

急性有机磷酸酯类杀虫剂中毒事件卫生应急处置技术方案

急性有机磷酸酯类杀虫剂中毒是短时间内接触较大量有机磷酸酯类杀虫剂后，引起以神经系统损害为主的全身性疾病，临床表现包括毒蕈碱样、烟碱样和中枢神经系统三类症状。

1 概述

有机磷酸酯类杀虫剂多为易挥发的油状液体，多数有蒜臭，易溶于多种有机溶剂，多不溶于或微溶于水，遇碱性物质易分解破坏。常见本类杀虫剂的理化性质和毒性见附件 1。

有机磷酸酯类杀虫剂可通过呼吸道、皮肤、黏膜和胃肠道吸收。常见接触机会：生产、包装、贮存、搬运、供销等环节；配制、喷洒、涂茎、施药工具修理等使用环节；误服、误用或投毒等。

2 中毒事件的调查和处理

现场救援时首先要确保工作人员安全，同时要采取必要措施避免或减少公众健康受到进一步伤害。现场救援和调查工作要求必须 2 人以上协同进行。

2.1 现场处置人员的个体防护

调查和处理经呼吸道和皮肤、黏膜途径中毒的事件时，如为密闭或半密闭中毒现场，并且出现昏迷/死亡病例或死亡动物，或者有机磷酸酯类杀虫剂泄漏未得到控制，必须使用自给式空气呼吸器（SCBA）、B 级防护服、化学防护手套、化学防护靴；进入已经开放通风的中毒现场，须选用可防 A 类气体和至少 P2 级别颗粒物的全面型呼吸防护器（参见 GB 2890-2009），C 级防护服、化学防护手套和化学防护靴。

调查和处理经口途径中毒事件时，一般不必穿戴个体防护装备。现场采集可疑中毒食品样品时，须选用可防 A 类气体和至少 P2 级别颗粒物的全面型呼吸防护器，佩戴化学防护手套和化学防护靴，防护服无特殊要求。

现场救援人员给皮肤污染的中毒病人洗消时，应选用可防 A 类气体和至少 P2 级别颗粒物的全面型呼吸防护器，佩戴化学防护手套和化学防护靴，防护服无特殊要求。

医疗救护人员在现场医疗区救治中毒病人时，一般不必穿戴个体防护装备。

2.2 中毒事件的调查

调查人员到达中毒现场后，应先了解中毒事件的概况，然后进行中毒事件相关场所、人员等调查工作，并及时向中毒事件指挥部提出收集并封存所有可疑中毒食品以及其他可能导致本次中毒事件物品，事件现场控制措施（如通风、切断危害源等）、救援人员的个体防护、现场隔离带设置、人员疏散等方面的建议。

2.2.1 中毒事件相关场所的调查

经呼吸道和皮肤、黏膜途径中毒事件的调查内容包括中毒现场环境状况、气象条件、通风措施、生产工艺流程、防护条件、接触人员情况等。经口途径中毒事件的调查对象为中毒事件涉及的食品生产、加工至食用整个过程的各个场所，调查内容包括食品加工过程（包括原料和配料、调料、食品容器、使用的工具），食品的分装、储存的条件等。

2.2.2 中毒事件相关人员的调查。

调查对象包括中毒病人、目击证人及其他相关人员。调查内容包括了解中毒事件发生经过，中毒人员的接触时间、地点、途径以及物质种类，中毒人数、姓名、性别、工种，中毒的主要症状，中毒事件的进展情况、已经采取的紧急措施等。同时，还应向临床救治单位进一步了解相关资料（如抢救过程、临床治疗资料、实验室检查结果等）。

对现场调查的资料作好记录，进行现场拍照、录音等。取证材料要有被调查人的签字。

2.3 现场中毒样品的快速检测

中毒事件现场采集的可疑中毒食物及中毒病人的呕吐物、胃内容物、以及血液等样品可在现场进行定性检测。如怀疑有机磷酸酯类农药中毒时，可使用酶化学纸片法快速检测蔬菜等食品和呕吐物中有机磷酸酯类农药残留量（附件 2）。有条件可使用速测卡法（纸片法）和酶抑制率法（分光光度法）测定蔬菜等食品中有机磷酸酯类农药残留（附件 3 和 4）；可使用硫代乙酰碘代胆碱-二硫双一硝基苯甲酸法测定中毒病人全血胆碱酯酶的活性（GBZ 52-2002 附录 B）。

2.4 中毒事件的确认和鉴别

2.4.1 中毒事件的确认标准

同时具有以下三点，可确认为急性有机磷酸酯类杀虫剂中毒事件：

- a) 中毒病人有有机磷酸酯类杀虫剂接触机会；
- b) 中毒病人出现以毒蕈碱样、烟碱样和中枢神经系统症状为主的临床表现；
- c) 中毒现场采样样品中有机磷酸酯类杀虫剂含量增高，实验室检查全血胆碱酯酶活性降低。

2.4.2 中毒事件的鉴别

应注意与急性氨基甲酸酯类杀虫剂中毒事件、中暑等事件进行鉴别。

2.5 现场医疗救援

经呼吸道和皮肤、黏膜途径的中毒病人应立即移离中毒现场至空气新鲜处，保持呼吸道通畅，脱去被污染衣服，用肥皂水或清水彻底清洗污染的皮肤（包括皱褶部位）、毛发。经口途径中毒意识清晰的病人，应立即进行催吐。当出现大批中毒病人，应首先进行现场检伤分类，优先处理红标病人。

2.5.1 现场检伤分类

- a) 红标，具有下列指标之一者：
意识障碍；咯大量泡沫样痰。

b) 黄标，具有下列指标者：

肌颤。

c) 绿标，具有下列指标者：

出现头晕、头痛、恶心、呕吐、多汗、胸闷、视物模糊、无力等症状。

D) 黑标，同时具备下列指标者：

意识丧失，瞳孔散大，无自主呼吸，大动脉搏动消失。

2.5.2 现场医疗救援

红标病人立即吸氧、建立静脉通道，保持呼吸道通畅，静脉注射 5mg ~ 10mg 的阿托品，10min ~ 15min 可根据病情重复给药。有条件可肌肉注射 0.5g ~ 1.0g 的氯解磷定。黄标病人应密切观察病情变化。出现呼吸节律明显不规律、窒息或严重缺氧等情况时，及时采取对症支持措施。绿标病人可暂不予特殊处理，观察病情变化。

2.5.3 病人转送

中毒病人经现场急救处理后，应立即就近转送至综合医院或中毒救治中心继续观察和治疗。

3 中毒样品的采集与检测

3.1 采集样品的选择

可能导致中毒的食物和血液是首选样品。另外，可根据中毒事件的现场调查结果，确定还应采集的其它样品种类。

3.2 样品的采集方法

固体食品和半流质食品使用具塞玻璃瓶或聚乙烯瓶密闭盛放，采样量 50g ~ 100g；液体样品（血液除外）使用具塞玻璃瓶或聚乙烯瓶盛放，采样量 300ml ~ 500ml；采集血液样品前必须注意清洗皮肤表面，防止污染，使用具塞的肝素抗凝试管盛放，采样量 5ml ~ 10ml。

3.3 样品的保存和运输

所有样品采集后最好在 4℃ 条件下冷藏保存和运输，如无条件冷藏保存运输，样品应在采集后 24h 内进行实验室检测。所有实验室检测完毕的样品，应在冷冻条件下保存一周，以准备实验室复核。

3.4 推荐的实验室检测方法

a) 全血胆碱酯酶活性测定法——硫代乙酰碘代胆碱-二硫双-硝基苯甲酸法 (GBZ 52-2002 附录 B)。

b) 植物性食品中有机磷和氨基甲酸酯类农药多种残留的测定 (GB/T 5009.145-2003)

c) 食品、毒饵、饮水、呕吐物等样品中的有机磷农药可采用火焰光度检测器 (FPD) 毛细管气相色谱法分离和测定 (附件 5)。

d) 水果和蔬菜中 500 种农药及相关化学品残留的测定 GC-MS 法 (GB/T 19648-2006)。

e) 粮谷中 372 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法 (GB/T 20770-2006)。

f) 蜂蜜、果汁和果酒中 420 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法 (GB/T 20771-2006)。

g) 动物肌肉中 461 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法 (GB/T 20772-2008)。

4 医院内救治

4.1 病人交接

中毒病人送到医院后，由接诊医护人员与转送人员对中毒病人的相关信息进行交接，并签字确认。

4.2 诊断和诊断分级

救治医生对中毒病人或陪护人员进行病史询问，对中毒病人进行体格检查和实验室检查，确认中毒病人的诊断，并进行诊断分级。

4.2.1 诊断分级

a) 观察对象 具有下列表现之一者:

i 全血或红细胞胆碱酯酶活性在70%以下, 尚无明显中毒的临床表现;

ii 有轻度的毒蕈碱样自主神经症状和(或)中枢神经系统症状, 而全血或红细胞胆碱酯酶活性在70%以上。

b) 轻度中毒 短时间内接触较大量有机磷杀虫剂后, 在24h内出现较明显的毒蕈碱样自主神经和中枢神经系统症状, 如头晕、头痛、乏力、恶心、呕吐、多汗、胸闷、视物模糊、瞳孔缩小等。全血或红细胞胆碱酯酶活性一般在50%-70%。

c) 中度中毒 在轻度中毒基础上, 出现肌束震颤等烟碱样表现。全血或红细胞胆碱酯酶活性一般在30%-50%。

d) 重度中毒 除上述胆碱能兴奋或危象的表现外, 具有下列表现之一者, 可诊断为重度中毒:

i 肺水肿;

ii 昏迷;

iii 呼吸衰竭;

iv 脑水肿。

全血或红细胞胆碱酯酶活性一般在30%以下。

4.2.2 中间期肌无力综合征

在急性中毒后1~4天左右, 胆碱能危象基本消失且意识清晰, 出现肌无力为主的临床表现者。

a) 轻型中间期肌无力综合征 具有下列肌无力表现之一者:

i 屈颈肌和四肢近端肌肉无力, 腱反射可减弱;

ii 部分脑神经支配的肌肉无力。

b) 重型中间期肌无力综合征

在轻型中间期肌无力综合征基础上或直接出现下列表现之一者:

i 呼吸肌麻痹；

ii 双侧第IX对及第X对脑神经支配的肌肉麻痹造成上气道通气障碍者。

高频重复刺激周围神经的肌电图检查，可引出肌诱发电位波幅呈进行性递减。全血或红细胞胆碱酯酶活性多在30%以下。

4.3 治疗

接收医院对所接收的中毒病人确认诊断和进行诊断分级后，根据病情的严重程度将病人送往不同科室进行进一步救治。观察对象可在观察室留观，轻、中度中毒病人送入普通病房住院治疗，重度中毒病人立即送至危重症监护病房抢救。

4.3.1 清除毒物

脱去中毒病人污染的衣物，可用肥皂水清洗污染的皮肤、毛发和指甲。眼部污染可用生理盐水反复冲洗。经口中毒不足24h的病人均要进行洗胃，中毒24h以上者可根据病情选择是否洗胃。应反复洗胃，直至洗胃液清亮、无味为止。重度中毒病人可保留洗胃管12h~24h，以便病情需要时再次进行洗胃。洗胃后可给予导泻治疗。

4.3.2 特效解毒剂

a) 阿托品：为短效抗胆碱药物，对缓解毒蕈碱样症状和对抗呼吸中枢抑制有效，但对烟碱样症状和胆碱酯酶活性恢复无效。轻度中毒首次剂量1mg~2mg肌内注射，1h~2h后可重复一次，以后酌情减量并延长间隔时间。中度中毒首次剂量2mg~4mg，肌内或静脉注射，0.5h后可重复一次，“阿托品化”后酌情减量并延长间隔时间。重度中毒首次剂量一般为5mg~10mg静脉注射，如5min未起作用，立即重复5mg静脉注射，以后每隔10min~30min给药一次，每次2mg~5mg，达到“阿托品化”后减量维持“阿托品化”24h以上，逐渐减量停药。

阿托品化是指临床出现瞳孔扩大、口干、肺部湿啰音明显减少或

消失、皮肤干燥以及心率加快等表现。“阿托品化”应综合判断，不能仅靠一两项指征判定。

b) 盐酸戊乙奎醚(长托宁): 为中长效抗胆碱药物, 可拮抗中枢中毒症状和外周的毒蕈碱样中毒症状, 但对胆碱酯酶活性恢复无效。用药方法为肌肉注射, 首次使用剂量: 轻度中毒为 1mg ~ 2mg, 中度中毒为 2mg ~ 4mg, 重度中毒为 4mg ~ 6mg。以后, 根据病情确定给药剂量和使用时间。盐酸戊乙奎醚对心率影响较小, 使用本药物时不能以心率变化来确认是否用药充足。

c) 胆碱酯酶复能剂: 对缓解烟碱样症状有效, 常用药物有氯解磷定和碘解磷定。氯解磷定的用量和用法如下: 轻度中毒首次剂量 0.5 g 肌肉注射, 2h ~ 3h 后可重复一次; 中度中毒首次剂量 0.5g ~ 0.75g 肌肉注射或缓慢静脉注射, 1h ~ 2h 后重复注射一次, 以后酌情减量应用; 重度中毒 1.0g ~ 1.5g 缓慢静脉注射, 0.5h 后可重复一次, 以后每 1h ~ 2h 给药 0.5g, 但 24h 用量一般不超过 10g, 病情好转后酌情减量并延长间隔时间。如无氯解磷定, 可选用碘解磷定, 两种药物的剂量换算为: 1g 氯解磷定约相当于碘解磷定 1.5g。

4.3.3 对症支持治疗

保持呼吸道通畅、加强营养、合理膳食, 注意水、电解质及酸碱平衡, 防治继发感染。密切监护心、脑、肺、肝、胰等重要脏器功能, 及时给予相应的治疗措施。

出现中间期肌无力综合征后, 应在治疗急性中毒的基础上, 密切观察病情变化, 以对症和支持治疗为主。出现呼吸肌麻痹时, 及时建立人工气道, 给予机械通气, 维持呼吸功能, 同时积极防治并发症。

5 应急反应的终止

中毒食品和其他可疑毒物已经完全收缴和销毁, 中毒相关危险因素已被有效控制, 未出现新的中毒病人且原有病人病情稳定 24h 以上。

附件 1

常用有机磷杀虫剂的理化性质和毒性

名称	分子式	理化性质	常用制剂	LD ₅₀ (mg/kg)	
				经口	经皮
敌敌畏	C ₄ H ₇ Cl ₂ O ₄ P	纯品无色或琥珀色液体，易挥发，有特殊气味，可溶于多数有机溶剂，对热稳定，能水解，碱性液中水解更快。工业品为黄色油状液体。	乳油、烟熏剂、缓释剂	大鼠 56-80	大鼠 75-107
内吸磷	C ₈ H ₁₀ O ₃ PS ₂	纯品无色或淡黄色油状液体，难溶于水，易溶于有机溶剂，遇碱性物质易分解。工业品为浅棕色液体，有特殊恶臭。	乳油	大鼠 2.5-12	大鼠 15-20
对硫磷	C ₁₀ H ₁₄ O ₅ NSP	纯品为几乎无色无臭的液体或白色针状晶体，难溶于水，可溶于有机溶剂，遇碱易分解。工业品为黄褐色液体，有大蒜样臭味。	乳油、粉剂、颗粒剂	大鼠 4-13	大鼠 约 55
甲基对硫磷	C ₈ H ₁₀ NO ₃ PS	纯品为白色晶体，难溶于水，易溶于苯、二甲苯、乙醇、丙酮等。在中性或弱酸性中比较稳定，遇碱迅速分解。工业品为挥发性小的黄色或棕色油状液体。	乳油、粉剂	大鼠 14-24	大鼠 约 67
杀螟硫磷	C ₉ H ₁₂ NO ₃ PS	棕黄色液体，微有蒜臭，难溶于水，可溶于甲醇、乙醇等多种有机溶剂，遇碱易分解。	乳油	大鼠 470-516	大鼠 约 1250
倍硫磷	C ₁₀ H ₁₅ O ₃ PS ₂	纯品无色、无臭油状液，工业品为棕色油状液，略带大蒜味。微溶于水，易溶于多数有机溶剂。对光、热、碱稳定。	乳油	大鼠 约 215	

名称	分子式	理化性质	常用制剂	LD ₅₀ (mg/kg)	
				经口	经皮
二溴磷	C ₄ H ₇ O ₄ PBr ₂ Cl ₂	纯品在室温下为白色晶体，高温下为无色粘稠油状液体。不溶于水，易溶于芳香族烃类，难溶于脂肪族烃类。无水状态时稳定，在含水状态下可水解，遇碱易分解。工业品为淡琥珀色液体。	乳油、粉剂	大鼠 约 430	大鼠 约 1100
苯硫磷	C ₁₄ H ₁₄ N ₀ PS	纯品为淡黄色晶体粉末，难溶于水，能溶于多种有机溶剂。工业品为深黄色液体。遇碱易分解。	乳油、粉剂	大鼠 12-40	大鼠 25-230
乐果	C ₃ H ₁₂ N ₀ PS ₂	纯品为无色晶体，有樟脑气味。易溶于乙醇、丙酮、氯代烃，可溶于芳香族烃。遇碱易分解。工业品为白色结晶或黄棕色油状液体，有硫醇样臭气。	乳油、粉剂	大鼠 500-600	大鼠 700-1150
马拉硫磷	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	纯品为淡黄色油状液体，微溶于水，易溶于醇、醚、酮以及芳香族有机溶剂，遇碱易分解。工业品为深褐色液体，有强烈大蒜样臭味。	乳油、粉剂	大鼠 1800-2800	兔 约 4100
甲拌磷	C ₇ H ₁₇ O ₂ PS ₃	纯品为略带臭味的油状液体，几乎不溶于水，易溶于乙醇、乙醚、丙酮等多种有机溶剂，在碱中易分解。工业品为黄色至褐色油状液体，有强烈恶臭味。	乳油、颗粒剂、粉剂	大鼠 2.1-3.7	豚鼠 20-30
敌百虫	C ₄ H ₈ Cl ₃ O ₄ P	纯品白色结晶，带芳香味，可溶于苯、乙醇及水中，水溶液中分解。在碱性液中可转化为敌敌畏。	粉剂、乳油	大鼠 400-900	大鼠 >2000
辛硫磷	C ₁₂ H ₁₅ O ₃ N ₂ PS	纯品为淡黄色油状液体，工业品为红棕色油状液体，微溶于水，易溶于有机溶剂，遇碱易分解。	乳油、颗粒剂、微囊悬浮剂	大鼠 约 800	

名称	分子式	理化性质	常用制剂	LD ₅₀ (mg/kg)	
				经口	经皮
水胺硫磷	C ₁₁ H ₁₆ N ₀ PS	纯品为无色片状结晶，不溶于水和石油醚，溶于多种有机溶剂。工业品为黄色或褐色油状液体。	乳油	大鼠 25-36	大鼠 197-218
氧乐果	C ₅ H ₁₂ N ₀ PS	纯品为无色透明油状液体，有韭菜气味，可溶于水、乙醇和烃类等多种溶剂，微溶于乙醚，原油为浅黄至黄色透明油状液体，遇碱易分解。	乳油	大鼠 30-60	大鼠 700-1400
毒死蜱	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ N ₀ PS	无色或白色结晶，稍有硫醇气味，难溶于水、溶于大多数有机溶剂，随 pH 增加水解速度加快。	乳油、颗粒剂、水乳剂、微乳剂	大鼠 82-163	大鼠 >2000
三唑磷	C ₁₂ H ₁₆ N ₃ O ₃ PS	浅黄色油状物，沸点蒸馏时分解，难溶于水，可溶于大多数有机溶剂。光稳定，酸碱液中水解。	乳油、颗粒剂、水乳剂、微乳剂、微囊悬浮剂	大鼠 57-68	大鼠 约 1100
甲胺磷	C ₂ H ₈ N ₀ PS	纯品为白色晶体，工业品为淡黄色油状液体，有臭味，易溶于水，可溶于醇、丙酮、二氯甲烷、二氯乙烷等。碱性或强酸介质中分解。	乳油、粉剂	大鼠 20-30	大鼠 50-110
乙酰甲胺磷	C ₄ H ₁₀ N ₀ PS	纯品为白色晶体，易溶于水，可溶于丙酮、乙醇、苯等溶剂，酸性条件下稳定。高温或碱性介质中分解。	乳油、可湿性粉剂	大鼠 约 945	兔 >2000

附件 2

酶化学纸片法快速检测食品和呕吐物中 有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量

1 适用范围

本方法适用于食品和呕吐物中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量的快速筛选测定。该方法定值是以限量的形式出现，仅供筛查，可用其它分析方法进一步确定具体农药品种和含量。

2 原理

有机磷及氨基甲酸酯类农药能抑制血液中胆碱脂酶活性，在正常的生理条件下，胆碱脂酶能使乙酰胆碱水解成醋酸和胆碱，因而pH值变低，当有机磷及氨基甲酸酯类中毒以后，血液中的胆碱脂酶活性受到抑制，乙酰胆碱水解成醋酸和胆碱的能力变低，而使pH值变高。根据pH值的变化，以溴麝香草酚兰为指示剂判断是否有机磷及氨基甲酸酯类中毒。

3 主要性能指标

检测灵敏度：(5 ~ 10) $\mu\text{g}/10\text{g}$ 样品

4 试剂

- 4.1 三氯甲烷（用 10ml 安瓿包装）。
- 4.2 溴水（或 1ml 安瓿包装）溶液：1ml 饱和溴水加水 4ml，混匀即成。
- 4.3 血清或干燥血清：马血清可直接使用，如果干燥马血清，可按瓶签上标明的情况加水稀释后用。也可使用健康人血清和鸭血清。
- 4.4 乙酰胆碱纸片：称取氯化乙酰胆碱 1g，溴麝香草酚兰 0.084g，溶于 30ml 95%乙醇。取定量滤纸，一张一张地浸泡在上述溶液中，取出晾干，剪成 2cm × 2cm 的小方块备用。

5 分析步骤

取切碎试样 10g 左右于具塞三角瓶中，加三氯甲烷 10ml ~ 20ml，振荡数分钟过滤，取滤液 1ml ~ 2ml 于蒸发皿中挥干，加水 1ml 用玻棒充

分磨擦皿壁，使其充分溶解，如果是甲拌磷和对硫磷，则需加溴水氧化，然后用滴管吸取上述液体滴 1 滴（约 0.05ml）于白磁板上，另加马血清 1 滴（约 0.05ml）混合作用半分钟，加盖乙酰胆碱纸片一张，10min~20min 后观察纸片颜色。同时用水作空对照试验。

6 结果判定

阳性结果：呈绿或蓝色

阴性结果：黄色。

7 注意事项

7.1 本法以 pH 值改变判断结果，应避免酸碱因素的干扰，白磁板用前清洗干净，吹干。

7.2 经试验马血清在冰箱中保存 2 年，其活性不影响测定结果，密封干燥马血清在低温保存 2 年其活性也不影响测定效果。

7.3 用溴水氧化甲拌磷和对硫磷后可提高灵敏度，以 (1+5) 饱和溴水 1 滴氧化 1ml 检液为宜。

7.4 乙酰胆碱试纸片应避光，干燥保存。

7.5 乙酰胆碱纸片最好使用氯化乙酰胆碱。

7.6 可使用符合以上要求的酶试剂条产品。

附件 3

速测卡法（纸片法）快速检测蔬菜中 有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量

参照（GB/T 5009.199—2003）

1 适用范围

本方法准适用于蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量的快速筛选测定。该方法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。

2 原理

胆碱酯酶可催化靛酚乙酸酯（红色）水解为乙酸与靛酚（蓝色），有机磷或氨基甲酸酯类农药对胆碱酯酶有抑制作用，使催化、水解、变色的过程发生改变，由此可判断出样品中是否有高剂量有机磷或氨基甲酸酯类农药的存在。

3 试剂

3.1 固化有胆碱酯酶和靛酚乙酸酯试剂的纸片（速测卡）。

3.2 pH7.5 缓冲溶液：分别取 15.0g 磷酸氢二钠 $[\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}]$ 与 1.59g 无水磷酸二氢钾 $[\text{KH}_2\text{PO}_4]$ ，用 500ml 蒸馏水溶解。

4 仪器

4.1 常量天平。

4.2 有条件时配备 $37^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 恒温装置。

5 分析步骤

5.1 整体测定法

a) 选取有代表性的蔬菜样品，擦去表面泥土，剪成 1cm 左右见方碎片，取 5g 放入带盖瓶中，加入 10ml 缓冲溶液，振摇 50 次，静置 2min 以上。

b) 取一片速测卡，用白色药片沾取提取液，放置 10min 以上进行预反应，有条件时在 37℃ 恒温装置中放置 10min。预反应后的药片表面必须保持湿润。

c) 将速测卡对折，用手捏 3min 或用恒温装置恒温 3min，使红色药片与白色药片叠合发生反应。

d) 每批测定应设一个缓冲液的空白对照卡。

5.2 表面测定法（粗筛法）

a) 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。

b) 取一片速测卡，将蔬菜上的液滴滴在白色药片上。

c) 放置 10min 以上进行预反应，有条件时在 37℃ 恒温装置中放置 10min。预反应后的药片表面必须保持湿润。

d) 将速测卡对折，用手捏 3min 或用恒温装置恒温 3min，使红色药片与白色药片叠合发生反应。

e) 每批测定应设一个缓冲液的空白对照卡。

6 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。对阳性结果的样品，可用其它分析方法进一步确定具体农药品种和含量。

7 附则

7.1 速测卡技术指标

7.1.1 灵敏度指标：速测卡对部分农药的检出限见下表。

部分农药的检出限

农药名称	检出限 (mg/kg)	农药名称	检出限 (mg/kg)
甲胺磷	1.7	乙酰甲胺磷	3.5
对硫磷	1.7	敌敌畏	0.3
水胺硫磷	3.1	敌百虫	0.3
马拉硫磷	2.0	乐果	1.3
氧乐果	2.3	久效磷	2.5
克百威	0.5	甲萘威	2.5

7.1.2 符合率：在检出的 30 份以上阳性样品中，经气相色谱法验证，阳性结果的符合率应在 80%以上。

8 说明

8.1 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）蔬菜浸提或采用表面测定法。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。

8.2 当温度条件低于 37℃，酶反应的速度随之放慢，药片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（体温）捏 3min 时可以变蓝，即可往下操作。注意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。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。

8.3 红色药片与白色药片叠合反应的时间以 3min 为准，3min 后的蓝色会逐渐加深，24h 后颜色会逐渐退去。

附件 4

酶抑制率法（分光光度法）定量检测蔬菜中 有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量

参照（GB/T 5009.199—2003）

1 适用范围

本方法准适用于蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量的快速定量测定。该方法定值是以抑制率的形式出现，可用其它分析方法进一步确定具体农药品种和含量。

2 原理

在一定条件下，有机磷和氨基甲酸酯类农药对胆碱酯酶正常功能有抑制作用，其抑制率与农药的浓度呈正相关。正常情况下，酶催化神经传导代谢产物（乙酰胆碱）水解，其水解产物与显色剂反应，产生黄色物质，用分光光度计在 412nm 处测定吸光度随时间的变化值，计算出抑制率，通过抑制率可以判断出样品中是否有高剂量有机磷或氨基甲酸酯类农药的存在。

3 试剂

3.1 pH8.0 缓冲溶液

分别取 11.9g 无水磷酸氢二钾与 3.2g 磷酸二氢钾，用 1000ml 蒸馏水溶解。

3.2 显色剂

分别取 160mg 二硫代二硝基苯甲酸（DTNB）和 15.6mg 碳酸氢钠，用 20ml 缓冲溶液溶解，4℃冰箱中保存。

3.3 底物

取 25.0mg 硫代乙酰胆碱，加 3.0ml 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。

3.4 乙酰胆碱酯酶

根据酶的活性情况，用缓冲溶液溶解，3min的吸光度变化 ΔA_0 值应控制在0.3以上。摇匀后置4℃冰箱中保存备用，保存期不超过四天。

可选用由以上试剂制备的试剂盒。乙酰胆碱酯酶的 ΔA_0 值应控制在0.3以上。

4 仪器

4.1 分光光度计或相应测定仪。

4.2 常量天平。

4.3 恒温水浴或恒温箱。

5 分析步骤

5.1 样品处理：选取有代表性的蔬菜样品，冲洗掉表面泥土，剪成1cm左右见方碎片，取样品1g，放入烧杯或提取瓶中，加入5ml缓冲溶液，振荡1min~2min，倒出提取液，静置3min~5min，待用。

5.2 对照溶液测试：先于试管中加入2.5ml缓冲溶液，再加入0.1ml酶液、0.1ml显色剂，摇匀后于37℃放置15min以上（每批样品的控制时间应一致）。加入0.1ml底物摇匀，此时检液开始显色反应，应立即放入仪器比色池中，记录反应3min的吸光度变化值 ΔA_0 。

5.3 样品溶液测试：先于试管中加入2.5ml样品提取液，其它操作与对照溶液测试相同，记录反应3min的吸光度变化值 ΔA_t 。

6 结果的表述计算

6.1 结果计算见式（1）。

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

式中： ΔA_0 ——对照溶液反应3min吸光度的变化值；

ΔA_t ——样品溶液反应3min吸光度的变化值。

6.2 结果判定

结果以酶被抑制的程度（抑制率）表示。当蔬菜样品提取液对酶的抑制率 $\geq 50\%$ 时，表示蔬菜中有高剂量有机磷或氨基甲酸酯类农药存

在，样品为阳性结果。阳性结果的样品需要重复检验 2 次以上。对阳性结果的样品，可用其它方法进一步确定具体农药品种和含量。

7 附则

7.1 酶抑制率法技术指标

7.1.1 灵敏度指标：酶抑制率法对部分农药的检出限见下表。

酶抑制率法对部分农药的检出限

农药名称	检出限 (mg/kg)	农药名称	检出限 (mg/kg)
敌敌畏	0.1	氧乐果	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	克百威	0.05

7.1.2 符合率：在检出的抑制率 $\geq 50\%$ 的 30 份以上样品中，经气相色谱法验证，阳性结果的符合率应在 80% 以上。

8 说明

8.1 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。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。

8.2 当温度条件低于 37°C ，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 ΔA_0 值在 0.3 以上，即可往下操作。注意样品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 ΔA_0 值 < 0.3 的原因：一是酶的活性不够，二是温度太低。

8.3 考虑到酶试剂的有效期很短，最好在实验前，测试酶的活性，达到要求后才能往下进行。

8.4 也可使用符合上述方法要求的快速检测仪。

附件 5

火焰光度检测器 (FPD) 毛细管气相色谱法测定

食品、毒饵、饮水、呕吐物等样品中的有机磷农药

1 适用范围

本方法适用于食品、毒饵、饮水、呕吐物等样品中有机磷农药的应急检测。

2 原理

样品中微量有机磷农药经前处理，定量注入色谱柱，各有机磷农药在柱上逐一分离，依次在火焰光度检测器富氢火焰中燃烧，发射出 526nm 波长的特征光。光强度与含磷量成正比，此特征光通过磷滤光片，由光电倍增管检测进行定量分析。

3 方法重要参数

3.1 线性范围：(0.5 ~ 10.0) $\mu\text{g}/\text{ml}$ (标准溶液)；

3.2 精密度 (RSD)： $\leq 10\%$ ；

3.3 回收率：70% ~ 110%；

3.4 检出限：0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ；

3.5 干扰：有些有机磷农药出峰可能重叠，检测出有机磷农药时，可更换不同色谱柱或用 GC/MS 法进行确认。

3.6 全程测定时间：30min ~ 60min。

4 试剂和仪器

4.1 试剂和材料

4.1.1 有机磷农药标准品：分析试剂级。

4.1.2 有机磷农药标准贮备液 (10mg/L)：用丙酮配制单个有机磷农药标准贮备液。

4.1.3 丙酮、乙酸乙酯，分析纯试剂。

4.1.4 高纯气体：氦气、氢气、氮气、空气。

4.2 主要仪器和设备

4.2.1 气相色谱仪

火焰光度检测器

色谱柱：DB-1、DB-5、DB-1701、DB-210，详见表1。

4.2.1 玻璃器皿：分液漏斗、小瓶、试管、容量瓶。

4.2.3 微量注射器：10 μ l。

4.2.4 氮吹仪、离心机。

5 操作步骤

5.1 样品前处理

5.1.1 残留浓度较高的样品

a) 毒饵

准确称取约0.02g样品于2ml带塞离心管中，加入1ml乙酸乙酯，涡旋振荡溶解（如果不溶，涡旋振荡2min），取此溶液用乙酸乙酯稀释100倍，待测。

b) 盛放毒物容器

取5ml乙酸乙酯加入盛放毒物容器中，振摇1min，提取液转移入试管中，待测。

5.1.2 固体样品

准确称取约0.2g样品（颗粒大的固体需先研磨碎）于5ml带塞离心管中，加入2ml乙酸乙酯，涡旋振荡2min，离心分离，收集上清液于另一5ml带塞离心管中，重复提取1次，合并有机相，用无水硫酸钠脱水，于50 $^{\circ}$ C下用氮吹仪浓缩至干，加500 μ l乙酸乙酯，待测。

5.1.3 半固体样品

准确称取约1g样品于10ml带塞离心管中，加适量无水硫酸钠，用玻璃棒研磨为粉状，加5ml乙酸乙酯，涡旋振荡2min，离心分离，收集上清液于另一5ml带塞离心管中，重复提取1次，合并有机相，用无水硫酸钠

脱水，于50℃下用氮吹仪浓缩至干，加500μl乙酸乙酯，待测。

5.1.4 液体样品

准确量取1ml液体样品放入5ml带塞离心管中，加入2ml乙酸乙酯，涡旋振荡2min，8000rpm离心2min，用滴管分离上清液，重复提取1次，合并有机相，用无水硫酸钠脱水，于50℃下用氮吹仪浓缩至干，加500μl乙酸乙酯，待测。

5.2 分析步骤

5.2.1 仪器调试

根据仪器说明书和表1列出的色谱条件调试仪器；分析开始时，进溶剂空白，保证没有溶剂干扰。

5.2.2 校准

取标准贮备液逐级稀释至浓度为(0.50~10.0) μg/ml的混合标准溶液，各取1 μl混合有机磷标准溶液，注入气相色谱仪。以测得的峰面积为纵坐标，浓度为横坐标和标准液浓度，绘制标准曲线。

每次分析样品时，至少用5个标准点进行标准曲线，标准曲线需覆盖分析方法范围，标准样品进样体积与试样的体积相同，尽可能同时分析。

5.2.3 样品测定

取1 μl试液，注入气相色谱仪，测定峰面积，外标法定量；保留时间定性(表2数据为不同的有机磷农药的保留时间参考值)。

5.2.4 计算

a) 固体(半固体)样品

$$\rho = \rho_1 \times V_1 / m$$

式中，

ρ为样品中有机磷农药质量浓度，mg/kg；

ρ₁为从标准曲线查出的有机磷农药质量浓度，μg/ml；

V₁为试样定容体积，ml

m为样品质量，g

b) 液体样品

$$\rho = \rho_1 \times V_1 / V$$

式中，

ρ 为样品中有机磷农药质量浓度，mg/L；

ρ_1 为从标准曲线查出的有机磷农药质量浓度， $\mu\text{g/ml}$ ；

V_1 为试样定容体积，ml；

V为取样体积，ml。

6 质量控制

检测时，应同时加做空白平行样品，检测出有机磷农药时，可更换不同色谱柱或用 GC/MS 法进行确认。

表 1 推荐的色谱柱和色谱条件*

参数	大口径弹性石英毛细管柱			
	DB-1	DB-5	DB-1701	DB-210
固定相	DB-1	DB-5	DB-1701	DB-210
极性	非极性	弱极性	中极性	中极性
长度 (m)	30	30	30	30
内径 (mm)	0.32	0.32	0.32	0.32
膜厚 (mm)	0.25	1.0	1.0	0.25
进样体积 (μl)	1	1	1	1
进样方式	分流	直接	直接	分流
进样口温度 ($^{\circ}\text{C}$)	240	240	240	240
检测器温度 ($^{\circ}\text{C}$)	200	200	200	200
初始温度 ($^{\circ}\text{C}$)	100	125	125	100
最终温度 ($^{\circ}\text{C}$)	275	275	275	250

程序升温速率 (°C/min)	3.0	4.0	4.0	3.0
载气	氦气	氦气	氦气	氦气
柱前压 (psi)	15	15	15	15

*实际条件可根据色谱柱和分析目标物确定,上述条件相应于表 2 的保留时间。

表 2 有机磷农药的保留时间

序号	中文名称	DB-1		DB-5		DB-1701	DB-210
		RT	RRT*min	出峰温	RT	RT	RT
		min		度(°C)	(min)	min	min
1	特普	3.71	0.128	111	5.47	7.18	7.88
2	三乙基硫代磷酸酯	4.37	0.151	113	6.34	7.14	4.93
3	甲胺磷	5.12	0.177	115	7.64	13.61	12.03
4	敌敌畏	5.81	0.200	117	8.24	10.67	10.54
5	速灭磷	10.45	0.360	131	12.92	16.69	19.20
6	灭克磷	17.15	0.592	151	19.09	21.52	20.10
7	二溴磷	17.61	0.608	153	/	/	23.17
8	百治磷	18.00	0.621	154	19.94	25.84	31.43
9	久效磷	18.27	0.630	155	20.12	28.11	31.60
10	治螟磷	19.06	0.658	157	/	/	23.09
11	甲拌磷	19.18	0.662	158	20.94	23.10	18.92
12	乐果	19.44	0.671	158	21.84	/	/
13	内吸磷 - s	20.15	0.695	160	21.70	25.06	24.97
14	敌杀磷/二恶磷	21.30	0.735	164	23.04	26.33	23.46
15	地虫磷	22.04	0.760	166	23.57	25.87	22.20
16	特丁硫磷	22.22	0.767	168	23.80	25.02	21.52
17	乙拌磷	23.09	0.797	169	24.19	26.43 (F)	22.78
18	二嗪磷	23.37	0.806	170	23.75	25.00 (D)	20.99
19	甲基对硫磷	25.37	0.875	176	26.48	31.37	33.21
20	砒吸磷	26. (5)	0.90	179	/	/	/
21	皮绳磷	26.86	0.927	181	27.39	29.30	26.27
22	甲基嘧啶磷	28.13	0.971	184	27.90	29.72	26.77
23	马拉硫磷	28.53	0.984	186	28.33	31.78	33.08
24	百治屠/倍硫磷	28.74	0.992	186	28.93	31.78	29.35
25	对硫磷	28.98	1.000	187	29.10	33.28	35.60
26	毒死蜱	29.11	1.004	187	29.10	30.79	27.72
27	育畜磷	29.64	1.023	189	29.54	34.00	35.34
28	异柳磷	31.91	1.101	196	31.17	33.81	33.02
29	杀虫威	33.26	1.148	200	32.60	35.96	37.01
30	克线磷	34.09	1.176	202	33.03	37.14	38.95
31	脱叶亚磷	35.19	1.214	206	/	/	30.57

32	丰索磷	36.61	1.263	210	35.78	42.41	46.98
33	乙硫磷	37.88	1.307	214	36.30	39.30	37.96
34	硫丙磷	38.49	1.328	216	36.96	39.54	37.11
35	磷酸三苯酯	40.88	1.411	223	39.06	/	/
36	苯硫磷	42.64	1.471	228	41.06	47.83	47.13
37	乙基保棉磷	44.16	1.524	232	43.67	/	49.25
38	对溴磷	45.12	1.557	235	43.91	47.38	41.68
39	保棉磷	46.55	1.606	240	46.50	47.43	50.40
40	蝇毒磷/香豆磷	49.31	1.702	248	50.10	67.86	60.88

*RRT: 对硫磷的相对保留时间