

农药多残留检测中的样品基质干扰及消除

徐美蓉^{1,2}

(1. 甘肃省农业科学院畜草与绿色农业研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 综述了农药残留分析检测中的基质效应及其影响因素和解决方法。

关键词: 农药残留; 检测; 基质; 干扰; 消除

中图分类号: S132 **文献标识码:** A

文章编号: 1001-1463(2015)12-0054-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2015.12.020

基质效应是普遍存在于化学分析中的影响因素, 在痕量和微量分析中基质效应表现尤其突出。基质效应最初是在酶活力测定中用人工制备的参考物质中发现的。样品基质干扰也是色谱分析中的常见现象。近年来, 由于农药残留分析标准化程度的不断深入, 基质效应的干扰问题正逐步地受到人们的重视。1993 年, Erney 等人第一次比较系统地研究了农药残留分析中的基质效应。表明当基质组分和被分析物一起被注入到气相色谱中时, 基质组分可以保护有机磷化合物不被吸附和热分解, 从而使更多的分析物进入到柱中, 所测得被分析物的结果就会偏高^[1-3]。农药检测试验中用纯溶剂标准溶液计算, 有些农药的空白基质加标回收率可能比理论值高几倍, 有些农药却并非如此。基质的种类和含量都会影响回收率, 即使在相同的仪器操作条件下, 每种农药的回收率可能都不同, 尤其在低残留水平时, 随着进样的不断进行, 一些农药的峰会变差而难以准确积分。鉴于此, 笔者总结了植物样品农药残留分析检测中的基质效应及其解决方法。

1 基质效应及其在农药检测中的表现

按照美国临床实验室标准化委员会文件, 基

质效应(matrix effect)是指标本中除分析物以外的其他成分对分析物测定值的影响, 即基质对分析方法准确测定分析物能力的干扰^[1-3]。基质效应是一个很广泛的概念, 几乎存在于所有样本中, 要测定样本中任何一个分析物时, 都不可避免地要受到其影响。农药残留通过仪器检测的响应信号强弱与存在的基质种类有关, 采用气相色谱分离检测的农药往往表现为基质增强效应(matrix induced enhancement), 主要是由于基质成分和分析物共同占据进样口附近的活性位点, 以此来防止分析物的吸附和分解, 从而使分析物的响应值加强。

2 影响基质效应的因素

气相色谱分析中, 基质成分的存在减少了色谱系统活性位点与待测物分子作用的机会, 使得待测物检测信号有增强的现象。分析目标物农药基质效应含多个 P=O 键的化合物较含单个 P=O 键的化合物明显; 含 P=O 键的化合物较含 P=S 键的化合物明显。含有同一功能基的化合物, 由于极性、理化特性的差异所呈现的基质效应也会有较大差别, 且同一化合物在不同化学环境和色谱系统中也会有所不同。

收稿日期: 2015-11-05

基金项目: 甘肃省农业科学院科技创新专项(2013GAAS42)部分内容

作者简介: 徐美蓉(1979—), 女, 甘肃临夏人, 实验师, 在读硕士研究生, 主要从事农兽药残留监测工作。联系电话: (0931)7616610。

个品种适宜定西干旱、半干旱山区大面积示范推广。其余品种(系)可进行进一步试验。

参考文献:

- [1] 金黎平, 屈冬玉, 谢开云, 等. 我国马铃薯种质资源和良种技术研究进展[J]. 种子, 2003(5): 98-100
- [2] 张永成, 田 丰. 马铃薯高产优质生理特性研究[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2013.

- [3] 袁安明, 陈自雄, 谭伟军. 马铃薯引种试验初报[J]. 甘肃农业科技, 2007(10): 14-16.
- [4] 文国宏. 陇薯 6 号马铃薯[J]. 西北园艺(蔬菜专刊), 2008(2): 54.
- [5] 刘喜霞. 临洮县中早熟马铃薯引种观察初报[J]. 甘肃农业科技, 2015(2): 18-20.

(本文责编: 陈 珩)

2.1 基质的浓度、种类

基质效应的产生依赖于样品基质,故溶液中的基质含量对基质效应的影响非常重要。基质效应在不同基质种类间也会有差异^[4-5]。不同植物样品中的水分、糖、脂肪、蛋白质等的营养成分含量高低和气相色谱分析中的基质效应强弱有着一定的关系。Kocouerk 等评价了农药在甘蓝、柑桔、小麦 3 种不同植物提取液中的稳定性,发现在小麦提取液中的稳定性明显高于其余 2 种^[6]。

2.2 分析物的化学结构、性质

一般热不稳定、极性、具有氢键结合能力的有机磷酸酯、羟基、咪唑、氨基化合物等在气谱分析中容易产生基质效应。不同农药在同一种基质中的基质效应不同,有机磷类农药其基质增强效应普遍强于有机氯和拟除虫菊酯类农药,这是由于有机磷类农药大多数含有 P=O 或 P=S 基团,使得农药更容易被进样口活性点所吸附,从而引起较强的基质效应,通常含有 P=O、-O-CO-NH-、-OH、-r-NH-、-N=、NH-CO-NH- 基团的农药表现出较强的基质效应。出峰时间较晚的拟除虫菊酯类农药的基质效应不明显,这可能与极性有关,表明极性越大,基质效应越明显^[7]。

2.3 分析物在基质中的浓度

基质效应一般是在待测农药的浓度为 4~1 000 ng/mL 时产生,不同的浓度水平产生的基质效应程度也不尽相同,但并非在其他浓度就不产生基质效应。实验结果表明,农药浓度在 1.0 mg/L 时,所有农药的加标回收率均在 100%左右;农药浓度为 0.5 mg/L 时,大部分农药的回收率升至 100%以上,有的甚至超过 150%^[8]。

2.4 进样技术

不同的进样模式(大体积进样、脉冲进样、柱上进样、程序升温气化进样、DMI 进样等)对基质效应的影响也有较大差别。根据纯溶剂标样的响应结果看,不分流进样低于脉冲不分流进样;而脉冲进样的柱头压力越大,农药的信号响应越大^[8]。

2.5 其它因素

检测器、进样口的结构、活性位点的数量、衬管和柱子的污染状况、载气的流速、压力、分析时间、分析温度等,都会对检测结果产生一定的影响。因此,基质效应的评价结果具有特异性,对对象、条件不适,待测物、仪器不同以及不同

的仪器使用历史都会对评价结果有不同的反映,从而成为基质效应的影响因素^[9-13]。

3 基质效应的消除与补偿

基质效应影响待测物的定量准确度,且影响因素多变,很难被完全消除。为了提高方法的可靠性和结果的准确度,近年来,致力于消除和补偿基质效应的研究逐渐增多,主要包括以下几方面。

3.1 基质匹配标准溶液的校准

由于基质效应依赖于分析的基质,那么获得精确结果的最好方式就是对每种基质使用其匹配标液^[14]。目前许多农药残留检测方法都使用基质匹配标样来进行校准,使标样中的基质环境与样品中的相同。由于基质效应与基质的类型有很大的关系,因而欲应用基质校准法获得最准确的结果时,需要有与每种类型样品都严格匹配的基质。不同的基质特性,会产生不同的基质效应,为了避免每种样品都配制其基质配标样,若能有一种可用于校准所有样品基质效应的标准物质或可通用的基质是非常有意义的。有研究建议,将黄瓜作为蔬菜的通用基质,将西瓜作为水果的通用基质。我们目前均采用将白菜、甘蓝、番茄、黄瓜和油菜分别作为白菜类、甘蓝类、茄果类、瓜类和叶菜类蔬菜的校准基质。而作为替代方法,混合物通用基质已开始应用于多类常规食品的检测,经过评价后,适合的混合物通用基质会减少部分繁琐的工作量。不同类型农作物的通用基质可通过与其水分、糖、脂肪和(或)脂肪酸含量的匹配来选择,应尽量使其标准曲线的斜率与基质匹配校准法的斜率相一致。

3.2 净化消除基质干扰

对农药残留检测来说,基质净化是必须的。一方面它可以使农药和基质组分完全分离;另一方面,可以减少难挥发性化合物或热不稳定化合物对仪器系统的污染。如试样不经净化而直接进行分析检测,将增加仪器的维护频率,从而导致样品分析通量减少,分析效率降低。如上所述,虽然基质组分可导致农药响应大大增加,但是实际中希望用最少的基质而获得稳定的基质增强效应,因此,典型的净化方法是既要达到合理的样品净化,又只需适当的仪器系统维护。采取可以有效去除基质组分的更多净化处理,本质上能补偿农药的基质增强效应和对基质种类的依赖性,

因而可以使用纯标准溶液进行定量。实际上,因为样品制备步骤的增多和复杂程度的增加会减少样品的分析通量,并且也影响方法的准确度,因此使用这种增加净化处理的方法很难获得满意的结果。另外,由于农药的性质极其复杂,在多残留检测中要获得足够纯净的样品和完全去除基质组分,实际上难以做到。

在农药残留分析检测中,样品的制备通常包括样品与适当溶剂均质、从样品基质中提出、分离,再通过液-液萃取(包括基质固相分散)、凝胶渗透色谱及吸附色谱,以及一种或多种互补性吸附剂填充的固相萃取或这些方法的结合来净化基质^[15]。超临界流体萃取是具有较好前景的替代方法,但由于农药与基质之间存在强烈的相互作用和(或)农药在萃取相中溶解度有限,致使某些农药的回收率较低,因此超临界流体萃取在多残留检测中尚未广泛应用。

3.3 优化进样技术

适当的进样策略以及对仪器系统的正确操作和维护对减少基质效应是有益的。经典的不分流进样方式仍是大多数实验室分析农药残留时采用的进样技术。热不分流进样技术耐用、可靠,易于优化,适合脏样品的分析,有相当大的进样量,因此有利于痕量农药残留的定量检测。但热不分流进样技术易产生基质效应,这是因为样品在进入色谱柱之前,在相对高温的进样口中停留时间较长;另一方面,进样器中的玻璃衬管存在活性位点。此外,每次进样后富集于玻璃衬管上的难挥发性基质组分较长时间停留在进样口高温下会分解产生引起基质效应的活性或吸附性产物,而且它们会随着进样而不断变化。20世纪90年代后,随着电子压力流量控制技术的产生,脉冲不分流进样技术代替了经典的热不分流进样技术,大大减少了基质效应。对大体积程序升温与复杂基质进样(DMI)技术相结合的分析方法的研究表明,进样装置将载有样品的微管(microvial)送入进样口内,随着程序升温,微管中样品的挥发性组分挥发入柱,而不挥发性物质留在微管内,微管在下次进样时则被替换,这样可以减少因不挥发性物质沉积在衬管内而形成的极性位点。DMI的优点是可以除去从微管中溢出的难挥发性基质组分而免其进入仪器系统。从基质效应角度而言,DMI主要问题是每次进样时需要更换微管和(或)

衬管,这会影响到检测结果的准确性。由于目前尚没有任何方法可以灭活与样品及样品蒸汽相互作用的玻璃表面的活性位点,DMI进样技术同样也存在基质效应。

3.4 使用标准添加和内标

标准添加也是一种补偿基质效应的有效方法,把已知量的分析物加入到含有待测分析物(假设其浓度为X)的样品提取液中,使其浓度分别为不同系列浓度(如1.5X和2.0X),分析各添加了标准品的样品和未添加标准品样品的色谱响应值,作出标准曲线,根据斜率和截距可得到待测物浓度。该方法比较繁琐,不太适合多残留和大量样品的测定。当使用质谱法检测农药多残留时,稳定同位素标记的农药是非常合适的内标物,可以用其有效校正基质效应^[16]。因为同位素标记的待分析农药标准品与待分析农药本身受到相同的基质效应影响,所以待分析农药与用同位素标记的农药标准品的响应值之比保持不变,但二者的浓度差应尽量小至使基质效应与待分析农药和基质浓度比不再相关。在进行大批量样品分析检测时,例如农药残留的快速筛选,通常是向所有试样中加入一个固定浓度的同位素标记的待分析农药标准品,因而欲获得准确的分析结果,便要求基质效应的影响保持不变或至少在同位素内标和待分析农药浓度的线性范围内。对于一些食品残留检测实验室而言,除了仪器设备的限制外,限制这种方法使用的主要是同位素标记的农药标准品不易获得且价格昂贵。

3.5 加入分析保护剂

分析保护剂是仿效基质保护作用的单一化合物或简单的混合物。当在纯溶剂标准溶液和样品溶液中加入相同量的保护剂时,它能同等程度地补偿标准溶液和样品溶液的基质效应。基质效应主要发生在从进样口到色谱柱以及色谱柱到检测器之间,可能包括待分析农药与硅醇基及其与玻璃衬管表面金属离子间的相互作用。分析保护剂有效地与待分析农药竞争衬管中的活性位点,以最大限度地提高纯溶剂中农药标准品的响应值,使之达到与基质中农药同等的响应。一般来说,具有这种保护作用的化合物通常有很强的形成氢键的能力,并与分析物具有相似的挥发性。Erney等证实,在色谱图一定保留时间窗口内,可以和待分析农药同时流出的化合物或其分解产物是比

较合适的分析保护剂^[17]。这表明色谱柱(至少色谱柱的前端)、色谱柱与检测器连接处及检测器内表面都对基质效应的产生有一定的作用。农药多残留分离分析常采用程序升温法。Erney 等的研究表明,当温度达到能使待分析农药在色谱柱中的分配系数很小之前,分析保护剂和待分析农药能停留在色谱柱的同一部位是很重要的。

一般而言,理想的农药残留检测用分析保护剂必须满足四个基本要求,一是溶液在进样过程中不与待分析农药发生化学反应;二是在达到分析保护作用的浓度(有效补偿纯溶剂标准溶液的响应值)时,能溶于上机溶液中;三是在色谱系统中不积累,以免增加系统的维护或缩短色谱柱的寿命;四是不能干扰拟分析农药的检测。很多化学物质可以满足这些要求,但仅有少数化合物具有补偿复杂基质中农药多残留检测的基质效应,使用这样的化合物作分析保护剂将有利于通用标准方法的开发。

4 小结

国外学者早期已注意到了农药残留测定中的基质效应问题,特别是 20 世纪 90 年代初以来,建立并发明了多种用于消除或补偿基质效应的方法和技术,而我国分析工作者近几年才对这一客观存在的现象引起重视。由于基质效应的产生对于化合物,特别是在含量较低的化合物检测中的准确性与定量具有较大影响,所以在进行食品或其它生物样品中的农药残留分析时,若要获得更精确和准确的结果,必须考虑到一个基本的前提,即要对基质效应进行考察评估并采取有效措施进行消除或补偿。同时,这也应该是在进行方法开发或方法验证过程中不可缺少的一个重要环节。基质效应随不同的农药、不同的基质类型和基质浓度而变化,当然也与进样口的类型、设计及操作条件等仪器参数相关。有很多方法可以用来补偿基质效应,但作为校准溶液而言,最有效的方法是基质匹配标准溶液校准或加入分析保护剂校准。

参考文献:

[1] 吴成,许志强,张晓丽,等. 蔬菜有机磷农药多残留检测中的样品基质干扰及检测方法的适宜性[J]. 农业工程学报, 2007, 23(9): 208-212.

[2] 贺利民,刘祥国,曾振灵. 气相色谱分析农药残留的基质效应及其解决方法[J]. 色谱, 2008(1): 98-104.

[3] 黄宝勇,肖志勇,陈丹. 农药残留检测方法中关于

基质效应补偿的相关问题探讨[J]. 农药科学与管理, 2010, 31(3): 39-43.

[4] 齐美玲. 液相色谱-质谱法在生物样品药物定量分析中的基质效应[J]. 药物分析杂志, 2005, 25(4): 476-479.

[5] KOEOUREKV, HAJSLOVAJ, HOLDEOVAK, *et al.* Stbailiyt of pesticides in plnat extracts used as calibrants in the gas Chromatographic analysis of residues[J]. J. Chromatogr. A., 1998, 800: 297-304.

[6] 洪玲,雷存喜,夏阳升. 色谱法分析中的基质效应及其规避方法[J]. 轻工科技, 2012(9): 114-115

[7] 易盛国,侯雪,韩梅,等. 相色谱-串联质谱法检测蔬菜农药残留基质效应与基质分类的研究[J]. 西南农业学报, 2012, 25(2): 537-543.

[8] 欧菊芳. 蔬菜中农药多残留气相色谱-质谱法测定中的基质效应的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2008.

[9] 罗俊霞,符建伟,李德瑜,等. 14 种有机磷农药在 9 种蔬菜中的基质效应研究[J]. 湖北农业科学, 2013(23): 5 858-5 862.

[10] 姜慧梅,谢燕萍. 基质效应对不同蔬菜中有机磷农药残留检测的影响[J]. 农药科学与管理, 2014(11): 58-61.

[11] 刘莉,罗军. 基质效应对气相色谱分析有机磷农药残留的影响和解决方法[J]. 江西农业学报, 2009(7): 146-148.

[12] 张莹,罗茜. 基质效应对甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果及久效磷农药残留测定的影响[J]. 农业开发与装备, 2013(3): 56.

[13] 杨旭,汤佳峰,巢文军. 基质效应对有机磷农药测定的影响及其解决方法[J]. 分析测试学报, 2009, 28(12): 1 368-1 372; 1 377.

[14] 贺利民,刘祥国,曾振灵. 气相色谱分析农药残留的基质效应及其解决方法[J]. 色谱, 2008, 26(1): 98-104.

[15] PATE K, FUSSEL R J, GOODAL D M, *et al.* Analysis of pesticide residues in lettuce by large volume difficult matrix introduction gas chromatography time of flight-mass spectrometry[J]. Analyst., 2003, 128(10): 1 228-1 231.

[16] 赵海峰,王建华,郇欣,等. 蔬菜农药残留 GC-MS 分析方法改进与基质效应探讨[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2006(1): 76-80.

[17] 黄宝勇,潘灿平,张微,等. 应用分析保护剂补偿基质效应与气相色谱-质谱快速检测果蔬中农药多残留[J]. 分析测试学报, 2006(3): 11-16.