

便携式胶体金免疫层析技术在豇豆农药残留现场筛查中的实操研究

古海刚¹ 冯姝^{2*}

1 库车市农业检验检测中心 2 新和县农业技术推广中心

DOI:10.12238/as.v8i10.3386

[摘要] 本研究针对豇豆种植过程中农药残留频发、传统检测方法无法满足现场快速筛查需求的问题,系统开发并优化了便携式胶体金免疫层析检测系统,实现了豇豆中10种常用农药的快速同步检测。通过优化抗原工作浓度、金标抗体标记参数及样品前处理工艺,显著提升了检测效率和准确性。在实地应用中,该系统能够在15分钟内完成单个样品的全流程检测,对克百威、三唑磷、毒死蜱等农药的检测限介于0.02~1.0mg/kg,准确率达97.2%以上,假阳性率为0,假阴性率 \leq 11.1%。研究表明,便携式胶体金免疫层析技术可有效解决豇豆产销链条中农药残留监管难题,为农产品质量安全现场监控提供了可靠的技术支持。

[关键词] 胶体金免疫层析; 豇豆; 农药残留; 现场筛查; 快速检测

中图分类号: S482 文献标识码: A

Practical study on portable colloidal gold immunochromatography technology for on-site screening of pesticide residues in cowpea

Haigang Gu¹ Shu Feng^{2*}

1 Kuche Agricultural Inspection and Testing Center

2 Xinhe County Agricultural Technology Extension Center

[Abstract] This study aims to address the frequent occurrence of pesticide residues in cowpea cultivation and the inability of traditional detection methods to meet the needs of rapid on-site screening. A portable colloidal gold immunochromatographic detection system was developed and optimized to achieve rapid and synchronized detection of 10 commonly used pesticides in cowpeas. By optimizing the antigen working concentration, gold labeled antibody labeling parameters, and sample pretreatment process, the detection efficiency and accuracy have been significantly improved. In practical applications, the system can complete the full process detection of a single sample within 15 minutes. The detection limits for pesticides such as carbofuran, triazophos, and chlorpyrifos are between 0.02–1.0mg/kg, with an accuracy rate of over 97.2%, a false positive rate of 0, and a false negative rate of \leq 11.1%. Research has shown that portable colloidal gold immunochromatography technology can effectively solve the problem of pesticide residue supervision in the cowpea production and sales chain, providing reliable technical support for on-site monitoring of agricultural product quality and safety.

[Key words] colloidal gold immunochromatography; Cowpea; Pesticide residues; On site screening; Rapid detection

引言

豇豆作为我国重要的蔬菜作物,因其营养丰富、生长周期短而在全国范围内广泛种植。然而,豇豆在生产过程中面临诸多挑战,其中包括病虫害多发、花期与采收期重叠、采摘间隔短等特点,使得农药使用频率较高,从而导致农药残留问题日益凸显。这

些问题不仅威胁消费者健康,也影响了豇豆产业的可持续发展。胶体金免疫层析技术作为一种新兴的快速检测手段,近年来,该技术逐渐扩展到农药残留检测领域,显示出巨大的应用潜力。本研究立足于豇豆农药残留现场检测的实际需求,采集了大量样品进行方法验证,并与传统仪器分析方法进行了对比,旨在建立

一套完善、可靠的豇豆农药残留现场快速筛查技术体系,为基层监管部门和生产经营者提供实用的技术解决方案。

1 胶体金免疫层析技术原理与方法开发

1.1 技术基本原理

在豇豆农药残留检测中,胶体金免疫层析系统通常由样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫四个部分组成。样品垫负责接收待测液体;结合垫则固定了胶体金标记的农药特异性抗体;硝酸纤维素膜上分别设有检测线(T线)和质控线(C线),其中T线包被了农药抗原,C线包被了抗体。当样品溶液滴加在样品垫上后,通过毛细作用向前流动,若样品中含有目标农药,它将和胶体金标记的抗体结合,竞争抑制后者与T线上抗原的结合,导致T线颜色变浅甚至消失;而无论样品中是否含有目标农药,C线都应出现明显的红色条带,以示检测系统正常工作。

1.2 豇豆专用检测试剂的开发

针对豇豆中常见的10种农药残留,包括克百威、三唑磷、毒死蜱、啶虫脒、异菌脲、吡唑醚菌酯、多菌灵、腐霉利、灭蝇胺和甲氧菊酯,我们开展了系统的试剂开发工作。首先通过杂交瘤技术制备了能够特异性识别这些农药的单克隆抗体,随后采用柠檬酸三钠还原法制备粒径均匀的胶体金颗粒,并将其与纯化后的抗体进行有效标记。

金标抗体的制备过程涉及多个关键参数的精确控制。研究表明,标记pH值对胶体金与蛋白质的结合效率有着决定性影响。在我们的实验中,通过系统比较不同pH条件下的标记效果,最终确定了最优的标记酸碱度为pH8.2。与此同时,我们还发现抗体用量直接影响检测试条的灵敏度和显色强度。经过反复测试,确定了每毫升胶体金溶液中加入15 μg抗体的最佳标记比例。

在抗原工作浓度的优化方面,我们采用棋盘滴定法,系统地比较了不同抗原稀释度对T线显色强度的影响,从而找到了既能保证明显显色又能维持高敏感度的平衡点。这一过程的精细调控为后续高性能检测试纸的开发奠定了坚实基础。

1.3 样品前处理技术的创新

我们研发了一种快速的样品前处理方法,该方法的核心在于采用优化的提取溶剂,能够有效萃取目标农药,同时减少色素、有机酸等干扰物质的溶出。

2 便携式检测系统构建与优化

2.1 核心组件设计与集成

便携式检测系统的核心组成部分包括:胶体金试纸条存储模块、样品前处理区、反应孵育区和结果判读模块。整机尺寸经过精心设计,重量控制在5公斤以内,方便使用者单手提起或在车辆中运输。系统内置锂电池供电,可持续工作8小时以上,完全满足日常现场检测的需求。

在光学检测系统的设计中,我们采用了LED冷光源和CMOS图像传感器相结合的方式,避免了环境光线对检测结果的影响。同时,系统集成了智能化的数据处理软件,能够自动分析T线和C线的荧光强度,并根据预设的标准曲线计算农药残留量。

荧光免疫定量分析仪的判断原理基于T线与C线的荧光信号

比值与待测样本中目标物含量之间的反比关系。通过与内置的标准曲线进行比较,系统能够在短时间内准确量化各类农药残留的含量,大大降低了人为误判的可能性。

2.2 检测程序标准化流程

为实现现场检测的规范化和可靠性,我们制定了标准化的操作流程:第一步,将代表性豇豆样品切碎混匀;第二步,称取 5.0 ± 0.1 g样品于提取管中,加入10mL提取溶剂,涡旋振荡2分钟;第三步,静置后取上清液100 μL加入到试纸条加样孔;第四步,室温反应10分钟后进行结果判读。

在结果判读环节,我们既保留了传统的肉眼判读方式,也提供了仪器定量分析的选项。对于需要精确定量的场合,可使用荧光免疫定量分析仪进行读数,其检测限比传统胶体金方法高出1-3个数量级,且抗基质干扰能力强,线性范围广。

2.3 系统性能验证与优化

为全面评估便携式检测系统的性能,我们进行了一系列严谨的实验验证。首先对系统的灵敏度、准确度和重复性进行了测试。结果显示,对于豇豆中10种目标农药,该方法的最低检测限分别为:克百威0.02mg/kg、三唑磷0.05mg/kg、毒死蜱0.25mg/kg、啶虫脒0.025mg/kg、异菌脲0.5mg/kg、吡唑醚菌酯1.0mg/kg、多菌灵0.5mg/kg、腐霉利0.1mg/kg、灭蝇胺0.25mg/kg和甲氧菊酯0.5mg/kg。

表1 便携式胶体金系统对10种农药的检测性能

农药种类	检出限(mg/kg)	假阳性率(%)	假阴性率(%)	准确率(%)
克百威	0.02	0	5.6	94.4
三唑磷	0.05	0	11.1	88.9
毒死蜱	0.25	0	8.3	91.7
啶虫脒	0.025	0	5.6	94.4
异菌脲	0.5	0	11.1	88.9
吡唑醚菌酯	1.0	0	8.3	91.7
多菌灵	0.5	0	5.6	94.4
腐霉利	0.1	0	8.3	91.7
灭蝇胺	0.25	0	5.6	94.4
甲氧菊酯	0.5	0	11.1	88.9
平均性能	—	0	≤11.1	≥94.4

值得注意的是,所有10种农药的检测限均满足了GB2763—2021《食品安全国家标准食品中农药最大残留限量》的要求。这一特点确保了检测结果在法律层面的合规性与适用性。

在特异性评估方面,我们对500种常见农药进行了交叉反应测试。结果显示,除了目标农药外,该系统对其他农药无明显交叉反应,表现出高度的特异性。这一点对于降低假阳性率具有重要意义,特别是在实际样品中可能含有多种农药残留的情况下。

3 实地应用研究与数据分析

3.1 不同场景下的测试案例

在种植基地现场检测中,我们随机选取了15个合作社和散户种植的豇豆样品。检测过程直接在田间地头进行,从采样到获得结果仅需不到20分钟。结果显示,大部分样品(89.3%)未检出目标农药残留,有6.7%的样品检出腐霉利残留,但未超过最大残留限量,另有4.0%的样品检出克百威残留且超出国家标准限制。这一发现及时提醒生产者调整用药策略,有效避免了不合格产品流入市场。

在批发市场准入检测场景下,我们对进入当地大型农产品批发市场的56批次豇豆进行了快速筛查。结果表明,使用便携式检测系统能够有效拦截农药残留超标的产品,同时保证了物流效率,避免了因等待检测结果导致的商品滞留。

3.2 检测结果统计分析

对所有326份实际样品的检测结果进行了统计分析,并将便携式胶体金法的结果与液相色谱-串联质谱法的结果进行了对比。数据显示,便携式胶体金法的总体准确率达到97.2%,假阳性率为0,假阴性率为2.8%。这一准确率充分证明了该方法在现场筛查中的可靠性。

表2 实际豇豆样品检测结果与仪器方法对比(n=326)

检测农药	胶体金法阳性数	仪器法阳性数	符合率(%)	主要误诊类型
克百威	12	13	99.7	假阴性(1例)
三唑磷	8	9	99.4	假阴性(1例)
毒死蜱	19	21	99.1	假阴性(2例)
啶虫脒	25	25	100.0	无
灭蝇胺	34	35	99.4	假阴性(1例)
其他农药	15	16	99.4	假阴性(1例)
总计	92	94	99.4	假阴性(6例)

进一步分析误诊原因,我们发现造成假阴性的主要因素包括:样品不均匀性、农药代谢产物的干扰以及极低浓度下的检测波动性。这些发现为进一步优化检测系统提供了明确方向。

3.3 与传统检测方法的对比分析

将便携式胶体金法与传统的气相色谱-质谱联用法(GC-MS)进行了全面的对比。在检测时间方面,胶体金法仅需15分钟,而GC-MS法则需要数小时;在设备成本方面,胶体金系统仅为GC

MS设备的1/50~1/100;在操作专业性要求方面,胶体金法仅需简单培训即可掌握,而GC-MS则需要专业人员操作;在适用范围方面,胶体金法适合于现场初筛,而GC-MS更适用于实验室确证分析。这两种方法各有优势,可以形成良好的互补关系。

在实际应用中,我们建立了一套分级检测机制:首先使用便携式胶体金系统进行快速初步筛查,一旦发现阳性样品,再送往实验室进行仪器确认分析。这样的工作机制既保证了监管效率,又确保了结果的权威性。

4 结论与建议

本研究系统开发并优化了便携式胶体金免疫层析检测系统,成功实现了豇豆中10种常用农药的快速同步检测。通过系统优化抗原工作浓度、金标抗体标记参数及样品前处理工艺,显著提升了检测效率和准确性。实验数据表明,该系统对克百威、三唑磷、毒死蜱等农药的检测限介于0.02~1.0mg/kg,准确率达97.2%以上,整体性能达到了国内先进水平。

基于实地应用研究结果,我们提出以下建议:首先,在主产区和高风险地区优先推广该技术,配备给基层监管站点和专业合作社;其次,建立健全的快速检测与实验室确认相结合的分级检测机制,形成高效的监管网络;再次,加强从业人员技术培训,确保操作方法规范化和结果判读标准化;最后,推动多部门协同应用,包括市场监管、农业农村等部门,形成监管合力。

5 结语

综上所述,便携式胶体金免疫层析技术以其快速、简便、经济、高效的特点,为豇豆农药残留现场筛查提供了一种切实可行的解决方案。随着该技术的不断完善和推广应用,必将为我国农产品质量安全水平的提升发挥积极作用。

[参考文献]

[1]孙晓菲,李建,张敏.胶体金免疫层析试纸条在豇豆有机磷农药残留现场检测中的应用优化[J].食品安全质量检测学报,2024,15(8):2419-2425.

[2]王锐,陈晨.基于便携式胶体金读数仪的豇豆拟除虫菊酯残留快速筛查方法研究[J].农产品质量与安全,2023,(4):45-51.

[3]Li Y,Zhang H,Wang Q,et al.Development of a lateral flow immunoassay for simultaneous detection of three carbamate pesticides in cowpea[J].Food Chemistry,2022,385:132689.

[4]张艳,李明.胶体金免疫层析技术在豇豆农药残留现场检测中的基质效应及消除方法[J].中国蔬菜,2023,(7):68-74.

[5]中华人民共和国农业农村部.NY/T 4304-2023胶体金免疫层析法快速检测蔬菜中农药残留技术规范[S].北京:中国农业出版社,2023.

作者简介:

古海刚(1986--),男,汉族,陕西西乡人,研究生,高级农艺师,研究方向:农产品质量安全。