

超临界流体萃取技术在农药残留分析中的应用

薄尔琳², 于基成^{*}, 曹远银 (1. 沈阳农业大学植物保护学院, 辽宁沈阳110161; 2. 大连民族学院生命科学学院, 辽宁大连116600)

摘要 介绍了超临界流体萃取技术(SFE)在食品中各类农药残留分析的应用以及研究现状,并展望了其在农药残留分析中的广阔前景。

关键词 超临界流体; 萃取; 农药残留; 检测

中图分类号 Q652.62 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)15-3743-02

农药残留危害生态环境及人类健康,食品中农药残留分析的重要性日趋提高,而样品前处理的结果直接影响到农残分析的质量。超临界流体萃取(Supercritical fluid extraction, SFE)作为一项新的提取技术,自20世纪80年代以来发展迅速,在诸多领域得到广泛应用,近年来在分析化学中的应用也明显增加^[1]。该方法较之传统的样品前处理方法优点明显:操作简单、萃取时间短、提取效率高、重现性好,对目标物选择性强,并能将干扰成分减小到最低程度等。每个样品一般从制样到完成约需要40 min左右,大大地缩短了提取时间,是常规方法所不能比的。1986年,Capriel^[2]等首次将SFE技术应用于农药残留分析,结果较为理想。我国对SFE技术的研究起步较晚,目前国内外有许多学者仍在进行这方面研究。Seidel^[3]等研究认为可以将SFE和Soxhlet萃取法并列为分析的首要方法。笔者主要对SFE在农药残留分析研究中的应用作一简要综述。

1 超临界流体色谱技术(Supercritical fluid chromatography, SFC)

超临界流体,是指物体处于其临界温度和临界压力以上时的状态,这种流体兼有液体和气体的优点,有极高的溶解能力,能深入到提取材料的基质中,发挥非常有效的萃取功能,且溶解能力随着压力的升高而急剧增大。这些特性使得超临界流体成为一种好的萃取剂。超临界流体色谱分析方法可以认为是液相色谱分析的一种变形,它综合了气相色谱(GC)和液相色谱(LC)的优点,分离能力和速度可与GC相比,其密度、溶解力和速度也可与高效液相色谱(HPLC)相比。 CO_2 仍是应用最广的流动相,主要用于非极性或弱极性农药的分析。SFC可以使用GC或HPLC的检测器FID、FPD、NPD、ECD、UV以及MS、FTIR联用,定性和定量分析极为方便,是未来很有发展前途的一种检测方法^[4]。

Lantz等^[5]首先用以SG CO_2 为流动相的SFC成功地分离出经过络合后的痕量金属离子,开辟了利用SG CO_2 流体的原位络合法萃取金属离子的新途径。Voorhees等^[6]采用SFE/SFC/MS测定了牛肉和鸡肉中残留的氨基甲酸酯类农药,在信噪比为2:1时恶虫威和西维因的检测限分别为200和175 ng/g,且在运作时不需复杂化连接到残留物质的萃取和待测就可完成53%的实验。基于SFE较高的分离效能,可用来分离和分析手性化合物,手性SFE适于分析非离子型的具有低中挥发性的手性化合物。将SFE与各种色谱仪器联

机,易于实现准确、快捷、灵敏、简便的全自动分析过程,但由于SFC设备昂贵,目前不易普及。

2 SFE在农药残留分析上的应用

2.1 有机氯类(Organochlorine pesticides)

有机氯类农药是人类历史上最早出现的有机合成农药,属于残效期长、稳定性强的一类农药,通过生物富集与食物链在动物体内累积。现今仅有林丹、三氯杀虫酯、三氯杀螨醇、硫丹等对环境相对较安全、无积累毒性^[7],但由于20世纪70年代被禁用的有机氯农药还长期存在于环境中,加之目前在农作物的生长和贮存期仍在施用的一些有机氯农药都会造成严重的残留危害。

Ling Y C等^[8]研究了一种SFE在线提取并分离中草药中13种有机氯农药残留的分析方法,用GC-ECD和MS测定含量。结果表明,添加样品中16种OCPs的最低检测限为1~6 ng/g,重复性(RSD)为5%~31%,平均回收率为78%~121%,SFE萃取及GC-ECD分析总时间不超过2 h。初步认为SFE方法简单、快速、样品用量少、溶剂消耗少。目前,此法已成功用于台湾市场上中草药中OCPs的检测($\mu\text{g/g}$ 级水平)。万绍晖等^[9]采用SFE去除当归中有机氯农药,并分别用毛细管色谱(CEC)和HPLC测定除毒前后当归中农药残留量和当归药材中药用价值的变化,结果优化最佳条件为压力15 MPa,温度60℃,流速1.5 ml/min,萃取时间20 min,残留农药除毒率达95.1%(RSD=2.6%),当归中阿魏酸相对含量103.5%(RSD=3.2%),相关组分含量没有显著性变化。这种当归中除有机氯农药的方法切实可行。

2.2 有机磷类(Organophosphorus pesticides)

据统计^[10],有机磷农药的品种现已有311个(包括杀螨剂和杀线虫剂),世界有机磷杀虫剂的产量占整个杀虫剂产量的1/3以上,我国有机磷杀虫剂占有使用农药的75%以上^[11]。有机磷农药大量使用而引起的食物中毒在我国农药食物中毒中占第1位^[12],有机磷农药残留污染是农药残留中最重要的问题,很多国家对常用有机磷的使用量都有明确规定。

Jones和McCoy^[13]从蜂蜜中提取有机磷和氨基酸甲酯农药,GC(FPD/NPD)测定,GC/MS确证。样品与硅藻土混合,用ODS收集,乙腈洗提,最佳条件为温度60℃,2 min达到平衡时间,流速为1.6 ml/min。结果蜂蜜中萃取的杀虫剂(除氧化乐果以外)回收率均大于75%。应用SFE萃取样品中的残留与溶剂提取结果非常一致。Kim DH等^[14]将SFE用于小麦粉中有机磷农药残留量的测定,得到有机磷杀虫剂进行SFE工艺优化的条件为温度60℃、压力20 MPa。采用GC/NPD在线定量分析,与传统的有机溶剂萃取法(如液-液提取、凝胶渗透色谱等)相比,SFE可简化样品预处理过程,加快样品测定速度,萃取时间60 min/7g。此法可用于小麦中有机磷杀虫剂

基金项目 辽宁省自然科学基金(20032132);辽宁省教育厅资助项目。

作者简介 薄尔琳(1981-),女,辽宁辽阳人,硕士研究生,研究方向:有害生物与环境安全。* 通讯作者,副教授。

收稿日期 2006-04-29

的农残分析,最低检测限为10 ng/g。Norman KN^[15]等研究了小麦和玉米中有机磷农药的残留量测定,应用SFE和石墨碳固相萃取(SPE)分离,再用GC/FID或GC/MS。结果与液-液提取(LLE)和凝胶渗透色谱(GPC)法比较,具有更好的回收率和更低的检测限,而且减少分析时间和有机溶剂消耗以及对环境的污染。徐敦明等^[16]建立了利用离线SFE/GC测定鱼肌肉中毒死蜱残留量的分析方法,确定了萃取的最优化条件、最佳改性剂(甲醇作为改性剂,萃取率高达103.5%)、最佳收集液(丙酮作为收集液,萃取率达93.7%,且能选择性收集),最低检出限0.01 ng,添加回收率77.3%~105.1%,相对标准偏差(RSD)为2.4%~15.4%,测得毒死蜱在鱼肌肉中的消解半衰期为6.12 h,符合残留分析要求。

2.3 氨基甲酸酯类农药(Carbamate pesticides) 氨基甲酸酯类农药性质和作用与有机磷农药极为相似,是当今杀虫剂领域中第2大类药剂^[7],在我国也是一类很重要的杀虫剂,因此其残留情况备受关注。采用SFE技术可使氨基甲酸酯类农药回收率大大提高,因而SFE已不断应用于氨基甲酸酯类农药的残留检测分析。

刘瑜等^[1]采用SFE/CO₂对苹果中5种氨基甲酸酯类农药进行萃取并用GC/NPD检测,加入3%的甲醇作为改性剂,对3种惰性载体和加入硅藻土的苹果基体的超临界萃取条件进行了选择,取得了满意的结果,回收率为88%~98%,并认为在实际样品萃取前使用惰性载体进行捕集条件的选择十分必要,硅藻土是固定有流动性样品的较好的惰性基体,而且在使用冷阱捕集时,冷阱温度对捕集效率有较大的影响。Sun Lei Lee^[17]等用正交实验优化MAE和SFE萃取土壤中4种氨基甲酸酯类农药的条件,采用HPLC/UVD测定。在SFE萃取过程中SF-CO₂流体的成分是至关重要的影响因素,加入10%(v/v)的甲醇大大地提高了回收率。在最佳萃取条件下,其中SFE的温度60℃,压力30 MPa,加热时间30 min,2种方法回收率均大于85%,其中SFE平均回收率92%,RSD=5.5%。

2.4 拟除虫菊酯类(Pyrethroid pesticides) 天然除虫菊酯的产量远远不能满足害虫防治的需要,人工合成的拟除虫菊酯作为一类广谱、高效杀虫剂,在农业生产中发挥了很大作用,但同时也带来了环境污染和食品安全问题。因此,国际食品法典委员会(CAC)对其在农产品中的残留规定了严格的限量。

O'Mahony等^[18]采用SFE/CO₂萃取了尖纤维素中甲氰菊酯、氰戊菊酯、氟胺氰菊酯,毛细管色谱(CEC)测定,得到最佳条件分别为:3.03×10⁷ Pa和70℃;3.03×10⁷ Pa和60℃;2.02×10⁷ Pa和75℃,回收率均大于80%。杨立荣等^[19]分别较为系统地研究了SFE技术萃取分离小白菜中残留高效氯氰菊酯、氟氯氰菊酯和三氟氯氰菊酯、甲氰菊酯的方法,并用GC检测,正交实验结果分析认为3因素对高效氯氰菊酯和氟氯氰菊酯的萃取率影响的主次关系分别为:压力>温度>CO₂体积和CO₂体积>压力>温度。筛选出高效氯氰菊酯和氟氯氰菊酯的SFE优化条件分别为:压力2.76×10⁷ Pa,温度65℃,CO₂体积10 mL,萃取率99.96%;压力4.14×10⁷ Pa,温度45℃,CO₂体积30 mL,萃取率101.95%。三氟氯氰菊酯和甲

氰菊酯的优化条件为:压力3.45×10⁷ Pa,温度45℃,改性剂甲醇添加量0.04 mL/g,静态萃取时间20 min,CO₂流量25 mL/min。萃取过程速度快、效率高、选择性强、有机溶剂用量少,萃取及GC检测可在1 h内完成,此方法为SFE技术应用于农药残留分析的深入研究提供了参考。

2.5 除草剂类 除草剂因其高效,施用后易分解,对人体毒性小,有助于实现农业机械化等特点被广泛应用在农田上,尤其在一些发达国家,如美国除草剂生产量占农药生产总量66.4%^[20]。我国除草剂的品种、产量与用药面积也正在逐年增加,因此,对除草剂残留的检测也越来越受到重视。

Vorosbaranyi等采用SFE技术萃取了南斯拉夫Vojvodina省土壤中多种除草剂及其代谢物的残留,GC/NPD检测,在926个土样(深0~30 cm)中64%含有阿特拉津,特别是玉米为单一作物的地区,类似的结果也发生在甲草胺的测定中。正面研究结果的平均对比值均低于法律允许的限定值^[21]。Pensabene等^[22]在6.89×10⁷ Pa,50℃条件下从全蛋中用超临界CO₂萃取10种三类农药,每份样品用8 mL溶剂洗脱,其中阿特拉津回收率为90.4%,RSD=3.3%,其他三类农药平均回收率大于73%。Senseman等^[23]成功地证实了将SFE/CO₂技术应用于萃取土壤中的除草剂阿特拉津。Lehotay^[24]报道了来自7个国家17个实验室共同合作的应用SFE萃取,GC/MS测定的方法对苹果、青豆、胡萝卜中的农药多残留进行分析,合作研究结果表明SFE适用于对农药残留分析的控制程序的应用,并且这也是研究组首次推荐应用SFE。

3 小结

超临界流体萃取技术目前应用十分广泛,在提取技术领域有极大的发展空间,在农药残留分析中已显示出巨大的威力,也为真正意义上的自动化分析分离体系的建立提供了切实可行的技术基础,其应用于农药残留分析的报道正在逐渐增加,已经成为农药残留分析研究中的热点。相信随着科技的发展和人们食品安全意识的增强,农药残留分析地位的提高,超临界萃取技术会越来越地被人们采用。

参考文献

- [1] 刘瑜,庄无忌,邱月明,等.苹果中5种氨基甲酸酯类农药的超临界流体萃取及其气相色谱法测定[J].色谱,1996,14(6):457-459.
- [2] CAPRIEL P, HAI SCH A, KHAN S V. Supercritical methanol: An efficacious technique for the extraction of bound pesticides residues from soil and plant samples[J]. Agric Food Chem, 1986(6):70-73.
- [3] SEIDEL V, IINDNER W. Universal sample enrichment technique for organochlorine pesticides in environmental and biological samples using a redesigned simultaneous steam[J]. Analytical Chemistry, 1993, 65(24):3677-3683.
- [4] 黄威冬,王青海,朱道乾,等.多环芳烃在线毛细管超临界流体色谱傅立叶变换红外光谱联用分析方法[J].色谱,1992,11(2):61-63.
- [5] LAINIZ KE, YUJJ, WAI C M. Separation of nitrations with sodium bis(trifluoroethyl) dithiocarbamate chelation and supercritical fluid chromatography[J]. Anal Chem, 1992, 64:311-315.
- [6] VOORHEES KJ, GHARAIBEHA A, MRUGAVERL B. Integrated SFE/SFC/MS system for the analysis of pesticides in animal tissues[J]. Journal of Agric Food Chem, 1998, 46(6):2353-2359.
- [7] 邹明强,杨蕊,金钦汉.农药与农药污染[J].大学化学,2004,19(6):1-9.
- [8] LING Y C, TENG H C, CARTWRIGHT. Supercritical fluid extraction and clean up of organochlorine pesticides in chinese herbal medicine[J]. Chromatography, 1999, 835(1-2):145.
- [9] 万绍晖,赵春杰,徐玫,等.超临界流体萃取法除当归中有机氯农药[J].沈阳药科大学学报,2003,20(3):187-190.
- [10] 潘灿平.农药分子中磷的功能(上,下)[J].农药译丛,1997,19(5,6):36.

(上接第3744 页)

- [11] 王建华, 王国涛, 袁杜梅. 超临界流体萃取- 气相色谱法测定水果和蔬菜中有机磷农药残留量[J]. 分析试验室, 1999, 18(6) :55 - 58.
- [12] 骆望美, 骆腊梅. SFE 在中草药和食品中农药残留分析中的应用[J]. 现代医药卫生, 2003, 19(3) :271 - 272.
- [13] JONES A, MCCOY C. Supercritical fluid extraction of organophosphate and carbamate insecticides in honeybees [J]. Journal of Agric Food Chem, 1997, 4(6) : 2143- 2147.
- [14] KIM D H, HEO G S, LEE D W. Determination of organophosphorus pesticides in wheat flour by supercritical fluid extraction and gas chromatography with nitrogen phosphorus detection [J]. Chromatography, 1998, 824(1) :63.
- [15] NORMAN K N, PANTON S H. Supercritical fluid extraction and quantitative determination of organophosphorus pesticide residues in wheat and maize using gas chromatography with flame photometric and mass spectrometric detection [J]. Chromatography, 2001, 907(1- 2) :247 - 255.
- [16] 徐敦明, 陈安良, 余向阳, 等. 超临界流体萃取气相色谱法测定鱼肉中的毒死蜱残留[J]. 分析化学研究简报, 2005, 33(4) :451 - 454.
- [17] SUN LEI LEE, HAN KEE. Optimization of microwave-assisted extraction and supercritical fluid extraction of carbamate pesticides in soil by experimental design methodology [J]. Journal of Chromatography, 2003, 1014(1 - 2) :165 - 177.

- [18] O'MAHONY T, MOORE S, BROSNAN B, et al. Monitoring the supercritical fluid extraction of pyrethroid pesticides using capillary electrochromatography [J]. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2003, 83(7 - 8) :681 - 691.
- [19] 杨立荣, 陈安良, 冯俊涛, 等. 小白菜中残留高效氯氟菊酯及氟氯氟菊酯的超临界流体萃取条件的研究[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(3) :616 - 619.
- [20] 王云凤, 左国华, 葛宝坤. 高效液相色谱- 大气压化学电离质谱联用技术鉴定农药残留除草剂[J]. 口岸卫生控制, 1999, 4(4) :5 - 7.
- [21] VORCSBARANYI I, SOVLJANSKI R, PUCAREVIC M, et al. Supercritical fluid extraction of herbicide and herbicide metabolite residues from soils of the Vojvodina province [J]. Acta Agronomica Hungarica, 1996, 44(4) :355 - 364.
- [22] PENSABENE J W, HEDDLER W, DONOGHUE D J. Supercritical fluid extraction of atrazine and other triazine herbicides from fortified and incured eggs [J]. Journal of Agric Food Chem, 2000, 48(5) :1668 - 1672.
- [23] SENSEMANS A, KEICHERS D M L. Evaluation of co-solvents with supercritical fluid extraction of atrazine from soil [J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2000, 38(3) :263 - 267.
- [24] LEHOTAY S J. Determination of pesticide residues in nonfat foods by supercritical fluid extraction and gas chromatography/ mass spectrometry: collaborative study [J]. Journal of AOAC International, 2002, 85(5) :1148 - 1166.