

当前国际上先进的农药残留分析技术*

曲虹云¹, 张军民²

(1. 东北农业大学, 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省农科院园艺所, 哈尔滨 150069)

摘要: 综述了国际上 90 年代农药残留的提取和分析方法, 包括固相萃取技术、吹扫蒸馏技术、超临界流体提取、免疫亲和色谱柱。先进的分析技术包括直接光谱分析技术、毛细管电泳、超临界流体色谱、液相色谱-质谱联用技术、免疫分析法、生物传感器等。

关键词: 国际; 农药残留

中图分类号: S481.8 **文献标识码:** B **文章编号:** 1002-2767(2000)05-0037-03

进入 90 年代以来, 随着农业自动化程度的不断提高, 新型高效农药随之大量涌现, 但由此引起的农药大量使用所造成的环境污染问题, 食品当中的农药残留问题, 越来越受到各国政府和公众的关注。加强对农药残留的监测和环境毒理研究, 对于合理开发和正确使用农药, 保护生态环境, 保护人类健康, 避免和减少不必要的农业损失等, 具有重要的理论和实践意义。

由于人类对环境和食品质量要求越来越高。因此, 对检测仪器的灵敏度也提出了更高的要求。水样的一般检测到 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 至 $1\text{ng}/\text{kg}$ 级水平, 检测到 $1\text{pg}/\text{kg}$ 水平也时有报道, 作物、饲料、土壤及其它生物样品一般在较低的 $1\text{mg}/\text{kg}$ 和 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 水平, 新的食品残留检测下限必须低于最大允许残留量。传统的波谱、色谱等理化分析手段难以适应 90 年代农药残留分析的要求^[1]。

近几年在农药残留分析领域所取得的重要进展或发展趋势主要有以下方面: 样品提取和净化方法的简单化、微型化和自动化, 如固相萃取 (SPE)、超临界流体萃取 (SFE)、微波辅助萃取、样品固相分散萃取、自动索氏萃取、吹扫蒸馏技术和免疫亲和色谱柱等^[2]。在定量分析上的新技术包括现代光谱分析技术、现代波谱分析技术、波谱和色谱联用技术、免疫分析技术和生物传感器等^[3]。

1 先进的提取净化方法

1.1 固相萃取技术 (SPE) SPE 克服了液-液萃取技术 (LLE) 及一般柱层析的缺点。根据柱中填料大体可分为吸附型 (如硅胶、大孔吸附树脂等)、分配型 (C_8 、 C_{18} 、苯基柱等) 和离子交换型。据待测农药性质、样品种类等选用合适的微型柱和淋洗剂及其它优化条件后, 可使萃取富集、净化一步完成。

Shepherd 等用 C_{18} 柱萃取水中莠去津, 用 1.5h 可处理 12 个样品, 仅需 10mL 水样, 检出灵敏度可达 $0.03\mu\text{g}/\text{kg}$ 。Holland^[4] 等用 C_{18} 柱筛选葡萄酒中 74 种农药, 方法快速, 重复性也好。

1.2 吹扫蒸馏技术 实际上是一种动态顶空技术, 在较高温度下, 利用惰性气体 (如 N_2) 进行吹扫蒸馏, 使农药或其它有机物质先挥发, 动物油脂或植物提取物保留在分馏管的玻璃珠上, 从而达到分离纯化技术。挥发的农药可被收集管的弗罗里硅土吸附, 用溶剂洗脱下来, 经浓缩即可测定。

1.3 超临界流体提取 (SFE) 超临界流体本质上是处于临界温度以上的高密度气体, 既具有气体粘度小、扩散速度快、渗透力强的特点, 又具有液体对样品溶解性能好, 可在较高温度下操作的特点。一般常用的是超临界 CO_2 。超临界 CO_2 无毒, 分子极性比较小, 可用于提取非极性或弱极性农药残留。也可以加入适量极性调节剂, 如甲醇等来调节其极性, 据此可最大限度地提不同极性的农药残留而最低限度地减少杂质的提取。应用超临界流体可以对被分析样品进行连续提取, 提取效率高, 可达到索氏提取器的提取水平, 并且可以通过调节温度、压力和添加适当极性调节剂来选择性提取某种目标分析物。Wheeler 等用超临界 CO_2 提取土壤中 ^{14}C 标记的利谷隆 (Linuron) 和敌草隆 (Diuron), 只需 35min, 回收率 99%。而用溶剂提取需要 3d 并消耗 1L 溶剂, 回收率只有 82%~96%。很多农药及代谢物在植物体内成结合状态, 即所谓的不可提取残留物, 如 2,4-D 类除草剂的代谢物 2,4-二氯酚在植物体内与糖结合成糖苷。过去用酸水解提取需 6h, 而用超临界 CO_2 提取只需 45min (样品中加少量酸)。Lancas

* 收稿日期: 2000-04-12

作者简介: 曲虹云 (1972-), 女, 九八研究生, 从事农药学研究。

超临界 CO_2 从水果中提取农药残余物,与固-液萃取法相比具有更快速、更高选择性及更经济的优越性。此外,超临界流体提取液的样品可直接用于分析,因样品提取物可在室温常压下自然挥发去溶剂(超临界流体),免去样品浓缩过程和对后来分析的干扰。

1.4 免疫亲和色谱柱 免疫亲和色谱柱是把抗体固定在适当的支持物上,利用抗体与抗原或半抗原可逆的生物专一性相互作用来净化和富集分析物。它的特点是具有高度的选择性。该技术的关键是选择合适的支持物,合适的抗体和合适的淋洗缓冲液。Kin等用免疫亲和色谱柱净化和富集 2,4-D 莠去津进行测定。

2 先进的分析技术

2.1 直接光谱分析技术 近红外衰减全反射光谱 (Attenuated Total Reflectance Near Spectroscopy, Near IRATR)和表面增强拉曼光谱 (SERS)使光谱分析的灵敏度提高 $10^2 \sim 10^7$ 倍。尤其是 (SERS)光谱,具有高的表面检测灵敏度以及易于获得全波段振动光谱等优点,因而在农药残留分析上得到了广泛应用。其它的光谱技术,如激光拉曼光谱、共焦显微拉曼光谱等的出现,使光谱分析的灵敏度、分辨率和测量的精确性有了更大程度的提高。

2.2 毛细管电泳 (CE) 毛细管电泳根据其原理可分为:毛细管区带电泳 (CZE):毛细管凝胶电泳 (CGE):毛细管胶束电动毛细管电泳 (MECC):毛细管等电聚焦电泳 (IEF):毛细管等速聚焦电泳 (TTP)。多采用毛细管区带电泳 (CZE)或胶束电动色谱 (MEKC)对农药进行残留分析,对分离和检测两方面都是最好的选择^[5]。Kamiansky^[6]等运用 CZE分离出了浓度为 10^{-9} mol/L 的季铵盐类除草剂,同类工作也在 Galceran 的实验室里进行^[7]。

Benz^[8]和 Garriscan对烷基取代芳酸盐除草剂进行衍生,结合 MEKC,采用激光诱导检测器进行 CE分离,进样 4 nL时,检测限达到 2 fg。特别值得提出的是 Dinelli^[9-10]近年来开展的农药方面的 CE分离研究,他在测定自来水中杀虫剂含量时,可做到定性分离 0.1~1 pg 的 Metsulfuron 和 Chlorsulfuron。

2.3 超临界流体色谱 (SFC)技术 超临界流体色谱 (SFC)是以超临界流体作为色谱流动相的超临界流体色谱,可以使用各种类型的较长色谱柱;可以在较低温度下分析分子量较大、对热不稳定的化合物和极性较强的化合物,它综合利用了气象色谱和高效液相色谱的优点,克服了各自的缺点,可以与大部

分 GC和 HPLC的检测器相连接,如 FID、FPD、NPD以及 MS等连用。这样就极大地拓宽了其应用范围,许多在 GC或 HPLC上需经过衍生化才能分析的农药,都可以用 SFC直接测定,Jobloska 和 Murugaverl 等分别报道了用毛细管 SFC- MC测定有机氯及氨基酸酯类农药的残留。

3 液相色谱-质谱联用技术 (LC/MS)

现在,高效液相色谱 (HPLC)及大气压电离质谱 (APIMS)主要用来分析低浓度 ($\mu\text{g/L}$)、难挥发、热不稳定和强极性农药,LC/MS先后产生四种接口技术:热喷雾 (TSP)、粒子束 (PB)、电喷雾电离 (ESI)、大气压化学电离 (APCI)。Doerge 和 Bajic 用 LC-APCI-MS 分析了 17 种农药,包括三嗪类、氨基甲酸酯类、取代脲类除草剂和有机磷类杀虫剂,在全扫描状态下检测限为 0.8~10 ng,选择离子检测限为 0.01~1 ng。金军利用 API-CID-MS 对几种三嗪类、磺酰脲类除草剂及有机磷农药进行了碎片谱研究,同时将 SPE 与 HPLC-ESI-MS 相联结,利用 C_{18} 小柱自动富集,环境水样中的微量酸性除草剂,水样体积仅需 50 mL,检测限为 10 ng/L。崔云等用 HPLC/ES/MS 分析了绿磺隆、豆磺隆和苄嘧磺隆的 ES/MS 正负离子谱图并认为它们的负离子谱有较好的响应,同时研究了它们的分离条件,最小的检测量为 0.1 ng。

4 免疫分析法 (IA)

免疫分析被列为 90 年代优先研究、开发和利用的农药残留分析技术,世界粮农组织 (FAO)已向许多国家推荐此项技术,美国化学会将免疫分析与气象色谱、液相色谱共同列为农药残留分析的支柱技术。

免疫分析被称为使用抗体作为生物化学检测器的分析技术,它是基于抗原抗异性识别和结合反应为基础的分析方法。大分子量农药(如苏云金杆菌内毒素蛋白杆菌毒素等)可以直接作抗原免疫脊椎动物,动物的免疫系统对进入体内的异源大分子量物质发生保护性应答反映。小分子量农药 ($\text{MW} < 2500$)一般不具备免疫原性,不能刺激动物产生免疫反应。将农药小分子以半抗原的形式通过一定碳链长度的连接分子与分子量大的载体(一般为蛋白质)以共价键相偶联制备成人工抗原,以人工抗原免疫动物,使动物的免疫系统发生反应,产生对该农药具特异性的活性物质(免疫球蛋白或称抗体)来识别该农药分子并与之结合。这样结合反应不仅可在体内进行,也可在体外进行,符合质量作用定

律,这就是免疫分析的基础。通过对半抗原或抗体进行标记(酶、荧光物质、放射性同位素标记等),利用标记物的生理或物理或化学放大作用,对样品中特定的农药残留物进行定性定量检测。

免疫分析具有特异性强、灵敏度高(检测限可达 $\mu\sim 1\text{pg}$)、方便快捷、分析容量大、分析成本低、安全可靠等优点。在农药残留分析中的用得最多的是酶联免疫吸附测定法(ELISA),Kuafman等先后综述了IA在农药分析中的研究和应用概况,以及美国官方机构对发展ELISA技术的态度和酶标试剂盒应用于实践中的准则。Gohk等用酶联免疫法测定土壤中的西玛津和莠去津检出浓度 1.5g/kg 。对于大分子量的极性物质,如生物农药苏云金杆菌毒素蛋白等,免疫分析比常规生物测定和理化分析更具有准确可靠、方便快捷的优点。

5 生物传感器(Biosensor and)

生物传感器通常是指由一种生物敏感部件与转换器紧密配合,对特定种类化学物质或生物活性物质具有选择性和可逆响应的分析装置。传感器的生物敏感层与复杂样品中特定的目标分析物之间(如酶与底物、抗体与抗原、外源凝集素与糖、核酸与其互补片段之间)的识别反应会产生一些物理化学信号(如光、热、声、质量、颜色、电化学等)的变化,这些变化通过不同原理的传感器(如光敏管、压电装置、光极、热敏电阻、离子选择性电极等)转换成第二信号(通常为电信号),经放大后显示或记录。按照生物功能区,生物传感器包括酶传感器、组织传感器、微生物传感器等。

利用农药对靶标酶(如乙酰胆碱酯酶)活性的抑制作用研制酶传感器,利用农药与特异性抗体结合反应特性研制免疫传感器,可用于对相应农药残留

进行快速定量定性检测。Besombes利用一个生物传感器来检验矮壮素、氯苯酚、莠去津农药,文献报道可用反射光谱与免疫相结合制成的光学免疫传感器,用来检测莠去津。

参考文献:

- [1] 冯秀琼.农药残留分析技术进展概况[J].农药,1998,(2): 8-10.
- [2] 郑和辉.农药残留检测技术进展概况[J].农药科学与管理,1997,(2): 10-12.
- [3] 刘曙照.90年代农药残留分析新技术[J].农药,1998,(6): 11-13.
- [4] Holland, P. T., Multiresidue Analysis of Pesticides in Wines by Solid-Phase Extraction[J], J. AOAC Inc., 1994, (77): 79-86.
- [5] Chao Yan, Gradient Elution in Capillary Electrochromatography[J]. Anal Chem, 1996, 68(2): 635-644.
- [6] Kamiansky D. On-Line Iso-tachophoretic Sample pretreatment in Ultratrace Determination of Paraquat and Diquat in water by Capillary Zone Electrophoresis[J]. Anal Chem, 1994, 67(66): 1917-1924.
- [7] Galceran M. T. Determination of acridine derived compounds in charcoal-grilled meat and creosote oils by Liquid[J]. Chromatographic and gas Chromatographic analysis 1994, 295(3): 307-313.
- [8] Benz J., Garrison D. Optimization of separations of alkyl-substituted Phenolate anions by capillary[J]. Zone electrophoresis. 1995, 18(3): 175-178.
- [9] Dineui C. Comparison of capillary Electrophoresis, HPLC, and Enzyme Immunoassay for Terbutylazine Detection in water[J]. J Agric Food chem, 1995, (43): 951-955.
- [10] Dineui G. Use of capillary Electrophoresis for Detection of Metsulfuron and Chlorsulfuron in Tap Water[J]. J Agric Food Chem, 1993, (41): 742-746.