

有机磷类农药残留检测技术的应用

幸红星¹, 潘晓威², 黄勇平³, 王丽蓉²

(1. 中国热带农业科学院 分析测试中心, 海南 海口 571101;

2. 海南大学 食品学院, 海南 海口 570228; 3. 海南省植保植检站, 海南 海口 570203)

摘要: 作为一类高效、广谱的杀虫剂, 有机磷类农药被广泛用于农作物病虫害防治领域, 但它产生的危害也不容忽视。论述了近年来国内外有机磷类农药检测技术的应用, 比较各种方法的优缺点, 为农药残留检测的应用提供了参考。

关键字: 有机磷类农药; 残留; 检测

中图分类号: O657.3

文献标识码: B

文章编号: 1006-3757(2012)04-0234-05

长期以来, 农药的使用对防治病虫害和提高农业经济效益都起到了不可忽视的作用, 如果不使用农药, 全世界农业每年因病、虫、草害造成的损失额将高达 1 260 亿美元^[1]。农作物施用农药之后, 农药绝大部分转化, 但同时农作物内往往会有少量的残留, 长时间摄食残留农药, 将会直接或间接的影响人体健康^[2]。

因为高效、快速、广谱等诸多特点, 有机磷类农药一直在农药中占有非常重要的地位, 对我国农业的发展起了至关重要的作用。但是随着近几年来有机磷类农药的广泛使用, 暴露出了很多问题, 如高残留、毒性强等。2002 年中华人民共和国公布的第 199 号公告明令禁止在蔬菜、果树、茶叶、中草药材上使用和限制使用的农药共有 19 种, 其中有机磷农药占 17 种^[3]。在消费者日益关注食品安全的今天, 其暴露出来的问题已经引起了人们的高度重视^[4]。

1 有机磷类农药残留的危害

大多数有机磷类农药都属于磷酸酯类或硫代磷酸酯类化合物, 有机磷酸脂类化合物纯品多为油状, 少数为结晶固体。硫代磷酸脂类化合物纯品为白色晶状粉末, 无臭, 无味。我国已生产和使用的有机磷类农药种类达数 10 种之多, 其中比较常见的有敌百虫、敌敌畏、乐果、马拉硫磷等。我国 GB5127-85 中

有明确规定: 粮食中的敌敌畏限量标准为 0.1 mg/kg, 对硫磷限量标准为 0.1 mg/kg, 马拉硫磷限量标准为 3 mg/kg^[5]。

作为典型的酶毒剂, 有机磷类农药以通过消化道摄入, 也可以通过皮肤、粘膜、呼吸道吸收^[6]。中毒特征主要是血液中胆碱酯酶活性下降, 胆碱酯酶的活性受到抑制, 导致神经系统机能失调, 从而使一些受神经系统支配的脏器, 如心脏、支气管、肠、胃等发生功能异常, 引发身体不良状况^[7]。有机磷类农药所引起的食物中毒现象在我国农药食物中毒事件中高居首位^[8]。

部分非持久有机磷类农药在一定的环境条件下也会有一个较长的残留期, 并在体内产生蓄积。如马拉硫磷是一种高选择性有机磷类农药, 在农产品中的残留不容忽视。马拉硫磷对水生生物属高毒农药, 对人体免疫功能也具有一定的毒性作用, 已成为一个重要的水环境监测项目^[9]。因此, 加强对有机磷类农药的残留监测及对其使用的有效管理, 对保护生态环境、避免不必要的农业损失、保障人类健康等方面都具有重要的现实意义。

2 有机磷类农药残留检测技术的应用

目前有机磷类农药残留量的检测方法主要有两大类: 色谱检测法和快速检测方法。色谱检测法是目前有机磷类农药残留主要的检测方法, 其特点是

收稿日期: 2012-10-15; 修订日期: 2012-11-22.

作者简介: 幸红星 (1964-), 男, 助理工程师, 研究方向: 农产品质量安全分析. Tel: 0898-66895004. E-mail: xhx9936@126.com

通讯作者: 潘晓威, Tel: 13118921400. E-mail: 7856108@163.com

检测时间稍长,但检测精度比较高,可为有机磷类农药的残留检测提供执法依据。色谱检测法主要包括气相色谱法、高效液相色谱法、毛细管电泳法、薄层色谱法。

快速检测法是一类快速检测农药残留的方法,其创新之处在于仪器的微型化、便携式以及适于非专业人员的现场快速测定方式。包括免疫分析技术、酶抑制法、生物传感器检测法和活体检测法等。

2.1 色谱检测法

2.1.1 气相色谱法(GC)

绝大部分农药都可以应用气相色谱法进行分析,凡是沸点大约在 $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下,相对分子质量在400以下的农药,原则上都可以用此法分离和分析。但是,对于沸点太高或热稳定性差的物质都难以应用气相色谱法进行直接分析,需进行衍生化法处理后再进行分离检测,这样就使样品前处理的过程复杂化,使其应用范围受到一定程度的限制。

曹淑瑞等^[10]通过气相色谱法同时测定火锅底料中17种有机磷类农药的残留。样品通过凝胶渗透色谱、固相萃取小柱净化,使用DB-1701毛细管气相色谱柱进行分离,最后采用火焰光度检测器检测。实验测得火锅底料中17种有机磷农药的加标回收率为81.83%~105.4%,RSD为0.9%~5.2%,检出限(LOD)为 $1.0\sim 5.3\text{ }\mu\text{g}/\text{kg}$ 。李博等^[11]通过固相萃取-气相色谱联用技术(火焰光度检测器检测),同时检测8种具有代表陛结构的有机磷农药:敌敌畏、氧化乐果、甲胺磷、乐果、马拉硫磷、毒死蜱、对硫磷、甲基对硫磷。方法检测限为 $1.1\sim 2.5\text{ }\mu\text{g}/\text{L}$,相对标准偏差为2.0%~7.4%,回收率为69.1%~108.2%,完全满足对有机磷农药的检测要求。薛平等^[12]用气相色谱分析采用基质固相分散法提取、净化常见的19种有机磷农药,发现该方法的回收率和相对标准差满足农药残留检测中准确度和精密度的要求。Bidari等^[13]建立了一种采用超声波辅助溶剂萃取和分散液液微萃取双重前处理的检测西红柿中有机磷残留的GC-FPD法。

2.1.2 气相色谱-质谱法(GC-MS)

色谱技术分离能力强,适合于混合物的定量分析,但有时会因为样品纯度不够而不能对未知峰进行定性,或者因保留时间过于相近而得出错误的判断。质谱技术鉴别能力强,适用于单一成分的定性分析,无法对多组分混合物进行定性分析。因此,通过气相色谱仪和质谱仪联用,有机地结合了这2种

检测方法的特点,可以对残留农药进行更为准确、灵敏性更高的定量分析,在多残留农药检测方面显示了极大优越性^[14]。

王耀等^[15]以加速溶剂萃取、凝胶渗透色谱和固相萃取净化,通过气相色谱与质谱联用技术检测牡蛎体内有机磷残留,取得了理想的结果。董金斌等^[16]用气相色谱-质谱法一次性测定茶叶中42种残留农药,方法检出限为 $0.3\sim 9.2\text{ }\mu\text{g}/\text{kg}$ 。Zhu等^[17]建立一种基于固相微萃取(SPME)前处理的GC-MS方法,可同时检测18种有机磷农药,检测限在 $0.01\sim 55\text{ }\mu\text{g}/\text{L}$ 之间。

2.1.3 高效液相色谱法(HPLC)

高效液相色谱法也是一种传统的农药残留检测方法,是农药残留定性、定量分析的有效手段,适合分离检测不易气化、受热易分解或失去活性的离子型农药或强极性农药及其代谢物。此法有效弥补了气相色谱技术的不足,但是液相色谱通常使用紫外检测器,而有很多农药对紫外线的吸收不够充分,从而在一定程度上限制了HPLC的使用范围。

陈珠灵等^[18]采用高效液相色谱法同时对蔬菜中甲基对硫磷、乙基对硫磷、甲拌磷3种农药进行分离和检测,所测得的3种有机磷农药在 $0.02\sim 2.0\text{ }\mu\text{g}/\text{L}$ 内具有良好的线性,检出限达 $1.0\sim 5.0\text{ }\mu\text{g}/\text{L}$,加标回收率在97.44%~101.22%。

Khuhawar等^[19]在研究马拉硫磷在碱性条件下的水解规律时也使用了HPLC法。

2.1.4 液相色谱-质谱联用技术(HPLC-MS)

液相色谱-质谱联用技术(HPLC-MS)通过液相色谱仪和质谱仪的联用把HPLC的高分离能力与MS的高灵敏度、高选择性有机结合起来,MS还可以提供物质的结构信息。HPLC-MS能够分析比较复杂的农药多残留样品,是农药残留分析中很重要的一种方法。由于HPLC和MS接口技术还不是很成熟,仪器相对昂贵,还需进行深入研究^[20]。

曾赵云等^[21]用液相色谱-串联质谱的检测方法,同时测定了蔬菜、水果中有机磷类、酰胺类、氨基甲酸酯类等80种农药残留,检出限为 $0.02\sim 3\text{ }\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该方法快速、准确、灵敏,适用于蔬菜、水果中80种农药残留的同时分析。

2.1.5 薄层色谱法(TLC)

薄层色谱法具有快速、简便、直观、可同时分析多个样品等诸多优点。但是,由于该法灵敏度不高,检出限通常为 $0.1\sim 0.01\text{ }\mu\text{g}$,近年来较少使用,多

用于复杂混合物的分离和筛选^[22]。

薄层色谱通常与 HPLC、GC 等其他色谱技术联用,可以得到较满意的结果。张蓉等^[23]用高效薄层色谱测定农药在水中残留,已检测出的喹硫磷、三唑磷、甲基异柳磷、双硫磷 4 种有机磷农药残留的添加回收率和变异系数已经达到了农残的基本标准。

2.1.6 毛细管电泳法(CE)

毛细管电泳是近几年快速发展的一类以毛细管为分离通道,以高压直流电场为驱动力的新型液相分离分析方法。它利用液体介质中的带电粒子在电场作用下迁移速度不同而进行分离。CE 具有高灵敏度、分离度高、分析速度快和样品用量少等特点,作为 GC 和 HPLC 的补充,除挥发性和难溶物分子之外,几乎可以分离其他各种分子。

CE 主要用于农药原药、制剂及残留的分离分析,国内研究起步较晚,国外同行在这一领域作了大量研究工作,其中是在各种除草剂的分离、单种农药制剂及复配农药的有效成分含量测定等方面的报道居多^[24]。阙木旺^[25]采用胶束电动毛细管色谱法(MEKC)技术对氧乐果、乐果、敌百虫这 3 种有机磷农药进行分离,它们的检测限分别为 0.11、0.06、0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$,效果显著。

目前,毛细管电泳技术因为缺乏高灵敏度的检测器,毛细管区带电泳的优势没有能充分发挥出来,还需要进行更加深入的研究^[26]。

2.2 快速检测法

2.2.1 酶抑制法

有机磷、氨基甲酸酯类农药可以抑制乙酰胆碱酯酶的活性,使其分解乙酰胆碱的速度变慢或停止,引起人体运动失调等不良反应,最后转入抑制和衰竭、瘫痪,甚至中毒死亡^[27]。

酶抑制法的原理是利用这一反应特性,用滤纸片或电极作为载体,将乙酰胆碱酯酶吸附在上面,加入显色剂。如果酶的活性没有被抑制,则生成的产物可以使显色剂显色。如果被测样品中含有农药残留,则酶活性被抑制不能生成水解产物,显色剂不显色。根据颜色的变化或测定酶与某种特定化合物反应的物理化学信号的变化,可判断是否存在有机磷及氨基甲酸酯类农药。酶抑制法操作简便、检测速度快、无需昂贵仪器设备、测定方法易于掌握,但灵敏度较差,重复性、回收率还需要进一步的提高^[28]。

Istamboulie 等^[29]的研究指出磷酸三脂酶分解

某些有机磷农药的可能性,以此研究出了一种新的生物传感器,用来选择性检测毒虫畏和毒死蜱。Akkad 等^[30]使用 3 种酯酶分析有机磷农药,取得了不错的效果。

2.2.2 免疫分析技术(IA)

免疫分析测定技术(IA)是一种利用抗原抗体反应检测标本中微量物质的方法,该法应用极为普遍。应用于农药残留检测的免疫分析技术主要有放射性免疫分析(RIA)和酶联免疫分析(ELISA)^[31]。

免疫分析技术具有高选择性、分析速度快和高灵敏度的优点,而且,与仪器分析法对样品的前处理要求相比要简便得多。自 21 世纪初以来,农药残留酶联免疫分析测定技术被广泛研究,得到了全面、迅速的发展,美国化学会(AOAC)已将免疫分析列为农药残留检测的 3 大支柱技术之一^[32]。

胡寅等^[33]通过应用纳米磁珠间接竞争的酶免疫分析方法,发现纳米磁珠免疫检测方法对多种有机磷农药均有显著的识别作用,具有灵敏度较高的特点。

2.2.3 生物传感器检测法

这是一种利用电学生物传感器来检测农药残留量技术比较成熟的方法,电化学酶传感器应用最为普遍。目前检测有机磷农药的生物传感器主要有抑制型酶电极和水解型酶电极^[34]。生物传感器应用在环境、食品和农产品中农药残留检测具有检测范围广、分析速度快、灵敏度高、性能稳定等诸多优点^[35]。近年来,表面等离子共振(SPR)生物传感技术由于前处理简单、快捷不用标定等优点而成为农药残留检测中的最新前沿技术之一。国外专家还研制出了很多作用灵敏、选择性好,且可快速直接检验有机磷杀虫剂的微生物传感器^[36]。

Lin Tsao-Jen 等^[37]把乙酰胆碱酯酶共价偶联到金纳米粒子生成的生物传感器浸入 0.05 mmol/L 乙酰胆碱(Ach)溶液中,采用局部表面等离子体共振技术成功地测定了在 1~100 ng/mL 范围内的有机磷农药对氧磷,而且这种传感器在 4 $^{\circ}\text{C}$ 存储 60 天后仍能有较好的活性,具有灵敏度高、稳定性好等诸多优点。

2.2.4 活体检测法

活体检测法是利用活体生物对农药残留的敏感反应的原理,直接使用活的生物体进行体内实验测量的一种检测方法^[38]。目前,比较流行的有 2 种检测方法:一种是利用农药与细菌作用减弱细菌的发

光程度,并呈一定的线性关系,通过测定细菌发光情况,检测农药残留量。另一种方法是根据农药残留会导致家蝇中毒,用含农药的样本喂食敏感品系的家蝇,根据家蝇的中毒程度检测出农药残留量。使用家蝇检测果蔬中的农药残留,操作简单,不用复杂仪器,农户便可自行检测。缺点是检测时间较长,一般在4~6 h才能测出蔬菜是否农药残留超标,而且不能准确分辨残留农药的种类,准确性还有待于提高。仅适于田间未采收的蔬菜水果^[39]。

3 总结及展望

综上所述,有机磷类农药残留检测技术各有其特点,为了提高检测的准确度,获得理想的结果,我们在实践过程中应根据不同的要求选择不同的检测手段。

今后,残余农药的检测将会向着方便快捷、分析量大、灵敏度高、成本低廉的方向发展,并通过各种检测技术相互联用的方式,以达到对农产品中残留农药做到理想的检测效果。

参考文献:

[1] 金泥沙,金伟. 有机磷类农药残留分析检测技术研究进展[J]. 中国环境管理干部学院学报, 2011, 21(4):62-65.

[2] 周鸿. 食品中农药残留检测的前处理技术进展[J]. 中国食物与营养, 2006(6):38-39.

[3] 江英志,谢桂勉. 有机磷农药多残留检测研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(17):9 060-9 061, 9 192.

[4] 马瑾,潘根兴,万洪富,等. 有机磷农药的残留、毒性及前景展望[J]. 生态环境, 2003, 12(2):213-215.

[5] 高杨菲,江南平,汪海峰. 有机磷农药残留的检测方法研究进展[J]. 粮油仓储科技通讯, 2010(1):44-46.

[6] 林春绵,胡晓燕,张安平. 酶抑制法快速检测有机磷农药残留的研究进展[J]. 浙江工业大学学报, 2009, 37(4):386-391.

[7] 蒋国辉,郑永权,董丰收. 农药残留检测技术研究进展[J]. 农业质量标准, 2005(1):32-35.

[8] 陈宗保. 土壤中有机农药残留分析及有机磷农药降解行为研究[D]. 南昌:南昌大学, 2006.

[9] 崔伟伟,张强斌,朱先磊,等. 农药残留的危害及其暴露研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(2):883-884.

[10] 曹淑瑞,王国民,张雷,等. 气相色谱法同时测定火锅

底料中多种有机磷农药残留[J]. 食品科学, 2011(02):173-176.

[11] 李博,张莉,汪东风,等. 固相萃取-气相色谱法检测8种有机磷农药的方法及条件优化[J]. 中国农学通报, 2010, 26(19):88-93.

[12] 薛平,史惠娟,杜利君,等. 5种基质中19种有机磷农药残留的基质固相分散-气相色谱法测定[J]. 食品科学, 2010, 31(18):227-231.

[13] Bidari A, Gaajali M R, Norouzi P, et al. Sample preparation method of the analysis of 80 me organophosphoms pesticides residues in tomato by ultrasound - assisted solvent extraction foBowed by dispersive liquid - liquid microextraction [J]. Food Chemistry, 2011, 126(4):1840-1844.

[14] 万圣,吕延成. 有机磷及氨基甲酸酯农药残留检测研究进展[J]. 广东农业科学, 2009(3):110-114.

[15] 王耀,贺玉林,刘少彬,等. 气相色谱-质谱法检测牡蛎中有机磷农药多残留[J]. 环境化学, 2011(03):713-718.

[16] 董金斌,王金花,卢晓宇,等. 气相色谱-质谱法测定茶叶中42种残留农药[J]. 北京化工大学学报(自然科学版), 2007, 34(5):472-476.

[17] Zhu F, Ruan W H, He M H, et al. Application of solid-phase microextraction for the determination of organophosphorus pesticides in rextiles by gas chromatography with inass spectrometry [J]. Analytica Chimica Acta, 2009, 650(2):202-206.

[18] 陈珠灵,陈飞,陈红青. 高效液相色谱法测定蔬菜中3种有机磷农药残留量[J]. 福州大学学报(自然科学版), 2005, 33(1):98-100.

[19] Khuhawar M Y, Rind F W A, Lmani K F A, et al. Spee - trophotometric determination of tranexamic acid in dosage forms by derivatization [J]. Jour Chem Soe Pak, 2006, 28(5):435-438.

[20] 秦胜利,于建生. 农药残留检测技术研究进展[J]. 河南化工, 2011, 28(1):16-18.

[21] 曾赵云,牟仁祥,应兴华,等. 液相色谱-串联质谱法测定蔬菜、水果中80种农药残留[J]. 分析测试学报, 2010, 29(10):1030-1035.

[22] 陈道勇,杨略. 有机磷农药残留的分析检测及最新研究进展[J]. 河南化工, 2011, 28(1):7-12.

[23] 张蓉,花日茂,汤锋,等. 6种有机磷农药分离及水中残留高效薄层析测定方法研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(14):6311-6313.

[24] Wang J Y, Zhang D L, Chu Q C, et al. Simultaneous determination of phenolic additives in cosmetics by micellar electrokinetic capillary chromatography with

- electrochemical detection [J]. Chinese Journal of Chemistry, 2010, 28(2): 313-319.
- [25] 阙木旺. 胶束毛细管电泳法测定有机磷农药的研究[J]. 化学工程与装备, 2008, 10: 129-134.
- [26] Khalili-Zanjani M R, Yamini Y, Yazdanfar N, et al. Extraction and determination of organophosphorus pesticides in water samples by a new liquid phase microextraction-gas chromatography-flanle photometric deteefinn[J]. Analytica chimica a cta, 2008, 606(2): 202-208.
- [27] 于基成, 边辞, 赵娜, 等. 酶抑制法快速检测蔬菜中有机磷农药残留[J]. 江苏农业科学, 2006(5): 170-172.
- [28] 王兆守, 刘丽花, 邵宗泽, 等. 农药残留检测新方法研究进展[J]. 化工进展, 2008, 27(9): 1370-1374.
- [29] Istamboulie G, Fournier D, Marty J L, et al. Phosphotriesterase: A complementary tool for theselective detection of two organophosphate insecticides: Chlorpyrifos and chlorfenvinfos [J]. TALANTA, 2009, 77(5): 1627-1631.
- [30] Akkad R. Schwack inhibition assay for detection of insecticidal organophosphatesand carbamates by high-performance thin-layer chromatography [J]. JPC - JOURNAL OF PLANARCHROMATOGRAPHY—MODERN TLC, 2008, 21(6): 411-415.
- [31] 李垚辛, 董全. 有机磷农药残留检测技术的研究进展[J]. 中国食品与营养, 2010(4): 12-15.
- [32] 黎其万, 潘灿平. 农药残留免疫分析方法及其应用研究进展[J]. 西南农业学报, 2004, 17(2): 248-252.
- [33] 胡寅, 沈国清, 朱鸿林, 等. 有机磷农药纳米磁珠酶联免疫分析方法研究[J]. 环境污染与防治, 2010, 32(9): 41-45.
- [34] Miroslav Pohanka, Daniel Jun, Kamil Kuca. Amperometric biosensors for real time as ys of organophosphates[J]. Sensors, 2008(8): 5 303-5 312.
- [35] 蒋雪松, 应义斌, 王剑平. 生物传感器在农药残留检测中的应用[J]. 农业工程学报, 2005, 21(4): 118-122.
- [36] Yu H, Lu N B. The study of farmland information management system based on wirelesa sensor networks [J]. Agricultural Science & Technology, 2010, 11(7): 183.
- [37] Lin Tsao - Jen, Huang Kuang - Tse, Liu Chia - Yu. Determination of organophosphorous pesticides by a novel biosensor based on localized surface plasmon resonance [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2006, 22: 513-518.
- [38] 曾伟, 余金华, 蒋亚. 果蔬中农药残留快速检测技术的研究进展[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(19): 3 904-3 908.
- [39] 吴春红, 聂继云, 徐国锋, 等. 果蔬中农药残留检测技术研究进展[J]. 植物保护, 2009, 35(3): 23-26.

Application of Residue Detection Technology in Organophosphorus Pesticide

XING Hong-xing¹, PAN Xiao-wei², HUANG Yong-ping³, WANG Li-rong²

(1. Analysis and Testing Center, CATAS of Hainan Province, Haikou 571101, China;

2. College of Food Science of Technology Hainan University of Hainan Province, Haikou 570228, China;

3. The Station of Plant Protection and Quarantine of Hainan Province, Haikou 570203, China)

Abstract: As a class of highly efficient and broad-spectrum pesticides, organophosphorus pesticides are widely used in the field of crop pest control, but its disadvantage cannot be ignored. The organophosphate pesticide detection technology in residues at home and abroad in recent years is summarized. The advantages and disadvantages of the detection methods are compared, which provides reference for the application of detection technology of pesticide residues.

Key words: organophosphorus pesticides; residues; detection

Classifying number: O657.3

