

现代农药残留检测技术与发展动向

马妍¹, 李薇², 赵建庄¹, 王春娜¹

(1. 北京农学院基础课学系, 北京 102206; 2. 中国科学院动物研究所, 北京 100082)

摘要: 对农药残留的检测方法以及快速检测技术进行了综述。并介绍了国外政府及机构所进行的农药残留研究和其标准的设定。

关键词: 农产品; 农药残留; 分析方法; 检测技术

近年来,随着中国对保障食品质量和对环境污染的日益重视,在食品质量和环境的指标中,动植物源产品和环境土、水中的农药残留量成为一类重要指标^[1]。由于中国经济和科技的飞速发展,迫切需要对农药的使用及其残留量进行监控,农药残留检测技术研究受到高度重视,从而推动了该项技术的长足发展。农药残留检测是对痕量组分的分析技术,要求检测方法具有精细的操作手段、较高的灵敏度和较强的特异性,同时由于超高效农药的开发应用和待测样品的增加,对农药残留分析技术的灵敏度、特异性和快速性提出了更加苛刻的要求,因此出现了一些新型的、先进的农产品农药残留分析技术^[2]。笔者主要综述了中国传统的农药残留检测技术以及新技术的研究、开发、利用。

1 国际上对农药残留的关注

农药残留是指使用农药后,在农产品及环境中农药活性成分及其在性质上和数量上有毒理学意义的代谢(或降解、转化)产物。残存的数量称为残留量。目前,在国际经济舞台上,农药残留及其标准经常成为国家之间农产品贸易的限制条件。中国出口的农产品也因农药残留超标而屡屡发生被拒收、扣留、退货、索赔和撤销合同等事件,造成了巨大的损失。

欧盟、美国、日本、加拿大等发达国家或地区,出于保护人们健康的需要和维护本国经济利益,相继对进口食品中农药残留量等卫生指标提出了愈来愈严格的要求。美国是世界上最大的发达国家,是世界上农药立法较早的国家之一,也是开展农药残留监测较早的国家,其农药残留监测体系完善。美

国环保局 EPA 是农药的管理机构,设置农药最高残留限量(tolerance),并负责农药登记。美国农药残留标准制定都根据产品不同制定不同的最高残留限量。日前,欧盟通报了采用植物和动物源食品和饲料中最大残留限量新法规(EC396/2005),修订了欧盟委员会指令 91/414/EEC^[3,4]。在新指令中,不但明确规定了各种受控制药品的最大残留限量,而且其内容划分的更细、标准更加严格,进一步加强了对农药残留量的限制。日本已于 2006 年 5 月 29 日起实施食品中农业化学品(农药、兽药及饲料添加剂等)残留“肯定列表制度”,并执行新的残留限量标准。与日本现行标准相比,新标准对食品中农业化学品残留限量的要求更加全面、系统和严格,对农产品进行农药残留等高达 700 项检查。其中与现行管理制度的根本差别是制定了“一律标准”,即对非“豁免物质”和非“最大残留限量标准”的农业化学品在食品中的残留制定的统一标准(日本确定的“一律标准”为 0.01mg/kg)^[5]。

由此可见,国际上普遍增加了技术和贸易壁垒,对安全卫生的要求十分苛刻。因此,国外对中国农产品农药残留要求必须符合其本国的残留标准要求,或可能更严格。实行这些制度主要有两方面的原因,其一加强食品安全保证消费者人身健康,其二提高了技术壁垒,是一个限制其他国家向本国出口农产品和食品的措施。中国一方面进行磋商、交涉,找到应对方法,另一方面要尽快提高自身科研能力,突破技术壁垒。

2 农药残留分析技术

农药残留分析主要包括前处理和样品检测两个

收稿日期: 2006-12-16

基金项目: 北京市自然科学基金资助项目(6052004); 北京市教育委员会科技发展计划面上项目

作者简介: 马妍, 1983 年出生, 北京农学院果树学科研究生, 研究方向: 果树生理生态与优质安全栽培技术

步骤,其中前处理主要包括提取、净化和浓缩等步骤,是影响分析结果的关键环节。随着科学技术的进步,样品前处理技术正向着省时、省力、价廉、减少溶剂、快速和自动化方向发展^[6,7]。农药残留分析一般包括生化分析和理化分析法,生化分析法包括酶抑制法和免疫分析法,理化分析法包括化学分析和仪器分析法。仪器分析中以色谱法为主。

2.1 前处理

农药残留分析的样品前处理传统方法有索氏提取、液液分配、柱层析等,这些方法繁琐、费时,且需使用大量有毒溶剂。目前,已有许多新的方法可以在前处理时应用。

2.1.1 固相萃取技术(Solid Phase Extraction,简称 SPE)

固相萃取技术是根据液相分离、解析、浓缩等原理,使样品溶液混合物通过柱子后,样品中某一组分保存在柱中,再选择合适的溶剂把保留在柱中的组分洗脱下来。基于柱中填料的不同,大至可分为吸附型(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^[8]。其特点是它可以一次达到分离、净化的目的,具有高效、简便、安全、重复性好、便于前处理自动化等特点。

2.1.2 超临界流体萃取技术(Supercritical Fluid Extraction,简称 SFE)

此技术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。用于萃取过程的超临界流体通常有二氧化碳、氧化二氮、乙烷、乙烯、氮气、氩气、水、异丙醇、苯等,目前应用最普遍的是二氧化碳,它既有气体的渗透能力又有液态的分配作用,且无毒无害。二氧化碳的临界温度为 31°C ,临界压力为 $7.4 \times 10^6 \text{ Pa}$,比较容易达到^[9]。二氧化碳的惰性、无毒、价格便宜是其优势,但二氧化碳的极性较低,只适合于提取非极性至极性的农药。研究发现混合使用两种或多种超临界流体可以使农药萃取达到较高的回收率。如在超临界二氧化碳中添加30%的氮,在 80°C 及 $5.52 \times 10^7 \text{ Pa}$ 下提取可提高有机氯及有机磷农药的回收率。SFE主要用于固体干样品中分析物的萃取,由于水会影响萃取效果,因此,含水量高的样品在萃取前必须进行干燥处理。超临界分子极性比较小,单一使用时可以提取非极性至极性农药残留,也可以加入适量极性调节剂(如甲醇)以便提取不同极性的农药残留。其特点是避免了大量耗损有毒物质、提高萃取专一性、缩短分析时间、实现操作自动化。

2.1.3 基质固相分散萃取技术(Matrix Solid Phase Dispersion Extraction,简称 MSP-DE)

基质固相分散萃取技术的基本操作是将试样直接与适量反相填料(C_{14} 或 C_{18})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,即将各种待测物洗脱下来。其特点是简便、快捷,适用于各种分子结构和极性的农药残留的提取净化。

2.1.4 微波辅助萃取(Microwave Assisted Extraction, MAE)

微波能是一种非离子辐射,可使分子中的离子发生位移。具偶极矩的有机物受微波辐射,分子排列成行,又迅速恢复到无序状态,这种反复进行的分子运动,使样品迅速加热。微波穿透力强,能深入基体内部,辐射能迅速传遍整个样品,而不使表面过热。内部的分子运动使溶剂与分析物充分作用,加速了提取过程。MAE的最佳回收率决定于样品基体、靶标农药、提取温度和溶剂。与其他溶剂提取法比较,样品基体的影响较大,而减少取样量并不降低方法的精密度,在相同条件下还可提取多个样品,增加了样品的流通量。Lopez-Avila Viorica等^[10]研究用微波加热提取固体样品中44种有机氯农药和47种有机磷农药,除基体影响之外,温度对回收率影响很大,其次是所选用的提取溶剂。在MAE的提取条件下,可能分解的农药有:磷胺、敌百虫、二溴磷、久效磷、内吸磷。

2.1.5 加速溶剂萃取(Accerated Solvent Extraction,或 ASE)

ASE是自1995年以来发展的一种萃取技术,适用于固体和半固体样品的前处理。ASE是高温($50 \sim 200^{\circ}\text{C}$)及加压($1.03 \times 10^7 \sim 1.38 \times 10^7 \text{ Pa}$)条件下的溶剂提取法,温度高于 100°C 的溶剂穿透力强且溶解力大,加快分析物从基体解吸进入溶剂;加压使溶剂保持液态,用少量溶剂可快速提取固体样品中的分析物^[11]。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。ASE提取溶剂的选择与索氏提取法相同,提取液需净化后才能检测,其作用只是减少提取溶剂用量,缩短提取时间。

除以上提到的方法外,还有分子印迹合成受体技术(Molecular Imprinting Synthetic Receptor,简称 MISR),凝胶渗透色谱法(简称 GPC),这些方法

的使用使得农残前处理更加方便、快捷,提高了工作效率和试验精确度。

2.2 样品检测

样品前处理的净化效果越来越好,但样品中的干扰物质是难免存在的,现代分析技术一般采用选择性强的仪器,理想的仪器应当是只对“目标”农药响应,而对其他物质无响应。

2.2.1 气相色谱法(Gas Chromatography, GC)

此法是一种经典的分析方法。此法利用不同的气相和固定相分离样品中的不同成分,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,适用于沸点低、热稳定性好的物质。现今所采用的检测器多为 ECD(电子捕获检测器)、FPD(火焰光度测器)、原子发射检测器(AED)、NPD(氮磷检测器),可根据其对离子的不同吸收特性来选择合适的检测器。使用 GC 法,多种农药可以一次进样,得到完全的分、定性和定量,结果可靠。目前 GC 法多采用填充毛细管^[12]。目前,已有报道 HPLC 法可一次分析十几种农药残留^[13]。

2.2.2 高效液相色谱法(High Performance Liquid Chromatography, 简称 HPLC)

此法同样是一种经典的分析方法。HPLC 在进行农药残留分析时一般以甲醇、乙腈等水溶剂作流动相,用 C₈、C₁₈ 填料的柱子^[14]。使用 HPLC 法,其流动相可以自由调节组成、比例和 pH 值,便于优化分离条件。其缺点是溶剂消耗量大,检测器种类较 GC 少,灵敏度不如 GC 高,液谱柱制备较 GC 柱困难,价格也贵。选择紫外吸收、质谱或荧光为检测器。HPLC 的新技术体现在采用高效色谱柱、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。可应用此法分析分子量大或高沸点、热不稳定的农药。

2.2.3 超临界流体色谱(Supercritical Fluid Chromatography, 简称 SFC)

此法是以超临界流体作为色谱流动相的分离检测技术。它可以使用各种类型的较长的色谱柱,并综合了 GC 和 HPLC 的优点,既可以在较低温度下测定分子量较大、热不稳定的化合物又可以测定极性较强的化合物。它的使用条件也很便利,可以与大部分 GC 和 HPLC 的检测器相连接,如 FPD、NPD 以及 MS(质谱)等。

2.2.4 毛细管电泳(Capillary Electrophoresis, 简称 CE)

是在电泳技术上发展的一种分离技术。其工作

原理是在高压场作用下,毛细管内的不同带电粒子会以不同的速度在背景缓冲液中定向迁移,从而进行分离。它具有灵敏度高、耗资少、样品消耗量很小、分离柱效能高、使用方便等特点。

2.2.5 色谱—质谱联机(GC/LC—mass spectrometry, GC/LC—MS)

色谱—质谱联用技术既发挥了色谱法的高分离能力,又发挥了质谱法的高鉴别能力。这种技术特别适用于农药代谢物、降解物和多残留物的定性检测。

气相色谱—质谱联用法(Gas Chromatography—Mass Spectrometer, 简称 GC—MS)和 GC—MS—MS 联用技术日臻成熟,质谱法已成为农药残留分析的常用方法。由于串联质谱(MS—MS)可以减少干扰物的影响,提高仪器的灵敏度,所以 MS—MS 是化合物结构分析及确证的有效手段。

液相色谱—质谱联用技术(Liquid Chromatography and Mass Spectrometer, 简称 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。具有检测灵敏度高、选择性好、定性定量可同时进行、结果可靠的特点,并具有良好的多残留检测能力。此技术目前的问题是 LC 和 MS 的接口技术尚不十分成熟,对分析技术和仪器的要求较高。

2.2.6 毛细管区带电泳(capillary zone electrophoresis, 简称 CZE)

对于一般常规液相色谱方法难以分离的离子型农药, CZE 是理想的分析方法。这一技术具有很高的效率和分离能力,可达几百万个理论塔板数,其操作简单,具有很大灵活性,如缓冲液的组成、pH、毛细管的类型以及所用电场的波形都可调节。CZE 所需样品量极少,一般只需几纳升(nL)。目前, CZE 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, CZE 的优势才能充分发挥出来。

2.2.7 快速检测方法

(1) 酶生物传感器。酶生物传感器^[15]通过测定固定于电极表面的酶的活性被农药抑制的程度,来推算样品中农药残留水平。Streffer 等^[16]将酪氨酸酶和葡萄糖氧化酶固定在一支电极上,检测酚类化合物,通过底物再生技术,使最低检测限达到 5 nmmol/pL, Mulchandani 等^[17]结合流动注射技术

研制的流动注射安培型有机磷水解酶生物传感器(FIAB),通过检测有机磷的水解产物对硝基苯酚,来判断有机磷的浓度。FIAB能够检测低至20 nmmol/pL,的对氧磷和甲基对硫磷,对有机磷类农药具有很好的选择性,仅五氯苯酚(PCP)和苯酚对测定有干扰,该干扰可以采用平行双柱测定来消除。Jeanty等^[18]用流动注射乙酰胆碱酯酶生物传感器检测有机磷农药毒死蜱及其衍生物,通过程序自动控制进样、测定和酶活化过程,得到很好的重现性。酶生物传感器的关键在于酶源的选择和酶敏感层的制备。不同来源酶制作的传感器,灵敏度和稳定性可能相差很大。

乙酰胆碱酯酶传感器技术可以快速检测有机磷和氨基甲酸酯等两类农药超标较为严重的水果和蔬菜,该方法具有检测时间短、检测大量样本、检测成本低、对于检测人员技术水平要求低、易于推广等特点,是目前中国控制高毒农药残留的一种有效的方法,也是目前应用最为广泛的农药残留快速检测方法。但该农药残留快速检测方法原理上仅限于胆碱酯酶的功能被抑^[19],因而其检测农药种类只限于有机磷和氨基甲酸酯类农药,不能给出定性、定量检测结果,LOD值普遍高于国际和国内规定的残留限量标准值,因此不能作为法律仲裁依据^[20]。

(2) 免疫分析法(Immunoassay,简称IA)。免疫分析法是利用抗原和相应抗体在体外能特异性结合的原理发展的一类特异、灵敏、快速的检测技术,由于其内在的优势,广泛应用于包括农药残留检测在内的诸多领域。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(分子量小于2500)一般不具备免疫抗性,不能刺激动物产生免疫反应^[21]。但可以将其当作半抗原,用共价键与分子量大的载体蛋白偶联成人工抗原,引起动物的免疫反应,产生识别该农药并与之特异性相结合的抗体,这些大分子蛋白通常用牛血清白蛋白、人血清白蛋白、兔血清白蛋白、卵清蛋白等。

免疫传感器是将抗体或抗原固定在电极上,抗原抗体的结合反应通过换能器产生可测定的信号,它结合了免疫反应灵敏、特异和传感器实时、快速的优势,在农药残留分析中受到较多的关注。Starodub等^[22]用葡萄球菌A蛋白将抗西玛津的多克隆抗体连接在离子选择性场效应转换器(IS-

FET)上,通过两种方式检测待测液中的西玛津。一种是待测液中同时存在已知量的过氧化物酶标记的西玛津和未知量的待测西玛津,二者竞争与ISFET上的抗体结合,通过测量结合在ISFET上的酶活性确定待测西玛津的浓度,此方式的检测限为112.5 μg/pL,线性范围5~175 μg/pL。另一种是先将ISFET插入待测液中,使抗体与其中存在的西玛津充分结合,然后再将此ISFET插入含有酶标记的西玛津液中,使未被结合的抗体与酶标记的西玛津结合,测量结合在ISFET上的酶活性确定待测西玛津的浓度,此方式的检测限为165 μg/pL,线性范围112.5~185 μg/pL。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、水中农药残留的检测。

(3) 比色法。利用此方法对蔬菜、果品及农产品进行农药残留测定,灵敏度高,操作简便,检验速度快,可检测多种农药的综合残留量。但是,目前不少酶液比色法是把样品切碎制成提取液,再用分光光度计比色检测,从直观上看这样可检出供测样品的表面以及组织内的农药残留。但实际上,由于植物组织液中的一些成分会与显色剂反应等原因,往往会影响检测结果。

(4) 残毒速测箱。速测箱具有以下特点:快速(每样需要15~20 min)、简便、容易使用、不需要贵重设备和专门技术人员,成本低(每样需要用0.5元)适用于田间筛选大量样品且所用的酶片和显色基质片,在常温下、干燥条件下能保存2年以上^[23]。

3 展望农残检测发展的方向

农残检测发展的方向是更快速、更准确、更环保。更快速,一方面要求尽量减少分析过程所花费的时间,另一方面要实现操作自动化,增加样本测定量;更准确,就是要尽可能减少人为操作的误差;更环保,就是要减少溶剂的使用量,减轻对环境的排放和污染。符合这三方面的农残检测技术必然会有长足的发展。

随着环境污染的加剧,生态安全和食品安全问题已引起人们的极大关注,而农药残留是一类主要的环境污染物,它直接影响到经济的可持续发展和人们的健康。而在当今先进的农药生产条件下,不断涌现出许多化学结构和性质各异、待测组分复杂的农药新品种,这就给农药残留检测带来了新的问

题,要求检测技术不断的发展进步。中国应积极开展对于国际标准的研究工作,积极吸收国外先进的检测经验,加快、加大农药残留检测研究,力争达到国际检测标准并为农作物国际贸易提供农药残留量检测的科学依据。

参考文献:

- [1] 冯秀琼. 农药残留分析技术进展概况 [J]. 农药, 1998, 37 (2): 8—10
- [2] 蒋国辉, 郑永权, 董丰收, 等. 农药残留检测技术研究进展 [J]. 农业质量标准, 2005 (1): 32—36
- [3] Michelangelo Anastassiades. Residues of pesticides in the food [J]. Journal of AOAC International, 2003, 86 (2): 412—431
- [4] Specht W. Guidance document on residue analytical methods, directorate general health and consumer protection/european Commission [J]. Anal Chem, 1995, 353: 183—190
- [5] 李元平, 黄冠胜, 林伟, 等. 日本“肯定列表制度”知识问答 [R]. 国家质量监督检验检疫总局, 2006
- [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] Schenck F J. Residue Analytical Methods [J]. AOAC Int, 1997, 77: 102—106
- [8] 耿昱, 郭寅龙. 固相微萃取、气相色谱、质谱联用技术在农药残留物分析中的应用 [J]. 分析测试技术与仪器, 2001, 7 (4): 230—235
- [9] 易军. 食品中农药残留分析的样品前处理技术进展 [J]. 化学进展, 2002, 14 (6): 415—424
- [10] Lopez-Avila V, Benedicto J, Bauer K M, et al. microwave assisted extraction [J]. Journal of AOAC International, 1998, 81 (6): 1224
- [11] Chong S L, Wang D, Hages J D, et al. Residue Analytical Methods [J]. Anal Chem, 1997, 69: 3889—3898
- [12] Paul A Cooper, K Michael Jessop, et al. Capillary electrochromatography for pesticide analysis, effects environmental matrices [J]. Electrophoresis, 2000, 21: 1574—1579
- [13] Ana Agüera, Mariano Contreras, et al. Multiresidue method for the analysis of multiclass pesticides in agricultural products [J]. Analyst, 2002, 127: 347—354
- [14] Sylvaine D Rolle, Louis de Cormis. High-performance liquid chromatography for the determination of pencyuron residues in Several Vegetables [J]. Agric Food Chem, 1989, 37: 975—978
- [15] 朱玲, 安哲. 测定氨基甲酸酯类农药生物传感器的研制 [J]. 中国卫生检验杂志, 2002, 12 (2): 154—155
- [16] Strffer K, Vijgenboom E, Tepper Awjw, et al. Determination of phenolic compounds using recombinant tyrosinase from streptomyces antibioticus [J]. Anal Chim Acta, 2001, 427: 201—210
- [17] Mulchandani P, Chen w, Mulchandani A. Flow Injection amperometric enzyme biosensor for direct determination of organophosphatene agents [J]. Environ Sci Technol, 2001, 35: 2562—2565
- [18] Jeanty G, Chommidh C, Marty J L. Automated detection of chlorpyrifos and its metabolites by a continuous flow system-based enzyme sensor [J]. Anal Chim Acta, 2001, 436: 119—128
- [19] 赵建庄, 柴丽娜, 李元珍, 等. 农药残留速检研究的现状及展望 [J]. 北京农学院学报, 2001, 17 (2): 76—80
- [20] 何艺兵. 农药残留检测技术及其标准现状 [J]. 农业质量标准, 2003, 1 (2): 16—18
- [21] 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 (2): 223—226
- [22] Starodub N F, Dzantiev B B, Starodub V W, et al. Immunosensor for the determination of the herbicide simazine based on an ion-Selective field-effect Transistor [J]. Anal Chim Acte, 2000, 424: 37—43
- [23] 李治祥, 黄士忠, 张俊亭, 等. 农药残毒速测箱的研制和应用 [J]. 环境科学学报, 1990, 10 (3): 101