

# 蔬菜农药残留快速检测技术 —胆碱酯酶速测卡法

王多加, 胡祥娜, 周向阳, 张 兵  
(深圳市无公害农产品质检站, 深圳 518040)

**摘 要:** 介绍了一种简便、快速、准确而实用的蔬菜农药残留快速检测方法, 与胆碱酯酶比色法进行了对比试验, 并用国标法进行了验证, 结果表明, 该法灵敏度较高, 重现性好, 能够满足蔬菜采前和售前检测的需要。特别适用于无公害蔬菜监测网络的建设和管理。

**关键词:** 蔬菜; 农药残留; 快速检测; 胆碱酯酶

**Abstract:** A rapid testing method of pesticides residue in vegetables was introduced. It was compared with conventional colorimetric analysis of cholinesterase and verified by Chinese standard method. The results showed that the rapid method was sensitive and accurate. It satisfied the requirement for testing before harvesting and selling, especially suitable for the setting-up and management of the inspection network of non-pollution vegetables.

**Key words:** vegetable; pesticide residue; rapid testing; cholinesterase

中图分类号: TS207.5·3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2003)06-0109-05

随着人们生活水平的提高, 蔬菜在日常膳食中所占的比例越来越大。然而随着城市工业化进程的飞速发展, 农业用地的逐年萎缩, 多数土地种植品种单一, 复种指数高, 生态环境恶化, 病虫害发生的频度和强度越来越大, 大多数蔬菜种植者由于缺少种植经验, 一味地靠增加农药的使用量和毒性来控制病虫害, 导致蔬菜中农药残留量超标严重, 食菜中毒事件时有发生。为此, 除加强农药安全使用知识宣传外, 开发一种简便、快捷、经济实用的农药残留速测方法, 建立一套政府监管与企业自我监控相结合的管理机制, 才能做到采前或售前检测, 这样既能防止毒菜流入市场, 又能减少蔬菜生产者和销售者的损失。

## 1 蔬菜农药残留快速检测技术国内外研究现状

国外农药残留检测技术研究源自对农药的登记管理, 即当一个新品种农药投入使用前, 须了解其在土壤和果实中的残留、代谢和分解情况, 并据此制定容许量。由于它不受时间的限制, 侧重强调灵敏度, 所以一般都采用高精度的气相色谱法或气质联用法。加之在英、美、日、欧洲等发达国家, 蔬菜生产主要以大规模的集约化生产为主, 生产过程管理严格, 违禁使用农药现象较少, 而且果蔬流通模式是先经贮藏、加工后再分销各地, 其间有充裕的时

间进行抽样检测, 所以发达国家大多仍采用色谱法对蔬菜中农药残留进行多组份同时测定。但这种方法成本很高, 耗费时间较长。免疫分析是90年代开发的一种较简便的农药残留快速检测新技术, 世界粮农组织(FAO)已向许多国家推荐此项技术<sup>[1]</sup>。它是基于抗原抗体、特异组织识别和结合反应为基础的分析方法。生物传感器法也是一种针对性较强的农药残留速测技术<sup>[2]</sup>, 是由一种生物敏感部件与转换器紧密结合对特定种类化学物质或生物活性物质具有选择性和可逆响应的分析, 包括酶传感器、组织传感器、微生物传感器等, 但目前这些技术在国内还未正式商品化。在发展中国家特别是亚太地区, 大多是公司加农户的种植方式, 品种多, 来源广, 批量小, 为保持蔬菜新鲜, 即采取卖, 蔬菜在流通市场停留时间极短。色谱分析法无法在蔬菜销售之前完成检测, 从而形成“监而不控”的局面, 虽然每年耗费大量经费与人力监测农药残留, 但不能及时防止有毒蔬菜上市。1985年台湾农业研究室郑允博士首先推出“杀虫剂快速检验”技术, 利用由感性品系家蝇纯化的乙酰胆碱酯酶(cholinesterase acepyl), 直接检测剧毒的有机磷及氨基甲酸酯类农药。1989年再开发“杀虫剂快速检验”方法, 以安全性较高的苏力菌检测有机硫磺等杀菌剂的残毒。以上两项检验技

收稿日期: 2002-09-16

作者简介: 王多加, 高级农艺师, 在职博士。

术整合后,可在3.5~4h内完成50个样品的检测<sup>[3]</sup>。

胆碱酯酶抑制法测定蔬菜的农药残留研究在我国已有十多年的历史,它是根据有机磷和氨基甲酸酯类农药能抑制昆虫中枢神经系统中乙酰胆碱酶的活性,造成神经传导介质乙酰胆碱的积累,影响正常传导,使昆虫中毒致死,利用这一昆虫毒理学原理,样品只需经过简单处理,与底物和酶液反应后,加入显色剂,通过分光光度计吸光值变化,可计算出胆碱酯酶被抑制的程度,抑制率与农药残留成正比<sup>[4]</sup>。

90年代初,华南农业大学系统地研究了不同动物胆碱酯酶的活性及其对有机磷的敏感性,并且非常成功地解决了酶固定这一技术难题,使产品在常温条件下,长期贮存成为可能,并建立了国内第一条农药速测卡生产线。目前酶抑制法已成为国内外公认的农药残留快速测定法,还被列入国家标准作为快速筛选的手段。

近年来南京市蔬菜局和扬州大学农学院植保系合作又开发了高敏度化学复合试剂速测法,它的原理是利用强催化作用的金属离子催化剂,使各类有机磷农药在催化作用下水解为磷酸与醇,该水解产物再与紫色检测液反应,褪色表明农药残留超标,但该方法只适用于甲胺磷、对硫磷和氧化乐果等几种农药,灵敏度不够高。国内外主要农药残留速测法比较见表1。

由表中可看出,经典的气相色谱法虽然能准确测定出农药残留的种类和含量,但由于为避免蔬菜中多种杂质的干扰须经过繁杂费时的前处理过程,而且仪器和检测成本太高,更适用于监测,不适用于市场管理。常规的酶抑制比色法成本大大降低,但比色过程中易受人为影响,酶液保存和运输存在一定困难,某些蔬菜的色素也会影响正常比色。化学复合试剂速测法操作简单,但仅适用于几种有机磷农药且灵敏度较低。综合考虑,农药残留速测卡把底物、酶和显色剂都固定在一张小卡片上,减少了试剂配制过程,便于室温贮存,随用随取,成本低廉。特别是配合PR2000A型农药残留速测仪使用,使酶抑制反应在最佳状态下进行,不受气候影响,整个过程自动恒温时,减少了人为影响,适于大批量检测,便于在基层推广使用,能满足市场监测和管理的要求。

## 2 酶抑制纸片速测法与分光光度比色法灵敏度比较

### 2.1 标准溶液配制

选择甲胺磷、敌敌畏、对硫磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、久效磷、呋喃丹等农药标准品,用磷酸盐缓冲液(pH=7.5)配制成0.1~3mg/kg不同浓度的标准

溶液系列。

### 2.2 蔬菜样品的处理

2.2.1 纸片速测法 取5g蔬菜样品放入50ml小烧杯中,用剪刀剪成0.5cm×0.5cm大小,加入5ml缓冲液,超声波振荡2min。

2.2.2 分光光度法 取2g蔬菜样品,放入小烧杯中,用剪刀剪碎,加入20ml缓冲液,振荡2min,倒出提取液,静置3~5min。

### 2.3 纸片速测法操作步骤

接通PR2000A型农药残留速测仪电源预热,几分钟后达到40℃恒温。将速测卡表面透明的保护膜撕去,插入仪器中,一次可同时插入10片,将农药标准液或提取液依次滴到白色药片2~3滴。按开始键。10min反应结束后鸣笛提示,将速测仪上盖合上,3min显色完成后,再次鸣笛提示。打开速测仪,观察速测卡白色药片颜色变化,显蓝色为阴性,浅蓝色为弱阳性,白色为强阳性。

### 2.4 分光光度计操作步骤

取3ml标准溶液或提取液,加入50μl酶液和50μl显色液混匀,在37~40℃烘箱中保温30min,加入50μl底物,用分光光度计立即测定3min前后吸光度变化值,同时记录空白组吸光度变化值,按公式计算抑制率,抑制率大于70%为阳性,小于70%为阴性。

$$\text{抑制率(\%)} = \frac{\Delta A_{\text{空白}} - \Delta A_{\text{样品}}}{\Delta A_{\text{空白}}} \times 100\%$$

### 2.5 纸片速测法与分光光度法灵敏度比较

表2是纸片法和酶液比色法对农药标准溶液和蔬菜残留农药的检出限。

分光光度法对农药标准溶液的最低检出浓度较纸片法低,但由于两种方法取样不同,所以纸片法绝对灵敏度远远大于分光光度法。纸片法取5g蔬菜样品,以1:1的比例加缓冲液提取,所以溶液中的残留量与蔬菜中的农药残留浓度相当,检测时只需滴2滴溶液,使得检出绝对量较低,而分光光度法是取2g蔬菜样品,加20ml缓冲液提取,稀释了10倍,而且检测时取3ml提取液,所以其对蔬菜样品的检测灵敏和绝对检出限量都不如纸片法。

## 3 纸片速测法准确性验证

### 3.1 样品的采集

从深圳市无公害蔬菜生产基地,二个农产品批发市场、二十家超市抽取43个品种共205个蔬菜样本,用纸片速测法检测后,用气质联用法验证。

表1 国内外主要农药残留速测法比较

方法名称	原理	仪器价格 (万元)	检测成本(元)	操作过程	一次测定 样品数	灵敏度 (mg/kg)	重现性	检测 时间	适用 领域	生产厂家
气相色谱仪	样品在固定相和流动相分配性质差异进行分离	60~100	200	复杂	1个	0.01	较好	2~2.5h	大型实验室	美国PE公司、日本岛津公司、美国安捷伦公司等
全自动高感度大量样品农药残留快速检测仪	苍蝇头中提取乙酰胆碱酯酶比色	20	2.5	较复杂	50个	2.0	可以	3.5~4h	较大型实验室	台湾农业试验所
蔬菜农药残留快速检测仪	乙酰胆碱酯酶比色	2	2.0	较复杂	4个	1.0	可以	45min	普通实验室	农业部农药检测所
绿T农药残留快速检测仪	乙酰胆碱酯酶比色	1.6	2.0	较复杂	1个	1.0	可以	10min	普通实验室	福建省测试技术研究所
化学复合剂速测法	化学反应显色	/	0.5	简单	1个	>4.0	一般	8min	基层现场检测	南京市蔬菜局
PR2000A型农药残留速测仪	深海鱼脑中提取丁酰胆碱酯酶, 固化在速测卡上	0.2	1.5	简单	10个	1.0	较好	13min	实验室、批发市场、蔬菜生产基地、超市	深圳市英思人科技开发有限公司

表2 纸片速测法与分光光度法灵敏度比较

农药名称	标准溶液		蔬菜样品		最低检出限量(μg)	
	最低检出浓度(mg/kg)		最低检出浓度(mg/kg)		最低检出限量(μg)	
	纸片法	分光光度法	纸片法	分光光度法	纸片法	分光光度法
甲胺磷	1.0	0.5	1.5	3.0	0.04	1.5
氧化乐果	1.5	0.5	2.0	3.0	0.06	1.5
敌敌畏	0.1	0.5	0.2	0.5	0.004	0.15
对硫磷	2.0	0.5	2.5	3.5	0.08	1.5
乙酰甲胺磷	1.5	0.5	2.0	4.0	0.06	1.5
久效磷	2.0	0.5	2.5	4.5	0.08	1.5
马拉硫磷	0.5	0.2	1.0	3.0	0.02	0.6
呋喃丹	0.1	0.01	0.2	0.5	0.004	0.03

3.2 气质联用法

在三角瓶中称取10g捣碎的蔬菜样品, 加无水硫酸钠和活性炭, 再加50ml二氯甲烷, 振荡30min, 过滤, 取20ml滤液, 氮气吹干, 用二氯甲烷定容至1ml。采用Agilent5890气相色谱仪和Agilecit5973质谱检测器对甲胺磷、乙酰甲胺磷、水胺硫磷、对硫磷、甲基对硫磷、马拉硫磷、敌敌畏、乐果、甲基异柳磷、毒死蜱、灭多威、呋喃丹、氧化乐果、久效磷、氯氰菊酯、氰戊菊酯等16种农药残留量进行检测, 结果见表3。

由实验结果看出: 纸片速测法检测呈阴性或弱阳性蔬菜样本, 经气质定性定量检测, 50%左右不含16种常用农药, 另外50%蔬菜样本, 农药残留量一般均低于1mg/kg, 此浓度的农残含量对人体无明显影响。纸片速测法呈阳性的蔬菜样本, 农药残留含量在1mg/kg以上, 超过国家标准对有机磷和氨基甲酸类农药残留规定的上限。值得注意的是葱、番茄等个别蔬菜会产生假阳性反应。

4 结论

表3 纸片速测法与气质联用法结果比较

蔬菜名称	纸片速测结果	GC-MS 检测结果 (mg/kg)	蔬菜名称	纸片速测结果	GC-MS 检测结果 (mg/kg)
上海青	-	灭来威 0.034	生菜	-	甲胺磷 0.22, 毒死蜱 0.058
菠菜	-	毒死蜱 0.029, 氯氰菊酯 0.031	茼蒿	++	灭多威 0.30, 毒死蜱 2.9, 氯氰菊酯 1.1
芥兰	-	毒死蜱 0.54, 氯氰菊酯 0.20, 甲胺磷 0.022	小葱	+	氧化乐果 0.22, 毒死蜱 0.20, 对硫磷 0.60
茄子	-	未检出	包菜	+	甲胺磷 1.2, 敌敌畏 0.14
番茄	+	氯氰菊酯 0.25	麦菜	-	对硫磷 0.4
菜心	-	毒死蜱 0.093, 氯氰菊酯 3.6	生菜	-	未检出
荷兰豆	-	甲基异柳磷 0.27, 水胺硫磷 0.046	葱	+	毒死蜱 0.041
菜花	-	氯氰菊酯 0.22	黄芽白	-	未检出
西兰花	-	未检出	青瓜	-	未检出
大白菜	-	毒死蜱 0.05, 氯氰菊酯 0.043	水瓜	-	未检出
椰菜	-	未检出	大白菜	+	甲胺磷 3.3
白菜仔	-	灭多威 0.054, 氯氰菊酯 0.27, 毒死蜱 0.17	枸杞叶	+	氧化乐果 0.48, 乐果 4.0, 氯氰菊酯 0.20
甘蓝	++	甲胺磷 2.8	西葫芦	+	敌敌畏 0.25
西芹	++	吡啶丹 1.5	西兰花	-	未检出
冬瓜	-	甲胺磷 0.72	豆芽	+	敌敌畏 0.26
椰菜花	-	未检出	荷兰豆	-	甲胺磷 0.12
韭黄	-	甲胺磷 0.078	莴笋	-	未检出
豆苗	-	甲胺磷 0.03, 氯氰菊酯 0.38	甜豆	-	甲胺磷 0.094
丝瓜	+	敌敌畏 0.45	莲藕	-	未检出
白萝卜	-	未检出	圣女番茄	+	甲胺磷 0.26, 毒死蜱 0.17
土豆	-	未检出	青椒	+	甲胺磷 0.14
洋葱	+	未检出	红萝卜	-	马拉硫磷 0.045
蒜苔	-	未检出	四季豆	-	甲胺磷 1.1, 乐果 0.27
南瓜苗	-	氯氰菊酯 0.064	蒲瓜	-	未检出

“++”表示强阳性，“+”表示弱阳性，“-”表示阴性。

4.1 酶抑制法(包括纸片法和酶液比色法)可快速检测蔬菜中有机磷类和氨基甲酸酯类农药残留总量,但无法判别具体是何种农药及其准确含量,对葱、姜、蒜等辛辣蔬菜及西红柿等有假阳性反应。尽管如此,在我国现有蔬菜种植和流通模式下,对于保障人民粮食安全,仍具有不可替代的作用和现实的可操作性。

4.2 纸片速测法较酶液比色法操作更加简单,检测速度更快,成本更低,适用于蔬菜生产基地、批发市场、商场、宾馆、食堂等基层单位作为蔬菜质量安全的自我监控手段。

4.3 纸片速测卡便于携带,随用随取。从深海鱼脑中提取的丁酰胆碱酯酶稳定,不易失活,便于保存运输,且灵敏度较高。

4.4 参照国家有关农产品安全标准,在重点控制的40多种农药中,农药残留限量大多在0~1mg/kg之

间,纸片速测法将检出阳性界限设置为约1mg/kg,这样既可将农药残留量限制在安全范围内,又不至于造成误判,便于对市场进行监管。

4.5 纸片速测法重现性较好,经气质联用仪对比验证,结果的符合率在90%以上。

4.6 纸片速测法以其便携、简单、快速、便宜等特点,在几十个城市成功地建立了监测网络,实现了采前和售前检测,有效地遏制了“有毒蔬菜”流入市场。

4.7 虽然纸片速测法只能检测有机磷类和氨基甲酸酯类农药残留,但由于这两类农药是目前国内生产量最大、品种最多、使用频率最高且最易引起急性中毒的农药,为此,有效地监控好这两类农药就能预防食菜中毒事件发生。同时在试验中发现,当菊酯类农药残留浓度较高时(大于5mg/kg),纸片速测法能够检出阳性,其作用机理有待进一步研究。

## 参考文献:

- [1] Ferguson B S et al. Pesticide Testing by Enzyme Immunoassay at Trace Level in Environmental and Agricultural Samples. *Science of the Total Environment*, 1993, 132(2-3):415-428.
- [2] 刘曙然. 九十年代农药残留分析新技术[J]. *农药*, 1998, 37(6):11.
- [3] 郑允. 快速检验蔬菜农药残留分析[J]. *台湾农业试验所* 2.
- [4] 张雪燕等. 蔬菜中农药残留量的生物化学检测[J]. *西南农业学报*, 9(2):62.
- [5] 高希武, Corun等改进的Ellan胆碱酯酶添生测定方法介绍[J]. *昆虫知识*, 1987, 24(4): 246-246.
- [6] 刘玲, 王多加. 果蔬农药残留快速检测方法比较实验[J]. *蔬菜*, 2001, 3:26.

## 液质联用分析测定苦荞黄酮

徐宝才, 肖刚, 丁霄霖, 李丹  
(江南大学食品学院, 无锡 214036)

**摘要:** 本文采用RP-HPLC-DAD/MS在苦荞籽粒中发现了山奈酚; 并对苦荞中的总黄酮和其中的四种主要黄酮醇: 槲皮素-3-芸香糖葡萄糖苷(I)、芦丁(II)、山奈酚-3-芸香糖苷(III)、槲皮素(IV)进行了定量。总黄酮含量为0.174%~4.614%, (I)、(II)、(III)、(IV)在壳、麸皮、外层粉、心粉、山西苦荞粉中的含量分别为0.0153%~0.0448%, 0.0816%~4.1054%, 0.0043%~0.1330%, 0.0062%~0.5332%。

**关键词:** 苦荞; 黄酮; 液质联用

**Abstract:** The flavanoids in *Fagopyrum tataricum* seeds, from Sichuan province were studied. The types of flavanoids were quercetin-3-rutinoglucoside, quercetin-3-rutinoglucoside, rutin, kmaepferol-3-rutinoside, quercetin, kmaepferol. The contents of flavanoids in hull, bran, outer flour, inner flour of Sichuan *Fagopyrum tataricum* and flour of Sanxi *Fagopyrum tataricum* were 0.505%, 4.614%, 3.098%, 0.174% and 0.944%, respectively, among which rutin was the major constituent.

**Key words:** *Fagopyrum tataricum*; flavanoids; RP-HPLC MS DAD

中图分类号: 0657.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2003)06-0113-05

荞麦是一种适于在冷凉气候下生长的短季蓼科(Polygonaceae)作物, 植物分类学上主要有苦荞 [*Fagopyrum tataricum*(Linn) Gaench] 和甜荞 (*Fagopyrum esculentum* Moench) 二个食用品种。荞麦富含高生物价的蛋白质、维生素、矿质元素等, 最为重要的是含有极为丰富的生物活性成分—黄酮类化合物, 尤其是苦荞, 其黄酮含量比甜荞高10~100倍<sup>[1,2]</sup>, 它是黄酮的重要膳食来源, 苦荞(鞑靼荞麦)黄酮已获得美国“国家食品与药物管理局”FDA证书。

目前对于甜荞中的黄酮化合物研究较多, 而对苦荞中的黄酮研究报道较少。近年来, 高效液相色谱, 尤其是反相液相色谱(RP-HPLC)已广泛用天植物酚类物质的分析, 特别是液质联用(HPLC-MS)结合二极管阵列检测器(DAD)集分离与鉴定于一体, 在定向筛选某些结构的化合物时, 显示了强大的检测功能。

本文的目的是利用RP-HPLC-DAD/MS, 结合资料报道, 试图在苦荞中探寻尚未有报道过的黄酮种类, 并对籽粒各部分(壳、麸皮、外层粉、内层粉)的黄酮进行定量测定。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料、药品

苦荞麦籽粒(含水量16.0%)购自四川西昌, 经西德Brabander-880200型磨粉机碾磨、筛分后, 得壳、麸皮和全粉三部分(表1)。外层粉、心粉由四川凉山州提供。山西苦荞粉购自山西晋城。

芦丁、桑色素 生化试剂, 上海试剂二厂; 槲皮素 日本, 半井化学·品株式会社; 山奈酚 中国科学院植物化学研究室提供。

### 1.2 苦荞黄酮的提取

收稿日期: 2002-11-14

作者简介: 徐宝才(1973-), 男, 在读博士, 研究方向: 天然药食科学与技术。