

# 基于免标记电化学免疫传感的蔬菜中农药残留检测研究

韩恩, 周立娜, 闫景坤, 蔡健荣, 田苘榕, 曾倪

(江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013)

**摘要:** 本文利用层层自组装技术构建了一种用于农药残留高灵敏检测的免标记电化学免疫传感器。该免疫传感器首先通过在天然聚合物海藻酸钠修饰的玻碳电极上利用电化学方法原位聚合金纳米粒子, 然后借助金纳米粒子与蛋白质抗体之间的较强吸附作用进一步原位组装农药抗体, 从而成功构建了免标记电化学免疫传感器。实验中以呋喃丹农药为模型, 呋喃丹分子通过特异性的免疫反应在抗体功能化电极表面生成免疫复合物, 该复合物阻碍了电化学探针在电极表面的电子传递, 从而减小了免疫传感器的电流响应, 利用电流响应的变化与农药分子浓度的关系可以实现呋喃丹农药的快速、高灵敏检测。在优化的实验条件下, 该传感器对呋喃丹农药的线性检测范围为  $1\sim 10^5 \mu\text{g/L}$ , 检测限为  $1 \mu\text{g/L}$ 。同时, 该免疫传感器还实现了多种蔬菜样品中呋喃丹农药残留的高灵敏检测。

**关键词:** 免标记; 电化学免疫传感; 农药残留; 呋喃丹

文章编号: 1673-9078(2014)10-268-273

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.10.045

## Label-free Electrochemical Immunosensor for Sensitive Detection of Pesticide Residue in Vegetables

HAN En, ZHOU Li-na, YAN Jing-kun, CAI Jian-rong, TIAN Qing-rong, ZENG Ni

(School of Food & Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

**Abstract:** This study describes the application of a label-free electrochemical immunosensor that was designed for highly sensitive detection of pesticide residue using a layer-by-layer self-assembly technique. This electrochemical immunosensor was first constructed by placing self-assembling gold nanoparticles on the sodium alginate functionalized glassy carbon electrode (GCE) using *in situ* electrodeposition. Subsequently, further *in situ* assembly of the pesticide antibody was conducted by utilizing the strong adsorption between the gold nanoparticles and protein molecules in order to successfully construct the label-free electrochemical immunosensor. In the experiment, carbofuran was used as the pesticide model. An immune complex was produced by the specific immune reaction between carbofuran and the antibody on the self-assembled GCE. This immune complex clearly blocked the electron transfer of electrochemical probes on the electrode surface and resulted in a significant reduction of current signal of the immunosensor. Rapid and highly sensitive detection of pesticide carbofuran was achieved, as inferred based on the relationship between the changes of current signal and the pesticide concentration. Under optimal conditions, the linear detection range of this electrochemical immunosensor to carbofuran was from 1 to  $10^5 \mu\text{g/L}$ , with a low detection limit of  $1 \mu\text{g/L}$ . Furthermore, the immunosensor could be employed for the detection of carbofuran pesticide residue in various vegetable samples with high sensitivity.

**Key words:** label-free; electrochemical immunosensor; pesticide residue; carbofuran

农药作为控制病虫的一种有效手段, 其在保障农业增产、增收方面发挥了重要的作用。然而, 许多农

收稿日期: 2014-05-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21205050); 中国博士后基金 (2012M511224); 江苏大学高级人才引进启动基金 (12JD6038); 江苏大学大学生科研立项 (11A355)

作者简介: 韩恩 (1983-), 男, 博士, 讲师, 研究方向为生物传感与食品安全检测

通讯作者: 蔡健荣 (1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向为农产品无损检测技术

药对生态环境以及民众健康存在不同程度危害作用。呋喃丹是一种氨基甲酸酯类杀虫剂, 由于其良好的杀虫效果被广泛用于蔬菜、玉米、大豆、甘蔗、花生等农作物以及果树上的多种有害病虫的防治<sup>[1]</sup>。呋喃丹喷洒后能被植物根、茎、叶吸收, 并在植物体内传导。果蔬中残留的呋喃丹农药可以通过食物链在人体内蓄积, 并抑制人体中乙酰胆碱酯酶, 使乙酰胆碱积聚, 引起烟碱样症状以及中枢神经系统症状, 严重时可引起肺水肿、脑水肿、呼吸麻痹而死亡<sup>[2]</sup>。因此, 针对果蔬中呋喃丹农药残留建立快速、灵敏的分析检测方法

有着重要的意义。

目前,检测呋喃丹农药残留的方法主要有气相色谱、高效液相色谱、质谱等<sup>[3-6]</sup>。这些方法在农药残留检测方面具有较好的精度和灵敏度,但是大型仪器检测通常需要的成本较高、耗时也较长。随着食品工业的快速发展和人们生活节奏的加快,快速、灵敏的农药残留分析检测方法已成为社会发展的迫切需要。近年来,基于抗原-抗体间特异性反应与高灵敏度检测手段的免疫分析,以其高特异性分子识别,不需要对样品进行浓缩和前处理等优点,被认为是分析复杂样品体系的有效方法<sup>[7-9]</sup>。其中,电化学免疫传感由于其仪器简单、分析速度快、检测灵敏度高等特点在食品中农药残留快速检测方面越来越受到关注<sup>[10-13]</sup>。

本研究利用层层自组装技术构建了一种用于呋喃丹农药残留高灵敏检测的免标记电化学免疫传感器。实验中呋喃丹分子通过特异性的免疫反应在抗体功能化电极表面生成免疫复合物,该复合物阻碍了电化学探针在电极表面的电子传递,从而减小了电极的电流响应,利用电流响应的变化与呋喃丹农药分子浓度的关系可以实现呋喃丹农药的快速、高灵敏检测。同时,该电化学免疫传感器还可进一步用于多种蔬菜样品中呋喃丹农药残留的高灵敏检测。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料和设备

#### 1.1.1 试验试剂

抗呋喃丹单克隆抗体(antibody, Ab),购自北京北实纵横有限公司;呋喃丹(carbofuran)标准品、牛乳血清蛋白(bovine serum albumin, BSA),均购自Sigma公司;海藻酸钠(sodium alginate, SA)、氯金酸( $\text{AuCl}_3\text{HCl}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )、铁氰化钾( $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ )、亚铁氰化钾( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ),均购自于国药集团上海化学试剂有限公司。甘蓝、生菜、菠菜等几种蔬菜样品,从当地菜市场购买。试验用水均为二次蒸馏水,试验中其它所用的试剂均为分析纯。

#### 1.1.2 试验仪器设备

电化学工作站(CHI660d)、玻碳电极(glassy carbon electrode, GCE)、Ag/AgCl参比电极、Pt对电极,均购自上海辰华仪器有限公司;KQ-100型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;电子分析天平,购自赛多利斯科学仪器有限公司;HH-S数显恒温水浴锅,购自江苏省金坛市医疗仪器厂。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 自组装电化学免疫传感器的制备

整个免疫传感器的制备及检测过程如图1所示。首先,将玻碳电极(GCE)在金相砂纸上依次用1.0、0.3、0.05  $\mu\text{m}$ 的 $\text{Al}_2\text{O}_3$ 悬液抛光成镜面,并依次在无乙醇、双蒸水中分别超声洗涤2 min后晾干。接着在上述电极表面滴涂3%海藻酸钠(SA)溶液6  $\mu\text{L}$ ,静置0.5 h,在电极表面组装SA。之后,将SA/GCE浸入到含1 mM氯金酸的0.5 M硫酸溶液中,在-0.2 V电压下电沉积800 s,以在SA/GCE表面形成粒径均一的金纳米粒子(Au nanoparticles, AuNPs),从而制得AuNPs/SA/GCE。接着用二次蒸馏水淋洗电极表面,洗去未反应的氯金酸溶液。接着将100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 抗体(antibody, Ab)溶液10  $\mu\text{L}$ 滴加在AuNPs/SA/GCE表面,室温静置1 h后,用pH 7.5磷酸缓冲溶液轻轻的淋洗电极表面多余抗体,从而制备Ab/AuNPs/SA/GCE。最后,向Ab/AuNPs/SA/GCE电极表面滴加10  $\mu\text{L}$ 牛血清蛋白(BSA)溶液静置30 min,用来封闭电极表面非特异性吸附位点,之后用pH 7.5磷酸缓冲溶液轻轻的淋洗三遍即制备成功BSA/Ab/AuNPs/SA/GCE自组装电化学免疫传感器。制备好的免疫传感器储存在4  $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待用。

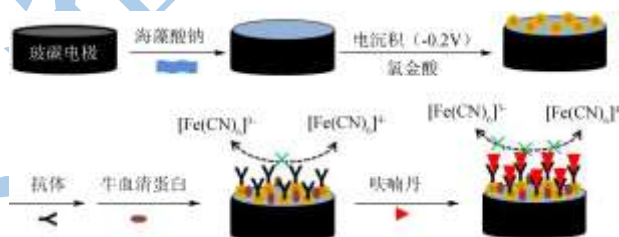


图1 电化学免疫传感器的制作过程及其测定农药残留原理  
Fig.1 Schematic illustration of the immunosensor fabrication and the mechanism of immunosensor-based detection of pesticide residue

#### 1.2.2 免疫传感器对呋喃丹农药含量的测定

呋喃丹分子通过特异性的免疫反应在抗体功能化免疫传感器(BSA/Ab/AuNPs/SA/GCE)表面生成免疫复合物(如图1所示)。该免疫复合物阻碍了电化学探针( $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ )在电极表面的电子传递,从而减小了电极的电流响应信号,利用电流响应的变化与农药分子浓度的关系可以实现呋喃丹农药的快速、高灵敏检测。试验中,在含有5 mM  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 和0.1 M KCl的0.1 M pH 7.5的磷酸缓冲溶液中进行循环伏安、电化学阻抗的电化学表征以及差分脉冲伏安(differential pulse voltammetry, DPV)电化学检测。呋喃丹含量的测定是根据免疫传感器与呋喃丹发生免疫反应前后DPV峰电流的变化测定的( $\Delta I = I_0 - I_1$ ),其中 $I_0$ 是免疫反应前免疫传感器测得的峰

电流,  $I_1$  是经过一定浓度的呋喃丹溶液反应 20 min 后测得的峰电流。基于这一测定原理, 该免疫传感可实现不同浓度呋喃丹农药的快速检测。

### 1.2.3 免疫传感器对实际蔬菜样品的测定

在当地超市购买甘蓝、生菜、菠菜几种蔬菜样品, 蔬菜样品是采用文献报道的方法进行处理的<sup>[4]</sup>。首先用蒸馏水清洗 3 次, 然后在蔬菜表面喷洒不同浓度的呋喃丹溶液, 4 °C 冰箱中放置过夜。之后分别称取 1.0 g 蔬菜样品, 粉碎后转移至离心管中, 加入 1 mL 缓冲溶液。在超声波清洗机中超声 15 min, 然后离心 (4000 r/min, 10 min)。离心后取上清液直接测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 免疫传感器的原子力显微镜表征

对于自组装电极而言, 相关的形貌表征是非常有必要的。如图 2 所示, 在室温环境条件下, 裸玻碳电极和逐步组装的电极均采用原子力显微镜进行表征和分析。裸电极表面平滑, 同时可见由于打磨而留下的划痕 (图 2A)。当玻碳电极表面修饰了 SA 之后, 可以观察到 SA/GCE 表面出现了聚合物疏松多孔并有一定起伏的形貌 (图 2B)。而当在 SA/GCE 表面电沉积了金纳米颗粒后, AuNPs/SA/GCE 呈现出较大的起伏, 并且由于金纳米粒子的形成导致 SA 表面疏松多孔结构消失 (图 2C)。最后将 Ab 组装到 AuNPs/SA/GCE 上时, 玻碳电极表面产生截然不同的形貌, 可以观察到大的颗粒状的表面起伏 (图 2D), 这证明了抗体蛋白已经被成功功能化到 AuNPs/SA/GCE 表面。

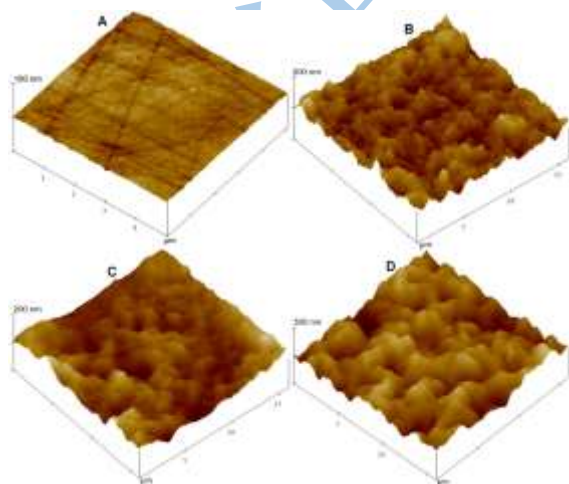


图 2 不同修饰电极的原子力显微镜图

Fig.2 Atomic force microscopy images of different electrodes

注: A: 裸 GCE; B: SA/GCE; C: AuNPs/SA/GCE; D: Ab/AuNPs/SA/GCE。

### 2.2 免疫传感器的电化学表征

循环伏安法是表征修饰电极的有效手段之一。试验中对免疫传感器制备过程中的不同修饰电极 (AuNPs/SA/GCE、Ab/AuNPs/SA/GCE、BSA/Ab/AuNPs/SA/GCE 及与呋喃丹溶液反应后的 Carbofuran/BSA/Ab/AuNPs/SA/GCE) 进行循环伏安电化学表征 (如图 3 所示)。结果表明随着电极表面抗体的成功功能化以及牛血清蛋白封闭非特异性吸附位点的进行, 电化学探针  $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$  在电极表面的电流信号明显减小 (曲线 b, c)。而呋喃丹农药与免疫传感器发生免疫识别后, Carbofuran/BSA/Ab/AuNPs/SA/GCE 电极测得的峰电流进一步显著减小, 说明免疫传感器上的抗呋喃丹抗体和溶液中的呋喃丹农药在电极表面发生免疫反应生成的免疫复合物阻碍了电化学探针  $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$  在电极表面的电子传递。

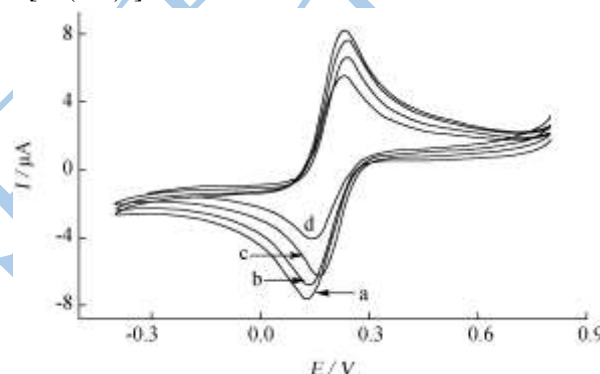


图 3 不同修饰电极的循环伏安图

Fig.3 Cyclic voltammetry curves of different electrodes

注: a-d 分别为 AuNPs/SA/GCE、Ab/AuNPs/SA/GCE、BSA/Ab/AuNPs/SA/GCE 及 Carbofuran /BSA/Ab/AuNPs/SA/GCE。

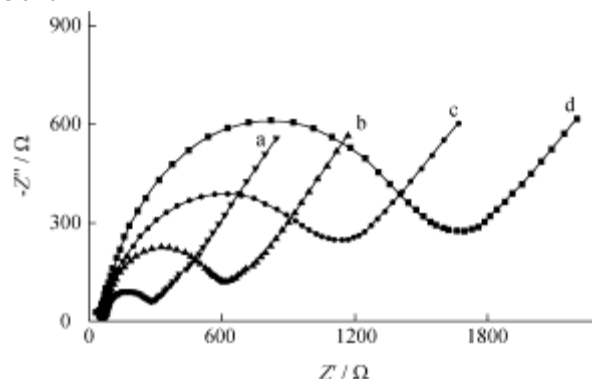


图 4 不同修饰电极的电化学阻抗图

Fig.4 Electrochemical impedance spectroscopy curves of different modified electrodes

注: 其中 a-d 分别为 AuNPs/SA/GCE、Ab/AuNPs/SA/GCE、BSA/Ab/AuNPs/SA/GCE 及 Carbofuran/Ab/AuNPs/SA/GCE。

电化学阻抗技术是研究表面修饰电极特性的另一种有效手段。电子转移阻抗 ( $R_{ct}$ ) 能反映电化学探针在所修饰电极表面的电子转移动力学。如图 4 所示, 与 AuNPs/SA/GCE (曲线 a) 相比, 组装了 Ab 和 BSA 的电极的  $R_{ct}$  值 (曲线 b, c) 明显增大, 这说明组装了 Ab 和 BSA 的电极表面电化学阻抗增加。而当呋喃丹通过免疫反应结合到电极表面形成免疫复合物后 Carbofuran/BSA/Ab/AuNPs/SA/GCE 的阻抗进一步显著增加 (曲线 d)。该结果与上述循环伏安所得出的结果一致。

### 2.3 实验条件的优化

试验中制作免疫传感器所用抗呋喃丹抗体浓度是决定传感器检测效果的重要因素。若抗体浓度太低, 电极表面修饰的抗体含量低, 不能和底物呋喃丹充分结合; 反之, 若在修饰在电极表面的抗呋喃丹抗体含量过高, 形成抗体厚膜阻碍电子传递, 影响试验效果。因此, 试验中分别用浓度为 5  $\mu\text{g/mL}$ 、10  $\mu\text{g/mL}$ 、20  $\mu\text{g/mL}$ 、50  $\mu\text{g/mL}$ 、100  $\mu\text{g/mL}$ 、200  $\mu\text{g/mL}$  的抗呋喃丹抗体溶液来制备免疫传感器。并用各免疫传感器测定相同含量的呋喃丹溶液, 结果如图 5 所示, 当抗体浓度在 5~50  $\mu\text{g/mL}$  之间, 传感器响应电流随着抗体浓度增大而增大, 高于 50  $\mu\text{g/mL}$  后, 传感器响应信号随抗体浓度增大不再增大。因此, 试验中选择 50  $\mu\text{g/mL}$  抗呋喃丹抗体来制备电化学免疫传感器。

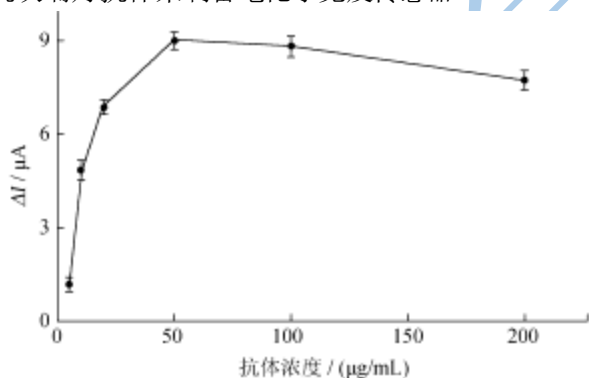


图 5 制备免疫传感器抗体浓度的优化

Fig.5 Optimization of antibody concentrations for immunosensor preparation

呋喃丹农药与抗呋喃丹抗体结合的溶液 pH 值是影响试验效果的另外一个重要因素。呋喃丹与抗体在适宜 pH 值溶液中结合速度快且能够充分结合。反之, 在不适宜 pH 值溶液中, 呋喃丹农药与抗体结合速度慢, 且不利于免疫反应充分进行。试验中对反应溶液的 pH 值进行了优化, 结果如图 6 所示。当溶液 pH 值在 6.0~7.5 之间, 随着溶液 pH 值的增大, 免疫传感器检测到的响应电流差值增大; 当溶液 pH 值高于 7.5

后, 随着溶液 pH 值的升高免疫传感器检测到响应电流差值变化不明显。结果说明在 pH 值 7.5 的 PBS 溶液中, 呋喃丹农药与呋喃丹抗体结合效果最佳。因此, 在整个免疫检测中缓冲溶液的 pH 值定为 7.5。

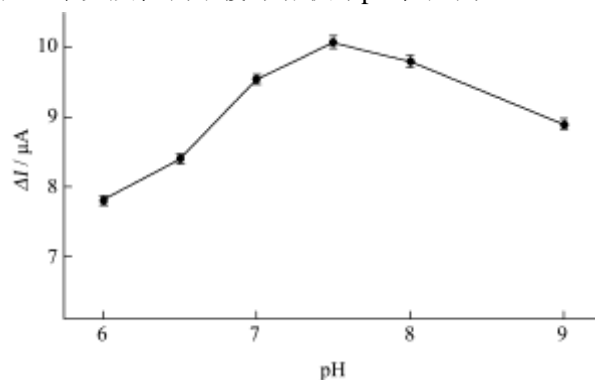


图 6 呋喃丹与抗呋喃丹抗体反应溶液 pH 值优化

Fig.6 Optimization of pH values of the reaction solution containing carbofuran and anti-carbofuran antibody

免疫反应的时间也是影响传感器响应信号的重要因素。免疫反应时间短, 免疫传感器上的抗体未能和溶液中的呋喃丹分子充分结合; 反之, 免疫反应时间过长, 不利于抗体活性的保持而且造成试验时间的浪费。试验研究了不同免疫反应时间对该免疫传感器检测信号的影响。结果如图 7 所示, 在 4~20 min 内, 随着免疫反应时间的延长, 免疫传感器检测到的响应电流差值逐渐增大, 当免疫反应时间达到 20 min 后, 传感器检测到的响应电流差值不再变化, 这说明此时传感器表面免疫识别位点已经被呋喃丹农药分子基本结合, 导致修饰电极电流差值不再发生变化。因此, 该实验选择 20 min 作为最佳免疫反应时间。

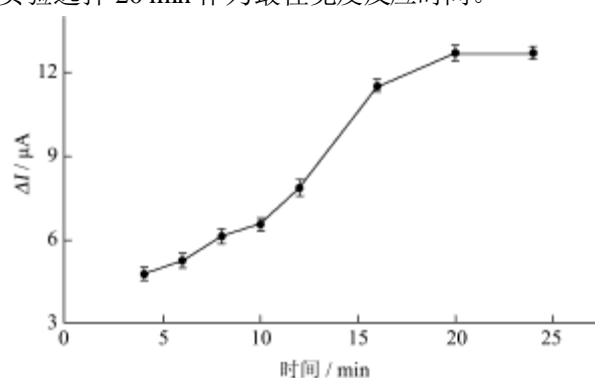


图 7 免疫反应时间对免疫传感器响应电流的影响

Fig.7 Effect of antibody incubation time on the current response of the immunosensor

### 2.4 免疫传感器对呋喃丹含量的测定

在上述优化的试验条件下, 将该免疫传感器在不同浓度呋喃丹溶液中反应 20 min 后测定其电流值, 结果如图 7 所示。图中曲线 a 是免疫传感器在磷酸缓冲

溶液中测得差分脉冲伏安 (DPV) 曲线; 曲线 b~g 分别是免疫传感器与 1 μg/L、10 μg/L、10<sup>2</sup> μg/L、10<sup>3</sup> μg/L、10<sup>4</sup> μg/L、10<sup>5</sup> μg/L 呋喃丹溶液反应后测得的 DPV 曲线。从图 8 中可以看出抗呋喃丹抗体与呋喃丹结合导致电流响应减小, ΔI 值增大。随着呋喃丹溶液浓度的增大, ΔI 值逐渐增大。在一定浓度范围内, ΔI 值与呋喃丹溶液的浓度的对数呈线性关系 (如图 8 插图所示)。试验测得呋喃丹农药浓度的线性范围为 1~10<sup>5</sup> μg/L, 检测限为 1 μg/L。

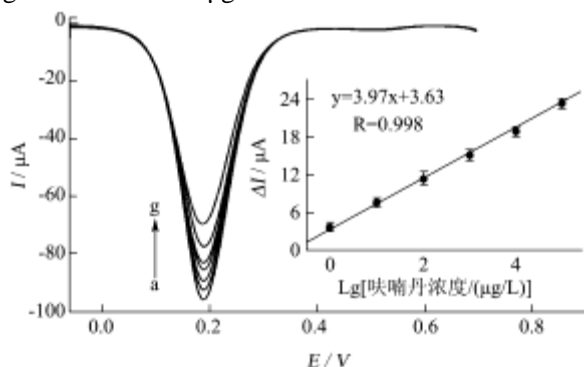


图 8 免疫传感器对不同浓度的呋喃丹溶液的 DPV 检测曲线

Fig.8 Curves of DPV measurement of different concentrations of carbofuran solution using the immunosensor. The inset graph represents the calibration curve for carbofuran

注: a~g: 0、1、10、10<sup>2</sup>、10<sup>3</sup>、10<sup>4</sup>、10<sup>5</sup> μg/L 呋喃丹溶液, 插图图为对呋喃丹检测的线性曲线。

### 2.5 免疫传感器的选择性

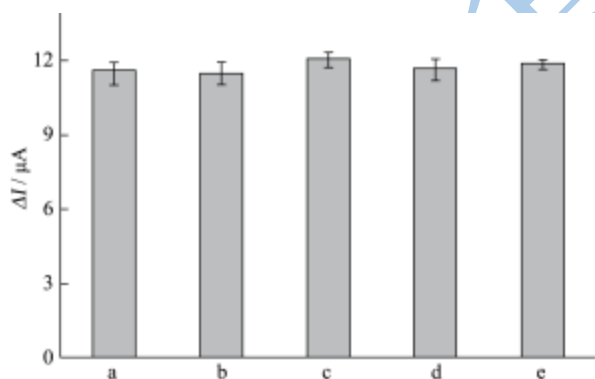


图 9 免疫传感器对呋喃丹的检测特异性

Fig.9 Selectivity of the proposed immunosensor for carbofuran

注: a: 呋喃丹; b: 呋喃丹+草甘膦; c: 呋喃丹+乐果; d: 呋喃丹+马拉硫磷; e: 呋喃丹+杀螟松。

实验还对该电化学免疫传感器的检测特异性进行了研究, 结果如图 9 所示。实验中在 103 μg/L 的呋喃丹农药溶液中分别加入相同浓度的草甘膦 (b), 乐果 (c), 马拉硫磷 (d), 杀螟松 (e) 四种农药, 并用该免疫传感器进行检测。实验结果表明这四种农药的存在并未明显影响该免疫传感器对呋喃丹农药的检测的

电化学信号, 这说明该免疫传感器对呋喃丹的检测具有较高的选择性。

### 2.6 免疫传感器对实际样品的测定

为了考察该电化学免疫传感器对实际样品的检测性能, 采用标准加入法分别对菠菜、油菜、甘蓝中所含的呋喃丹农药浓度进行了分析检测, 结果如表 1 所示。由表 1 可知, 该电化学免疫传感器对实际蔬菜样品检测的回收率在 93.7%~119.0% 之间, 相对标准偏差在 2.4%~4.7% 之间。试验还与气相色谱法标准方法进行了对比, 结果显示用该免疫传感器检测所得结果与气相色谱所得结果接近, 表明该方法较为准确。

表 1 几种蔬菜样品中呋喃丹含量检测结果

Table 1 Determination of carbofuran in real vegetable samples

| 样品 | 添加呋喃丹/(μg/L) | 检出量/(μg/L) | RSD/% | 回收率/% | GC 检出量/(μg/L) |
|----|--------------|------------|-------|-------|---------------|
| 菠菜 | 0.0          | 未检出        | -     | -     | 未检出           |
|    | 4.0          | 4.2        | 3.1   | 105.8 | 4.1           |
|    | 6.0          | 7.1        | 4.0   | 119.0 | 6.4           |
| 油菜 | 0.0          | 未检出        | -     | -     | 未检出           |
|    | 4.0          | 3.9        | 3.9   | 96.3  | 4.1           |
|    | 6.0          | 5.6        | 2.4   | 93.7  | 5.9           |
| 甘蓝 | 0.0          | 未检出        | -     | -     | 未检出           |
|    | 4.0          | 4.3        | 4.0   | 106.3 | 3.9           |
|    | 6.0          | 6.4        | 4.7   | 106.0 | 6.1           |

### 3 结论

本文利用天然聚合物海藻酸钠和原位电聚合的金纳米粒子通过层层自组装技术构建了一种免标记电化学免疫传感器。该免疫传感器结合了天然聚合物海藻酸钠的良好生物相容性以及在此基础上原位电聚合的金纳米粒子的导电性, 并且对呋喃丹农药表现出了快速、灵敏的分析检测性能。在优化的试验条件下, 该免疫传感器对呋喃丹农药表现出了较为广泛的浓度检测范围 (1~10<sup>5</sup> μg/L) 和较低检测下限 (1 μg/L)。同时, 该免疫传感器还实现了多种蔬菜样品中呋喃丹农药残留的快速、高灵敏检测。该方法为电化学免疫传感在食品中农药残留快速检测拓展了方向。

### 参考文献

[1] Garbellini G S, Salazar G R, Avaca L A. Sonovoltammetric determination of toxic compounds in vegetables and fruits using diamond electrodes [J]. Food Chemistry, 2009, 116(4): 1029-1035

[2] Firdoz S, Ma F, Yue X, et al. A novel amperometric

- biosensor based on single walled carbon nanotubes with acetylcholine esterase for the detection of carbaryl pesticide in water [J]. *Talanta*, 2010, 83(1): 269-273
- [3] Cavaliere B, Monteleone M, Naccarato A, et al. A solid-phase microextraction-gas chromatographic approach combined with triple quadrupole mass spectrometry for the assay of carbamate pesticides in water samples [J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1257(28): 149-157
- [4] Song X Y, Shi Y P, Chen J. Carbon nanotubes-reinforced hollow fibre solid-phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography for the determination of carbamate pesticides in apples [J]. *Food Chemistry*, 2013, 139, 246-252
- [5] Li I, Ricordel L, Tong L, et al. Carbofuran poisoning detected by mass spectrometry of butyrylcholinesterase adduct in human serum [J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2009, 29(2): 149-155
- [6] 翟硕莉,张秀丰.固相萃取-气相色谱法检测草莓中农药残留量[J].*现代食品科技*,2013,29(6):1434-1436  
ZHAI Shuo-li, ZHANG Xiu-feng. Determination of organophosphorus pesticides in strawberry by GC-SPE [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2013, 29(6): 1434-1436
- [7] Liu N, Gao Z X, Ma H W, et al. Simultaneous and rapid detection of multiple pesticide and veterinary drug residues by suspension array technology [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2013, 41(15): 710-716
- [8] Fang Y S, Chen S Y, Huang X J, et al. Simple approach for ultrasensitive electrochemical immunoassay of *Clostridium difficile* toxin B detection [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2014, 53(15): 238-244
- [9] Jin W J, Yang G J, Shao H X, et al. A novel label-free impedimetric immunosensor for detection of semicarbazide residue based on gold nanoparticles-functional chitosan composite membrane [J]. *Sensors and Actuators B*, 2013, 188: 271-279
- [10] Sun X, Zhu Y, Wang X. Amperometric immunosensor based on deposited gold nanocrystals/4,4'-thiobisbenzenethiol for determination of carbofuran [J]. *Food Control*, 2012, 28(1): 184-191
- [11] Wang M R, Kang H M, Xu D, et al. Label-free impedimetric immunosensor for sensitive detection of fenvalerate in tea [J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(1): 84-90
- [12] Liu X, Li W J, Li L, et al. A label-free electrochemical immunosensor based on gold nanoparticles for direct detection of atrazine [J]. *Sensors and Actuators B*, 2014, 191: 408-414
- [13] Liu G Z, Guo W Q, Song D D. A multianalyte electrochemical immunosensor based on patterned carbon nanotubes modified substrates for detection of pesticides [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2014, 52(15): 360-366
- [14] Qu Y H, Sun Q, Xiao F, et al. Layer-by-layer self-assembled acetylcholinesterase/PAMAM-Au on CNTs modified electrode for sensing pesticides [J]. *Bioelectrochemistry*, 2010, 77: 139-144