

蔬菜农药残留快速检测技术研究

梁晓文¹, 丁运华², 陈敏², 曾柏荣¹, 黎启光¹, 吴云普¹, 潘锦秀¹

(1. 惠州市惠城区农产品质量安全监督中心, 广东 惠州 516003; 2. 惠州学院 生命科学系, 广东 惠州 516007)

摘要:为了快速检测蔬菜中农药残留问题,应用农残速测仪,以绿健公司生产的试剂为检测试剂,对蔬菜中农药残留快速检测技术进行优化研究。结果表明:12种农药对乙酰胆碱酯酶的抑制率与农药浓度之间呈负相关,随着浓度的下降,酶抑制率也降低;有11种农药检出限低于国标的检测限,只有丁硫克百威比国标稍高;对酶、底物和显色剂的用量进行优化,酶加75 μL ,底物和显色剂各加50 μL 为最优组合。研究结果可以为基层开展农药残留检测提供技术支持。

关键词:蔬菜;农药残留;酶抑制率

中图分类号:TS255.7

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2013)04-0125-05

蔬菜农药残留问题是影响我国食品质量与安全的重点问题之一^[1]。近年来,随着农产品贸易的快速发展,国内外消费者对农残问题的日益关注,农产品质量安全问题更加突出,已成为农业发展新阶段急待解决的主要矛盾之一^[2-4]。广东省惠州市作为珠三角地区蔬菜的主产区,除供应本地以外,还担负着向广州、深圳及香港等地供应蔬菜的任务,农产品质量安全责任重大,重点蔬菜生产企业和大型菜场基本能严格按照规定使用农药,但在一些农村地区由于广大农民科学用药知识的欠缺,加之对农产品的质量安全意识较为淡薄,农药使用不够规范,有必要加强对蔬菜生产和批发过程进行监管^[5]。国家曾颁发了果蔬农药残留快速检测的国家标准(GB/T5009.199—2003)^[6],为指导基层开展农药残留快速检测提供了便利。然而,不同基层检测部门条件差异很大,所使用的试剂也有差异,因此在必要国标的基础上,根据使用仪器和试剂情况,在保证检测标准的基础上,优化快速检测技术十分必要。该研究正是针对这一情况开展了蔬菜农药残留快速检测技术研究。

1 材料与方法

1.1 材料

检测蔬菜购于惠城区冷水坑农贸市场,包括

芹菜、豆角、辣椒、小白菜和空心菜5个品种,蔬菜检测前处理按文献介绍的方法进行^[7]。

农药残毒快速检测试剂盒购于东莞市绿健生物科技有限公司,包括:酶、底物、显色剂、缓冲液。检测药品按使用说明配制好,置于冰箱保存。12种农药标准品购自国家标准物质销售中心(浓度为100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。农药工作液配制:根据 $C_1\times V_1=C_2\times V_2$ 公式计算相应工作液所需的农药标准品,然后用缓冲液稀释。每种农药所配制的浓度见表1。

1.2 酶抑制率检测方法

取数支试管,其中一支加入2.5 mL缓冲液来做空白对照,其余分别加入2.5 mL不同浓度的工作液。分别依次加入酶75 μL ,显色剂50 μL ,摇匀,加热时,放入37℃水浴锅中培养10 min;不加热时,室温放置10 min。分别加入底物50 μL ,摇匀后倒入比色皿中再放入PR-202-5农药残毒速测仪中检测。根据吸光度来计算酶抑制率。每次重复3次,取平均值。

1.3 判定标准

根据GB/T5009.199—2003的规定,当蔬菜样品提取液对酶的抑制率 $\geq 50\%$ 时,表示蔬菜中存在有机磷或氨基甲酸酯类农药。

2 结果与分析

2.1 农药浓度与抑制率关系

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

收稿日期:2013-01-29

基金项目:广东省科技计划资助项目(2011B030800021);惠州市科技计划资助项目(2012P16);惠城区科技计划资助项目(201106)

第一作者简介:梁晓文(1973-),女,山西省祁县人,工程师,从事农产品质量检测研究。E-mail:chenzg1973@126.com。

剂反应,产生黄色物质,用分光光度计在412 nm处测定吸光度随时间的变化值,计算出抑制率。应用速测仪分别测定5种不同浓度农药溶液对酶的抑制率,得出在加热与常温情况下检测浓度与抑制率之间的关系(见表1)。结果表明:12种农药对乙酰胆碱酯酶的抑制率与农药浓度之间呈负相关,随着浓度的下降,酶抑制率也降低。不同农药之间对酶的抑制率存在一定的差异。在酶促反

应过程,保持37℃恒温对酶促反应具有重要作用,与室温下比较(实验时温度为25~30℃),大部分农药对酶的抑制率比室温时提高,在农药浓度高时两者差异不是很明显,当农药浓度很低时,加热时(37℃)酶抑制率比不加热时差异较明显。但也有个别农药例外,如马拉硫磷在加热情况酶抑制率反而偏低一些。

表 1 农药浓度与抑制率的关系
Table 1 The relation of agricultural chemicals concentration and inhibitory rate

农药名称 Agricultural chemicals	标液浓度/mg·kg ⁻¹ Concentration	溶液浓度/mg·kg ⁻¹ Concentration	抑制率/% Inhibitory rate	
			加热 Heat	不加热 No heating
呋喃丹 Carbofuran	0.20	0.18	71.3	69.6
	0.10	0.09	59.5	57.8
	0.08	0.07	51.1	47.9
	0.05	0.04	46.5	39.7
	0.01	0.01	36.4	31.2
灭多威 Methomyl	0.80	0.71	75.4	73.3
	0.50	0.45	66.8	67.0
	0.30	0.27	61.8	55.9
	0.10	0.09	46.8	39.6
	0.05	0.04	39.2	33.1
丁硫克百威 Carbosulfan	1.00	0.89	69.5	70.9
	0.80	0.71	62.7	61.0
	0.60	0.54	43.4	44.8
	0.40	0.36	40.9	38.2
	0.20	0.18	24.1	12.0
敌敌畏 DDVP	0.006	0.0054	88.2	73.8
	0.005	0.0045	77.5	62.8
	0.004	0.0036	66.7	49.6
	0.003	0.0027	61.3	48.7
	0.002	0.0018	52.4	36.8
辛硫磷 Phoxim	0.05	0.045	90.4	89.1
	0.04	0.036	84.0	80.6
	0.03	0.027	79.4	75.4
	0.02	0.018	58.7	56.6
	0.01	0.009	34.5	32.7
对硫磷 Parathion	0.40	0.36	74.6	63.9
	0.30	0.27	64.3	48.5
	0.20	0.18	66.5	47.2
	0.10	0.09	42.8	23.1
	0.05	0.04	37.3	21.8

续表 1
Continuing Table 1

农药名称 Agricultural chemicals	标液浓度/mg•kg ⁻¹ Concentration	溶液浓度/mg•kg ⁻¹ Concentration	抑制率/% Inhibitory rate	
			加热 Heat	不加热 No heating
甲胺磷 Methamidophos	1.00	0.89	61.6	60.7
	0.80	0.71	53.1	54.0
	0.60	0.54	52.9	52.7
	0.40	0.36	31.3	33.8
	0.20	0.18	25.4	22.2
乐果 Dimethoate	1.20	1.07	67.1	66.9
	1.00	0.89	62.7	55.7
	0.80	0.71	51.9	51.2
	0.60	0.54	45.4	42.3
	0.40	0.36	31.6	27.9
马拉硫磷 Malathion	1.00	0.89	67.8	72.6
	0.80	0.71	66.4	67.7
	0.60	0.54	58.8	60.0
	0.40	0.36	42.9	44.0
	0.20	0.18	37.4	38.6
毒死蜱 Dursban	0.40	0.36	85.7	69.4
	0.30	0.27	78.5	58.3
	0.20	0.18	71.0	46.4
	0.10	0.09	45.9	31.6
	0.05	0.04	31.9	18.0
敌百虫 Dipterex	0.009	0.0080	93.4	77.5
	0.007	0.0063	88.9	68.1
	0.005	0.0045	79.3	57.2
	0.003	0.0027	62.5	41.7
	0.001	0.0009	34.5	19.9
三唑磷 Triazophos	0.05	0.045	86.7	70.1
	0.04	0.036	74.0	55.8
	0.03	0.027	64.4	47.1
	0.02	0.018	43.7	32.4
	0.01	0.009	33.4	25.4

注:溶液浓度是按加入酶以后的浓度。
Note:Solution concentration is after enzyme.

2.2 农药检测限

当蔬菜样品中提取液对酶的抑制率≥50%时,即为阳性反应,表示蔬菜中含有有机磷或氨基甲酸酯类农药。由检测结果可知,各种农药显阳

性反应的加标溶液浓度区间(见表 2,表 3),在所检测的 12 种农药中,除了敌敌畏、对硫磷、敌百虫、三唑磷 4 种农药对温度比较敏感,其它 8 种农药对温度不敏感。

表 2 8 种农药的检出限
Table 2 The detection limit of
eight agricultural chemicals

农药名称 Agricultural chemicals	检出限/mg·kg ⁻¹ Detection limit
呋喃丹 Carbofuran	0.04~0.07
灭多威 Methomyl	0.09~0.27
丁硫克百威 Carbosulfan	0.54~0.71
辛硫磷 Phoxim	0.009~0.018
甲胺磷 Methamidophos	0.36~0.54
乐果 Dimethoate	0.54~0.71
马拉硫磷 Malathion	0.36~0.54
毒死蜱 Dursban	0.09~0.18

表 3 4 种农药的检出限
Table 3 The detection limit of
four agricultural chemicals

农药名称 Agricultural chemicals	检出限/mg·kg ⁻¹ Detection limit	
	加热 Heat	不加热 No heating
敌敌畏 DDVP	0.0018~0.0027	0.0036~0.0045
对硫磷 Parathion	0.09~0.18	0.18~0.36
敌百虫 Dipterex	0.0009~0.0027	0.0027~0.0045
三唑磷 Triazophos	0.018~0.027	0.027~0.036

2.3 实际检测效果

将芹菜、豆角、辣椒、小白菜和空心菜 5 种蔬菜品种经过前处理提取后,进行农药残留检测。从表 4 中可以看出,5 种蔬菜提取液对酶的抑制率均小于 50%,说明农药残留没有超标。

表 4 蔬菜农药残毒检测结果分析
Table 4 Analysis on detection result of residual toxicity of pesticides in vegetables

方法 Method	次数 Times	抑制率/% Inhibitory rate				
		芹菜 Celery	豆角 Bean	辣椒 Hot pepper	小白菜 Brassica chinen	空心菜 Siswater spinach
速测加热	1	20.9	17.9	0	21.1	—
Rapid detection	2	18.0	19.0	0	20.2	0
and heat	3	18.2	12.7	0	22.9	—
平均值 Average		19.0	16.5	0	21.4	—
速测不加热	1	15.2	14.2	0	26.8	—
	2	13.2	16.2	0	20.2	1.4
Rapid detection	3	18.0	7.3	0	16.2	0
and no heating						
平均值 Average		15.5	12.6	0	21.1	—

3 结论

3.1 试验方法的改进

试验使用检测试剂盒为东莞绿健,所以试剂的配制都是按照东莞绿健的提供方法配制的。国标与绿健的方法中酶、显色剂和底物都是各加 100 μL,但在实验中酶加 75 μL,显色剂和底物各加 50 μL。在加完酶和显色剂之后需摇匀放置,国标要求放置 15 min,绿健要求放置 10 min,在该试验中放置 10 min,与绿健的一致。国标的方法是在反应 37℃中进行,而绿健要求在室温中放置,考虑到实验的准确性及实用性,同时做了 2 组实验(加热和温室)。结果表明,两者对酶抑制率差异不是很明显,这可能与惠州常年室温温度较高(年均气温在 22℃)有关。在实际检测时可能要考虑温度因素,在冬天温度较低时需要使用空调等取暖设备使室温保持在 20℃左右,保持反应

能正常进行。在预实验时,反应时将酶、底物、显色剂各加入 100 μL 时,会导致酶与底物反应过快,在 3 min 之内就会超过检测范围。后来对酶、底物和显色剂的用量进行优化,酶加 75 μL,底物,显色剂各加 50 μL,这种组合的效果是比较好的。

3.2 检测方法的可靠性

试验应用 PR-202-5 农药残毒速测仪对 12 种农药进行检测,同时以紫外可见 UV-7504 分光光度计为对照,结果表明农药残毒速测仪与分光光度计的检测数据差异不超过 10%(数据未列出),应用速测仪检测效果较分光光计好。说明 PR-202-5 农药残毒速测仪适用于基层检测站快速检测。另外,检测中有 11 种农药检出限低于国标的检测限,只有丁硫克百威比国标稍高,可能与使用的试剂盒有关。

参考文献:

- [1] 叶雪珠,赵燕申,王强,等.蔬菜农药残留现状及其潜在风险分析[J].中国蔬菜,2012(14):76-80.
- [2] 张俊,王定勇.蔬菜的农药污染现状及农药残留危害[J].河南预防医学杂志,2004(3):182-186.
- [3] 石国忠,蒋丽君,陆萍,等.蔬菜农药残留监测状况及对策建议[J].上海蔬菜,2010(2):24-26.
- [4] 应兴华,徐霞,朱智伟.华东地区出口蔬菜残留农药检出率的规律性研究[J].农业环境科学学报,2005,24(S):161-164.
- [5] 王国莉,郑冬生.广东惠州地区市售蔬菜的农药残留检测分析[J].江苏农业科学,2010(4):334-336.
- [6] 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].
- [7] 刘玲,王文琪,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.

Study of Rapid Test Technology of Pesticide Residues in Vegetables

LIANG Xiao-wen¹, DING Yun-hua², CHEN Min², ZENG Bo-rong¹, LI Qi-guang¹, WU Yun-pu¹, PAN Jin-xiu¹

(1. Agricultural Products Quality and Safety Supervision and Testing Center of Huicheng District, Huizhou, Guangdong 516003; 2. Life Sciences College of Huizhou University, Huizhou, Guangdong 516007)

Abstract: For solving the question of rapid test of pesticide residues in vegetables, the apparatus of pesticide residues was applied, and the tested reagent made by the company of Lvjian was used to improve the rapid test technology of pesticide residues in vegetables. The results indicated that 12 kinds of pesticides influencing the inhibition of acetylcholinesterase activity correlated negatively with the concentration of parathion, that was to say the inhibition of ChE activity was decreasing with the concentration of parathion reduction. The detection limit of 11 kinds of pesticides were inferior to the standard of our country, but the detection limit of carbosulfan exceed the standard of our country. the dosage of enzyme, substrate and chromogenic reagent were optimized: enzyme adding 75 μ L, substrate and chromogenic reagent adding 50 μ L, respectively. The component was optimal. The study results could provide technical support for grass roots to carry out test of pesticide residues.

Key words: vegetables; pesticide residue; inhibition rate of enzyme

辨别杂交水稻种子真伪的有效方法

当前种子市场品种繁多,农民在选购良种时总是遇到"幸福的烦恼",然而就是因为拿不定主意,往往被投机分子钻了空子。由于农民朋友自身缺乏一定的科学的鉴别能力,很多时候会上当受骗。以下是辨别杂交水稻种子真伪的有效方法,仅供参考。

1 **看种子“三证”** 凡有种子经营许可证、质量合格证和植保部门病虫检疫证的种子,为优质杂交水稻种子。否则为假劣杂交水稻种子。

2 **看整齐度** 混有其它稻谷的杂交稻种子粒型不整齐。混入的父本或其它籼稻明显比杂交水稻种子细长饱满,而粳稻谷则较圆。

3 **看谷壳色** 杂交水稻种子谷壳上略带不均匀的黄褐色等生理性杂色,而父本、保持系谷粒颜色较一致,保持系和其它混杂谷粒比杂交水稻种子透明度高,谷壳比杂交水稻种子光滑。

4 **看种子纯净度** 用手抄一下种子,掌上指缝间有固体颗粒如土粒、砂粒等杂质,手指沾有细粉状物,证明种子纯净度达不到国家规定的标准(99%)。

5 **看种子含水量** 简便的方法是用牙咬谷粒,如有尖脆响声,则含水量基本正常;若无尖脆声或谷粒断面不整齐,则种子含水量一般高于正常标准(11.5%)。

6 **看柱头痕迹** 非杂交水稻谷粒因多属于自花授粉,雌蕊柱头不外露,柱头痕迹遗留在谷壳内部,剥开谷壳在米粒顶部可见一点浅黑色的柱头痕迹。而杂交种属异花授粉,柱头外露,仔细观察谷粒内外稃夹缝中间,可发现一点不很明显的小黑点即柱头痕迹,这是识别杂交水稻种子和其它稻粒的重要依据。

7 **看染色测定** 方法是把稻谷壳自胚部纵切成两半,取每粒的一半洗净放入稀释成60倍液的红墨水中浸渍,1h后取出用清水冲洗,如果种胚没染色或染色较浅,证明种子有活力;若染色较深,证明种子已丧失活力。这样便可识别出杂交种子里不发芽的变质种子。