

農藥殘留免疫檢測技術

在農產品安全上的應用

農試所應動組 申屠萱 張淑貞 高靜華

一、前言

近年來國內食安問題層出不窮，包括農產品亦傳出多起農藥殘留過量事件，引發民眾對於農產品食用安全的疑慮。為因應此食安問題，衛生福利部食品藥物管理署（食藥署）與行政院農業委員會農糧署（農糧署）於105年下半年起加強每月抽驗市售農產品之件數，並依據抽驗結果，對違規業者及農民等依法開罰，希望能減少農藥不當殘留情形。食藥署與農糧署採用的檢驗方法為食藥署公告的方法，即「食品中殘留農藥檢驗方法-多重殘留分析方法(五)」，可檢測310項農藥（食藥署，2014）。此檢驗方法雖然精準，但檢驗費用高，檢測及分析需耗費數日，對於有保存時效性的生鮮農產品來說，無法及時攔阻殘留農藥違規之農產品上市，影響民眾食用農產品安全。為因應農產品殘留農藥即時快篩需求，農業試驗所在1985年研發「農藥生化快篩方法」，可快速篩檢有機磷、氨基甲酸鹽類等神經劇毒農藥及部份殺菌劑。由於具備檢驗費用低、檢測流程簡便快速可當日完成等優點，經多年推

廣，現今已有300餘處果菜批發市場、農會、合作社場、民間食品業者、超市連鎖業者及團膳業者等廣設「生化檢驗站」，建立由產地至消費通路之蔬果農藥殘留把關體系。以台北農產運銷公司經營之果菜市場為例，2016年抽驗86,886件蔬果年平均驗出不合格農藥殘留約140件，具風險蔬果均能及時扣留銷毀，確實達到攔阻殘留違規農藥之農產品流入市面之功效。惟因農藥類型、種類仍持續增加，因此本所特別針對食藥署及農糧署常檢出不合格之高風險農藥種類，研發農藥免疫檢測技術，期能強化把關效能。

農藥免疫檢測技術是應用免疫學原理，研發可快速篩檢農藥的技術，為新一代的農藥殘留快篩技術。原則上每種農藥都有機會研發出其相對應的抗體，據此抗體開發出具有辨識專一性、可定量、高靈敏度及檢測流程簡便快速等優點之農藥免疫檢測技術，以滿足產銷單位進行農產品農藥殘留自主把關的需求。

二、免疫檢測技術原理

免疫檢測技術是基於抗體與抗原具特异性結合的原理，研發設計、合成

作者：申屠萱 技佐
連絡電話：04-23317606

抗原，再將抗原注射入動物體內，誘發動物免疫反應，產生可辨識此抗原的抗體。此抗體可進一步作為生物化學感測器，搭配不同分析方法用以檢測抗原並可定量分析。免疫檢測隨著分析技術的日益進步，已發展出多種免疫檢測分析方法，其中以酵素連結免疫吸附分析法 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 為普遍應用之方法。ELISA 廣泛使用辣根過氧化物酵素 (Horseradish peroxidase, HRP) 來標記抗體或抗原，在抗體與抗原結合反應完成後加入受質，受質經標記的 HRP 酵素催化反應產生的產物量，會隨酵素多寡而異。產物量愈多，則呈色愈深，經由酵素免疫分析儀 (ELISA reader) 可將呈色深淺程度轉換成吸光值，再藉由標準曲線來推算參與反應的抗體或抗原量。免疫檢測技術因具有可定性、定量、具專一性及高敏感度等優點，在人類醫學檢驗上的應用廣泛，其概念及分析技術也可以應用在農作物上的農藥殘留檢測。

三、農藥免疫檢測技術簡介

開發農藥免疫檢測技術，首要之務是需取得農藥抗體。一般能誘發動物產生抗體的免疫抗原通常為分子量 10 kDa 以上的蛋白質，農藥為小分子化合物，分子量小，不易誘發動物免疫反應產生抗體。因此需先將具有農藥分子結構的半抗原與蛋白質載體進行連結反應，合成可誘發動物免疫反應的大分子抗原。後續再誘發動物免疫反應產生抗體，該抗體即可辨識標的農藥之特異結構。適

合發展農產品農藥快篩的農藥抗體，除對農藥需具備專一性外，靈敏度也需足夠，即農藥 ELISA 檢測之偵測極限需低於法定農藥殘留容許量。

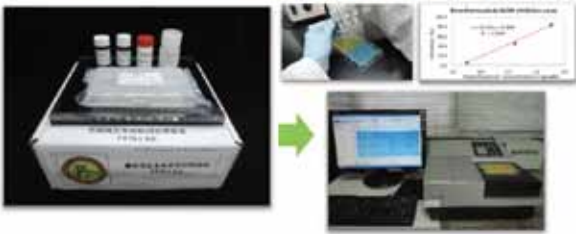
ELISA 是由 Engvall 和 Perlman 於 1971 年首次發表，因兼具專一性及高靈敏度，且操作容易、快速，故廣泛應用於各種檢驗。而因檢測目標性質不同，也衍生出許多 ELISA 類型，其中較適合發展農藥檢測商品者為直接競爭型 ELISA (Direct competitive ELISA, dc-ELISA)。直接競爭型 ELISA 是將農藥抗體固定在微量孔盤，再將含農藥的樣品和已標記 HRP 酵素的農藥半抗原 (簡稱酵素結合體) 同時加入，此農藥與酵素結合體二者會一起競爭與農藥抗體結合的機會，經清洗去除游離部份後，最後和農藥抗體結合的複合物會被留在微量孔盤內。此時再加入受質，受質可受 HRP 酵素催化反應產生產物而呈色，即可經由 ELISA reader 判讀呈色深淺程度。例如，當樣品中待測農藥濃度越高時，與農藥競爭的酵素結合體可留在盤底的量就越少，即催化受質的酵素越少、產物越少，最終呈色就越淺，再由標準曲線反推得到與酵素結合體競爭的農藥量，最終即可推算得到樣品中的農藥濃度。

四、檢體前處理技術及農藥回收率

農藥 ELISA 檢測方法之樣品萃取流程簡單，不需使用劇毒有機溶劑，且較公告農藥檢驗方法的檢驗時間快速許多。本所自 2011 年起即以免疫檢測技術

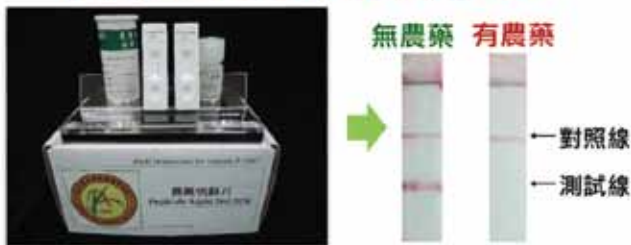
為基礎，研發並建立多種農藥之免疫檢測技術，並逐一針對多項農產品進行農藥回收率測試。以達滅芬為例，目前已開發的達滅芬 ELISA 檢測技術之偵測極限為 0.04 ppb，其靈敏度優於我國農產品公告儀器檢出限界(即最低殘留容許量) 10ppb之 250 倍。測試時於小白菜、青江菜、菜豆、小黃瓜、青椒、荔枝等農產品表皮外加達滅芬商品農藥，經風乾後採用本所研發推廣之農藥殘留生化快篩法的樣品前處理方法，即以酒精震盪萃取定量的農產品 (Chiu et al., 1991)。將此酒精萃取液再以緩衝液稀釋後，進行達滅芬 ELISA 檢測，並經由標準曲線推算樣品上殘留的達滅芬濃度，可得達滅芬回收率為 76.2-119.8% (張等未發表資料，2016)，檢測時間僅需 90 分鐘。

農藥快篩 ELISA 套組/90分鐘/免疫檢測儀



圖一、本所研發多種農藥免疫檢測技術，可發展單一或多合一農藥 ELISA 檢測套組。

農藥快篩片/10分鐘/無需儀器



圖二、應用農藥免疫檢測技術可發展農藥免疫快篩片，出現兩條紅線代表農藥未超標，僅出現一條紅線時，代表農藥過量。

五、農藥快篩商品

依據國內外已有免疫檢測商品類型，本所研發之農藥免疫檢測技術可發展農藥 ELISA 試劑套組及農藥免疫快篩片，研發現況概述如下：

(一)農藥 ELISA 試劑套組

國內在動物用藥及植物病毒檢測已有多種免疫檢測商品，農藥 ELISA 試劑套組目前尚無相關產品上市，但在日本、美國及加拿大則已有數十種商品，如日本 HORIBA 公司推出之公司推出之 SmartAssay Series，目前有 21 種農藥的 ELISA 檢測試劑套組。

本所針對食藥署與農糧署近年來常檢出違規使用的高風險農藥，選取亞滅培、賽速安、克凡派、芬普尼、待克利、

達滅芬…等農藥研發農藥免疫檢測技術，目前已發展 16 種農藥抗體，可檢測 13 類 19 種農藥。並於 2015 年 12 月公告技轉多種常檢出農藥免疫檢測技術，可發展農藥 ELISA 檢測套組(圖一)或農藥免疫快篩片(圖二)。未來可依檢驗單位及產銷團體需求，進一步整合成同類作物之多合一農藥 ELISA 檢測套組，一次可檢驗該作物類別常用之 8-12 種農藥，以期增加快篩農藥種類。食藥署於 2015 年抽驗農產品檢出農藥殘留不合格有 349 件，本所目前已發展的農藥免疫檢測技術即可檢出其中 184 件 (方等，2016)。未來若能落實應用這些農藥免疫檢

測技術，將可大大提升農藥快篩效能，增進農產品食用安全。

(二) 農藥免疫快篩片

國內外目前尚無農藥免疫快篩片商品，但在動物用藥方面，國內針對漁畜產品之抗生素及瘦肉精等已有免疫快篩片商品。農藥免疫快篩片係根據已建立的農藥免疫檢測技術，結合紅色膠體金與免疫層析方法所衍生出來的檢測試劑型式，當檢測樣品中無農藥時，會出現兩條膠體金的紅色線條，若樣品中有農藥時則僅會出現一條紅線(圖二)。農藥免疫快篩片因具備抗體的專一特性，所以檢體僅需簡單處理即可檢測，反應時間僅需 5-10 分鐘，不需搭配儀器，可直接以肉眼判讀，不但適合檢驗站操作，亦適合農民與消費者自主檢測。本所已於 2016 年 8 月將芬普尼及達滅芬兩種農藥免疫檢測技術，以非專屬授權方式轉移生技廠商發展免疫快篩片，預計一年內應有產品可上市。

六、結語

農藥免疫檢測是應用抗體與抗原特異性結合的原理，所發展之新一代的農藥殘留快篩技術，應用直接競爭型 ELISA 可搭配免疫分析儀，單一農藥檢測套組一次最多可同時檢測 93 件樣品；若組合成 8 種農藥多合一檢測套組，則可同時檢測 9 件樣品，一次檢測流程僅需 90 分鐘，當日即可研判是否有殘留風險。搭配膠體金所研製之快篩片 10 分鐘就能呈色，不需儀器即可判讀結果。未來若能搭配技術漸臻成熟的微型晶片發

展農藥晶片，預期可同時檢測同一檢體上的多種農藥及把關濃度，可因應同種藥劑在不同作物安全容許量之差異。現階段農試所發展農藥之免疫檢測技術，可供發展 ELISA 試劑組、快篩片、農藥晶片，亦可視產銷單位需求，進一步開發整合型之農藥檢驗試劑套組。未來這些農藥免疫檢測產品可用於生產端、超市賣場檢驗站及消費端等各層級，搭配目前本所已推廣之生化把關檢驗體系，將可提升農藥快篩效能，落實為農產品安全把關。

七、參考文獻

方亞玄、蔡宜芳、余婉慈、楊千慧、劉芳銘、盧美蓉、黃景義、林永賓、施義雄、李盈霖、林滌雯、陳純敏。2016。104年度市售農產品殘留農藥監測。食品藥物研究年報。7: 37-52。

衛生福利部食品藥物管理署。2014。食品中殘留農藥檢驗方法-多重殘留分析方法(五)。103年7月3日部授食字第1031900615號公告修正。

衛生福利部食品藥物管理署。2016。農藥殘留容許量標準。105年5月9日部授食字第1051301360號公告修正。

Chiu, C. S., C. H. Kao, and E. Y. Cheng. 1991. Rapid bioassay of pesticide residues (RBPR) on fruits and vegetables. Jour Agric Res China 40: 188-203.

Engvall, E., and p. Perlmann. 1971. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. Immunochemistry 8: 871-874.