

农药残留分析技术新进展(综述)

马为民

(河北科技师范学院 分析测试中心,河北 秦皇岛 066600)

摘要:从样品提取技术及分析检测技术两方面介绍了目前国内外流行的农药残留分析检测技术。在农药残留分析样品提取技术中主要介绍了加速溶剂提取法、超临界流体萃取、微波加热提取法、固相微萃取法。在农药残留分析技术中主要论述了超临界流体色谱技术、气相色谱/质谱联用技术、液相色谱/质谱联用技术、直接光谱分析技术、毛细管区带电泳技术等。

关键词:农药残留;样品前处理;检测分析

中图分类号:S481+.8

文献标识码:A

文献编号:1672-7983(2005)04-0067-04

中国既是一个人口大国,又是一个农业大国。在我国,每年发生病虫害0.47~1.87亿 hm^2 ,施用农药防治面积达1.53亿 km^2 左右,通过化学防治每年挽回粮食损失200~300亿 $\text{kg}^{[1]}$,挽回直接经济损失达600亿元 $^{[2]}$ 。无疑农药在防治病虫害、铲除杂草、增加农业产量方面发挥着举足轻重的作用。随着农药使用量的增加,及加入世贸组织后日益森严的绿色壁垒,我国农药残留问题日渐突出。我国农药生产能力已达75.5万(按100%有效成分计算),实际产量约40万t,仅次于美国,居世界第2位,年用量约27万t。我国农药品种结构中存在明显不合理的“3个70%”现象,即杀虫剂占农药产量的70%,在这70%杀虫剂中,有机磷杀虫剂占70%,其中甲胺磷、甲基对硫磷、对硫磷、氧化乐果、久效磷等高毒农药占70%。就作物种类而言,我国单位面积农药用量最大的是占农作物播种面积10%的蔬菜,因而蔬菜中农药残留问题最为严重 $^{[3]}$ 。每年因食用蔬菜而中毒的事件更是屡见不鲜。据中国农科院的一项统计资料表明,有机氯和拟除虫菊酯类农药没有或略超过国家最大残留限量标准,不是造成蔬菜产品农药残留超标的主要原因。目前造成蔬菜质量安全问题的主要原因是有机磷和氨基甲酸酯类农药,蔬菜中农药残留量超标的主要农药品种是使用了国家禁止在蔬菜上应用的高毒农药,超标最严重的是甲胺磷和氧化乐果。在所抽检蔬菜中韭菜不合格率最高,其次是甘蓝,主要是甲胺磷、氧化乐果、甲拌磷、克百威、乙酰甲胺磷超标。农药残留超标不仅严重影响国民的身体健康,而且对我国农产品出口产生了巨大的冲击,进口国在提高对我国农产品农药残留检测标准的同时,逐步增加检测项目,有时高达200余项。因此,发展快速、可靠、高灵敏度的农药残留分析方法尤其是多残留分析方法显得极为重要。农药残留分析是指对复杂混合物中痕量农药的母体化合物、有毒代谢物、降解产物和农药杂质进行分析,需要精细的微量操作手段和高灵敏度的痕量检测技术。

目前,农药残留分析一般分为两大步骤,样品前处理与检测。样品前处理主要为提取和净化。随着一些高精尖仪器设备的问世,世界各国的农药残留分析技术迅速发展,回收率更佳、检出限更低、重现性更好。样品前处理是农药残留分析的关键步骤,约占整个分析时间的三分之二,样品前处理过程的好坏往往影响整个分析结果的准确性。提取是将残留在试样中的农药,采用适当的有机溶剂和方法,从试样中分离出来,以供净化后进行测定。净化是指将待测物与提取液中的干扰物质分离。农药残留分析已经由原先的单残留分析(SRMs)发展到多残留分析(MRMs)。目前,绝大部分农药残留分析检测是利用气相色谱法,高效液相色谱法,另外,还有超临界流体色谱法、毛细管电泳法等。

1 农残分析中样品前处理技术

样品前处理过程就是样品制备过程,即制备成适合色谱分析的样品,以便进行色谱分析。制备的样品必须满足以下条件:①所选色谱柱的进样要求;②所选色谱方法的分离能力;③所选色谱方法

的检测能力^[5]。样品前处理不仅要求尽可能完全提取其中的待测组分,还要求尽可能除去与目标物同时存在的杂质,以减少对检测结果的干扰,避免对色谱柱和检测器等的污染。除了样品的提取和净化外,有些待测物为了适合色谱分析还要进行衍生化。

1.1 样品提取技术

近年来出现了一些值得推荐的提取技术,如加速溶剂提取法(Accelerated Solvent Extraction, ASE),超临界流体提取法(Supercritical Fluid Extraction, SFE),固相微萃取法(Solid-phase Micro-Extraction, SPME)。这些方法比传统的液液萃取等方法相比,具有很大优越性,节省溶剂,大大减少对环境的污染,提取效率也有很大的提高。

1.1.1 加速溶剂提取法(ASE) 加速溶剂提取法是在较高温度(50~200℃)和压力(6.890~20.670 MPa)下用溶剂萃取固体和半固体样品的新型前处理方法^[6]。在高温条件下,待测物从基体上解吸和溶解动力学过程加快,可大大缩短提取时间,同时由于加热溶剂具有较高的溶解能力,因此可减少溶剂用量,在萃取过程中保持一定压力可提高溶剂沸点,使其保持液体状态,从而保证萃取过程的安全性。样品密封在高压不锈钢提取仓内,经过起始的加热过程,样品在静态下与加压的溶剂相互作用一段时间,然后用压缩氮气将提取液吹扫至收集瓶中,每个样品的提取全过程约15 min。

1.1.2 超临界流体萃取法(SFE) 利用处于超临界状态流体,这种流体既具有气体分子的运动速度快又具有液态分子密度大的特性,来高效快速提取样品中的待测物。超临界流体是一种完全新颖的提取溶剂,其中以超临界二氧化碳应用最普遍,其临界温度31℃,临界压力7.396 MPa,比较容易达到。除二氧化碳可做超临界流体外,还有乙烷、丙烷、丁烷、戊烷、水、乙烯、笑气等。该技术的优点是:减少有机溶剂用量,利于环境保护,减少传统方法的耗时、耗力的实验步骤,对一些天然产物中的热敏性化合物的提取尤能显示其优势,被萃取成分不致氧化、分解、逸散而变质^[7]。SFE主要应用在以下两方面^[8]:①离线SFE应用,离线的SFE是指萃取过程和检测过程相互独立,在农残分析中用于土壤、生物样品及食品、液态样品中农药成分的提取;②在线SFE的应用,将SFE萃取过程与气相色谱(GC)、超临界流体色谱(SFC)、液相色谱(HPLC)联用可实现过程自动化,减少样品用量、缩短分析时间、提高重现性灵敏度和检测限。

1.1.3 微波加热提取法(MAE) 微波加热提取法的原理是利用微波能强化溶剂萃取效率,使被分析物从固体或半固体样品基体中分离出来^[9]。其特点是快速、节省溶剂,适用于易挥发物质如农药等的提取,可同时进行多个样品的提取。微波萃取是在一个不吸收微波的封闭容器内进行的,样品内部的温度(高出周围萃取溶剂沸点几倍)和体系压力(一般1~2 MPa)都较高。微波萃取装置目前已自动化,可自动控制萃取温度、压力和时间等。但萃取完成后,需等待萃取溶剂冷却,然后倒出溶剂,进行离心或过滤等手工操作。

1.1.4 固相微萃取法(SPME) 固相微萃取法是在固相提取法的基础上发展起来的,1990年由加拿大Waterloo大学的Pawliszyn及其同事首次提出,1994年被应用在农药分析中。SPME克服了SPE回收率低、吸附剂孔道易堵塞等缺点,是一种无溶剂,集采样、萃取、浓缩、进样于一体的样品前处理技术^[10]。SPME装置类似普通样品注射器,由手柄和萃取头两部分组成。萃取头是一根涂有不同固定相或吸附剂的熔融石英纤维,石英纤维接不锈钢针,外套不锈钢管(用来保护石英纤维),纤维头可在不锈钢管内伸缩。SPME包括吸附和解析两个过程,先是样品中待测物在石英纤维上的涂层和样品间扩散吸附、浓缩,然后浓缩的待测物解吸附进入分析仪器完成分析的过程。吸附过程中待测物在涂层与样品间遵循相似相溶原理,平衡分配。解吸过程随SPME后续分离手段不同而不同,对于气相色谱萃取纤维直接插入进样口进行热解吸,对于高效液相色谱,需在特殊解析室内以解析剂解析。SPME/GC/MS连用技术已被广泛应用于环境分析、医药卫生检验、食品检验、烟草和植物中挥发性成分的检测等,也被应用于法医鉴定中。

1.2 衍生化技术

衍生化技术就是通过化学反应将样品中难于分析检测的目标化合物定量转化成另一易于分析检测的化合物,通过后者的分析检测可以对目标化合物进行定性和定量分析。按衍生化反应发生在色谱分离之前还是之后进行,可将衍生化分为柱前和柱后衍生化。柱后衍生化主要是为了提高检测灵敏度。柱前衍生化的目的:①将一些不适合某种色谱技术分析的化合物转化成可以用该种色谱技术分析的衍

生物。如某些高沸点、不汽化或热不稳定的化合物不能用气相色谱分析,通过生化转化成易汽化或热稳定的衍生物,再用气相色谱分析。②提高检测的灵敏度。如 T. V. Nedelkoska 等^[11]利用衍生试剂 9-芴代甲氧基酰氯将草甘膦衍生成能用荧光检测器检测的荧光物质。③改变化合物的色谱性质,改善分离度。④利用生化反应可以帮助化合物进行结构鉴定,这点在使用色谱-质谱、色谱-红外光谱等联用方法确定化合物结构时作用更明显。Alferness, P. L 等^[12]利用衍生试剂七氟丁醇(在三氟乙酸酐存在条件下)与草甘膦发生衍生反应,生成物质能够产生高离子碎片,利于质谱分析。

2 农药残留分离分析新技术

2.1 超临界流体色谱技术(SFC)

超临界流体色谱技术是以超临界流体做为色谱流动相的色谱分离检测技术^[13]。流体的物理和化学性质都是密度的函数,因此在 SFC 中采用程序升密度相对于 GC 中的程序升温 and HPLC 中的梯度洗脱,尤其突出的特点是 SFC 可与大部分 GC 和 HPLC 的检测器相连,如氢火焰离子化检测器、火焰光度检测器、氮磷检测器、电子捕获检测器及质谱等都能用,极大拓宽了其应用范围。许多在 GC 和 HPLC 上需衍生才能分析的农药,可用 SFC 直接测定。SFC 可以在较低温度下分析分子量较大,对热不稳定化合物,综合利用了气相色谱和高效液相色谱的优点,克服了各自的缺点。

2.2 气相色谱/质谱联用技术(GC/MS)

它是利用气相色谱的高分离能力与质谱的强定性功能结合起来的技术,可以达到同时定性定量的目的。用于农药残留检测,特别是农药代谢物、降解物的检测和多残留检测等,具有突出的特点,与传统的只用气相色谱方法相比,定性的准确性更高。安捷伦科技有限公司利用 GC/MS 联用技术同时分析蔬菜或水果中 189 种农药残留,90% 化合物的农药残留回收率在 70% ~ 80% 之间,5% 农药残留回收率在 60% ~ 70% 之间。秦曙等^[14]对在应用 GC/MS 进行农药残留分析中遇到的主要问题进行了探讨,并找到了合适的解决方法。Yasushi Hori 等^[15]利用 GC/MS 联用实现了草甘膦及其代谢物氨甲基磷酸的分离检测。

2.3 液相色谱/质谱联用技术(HPLC/MS)

GC/MS 联用技术虽然很成熟,但是对于目前低浓度、难挥发、热不稳定和强极性农药分析不是很理想,HPLC 可以弥补 GC 的缺陷,可直接测定那些难以用 GC 分析的农药^[16]。20 世纪 80 年代以来大气压电离质谱(APIMS)成功与 HPLC 联用后,HPLC/APIMS 将成为农药分析的重要技术并推动痕量有机毒物的研究。随着喷雾型大气压电离质谱在最近 10 年的飞速发展,20 世纪 90 年代的产品终于获得了较成功的 LC/MS 接口,先后出现过几种接口技术:热喷雾(TSP)、粒子束(PB)、电喷雾电离(ESI)、大气压化学电离(APCI)。ESI 和 APCI 是喷雾型软电离技术,它的灵敏度高,可测出小于 10⁻¹² mol 的蛋白质及几十皮克的农药。Granby 等^[17~20]应用 LC-MS/MS 实现了草甘膦残留的分析。

2.4 直接光谱分析技术(SERS)

近红外衰减全反射光谱和表面增强拉曼光谱使光谱分析的灵敏度提高 10² ~ 10⁷ 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震动光谱等优点,因而在农药残留分析中得到了广泛应用^[13]。其他光谱技术,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。

2.5 毛细管区带电泳(CIE)

毛细管区带电泳是对一般常规液相色谱方法难以分离的离子性化合物的理想分析方法^[13]。这一技术具有极高的效率和分离能力,常有报道分辨率可达几百万个理论塔板数,其操作简单,具有很大灵活性,许多分离参数,如缓冲液的组成、pH 值、毛细管的类型及所用电场的波形都可调节。毛细管区带电泳需样品量极少,一般只需几纳升(nL)。目前,毛细管区带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高的检测系统,毛细管区带电泳优势才能发挥出来。

参考文献:

[1] 华小梅. 我国农药的生产、使用状况及其污染环境因子分析[J]. 环境科学进展, 1996, 4(2): 33-45.

- [2] 王晓光,李海屏.我国高毒有机磷农药替代品种的开发进展[J].农药,2001,40(2):10-13.
- [3] 王运浩,江用文,成浩.食品中农药残留与分析控制技术展望[J].现代科学仪器,2003(1):8-12.
- [4] 张卫国,章晓麟.残留分析中提取溶剂的选择方法[J].公安大学学报,2001,3(3):9-11.
- [5] 王立,汪正范,牟世芬,等.色谱分析样品处理[M].北京:化学工业出版社,2001.
- [6] 杨曼君.农药残留分析中的提取新技术[J].农药科学与管理,2000,21(1):13-15.
- [7] 徐宝才,岳永德,花日茂.超临界流体萃取技术在农药残留分析上的应用[J].安徽农业大学学报,1999,26(2):162-166.
- [8] 陈长青.超临界流体萃取技术在农药残留分析中的应用进展[J].农药科学与管理,2001,22(4):20-22.
- [9] 申继忠.农药残留分析样品前处理新技术简介[J].农药科学与管理,1998(4):8-10.
- [10] 陈华才.简论农药残留量检测中的样品前处理技术[J].中国计量学院学报,2002,13(3):240-243.
- [11] Nedelkoska T V, G K-C Low. High-performanic liquid chromatographic determination of glyphosate in water and plant material after pre-column derivatisation with 9-fluorenylmethyl chloroformate[J]. Analytica Chimica Acta, 2004, 511(1): 145-153.
- [12] Alferness p l, Iwata Y. Determination of glyphosate and (aminomethyl)phosphonic acid in soil, plant and animal matrices and water by capillary gas chromatography with mass-selective detection[J]. Agricultural and Food Chemistry, 1994, 42(12): 2751-2759.
- [13] 吴春先,慕利义.我国农药残留分析技术发展概述[J].农药科学与管理,2002,23(2):13-16.
- [14] 秦曙,乔雄梧,朱九生,等.应用气相色谱-质谱技术保证农药残留分析质量的研究[J].质谱学报,2003,24(4): 505-508.
- [15] Yasushi Hori, Msnami Fujisawa, Kenji Shimada, et al. Determination of the Herbicide Glyphosate and its Metabolite in Biological Specimens by Gas Chromatography-Mass Spectrometry[J]. Journal of Analytical Toxicology, 2003, 27(3): 167-168.
- [16] 金军,赵国栋,崔云,等.高效液相色谱/大气压电离质谱(HPLC/APIMS)在农药残留分析中的应用[J].化学通报, 1999(6): 25-29.
- [17] Granby K, Johannesen S, Vahl M J. Analysis of glyphosate residues in cereals using liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Food Addit Contam, 2003, 20(8): 692-8.
- [18] Hogendoorn E A, Ossendrijver F M, Dijkman E, et al. Rapid determination of glyphosate in cereal samples by means of pre-colum derivatisation with 9-fluorenylmethyl chloroformate and coupled-colum liquid chromatography with fluorescence detection[J]. Journal of Chromatography A, 1999, 833(1): 67-73.
- [19] Felix Hernandez, Carmen Hidalgo, Juan V Sancho. Determination of Glyphosate residues in plants by precolumn derivatization and coupled-column liquid chromatography with fluorescence detection[J]. Journal of AOAC INTERNATIONAL, 2003, 83(3): 728-734.
- [20] Sancho J V, Hernandez F J, Lopez F, et al. Rapid determination of glufosinate, glyphosate and aminomethylphosphonic acid in environmental water samples using precolumn fluorogenic labling and coupled-column liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 1996, 737(1): 75-83.

作者简介:马为民(1970-),女,讲师。主要研究方向:农药残留分析。

(责任编辑:石瑞珍)

The New Development of Techniques of Pesticide Residues Analysis(Summary)

MA Wei-min

(Analysis and Testing Center, HNUST, Qinhuangdao Hebei 066600, China)

Abstract : The present analysis of pesticide residues was surveyed in two respects : the analytical techniques for the extraction and the determination of pesticide residues. Techniques of the extraction were introduced, which included accelerated solvent extraction(ASE), supercritical fluid extraction(SFE), microwave assisted extraction(MAE), and solid-phase micro-extraction(SPME). The techniques of determination was reviewed from supercritical fluid chromatography, gas chromatography/mass spectrometry, high performance liquid chromatography/mass spectrometry, and capillary zone electrophoresis(CZE).

Key words : pesticide residues ; preparation of analytical sample ; examination and analysis