

速测卡法与酶抑制率法快速检测蔬菜中农药残留的对比研究

汤 彤 (江苏省海门市农产品质量检测中心, 江苏海门 226100)

摘要 [目的]研究蔬菜农药残留快速检测的方法,为保障果蔬类农产品的质量安全提供技术支撑。[方法]以六大类 300 份蔬菜样品的检测结果为依据,对速测卡法和酶抑制率法 2 种快速检测方法中的检测原理、检测步骤、检测结果、检出限、阳性结果符合率进行对比研究。[结果]速测卡法和酶抑制率法都属于快速检测农药残留的方法,相比较气相色谱法方便简单。速测卡法便于携带,随用随取,检测速度更快。酶抑制率法需要使用 RP-410 型农残速测仪或其他类型分光光度计、恒温培养箱等设备。[结论]速测卡法易操作,无需仪器和试剂,是市场、车站等场所快速检测蔬菜农药残留的较好方法。
关键词 农药残留;快速检测;速测卡法;酶抑制率法
中图分类号 S481+.8 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)01-0102-03

A Comparative Study on Rapid Detection of Pesticide Residues in Vegetables by Measurement Card and Enzyme Inhibition Methods
TANG Tong (Agricultural Products Quality Inspection Center of Haimen City in Jiangsu Province, Haimen, Jiangsu 226100)

Abstract [Objective] The aim was to study rapid detection method for pesticide residues in vegetables, and provide technical support for ensuring quality and safety of fruits and vegetables. [Method] Based on the detection results of 300 vegetable samples in 6 major categories, testing principle, procedures, results, detection limit, coincidence rate of positive results of measurement card method and enzyme inhibition method were comparatively studied. [Result] The measurement card method and enzyme inhibition method both are rapid detection methods of pesticide residues, they are convenient and simple compared with the gas chromatography method. The measurement card method is easy to carry, with the use of access, the detection rate is faster. The enzyme inhibition method requires the use of RP-410 type rapid test instrument or other type spectrophotometer, constant temperature incubator and other equipments. [Conclusion] The measurement card method is easy to operate, without of instruments and reagents and is a good way to detect pesticide residues in vegetables from market, station and so on.

Key words Pesticide residue;Rapid detection;Measurement card method;Enzyme inhibition method

蔬菜作为人们日常生活中不可或缺的食品,其质量安全直接关系到消费者的身体健康及生命安全。近年来,由农药残留引起的食品安全问题越来越受到消费者的关注。杜绝农药残留超标蔬菜上市销售,加强农产品中农药残留的监控,建立健全农药残留的监测体系,已成为农产品质量安全工作重中之重。

目前常用的农药残留检测技术主要有高效液相色谱法、气相色谱法、薄层层析法等^[1]。这些方法需要涉及到很多贵重的仪器设备,复杂的前处理,相当长的分析周期及熟练的技术人员,同时只能检测单个的样本。所以,亟需一种易操作、快速和低成本的农药残留检测技术。

目前国内外蔬菜农药残留的检测方法主要有 2 个发展方向:一是利用色谱法的实验室定量检测,但其分析过程耗时长、费用高,不能做到快速检测;二是利用生化检测技术进行快速定性检测,根据 GB/T 5009.199—2003 所述^[2],速测卡法(纸片法)与酶抑制率法(分光光度法)能快速检测有机磷和氨基甲酸酯类农药在蔬菜中的残留,保障消费者食用安全。与色谱法相比,快速检测法是近年来应用广泛、发展速度较快的检测方法。

酶抑制率法,其抑制率与农药浓度呈正相关。如果有农药抑制了酶的活性,酶不能水解乙酰胆碱,与显色剂反应则无色,测定其吸光度来确定酶活性,进而计算农药残留量。酶抑制率法试剂需要冷藏运输,常温保质期只有几天,以直观的数字形式读取^[3]。目前,国内市场上很多农药残留速测仪器都是利用颜色的变化原理设计而成。农业部农药检定

所设计的农药速测仪用的是丁酰胆碱酯酶。周永莉等^[4]介绍华中科技大学环境科学研究所的科研成果“便携式农药残留检测仪”用的是乙酰胆碱酯酶。酶抑制率法检测农药残留操作简便、快速、灵敏、经济,样品无需净化,但此方法只能定性不能定量。速测卡法是利用农药对乙酰胆碱酯酶抑制原理设计的一种根据颜色变化的直观检测方法。样品中只要有微量有机磷或氨基甲酸类农药存在就能强烈地抑制蓝色产物靛酚和乙酸的生成,所以,靠目测就可判断农药残留情况^[5]。此方法方便、快捷,检测范围广,灵敏度高,性价比高。王多加等^[6]研制的农药残留速测卡,把底物、酶和显色剂都固定在一张卡片上,与 PR2000A 型农药残留速测仪配合使用,使酶抑制反应在最佳状态下进行,不受其他因素影响,整个过程自动恒温定时,可以大批量检测。

目前,国内相关技术人员在农药残留速测方面进行了大量研究,取得了一定成效,推广应用了大量检测仪器设备和检测方法,但速测技术在蔬菜农药残留检测上仍存在一些问 题,不同检测方法之间的难易度、可靠性有较大差异。笔者对现行应用较多的速测卡法与酶抑制率法 2 种速测法进行了对比研究。

1 材料与方法

1.1 材料 各类蔬菜,包括绿叶类、白菜类、茄果类、甘蓝类、瓜类、豆类,抽样于海门市蔬菜种植基地和农贸市场;农药速测卡、提取试剂(磷酸盐缓冲液)、专用酶(胆碱酯酶)、底物(碘化硫代丁酰胆碱)、显色剂(二硫代二硝基苯甲酸),广东达元绿洲食品安全科技股份有限公司;RP-410 型农残快速检测仪,北京朋利驰科技有限公司。

1.2 检测原理

1.2.1 速测卡法(纸片法)。胆碱酯酶可催化靛酚乙酸酯

作者简介 汤彤(1989—),女,江苏南通人,助理农艺师,从事农产品质量检测研究。
收稿日期 2016-09-19

(红色)水解为乙酸与靛酚(蓝色),有机磷或氨基甲酸酯类农药对胆碱酯酶有抑制作用,使催化、水解、变色的过程发生改变,由此可判断出样品中是否有高剂量有机磷或氨基甲酸酯类农药的存在^[2]。

1.2.2 酶抑制率法(分光光度法)。在一定条件下,有机磷和氨基甲酸酯类农药对胆碱酯酶正常功能有抑制作用,其抑制率与农药的浓度呈正相关,正常情况下,酶催化神经传导代谢产物(乙酰胆碱)水解,其水解产物与显色剂反应,产生黄色物质,用分光光度计在 412 nm 波长处测定吸光度随时间的变化值,计算出抑制率,通过抑制率可以判断出样品是否有高剂量有机磷或氨基甲酸酯类农药的存在^[2]。

1.3 检测方法

1.3.1 速测卡法(纸片法)。取 5 g 样品,切碎,加入 10.00 mL 缓冲溶液,振荡 50 次,静置 2 min。取速测卡,用白色药片蘸取提取液,放置 10 min;将速测卡对折,用手捏 3 min,使红色药片与白色药片叠合发生反应(白色药片不变色或略有浅蓝色均为阳性结果,变成天蓝色或与空白对照卡相同,则为阴性结果)。

1.3.2 酶抑制率法(分光光度法)。取 2 g 样品,切碎(非叶菜类 4 g),加 20.00 mL 缓冲液,振荡 2~3 min,倒出上清液,静置 5 min,于平底小试管内加入 0.05 mL 酶,3.00 mL 样品提取液,0.05 mL 显色剂,混匀后于 37~41 ℃ 条件下放置 30 min,加入 0.05 mL 底物,混合后于 412 nm 波长下比色,得出抑制率。对照测试:取 3.00 mL 缓冲液,其他步骤同样品测定。

1.3.3 气相色谱法。农药标准品的准备,内标物的选择,内标物用量的确定,溶液的配制(内标溶液的配制,标准溶液的

配制,试样溶液的配制),稳定仪器,进样分析,计算。通过气相色谱法确认样品是否合格。

2 结果与分析

2.1 速测法的检测判定 速测卡法中结果以酶被有机磷或氨基甲酸酯类农药抑制(阳性)、未抑制(阴性)表示。与空白对照卡比较,白色药品不变色或略有浅蓝色均为阳性结果,不变蓝为强阳性结果,说明农药残留量较高,显浅蓝色为弱阳性结果,说明农药残留量相对较低。白色药片变为天蓝色或与空白对照卡相同,为阴性结果。

酶抑制率法中结果以酶被抑制的程度(抑制率)表示。抑制率 $\geq 70\%$,表示蔬菜中有高剂量有机磷或氨基甲酸酯类农药存在,样品为阳性。阳性样品需重复检测 2 次以上。

2.2 蔬菜中农药残留检测结果 2 种方法中使用同样的蔬菜样品 300 份,利用速测卡法共检测出阳性蔬菜样品为 24 份,不合格率(阳性)为 8.0%(表 1);利用酶抑制率法共检测出阳性蔬菜样品为 26 份,不合格率(阳性)为 8.7%(表 1)。同时用气相色谱法进行比较验证,气相色谱法得出的不合格份数为 22 份,合格份数为 278 份。由此可以看出,利用速测卡法,阳性结果中,符合率为 91.7%,符合国家标准的要求;利用酶抑制率法,阳性结果中,符合率为 84.6%,符合国家标准的要求^[7]。2 种方法中,均出现假阳性,主要是芹菜、香菜、韭菜这些蔬菜样品。根据国标上的说明,主要是因为韭菜、萝卜、葱、蒜、芹菜、茭白、香菜、蘑菇等汁液中含有对酶有影响的植物次生物质——含硫化合物,容易产生假阳性。故处理这类样品时,可采取整株(体)蔬菜浸提法^[8]。同样,对含色素较高的蔬菜,也可采取整株蔬菜浸提法,其上清液必须充分澄清,以减少色素的干扰^[9]。

表 1 速测卡法和酶抑制率法对不同蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留的测定结果
Table 1 Determination results of organophosphorus and carbamate pesticide residues in different vegetables by measurement card method and enzyme inhibition method

样品种类 Sample type	数量 Quantity	速测卡法结果 Results of measurement card method		酶抑制率法结果 Results of enzyme inhibition method	
		阴性 Negative	阳性 Positive	阴性 Negative	阳性 Positive
绿叶类 Leafy vegetables	94	78	16	77	17
白菜类 Chinese cabbage	60	53	7	52	8
茄果类 Solanaceous vegetables	56	56	0	56	0
甘蓝类 Cole vegetables	32	31	1	31	1
瓜类 Gourd vegetables	28	28	0	28	0
豆类 Leguminous vegetables	30	30	0	30	0
合计 Total	300	276	24	274	26

2.3 速测卡法与酶抑制率法的对比分析

2.3.1 速测卡法与酶抑制率法的共同点。2 种方法都是酶抑制法测定蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留的快速检验方法,与气相色谱法相比,都具有检测时间短、操作容易、设备投资小、只能判定部分农残的特点,但都易产生假阳性。其中速测卡法中使用固化有胆碱酯酶和靛酚乙酸酯试剂的纸片(速测卡),酶抑制率法使用的是乙酰胆碱酶,所以在使用时需要保证酶的活性。酶试剂储藏温度不当、长时间室温放置使用或开启较长时间后再用,均可造成酶活性的降低。当反应温度低于 37 ℃,酶反应的速度会随之放慢,当检

测结果无效时,其原因常是酶活性不够或反应温度太低。

2.3.2 速测卡法与酶抑制率法的不同点。不同农药检出限不同,相同农药采用不同的速测方法时检出限也不同。这是速测的灵敏度指标^[6],与检测的原理及方法相关,所以在速测时应根据需要采用适宜的方法。但在临界值之下仍有较高的农药残留无法检出或检出率不高。因酶抑制率法与速测卡法的取样方法不同、稀释倍数不同,所以对蔬菜样品的检测灵敏度和绝对检出限量,酶抑制率法不如速测卡法^[6]。

3 结论与讨论

近年来,各种农药残留速测技术不断更新完善,新的检

测方法迅速发展,但各种检测技术在操作难易度和结果精准性上还存在差异。速测卡法和酶抑制率法的共性是它们都属于快速检测农药残留的方法,相比较气相色谱法方便简单。速测法虽操作简便,但容易产生假阳性且无法确定具体的农药品种和含量。所以在平时的检测中,需要根据实际情况选择合适的方法,确保检测结果的准确性与及时性。在出现不合格检测样品的情况下,要进一步使用色谱定量分析。速测卡法便于携带,随用随取,检测速度更快,适合在蔬菜生产基地、农贸市场、家庭、学校使用^[6],但使用时需注意的:①洗脱完全,缓冲液少会导致空白对照卡不变色;②反应时间充分,预反应为 10 min 以上,叠合反应为 3 min;③存放到位,开封后最好 3 d 内用完,如一次用不完可存放在干燥器中,7 d 内用完。酶抑制率法需要使用 RP-410 型农残速测仪或其他类型分光光度计以及恒温培养箱等设备。酶抑制率法更适用于实验室使用,同时需要经常清洗或更换比色皿、试管等试验器具,防止样品相互污染而影响比色皿的透光性。

传统型的蔬菜农药残留检测方法具有对技术人员要求高、费用昂贵、设备复杂等特点,不利于在市场上进行快速检测;速测卡法易操作,无需仪器和试剂,是在市场、车站等场所进行检测的最佳方法;酶抑制率法灵敏度接近传统检测法,其检测结果可作为其他检测结果的判定依据^[10]。农药

残留速测技术快速发展的同时也存在诸多问题,所以需要加强速测产品的管理,规范速测产品市场;同时,加强技术研究,加大科研投入,解决速测法存在的灵敏度不高、精准性差等技术问题;最后,进一步推进农药残留速测标准的制订工作,建立相关标准与规程,改善目前速测现状,从而为保障蔬菜等农产品的食用安全提供技术支撑。

参考文献

- [1] 郑晓冬,何丹. 食品中农药残留免疫检测技术的研究进展[J]. 中国食品学报,2004,4(2):88-94.
- [2] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. 蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量的快速检测:GB/T 5009.199—2003[S/OL]. [2016-07-21]. <http://www.51zhz.net/biaozhun/37657.html>.
- [3] 张文成,宫洪景. 果蔬中农药残留快速检测法研究进展[J]. 食品科学,2008,29(12):752-755.
- [4] 周永莉,王琳玲,陆晓华. 酶抑制法快速测定果蔬中残留农药的实验[J]. 实验技术与管理,2006,23(5):28-30.
- [5] 高俊娥,李盾,刘铭钧. 农药残留快速检测技术的研究进展[J]. 农药,2007,46(6):361-364.
- [6] 王多加,胡祥娜,周向阳,等. 蔬菜农药残留快速检测技术—胆碱酯酶速测卡法[J]. 食品科学,2003,24(6):109-113.
- [7] 张学健,胡春,张洪琼,等. 酶抑制率法快速测定蔬菜中有机磷及氨基甲酸酯类农药残留[J]. 中国卫生检验杂志,2005,15(7):874.
- [8] 高月明,张水华,冯笑军,等. 酶抑制率法测定蔬菜中农药残留试验[J]. 广东农业科学,2009(3):159-160.
- [9] 许丽芸. RP-410 农残速测仪检测中常遇到的几个问题[J]. 农业科技与信息,2011(13):36-37.
- [10] 李凌. 蔬菜农药残留快速检测方法比较[J]. 新乡学院学报(自然科学版),2012,29(1):41-43.

(上接第 90 页)

将有利于工厂化养殖模式在海南省的大规模推广。在工厂化循环水养殖系统中,可在水处理过程中接种一定量生长快速的海藻,利用藻体吸收水体中营养盐,可作为工厂化养殖系统中蛋白分离装置的一个有效补充,养殖海藻不需要消耗能量,具有节能减排的效果,也节省了水处理设备昂贵的维护成本。该研究表明,羽毛藻对氨氮、硝酸盐的去除作用较强,可将羽毛藻作为工厂化循环水养殖系统中水处理接种藻体的一个备选品种。

参考文献

- [1] 黄蕾,刘松,杨立群. 水产养殖水体处理方法研究进展[J]. 现代农业科技,2014(3):234-235.
- [2] 罗毅志,施伟达,周冬仁,等. 地衣芽孢杆菌分离株 DSY002-2011 对养殖水体氨氮与亚硝酸盐降解特性研究[J]. 现代农业科技,2014(3):236,238.
- [3] 沈红保. 养殖水体理化因子的调控措施[J]. 现代农业科技,2013(15):285,289.
- [4] 霍志久,张志华,朱永涛,等. 富营养化水体修复技术研究进展[J]. 现代农业科技,2015(20):167,182.
- [5] 何培民,徐珊楠,张寒野. 海藻在海洋生态修复和海水综合养殖中的应

用研究简况[J]. 渔业现代化,2005(4):15-16.

- [6] 张达娟,张树林,刘阔晨,等. 孔石莼净化珊瑚养殖水体水质的研究[J]. 天津农业科学,2015,21(7):13-16.
- [7] 岳维忠,黄小平,黄良民,等. 大型藻类净化养殖水体的初步研究[J]. 海洋环境科学,2004,23(1):13-15.
- [8] 黄新苹,朱校斌,刘建国,等. 几种海藻富集 N、P 净化水质的研究[J]. 海洋科学,2004,28(12):39-42.
- [9] 黄道建,黄小平,岳维忠. 大型海藻体内 TN 和 TP 含量及其对近海环境修复的意义[J]. 台湾海峡,2005,24(3):316-321.
- [10] 何洁,刘瑀,张立勇,等. 三种大型海藻吸收营养盐的动力学研究[J]. 渔业现代化,2010,37(1):1-5.
- [11] 孙琼花. 大型海藻对养殖废水营养盐吸收及海区的生物修复[D]. 福州:福建师范大学,2013.
- [12] 沈淑芬,魏婷,孙琼花,等. 海带对罗源湾养殖区海水的生物修复研究[J]. 福建师范大学学报(自然科学版),2013,29(4):103-108.
- [13] 陈聚法,赵俊,过锋,等. 条斑紫菜对胶州湾湿地浅海富营养化状况的生物修复效果[J]. 渔业科学进展,2012,33(1):93-101.
- [14] 郑辉,许文超. 4 种海藻在南美白对虾养殖水体中的生态作用[J]. 河南农业科学,2016,45(5):144-147.
- [15] 崔丽香,何文辉,李鲜鲜,等. 提高 CO₂ 和硝氮浓度对羽毛藻生化组成和营养盐吸收的影响[J]. 上海海洋大学学报,2016,25(4):217-222.
- [16] 李卫东,王荣霞,沈铭辉,等. 南美白对虾与羽毛藻生态养殖研究[J]. 现代农业科技,2015(10):249-250.