

# 快速测定果蔬中农药残留量的方法研究

赵建庄, 康国瑞

(北京农学院, 北京 102206)

**摘要:** 用自行研制的便携式农药残留速测仪, 对果、蔬中农药残留毒性进行快速检测, 可以直接显示有机磷和氨基甲酸酯类农药对乙酰胆碱酶的抑制率, 确定农药残留毒性水平。

**关键词:** 酶抑制率; 农药残留; 乙酰胆碱酯酶; 速测

**中图分类号:** X503. 231    **文献标识码:** A    **文章编号:** 1000 – 0267(2002)01 – 0070 – 02

## Methodology for Rapid Determination of Pesticide Residues in Vegetables and Fruits

ZHAO Jian-zhuang, KANG Guo-rui

(Beijing Agricultural College, Beijing 102206, P. R. China)

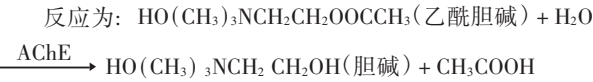
**Abstract:** A rapid method for determination of pesticide residues in vegetables and fruits was developed with a portable mode. This device is directly capable of displaying inhibition rate of both organophosphates and carbamates against acetyl – cholinesterase (AChE), before the levels of pesticide residues was evaluated.

**Keywords:** enzyme inhibition; pesticide residues; acetyl – cholinesterase; rapid determination

当前果、蔬生产过程中, 喷洒化学农药防治病虫害仍为不可不用的必要措施。严重超量的农药残留可以造成急性中毒, 而较轻微的残留农药在人体中长期蓄积滞留也会引起许多慢性疾病。作者自行研制的农药残留速测仪, 可以简便、快速、准确地对果、蔬中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留进行检测, 能直接显示农药对乙酰胆碱酯酶的抑制率, 求得农药残留毒性水平。

### 1 检测原理

有机磷和氨基甲酸酯类农药的共同毒理机制为抑制昆虫中枢和周围神经系统中乙酰胆碱酯酶 (AChE) 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<sup>[1-3]</sup>。



利用如下反应测定乙酰胆碱酯酶被抑制的程度:  
 $\text{I}(\text{CH}_3)_3\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{SOCCH}_3$  (碘化硫代乙酰胆碱) +  $\text{H}_2\text{O}$   
 $\xrightarrow{\text{AChE}}$   $\text{I}(\text{CH}_3)_3\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{SH}$  (碘化硫代胆碱) +  $\text{CH}_3\text{COOH}$   
碘化硫代胆碱与 5, 5' – 二硫代 – 2, 2' – 二硝基苯甲酸 (DTNB) 作用生成 5 – 巯基 – 2 – 硝基苯甲酸 (黄色), 用溶液吸光度 (特征波长 412 nm) 测出乙酰胆碱酯酶的催化活度<sup>[4, 5]</sup>。

收稿日期: 2001 – 04 – 18

基金项目: 教育部重点课题基金资助项目 (00130); 北京市教委课题  
资助项目 (00Kj078); 北京市农委试验示范项目

作者简介: 赵建庄 (1959 – ), 男, 北京农学院基础科学系, 硕士, 副教授, 康国瑞为该校食品系 2001 届毕业生。

### 2 仪器和试剂

自制农药残留速测仪, 电子天平, 刻度吸管 5 mL, 1 mL, 0. 5 mL 若干, 配套玻璃仪器及其他配件等。缓冲液为 pH = 7. 5 的磷酸盐缓冲液, 底物为碘化硫代乙酰胆碱, 显色剂为 5, 5' – 二硫代 – 2, 2' – 二硝基苯甲酸 (DTNB), 酶液: 一种为作者从敏感家蝇中提取, 3 种为外购。

### 3 检测方法

#### 3. 1 检液的制备

有些植物本身就含有对 AChE 有抑制作用的活性物质, 为了避免这种现象的发生, 作者对农药残留传统的提取方法进行了改进: 用天平称 1 g、剪成 1 cm 见方大小, 放在烧杯内, 加入适量缓冲液, 室温放置 20 min, 每 3 min 晃动一次烧杯。使果、蔬中的农药能充分溶入液体内。对照用 2. 5 mL 缓冲液, 加 0. 05 mL 的酶液和显色剂混合后, 室温放置 15 min。在 15 min 到达时, 加 0. 05 mL 底物混合, 立刻倒入比色皿放入仪器中, 3 min 后自动显示测试结果。

#### 3. 2 样品测试

取 2. 5 mL 的检液加 0. 05 mL 的酶液和显色剂混合后, 室温放置 15 min。在 15 min 到达时, 加 0. 05 mL 底物混合, 立刻倒入比色皿放入仪器中, 3 min 后自动显示抑制率。抑制率是农药对酶抑制程度的显示指标, 其计算公式为:

$$I = A_0 - A_s / A_0 \times 100\%$$

式中: I 为抑制率;  $A_0$  为对照液 3 min 内吸光度的变化值;  $A_s$  为样品溶液 3 min 内吸光度的变化值。

4 检测结果的判别标准

若被测样品酶抑制率在 0%—50% 之间为无或有轻微污染。对酶抑制率为 25% 时,农药含量相当于  $0.25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的甲胺磷 (或  $0.35\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的氧化乐果, 或  $0.15\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的敌百虫, 或  $0.001\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的呋喃丹); 若被测样品酶抑制率在 50%—70% 之间, 为有一定程度的农药污染。对酶抑制率为 50% 时, 农药含量相当于  $0.75\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的甲胺磷 (或  $1.15\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的氧化乐果, 或  $0.25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的敌百虫, 或  $0.002\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的呋喃丹); 若被测样品酶抑制率大于 70% 表明农药污染严重, 需重复测定一次, 也可用气谱等方法作进一步检测。对酶抑制率为 75% 时, 农药含量相当于  $1.6\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的甲胺磷 (或  $3.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的氧化乐果, 或  $0.55\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的敌百虫, 或  $0.006\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的呋喃丹)。检测样品酶抑制率低于 50% 可食用, 高于 50% 则不能食用。

5 对比试验

5.1 在温度变化下,用 4 种酶对同一油菜样品进行比较测试

试验结果见表 1。

5.2 用自制的酶液(酶 4)进行时间比较,用梨样品测试

试验结果见表 2。

用酶 2 替换酶 4 恒温 15 min 后,测得抑制率为 94.1%。

6 市场蔬菜抽样调查

2000 年 4 月至 6 月先后在北京几个批发市场随机买菜作试验样本共做外地菜 252 个,其中发现 46 个样本(占抽样量的 18.3%)酶抑制率大于 50%。本地菜做了 310 个样,其中有 29 个样(占抽样量的 9.4%)酶抑制率大于 50%。从抽查的菜类来看,叶菜类的污染高于茄果类,叶菜类中韭菜、菜花、油菜等超标比较严重。

7 结果与讨论

(1)由表 1 可以看到,温度对酶活性有一定影响,应在同一温度条件下,进行空白样与待测样品分析,测定最适温度应在  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ — $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 若低于  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 要用恒温水浴, 温度设置在  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

(2)通过表 2 可以看到,增大酶抑制时间能有效地提高检测灵敏度,这一优点在实际使用中是值得注意的,即可通过调整酶抑制时间来达到所需的灵敏度,但时间又不能太长否则灵敏度会降低<sup>[6]</sup>。

(3)通过表 1、2,可以看到酶 3 已经失活,这说明测试选用的酶对常用的高毒有机磷和氨基甲酸酯类农药应具有较高的敏感性。粉状的酶应储存在冷冻室内,稀释后应在  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ — $5\text{ }^{\circ}\text{C}$  冷藏,1 周用完。试验证明,1 周后酶液的活性会降低 30%—50%,酶的储存和使用都要规范。

(4)根据颜色的变化目视判别农药残留是否超标的酶抑制单点比色法,由于环境温度、蔬菜色泽和 pH 等差异,准确度不高。用自行研制的农药残留速测仪将催化反应中溶液吸光度变化的信号进行处理,直接显示抑制率,准确度高、速度快、操

表 1 在室温 ( $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 和水浴 ( $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 下,4 种酶对同一油菜样品进行比较

| Table 1 Comparison of using 4 different cholinesterases for determination of cole sample at $20^{\circ}\text{C}$ and $30^{\circ}\text{C}$ , respectively |         |              |              |        |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|--------------|--------------|--------|
| 室温                                                                                                                                                       | 酶液      | 对照 ( $A_0$ ) | 样品 ( $A_s$ ) | 抑制率(I) |
| $20^{\circ}\text{C}$                                                                                                                                     | 酶 1(外购) | 12.5         | 2.0          | 84.0%  |
|                                                                                                                                                          | 酶 2(外购) | 6.9          | 0.5          | 92.7%  |
|                                                                                                                                                          | 酶 3(外购) | 20.5         | 18.3         | 10.7%  |
|                                                                                                                                                          | 酶 4(自制) | 38.0         | 1.6          | 95.7%  |
| $30^{\circ}\text{C}$                                                                                                                                     | 酶 1(外购) | 6.6          | 0.5          | 92.4%  |
|                                                                                                                                                          | 酶 2(外购) | 15.2         | 0.3          | 98.0%  |
|                                                                                                                                                          | 酶 3(外购) | 44.5         | 25.8         | 42.0%  |
|                                                                                                                                                          | 酶 4(自制) | 23.4         | 0.7          | 97.0%  |

表 2 用自制的酶液在水浴 ( $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 下比较

Table 2 Comparison of several enzymes at temperature of  $30^{\circ}\text{C}$  (water bath)

| 时间     | 对照 ( $A_0$ ) | 样品 ( $A_s$ ) | 抑制率(I) |
|--------|--------------|--------------|--------|
| 2 min  | 9.6          | 9.2          | 4.2%   |
| 5 min  | 24.3         | 17           | 30.0%  |
| 10 min | 7.4          | 2.9          | 60.8%  |
| 15 min | 9.8          | 0.1          | 98.9%  |

作简便。

(5)酶抑制法测试农药残留的关键试剂是酶,从敏感家蝇头部提取的粉状酶制剂效果较佳,经试验比较发现从敏感家蝇头部直接用 pH 为 7.5 的缓冲液提取的酶液效果也很好。但是由于粉状酶制剂保存时间长,携带方便,利于推广。

8 结论

(1)自行研制的速测仪适应我国果、蔬生产销售的特点,可以对含农药残毒的果、蔬进行粗筛,将一部分含农药残毒的果、蔬控制在市场之外,避免农药中毒事故发生。

(2)本仪器操作简便、快速、灵敏度高,受外界因子干扰少,样品不需净化,大大缩短了检测时间。

(3)本仪器与打印机相连,自动化程度高,每次测试完样品后,仪器自动打印出“对照”、“样品”、“抑制率”的数值。

(4)本法为生化测定法,因而只能用以检测对 AChE 具有抑制作用的有机磷类或氨基甲酸酯类杀虫剂的残留量,此外对某些硫代磷酸酯类农药 (如伏杀磷) 的灵敏度不高。对于其它种类的农药残留量则无法测出。

参考文献:

[1] 蔡顺香,等. 台湾蔬菜农药残留的预防措施及其启示[J]. 福建农业科技,1999,4:25.

[2] 福 岭,等. 食品物理与化学分析方法[M]. 北京:轻工业出版社,1987.

[3] 施明安,等. 乙酰胆碱酯酶的结构及功能位点[J]. 农药学报,2000,3:1—7.

[4] 高晓辉,等. 蔬菜上农药残毒快速检测技术[J]. 农药科学与管理,2000,21(4):29—31.

[5] Renvall s. Residue Reviews, Editor Gunther G. A, 1970, 34: 1—26.

[6] 王恒亮,张保民,王兰芝,等. 酶活性抑制测定农药残毒技术研究[J]. 河南农业科学,1997,25—26.