

doi: 10.19928/j.cnki.1000-6346.2021.0007

农药残留快速检测酶抑制法局限性探讨

农药残留快速检测酶抑制法操作简单、方便快捷、成本低廉,但同时存在假阳性及假阴性率高、检出限高、灵敏度低、检测农药种类有限等局限性。随着人们对农产品质量安全的要求越来越高,国际和国内食品中农药残留限量标准也越来越严格,酶抑制法已不适合作为农药残留检测的主要手段及筛查手段,不应再大力推广使用。

易 幸

(湘潭市农产品质量安全检测管理站,湖南湘潭 411100)

农药残留是指使用农药一定周期后,仍残留于农作物、生物体、土壤、水体、大气中的微量农药原体、有毒代谢物、降解物和杂质的统称。酶抑制法是依据有机磷类及氨基甲酸酯类农药可以特异性地对胆碱酯酶活性产生抑制的原理,将胆碱酯酶与样品提取液作用,在检测体系中加入底物和显色剂,采用分光光度计检测吸光度随时间的差值,得出抑制率的结果,来判断是否存在有机磷类或氨基甲酸酯类农药残留超标(李颖畅等,2013)。酶抑制法的优点是操作简便,对操作人员技术水平要求不高,成本消耗及后期仪器维护费用均较低,且检测速度快,一般15~30分钟就可以得出结果,因而酶抑制法已被广泛地使用和推广。目前,在农业生产领域和流通环节大多使用酶抑制法对蔬菜开展日常监管,主要应用于农产品物流中心、农业合作社、生产基地、大型超市配送中心和基层检测中心等(胡蓉,2013;黄建平和房新艳,2018)。但该检测方法存在假阳性、检出限高、灵敏度低、检测农药种类有限等局限性,可能会出现农残漏检和误检的情况,甚至存在贸易壁垒的风险,不仅影响消费者食用农产品质量安全,甚至还可能严重影

响农产品的对外贸易。钱允辉等(2008)从酶的来源、植物组织液的干扰、酶促条件等3个方面分析了酶抑制法出现重现性差及假阳性的原因。王洁莲(2011)也从酶的选择、酶促反应、某些农产品易产生假阳性及测定农药种类有限等4个方面探讨了酶抑制法在实际应用中存在的问题。检测方法、检测农药种类、样品基质、结果重复性是反映方法准确性、适用性的关键因素,本文从这4个方面讨论酶抑制法对农药残留快速检测的局限性,以期正确认识酶抑制法在农药残留检测中存在的问题。

1 检测方法分析

近年来,食品中农药残留限量标准越来越严格。现行有效的国家推荐标准 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》指出,酶抑制法检测对禁用农药甲胺磷、对硫磷的检出限分别为2.0、1.0 mg·kg⁻¹。农业行业标准 NY/T 448—2001《蔬菜上有机磷和氨基甲酸酯类农药残毒快速检测方法》指出,酶抑制法检测对禁用农药甲胺磷、对硫磷的检出限分别为3.0~5.0 mg·kg⁻¹和2.0~4.0 mg·kg⁻¹。而我国最新农药残留限量标准 GB 2763—2019《食品中农药最大残留限量》规定,甲胺磷除萝卜外,在其他蔬菜中允许最大残留限量为0.05 mg·kg⁻¹;对硫磷在

易幸,农艺师,专业方向:农药残留检测, E-mail: 254041981@qq.com

收稿日期: 2020-08-05; 接受日期: 2020-11-18

蔬菜中允许最大残留限量为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (表 1)。通过比较, 可见酶抑制法检测农药残留甲胺磷、对硫磷的检出限比我国允许的最大残留限量分别高了 40 倍和 100 倍, 无法满足我国农药残留限量标准的要求, 即可能会存在漏检。

酶抑制法无法灵敏地检测蔬菜中所有有机磷类和氨基甲酸酯类农药, 叶雪珠等 (2013) 比较了 4 种不同型号的农残速测仪使用酶抑制法检测蔬菜中不同农药残留的有效性, 结果表明不同农药灵敏度相差很大, 高毒农药克百威、灭多威的检出限相对

表 1 酶抑制法在 GB/T 5009.199—2003、NY/T 448—2001 中的检出限与在 GB 2763—2019 中的最大残留限量比较

农药种类	农药名称	毒性	GB/T 5009.199—2003 检出限/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	NY/T 448—2001 检出限/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	GB 2763—2019 最大残留限 量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
有机磷类	敌敌畏	中毒	0.1	0.3	0.1 (普通白菜)
有机磷类	对硫磷	高毒	1.0	2.0~4.0	0.01 (蔬菜类)
有机磷类	甲胺磷	高毒	2.0	3.0~5.0	0.05 (除萝卜外的蔬菜类)
有机磷类	氧化乐果	高毒	0.8	2.0~5.0	0.02 (蔬菜类)
氨基甲酸酯类	灭多威	高毒	0.1	1.0~2.0	0.2 (蔬菜类)
氨基甲酸酯类	丁硫克百威	中毒	0.05	2.0~3.0	0.05 (普通白菜)
氨基甲酸酯类	克百威	高毒	0.05	1.0~2.0	0.02 (除马铃薯外的蔬菜类)

较低, 分别在 $0.003 \sim 0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $0.01 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 而 GB 2763—2019 中最大残留限量值分别为 0.02 (除马铃薯外)、 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 氧化乐果、久效磷、甲胺磷、磷胺的灵敏度在 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以上, 远高于 GB 2763—2019 中最大残留限量值 0.02、0.03、 $0.05 \sim 0.1$ 、 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 水胺硫磷、对硫磷、甲基对硫磷、甲拌磷在酶抑制法中均不灵敏。中毒农药中, 甲萘威在酶抑制法中灵敏度较高, 在 $0.01 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 基本满足 GB 2763—2019 中最大残留限量 ($0.02 \sim 0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); 而蔬菜中检出率较高的三唑磷、毒死蜱等在酶抑制法中灵敏度却很低。因此, 酶抑制法检测可能会造成假阴性率偏高, 作为执法依据结果精确度不够。

2 检测农药种类分析

农药种类繁多, 按化学结构可归纳为有机磷类、有机氯类、氨基甲酸酯类、拟除虫菊酯类、三唑类、杂环类、酰胺类、脲类、醚类、苯甲酸类等。酶抑制法只对有机磷类和氨基甲酸酯类农药有效, 对其他类农药无法得出定量和定性的结果 (王志波, 2009)。

2019 年 10—11 月, 采用色谱法对湖南省 14 个市州的 63 个基地、20 个超市、25 个市场的主要农产品质量安全开展风险监测, 检测了叶菜类、豆类、茄果类、瓜类等 10 类 35 种蔬菜中的 68 种农药残留, 结果表明在抽取的 980 批次蔬菜样品中, 禁限用农药累计检出 13 次和 6 次超标; 禁用农药

中检出甲胺磷 2 次, 限用农药中毒死蜱、克百威、氧化乐果分别有 3、2、1 次超标; 常规农药检出率高, 累计检出 595 次, 多菌灵、啉虫脒、吡虫啉、烯酰吗啉、灭蝇胺、霜霉威、吡唑醚菌酯等分别检出 78、103、32、71、41、44、34 次, 虽未超标, 但存在风险隐患。说明目前常用的农药已不仅仅是有机磷类及氨基甲酸酯类, 还有一些高效低毒的新型农药, 如多菌灵等苯并咪唑类杀菌剂, 吡虫啉、啉虫脒等烟碱类杀虫剂, 啉菌酯、吡唑醚菌酯等甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂。推广使用高效低毒低残留的化学农药是现阶段及未来农药发展的趋势 (李军明等, 2010; 赵鑫等, 2013)。酶抑制法对现阶段使用率高的大部分农药品种是无效的, 不适合作为快速筛查的手段, 否则可能会存在漏检。

3 样品基质分析

酶抑制法主要适用于蔬菜, 不能广泛适用于水果和茶叶。因为水果中含有较多的色素和果汁, 对显色反应产生干扰, 同时果皮的厚度对酶抑制法的检测结果也有很大影响 (张立新, 2016)。对于茶叶类样品, 基质复杂干扰大, 含有茶多酚、色素、咖啡碱、氨基酸、多糖、茶皂素、维生素、矿物质、蛋白质、脂质等 (傅杭英, 2013), 不同成分对水的溶解性又不一样, 因此不能简单地像蔬菜一样直接用磷酸缓冲液提取, 必须用有机溶剂如丙酮、乙酸乙酯、乙腈等充分提取, 净化后才能得到待测液。即便是对蔬菜的农残检测, 也无法全覆盖。一

方面某些蔬菜因产生对酶有抑制作用的植物次生物质,易引起假阳性。另一方面由于酶抑制法是以吸光度变化值来判断,而植物体内的叶绿素、胡萝卜素、花青素、氧化酶次生物质等会对酶产生干扰,引起反应液颜色变化,影响检测结果的专一性、准确性、可比性等(陆自强等,2004;杜美红等,2010;王芳等,2015)。因此,使用酶抑制法要避免检测葱、蒜、韭菜、萝卜、芹菜、芫荽、茭白、番茄等。

4 结果重复性分析

由于酶的结构具有复杂性与多样性,检测结果与酶活性、酶和底物的浓度、取样部位、反应温度及时间、反应液的澄清度、pH值等密切相关,因此检测结果可能存在较大误差,重复性不理想。酶是一种特异性蛋白质,酶促反应要求较为严格,pH值、反应温度、氧化还原电位等都是影响酶促反应的主要因素。此外,酶的贮存、显色剂的选择与稳定性、酶和底物的浓度等都可能影响检测结果(杨东鹏等,2004)。罗俊霞等(2015)研究表明,使用酶抑制法在不同时间对同一样品进行检测,重现性也较差。由此可见,以上影响因子的控制与否,都可能会影响检测结果的重复性。

5 结论与展望

随着人们生活质量的提高以及对绿色健康食品的需求,国际和国内食品中农药残留限量标准也越来越严格,因此对检测技术的要求也越来越高。本文从检测方法、检测农药种类、样品基质、结果重复性4个方面探讨酶抑制法对农药残留检测的局限性:从检测方法看,酶抑制法的检出限高,无法满足我国农药残留限量标准的要求;从检测农药种类看,酶抑制法无法检测除有机磷类及氨基甲酸酯类以外的其他种类农药;从样品基质看,酶抑制法主要适用于蔬菜类,但部分蔬菜种类易产生假阳性,可能导致“误检”;从结果重复性看,酶的结构具有复杂性与多样性,导致检测结果可能存在较大误差,重复性不理想。因酶抑制法存在假阳性及假阴性率高、检出限高、灵敏度低、检测农药种类有限等局限性,现阶段已不适宜作为农药残留检测的主要手段及筛查手段。如何进一步提高酶抑制法的检

测灵敏度,降低检出限,克服样品基质的影响,扩大检测农药范围,满足国家限量标准,一直是国内外专家亟待解决的难题。建议有条件的实验室尽快开展色谱法检测分析,使用气相、气质、液相、液质等大型精密仪器进行检测。近年来逐渐发展起来的气质、液质 QuEChERS 法因前处理技术快速、简单、廉价、有效、可靠、安全的特点成为未来农药残留检测发展的方向及趋势。

参考文献

- 杜美红,孙永军,汪雨,陈舜琼.2010.酶抑制-比色法在农药残留快速检测中的研究进展.食品科学,31(17):462-466.
- 傅杭英.2013.茶叶农药残留快速检测样品前处理技术研究(硕士论文).福州:福建农林大学.
- 胡蓉.2013.酶抑制法在蔬菜农药残留快速检测中的应用.辣椒杂志,(4):42-44.
- 黄建平,房新艳.2018.浅谈农药残留速测技术应用在基层农产品质量安全监管工作中的必要性.南方农业,12(18):125-126.
- 李军明,钟读波,王亚琴,冯雷.2010.茶叶中农药残留限量及检测方法研究进展.云南大学学报(自然科学版),32(增刊):299-304.
- 李颖畅,李作伟,吕艳芳,马春颖.2013.驴血清胆碱酯酶抑制法快速检测蔬菜中农药残留.食品工业科技,34(3):293-295,301.
- 陆自强,汪世新,周福才,陈丽芳.2004.关于酶抑制法快速检测农药残留的几点看法.现代农药,(5):17-18.
- 罗俊霞,李德瑜,袁小伟,赵建波.2015.酶抑制法测定多种有机磷和氨基甲酸酯类农药残留的试验.浙江农业科学,56(6):883-887.
- 钱允辉,陆自强,汪世新,周福才.2008.农药残留速测技术与进展.中国测试技术,(5):85-88.
- 王芳,李道敏,李兆周,刘二伟,李松彪,曹力,高红丽,侯玉泽.2015.食品中有机磷农药残留检测方法的研究进展.食品安全质量检测学报,6(9):3587-3593.
- 王洁莲.2011.酶抑制法快速检测蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留.山西农业科学,39(2):156-158.
- 王志波.2009.酶抑制法检测蔬菜有机磷和氨基甲酸酯类农药残留试验.长江蔬菜,(18):73-74.
- 杨东鹏,张春荣,董民,杜相革.2004.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.中国农学通报,20(2):37-39,51.
- 叶雪珠,王强,赵首萍,章虎,王祥云,赵燕申.2013.酶抑制法检测蔬菜农药残留的效果评价.中国蔬菜,(4):76-81.
- 张立新.2016.酶抑制法快速定性检测水果中有机磷和氨基甲酸酯类农药残毒方法.山西果树,(1):41-42.
- 赵鑫,付大友,李艳清.2013.果蔬中氨基甲酸酯类农药残留检测的研究进展.当代化工,42(4):470-473.