

基于比色和荧光双信号检测戊唑醇的免疫层析试纸条的构建

赵 贇^{1,2}, 蔡伊娜³, 张存政⁴, 彭池方^{*1,2}

(1. 食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122; 3. 深圳海关食品检验检疫技术中心, 广东 深圳 518045; 4. 江苏省农业科学院, 江苏 南京 210014)

摘要: 基于 Au@PDA 核壳纳米粒子和其对量子点荧光淬灭效应, 制备了一种双信号读取模式的免疫层析试纸条, 可用于定性或定量检测果蔬中戊唑醇的含量。研究了纳米金和抗体复合物的制备、试纸条传感元件的载量和缓冲液等因素对试纸条检测灵敏度的影响。在最优条件下, 采用比色检测模式时, 所构建双信号戊唑醇试纸条, 其肉眼定性检测限为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 而采用荧光检测模式时, 其肉眼定性检测限为 100 ng/mL 。将该试纸条应用于黄瓜样品检测, 结果显示: 黄瓜样品的提取液通过适当稀释后, 样品基质的干扰可以消除; 试纸条对黄瓜样品的检测限为 0.8 mg/kg , 可满足国家安全标准的限量要求。

关键词: Au@PDA 纳米粒子; 量子点; 免疫层析; 戊唑醇; 双信号读取

中图分类号: TL 27115 文章编号: 1673-1689(2022)01-0036-08 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2022.01.005

Fabrication of Immunochromatography Strip for Tebuconazole Based on Colorimetric and Fluorescent Dual-Signal Detection

ZHAO Yun^{1,2}, CAI Yina³, ZHANG Cunzheng⁴, PENG Chifang^{*1,2}

(1. State Key Laboratory of Food Science & Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. Food Inspection and Quarantine Centre, Shenzhen Customs, Shenzhen 518045, China; 4. Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: Based on Au@PDA core-shell nanoparticles (NPs) and the fluorescence quenching toward quantum dots, a dual-signal readout mode lateral flow immunoassay strip (LFIA) was fabricated for qualitative or quantitative determination of tebuconazole in fruits and vegetables. The effects of the preparation of Au@PDA and Au@PDA-antibody complex, the load of sensing elements and buffers of the strip were investigated on the strip sensitivity. Under the optimal conditions, the qualitative detection limit of tebuconazole by the naked eyes was 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in colorimetric mode and 100 ng/mL in fluorescent detection mode. The developed strip was applied in the tebuconazole detection in cucumber samples. And the results showed the interference of sample

收稿日期: 2021-03-24

基金项目: 国家重点研发计划项目(SQ2018YFC160039); 国家自然科学基金资助项目(31871879); 江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(17)1003)。

* 通信作者: 彭池方(1975—), 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品安全检测与控制技术研究。E-mail: pef@jiangnan.edu.cn

matrix could be eliminated by an appropriate dilution of cucumber sample extract. The limit of detection for tebuconazole in cucumber was 0.8 mg/kg, meeting the limit requirement of national safety standard.

Keywords: Au@PDA, quantum dot, immunochromatography, tebuconazole, dual-signal readout

戊唑醇(Tebuconazole,TEB)是一种广谱、高效、低毒且药效持续时间长的新型三唑类杀菌剂^[1],在农业生产中应用广泛,可以控制蔬菜、水果和谷物的病原真菌,以保证农产品的产量和质量。然而,杀菌剂的滥用存在巨大的危害,如对人体健康的潜在危害以及农产品、土壤和水中的残留对环境造成污染^[2]。尽管已经有许多方法可实现TEB的高灵敏度检测,如高效液相色谱法^[3]和气相色谱法^[4]等,但是这些方法存在仪器昂贵、检测烦琐、耗时和要求专业人员等限制,使其难以实现TEB的现场检测。因此,开发高灵敏、低成本的戊唑醇检测方法具有重要意义。

免疫层析技术(Lateral flow immunoassay,LFIA)是一种基于色谱层析技术和纳米标记物^[5]的即时检测技术。目前,基于纳米材料的改性或修饰是提高LFIA检测性能的重要途径之一^[6]。例如多巴胺(Dopamine,DA)作为一种稳定的功能化修饰材料受到广泛关注。Xu等^[7]使用H₂O₂辅助DA氧化聚合为聚多巴胺(Polydopamine,PDA),成功在金纳米颗粒(Gold nanoparticles,AuNPs)表面修饰不同厚度的PDA壳层,提高了与玉米烯酮抗体偶联的稳定性和检测灵敏度。Choi等^[8]在碱性条件下使DA自聚合到AuNPs表面,并利用PDA良好的黏附性,将荧光标记的发夹DNA链固定在表面。Liu等^[9]通过将PDA修饰到AuNPs表面,成功将CuInZnS量子点结合在该复合材料表面,AuNPs-PDA核壳结构不仅增强了电化学发光强度,而且大大削减了荧光淬灭的程度。量子点(Quant dot,QD)具有稳定性强,荧光发射强度高和发射波长可调等优点,常被作为标记物来提高LFIA的灵敏度和稳定性^[10]。例如高晓龙等^[11]将羧基化CdSe/ZnS量子点与犬细小病毒单克隆抗体5G7共价偶联,制备出量子点免疫层析试纸条,其灵敏度达到1×10³TCID₅₀/mL,显著高于传统胶体金试纸条。Sheng等^[12]根据ZnCdSe/ZnS量子点的淬灭机理,将代表阳性的消线信号转换为显线信号,显著提高了四环素类抗生素检测的肉眼检出灵敏度。

本研究中通过H₂O₂辅助制备Au@PDA,并以Au@PDA为荧光淬灭体,以喷涂在T线上的ZnCdSe/ZnS量子点作为荧光供体,构建了一种基于反向荧光增强的双信号放大免疫层析模型,实现了对戊唑醇的快速半定量检测。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

氯金酸、卵清蛋白、多巴胺盐酸盐(DA·HCl)、柠檬酸三钠:上海国药控股化学试剂有限公司产品;戊唑醇:Sigma公司产品;表面羧基化ZnCdSe/ZnS量子点:世纪珈源量子点技术有限公司产品;戊唑醇单克隆抗体:作者所在实验室制备;实验用水均为18.2 MΩ·cm的Millipore超纯水,其余试剂均为市售分析纯。

ZQ2000 微电脑自动斩切机:上海金标生物科技有限公司产品;GT-710手持式食品安全分析仪:北京勤邦生物技术有限公司产品;紫外分光光度计:江苏贝普科学仪器有限公司产品;WH220-R磁力搅拌器:北京维根技术有限公司产品;ZX1000三维喷点平台:上海百道贸易有限公司产品;台式高速冷冻离心机:中国赛默飞世尔科技有限公司产品。

1.2 AuNPs和Au@PDA的合成

参照文献[13]中制备方法。将实验所用的三角瓶、搅拌子用重铬酸和浓硫酸混合液浸泡过夜,然后用蒸馏水反复冲洗,再用超纯水漂洗,烘干待用;准确量取99.5 mL的超纯水于三角瓶中,加入500 μL质量分数2%的氯金酸溶液,搅拌均匀后加热;待溶液沸腾后一次性加入5 mL的1 g/dL柠檬酸三钠,继续加热至溶液颜色变为酒红色,当溶液颜色稳定时,停止加热,慢速搅拌30 min后取下,自然冷却至室温后存放到4℃冰箱保存待用。

参考文献[14]中合成方法,稍做改动。取1 mL制备好的AuNPs溶液,10 000 r/min离心30 min,并使用Tris-HCl(pH 9)重悬,加入4 μL体积分数为3% H₂O₂充分搅拌均匀,分别加入10、20、30 μL 5 mg/mL DA·HCl(分别记为Au@PDA-50、Au@PDA-

100、Au@PDA-150), 室温下避光反应 1 h, 待溶液由酒红色变为红褐色后 10 000 r/min 离心 30 min, 并加入超纯水复溶, 放置 4 °C 冰箱待用。

1.3 Au@PDA-mab 的制备

取 1 mL 上述制备得到的 Au@PDA 溶液, 使用 0.1 mol/L 的 K_2CO_3 调节 pH 至 7, 置于磁力搅拌器上并缓缓加入 7 μ g 戊唑醇单克隆抗体; 避光反应 1 h 后加入 10 μ L 质量分数 20% BSA 封闭 30 min, 封闭完成后 10 000 r/min 离心 30 min, 去除上清液后加入 100 μ L 超纯水复溶。

1.4 量子点-卵清蛋白(QDs-OVA)的合成

参照文献[15]中偶联方法, 稍做改动。具体如下: 取 100 μ L 表面羧基化 ZnCdSe/ZnS 量子点(8 μ mol/L), 以 50 mmol/L 的硼酸缓冲液(pH 6)稀释至 600 nmol/L, 加入 0.1 mol/L 的 K_2CO_3 调节 pH 至 5~6, 慢速搅拌条件下加入 15 μ L 10 mg/mL EDC 溶液, 室温下避光反应 4 h; 随后加入 1.8 mg 卵清蛋

白, 继续反应过夜至反应结束后置于 4 °C 储存。

1.5 免疫层析试纸条的组装

免疫层析试纸条主要由样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜(NC膜)、聚氯乙烯底板(PVC底板)和吸水垫 5 部分组成(见图 1)。将玻璃纤维膜裁成长度 15 mm 的长条作为样品垫, 经处理液浸泡后 37 °C 烘干。将玻璃纤维膜切成长度 6 mm 的长条作为金标垫, 并使用处理液浸泡后 37 °C 烘干。将 Au@PDA-mab 探针喷涂在金标垫于 37 °C 烘箱烘干 30 min 后备用。将吸水垫裁成长度 10 mm 的长条, 按图 1 所示将各部分组装完毕。使用划膜机将包被原和量子点-卵清蛋白复合物的混合物喷涂在 NC 膜上作检测线(T线), 将羊抗小鼠二抗喷涂在 NC 膜上作为控制线(C线), 两线间距 6 mm。烘干后, 使用自动斩切机裁成长度 4 mm 的长条, 置于 37 °C 下烘干 6 h 后装入含有干燥剂的封口袋中待用。

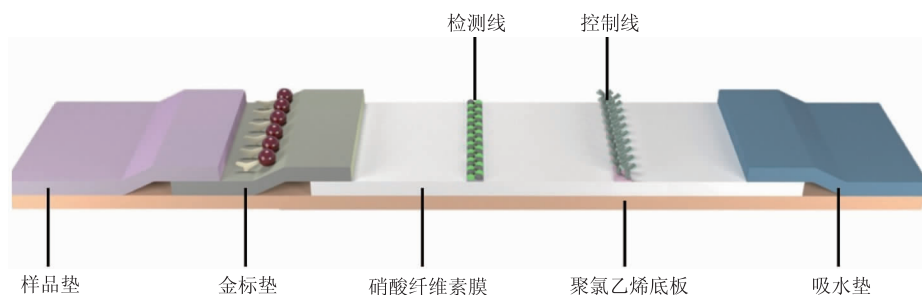


图 1 双信号免疫层析试纸条的结构示意图

Fig. 1 Schematic illustration of immunochromatographic test strip

1.6 反应条件的优化

基于双信号读取模式, 先对 Au@PDA 裸眼比色模式的条件进行优化, 以 T 线颜色的色差为指标, 对 PDA 层厚度、pH、抗体加入体积和包被原(TEB-BSA)质量浓度进行条件优化; 随后, 在紫外光照射条件下, 继续对量子点浓度和探针体积作为优化条件, 以荧光恢复最小浓度为优化指标, 得出最佳参数。

$$\Delta PPI = PPI_0 - PPI_1$$

式中: ΔPPI 为在阳性条件下和阴性条件下, 试纸条上 T 线读取到的信号的差值; PPI_0 为在阴性条件下检测时, T 线条带的像素分辨率; PPI_1 为在阳性条件下检测时, T 线条带的像素分辨率

2 结果与讨论

2.1 AuNPs 和 Au@PDA 的表征

如图 2 所示, 通过 DA 聚合反应, 在 AuNPs 表面可形成均匀的壳层。壳层的厚度随着 DA 加入量的增加而增加, 并且, 其吸光度也有显著增加(见图 3), 这有利于试纸条比色信号的增强。DA 对 AuNPs 的包裹, 是由于 DA 在碱性条件下很容易氧化自聚合形成 PDA, 并且具有非常强的黏附作用^[16], 而这源于其表面含有丰富的 3,4-二羟基-L-苯丙氨酸(DOPA)和赖氨酸^[17]。并且, 上述 Au@PDA 对抗体的结合也不同于传统胶体金通过静电吸附标记抗体, 而是通过 PDA 借助表面较强的奎宁-氨基作用, 以

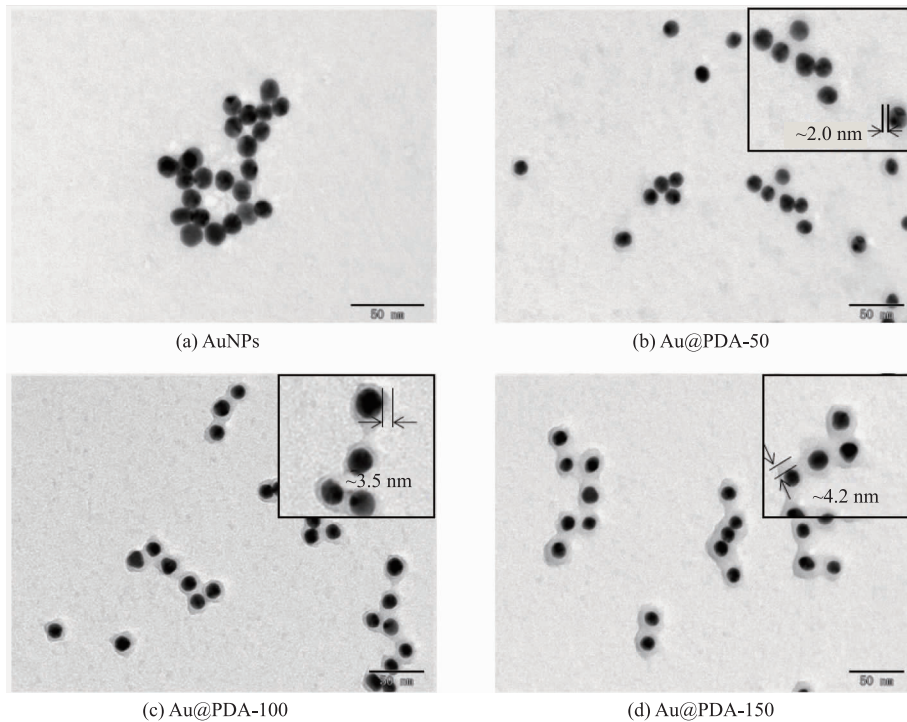


图 2 AuNPs 和 Au@PDA 的 TEM 图

Fig. 2 TEM images of AuNPs and Au@PDA

及迈克尔加成反应^[18],使得与抗体偶联更加稳定。

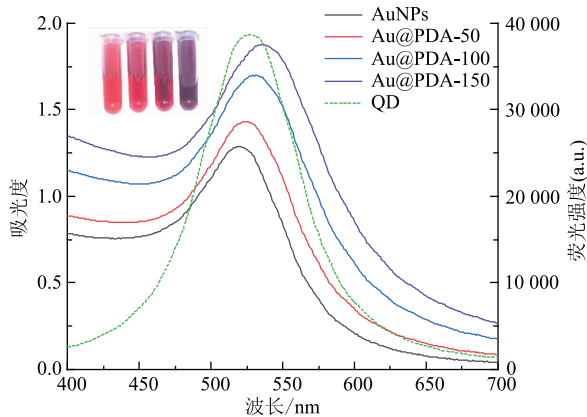


图 3 AuNPs/Au@PDA 和 QD 的紫外吸收光谱和荧光光谱

Fig. 3 UV-vis and fluorescence spectra of AuNPs/Au@PDA and QD

表面羧基化的量子点通过活泼酯法将卵清蛋白偶联到量子点表面。当 Au@PDA 距离 QDs-OVA 足够近时, QDs 发出的荧光强度将会显著下降甚至淬灭,这是由于 Au@PDA 的紫外吸收光谱特征峰和量子点的发射光谱特征峰重叠程度大(见图 3),导致量子点发出的荧光被 Au@PDA 吸收,即发生了荧

光共振能量转移(FRET)^[15]。所设计比色和荧光双信号检测试纸条的检测原理如下:当样品中不含有戊唑醇时,T 线喷涂的包被原捕获 Au@PDA 探针, FRET 作用下荧光被淬灭,如图 4(a)所示;而当样品中存在目标物时,竞争作用下结合到 T 线上的 Au@PDA 数量减少,荧光逐渐恢复,如图 4(b)所示。

2.2 反应条件的优化

2.2.1 PDA 层厚度的影响 向 1.2 中 AuNPs 溶液里分别加入 50、100、150 μg 的 DA, 反应结束后测定紫外吸收峰(见图 3)分别在 525、531、537 nm 处,且溶液颜色逐渐加深,制备的 AuNPs 模板特征峰在 518 nm 处;随后,从 TEM 表征中(见图 2)可测出壳层厚度分别为 2.0、3.5、4.2 nm,当 PDA 层厚度为 3.5 nm 时(DA 加入质量 100 μg),检测线的像素值差 ΔPPI 最高(见图 5)。应用 Au@PDA 提高了试纸条检测的信号响应,这可主要归结于两方面:一方面 PDA 修饰金纳米颗粒使其比表面积增大,增加纳米粒子表面吸附的抗体量;另一方面,所得到的 Au@PDA 的吸光度增加。因此选用加入质量为 100 μg 作为 DA 最佳加入量。

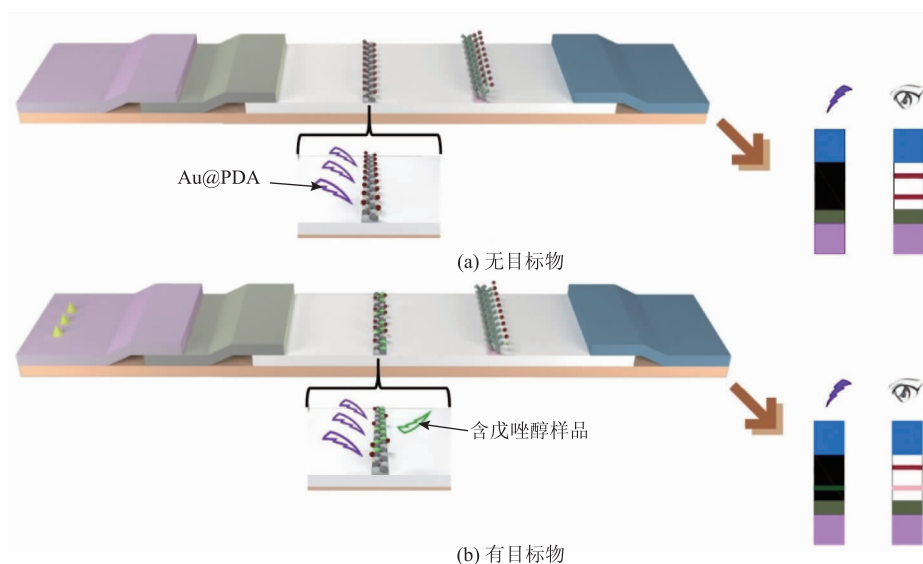


图4 试纸条荧光检测的原理

Fig. 4 Principle of fluorescent detection with LFIA strip

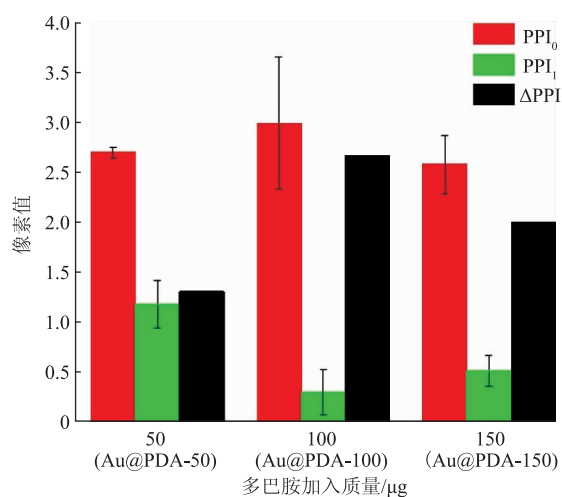


图5 比色检测模式条件下 PDA 层厚度的优化

Fig. 5 Optimization of thickness of PDA layer in colorimetric detection mode

2.2.2 抗体加入体积的影响 当 Au@PDA 表面标记抗体足够时,探针才会足够稳定不至于在盐溶液 中发生聚沉^[9],但过量的抗体不仅会造成抗体的浪费,同时也会降低对戊唑醇的响应。如图 6 所示,当 抗体加入体积超过 10 μL 时, ΔPPI 逐渐下降,因此 选用抗体加入体积 10 μL 为最优条件。

2.2.3 pH 的影响 抗体偶联标记物的环境是影响 抗体标记物效果的重要因素之一,对于静电吸附而 言,pH 达到抗体等电点时最适合抗体的标记,但由 于 PDA 与抗体发生的是共价键的结合,如图 7 所 示,可以看到 pH 为 7 时 ΔPPI 最大,随着 pH 逐渐

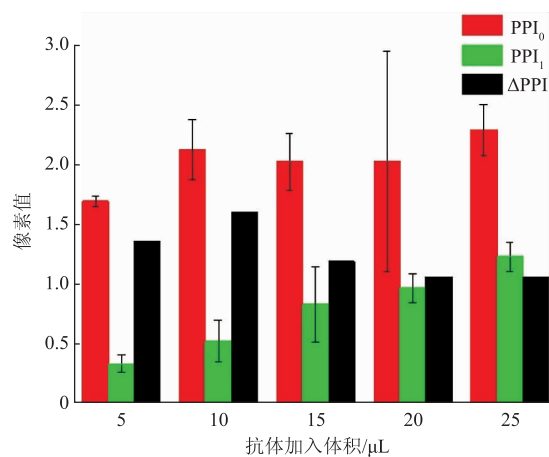


图6 比色检测模式条件下抗体加入量的优化

Fig. 6 Optimization of amounts of antibody in colorimetric detection mode

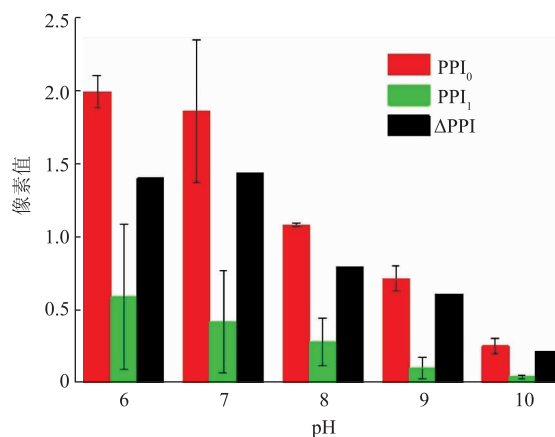
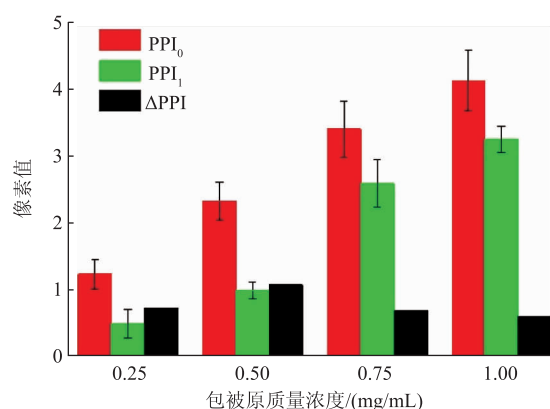


图7 比色检测模式条件下 pH 的优化

Fig. 7 Optimization of pH in colorimetric detection mode

升高 PPI_0 逐渐下降,说明迈克尔加成反应不适于在碱性条件下进行,因此,pH 为 7 时是标记抗体的最佳环境。

2.2.4 包被原质量浓度的影响 当 T 线上包被原质量浓度过高时,T 线上就会吸附过多的探针,从而导致阳性检测时 T 线信号值响应程度下降。由图 8 可以看出,当 T 线上包被原质量浓度从 0.25 mg/mL 逐渐增大到 1.00 mg/mL 时, PPI_0 逐渐增大,捕获到的探针数量增多,但 ΔPPI 在 0.50 mg/mL 质量浓度条件下达到最高,说明包被原质量浓度在 0.5 mg/mL 条件下最利于目标物的检出。

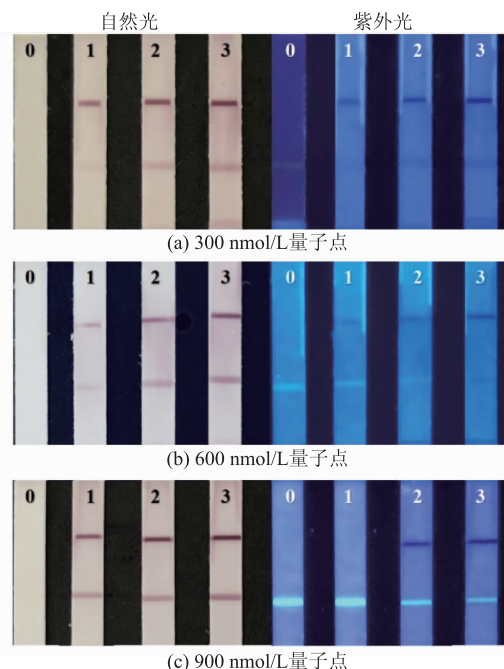


包被原(TEB-BSA)中戊唑醇质量浓度分别为 250、500、750、1 000 ng/mL

图 8 比色检测模式条件下 TEB-BSA 质量浓度的优化

Fig. 8 Optimization of concentration of TEB-BSA in colorimetric detection mode

2.2.5 量子点和 Au@PDA-mab 探针负载量的影响 在上述优化条件下,选取了 3 个浓度的量子点和金标垫上不同体积的探针相互作用,如图 9 所示,当 T 线上喷涂量子点浓度为 300 nmol/L 时,紫外光照射条件下,只能在干燥的条带上读取微弱的荧光信号,而当样品加入后,量子点荧光信号被背景值覆盖(见图 9(a));当量子点浓度为 900 nmol/L 时,紫外光照射条件下能够清楚的识别出荧光信号,但是随着探针体积的增多,并不能观察到荧光淬灭的现象,即使探针最大加入体积达到 3 μ L 依旧无法完全淬灭(见图 9(c));而当量子点浓度调整为 600 nmol/L 时,不仅能够清楚地辨别出 T 线上的荧光条带,同时在探针体积加到 3 μ L 时可以观察到荧光刚好被淬灭,因此 3 μ L 探针体积和 600 nmol/L 量子点浓度为最适荧光淬灭体积和浓度。



标注 0、1、2、3 的试纸条金标垫上,金纳米探针体积分别为 0、1、2、3 μ L。

图 9 Au@PDA 对量子点淬灭效应的优化

Fig. 9 Optimization of the quenching effect of Au@PDA toward quantum dots

2.3 试纸条的检测灵敏度

在上述最优反应条件下,利用 Au@PDA 对 QDs 的荧光淬灭作用,将戊唑醇质量浓度的负反馈信号转换为正反馈信号,结合 Au@PDA 本身裸眼比色,构建出一种双信号读取方法来检测农药残留物戊唑醇。以含有体积分数 5% 甲醇的 PBS 缓冲溶液作为溶剂,对戊唑醇标准品梯度稀释配置一系列质量浓度溶液;两种信号读取方式中,均以裸眼能够观察到消线或显线的最小质量浓度作为定性检测限(见图 10),在裸眼比色条件下,当戊唑醇质量浓度达到 1 μ g/mL 时 T 线消失,因此 1 μ g/mL 为裸眼比色的检测限。在紫外光照射条件下,随着戊唑醇质量浓度的升高荧光强度也逐渐升高,裸眼观察到 T 线荧光出现的最小质量浓度为 100 ng/mL,因此 100 ng/mL 为荧光检测的定性检测限。以上结果表明,裸眼检测时,荧光检测比比色检测的灵敏度提高了 10 倍。关于戊唑醇检测方法的报道较少,如 Danks 等^[20]建立了一种用于定量检测戊唑醇的竞争性 ELISA 方法,其最低检出质量浓度为 20 ng/mL。侯世澄等^[21]

利用戊唑醇对牛血清白蛋白的内源荧光淬灭作用,建立荧光光度法检测戊唑醇,其检出限为 0.66 $\mu\text{g/mL}$ 。由于本方法采用的是肉眼判别结果,考虑到采用层析试纸荧光读数仪一般可以提高其检测灵敏度一个数量级左右^[11-12],因此,本方法与上述的戊唑醇检测的方法对比,其灵敏度、便携性和操作简便性都具有一定的优势。许俊丽等^[13]将胶体金探针和样品溶液在微孔孵育一段时间后,建立基于湿法胶体金免疫层析的戊唑醇检测方法,对戊唑醇检测灵敏度达到 6.25 ng/mL 。尽管本研究中的方法灵敏度低于上述方法,但是本方法基于干法检测,只需要一步操作,且无需仪器读取,因此更能体现试纸操作简单、成本低和灵敏度高等优点。

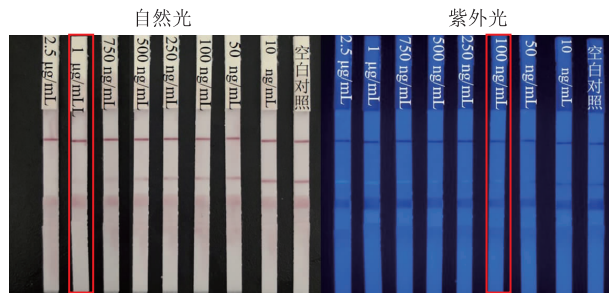


图 10 试纸条检测对戊唑醇的灵敏度

Fig. 10 Sensitivity of detecting tebuconazole

2.4 特异性分析实验

分别选用 10 $\mu\text{g/mL}$ 的丙环唑、腈菌唑、多效唑、己唑醇三唑类杀菌剂和 1 $\mu\text{g/mL}$ 的戊唑醇作为可能存在的农药残留共存物进行特异性实验。如图 11 所示,10 $\mu\text{g/mL}$ 的丙环唑、腈菌唑、多效唑、己唑醇并没有引起 T 线上信号的响应,这说明本方法对于戊唑醇的检测具有良好的特异性。

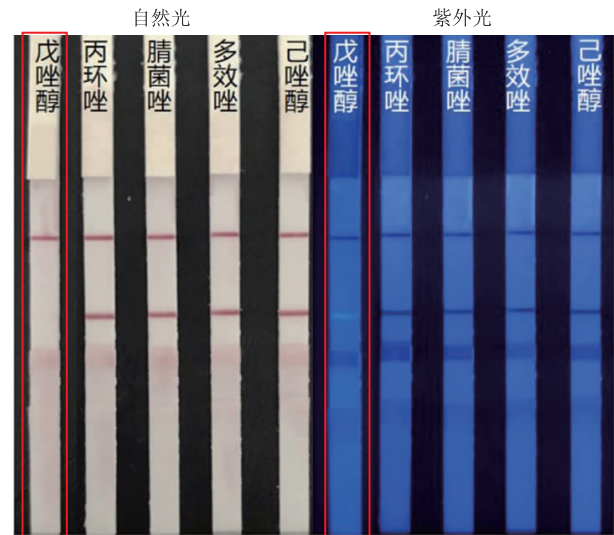


图 11 试纸条检测戊唑醇的特异性

Fig. 11 Specificity of tebuconazole test strip

2.5 实际样品中的检测

根据许俊丽等^[13]对果蔬的预处理操作,将黄瓜用食品粉碎机打碎成泥浆状,然后取 10 g 样品于 50 mL 离心管中,然后在涡旋仪上振荡 15 min,并分别加入 10 mL 乙腈和 1~3 g NaCl,振荡混匀 30 min,随后在 5 000 r/min 条件下离心 5 min 使样品残渣、水相和有机相分层。准确吸取 5 mL 上层提取液于 10 mL 离心管中,氮气吹干,残留物加入 5 mL 缓冲液(体积分数 5% 甲醇-PBS 混合液)复溶后加入戊唑醇标准品使其质量浓度分别为 0、50、100、500 ng/mL 和 1 $\mu\text{g/mL}$ 用作试纸条检测,但首先需要去除基质干扰效应,如表 1 所示。将基质以两倍梯度稀释,结果发现当稀释倍数为 16 倍时对试纸条结果读取没有影响,基于荧光及比色检测灵敏度分别为 100 ng/mL 和 1 $\mu\text{g/mL}$,检测结果表明添加质量

表 1 黄瓜中戊唑醇的检测

Table 1 Detection of tebuconazole (TEB) in cucumber

样品	戊唑醇质量浓度	体积分数 5% 甲醇-PBS	样品基质的稀释倍数			
			2	4	8	16
黄瓜	0 ng/mL	--	--	--	--	--
	50 ng/mL	--	--	--	--	--
	100 ng/mL	-+	--	--	--	-+
	500 ng/mL	±+	--	--	--	±+
	1 $\mu\text{g/mL}$	++	--	--	±+	++

注:“+”为阳性结果,与之对应的也就是自然光下的 T 线消失或者荧光条件下的 T 线荧光显现;“-”为阴性结果,与之对应的就是自然光下的 T 线显色或荧光条件下的 T 线荧光消失;红色为 Au@PDA 裸眼比色的结果,绿色为紫外条件下的识别结果。

浓度 ≥ 100 ng/mL 和 ≥ 1 μ g/mL 时, 浓缩提取后用体积分数 5% 甲醇-PBS 稀释 16 倍时, 检测结果可与缓冲液配制标准液一致。上述结果表明, 乙腈提取黄瓜样品时基质存在较明显干扰, 但是通过缓冲液适当稀释既可以消除样品基质对上述试纸条检测戊唑醇的干扰。上述试纸条的荧光检测模式, 对黄瓜中戊唑醇的定性检测限为 0.8 mg/kg。我国对黄瓜中戊唑醇的残留限量为 1.0 mg/kg, 因此, 本研究中的试纸条可以满足监管的要求。

3 结 语

本研究中基于 Au@PDA 抗体复合物以及半导体量子点, 成功构建了一种肉眼比色和荧光双信号检测戊唑醇试纸条。通过对检测条件的优化, 在荧光检测模式下, 其检测灵敏度比比色检测模式提高了 10 倍, 和其他检测方法相比本研究的方法操作过程简单、检测速度快, 从而实现了对戊唑醇的高灵敏定性分析。

参考文献:

- [1] GODARD J, AIMEUR M, VILLANDIER N, et al. Photodegradation of tebuconazole mediated by a novel hybrid phenalenone based photosensitizer[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2021, 408: 1-8.
- [2] MUÑOZ-LEOZ B, RUIZ-ROMERA E, ANTIGÜEDAD I, et al. Tebuconazole application decreases soil microbial biomass and activity[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(10): 2176-2183.
- [3] WANG P, JIANG S R, LIU D H, et al. Direct enantiomeric resolutions of chiral triazole pesticides by high-performance liquid chromatography[J]. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 2005, 62(3): 219-230.
- [4] DENG Z, HU J, QIN D, et al. Simultaneous analysis of hexaconazole, myclobutanil, and tebuconazole residues in apples and soil by SPE clean-up and GC with nitrogen-phosphorus detection[J]. *Chromatographia*, 2010, 71(7/8): 679-684.
- [5] POSTHUMA-TRUMPIE G A, KORF J, AMERONGEN A. Lateral flow (immuno)assay: its strengths, weaknesses, opportunities and threats: a literature survey[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2009, 393(2): 569-582.
- [6] 田亚晨, 王淑娟, 马兰, 等. 纳米颗粒在侧流免疫层析技术中的应用研究进展[J]. *食品科学*, 2019, 40(17): 348-356.
- [7] XU S, ZHANG G, FANG B, et al. Lateral flow immunoassay based on polydopamine-coated gold nanoparticles for the sensitive detection of zearalenone in maize[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, 11(34): 31283-31290.
- [8] CHOI C K K, LI J M, WEI K C, et al. A gold@polydopamine core-shell nanoprobe for long-term intracellular detection of microRNAs in differentiating stem cells[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, 137(23): 7337-7346.
- [9] LIU Y, CHEN X, MA Q. A novel amplified electrochemiluminescence biosensor based on Au NPs@PDA@CuInZnS QDs nanocomposites for ultrasensitive detection of p53 gene[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2018, 117: 240-245.
- [10] 朱芳茜, 何扩, 张秀媛, 等. 量子点标记荧光免疫试纸条可视化检测肉品中志贺氏菌研究[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(3): 136-140.
- [11] 高晓龙, 刘庆斌, 李月, 等. 犬细小病毒量子点免疫层析试纸条的研制[J]. *中国动物传染病学报*, 2021, 29(3): 29-33.
- [12] SHENG W, CHANG Q, SHI Y, et al. Visual and fluorometric lateral flow immunoassay combined with a dual-functional test mode for rapid determination of tetracycline antibiotics[J]. *Mikrochim Acta*, 2018, 185(9): 404.
- [13] 许俊丽, 刘贝贝, 王玉龙, 等. 胶体金免疫层析试纸条检测农产品中戊唑醇残留[J]. *分析化学*, 2019, 47(11): 1823-1831.
- [14] YE W, HUANG H, YANG W, et al. Ultrathin polydopamine film coated gold nanoparticles: a sensitive, uniform, and stable SHINERS substrate for detection of benzotriazole[J]. *Analyst*, 2017, 142(18): 3459-3467.
- [15] HU G, SHENG W, LI S, et al. Quantum dot based multiplex fluorescence quenching immune chromatographic strips for the simultaneous determination of sulfonamide and fluoroquinolone residues in chicken samples[J]. *RSC Advances*, 2017, 7(49): 31123-31128.
- [16] YAKHLIFI S E, BALL V. Polydopamine as a stable and functional nanomaterial[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2020, 186: 1-8.
- [17] HERBERT W J, QIN X Q. Polyphosphoprotein from the adhesive pads of *Mytilus edulis*[J]. *Biochemistry*, 2001, 40(9): 2887-2893.
- [18] YI W, DUN Z, YI W, et al. Direct immobilisation of antibodies on a bioinspired architecture as a sensing platform[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2011, 26(5): 2595-2600.
- [19] 徐振林, 罗林, 周泳麒, 等. 胶体金免疫层析法测定酸奶中组胺含量及教学应用[J]. *分析实验室*, 2018, 37(7): 769-773.
- [20] DANKS C, CHAUDHRY M Q, PARKER L, et al. Development and validation of an immunoassay for the determination of tebuconazole residues in cereal crops[J]. *Food and Agricultural Immunology*, 2010, 13(3): 151-159.
- [21] 侯世澄, 陈刚, 朱春民, 等. 荧光光度法测定戊唑醇的研究[J]. *农业灾害研究*, 2016, 6(1): 5-7.