

白俊岩,高慢慢,孙磊,等. 有机磷水解酶对甲基对硫磷的快速降解及检测[J]. 江苏农业科学,2020,48(4):186-191.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.04.035

有机磷水解酶对甲基对硫磷的快速降解及检测

白俊岩¹, 高慢慢¹, 孙磊², 程书梅¹, 霍书英²

(1. 河北农业大学食品科技学院, 河北保定 071000; 2. 河北农业大学动物医学院, 河北保定 071000)

摘要:甲基对硫磷是一种毒性较强的有机磷农药,常被用作菜农用作杀虫剂,有机磷水解酶可通过切断甲基对硫磷中的 P=O 键实现对甲基对硫磷的快速、高效降解。通过对有机磷水解酶降解条件进行优化,得到有机磷水解酶最优的农药降解条件:酶浓度为 1:1 000、pH 值为 8、降解温度为 37 ℃、降解时间为 10 min。通过气相色谱法测得有机磷水解酶对 1.5、10 μg/mL 甲基对硫磷的降解率均达到 98% 以上,因此在生产中有有机磷水解酶可作为针对甲基对硫磷的高效快速降解酶进行推广使用。

关键词:甲基对硫磷;有机磷水解酶;对硝基酚;快速降解;农药残留

中图分类号:S481+.8;X592 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2020)04-0186-06

我国是一个传统的农业大国,农药的使用量一直居于世界首位,每年达 80 万~100 万 t^[1]。为减轻病虫害对农产品的影响,滥用农药的现象经常发生。由于农药残留检测方法受限,管理监察力度不够,高毒农药的生产以及使用情况时有发生,造成水果蔬菜等农产品质量下降,农药残留量超标,严

重危害人类的健康^[2]。

甲基对硫磷是一种毒性较强的有机磷农药,虽然已被国家禁用,但总有菜农偷偷用来作高效杀虫剂,有机磷农药的广泛使用在提高农产品质量和产出的同时也存在食品安全隐患^[3]。因此,严格进行食用蔬菜有机磷农药残留的检测和控制,对于保证蔬菜品质、维护人类健康、减少土壤污染和保护环境非常重要。2011 年,黄文水报道了蔬菜中甲基对硫磷农药残留的多种检测方法,包括气相色谱法、高效液相色谱法、气相色谱-质谱联用技术等在内的诸多仪器检测方法,但这些方法均存在操作步骤繁多、回收率低、对技术条件要求高、不易广泛推广

收稿日期:2018-12-16

基金项目:国家重点研发计划(编号:2016YFF0202302-03)。

作者简介:白俊岩(1994—),女,河北承德人,硕士研究生,研究方向为食品工程。E-mail:1129901984@qq.com。

通信作者:霍书英,博士,副教授,从事农药残留和生殖内分泌研究。
E-mail:huoshuying@163.com。

based magnetic solid-phase extraction for the determination of zearalenone and its derivatives in maize by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Control,2017,79:177-184.

[11]Lehotay S J. Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study[J]. Journal of AOAC International,2007,90(2):485-520.

[12]Foods of plant origin-Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE-QuEChERS-method; European Standard EN 15662[S]. Brussels; Europe and Committee for Standardization,2008.

[13]田海英,韦凤杰,张东豫,等. RP-HPLC 法测定烟草中的质体色素[J]. 烟草科技,2009(4):32-36.

[14]农药残留试验准则:NY/T 788—2004[S]. 北京:中国农业出版社,2004.

[15]Kruve A,Künnapas A,Herodes K,et al. Matrix effects in pesticide

multi-residue analysis by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A,2008,1187(1/2):58-66.

[16]刘进奎,秦珊珊,冯书惠,等. 高效液相色谱-串联质谱法测定食用菌中农药多残留的基质效应[J]. 食品科学,2016,37(18):171-177.

[17]Garrido F A,Martínez V J L,Fernández M J L,et al. Compensation for matrix effects in gas chromatography-tandem mass spectrometry using a single point standard addition[J]. Journal of Chromatography A,2009,1216(23):4798-4808.

[18]Martínez-Galera M,López-López T,Gil-García M D,et al. A comparative study of the correction of systematic errors in the quantitation of pyrethroids in vegetables using calibration curves prepared using standards in pure solvent[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry,2003,375(5):653-660.

[19]食品安全国家标准 食品中农药残留最大限量:GB 2763—2016[S]. 北京:中国标准出版社,2017.

应用等缺点^[4]。2017 年,白云鹏等报道了有机磷水解酶在一定条件下可直接通过切断甲基对硫磷中的 $P=O$ 键,从而达到对甲基对硫磷的高效降解^[5]。因此,本试验利用有机磷水解酶对甲基对硫磷具有高效降解特性,可将甲基对硫磷分解产生等摩尔的黄色对硝基酚,通过测定产物对硝基酚的量即可计算蔬菜中甲基对硫磷农药的残留量,从而试图建立一种利用有机磷水解酶快速检测水果、蔬菜中甲基对硫磷残留量的简单可行方法,以实现水果、蔬菜甲基对硫磷的降解和检测控制。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

有机磷水解酶 (organophosphorus hydrolase, 简称 OPH) (酶活性 $\geq 11 \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{mg})$), 购自北京森根瑞亚公司; 甲基对硫磷标准品 (methyl parathion, 简称 MEP; CAS 号: 298-00-0; 购自天津一方恒益医药技术有限公司; 磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠、三氯乙酸、碳酸钠、无水乙醇、亚硝酸钠等, 均购自天津市福晨化学试剂厂; 4-硝基苯酚, 购自成都艾科达化学试剂有限公司; 乙腈、丙酮 (色谱纯) 购自德国 Merck 公司。

1.2 仪器与设备

主要的仪器有: Bio-rad 酶标仪 (美国伯乐)、Cp214 电子天平 [奥豪斯仪器 (上海) 有限公司制造]、pHS-3C 酸度计 (上海佑科仪器仪表有限公司)、YMDCY-12S 水浴氮吹仪 (上海育模仪器有限公司)、HH-W600 数显恒温三用水箱 (金坛市朗博仪器制造有限公司); 气相色谱仪 (带氮磷检测器, 备有毛细管柱, 美国 Thermo); TRACE GC ULTRA、RE-52A 型旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂)、YDp-02 型真空泵 (上海育模仪器有限公司)、通风柜 (北京欧世佳实验室家具有限公司)、QL-861 型旋涡混合器 (海门市其林贝尔仪器制造有限公司)、YDp-02 型真空泵 (上海育模仪器有限公司)、pHS-3DW 型分析天平 (上海仪电分析仪器有限公司)。

1.3 有机磷水解酶降解条件的优化

1.3.1 对硝基酚标准曲线的绘制 准确称取 0.083 64 g 对硝基酚标准品, 先用少量 95% 乙醇溶解, 然后用水定容至 100 mL, 浓度为 6 mmol/L。按表 1 分别加入不同量的对硝基酚和 50 mmol/L 的磷酸盐缓冲液 (pH 值为 8), 由 2 号管取出 500 μL 混

合液加入 3 号管混合, 然后取出 500 μL 加入 4 号管, 以此类推配成不同浓度 (0、2.5、5.0、10.0、20.0、40.0、80.0、160.0 $\mu\text{mol}/\text{L}$) 的对硝基酚标准液, 然后加入 0.5 mL 10% 三氯乙酸, 再加入 0.5 mL 10% Na_2CO_3 显色, 使用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度, 绘制对硝基酚浓度-吸光度的标准曲线, 试验设 3 次重复。

表 1 不同浓度对硝基酚标准液

编号	对硝基酚 (mL)	磷酸盐 缓冲液 (mL)	10% 三氯乙酸 (mL)	10% 碳酸钠 (mL)
1	0	0.5	0.5	0.5
2	0.08	0.92	0.5	0.5
3	0.5	0.5	0.5	0.5
4	0.5	0.5	0.5	0.5
5	0.5	0.5	0.5	0.5
6	0.5	0.5	0.5	0.5
7	0.5	0.5	0.5	0.5
8	0.5	0.5	0.5	0.5

1.3.2 不同浓度的有机磷水解酶对甲基对硫磷降解效果的影响 用 pH 值为 8 的 50 mmol/L 磷酸盐缓冲液配制不同浓度 (1:500、1:1 000、1:2 000、1:3 000、1:4 000、1:5 000、1:6 000、1:7 000、1:8 000) 的有机磷水解酶, 取 0.325 mL 甲基对硫磷和 0.175 mL 各个浓度的有机磷水解酶于离心管中, 在温度为 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下反应 1 min, 反应结束后加入 0.5 mL 10% 三氯乙酸进行终止, 再加入 0.5 mL 10% Na_2CO_3 显色, 使用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度, 并根据甲基对硫磷降解产物对硝基酚与甲基对硫磷浓度的线性关系, 计算不同浓度的有机磷水解酶对甲基对硫磷的降解率, 试验设 3 次重复。

1.3.3 不同 pH 值对有机磷水解酶降解效果的影响 分别用 pH 值为 5、6、7、8、9、10 的 50 mmol/L 磷酸盐缓冲液配制 1:1 000 的有机磷水解酶, 取 0.325 mL 甲基对硫磷和 0.175 mL 各个 pH 值的有机磷水解酶于离心管中, 在温度为 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下反应 1 min, 反应结束后加入 0.5 mL 10% 三氯乙酸进行终止, 再加入 0.5 mL 10% Na_2CO_3 显色, 使用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度, 并根据甲基对硫磷降解产物对硝基酚与甲基对硫磷浓度的线性关系, 计算不同 pH 值下有机磷水解酶对甲基对硫磷的降解率, 试验重复 3 次。

1.3.4 不同反应温度对有机磷水解酶降解效果的影响 用 pH 值为 8 的 50 mmol/L 磷酸盐缓冲液配制 1:1 000 的有机磷水解酶, 取 0.325 mL 甲基对

硫磷和 0.175 mL 有机磷水解酶于离心管中, 分别在不同温度 (4、27、37、47、57、67、77 ℃) 下反应 1 min, 反应结束后加入 0.5 mL 10% 三氯乙酸进行终止, 再加入 0.5 mL 10% Na_2CO_3 显色, 使用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度, 并根据甲基对硫磷降解产物对硝基酚与甲基对硫磷浓度的线性关系, 计算有机磷水解酶不同反应温度对甲基对硫磷的降解率, 试验设 3 次重复。

1.3.5 不同反应时间对有机磷水解酶降解效果的影响 用 pH 值为 8 的 50 mmol/L 磷酸盐缓冲液配制 1 : 1 000 的有机磷水解酶, 取 0.325 mL 甲基对硫磷和 0.175 mL 有机磷水解酶于离心管中, 在温度 37 ℃ 条件下反应不同时间 (0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、10 min), 反应结束后加入 0.5 mL 10% 三氯乙酸进行终止, 再加入 0.5 mL 10% Na_2CO_3 显色, 使用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度, 并根据甲基对硫磷降解产物对硝基酚与甲基对硫磷浓度的线性关系, 计算有机磷水解酶不同反应时间对甲基对硫磷的降解率, 试验设 3 次重复。

1.4 有机磷水解酶对甲基对硫磷降解功效的气相色谱法测定

1.4.1 甲基对硫磷浓度 - 峰面积标准曲线的绘制 用 100 mg/L 的农药标准品分别配成 2.000 00、1.000 00、0.500 00、0.250 00、0.125 00、0.062 50、0.031 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 丙酮溶液, 使用气相色谱测定峰面积, 绘制浓度 - 峰面积的标准曲线, 试验设 3 次重复。

1.4.2 有机磷水解酶对甲基对硫磷的降解反应条件 取 10 mL 1、5、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 有机磷农药工作液, 分别加入 5 mL 1 : 500 的有机磷水解酶, 对照组加入等量的磷酸盐缓冲液, 置于 37 ℃ 生化培养箱中进行降解反应, 反应 10 min 后取出迅速加入 30 mL 乙腈萃取降解反应后残留的农药底物, 颠倒混匀, 加入 5 g 氯化钠, 剧烈振荡 1 min, 4 000 r/s 离心 5 min, 取出 10 mL 乙腈相, 相当于样品量的 1/3, 移入 50 mL 旋转蒸发瓶中, 先用旋转蒸发器浓缩至 1 mL, 再用氮吹仪在室温下浓缩至近干, 用丙酮定容至 1 mL, 供气相色谱测定, 然后计算有机磷水解酶对甲基对硫磷的降解率。

有机磷水解酶对有机磷农药降解效率的计算公式:

$$R = \frac{X - X_0}{X} \times 100\%$$

式中: R 表示生物制品的降解效率; X 表示反应体系

中降解反应前标准农药的浓度; X_0 表示反应体系中降解反应结束后残留农药的浓度。

1.4.3 气相色谱测定条件 气相色谱仪型号为 Thermo TRACE GC ULTRA; 色谱柱为石英毛细管柱, DB-1701, 30 m \times 0.53 mm (内径) \times 1.0 μm (膜厚); 载气: 氮气 (纯度大于 99.999%); 载气流速为 10 mL/min, 尾吹气流速为 30 mL/min; 氢气流速为 75 mL/min, 空气流速为 100 mL/min; 柱温: 初始温度为 150 ℃, 保持 1 min, 以 20 ℃/min 升至 270 ℃, 保持 15 min; 进样口温度为 250 ℃; 检测器温度为 250 ℃; 进样方式: 不分流进样; 进样量为 1 μL ; 开阀时间为 1.5 min。

1.5 有机磷水解酶对叶类蔬菜中甲基对硫磷残留量的快速检测

1.5.1 不同浓度的甲基对硫磷与有机磷水解酶降解产物吸光值的线性关系 用 pH 值为 8 的 50 mmol/L 磷酸盐缓冲液配制不同浓度 (0.1、1.0、10.0、50.0、100.0、200.0、500.0、1 000.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的甲基对硫磷加入 1 : 500 的有机磷水解酶, 取 0.325 mL 甲基对硫磷和 0.175 mL 有机磷水解酶于离心管中, 在温度为 37 ℃ 条件下反应 10 min, 反应结束后加入 0.5 mL 10% 三氯乙酸进行终止, 再加入 0.5 mL 10% Na_2CO_3 显色, 使用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度, 绘制线性曲线图, 试验设 3 次重复。

1.5.2 叶类蔬菜中甲基对硫磷残留的快速检测

1.5.2.1 蔬菜样品的处理 选取新鲜的未接触任何农药的油菜 (来自河北农业大学试验基地), 试验组喷洒等量 1、5、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 甲基对硫磷, 静置 1 h, 对照组只喷洒相同量的磷酸盐缓冲液, 静置 1 h。采用分点取样法准确称取 10 g 蔬菜, 剪成 1 cm 见方碎片, 放入烧杯中, 加入 20 mL 乙腈浸泡 20 min。过滤得到提取液, 然后加 5 g NaCl 振荡 1 min, 3 000 r/s 离心 10 min, 取出 10 mL 乙腈相, 移入 50 mL 旋转蒸发瓶中, 先用旋转蒸发器浓缩至 1 mL, 再用氮吹仪在室温下浓缩至近干。

1.5.2.2 样品测定 向吹至近干的样品中加入 0.3 mL 磷酸盐缓冲液和 0.2 mL 浓度为 1 : 500 的有机磷水解酶, 37 ℃ 反应 10 min, 然后加入 0.2 mL 次氯酸钠和 0.3 mL 亚硝酸钠, 室温静置 10 min, 3 000 r/s 离心 3 min, 取出 0.5 mL 上清液先加入 0.5 mL 10% 三氯乙酸终止反应, 再加入 0.5 mL 10% Na_2CO_3 显色, 使用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度, 试验设 3 次重复。

2 结果与分析

2.1 对硝基酚浓度-吸光度标准曲线的建立

由图 1 可知,对硝基酚标准曲线方程为 $y = 0.0022x - 0.003$, 回归相关系数 $r^2 = 0.9997$ 。说明对硝基酚浓度与吸光度呈正相关,可以通过测定吸光度计算得到对硝基酚的浓度。

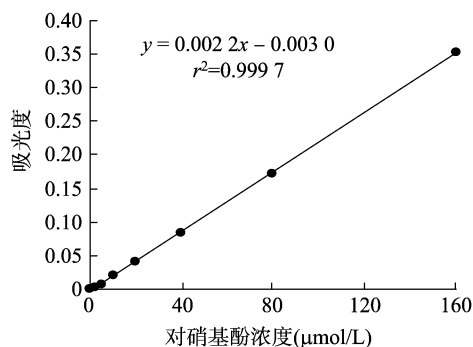


图1 对硝基酚标准曲线

2.2 有机磷水解酶降解条件的优化结果

2.2.1 不同浓度的有机磷水解酶对甲基对硫磷降解率的影响 由图 2 可知,有机磷水解酶在浓度为 1:500、1:1000、1:2000 时,对甲基对硫磷的降解率均在 96% 以上,随着有机磷水解酶浓度的降

低,对甲基对硫磷的降解率也在下降。综合考虑,选择有机磷水解酶浓度为 1:1000 进行后续试验。

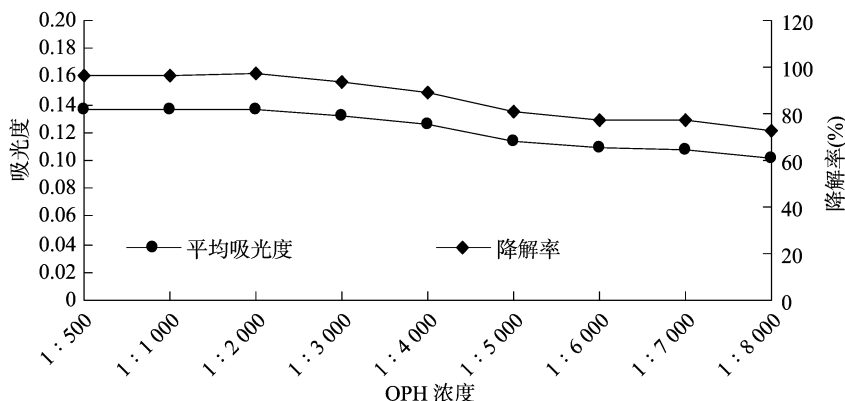


图2 不同 OPH 浓度对甲基对硫磷降解效果的影响

2.2.2 不同 pH 值对有机磷水解酶对甲基对硫磷的降解率的影响 由图 3 可知,随着 pH 值的升高,有机磷水解酶对甲基对硫磷的降解率不断升高,当 pH 值为 8 时有机磷水解酶对甲基对硫磷的降解率达到最高,为 95.55%,随着 pH 值的继续上升,有机磷水解酶对甲基对硫磷的降解率逐渐下降。所以,选择 pH 值为 8 进行后续试验。

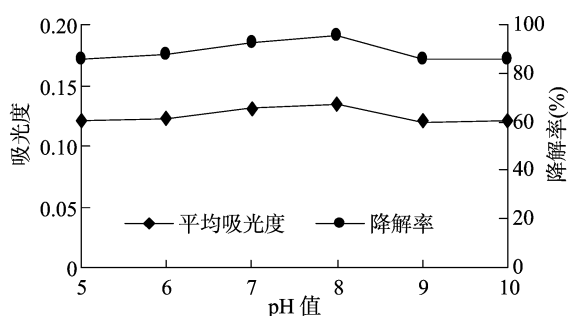


图3 不同 pH 值的 OPH 对甲基对硫磷降解效果的影响

2.2.3 不同反应温度对有机磷水解酶对甲基对硫磷的降解率的影响 由图 4 可知,随着温度的升高,有机磷水解酶对甲基对硫磷的降解率不断升高,当温度达到 47℃ 时,有机磷水解酶对甲基对硫磷的降

解率达到最高,为 94.51%。综合考虑,选择降解温度为 37℃ 进行后续试验。

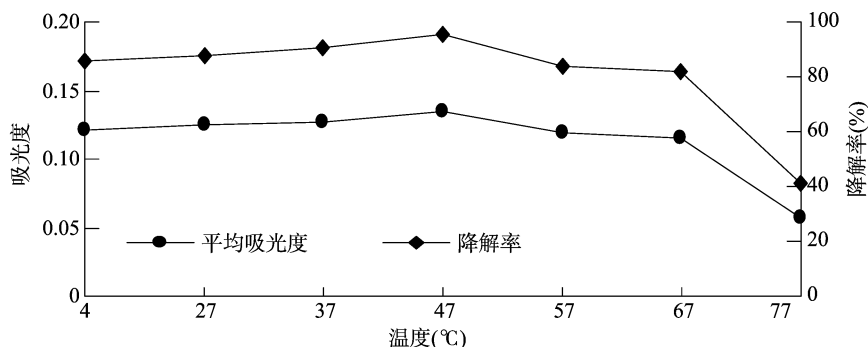


图4 不同反应温度对甲基对硫磷降解效果的影响

2.2.4 不同反应时间对有机磷水解酶对甲基对硫磷的降解率的影响 由图 5 可知,反应时间为 0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、10 min,有机磷水解酶降解率均

维持在 89% 以上。综合考虑,选择降解时间为 10 min 进行后续试验。

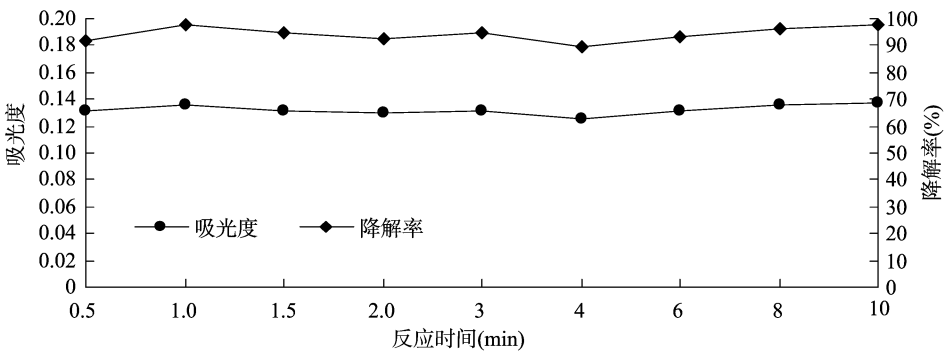


图5 不同反应时间对甲基对硫磷降解效果的影响

2.3 有机磷水解酶降解功效的气相色谱测定结果 由图 6 可知,出峰时间为 10.35 min;由图 7 可知,甲基对硫磷浓度与峰面积呈线性关系, $r^2 =$

0.998 1。由表 2 可知,有机磷水解酶(1 : 1 000)对 1、5、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的甲基对硫磷的降解率均达到 98% 以上,农药回收率均在 93% ~ 105% 之间。

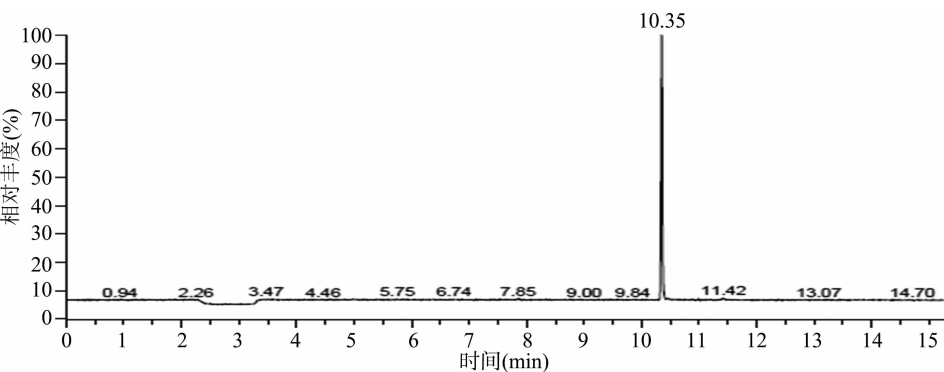


图6 甲基对硫磷气相色谱图和出峰时间

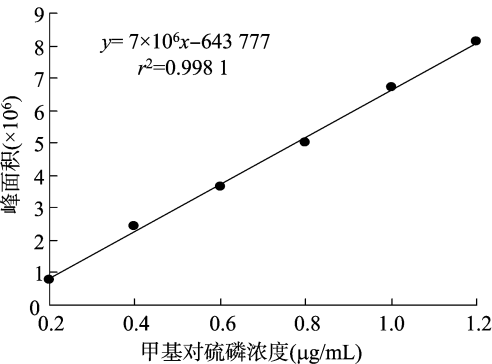


图7 甲基对硫磷浓度-峰面积标准曲线

2.4 有机磷水解酶对叶类蔬菜甲基对硫磷残留的快速检测

2.4.1 不同浓度甲基对硫磷与有机磷水解酶降解产物对硝基酚吸光度的线性关系 由图 8 可知,有机磷水解酶对不同浓度甲基对硫磷进行降解,在 1 ~ 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内降解产物对硝基酚 450 nm 下的吸光度与甲基对硫磷浓度呈线性关系,回归相关系数 $r^2 = 0.999 1$ 。因此,可利用有机磷水解酶对甲基对硫磷高效快速降解的特点,通过检测降解产物对硝基酚的含量即可计算出反应物甲基

表 2 有机磷水解酶对甲基对硫磷的降解率

农药浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	农药回收率 (%)	回收率精密度范围 (%)	农药降解率 (%)	降解率精密度范围 (%)
1	102.6	7.2	98.7	1.2
5	93.3	8.9	99.2	2.1
10	95.6	7.4	98.6	1.8

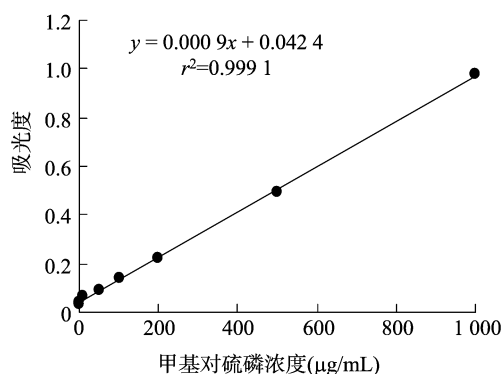


图8 不同浓度甲基对硫磷与酶降解产物吸光度的线性关系

对硫磷的量。

2.4.2 有机磷水解酶对叶类蔬菜农药残留的检测结果 由表3可知,无农药油菜喷洒不同浓度甲基对硫磷后,按“1.5.2.1”节抽提农药,利用有机磷水解酶对其进行降解,根据试验测得的 $D_{450\text{ nm}}$ 计算出油菜中农药残留量分别为 0.133、2.133、6.133 $\mu\text{g/g}$ 。此方法操作简便,高效快速,便于掌握,更有利于推广使用。

表3 快速检测法检测叶类蔬菜农药残留

农药浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	试验组 $D_{450\text{ nm}}$	对照组 $D_{450\text{ nm}}$	农药残留量 ($\mu\text{g/g}$)
1	0.056 ± 0.005	0.013 ± 0.001	0.133
5	0.067 ± 0.003	0.015 ± 0.002	2.133
10	0.082 ± 0.006	0.012 ± 0.001	6.133

3 结果与讨论

通过对有机磷水解酶降解条件进行优化,得出有机磷水解酶最优的农药降解条件:酶浓度为 1:1 000、pH 值为 8、降解温度为 37 $^{\circ}\text{C}$ 、降解时间为 10 min。通过气相色谱法测得有机磷水解酶对 1、5、10 $\mu\text{g/mL}$ 甲基对硫磷的降解率均达到 98% 以上,因此在生产中有机磷水解酶可作为针对甲基对硫磷的高效快速降解酶进行推广使用。另外,利用有机磷水解酶对甲基对硫磷具有高效降解特性,建立了一种简便快速检测水果、蔬菜中甲基对硫磷残留量的新方法。

首先建立甲基对硫磷不同浓度和有机磷水解酶降解产物对硝基酚吸光值的标准曲线,并参照国家标准^[6]中叶类蔬菜农药残留量的测定方法中农药的抽提方法并加以改进,建立了相对稳定的有机磷水解酶反应体系和残留农药的抽提方法,并进行了多次重复,结果稳定。此方法操作简便,高效快

速,便于掌握,检测成本低,因此更有利于在生产中推广使用,这种快速检测法的建立,可在监督环节发挥重要作用,有利于及时发现问题、采取措施^[7]。

蔬菜是人们餐桌上必不可少的食物,但农药残留超标问题已引起社会各界的广泛关注,利用有机磷水解酶对甲基对硫磷的高效快速降解的特点,通过喷洒有机磷水解酶解决甲基对硫磷类农药的残留问题,并通过快速检测水果、蔬菜中甲基对硫磷的残留量,控制高残留农药蔬菜水果流入市场,降低农药中毒发生率,保障消费者的安全^[8]。

随着人们对水果、蔬菜中农药残留及食品安全性问题的关注,及各种技术纵向的发展与横向的联用,农药残留快速检测技术的研究也将不断深入发展^[9],在提出的高效快速检测方法的基础上还可以利用有机磷水解酶进一步研制更便捷的农药残留检测产品,比如农药测定试剂盒^[10]、检测试纸^[11]或便携式分光光度计检测枪等,这些产品若研制成功将实现随时随地对水果蔬菜进行农药残留检测,确保水果蔬菜的安全性,为人类健康保驾护航。

参考文献:

- [1] 谢建飞,卢宗云.一种清洗果蔬农药残留的新技术——农药残留“酶”降解技术[J].中国洗涤用品工业,2012(8):77-79.
- [2] 李红英,王淑华,杨红娟,等.甲基对硫磷在小白菜上的降解动态及最终残留量[J].宁夏工程技术,2003(4):340-341.
- [3] 马倩倩.有机磷农药速测膜的研制[D].金华:浙江师范大学,2011.
- [4] 黄文水.蔬菜中有机磷农药残留量的检测[J].科技信息,2011(29):851,591.
- [5] 白云鹏,程欢,许建和.有机磷水解酶的挖掘、改造及应用[J].微生物学报,2017,57(8):1168-1179.
- [6] 中华人民共和国农业部.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/T 761—2008[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [7] 王林,王晶,张莹,等.蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量的快速检测方法研究[J].中国食品卫生杂志,2003(1):39-41.
- [8] 张俊,王定勇.蔬菜的农药污染现状及农药残留危害[J].农村经济与科技,2004(3):16-17.
- [9] 胡蓉.酶抑制法在蔬菜农药残留快速检测中的应用[J].辣椒杂志,2013,11(4):42-44.
- [10] 桂文君.农药残留 ELISA 速测试剂盒产业化技术研究[D].杭州:浙江大学,2007.
- [11] 刘畅,路磊,李书谦,等.试纸法快速检测果蔬中有机磷及氨基甲酸酯类农药残留[J].中国食品学报,2012,12(6):154-158.