

6 种农药多残留快速检测芯片的研制

万宇平^{1,2}, 富成研³, 崔廷婷^{1,2}, 王兆芹^{1,2}, 赵正苗^{1,2}, 何方洋^{4*}

(1. 北京勤邦生物技术有限公司, 北京 102206; 2. 北京市食品安全免疫快速检测工程技术研究中心, 北京 102206;
3. 辽宁省粮油检验监测所, 沈阳 110032; 4. 北京望尔生物技术有限公司, 北京 102206)

摘 要: **目的** 研制 6 种农药多残留快速检测芯片试纸条。**方法** 以硝酸纤维素膜为载体, 农药抗原为捕获探针, 时间分辨荧光微球为标记材料, 通过对荧光微球粒径、硝酸纤维素膜、样品垫等反应条件进行优化, 制作一种包含 6 种抗原抗体组合的免疫芯片。**结果** 该免疫芯片可同时检测甲氰菊酯、多菌灵、克百威、吡虫啉、辛硫磷、灭蝇胺 6 种农药。本方法对 6 种农药的检测限分别为 1、2、0.02、1、10、0.5 mg/kg; 假阴性率、假阳性率均为 0, 准确度较高。**结论** 本研究为农药多残留快速检测分析提供了技术支撑, 对保障农产品质量安全具有现实意义。

关键词: 农药多残留; 快速检测; 免疫芯片; 时间分辨荧光

Development of immunochip for multi-residue rapid detection of 6 kinds of common pesticides

WAN Yu-Ping^{1,2}, FU Cheng-Yan³, CUI Ting-Ting^{1,2}, WANG Zhao-Qin^{1,2},
ZHAO Zheng-Miao^{1,2}, HE Fang-Yang^{4*}

(1. Beijing Kwinbon Biotechnology Company Ltd, Beijing 102206, China; 2. Beijing Engineering Research Centre of Food Safety Immunodetection, Beijing 102206, China; 3. Liaoning Grain and Oil Inspection Monitoring Station, Shenyang 110032, China; 4. Beijing Wanger Biotechnology Company Ltd, Beijing 102206, China)

ABSTRACT: Objective To develop an immunochip for multi-residue rapid detection of 6 kinds of common pesticides. **Methods** With nitrocellulose membrane as solid phase, pesticide antigen as capture probe, time-resolved fluorescent microsphere as labeling material, an immunochip containing 6 combinations of coating antigens and antibodies against corresponding pesticides was developed, by optimizing the reaction conditions of fluorescent microsphere particle size, nitrocellulose membrane and sample pad. **Results** This immunochip could be used for simultaneous detection of 6 kinds of common pesticides, including fenpropathrin, carbendazim, carbofuran, imidacloprid, phoxim and cyromazine. The detection limits were 1, 2, 0.02, 1, 10 and 0.5 mg/kg, respectively. The false negative rate and false positive rate were both 0, with high accuracy. **Conclusion** This immunochip assay provides technical support for the rapid detection of pesticide multi-residue, and has practical significance for guaranteeing the quality and safety of agricultural products.

KEY WORDS: multiple pesticide residues; rapid detection; immunochip; time resolved fluorescence

基金项目: 北京市科技计划课题项目(Z181100009318006)

Fund: Supported by the Beijing Municipal Science and Technology Project (Z181100009318006)

*通信作者: 何方洋, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: hefangyang@kwinbon.com

*Corresponding author: HE Fang-Yang, Professor, Beijing Wanger Biotechnology Company Ltd, Beijing 102206, China. E-mail: hefangyang@kwinbon.com

0 引言

农药的重要性不言而喻,它可以有效保障或提高农作物产量^[1],但长期大规模不合理使用,会造成食品污染,进而危害人类健康。目前针对农药残留及其代谢物,常见的检测方法主要是依靠色谱、质谱等仪器分析手段^[2-5],灵敏度高,可实现多种药物同时分析,但其检测成本高、耗时长,且需要专门的操作人员,不适用于对大量样品进行低成本快速筛选。而免疫分析技术因具有简单、快速、灵敏、价廉等优点,已成为最具应用价值和发展潜力的分析技术之一^[6]。

常见的免疫分析方法主要有酶联免疫吸附技术(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)和免疫层析技术。LAN 等^[7]基于广谱特异性单克隆抗体,建立了同时检测蔬菜水果中克百威及其代谢物 3-羟基克百威的 ELSIA 方法;于祥东等^[8]建立了特异性检测吡虫啉的间接竞争酶联免疫分析方法,检测灵敏度为 0.06 $\mu\text{g/L}$;龚航^[9]将胶体金试纸技术用于吡虫啉和三唑磷的检测,最低检出限分别为 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.005 $\mu\text{g/mL}$;马明^[10]基于氯噻啉单克隆抗体建立了时间分辨荧光免疫分析方法,最低检测限为 0.024 ng/mL。对于 ELISA 方法,一种试剂盒通常只能检测一种或一类农药,不能完全满足农药多残留现场快速筛查的要求;而免疫层析技术可以通过设置多条检测线来实现多种农药的同时检测,但由于试纸空间尺寸和层析动力学的受限,实际使用时试纸条上平行设置的检测线不宜多于 5 条,也就是说一个金标试纸条一般最多只能检测 5 种目标分析物,且其灵敏度易受信号干扰而降低^[11]。本研究将时间分辨荧光免疫层析技术和生物芯片技术相结合,研制了 6 种农药多残留快速检测芯片试纸条,以满足农药多残留现场快速筛查的需求。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

LGJ-50C 冷冻干燥机(北京四环科学仪器厂);XYZ3050 胶体金点样系统(美国 BIODOT 公司);AQ4200 数控感应斩切机(上海金标生物科技有限公司);KQ2200 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);M8 多功能振荡混合器(上海迈皋科学仪器有限公司);Fluoroskan 荧光读数仪(北京勤邦生物技术有限公司);GL-21M 高速冷冻离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司);DL4-40 低速离心机(北京时代北利离心机有限公司)。

6 种农药包被原及对应的单克隆抗体:甲氧菊酯包被原、甲氧菊酯单克隆抗体,多菌灵包被原、多菌灵单克隆抗体,克百威包被原、克百威单克隆抗体,吡虫啉包被原、吡虫啉单克隆抗体,辛硫磷包被原、辛硫磷单克隆抗体,

灭蝇胺包被原、灭蝇胺单克隆抗体(电泳纯,北京勤邦生物技术有限公司)。

6 种农药对照品:甲氧菊酯(fenpropathrin)、多菌灵(carbendazim)、克百威(carbofuran)、吡虫啉(imidacloprid)、辛硫磷(phoxim)、灭蝇胺(cyromazine)(纯度均 $\geq 98.0\%$,美国 Sigma 公司)。

FT04C 时间分辨荧光微球(苏州为度生物技术有限公司);1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐[1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride, EDC]、N-N-羧基琥珀酰亚胺(N-N-hydroxy succinimide, NHS)、2-(N-吗啉)乙磺酸一水合物(2-morpholinoethanesulfonic acid monohydrate, MES)、盐酸羟胺(色谱级,美国 Sigma 公司);鸡 IgY、羊抗鸡 IgY(美国 Sigma 公司);甲醇(分析纯,国药集团)。

1.2 实验方法

1.2.1 溶液配制

活化缓冲液:0.05 mol/L MES, pH 6.0。

偶联缓冲液:0.05 mol/L 硼酸盐缓冲液(borate buffer, BB), pH 8.0。

洗涤缓冲液:0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer, PB), pH 7.4。

封闭缓冲液:含 0.04 mol/L 盐酸羟胺及 1%酪蛋白的中性 PB。

贮存缓冲液:含 0.05% Proclin 300 及 0.1%酪蛋白的中性 PB。

样本提取液:0.02 mol/L PB+5%甲醇。

1.2.2 荧光微球的选择和标记

(1)活化

分别取 50 μL 200、300、400 nm 粒径的荧光微球,用活化缓冲液 MES 进行 10 倍稀释后,等量分装于棕色避光离心管中,涡旋混匀,12000 r/min、4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 15 min,弃上清;同法用 MES 洗涤 1 次,离心弃上清。称取 10 mg EDC 及 10 mg NHS,分别用 1 mL MES 溶解,分别取 5 μL EDC 溶液及 20 μL NHS 溶液加入离心管中,补加 MES 重悬至离心前体积,200 次/min 振荡,室温反应 15 min。

(2)偶联

活化处理后的微球悬液 12000 r/min、4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 15 min,弃上清;用 BB 洗涤 1 次,离心弃上清。取待测药物单克隆抗体(检测用)及鸡 IgY(质控用),使用超微量紫外分光光度计测定浓度后,分别以 0.2~0.8 mg/mL 的添加量加入各离心管中,以 BB 作为稀释液,重悬各份荧光微球至离心前体积,200 次/min 振荡,室温反应 4 h。

(3)封闭

偶联结束后的微球悬液 12000 r/min、4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 15 min,弃上清;用封闭缓冲液重悬至离心前体积,200 次/min 振荡,室温反应 1 h。

(4) 贮存

封闭结束后的微球偶联物悬液 12000 r/min、4℃离心 15 min, 弃上清; 用 PB 洗涤 1 次, 离心弃上清。洗涤后的微球偶联物用贮存缓冲液洗涤 2 次, 重悬至离心前体积, 4℃避光保存备用。

1.2.3 检测试剂的制备

按甲氰菊酯 10 μL、多菌灵 4 μL、克百威 4 μL、吡虫啉 3 μL、辛硫磷 4 μL、灭蝇胺 4 μL、鸡 IgY 3 μL, 混匀检测微球与质控微球的偶联物悬液, 即制成荧光微球检测试剂。平底管中添加 68 μL 稀释悬液, 置冷冻干燥机中, 设定程序冷阱温度 -50℃预冻 3 h, 真空干燥 15 h, 取出后加盖、加干燥剂密封, 置 4℃避光保存。

1.2.4 芯片试纸条的制备

(1) 层析膜的包被

将 NC 膜贴于 80 mm×300 mm PVC 粘性背板上备用。用 PB 分别将甲氰菊酯、多菌灵、克百威、吡虫啉、辛硫磷、灭蝇胺包被原做 3 倍、10 倍、10 倍、40 倍、10 倍、20 倍稀释, 将羊抗鸡 IgY(蛋白浓度 5.5 mg/mL)做 40 倍稀释, 以抗原溶液为检测点、羊抗鸡 IgY 溶液为质控点, 用点阵仪以 40 nL 的包被量将其包被于 NC 膜上, 分别做好标记后, 将板条置恒温箱 37℃干燥 16 h, 备用。6 种农药包被原在 NC 膜上的排布阵列如图 1 所示。

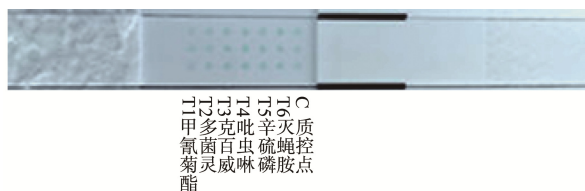


图1 芯片试纸条上6种农药包被原分布

Fig.1 Distribution of 6 pesticides coating antigen on the chip strip

(2) 样品垫的处理

将样品垫浸泡于含 1%酪蛋白及 0.05% Tween-20 的中性 PB 中 2 min, 取出后于 37℃干燥 24 h, 备用。

(3) 试纸条的组装

将裁剪好的样品垫、吸水垫贴在包被有 7 行 3 列蓝色点的 NC 膜背板上, 使样品垫的末端与 NC 膜始端重合约 2 mm, 吸水垫的始端与 NC 膜末端重合约 2 mm。将组装完毕的板条切割成宽为 8 mm 的试纸条, 加干燥剂封装备用。

1.2.5 芯片试纸条载体的选择

(1) NC 膜的选择

以多菌灵为例, 对膜载体进行比较。将多菌灵包被原 10 倍稀释后通过点样方式分别包被在 Milipore 90、Unisart CN 140 和 Nupore 70 三种 NC 膜上, 经干燥、组装试纸条后, 用 pH 7.4、0.02 mol/L PB 溶液加样测试, 选择检测点形状圆且均一、荧光强度较强的膜作为本研究的载体。

(2) 样品垫的选择

以多菌灵为例, 分别取无纺布、玻璃纤维、全血滤膜 3 种不同材质材料作为样品垫组装试纸条, 用 pH 7.4、0.02 mol/L PB 溶液加样测试, 选择过滤效果好、荧光强度较强的材质作为样品垫。

1.2.6 样品处理与检测

取新鲜样品擦去泥土, 剪碎成小于 1 cm 的小丁或碎片; 称取(2.00±0.05) g 样品至 10 mL 离心管中, 加入 4 mL 样本提取液, 振荡 30 s, 静置 5 min, 吸取 400 μL 上层液体加入 1.2.3 制备的检测试剂中, 连续吹打 5 次混匀, 静置 3 min, 即为待测液。将 1.2.4 制备的芯片试纸条插入检测试剂中, 室温反应 5 min, 用荧光读数仪读取 T、C 线的荧光强度, 计算 T/C 值, T/C ≥ 1, 判为阴性(-); T/C < 1, 判为阳性(+).

1.2.7 芯片试纸条的性能测试

(1) 检测限实验

取空白白菜、梨样本, 在其中分别添加系列浓度的甲氰菊酯、多菌灵、克百威、吡虫啉、辛硫磷、灭蝇胺标准品, 用试纸条进行检测, 每个样本、每个浓度 6 个平行, 取其平均值, 通过仪器判断 T/C < 1 的最小浓度, 即为试纸条所能达到的检测限。

(2) 准确性实验

取空白白菜、胡萝卜、茄子、苹果、梨各 1 份, 在其中分别添加 6 种农药至上述确定的检测限浓度, 用试纸条进行检测, 每个样本 6 个平行, 计算假阳性率、假阴性率, 判定试纸条的准确度。

(3) 特异性实验

取空白白菜样本 1 份, 在其中分别添加其他常见的 7 种农药至 10 mg/kg, 用试纸条进行检测, 每种药物 6 个平行, 判定试纸条的特异性。

2 结果与分析

2.1 荧光微球的选择

选择 200、300、400 nm 不同粒径大小的微球标记多菌灵单克隆抗体, 检测结果见表 1。每个条件添加多菌灵标准品浓度均为 0 和 2 mg/L, 检测荧光强度并计算抑制率。400 nm 荧光微球活化后不易复溶, 200 nm 荧光微球抑制率和 300 nm 荧光微球相差不大, 但 300 nm 荧光微球荧光强度更强。已有研究发现, 在相同浓度加标样品测试中抑制率越小, 说明灵敏度越高^[12], 故选择 300 nm 荧光微球进行后续实验。

2.2 NC 膜的选择

不同 NC 膜对蛋白质的吸附能力存在差异, 导致抗体与抗原反应时间不同, 影响检测灵敏度^[13]。本研究选择 Milipore 90、Unisart CN 140 和 Nupore 70 三种 NC 膜, 反应效果如表 2 所示。Unisart CN 140 荧光强度最强, 但检测

点形状不均一,这可能是因为 CN 140 膜孔径较大(约为 8 μm)导致蛋白质外扩或渗漏; Milipore 90 荧光强度最弱,检测点模糊,不利于值的计算; Nupore 70 荧光强度居中,检测点形状更圆且大小均一,这可能是因为该膜孔径较小(0.22 μm),蛋白结合能力较强,仅需要较少的膜面积即可承载较高含量的蛋白,更有利于高密度芯片的制备。因此选择 Nupore 70 作为最佳的 NC 膜。

2.3 样品垫的选择

3 种材质样品垫的反应效果如表 3 所示。无纺布对样品液的吸收速度过快,所以过滤残渣及色素的能力一般;

玻璃纤维、全血滤膜对样品液的吸收速度相当,但全血滤膜过滤残渣及色素的能力更优秀,荧光强度最强。因此选择全血滤膜作为最佳的样品垫。

2.4 检测限实验

由表 4 可以看出:空白白菜、梨样本 T/C > 1,为阴性;在白菜、梨中添加农药,随着浓度的增加,T/C 值逐渐降低,直至 T/C < 1。为了避免假阴性结果出现引起误判,将检测限提升一个梯度浓度,最终确定检测限为:甲氰菊酯 1 mg/kg、多菌灵 2 mg/kg、克百威 0.02 mg/kg、吡虫啉 1 mg/kg、辛硫磷 10 mg/kg、灭蝇胺 0.5 mg/kg。

表 1 不同粒径荧光微球的比较
Table 1 Comparison of fluorescent microspheres with different particle sizes

粒径/nm	活化性状	标记物性状	阴性荧光强度	阳性荧光强度	抑制率/%
200	白色点状沉淀,复溶性好	乳白色混悬液	2518	1205	48
300	白色点状沉淀,复溶性好	乳白色混悬液	3260	1438	44
400	白色片状沉淀,不易复溶	乳白色混悬液	3952	2094	53

表 2 NC 膜的比较
Table 2 Comparison of NC membranes

NC 膜名称	荧光强度	检测点状态
Milipore 90	3308	
Unisart CN 140	3750	
Nupore 70	3502	

表 3 样品垫的比较
Table 3 Comparison of sample pads

样品垫名称	层析全膜所需时间/s	过滤残渣及色素能力	荧光强度
无纺布	33	一般	2102
玻璃纤维	40	一般	3594
全血滤膜	42	优秀	3624

表 4 检测限实验结果(n=6)
Table 4 Results of the detection limit test (n=6)

添加药物	添加浓度/(mg/kg)	白菜		梨	
		T/C	结果	T/C	结果
甲氰菊酯	0	2.90	—	2.81	—
	0.25	1.56	—	1.49	—
	0.5	0.81	+	0.75	+
	1	0.49	+	0.44	+
	2	0.24	+	0.27	+
多菌灵	0	2.86	—	2.92	—
	0.5	1.62	—	1.44	—
	1	0.83	+	0.91	+
	2	0.40	+	0.50	+
	4	0.19	+	0.26	+
克百威	0	2.09	—	1.99	—
	0.005	1.55	—	1.27	—
	0.01	0.93	+	1.01	—
	0.02	0.68	+	0.65	+
	0.04	0.36	+	0.41	+
吡虫啉	0	2.88	—	2.27	—
	0.25	1.54	—	1.18	—
	0.5	0.62	+	0.56	+
	1	0.19	+	0.19	+
	2	0.11	+	0.10	+
辛硫磷	0	2.95	—	3.16	—
	2.5	1.63	—	1.49	—
	5	0.96	+	0.88	+
	10	0.65	+	0.52	+
	20	0.38	+	0.24	+
灭蝇胺	0	3.57	—	3.58	—
	0.125	1.92	—	1.87	—
	0.25	0.78	+	0.92	+
	0.5	0.43	+	0.40	+
	1	0.25	+	0.19	+

2.5 准确性实验

由表 5 可以看出: 对阴性样本、阳性样本进行检测, 无假阳性、假阴性出现, 结果判定准确, 说明本芯片试纸条可以对果蔬样本中的甲氰菊酯、多菌灵、克百威、吡虫啉、辛硫磷、灭蝇胺 6 种农药同时进行准确定性分析。

2.6 特异性实验

由表 6 可以看出: 样本中常见的其他农药对 6 个点阵

条带均不产生干扰, 结果都显示阴性, 说明本芯片试纸条对 6 种药物特异性较好。

2.7 实际样品的测定

为进一步验证本方法的准确性和实际应用能力, 对购自市场的白菜、茄子、苹果按上述方法进行检测, 同时依据 GB/T 20769、GB 232008 进行检测, 比对 2 种方法检测结果, 见表 7。结果表明, 本方法与仪器检测结果相符, 结果准确可靠。

表 5 准确性实验结果(n=6)
Table 5 Results of the accuracy test (n=6)

添加药物	添加浓度/(mg/kg)	白菜		胡萝卜		茄子		苹果		梨	
		T/C	结果	T/C	结果	T/C	结果	T/C	结果	T/C	结果
甲氰菊酯	0	1.66	-	3.44	-	2.19	-	2.07	-	1.67	-
	1	0.60	+	0.58	+	0.29	+	0.40	+	0.27	+
多菌灵	0	2.11	-	3.83	-	2.81	-	1.99	-	2.06	-
	2	0.32	+	0.51	+	0.40	+	0.46	+	0.43	+
克百威	0	1.97	-	2.00	-	2.38	-	1.86	-	1.90	-
	0.02	0.50	+	0.51	+	0.69	+	0.37	+	0.53	+
吡虫啉	0	2.10	-	3.83	-	1.50	-	2.80	-	2.31	-
	1	0.30	+	0.31	+	0.37	+	0.36	+	0.39	+
辛硫磷	0	1.78	-	2.57	-	2.91	-	1.85	-	1.68	-
	10	0.68	+	0.38	+	0.31	+	0.68	+	0.54	+
灭蝇胺	0	1.78	-	2.68	-	2.90	-	2.40	-	1.69	-
	0.5	0.37	+	0.32	+	0.29	+	0.25	+	0.29	+

表 6 特异性实验结果(n=6)
Table 6 Results of the specificity test (n=6)

添加药物	检测线											
	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
	T/C	结果	T/C	结果	T/C	结果	T/C	结果	T/C	结果	T/C	结果
阿维菌素	1.28	-	1.81	-	1.92	-	1.84	-	2.12	-	1.70	-
氟虫腴	1.60	-	1.83	-	1.93	-	1.94	-	1.86	-	1.82	-
水胺硫磷	1.20	-	1.62	-	1.76	-	1.75	-	2.02	-	1.53	-
腐霉利	1.25	-	1.81	-	1.96	-	2.42	-	1.97	-	1.64	-
杀螟硫磷	1.29	-	1.66	-	1.73	-	1.86	-	2.08	-	1.48	-
毒死蜱	1.33	-	1.72	-	1.84	-	1.94	-	1.84	-	1.51	-
对硫磷	1.77	-	2.05	-	1.64	-	1.96	-	1.68	-	2.20	-

表 7 实际样品测试结果
Table 7 Test results of actual sample

农药种类	白菜			茄子			苹果		
	T/C 值	结果	仪器结果/(mg/kg)	T/C 值	结果	仪器结果/(mg/kg)	T/C 值	结果	仪器结果/(mg/kg)
甲氰菊酯	2.14	-	未检出	1.66	-	0.131	1.87	-	0.053
多菌灵	1.69	-	未检出	1.95	-	未检出	1.45	-	0.017
克百威	0.37	+	0.732	1.84	-	0.046	2.21	-	未检出
吡虫啉	1.75	-	0.067	1.52	-	0.142	1.64	-	0.038
辛硫磷	1.28	-	0.159	1.73	-	未检出	1.59	-	0.206
灭蝇胺	1.43	-	0.025	1.90	-	0.009	0.28	+	1.024

3 结论与讨论

目前关于农药多残留检测芯片的研究较少, 仅检索到赵颖等^[14]以醛基修饰的载玻片为固相载体, 胶体金为标记材料, 建立了一种含有 10 对包被抗原与农药抗体组合的免疫芯片, 可同时检测农产品中毒死蜱、三唑磷、克百威、噻虫啉、吡虫啉、多菌灵、异菌脲、涕灭威、甲氰菊酯和百菌清共 10 种农药; 兰美静^[15]以硝酸纤维素膜为载体, 胶体金做标记材料, 制作了一个含有 7 个抗原抗体组合的可视化免疫芯片, 可同时检测三唑磷、对硫磷、甲基对硫磷、杀螟硫磷、甲氰菊酯、克百威、噻虫啉、百菌清和多菌灵 9 种农药。上述研究是通过抗原、抗体和金标二抗的竞争反应后加入增强液显色来实现检测的, 虽然检测药物种类多, 但过程繁琐, 耗时长(1.5 h), 仍不适用于现场多种农药残留的快速筛选。

时间分辨免疫荧光是 20 世纪 80 年代在传统免疫分析的基础上发展起来的一种新型的标记免疫分析技术, 使用具有独特荧光特征的镧系元素及其螯合物, 灵敏度高、特异性好、无放射元素污染; 生物芯片技术是采用微量点样等方法, 将生物大分子有序地固化在载体表面组成密集的点阵列, 具有高通量、反应速度快等特点。本研究将时间分辨荧光免疫层析技术和生物芯片技术相结合, 以硝酸纤维素膜为载体, 农药抗原为捕获探针, 制作了一种包含 6 种抗原抗体组合的免疫芯片, 可同时检测甲氰菊酯、多菌灵、克百威、吡虫啉、辛硫磷、灭蝇胺 6 种农药, 检测限分别为 1、2、0.02、1、10、0.5 mg/kg; 假阴性率、假阳性率均为 0, 准确度较高; 检测速度快, 从制样到得出结果仅需 15 min。本方法将传统试纸条的划线模式改成点阵形式, 既突破了原有试纸条产品最多只能有 5 个检测项目的限制, 又可以有效避免划线引起的多项目之间的显色干扰。该方法作为一种快速筛查手段, 可广泛用于蔬菜水果中多种农药残留的现场筛查和检测, 具有重要的经济价值和社会价值。

参考文献

- [1] 周喜应. 浅谈我国的农药与粮食安全[J]. 农药科学与管理, 2014, 35(8): 5-8.
- [2] ZHOU XY. Pesticide and food security in China [J]. Pest Sci Admin, 2014, 35(8): 5-8.
- [2] 刘纲勇, 黄锦波. 气相色谱法测定橄榄油中 22 种有机氯农药[J]. 理化检验, 2020, 56(5): 606-611.
- [2] LIU GY, HUANG JB. GC determination of 22 organochlorine pesticides in olive oil [J]. Phy Test Chem Anal, 2020, 56(5): 606-611.
- [3] HUANG C, MA JK, FENG RX, *et al.* Simultaneous determination of five organophosphorus pesticide residues in different food samples by solid-phase microextraction fibers coupled with high-performance liquid chromatography [J]. J Sci Food Agric, 2019, 99(15): 6998-7007.
- [4] SONG L, PAN CP, YANG J, *et al.* Dual-layer column filtration cleanup and gas chromatography-tandem mass spectrometry detection for the analysis of 39 pesticide residues in porcine meat [J]. J Separat Sci, 2020, 43(7): 1306-1315.
- [5] 武源, 覃慧丽. 茶叶中 12 种农药残留量的 QuEChERS-液相色谱-串联质谱法测定[J]. 农药, 2020, 59(6): 430-436.
- [5] WU Y, QIN HL. Determination of 12 pesticide residues in tea by QuEChERS liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Agrochemicals, 2020, 59(6): 430-436.
- [6] CONAWAY JE. New trends in analytical technology and methods for pesticide residue analysis [J]. Assoc Official Anal Chem, 1991, 74(5): 715-717.
- [7] LAN JQ, WANG MF, DING S, *et al.* Simultaneous detection of carbofuran and 3-hydroxy-carbofuran in vegetables and fruits by broad-specific monoclonal antibody-based ELISA [J]. Food Agric Immunol, 2019, 30(1): 1085-1096.
- [8] 于祥东, 李岩松, 司朝朝, 等. 吡虫啉农药间接竞争 ELISA 检测方法的建立[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2019, 40(2): 107-112, 118.
- [8] YU XD, LI YS, SI ZZ, *et al.* Development of an indirect competitive ELISA for the detection of imidacloprid [J]. J Yangzhou Univ (Agric Life Sci Ed), 2019, 40(2): 107-112, 118.
- [9] 龚航. 基于单克隆抗体农药吡虫啉、三唑磷免疫层析方法研究[D]. 滁州: 安徽科技学院, 2018.
- [9] GONG H. Monoclonal antibody based lateral flow assay for imidacloprid and triazophos detection [D]. Chuzhou: Anhui Science and Technology University, 2018.
- [10] 马明. 氯噻啉免疫分析方法研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
- [10] MA M. The development of immunoassays for imidacloprid [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016.
- [11] 刘复新, 豆小文, 杨志欣, 等. 纳米颗粒标记可视化试纸条在农药残留筛查中的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(16): 3056-3064.
- [11] LIU FX, DOU XW, YANG ZX, *et al.* Advances on nanoparticles-tagged visual test strips for the rapid detection of pesticides [J]. Chin J Chin Mater Med, 2017, 42(16): 3056-3064.
- [12] 郭建军. 喹乙醇化学发光免疫技术及时分辨荧光免疫层析技术研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2020.
- [12] GUO JJ. Studies on chemiluminescence immunoassay and time-resolved fluorescence immunochromatography based on olaquinox [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2020.
- [13] 左晓维. 粮食中真菌毒素的荧光定量免疫层析技术研究[D]. 重庆: 西南大学, 2019.
- [13] ZUO XW. Fluorescent immunochromatographic assay for quantitative

determination of mycotoxins in grain [D]. Chongqing: Southwest University, 2019.

- [14] 赵颖, 王双节, 柳颖, 等. 毒死蜱等 10 种农药多残留快速检测芯片研究[J]. 分析化学, 2019, 47(11): 1759–1766.

ZHAO Y, WANG SJ, LIU Y, *et al.* Immunochip assay for multi-residue rapid detection of ten kinds of common pesticides [J]. Chin J Anal Chem, 2019, 47(11): 1759–1766.

- [15] 兰美静. 农药多残留免疫芯片-纳米金增敏型检测体系构建[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.

LAN MJ. Establishment of an immunochip for multi-pesticides determination based on colloidal gold enhancement [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



万宇平, 正高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: beijingqinbang@163.com



何方洋, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: hefangyang@kwinbon.com