与适用性。

2.6 免疫动力学曲线评价

如图 8 所示，为优化检测效率、满足现场快速筛查的实际应用需求，特对加样后的反应时间进行系统性考察。实验通过设置不同反应时间梯度，动态监测检测线与质控线荧光强度比值(T/C)的变化趋势，以 T/C 的稳定性作为判断免疫反应是否达到平衡的核心依据：当 T/C 趋于稳定时，表明靶标农药与抗体的特异性结合已充分进行，后续检测结果不再随反应时间延长而发生明显波动。结果显示，加

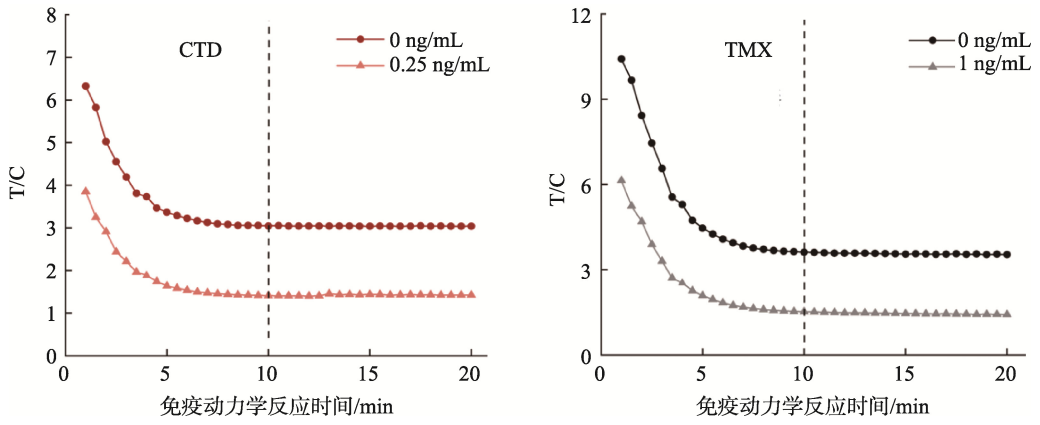


图 8 CTD 及 TMX 免疫动力学曲线

Fig.8 Immunodynamic curve of CTD and TMX

样后反应时间达到 10 min 时, T/C 开始趋于稳定; 继续延长反应时间至 20 min, T/C 与 10 min 时相比无显著性差异, 说明此时免疫反应已完全达到平衡状态, 进一步延长反应时间不会提升检测结果的准确性, 反而会增加检测耗时。综合免疫反应充分性与检测效率双重考量, 确定本方法的最优检测反应时间为 10 min, 该时长既保障了检测结果的稳定性与可靠性, 又能快速完成检测流程, 适配大批量样品的现场快速筛查需求。

2.7　与液相色谱-串联质谱法一致性分析

使用本方法对 10 个未知浓度的真实阳性生姜样本进行检测, 结果如表 2 所示, 通过液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)方法验证, 数据显示本方法与 LC-MS/MS 仪器确证方法检测结果具有良好的一致性。

表 2　两种检测方法一致性分析

Table 2　Consistency analysis of the 2 kinds of detection methods

样本编号	LC-MS/MS 方法检测结果/(mg/kg)		本方法检测结果/(mg/kg)		一致性结果
	CTD	TMX	CTD	TMX	
1	0.47	ND.	0.51	<0.10	符合
2	0.35	0.66	0.32	0.63	符合
3	0.71	0.94	0.68	0.99	符合
4	ND.	0.59	<0.04	0.62	符合
5	ND.	0.62	<0.04	0.58	符合
6	0.87	ND.	0.89	<0.10	符合
7	1.52	0.42	1.51	0.39	符合
8	0.48	ND.	0.45	<0.10	符合
9	0.77	ND.	0.79	<0.10	符合
10	1.02	ND.	1.16	<0.10	符合

注: ND.表示未检出。

3　结　论

本研究成功建立了一种基于量子点微球的荧光免疫层析方法, 用于同时定量检测生姜中的 CTD 与 TMX。该方法的核心性能参数具体如下: CTD 与 TMX 的定量检测范围分别为 0.0625~8.0000 ng/mL 和 0.125~16.000 ng/mL, LOD 分别为 0.032 ng/mL 和 0.070 ng/mL; CTD 与 TMX 标准曲线的线性关系均良好, 相关系数(r^2)分别为 0.9998 和 0.9996; 加标回收实验结果证实了方法的准确性, CTD 与 TMX 的回收率范围分别为 84.60%~124.05% 和 88.27%~116.40%。此外, 该方法与 8 种常见药物交叉反应率均小于 1%, 特异性较好, 用于检测真实阳性生姜样本与 LC-MS/MS 方法结果一致性良好。本研究实现两种目标物同步定量检测, 解决了传统免疫层析方法多为单一指标检测、高效液相色谱等仪器法需分次分析的局限, 大幅缩短批量样品检测周期。本方法样本前处理统一且操作简便, 无需复杂仪器辅助, 满足现场快速筛查需求, 弥补了 LC-MS/MS 等大型仪器依赖实验室环境、难以现场应用的不足。综上所述, 本方法集成了统一的样本前处理流程, 兼具快速、灵敏、可同时定量 CTD 与 TMX 等优点, 在食品安全快速检测领域具有重要的应用潜力。不足之处在于该方法目前只聚焦生姜样品, 而不同基质农产品(如蔬菜、水果)的前处理适配性、基质效应差异尚未验证, 检测样本的普适性有待进一步拓展。

参考文献

[1] LU WJ, LIU ZH, FAN XY, *et al*. Nicotinic acetylcholine receptor modulator insecticides act on diverse receptor subtypes with distinct subunit compositions [J]. PLoS Genetics, 2022, 18(1): e1009920.

[2] ZHANG K, CHEN JW, HUANG HX, *et al*. The amino acid Ser223 acts as a key site for the binding of *Thrips palmi* α1 nicotinic acetylcholine receptor to neonicotinoid insecticides [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2025, 213: 106484.

[3] DENG Y, LIU R, ZHENG ML, *et al*. From the first to third generation of neonicotinoids: Implication for saving the loss of fruit quality and flavor by pesticide applications [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(49): 15415–15429.

[4] LI XJ, YU SS, HUANG K, *et al*. Neonicotinoid residues in fruits and vegetables in Shenzhen: Assessing human exposure and health risks [J]. Chemosphere, 2024, 364: 143267.

[5] WILSON BE, MUSGROVE TRT. The value of insecticidal seed treatments for US rice farmers [J]. Journal of Integrated Pest Management, 2024, 16(1): 13.

[6] XI NN, XIA XH, LI Y. Climate warming inhibits neonicotinoid photodegradation on vegetable leaves: Important role of the olefin group in leaf wax [J]. Science of the Total Environment, 2023, 882: 163399.

[7] CIMINO AM, BOYLES AL, THAYER KA, *et al*. Effects of neonicotinoid pesticide exposure on human health: A systematic review [J]. Environmental Health Perspectives, 2017, 125(2): 155–162.

[8] YANG Y, PANG HY, CHEN YX, *et al*. Insight on nicotine insecticides in Guizhou Province, China: Residue analysis and risk assessment in different types of agricultural products [J]. Food Chemistry, 2025, 495: 146493.

[9] 熊碧, 刘小红, 杨清清, 等. 2022—2023 年湖北省蔬菜中新烟碱类农药残留分析及慢性膳食暴露评估[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(9): 113–119.
XIONG B, LIU XH, YANG QQ, *et al*. Analysis and chronic dietary exposure assessment of neonicotinoids pesticide residues in vegetables in Hubei Province from 2022 to 2023 [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(9): 113–119.

[10] SUN P, REN DQ, DING GT, *et al*. Neonicotinoid pesticides: Residue detection and dietary risk assessment in commercially available plant-based agricultural products in North China [J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2025, 197(8): 928.

[11] 史海传, 郜效儒, 袁方正, 等. 新烟碱类农药残留检测中基质效应的影响及校正[J]. 实验室检测, 2024, 2(1): 117–122.
SHI HZ, GAO XR, YUAN FZ, *et al*. Influence and correction of matrix

effect in the neonicotinoid pesticides residue analysis [J]. Laboratory Testing, 2024, 2(1): 117–122.

[12] YANG BX, TU ML, WANG S, *et al*. Neonicotinoid insecticides in plant-derived foodstuffs: A review of separation and determination methods based on liquid chromatography [J]. Food Chemistry, 2024, 444: 138695.

[13] 李明, 齐鑫, 李明芳. QuEChERS-液相色谱质谱法同时测定土壤中 7 种新烟碱类杀虫剂[J]. 分析仪器, 2025(4): 53–57.
LI M, QI X, LI MF. Simultaneous determination of 7 neonicotinoid insecticides in soil by QuEChERS-liquid chromatographymass spectrometry [J]. Analytical Instrumentation, 2025(4): 53–57.

[14] FERNÁNDEZ-VIZCAÍNO E, POLISERPI MB, ORTIZ-SANTALIESTRA ME, *et al*. Monitoring approach to detect recent exposure to thiamethoxam-treated seeds in birds [J]. Environmental Pollution, 2025, 382: 126707.

[15] TOMŠIČ R, HEATH D, HEATH E, *et al*. Determination of neonicotinoid pesticides in propolis with liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. Molecules, 2020, 25(24): 5870.

[16] 蒲继锋. 液相色谱-串联质谱法测定芹菜和土壤中噻虫嗪及其代谢物噻虫胺的残留[J]. 西藏农业科技, 2024, 46(2): 45–47.
PU JF. Determination of thiamethoxam and its metabolite in celery and soil by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Tibet Journal of Agricultural Sciences, 2024, 46(2): 45–47.

[17] LI M, HUA XD, MA M *et al*. Detecting clothianidin residues in environmental and agricultural samples using rapid, sensitive enzyme-linked immunosorbent assay and gold immunochromatographic assay [J]. Science of the Total Environment, 2014, 499: 1–6.

[18] YE LY, WU XL, XU LG, *et al*. Preparation of an anti-thiamethoxam monoclonal antibody for development of an indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay and a colloidal gold immunoassay [J]. Food and Agricultural Immunology, 2018, 29(1): 1173–1183.

[19] GAO JX, ZHANG TY, FANG YH, *et al*. On-site rapid detection of multiple pesticide residues in tea leaves by lateral flow immunoassay [J]. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2024, 14(2): 276–283.

[20] QIN LH, CHEN HJ, NIE YX, *et al*. A monoclonal antibody-based time-resolved fluorescence microsphere lateral flow immunoassay for dinotefuran and clothianidin detection [J]. Foods, 2025, 14(7): 1174.

[21] 寇帅, 周玮, 朱晓军, 等. 食品中新烟碱类农药免疫快速检测研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2024, 43(11): 34–43.
KOU S, ZHOU W, ZHU XJ, *et al*. Advances in the rapid immunoassay detection of neonicotinoid pesticides in food [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2024, 43(11): 34–43.

[22] CHEN XR, LIU Q, ZHANG JJ, *et al*. Fully inter-restricted assembly of aggregation-induced emission luminogens and polymers enables ultra-bright nanoparticles for sensitive point-of-care diagnosis [J]. ACS Nano, 2025, 19(6): 6221–6235.

[23] LI WJ, YANG XS, WANG DF, *et al*. A handheld fluorescent lateral flow immunoassay platform for highly sensitive point-of-care detection of methamphetamine and tramadol [J]. Talanta, 2024, 277: 126438.

[24] LIANG JF, LI XW, HUANG B, *et al*. Rapid, on-site quantitative determination of mycotoxins in grains using a multiple time-resolved fluorescent microsphere immunochromatographic test strip [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2024, 258: 116357.

[25] TAN GY, ZHAO YJ, WANG M, *et al*. Ultrasensitive quantitation of imidacloprid in vegetables by colloidal gold and time-resolved fluorescent nanobead traced lateral flow immunoassays [J]. Food Chemistry, 2020, 311: 126055.

[26] XU J, SUN JD, LU X, *et al*. A highly sensitive fluorescence immunochromatography strip for thiacloprid in fruits and vegetables using recombinant antibodies [J]. Talanta, 2023, 256: 124258.

[27] CHEN XY, LIU D, GOU SH, *et al*. A novel and sensitive colorimetric detection of PABA by asymmetrically functionalized TA-AuNPs-PEG-FITC based on oriented aggregation [J]. Advanced Powder Technology, 2021, 32(10): 3540–3549.

[28] LU WH, LI AZ, JU P, *et al*. Fluorescein isothiocyanate (FITC) modified CAU-10-NH_2 as a novel ratiometric fluorescent probe for maleic anhydride (MAH) detection in starch [J]. Microchemical Journal, 2025, 215: 114476.

[29] YUN XY, YUAN S, SHI S, *et al*. Amine-responsive PVA-based fluorescent indicator films incorporating *β*-glucan/FITC for visual detection of chilled meat freshness [J]. Food Bioscience, 2024, 62: 105584.

[30] REES K, DARWISH GH, ALGAR WR. Dextran-functionalized super-nanoparticle assemblies of quantum dots for enhanced cellular immunolabeling and imaging [J]. ACS Applied Materials and Interfaces, 2023, 15(15): 18672–18684.

[31] YANG R, RU Y, WANG HB, *et al*. Quantum dot fluorescent microsphere-based immunochromatographic strip for detecting PRRSV antibodies [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2024, 108(1): 283.

[32] WANG YM, ZHANG G, XIAO XX, *et al*. High-performance fluorescent microspheres based on fluorescence resonance energy transfer mode for lateral flow immunoassays [J]. Analytical Chemistry, 2023, 95(48): 17860–17867.

(责任编辑: 蔡世佳 韩晓红)