DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260413004
引用格式: 范孟酌, 黄现青, 宋莲军, 等. 胶体金侧流层析免疫分析方法检测牛奶中地塞米松[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(15): 216–227.
Fan Mengzhuo, Huang Xianqing, Song Lianjun, et al. Determination of dexamethasone in milk by colloidal gold lateral flow assay [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(15): 216–227. (in Chinese with English abstract).

胶体金侧流层析免疫分析方法检测牛奶中地塞米松

范孟酌, 黄现青, 宋莲军, 补 彤, 张西亚*
(河南农业大学食品科学技术学院, 郑州 450002)

摘 要: 目的 建立胶体金侧流层析免疫层析分析方法(colloidal gold lateral flow assay, CG-LFA)检测牛奶中地塞米松(dexamethasone, DMS)的方法。**方法** 本研究从 DMS 的羟基引入活性基团制备半抗原, 偶联载体蛋白制备完全抗原, 经过动物免疫和细胞融合筛选, 制备 3 株单克隆抗体(monoclonal antibody, mAb): mAb 2H1、mAb 1B6 和 mAb 2B6。最后采用静电吸附法将 CG 标记抗体为探针, 构建牛奶中 DMS 的胶体金试纸条检测分析方法。**结果** 经过评估, 选取 mAb 1B6 作为最优抗体, 建立 CG-LFA, 消线值为 0.20 ng/mL, 半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})为 0.07 ng/mL。与 3 种结构类似物倍他米松(betamethasone, BTM)、氟氢可的松(fluorohydrocortisone, FDC)、氢化可的松(hydrocortisone, HDC)的交叉反应率为 3.9%~13.4%, 与其他结构类似物无交叉反应, 真实样品加标回收率为 92.4%~102.8%, 最低检出限(limit of detection, LOD)为 0.05 μg/kg。**结论** 本研究建立的 DMS 免疫分析方法具有操作简单、灵敏度高等特点, 能够满足牛奶中 DMS 的现场快速检测要求。

关键词: 牛奶; 地塞米松; 单克隆抗体; 胶体金; 侧流层析免疫分析
中图分类号: TS252.1 **文献识别码:** A **文章编号:** 2095–0381(2026)15–0216–12

Determination of dexamethasone in milk by colloidal gold lateral flow assay

FAN Meng-Zhuo, HUANG Xian-Qing, SONG Lian-Jun, BU Tong, ZHANG Xi-Ya*
(*School of Food Science and Technology*, *Henan Agricultural University*, *Zhengzhou* 450002, *China*)

ABSTRACT: Objective To develop a method for the detection of dexamethasone (DMS) in milk by colloidal gold lateral flow assay (CG-LFA). **Methods** In this study, active groups were introduced from the hydroxyl groups of DMS to prepare haptens, and complete antigens were prepared by coupling carrier proteins. After animal immunization and cell fusion screening, 3 monoclonal antibodies (mAbs)—mAb 2H1, mAb 1B6 and mAb 2B6—were produced. Finally, the CG-labeled antibodies were immobilized as probes using electrostatic adsorption, establishing a colloidal gold method for detecting DMS in milk. **Results** After evaluation, mAb 1B6 was selected as the optimal antibody to establish CG-LFA, with a cut-off value of 0.20 ng/mL and a half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of 0.07 ng/mL. Moreover, the cross-reactivity with 3 kinds of structurally similar betamethasone (BTM), fluorohydrocortisone (FDC) and hydrocortisone (HDC) ranged from 3.9% to 13.4%, and there was no

收稿日期: 2026-04-13
基金项目: 国家自然科学基金项目(32472436); 国家自然科学基金青年科学基金项目(32302208)
第一作者: 范孟酌(2001—), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全快速检测。E-mail: 18790332799@163.com
***通信作者:** 张西亚(1987—), 男, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品安全快速检测方面的研究。E-mail: zhangxiya@henau.edu.cn

cross-reactivity with the other common hormones. The recoveries of real samples spiked with DMS were in the range of 92.4%–102.8%, and the limit of detection (LOD) was 0.05 μg/kg. **Conclusion** The DMS established in this study is characterized by simplicity of operation and high sensitivity, which is capable of meeting the requirements for rapid on-site detection of DMS in milk.

KEY WORDS: milk; dexamethasone; monoclonal antibodies; colloidal gold; lateral flow assay

0　引　言

地塞米松(dexamethasone, DMS)作为一种高效糖皮质激素(分子式 $C_{22}H_{29}FO_5$)[1], 因其显著的抗炎[2]、治疗骨髓瘤[3]、抗休克及促生长作用[4], 被广泛应用于畜牧业治疗炎症及改善饲料转化率[5]。此外, DMS 及结构类似物: 倍他米松(betamethasone, BTM)、氟氢可的松(fluorohydrocortisone, FDC)和氢化可的松(hydrocortisone, HDC)(图 1)也可用于奶牛养殖中治疗乳腺炎等疾病[6–9]。然而, 若未严格遵守停药期或存在滥用行为, 药物可能通过代谢进入牛奶, 导致 DMS 残留[10]。DMS 残留对敏感人群(尤其是婴幼儿)构成持续性健康威胁, 包括抑制肾上腺皮质功能、诱发电解质紊乱, 甚至需终身依赖激素替代治疗[11–13]。因此, 世界各个国家都对其规定了限量标准。欧盟委员会规定了 DMS 在动物体内的最大残留限量, 肝脏为 2 μg/kg, 肌肉和肾脏分别为 0.75 μg/kg, 牛奶为 0.3 μg/kg。联合国粮农组织和世界卫生组织规定猪、牛和马的肾脏中 DMS 的最大残留限量为 1.0 μg/kg, 肝脏为 2.0 μg/kg, 肌肉为 1.0 μg/kg, 牛奶为 0.3 μg/kg[14–15]。我国农业部 235 号公告, 猪、牛、马肌肉中的 DMS 残留限量为 0.75 μg/kg, 肝脏为 2 μg/kg, 牛奶为 0.3 μg/kg[16]。因此, 快速、灵敏地检测牛奶中 DMS 是预防风险的关键措施。

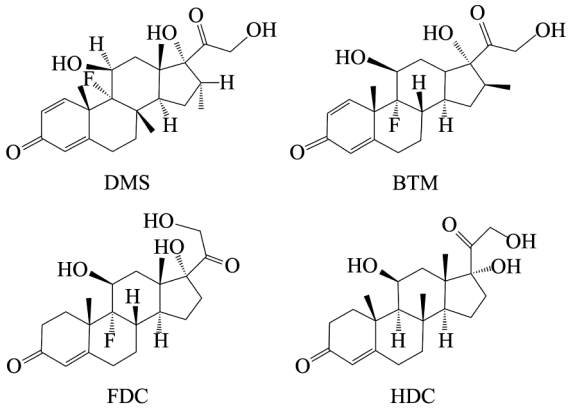


图 1　DMS 及其结构类似物结构
Fig.1　DMS and its structural analogs

当前针对动物源性食品中 DMS 残留的检测手段主要包括仪器分析与免疫分析技术[17]。在仪器分析领域, 液相色谱及其与质谱联用技术占据主导地位。周佳等[18]研发的高效液相色谱法能同步测定畜禽肉中的 DMS 和呋喃唑酮残留, 分离效率优异, 检测灵敏度达到 1.0~2.0 μg/mL, 平均回收率为 85.41%~95.20%。谢蔓莉等[19]使用高效液相色谱-串联质谱法测定畜产品中的 DMS 残留, 具有较高的灵敏度和准确性, 检出限(limit of detection, LOD)为 2.7~3.4 μg/kg, 回收率为 79.3%~105.8%。候亚莉等[20]利用液相色谱-串联质谱技术对 DMS、BTM 和倍氯米松进行多残留分析, LOD 为 0.5 μg/kg, 定量限为 2.0 μg/kg, 回收率在 77.6%~97.9%之间。针对乳制品基质的特殊性, 任宏彬等[21]使用液相色谱-质谱技术中采用固相萃取前处理并优化色谱参数, 使方法灵敏度提升至 0.08 μg/kg, 回收率在 65.7%~85.7%之间。可见, 仪器检测法具有高灵敏度和可靠的结果。相对而言, 基于抗原-抗体反应的免疫分析法由于使用简单、成本低、检测时间短, 作为一种对于样本现场快速筛查的方法越来越受欢迎。免疫分析法分为酶联免疫法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)和免疫层析法(lateral flow assay, LFA)。Vdovenko 等[22]开发了一种化学发光酶联免疫技术(chemiluminescent-enzyme linked immunosorbent assay, CL-ELISA)检测 DMS, 该方法在 0.08~9.30 ng/mL 范围内呈现良好线性关系, IC_{50} 达 0.9 ng/mL, 对牛奶样品的检测回收率为 82%~142%。Wang 等[23]通过合成 DMS 琥珀酸酐(succinic anhydride, HS)衍生物制备出高特异性单克隆抗体, 其 IC_{50} 显著降低至 0.095 ng/mL, 并据此研制出胶体金侧流层析免疫层析分析方法, 在乳品检测中实现了 0.5 ng/mL 的消线值。周芳等[24]建立基于时间分辨荧光微球对牛奶中的 DMS 残留进行快速检测的方法, IC_{50} 为 0.24 ng/mL, 消线值为 1.0 ng/mL, LOD 为 0.07 ng/mL。因此, 免疫分析方法检测效率的显著提升, 为食品基质的快速筛查提供了有效技术手段。

本研究旨在通过在 DMS 的羟基引入活性基团来合成半抗原, 与载体蛋白偶联合成完全抗原, 制备灵敏的 DMS 单克隆抗体。随后使用 CG 标记抗体, 构建出一种简便、高效且灵敏的 CG-LFA, 用于高效检测牛奶中的 DMS, 为解决牛奶中 DMS 残留的现场快速检测提供技术支撑。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

雌性 BALB/c 小鼠购自郑州华兴实验动物养殖场, 该

养殖场持有河南省科学技术厅颁发的生产许可证[编号: SCXK(豫)2019-0002]。动物实验方案已获河南农业大学科学伦理委员会批准(批准号: HNND2024031305)。

羊抗鼠二抗(质量浓度 11 mg/mL, 上海群已生物科技有限公司); 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺(ethyldimethylaminopropyl carbodiimide, EDC)、N-羟基硫代琥珀酰亚胺(hydroxy-2,5-dioxopyrrolidine-3-sulfonicacid sodium salt, NHS)、牛血清蛋白(bovine serum albumin, BSA)、DMS 标准品、BTM 标准品、FDC 标准品、HDC 标准品、雌二醇(17β-estradiol, E2)标准品、雌三醇(estriol, E3)标准品、孕酮(progesterone, P4)标准品、雌酮(estrone, E1)标准品、HS 弗氏完全佐剂(纯度≥99%, 美国 Sigma 公司); 乙腈、吡啶、吐温-20、磷酸氢二钠、碳酸钾、氯化钾、氯化钠、磷酸二氢钾(化学纯, 国药集团化学试剂有限公司); 吸水纸(怀远县通成纸制品有限公司); 聚氯乙烯(polyvinyl chloride, PVC)底板、样品垫(上海金标生物科技有限公司); 柠檬酸三钠、四氯金酸(99%, 上海阿拉丁生物有限公司); 硝酸纤维素(nitrocellulose, NC)膜(汕头伊能膜业有限公司); 超纯水(杭州娃哈哈集团有限公司); 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)(7.9 g 氯化钠, 0.2 g 氯化钾, 0.24 g 磷酸二氢钾和 1.8 g 磷酸氢二钠, 溶于 1000 mL 超纯水, 自制); PBS-吐温 20 溶液(PBSTween-20, PBST)(向 1000 mL PBS 溶液中加入 500 μL 吐温-20, 搅拌均匀, 自制)。

1.2 仪器与设备

Sorvall Contifuge Stratos Centrifuge 高速冷冻离心机、Thermo Scientific Vanquish UPLC 系统、Thermo Scientific TSQ Altis 三重四极杆质谱仪、Hypersil GOLD C_{18} 柱(2.1 mm×30 mm, 5 μm) (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); RCT 磁力加热搅拌机(德国 IKA 公司); Cubis® II 超高分辨率天平(精度 0.001 mg, 德国赛多利斯公司); MD-600 金标读数仪(南京微测生物科技有限公司); BGZ-240 电热鼓风干燥机(博讯实业有限公司); HGS510 划膜喷金标仪(杭州峰航科技有限公司); KQ-100DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); ZQ2002 微电脑自动斩切机(上海金标生物科技有限公司); XW-80A 旋涡混合器(上海驰唐电子有限公司); UV-2550 紫外-可见分光光度计(日本 Shimadzu 公司); H-600 透射电子显微镜(日本 Hitachi 公司); ZSU 3200 Zeta 电位分析仪(上海马尔文公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 半抗原及完全抗原的合成

选取DMS的19号位羟基引入活性基团, 制备半抗原[23], 合成路线见图 2。具体步骤如下: 取 80 mg DMS 和 150 mg HS 溶于 10 mL 无水吡啶溶液中, 50 ℃反应 24 h。随后旋蒸去除吡啶, 收集残留物为半抗原。

半抗原采用活泼酯法与载体蛋白 BSA 进行偶联[25], 具体步骤如下: 130 mg BSA 溶于 20 mL 0.01 mol/L PBS 中; 将 46 mg 半抗原(0.1 mmol/L)、40 mg EDC (0.2 mmol/L)、30 mg NHS (0.2 mmol/L)溶解在 2 mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 搅拌过夜。随后 8000 r/min 离心 10 min, 上清逐滴加入到蛋白溶液中, 4 ℃轻轻搅拌过夜。随后上清在 0.01 mol/L PBS 中透析 3 d, 即可得到抗原 DMS-HS-BSA。

1.3.2 单克隆抗体的制备及鉴定

对 8 周的 BALB/c 小鼠进行免疫, 免疫过程按照参考文献[26]中描述的方式进行。实验动物免疫流程: 在第 4 次抗原免疫 7 d 后, 通过尾静脉穿刺获取实验组小鼠血液样本, 经离心分离获得免疫血清。采用 ELISA 和 icELISA 分别检测血清中抗体滴度及抗原结合特异性。本研究以抗体效价和抑制率为筛选标准。通过小鼠脾细胞与骨髓瘤细胞进行融合, 经 3 轮亚克隆筛选获得稳定杂交瘤细胞株。最终通过腹腔注射杂交瘤细胞生产单克隆抗体, 收集腹水进行抗体纯化[27]。通过 icELISA 评估抗体的灵敏度, 通过 iELISA 计算亲和力(affinity constant, k_a)。

1.3.3 CG 的制备及表征

采用柠檬酸三钠还原法制备CG溶液[28]。首先, 将100 mL 超纯水加入 250 mL 容量烧瓶中, 经加热搅拌至沸腾并气泡稳定后, 随后快速滴入 2%氯金酸溶液 1 mL。持续加热搅拌 2 min 后, 加入 4%柠檬酸三钠溶液 750 μL。在搅拌加热下, 液体由淡黄色变为灰色、黑色, 2 min 内最终转为酒红色, 继续加热 8 min。停止加热后冷却至室温, 加入超纯水至 100 mL, 存放于 4 ℃备用。

观察溶液呈现出的颜色和澄清度, 表面有无可见漂浮物, 以及底部是否有聚沉的 CG 颗粒[29]。若无明显聚沉, 色泽良好, 则该 CG 可以用于后续实验。

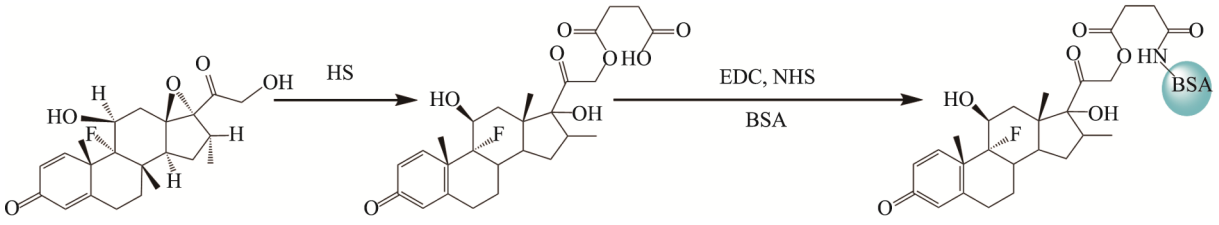


图 2 完全抗原合成路线图

Fig.2 Roadmap of complete antigen synthesis

采用紫外分光光度计法，根据公式(1)[25]计算 CG 的粒径。

$$Y=0.4271X+514.56 \quad (1)$$

式中：Y 为 CG 紫外吸收光谱的最大吸收波长；X 为 CG 的粒径，nm。

本研究通过透射电子显微镜对 CG 进行表征，具体步骤如下：使用超纯水将 CG 稀释，超声 10 min 后，将 10 μL 稀释液滴加到 TEM 铜网上(涂有碳膜的 200 目筛)，并在干燥条件下进行 TEM 表征。

1.3.4　标记体系 pH 的优化

本研究通过静电吸附法标记抗体，首先 pH 起到了决定性的作用。通过分别设置 2、4、6、8、10 μL 的 0.1 mol/L K_2CO_3 添加在 CG 中以优化溶液 pH。如果加入过少的碳酸钾，CG-mAb 可能会产生明显沉淀的现象，这主要是因为当 CG 溶液的 pH 小于其等电点的条件下，抗体和 CG 将会形成大块结晶从而导致沉淀的发生[30]。

1.3.5　CG-mAb 的制备及表征

在 1 mLCG 溶液中添加 8 μL K_2CO_3 溶液，随后加入 8 μg 的 mAb 混合均匀，孵育约 25 min 后，再加入 30 μL 的 10% BSA 溶液以封闭 15 min。最后，8500 r/min 离心 10 min，丢弃上清，沉淀加入 200 μL 的复溶液得到 CG-mAb。

本研究采取紫外光谱扫描法和 Zeta 电位分析法对 CG-mAb 探针进行表征，具体步骤如下：分别取 1 mL CG、mAb、CG-mAb 探针溶液于干净的石英比色皿中，设置波长扫描范围为 200~700 nm，观察所获得的紫外吸收光谱的最大吸收波长以及峰的形状；另各取 1 mL CG、CG-mAb 探针溶液于马尔文电位样品池中，使用 Zeta 电位分析仪测定电位。

1.3.6　试纸条的组装

本研究试纸条示意图如图 3 所示，将 DMS-HS-BSA 划于 NC 膜作为测试线。使用 1.0 mg/mL 质量浓度的羊抗鼠二抗形成质控制线。通过划膜仪对 NC 膜的检测线及控制线以 0.8 μL/cm 的速度喷绘处理。然后，将样品垫、NC 膜与吸水垫依次黏附到 PVC 底板之上，并将它们裁剪成 3.2 mm 宽度的试验卡片，待用。

1.3.7　检测程序

向 96 微孔板添加 8 μL 的 CG-mAb 溶液后，与 200 μL PBST 缓冲液稀释的标准品溶液混合。静置 3 min 以利于与抗体结合。随后将试纸条插入微孔，反应 8 min 后观察结果，并用 MD-600 读数仪进行比色强度定量分析。若 T 和 C 两线的颜色都出现，则显示出阴性；反之，只有 C 线显色，则为阳性；若 C 线不显色，则判断试纸条已失效。

1.3.8　CG-LFA 条件优化

为了实现 CG-LFA 的高灵敏准确的检测 DMS，依据试纸条上的颜色强度(颜色明显且读数超过 800)及将 DMS 浓度设置为 0、0.07 和 0.15 ng/mL 时的抑制率(inhibition rate，IR)为优化标准用于后续性能测定。进行对包被抗原浓度、抗体添加量、探针添加量及检测时间的优化，使用 MD-600 比色读数仪读取 T 线的比色强度，IR 按如下公式(2)计算。

$$IR=(B_0-B)/B_0 \quad (2)$$

式中：B_0 为阴性样品 T 线信号读值；B 为阳性样品 T 线信号读值。

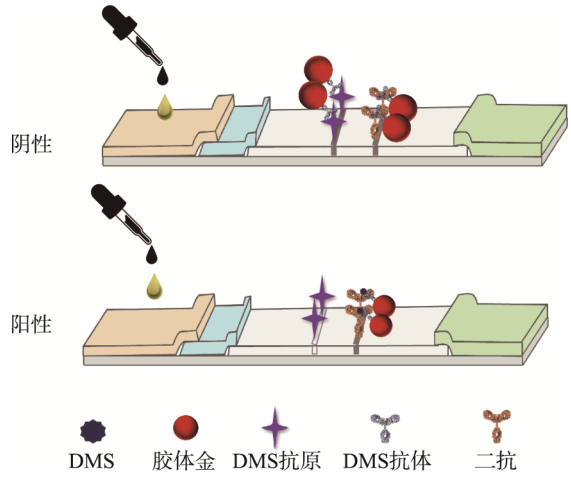


图 3　CG-LFA 原理图

Fig.3　Schematic diagram of CG-LFA

包被抗原浓度的优化：首先将 DMS-HS-BSA 稀释为 0.017、0.023、0.035 mg/mL，将不同浓度的包被抗原划膜制成试纸条。使用 CG-LFA 检测观察 T 线显色，读取 T 线比色强度计算 IR 筛选最优包被抗原浓度。

抗体添加量的优化：在最佳包被抗原浓度的条件下，改变标记 CG 时抗体的添加量是制备 CG-mAb 的一个重要因素。当抗体的添加量超出正常范围，T 线读数的提升会引发试纸条的敏感性降低；反之，如果抗体的添加量不足，CG 标记的探针会完整性会受到影响，从而导致 T 线读数和试纸条的敏感度都会下降。将 mAb 1B6 设置 6、8、10 μg 的抗体添加量，通过 T 线比色强度计算 IR 来选取最优的抗体添加量。

CG-mAb 添加量的优化：在最佳包被抗原浓度和 mAb 1B6 添加量的条件下，通过改变 CG-mAb 的体积，选取 T 线比色强度计算 IR，选取 CG-mAb 最优的添加量进行后续实验。

检测时间优化：为满足快速，准确的检测需求，将最佳探针添加量进行 CG-LFA 的检测，分别对 6、8、10 min 时 T 线比色强度分别计算 IR，选取最佳检测时间。

1.4　试纸条性能评价

1.4.1　标准曲线

使用 PBST 稀释 DMS 标准品，配制不同浓度的 DMS 溶液。然后依照前述提及的方法进行测试，以 T 线比色强度为纵轴，DMS 质量浓度为横轴，拟合出标准曲线，观察消线值，计算半数抑制浓度(half-maximal inhibitory concentration，IC_{50})及线性范围(IC_{20}~IC_{80})。

1.4.2 LFA 特异性实验

通过构建的试纸条来检测 DMS、BTM、FDC、HDC、E1、E2、E3 和 P4(质量浓度均为 10 ng/mL)。观察试纸条上 T 线的显色情况, 针对有识别反应的结构类似物建立标准曲线, 计算其与 DMS 的交叉反应率。计算见公式(3)。

交叉反应率/%=(DMS 的 IC_{50}/结构类似物 IC_{50})×100% (3)

1.4.3 LFA 稳定性实验

为了评估 LFA 的稳定性, 分别进行批内差异实验和批间差异实验(n=6), 配制不同浓度的 DMS 溶液进行 LFA 的检测。每组实验取平均值($\bar{x}$), 计算标准偏差(standard deviation, SD)和变异系数(coefficient of variation, CV)以评估 LFA 的稳定性。

1.5 真实样品测定

购买 20 份市售牛奶样品, 使用 PBST 对其进行稀释, 通过优化稀释倍数, 读取 T 线比色强度达到 800 及竞争情况, 选取合适的稀释倍数进行加标回收实验。

实验流程如下: 首先使用 PBST 对牛奶稀释 2、3、4、5、6 倍, 使用 CG-LFA 检测稀释后的空白牛奶和添加半数抑制浓度的稀释牛奶, 使用 MD-600 读数仪读取 T 线比色强度, 计算回收率。得到最优稀释倍数以后在 96 孔板中加入最优探针体积和添加 DMS 质量浓度分别为 0.25、0.50、0.25 μg/kg 的真实牛奶样品, 然后插入试纸条反应 8 min。接着, 用读数仪读数, 并代入到标准曲线方程里计算测得的浓度。最后, 根据公式(4)计算平均添加回收率。

添加回收率(%)=测定浓度/添加浓度×100% (4)

LOD 的确定方法如下: 选取 20 份市售牛奶样本, 经过预处理后, 采用试纸条进行检测。每组样本均进行 3 组平行实验, 反应 8 min 后, 使用读数仪读数。基于所构建的标准曲线, 计算各样本的浓度估计值, 并统计 20 份样本浓度的 SD。最终, 依据公式计算最低检测限度, 以确保检测方法的灵敏度和可靠性。根据公式(5)计算 LOD, LOD 是样本浓度的平均值($\bar{x}$)和 3 倍的 SD 之和。

$$LOD=\bar{x}+3SD \quad (5)$$

1.6 UPLC-MS/MS 分析

1.6.1 样本处理流程

提取步骤: 首先, 称取 10 g±0.05 g 牛奶样品, 置于 50 mL 聚丙烯离心管中。随后, 向离心管中加入 20 mL 乙腈。将混合物涡旋振荡 1 min, 并在 6000 r/min 下离心 5 min。将上清液转移至梨形瓶中, 用旋蒸仪于 45 ℃上减压蒸发, 将提取液浓缩至体积小于 5 mL。

净化: 将提取液移至经预处理的 C_{18} 固相萃取柱中, 用 5 mL 水洗涤梨形瓶和萃取柱, 弃去全部流出液。在 65 kPa 的负压下, 减压抽干 1 min, 用 5 mL 乙腈以小于等于 3 mL/min 流速洗脱, 收集洗脱液于 10 mL 样品管中, 在 45 ℃水浴中用氮气吹干, 用 0.50 mL 流动相溶解残渣, 经 0.22 μm 滤膜过滤后用 UPLC-MS/MS 进行分析。

1.6.2 UPLC-MS/MS 的条件及测定流程

液相色谱条件: 色谱分离采用 Thermo Scientific Vanquish UPLC 系统。色谱柱为 Hypersil GOLD C_{18} 柱。流动相: A 为 0.1%甲酸水溶液, B 为乙腈。采用梯度洗脱模式, 流速为 0.2 mL/min, 柱温设为 35 °C, 进样量为 5 μL。梯度洗脱程序如下: 0~5.0 min, 流动相 B 比例由 5.0%线性升至 90.0%; 5.0~7.0 min, 维持 90.0% B; 7.0~7.1 min, 流动相 B 比例由 90.0%迅速降至 5.0%; 7.1~10.0 min, 维持 5.0% B 进行色谱柱平衡。

质谱条件: 质谱检测采用 Thermo Scientific TSQ Altis 三重四极杆质谱仪, 配置加热电喷雾离子源(heat-electro-spray ionization, H-ESI), 在正离子串联质谱模式下进行检测。

离子源及扫描优化参数设置如下: 喷雾电压: 3500 V, 离子传输管温度: 325 ℃, 汽化器温度: 325 ℃, 鞘气体积流量: 30 arb, 辅助气体积流量: 10 arb, 吹扫气体积流量: 0 arb, 碰撞诱导解离气体压力: 1.5 mTorr, 质量分析器分辨率: 一阶质量分析器(Q1)和三阶质量分析器(Q3)均采用单位质量分辨率(0.7 FWHM), 循环时间: 0.6 s, 预期色谱峰宽: 12 s。

目标化合物 DMS 采用选择反应监测(selected reaction monitoring, SRM)模式进行定性和定量分析, 其优化后的前体离子、产物离子、碰撞能量及射频透镜电压参数见表 1。

表 1 DMS 的 SRM 质谱参数

Table 1 Optimized SRM parameters of DMS

化合物	前体离子(m/z)	产物离子(m/z)	碰撞能量/V	射频透镜电压/V	离子角色
DMS	393.2	355.22	11.11	49	定量离子
	393.2	373.292	7.74	49	定性离子

1.7 数据处理

使用 Origin 2021 软件来绘制标准曲线, Microsoft Office Word 2021 对数据(n=3)进行了整理, Chemdraw 21.0.0 则用于描绘 DMS 和其化学结构类似物的形式。

2 结果与分析

2.1 半抗原表征

对合成的半抗原进行质谱表征, 结果如图 4 所示。半抗原在[M-H]模式下分子量为 491.1, 与质谱结果一致说明半抗原成功合成。对完全抗原进行紫外光谱扫描法进行表征结果如图 4 所示。完全抗原的紫外光谱在 280 nm 出现特征峰, 表明 BSA 与半抗原偶联成功。

2.2　抗体灵敏度及亲和力评价

制备了 3 株抗体: mAb 2H1、mAb 1B6、mAb 2B6，通过 icELISA 评价其灵敏度结果如图 5A, DMS-HS-BSA 抗原包被质量浓度均为 0.35 μg/mL。mAb 2H1 的 IC_{50} 为 0.21 ng/mL, mAb 1B6 的 IC_{50} 为 0.05 ng/mL, mAb 2B6 的 IC_{50} 为 0.18 ng/mL, 其中 mAb 1B6 灵敏度最高，通过 iELISA 计算出 mAb 1B6 的 k_a 为 1.49×10^8 L/mol，如图 5B，说明该抗体有较高的亲和力，可以用于后续 LFA 方法的建立。

2.3　CG 及 CG-mAb 的鉴定

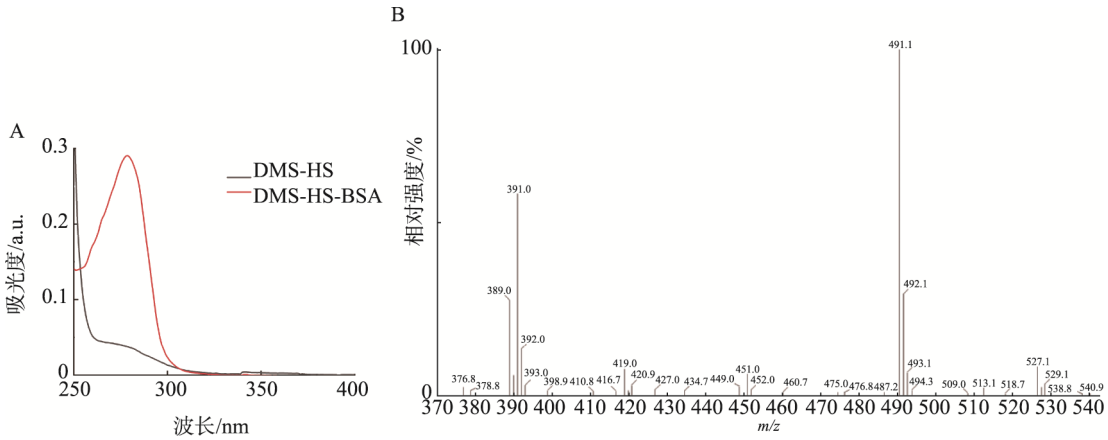
如图 6A，肉眼观察 CG 呈酒红色，澄清透亮且无杂质。同时，CG 在 520 nm 处有最大的吸收波长，计算得到 CG 的粒径为 23.3 nm。通过透射电镜下可看出 CG 为大小均匀的椭球形(图 6B)，表明制备的 CG 品质较好，可以用于后续实验。通过通过紫外表征，如图 6A，CG 在 280 nm 处无特征吸收峰，与 mAb 1B6 结合后，在 280 nm 处出现抗体的特征峰。此外，如图 6C, Zeta 电位值可以看出，当 CG 与抗体静电吸附后，其 Zeta 电位值从–33.52 mV 变化为 –13.41 mV。这些结果均可证明 CG 与抗体成功偶联。

2.4　CG 标记抗体最适 pH 的优化

在制备 CG-mAb 1B6 时，随着 0.1 mol/L K_2CO_3 量的增加，发现颜色由紫色逐渐变为紫红色，如图 7 可知，当 K_2CO_3 添加量为 8 μL 时，CG-mAb 性质趋于稳定。

2.5　CG-LFA 条件优化分析

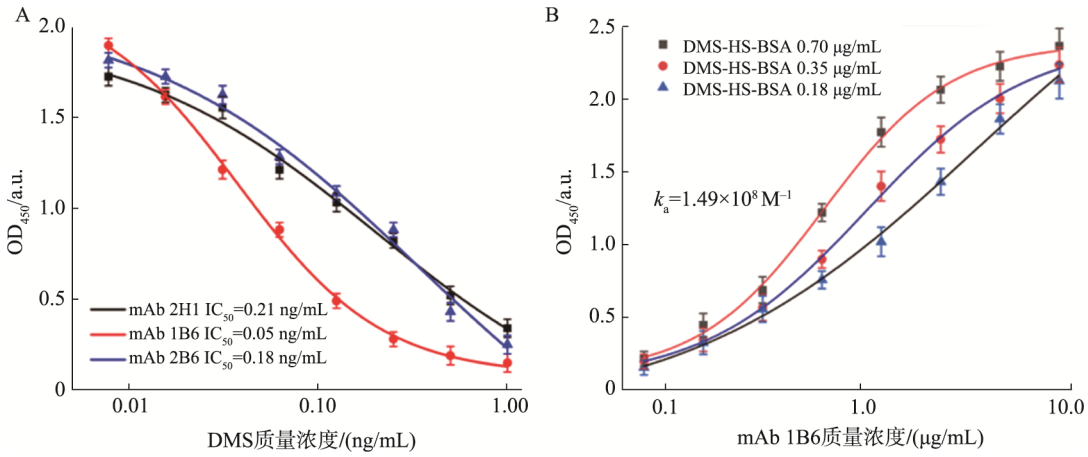
为了获得高灵敏快速检测 DMS 的试纸条，本研究首先优化了不同浓度 DMS-HS-BSA，对 CG-mAb 1B6 的试纸条进行显色和抑制性能优化，其结果如图 8A 所示。随着抗原浓度的增大，空白 T 线读值由 651 增大到 1212, DMS 质



注: A. 半抗原及完全抗原紫外吸收光谱; B. 半抗原质谱图。

图 4　抗原表征

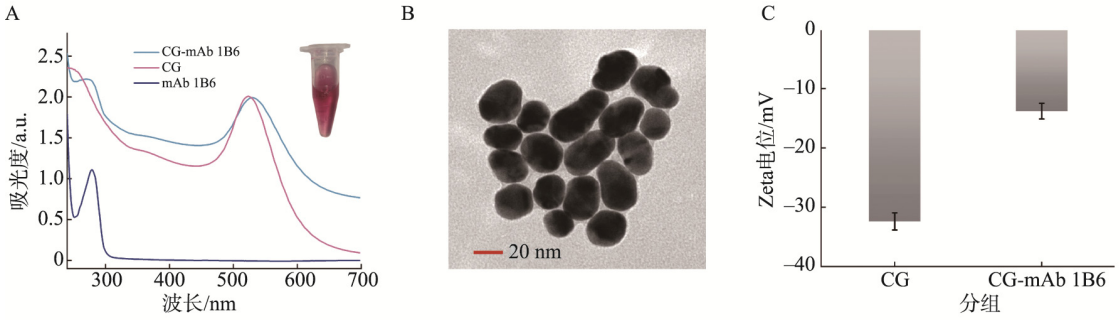
Fig.4　Characterization of antigen



注: A. 抗体灵敏度筛选; B. 亲和力测定。

图 5　抗体灵敏度及亲和力

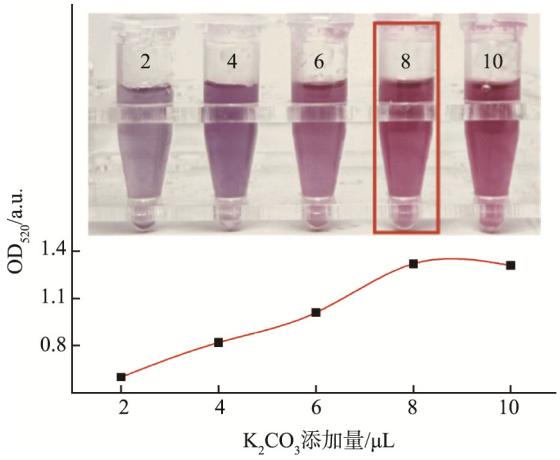
Fig.5　Sensitivity and affinity of antibody



注: A. CG、mAb 1B6 和 CG-mAb 1B6 紫外扫描结果; B. CG 电镜扫描结果; C. Zeta 电位结果。

图 6 CG 及 CG-mAb 1B6 的鉴定

Fig.6 Identification of CG and CG-mAb 1B6

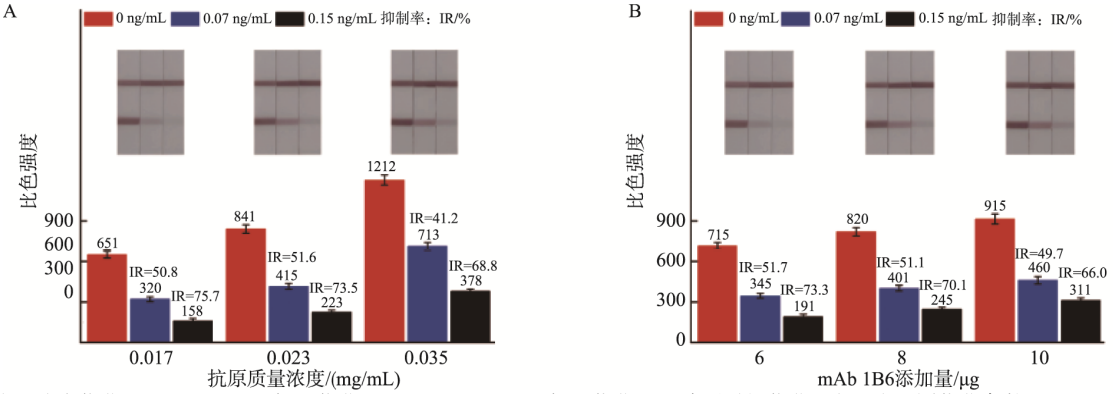


注: 小图为不同 K_2CO_3 添加量下 CG-mAb 1B6 的肉眼观察颜色。

图 7 CG-mAb 1B6 pH 优化结果

Fig.7 Results of pH optimization of CG-mAb 1B6

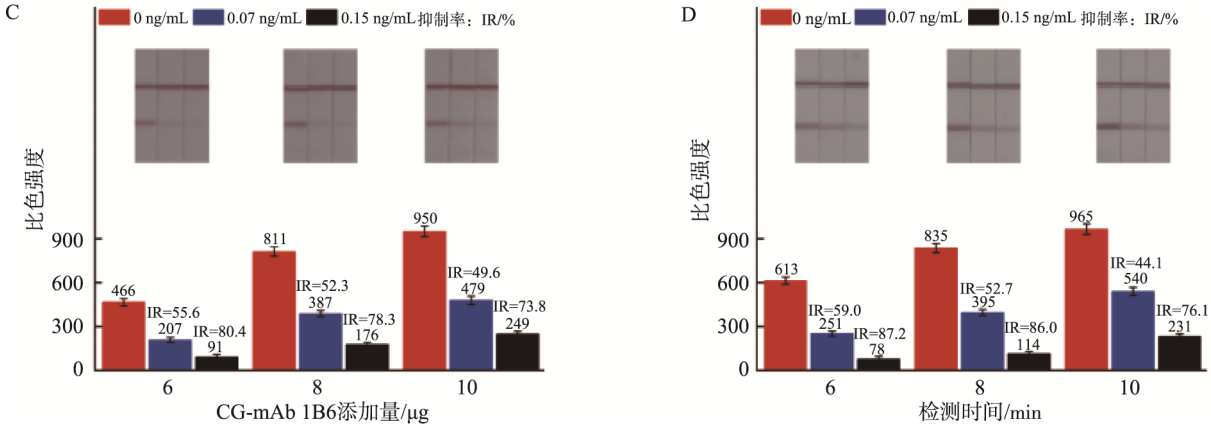
量浓度为 0.07 ng/mL 和 0.15 ng/mL 时 IR 有先升高后降低的趋势。当抗原质量浓度为 0.023 mg/mL 时, T 线空白比色强度达到 841, 有利于肉眼判读, 同时 DMS 质量浓度为 0.07 ng/mL 和 0.15 ng/mL 的 IR 分别为 51.6%和 73.5%。因此最适包被抗原划膜质量浓度选择 0.023 mg/mL, 用于后续实验。然后优化了不同抗体添加量制备的 CG-mAb 对试纸条的显色和抑制情况, 其结果如图 8B 所示。将抗体添加量设置为 6、8、10 μg, 随着抗体添加量的增加, T 线空白比色强度由 715 增加到 915, IR 都在 50%左右(图 8C)。当抗体添加量为 8 μg 时, T 线空白比色强度达到 820, 有利于肉眼判读。同时 DMS 质量浓度为 0.07 ng/mL 和 0.15 ng/mL 的 IR 为 51.1%和 70.1%。因此选择最适抗体添加量为 8 μg, 用于后续实验。通过改变最优抗体添加量制备的 CG-mAb 的添加量, 设置为 6、8、10 μL, 随着 CG-mAb 添加量的增加, T 线空白读值由 466 增加到 950, DMS 质量浓度为 0.07 ng/mL 和 0.15 ng/mL 时 IR 值均在 50%附近, 呈现逐渐降低趋势(图 8D)。当 CG-mAb 添加量为 8 μL 时, T 线空白比色强度达到 811, 有利于肉眼判读。同时 DMS 质量浓度为 0.07 ng/mL 和 0.15 ng/mL 的 IR 为 52.3%和 78.3%。因此最适 CG-mAb 探针为 8 μL, 用于后续实验。在最优包被抗原浓度、最优抗体添加量和最优探针添加量的条件下, 本研究还对试纸条检测时间进行了优化, 因为要满足快速检测需求, 可以观察到随着检测时间的增加, T 线空白比色强度由 613 增加到 965, DMS 质量浓度为 0.07 ng/mL 和 0.15 ng/mL 时 IR 呈现逐渐降低趋势。当检测时间为 8 min 时, T 线空白比色强度达到 835, 有利于肉眼判读。同时 DMS 质量浓度为 0.07 ng/mL 和 0.15 ng/mL 的 IR 为 52.7%和 86.0%。因此最适检测时间为 8 min, 用于后续实验。



注: A. 抗原浓度优化; B. mAb 1B6 添加量优化; C. CG-mAb 1B6 添加量优化; D. 检测时间优化; 小图为不同优化条件下 CG-LFA 检测的肉眼观察结果。

图 8 CG-LFA 条件优化结果

Fig.8 Parameter optimization for synthesis of CG-LFA



注: A. 抗原浓度优化; B. mAb 1B6 添加量优化; C. CG-mAb 1B6 添加量优化; D. 检测时间优化; 小图为不同优化条件下 CG-LFA 检测的肉眼观察结果。

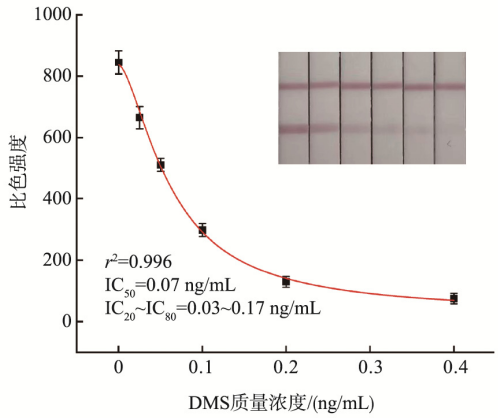
图 8(续)　CG-LFA 条件优化结果

Fig.8　Parameter optimization for synthesis of CG-LFA

2.6　试纸条的性能测定

2.6.1　标准曲线的建立

在上述优化条件的基础上, 本研究设置 DMS 质量浓度分别为 0、0.025、0.050、0.100、0.200 和 0.400 ng/mL, 随着 DMS 质量浓度的增大, T 线颜色逐渐变浅。如图 9 所示, 当 DMS 质量浓度达到 0.20 ng/mL 时, T 线消失, 这表明该抗体的消线值是 0.20 ng/mL。通过 Origin 2021 绘制出 DMS 浓度与 T 线比色强度读值的关系, 通过拟合, 确定决定系数 r^2 为 0.996, IC_{50} 为 0.07 ng/mL, 线性范围(IC_{20}~IC_{80})为 0.03~0.17 ng/mL。



注: 小图为CG-LFA 检测不同DMS 浓度建立标准曲线肉眼观察结果。

图 9　LFA 性能检测

Fig.9　Performance testing of LFA

2.6.2　交叉反应率的测定

交叉反应率是评价该试纸条对 DMS 特异性的重要参数, 将DMS 与3 种结构类似物及4 种常见雌激素: BTM、FDC、HDC、E2、E3、P4 和 E1 进行交叉反应率的测定, DMS 与 3 种结构类似物质及 4 种常见激素质量浓度均设定为 10 ng/mL, 结果见图 10A: mAb 1B6 与 BTM、FDC 和 HDC 有交叉反应, 与其他物质无交叉反应。mAb 1B6 对 BTM、FDC、HDC 进行标准曲线的建立如图 10B~D, IC_{50} 分别为 0.52、1.55、1.76 ng/mL, 交叉反应率分别为 13.4%、4.5%、3.9%。特异性实验结果表明: 制备的单克隆抗体 mAb 1B6 对 DMS 及其结构类似物特异性识别较好, 建立的 CG-LFA 可以满足牛奶中 DMS 残留的检测要求。

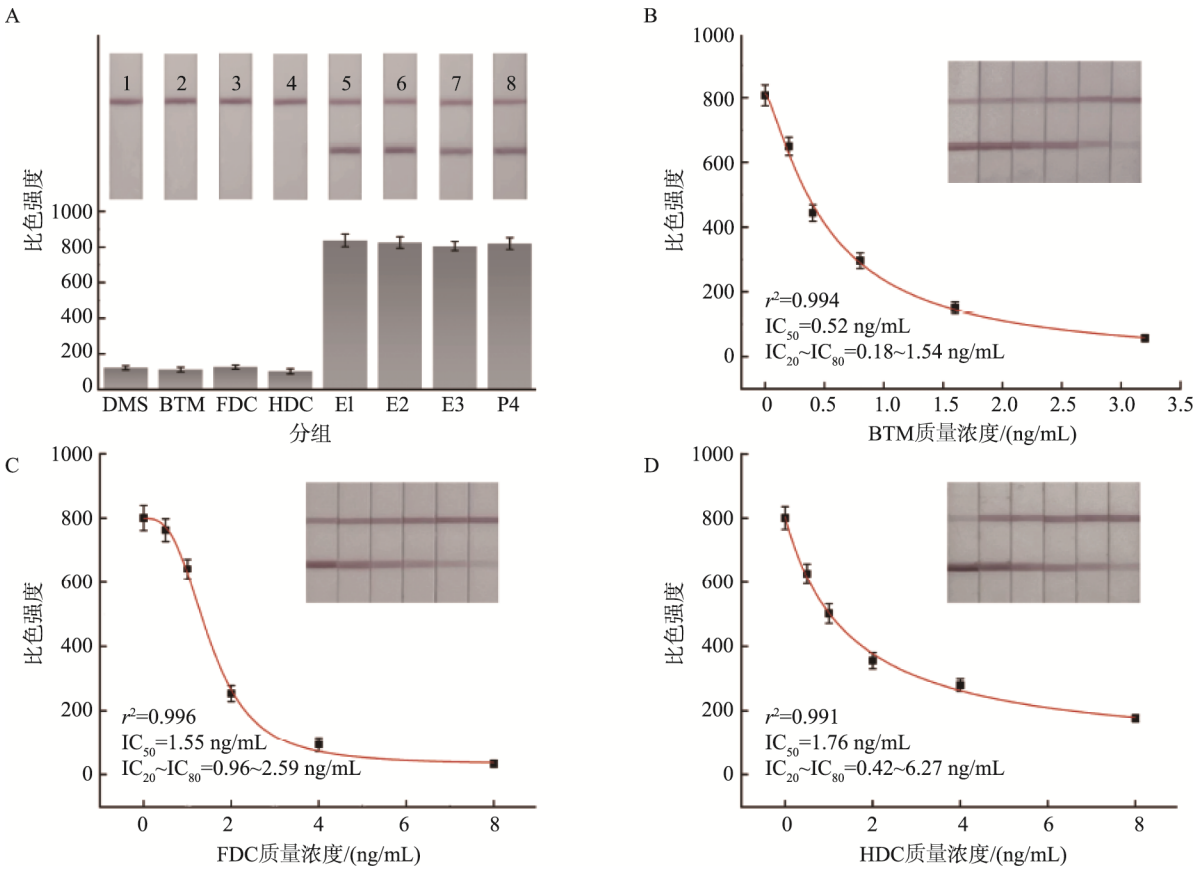
2.6.3　稳定性实验

如图 11 所示, 配制 0.07 ng/mL 和 0.15 ng/mL 的 DMS 溶液进行 LFA 的检测, 每组实验取平均值($\bar{x}$), 计算 SD 和 CV 以评估 LFA 的稳定性。

2.7　真实样品检测

此外, 购买 20 份市售牛奶样品, 使用 mAb 1B6 在 CG-LFA 中对这 20 份牛奶样品进行加标回收测试, 由于牛奶中存在脂肪、蛋白质等物质会阻碍抗原-抗体反应, 从而造成基质效应, 因此本研究需要使用 PBST 对牛奶进行稀释。如图 12, 可以看出随着稀释倍数增大, 空白 T 线比色强度逐渐回归, 达到 800 以上, 且在稀释 5 倍时回收率为 101.2%, 因此可以认为稀释 5 倍后的牛奶中基质效应不足以影响检测灵敏度, 因此采用 PBST 对牛奶进行 5 倍稀释。

进行 DMS 加标回收实验, 通过向牛奶中添加 DMS 标准品并使用 PBST 进行稀释, 使待测液浓度为 0.25、0.50、1.00 μg/kg, 进行回收率测定, 如表 2 所示, 回收率为 92.4%~102.8%, 变异系数小于 12.3%, LOD 为 0.05 μg/kg, 满足国家标准牛奶中 0.3 μg/kg LOD 的要求, 本方法与其他方法对比如表 3, 因此证明本研究建立的 CG-LFA 准确度和灵敏度较高, 可以满足牛奶中现场检测 DMS 残留的需要。



注: A. CG-LFA 检测 8 种物质结果, 1: DMS; 2: BTM; 3: FDC; 4: HDC; 5: E1; 6: E2; 7: E3; 8: P4。B、C、D. mAb 1B6 与 BTM、FDC、HDC 的交叉反应检测结果; 小图为 CG-LFA 肉眼观察结果。

图 10 DMS 与 BTM 特异性检测结果

Fig.10 Specific detection results of DMS and BTM

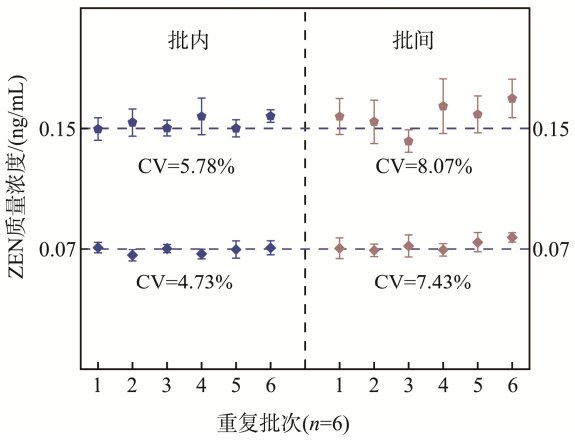


图 11 LFA 稳定性实验

Fig.11 Stability experiment of LFA

2.8 UPLC-MS/MS 结果

为了进一步评估侧向流动免疫分析法 CG-LFA 的实用性和可靠性, 购买了 20 份牛奶样本。采用本研究建立的 CG-LFA 对 20 份样本进行测定, 结果如图 13A 所示, No.9 和 No.12 样本呈现阳性。接着建立了 UPLC-MS/MS 检测 DMS

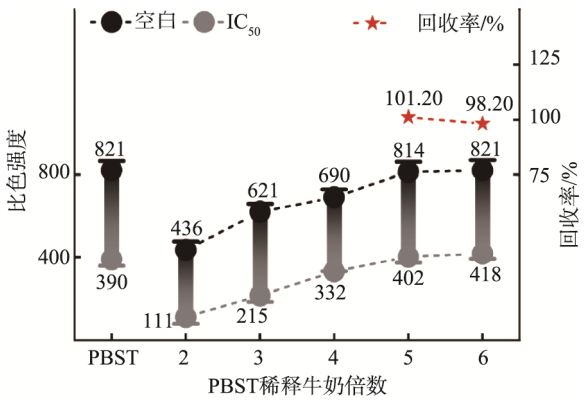


图 12 牛奶稀释倍数优化

Fig.12 Optimization of milk dilution ratio

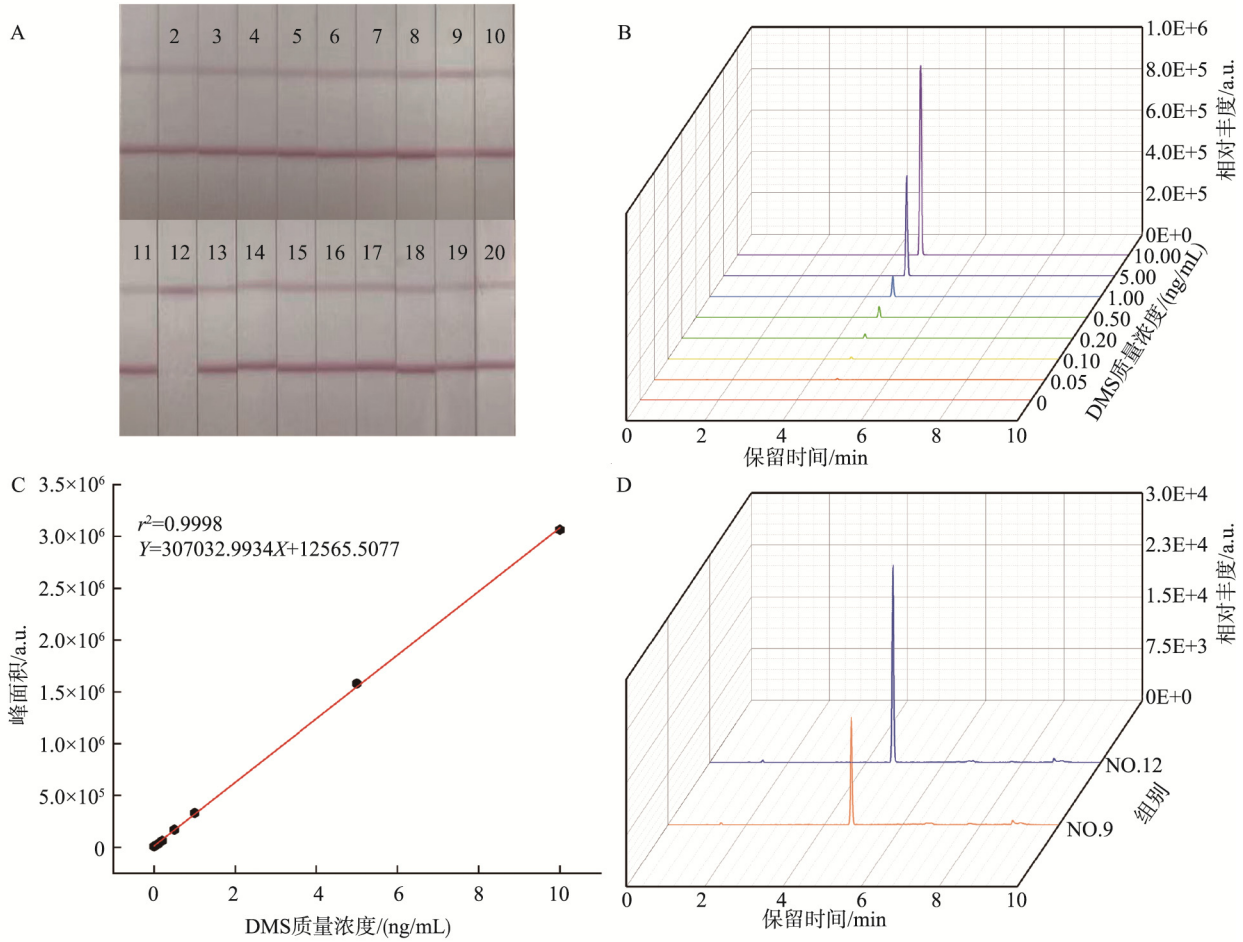
表 2　牛奶中 DMS 加标回收率测定(*n*=3)
Table 2　Determination of the recovery rate of DMS spiked milk (*n*=3)

加标浓度/(μg/kg)	回收浓度/(μg/kg)	回收率/%	LOD/(μg/kg)	CV/%
0.25	0.231±0.002	92.4±0.8	0.05	10.2
0.50	0.501±0.003	102.0±0.6		9.5
1.00	1.028±0.005	102.8±0.5		12.3

的方法, 参照 GB/T 22978—2008《牛奶和奶粉中地塞米松残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》。首先使用乙腈将 DMS 配制系列工作浓度(DMS 终质量浓度为: 0、0.1、0.2、0.5、1.0、5.0 和 10.0 ng/mL), 它的保留时间为 4.68 min。峰面积(AU·min)和 DMS 浓度的标准曲线如图 13B~C 所示。最后通过 UPLC-MS/MS 检测了 No.9 和 No.12 样本, 结果如图 13D 所示, CG-LFA 与 UPLC-MS/MS 检测结果对比如表 4 所示, 检测结果一致证明本方法具有很好的准确性。

表 3　DMS 检测灵敏度对比
Table 3　Comparison of DMS detection sensitivity

检测方法	IC_{50}/(ng/mL)	消线值/(ng/mL)	LODs/(μg/kg)	参考文献
高效液相色谱法	-	-	1.00	[18]
高效液相色谱-串联质谱法			2.7	[19]
液相色谱-串联质谱法	-	-	0.5	[20]
液相色谱-串联质谱法	-	-	0.08	[21]
化学发光酶联免疫法	0.9	-	0.08	[22]
胶体金侧流层析免疫层析分析方法	0.095	0.5	-	[23]
时间荧光分辨侧流层析免疫层析分析方法	0.24	1.0	0.07	[24]
胶体金侧流层析免疫层析分析方法	0.07	0.2	0.05	本研究



注: A. CG-LFA 检测 20 份牛奶结果; B. 不同浓度 DMS 的保留时间; C. DMS 的标准曲线; D. UPLC-MS/MS 检测牛奶阳性结果。
图 13　CG-LFA 与 UPLC-MS/MS 检测 DMS 结果
Fig.13　DMS detection results by CG-LFA and UPLC-MS/MS

表 4 CG-LFA 与 UPLC-MS/MS 检测 DMS 结果对比(μg/kg)
Table 4 Comparison of DMS detection results between CG-LFA and UPLC-MS/MS (μg/kg)

方法	编号																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
CG-LFA	-	-	-	-	-	-	-	-	0.09	-	-	0.21	-	-	-	-	-	-	-	-
UPLC-MS/MS	-	-	-	-	-	-	-	-	0.11	-	-	0.23	-	-	-	-	-	-	-	-

注: -为样品中未检出 DMS。

3 讨论与结论

本研究以 DMS-HS-BSA 作为包被抗原, 制备了 3 株单克隆抗体 mAb 2H1、mAb 1B6 和 mAb 2B6, 并通过 icELISA 筛选获得灵敏度较高的 mAb 1B6。在此基础上, 构建了用于牛奶中 DMS 快速检测的 CG-LFA 方法。该方法的 IC_{50} 为 0.07 ng/mL, 消线值为 0.2 ng/mL, 稳定性实验进一步表明, 在 0.07 ng/mL 和 0.15 ng/mL 两个浓度水平下, 试纸条批内和批间检测结果的 CV 均处于较低水平, 说明所建立的 CG-LFA 具有较好的方法稳定性。

与已有检测方法相比, 本研究建立的 CG-LFA 仅需对牛奶样品进行适当稀释, 即可在较短时间内完成检测, 具有操作简便、成本较低和适合现场应用等优势。从灵敏度指标看, 本研究方法的 IC_{50} 和 LOD 均处于已有免疫分析方法的较低水平, 消线值也低于已报道的免疫层析方法, 表明该方法在快速筛查场景中具有较好的应用潜力。

牛奶作为复杂食品基质, 含有脂肪、蛋白质和其他小分子成分, 可能影响抗原-抗体结合及试纸条层析过程, 从而造成基质效应。本研究通过优化样品稀释倍数降低基质干扰。结果表明, 采用 PBST 对牛奶样品进行 5 倍稀释后, 空白样品 T 线比色强度恢复至适合判读的水平, 且加标回收率处于较理想范围, 说明该处理方式能够有效减弱牛奶基质对检测结果的影响。同时, 在 5 倍稀释条件下, 本方法的 LOD 仍可达到 0.05 μg/kg, 低于牛奶中 DMS 最大残留限量 0.3 μg/kg, 说明该方法在经过简单前处理后仍能满足实际样品检测的灵敏度要求。牛奶中加标回收率为 92.4%~102.8%, 变异系数小于 12.3%, 牛奶中的 LOD 为 0.05 μg/kg, 可满足牛奶样品中 DMS 残留快速筛查的基本要求。

为了进一步验证本研究所建立 CG-LFA 的可靠性, 本研究采用 UPLC-MS/MS 方法对实际牛奶样品进行比对验证。20 份市售牛奶样品经 CG-LFA 检测后, No.9 和 No.12 样品呈阳性; 随后采用 UPLC-MS/MS 对上述阳性样品进行确证检测, 两种方法对阳性样品的判定结果一致。该结果说明, 本研究建立的 CG-LFA 与 UPLC-MS/MS 具有较好的一致性, 可作为牛奶中 DMS 残留的现场快速筛查方法。因此, 在实际应用中, 建议将本方法用于现场初筛、批量样品快速排查和基层检测场景; 对于阳性样品或争议样品, 应采用 UPLC-MS/MS 等标准仪器方法进行确证。

综上所述, 本研究建立的牛奶中 DMS 胶体金侧流层析免疫层析分析方法具有操作简便、检测快速、灵敏度高和稳定性较好的特点。该方法与 UPLC-MS/MS 对实际样品的检测结果具有较好一致性, 能够满足牛奶中 DMS 残留的现场快速筛查需求, 并可为乳品质量安全监管提供一种有效的技术手段。

参考文献

[1] 邓静雯. 糖皮质激素治疗急性肝衰竭的免疫学机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2020.
Deng Jingwen. Immunological mechanisma of glucocorticoid therapy in acute liver failure [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2020.

[2] Banerjee R, King T, Faiman B, et al. Past, present, and future of dexamethasone in multiple myeloma and AL amyloidosis [J]. Journal of Clinical Oncology, 2026, 44(10): 903–913.

[3] Hungria V, Robak P, Hus M, et al. Belantamab mafodotin, bortezomib, and dexamethasone for multiple myeloma [J]. The New England Journal of Medicine, 2024, 391(5): 393–407.

[4] Chicoine A, Renaud D L, Enouri S S, et al. Depletion of dexamethasone in cattle: food safety study in dairy and beef cattle [J]. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2024, 47(2): 80–86.

[5] 陈妍, 倪炜华, 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 Yan, Ni Weihua, Wang Lili, et al. Rapid determination of dexamethasone residues in milk by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(11): 3672–3677.

[6] 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 Yan, Xu Xing, Chen Pengyun, 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]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(20): 7946–7951.

[7] 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 Fengyan, Pan Zhuohui, Lu Manzhi, et al. Research progress on the detection methods of glucocorticoids in food [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(19): 7541–7548.

[8] Chu C C, Hsing C H, Shieh J P, et al. The cellular mechanisms of the antiemetic action of dexamethasone and related glucocorticoids against vomiting [J]. European Journal of Pharmacology, 2014, 722: 48–54.

[9] 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 Fang, Xing Xiaoling, Yu Chunmiao, et al. Research progress on detection technology of dexamethasone residues in animal-derived foods [J]. China Food Safety Magazine, 2022(16): 171–176.

[10] Neyton L P A, Patel R K, Sarma A, et al. Distinct pulmonary and systemic effects of dexamethasone in severe COVID-19 [J]. Nature Communications, 2024, 15: 5483.

[11] Ferranti C, Famele M, Palleschi L, et al. Excretion profile of corticosteroids in bovine urine compared with tissue residues after therapeutic and growth-promoting administration of dexamethasone [J]. Steroids, 2013, 78(9): 803–812.

[12] 孟朝阳. 动物性食品中糖皮质激素的理化检测方法研究进展[J]. 食品安全导刊, 2025(10): 115–117.
Meng (Chao|Zhao)(Yang). Physical and chemical detection method of glucocorticoids in foods of animal origin [J]. China Food Safety Magazine, 2025(10): 115–117.

[13] 刘卫娟, 杨幸子, 管理, 等. 动物源性食品中糖皮质激素残留检测方法研究[J]. 食品安全导刊, 2022(3): 107–109.
Liu Weijuan, Yang Xingzi, Guan Li, et al. Study on detection methods of glucocorticoid residues in animal source food [J]. China Food Safety Magazine, 2022(3): 107–109.

[14] Van Den Hauwe O, Schneider M, Sahin A, et al. Immunochemical screening and liquid chromatographic-tandem mass spectrometric confirmation of drug residues in edible tissues of calves injected with a therapeutic dose of the synthetic glucocorticoids dexamethasone and flumethasone [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(1): 326–330.

[15] Sami M, Mohri M, Seifi H A. Effects of dexamethasone and insulin alone or in combination on energy and protein metabolism indicators and milk production in dairy cows in early lactation - a randomized controlled trial [J]. PLoS One, 2015, 10(9): e0139276.

[16] 彭露湫, 李婷, 黄文, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定猪肉和牛肉中地塞米松、倍他米松、氟苯尼考及氟苯尼考胺残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(4): 135–142.
Peng Luqiu, Li Ting, Huang Wen, et al. Simultaneous determination of dexamethasone, betamethasone, florfenicol and florfenicol amine residues in pork and beef by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(4): 135–142.

[17] 王忠兴. 食品中九种兽药残留免疫快速检测方法研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019.
Wang Zhongxing. Rapid immunoassay for testing nine veterinary drugs residues in food samples [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019.

[18] 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 Jia, Xu Jingdong, Zhang Zuhua. Simultaneous detection of furazolidone and dexamethasone residues in animal edible tissues by HPLC [J]. Meat Industry, 2010(10): 46–49.

[19] 谢蔓莉, 褚能明, 杨晓霞, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定畜禽产品中倍他米松和地塞米松的残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(12): 224–230.
Xie (Man|Wan)(Li), Chu Nengming, Yang Xiaoxia, et al. Determination of betamethasone and dexamethasone residues in livestock and poultry products by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(12): 224–230.

[20] 侯亚莉, 徐飞, 李海燕, 等. 液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法同时测定牛肉中地塞米松、倍他米松和倍氯米松残留[J]. 中国农学通报, 2008, 24(1): 127–131.
Hou Yali, Xu Fei, Li Haiyan, et al. Simultaneous determination of dexamethasone, betamethasone and beclomethasone in bovine muscle by liquid chromatography-electrospary tandem mass spectrometry [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2008, 24(1): 127–131.

[21] 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 Hongbin, Hua Jin, Yang Puchen, et al. Determination of dexamethasone residues in milk by SPE-HPLC-MS/MS [J]. Quality and Safety of Agro-Products, 2021(2): 45–48.

[22] Vdovenko M M, Gribas A V, Vylegzhanina A V, et al. Development of a chemiluminescent enzyme immunoassay for the determination of dexamethasone in milk [J]. Analytical Methods, 2012, 4(8): 2550.

[23] Wang Zhongxing, Zheng Qiankun, Guo Lingling, et al. Preparation of an anti-dexamethasone monoclonal antibody and its use in development of a colloidal gold immunoassay [J]. Food and Agricultural Immunology, 2017, 28(6): 958–968.

[24] 周芳, 窦彩云. 时间分辨荧光免疫层析快速检测牛奶中地塞米松[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(22): 7331–7338.
Zhou Fang, Dou Caiyun. Rapid detection of dexamethasone in milk by time-resolved fluorescence immunochromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(22): 7331–7338.

[25] 王金魁, 丁明月, 毛烨炫, 等. 雌二醇单克隆抗体制备及胶体金侧流层析免疫分析方法的建立[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(18): 201–210.
Wang Jinkui, Ding Mingyue, Mao Yexuan, et al. Preparation of monoclonal antibodies against 17β-estradiol and establishment of colloidal gold-based flow immunoassay [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(18): 201–210.

[26] Li Zizhe, Wang Jinkui, Wang Youyi, et al. Development of a lateral flow immunoassay based on a highly specific monoclonal antibody to detect 4-methylaminoantipyrine [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(28): 10841–10849.

[27] Li Zizhe, Cui Qianqian, Li Qingyue, et al. Preparation of ultra-sensitive anti-carbendazim antibodies based on new haptens and their application in lateral flow immunoassay [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2024, 412: 135751.

[28] Luo Changwei, Fan Mengzhuo, Chen Mengtian, et al. Engineered CeO_2@Ru nanospheres *via* size-metal-loading synergy to enhance chemiluminescence efficiency for sensitive immunochromatographic assay [J]. Small, 2025, 21(34): e2503909.

[29] Wang Jinkui, Bu Tong, Cui Qianqian, et al. A broad-spectrum antibody-based lateral flow immunoassay for detection of carbofuran and 3-hydroxy-carbofuran [J]. Food Chemistry, 2025, 465: 142062.

[30] Mao Yexuan, Wang Jinkui, Luo Changwei, et al. Orientational probes-powered sensitive and accurate immunochromatographic assays with reduced antibody consumption and diminished matrix interference [J]. Food Chemistry, 2026, 508: 148338.

(责任编辑: 蔡世佳　曹岱琳)