DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250915004
引用格式: 孟潇, 汤迪朋, 张丹丹, 等. 磁性固相萃取-微阵列生物芯片试剂盒自动化检测蔬菜中 3 种内吸性农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(2): 187–195.
MENG X, TANG DP, ZHANG DD, *et al*. Automatic detection of 3 kinds of systemic pesticide residues in vegetables by magnetic solid-phase extraction combined with a microarray biochip kit [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(2): 187–195. (in Chinese with English abstract).

磁性固相萃取-微阵列生物芯片试剂盒自动化检测蔬菜中 3 种内吸性农药残留

孟　潇[1], 汤迪朋[2], 张丹丹[2], 李帷帷[2], 丁洪流[1*]
(1. 苏州市食品检验检测中心, 苏州　215000; 2. 江苏祥中科技有限公司, 苏州　215000)

摘　要: 目的　建立基于磁性固相萃取技术与微阵列生物芯片试剂盒的蔬菜中噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵残留自动化快速检测方法。**方法**　应用磁性固相萃取技术进行样品前处理, 通过优化样品制备与前处理条件提高对内吸性农药残留的提取效率, 应用微阵列生物芯片试剂盒与全自动生物芯片分析仪建立自动化快速检测方法, 并选用甘蓝、茄子、番茄基质验证方法的灵敏性与准确性。**结果**　该方法对甘蓝、茄子、番茄基质中噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵的检出限与定量限均符合检测需求。对 3 种蔬菜基质的加标回收率在 81.48%~120.48%, 相对标准偏差在 0.88%~14.90%, 准确性与稳定性较好。检测实际阳性样品与确证方法检测结果的相对标准偏差在 0.12%~9.95%, 一致性较好。**结论**　该方法灵敏性与准确性较好, 应用磁性固相萃取技术可以快速、简单去除样品中的杂质, 有效减少仪器成本, 微阵列生物芯片高通量、多指标的特点, 可提高检测项目覆盖率, 通过仪器实现自动化检测, 降低人员技术要求, 为食品安全检测的普及与推广提供技术支持与理论依据。

关键词: 磁性固相萃取; 生物芯片; 内吸性农药; 自动化; 快速检测

Automatic detection of 3 kinds of systemic pesticide residues in vegetables by magnetic solid-phase extraction combined with a microarray biochip kit

MENG Xiao[1], TANG Di-Peng[2], ZHANG Dan-Dan[2], LI Wei-Wei[2], DING Hong-Liu[1*]
(1. *Suzhou Food Inspection and Testing Center*, *Suzhou* 215000, *China*;
2. *Jiangsu Xiangzhong Technology Co*., *Ltd*., *Suzhou* 215000, *China*)

ABSTRACT: Objective　To establish an automated and rapid method for the detection of clothianidin, dimethomorph and carbendazim residues in vegetables based on magnetic solid-phase extraction technology and a microarray biochip kit. **Methods**　Magnetic solid-phase extraction was applied for sample pretreatment. The

收稿日期: 2025-09-15
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)
第一作者: 孟潇(1997—), 女, 硕士, 主要研究方向为食品安全检测与质量管理。E-mail: 812303745@qq.com
***通信作者:** 丁洪流(1979—), 女, 博士, 正高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测与质量管理。E-mail: hollior@163.com

extraction efficiency for systemic pesticide residues was improved by optimizing sample preparation and pretreatment conditions. An automated and rapid detection method was established using a microarray biochip kit and a fully automatic biochip analyzer. The sensitivity and accuracy of the method were validated using cabbage, eggplant and tomato matrices. **Results** The limits of detection and limits of quantitation for clothianidin, dimethomorph and carbendazim in cabbage, eggplant and tomato matrices met the detection requirements. The spiked recovery rates for the 3 kinds of vegetable matrices ranged from 81.48% to 120.48%, with relative standard deviations between 0.88% and 14.90%, demonstrating good accuracy and stability. The relative standard deviations in results between the proposed method and the confirmatory method for actual positive samples ranged from 0.12% to 9.95%, indicating good consistency. **Conclusion** This method exhibits high sensitivity and accuracy. The application of magnetic solid-phase extraction allows for rapid and simple removal of impurities from samples, effectively reducing instrument costs. The high-throughput and multi-parameter characteristics of the microarray biochip improve the coverage of detection items. Automation through instrumentation reduces the technical requirements for operators, providing technical support and a theoretical basis for the popularization and promotion of food safety testing.

KEY WORDS: magnetic solid-phase extraction; biochip; systemic pesticides; automated; rapid detection

0 引 言

在现代农业生产中, 农药在防治虫害、提高产量方面起着重要的作用, 但滥用农药、违规使用农药导致的环境污染与食品安全问题也需要重视[1–2]。据报道, 近年来内吸性农药在我国广泛使用, 成为了农产品质量不合格的主要原因[3]。农药的内吸行为是指农药在施药部位可被吸收至植物体内, 经传导作用分布至植物体内其他部位, 能在植物体内发生内吸和传导行为的农药称为内吸性农药[4–5]。内吸性农药可通过喷洒或根部用药进入农作物内部并维持一段时间, 具有用药简单、生效时间长、不易受环境影响的优点, 但同时也导致其难以通过清洗去除, 成为食品安全的隐患[6]。

现有的检测方法中, 高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、高效液相色谱-质谱法(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)、气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)等传统的仪器检测方法对于果蔬样品中内吸性农药残留的检测都有着较高的准确性[7–11], 孟子训等[7]采用超高效液相色谱-高分辨率质谱技术对江苏省市售蔬菜中农药残留进行非靶向筛查, 发现烯酰吗啉、噻虫胺、噻虫嗪等内吸性农药残留检出率超过 10%, 多菌灵、咪鲜胺、丙环唑等内吸性农药残留检出率超过 5%, 表明内吸性农药在蔬菜中具有较高的检出风险。

传统的仪器方法检测内吸性农药残留存在检测时间长、检测成本高、仪器昂贵、人员技术要求高的问题, 不适用于大批量的样品筛查与现场检测, 酶抑制法、胶体金免疫层析法等[12–15]快速检测方法由于其简单、快速的特点得到了较为广泛的应用。但上述快检方法往往易受植物中色素与其他次生代谢物质的干扰, 故大多采用剪碎的方法进行果蔬样品的制备, 无法充分提取样品中的内吸性农药残留。如何准确、快速、高效地进行内吸性农药残留检测, 需要从样品制备、样品前处理以及检测方法上展开研究。

固相萃取(solid-phase extraction, SPE)是通过固体吸附剂选择性保留液体中的目标物或杂质, 再使用不同极性的溶剂洗脱实现分离的技术[16]。在食品安全检测中, 固相萃取技术广泛地应用于样品前处理中[17–19]。磁性固相萃取是以磁性或可磁化的材料作为吸附剂基质的一种分散固相萃取技术。通过在磁性材料表面修饰不同的功能性基团, 可以对不同的目标物或杂质进行选择性保留, 然后在外加磁场的作用下将磁性固相萃取材料与液体快速分离, 从而简化萃取与洗脱的操作[20–21]。在食品安全检测领域, 磁性固相萃取技术与 GC-MS[22]、液相色谱-质谱法[23]等传统仪器方法, 以及胶体金免疫层析法[24]等快速检测方法相结合, 已有较多应用案例。通过使用磁性固相萃取材料进行样品前处理, 可以简化实验操作, 提高检测效率。

微阵列生物芯片技术是通过微加工技术在固体基质表面构建微型生化分析系统的技术, 近年得到了较快地发展[25]。相比于胶体金免疫层析法、酶联免疫试剂盒法等快速检测方法, 微阵列生物芯片法具有高通量、多靶标的特点, 在同样的检测时间内对多种目标物同时进行检测, 通过自动化仪器的应用可以实现检测的自动化[26], 降低人员技术要求。在食品安全领域, 微阵列生物芯片技术在兽药残留[27–28]、农药残留[29]、真菌毒素[30]检测等方面广泛应用。

目前对磁性固相萃取技术的研究主要在与 HPLC-MS 等仪器方法的结合应用上, 而磁性固相萃取技术操作简单、速度快的优点符合快速检测方法对前处理方法的要求。对于内吸性农药残留的检测, 通过功能化的磁性固相萃取材料吸附去除蔬菜样品中植物次生物质、降低基质影响, 有利于提高快速检测方法对内吸性农药残留检测的准确性; 通过微阵列生物芯片技术可以实现多种农药残留同时检测,

有利于提高对潜在风险的发现率。

为提高快速检测方法对内吸性农药残留检测的准确性与问题发现率，本研究根据江苏省市售蔬菜农药残留检出情况，选择噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵 3 种具有较高检出风险的内吸性农药残留项目作为研究对象。选用磁性固相萃取材料，优化蔬菜样品的前处理方法，建立适用于内吸性农药残留提取的实验方法。应用微阵列生物芯片技术，建立可同时检测噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵 3 种内吸性农药残留的方法，提高检测效率与覆盖率。同时通过自动化仪器的使用，将蔬菜农药残留的快速检测自动化，有利于食品安全检测的推广与普及，为市场监管、现场抽检、农业生产等基层检测场景提供解决方案。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

蔬菜样品采购于苏州当地市场与超市。

磁性固相萃取材料、微阵列生物芯片试剂盒(包含 96 孔生物芯片微孔板、抗体工作液、标准工作溶液、样品复溶液、显色液 A、显色液 B、清洗液)(江苏祥中科技有限公司)；乙腈、氯化钠、无水磷酸氢二钠、氯化钾、磷酸二氢钾、吐温 20(分析纯，南京化学试剂股份有限公司)；噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵(纯度均大于 98%，坛墨质检科技股份有限公司)。

1.2　仪器与设备

Q-Array100 全自动生物芯片检测仪、Q-Array2000 生物芯片分析仪、MB100-2A 微孔板恒温振荡仪、XZMSPE-15M 磁力架(江苏祥中科技有限公司)；MVM-200 多管涡旋混合仪(南京祥中生物科技有限公司)；ACQUITY 高效液相色谱仪、ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(100 mm×2.1 mm，1.8 μm)(美国 Waters 公司)；TSQ VANTAGE 质谱仪(美国赛默飞世尔科技公司)；BSA124S 分析天平(精度 0.1 mg，赛多利斯科学仪器有限公司)；TDZ5-WS 离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)；HM100 刀式研磨仪(北京格瑞德曼公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　检测原理

本研究应用磁性固相萃取技术进行蔬菜样品的前处理实验。蔬菜样品经乙腈提取后，加入表面经亲水性修饰的磁性固相萃取材料充分混合，磁性固相萃取材料吸附提取液中的固体杂质与其他植物次生物质，然后在外加磁场的作用下完成固液分离，得到净化后的提取液，实验流程及原理见图 1。

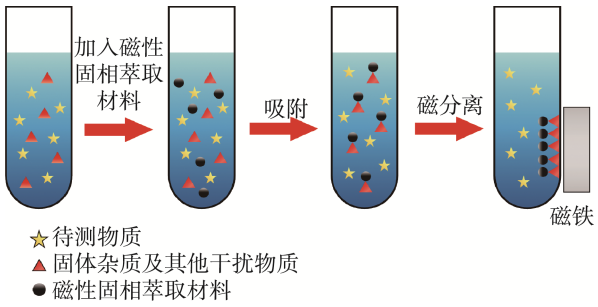
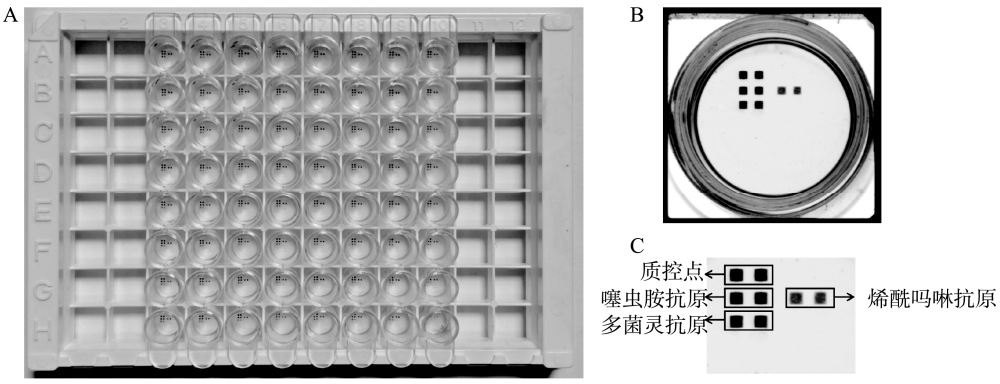


图 1　磁性固相萃取前处理方法示意图

Fig.1　Schematic diagram of the magnetic solid-phase extraction sample preparation method

经前处理实验得到的提取液，使用微阵列生物芯片试剂盒进行检测。微阵列生物芯片试剂盒中的 96 孔微孔板上有点阵形式固定的噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵 3 种农药的人工合成半抗原，向微孔中加入纳米标记抗体与提取液，提取液中的待测物与微孔底部抗原点会发生免疫竞争反应，竞争结合纳米标记抗体。再通过显色液让微孔底部抗原点结合的纳米标记抗体显色，抗原点的颜色深浅可反映待测物浓度的高低。使用扫描仪或相机获取微孔底部图像并读取抗原点灰度值，通过标准工作曲线进行定量检测。反应完成后的噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵微阵列生物芯片实物图、微孔扫描图像与抗原点排布见图 2。



注：A. 生物芯片实物图；B. 生物芯片扫描图；C. 微孔抗原点排布情况。

图 2　微阵列生物芯片图像与抗原点排布情况

Fig.2　Microarray biochip image and antigen spot arrangement

1.3.2 溶液配制

1×磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS): 称取 1.43 g 无水合磷酸氢二钠, 0.24 g 磷酸二氢钾, 8.01 g 氯化钠, 0.20 g 氯化钾, 加入约 800 mL 水溶解, 混匀, 定容至 1000 mL。

1.3.3 样品制备

取蔬菜样品不少于 100 g, 使用 HM100 刀式研磨仪充分均质混匀, 装入干净的容器中, 在–20 ℃条件下保存。

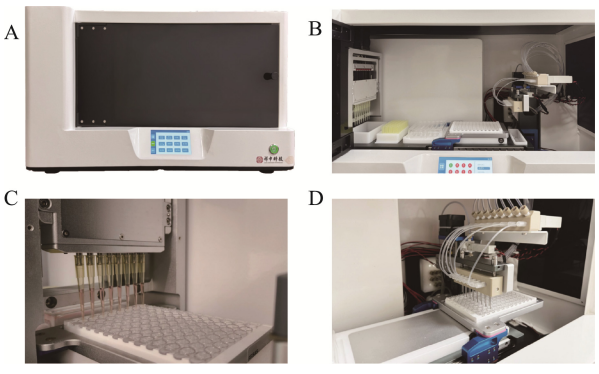
1.3.4 样品前处理

磁性固相萃取法: 称取 2 g 均质后的蔬菜样品至 15 mL 聚苯乙烯离心管中。加入 4 mL 乙腈, 振荡 3 min。加入 400 μL 磁性固相萃取材料, 振荡 3 min 后放于磁力架上进行磁分离。取上清液使用 1×PBS 稀释后用于检测。

离心法: 称取 2 g 均质后的蔬菜样品至 15 mL 聚苯乙烯离心管中。加入 4 mL 乙腈, 振荡 3 min。使用离心机以 4000 r/min 转速离心 3 min, 取上清液使用 1×PBS 稀释后用于检测。

1.3.5 生物芯片自动化检测

向生物芯片微孔中加入 50 μL 标准工作溶液或待测样品, 将生物芯片放入 Q-Array100 全自动生物芯片检测仪中, 设置仪器程序, 启动仪器, 自动完成以下步骤: 加入 50 μL 抗体工作液, 以 1000 r/min 转速、37 ℃温度下反应 15 min。反应结束后, 除去微孔中液体, 加入 300 μL 清洗液, 以 1000 r/min 转速振荡 10 s 后除去清洗液, 重复 3 次。之后向每个微孔中加入显色液 A 和显色液 B 各 50 μL, 以 1000 r/min 转速、37 ℃温度下反应 6 min。反应结束后, 加入 300 μL 清洗液进行清洗, 以 1000 r/min 转速振荡 10 s 后除去清洗液重复 3 次。Q-Array100 全自动生物芯片检测仪自动完成以上步骤后, 将生物芯片移动至 Q-Array2000 生物芯片分析仪中进行数据的自动采集与分析。全自动生物芯片检测仪实物图见图 3。



注: A. 全自动生物芯片检测仪外观; B. 全自动生物芯片检测仪内部结构; C. 自动加样步骤; D. 自动清洗步骤。

图 3 全自动生物芯片检测仪实物图与自动化检测场景

Fig.3 Photograph of the automated biochip detection system and automated detection process

1.3.6 HPLC-MS 测定条件

HPLC 条件: 使用 ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(100 mm× 2.1 mm, 1.8 μm), 柱温 35 ℃; 流动相 A 为含 0.1%甲酸的 5 mmol/L 乙酸铵溶液, B 为乙腈, 流速 300 μL/min, 进样量 5 μL; 梯度洗脱程序见表 1。MS 条件: 采用电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI), 检测方式为选择反应监测(selective reaction monitoring, SRM), 正离子扫描, 电喷雾电压 3000 V (ESI+), 检测离子对与 MS 参数见表 2。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Program of gradient elution

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	95	5
1.00	95	5
1.60	60	40
2.20	30	70
2.50	0	100
5.00	0	100
5.10	95	5
6.50	95	5

表 2 定量离子对和质谱分析参数

Table 2 Quantitative ion pairs and mass spectrometry parameters

序号	分析物	离子对(*m*/*z*)	去簇电压/V	碰撞能量/eV
1	噻虫胺	250.0/132.2	74	20
		250.0/169.1*	74	23
2	烯酰吗啉	388.1/165.1	80	28
		388.1/301.1*	80	18
3	多菌灵	192.1/132.1	87	25
		192.1/160.1*	87	14

注: *为定量离子。

1.4 数据处理

通过 Q-Array2000 生物芯片分析仪得到微阵列生物芯片的扫描图, 使用 MiELISA(v2.02)软件读取标准工作溶液与样品每个检测项目的灰度值, 按照式(1)计算各检测项目的抑制率。

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

式中: B 为抑制率, %; B_1 为标准工作溶液或样品的灰度值; B_0 为 0 μg/L 标准溶液的灰度值。

以标准工作溶液的抑制率为纵坐标(Y), 农药质量浓度的对数为横坐标(X), 绘制标准工作曲线。将样品的抑制率代入标准工作曲线的方程中, 计算得到样品提取液中所含有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 为样品中农药残留的质量分数, μg/kg; C 为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; V 为前处理过程中样品的稀释倍数, L/kg。

2　结果与分析

2.1　标准曲线的建立

本研究采用微阵列生物芯片试剂盒方法对农药残留进行检测, 生物芯片微孔中检测点的灰度值与对应农药残留的浓度在一定浓度范围内呈负相关。所以可以通过检测不同浓度的农药标准溶液, 以灰度值与对应的农药浓度绘制标准工作曲线, 进行定量检测。标准溶液浓度的设置需要根据各个农药残留项目的检测要求进行优化。

本研究将噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵标准溶液用 1×PBS 稀释为 6 个不同质量浓度的标准工作溶液, 6 个标准工作溶液中噻虫胺的质量浓度分别为 0、0.5、1.5、4.5、13.5、40.5 μg/L, 烯酰吗啉的质量浓度分别为 0、2、6、18、54、162 μg/L, 多菌灵的质量浓度分别为 0、2、6、18、54、162 μg/L。使用微阵列生物芯片试剂盒对标准工作溶液进行检测, 使用生物芯片分析仪读取灰度值, 计算各浓度标准工作溶液的抑制率(B)。以标准工作溶液的抑制率为纵坐标(Y), 农药质量浓度的对数为横坐标(X), 绘制标准工作曲线, 测定相关系数 r^2, 各项目标准工作曲线图像与线性方程见表 3。结果表明, 噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵标准工作曲线线性相关系数 r^2 均超过 0.99, 3 种农药在对应标准工作曲线的质量浓度范围内具有较好的线性关系, 可以用于定量分析。

表 3　噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵线性回归方程与相关系数
Table 3　Linear regression equations and correlation coefficients for clothianidin, dimethomorph and carbendazim

检测项目	线性回归方程	线性相关系数 (r^2)	线性范围/ (μg/L)
噻虫胺	Y=–31.730X+59.433	0.9934	0.5~40.5
烯酰吗啉	Y=–35.963X+83.417	0.9976	2~162
多菌灵	Y=–38.334X +87.072	0.9989	2~162

2.2　样品制备方法优化

对于蔬菜中农药残留检测, 传统仪器方法要求将样品充分粉碎、均质, 而市面上的快速检测方法往往只需要将样品剪碎或切碎后即可进行检测。本研究检测的目标农药噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵都具有内吸性, 分布于果蔬的内部, 采用剪碎或切碎的方法进行样品制备, 可能无法充分提取出样品内部的农药残留, 导致检测结果不准确。

本研究选用经确证方法 GB 23200.121—2021《食品安全国家标准 植物源性食品中 331 种农药及其代谢物残留量的测定 液相色谱-质谱联用法》检出噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵残留为阳性的蔬菜样品, 通过剪碎与均质两种方法进行样品的制备, 使用 HPLC-MS 检测两种方法制备的样品, 对比检测结果的准确性, 实验结果见表 4。实验结果表明, 采用剪碎方法制备的样品, 检测结果与确证方法测定的阳性值之间相对标准偏差在 14.29%~22.64%; 采用均质方法制备的样品, 检测结果与确证方法测定的阳性值之间相对标准偏差在 2.57%~8.68%, 均质方法制备的样品, 检测准确性更高, 所以采用均质方法进行样品的制备。

2.3　样品前处理方法优化

蔬菜样品经过均质后, 会带来色素与其他植物次生代谢物质的干扰, 影响检测结果的准确性。本研究使用磁性固相萃取材料进行前处理中果蔬样品的净化, 以除去样品中的杂质。选用经确证方法 GB 23200.121—2021 测定噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵残留检测结果为阴性与阳性的蔬菜样品, 对比使用磁性固相萃取材料与不使用磁性固相萃取材料的条件下检测结果的准确性。对于阴性样品, 对比两种前处理方法对检测阴性样品本底值的影响, 实验结果见表 5; 对于阳性样品, 对比两种方法检测结果与确证方法检测结果间的相对标准偏差, 实验结果见表 6。实验结果表明, 使用磁性固相萃取材料进行样品前处理, 检测结果阴性样品本底值更低, 阳性样品与确证方法检测结果间的相对标准偏差更小, 准确性更好。

2.4　方法特异性与灵敏性

特异性是指检测方法区分目标分析物与其他化合物或基质的能力。参照 SN/T 2775—2023《商品化食品检测试剂盒评价方法》, 通过检测 20 个独立的阴性样品, 以测定结果为阴性的样品数量除以实际样品(或参考方法确认)为阴性的样品总数计算特异性。

表 4　不同样品制备方法检测准确性对比
Table 4　Comparison of detection accuracy for different sample preparation methods

基质	检测项目	样品阳性值/ (μg/kg)	剪碎样品		均质样品	
			检测结果/(μg/kg)	相对标准偏差/%	检测结果/(μg/kg)	相对标准偏差/%
黄瓜	噻虫胺	143.73	90.67	22.64	136.53	2.57
青菜	烯酰吗啉	725.28	514.95	16.96	634.91	6.64
大葱	烯酰吗啉	138.82	90.52	21.06	127.75	4.15
香菜	多菌灵	304.97	222.63	15.61	284.86	3.41
菜秧	多菌灵	603.65	452.74	14.29	507.23	8.68

表 5 不同前处理方法检测阴性蔬菜样品本底值(μg/kg)
Table 5 Background levels in negative vegetable samples using different pretreatment methods (μg/kg)

基质	检测项目	使用磁性固相萃取材料	不使用磁性固相萃取材料
甘蓝	噻虫胺	0.50	3.14
	烯酰吗啉	0.99	13.23
	多菌灵	0.57	20.66
茄子	噻虫胺	0.16	10.57
	烯酰吗啉	0.39	31.26
	多菌灵	1.16	50.78
番茄	噻虫胺	0.94	23.83
	烯酰吗啉	1.02	13.49
	多菌灵	0.41	21.56

检出限与定量限用于衡量检测方法的灵敏性。参照 GB/T 27417—2017《合格评定 化学分析方法和确认指南》, 通过平行测定 20 个独立的阴性样品, 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, 定量限以 3 倍检出限计算。

本研究选择经确证方法 GB 23200.121—2021 测定不含有噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵的阴性甘蓝、茄子、番茄样品, 使用磁性固相萃取材料进行前处理, 使用微阵列生物芯片试剂盒自动化检测, 检测结果用于特异性、检出限、定量限的计算。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(maximum residue limit, MRL, 以质量分数计)见表 7, 本方法对于甘蓝、茄子、番茄样品检测的特异性见表 8, 检出限见表 9, 定量限见表 10。实验结果显示, 使用磁性固相萃取材料与微阵列生物芯片试剂盒自动化检测甘蓝、茄子、番茄样品, 特异性为 100%, 检出限与定量限均低于国标所规定对应基质的 MRL 值, 特异性与灵敏性可以满足检测需求。

表 6 不同前处理方法检测阳性蔬菜样品准确性对比
Table 6 Comparison of detection accuracy of different pretreatment methods for positive vegetable samples

基质	检测项目	样品阳性值/(μg/kg)	使用磁性固相萃取材料		不使用磁性固相萃取材料	
			检测结果/(μg/kg)	相对标准偏差/%	检测结果/(μg/kg)	相对标准偏差/%
黄瓜	噻虫胺	143.73	133.67	3.63	100.61	17.65
青菜	烯酰吗啉	725.28	696.27	2.04	761.54	2.44
大葱	烯酰吗啉	138.82	156.87	6.10	174.91	11.50
豆芽	多菌灵	149.05	183.33	10.31	196.75	13.79
香菜	多菌灵	304.97	265.32	6.95	243.98	11.11
菜秧	多菌灵	603.65	549.32	4.71	476.88	11.73

表 7 GB 2763—2021 中甘蓝、茄子、番茄农药 MRLs (mg/kg)
Table 7 MRLs for pesticides in cabbage, eggplant and tomato according to GB 2763—2021 (mg/kg)

基质	噻虫胺	烯酰吗啉	多菌灵
甘蓝	0.50	2.00	0.50
茄子	0.05	2.00	3.00
番茄	1.00	1.00	3.00

表 8 甘蓝、茄子、番茄基质特异性
Table 8 Method specificity in cabbage, eggplant and tomato matrices

基质	检测项目	检测结果为阴个数	阴性样品总个数	特异性/%
甘蓝	噻虫胺	20	20	100
	烯酰吗啉	20	20	100
	多菌灵	20	20	100
茄子	噻虫胺	20	20	100
	烯酰吗啉	20	20	100
	多菌灵	20	20	100
番茄	噻虫胺	20	20	100
	烯酰吗啉	20	20	100
	多菌灵	20	20	100

表 9 甘蓝、茄子、番茄基质检出限(μg/kg)
Table 9 Limits of detection for cabbage, eggplant and tomato matrices (μg/kg)

基质	噻虫胺	烯酰吗啉	多菌灵
甘蓝	13.58	26.99	22.12
茄子	12.20	13.91	40.05
番茄	25.38	15.41	45.07

表 10 甘蓝、茄子、番茄基质方法定量限(μg/kg)
Table 10 Limits of quantitation for cabbage, eggplant and tomato matrices (μg/kg)

基质	噻虫胺	烯酰吗啉	多菌灵
甘蓝	40.75	80.98	66.35
茄子	36.60	41.72	120.14
番茄	76.15	46.23	135.21

2.5 样品回收率

本研究选择经确证方法 GB 23200.121—2021 测定不

含有噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵的阴性甘蓝、茄子、番茄样品, 对磁性固相萃取材料与微阵列生物芯片试剂盒自动化检测方法进行加标回收率的测试, 评估方法准确性。参考 GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》所规定的各基质中噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵 MRL 值, 向阴性空白样品中加入标准溶液, 制备成含有噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵的加标样品, 其浓度分别为 0.5 倍 MRL 值、MRL 值和 2 倍 MRL 值, 每个浓度制备 6 个平行样品进行检测, 实验结果见表 11。

实验结果显示, 使用磁性固相萃取材料与微阵列生物芯片试剂盒自动化检测甘蓝、茄子、番茄基质, 噻虫胺项目回收率为 94.37%~110.99%, 相对标准偏差为 3.12%~13.20%, 烯酰吗啉项目回收率为 81.48%~105.17%, 相对标准偏差为 0.88%~14.90%, 多菌灵项目回收率为 92.04%~120.48%, 相对标准偏差为 0.95%~11.93%。该方法准确性较好, 可以满足对以上基质中噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵的检测需求。

2.6　实际阳性样品测试

本研究选用经确证方法 GB 23200.121—2021 测定为阳性的果蔬样品, 使用磁性固相萃取材料进行前处理, 使用微阵列生物芯片试剂盒进行自动化检测, 计算本方法对实际阳性样品检测结果与确证方法检测结果间的相对标准偏差, 评估该方法对真实阳性样品检测的准确性, 实验结果见表 12。实验结果显示, 使用磁性固相萃取材料与微阵列生物芯片试剂盒自动化检测实际阳性的蔬菜样品, 与确证方法检测结果相对标准偏差在 0.12%~9.95%, 表明该方法与确证方法一致性较好, 可用于果蔬样品中噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵残留的定量检测。

表 11　甘蓝、茄子、番茄基质加标回收率与相对标准偏差(n=6)

Table 11　Spiked recovery rates and relative standard deviations for cabbage, eggplant and tomato matrices (n=6)

检测项目	样品基质	加标浓度/(μg/kg)	检测浓度/(μg/kg)	回收率/%	相对标准偏差/%
噻虫胺	甘蓝	250	242.80	97.12	8.24
		500	513.10	102.62	3.12
		1000	943.67	94.37	6.54
	茄子	25	27.29	109.15	6.75
		50	47.36	94.72	8.55
		100	107.55	107.55	13.20
	番茄	500	528.05	105.61	9.57
		1000	1109.91	110.99	8.47
		2000	2021.19	101.06	13.10
烯酰吗啉	甘蓝	1000	870.75	87.08	11.59
		2000	1999.09	99.95	7.39
		4000	3945.04	98.63	11.50
	茄子	1000	841.04	84.10	9.68
		2000	2082.18	104.11	2.52
		4000	4206.95	105.17	3.06
	番茄	500	407.39	81.48	14.90
		1000	985.54	98.55	0.88
		2000	1902.79	95.14	10.03
多菌灵	甘蓝	250	241.75	96.70	8.32
		500	530.60	106.12	3.25
		1000	920.37	92.04	11.93
	茄子	1500	1602.70	106.85	0.95
		3000	2863.78	95.46	2.63
		6000	6461.42	107.69	9.16
	番茄	1500	1807.23	120.48	6.09
		3000	3466.13	115.54	5.07
		6000	6632.10	110.54	9.49

表 12 检测实际阳性蔬菜样品与确证方法一致性

Table 12 Consistency of the results for actual positive vegetable samples with the confirmatory method

样品基质	检测项目	样品阳性值/(μg/kg)	生物芯片检测结果/(μg/kg)	相对标准偏差/%
生姜	噻虫胺	343.81	343.00	0.12
茄子	噻虫胺	255.68	237.98	3.59
青菜	烯酰吗啉	725.28	864.92	8.78
大葱	烯酰吗啉	138.82	157.06	6.16
香菜	烯酰吗啉	810.54	691.69	7.91
甘蓝	多菌灵	380.80	311.90	9.95

3 讨论与结论

本研究应用磁性固相萃取材料进行蔬菜样品的前处理，应用微阵列生物芯片试剂盒进行自动化检测，建立了对蔬菜中噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵 3 种内吸性农药残留同时自动化快速检测的方法。实验优化了样品制备方法与前处理方法，并对方法标准曲线线性相关系数、检出限、定量限、准确性进行了考察。实验结果表明，该方法检测噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵 3 种内吸性农药，分别在 0.5~40.5、2~162、2~162 μg/L 的质量浓度范围内线性相关系数 r^2 均大于 0.99；检测甘蓝、茄子、番茄基质的检出限与定量限均低于现行国家标准所规定 MRL 值的 1/2，可以满足检测需要；测得 3 种基质噻虫胺、烯酰吗啉、多菌灵加标回收率范围在 81.48%~120.48%，相对标准偏差在 0.88%~14.90%，准确性与稳定性较好；检测实际阳性样品与确证方法检测结果的相对标准偏差在 0.12%~9.95%，与确证方法一致性较好。综上所述，本研究建立的蔬菜中内吸性农药残留自动化快速检测方法灵敏度满足检测需求，检测结果准确性较高，可应用于实际检测中。

对于蔬菜样品的检测，磁性固相萃取材料的应用可以快速、简单去除样品中的杂质，替代胶体金试纸条等传统快速检测方法中离心、净化等步骤，有效减少仪器成本，在农贸市场、田间地头等实验室之外的场景具有广泛的应用空间。而微阵列生物芯片法高通量、多指标的特点，可以在大幅提高检测覆盖率的同时有效降低检测成本。通过全自动生物芯片检测仪的应用，进一步降低了食品安全检测的技术门槛，为市场监管、农业生产等实验室以外的检测场景提供了解决方案；同时自动化检测的准确性高，受人为操作因素干扰更少，检测过程与检测结果可溯源，可以为市场监管的有效性与公正性提供技术支撑。

参考文献

[1] 龙洋, 夏永芳, 杨宁. 蔬菜中农药残留的特点、危害与防控策略研究[J]. 食品安全导刊, 2025(3): 16–18.
LONG Y, XIA YF, YANG N. Study on the characteristics, hazards and control strategies of pesticide residues in vegetables [J]. China Food Safety Magazine, 2025(3): 16–18.

[2] HUA YW, LIU GY. Food pesticide residues monitoring and health risk [J]. Assessment Foods, 2024, 13(3): 474.

[3] 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.
CHEN HY, DENG GQ, FU HY, *et al*. Advancesin detection of systemic pesticide residues in agricultural products [J]. Chemical Reagents, 2020, 42(10): 1139–1147.

[4] 刘婷婷, 刘尚可, 李北兴, 等. 农药在植物中的内吸和传导行为与施药技术研究进展[J]. 农药学学报, 2021, 23(4): 607–616.
LIU TT, LIU SK, LI BX, *et al*. Review on uptake and translocation behaviors of pesticides in plants and application technologies of pesticides [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2021, 23(4): 607–616.

[5] SICBALDI F, SACCHI GA, TREVISAN M, *et al*. Root uptake and xylem translocation of pesticides from different chemical classes [J]. Pesticide Science, 1997, 50(2): 111–119.

[6] ZHANG D, LIANG P, YE JM, *et al*. Detection of systemic pesticide residues in tea products at trace level based on SERS and verified by GC-MS [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2019, 411: 7187–7196.

[7] 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/OL]. 分析试验室, 1–14. [2025-05-07]. DOI: https://link.cnki.net/urlid/11.2017.TF.20250506.1509.014
MENG ZX, OUYANG HY, FENG Y, *et al*. Non-targeted rapid screening of pesticide residues in main vegetables sold in Jiangsu Province based on quadrupole electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry [J/OL]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 1–14. [2025-05-07]. DOI: https://link.cnki.net/urlid/11.2017.TF.20250506.1509.014

[8] KABIR MH, YASMIN S, ISLAM S. Residue determination of thiamethoxam and its metabolite clothianidin in okra using the modified QuEChERS method with d-SPE clean-up coupled with LC-MS/MS [J]. Food Chemistry Advances, 2024, 5: 100754.

[9] MAJUMDER S, MISHRA P, PANDEY J, *et al*. Optimisation and application of the multi-residue analysis method for detection of 50 pesticides in cabbage by using LC-MS/MS-QuEChERS [J]. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2024, 105(10): 2326–2343.

[10] 李智, 王素利, 龚立嘉, 等. QuEChERS/气相色谱-串联质谱法测定果蔬中 19 种农药残留[J]. 质量安全与检验检测, 2023, 33(1): 36–41, 94.
LI Z, WANG SL, GONG LX, *et al*. Determination of 19 pesticide residues in fruits and vegetables by QuEChERS/gas chromatography tandem mass spectrometry [J]. Quality Safety Inspection and Testing, 2023, 33(1): 36–41, 94.

[11] WALORCZYK S. Validation and use of a QuEChERS-based gas chromatographic-tandem mass spectrometric method for multiresidue pesticide analysis in blackcurrants including studies of matrix effects and estimation of measurement uncertainty [J]. Talanta, 2014, 120: 106–113.

[12] 吉美奇, 王维力, 石三俊, 等. 胶体金免疫层析法快速检测果蔬中的三唑酮及其代谢物残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(14): 4519–4526.
JI MQ, WANG WL, SHI SJ, *et al*. Rapid determination of triadimefon and its metabolite residues in fruits and vegetables by colloidal gold immunochromatographic assay [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(14): 4519–4526.

[13] SONG AN, WANG M, SHE YX, *et al*. Evaluation and validation of colloidal gold immunochromatographic qualitative testing products for the detection of emamectin benzoate, isocarbophos, and fipronil in cowpea samples [J]. Foods, 2025, 14(3): 478.

[14] ZVEREVA EA, ZHERDEV AV, ASLAMOVA AA, *et al*. Simple indirect immunochromatographic detection of herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in fresh juices [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2025, 140: 107236.

[15] 邬溪芮. 胶体金免疫层析技术同时检测芹菜中的 4 种农药[J]. 现代食品, 2024, 30(16): 164–166, 206.
WU XR. The colloidal gold immunochromatography was used to detect 4 pesticides in celery simultaneously [J]. Modern Food, 2024, 30(16): 164–166, 206.

[16] KHATIBI SA, HAMIDI S, SIAHI-SHADBAD MR. Current trends in sample preparation by solid-phase extraction techniques for the determination of antibiotic residues in foodstuffs: A review [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2021, 61(20): 3361–3382.

[17] 康超, 刘凤听, 龚民君, 等. 固相萃取-液相色谱串联质谱法测定蔬果中 54 种农药残留[J]. 粮食与油脂, 2025, 38(4): 155–162.
KANG C, LIU FT, GONG MJ, *et al*. Determination of 54 pesticide residues in vegetables and fruits by solid phased extraction-liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Cereals & Oils, 2025, 38(4): 155–162.

[18] ZHU YJ, JIANG X, SHEN DN, *et al*. A one-step solid-phase extraction with UHPLC-MS/MS for fast and accurate determination of multi-class veterinary drugs in animal muscles [J]. Food Chemistry, 2023, 428: 136712.

[19] 张林田, 陆奕娜, 黄学泓, 等. 通过式净化-高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中 42 种兽药残留[J]. 分析科学学报, 2020, 36(1): 81–87.
ZHANG LT, LU YN, HUANG XH, *et al*. Determination of 42 kinds of veterinary drug residuesin animal-derived products by passing purification-highperformance liquid chromatography-tandemmass spectrometry [J]. Journal of Analytical Science, 2020, 36(1): 81–87.

[20] JIANG HL, LI N, CUI L, *et al*. Recent application of magnetic solid phase extraction for food safety analysis [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2019, 120: 115632.

[21] MOHIUDDIN I, BHOGAL S, GUPTA K. A review of the advances in magnetic solid phase extraction for phthalate analysis: Improved materials and applications in complex matrices [J]. Talanta, 2026, 296: 128519.

[22] LI YF, QIAO LQ, LI FW, *et al*. Determination of multiple pesticides in fruits and vegetables using a modified quick, easy, cheap, effective, rugged and safe method with magnetic nanoparticles and gas chromatography tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2014, 1361: 77–87.

[23] YANG MQ, MEI GM, HUANG DX, *et al*. Matrix interference removal using Fe_3O_4@SiO_2-PSA-Based magnetic dispersive solid-phase extraction for UPLC-MS/MS analysis of diazepam in aquatic products [J]. Foods, 2025, 14(14): 2421.

[24] 秦凯悦, 何立, 冯云鹏, 等. 磁性分散固相萃取-胶体金免疫层析技术快速检测鸡胸肉中氟苯尼考[J/OL]. 刑事技术, 1–6. [2025-05-09]. DOI: 10.16467/j.1008-3650.2025.0035
QIN KY, HE L, FENG YP, *et al*. Rapid detection of florfenicol in chicken breast based on magnetically dispersed solid-phase extraction-colloidal gold immunochromatography [J/OL]. Forensic Science and Technology, 1–6. [2025-05-09]. DOI: 10.16467/j.1008-3650.2025.0035

[25] 杜卫东. 蛋白微阵列芯片技术和产业化发展前景及存在问题[J]. 生命科学, 2024, 36(7): 962–970.
DU WD. Prospects and bottlenecks in development and industrialization of protein biochips [J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2024, 36(7): 962–970.

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

[27] 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.
ZHU JY, CHEN HF, TANG DP, *et al*. Evaluation of accuracy of biochip kit for detecting five types of veterinary drug residues in animal-derived foods [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(9): 333–345.

[28] 郭志红, 王国青, 王艳. 蛋白芯片检测鸡猪组织中磺胺二甲基嘧啶等 4 种兽药的残留[J]. 中国兽药杂志, 2010, 44(10): 42–45.
GUO ZH, WANG GQ, WANG Y. Residue detection for sulfadimidine and other 3 veterinary drugs by protein chip in pork and chicken tissues [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2010, 44(10): 42–45.

[29] 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): 1759–1767.
ZHAO Y, WANG SJ, LIU Y, *et al*. Immunochip assay for multi-residue rapid detection of ten kinds of common pesticides [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2019, 47(11): 1759–1767.

[30] GAO H, TA L, LI ZM, *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.

(责任编辑: 蔡世佳　安香玉)