

果蔬农残速测酶抑制法与胶体金免疫层析法优缺点分析比较

曾中星

昭通市盐津县农产品质量安全检验检测站

DOI:10.12238/as.v8i10.3351

[摘要] 随着农产品质量安全监管力度的加强,果蔬农药残留快速检测技术的应用日益广泛。本文以酶抑制法(以胆碱酯酶法为代表)与胶体金免疫层析法(以胶体金检测卡法为代表)为研究对象,从检测原理、灵敏度、特异性、操作便捷性等方面系统对比两者的优缺点^[1],旨在为基层不同检测需求提供技术选择参考,促进快速检测技术在农产品质量安全监管中的精准运用,使基层监管部门有更准确、快捷、易操作的技术手段作执法支撑。

[关键词] 农药残留; 酶抑制率法; 胶体金免疫层析法; 快速检测; 精准运用; 对比分析

中图分类号: F767.2 文献标识码: A

Analysis and comparison of advantages and disadvantages of rapid detection of pesticide residues in fruits and vegetables by enzyme inhibition method and colloidal gold immunochromatography method

Zhongxing Zeng

Zhaotong City Yanshui County agricultural products quality and safety inspection and testing station

[Abstract] With the intensified supervision of agricultural product quality and safety, the rapid detection technologies for pesticide residues in fruits and vegetables have been increasingly and extensively applied. This study focuses on the enzyme inhibition method (represented by the cholinesterase method) and the colloidal gold immunochromatography method (represented by the colloidal gold test strip method). A systematic comparison of the advantages and disadvantages of these two methods is conducted from aspects such as detection principle, sensitivity, specificity, and operational convenience^[1]. The purpose is to provide a reference for technical selection to meet different detection requirements at the grass-roots level. This will facilitate the precise application of rapid detection technologies in the supervision of agricultural product quality and safety, enabling grass-roots regulatory departments to have more accurate, efficient, and user-friendly technical means to support law enforcement activities.

[Key words] Pesticide residues; Enzyme inhibition rate method; Colloidal gold immunochromatography method; Rapid detection; Precise application; Comparative analysis

引言

农药残留超标构成了影响果蔬质量安全的关键风险因素^[2],而快速检测技术则是实现农产品生产源头管控与市场准入筛查的核心技术支撑。目前,酶抑制法(以胆碱酯酶法为代表)和胶体金免疫层析法(以胶体金检测卡法为代表)是基层监管工作中应用最为广泛的两类快速检测技术。前者基于生化反应原理,后者基于免疫识别机制,两者在技术特性和应用场景上存在显著差异。本文通过对比分析两者的核心性能指标,为检测方法的科学遴选与优化组合提供理论支撑。本文参照国家标准《蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量的快速检测》(GB/T5009.199—2003)^[3]中的酶抑制率法,对日常抽检的12种

共36批次蔬菜的有机磷和氨基甲酸酯类残留进行检测,同时参照国家标准《蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定》的国家标准(NY/T761—2008)^[4]中的定量检测法,对同一批次蔬菜水果中的农药残留组分进行检测。比较酶抑制法和胶体金免疫层析法的检测数据,采用灵敏度与准确度较高的气相色谱法,对上述两种快速检测方法的性能指标进行对比验证与评价。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

佛手瓜、青菜、白萝卜、白菜、茄子、韭菜、结球甘蓝、大葱、叶用莴苣、芹菜、柿子、橘。敌敌畏、毒死蜱、氧乐果、

水胺硫磷、倍硫磷、甲拌磷、丙溴磷、氯氰菊酯8种农药标准溶液。

1.2 仪器与设备

CL-BIII八通道残留测定仪(上海复博农业科技有限公司); 酶抑制率法农药残留检测试剂盒(上海博纳新技术研究所); 敌敌畏、毒死蜱、氧乐果、水胺硫磷、倍硫磷、甲拌磷、丙溴磷、氯氰菊酯胶体金农药残留检测卡(厦门海荭兴仪器股份有限公司)。GC-2010plus气相色谱仪(日本岛津公司); HH-6电子恒温水浴锅(常州国华电器有限公司); PRACTUM224电子天平(德国赛多利斯公司); HSC-24B氮吹仪(天津恒奥科技发展有限公司); RE-2000B旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); HFJ-25匀浆机(天津恒奥科技发展有限公司); HY-3康氏振荡器(常州国华电器有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 酶抑制法(以胆碱酯酶法为代表)

(1) 溶液配制。①将检测试剂盒中的提取液固体粉末倒入大塑料瓶中,加入510mL蒸馏水或纯净水溶解,搅拌均匀,配成提取液。②用移液枪取3.1mL提取液,加入酶试剂瓶中,盖紧瓶盖摇匀,配成酶试剂,4°C保存。③往显色剂瓶中加入2.5mL提取液,倒入棕色瓶中,重复两次,再往棕色瓶中直接加入15mL提取液,总容积为20mL,摇匀,配成显色剂,避光4°C保存。④用移液枪移取3.1mL蒸馏水或纯净水,加入底物瓶中,摇匀,配成底物,4°C保存。

(2) 样品处理。擦除蔬菜或水果表面泥土,剪成约1-2cm见方的碎片。用天平称取1g果蔬样品于烧杯中,用大移液枪抽取5mL提取液加入烧杯中,静置15min,待测。

(3) 样品测试。用大移液枪从烧杯中抽取2.5mL浸泡液至空试管中,再用小移液枪依次取0.1mL酶试剂、0.1mL显色剂加入试管中,放入25°C保温箱静置15分钟,取出后加入0.1mL底物摇匀,立即倒入比色皿中,置于检测仪比色池中进行对照测试,测试时间3min。记录抑制率。

(4) 结果判定。抑制率 $\geq 50\%$ 时,样品检测结果为阳性。阳性结果的样品需重复检验2次以上。

1.3.2 胶体金免疫层析法(以胶体金检测卡法为代表)

(1) 样品前处理。①擦除蔬菜或水果表面泥土,剪成约1cm见方的碎片。称取2.0g样品碎片于50mL离心管中。②加入5.0mL前处理试剂,振荡2min,静置1min,得到样品液。③检测前,根据胶体金检测卡使用说明书,用5mL离心管将样品液与前处理试剂按不同比例稀释,得到样品待测液。



①阴性(-): C线显色, T线(检测线)显色比C线(对照线)深或两者相近,表示样品中待测物质浓度低于检测限。②阳性(+):

C线显色, T线显色比C线浅或不显色;表示样品中待测物质浓度大于等于检测限。③C线不显色,表示操作过程不正确或检测卡已失效。

(2) 测试步骤。①从包装中取出检测卡,恢复至室温,打开后平放在桌面上,启封后在1h内立即使用。②用配套吸管吸取待测液100 μ L(约4滴)垂直滴于加样孔(S)中。③在加样后开始计时,5~8min后读取结果。

(3) 结果判定。

1.3.3 定量检测法

根据《蔬菜 and 水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定》(NY/T761—2008)定量检测方法,配制敌敌畏、毒死蜱、氧乐果、水胺硫磷、倍硫磷、甲拌磷、丙溴磷、氯氰菊酯等8种农药标准品,各溶液浓度均配制为1000mg/L;取样后添加50.0mL乙腈进行高速匀浆提取,经滤纸过滤后,将滤液转移至装有NaCl溶液的量筒中,密封后充分振荡1min后静置30min,使其层析分层,水浴蒸发浓缩后供气相色谱仪在线检测,以保留时间定性,待测液与标准溶液峰面积比较定量^[5]。以气相色谱法定量检测结果作为酶抑制法和胶体金免疫层析法中快检结果准确性的判定依据。

2 结果与分析

2.1 酶抑制率法与胶体金免疫层析法检出限比较

表1 两种农残快速检测方法的检出限结果单位: $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

农残组分	检出限		最大残留限量	
	酶抑制率法	胶体金免疫层析法	白菜	橘
敌敌畏	0.1	0.05	0.1	0.2
丙溴磷	0.5	0.05	5	0.2
氯氰菊酯	不适用	0.05	2	1
毒死蜱	0.1	0.02	0.02	1
氧乐果	2	0.05	0.02	0.02
水胺硫磷	0.5	0.05	0.05	0.02
倍硫磷	0.5	0.05	0.05	0.05
甲拌磷	0.5	0.5	0.01	0.01

为了验证酶抑制率法与胶体金免疫层析法的检出限,本文根据《蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量的快速检测》(GB/T5009.199—2003)相关规定,取经酶抑制法、胶体金免疫层析法、定量检测均为阴性的两种果蔬样品(白菜、橘),利用敌敌畏、毒死蜱等8种标准溶液配制不同浓度水平的加标样品进行检测,对酶抑制率法与胶体金免疫层析法的检出限进行验证^[6]。检出限结果与《食品安全国家标准食品中农药最大残留限量》(GB2763—2021)^[7]规定白菜与橘的最大残留限量见表1。由表1可知,敌敌畏酶抑制率法检出限为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,胶体金免疫层析

法检出限为 $0.05\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 丙溴磷、水胺硫磷、倍硫磷酶抑制率法检出限均为 $0.5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 胶体金免疫层析法检出限均为 $0.05\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 毒死蜱酶抑制率法检出限为 $0.1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 胶体金免疫层析法检出限为 $0.02\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 氧乐果酶抑制率法检出限为 $2\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 胶体金免疫层析法检出限为 $0.05\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 甲拌磷酶抑制率法检出限为 $0.5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 胶体金免疫层析法检出限为 $0.5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。由此可见, 胶体金免疫层析法的灵敏度普遍高于酶抑制率法, 其中敌敌畏、丙溴磷、毒死蜱、倍硫磷等检出限均可以满足GB2763—2021规定的最大残留限量要求, 酶抑制率法检出限则大多无法满足要求。

2.2 两种快速检测方法与定量检测方法测试结果比较

表2 两种快速检测方法与定量检测方法测试结果

试验样品	批次1 检测结果			批次2 检测结果			批次3 检测结果		
	酶抑制法	气相色谱法 /($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	胶体金法	酶抑制法	气相色谱法 /($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	胶体金法	酶抑制法	气相色谱法 /($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	胶体金法
佛手瓜	阴性	ND	阴性	阴性	ND	阴性	阴性	ND	阴性
青菜	阴性	ND	阴性	阴性	ND	阴性	阳性	2.13	阳性
白萝卜	阳性	1.25	阳性	阴性	ND	阴性	阴性	ND	阴性
白菜	阴性	ND	阴性	阴性	ND	阴性	阴性	ND	阴性
茄子	阴性	ND	阴性	阴性	0.54	阳性	阴性	ND	阴性
韭菜	阴性	ND	阴性	阴性	ND	阴性	阳性	ND	阴性
结球甘蓝	阳性	0.75	阳性	阴性	ND	阴性	阴性	ND	阴性
分葱	阴性	ND	阴性	阳性	0.27	阳性	阴性	ND	阴性
叶用莴苣	阳性	ND	阴性	阴性	ND	阴性	阳性	1.05	阳性
芹菜	阴性	ND	阴性	阴性	0.36	阳性	阴性	ND	阴性
柿子	阴性	ND	阴性	阴性	ND	阴性	阳性	0.94	阳性
橘	阴性	ND	阴性	阴性	ND	阴性	阴性	ND	阴性

采用酶抑制率法、胶体金免疫层析法与气相色谱法对佛手瓜、青菜、白萝卜等12种蔬菜共36批次测试。在采用酶抑制率法、胶体金免疫层析法测试出结果后, 再使用气相色谱法检测出实验样品相应的农残组分, 以气相色谱法定量检测结果作为酶抑制法和胶体金免疫层析法准确性的判定依据, 结果见表2。其中白萝卜批次1气相色谱法检出丙溴磷 $1.25\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 酶抑制率法与胶体金免疫层析法均为阳性; 结球甘蓝批次1气相色谱法检出敌敌畏 $0.75\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 酶抑制率法与胶体金免疫层析法检测均为阳性; 叶用莴苣批次1气相色谱法未检出, 酶抑制率法检测为阳性, 胶体金免疫层析法检测为阴性; 茄子批次2检出氯氰菊酯 $0.54\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 酶抑制率法检测为阴性, 胶体金免疫层析法检测

为阳性; 分葱批次2气相色谱法检出毒死蜱 $0.27\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 酶抑制率法与胶体金免疫层析法检测均为阳性; 芹菜批次2气相色谱法检出氧乐果 $0.36\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 酶抑制率法检测为阴性, 胶体金免疫层析法检测为阳性; 青菜批次3气相色谱法检出水胺硫磷 $2.13\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 酶抑制率法与胶体金免疫层析法检测均为阳性; 韭菜批次3气相色谱法未检出, 酶抑制率法检测为阳性, 胶体金免疫层析法检测为阴性; 叶用莴苣批次3气相色谱法检出倍硫磷 $1.05\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 酶抑制率法与胶体金免疫层析法检测均为阳性; 柿子批次3气相色谱法检出甲拌磷 $0.94\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 酶抑制率法与胶体金免疫层析法检测均为阳性。

3 结论

经气相色谱法定量检测结果与酶抑制法和胶体金免疫层析法检测结果对比可得, 酶抑制法检出限较高、灵敏度较低, 检测时间较长, 容易造成假阴性或假阳性结果, 仅限于大类检测; 胶体金免疫层析法准确度较高, 特异性强, 灵敏度高, 检测过程较为快捷, 可用于单项农残检测。在实际应用中, 监管部门在日常监管中应以胶体金法为主, 精准靶向检测, 提高检测结果准确性, 更好地保障农产品质量安全。

[参考文献]

- [1]蒙焕妮.酶抑制法和胶体金免疫层析法在基层农残检测中的应用情况研究[J].粮油科学与工程,2025,39(04):18-21.
- [2]王海萍,秦鹏.2016-2022年山东省日照市市售蔬菜农药残留情况调查分析[J].预防医学论坛,2024,30(9):704-706+714.
- [3]中华人民共和国卫生部.蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量的快速检测:GB/T5009.199-2003[S].中国标准出版社,2003.
- [4]蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定:NY/T761-2008[S],2008.
- [5]王春艳.果蔬中有机磷农药残留快速检测方法的比较分析[J].食品安全导刊,2024,(05):54-56.
- [6]罗锦霞,黄璇莹,黄启红,等.蔬菜水果中有机磷农药残留检测方法的比较研究[J].食品安全导刊,2025,(08):71-73+79.
- [7]食品安全国家标准食品中农药最大残留限量:GB2763-2021[S].中国标准出版社,2021.

作者简介:

曾中星(1998--),男,汉族,云南昭通人,大学本科,助理农艺师,研究方向为农学。