

2,4-D 的毒性与残留检测方法研究进展

龚芳^{1,2}, 席俊¹, 职爱民², 胡晓飞², 邓瑞广², 陆启玉^{1*}

(1. 河南工业大学 粮油食品学院, 河南 郑州 450052;

2. 河南省农业科学院 农业部动物免疫学重点开放实验室/ 河南省动物免疫学重点实验室, 河南 郑州 450002)

摘要: 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)是常用的除草剂和植物生长调节剂,并被广泛应用于提高水果品质和延长保鲜时间,但其毒性和残留问题日益受到人们的重视。为了给2,4-D的检测提供方便,从免疫毒性、生殖毒性及其他毒性方面综述了其毒副作用,简要叙述了其检测方法,如高效液相色谱法、气相色谱法、联用技术、免疫学检测方法等。

关键词: 2,4-二氯苯氧乙酸; 毒性; 残留检测方法

中图分类号: S482.4 文献标识码: A 文章编号: 1004-3268(2011)08-0040-04

A Review on the Toxicity and Residues Determination of 2,4-Dichlorophenoxy

GONG Fang^{1,2}, XI Jun¹, ZHI Ai-min², HU Xiao-fei², DENG Rui-guang², LU Qi-yu^{1*}

(1. School of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450052, China;

2. Key Laboratory for Animal Immunology of the Ministry of Agriculture/ Henan Provincial Key Laboratory of Animal Immunology, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: 2,4-dichlorophenoxy (2,4-D) is a commonly used herbicide and plant growth regulator, widely employed to improve the quality of fruit and prolong their preservation time. But its toxicity and residue problem has attracted increasing attention. In this paper, the side effects of 2,4-D in terms of immunotoxicity, reproductive toxicity and other toxicity were reviewed. Several detection methods of 2,4-D, such as high performance liquid chromatography (HPLC), gas chromatography (GC), hyphenated techniques, and immunoassay, are also discussed.

Key words: 2,4-D; Toxicity; Residues determination

2,4-二氯苯氧乙酸(简称2,4-D)是一种低毒性的有机溶剂,由于具有用量少、成本低等优点,常被用作除草剂和植物生长调节剂,并广泛应用于提高水果品质和延长保鲜时间等方面^[1]。但是如果使用不恰当,容易造成2,4-D在土壤、河流、果蔬等中大量残留,而且它在自然条件下难以降解,水溶性也较低,对生态环境和人类健康造成严重的危害。鉴于此,许多国家都制订了该农药在农产品中的最高残留限量,我国2001年新颁布的《饮用水水质卫生规范》将2,4-D的极限值规定为0.03 mg/L^[2]。世界卫生组织

2003年8月颁布的《饮用水水质指南》规定饮用水中2,4-D的最大检出剂量为30 μg/L^[3]。为了使人们充分认识2,4-D的理化性质,以便研究出快速方便的检测方法,建立有效的监控体系和控制标准,特对2,4-D的理化性质、应用、毒害以及残留检测方法等进行简要阐述。

1 2,4-D的理化性质及应用

2,4-D为白色菱形结晶,略带有酚的气味,相对分子质量221.04,熔点140~141℃,不吸湿,有腐蚀

收稿日期: 2011-04-16

基金项目: 河南工业大学引进人才专项(2010BS010)

作者简介: 龚芳(1987-),女,河南信阳人,在读硕士研究生,研究方向: 食品安全。E-mail: gongfang870607@163.com

* 通讯作者: 陆启玉(1956-),男,河南周口人,教授,硕士,主要从事食品安全方面的研究。E-mail: qiyulu7120@vip.sina.com

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

性,易溶于大多数有机溶剂,在水中的溶解度极低,但它的钠盐、胺盐则易溶于水。25℃时,水中的溶解度为620mg/L。2,4-D属于低毒性的植物促生长剂,但对人和牲畜有一定的毒副作用,可以通过皮肤和呼吸系统进入体内,具有潜在的致癌性及致突变性,能刺激人体分泌大量的雌性激素,干扰内分泌系统,对生殖和免疫系统产生不良的影响。除此之外,2,4-D能使红细胞聚集,阻碍红细胞的携氧能力,损伤肌肉、肝脏、肾脏和脑组织,还会损害动物的眼睛、皮肤和黏膜^[4-7]。

2,4-D是世界上使用最广泛的除草剂之一,主要用于杀死阔叶草类的植物,高剂量时除草效果更好。低剂量时主要用于调节细胞生长和分化形成愈伤组织,对提高水果品质和延长果蔬的保鲜时间上有重要作用。2,4-D与杀菌剂施保功混配处理可以显著提高砂糖橘的贮藏保鲜效果,还可较好地保持果实的糖度和酸度,防止维生素C的损失^[3]。另外,施用一定剂量的2,4-D可防止落果,还能提高果实的质量。2,4-D在诱导根瘤的形成方面也有巨大作用^[8]。虽然2,4-D应用很广,但由于它在自然条件下难以降解,水溶性较低,所以它引起的安全问题是不可忽视的。

2 2,4-D的毒副作用

2.1 免疫毒性

相关研究显示,2,4-D可降低人类产生重要免疫活性蛋白基因的数量^[9]。也有研究表明,由于接触2,4-D,人免疫系统中胸腺细胞的数量也有所降低^[10]。

2.2 生殖毒性

美国普渡大学的一位兽医用苏格兰犬作为供试动物,发现暴露在2,4-D环境中的犬得膀胱癌的概率比不暴露的高4倍,而且还降低了犬睾丸的大小^[11]。除此之外,2,4-D还会刺激机体产生雌性激素,影响内分泌系统。美国环保局的一项审查表明,2,4-D对青蛙实际是无毒的,然而,威拉米特大学的最近研究指出,2,4-D可以干扰青蛙性激素和阻止蛙卵的成熟^[12]。

2.3 其他毒性

2,4-D可使红细胞发生聚集,抑制红细胞的携氧能力;损伤肾脏、肝脏、肌肉和脑组织;刺激眼睛、皮肤和黏膜。到目前为止,2,4-D的致癌性还没有得到确切的证明,但是研究显示,接触2,4-D会促进癌症的发生^[13]。

3 2,4-D残留的检测方法

2,4-D残留的检测方法目前主要有高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱法(GC)、联用技术、免疫学检测方法等,就此常用检测方法分述如下。

3.1 高效液相色谱法(HPLC)

HPLC是目前使用较广的色谱分析方法,该方法具有高灵敏度和精密度,能定性、定量检测,特异性好,国内外有很多相关研究报道。de Amarante等^[14]用液相色谱测定土壤中2,4-D含量,这项研究为2,4-D的提取工艺做了重大改变,当回收率在85%~98%时,最低检测限为0.02mg/L,效果很好。赵伟等^[15]用高效液相色谱法对环境水中的2,4-D残留量进行分离和检测,把环境水中的2,4-D用SPE C18色谱柱进行固相萃取,在回收率大于98%情况下,最低检测限为0.01mg/L。该方法有较好的准确度和精密度,又省时省力,简便可行,特别适用于大批量样品的检测。耿志明等^[16]用高效液相色谱法测定柑橘中2,4-D的残留量,回收率在86.5%~96.6%时,最低检测限为0.05mg/kg。

3.2 气相色谱法(GC)

气相色谱分析是采用气体作流动相的一种层析方法,最近20多年来发展相当迅速,具有高效能、高选择性、高灵敏度、分析速度快和应用范围广等特点,目前已经作为层析法中一个很重要的独立分支。在气相色谱法中,由于以气体为流动相,物质在气相中传递速度快、气态样品中各组分与固定相相互作用次数多,而且可作为固定相的物质种类广,所以混合物通过气相色谱法可得到良好的分离。Baim等^[17]用毛细管气相色谱法测定土样中2,4-D的含量,回收率在93%时,检测限为50mg/L。

陈友清等^[18]用衍生化气相色谱法测定了柑桔果实中2,4-D含量,采用三氟化硼乙醚络盐-甲醇作酸性催化剂,把2,4-D转变为2,4-二氯苯氧乙酸甲酯,再进行气相色谱测定,最低检出限为7.5μg/L,2,4-D在质量浓度为45μg/L~40mg/L时有良好的线性关系。周艳明等^[19]建立了气相色谱测定水果中2,4-D丁酯残留量的简单快速的方法,采用带有ECD检测器的气相色谱仪进行检测,最低检出限为0.005mg/kg。

3.3 联用技术

由于每种方法都有其局限性,单一的分析技术难以达到理想的效果,为了得到更好的检测效果,采用各种分析技术的联用,可以扬长避短,获得理想的检测结果。液相色谱-质谱(HPLC-MS)和气相色谱-质

谱(GG-MS) 等是常见的不同方法的联用技术。Beeson 等^[20] 采用高效液相色谱和串联质谱法联用测定尿样中的 2, 4-D, 对代谢物的检测限均小于 0.5 mg/L, 准确度和精确度都比较高。

古文亮等^[21] 同时用高效液相色谱和串联质谱法测定生活饮用水中的 2, 4-D。水样经 0.22 μm 的滤膜过滤, 然后通过高效液相色谱仪梯度分离, 2, 4-D 在 1~200 μg/L 范围内线性关系良好, 检出限为 0.1 μg/L, 此法方便快捷, 可直接应用于生活用水中 2, 4-D 的测定。匡科等^[22] 建立了气相色谱-负化学源质谱法(GG-NCI-MS) 测定水中 2-甲-4-氯和 2, 4-D 2 种酸性除草剂的分析方法。2, 4-D 质量浓度在 0.45 ng/L 时能被检出, 该方法的专属性好, 灵敏度高。李鹏等^[23] 用薄层色谱扫描和气相色谱-质谱法快速检测血中的 2, 4-D, 最低检出限为 0.1 mg/L。

3.4 免疫学检测方法

免疫学检测法是基于抗原抗体特异性结合反应的原理来检测各类靶标的分析方法。它能够克服理化检测方法的缺点, 而且具有特异、敏感、快速、准确的特点, 近年来广泛应用于动物疾病、药物残留和农药残留的检测领域, 是快速检测领域发展的方向。近年来, 没有显著毒害作用的酶联免疫吸附试验(ELISA)^[24-27] 和胶体金免疫分析(GICA)^[28-31] 应用日益广泛, 尤其是 GICA 以其方便、敏感、特异、无污染的特性, 特别适合于兽药残留的现场检测, 代表着兽药残留免疫分析的发展方向。余若祯等^[32] 制备了 2, 4-D 的人工抗原, 通过碳酸二乙酯(DEC) 的偶联反应条件优化试验, 合成了多种结合比的完全抗原, 制备了小分子环境污染物的多克隆抗体。国外也有相关报道, Cuong 等^[33] 用试纸检测 2, 4-D, 此方法与酶示踪技术相结合, 2, 4-D 的质量浓度在 0.5~100 μg/L 时都能被检出, 此法可以用于 2, 4-D 实际水样的检测, 灵敏度可以和加标水样相媲美。李会娜等^[34] 制备了兔抗 2, 4-D 的多克隆抗体, 并建立了 ELISA 标准工作曲线, 结果表明, 在 50~2000 μg/L 范围内呈良好的线性关系, 此法检测底限为 50 μg/L。

4 展望

综上所述, 在检测 2, 4-D 的各种方法中, 色谱法具有分离速度快、检测效率高、重现性好、灵敏度高、显著优点, 但因前处理比较复杂、仪器昂贵、技术难度大、检测费用高等不足, 较适合于确证使用, 难以应对大批量样品的检测, 大大限制了其广泛应用。

由于免疫检测法能够克服理化检测法的缺点, 而且具有特异、敏感、快速、准确、成本低等显著优势, 非常适用于现场大量样品的快速筛选, 是以后优先发展的检测技术, 并且具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] 黄修柱, 季颖. 2, 4-D 丁酯原药及其杂质 GG-MS 分析研究[J]. 农药科学与管理, 2005(8): 3-7.
- [2] 中华人民共和国卫生部, 国家标准化管理委员会. 生活饮用水水质卫生规范[S]. 北京: 中国标准出版社, 2001.
- [3] Guidelines for drinking-water quality. Addendum to recommendations[S]. WHO, 2003: 20-21.
- [4] Cox C. Herbicide fact sheet 2, 4-D: toxicology, part 1[J]. Jour Pest Reform, 1999, 19(1): 14-19.
- [5] Cox C. Herbicide fact sheet 2, 4-D: toxicology, part 2[J]. Jour Pest Reform, 1999, 19(2): 14-19.
- [6] Purcell M, Neault J F, M alonga H, et al. Interactions of atrazine and 2, 4-D with human serum albumin studied by gel and capillary electrophoresis, and FTIR spectroscopy[J]. Biochim Biophys Acta, 2001, 1548: 129-138.
- [7] 孟祥春, 蒋依辉, 窦同心, 等. 砂糖橘果实中 2, 4-D 的残留及保鲜效果研究[J]. 亚热带农业研究, 2009, 5(2): 128-131.
- [8] 曹有龙, 高晓原, 罗青, 等. 人工诱导根瘤菌(ORS-571) 与高粱结瘤共生固氮研究[J]. 宁夏农学院学报, 1997, 18(1): 29-35.
- [9] Bharadwaj L, Dhami K, Schneberger D, et al. Altered gene expression in human hepatoma HepG2 cells exposed to low-level 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid and potassium nitrate[J]. Toxicol In Vitro, 2005, 19(5): 603-619.
- [10] de la Rose P, Barnett J B, Schafer R. Characterization of thymic atrophy and the mechanism of thymocyte depletion after *in vivo* exposure to a mixture of herbicides[J]. J Toxicol Environ Health A, 2005, 68(2): 81-98.
- [11] Glickman L T, Raghavan M, Knapp D W, et al. Herbicide exposure and the risk of transitional cell carcinoma of the urinary bladder in Scottish Terriers[J]. J Am Vet Med Assoc, 2004, 224(8): 1290-1297.
- [12] Stebbins-Boaz B, Fortner K, Frazier J, et al. Oocyte maturation in *Xenopus laevis* is blocked by the hormonal herbicide, 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid[J]. Mol Reprod Dev, 2004, 67: 233-242.
- [13] Figgs L W, Holland N T, Rothmann N, et al. Increased lymphocyte replicative index following 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid herbicide exposure[J]. Cancer Causes

- Control, 2000, 11(4): 373-380.
- [14] de Amarante O P, Brito N M, Santos T C, *et al.* Determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its major transformation product in soil samples by liquid chromatographic analysis[J]. *Talanta*, 2003, 60(1): 115-121.
- [15] 赵伟, 马玉坤. 高效液相色谱测定环境水中2,4-二氯苯氧乙酸的方法研究[J]. *化学工程师*, 2009, 23(3): 27-28.
- [16] 耿志明, 陈明, 王冉, 等. 高效液相色谱法测定柑橘中2,4-二氯苯氧乙酸残留[J]. *江苏农业学报*, 2007, 23(1): 67-70.
- [17] Baim M A, Hill H H. Determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in soils by capillary gas chromatography with ion mobility detection[J]. *Journal of Chromatography A Fifth International Symposium on Capillary Chromatography*, 1983, 279: 631-642.
- [18] 陈友清, 冯先桔. 衍生化气相色谱法测定柑橘果实中的2,4-二氯苯氧乙酸[J]. *浙江柑橘*, 2003, 20(1): 43-45.
- [19] 周艳明, 李冬烨, 胡睿. 气相色谱法测定2,4-滴丁酯在水果中的残留[J]. *农药*, 2010, 49(1): 39-40.
- [20] Beeson M D, Driskell W J, Barr D B. Isotope dilution high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for quantifying urinary metabolites of atrazine, malathion, and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid[J]. *Anal Chem*, 1999, 71(16): 3526-3530.
- [21] 吉文亮, 刘运明, 马永建. 高效液相色谱-串联质谱法测定生活饮用水中2,4-滴和灭草松[J]. *中国卫生检验杂志*, 2009(12): 2840-2841.
- [22] 匡科, 赵建亮, 应光国, 等. 气相色谱-负化学源质谱法对水中2-甲-4-氯和2,4-D的测定[J]. *分析测试学报*, 2008, 27(8): 816-819.
- [23] 李鹏, 贾雪峰, 韩胜, 等. 薄层色谱扫描和气相色谱-质谱法快速检测血中2,4-滴丁酯[J]. *中国卫生检验杂志*, 2008, 18(2): 204-207.
- [24] Kumar K, Thompson A, Singh A K, *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay for ultratrace determination of antibiotics in aqueous samples[J]. *J Environ Qual*, 2004, 33(1): 250-256.
- [25] Aga D S, O'Connor S, Ensley S, *et al.* Determination of the persistence of tetracycline antibiotics and their degradates in manure-amended soil using enzyme-linked immunosorbent assay and liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(18): 7165-7171.
- [26] Aga D S, Goldfish R, Kulshrestha P. Application of ELISA in determining the fate of tetracyclines in land-applied livestock wastes[J]. *Analyst*, 2003, 128(6): 658-662.
- [27] Zhao Y, Zhang G, Liu Q, *et al.* Development of a lateral flow colloidal gold immunoassay strip for the rapid detection of enrofloxacin residues[J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(24): 12138-12142.
- [28] Zhang G P, Wang X N, Yang J F, *et al.* Development of an immunochromatographic lateral flow test strip for detection of beta-adrenergic agonist Clenbuterol residues[J]. *J Immunol Methods*, 2006, 312(1-2): 27-33.
- [29] Li X, Zhang G, Liu Q, *et al.* Development of immunoassays for the detection of sulfamethazine in swine urine[J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2009, 26(3): 314-325.
- [30] Zhang G, Wang X, Zhi A, *et al.* Development of a lateral flow immunoassay strip for screening of sulfamonomethoxine residues[J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2008, 25(4): 413-423.
- [31] 张改平, 郭军庆, 李青梅, 等. 动物疫病免疫试纸快速检测技术概述[J]. *河南农业科学*, 2009(9): 174-176.
- [32] 余若祯, 施汉昌, 何苗, 等. 2,4-二氯苯氧乙酸完全抗原和抗体的制备[J]. *中国环境科学*, 2005, 25(3): 288-292.
- [33] Cuong N V, Bachmann T T, Schmid R D. Development of a dipstick immunoassay for quantitative determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in water, fruit and urine samples[J]. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 1999, 364(6): 584.
- [34] 李会娜, 曹远银, 孙艳秋, 等. 兔抗2,4-D多克隆抗体的制备[J]. *河北农业大学学报*, 2006, 9(3): 39-42.