

农药残留量快速检测方法 ——农药速测卡的应用与验证

张莹 杨大进
方从容

卫生部食品卫生监督检验所 (100021)

农药污染食品的问题日益引起人们的关注,而在诸多食品中,蔬菜所受农药污染的程度最为严重。建立快速便捷的残留量检测方法是农残分析方法的发展方向。

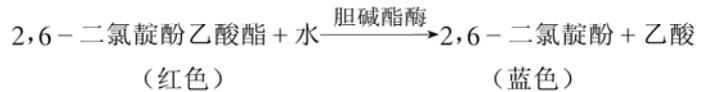
近年来各国均在研究农药残留快速检测方法,目标大致相同,采用的均为生物材料。目前比较好的方法有活体生物测定法、分子生物学方法、生物化学测定法。活体生物测定法使用发光细菌或敏感性家蝇作为测定材料,目前发光细菌已能应用于有机磷农药的测定,而敏感性家蝇可用于几乎所有有毒物质的检测;分子生物学方法则采用酶联免疫反应,需使用特异性的酶联免疫试剂盒;生物化学测定法利用某些农药抑制胆碱酯酶活性的原理,使用范围仅限于能抑制胆碱酯酶活性的农药。农药速测卡属于生物化学测定法中的一种类型,可对蔬菜、水果中的有机磷、氨基甲酸酯类农药残留快速检测。较之前两种方法,具有材料简单、操作便捷的优点。

1 方法原理

农药速测卡所依据的原理是有机磷、氨基甲酸酯类杀虫剂的杀虫机理。胆碱酯酶是一种由蛋白质分子构成的生物催化剂,可催化神经传递介质乙酰胆碱的水解反应。有机磷、氨基甲酸酯类杀虫剂能抑制胆碱酯酶的活性,乙酰胆碱不能及时分解而大量积累,破坏神经冲动的正常传导,使昆虫中毒死亡。

农药速测卡是 55×22 mm 的长方形纸条,上面对称贴有直径 15 mm 的白色、红色圆形药片各一片。白色药片中含有从牛血清中提取的胆碱酯酶,红色药片中含有乙酰胆碱类似物 2,6-二氯靛酚乙酸酯,2,6-二氯靛酚乙酸酯在胆碱酯酶的催化下能迅速发生水解反应,生成 2,6-二氯靛酚(蓝色)和乙酸。如有有机磷或氨基甲酸酯类农药存在,会抑制胆碱酯酶的活性而不发生水解反应,没有蓝色物质生成。所以

观察纸片的变化,可以很容易地直接判断有机磷、氨基甲酸酯类农药的存在。



2 使用方法

2.1 表面测定法

首先在蔬菜叶面(最好叶尖部位)滴 2 滴洗脱液(磷酸缓冲液 pH 7.5),用白色药片在滴液处轻轻涂擦,放置 10 min,进行预反应。将速测卡向内对折,用手指捏紧 3 min,使白色药片与红色药片紧密接触反应。打开速测卡,若白色药片变成蓝色,为阴性,若不变色或显浅蓝色,表示有农药残留存在。

2.2 整体测定法

取试样 5 g,用剪刀剪成 1 cm^2 的碎片,置于已事先加入等量洗脱液的广口瓶中,振摇 1 min,取 1 滴试样处理液到白色药片上,以下操作与上述相应部分相同。

3 验证实验

从 4 个方面对农药速测卡的效果进行了验证。选取最常用的有机磷农药(敌敌畏、对硫磷、甲胺磷)、氨基甲酸酯类农药(甲萘威),应用气相色谱法及农药速测卡方法对各类蔬菜中 4 种农药残留分别测定,以判断农药速测卡的提取效率、应用效果,并求出速测卡的检出限。

3.1 仪器及试剂

GC-9A 气相色谱仪 附 FTD 检测器,日本岛津。

色谱柱 OV101, 25 m×0.32 mm id 石英弹性毛细管柱。

农药速测卡。

丙酮, 二氯甲烷, 乙酸乙酯, 甲醇, 正己烷 以上试剂均重蒸。

氯化钠。

无水硫酸钠。

硅胶 60~80 目, 130℃ 烘 2 h, 5% 水失活。

助滤剂 celite 545。

凝结液 5 g 氯化铵 + 10 mL 磷酸 + 100 mL 水, 用前稀释 5 倍。

磷酸缓冲溶液 分别称取在 115 ± 5 ℃ 下烘干 2~3 h 的磷酸二氢钾 1.179 g 和磷酸氢二钠 4.30 g, 溶于蒸馏水, 在容量瓶中稀释至 1 L, pH 7.5。

农药标准溶液 分别准确称取敌敌畏、对硫磷、甲胺磷、甲萘威标准品, 以丙酮为溶剂, 分别配制成 1 mg/mL 标准储备液, 使用时按需要配制成适宜的标准使用液。

3.2 方法

气相色谱法按卫生部食品卫生监督检验所提供的《食品中有机磷和氨基甲酸酯类农药多残留的测定》方法。

农药速测卡按产品说明书方法使用。

4 结果与讨论

4.1 速测卡对不同农药的灵敏度

由于各种农药分子结构的差异, 对胆碱酯酶的抑制能力也有强弱之分, 因此速测卡对不同农药的灵敏度亦有不同。用丙酮稀释农药标准溶液, 配制成标准系列, 寻求农药速测卡呈阳性反应的最低浓度, 即是速测卡对该农药的灵敏度, 分别为敌敌畏: 0.9 mg/kg, 对硫磷: 0.5 mg/kg, 甲胺磷: 2.5 mg/kg, 甲萘威: 2.0 mg/kg。

4.2 速测卡对蔬菜中农药残留量的检出限

用丙酮配制 4 种农药的标准系列, 以不同浓度的农药喷施蔬菜叶面, 按速测卡使用方法测试, 寻求呈阳性反应最低浓度的试样, 同时应用气相色谱法测定准确的农药残留量, 得出速测卡对农药的最低检出限, 并与日容许摄入量、我国卫生标准、人口服中毒、致死量比较, 见表 1。

由于我国卫生标准即食品中农药最大残留限量 MRL 是依据农药的毒性, 即日容许摄入量 ADI 制定的, 而速测卡的检测限与农药抑制胆碱酯酶的活性有

关, 因此检测限与残留限量并不呈相关性, 不能单凭速测卡的测定判断是否符合国家标准。但是依据速测卡测定阴性的试样肯定不会对人体造成近期危害, 对于预防农药中毒能起到很好的作用。

表 1 速测卡对蔬菜中农药残留量的检出限 mg/kg BW

农药	敌敌畏	对硫磷	甲胺磷	甲萘威
检出限 mg/kg	1.4	0.8	3.0	3.0
日容许摄入量 ADI	0.4×10^{-2}	0.5×10^{-2}	0.2×10^{-3}	0.1×10^{-1}
最大残留限量 MRL	0.2	ND	ND	2.0
人口服致死最低量	50.0	6.5	25.7×10	50.0
人口服中毒最低量				2.8

注: ND 未检出; 环境温度 16℃。

4.3 缓冲溶液的提取效率

农药速测卡进行酶反应要求酸碱度为 pH 7.5, 所以使用 pH 7.5 的磷酸缓冲溶液将蔬菜中的农药提取出来。但是大部分有机磷农药易溶于有机溶剂而难溶于水, 用两种方法检验缓冲溶液的提取效率。

(1) 按农药正确使用方法配制适宜浓度的农药溶液喷施白菜, 放置过夜, 用气相色谱法测定白菜叶中的农药残留量。将白菜叶剪成 1cm² 左右的碎片, 浸于磷酸缓冲溶液中, 振荡。用气相色谱法测定缓冲溶液中的农药残留量。计算缓冲溶液的提取效率, 见表 2。

表 2 缓冲溶液对喷施农药蔬菜的提取效率 mg/kg

农药	敌敌畏	对硫磷
缓冲溶液	2.96	1.52
白菜	5.21	2.42
提取率 %	56.8	62.8

(2) 将白菜浸泡于农药溶液中, 用气相色谱法测定白菜叶中的农药残留量。将白菜叶剪成 1 cm² 左右的碎片, 浸于磷酸缓冲溶液中, 振荡。用气相色谱法测定缓冲溶液中的农药残留量。计算缓冲溶液的提

取效率,见表3。

4.4 应用效果试验

市场随机采集白菜、圆白菜、菜花、油菜、生菜、芹菜、黄瓜、西红柿、胡萝卜、苹果共25件试样,应用农药速测卡测定均为阴性;应用毛细管气相色谱多组分残留分析方法测定,均为未检出。

经农药速测卡检测出的阳性样品除不能食用外,需按国家标准检验方法进一步检测,鉴定农药品种及

残留量。

表3 缓冲溶液提取浸泡农药蔬菜的效率 mg/kg

农药	敌敌畏	对硫磷
缓冲溶液	5.93	3.73
白菜	7.84	4.68
提取率 %	75.6	79.7

食品中牛磺酸的稳定性研究

张平伟 杨祖英 卫生部食品卫生监督检验所 (100021)

牛磺酸的结构式为 $\text{NH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{H}$, 化学性质不活泼。SUBBA RAO 报道⁽¹⁾ 维生素配方中的牛磺酸经 100℃ 加热 88 h 或高强度紫外灯照射 7 h, pH 为 3, 7, 10 时回流 3 h 不降解, 说明牛磺酸比较稳定。

牛磺酸加入到食品中的稳定性如何关系到食品的营养价值, 它在食品基质中的稳定性及影响因素有待研究。本文探讨了牛磺酸在奶粉、碳酸饮料两种食品中的稳定性, 同时探讨了储存方式、食用处理过程对牛磺酸稳定性的影响以及不同牛磺酸浓度与降解速度的关系。为食品的监督监测提供了依据。

1 材料与方方法

1.1 测定方法

用高效液相色谱法测定食品中牛磺酸。⁽¹⁾

1.2 稳定性实验设计

1.2.1 牛磺酸在碳酸饮料中的稳定性研究

以雪碧为基质, 分别配制 2 个浓度水平的牛磺酸溶液, 各分装 3 份, 一份放于 -4℃ 保存, 一份置棕色容量瓶中于室温保存, 一份置白色容量瓶中于室温保存, 在 0、40、90、130 天测定其中的牛磺酸含量。旨在探讨温度、光线、储存时间对存在于雪碧中的牛磺酸的稳定性影响以及不同牛磺酸浓度与降解速度的关系。

1.2.2 牛磺酸在奶粉中的稳定性研究

食品处理过程对牛磺酸稳定性的影响

称取 2 份含牛磺酸的某厂奶粉, 一份加水煮沸 0.5 h, 另一份不加热, 测定 2 份试样中的牛磺酸含

量。旨在探讨食用处理过程对牛磺酸稳定性的影响。

储存方式、时间对牛磺酸稳定性的影响

选取牛磺酸阳性的奶粉作为稳定性实验对象。称取 3 份, 一份于 -4℃ 保存, 一份于室温避光保存, 一份于室温不避光保存。在 0、30、80、120 天测定其中牛磺酸的含量。旨在探讨温度、光线、储存时间对存在于奶粉基质中的牛磺酸的稳定性影响。

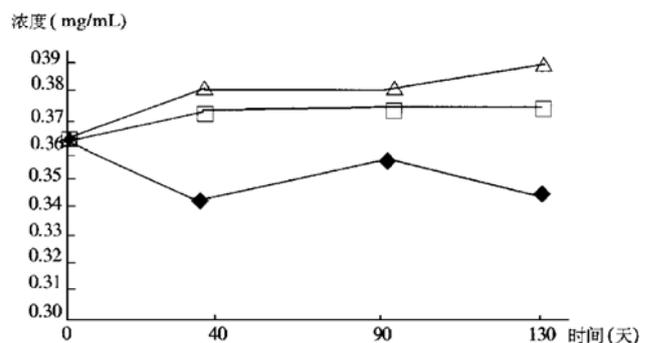


图1 雪碧中牛磺酸浓度的变化

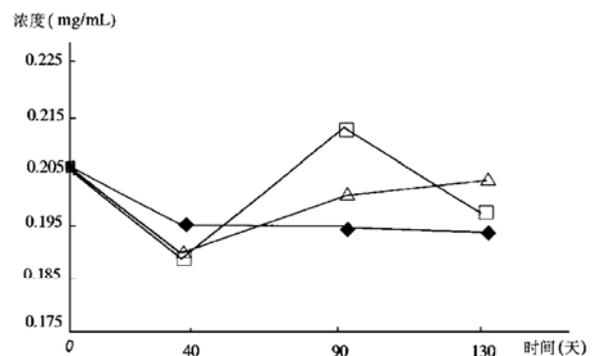


图2 雪碧中牛磺酸浓度的变化