

农药残留分析技术进展概述^{*}

冯世德, 王波, 曲红杰

(黑龙江八一农垦大学, 大庆 163319)

摘要: 综述了目前农药残留分析的前处理技术和检测的几种方法。样品前处理中, 固相萃取、超临界流体萃取、基质固相分散萃取得到了迅速发展和广泛应用。超临界流体色谱、液相色谱-质谱联用技术、免疫分析技术、直接光谱技术和生物传感器等检测方法具有广泛的应用前景。

关键词: 农药残留; 分析; 前处理

中图分类号: S 481.8 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2005)03-0027-03

Development Outline in Analytical Technique of Pesticide Residues

FENG Shi-de, WANG Bo, QU Hong-jie

(Heilongjiang August First LOND Reclamation University Daqing 163319)

Abstract: This article described the methods of sample pre-treatment and determination of pesticide residues at present. Solid-phase extraction, supercritical fluid extraction, and matrix solid-phase dispersion extraction were developed quickly and applied widely in sample pre-treatment. The potentiality in the use of supercritical fluid chromatography, liquid chromatography-mass spectrum, immunoassay, direct spectroscopy technique and biosensor was great.

Key words: Pesticide residue; analysis; pre-treatment

农药的使用无疑大大提高了农作物的产量, 但由此而产生的环境污染问题, 已引起人们的高度重视。世界上许多国家都规定了食品、粮食中各种农药残留的限量。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, 保障人类健康, 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^[1]。近年来随着高效农药的开发应用和待检样品的增加, 对农药残留分析技术的灵敏度、特异性和快速性提出了更苛刻的要求。因此出现了一些新型的、先进的农药残留分析技术。本文综述了农药残留分析和检测的一些方法。

1 样品前处理技术

现代农药残留分析方法通常包括样品前处理和测定两部分, 农药残留测定之前要有适合于各种样品的理化性质的萃取、净化、浓缩等预处理步骤, 这

些预处理过程往往在分析中起着主要作用。目前常用的提取、净化方法有漂洗、匀浆、索氏提取、超声波提取、液-液分配、柱层析、薄层层析等方法。90年代以来, 一些新的样品前处理技术不断被引入农药残留分析中, 这些新技术的共同特点是: 节省时间, 减轻劳动强度, 节省溶剂, 减少样品用量, 提高提取或净化效率和提高自动化水平。目前, 已报道或已取得广泛应用的新技术主要有: 固相萃取(SPE)、固相微萃取(SPME)、超临界流体提取(SFE)、分子印迹合成受体技术(MISR)等。

1.1 固相萃取技术(SPE)

固相萃取法是一种基于液相色谱分离机制的样品制备方法, 已广泛应用于农药残留检测工作。它根据液相分离、解析、浓缩等原理, 使样品溶液混合物通过柱子后, 样品中某一组份保留在柱中, 通过再选择合适的溶剂把保留在柱中的组分洗脱下来, 从

* 收稿日期: 2004-10-29

第一作者简介: 冯世德(1968-), 男, 黑龙江省海伦县人, 在读硕士研究生, 主要从事化学教学与科研工作。

而达到分离、净化的目的。SPE克服了液-液萃取技术(LLE)及一般柱层析的缺点,具有高效、简便、快速、安全、重复性好、便于前处理自动化等特点。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(C8、C18、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^[2]。

1.2 超临界流体提取(SFE)

超临界流体提取(SFE)是近几年发展起来的一种特殊分离技术^[3]。SFE主要是以超临界流体代替各种溶剂来萃取样品中待测组分的萃取方法。目前最常用的超临界流体为CO₂,它兼有气体的渗透能力和液态的分配作用,流出液中的CO₂在常压下挥发,待测物用溶剂溶解后进行分析。超临界CO₂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取不同极性的农药残留而最低限度地减少杂质的提取。其特点是避免了使用大量的有机溶剂、提高萃取的选择性、减少了分析时间、实现操作自动化。SFE技术是当前发展最快的分析技术之一。

1.3 基质固相分散萃取技术(MSPDE)

基质固相分散萃取是1989年美国Louisiana州立大学的Barke教授首次提出并给予理论解释的一种崭新的萃取技术。其基本操作是将试样直接与适量反相填料(C₁₄或C₁₈)研磨、混匀得到半干状态的混合物并将其作为填料装柱,然后用不同的溶剂淋洗柱子,将各种待测物洗脱下来。MSPDE浓缩了传统的样品前处理中所需的样品均化、组织细胞裂解、提取、净化等过程,是简单高效的提取净化方法^[3],适用于各种分子结构和极性农药残留的提取净化,在蔬菜、水果的残留农药检测中得到了广泛应用。

1.4 分子印迹合成受体技术(MISR)

分子印迹合成受体技术(MISR)原理是:首先使拟被印迹的分子或聚合物单体键合,然后将聚合物单体交联体再将印迹分子从聚合物中提取出来,聚合物内部就留下了被印迹分子的印迹。由于需要合成被印迹分子衍生物,使该项技术受到限制,因为有些化合物的分子无法进行衍生化。分子印迹技术可以用于药物、激素、蛋白质、农药、氨基酸、多肽、碳水化合物、辅酶、核酸碱基、甾醇、涂料、金属离子等各种化合物的分离工作。

2 检测方法

2.1 气相色谱法(GC)

气相色谱法是一种经典的分析方法。利用试样中各组份在气相和固定液液相间的分配系数不同,当汽化后的试样被载气带入色谱柱中运行时,组份就在其中的两相间进行反复多次分配,经过一定的柱长后,便彼此分离,按顺序离开色谱柱进入检测器,产生的离子流讯号经放大后,在记录器上描绘出各组份的色谱峰。由于其具有操作简便、分析速度快、分离效能高、灵敏度高以及应用范围广等特点,目前农药残留物检测70%采用气相色谱法来进行。使用气相色谱法,多种农药可以一次进样,得到完全的分离、定性和定量,再配置高性能的检测器,使分析速度更快,结果更可靠。目前气相色谱法多采用填充毛细管。

2.2 高效液相色谱法(HPLC)

高效液相色谱法也是一种传统的检测方法。它可以分离检测极性、分子量大的离子型农药,尤其适用于对不易气化或受热易分解农药的检测。近年来,采用高效色谱柱、高压泵和高灵敏度的检测器、柱前或柱后衍生化技术以及计算机联用等,大大提高了液相色谱的检测效率、灵敏度、速度和操作自动化程度,现已成为农药残留检测不可缺少的重要方法。

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分离检测技术^[4]。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^[4]。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。

2.4 直接光谱分析技术

近红外衰减全反射光谱(NearIR-ATR)和表面增强拉曼光谱(SERS)使光谱分析的灵敏度提高102~107倍。这些快速直接的光谱技术,只需要极少量的样品,具有很大的应用潜力。一系列激光光谱技术,如激光拉曼光谱等使光谱分析的灵敏度几乎达到极限—一个分子或原子的水平。这将为开发高灵敏度的检测器提供可能的技术基础。目前,这些灵敏度极高的光谱技术还需要进一步研究开发才

能进入广泛应用阶段。

2.5 毛细管电泳(CE)

毛细管电泳技术是在电泳技术的基础上发展的一种分离技术。其工作原理是使毛细管内的不同带电粒子(离子、分子或衍生物)在高压场作用下以不同的速度在背景缓冲液中定向迁移,从而进行分离。根据样品组分的背景缓冲液中所受作用的不同,CE又被分为毛细管区带电泳(CZE)、毛细管凝胶电泳(CGE)、等电聚焦(IEF)、胶束电动色谱(MEKC)、等速电泳(ITP)等几大类。自80年代Jorgenson把CE应用于分析化学以来,这一技术已发展成为分离科学中最活跃的领域之一。它具有灵敏度高、耗资少、样品消耗量很小(每次进样只是纳升级)、分离柱效高、使用方便等优点,非常适用于那些难以用传统的液相色谱法分离的离子化样品的分离与分析,其分离效率可达数百万理论塔板数。目前,毛细管电泳尚缺乏灵敏度很高的检测器。因此,只有研究开发灵敏度更高的检测系统,该技术的优势才能充分发挥出来。

2.6 液相色谱-质谱联用技术(LC/MS)

液-质联用技术(LC-MS)是将液相色谱与质谱串联成为一个整机使用的检测技术。用来分析低浓度、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)。现在,一种内喷射式和粒子流式接口技术将液相色谱与质谱联接起来,已成功地用于分析对热不稳定,分子量较大,难以用气相色谱分析的化合物。具有检测灵敏度高、选择性好、定性定量同时进行、结果可靠等优点。LC-MS对简单样品可进行分析前净化并具有几乎通用的多残留分析能力,用于对初级监测呈阳性反应的样品进行在线确证,其优势明显。尽管LC/MS仪器价格昂贵,液相色谱和质谱的接口技术尚不十分成熟,但它仍是一种很有利用价值的高效、高可靠性分析技术。

2.7 免疫分析法(IA)

免疫分析法是基于抗原抗体的特异性识别和结合反应为基础的分析方法^[9]。分子量大的农药可以直接作为抗原进入脊椎动物的体内产生免疫应答,从而得到可以和该农药分子特异性结合的抗体;分子量小的农药(分子量<2500)一般不具备免疫抗性,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分子量大的载体蛋白质(通常使用牛血清白蛋白、人血清白蛋白、兔

血清白蛋白、钥孔血蓝蛋白、卵清蛋白)用共价键偶联制成人工抗原,使动物产生免疫反应,产生识别该农药并与其特异性相结合的抗体。通过对半抗原或抗体进行标记,利用标记物的生物、物理、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。免疫分析法被列为90年代优先研究、开发和利用的农药残留分析技术,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^[9]。免疫分析法具有快速、简单、灵敏和选择性高等优点,目前已广泛应用于粮食、水果、蔬菜、肉、奶、水和土壤中农药残留的检测。根据采用的检测手段不同,可分为放射免疫法、荧光免疫法、酶免疫法、流动注射免疫分析法等,其中以酶免疫法应用最为广泛^[7]。

2.8 生物传感器(Biosensor)

生物传感器(Biosensor)是由一种生物敏感膜和电化学转换器两部分紧密配合,对特定种类的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。它由识别元件、信号转移和信号传递电路组成,其特点是集生物化学、生物工程、电化学、材料科学和微型制造技术于一体,是一个典型的多学科交叉产物。按其生物功能,可分为酶传感器(Enzyme Biosensor,包括电位型和电流型)、免疫传感器(Immunosensors)、微生物传感器(Microbial sensor)^[8]。具有微型化、响应速度快、样品用量少并可以插入生物组织或细胞内的特点,可实现超微量在线快速跟踪分析,在农药残留分析上得到了广泛的应用。

2.9 实验室机器人

实验室机器人现已商品化,但在农药残留量分析和环境监测方面的应用还处于起步阶段,主要是因为机器人工作程序的变更缺乏灵活性和实验室检测方法缺乏标准化所造成,另外机器人系统动作缓慢,一般要求宽阔的空间。当实验室机器人变得更方便、灵活,实验方法也更加标准化时,它的使用将会增加。

3 结语

农药残留分析是一门综合性强、涉及面广的分析科学。检测方法应具备简便、快捷、灵敏度高的特点,根据检测目的、待测农药性质和样本的种类等采用符合要求的方法。新的分析技术将要求有细胞化学、发酵化学、免疫化学和多肽排列结构等方面学科知识的支持。随着科学技术的不断发展,残留分析技术也正在不断更新、完善和迅速发展。(下转第52页)

液里生长一段时间后,收集其营养液,即为所收集的根系分泌物。采用溶液培养收集方法要注意植株通气状况对根系分泌物的影响。

3.1.2 土培收集 将植物种植于土壤中,生长一段时间后直接获取根际土壤,将其与无菌水按一定比例混合,振荡或离心,过滤,所得滤液,即为根系分泌物。或将生长一段时间后的植株根系,用蒸馏水淋洗,所得根系淋洗液即为根系分泌物。

3.1.3 基质培收集 基质培收集根系分泌物与土培收集根系分泌物具有相似性,不同之处在于根系生长的介质不同。基质培收集根系分泌物常用的基质有:石英砂、琼脂、蛭石和人造营养土等。由于石英砂本身不含植物生长所需的有效成分,惰性较强,不易与根系分泌物各组分进行化学反应,因此,常被用于根系分泌作用研究。

石英砂培收集方法:植株苗在石英砂中胁迫处理一段时间后,借助一定的压力作用使植株根系和石英砂在蒸馏水或稀释的有机溶剂中短时间浸泡,收集其浸泡液,即得根系分泌物。

琼脂培收集方法:将植株幼苗置于琼脂介质中,胁迫处理一段时间后,收集根系周围以及附着在根系上的琼脂,加热溶解,过滤,收集其过滤液即为根系分泌物。进一步分离可根据实验目的不同而进行。琼脂培收集根系分泌物时,应注意防止微生物污染。

3.2 根系分泌物分离纯化方法

根系分泌物收集之后,要进一步分离纯化,才能进行有效分析。在分离纯化过程中要根据待测组分的理化及生物学性质,选择合理的分离纯化方法。下面是根系分泌物分离纯化常用的几种方法。

3.2.1 离子交换法 此法是利用根系分泌物待测组分与杂质的极性差异,采用特定的填料作固定相,利用待测组分和杂质在固定相上的交换能力不同,

从而达到与杂质分离的目的。因此,层析柱填料选择十分重要。

3.2.2 衍生化与萃取法 衍生化是根系分泌物分离纯化过程中常用的方法,其原理主要是利用特定的化学试剂与根系分泌物中待测组分发生衍生化反应(取代反应、酯化反应等),使得待测组分理化性质部分改变,转化为易分离或易检测的衍生化合物,从而与杂质分离。根系分泌物研究中常用酯化反应来分离含量极低的糖、有机酸、酚和氨基酸等。

3.2.3 分子膜与超速离心法 分子膜与超速离心分离技术已在根系分泌物研究中广泛应用。

3.3 根系分泌物鉴定

分离纯化根系分泌物是为了更好地对未知组分进行鉴定。常用的鉴定技术主要有现代仪器分析方法和生物活性测定方法。

参考文献:

- [1] 沈昌蒲, 龚振平, 王国义, 等. 大豆肥田机制的研究 I. 大豆生育过程中新老根系的更替[J]. 大豆科学, 2000, 19(1): 8-14.
- [2] 阮维斌, 李晓鸣, 王玉峰, 等. 根法研究连作条件下大豆根系的生长[J]. 大豆科学, 2001, 20(3): 183-186.
- [3] 蔡昆争, 骆世明, 段舜山. 水稻根系在根袋处理条件下对氮养分的反应[J]. 生态学报, 2003, 23(6): 1109-1116.
- [4] Chloupek O. The relationship between electrical capacitance and some other parameters of plant roots[J]. Bio Plant, 1972, 14: 227-230.
- [5] Dalton FN. In situ root extent measurements by electrical capacitance method[J]. Plant Soil, 1995, 173: 157-165.
- [6] Van Beem J, Smith ME, Zobel RW. Estimating root mass in maize using a portable capacitance meter[J]. Agronomy Journal, 1998, 90: 566-570.
- [7] 邹琦. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 农业出版社, 1995 30-31.
- [8] saliendra N Z, M E inzer, F C Genotypic Developmental and drought-induced differences in root hydraulic conductance of contrasting sugarcane cultivars[J]. J. Exp. Bot., 1992, 43: 1209-1217.

(上接第 29 页)

参考文献:

- [1] 刘曙照, 钱传范. 90 年代农药残留分析新技术[J]. 农药, 1998, 37(6): 11-13.
- [2] 冯秀琼. 农药残留分析技术进展概况[J]. 农药, 1998, 37(2): 8-10.
- [3] 仲维科, 郝骥, 樊耀波, 等. 食品农药残留分析进展[J]. 分析化学, 2000, 28(7): 904-910.
- [4] 杨曼君. 超临界流体色谱及超临界流体提取技术在农药分析中的应用[J]. 农药科学与管理, 1993, (2): 35-37.
- [5] 孙太凡, 叶非. 酶免疫分析技术在农药残留分析中的应用[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2003, 15(2): 101-104.
- [6] 杨依军, 王勇, 杨秀荣, 等. 免疫分析法在农药残留分析中的应用[J]. 华北农学报, 2001, 16(4): 119-124.
- [7] 李治祥, 黄士忠. 农药及其代谢物的酶免疫分析技术[J]. 农药环境保护, 1998, 17(6): 245-247.
- [8] 胡冠九, 刘建琳, 邹公伟. 生物传感器在环境有机污染物监测中的应用[J]. 中国环境监测, 1999, (10): 18-22.