

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

王 林¹ 王 晶² 张 莹¹ 杨大进¹ 邓 峰³

(1. 中国疾控中心营养与食品安全所,北京 100021;2. 国家标准物质研究中心,北京 100013;
3. 广东省疾病预防控制中心,广东 广州 510300)

摘 要:为快速检测蔬菜上的农药残留,建立了两种快速检测方法:速测卡法和酶抑制率法。速测卡法和酶抑制率法对农药的检出限,根据农药的不同而有所不同。速测卡法的检出限一般在 0.3 ~ 3.5 mg/kg,酶抑制率法一般在 0.05 ~ 5.0 mg/kg。速测卡法的检出时间为 15 min,酶抑制率法的检出时间为 30 min。两种方法可用于现场检测,操作简单,速度快,测试成本低廉,对超出我国国家标准允许残留限量或违禁使用的有机磷和氨基甲酸酯类农药的有效检出率可达 80 % 以上。两种方法适合我国蔬菜中部分农药残留限量的监督检测。

关键词:农药残留量;研究技术;公共卫生

Study on method for rapid determination of organophosphorus and carbamates pesticide residues in vegetables

Wang Lin ,et al.

(National Institute for Nutrition and Food Safety ,China CDC ,Beijing 100021)

Abstract: To detect pesticide residues in vegetables rapidly , two rapid detection methods , rapid detection card method and enzyme inhibition rate method were established. The detection limits of each method were different based on different kinds of pesticides. Commonly , the detection limits of rapid detection card method were 0.3 ~ 3.5 mg/kg , and those of enzyme inhibition rate method were 0.05 ~ 5.0 mg/kg , and the time of determination of the two methods were 15 min and 30 min , respectively. Both methods were simple , rapid , low cost and could be used in spot , and carbamates pesticides which are tabooed or over the national standard residue limits. The two methods are both suitable to the supervision and inspection on some kinds of pesticide residue in vegetables.

Key Words: pesticide residues ; Investigative Techniques ; Public Health

多年来,蔬菜中农药残留超标问题一直较突出,^[1,2]原因之一是现在标准施行的农药残留测定需要通过有机溶剂提取、净化和用大型分析仪器进行,无法对廉价的蔬菜进行随时随地的快速检测。为解决这一问题,我们对使用范围广、用量大的有机磷和氨基甲酸酯类农药的快速检测方法进行了研究,建立了两种规范检验方法,不受时间、地点、场合等条件限制,从样品处理到得出结果 15 ~ 30 min 内完成,如果附加恒温装置,一次可完成多个样品。这两种快速检验方法已经国家标准委员会讨论通过,纳入 GB/T 5009 方法之列。现将一些重要内容加以注释和讨论。

1 方法

1.1 速测卡法 纸片法

1.1.1 材料 固化有胆碱酯酶和靛酚乙酸酯试剂的试纸片。缓冲溶液(15.0 g 磷酸氢二钠[Na₂HPO₄ · 12H₂O]与 1.59 g 无水磷酸二氢钾[KH₂PO₄] ,用 500 mL 蒸馏水溶解)。常量天平。有条件时配备(37 ± 2) 恒温装置。

1.1.2 操作 整体测定法 选取有代表性的蔬菜样品,擦去表面泥土,剪成 1 cm 左右见方碎片,取 5 g 放入带盖瓶中,加入 10 mL 缓冲溶液,震荡 50 次,静置 2 min 以上。取一片速测卡,用白色药片沾取提取液,放置 10 min 以上进行预反应,有条件时在 37 恒温装置中放置 10 min。将速测卡对折,用手捏 3 min 或用恒温装置恒温 3 min,使红色药片与白色药片叠合发生反应。每批测定设一个缓冲液的空

作者简介:王林 男 副主任技师

白对照卡。

表面测定法(粗筛法) 擦去蔬菜表面泥土,滴2~3滴缓冲溶液在蔬菜表面,用另一片蔬菜在滴液处轻轻摩擦。取一片速测卡,将蔬菜上的液滴滴在白色药片上。放置10 min以上进行预反应,有条件时在37℃恒温装置中放置10 min。将速测卡对折,用手捏3 min或用恒温装置恒温3 min,使红色药片与白色药片叠合发生反应。每批测定设一个缓冲液的空白对照卡。

1.1.3 结果判定 结果以酶被有机磷或氨基甲酸酯类农药抑制(为阳性)、未抑制(为阴性)表示。与空白对照卡比较,白色药片不变色或略有浅蓝色均为阳性结果。白色药片变为天蓝色或与空白对照卡相同,为阴性结果。

1.2 酶抑制率法 分光光度法

1.2.1 材料 缓冲溶液(11.9 g 无水磷酸氢二钾与3.2 g 磷酸二氢钾,用1000 mL 蒸馏水溶解)。显色剂(160 mg 二硫代二硝基苯甲酸(DTNB)和15.6 mg 碳酸氢钠,用20 mL 缓冲溶液溶解,4℃冰箱中保存)。底物(25.0 mg 硫代乙酰胆碱,加3.0 mL 蒸馏水溶解,摇匀后置4℃冰箱中保存备用,保存期不超过两周)。乙酰胆碱酯酶(根据酶的活性情况,用缓冲溶液溶解,3 min 的吸光度变化 A_0 值应控制在0.3以上。摇匀后置4℃冰箱中保存备用,保存期不超过4天)。分光光度计或相应测定仪,常量天平,恒温水浴或恒温箱。

1.2.2 试样处理 选取有代表性的蔬菜试样,擦去表面泥土,剪成1 cm左右见方碎片,取试样1 g,放入烧杯或提取瓶中,加入5 mL 缓冲溶液,振荡1~2 min,倒出提取液,静置3~5 min,待用。

1.2.3 对照溶液测试 先于试管中加入2.5 mL 缓冲溶液,再加入0.1 mL 酶液、0.1 mL 显色剂,摇匀后于37℃放置15 min以上(每批试样的控制时间应一致)。加入0.1 mL 底物摇匀,此时检液开始显色反应,立即放入仪器比色池中,记录反应3 min 的吸光度变化值 A_0 。

1.2.4 试样测试 先于试管中加入2.5 mL 试样提取液,其它操作与对照溶液测试相同,记录反应3 min 的吸光度变化值 A_t 。

1.2.5 计算 检测结果按公式(1)计算:

$$\text{抑制率}(\%) = [(A_0 - A_t) / A_0] \times 100\% \quad (1)$$

式中: A_0 ——对照溶液反应3 min 吸光度的变化值;

A_t ——试样溶液反应3 min 吸光度的变化值。

1.2.6 结果判定

结果以酶被抑制的程度(抑制率)表示。当蔬菜试样提取液对酶的抑制率50%时,表示蔬菜中有高剂量有机磷或氨基甲酸酯类农药存在,试样为阳性结果。

2 注释与讨论

2.1 两种方法的共同点

2.1.1 方法原理 以上提出建立的两种方法的检验原理是相同的,都是利用胆碱酯酶的活性能被有机磷或氨基甲酸酯类农药所抑制,使胆碱酯酶与其它物质(显色剂)的反应发生改变,一个用目视比色,一个用数字显示来确定蔬菜中是否含有一定量的这两大类农药的残留存在。

2.1.2 酸碱度 两种方法使用的缓冲(提取)溶液pH值基本相同。方法的最佳测试酸碱度为pH7.5~8.0,既适合于酶的反应,又基本适合于蔬菜中农药的提取。

2.1.3 干扰物质与排除方法 由于两种方法的检验原理相同,因此测定中的干扰物质和排除方法也基本相同。葱、蒜、萝卜、韭菜、芹菜、香菜、茭白、蘑菇及番茄汁液中,含有对酶有影响的植物次生物质,容易产生假阳性。处理这类样品时,可采取整株(体)蔬菜浸提,使用速测卡时可采用表面测定法。对一些含叶绿素较高的蔬菜,也可采取整株(体)蔬菜浸提的方法,减少色素的干扰。

2.2 特定条件的选择与注意事项

2.2.1 速测卡法的检出限 表1是由卫生部食品卫生监督检验所、广东省食品卫生监督检验所、北京市产品质量监督检验所、香港政府化验所、广东省农药检定所、深圳市卫生防疫站、华南农大昆虫毒理研究室七个单位,使用我国绿洲牌速测卡,对我国常见使用的一些有机磷和氨基甲酸酯类农药检出限的实验与验证数据的统计表及我国对这些农药的有关限量卫生标准,从表1中可以看出,在使用速测卡法检出蔬菜样品为农药阳性时,即可视为有机磷或氨基甲酸酯类的农药已超标。已有的1200个数据中,经气相色谱法验证,阳性结果的符合率在80%以上。

2.2.2 速测卡法(纸卡法)使用注意事项 当温度条件低于37℃时,酶反应的速度随之放慢,速测卡加液后放置反应的时间应相对延长,延长时间的确定,应以空白对照卡用手指捏3 min 变蓝后往下操作为准。样品放置的时间应与空白对照卡放置的时间一致才有可比性。红色药片与白色药片叠合反应的时间以3 min 为准,3 min 后的蓝色会逐渐加深,24 h 后颜色会逐渐退去。空白对照卡不变色的原因,

一是药片表面缓冲溶液加的少、预反应后的药片表面不够湿润,二是温度太低。

表1 部分常见农药的检出限与国家允许蔬菜中的最大残留限量

农药名称	检出限	残留限量	农药名称	检出限	残留限量
甲胺磷	1.7	不得检出	敌敌畏	0.3	0.2
对硫磷	1.7	不得检出	敌百虫	0.3	0.1
水胺硫磷	3.1	不得检出	乐果	1.3	1.0
马拉硫磷	2.0	不得检出	西维因	2.5	2.0
久效磷	2.5	不得检出	好年冬	1.0	不得检出
乙酰甲胺磷	3.5	0.2	呋喃丹	0.5	不得检出

2.2.3 酶抑制率法的选择 在气相色谱分析仪还未问世及分布较少时,对有机磷类农药的检测即采取了酶抑制分光光度法,只是由于当时酶的纯度不够高、灵敏度较低、酶试剂保存期短及方法不能区分出具体的农药而被气相色谱法所取代,而今用其作为快速分析则恰到好处。只是现在酶试剂的质量还应进一步提高,有效保存期应设法延长。由于这两个现实情况,在实验前,必需测试酶的活性,达到要求后才能往下进行。

2.2.4 酶抑制率法的检出限与抑制率 由于酶源的不同,检出限(最低检出浓度)与抑制率往往不同。丁酰胆碱酯酶的抑制率一般控制在70%以上为阳性样品。乙酰胆碱酯酶的抑制率一般控制在50%以上为阳性样品。衡量的标准应该用检出限与符合率来判断,即检出限不能太高,太高容易使一些农药超标的蔬菜检测不出来,太低容易出现假阳性。表2列出了用乙酰胆碱酯酶试验得出的部分农药的检出限和抑制率。

表2 酶抑制率法对部分农药的检出限

农药名称	检出限	农药名称	检出限
敌敌畏	0.1	氧化乐果	0.8
对硫磷	1.0	甲基异柳磷	5.0
辛硫磷	0.3	灭多威	0.1
甲胺磷	2.0	丁硫克百威	0.05
马拉硫磷	4.0	敌百虫	0.2
乐果	3.0	呋喃丹	0.05

2.2.5 酶抑制率法仪器的选用 实验室中常规使用的分光光度计,利用酶抑制率法作为有机磷或氨基甲酸酯类农药残留的快速测定是可行的,但在操作和计算上显得繁琐一些。改进后的分光光度计或相应的单光束光度计(速测仪),在操作和计算上简

单的多。用户根据需要选择合适的仪器,不论采用那种仪器,其最终的检测结果是基本相近的。

2.2.6 酶抑制率法(分光光度法)使用注意事项 当温度条件低于37℃,酶反应的速度随之放慢,加入酶液和显色剂后放置反应的时间应相对延长,延长时间的确定,应以胆碱酯酶空白对照测试3min的吸光度变化A₀值在0.3以上,然后往下操作。试样放置时间应与空白对照溶液放置时间一致才有可比性。胆碱酯酶空白对照溶液3min的吸光度变化A₀值<0.3的原因,一是酶的活性不够,二是温度太低。当试样溶液的吸光度大到无法读取时,说明测定液浑浊,应改变提取条件排除干扰后测定。

2.2.7 具体农药和准确含量的确定 由于速测卡法和分光光度法测定的是两大类农药,定值是以限量的形式出现,所以,在有条件的单位,可用气相色谱仪对阳性试样进行进一步的实验来确定是哪种农药和确切含量。

3 结论

速测卡法操作简单、使用方便,^[3,4]常温下试药的有效期可达1年。酶抑制率光度法与速测卡法比较操作要繁琐些,试药需要冷藏运输,常温下试药的保存期只有几天的时间,但以数字形式读取数据,较为直观。^[5]

这两种方法的建立,可在监督环节发挥作用,有利于及时发现问题、采取措施,控制高残留农药蔬菜的摄入,降低农药中毒发生率,保障消费者食菜安全。

参考文献:

[1] 杨大进,方从容.我国农药检验现状及存在问题[J].中国食品卫生杂志,1997,9,(6):15.
[2] 李金艳.老百姓何时能吃上放心菜.中国消费者报,2001—11—18(10).
[3] 徐锦洪,陈日光,康莉,等.农药速测卡测定蔬菜中有机磷农药残留量[J].中国食品卫生杂志,1996,8,(5):14.
[4] 张莹,杨大进,方从容.农药残留量快速检验方法-农药速测卡的应用与验证[J].中国食品卫生杂志,1998,10,(2):12.
[5] 王晶,张田,陈义珍,等.三种农药残留量速测方法的对比性实验研究[J].中国食品卫生杂志,2001,13,(6):18.

[收稿日期:2002-06-23]

中图分类号:R15;S481.8 文献标识码: 文章编号:1004-8456(2003)01-0039-03