



農藥殘留快速檢驗試劑

Rapid Bioassay for Pesticide Residues
(RBPR) Reagent Kit

500 tests / 1000 tests

使用說明書
Operation Manual



吾酶土生物科技股份有限公司
WuMaiTo Biotechnology Co., Ltd.

41362 台中市霧峰區中正路131號(後棟)
電話 04-2331-7869 傳真 04-2331-7859
網址 www.wumaito.com

目錄

一、產品說明.....	1
二、檢測原理.....	1
三、產品內容.....	2
產品包裝規格.....	2
儲存條件.....	2
四、試劑配製說明.....	3
蒸餾水添加量.....	3
試劑配製操作方法.....	3
試劑配製說明.....	4
五、操作流程.....	5
酵素活性測試.....	5
對照組測試.....	6
取樣流程.....	7
樣品組測試.....	8
六、結果判讀.....	9
抑制率之計算方式.....	9
抑制率判定標準.....	9
農藥類別判定.....	10
七、注意事項.....	10
八、未提供之必要實驗器材.....	11
九、疑難排解.....	12

一、產品說明

經由特殊品系家蠅體內提取出乙醯膽鹼酯酶(酵素)，在經過國內農政單位近20年的研究及技術實際應用證實，該酵素(AChE)的活性及偵測毒物敏感度為全世界最高，尚無其他產品可以超越。應用此酵素發展「蔬果農藥殘毒快速檢測法」，檢測農作物農藥殘留，可快篩近百種有機磷及氨基甲酸鹽類殺蟲劑之累計毒性。

二、檢測原理

有機磷及氨基甲酸鹽類殺蟲劑會抑制乙醯膽鹼酯酶(AChE)之活性，其抑制率與農藥之濃度呈正相關。在正常情況下，乙醯膽鹼酯酶(AChE)可將基質(ATCI)分解為乙酸及硫代膽鹼，硫代膽鹼與呈色劑(DTNB)反應會產生黃色產物。利用在波長412nm下吸光值的變化量(da/min)計算出抑制率，可用來判斷樣品中是否有有機磷及氨基甲酸鹽類農藥殘留。

三、產品內容

產品包裝規格

項次	內容物	500 Tests	1000 Tests
1	乙醯膽鹼酯酶(酵素)(AChE)	1瓶	2瓶
2	基質(ATCI)	1瓶	2瓶
3	呈色劑(DTNB)	1瓶	2瓶
4	緩衝液(PBS buffer)	3瓶(小)	3瓶(大)
5	溴水(Bromine)	5瓶	10瓶
6	操作說明書	1份	1份

- * 請於收到此套組後細心檢視以上表列中各項組成及數量，若有任何缺失，請立即反應。
- * 蔬果農藥殘毒快速檢驗另需自備95%酒精(請採用公賣局藥用酒精)。

儲存條件

1. 除溴水外，試劑不論是粉狀或液狀(已稀釋)，建議冷凍保存。
2. 緩衝液粉末為避免受潮，可儲存於0° C以下，配製成溶液後可儲存於室溫下30天(若要保存更久，可先分裝並儲存於0° C以下)。
3. 溴水儲存於室溫。

保存期限

1. 試劑粉末儲存於0° C以下可保存兩年。
2. 試劑粉末配製成溶液後可於0° C以下保存180天。
3. 溴水保存期限半年，褪色後即失去效用。

四、試劑配製說明

蒸餾水添加量

項次	內容物	蒸餾水添加量	
		500 Tests	1000 Tests
1	乙醯膽鹼酯酶(酵素)(AChE)	10ml	10ml
2	基質(ATCI)	10ml	10ml
3	呈色劑(DTNB)	50ml	50ml
4	緩衝液(PBS buffer)	500ml	1000ml
5	溴水(Bromine)	無	無

試劑配製操作方法

1. 每瓶乙醯膽鹼酯酶(AChE)，加入10ml蒸餾水溶解，需先調整酵素活性後分裝，並保存於0°C以下。
2. 每瓶基質加入10ml蒸餾水溶解，分裝後保存於0°C以下。
4. 每瓶呈色劑加入50ml蒸餾水溶解，分裝後保存於0°C以下。
5. 每瓶緩衝液以1000ml/500ml蒸餾水溶解後，於室溫可保存30天。
6. 溴水保存於室溫可保存半年。
7. 試劑使用前需回溫至室溫後才可進行檢測。

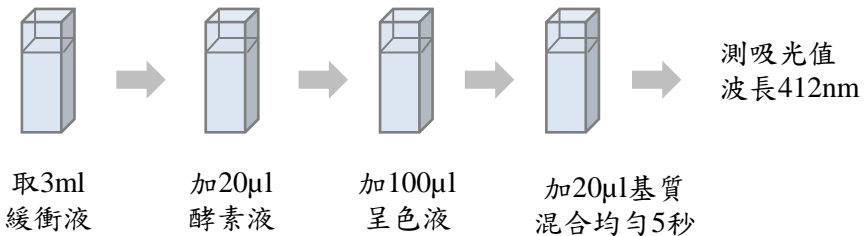
試劑配製說明

1. 若無蒸餾水時，可使用市面上販售之純水替代，勿使用礦泉水、RO逆滲透水...等。
2. 酵素試劑建議分裝成1ml/管，以避免反覆冷凍、解凍，每次取一支使用。
3. 呈色劑試劑建議分裝成3~5ml/管，以避免反覆冷凍、解凍，每次取一支使用。
4. 基質試劑建議分裝成1ml/管，以避免反覆冷凍、解凍，每次取一支使用。
5. 緩衝液粉末不易溶解，配製時請注意務必確定完全溶解後再使用。
6. 因溴水易揮發，使用時請盡量縮短打開瓶蓋的時間，使用後請旋緊瓶蓋。若每次使用量較少，建議先進行分裝，以延長保存時間，保存期限半年。

五、操作流程

酵素活性測試

1. 取3ml緩衝液加入比色管內。
2. 加入20 μ l酵素。
3. 加入100 μ l呈色液。
4. 加入20 μ l基質。
5. 將溶液混合均勻後，放入分光光度計在波長412nm下量測每分鐘吸光值的變化 (da/min) 。



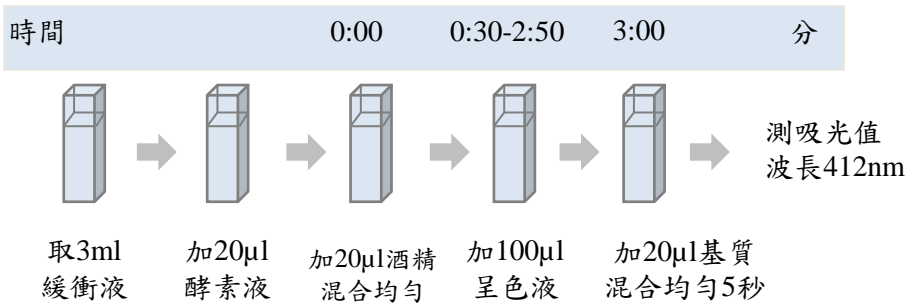
- * 每瓶酵素配製好後都需檢測酵素活性，酵素活性需在0.40-0.50 da/min之間。當酵素活性高於0.50 da/min時，依酵素濃度調整公式加蒸餾水稀釋，低於0.40 da/min時則需加入「酵素粉末」提高其活性，調完活性後即可分裝。
- * 調完活性分裝後，再取出使用時活性界於0.2-0.6都可直接使用。
- * 酵素濃度調整公式：

蒸餾水添加量=(實測da/min值-0.45)/0.45X總體積

對照組測試

1. 取3ml緩衝液加入比色管內。
2. 加入20 μ l酵素。
3. 加入20 μ l 95%酒精，將溶液混合均勻，並開始計時。
4. 於30秒後至2分50秒之間加入100 μ l呈色劑(建議固定一個時間點加入呈色劑，如:1分鐘整)。
5. 於3分鐘整時加入20 μ l基質。
6. 將溶液混合均勻後，放入分光光度計在波長412nm下量測每分鐘吸光值的變化 (da/min)。

* 連續兩次對照組測試誤差需小於0.01才能繼續樣品組測試

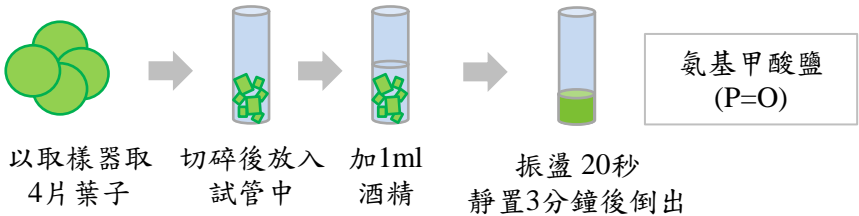


樣品萃取流程

每件樣品皆需同時檢測氨基甲酸鹽類殺蟲劑與有機磷類殺蟲劑

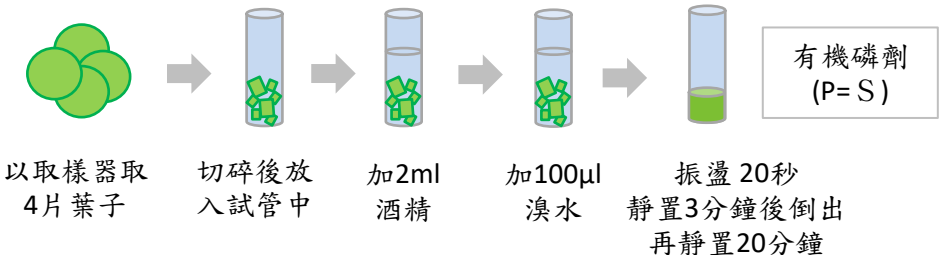
檢測氨基甲酸鹽：

1. 以內徑約1英吋的不鏽鋼管切取蔬菜樣品4片或1公克蔬果樣品，稍加切碎後置於玻璃試管中。
2. 在試管中加入1ml 95%酒精，振盪20秒後靜置3分鐘。
3. 3分鐘後將萃取液倒至另一乾淨的試管中。



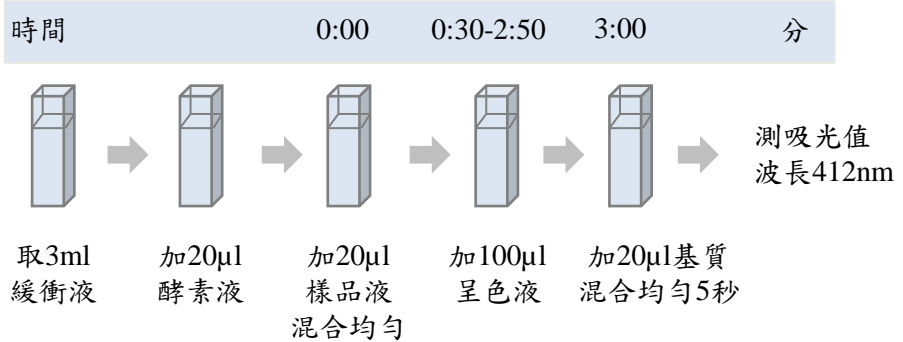
檢測有機磷劑：

1. 以內徑約1英吋的不鏽鋼管切取蔬菜樣品4片或1公克蔬果樣品，稍加切碎後置於玻璃試管中。
2. 在試管中加入2ml 95%酒精以及100 μ l溴水，振盪20秒後靜置3分鐘。
3. 3分鐘後將萃取液倒至另一乾淨的試管中，並靜置20分鐘等溴水揮發後，方可進行檢測。



樣品組測試

1. 取3ml緩衝液加入比色管內。
2. 加入20 μ l酵素。
3. 加入20 μ l樣品液，將溶液混合均勻，並開始計時。
4. 於30秒後至2分50秒之間加入100 μ l呈色劑(建議固定一個時間點加入呈色劑，如:1分鐘整)。
5. 於3分鐘整時加入20 μ l基質。
6. 將溶液混合均勻後，放入分光光度計在波長412nm下量測每分鐘吸光值的變化 (da/min)。
7. 依吸光值變化速率與對照組之差異計算其抑制率(檢測結果)。



六、結果判讀

抑制率之計算方式：

$$\text{抑制率(\%)} = \frac{\text{對照組之吸光值} - \text{樣品之吸光值}}{\text{對照組之吸光值}} \times 100$$

抑制率判定標準：

抑制率	建議處理方式
≤ 35%	有機磷與氨基甲酸鹽類農藥殘留疑慮較小，可清洗後安心食用
35%-45%	有機磷與氨基甲酸鹽類農藥疑似殘留，建議加強清潔
≥ 45%	有機磷與氨基甲酸鹽類農藥可能超標

農藥類別判定

農藥類別	無溴水	加溴水	結果
氨基甲酸鹽 (P=O)	陽性反應 (抑制率>35%)	陽性反應 (抑制率>35%)	無溴水與加溴水組別抑制率相近
有機磷劑 (P=S)	陰性反應 (抑制率<35%)	陽性反應 (抑制率>35%)	無溴水與加溴水組別抑制率落差大

七、注意事項

1. 試劑使用前皆請先回溫至室溫，並混合均勻後再使用，使用完畢後儲存於 0°C 以下。
2. 溴水請於通風處使用，以確保人員健康。
3. 未使用完的溴水可保存於螺蓋玻璃瓶中，以避免溴水揮發，褪色後請勿使用。
4. 酵素活性會隨溫度改變，溫度上升時酵素活性會變高，因此建議在恆溫(25°C)的環境下進行檢測。
5. 酵素活性若因溫度變化而改變時，活性範圍在 0.20-0.60 da/min 之間皆可正常使用，但第一次配製完成時需調整酵素活性到 0.40-0.50 da/min 之間。
6. 使用比色管時，請拿霧面的兩側，勿觸摸比色管的透明面，指紋、刮痕、水痕皆會干擾檢測結果，建議半年更換一次。

八、未提供之必要實驗器材

儀器	<ol style="list-style-type: none">1. 分光光度計：可讀取波長412nm之吸光值變化2. 20 μl自動吸管3. 100 μl自動吸管4. 5000 μl自動吸管5. 計時器
耗材	<ol style="list-style-type: none">1. 4ml 比色管2. 200 μl自動吸管套3. 5000 μl自動吸管套4. 玻璃試管5. 塑膠離心管6. 石蠟膜
試藥	95%酒精（公賣局藥用酒精）

九、疑難排解

問題	可能原因及建議
抑制率出現負值	<p>實驗誤差： 可能為實驗操作的誤差，建議吸取樣品及試劑時，要注意吸取的量是否準確。</p> <p>環境溫度變化太大： 若連續3次以上出現負值，可能是因環境溫度變化太大產生的影響，建議重新做對照組，並儘量避免在溫度變化大的環境下進行檢測。</p> <p>樣品含水量較多： 若蔬果樣品的含水量較大，容易產生懸浮物，造成抑制率出現負值。</p> <p>特殊樣品： 部份品項的樣品，因澱粉值含量較高，檢測時容易出現負值。</p>

問題	可能原因及建議
<p>酵素活性 太高或太 低</p>	<p>溫度變化大： 酵素活性會隨溫度改變，溫度上升時酵素活性會變高，因此建議在恆溫的環境下進行檢測。</p> <p>酵素變質： 若配製酵素時未正確使用蒸餾水，或酵素未適當保存，可能會導致酵素變質，而影響酵素活性。</p>
<p>未出現呈 色反應</p>	<p>未加入酵素、呈色劑或基質： 檢測過程中未加入酵素、呈色劑或基質，建議重新檢測。</p>
<p>基質變黃</p>	<p>基質污染： 實驗操作過程中需注意吸取不同試劑時，需更換自動吸管套，避免試劑交叉污染。</p>

十、相關連結

- 操作影片



- 吾酶土公司資訊



官網



FB



LINE

