

有机磷农药的残留危害及检测方法研究

牛佳钰, 肖纯凌* (沈阳医学院, 辽宁沈阳 110034)

摘要 有机磷农药在农作物的健康生长和害虫防治方面具有重要作用, 但其中久效磷在果蔬中残留所带来的安全隐患问题也不容忽视。目前, 有机磷农药在一些农作物的害虫防治中应用较多, 人们常用它来防治一些蚜虫、螨类等。近年来, 农药的不规范使用引起越来越多的环境污染与食品安全问题, 有机磷这种高毒类杀虫剂, 对人畜都有较大毒性。简单阐述了有机磷农药残留对环境的污染及对人体健康的危害, 同时研究了其残留毒性机制及常用的检测方法。

关键词 有机磷农药; 食品安全; 酶多态; 农药残留; 生物标志物

中图分类号 S481+.8 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)16-087-03

Detection Method and Residual Damage of Organophosphorus Pesticide

NIU jia-yu, XIAO chun-ling* (Shenyang Medical College, Shenyang, Liaoning 110034)

Abstract Organophosphorus pesticide plays an important role in the healthy growth and pest control of crops. And the potential risks of monocrotophous in fruit and vegetable should be not be neglected. At present, organophosphorus pesticides are usually used in the pest control of some crops to prevent aphids and mites. In recent years, the abuse of pesticide caused more and more problems in environment pollution and food safety. These high toxic pesticides had relatively great toxicity to both human and animal. The damage of organophosphorus pesticide residues on environmental pollution and human health were simply elaborated. At the same time, residue toxicity mechanism and commonly used detection methods were researched.

Key words Organophosphorus pesticides; Food safety; Enzyme polymorphism; Pesticide Residues; Biomarkers

农药污染分为: 有机氯农药污染、有机氮农药污染、有机磷农药污染, 其中, 久效磷是有机磷类农药污染, 它会随着食物链逐级传递和生物放大作用, 成为具有挥发性、蓄积性的持久性有机污染物。农药对于人体的影响主要包括急性中毒和长期接触后的不良健康效应, 久效磷与乙酰胆碱酯酶的中毒剂量与时间有关, 中毒效应的大小取决于农药急性毒性的 大小和人群短时间内可接触量; 农药的慢性毒性则较为复杂, 已有的研究可知, 个别农药会引起“三致”(致畸、致癌、致突变), 对于人体的肾、肺、肝、脾、脑、肌肉等都有伤害, 当其被吸收后, 会随血液及淋巴循环分布到全身各组织器官, 其中肝脏的含量最高, 且会影响肾脏的排毒功能以及肝脏的氧化分解功能。在喷洒农药时, 还会造成生态环境的污染。水解使毒性降低, 氧化则又使毒性增强, 有机磷农药残留对人体的生长发育系统、神经系统、免疫系统、生殖系统, 以及人体的新陈代谢都有危害, 其穿透血脑屏障的能力较强, 会造成紊乱和其他并发症, 严重时 可致癌。在人们生活质量不断提高的同时, 有机磷农药在果蔬上残留对人体健康的影响和引起的相关安全隐患问题逐渐引起人们的关注。

目前, 农药残留通过食物链危害人体健康已逐渐引起人们的关注, 由于农药残留所带来的环境污染和对人体健康的危害也是不可小觑的。笔者将主要对食品中农药残留对健康危害的机制和近年来有机磷农药残留的常用检测方法进行阐述。

1 有机磷农药久效磷的性质与危害

1.1 有机磷农药久效磷的性质 以有机磷农药中的久效磷为例, 久效磷的化学名为: (顺式)O, O-二甲基-O-(1-甲

基-2-甲胺基甲酰基)乙烷基磷酸酯, 分子式 $C_7H_{14}NO_3P$ 。大部分有机磷农药是酰胺或磷酸酯, 纯品为白色的结晶状, 工业品是棕色油状或淡黄色液体, 常具有较高的折光率。在常温下, 有机磷农药的蒸气压很低, 但无论液体还是固体, 任何温度下都有蒸气逸出, 也会造成中毒。比重大多于 1, 比水稍重; 能与水混溶, 可溶于丙酮、乙醇、二氯甲烷, 稍溶于二甲苯、乙醚, 不溶于石油醚、柴油和煤油。在配制农药时选择甲醇和芳烃类的有机溶剂, 久效磷作为一种剧毒性的广谱速效的农药, 主要用于农作物的卫生防治害虫, 对于蛀食性和刺吸性的害虫效果尤为显著, 从而保证农作物与农产品的丰收与生长, 但其对人体健康也存在一定危害^[1-2]。

1.2 有机磷农药残留对环境的污染 农药会对生态环境和生态系统造成危害, 农药毒性的大小因其分类不同而各有差异, 各种有机磷农药的毒性与其化学结构中取代基团有关^[3]。微生物杀虫剂、抗生素等基本无毒, 在我国, 用大鼠试验, 根据农药的大鼠急性毒性的大小, 将其分为剧毒、高毒、中等毒、低毒、微毒 5 类。久效磷在喷洒时大多采用喷雾方式, 因此会蒸发到空气中, 随空气漂浮和弥漫。

农药在生态环境中的残留所带来的问题和残留的途径分别为: 从雨水、农田排水时造成的水污染; 液体分子蒸发成气体分子分散到空气中造成的大气污染; 随着动物饲料等环节进入动物体内而后随着食物链与食物网进入餐桌的食物污染引发的食源性疾病; 喷洒农药时在植株细胞壁上残留以及渗入植株和大地的土壤污染等。

1.3 有机磷农药残留对人体健康的危害 有机磷农药会经胃肠道、呼吸道及完好的皮肤与黏膜吸收, 皮肤吸收则是职业性中毒的主要途径。有机磷农药会随呼吸道而进入体内, 对机体呼吸道正常菌群的数量与种类也会产生影响。这种毒性气体对于人体内的酶的活性也具有一定伤害和抑制作用, 会对人体造成慢性或者急性中毒^[4], 严重时 会刺激到人

基金项目 沈阳市科技局资助项目(F14-181-1-00)。

作者简介 牛佳钰(1992-), 女, 河南郑州人, 硕士研究生, 研究方向: 环境与健康及机体微生物生态学。* 通讯作者, 教授, 从事环境与健康及机体微生物学研究。

收稿日期 2016-05-06

体的中枢神经,会致畸、致癌、致突变,引起更加长远的危害,与时间、剂量呈正相关性。仲维科曾经研究了它的毒性,结果显示,口服 10 mg 的情况下,成年人就会出现中毒现象,如果剂量增加 9 倍,人就会有生命威胁^[5]。

污染物进入人体后,既要重视急性危害,也要重视慢性危害,要从多方面考虑,既有单一的环境因素,也有多因素的相结合,并且有机磷农药的次级降解产物也是具有极大的毒性和危害的,污染物也存在早期效应和远期效应,存在因果关系与剂量—反应关系,不同人群的致病性,以及污染物对人体的危害性大小,也与接触途径、暴露量、农药性质、浓度、作用频率、个体的易感性差异密切相关。人体对于农药危害的防护,应当建立暴露的生物标志物组合,利用生物监测从而为研究提供相关必要的信息,进而对环境系统进行判断;利用污染物标记在机体内的生物标志和机体对于污染物的反应与易感性的表现差异,建立预警系统,达到测定环境水平和提高环境的效益。对于人体健康的保护尤其是对于农林防护者这种接触农药较为频繁人士的保护是更加必要的。

酶多态现象^[6]可以影响机体对久效磷农药作用的耐受性和易感性。久效磷还具有一定的遗传毒性,中毒后的临床表现为:多汗、肌肉抽搐颤动、瞳孔缩小、昏迷、心力衰竭、全身抽筋等。农药的解毒过程也是较为繁复的,首先利用抗胆碱药或者拮抗剂(阿托品),或者胆碱酯酶复能剂(对于慢性中毒无效),从而达到恢复胆碱酯酶活性的作用。

对于久效磷农药而言,参与体内有机磷代谢的酶主要有 P540 系统和机体酯酶。酯酶^[7]分为 2 类:水解有机磷酸酯的酶称 A 酯酶,如对氧磷酶,目前被有机磷酸酯酶抑制的酶称 B 酯酶,如胆碱酯酶和羧酸酯酶。目前,对 B 类酯酶有大量的试验考究,这类酶可被抑制也可参与代谢。乙酰胆碱末梢会接受被释放且作用于效应器的包含胆碱能神经的化学递质。有机磷农药大多为脂溶性物质,残留在食品或环境中时,可通过消化道、呼吸道、皮肤黏膜侵入人体,与组织蛋白结合,扰乱人们的中枢神经系统。它也可以经过生物富集,进入人们的身体,最终产生毒害作用,使人体出现神经功能紊乱等一系列中毒症状。有机磷农药进入人体后,将神经末梢的胆碱酯酶磷酸化,使其失活,造成乙酰胆碱蓄积,人体即发生烟碱样效应、中枢神经系统等症状。许多学者已经做了有机磷农药毒性动物的体外试验。袁玉坤等以大鼠作为试验对象,发现它们的红细胞膜的 Ca^{2+} -ATP 酶活力因此减小,症状显著^[8]。滕丽红等发现,在浓度低时,大鼠在静息状态下,它们突触小体摄取钙的能力和膜脂的流动性都会受到影响;当浓度升高到一定程度, Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 活力就会被削弱^[9]。研究显示,施加的有机磷农药的量 and 有机磷农药的作用时间,与试验的效果存在一定关系。

2 有机磷农药残留检测的常见方法

在广泛使用有机磷农药解决农业问题,促进经济发展的同时,人们也在研究着它的毒性和作用机制,并制定相关法规来保证其安全使用。很多科学家的研究中都表明,有机磷农药的检测方面在取得大量成果的同时其进展也是十分迅

速的,对于其的检测方法研究较多,例如:比色法、容量法、薄层层析法、气相色谱法^[10]、高效液相色谱法、核磁共振波谱分析法、电化学生物传感器法等。目前有机磷农药在国内的需求量和生产量不断增加,对环境中果蔬残留有机磷研究的检测方法具有重要现实意义,这些方法的步骤特点不同,在实际应用中也不尽相同。上述这些方法依据不同的原理,采用不同的试验设施,因此具有各自的特点、效果和适用环境。现如今发展起来的一种优点多、简便快捷、灵敏、重现性好的电化学方法^[11]可用于实际样品的检测。

2.1 高效液相色谱法 高效液相色谱法是一种可用于有机物鉴定和结构分析的有效方法。可准确地鉴定出有机溶剂的挥发性组分和成分且不需拥有各种标准试剂就可达到,结果表明,高效液相色谱技术用于分析和鉴定有机磷农药快速可靠,并且可以进行准确定量。尽管该方法具有分析时间短、结果稳定、准确、灵敏且简单易行的特点,但因其仪器、试验设备费用的昂贵,并且对于固定相、流动相及柱子都有特殊的要求,分析成本比较高,不容易普及。

2.2 气相色谱法 气相色谱仪方法的条件虽然不同,但是气相色谱仪中所用的色谱柱多为短玻璃柱,检测器为 FPD。大流量的载气将色谱柱中已被分解的含磷碎片和残留的有机磷分子被短柱快速送入 FPD 检测器中,主要是试验得到样品和标准品的峰高,然后经过计算,得到残留有机磷农药的含量。应用气相色谱法测定的久效磷含量的优点有:分析速度快、灵敏度高、分离效果好,样品的检出限也比较低,但对精密度测定仍需改善。在分析前,它的样品处理步骤很多,加入的乙腈等也无益环境。而所用的气相色谱仪,不但投入大,而且只能在专业配备的实验室进行检验,对操作人员要求高,这些都一定程度上限制了它的应用。

2.3 薄层层析法 久效磷的薄层层析法检测是青岛农药厂^[12]报道的。归因于该方法的优点,在久效磷残留量的分析中较为常用。该方法的优点:灵敏度高,样品用量少,仪器设备简单,快速灵活,直观,可与干扰物分离、分析过程简单等;其主要的缺点:定量不准确和误差较大且不适于大批量的分析。提取农药后以水为固定相,经纯化浓缩后分离展开,与标准显色对比进行定性、定量测定。

2.4 荧光光度法 荧光光度法^[13]检测农药主要是依据伞形酮磷酸酯等物质在水中的反应。在一定条件下,磷酸酶存在时,这类物质发生水解反应,生成伞形酮,这种物质的荧光性非常强,而农药对硫磷、七氯等会抑制这种水解反应,使产物的荧光性减小,从而使它的荧光强度—时间曲线的斜率值减小,这个差量正比于农药的含量,即可计算出对硫磷的含量。例如,在胆碱酯酶的存在下,N-甲基吡啶醋酸酯会水解得到强荧光性的 N-甲基吡啶,其激发峰在 430 nm,荧光峰在 510 nm。残留的有机磷农药对该水解反应有抑制作用,从而引起荧光强度—时间曲线初始斜率的减小,根据这一曲线初始斜率减小的程度,可以求得这些农药的含量。

2.5 免疫测定法 于秋香以新西兰大耳白兔为试验对象,对它们进行免疫,制得对硫磷抗血清,测定其效价,结果是

1:2 000,然后用饱和硫酸沉淀法,得到纯化的抗体^[14]。杀螟松和甲基对硫磷与对硫磷相似,将这些物质进行交叉试验,得到了前者 0.06%,后者 1.22%的结果。在 5~1 000 ng/mL 范围内,可做出标准曲线,用蔬菜制得对硫磷的实际样品,检测回收率,其平均值为 52.00%。

2.6 电化学方法 用修饰材料修饰裸电极,制成生物传感器^[15-16],对有机磷农药进行电化学检测,有机磷农药在结构上和乙酰胆碱酯酶(AChE)的底物氯化乙酰胆碱(ATCl)相似,所以容易和AChE相结合,形成磷酸化乙酰胆碱酯酶,使酶的活性降低。根据有机磷农药在所修饰材料和AChE修饰的电极上的电化学行为,来进行试验参数优化,在这些条件下^[17-18],通过测定酶的抑制率来间接检测,从而得到有机磷的残留量,最终建立检测有机磷的线性范围^[19],检测实际样品。这种方法云集了很多优点,有机磷农药残留的电化学分析法具有快速和易实现的优点,是基于在电极表面开发的一种灵敏的,具有导电性复合材料作为模型酶用于固定乙酰胆碱酯酶的简单而有效的方法,可利用电化学工作站和传感器来检测氯化乙酰胆碱和有机磷。

3 小结与展望

有机磷农药的过量使用通过食物链的富集作用进入人体,而在环境中的暴露、蓄积和残留,对生物的危害,对生态环境和生态系统的破坏,都对人类的健康与食品的质量安全造成威胁。如今,应该加强在农药残留方面的检测。目前有机磷农药在国内的需求量和生产量不断增加,因此对残留有机磷农药研究的检测方法具有重要现实意义,其检测研究方法较多,但各方法的条件及优缺点各不相同。例如:仪器昂贵、操作复杂、分析成本较高等,试验时间较长、仪器不便转移、检测不够迅速、对人员专业能力要求高,甚至污染环境等,因而在推广应用受限,难以应对现代检测的要求。综上所述,由于其他方法的受限,而电化学分析法具有制备方法简便、样品处理容易,结果迅速、灵敏,方便现场检测等优点。

基于电化学方法的优点与可现场检测的可实现性,且具有成本低、制备方法简便、灵敏度高、选择性和重现性较好等优点,电化学方法基于酶的有机磷电化学生物传感器,是现如今发展起来的一种优点多、简便快捷、灵敏、重现性好、可用于实际样品检测的较好方法。它的传感器制备非常简单,处理样品也相对容易,并且检测时,非常迅速和灵敏,整个检测用到的电化学工作站体积小,便于移动,故可以用于农药的现场检测。此外,这种新方法也比较环保,许多材料,包括

纳米金、碳纳米管等,已经被应用于传感器的制作当中。固定化的乙酰胆碱酯酶有较高的亲和力进而快速响应检测,这种优点多、有潜在应用价值的电流型生物传感器的制备成功为酶抑制剂的分析和用于残留农药的检测研究提供了一种新的有应用前景的工具。

参考文献

- [1] 张艳林. 有机磷农药残留检测方法研究进展[J]. 科技信息, 2009, 24(23): 53.
- [2] FINKELSTEIN Y. CNS involvement in acute organophosphate poisoning: Specific pattern of toxicity, clinical correlates and antidotal treatment[J]. Ital J Neurol Sci, 1988, 9(5): 487-490.
- [3] POND A L, CHAMBERS H W, CHAMBERS J E. Organophosphate detoxication potential of various rat tissues via A-esterase and aliesterase activities[J]. Toxicol lett, 1995, 78(3): 245.
- [4] 邹阴强, 杨蕊, 金钦汉. 农药与农药污染[J]. 大学化学, 2004, 9(6): 1.
- [5] 仲维科. 食品农药残留研究进展[J]. 分析化学, 2000, 28(7): 904-910.
- [6] PARDOY-YISSAR V, KATZ E, WASSERMAN J, et al. Acetyl-choline esterase labeled CdS nanoparticles on electrodes: Photoelec-tro-chemical sensing of the enzyme inhibitors[J]. Am Chem Soc, 2013, 125(3): 622-623.
- [7] WALZ I, SCHWACK W. Cutinase inhibition by means of insecticidal organophosphates and carbamates[J]. Agricultural and food chemistry, 2007, 55(20): 8177-8186.
- [8] 袁玉坤, 李书香, 张锐. 对硫磷对大鼠脑红细胞膜 Ca^{2+} -ATP 活性的影响[J]. 卫生毒理学杂志, 1991, 5(4): 215-220.
- [9] 滕丽红, 张艳. 对硫磷对大鼠脑突触小体钙稳态及 cAMP 的影响[J]. 卫生毒理学杂志, 1991, 5(4): 237-239.
- [10] 杨东顺, 梅文泉, 汪禄祥, 等. 蔬菜中 16 种有机磷农药残留量的气相色谱快速测定[J]. 西南农业学报, 2015(5): 2136-2141.
- [11] HUANG J K, NIU J D, LIU X, et al. Direct electrochemistry of catalase at amine-functionalized graphene/gold nanoparticles composite film for hydrogen peroxide sensor [J]. Electrochimica acta, 2011, 56(7): 2947-2953.
- [12] TUZIMSKI T, SOCZEWINSKI E. Correlation of retention parameters of pesticides in normal and reversed-phase systems and their utilization for the separation of a mixture of 14 triazines and urea herbicides by means of two-dimensional thin layer chromatography [J]. Journal of chromatography A, 2012, 961(2): 277-283.
- [13] 王丽霞, 李挥, 范斌. 国外农药残留检测技术一瞥[J]. 检验方法, 2007(7): 86-87.
- [14] 于秋香. 对硫磷残留的酶联免疫检测技术的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2003, 940-944.
- [15] LI Y P, HAN G Y. Ionic liquid-functionalized graphene for fabricating an amperometric acetylcholinesterase biosensor [J]. Analyst, 2012, 137(13): 3160-3165.
- [16] 倪永年, 邱萍. 电化学分析在有机磷农药残留量分析中的应用[J]. 分析测试学报, 2003, 22(2): 103-106.
- [17] 何永红, 高志贤, 晁福寰. 基于生物学原理的农药残留检测技术研究进展[J]. 卫生研究, 2004, 33(1): 112-114.
- [18] 孙春燕, 李宏坤, 平红, 等. AuNPS/Sol-gel 复合膜法固定乙酰胆碱酯酶生物传感器检测有机磷农药[J]. 高等学校化学学报, 2011, 11(32): 2533-2538.
- [19] 王艳丽, 谢国祥. 南京市售蔬菜重金属污染状况及对人体健康风险分析[J]. 现代预防医学, 2014, 41(12): 2148-2166.

(上接第 47 页)

衣剂)较其他处理在提高小麦出苗率、预防小麦纹枯病以及产量性状等方面均有显著效果,建议在生产上推广使用。

由于该试验齐穗期小麦遭受冰雹(4月3日)的袭击,各个小区断穗率达 20.37%~24.89%,导致该试验小麦性状指标有

一定的误差。小麦生长后期防病还要结合其他药剂使用。

参考文献

- [1] 姜桂龙, 闵思桂. 不同种衣剂在小麦上的应用效果[J]. 农业与技术, 2000(1): 24-26.
- [2] 张繁, 张海清. 种子包衣技术研究现状及展望[J]. 作物研究, 2007(5): 531-535.