

# 基于酶抑制法的农药残留快速检测仪器 现状及评价

栾云霞, 李 杨, 平 华, 陆安祥, 潘立刚, 王纪华\*

(北京农产品质量检测与农田环境监测技术研究中心, 北京 100097)

**摘 要:** 为了确保果蔬类农产品的食用安全, 对蔬菜瓜果进行农药残留的检测十分重要。本文通过对我国农药残留快速检测仪器的发展现状和评价方法的讨论, 分析了基于酶抑制法的农残速测仪器现存的主要问题, 并提出进行农残速测仪器评价工作的必要性。

**关键词:** 农药残留; 农产品安全; 快速检测; 酶抑制法

## Development and effective evaluation of rapid detection instruments of pesticide residues in fruits and vegetables based on enzyme inhibition method

LUAN Yun-Xia, LI Yang, PING Hua, LU An-Xiang, PAN Li-Gang, WANG Ji-Hua\*

(Beijing Research Center for Agri-food Testing and Farmland Monitoring, Beijing 100097, China)

**ABSTRACT:** Detection of pesticide residues of fruits and vegetables and other agricultural products is very important to ensure the food safety. The current situation and evaluation method of rapid detection instruments of pesticide residues in China were discussed in this article. The existing problems of the instruments based on enzyme inhibition were analyzed.

**KEY WORDS:** pesticide residues; safety of agricultural products; rapid detection; enzyme inhibition method

### 1 引 言

我国作为农业大国, 农药的年总产量和消费量已超过 30 万吨, 位于世界前列。有机磷和氨基甲酸酯类农药是我国目前使用量最大的农药, 占农药使用量的 70%, 且多喷洒在蔬菜、瓜果的表面, 很容易通过食物被人体摄入<sup>[1]</sup>。高含量的有机磷农药可导致急性中毒事件, 低浓度农药长期摄入也会引起神经传导阻碍、神经麻痹乃至死亡。

传统的有机磷和氨基甲酸酯类农药的分析方法主要有气相色谱法、液相色谱法、薄层色谱法及质谱联用等方法, 但这些方法预处理较为烦琐, 测试时间较长, 且仪器比较昂贵, 对仪器的使用条件和操作人

员要求也比较严格, 只适用于实验室检测<sup>[2]</sup>。快速检测方法具有检测速度快、成本低、操作简单和便携等特点, 在产地准出和市场准入的过程中, 实现了对农产品中农药残留的快速现场实时检测。

目前用于农药残留快速检测的方法主要有酶联免疫法(ELISA)和酶抑制法(EM)。酶联免疫法(ELISA)对设备要求不高, 操作便捷, 适用于大容量样本分析, 但其特异性强, 一种试剂盒只能检测一种残留物, 不能检测残留总量, 不便于在基层使用推广。而酶抑制法(EM)因其检测仪器造价不高, 试剂生产已成规模, 稳定性好, 操作简便、速度快, 特别适宜现场检测和对大批量样品的筛查, 是目前国内普遍使用的快速

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201003008)、北京市农林科学院科技创新能力建设专项(KJCX201103002)

\*通讯作者: 王纪华, 博士, 研究员, 主要研究方向: 农产品质量检测技术与信息技术的交叉与集成。Email: wangjh@nrcita.org.cn

检测方法<sup>[3]</sup>。基于酶抑制法的农药残留快速检测仪因具有高效、快捷、经济、实时、现场、覆盖率高等特点,在果蔬农产品残留农药的筛查和监测的各个环节发挥着重要作用,有利于及时发现农残超标问题并及时采取措施,控制高残留农药蔬菜的摄入,降低农药中毒发生率,是保障果蔬类农产品安全、建立农产品的市场准入制度的有力武器。本文对国内市场上现有的果蔬农残快速检测仪器的种类、特点及存在问题进行综述,并对此类仪器在研发与应用中的基本评价方法提出建议。

## 2 发展现状

### 2.1 农药残留快速检测仪的原理、特点及分类

#### 2.1.1 原理

有机磷和氨基甲酸酯类农药对乙酰胆碱酯酶有特异性抑制作用,根据乙酰胆碱酯酶活性受到抑制的情况,可判断出样品中是否含有此类农药,其抑制作用与农药残留的含量成正相关<sup>[4]</sup>。酶抑制法正是利用农药对胆碱酯酶的抑制作用,加入特定的显色剂,通过颜色深浅的变化确定是否有农药残留或农药残留相对量,按胆碱酯酶分解底物和所用仪器的不同,又分为速测卡法和分光光度法<sup>[5]</sup>。

##### 2.1.1.1 速测卡法

将胆碱酯酶和靛酚乙酸酯固化在卡片上,利用胆碱酯酶催化水解靛酚乙酸酯(红色)为乙酸和靛酚(蓝色),当有农药存在时,会使催化、水解、变色过程发生改变,从而作出判断。该方法对不同农药的检出限不同,使用该方法检测农药残留,需配备专用的检测仪器。目前国内适用于速测卡的仪器普遍具有加热、恒温 and 定时等功能,但结果判定仍依赖肉眼,基于光电原理的定量或半定量检测仪是今后发展的方向。

##### 2.1.1.2 分光光度法

利用胆碱酯酶催化水解物与显色剂反应,产生黄色物质的特性,用仪器在波长 412 nm 处测定吸光度随时间的变化值,计算出抑制率,通过抑制率可判断样品中是否有农药残留,根据反应的动力学曲线即可判断样品中有机磷和氨基甲酸酯类农药的残留量<sup>[6]</sup>。残留农药越多,乙酰胆碱酯酶被抑制程度越大,从而生成的黄色化合物越少,反之,生成的黄色化合物越多<sup>[7]</sup>。在整个反应体系中酶的种类和质量是决定检测灵敏度的关键因素。

此类农药残留快速检测仪主要由光源系统、分光系统、培养显色系统、检测系统及与仪器配套的试剂盒等构成。农药残留快速检测仪器设计的理论基础就是基于农药的毒理学原理和光学朗伯-比耳定律<sup>[8]</sup>,以抑制率来表示农药对酶抑制程度,其计算公式为:

$$I = (A_0 - A_t) \times 100\% \quad (1)$$

$I$  为抑制率;  $A_0$  为空白对照的吸光度值;  $A_t$  为样品溶液的吸光度值。

当酶完全水解乙酰胆碱时,测定溶液显黄色,其抑制率为 0%;当酶部分水解乙酰胆碱,测定溶液显淡黄色,出现相应抑制百分率,当酶完全与农药结合,测定溶液显无色透明,其抑制为 100%<sup>[9]</sup>。

#### 2.1.2 仪器特点

一是体积小、重量轻。农药残留速测仪主机加附件箱总重量较低,铝合金包装箱携带方便,坚固耐用;二是交直两用、可实现流动测试。仪器自备微型自动充电电路和充电电池组,停电也不影响测试工作的进行,根据工作需要可到室外现场测试;三是测试速度快、测试成本低;四是操作简单,仪器操作实现自动化,非专业人员也可操作。

#### 2.1.3 分类

酶抑制率法从本质上说是用来评价农药的毒性,即使农药(如敌敌畏和甲胺磷)的浓度相同,对酶的抑制作用也不同<sup>[10]</sup>。基于这一原理,已开发出速测箱、速测卡、快速测定仪等多种类型的产品。农药残留快速检测仪按通道类型分为单通道和多通道;按仪器类型分为阵列式和扫描式;从单色装置分为固态发光器件、滤光片和光栅式;根据检测用试剂的不同,分为速测卡目测法(纸片法)仪器和酶抑制率测定法(分光光度法)仪器。

## 2.2 存在的主要问题

农药残留快速检测仪器作为果蔬农产品安全的有力保障,为产地准出和市场准入的监管提供关键依据,是国家执法施法的重要技术支撑。近年来,农药残留快速检测仪器产业发展迅猛,国内市场上已有 20 余家生产商研制的具有农药残留快速检测功能的仪器装备近 40 多种(表 1)。这一新兴行业发展迅速,其评价机制和配套标准的更新就显得尤为迫切。由于不同仪器性能差异、匹配的试剂来源不一,缺少统一的仪器管理和操作规范,以及结果的判定存在差异等原因,农药残留快速检测仪器在使用过程中会出

表1 国内主要的农药残留快速检测仪器  
Table 1 Rapid detection instruments of pesticide residues in China

厂商	仪器名称	型号
长春吉大·小天鹅仪器有限公司	农药残毒快速检测仪	GDYN-106SD
	便携式快速监测检测专用仪器	GDYN-300M
	农药残留快速检测仪(MECASYS)	Optizen 1412V-V
韩国美卡希斯有限公司	农药残留快速检测仪(MECASYS)	Optizen 2120V-V
	食品安全快速检测仪(MECASYS)	Optizen 2120V-FT
北京智云达科技有限公司	全自动农药残留速测仪	ZYD-NP96
	食品安全分析仪	ZYD-F10
	便携式农药残留速测仪	ZYD-NB
北京强盛分析仪器制造中心	农药残毒检测仪	NY-IV
	农药残留速测仪	NY-III
	农药残留快速检测仪	YN-CLVI
河南农大迅捷测试技术有限公司	YN-CLVI-J型农残仪	YN-CLVI-J
	便携式农药残留速测仪	GNSPR-12N
厦门绿安分析仪器有限公司	农药残留快速测试仪	GNSPRD-8
	农药残留快速测试仪	GNSPRD-16
	农药残留快速测试仪	GNSPRD-32
	便携农药残留速测仪	PR-2003N
杭州天迈生物科技有限公司	农药残留快速测试仪	TMYQ-116P
	农药残留快速测试仪简介	TMYQ-108P
	大容量农药残留速测仪	TMYQ-904
厦门欣锐仪器仪表有限公司	农药残留快速检测仪	SPR-88
北京东方德教育科技有限公司北研发中心	农药残留快速检测仪	m296983
	食品安全快速检测仪	m308003
厦门欧达科仪发展有限公司	食品安全检测仪	PR-260
上海复博农业科技有限公司	农药残留速测仪	CL-BIII
深圳安鑫宝科技发展有限公司	农药残留快速测定仪	WT-32A
杭州泽大仪器有限公司	农药残留快速检测仪	ZDC-100
东西仪(北京)科技有限公司	便携式残留农药快速检测仪器	wi17491
浙江福立分析仪器有限公司	农药残毒快速测定仪	NC-800
北京捷盛依科科技发展有限公司	农药残留快速检测仪	RP410/RP420
北京戴美克科技有限公司	农药残留检测仪	858B
深圳市沃特瑞科技有限公司	智能农残速测仪	PR-810A
厦门欧达科仪发展有限公司	高通量农药残毒检测仪	PR-202GT

现各种问题,影响到检测结果的可信度和快速仪器的推广应用<sup>[11]</sup>。制定标准化的快速检测实验方法及规范仪器评价体系,是未来农残速测发展的迫切需求。另外,随着传统农业向现代农业的跨越,农产品质量安全体系贯穿生产,加工,包装、运输和销售全过程,快速检测技术与信息技术的结合是发展的必然

趋势。

2.2.1 仪器的功能和性能良莠不齐,标准及评价体系严重滞后

仪器本身的性能严重影响了快速检测结果的准确性和可信度。目前仪器设备产业缺少监管和规范统一的行业标准,厂家缺少行业自律,市场混乱和仪器

性能不稳定挫伤了用户购买快速检测仪器的积极性,也降低了检测数据的可信度,势必影响农药残留快速检测仪器行业的健康发展和推广应用。目前虽然已有国标和行业检测标准,但现在普遍使用的检测仪器的精度和准确性及配用的速测卡或试剂的优劣问题上还没有统一的标准,加之各厂家间的无序竞争,导致用户在选购检测仪器和试剂时单纯以价格为导向,而不是根据性价比来决定,这将给检测结果的统计及解决检测结果争议带来极大的隐患<sup>[12]</sup>。因此,在全国范围内对农药残留快速检测仪的实用性、可靠性进行比较、验证和评价是目前亟待解决的问题。制定统一的检测仪器和用品标准,规范市场竞争是农药残留快速检测亟待解决的问题。

### 2.2.2 仪器和试剂的认证、校验和管理滞后

目前国内的基于酶抑制原理的农药残留快速检测仪,大多是在小型分光光度计的基础上研制的,可以说技术上是相对比较成熟的。因其制造门槛相对较低加上巨大的市场容量和潜力,使各类人员和企业掺进来,但一直以来,仪器的校验管理非常落后。像分光光度计产品,需通过 CMC 论证才能进入市场销售,而现有农药残留快速检测仪到目前也没有相关的验证程序,用户对仪器质量、检测效果无法直观判断,依靠仪器使用单位送去校验,不切合实际<sup>[13]</sup>。市场上销售的农药残留快速检测仪器近 40 种之多,报送的检测结果更是五花八门,报送结果真实性、准确性难以保证,相关监管部门的统计和分析以及对农产品安全的监控作用难以发挥,使快速检测设备形同虚设。

### 2.2.3 配套试剂稳定性差,操作规范有待完善

农药残留快速检测仪器只是机械地辩解样品的颜色深浅,根据判读的数据,通过软件计算而得出检测结果,而反应试剂特别是酶的活性和质量是影响检测结果的关键因素<sup>[14]</sup>。乙酰胆碱酯酶与有机磷和氨基甲酸酯类农药的特异性反应最强,灵敏度高,干扰小,但国内无法大批量制备,只能从国外购买。丁酰胆碱酯酶与植物酯酶来源广、价格便宜,但灵敏度高、易受干扰<sup>[15,16]</sup>。另外,样品前处理是痕量分析检测的关键环节,农药残留快速检测主要针对鲜活果蔬农产品,此类样品中通常含有对酶制剂有影响的植物次生物质或对光学检测有影响的色素等,这些干扰物质导致的检测结果的差异严重影响了快速检测结果的准确性和可信度,成为影响农药残留快速检测仪器应用推广的瓶颈。

目前国内仍缺少针对快速检测前处理环节的设备 and 标准,实际操作中按照国家标准《GB/T5009.199-2003 蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量的快速检测》<sup>[17]</sup>的要求,将样品在缓冲液中振荡、混匀、静置后得到提取液,缺少净化和富集过程,很难去除干扰物质,易造成误判。未来样品前处理技术的发展方向应该是快速、经济、环保和便捷,以尽可能的避免样品转移的损失,减少各种人为因素的偶然误差。

## 3 评价方法

根据《GB/T5009.199-2003 蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量的快速检测》的技术指标,对标准溶液和实际样品中的农残进行测定,对仪器的准确度、精密度和基本的光学性能进行研究、比较和评价,对农药残留检测仪与随机试剂适配的精密度和准确性进行核查,对不同仪器的检出限进行比较。

### 3.1 农药残留快速检测仪的检出限

分别对实验室内标准样品和果蔬样品中农药残留进行快速检测,判断检测仪器对特定农药的检出限。

实验室内试验应选取不同类型的农药,如甲胺磷、氧化乐果、敌敌畏、久效磷等,在相同条件下用不同浓度的农药进行快速测定,判定其最低检出限<sup>[18]</sup>。

现场试验是在果蔬种植地,分别用微型喷雾器按照 500、1000、1500 倍农药稀释液喷雾,同时喷清水作对照,用药后不同时间段,分别选用不同类型的农药残留快速测定仪进行检测<sup>[19,20]</sup>。

### 3.2 农药残留快速检测仪的通道一致性

考察各种类型的多通道农药残留快速检测仪对农药标准品在不同抑制率条件下各通道的一致性。

### 3.3 农药残留快速检测仪的重复性

考察仪器对其抑制率为 60% 时测量的重复性,计算 11 次的平均值和相对标准偏差。

### 3.4 实际样品的检测

对市售蔬菜进行抽样检测,并对抑制率 50% 的 30 份样品用气相色谱法进行复检<sup>[21]</sup>,考察农药残留检测仪与气相色谱仪检测结果的符合度。

### 3.5 农药残留快速检测试剂的筛选

取玻璃试管,按试剂的加入顺序和加入量,加入底物,立刻观察溶液颜色变化情况。若试管内溶液

颜色立刻变黄,没有一个逐渐的过程,说明底物已经分解,不能再用;若试管内溶液颜色一直都没变化,说明酶没起作用,即酶已经失效;若试管内溶液颜色逐渐变黄,说明试剂基本正常,具体是否合格,需待使用仪器测其空白样的活性后才能确定<sup>[22,23]</sup>。一般空白样 3 min 的变化值为 0.4~0.7 较为合适<sup>[24]</sup>。

#### 4 结 语

农药对果蔬类农产品的污染一直是影响我国农产品安全的主要问题。为了更好地保障果蔬类农产品安全,必须加强对蔬菜水果中农药残留在生产、流通以及销售等环节的全程监控。针对目前农药残留快速检测仪器存在的问题,以国内市场上主流仪器为对象,开展对农药残留快速检测仪器的评价,建立科学的评价方法,并制定相关的标准,使快速检测仪器提供的数据更可信、准确、有效,对于规范国内农药残留快速检测仪器,促进农药残留快速检测技术朝着快速、方便、灵敏可靠的方向发展。改变果蔬农产品安全的监管仅仅依赖于少数专业检测机构的大型专业设备的现状,逐渐向产地和流通领域的大量快速检测辐射,加大覆盖范围,保障果蔬农产品质量安全有重要的意义。

#### 参考文献

- [1] 杨大进,张莹,方从容. 蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留的测定[J]. 中国食品卫生杂志, 1997, 9(5): 9-11.
- [2] 王宗贤,高志贤,马成林. 有机磷检测方法的研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(4): 401-403.
- [3] 肖建军,华泽钊. 用于测量农药残留的小麦酯酶的选择[J]. 分析测试学报, 2002, 21(2): 11-14.
- [4] 刘曙照,钱传范. 九十年代农药残留分析新技术[J]. 农药, 1998, 37(6): 11-13.
- [5] 侯明迪. 植物酯酶法快速测定有机磷农药残留的研究[J]. 食品科学, 2002, 23(7): 111-115.
- [6] 孟玲,翁霞,刘长江. 利用植物酯酶快速检测有机磷农药残留的研究进展[J]. 农药, 2006, 45(5): 306-308.
- [7] 温艳霞,李建科. 有机磷农残检测用植物酯酶的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(4): 123-126.
- [8] David NK, Robert MG, Miller FG. A study of the physical and chemical properties of the esters of indophenols [J]. Org Chem, 1959(24): 1743-1750.
- [9] 黄保宏,姚垠. 用于检测农药残留的植物酯酶的选择[J]. 安徽技术师范学院学报, 2004, 18(2): 15-17.
- [10] 王华,熊汉国,潘家荣. 有机磷农药残留快速检测方法研究进展[J]. 中国公共卫生, 2007, 23(4): 14-15.
- [11] 杨慧,王富华. 我国蔬菜农药残留速测技术的应用与发展[J]. 农业环境与发展, 2008, 25(5): 67-72.
- [12] 宋稳成,叶纪明,单炜力. 国际食品法典对我国农药残留标准制定的借鉴研究[J]. 农产品质量与安全, 2010, 3: 56-60.
- [13] 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.
- [14] 汪世新,陆自强,陈丽芳. 蔬菜农药残留速测方法中若干问题的探讨[J]. 农业环境与发展, 2002, 19(2): 43-44.
- [15] 王富华,杨素心. 速测技术在蔬菜农药残留检测中的应用[J]. 湖北农学院学报, 2003, 23(2): 81-83.
- [16] 孙卫国,阎会平. 采用酶抑制法加强对蔬菜农药残留的检测[J]. 山西农业, 2003(2): 32-33.
- [17] GB/T 5009.199-2003 《蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量的快速检测》[S].
- [18] 俞红,季德霖,查道友. 蔬菜中农药残留(有机磷)的快速测定[J]. 安徽化工, 2003, 122(2): 43-44.
- [19] 顾黄辉,樊聪明,陆明珠,等. 几种常用农药残留速测方法对甲胺磷残留检测效果简述[J]. 现代农药, 2004, 3(5): 175-181.
- [20] Ambrus A. Estimation of sampling uncertainty for determination of pesticide residues in plant commodities [J]. J Environ Sci Health B, 2009, 44(7): 627-639.
- [21] 候玉福. 测定农药残留样品实验室取样原则研究[J]. 中国国境卫生检疫杂志 1998, 19(1): 16-18.
- [22] 仲维科,樊耀波,王敏健. 食品农药残留分析进展[J]. 分析化学评述与进展, 2000, 28(7): 904-910.
- [23] Kumari B, Madan VK, Kathpal TS. Monitoring of pesticide residues in fruits [J]. Environ Monit Assess. 2006, 123(1-3): 407-12.
- [24] 李治祥. 快速测定蔬菜水果中农药残留的酶抑制技术[J]. 中国环境科学, 1991, 11(4): 310-314.

(责任编辑: 赵静)

#### 作者简介



栾云霞, 博士, 助理研究员, 研究方向: 农产品安全检测技术研究。  
E-mail: luanyunxia@163.com



王纪华, 博士, 研究员, 主要研究方向: 农产品质量检测技术与信息技术的交叉与集成。  
E-mail: wangjh@necita.org.cn