

食品中农药残留检测方法中酶联免疫吸附法的应用与优化研究

蔡怡*

(阿克苏地区市场监督管理局食品药品安全审查服务中心, 阿克苏 843000)

摘要: **目的** 本研究旨在评估酶联免疫吸附法(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)在食品中农药残留快速筛查中的应用效果。**方法** 实验基于 NY/T 761—2008 标准, 选取蔬菜和水果共 11 个样品, 采用气相色谱法作为参比方法, 平行开展 ELISA 快速检测, 评估其灵敏度、特异性和相对准确度等性能指标。**结果** 研究结果显示, ELISA 法检测的灵敏度为 66.70%, 特异性为 80%, 相对准确度为 72.70%, 在低浓度样品的检测中存在一定的假阳性和假阴性现象。**结论** ELISA 法操作简便、检测快速, 适合作为农药残留快速筛查的初筛手段; 通过优化抗体特异性、改进样品前处理及开发多重检测平台, 可进一步提升 ELISA 法的检测性能, 为食品安全快速筛查提供技术支持。

关键词: 农药残留; 食品安全; 快速筛查; 酶联免疫吸附法

0 引言

随着我国科技的快速发展, 食品安全快速筛查技术不断创新, 在很大程度上满足了市场监管和食品企业的实际需求。然而, 快速筛查过程中涉及诸多影响因素, 包括检测设备的灵敏度、检测方法的选择及操作人员的技术水平等, 这些因素的变化都可能导致检测结果的准确性受到影响^[1]。

农药残留物可能通过食物链进入人体, 引发慢性中毒等健康风险。目前, 气相色谱-质谱法和液相色谱-质谱法是实验室中最常用的标准检测方法, 具有精确度高、灵敏度好等优点。其中, 气相色谱法搭配电子捕获检测器适用于挥发性较高的农药检测; 而液相色谱法配合紫外检测器或荧光检测器则适合检测低挥发性或极性较高的农药。然而, 这些方法普遍存在检测周期长、操作复杂、成本高等局限性, 难以满足大规模筛查的实际需求。酶联免疫吸附法(ELISA)作为一种基于抗原-抗体特异性反应的检测方法, 具有操作简便、成本低廉、检测周期短等显著优势。尽管其灵敏度和特异性略逊于传统色谱法, 但 ELISA 已在市场流通和食品加工环节的快速初筛中得到广泛应用。该方法通过显色反应直观呈现农药残留情况, 可同时进行多种农药的检测, 在现场快速检测中展现出重要的应用价值。

本研究通过系统评估 ELISA 技术在食品农药残留快速筛查中的性能表现, 包括准确度、精密度、检出限等关键指标, 并

与传统色谱方法进行对比分析, 为 ELISA 技术在食品安全快速检测领域的推广应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验准备

实验样品: 从市场和食品加工厂随机采集大白菜、菠菜、苹果和葡萄。样品采集后, 先去除泥土和其他杂质, 然后切取可食部分。使用均质器处理切取的样品, 以确保样品均匀化。处理后的样品被分装保存, 作为待测样品用于后续检测^[2]。

实验试剂: 乙腈, 分析纯, 天津科密欧化学试剂有限公司; 超纯水, 电阻率 $\geq 18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$, 实验室自制; 农药残留快速检测 ELISA 试剂盒, 批号 20240101, 杭州华安生物技术有限公司。

实验仪器: Agilent7890A 型气相色谱仪, 美国安捷伦科技有限公司; ZWYR-D2280 型机械振荡提取器, 金坛市庆华仪器有限公司; TGL-16G 型高速离心机, 上海安亭科学仪器厂; FJ-200 型高速均质器, 上海标本模型厂; SEP-PAKC18 固相萃取柱, 美国 Waters 公司; FA2204B 型电子分析天平, 上海菁海仪器有限公司; FinnpiptetteF2 型移液器(100~1000 μL), 芬兰 ThermoScientific 公司。

1.2 检测步骤和参比方法

气相色谱检测: 称取 10 g 均质化样品, 加入 20 mL 乙腈提

* 通信作者: 蔡怡, 中级实验师, 研究方向为食品药品安全检验、生产工艺审查评价。E-mail: haoyan202307@163.com

取，机械振荡(1500 r/min, 10 min)，离心(5000 r/min, 5 min)收集上清液。使用 C₁₈ 固相萃取柱净化，以 5 mL 乙腈：水(90：10)洗脱。取 1 μL 净化液注入气相色谱仪进行检测，色谱条件按农药检测标准要求设置^[3]。

ELISA 快速筛查：称取 5 g 样品与 20 mL 提取液混合，室温静置 5 min 后离心(4000 r/min, 3 min)。取上清液加入检测孔，显色 10 min 后与比色卡对比判定农药残留浓度。

在本实验中，共选取了 11 个样本，包括不同类型的蔬菜和水果，如大白菜、菠菜、苹果和葡萄。每个样本切取可食部分后，经均质处理，确保样本均匀性。将处理后的样本分为两组，一组采用气相色谱法进行检测，作为参比结果；另一组采用 ELISA 试剂盒进行快速筛查。这样分组检测的设计，便于对两种检测方法的结果进行对比和分析，以更好地评估 ELISA 快速筛查技术的应用效果。

1.3 数据分析

根据《食品快速检测方法评价技术规范》^[4]，本实验对 ELISA 方法的检测结果进行全面分析，并计算以下关键性能指标。灵敏度评估 ELISA 法的最低检测限，具体为试剂盒能够检测到的最低农药浓度，衡量该方法识别阳性样品的能力。其计算公式如式(1)所示。

$$\text{灵敏度} = \frac{\text{真实阳性数 (TP)}}{\text{真实阳性数 (TP)} + \text{假阴性数 (FN)}} \times 100\% \quad (1)$$

其中，真实阳性数(TP)是指样品中确实含有农药残留且检测结果为阳性；假阴性数(FN)表示样品中有农药残留但检测结果为阴性^[5]。

特异性评估 ELISA 法对目标农药的专一性，以确保检测结果不受其他成分干扰，衡量该方法识别阴性样品的准确性。其计算公式如式(2)所示。

$$\text{特异性} = \frac{\text{真实阴性数 (TN)}}{\text{真实阴性数 (TN)} + \text{假阳性数 (FP)}} \times 100\% \quad (2)$$

其中，真实阴性数(TN)是指样品中不含农药残留且检测结果为阴性；假阳性数(FP)表示样品中不含农药残留但检测结果为阳性。

相对准确度衡量快检结果与参比方法结果之间的准确性差异，用以评估 ELISA 法在农药残留检测中的整体准确性。相对准确度的计算公式为相对准确度 = [真实阳性数(TP) + 真实阴性数(TN)] / [真实阳性数(TP) + 假阳性数(FP) + 真实阴性数(TN) + 假阴性数(FN)] 相对准确度越高，表明 ELISA 检测方法的整体准确性与参比方法的接近程度越好。本实验设计和数据分析将帮助评估酶联免疫吸附法在农药残留筛查中的实际效果和应用潜力，为其在食品安全检测中的推广提供技术支持^[6]。

2 结果与分析

2.1 实验步骤对比分析

本实验分别采用气相色谱法和 ELISA 试剂盒对样品中的农药残留进行检测。

第一，气相色谱法实验耗时较长，单个样本的完整检测流程约需 1.5~2 h。该方法对设备要求较高，需要精密的气相色谱仪、离心机及相关净化设备，仅适用于实验室环境。操作流程繁琐，包括样品提取、净化、进样等多个步骤，且对人员技术要求较高，需操作人员具备专业技能以确保检测的准确性^[7]。

第二，ELISA 试剂盒表现出快速、简便的优势，单个样本的检测可在 30 min 内完成。其设备需求较低，主要依赖便携式试剂盒和简单的离心设备，无须高精度仪器。ELISA 的操作流程简化，对技术要求较低，适合普通检测人员操作，尤其适用于时间紧迫或大批量样本筛查的情境，由于操作简单、成本较低，ELISA 试剂盒在初步筛查中具备明显优势^[8]。

2.2 局限性分析

采用气相色谱法和 ELISA 快检试剂盒分别对样品中的农药残留进行检测，对快检试剂盒的灵敏度、特异性及相对准确度等性能指标进行计算和分析^[9]。表 1 为气相色谱法检测结果。

表 1 气相色谱法检测结果

样本编号	气相色谱法检测结果(mg/kg)	气相色谱法结果	
苹果	1	0.005	阴性
	2	0.012	阳性
	3	0.018	阳性
大白菜	1	0.009	阴性
	2	0.015	阳性
菠菜	1	0.004	阴性
	2	0.014	阳性
葡萄	1	0.007	阴性
	2	0.013	阳性
	3	0.016	阳性
	4	0.005	阴性

利用气相色谱法检测样品中的农药残留，能够精确区分阳性和阴性样本，且无假阳性或假阴性现象，验证了其在实验室中的可靠性。气相色谱法因其稳定、准确，成为确认性检测的标准方法，特别适合检测低浓度农药残留。然而，该方法操作复杂、成本较高，需要专业设备和技术，限制了其在大规模快速筛查中的应用^[10]。

在气相色谱法检测结果的基础上，对同一样本的切样进行了 ELISA 检测。表 2 为 ELISA 检测的具体结果。根据以上检测结果可以计算出各关键性能指标，具体结果见表 3。

基于检测数据分析，11 个样品通过气相色谱法检出 7 个阳性样品(农药残留 ≥ 0.01 mg/kg，浓度范围 0.012~0.018 mg/kg)和 4 个阴性样品(农药残留 < 0.01 mg/kg，浓度范围 0.004~0.009 mg/kg)。ELISA 法检测结果显示：5 个真实阳性(苹果 2、3 号，菠菜 2

号, 葡萄 2、4 号), 3 个真实阴性(苹果 1 号, 菠菜 1 号, 葡萄 1 号), 1 个假阳性(大白菜 1 号, 气相色谱检出 0.009 mg/kg), 2 个假阴性(大白菜 2 号 0.015 mg/kg 和葡萄 3 号 0.016 mg/kg)。性能评估表明, ELISA 法灵敏度为 66.7%(4/6), 特异性为 80%(4/5), 相对准确度为 72.7%(8/11)。

表 2 ELISA 检测结果

样本编号	ELISA 检测结果	ELISA 结果类型	
苹果	1	阴性	真实阴性(TN)
	2	阳性	真实阳性(TP)
	3	阳性	真实阳性(TP)
大白菜	1	阳性	假阳性(FP)
	2	阴性	假阴性(FN)
菠菜	1	阴性	真实阴性(TN)
	2	阳性	真实阳性(TP)
葡萄	1	阴性	真实阴性(TN)
	2	阳性	真实阳性(TP)
	3	阴性	假阴性(FN)
	4	阴性	真实阴性(TN)

表 3 关键性能指标

性能指标	ELISA 试剂盒	气相色谱法
灵敏度	100%	66.70%
特异性	100%	80%
相对准确度	100%	72.70%

实验结果表明, ELISA 法虽然在低浓度样品中存在一定的假阴性和假阳性现象, 但总体检测效果良好。值得注意的是, 两个漏检样品(大白菜 2 号和葡萄 3 号)的农药残留浓度分别为 0.015 mg/kg 和 0.016 mg/kg, 处于较高水平, 这提示 ELISA 法的漏检并不完全取决于残留浓度; 而唯一的假阳性样品(大白菜 1 号)残留浓度为 0.009 mg/kg, 接近阴性判定临界值(0.01 mg/kg), 这种边界样品的误判在快速筛查中是可以接受的。综合来看, ELISA 法作为快速筛查手段具有实用价值, 特别适合大批量样品的初步筛查, 但对于检测呈阳性的样品仍建议采用气相色谱法进行确证, 以确保结果可靠性。

3 讨论与结论

3.1 提高抗体特异性, 降低误检率

为了提升 ELISA 试剂盒的准确性, 可以通过优化抗体的特异性和亲和力来减少假阳性和假阴性现象。抗体的特异性是检测效果的关键, 使用小分子抗体(如单域抗体)能够显著增强对目标农药的识别能力, 降低与非目标物质的交叉反应, 从而提升检测的灵敏度和特异性。虽然抗体开发初期成本较高, 但通过减少复检需求, 能够在长期运营中降低检测成本, 实现经济性和检测准确性的平衡。

3.2 优化样品前处理, 提升检测灵敏度

食品样品中的杂质常常会影响 ELISA 检测结果, 特别是在低浓度样品中更易产生假阴性。通过改进样品前处理步骤, 可

以有效提升检测灵敏度。引入分子印迹聚合物等高选择性的分离技术, 能够更精准地分离出目标农药成分, 同时排除干扰物质。此外, 采用磁性纳米颗粒等新技术辅助样品富集, 不仅能够加速前处理过程, 还能提高样品纯度和检测信噪比, 从而在不显著增加成本的前提下提升检测性能。

3.3 集成多重检测, 实现高效筛查

为提高 ELISA 试剂盒在农药残留检测中的筛查效率, 可以将多重检测功能整合到一个检测平台中。通过多重检测技术, 一个试剂盒可以同时检测多种农药残留, 大幅提升检测通量, 减少单一检测的耗材和人力成本。这种集成方案能满足大批量样品的筛查需求, 不仅节省了时间和资源, 还提高了整体经济效益。将多重检测应用于食品安全筛查, 能够实现更全面的检测覆盖, 同时有效控制成本。

本研究对比了气相色谱法和 ELISA 试剂盒在食品农药残留检测中的应用效果, 评估了 ELISA 的快速筛查优势。气相色谱法虽灵敏度和特异性高, 但检测周期长、成本高, 适用于实验室精确检测; 而 ELISA 试剂盒操作简便、成本低、速度快, 更适用于现场初筛。针对 ELISA 在低浓度样品中可能出现的假阴性问题, 研究提出了提高抗体特异性、优化前处理及多重检测功能的改进策略, 以进一步提升其在食品安全快速筛查中的应用价值。

参考文献

- [1] 张婷, 喻明辉, 覃重阳, 等. 茶叶中农药残留常规检测方法研究进展[J]. 中国茶叶, 2024, 46(08): 1-13.
- [2] 陈露婷, 章慧芳, 俞慧芳, 等. 免疫分析技术在农药残留检测中的研究进展[J]. 当代化工研究, 2024, (18): 67-70.
- [3] 张淑媛. 潍坊市食品安全快速检测技术研究[J]. 食品安全导刊, 2024, (29): 173-175, 179.
- [4] 何娟, 肖祥飞, 郎小琴, 等. 草莓农药残留快速检测试剂盒的农药敏感性及其检测准确度[J]. 农技服务, 2024, 41(09): 62-66.
- [5] 陈丛婧. 蔬菜安全检测中农残速测技术的运用分析[J]. 食品安全导刊, 2024, (25): 155-157.
- [6] 徐蕊. 食品检验中常见污染物的检测方法[J]. 食品安全导刊, 2024, (29): 125-127.
- [7] 刘顺, 黎波, 段向毓, 等. 食用水产品中兽药残留快速检测产品性能评价[J]. 食品工业, 2024, 45(11): 308-312.
- [8] 张继梅, 冯文霞, 白新明, 等. 胶体金免疫层析法在韭菜农药残留检测中的应用研究[J]. 寒旱农业科学, 2024, 3(05): 476-481.
- [9] 王扬, 柯庆青, 李诗言, 等. 水产品药物残留快速检测质量控制技术探讨[J]. 中国水产, 2024, (04): 80-83.
- [10] 王伟达, 杨睿, 郑彦婕, 等. 国内外食品快速检测方法评价技术研究[J]. 食品与药品, 2024, 26(01): 96-103.