

固相萃取技术在农药残留分析中的应用

陈芳¹, 杨冰仪², 龙军标¹, 潘巧裕²

摘要:固相萃取是一种新型的样品预处理技术,操作简便,节省有机溶剂,易于实现自动化操作,已广泛应用于环境保护、药物检测、食品检验检疫等领域。在农药残留分析中,固相萃取技术的应用还使得提取不同类别农药的选择性增强,样品回收率提高,尤其是结合 HPLC-MS、GC-MS 等仪器的联合鉴定,可实现自动化分析,能简单、快速、灵敏地提取定量许多物质,从而大大提高了分析效率和精密度,具有广阔的发展前景。

关键词:固相萃取;农药残留分析;应用

中图分类号:R996 文献标识码:B 文章编号:1009-9727(2007)1-84-03

Application of solid-phase extraction technique in determination of residual pesticides. CHEN Fang, YANG Bing-yi, LONG Jun-biao, et al. (Huangpu District Center for Disease Control and Prevention of Guangzhou City, Guangzhou 510700, Guangdong, P. R. China)

Abstract: Solid-phase extraction (SPE) is a new technique for pretreatment of samples, as it is simple and convenient to conduct, uses less organic solvent, lends itself well to automation, and has become widely used in environmental protection, medicine and food inspection and quarantine, and in other areas. In pesticide residue analysis, use of SPE has strengthened the selectivity of extraction of different pesticide types and increased sample recovery rates, especially when doing determinations using combined instrumentation such as HPLC-MS, GC-MS. Use of SPE also has facilitated automated analysis due to its simplicity, rapidity, and sensitivity, allowing quantitative extraction of many substances. Thus, SPE has greatly enhanced analytical efficiency and precision and it is of excellent promising prospect for future application.

Key words: Solid-phase extraction; Pesticide residues; Application

农药残留检测工作中,由于基质复杂多样,而且受农药的同系物、异构体、降解产物或代谢产物的影响,样品的前处理成为一个难点和热点,国内外的分析工作者开发了多种农药残留分析的样品前处理技术^[1],固相萃取(Solid-phase extraction, SPE)技术在 20 世纪 70 年代出现后,由于其具有操作简便快速、有机溶剂用量少等优点,在农药残留分析的样品前处理中得到了广泛的应用。

1 固相萃取技术简介

固相萃取是利用固体吸附剂将样品中的目标化合物吸附,与样品的基体和干扰化合物分离,然后再用洗脱液洗脱或加热解吸,达到分离和富集目标化合物的目的。具有固相萃取处理过程中不大量使用互不相溶的溶剂,不产生乳化现象;它采用高效、高选择性的吸附剂,能显著减少溶剂用量;简化了样品处理过程,由于试剂用量少,减轻了环境污染等特点。

1.1 固相萃取的分离模式及作用机理 固相萃取的主要分离模式可分为正相、反相、离子交换和吸附,其作用机理包括氢键、偶极作用、疏水性相互作用和静电吸引力等^[2]。由于农药品种众多,性质差异较大,因此用于农药残留分析的固相萃取吸附剂种类也较多,吸附剂种类的选择依样品的性质而定。

1.1.1 样品的基质是水溶液 分析目的物更易溶于水相,若带电荷则选择离子交换柱,如阴离子或氨基柱(适于阴离子或酸性化合物),阳离子交换柱(适于阳离子或碱性化合物);若为

中性则选择反相柱或强阴(阳)离子柱;分析目的物更易溶于有机相,若带电荷则选择离子交换柱或反相柱;若为中性则选择反相柱。

1.1.2 样品基质是有机相 若是极性有机相,用水稀释,按水溶液方案进行;若是中等极性到非极性有机相,选择正相柱或将溶剂挥发至于干后,再溶于水或极性溶剂,按水溶液方案进行。

1.2 固相萃取的操作程序 尽管固相萃取的分离模式多种多样,但其操作程序基本类似,一般由下面三步组成。

1.2.1 条件化 在萃取样品前用适当的溶剂淋洗固相萃取小柱,使吸附剂保持润湿,可以吸附目标化合物或干扰化合物。

1.2.2 加样 将液态的样品倒入已条件化的固相萃取小柱,视样品情况不同,可利用重力、抽真空、加压和离心等不同形式使样品进入吸附剂。

1.2.3 洗涤和洗脱 视分离模式和样品性质,可采用适当的洗脱剂将目标化合物直接淋洗下来;也可先将干扰化合物淋洗掉,再用适当的洗脱剂将目标化合物洗脱,通常采用后一种方法更有利于样品的净化。

1.3 固相萃取的装置 常用的固相萃取装置有固相萃取管和片。固相萃取管是一根由聚丙烯、聚乙烯、聚四氟乙烯或不锈钢制成的小柱,下端装有筛板以支撑吸附剂,在吸附剂上再加一筛板以防止加样时破坏柱床;固相萃取片则是将吸附剂埋于玻璃棉中,制成圆盘状。目前,多种规格的装有不同种类吸附

基金项目:本项目得到广州市黄埔区科技局科研项目—“固相萃取技术在食品农药检测中的应用”基金资助

作者单位:1. 广州市黄埔区疾病预防控制中心,广东 广州 510700; 2. 广东药学院,广东 广州 510224.

剂的商品小柱已普遍面市,相关厂商为配合固相萃取柱的使用,开发了固相萃取的专用装置;有给单个固相萃取柱加压的单管处理塞,也有可同时进行多个固相萃取柱抽真空操作的真空多歧管装置。在实际应用中,分析工作者还开发了可进行自动固相萃取的实用装置,如 Colume 等利用连续固相萃取装置测定了蔬菜中的有机氯和拟除虫菊酯类农药残留^[3],此装置的使用,不仅简化了操作步骤,减少了样品前处理的时间,降低了溶剂的消耗,而固相萃取柱经清洗后可多次继续使用。

2 固相萃取技术在农药残留分析中的应用

2.1 SPE 在水体中农药残留分析方面的应用 测定水体中的农药残留一般采用如 C18, C8 等非极性吸附剂,通常用甲醇和水条件化,以甲醇为洗脱剂,由于对水体中的农药残留限量要求严格,如欧盟规定地表水农药残留量为 1.0 $\mu\text{g/L}$,饮用水为 0.1 $\mu\text{g/L}$ ^[4],我国规定生活饮用水中滴滴涕、六六六的限量分别为 1 $\mu\text{g/L}$ 和 5 $\mu\text{g/L}$ ^[5],而且自然水体中的农药残留质量浓度通常也很低,若没有可靠的分离富集手段很难检测到,采用固相萃取技术可以使提取、富集和净化一步完成。因此在今后的工作中应着眼于如何提高这些农药品种的回收率,提高方法的准确度。

2.2 SPE 在土壤中农药残留分析方面的应用 测定土壤中的农药残留一般是先用适当的提取溶剂及提取方式从土壤样品中将待测的农药提取出来,再利用固相萃取技术进行净化。由于待测农药的性质不同所使用的提取溶剂不同,因此从基质中带来的杂质性质也不尽相同,所以要选择适当的吸附剂实现待测残留农药的分离和净化,分析极性较强的农药,采用极性较强的提取溶剂如丙酮-水体系时可采用非极性吸附剂如 C18 等,这样提取溶剂中水溶性强的杂质不会保留在吸附剂上,有利于样品的净化,如 Ruiz 等利用 V(水)BV(DMF) = 100B2.5 为提取溶剂, C18 为吸附剂,以乙酸乙酯为淋洗剂测定土壤中莠去津、呋喃丹、地虫农等农药取得了较好的效果^[6];而分析极性较弱的农药,采用极性较弱的提取溶剂时,可以选择极性吸附剂如 Florisil 等,它不会对提取溶剂中的弱极性杂质产生保留,然后再选择适当溶剂将待测残留农药淋洗下来进行测定,如 Kim 等利用 V(正己烷)BV(二氧甲烷) = 7B3 为提取溶剂, Florisil 为吸附剂测定土壤中 A, B - HCH, 七氯等有机氯农药^[7]。

2.3 SPE 在食品中农药残留分析方面的应用 食品种类很多,基质类型复杂多样,干扰物质也不尽相同,其中包含各种色素、不同比例的脂肪和水分等。因此针对不同类型样品、不同的待测农药选择不同类型的吸附剂。对于液态样品可直接或经简单稀释后,用固相萃取柱进行提取和净化^[8];而固体样品可先用适当方式提取后,再用固相萃取技术净化。对于多水分低脂肪的蔬菜和水果样品,一般先用极性溶剂如乙腈、丙酮等溶剂提取,然后根据所分析农药的种类和性质,选择相应固相吸附材料净化分离;对于低水分低脂肪的粮食类样品,则先加入一定量的蒸馏水润湿后,再用溶剂提取,过固相萃取柱净化,然后测定;对于油脂类样品,加入与样品等量的丙酮,混匀,用己烷和乙腈进行液液萃取,或加入乙腈后,零下 20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻去脂,再进行固相萃取^[9-11]。

3 固相萃取新应用

3.1 多种固相萃取吸附剂的联用 在农药残留分析的样品前处理中所面对的基质和干扰化合物复杂多样,性质差异很大,采用单一类型的 SPE 吸附剂有时难以有效去除基质和干扰化合物,因此分析工作者将 2 种 SPE 吸附剂联用进行样品前处理。戴华等采用乙腈提取, ENVI-CARB 和 LC-Alumina-N 固相萃取小柱串联净化, HPLC-DAD 测定了稻谷中的吡虫啉农药残留量^[12];李拥军等用 V(丙酮):V(正己烷) = 1:1 提取茶叶中的甲氰菊酯、氯菊酯等 5 种拟除虫菊酯类农药,采用活性炭和中性氧化铝柱串联使用,有效去除了茶叶中的色素、有机碱和酚类化合物等干扰成分^[13];林维宣等利用 HPLC-UV 同时检测大米中的杀线威、灭多威等 8 种氨基甲酸酯类农药残留量时,采用丙酮提取, Florisil 和 C18 双柱净化样品,提高了检测灵敏度^[14];Rastrelli 等利用 GC-NPD 测定橄榄油中的甲胺磷、地亚农、对硫磷等 18 种有机磷农药残留量,采用硅胶柱和 C18 柱串联的方法实现提取和净化一步完成^[15]。

3.2 固相微萃取 固相微萃取(Solidphasemicro-extraction, SPME)是 20 世纪 80 年代末由加拿大 Waterloo 大学 Pawliszyn 和 Arthur 教授提出的,它是在固相萃取技术上发展起来的一种液相样品制备的前处理技术。SPME 的原理是利用待测物在基体和萃取相之间的非均相平衡,使待测组分扩散吸附到石英纤维表面的固定相涂层,待吸附平衡后,再以气相色谱或高效液相色谱分离和测定待测组分。SPME 技术具有简便、快捷、无需萃取溶剂的特点,非常适用于农药残留分析,影响固相微萃取结果的因素包括萃取头类型、萃取时间、离子强度、解吸附温度和解吸附时间等^[16]。陈伟琪等利用 100 μm 聚二甲基硅氧烷萃取头浸入匀浆液的萃取方式, GC-FPD 测定了茼蒿中的甲拌磷等 4 种有机磷农药残留量,讨论了搅拌速度、离子强度、平衡时间等影响因素^[17];Lambropoulou 等采用 100 μm 聚二甲基硅氧烷萃取头,顶空-固相微萃取(HS-SPME)方式, GC-MS 方法测定了草莓和樱桃中的乙硫磷、对硫磷、倍硫磷等 7 种有机磷农药残留量^[18];Sakamoto 等发展了一种采用 85 μm 聚丙烯酸酯萃取头、顶空-固相微萃取测定水中的 158 种农药残留量的 GC-MS 方法,探讨了不同种类萃取头、盐的浓度、pH 值和萃取温度等参数的影响^[19]。

3.3 基质固相分散萃取 基质固相分散萃取(Matrixsolid-phasedispersionextraction, MSPD)是由 Barker 于 1989 年首次提出,这项技术的优点是不需要进行组织匀浆、沉淀、离心、pH 调节和样品转移等操作的步骤。MSPD 的原理是将 C18 等固相萃取吸附剂与固体、半固体或黏性的样品一起研磨,得到半干状态的混合物并将其作为填料装柱,然后用不同的溶液淋洗柱子,将各种待测物洗脱下来。MSPD 多应用于从动物组织、蔬菜、水果中分离药品、除草剂、杀虫剂和其他污染物,影响 MSPD 效果的因素包括吸附剂的粒径、键合相的性质、样品基质的性质以及基质的修饰、淋洗剂的性质以及加入的顺序等^[20]。Kristenson 等发展了一种简便快速的 MSPD/GC-MS 方法测定了水果中的氯菊酯和对硫磷、马拉硫磷等 10 种有机磷农药残留量,选择 C8 作为吸附剂,每次分析仅需 25mg 样品和 100ml 溶剂^[21];Pico 等利用 C18 做分散吸附剂,硅胶柱净化, GC-NPD 和 GC-

ECD 测定的方法检测了水果和蔬菜中的克菌丹、灭菌丹等 8 种杀菌剂^[22]; Morzycka 建立了一种简便的多残留分析的 MSPD/GC - NPD 方法测定蜂蜜中的乙硫磷、毒死蜱等 12 种农药的残留量, 采用 Florisil 和硅胶作分散吸附剂, 氧化铝和硅胶作为净化吸附剂, 达到了较好的净化效果和良好的回收率^[23]。

3.4 新型固相萃取吸附剂 随着新型农药品种的不断涌现, 固相萃取所用的吸附剂也得到了相应的发展, 相继出现了一些新型吸附剂。Queiroz 等发展了一种“绿色化学”方法, 采用 C 射线辐照的方法将聚甲基十八烷基硅氧烷固定在硅胶上作为固相萃取的吸附剂, 合成过程中不产生有毒废物, 用该吸附剂萃取水中的农药残留取得良好的回收率^[24]; Rejeb 等将抗体固定在硅胶吸附剂上制成免疫亲和柱用于萃取花生中的满穗, 取得良好的选择性和满意的回收率^[25]。

固相萃取技术问世以来得到了长足的发展, 并在农药残留分析中得到广泛的应用, 随着新型吸附剂和新的操作模式的不断涌现, 固相萃取技术在农药残留分析中的应用将更具生命力。如今, 固相萃取正朝着自动化、微量化的方向发展, 再结合 HPLC - MS、GC - MS、CE - MS 等仪器的联合鉴定, 能简单、快速、灵敏地提取定量许多物质, 大大优于传统的液 - 液萃取方法, 从而使 SPE 成为农药残留分析中最有发展前途的预处理方法之一。

参考文献:

- [1] 易军, 李云春, 弓振斌. 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.
- [2] 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.
- [3] Columea, Cordenass, Gallego M, et al. Semiautomatic multiresidue gas chromatographic method for the screening of vegetables for 25 organochlorine and pyrethroid pesticides[J]. Analytica Chimica Acta, 2001, 436: 153 ~ 162.
- [4] Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998, on the quality of water intended for human consumption[S].
- [5] GB5749 - 85, 生活饮用水卫生标准[S].
- [6] Ruizmj, Redondomj, Fontg. Solid - phase extraction disks for determining pesticides from soil leachates[J]. Journal of Chromatography A, 1997, 776: 348 ~ 354.
- [7] Kimj, Smitha. Distribution of organochlorine pesticides in soils from out Korea[J]. Chemosphere, 2001, 43: 137 ~ 140.
- [8] Jimenezj, Bernaljl, Nozalmj, et al. Determination Of rotenone residues in raw honey by solid - phase extraction and high - performance liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2000, 871: 67 ~ 73.
- [9] 刘长武, 刘凤枝, 翟广书, 等. 蔬菜水果中 25 种有机氯农药残留快速检测方法[J]. 环境科学学报, 2003, 23(4): 499 ~ 502.
- [10] Oterorr, Grandebc, Gandarjs. Multiresidue method for fourteen fungicides in white grapes by liquid liquid and solid-phase extraction followed by liquid chromatography diode array detection[J]. Journal of Chromatography A, 2003, 992: 121 ~ 131.
- [11] Lentza-Rizosch, Avramidesej, Visie. Determination of residues of endosulfan and five pyrethroid insecticides in virgin olive oil using gas chromatography with electron-capture detection[J]. Journal of Chromatography A, 2001, 921: 297 ~ 304.
- [12] 戴华, 李拥军, 张莹. 稻谷中吡虫啉农药残留量的固相萃取高效液相色谱测定[J]. 分析测试学报, 2002, 21(1): 70 ~ 72.
- [13] 李拥军, 黄志强, 戴华, 等. 茶叶中多种拟除虫菊酯类农药残留量的气相色谱 - 质谱测定[J]. 分析化学研究简报, 2002, 30(7): 865 ~ 868.
- [14] 林维宣, 田苗, 李继业, 等. 双柱固相萃取 - 高效液相色谱法测定大米中氨基甲酸酯农药残留量的研究[J]. 中国粮油学报, 2003, 18(2): 79 ~ 84.
- [15] Rastrelil, Totarok, Simonefd. Determination of organophosphorus pesticides residues in Cilento (Campania, Italy) virgin olive oil by capillary gas chromatography[J]. Food Chemistry, 2002, 79: 303 ~ 305.
- [16] 夏阳, 刘俊亭. 固相微萃取法 (SPME) 在农药残留分析中的应用[J]. 农药, 2002, 41(3): 15 ~ 16.
- [17] 陈伟琪, 候小凤, 张洛平. SPME/GC 联用测定蔬菜中有机磷农药的方法研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2000, 39(4): 509 ~ 515.
- [18] Lambropoulou, Albanista. Head space solid-phase microextraction in combination with gas chromatography mass spectrometry for the rapid screening of organophosphorus pesticides residues in strawberry and cherry[J]. Journal of Chromatography A, 2003, 993: 197 ~ 203.
- [19] Sakamoto, Tsutsumi. Applicability of head space solid - phase microextraction to the determination of multi - class pesticides in water samples[J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1028: 63 ~ 74.
- [20] 王运浩, 江用文, 成浩. 食品农药残留与分析控制技术展望[J]. 现代科学仪器, 2003(1): 8 ~ 12.
- [21] Kristenson, Haverkate, Slootencj, et al. Miniaturized automated matrix solid - phase dispersion extraction of pesticides in fruit followed by gas chromatographic mass spectrometric analysis[J]. Journal of Chromatography A, 2001, 917: 277 ~ 286.
- [22] Navarrom, Picoy, Mamr, et al. Application of matrix solid - phase dispersion to the determination of a new generation of fungicides in fruit and vegetables[J]. Journal of Chromatography A, 2002, 968: 201 ~ 209.
- [23] Morzycka. Simple method for the determination of trace levels of pesticides in honeybees using matrix solid - phase dispersion and gas chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2002, 982: 267 ~ 273.
- [24] Queiroz, Melolfe, Jardimic. Poly(methyloctadecylsiloxane) immobilized on silica by gradient for use in solid-phase extraction[J]. Journal of Chromatography A, 2002, 948: 171 ~ 176.
- [25] Rejeb, Cleroux, Lawrencej, et al. Development and characterization of immunoaffinity columns for the selective extraction of a new developmental pesticide: Thiazalilide, from peanuts[J]. Analytica Chimica Acta, 2001, 432: 193 ~ 200.

收稿日期: 2006 - 09 - 11