

QuEChERS 样品制备技术在烟草农药残留检测中的研究进展

张 燕, 陈 丹, 李 苓, 王春琼

(云南省烟草质量监督检测站, 昆明 650106)

摘 要: QuEChERS 方法因快速、简单、便宜、有效、可靠和安全的特点在农药多残留检测中成为备受关注的样品前处理技术。本文就 QuEChERS 方法在烟草农药多残留检测前处理中的研究进展进行综述, 对 QuEChERS 技术的应用前景及发展方向进行展望。

关键词: QuEChERS; 农药残留检测; 烟草

中图分类号: S481.8

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2018)03-0043-04

Progress of Researches on QuEChERS Preparation Techniques in Pesticides Residue Detection of Tobacco

ZHANG Yan, CHEN Dan, LI Ling, WANG Chunqiong

(The Tobacco Quality Supervision and Test Station of Yunnan Province, Kunming 650106, China)

Abstract: As a quick, easy, cheap, effective, rugged and safe samples preparation technology in pesticide multi-residue analysis, QuEChERS method has been discussed with much concerns. The application of QuEChERS method in multi-residue determination of pesticides in tobacco was summarized in the paper. A prospect of application and development direction of QuEChERS method in the future was made.

Key words: QuEChERS; Pesticide residue detection; Tobacco

烟草在种植和存放过程中都会受到病虫害的危害, 农药对防治烟草病虫害、增加烟叶产质量起到非常重要的作用。但是生产中不加节制地滥用农药, 违规使用高毒、高残留农药的现象也较为普遍, 造成烟叶中农药的残留, 甚至农药残留超限的情况也时有发生。随着对卷烟产品安全性认识的提高, 人们对烟叶农药残留问题也越来越关注。

在农药残留分析中, 由于农药种类繁多、化学结构和性质不同、样品基质较为复杂, 且残留农药含量极低等特点, 样品前处理方法要求尽量完全地将痕量的残留农药从样品中提取出来, 充分降低或去除杂质干扰, 准确检测农药残留。QuEChERS 方法作为一种农药多残留分析的前处理技术已成为农药残留分析应用研究的热点, 被广泛应用于食品和农产品中农药残留检测技术

中。本文对近年来 QuEChERS 方法在烟草农药多残留分析中的研究进展进行综述, 并对其应用前景作一展望。

1 QuEChERS 方法简介

美国农业部 Anastassiades 等^[1]于 2003 年开发了一种快速、简便、安全的预处理方法, 来实现农药多残留的高质量分析, 英文全名为 Quick-Easy-Cheap-Effective-Rugged and Safe, 简称为 QuEChERS 方法。该方法自发布以来就得到了广泛的认可和应用, 目前已经发展成为一系列可针对各种不同基质和几百种农药分析的样品前处理技术。QuEChERS 方法的原理是利用净化材料吸附基质中的杂质达到净化样品的目的, 与传统的萃取技术相比, 省去了样品量大或多次净化的步骤, 其操作过程较为简单, 主要有二部分: (1) 提取分离: 用少量的乙腈溶剂作为萃取液, 加入无水硫酸镁等盐析剂, 除去样品中水分, 从匀浆样品中将残留农药提取出来; (2) 净化: 在提取液中加入 N-丙基乙二胺 (PSA) 吸附剂萃取净化, 通过振荡离心去除共萃杂质成分, 减少基质效应。

收稿日期: 2018-02-12

基金项目: 中国烟草总公司云南省公司科技项目 (2016YN37)

作者简介: 张 燕 (1963-), 女, 副研究员, 硕士, 主要从事烟草化学分析和检测研究。

2 QuEChERS 方法的优势

样品基质中通常含有色素、油脂、甾醇及其它成分的干扰,这些都可能影响到测定结果的准确性,而 QuEChERS 方法操作简单,仅需几步就能完成样品的前处理过程,可在短时间内实现上百种农药的分离和检测。QuEChERS 方法的主要优势有:(1)稳定性好,回收率高,对大量极性、挥发性农药品种的回收率均大于 85%。(2)采用内标法进行校正,精密度和准确度高。(3)农药范围广,包括极性、易挥发和一些难分析的农药均适用此方法。(4)分析快速,效率高,能在 30~40 min 内完成 20 个左右预先称重样品的萃取。(5)溶剂使用量少,低廉,污染小。(6)操作简便,设备简单,主要使用离心机^[2-3]。

3 QuEChERS 提取法在烟草农药残留检测中的研究

3.1 QuEChERS 方法改进

农药的化学结构复杂,不同农药其理化性质差异较大,即使同一种农药,在不同的基质中所受到的影响也不同,因此要想获得所有残留农药的最优回收率是较为困难的。QuEChERS 方法在建立过程中,根据目标化合物的性质、样品基质和检测设备等分析技术的不同,需要筛选萃取溶剂、样品量、脱水剂、吸附净化材料和用量以及缓冲体系等多方面因素,以提高方法的回收率和残留农药检测的准确性。

3.1.1 萃取溶剂的改进

在多农药残留分析中,萃取溶剂的选择是分析技术的关键,不仅关系到农药残留物的萃取效率,也会影响样品的净化效果。Kate 和 Lehotay^[4]对 6 种常用萃取溶剂进行稳定性及效果评价,证实乙腈是萃取各种极性农药残留最适宜的溶剂。乙腈通用性强,不会萃取出蜡、脂肪和油性色素等油性物质,同时乙腈在盐析分配作用下,能有效去除有机相中残留的水分。除此之外,乙腈与色谱分离检测技术的匹配性好,既适用于气相色谱分析,也非常适用于反相液相色谱分析,因此在 QuEChERS 方法中基本都采用乙腈作为萃取溶剂。由于乙腈会导致一些杀菌剂如克菌丹、灭菌丹等农药的降解,实验室中也常用乙酸或甲酸将乙腈酸化,以提高酸性化合物和易受基质干扰待测物的回收率。Lehotay 等^[5]通过含 1% 乙酸的乙腈和醋酸钠体系提取灭菌丹、百菌清

等 32 种农药残留物,回收率可达到 90%~100%,使用酸化乙腈作为萃取溶剂拓展了 QuEChERS 方法可应用的基质种类范围。烟草基质复杂,富含生物碱和色素类物质,干扰成分多,在保证待测农药提取效率的前提下,应当尽可能地降低提取液中共萃杂质的含量。陈晓水等^[6]以烟草样品的加标回收率为指标,考察了包括乙腈、含 1% 乙酸的乙腈、正己烷-乙酸乙酯(1:1, v/v)、正己烷-丙酮(1:1, v/v)乙腈-乙酸乙酯(1:1, v/v)和乙酸乙酯 6 种不同萃取溶剂对烟草样品中农药的提取效率,最终确定烟草样品以乙腈作为萃取溶剂提取效率较好,回收率为 68.10%~123.15%。穆小丽等^[7]以乙腈为溶剂,对烟草样品与氟罗里硅土混合试样进行萃取,检测烟草中 5 种拟除虫菊酯农药残留,5 种拟除虫菊酯农药平均加标回收率为 76.30%~103.64%,相对标准偏差(RSD)为 1.87%~7.48%。

3.1.2 盐析剂的选择

QuEChERS 方法中,在乙腈萃取样品之后需要加入盐析剂引发相分离,通过添加适量或不同组合的盐可以调控有机相中的水分含量,分析不同极性的农药。在考察多种盐析剂对相分离影响的结果表明,加入无水 $MgSO_4$ 时样品溶液易于分层,水相中乙腈含量最低,回收率最高。为了尽可能地降低样品基质中一些干扰化合物被共萃取,在使用无水 $MgSO_4$ 作为盐析剂同时可加入 NaCl,通过改变 NaCl 的添加量,可降低乙腈相的极性,控制方法的极性范围,提高萃取和分配过程中的选择性。黄琪等^[8]将提取液用无水硫酸镁和 PSA 吸附剂处理,测定烟草中 15 种有机磷农药残留量,结果显示 15 种农药的回收率为 66%~104%,RSD 不大于 8.99%,检测限为 2.58~11.5 $\mu g/kg$ 。秦云才等^[9]以乙腈萃取同时加入无水硫酸镁和氯化钠(4:1, W/W),测定烟草样品中 22 种有机磷农药,结果在 0.002~0.2 $\mu g/mL$ 内的线性关系良好,检测限为 0.67~9.15 $\mu g/kg$,回收率为 70%~102%,RSD 不大于 8.96%。

3.1.3 样品含水率的调整

最初的 QuEChERS 方法是针对含水量大于 80% 的水果和蔬菜而开发的一种前处理技术,对于含水量较低的其它基质需要进行相应的调整,减少样品称样量,并添加一定量的纯水,以减弱待测农药与样品基质间的相互作用,减少干扰杂质,促使待测农药能有效萃取出来。烤烟烟叶含水量一般在 8.0% 左右,需要添加适量的纯水使烟

叶含水量达到75%以上,严会会^[10]考察了在乙腈萃取前,不加水浸润烟末和分别加入不同水量浸润2.0 g烟末样品的八种情况,结果发现,提取前先加水浸润烟末,残留农药更容易游离出来,加水量为10 mL时,烟叶中15种农药的回收率为70%~118%之间,RSD为1.20%~14.0%,方法的回收率和RSD均满足农药多残留体系分析的要求,因此烟叶样品以称取2.0 g烟末加10 mL纯水为最适宜。

3.1.4 萃取缓冲体系的选择

QuEChERS方法最初没有加缓冲体系,非缓冲体系提取的萃取液更为干净,但一些对碱敏感的农药如百菌清、灭菌丹等农药稳定性会受到影响而发生降解,造成回收率偏低。为提高pH敏感化合物的萃取效果,在QuEChERS方法中对萃取液引入缓冲盐以调整萃取基质的pH值。当萃取缓冲体系的pH值保持在5~5.5之间时,有利于农药残留物的定量萃取,可防止碱性不稳定农药残留物的损失,获得足够高的回收率。QuEChERS方法常用的缓冲体系有柠檬酸缓冲体系和醋酸盐缓冲体系两种,柠檬酸缓冲体系对萃取液后续的净化更为有效,而醋酸盐缓冲体系对pH敏感的农药有较高的回收率,并在2007年被美国农业化学家协会(AOAC)认定为官方方法。通过研究柠檬酸盐、醋酸盐和不加缓冲盐3种不同的基质缓冲体系对烟草中多种农药的提取效率表明^[6],缓冲盐体系对烟草样品中大部分残留农药的回收率影响很小,柠檬酸盐和醋酸盐缓冲体系对烟草中大多数农药在提取效率上没有差异,但是在非缓冲体系下,乙酰甲胺磷、敌敌畏、灭菌丹和安硫磷等几种农药的回收率明显偏低。

3.1.5 净化材料的选择

对于基质较复杂的烟草样品,净化过程应有效去除样品中的干扰杂质,有利于降低检测限,保证检测结果的准确性。基于净化材料改进的QuEChERS方法近年来发展了很多新型净化材料。目前作为净化材料的吸附剂主要有乙二胺-N-丙基硅烷(PSA)、十八烷基硅烷键合硅胶(C18)和石墨化炭黑(GCB)、氨丙基键合硅胶(NH₂)、SAX(阴离子交换剂)和MWCNTs(多壁碳纳米管)等,不同吸附剂的净化效果不同。PSA对去除基质中的蛋白质、有机酸、脂肪酸和多糖效果好,C18对部分色素、甾醇和脂肪去除效果好,GCB能有效地去除叶绿素。在实际应用中,几种净化材料联合使用可以适应更多成分复杂的样

品,达到更好的除杂效果。烟叶中色素、脂肪和多糖等杂质较多,特别是鲜烟叶中叶绿素含量高,艾小勇等^[11]用不同质量配比的C18、PSA和GCB三种净化材料净化鲜烟叶,结果表明,采用质量比为3:5:1的C18、PSA和GCB联合使用,可以获得最佳的净化效果,鲜烟叶中二甲戊乐灵和仲丁灵二种抑芽剂的平均回收率达到93%以上,检测限为1.5~2.4 μg/kg,定量限为5.0~7.9 μg/kg。

3.2 QuEChERS提取法在烟草农药残留检测中的应用

近年来QuEChERS技术在烟草农药残留分析领域中得到了广泛应用。司晓喜等^[12]用丙酮-正己烷(1:1)溶剂萃取,PSA净化,建立了烟草中43种农药的气相色谱-飞行时间质谱(GC-TOF MS)分析方法,43种农药的线性相关系数均不小于0.993,RSD不大于9.6%,定量限为1.3~5.0 μg/kg,3个水平下的加标回收率为76.4%~96.6%。严会会等^[13]利用LC-MS/MS检测技术,快速分析烟草中15种农药残留,在0.10、0.25和0.50 μg/g 3个加标水平下,回收率为70.43%~117.81%,RSD为1.16%~13.89%,检测限为0.004~0.030 μg/g。余斐等^[14]用LC-MS/MS法分析烟草中114种农药残留,用5 mg的MWCNTs为净化剂材料,通过优化实验,在0.02、0.05和0.20 mg/kg 3个添加水平,平均回收率为69%~119%,RSD为1.0%~19.0%,定量限为0.2~40.0 μg/kg;周杨全等^[15]建立了GC-MS/MS方法检测烟叶中溴菌腈残留量,在0.01、0.2、1.0 mg/kg 3个添加水平下,溴菌腈在鲜烟叶和干烟叶中的平均回收率分别为85.8%~94.5%和83.2%~110.0%,RSD分别为1.4%~10.6%和7.3%~14.1%,定量限均为0.01 mg/kg。陈晓水等^[16]以烟草中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯类、酰胺类、氨基甲酸酯类和二硝基苯胺类共155种农药为研究对象,从基质效应、共萃基质、色谱峰干扰、回收率和定量限等方面考察了对3种QuEChERS前处理方法,绝大部分目标物都能保证回收率在70%~120%之间。朱文静等^[17]建立了用QuEChERS试剂盒对烟叶样品进行提取和净化,采用LC-MS/MS法测定烟草中57种有机氮和有机磷农药残留,57种农药回收率为65.2%~103.8%,RSD为1.9%~8.6%。楼小华等^[18]研究了应用程序升温汽化进样-气相色谱-串联质谱(PTV-GC-MS/MS)技术检测烟草中202种农药品种221个组分的高效方法,202种农药在0.01~2.5 mg/L范围内线性良好,相关系数为0.9800~0.9999,加标回收率为

67.4%~112.0%,检测限为0.0002~0.0100 mg/kg, RSD为0.30%~20.30%,且一次进样可在46 min内完成221个组分的分析。李玮等^[19]采用改进的QuEChERS前处理方法,用GC-MS/MS检测技术分析烟草中49种农药残留,结果表明,在低质量浓度(0.05 μg/L)的加标水平下49种农药的平均加标回收率为60.4%~104.8%,高质量浓度(5 μg/L)下的平均加标回收率为70%~115%,RSD均小于15%;其中16种农药的方法检测限分别为0.01~0.03 μg/kg,其余33种农药的检测限均小于0.01 μg/kg。王秀国等^[20]采用QuEChERS方法提取烟叶样品测定杀菌剂壬菌铜的残留量,在鲜烟叶和干烟叶中壬菌铜的平均回收率分别为84.7%~92.5%和87.1%~103.2%,RSD分别为6.9%~8.3%和5.8%~10.6%,定量限为0.01 mg/kg。石杰等^[21]用QuEChERS方法处理烟草样品,LC-MS/MS法分析了烟草中的38种有机磷、酰胺类和杂环农药残留,38种农药平均回收率为60.15%~116.21%,RSD为0.57%~19.25%。

4 QuEChERS提取法的应用前景

QuEChERS方法灵活、快速,可以根据待测农药特点、基质成分和实验室检测条件对其进行方法的改良,是农药残留分析中最常用的前处理技术之一。目前该方法主要用于低脂肪样品的农药分析,未来QuEChERS方法将有更为广泛的分析对象,在生物样品药物检测及环境样品农药残留检测等领域中有更加广阔的应用前景。同时随着材料领域技术的发展,发现和寻找能有效去除复杂基质样品中干扰杂质的新型净化材料将是QuEChERS方法发展的重要方向。最后如何使QuEChERS实现自动化,更大程度地简化处理过程,实现样品的高通量检测,也是QuEChERS方法未来发展的另一种趋势。

参考文献:

- [1] Anastassiades M, Lehotay S, Stajnbaher D, et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce[J]. Journal of AOAC International, 2003, 86(2): 412-431.
- [2] 刘胜男,卫星,巩卫东. QuEChERS方法在检测分析中的应用研究进展[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(10): 134-137.
- [3] 赵祥梅,董英,王和生. QuEChERS法在农产品农药残留物检测中的应用研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(5): 952-955.
- [4] Kate M, Lehotay S. Evaluation of common organic solvents for gaschromatographic analysis and stability of multiclass pesticide residues[J]. Chromatography A, 2004, 1040(2): 259-272.
- [5] Lehotay S, Mastovska K, Lightfield A. Use of buffering to improve results of problematic pesticides in a fast and easy method for residue analysis of fruits and vegetables[J]. AOAC International, 2005, 88: 615-629.
- [6] 陈晓水,边照阳,唐纲领,等. 气相色谱法-串联质谱技术分析烟草中132种农药残留[J]. 色谱, 2012, 30(10): 1043-1055.
- [7] 穆小丽,蒋腊梅,杜文. 高效液相色谱-串联质谱法分析烟草中拟除虫菊酯农药残留[J]. 农药, 2009, 48(5): 365-367.
- [8] 黄琪,刘惠民,屈凌波,等. 高效液相色谱串联质谱法测定烟草中有机磷农药残留量[J]. 烟草科技, 2008(10): 34-38.
- [9] 秦云才,黄琪. 高效液相色谱串联质谱法测定有机磷农药残留[J]. 环境科学与管理, 2011, 36(2): 34-38.
- [10] 严会会. 烟草中农药多残留体系的液相色谱-串联质谱分析方法研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2011.
- [11] 艾小勇,任志芹,袁飞,等. QuEChERS结合HPLC-MS/MS法测定鲜烟叶中的2种抑芽剂[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(11): 2888-2891, 2920.
- [12] 司晓喜,朱瑞芝,刘志华,等. 气相色谱-飞行时间质谱快速鉴定和定量测定烟草中43种农药[J]. 分析测试学报, 2016, 35(5): 532-538.
- [13] 严会会,胡斌,刘惠民,等. 高效液相色谱串联质谱法分析烟草中15种农药残留[J]. 烟草科技, 2011(7): 43-47.
- [14] 余斐,陈黎,艾丹,等. 多壁碳纳米管分散固相萃取-LC-MS/MS法分析烟草中114种农药残留[J]. 烟草科技, 2015, 48(5): 47-56.
- [15] 周杨全,徐光军,徐金丽,等. 烟草中溴菌腈农药残留检测方法及消解动态[J]. 中国烟草科学, 2016, 37(1): 67-71.
- [16] 陈晓水,边照阳,杨飞,等. 对比三种不同的QuEChERS前处理方式在气相色谱法-串联质谱检测分析烟草中上百种农药残留中的应用[J]. 色谱, 2013, 31(11): 1116-1128.
- [17] 朱文静,高川川,楼小华,等. LC-MS/MS快速测定烟草中57种农药残留[J]. 中国烟草学报, 2013, 19(2): 12-16.
- [18] 楼小华,高川川,朱文静,等. PTV-GC-MS/MS同时测定烟草中202种农药残留[J]. 烟草科技, 2013(8): 45-57.
- [19] 李玮,卢春山,李华,等. 气相色谱串联质谱技术分析烟草中49种农药残留[J]. 色谱, 2010, 28(11): 1048-1055.
- [20] 王秀国,闫晓,宋超,等. QuEChERS/高效液相色谱-串联质谱法测定烟叶与土壤中的壬菌铜残留[J]. 分析测试学报, 2015, 34(1): 91-95.
- [21] 石杰,严会会,刘惠民,等. LC-MS/MS方法分析烟草中的38种农药残留[J]. 中国烟草学报, 2011(4): 16-22.

(责任编辑:王昱)