影响酶抑制率法检测蔬菜中农药残留准确性因素的研究

王文丰[1],王艳树[1],马 涛[1],王 琴[1],汤新金[1,2]

(1. 湖北省孝感市农产品质量安全监督检测中心,湖北孝感 432000;2. 湖北省孝感市农业技术推广总站,湖北孝感 432000)

摘要　[目的]了解酶抑制率法检测蔬菜中农药残留的影响因素,为提高准确度提供参考。[方法]采用酶抑制率法测定蔬菜中有机磷类农药,研究测定过程中提取温度、提取时间、提取方法等对蔬菜上残留农药提取效率的影响。[结果]测定过程中提取温度、提取时间、提取方法等对蔬菜上残留农药提取效率的影响有很大差别,25 ℃时 15 min 左右提取较充分,超声波能够提高提取效率。酶活性和酶反应速率受温度影响较大,37 ℃左右测定结果较好。[结论]为蔬菜中农药残留检测提供了新思路。

关键词　农药残留;快速检测;条件;准确性

中图分类号　S188⁺.3　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　0517 – 6611(2015)12 – 121 – 02

Research on Influencing Accuracy Factors of the Enzyme Inhibition Rate Method Detecting Pesticide Residues in Vegetables

WANG Wen-feng, WANG Yan-shu, MA Tao et al　(Agricultural Products Quality-safety Supervision and Inspection Center of Xiaogan City, Xiaogan, Hubei 432000)

Abstract　[Objective] Influencing factors of the enzyme inhibition rate method detecting pesticide residues in vegetables were studied to improve accuracy. [Method] Organophosphorus pesticides in vegetables were detected by the enzyme inhibition rate method, and effects of some influencing factors on extraction efficiency of pesticide residues in vegetables were studied, such as extraction time, extraction temperature and extraction method. [Result] During the process of detection, the factors like extraction temperature, extraction time and extraction methods had much difference in the extraction efficiency of pesticide residues in vegetables, and pesticide residues could be extracted more fully at 25 ℃ for 15 minutes or so. Ultrasound could improve the extraction efficiency. Enzyme activity and enzyme reaction rate were much affected by temperature, and the detection result was better at about 37 ℃. [Conclusion] The results provide new idea for the detection of pesticide residues in vegetables.

Key words　Pesticide residues; Rapid detection; Conditions; Accuracy

有机磷、氨基甲酸酯类农药是目前使用广泛的农药,传统的 GC/MS 等能够准确、定量、定性地分析出具体的药物残留成分[1],但是设备昂贵,另外,理化分析法的样品前处理操作繁杂,费时费工,需要受过专门训练的技术人员,使其也难以在基层推广应用[2],从而给农产品安全监管部门对农产品产前、产中、产后的监督工作带来许多不便,由此也催生出大量的快速农药残留的检测技术。以乙酰胆碱酯酶抑制法为原理的酶抑制率法测定农药残留具有快速、简便、经济等优点,作为一种蔬菜农药初筛手段深受广大基层食品监督部门、生产基地及流通市场的欢迎[3]。但使用该方法检测蔬菜农药残留时受环境、提取条件、反应温度等因素影响严重,存在检测结果重现性差等问题。鉴于此,笔者对采用酶抑制率法检测蔬菜中农药残留准确性的影响因素(提取温度、提取时间、提取方式和反应温度)进行了研究,以期为农产品安全监管提供借鉴。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　试剂与药剂。乙腈、乙酸乙酯为色谱纯;氯化钠为分析纯;农残快速检测试剂盒由广东深圳安鑫宝科技发展有限公司生产;敌敌畏标样由农业部环境质量监督检验测试中心(天津)提供;添加农药为有效成分 77.5% 的敌敌畏,由湖北沙隆达股份有限公司生产。

1.1.2　供试样品。黄瓜和菠菜取自蔬菜集贸市场。

1.1.3　仪器。6890n 气相色谱仪为安捷伦科技(中国)有限公司产品;LDSJ-RM10 农残速测仪为湖南利德集团产品。

1.2　试验方法

用 50 μl/L 77.5% 的敌敌畏溶液浸泡菠菜和黄瓜样品 1 min 后取出,自然风干。将风干后的黄瓜和菠菜样品分别分为两部分,其中一部分参照《蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定》(NY/T761—2008)的方法使用安捷伦 6890n 气相色谱仪对样品中敌敌畏含量进行定量检测,另一部分参考《蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量的快速检测》(GB/T5009.199—2003)采用酶抑制率检测农药残留。

2　结果与分析

2.1　定量检测结果

根据《食品中农药残留最大限量 GB2763 – 2014》进行判定,未添加敌敌畏的黄瓜和菠菜样品均未检出敌敌畏残留;添加敌敌畏的黄瓜样品中敌敌畏残留量(0.09 mg/kg)未超过限量标准(0.20 mg/kg),添加敌敌畏的菠菜样品中敌敌畏残留量(1.69 mg/kg)超过了限量标准(0.20 mg/kg)。

2.2　提取温度对蔬菜中农药残留量快速检测的影响

由图 1 可知,低温条件下提取液对残留在蔬菜上的农药提取不充分,对测定结果影响较大,25 ℃时提取效率较高,测定的抑制率达到最大。

2.3　提取时间对蔬菜中农药残留量快速检测的影响

由图 2 可知,随着提取时间延长,残留在蔬菜上的农药逐渐溶解到提取液中,抑制率升高,提取时间为 15 min 左右时抑制率基本达到最大。

2.4　提取方式对蔬菜中农药残留量快速检测的影响

由图 3 可知,不同的提取方法对黄瓜和菠菜上残留的农药提取效果存在很大差别,超声波提取效果最好,振荡提取效果稍差,

作者简介　王文丰(1966 –),男,湖北孝感人,高级农艺师,从事土壤肥料和农产品安全研究。

收稿日期　2015-03-17

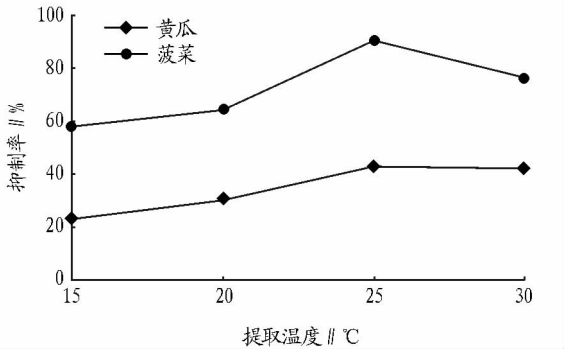

图 1 提取温度对蔬菜中农药残留量快速检测的影响

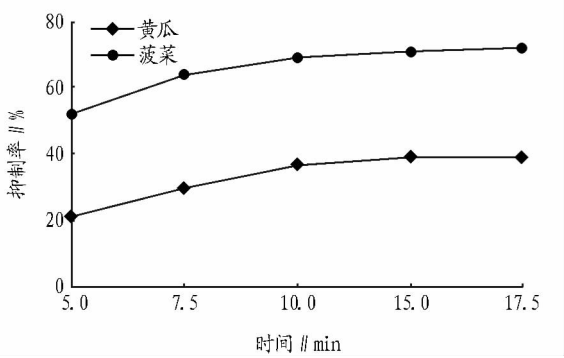

图 2 提取时间对蔬菜中农药残留量快速检测的影响

静置的提取效果较差。

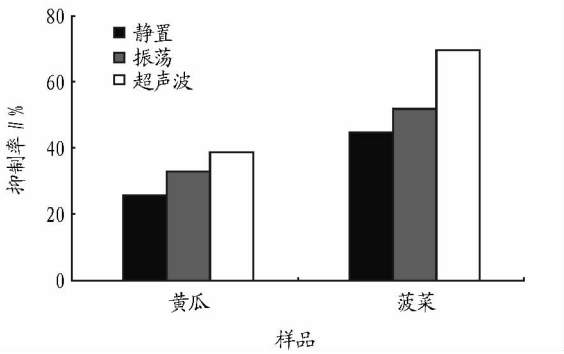

图 3 提取方法对蔬菜中农药残留量快速检测的影响

2.5 反应温度对蔬菜中农药残留量快速检测的影响 由图 4 可知,酶的活性大多是随着温度的升高而先升高后降低,反应温度对乙酰胆碱酯酶活性影响较大,37 ℃左右时乙酰胆碱酯酶的活性达到最高,此时测定的抑制率也最高。

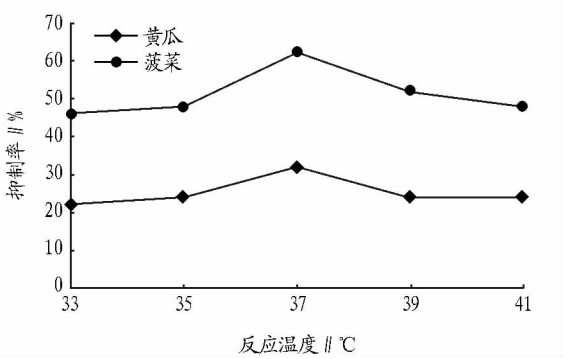

图 4 反应温度对蔬菜中农药残留量快速检测的影响

3 讨论

用酶抑制法测定有机磷类农药最直接、最专一,且方法灵敏,对前处理步骤要求相对较低[4],但是测定的环境温度、提取条件等因素对残留在蔬菜上的农药提取效果影响较大,通过试验结果分析,提取环境温度为 25 ℃时,经过 15 min 提取液对残留在蔬菜上的农药提取效果较好,但随着温度的升高、时间的延长蔬菜组织液渗出过多,对测定结果影响较大,超声波可提高提取效率。乙酰胆碱酯酶是由动物体中提取得到的,其活性受温度等环境条件影响较大,酶反应速率随温度变化先升高后降低,反应温度为 37 ℃时测定结果较好。

参考文献

[1] 钟峰,杨晓云,李小玺,等. 农药残留检测的技术研究进展[J]. 世界农药,2008,30(6):40 -44.
[2] 杨东鹏,张春荣,董民,等. 用于检测蔬菜有机磷和氨基甲酸酯类农药残留的酶抑制分光光度法研究进展[J]. 中国农学通报,2004,20(2):37 -39.
[3] 彭少杰,吴卫平,赵宇翔,等. 基于重组乙酰胆碱酯酶的有机磷和氨基甲酸酯类农药残留快速检测方法的应用验证[J]. 中国卫生检验杂志,2012,20(7):1636 -1638.
[4] 王小红. 酶抑制法检测蔬菜中有机磷农药残留的方法研究[D]. 武汉:华中农业大学,2006.

(上接第 56 页)

参考文献

[1] 张建成,屈红征. 树莓的栽培利用及发展前景[J]. 河北林果研究,2004,19 (4):387 -391.
[2] 桑建忠,顾姻. 中国东南部部分悬钩子果实的营养成分[J]. 植物资源与环境学报,1995,4(2):22 -26.
[3] 徐雅琴,李淑芹,付红. 黄树莓叶片中黄酮类物质的提取及抗氧化性[J]. 化学研究与应用,2002,14(6):739 -741.
[4] 傅润民. 果树无病毒苗与无病毒栽培技术[M]. 北京:中国农业出版社,1997.
[5] PAULIINA P. Changes in carbonhydrates and freezing tolnrance during cold acclimation of red raspberry cultivars grown in vitro an in vivor[J]. Physiologya Plantarum,2001,110:393 -401.
[6] 唐启义,冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M]. 北京:科学出版社,2002.
[7] 贺立恒. 美国红树莓和黑树莓脱毒快繁及工厂化育苗研究[D]. 北京:中国农业大学,2005:36 -37.