微阵列生物芯片法检测果蔬中 6 种内吸性农药残留

孟潇[1]，汤迪朋[2]，丁洪流[1*]，张丹丹[2]，李帷帷[2]

（1. 苏州市食品检验检测中心，江苏苏州 215000）（2. 江苏祥中科技有限公司，江苏苏州 215000）

摘要：为了提高果蔬中内吸性农药残留检测的效率与准确性，本研究使用微阵列生物芯片法，筛选多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺 6 种内吸性农药的抗体抗原材料，制备微阵列生物芯片，建立同时定量检测果蔬样品中这 6 种内吸性农药残留的生物芯片快速检测方法，并考察方法检测韭菜、叶用莴苣、番茄、橙、梨、葡萄 6 种果蔬的灵敏性与准确性。结果显示，该方法检测多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺 6 种农药，分别在 2~32、1~16、2~32、15~240、1~16、0.5~8 μg·L^{-1} 质量浓度范围内标准工作曲线相关系数 >0.99，对 6 种果蔬基质中 6 种农药的定量限均低于国标要求最大残留限量值的 1/2，添加回收率在 74.55%~121.69%，RSD 均在 14.13% 以下，通过实际阳性样品与确证方法比较，两种方法检测结果间 RSD 在 5.32%~15.98%，结果表明微阵列生物芯片方法灵敏性、准确性、与确证方法一致性较好，其简单、高效、高通量的特点在农业生产、市场流通等场景具有广泛的应用前景，为内吸性农药残留快速检测方法的开发提供理论基础。

关键词：生物芯片；农药残留；内吸性；高通量；快速检测

文章编号：1673-9078(2026)10-341-351 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.10.1119

Detection of Six Systemic Pesticide Residues in Fruits and Vegetables Using A Microarray Biochip Technique

MENG Xiao[1], TANG Dipeng[2], DING Hongliu[1*], ZHANG Dandan[2], LI Weiwei[2]

(1. Suzhou Food Inspection and Testing Center, Suzhou 215000, China)

(2. Jiangsu Xiangzhong Technology Co. Ltd., Suzhou 215000, China)

Abstract: To enhance the efficiency and accuracy of detecting systemic pesticide residues in fruits and vegetables, a microarray biochip method was utilized to screen antibody and antigen materials for six systemic pesticides: carbendazim, carbofuran, acetamiprid, procymidone, fipronil, and clothianidin. A microarray biochip was prepared, and a rapid biochip-based detection method was established for simultaneous quantitative determination of these six pesticide residues in fruit and vegetable samples. The sensitivity and accuracy of the developed method were evaluated across six types of fruits and vegetables, namely, garlic chives, leaf lettuce, tomato, sweet orange, pear, and grape. The linear correlation coefficients were >0.99 for the six pesticides within the following mass concentration ranges: carbendazim (2~32 μg·L^{-1}), carbofuran (1~16 μg·L^{-1}), acetamiprid (2~32 μg·L^{-1}), procymidone (15~240 μg·L^{-1}), fipronil (1~16 μg·L^{-1}), and clothianidin (0.5~8 μg·L^{-1}). The limits of detection and quantification for all pesticides in the six matrices were below half the maximum residue limits specified in national standards. Spike recovery rates ranged from 74.55% to 121.69%, with relative standard deviations (RSDs) below 14.13%. A comparison with confirmatory methods using actual positive samples showed RSDs of 5.32~15.98% between the two methods, indicating that the microarray biochip method possessed excellent sensitivity, accuracy, and consistency with confirmatory methods. The simplicity, high efficiency, and high throughput of this approach demonstrate broad application potential in agricultural production and market circulation. Overall, these findings provide a theoretical basis for developing rapid detection methods for systemic pesticide residues in fruits and vegetables.

Key words: biochip; pesticide residue; systemic pesticide; high throughput; rapid detection

收稿日期：2025-08-08；修回日期：2025-10-22；接受日期：2025-11-04

基金项目：国家市场监督管理总局科技计划项目（2023MK046）；苏州市科技计划项目（2023ssd43）

作者简介：孟潇（1997-），女，硕士，研究方向：食品安全检测与质量管理，E-mail：812303745@qq.com

通讯作者：丁洪流（1979-），女，博士，正高级工程师，研究方向：食品安全检测与质量管理，E-mail：hollior@163.com

引文格式：
孟潇,汤迪朋,丁洪流,等.微阵列生物芯片法检测果蔬中6种内吸性农药残留[J].现代食品科技,2026,42(10):341-351.
MENG Xiao, TANG Dipeng, DING Hongliu, et al. Detection of six systemic pesticide residues in fruits and vegetables using a microarray biochip technique [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(10): 341-351.

内吸性农药是近年来市面上使用较多的农药，其可以通过渗透作用和传导作用在植物内部形成系统性分布[1]。在食品安全中，内吸性农药存在残留时间长、提取困难和检测结果不准确等诸多缺点，且难以清洗去除。传统的农药残留检测方法主要有高效液相色谱法[2,3]、液相色谱－质谱联用法[4-6]、气相色谱 - 质谱联用法[7]等，上述方法虽然具有较高的准确性，但存在检测时间长、检测成本高、对人员技术要求高的问题，在大批量样品的检测上有局限性。而市面上的农药残留快速检测方法有酶抑制法[8]和胶体金免疫层析法[9-12]，其中酶抑制法是目前市场上主流的农药残留快速检测方法。现行国家标准 GB/T 5009.199-2003《蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量的快速检测》规定了酶抑制法用于蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药的检测，但该方法所使用的乙酰胆碱酶由于易受植物次生物质干扰，对于果蔬样品通常采用剪碎或浸泡表皮的方式进行样本前处理，无法有效提取分布于植物体内部的内吸性农药，所以容易出现漏检、误检的问题[13]。而胶体金免疫层析法存在检测项目单一、多项目检测成本高的问题，农业生产中，多种农药混合使用是常见现象[14]。在实际的食品安全检测中，目前的检测方法都有一定的局限性，亟需一种多指标、高通量、灵敏度高的快速检测方法。

微阵列生物芯片技术是近年来得到高速发展的多学科交叉新技术，该技术通过将蛋白质、核酸等生物分子固定在固相基质表面，构建微型生物化学分析系统，以实现对生物、化学分子准确、快速、高通量的筛选[15,16]。生物芯片上可通过将蛋白质、核酸等生物分子以阵列形式排列，组成密集的微阵列，在短时间内分析大量的生物分子，效率远高于传统检测手段。近年来在食品安全检测领域，微阵列生物芯片技术已得到广泛应用[17-23]。在食品安全检测中，微阵列生物芯片将不同目标物的半抗原以阵列点的形式固定在 96 孔板的微孔底部，以免疫竞争法为原理对目标物进行检测，通过纳米标记催化显色，实现对目标物的高通量、多指标快速检测[20]。

对于内吸性农药残留的检测，崔海峰等以硝酸纤维素膜（NC 膜）为载体制备生物芯片、荧光微球标记抗体，建立了克百威、灭蝇胺、毒死蜱同时定性检测的生物芯片方法[21]。张红微以 NC 膜为载体，以胶体金标记抗体建立了甲氰菊酯、啶虫脒、莠去津、三唑磷、多菌灵、百菌清同时定性检测的生物芯片方法；又以羧基时间分辨荧光微球标记抗体建立了多菌灵、啶虫脒、三唑磷同时定量检测的生物芯片方法[22]。上述以 NC 膜为载体的生物芯片方法结合了免疫层析技术，实验操作上较为简单，实现了多靶标同时检测，但检测通量仍然较低，1 次只能检测 1 个样品。本研究为提高检测效率，采用 96 孔微孔板作为生物芯片载体，在每个微孔底部固定蛋白阵列，1 块 96 孔板可同时检测 90 个样品，在多靶标检测的同时也实现高通量检测。

本研究根据市场上果蔬中内吸性农药检出情况[24]，选择各农药类别中检出风险高、具备代表性的农药残留项目为对象进行研究；同时筛选市售的单克隆抗体材料，选择抗体材料灵敏度高且互不干扰的项目进行组合，确定研究对象为多菌灵[25]、克百威[26]、啶虫脒[27]、腐霉利[28]、氟虫腈[29]、噻虫胺[30,31]。本研究采用微阵列生物芯片法建立适用于果蔬样品中 6 种内吸性农药多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺残留同时检测的方法，以满足内吸性农药残留检测的需求。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

牛血清蛋白（BSA，纯度 99%），美国 Sigma 公司；多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺、噻虫嗪、吡虫啉、苯醚甲环唑、毒死蜱、烯酰吗啉（纯度大于 99%），天津阿尔塔科技有限公司；无水磷酸二氢钾、无水磷酸氢二钠、氯化钠、氯化钾、吐温 20，乙腈（分析纯），南京化学试剂有限公司；多菌灵半抗原（3.8 mg·mL^{-1}）、克百威半抗原（12.6 mg·mL^{-1}）、啶虫脒半抗原（9 mg·mL^{-1}）、腐霉利半抗原（6.3 mg·mL^{-1}）、氟虫腈半抗原（1.6 mg·mL^{-1}）、噻虫胺半抗原（4 mg·mL^{-1}）、多菌灵纳米银标记抗体（6 mg·mL^{-1}）、克百威纳米银标记抗体（7.6 mg·mL^{-1}）、啶虫脒纳米银标记抗体（4.6 mg·mL^{-1}）、腐霉利纳米银标记抗体（12.6 mg·mL^{-1}）、氟虫腈纳米银标记抗体（9.5 mg·mL^{-1}）、噻虫胺纳米银标记抗体（7.8 mg·mL^{-1}），江苏祥中科技有限公司。蔬菜、水果样品采购于南京本地各大超市。

1.2 仪器与设备

YP10002B 电子天平，上海力辰邦西仪器科技有限公司；MVM-200 多管涡旋混合仪，南京祥中生物科技有限公司；TDZ5-WS 离心机，湖南湘仪实验室仪器开发有限公司；VORTEX-5 涡旋振荡器，海门市其林贝尔仪器制造公司；TMAR 微阵列生物芯片点样仪、Q-Array2000 微阵列生物芯片分析仪、MB100-2A 微孔板恒温振荡仪、NY601 微阵列生物芯片，江苏祥中科技有限公司；BOMS 均质器，揭阳市美宜家五金塑料实业有限公司；MCT 聚苯乙烯离心管（2、10、50 mL），美国 Axygen 有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 检测原理

本方法在 96 孔板每个微孔的底部以点阵的形式固定多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺 6 种人工合成的半抗原。当同时向微孔中加入经样品前处理后的提取液与抗体工作溶液时，提取液中的待测物与微孔底部固定的抗原点会竞争结合抗体工作溶液中的纳米标记抗体。当溶液中的待测物越多，抗体与微孔底部固定的抗原点的结合量就越少。反应完毕后，通过显色试剂与纳米标记抗体的反应让微孔底部抗原点形成黑色斑点，各黑色斑点用图像采集设备获取图像，读取其灰度值，通过测定标准溶液绘制标准工作曲线，进行定量检测。

1.3.2 微阵列生物芯片制备

本方法筛选适用于农药残留检测的免疫抗体与人工合成半抗原，使用微阵列生物芯片点样仪在 96 孔微孔板中每个微孔底部固定多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺 6 种农药残留的人工合成半抗原。将 1 nL 人工合成半抗原以 500 μm 的点对点间距排列成 12 个点（4×3）的阵列，点在微孔板底部。然后，将微孔板在 37 ℃下孵育 2 h。固定后，用 200 μL 封闭缓冲液（含 10 mg·mL^{-1} BSA 的 1× 磷酸盐缓冲液）处理微孔板 1 h，以消除阵列点之间的表面反应并减少非特异性结合[19]。最后，用 1× 磷酸盐缓冲液（0.01 mol·L^{-1} Phosphatic Buffer Solution, PBS）清洗微阵列孔板并吹干，密封在铝箔袋中，储存在 2~8 ℃直至使用。之后将上述抗原对应的单克隆抗体的纳米标记抗体按照工作浓度混合，配制得到可与 6 种农药残留进行免疫结合的抗体工作溶液，储存在 2~8 ℃直至使用。

1.3.3 标准工作曲线建立

本方法使用 1× 磷酸盐缓冲液将多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺 6 种农药的标准物质配制成 6 个不同质量浓度的混合标准工作溶液。将 6 个标准工作溶液与抗体工作溶液加入到生物芯片微孔中进行免疫竞争反应，再通过显色反应在微孔底部固定的抗原点上形成黑色斑点。使用微阵列扫描仪（Q-Array 2000）和相应的软件（MiELISA v 1.12）获得各抗原点的灰度值，所加入标准溶液中农药的质量浓度越高，对应抗原点的灰度值越低。在一定范围内，抗原点灰度值与标准溶液中对应农药的质量浓度成线性相关，通过将 6 个不同质量浓度标准工作溶液的灰度值与质量浓度绘制成标准工作曲线，可以在一定范围内进行定量检测。

1.3.4 样品制备

取蔬菜、水果样品不少于 100 g，使用均质器充分均质混匀，−20 ℃保存。

1.3.5 样品前处理

称取 1 g 均质后的样本，加入 5 mL 含 5%（φ）乙腈的 1× 磷酸盐缓冲液，在振荡器上以 2 500 r·min^{-1} 转速振荡 3 min，使用离心机以 5 000 r·min^{-1} 转速离心 3 min，取上层清液用 1× 磷酸盐缓冲液稀释后用于检测[23]。

1.3.6 检测步骤

使用前将微阵列生物芯片置于室温平衡 30 min 以上。取出需要数量的芯片微孔条插入微孔条架中，确保其水平稳定。依次加入 50 μL 待测液或标准溶液、50 μL 纳米标记抗体工作液到微孔中，轻轻振荡混匀后置于微孔板恒温振荡仪内，在 37 ℃下以 600 r·min^{-1} 的转速振荡反应 15 min。反应结束后将微孔中液体甩干，然后向微孔中加入 250 μL 水，轻轻振荡 10 s 后倒掉液体，反复洗涤 3 次，在吸水纸上拍干。将显色液 A 和显色液 B 按 1:1 的体积比例混合均匀，向每个微孔中加入该混合液 50 μL，轻轻振荡混匀后置于微孔板恒温振荡仪内，在 37 ℃下以 600 r·min^{-1} 的转速振荡进行显色反应 12 min。反应结束后，将孔内液体甩干，然后向微孔中加入 250 μL 水，轻轻振动 10 s 后倒掉液体，反复洗涤 3 次，在吸水纸上拍干[18]。将显色后的芯片放入图像采集设备中，获得微阵列生物芯片每个微孔中的图像，使用图像分析软件获得标准对照溶液和试样的微孔中各个农药残留检测点灰度值。

1.3.7 数据分析

使用微阵列扫描仪（Q-Array 2000）和相应的软件（MiELISA v 1.12）对微阵列芯片进行扫描成像和

数据检测。软件读取阵列点灰度值后，按式（1）计算每一个标准品和样品的抑制率（B）。

$$B=\frac{B_1}{B_0}\times 100\% \quad (1)$$

式中：

B——抑制率；

B_1——标准品或样品溶液的平均灰度值；

B_0——0 μg·L^{-1} 标准溶液的平均灰度值。

以标准品抑制率为纵坐标（%），农药标准溶液质量浓度的对数[lgC，（μg·L^{-1}）]为横坐标，绘制标准工作曲线，将样品的抑制率代入标准曲线中，根据标准曲线计算样品所对应的质量浓度对数，得到样品提取液中农药残留的质量浓度，该质量浓度乘以前处理方法的稀释倍数即可得到样品中农药残留的含量（以质量分数计）。结果按式（2）计算。

$$X=C\times V \quad (2)$$

式中：

X——样品中农药残留的质量分数，μg·kg^{-1}；

C——从标准工作曲线上得到样品提取液中农药残留的质量浓度，μg·L^{-1}；

V——前处理过程中样品的稀释倍数，L·kg^{-1}。

2 结果与讨论

2.1 微阵列芯片实验条件优化

2.1.1 抗体抗原浓度选择

在微阵列生物芯片的制备过程中，固定在芯片底部的人工半抗原浓度和抗体工作溶液中的各抗体浓度都会影响检测效率，每种目标分析物可能具有不同的最佳浓度。所以采用棋盘法来筛选每种目标分析物的人工半抗原和抗体溶液最佳浓度条件，即在微孔板上包被不同浓度的抗原点，同时配制不同浓度的抗体溶液，在相同的条件下进行孵育反应，使用芯片扫描分析仪读取灰度值。不同的抗体、抗原浓度条件会对灰度值产生影响，过高或者过低的灰度值会导致检测范围出现变化。根据灰度值的线性关系，灰度值过低会缩小检测范围，而过高则会导致信号饱和，检测灵敏度下降。为取得合适的检测范围需要将空白溶液检测的灰度值控制在 35 000~45 000 之间。根据筛选结果，多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺的抗体稀释比例分别为 1:5 000、1:5 000、1:200 000、1:200 000、1:12 000 和 1:5 000。固定的人工半抗原的稀释倍数分别为 20、20、15、20、10、10 倍。

2.1.2 标准曲线优化

标准曲线的浓度范围需要根据每个检测目标分析物的可检测浓度进行设置[32]。本研究根据抗体材料厂家提供的材料灵敏度 IC_{50}，每个农药残留项目选择了 7 个不同的质量浓度，用 1× 磷酸盐缓冲液配制标准溶液。其中多菌灵质量浓度为 1、2、4、8、16、32、64 μg·L^{-1}，克百威质量浓度为 0.5、1、2、4、8、16、32 μg·L^{-1}，啶虫脒质量浓度为 1、2、4、8、16、32、64 μg·L^{-1}，腐霉利质量浓度为 7.5、15、30、60、120、240、480 μg·L^{-1}，氟虫腈质量浓度为 0.5、1、2、4、8、16、32 μg·L^{-1}，噻虫胺质量浓度为 0.25、0.5、1、2、4、8、16 μg·L^{-1}。使用微阵列生物芯片法测定各质量浓度的标准溶液，选择不同质量浓度范围绘制标准工作曲线，计算相关系数，以确定最优的标准工作曲线，实验结果见表 1。

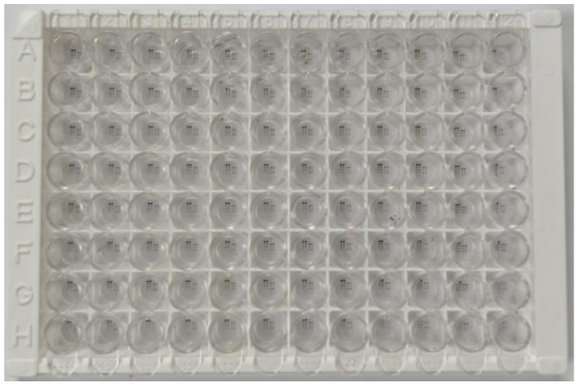


图 1 微阵列生物芯片实物图

Fig.1 Photograph of the microarray biochip

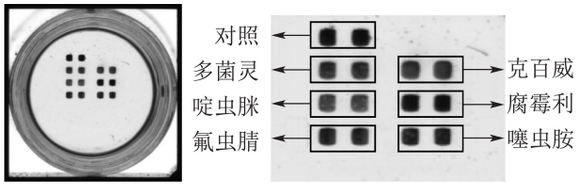


图 2 微阵列生物芯片扫描图像（左）与抗原点排布情况（右）

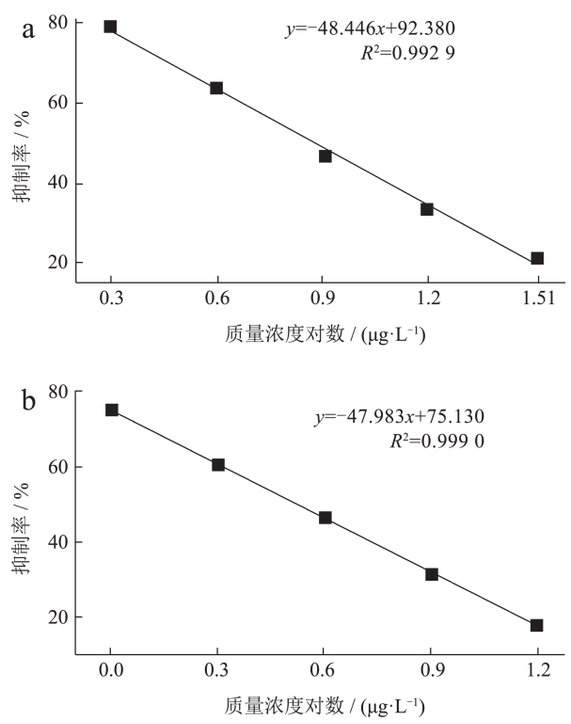
Fig.2 Microarray biochip scanning image (left) and antigen spot array arrangement (right)

根据不同质量浓度范围内标准曲线相关系数的结果，最终确定 6 个标准工作溶液中多菌灵的质量浓度分别为 0、2、4、8、16、32 μg·L^{-1}，克百威的质量浓度分别为 0、1、2、4、8、16 μg·L^{-1}，啶虫脒的质量浓度分别为 0、2、4、8、16、32 μg·L^{-1}，腐霉利的质量浓度分别为 0、15、30、60、120、240 μg·L^{-1}，氟虫腈的质量浓度分别为 0、1、2、4、8、16 μg·L^{-1}，噻虫胺的质量浓度分别为 0、0.5、1、2、4、8 μg·L^{-1}，各项目标准工作曲线图像与线性方程见图 2。结果表明，本方法检测 6 种农药残留项目的标准工作曲线相关系数 R^2 均大于 0.99，满足检测要求。

表 1 不同质量浓度范围内标准工作曲线相关系数

Table 1 Correlation coefficients of the standard calibration curve across different mass concentration ranges

检测项目	IC_{50}/(μg·L^{-1})	曲线范围/(μg·L^{-1})	相关系数
多菌灵	7.50	1~16	0.980 4
		2~32	0.992 9
		4~64	0.973 1
克百威	3.34	0.5~8	0.978 8
		1~16	0.999 0
		2~32	0.984 1
啶虫脒	13.98	1~16	0.991 5
		2~32	0.998 0
		4~64	0.987 1
腐霉利	43.10	7.5~120	0.987 8
		15~240	0.991 0
		30~480	0.960 6
氟虫腈	3.10	0.5~8	0.990 4
		1~16	0.998 1
		2~32	0.969 8
噻虫胺	1.93	0.25~4	0.981 0
		0.5~8	0.994 9
		1~16	0.979 6



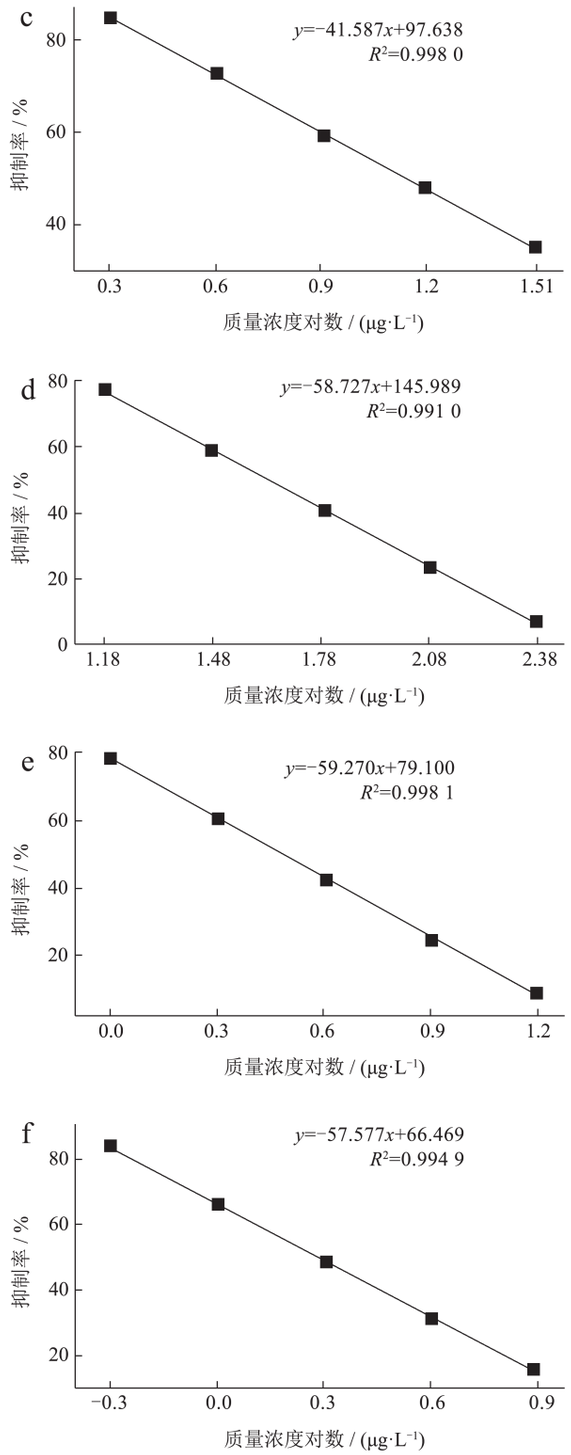


图 3 多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺标准曲线

Fig.3 Standard curves for carbendazim, carbofuran, acetamiprid, procymidone, fipronil, and clothianidin

注:(a)多菌灵;(b)克百威;(c)啶虫脒;(d)腐霉利;(e)氟虫腈;(f)噻虫胺。

2.1.3 样品制备方法优化

对于农药残留检测中果蔬样品的制备，LC-MS 等仪器方法要求将样品充分均质、匀浆，以提高对植物内部农药残留的提取效率[33,34]。但目前市面上的大部分快速检测方法如酶抑制法、胶体金试纸条等，在样品制备上仅采用剪碎或浸泡表皮的方法，难以提取出植物内部的农药残留，存在漏检、误检的风险。

本研究为提高对内吸性农药残留检测的准确性，选用 LC-MS 检出多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺为阳性的蔬菜样品，分别对样品进行剪碎与均质处理，使用微阵列生物芯片试剂盒进行检测，计算与 LC-MS 检测结果的相对标准偏差，对比 2 种样品制备方法的准确性，实验结果见表 2。实验结果表明，采用剪碎的样品，与 LC-MS 检测结果的相对标准偏差在 25.67%~76.93%；采用均质的样品，相对标准偏差在 3.24%~8.89%，用均质方法进行样品的制备，对植物中的内吸性农药残留提取更充分，检测准确性更高。

表 2 不同样品制备方法回收率对比

Table 2 Comparison of recovery rates using different sample preparation methods

基质	检测项目	样品阳性值/(μg·kg^{-1})	剪碎样品		均质样品	
			检测结果/(μg·kg^{-1})	相对标准偏差/%	检测结果/(μg·kg^{-1})	相对标准偏差/%
青菜	多菌灵	522.54	208.22	43.01	479.64	4.28
豇豆	克百威	45.32	5.91	76.93	38.27	8.43
辣椒	啶虫脒	385.12	204.48	30.64	334.29	7.07
韭菜	腐霉利	835.76	312.83	45.53	891.71	3.24
青菜	氟虫腈	84.66	14.13	71.39	92.32	4.33
生姜	噻虫胺	53.85	31.85	25.67	42.06	8.89

2.2 方法特异性测定

抗体的特异性对微阵列生物芯片分析的准确性非常重要。对于同时检测多种目标分析物的生物芯片，需要确定不同目标分析物与 6 种抗体之间是否存在较高的交叉反应率。因此，首先对多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺之间的交叉反应率进行测定。此外，对于其他常见的农药，如噻虫嗪、吡虫啉、苯醚甲环唑、毒死蜱、烯酰吗啉等也进行了测试。IC_{50} 即 50% 抑制浓度，是指当标准曲线上信号值与 0 μg·L^{-1} 质量浓度标准溶液的信号值之比为 50% 时所对应的质量浓度。交叉反应率的计算方法见式（3），实验结果见表 3。

$$CR=\frac{IC_{50}(Y)}{IC_{50}(Z)}\times 100\% \quad (3)$$

式中：

CR——交叉反应率；

IC_{50}（Y）——目标农药残留物达到 50% 抑制率时的质量浓度，μg·L^{-1}；

IC_{50}（Z）——干扰物质达到 50% 抑制率时的质量浓度，μg·L^{-1}。

实验结果显示，多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺 6 种抗体对各自的目标分析物的特异性较好，保证了后续检测的准确性。

表 3 多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺抗体与各农药交叉反应率（%）

Table 3 Cross-reactivity rates of antibodies against carbendazim, carbofuran, acetamiprid, procymidone, fipronil, and clothianidin with other pesticides

农药种类	多菌灵抗体	克百威抗体	啶虫脒抗体	腐霉利抗体	氟虫腈抗体	噻虫胺抗体
多菌灵	100	<1	<1	<1	<1	<1
克百威	<1	100	<1	<1	<1	<1
啶虫脒	<1	<1	100	<1	<1	<1
腐霉利	<1	<1	<1	100	<1	<1
氟虫腈	<1	<1	<1	<1	100	<1
噻虫胺	<1	<1	<1	<1	<1	100
噻虫嗪	<1	<1	<1	<1	<1	<1
吡虫啉	<1	<1	<1	<1	<1	<1
苯醚甲环唑	<1	<1	<1	<1	<1	<1
毒死蜱	<1	<1	<1	<1	<1	<1
烯酰吗啉	<1	<1	<1	<1	<1	< 1

2.3 检出限测定

本研究选择经实验室国标方法测定不含有多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺的空白果蔬样品（韭菜、叶用莴苣、番茄、橙、梨、葡萄）进行方法检出限的测定。根据 GB/T 27417-2017《合格评定化学分析方法和确认指南》中的规定，检出限通过选择 20 个独立的阴性样品进行测定，测定结果的平均值并加上 3 倍标准偏差即为该方法的检出限（以质量分数计），定量限以 3 倍检出限计算。本方法对于果蔬样品的检出限见表 4，定量限见表 5，GB 2763-2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》中规定的农药最大残留限量（MRL 值，以质量分数计）见表 6。

根据上述检出限的测定结果可知，除部分样品基质在 GB 2763-2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》中未规定腐霉利、噻虫胺的最大残留限量外，本方法对多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、

氟虫腈、噻虫胺的定量限都低于现行国家标准对相应果蔬样品基质最大残留限量的1/2，可以满足检测需求。

表4 生物芯片法韭菜、叶用莴苣、番茄、橙、梨、葡萄的检出限（g·kg^{-1}）

Table 4 LODs of the biochip method for garlic chives, leaf lettuce, tomato, orange, pear, and grape (g·kg^{-1})

基质	多菌灵	克百威	啶虫脒	腐霉利	氟虫腈	噻虫胺
韭菜	38.03	2.63	61.62	137.74	3.24	16.27
叶用莴苣	37.22	3.04	61.29	142.21	3.10	10.21
番茄	27.63	2.81	34.89	159.88	3.20	12.47
橙	29.51	2.76	42.38	130.78	3.04	14.48
梨	38.22	2.02	51.67	135.51	3.16	12.25
葡萄	40.40	1.90	57.15	134.56	2.67	14.73

表5 生物芯片法韭菜、叶用莴苣、番茄、橙、梨、葡萄的定量限（g·kg^{-1}）

Table 5 LOQs of the biochip method for garlic chives, leaf lettuce, tomato, orange, pear, and grape (g·kg^{-1})

基质	多菌灵	克百威	啶虫脒	腐霉利	氟虫腈	噻虫胺
韭菜	114.09	7.89	184.86	413.22	9.72	48.81
叶用莴苣	111.65	9.13	183.86	426.63	9.29	30.64
番茄	82.88	8.43	104.66	479.65	9.60	37.40
橙	88.53	8.28	127.13	392.35	9.12	43.44
梨	114.65	6.06	155.00	406.54	9.47	36.74
葡萄	121.19	5.69	171.46	403.68	8.02	44.18

表6 GB 2763-2021中韭菜、叶用莴苣、番茄、橙、梨、葡萄农药最大残留限量（mg·kg^{-1}）

Table 6 MRLs for pesticides in garlic chives, leaf lettuce, tomato, orange, pear, and grapes as specified in GB 2763-2021 (mg·kg^{-1})

基质	多菌灵	克百威	啶虫脒	腐霉利	氟虫腈	噻虫胺
韭菜	2	0.02	2	5	0.02	/
叶用莴苣	5	0.02	5	15	0.02	2
番茄	3	0.02	1	2	0.02	1
橙	5	0.02	0.5	/	0.02	0.5
梨	3	0.02	2	/	0.02	2
葡萄	3	0.02	0.5	5	0.02	0.7

2.4 样品回收率测定

根据以上建立的检测方法，本研究对该方法的样品回收率进行测定，以评价方法准确性。本研究选择阴性果蔬样品（韭菜、叶用莴苣、番茄、橙、梨、葡萄），通过添加标准溶液制备成含有多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺的果蔬样品，经过添加得到的质量分数分别为0.5倍MRL值、MRL值和2倍MRL值的样品，每个质量分数做3个样品重复。检测结果按照式（4）计算回收率，实验结果见表7。

$$R=\frac{C_1-C_2}{C_3}\times 100\% \quad (4)$$

式中：

R——回收率；

C_1——加标之后测定的质量浓度，μg·L^{-1}；

C_2——加标之前测定的质量浓度，μg·L^{-1}；

C_3——加入标准物质后理论的质量浓度，μg·L^{-1}。

表7中的实验结果显示，生物芯片试剂盒法对于韭菜、叶用莴苣、番茄、橙、梨、葡萄基质，多菌灵项目回收率为81.05%~116.31%，相对标准偏差为2.02%~11.10%，克百威项目回收率为83.40%~118.83%，相对标准偏差为2.19%~13.89%，啶虫脒项目回收率为74.55%~116.15%，相对标准偏差为0.91%~14.13%，腐霉利项目回收率为79.07%~121.69%，相对标准偏差为1.24%~12.78%，氟虫腈项目回收率为79.07%~119.43%，相对标准偏差为1.34%~10.77%，噻虫胺项目回收率为75.59%~114.60%，相对标准偏差为3.67%~12.42%。实验结果显示生物芯片试剂盒方法准确性较好，可以满足对以上基质中多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺的检测需求。

2.5 真实样本验证

本研究选用LC-MS检测结果为阳性的果蔬样品，使用生物芯片试剂盒方法进行测定，以验证生物芯片方法对真实阳性样品检测的准确度。实验结果见表8。

实验结果显示，对于LC-MS检测结果为阳性的果蔬样品，使用生物芯片试剂盒法检测毛豆米、黄瓜、豇豆、韭菜、白菜、平菇、菜秧样品结果与LC-MS检测结果的相对标准偏差都小于9.8%，具有较好的一致性，表明生物芯片试剂盒法检测上述蔬菜样品准确性较高，可用于该种类样品中多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺残留的定量检测。对于香菜、香葱、黄豆芽样品的检测结果与LC-MS检测结果的相对标准偏差在10.85%~15.98%，具有一定偏差，可能是由于以上样品中存在的植物次生物质对抗体产生了干扰，从而影响了实验结果，需要在后续的研究中对前处理方法进行优化以排除干扰物质，或者筛选特异性更强的抗体材料以降低干扰。

表 7 韭菜、叶用莴苣、番茄、橙、梨、葡萄基质加标回收率与相对标准偏差

Table 7 Recovery rates and rsds for garlic chives, leaf lettuce, tomato, orange, pear, and grape

检测项目	样品基质	添加样品质量分数/(μg·kg^{-1})	检测结果/(μg·kg^{-1})	回收率/%	相对标准偏差/%
多菌灵	韭菜	1 000	911.67	91.17	5.46
		2 000	1 862.87	93.14	4.61
		4 000	3 839.33	95.98	8.99
	叶用莴苣	2 500	2 851.25	114.05	4.39
		5 000	5 142.37	102.85	8.28
		10 000	10 878.27	108.78	8.03
	番茄	1 500	1 652.84	110.19	8.26
		3 000	3 489.33	116.31	5.32
		6 000	6 049.16	100.82	11.10
	橙	2 500	2 205.54	88.22	3.23
		5 000	5 096.87	101.94	4.13
		10 000	11 362.73	113.63	3.45
	梨	1 500	1 230.72	82.05	8.53
		3 000	3 032.51	101.08	2.02
		6 000	6 621.70	110.36	2.33
	葡萄	1 500	1 215.73	81.05	8.43
		3 000	2 905.33	96.84	6.49
		6 000	6 880.56	114.68	8.24
克百威	韭菜	10	8.45	84.45	13.89
		20	18.69	93.44	2.19
		40	34.77	86.91	7.78
	叶用莴苣	10	9.66	96.57	2.44
		20	21.05	105.23	5.10
		40	39.63	99.09	9.67
	番茄	10	11.60	115.99	5.34
		20	23.77	118.83	10.51
		40	44.73	111.83	7.67
	橙	10	8.34	83.40	13.06
		20	18.49	92.47	3.95
		40	42.76	106.89	6.95
	梨	10	8.61	86.12	8.63
		20	19.45	97.26	6.62
		40	44.42	111.05	6.95
	葡萄	10	10.26	102.60	2.60
		20	20.45	102.26	9.21
		40	39.21	98.02	5.22

续表7

检测项目	样品基质	添加样品质量分数/(μg·kg^{-1})	检测结果/(μg·kg^{-1})	回收率/%	相对标准偏差/%
啶虫脒	韭菜	1 000	931.50	93.15	6.22
		2 000	2 126.20	106.31	3.60
		4 000	3 658.00	91.45	7.46
	叶用莴苣	2 500	2 681.67	107.27	11.34
		5 000	4 942.63	98.85	8.71
		10 000	10 274.97	102.75	13.05
	番茄	500	580.75	116.15	8.02
		1 000	1 119.60	111.96	7.04
		2 000	1 939.51	96.98	4.27
	橙	250	216.09	86.44	7.89
		500	499.98	100.00	3.57
		1 000	894.94	89.49	5.71
	梨	1 000	836.88	83.69	6.16
		2 000	2 038.92	101.95	7.63
		4 000	3 696.28	92.41	2.77
	葡萄	250	186.37	74.55	0.91
		500	493.19	98.64	3.98
		1 000	1 065.36	106.54	14.13
腐霉利	韭菜	2 500	2 737.76	109.51	7.54
		5 000	5 447.98	108.96	5.43
		10 000	10 117.80	101.18	7.47
	叶用莴苣	7 500	7 434.45	99.13	3.55
		15 000	12 822.90	85.49	7.91
		30 000	36 052.70	120.18	5.29
	番茄	1 000	1 150.72	115.07	3.22
		2 000	2 048.61	102.43	6.65
		4 000	4 867.71	121.69	1.24
	葡萄	2 500	2 353.68	94.15	10.05
		5 000	4 794.88	95.90	12.78
		10 000	8 406.93	84.07	8.48
氟虫腈	韭菜	10	9.04	90.44	3.77
		20	19.16	95.80	6.48
		40	42.55	106.38	7.74
	叶用莴苣	10	7.91	79.07	4.90
		20	20.69	103.43	4.00
		40	47.39	118.48	4.88
	番茄	10	10.33	103.32	4.95
		20	22.63	113.16	10.77
		40	40.12	100.31	7.58
	橙	10	8.74	87.37	8.67
		20	16.43	82.17	9.25
		40	41.46	103.64	3.88
	梨	10	10.91	109.09	3.68
		20	20.92	104.60	7.50
		40	47.77	119.43	1.34
	葡萄	10	10.13	101.28	10.72
		20	22.02	110.10	6.72
		40	33.34	83.35	2.35

续表7

检测项目	样品基质	添加样品质量分数/(μg·kg^{-1})	检测结果/(μg·kg^{-1})	回收率/%	相对标准偏差/%
噻虫胺	叶用莴苣	1 000	755.93	75.59	4.21
		2 000	1 785.37	89.27	4.87
		4 000	3 788.21	94.71	5.75
	番茄	500	570.79	114.16	10.96
		1 000	979.78	97.98	9.61
		2 000	1 861.79	93.09	6.89
	橙	250	256.70	102.68	4.67
		500	468.22	93.64	10.42
		1 000	785.15	78.52	5.71
	梨	1 000	1 141.80	114.18	9.75
		2 000	2 110.82	105.54	12.42
		4 000	3 934.69	98.37	3.67
	葡萄	350	326.05	93.16	4.35
		700	681.50	97.36	9.33
		1 400	1 604.41	114.60	5.49

表 8 生物芯片法检测真实阳性样品结果

Table 8 Biochip method detection results for confirmed positive samples

样品基质	检测项目	生物芯片检测结果/(μg·kg^{-1})	国标方法检测结果/(μg·kg^{-1})	相对标准偏差/%
毛豆米	噻虫胺	64.09	73.35	6.87
黄瓜	噻虫胺	128.27	143.74	5.78
豇豆	啶虫脒	216.32	248.50	6.92
韭菜	腐霉利	577.45	642.37	5.32
韭菜	腐霉利	485.14	558.64	7.04
豇豆	克百威	106.33	121.74	6.76
白菜	氟虫腈	88.74	102.82	7.35
平菇	多菌灵	658.78	796.59	9.59
菜秧	多菌灵	496.35	603.75	9.80
香菜	多菌灵	245.38	305.04	10.85
香葱	多菌灵	507.35	368.29	15.98
黄豆芽	多菌灵	172.17	136.25	11.63
黄豆芽	多菌灵	190.44	149.11	12.24

LC-MS 等传统仪器方法检测准确性高，定量范围大，但仪器成本、检测单价较高，检测需要的时间较长，单个样品农药残留的市场价格在 200~500 元 / 项目，检测时间需要 1~2 d；而微阵列生物芯片试剂盒对单个样品中 6 种农药残留项目同时检测的市场价格在 30~60 元，检测时间只需要 1~2 h。微阵列生物芯片法相较于传统仪器方法能够有效地降低检测费用、提高检测效率，作为快检方法更适合大规模样品的筛查，有助于提高阳性发现率。而相较于胶体金试纸条、酶抑制法等传统快检方法，微阵列生物芯片法能对多种农药进行连续分析和同时检测，可以进一步提高对内吸性农药残留的筛查效率。

3 结论

本研究建立了用于果蔬样品中多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺 6 种内吸性农药残留同时快速检测的生物芯片试剂盒方法，并对该方法的特异性、检出限、定量限、加标回收率、与确证方法一致性进行了验证。本研究选用韭菜、叶用莴苣、番茄、橙、梨、葡萄 6 种果蔬进行了检出限、定量限与加标回收率的测试，实验结果检出限、定量限符合检测需求，多菌灵、克百威、啶虫脒、腐霉利、氟虫腈、噻虫胺加标回收率范围分别为 81.05%~116.31%、83.40%~118.83%、74.55%~116.15%、79.07%~121.69%、79.07%~119.43%、75.59%~114.60%，相对标准偏差均在 14.13% 以下，准确性与重复性较好。通过实际阳性样品与确证方法进行对比，毛豆米、黄瓜、豇豆、韭菜、白菜、平菇、菜秧样品检测结果与 LC-MS 方法检测结果的相对标准偏差均在 9.8% 以下，对于香菜、香葱、黄豆芽样品的检测结果与 LC-MS 检测结果的相对标准偏差在 10.85%~15.98%，表明本方法检测大部分种类的蔬菜样品与确证方法一致性较好，对于部分种类蔬菜的检测有一定偏差，需要在后续的研究中继续进行优化。综上所述，本研究建立的微阵列生物芯片法灵敏度、特异性、准确性、重复性较好，检测大部分实际阳性的蔬菜样品与确证方法一致性较好，可应用于实际检测中。在农业生产、市场流通等需要大批量、

多残留快速检测的场景中，微阵列生物芯片法具有较大的应用前景，为保障食品安全提供技术支持，为农药残留快速检测方法的开发提供理论依据。

参考文献

[1] 范添乐,宋玥颐,陈小军,等.农药内吸性的研究现状与改善策略[J].农药学学报,2020,22(4):579-585.

[2] 余宗兰,何玥,赵冬梅,等.高效液相色谱法同步检测果蔬和食用菌中多菌灵、吡虫啉农药残留[J].农业科技与信息,2025,4:113-117.

[3] 郭新颖,潘少聪,孙华闽,等.分散固相萃取-高效液相色谱法测定水果中克百威残留[J].医学动物防制,2024,40(6):602-605.

[4] SU Y Z, LU J J, GUO X W, et al. Method development, residue level analysis, and dietary risk assessment of six morpholine pesticide residues in plant-derived foods based on modified QuEChERS-liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2024, 133: 106303.

[5] LUANA C C, NICOLE R, SIDNEI M. Determination of pesticide residues in grapes consumed in natura and for juice and wine production by high-performance liquid chromatography with high resolution mass spectrometry (HPLC-HRMS) [J]. Analytical Letters, 56(9): 1454-1464.

[6] MA L L, CAO L H, FENG Y C, et al. Automatic multi-plug filtration cleanup tip-filtration with ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry detection for 22 pesticide residues in typical vegetables [J]. Journal of Chromatographic Science, 2023, 61(6): 559-568.

[7] 谭洁,韦卓才,苏颖,等.气相色谱-质谱法测定果蔬中克百威残留[J].食品工业,2022,43(3):275-278.

[8] 姚晓寰.酶抑制法快速检测蔬菜中农药残留灵敏度与准确性的研究[J].食品安全导刊,2023,20:113-116.

[9] 魏茂琼,王丽,兰珊珊,等.胶体金免疫层析法快速检测蔬菜中3种农药残留[J].河南农业科学,2024,53(6):79-90.

[10] LI M, HUA X D, 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.

[11] 宋宇迎,高猛峰,陈柔含,等.胶体金免疫层析法快速检测蔬菜中灭蝇胺、多菌灵、腐霉利残留[J].中国食品工业,2025,4:73-75.

[12] 占绣萍,刘彬,黄兰淇,等.应用胶体金法检测叶类蔬菜中吡虫啉、多菌灵、啶虫脒、噻虫嗪的残留量分析[J].农药科学与管理,2021,42(10):24-31.

[13] 易幸.农药残留快速检测酶抑制法局限性探讨[J].中国蔬菜,2021,2:10-12.

[14] 陈亨业,邓高琼,付海燕,等.农产品中内吸性农药残留检测技术与研究进展[J].化学试剂,2020,42(10):1139-1147.

[15] LI B W, ZHANG Y, WANG Y C, et al. Rapid fabrication of protein microarrays via autogeneration and on-chip purification of biotinylated probes [J]. ACS Synthetic Biology, 2020, 9(9): 2267-2273.

[16] BRAZMA A, HINGAMP P, QUACKENBUSH J, et al. Minimum information about a microarray experiment (MIAME)-toward standards for microarray data [J]. Nature Genetics, 2021, 29(4): 365-371.

[17] 李周敏,王颖,冷寒雪,等.蛋白芯片法同时检测食品中克伦特罗与莱克多巴胺的残留量[J].分析测试学报,2019,38(8):913-919.

[18] 朱静怡,陈泓帆,汤迪朋,等.动物源性食品中5类兽药残留的生物芯片试剂盒检测准确性评估[J].现代食品科技,2024,40(9):333-345.

[19] GAO H, TA L, LI Z M, et al. Simultaneous detection of four mycotoxins in cereals and edible oils by using a colorimetric protein microarray [J]. ACS Food Science and Technology, 2022, 2(6): 993-999.

[20] TANG M M, ZHOU W, SONG J Z, et al. Automatic detection of multi-antibiotic residues simultaneously in aquatic products by visual protein microarray chips [J]. Food Chemistry, 2025, 466: 142226.

[21] 崔海峰,贾芳芳,陈立军,等.用于3种农药残留快速检测的荧光免疫芯片研发及其应用[J].山东畜牧兽医,2021,42(7):1-5.

[22] 张红微.基于矩阵芯片技术的农药多残留免疫层析方法研究[D].北京:中国农业科学院,2022.

[23] 汤迪朋,李周敏,许丹科,等.智能手机检测蔬菜中多种农药残留[J].食品安全质量检测学报,2021,12(10):4136-4141.

[24] 孟子训,欧阳海燕,冯云,等.基于四极杆静电场轨道阱高分辨质谱非靶向快速筛查江苏市售主要蔬菜中的农药残留[J].分析试验室,2026,45(1):80-88.

[25] MIKIO C, EUGENE A C. Kinetic study of reversible conversion of methyl 1-(butylcarbamoyl)-2-benzimidazolecarbamate (benomyl) to methyl 2-benzimidazolecarbamate (MBC) and butyl isocyanate (BIC) in organic solvents [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1978, 26(3): 573-576.

[26] PAUL W F, MICHAEL S D, SARAH A J, et al. Carbofuran metabolism and toxicity in the rat [J]. Fundamental and Applied Toxicology, 1984, 4(1): 14-21.

[27] PHOGAT A, SINGH J, KUMAR V, et al. Toxicity of the acetamiprid insecticide for mammals:a review [J]. Environmental Chemistry Letters, 2022, 20(2): 1453-1478.

[28] TARUI H, TOMIGAHARA Y, NAGAHORI H, et al. Species differences in the developmental toxicity of procymidone-Placental transfer of procymidone in pregnant rats, rabbits, and monkeys [J]. Journal of Pesticide Science, 2018, 43(2): 79-87.

[29] YU W F, WU R X, ZHANG L, et al. Identification of key factors affecting neonicotinoid residues in crops and risk of dietary exposure [J]. Environmental Pollution, 2024, 345: 123489.

[30] RALF N, ULRICH E K, VINCENT L S, et al. Thiamethoxam is a neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2003, 76(2): 55-69.

[31] BONDAREVA L, FEDOROVA N. Pesticides: behavior in agricultural soil and plants [J]. Molecules, 2021, 26(17): 5370.

[32] MAO X J, WAN Y Q, LI Z M, et al. Analysis of organophosphorus and pyrethroid pesticides in organic and conventional vegetables using QuEChERS combined with dispersive liquid-liquid microextraction based on the solidification of floating organic droplet [J]. Food Chemistry, 2020, 309: 125755.

[33] VERGER P, AGAMY N, ANSHASI M, et al. Occurrence of pesticide residues in fruits and vegetables for the Eastern Mediterranean Region and potential impact on public health [J]. Food Control, 2021, 119: 107457.

[34] BADRUL H Z, SALSAZALI S, ABDUL S Y. Comprehensive strategy for pesticide residue analysis in cocoa beans through qualitative and quantitative approach [J]. Food Chemistry, 2022, 368: 130778.