DOI:10.12441/spyswjs.20240129002 [文章编号] 1673-1689(2024)11-0034-10

食品中新烟碱类农药免疫快速检测研究进展

寇 帅[1,2] 周 玮[1] 朱晓军[1] 匡 华[2] 胥传来[2] 郭玲玲[2*]

(1. 江苏省产品质量监督检验研究院,江苏 南京 210042; 2. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要:新烟碱类农药是目前农作物中使用最广泛的神经毒性杀虫剂之一,其残留超标问题一直备受关注。开发新烟碱类农药的高效快速检测技术对于保障食品安全具有重要意义。免疫快速检测凭借技术优势在食品安全监管中得到了广泛应用。作者综述了新烟碱类农药最大残留限量的现行标准,以及常用的新烟碱类农药快速免疫检测技术如酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)技术、免疫层析技术、荧光免疫分析(fluorescence immunoassay,FIA)技术、化学发光免疫分析(chemiluminescence immunoassay,CLIA)技术和仿生ELISA技术的作用原理、特点、研究进展,并评价这些技术的优点与不足。最后对新烟碱类农药在食品安全快速分析检测中面临的挑战和发展前景进行讨论,以期为食品安全免疫快速检测方法的建立提供参考。

关键词:新烟碱类农药;酶联免疫吸附测定;免疫层析;荧光免疫分析;化学发光免疫分析;仿生酶联免疫吸附测定

Advances in the Rapid Immunoassay Detection of Neonicotinoid Pesticides in Food

KOU Shuai[1,2] *ZHOU Wei*[1] *ZHU Xiaojun*[1] *KUANG Hua*[2] *XU Chuanlai*[2] *GUO Lingling*[2*]

(1. Jiangsu Product Quality Testing and Inspection Institute, Nanjing 210042, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Neonicotinoid pesticides are one of the most widely used neurotoxic insecticides in crops, and their excessive residue levels have long been a significant concern. Developing efficient, rapid detection technology for neonicotinoid pesticides is crucial for ensuring food safety. Immunoassay-based rapid detection has gained increasing application in food safety monitoring due to its technical advantages. The author primarily reviews the current national standards for maximum residue limits of neonicotinoid pesticides and summarizes the principle, characteristics, and research progress of commonly used rapid immunoassay techniques including enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technology, immunochromatography assay technology, fluorescence immunoassay (FIA) technology, chemiluminescence immunoassay (CLIA) technology, and biomimetic ELISA technology for their detection. The advantages and limitations of these techniques are also evaluated. Finally, the challenges and prospects of applying rapid analysis and detection of neonicotinoid pesticides in food safety are discussed, with the aim of providing a reference for the development of immunoassay-based rapid detection methods for food safety.

Keywords: neonicotinoid pesticides; enzyme-linked immunosorbent assay; immunochromatography assay; fluorescence immunoassay; chemiluminescence immunoassay; biomimetic enzyme-linked immunosorbent assay

随着科技快速发展,全球农业已呈现出规模化和工业化的发展态势。我国是一个以农业为主的国家,为实现对大面积害虫的控制,已在农业生产中大量使用杀虫剂[1-2]。新烟碱类农药是继有机氯、有机磷和拟除虫菊酯等杀虫剂后开发的一种新型杀虫剂。新烟碱类农药因高效、低抗药性和

基金项目:江苏省市场监督管理局科技计划项目(KJ2022009)。

通信作者:郭玲玲(1988—),女,博士,助理研究员,主要从事食品安全快速检测研究。E-mail: gling0329@jiangnan.edu.cn

收稿日期:2024-01-29 **修回日期:**2024-03-12

对哺乳动物的低毒副作用而被广泛应用于农业、兽医等领域[3]。

新烟碱类农药是一种神经毒性杀虫剂，目前在140多个国家的120余种作物上广泛使用[4]。这类农药的作用原理是通过昆虫体内中枢神经系统的突触，阻止神经细胞间的传递，从而杀灭昆虫。新烟碱类农药具有光稳定性好、高效、低毒等优点，特别是吡虫啉、噻虫嗪、呋虫胺等第3代新烟碱类农药已广泛用于田间作物的叶面处理、种子处理、土壤灌水等[5]。新烟碱类农药还具备良好的内吸传导性能、良好的环境兼容性和不易使昆虫产生耐药性等优点[6]。目前，中国已注册了38类新烟碱类杀虫剂，细分品种达3 200多，占所有杀虫剂品种的62.3%。

不合理使用新烟碱类农药是导致农药残留超标的主要原因。对新烟碱类农药进行快速检测是当前农药残留领域的一个热点问题。虽然目前检测新烟碱类农药的分析技术（如HPLC、LC-MS、GC-MS、DC-MS、ELISA、SERS）多种多样[7-11]，但是仍存在检测时间长、操作烦琐、设备昂贵、技术难度大等问题。因此，建立高效、可靠的农残检测体系，实现快速、准确、成本低廉、操作简便的农残检测，对食品安全及人体健康等都有十分重要的作用。作者论述了新烟碱类农药最大残留限量的现行标准，并对常用新烟碱类农药的快速检测技术进行总结，评价它们的优点与不足，最后对新烟碱类农药的发展趋势进行展望。这有助于加强对农产品的品质监督，从而给农业生产和消费者健康带来更多安全保障。

1　新烟碱类农药快速检测标准现状

农药的最大残留限量是指当农药按照规范正确使用时，在果蔬、粮食以及食品中允许残留的最高水平，单位通常为mg/kg。最大残留限量是具有法律效力的强制性标准，当农产品中农药实际残留水平高于最大残留限量时，即为不合格产品。欧盟委员会、日本厚生劳动省、英国健康与安全执行局、美国国家环境保护局等都针对农药残留制定了严格限量标准。表1显示了我国的国家标准GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》、GB 2763.1—2022《食品安全国家标准 食品中2,4-滴丁酸钠盐等112种农药最大残留限量》中7种常用新烟碱类农药的最大残留限量。

2　新烟碱类农药免疫快速检测技术

2.1　ELISA技术

ELISA技术是利用抗原和抗体在固定相载体上特异性结合，并通过酶标记显色输出信号的原理进行检测[12]，具有操作简便、适合大规模的样品测定等优点。常用的ELISA检测模式可分为4类：直接ELISA（dc-ELISA）、间接ELISA（ic-ELISA）、夹心ELISA和竞争ELISA[13]。测定新烟碱类农药多采用ic-ELISA，其原理为抗原和抗体在固定相上先进行特异性结合，再利用酶标记的抗体检测在固定相上结合的抗原。如图1所示，通过孵化方式将人工抗原包被在固定相96孔板中，形成固相-抗原。依次加入小分子和针对抗原的特异性抗体，其中特异性抗体和固定相上的抗原结合形成固相-抗原-抗体。若待检样本中不含有小分子或含有非待测小分子，抗原、抗体会根据浓度特异性结合，待测小分子就会和固相载体上的抗原竞争结合特异性抗体。洗掉非待测小分子及被小分子竞争结合的特异性抗体后，加入羊抗小鼠IgG酶标二抗，并用辣根过氧化物酶显色。颜色的深浅即为输出信号，而待测小分子农药浓度与输出信号呈负相关。

表1　7种常用新烟碱类农药的最大残留限量

Table 1　Maximum residue limit of 7 commonly-used neonicotinoid pesticides

农作物	最大残留限量/（mg/kg）													
	呋虫胺		啶虫脒		噻虫胺		噻虫啉		吡虫啉		噻虫嗪		烯啶虫胺	
谷物	2~10	—	0.01~0.5	—	0.01~0.5	—	0.1~10	—	0.03~2	—	0.04~5	0.05	0.1~0.5	—
蔬菜	0.1~10	—	0.02~5	—	0.01~2	—	0.02~2	—	0.05~5	1~10	0.01~10	0.02~3	0.2	—
水果	0.2~20	—	0.2~2	—	0.01~2	1	0.2~1	0.5	0.05~5	2	0.01~2	0.5~2	0.5~1	—
饮料	20	0.05~2	0.3~10	—	0.02~10	—	10	—	0.5~10	—	0.02~10	—	1	—
药用植物	—	—	0.05~2	5~10	—	—	—	—	0.05~3	—	—	—	—	—

注：“—”表示标准中未提及。

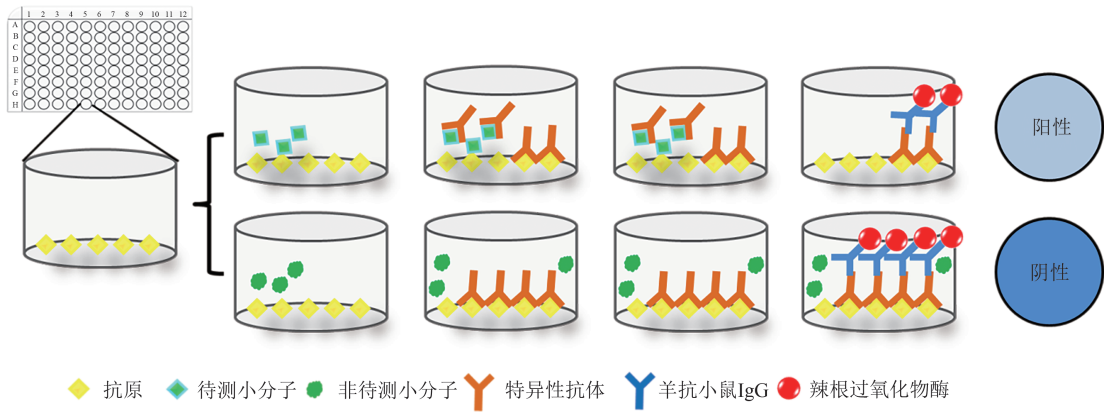


图 1　ic-ELISA 检测原理

Fig. 1　Detection principle of ic-ELISA

ic-ELISA 在新烟碱类农药快速检测中应用广泛。如 Zhao 等[14]利用 ic-ELISA 开发呋虫胺的单克隆抗体，ic-ELISA 检测的半数最大抑制质量浓度（IC_{50}）为 5.66 ng/mL。Zhu 等[15]利用 ic-ELISA 开发啶虫脒抗体，在蔬菜基质中检测的 IC_{50} 为 10.24 ng/mL。Chang 等[16]设计新型全长 IgG 重组抗体，通过 ic-ELISA 筛选比较，IC_{50} 为 4.62 ng/mL。Watanabe 等[17]开发出噻虫嗪的酶联免疫试剂盒，其 IC_{50} 为 0.72 ng/mL，检出限为 0.1 ng/mL。Xu 等[18]将新烟碱类农药-卵清蛋白偶联物偶联到独特的荧光顺磁性微球上，构建了吡虫啉、啶虫脒、噻虫胺、噻虫啉、噻虫嗪、呋虫胺、吡虫胺和咪唑嗪 8 种新烟碱类农药的微球免疫测定法，这些微球与测试样品中存在的游离新烟碱类农药竞争，从而与相应的特异性抗体相互作用。吡虫啉、啶虫脒、噻虫胺、噻虫啉、噻虫嗪、呋虫胺、吡虫胺和咪唑嗪的检出限分别为 0.01、0.01、0.02、0.02、0.003、2.95、0.09、0.04 ng/mL。此方法常用于目标物抗体的产出检测，优点是通过高效率催化放大检测信号、试剂使用寿命长、筛选方式简单。但是 ic-ELISA 在快速检测领域仍存在一定不足。首先，固相载体、包被抗体、酶底物等材料的选择均有严格的要求；其次，检测过程中存在抗原过剩导致假阳性结果的现象；最后，检测易受基质效应、类似目标物等干扰出现假阳性。基于此，后续应开发免疫层析、荧光免疫等方法，以提高检测的灵敏度和准确性[10]。

2.2　免疫层析技术

免疫层析技术是一种结合了免疫胶体金技术和抗原、抗体特异性反应的快速检测方法。由于其成本低廉、不需要复杂的仪器设备，所以在现场快速检测中占有重要位置。《中华人民共和国食品安全法》中指出，新烟碱类农药的快速检测方法可用于食品监管部门的日常抽检，这极大促进了该快速检测相关技术的发展与产品的商业化。为此，研究者们致力于开发基于免疫层析原理的试纸条。免疫层析技术一般分为免疫胶体金技术和荧光免疫层析技术[19-23]。免疫胶体金技术是以胶体金作为示踪标志物应用于抗原、抗体的一种新型免疫标记层析技术，其中胶体金作为显色物，硝酸纤维素膜作为载体，在层析过程中通过竞争抑制作用达到检测目的。免疫胶体金技术所用标记物的制备非常简便，该方法灵敏度高、特异性强。胶体金在还原剂的作用下将 $HAuCl_4$ 聚合成特定大小的金纳米粒子，是一种由于带负电而疏水的稳定胶体溶液[24]。如图 2 所示，胶体金可以与蛋白质分子的正电荷基团在弱碱性条件下相互结合，且不影响生物特性。免疫层析试纸条由样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸收垫组成。其中金标抗体被吸附在结合垫上，羊抗小鼠 IgG 固定在硝酸纤维素膜上，形成控制线（C 线）；包被抗原固定在硝酸纤维素膜上，形成检测线（T 线）[21]。将含待测小分子的样品液滴加至样品垫上，在检测过程中，样品溶液被吸入加样孔。由于毛细管效应，金标抗体被样品溶液从样品垫带到结合垫[19]。如果样品中不含目标物，金标抗体首先被 T 线的包被抗原捕获，然后被 C 线的羊抗小鼠 IgG 捕获，从而在 C 线和 T 线产生两条颜色相同的红带；如果样品溶液中含有微量目标物，则部分金标抗体会与样品溶液中的目标物结合[22]，随着溶液继续渗透，剩余金标抗体被 T 线的包被抗原捕获，然后被 C 线

的羊抗小鼠IgG捕获，在T线产生一条稍浅的红色条带；随着目标物浓度的增加，T线的颜色变浅；当目标物浓度过饱和时，所有金标抗体都与目标物结合并形成复合物，随着溶液渗出，复合物最终被C线的羊抗小鼠IgG捕获，此时C线呈红色，而T线呈无色。

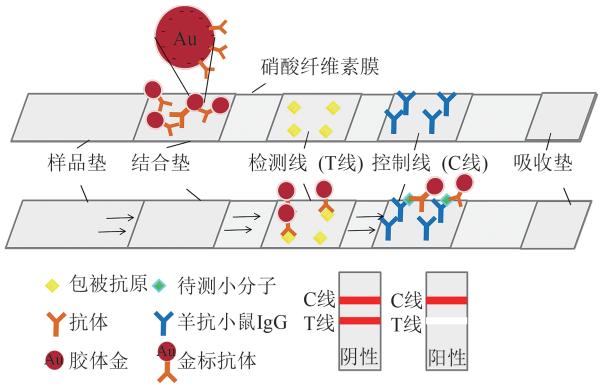


图2　免疫胶体金技术检测原理

Fig. 2　Detection principle of immune colloidal gold technique

免疫层析技术在针对性快速检测领域应用广泛，Xu等[25]开发了时间分辨荧光微球免疫层析试纸条，用于检测水果蔬菜中的噻虫啉，其IC_{50}为4.27 ng/mL。Chang等[16]设计新型全长IgG重组抗体，通过胶体金免疫层析试纸条检测噻虫胺，检出限为2.5 ng/mL。不过此技术在同时检测不同目标物或不同基质上存在不足，所以开发多通道、同时检测不同农药的免疫层析试纸条将成为今后的研究重点。

2.3　FIA技术

FIA技术具有专一性强、灵敏度高、实用性好、稳定性好、受自然荧光干扰低等优点，已成为食品质量安全快速检测方法的研究热点之一。其原理是用荧光物质标记抗体或抗原，利用待测物与抗原或抗体的特异性位点结合时输出荧光信号的强弱来定性或定量分析待测物[26]。此方法可与手持荧光探针联用，使检测更加便捷。采用FIA技术时首先要进行探针的制备，传统具有荧光信号的有机染料分子存在水溶性差、荧光强度低、光稳定性差、易被光漂白等缺点。因此，开发具有荧光发射信号的纳米材料、量子点或通过对荧光材料进行猝灭等手段加强荧光信号的稳定性是FIA技术领域的研究热点。上转换发光纳米材料（upconverting nanoparticles，UCNPs）是一种能够接受低能量激发光并将其转换成高能量发射光的新型纳米发光材料[26-27]，其探针的制备原理及过程[27]见图3。该过程基于活性酯法与PMM表面的羧基偶联，并制备荧光信号探针，同时，在抗莠去津抗体缀合的亲水性NaYF4:Yb/Er上转换纳米粒子作为信号探针，并使用与涂层抗原缀合的聚苯乙烯磁性微球作为捕获探针。在测试系统中，捕获探针可以捕获信号探针形成免疫复合物，免疫复合物可以通过外部磁力与测试系统分离。检测时，待测小分子可与捕获探针竞争，从而与信号探针结合。在980 nm的激光下，免疫复合物在552 nm处的荧光信号随着待测小分子浓度的增加而减弱，在无待测小分子时荧光信号最强。使用荧光信号与小分子浓度之间的相关性可以定量检测样品中的待测小分子。

FIA技术在新烟碱类农药快速检测领域的应用较为广泛，有关发光材料开发、增强荧光响应的研究也越来越深入。已有研究人员利用金纳米团簇实现了对吡虫啉的高灵敏检测，但是将金纳米团簇固定在二维氢氧钴表面形成纳米材料时，其与二维氢氧钴结合会导致荧光强度大幅度降低[28]，因此，通过加入抗坏血酸触发其纳米片发生解离，可实现吡虫啉的有效检测。该方法引起的荧光响应与表面的ALP活性有关。将ALP标记的抗体与固定化抗原结合，可实现对其荧光响应的调控。采用基于荧光开关系统的FIA技术检测吡虫啉时，IC_{50}为1.3 ng/mL，其灵敏度是传统ELISA的60倍。在快速检测领域，一种基于量子点编码多色纳米珠的新型荧光免疫色谱条带（QB-ICA条带）可同时检测吡虫啉、噻虫胺和噻虫嗪。该方法的分析程序[28]见图4。将FIA技术和侧流层析试纸条结合，通过改变发射波长为565 nm和620 nm的CdSe/ZnS量子点的包埋率，合成了编码多色纳米珠的新型量子点。制备好的3个探针混合物首先与标准溶液或样品提取液反应，然后滴在试纸条样品垫上。如果样品中含有待测小分子，则探针会和相应的小分子根据抗原、抗体特异性结合形成探针-分析物的复合物。复合物通过虹吸作用沿条带迁移至T线并和探针上相应的预包被竞争抗原结合，导致T线处荧光强度变弱或不显色。剩余探针在C线处被羊抗鼠IgG捕获，形成明亮的荧光条带。利用不同颜色标签区分不同的分析物，实现在单个试纸条上对

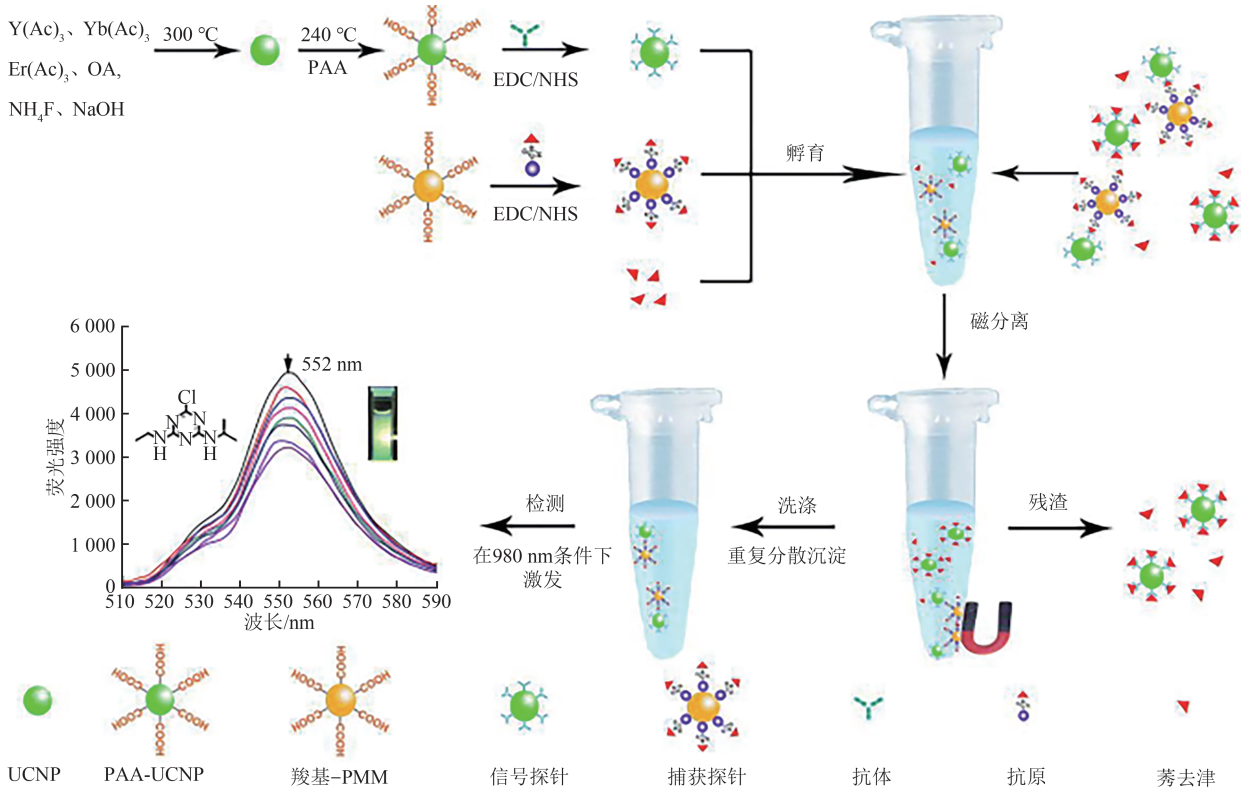


图 3　探针的制备过程和磁分离的荧光免疫竞争分析法的检测原理

Fig. 3　Preparation process of the probes and detection principle of the fluorescence immunoassay using a competitive format

多个靶标物的同时检测，并且这种多重检测方法具有良好的稳定性和特异性[29]。Xu 等[30]基于时间分辨荧光免疫层析技术开发了多通道的啶虫脒检测法，在不同蔬菜基质中的检出限为 56~74 ng/mL，由于时间分辨荧光微球具有时间分辨和波长分辨优势，不受背景荧光干扰，故大幅提高了免疫层析技术的灵敏度。

2.4　CLIA 技术

Halmann 等[31]于 1977 年首次提出 CLIA 技术，这是一种将免疫反应与化学发光技术相结合的超微活性免疫测定方法，其中化学发光酶免疫分析技术是通过抗原或抗体上标记的酶与发光底物相互作用产生光子信号，从而通过化学探针确定待测小分子浓度的检测方法。其中发光底物被反应剂激发形成不稳定的激发态体，当激发态体跃迁到稳定基态时所释放的光子信号会被自动发光分析仪识别并输出光信号[32]。

经过 40 多年的发展，CLIA 技术已经比较成熟，目前在分析化学领域依然是热门研究话题。如图 5 所示，在 Google Scholar 搜索数据显示，2010—2018 年有关“增强化学发光”“纳米材料”“磁性微粒”“微流控芯片”等术语的文章发表量不断增加[33]。与现有的 ELISA 技术、放射免疫分析技术和 FIA 技术相比，CLIA 技术具备灵敏度高、特异性强、操作简便、取样量小、可实现自动化等特点，现已广泛应用于疫病临床检测、食品安全检测、兽药残留及药物分析等领域。然而化学发光酶免疫分析技术存在反应速度慢、表面积小、酶容纳量小等不足。纳米材料和催化剂的应用扩大了固相载体的表面容积，从而提高了蛋白质与酶的结合量，实现了信号放大，提高了化学发光酶免疫分析技术的灵敏度和检测效率[32]。传统的化学发光体系存在信号弱、强度低等缺陷，如何增强发光信号、延长发光时间已成为目前的研究热点。现阶段改善化学发光系统的常用方法有 4 种，包括改进化学增强剂和优化化学发光系统、制备多功能抗体和免疫反应的适配体、引入磁性纳米材料、耦合新开发的技术[33]。辣根过氧化物酶-鲁米诺化学发光体系是 CLIA 技术中常用的发光系统。然而，辣根过氧化物酶-鲁米诺化学发光体系的发光类型是瞬时闪光型，强度相对较低。Liu 等[34]优化了化学发光底物溶液的条件，包括反应缓冲液、对碘苯酚、鲁米诺和

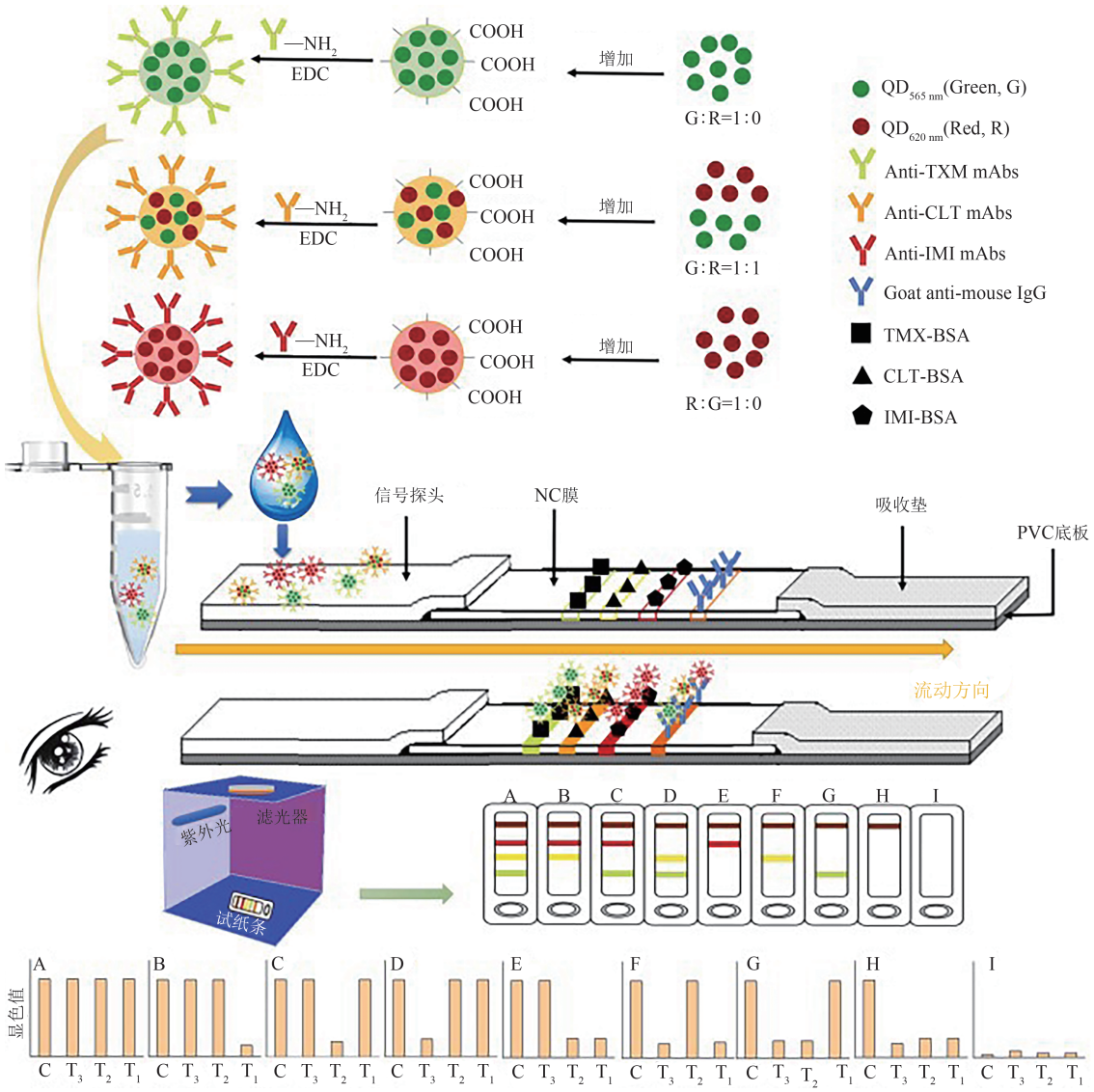


图 4　QB-ICA 条带的分析程序

Fig. 4　Analytical procedure of QB-ICA strip

H_2O_2的浓度，开发出噻虫啉增强型化学发光酶免疫分析技术，该技术的IC_{50}可达 1.80 ng/mL。在实际检测中，化学发光酶免疫分析技术适合对大量复杂样品进行检测，但也存在样品需求量大、试剂成本高等问题。

2.5　仿生 ELISA 技术

分子印迹聚合物（molecularly imprinted polymers，MIPs）是化学合成的新型材料，其形成的三维空腔基于“锁和钥匙”机制，可以特异性识别分析物并与之相互作用。将 MIPs 作为人工抗体取代生物抗体，利用仿生 ELISA 技术可以实现对新型烟碱类农药的检测。通过将适当比例的模板分子、功能单体和交联剂共聚，得到可以输出信号的聚合物。在新烟碱类农药快速检测研究中，分子印迹和 SERS 联用技术发展迅速。Zhao 等[35]将分子印迹识别壳聚合在三维银枝晶上并开发了纸基 SERS 传感平台，用于检测韭菜、皇冠雏菊、大豆和黄瓜中的吡虫啉。由于分子印迹夹层能有效捕获吡虫啉分子，因此样品预处理（萃取、涡旋、离心等）简单，表明该方法具有高选择性、高精度和高准确性，可满足不同国标编码指令，其中最低检出限为 0.028 11 ng/mL。由于其中涉及的纸基 SERS 基板结构相对复杂，Cao 等[36]建立了一种结合磁性印迹聚合物（MMIPs）和 SERS 技术测定农产品中啶虫脒和噻虫啉的新方法（见图 6）。以啶虫脒为模板分子、甲基丙烯酸为功能单体、三羟甲

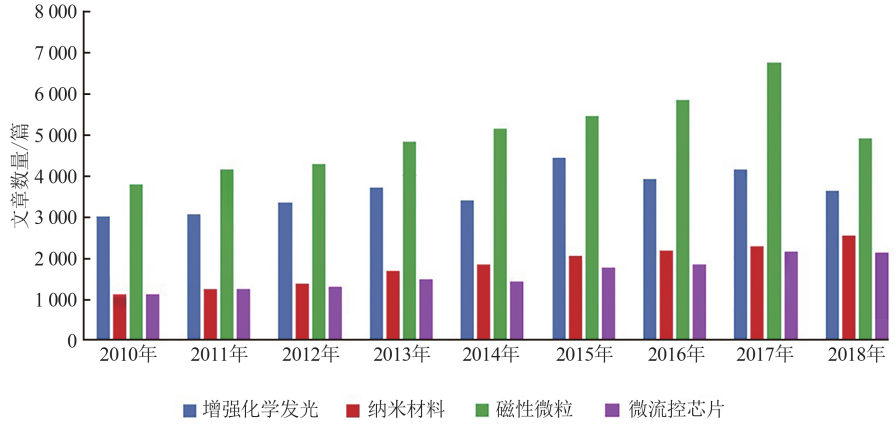


图 5　2010—2018 年 CLIA 结合新技术的文章发表量

Fig. 5　Numbers of publications on CLIA combined with novel technologies from 2010 to 2018

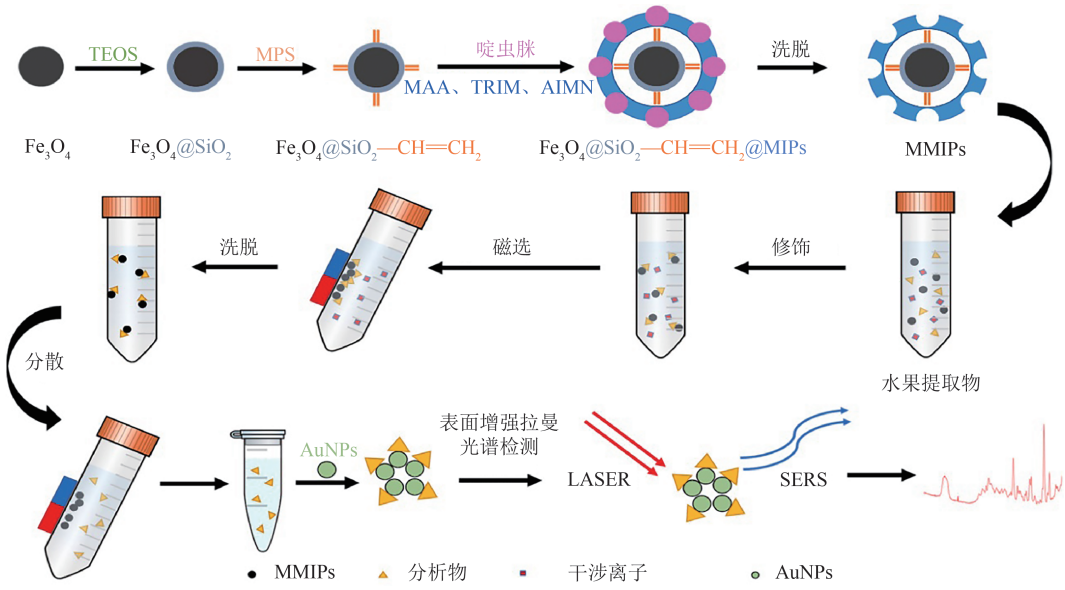


图 6　MMIPs 和 MMIPs-SERS 检测系统的制备流程

Fig. 6　Preparation process of MMIPs and MMIPs-SERS detection system

基丙烷三甲基丙烯酸酯为交联剂，通过磁性纳米颗粒表面聚合印迹得到 MMIPs，其具有典型的核壳结构，可有效分离目标物。结合 MMIPs-SERS 技术可稳定、快速地检测果蔬中的啶虫脒和噻虫啉。

将 MIPs 和 ELISA 技术融合可实现高灵敏度、高选择性、高准确性的快速分析。吕春晖等[37]借助具有特殊孔洞的高分子材料，利用模板小分子与高分子的相互作用，在聚苯乙烯酶标板表面合成对恩诺沙星具有特异性识别吸附能力的 MIPs 膜，将其作为仿生抗体代替生物抗体。该方法以小分子化合物为模板，通过修饰使其与高分子化合物结合，得到具有孔洞结构的化合物；然后在此基础上，除去模板分子，制备出高选择性的 MIPs[37]。仿生 ELISA 技术因其成本低和 MIPs 的试剂稳定性好而被广泛用于小分子的检测。然而，目前使用的酶标记物存在一些局限性，包括生产成本高和稳定性有限等，这将成为今后研究 MIPs 的难点之一[38]。

3　展望

作者综述了 5 种新烟碱类农药免疫检测技术在快速检测领域的应用进展。ELISA 技术的优点是准确度较高且可重复操作，但操作过程需要较长的孵育时间。此技术是开发没有免疫抗体的新烟碱类农药的重要手段之一，在筛选高拟

合度半抗原、增加抗原及抗体种类、开发高灵敏度且高特异性抗体中发挥着重要的作用。免疫层析技术具有便携性好、无毒性物质残留[39]、检测快速、结果直观等优点，但检测靶标物种类单一。现阶段开发的多通路、多条带免疫层析技术可解决检测物质单一的问题，为开发能够同时检测多种新烟碱类农药，实现多种农药现场快速检测提供了新思路。FIA技术具有灵敏度高、稳定性好、受自然荧光干扰少等优点，提高荧光稳定性和增强荧光信号输出是该领域的研究热点。CLIA技术是新烟碱类农药检测领域的热门研究方向，具体内容包括“增强化学发光”“纳米材料”“磁性微粒”“微流控芯片”等。仿生ELISA技术实现了人工抗体取代生物抗体的重大突破，是未来新烟碱类农药研究领域的热点。新烟碱类农药的免疫快速检测技术还有极大的发展空间，如结合纳米材料、生物传感器、免疫芯片、生物条形码等新技术，开发更为灵敏、便捷的高通量免疫检测方法，从而提高检测灵敏度、降低基质干扰等。总之，探索新方法和新途径实现快速、灵敏、全方面的农药残留检测是免疫分析技术的发展趋势。

参考文献

[1] 曹爱兵，姚瑶，陈长军，等. 我国蔬菜农药的登记、残留现状及安全使用[J]. 江苏农业科学，2023，51(22)：8-14.
CAO A B，YAO Y，CHEN C J，et al. Registration，residue status and safe use of China’s vegetable pesticides[J]. Jiangsu Agricultural Sciences，2023，51(22)：8-14.(in Chinese)

[2] 常利民，张洋，汪春明，等. 鸡蛋、鸡肉及奶粉中22种有机氯农药残留的测定[J]. 食品与生物技术学报，2022，41(5)：98-105.
CHANG L M，ZHANG Y，WANG C M，et al. Determination of 22 organochlorine pesticides in egg，chicken and milk powder[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2022，41(5)：98-105.(in Chinese)

[3] 毛家洛，韩奕奕，王震，等. 啶虫脒分子印迹荧光传感器的构建及检测研究[J]. 食品与生物技术学报，2022，41(12)：40-47.
MAO J L，HAN Y Y，WANG Z，et al. Fabrication and detection of molecularly imprinted fluorescence sensor based on acetamiprid[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2022，41(12)：40-47.(in Chinese)

[4] 宋韶芳，张维蔚，张玉华，等. 广州市21种市售蔬菜新烟碱类杀虫剂膳食风险评估[J]. 预防医学，2023，35(9)：781-785.
SONG S F，ZHANG W W，ZHANG Y H，et al. Dietary risk assessment of neonicotinoid pesticide in 21 kinds of market-sold vegetables in Guangzhou City[J]. Preventive Medicine，2023，35(9)：781-785.(in Chinese)

[5] 王旭瑶，陈磊，李洪，等. 新烟碱类杀虫剂污染土壤修复的研究进展[J]. 环境保护与循环经济，2023，43(6)：73-76.
WANG X Y，CHEN L，LI H，et al. Research progress on remediation of soil contaminated by neonicotinoid insecticides[J]. Environmental Protection and Circular Economy，2023，43(6)：73-76.(in Chinese)

[6] 孙雅楠，石小霞，李昕桐，等. 新烟碱类杀虫剂对水生生物毒性效应研究进展[J]. 毒理学杂志，2023，37(6)：526-534.
SUN Y N，SHI X X，LI X T，et al. Research progress on toxic effects of neonicotinoid insecticides on aquatic organisms[J]. Journal of Toxicology，2023，37(6)：526-534.(in Chinese)

[7] 江阳，陈雨露，赵咏梅，等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定生活饮用水中9种新烟碱类农药[J]. 预防医学情报杂志，2023，39(12)：1513-1519.
JIANG Y，CHEN Y L，ZHAO Y M，et al. Simultaneous determination of nine neonicotinoid pesticides in drinking water by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Preventive Medicine Information，2023，39(12)：1513-1519.(in Chinese)

[8] 平华，赵天宇，马智宏，等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定土壤中新烟碱类农药及其代谢物的残留量[J]. 理化检验(化学分册)，2023，59(11)：1276-1283.
PING H，ZHAO T Y，MA Z H，et al. Simultaneous determination of residues of neonicotinoid pesticides and their metabolites in soil by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with disperse solid phase extraction[J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Chemical Analysis)，2023，59(11)：1276-1283.(in Chinese)

[9] 许志刚，吉洋，王丹，等. 新烟碱类杀虫剂的样品前处理和检测方法研究进展[J]. 昆明理工大学学报(自然科学版)，2022，47(1)：109-117.
XU Z G，JI Y，WANG D，et al. Research progress on sample pretreatment and detection methods of neonicotinoid insecticides[J]. Journal of Kunming University of Science and Technology (Natural Sciences)，2022，47(1)：109-117.(in Chinese)

[10] 陈靖琳，张妍，张玉环，等. 新烟碱类农药的快速检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报，2021，

12(15):5899-5905.
CHEN J L, ZHANG Y, ZHANG Y H, et al. Research on rapid detection technology of neonicotinoids pesticides [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(15): 5899-5905.(in Chinese)

[11] 胡付照,陈正行,李鹤,等. 茶叶中农药残留标准及检测方法研究进展[J]. 食品与生物技术学报,2018,37(10):1009-1014.
HU F Z, CHEN Z X, LI H, et al. Research advance of pesticide residues standards and new detection methods in tea [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2018, 37(10): 1009-1014.(in Chinese)

[12] PANRAKSA Y, JANG I, CARRELL C S, et al. Simple manipulation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using an automated microfluidic interface[J]. Analytical Methods, 2022, 14(18): 1774-1781.

[13] 王亚辉,李彦伸,宋丽廷,等. 小分子化合物非竞争免疫检测方法研究概述[J]. 食品与生物技术学报,2017,36(2):113-121.
WANG Y H, LI Y S, SONG L T, et al. A review of non-competitive immunoassays for small molecule compounds [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2017, 36(2): 113-121.(in Chinese)

[14] ZHAO F F, LIU J K, LUO J H. Development of a high-quality ELISA method for dinotefuran based on a novel and newly-designed antigen [J]. Molecules, 2019, 24(13): 2426.

[15] ZHU Z X, SHI Q Y, WU J W, et al. Determination of acetamiprid residues in vegetables by indirect competitive chemiluminescence enzyme immunoassay [J]. Foods, 2022, 11(16): 2507.

[16] CHANG Y Y, CHEN Y, JIAO S S, et al. A novel full-length IgG recombinant antibody highly specific to clothianidin and its application in immunochromatographic assay[J]. Biosensors, 2022, 12(4): 233.

[17] WATANABE E, MIYAKE S. Quantitative determination of neonicotinoid insecticide thiamethoxam in agricultural samples: a comparative verification between high-performance liquid chromatography and monoclonal antibody-based immunoassay [J]. Food Analytical Methods, 2013, 6(2): 658-666.

[18] XU M, PORTIER L, BOVEE T, et al. Neonicotinoid microsphere immunosensing for profiling applications in honeybees and bee-related matrices [J]. Biosensors, 2022, 12(10): 792.

[19] LIN L, XU X X, SONG S S, et al. A multiplex lateral flow immunochromatography assay for the quantitative detection of pyraclostrobin, myclobutanil, and kresoxim-methyl residues in wheat[J]. Food Chemistry, 2022, 377: 131964.

[20] WEI X X, CHEN X R, LIU Z L, et al. Advantages of aggregation-induced luminescence microspheres compared with fluorescent microspheres in immunochromatography assay with sandwich format[J]. Analytica Chimica Acta, 2023, 1247: 340869.

[21] PANG Y M, ZHAO S J, LIU Z W, et al. An enhanced immunochromatography assay based on colloidal gold-decorated polydopamine for rapid and sensitive determination of gentamicin in animal-derived food[J]. Food Chemistry, 2022, 387: 132916.

[22] 赵赟,蔡伊娜,张存政,等. 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[J]. 食品与生物技术学报,2022,41(1):36-43.
ZHAO Y, CAI Y N, ZHANG C Z, et al. Fabrication of immunochromatography strip for tebuconazole based on colorimetric and fluorescent dual-signal detection [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2022, 41(1): 36-43.(in Chinese)

[23] 黄小林,李倩影,吴雨豪,等. 多重免疫层析试纸辅助食品安全快速检测的研究进展[J]. 食品与生物技术学报,2021,40(11):12-21.
HUANG X L, LI Q Y, WU Y H, et al. Research progress of multiplex immunochromatographic test strips for rapid food safety detection[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2021, 40(11): 12-21.(in Chinese)

[24] LU Q Q, DING H L, LIU L Q, et al. Immunochromatographic assay for rapid detection of flupyradifurone in grape, blueberry, and tomato samples [J]. Food Chemistry, 2024, 433: 137328.

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

[26] 杜戎,虞睿宁,袁好,等. 基于荧光免疫分析技术的食品中污染物检测方法研究进展[J]. 食品工业科技,2021,42(16):388-396.
DU R, YU R N, YUAN H, et al. Research progress on detection methods of contaminants in food based on fluorescence immunoassay[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(16): 388-396.(in Chinese)

[27] SHENG W, SHI Y J, MA J, et al. Highly sensitive atrazine fluorescence immunoassay by using magnetic separation and upconversion nanoparticles as labels[J]. Mikrochimica Acta, 2019, 186(8): 564.

[28] LI H X，JIN R，KONG D S，et al. Switchable fluorescence immunoassay using gold nanoclusters anchored cobalt oxyhydroxide composite for sensitive detection of imidacloprid[J]. Sensors and Actuators B：Chemical，2019，283：207-214.

[29] CAO H，CAO S J，HAN Y Y，et al. Synthesis of quantum dot encoded multicolour nanobeads for the ultrasensitive and multiplex immunochromatographic detection of neonicotinoid insecticides[J]. Sensors and Actuators B：Chemical，2022，361：131671.

[30] XU R，XIANG Y D，SHEN Z，et al. Portable multichannel detection instrument based on time-resolved fluorescence immunochromatographic test strip for on-site detecting pesticide residues in vegetables[J]. Analytica Chimica Acta，2023，1280：341842.

[31] HALMANN M，VELAN B，SERY T. Rapid identification and quantitation of small numbers of microorganisms by a chemiluminescent immunoreaction [J]. Applied and Environmental Microbiology，1977，34(5)：473-477.

[32] 向国庆，连聪，孙栋，等. 化学发光免疫分析法及在动物生产领域检测中的应用进展[J]. 中国兽医科学，2023，53(10)：1320-1325.
XIANG G Q，LIAN C，SUN D，et al. Progress of chemiluminescence immunoassay and its application in the detection of animal production [J]. Chinese Veterinary Science，2023，53(10)：1320-1325.(in Chinese)

[33] ABHYANKAR V，ABIDI A H. Multiplexing of immune markers *via* electrochemiluminescence immunoassays for systems biology [J]. Methods in Molecular Biology，2020，2131：349-364.

[34] LIU Z J，WEI X，XU H，et al. Sensitive detection of thiacloprid in environmental and food samples by enhanced chemiluminescent enzyme immunoassay [J]. RSC Advances，2016，6(35)：29460-29465.

[35] ZHAO P N，LIU H Y，ZHANG L N，et al. Paper-based SERS sensing platform based on 3D silver dendrites and molecularly imprinted identifier sandwich hybrid for neonicotinoid quantification[J]. ACS Applied Materials & Interfaces，2020，12(7)：8845-8854.

[36] CAO X L，HU Y X，YU H M，et al. Detection of neonicotinoids in agricultural products using magnetic molecularly imprinted polymers-surface enhanced Raman spectroscopy[J]. Talanta，2024，266(1)：125000.

[37] 吕春晖，刘皓，方国臻，等. 分子印记聚合物仿生抗体用于酶联免疫吸附法检测恩诺沙星[J]. 食品工业科技，2018，39(10)：267-271.
LYU C H，LIU H，FANG G Z，et al. Molecularly imprinted polymer as artificial antibody in enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of enrofloxacin [J]. Science and Technology of Food Industry，2018，39(10)：267-271.(in Chinese)

[38] XIAO Q，XU C X. Research progress on chemiluminescence immunoassay combined with novel technologies[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry，2020，124：115780.

[39] YAO J J，WANG Z X，GUO L L，et al. Advances in immunoassays for organophosphorus and pyrethroid pesticides [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry，2020，131：116022.

（责任编辑：史润东东）