

果蔬中常用植物生长调节剂分析方法研究进展

陈卫军^{1,2}, 张耀海², 李云成^{1,2}, 赵其阳², 焦必宁^{1,2,3,*}

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2.中国农业科学院柑桔研究所, 重庆 400712;

3.西南大学 南方山地园艺学教育部重点实验室, 重庆 400715)

摘要:近年来, 植物生长调节剂在果蔬生产中的使用越来越多, 随着人们对其残留危害的日益关注, 痕量植物生长调节剂残留的分析技术也在不断发展。文中概述了国内外检测果蔬中植物生长调节剂残留的主要分析方法及其优缺点, 包括气相色谱(GC)、高效液相色谱(HPLC)、质谱联用技术、酶联免疫吸附测定(ELISA)、毛细管电泳(CE)及其他分析法, 并对其发展趋势进行了展望。

关键词:水果蔬菜; 植物生长调节剂; 分析方法

Research Advances in Analytical Methods of Plant Growth Regulators for Fruits and Vegetables

CHEN Wei-jun^{1,2}, ZHANG Yao-hai², LI Yun-cheng^{1,2}, ZHAO Qi-yang², JIAO Bi-ning^{1,2,3,*}

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. Citrus Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 400712, China; 3. Key Laboratory of Horticulture Science for Southern Mountainous Regions,

Ministry of Education, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: In recent years, plant growth regulators are widely used in agricultural products. As the toxicity of plant growth regulator residues has gained increasing concerns, trace analysis methods for plant growth regulators have been developed. In this paper, the major methods with advantages and disadvantages for the analysis of plant growth regulator residues in fruits and vegetables are summarized, including gas chromatography (GC), high performance liquid chromatography (HPLC), chromatographic technique combined with mass spectrometry, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), capillary electrophoresis (CE) and so on. Meanwhile, the development prospects are also discussed.

Key words: fruits and vegetables; plant growth regulator; analytical methods

中图分类号: TS207.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)11-0283-07

植物生长调节剂(以下简称调节剂)是用于调节植物生长发育的一类农药, 包括人工合成的化合物和从生物中提取的天然植物激素。在我国, 调节剂被广泛用于果蔬生产中, 如 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)在柑橘和番茄生产及采后贮藏过程中、多效唑在桃生产中、氯吡脲在猕猴桃、西瓜和黄瓜生产中、矮壮素在番茄生产中均已普遍使用。调节剂的适时适量使用对提高果蔬产量与品质都有明显作用, 但由于各类调节剂的性质各异, 毒理机制和残留安全期尚不明确, 其潜在的安全隐患也不容忽视。随着消费水平的提高, 人们对调节剂在果蔬中的残留的关注也愈来愈密切, 今年海南“香蕉乙烯利催熟”和江苏“西瓜裂瓜”引发的调节剂滥用风波, 更是影响了人们的消费信心。

加入 WTO 后, 以农药残留限量标准为中心的各种贸易技术壁垒, 已成为严重制约我国农副产品出口的瓶颈。随着品种及应用范围的不断扩大, 调节剂已经成为其中一个重要组成部分。如欧盟对果蔬中 2,4-D、2,4,5-三氯苯氧乙酸(2,4,5-T)、矮壮素、丁酰肼、乙烯利、多效唑和马来酰肼等调节剂进行了限量规定, 仅 2000 年至 2002 年期间, 欧盟就针对婴儿食品、鲜果及蔬菜中的矮壮素残留问题发布了 17 次快速预警通告; 日本肯定列表中也对 2,4-D、 α -萘乙酸、对氯苯氧乙酸、矮壮素、丁酰肼、乙烯利、赤霉素、马来酰肼、缩节胺、氯吡脲和多效唑等多种调节剂进行了限量规定。然而我国国家标准中仅对 6 种调节剂(矮壮素、2,4-D、乙烯利、多效唑、氯吡脲和氯苯胺灵)的限量进行了规

收稿日期: 2011-07-11

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目(2009BADB7B04); 国家现代农业(柑橘)产业技术体系建设专项(CARS-27)

作者简介: 陈卫军(1986—), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品安全与质量控制。E-mail: cwj19860417@163.com

* 通信作者: 焦必宁(1964—), 男, 研究员, 学士, 研究方向为果蔬贮藏加工技术与质量安全。E-mail: bljiao@tom.com

定, 针对果蔬的只有乙烯利、多效唑、2,4-D、氯吡脲和氯苯胺灵 5 种。因此, 为适应加入 WTO 后日趋激烈的竞争, 打破发达国家和地区针对我国果蔬中调节剂限量标准的贸易技术壁垒, 除正确使用各种调节剂外, 加强对果蔬中各种调节剂检测方法的研究, 并尽快制定出我国果蔬中相关调节剂的限量标准也是必不可少的。本文对果蔬中常用调节剂的分析检测方法作了综述。

1 果蔬中常用的调节剂

调节剂按其功能可分为 5 类: 生长素类、赤霉素类、细胞分裂素类、催熟剂类和生长抑制剂类。目前, 在果蔬生产中使用较多的有 2,4-D、赤霉素、氯吡脲、乙烯利、矮壮素、多效唑等(表 1), 它们大多属低毒类农药, 也有少数微毒或无毒, 然而某些调节剂或其水解产物具有的潜在致癌、致畸和致突变作用(如丁酰肼的水解产物不对称二甲基肼具有致畸作用)也应得到足够的重视。

2 果蔬中常用调节剂的分析方法

2.1 气相色谱(GC)分析法

目前 GC 技术主要应用于乙烯利的检测, 也可用于丁酰肼等调节剂的分析, 但往往需要进行衍生化反应, 前处理过程较繁琐。

由于乙烯利在碱性、高温条件下会分解为乙烯, 因此通常采用顶空气相色谱法(HS-GC)分析果蔬中乙烯利的残留。Tseng 等^[1]采用 HS-GC 测定了苹果、番茄、葡萄、猕猴桃及甘蔗中乙烯利的残留, 该方法操作非常简便, 回收率为 88.3%~98.6%, 检测限(LOD)为 0.1mg/kg。国内储晓刚等^[2]也用相同的方法测定了浓缩菠萝汁中乙烯利的残留。而李丽华等^[3]则利用顶空固相微萃取-气相色谱联用技术(HS-SPME-GC), 以 Carboxen-聚二甲基硅氧烷(CAR/PDMS)萃取头分析了芒果原浆中乙烯利的残留, 并对反应碱液浓度、反应温度和时间、萃取吸附和解吸时间进行了探讨。HS-GC 前处理简单、快速, 且回收率好、灵敏度较高, 特别适合于果蔬产品的质量控制、出口果蔬及其产品中乙烯利残留的检验。

GC 用于丁酰肼残留分析的报道也较多, 但由于丁酰肼极性很高且受热易分解, 因此不能直接采用 GC 法检测, 必须先对其进行衍生化处理。Suzuki 等^[4]利用丁酰肼在碱性条件下转化为 1,1-二甲基肼, 衍生化后用氨基柱净化, 最后以电子捕获检测器(GC-ECD)测定其产物的间接方法测定了水果和果汁中丁酰肼的残留, 方法的回收率为 89.9%, 丁酰肼和 1,1-二甲基肼的 LOD 分别为 9 μ g/kg 和 3 μ g/kg。而 Brinkman 等^[5]以衍生化 GC-NPD(氮磷检测器)分析了苹果中丁酰肼的残留, 方法的准确度和精密度也令人满意。此外, 也有用 GC 分析烯唑醇、氟醚唑和 2,4-D 的报道, 但同样需要先进行衍生化处理^[6-7]。

表 1 果蔬中常用的植物生长调节剂
Table 1 Plant growth regulators commonly used in fruits and vegetables

种类	中文名称	英文名称	作用方式	毒性 LD ₅₀ /(mg/kg)	作用
生长素类	吲哚乙酸	indole-3-acetic acid(IAA)	小鼠急性经皮	1000	促进细胞分裂、加速根的形成、增加坐果、防止落果
	α -萘乙酸	1-naphthaleneacetic acid(NAA)	大鼠急性经口	1000~5900	促进根系的尖端发育、诱导开花、防止落花落果、形成无核果实、促进早熟、增产
	β -萘氧乙酸	β -naphthoxyacetic acid(BNOA)	大鼠急性经口	1000	促进坐果、刺激果实膨大、克服空心果
	2,4-二氯苯氧乙酸	2,4-dichlorophenoxyacetic acid(2,4-D)	小鼠急性经口	370	促进坐果、减少落花落果、产生无籽果实、减少脱萼等
	2,4,5-三氯苯氧基乙酸	2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid(2,4,5-T)	大鼠急性经口	375~666	刺激农作物生长、防止花蕾及果实早期脱落
			小鼠急性经口	500	
赤霉素类	赤霉素 GA3	gibberellin A3	大鼠急性经口	400	促进茎叶生长、破除休眠、促进坐果等
细胞分裂素类	氯吡脲	forchlorfenuron(CPPU)	大鼠急性经口	6300	促进花芽分化、保花保果、提高坐果率、促进果实膨大
催熟剂类	乙烯利	ethephon	兔急性经皮	4918	
生长抑				> 2000	
	矮壮素	chlormequat chloride	大鼠急性经口	4229	促进果实成熟和瓜类蔬菜雌花的形成
	缩节胺	mepiquat chloride	大鼠急性经口	883	控制营养生长、促进生殖生长、提高坐果率、抗旱性、抗寒性和抗盐碱的能力
制剂类				1605	促进植物发育、提前开花、防止脱落、增加产量、抑制主茎和果枝伸长
	丁酰肼	daminozide	大鼠急性经口	8400	抑制新枝徒长、缩短节间、防止落花、促进坐果、诱导不定根形成、提高抗寒力
	马来酰肼	maleic hydrazide	大鼠急性经口	5000	能强烈的抑制芽的生长
	烯唑唑	uniconazole	大鼠急性经口	1790~2020	控制营养生长、抑制细胞伸长、缩短节间、矮化植株、促进侧芽生长和花芽形成
	多效唑	paclobutrazol	大鼠急性经口	2000	抑制内源赤霉素合成、控制生长、缩短节间、控梢促果、提高产量

由于大多调节剂相对分子质量较大、极性较强、不易气化或受热易分解,因此GC技术在调节剂的残留分析中应用不多,虽然衍生化处理后可以采用GC分析某些调节剂,但衍生化过程往往耗时费力,不符合实际检测中简单、快速的要求,更不适于大批量样品的分析。而乙烯利等少数调节剂虽然由于其特殊性质采用GC分析操作也较简便,但灵敏度还有待进一步提高。

2.2 高效液相色谱(HPLC)分析法

与GC相比,HPLC可用于检测果蔬中大多数调节剂的残留,一般无需衍生化反应,前处理较简单,但在分析基质比较复杂的样品时,其选择性和灵敏度不及GC。

Newsome等^[8]采用高压离子交换液相色谱法分析了马来酰肼及其 β -D-葡萄糖苷。样品采用甲醇提取,在马铃薯、大头菜、甜菜及胡萝卜中的平均加标回收率为87%。而Kobayashi等^[9]改用水提取,建立了测定农产品中马来酰肼残留的HPLC法,方法的回收率为92.6%~104.9%,LOD为0.5 μ g/g。虽然HPLC分析马来酰肼同美国官方分析化学师协会(AOAC)采用的蒸馏-分光光度法相比更加快速、灵敏、准确,但样品中干扰杂质的分离较为困难。因此,潘广文等^[10]建立了马铃薯、洋葱、大蒜中马来酰肼的高效离子排斥色谱(HPIEC)法,该方法不仅样品处理步骤简单,分析周期短,且不受杂质干扰。

固相萃取(SPE)是HPLC分析中最常用的前处理技术:Hu Jiye等^[11]采用酸化乙腈提取,氨基柱净化,丙酮洗脱后以HPLC-UV(紫外检测器)分析了西瓜中氯吡啶的残留;而Kobayashi等^[12]改用丙酮提取,Chem Elut柱和Oasis HLB和Bond Elut PSA迷你柱双柱净化后,也用HPLC分析了农产品中氯吡啶的残留;Zhang Hua等^[13]又以乙酸乙酯提取,ENVI-18柱净化后采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)分析了果蔬中氯吡啶的残留。虽然SPE技术对微量或痕量目标化合物的提取、分离能力较强,但其操作比较繁琐、耗时,且成本较高,不适于大批量样品的快速筛查。因此,胡江涛等^[14]以分散固相萃取-高效液相色谱法(DSPE-HPLC)快速分析了猕猴桃中氯吡啶的残留。样品采用N-丙基乙二胺(PSA)净化,与SPE相比不仅大大降低了检测成本,且有机溶剂用量少、操作简便快速,适合大批量样品的快速处理。

国内外研究者们对HPLC技术在调节剂多残留分析中也做了许多探索:如Shin等^[15]采用液-液萃取,柱净化,HPLC-UV同时分析了2,4-D、麦草畏和4-氯苯氧乙酸(4-CPA),并用串联质谱对所测得的结果进行确认;Chen Hao等^[16]以6-O-乙基哌嗪荧光素作为衍生化试剂,采用衍生化液相色谱法同时测定了蔬菜中吲哚丁酸、 α -萘乙酸和2,4-D三种内源性植物激素;周艳明等^[17]也建立了测定果蔬中7种植物激素(玉米素、吲哚乙酸、脱落酸、吲哚丁酸、 α -萘乙酸、调吡啶、烯效唑)的HPLC法。虽然这些探索工作已经取得了一定的成效,但在

许多方面还需要更深入的研究:如调节剂的选择、不同前处理方法适于哪些调节剂、以及在保证尽量除去干扰成分的前提下怎样简化前处理过程、降低检测成本等。

离子色谱(IC)作为液相色谱的一个分支,它能够快速、准确地对大量无机离子进行分离和分析。Peeters等^[18]直接用IC-电导检测器分析了梨中矮壮素的残留;国内颜金良等^[19-20]分别建立了测定瓜果中乙烯利和蔬菜中吲哚乙酸残留的SPE-梯度淋洗离子色谱法。虽然IC的灵敏度不如GC及液质联用(LC-MS)方法,但也能满足某些农药残留检测的要求,且操作简便、快捷、经济。

HPLC虽然能够分析大多数调节剂,但对前处理的要求较高,需将基质中的干扰成分尽可能的除去,否则不仅会影响定性、定量,还可能出现假阳性和假阴性结果。此外,其检测器的灵敏度也不高,而调节剂在果蔬中的残留量一般较低,因此HPLC在果蔬中调节剂残留分析中的实际应用正逐步减少。

2.3 色谱-质谱联用技术

色谱-质谱联用技术既能发挥色谱法的高分离能力,又能发挥质谱法的高鉴别能力。质谱技术的引入,不仅可以保留时间进行定性,更重要的是可以通过农药裂解的离子碎片所提供的分子结构信息对定性予以确认,减少了假阳性和假阴性发生的几率。色谱-质谱联用技术正逐步发展为调节剂残留分析中的主流技术,目前主要集中在气-质联用(GC-MS)和LC-MS。

Takenaka^[21]建立了检测果蔬中乙烯利残留的SPE-GC-MS技术,并分析了日本西部果蔬中乙烯利的残留状况,方法的LOD为4pg($R_{SN}=3$),定量限(LOQ)为11pg($R_{SN}=8$),平均回收率为78.6%~109%,相对标准偏差(RSD)为2.65%~6.41%。而Marín等^[22]以四丁基醋酸铵(TBA)做为离子对试剂,建立了无需衍生化,直接测定苹果、甜樱桃和番茄中乙烯利残留的离子对液相色谱串联质谱法,方法的回收率为83%~96%,RSD<9%。由于离子对试剂的加入使分析物具有令人满意的保留时间,因此可以最大限度的降低离子化抑制作用,从而使LOD低达0.02mg/kg。同GC法相比,虽然质谱联用技术分析乙烯利前处理稍复杂一些,但LOD更低。色谱-质谱联用技术在丁酰肼的残留分析中也得到了很好的应用。Liu^[23]、Hans^[24]等分别采用GC-MS和离子阱液相色谱串联质谱(ion-trap liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS-MS)分析了苹果中丁酰肼的残留。前者的LOD为0.05mg/kg,平均回收率为92%~104%,但前处理过程中的酯化反应需过夜,耗时较长。而后者不仅不需衍生化,且由于串联质谱的应用使LOD低达0.008mg/kg。余苹中等^[25]也建立了4种水果中丁酰肼残留的液相色谱-电喷雾串联质谱(LC-ESI-MS/MS)法,前处理同样无需衍生化、操作简单,精密度、准确度和灵敏度均能很好地满足农药残留检测分析的要求。由此可见液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)技术在丁酰肼的残留分析中更具优势。

LC-MS是目前矮壮素残留分析的主要手段,且灵敏度高。Evans等^[26]以LC-MS分析了梨中矮壮素的残留,通过对ODS1柱和SCX阳离子交换柱对检出限影响的比较发现:使用ODS1柱时的色谱峰峰形良好,其LOD可达 $0.04\mu\text{g/kg}$,而使用后者时的LOD仅为 $1.0\mu\text{g/kg}$ 。而Hans等^[27]发现水和甲醇作为提取剂时的提取效率和重现性都无明显差别所以选择前者作为提取剂,无需净化,直接进行LC-MS或LC-MS/MS分析,两种仪器对矮壮素的定性和定量具有等价效果,LOD分别为 0.017mg/kg 和 0.007mg/kg ,该方法前处理简单、经济、快速,回收率和RSD均满足农残检测的要求。后来,Castro等^[28]以甲醇-甲酸铵为提取剂采用超声提取, C_{18} 柱净化,七氟丁酸作为离子对试剂建立了测定水果中矮壮素的离子对LC-MS/MS法,该方法的LOD和LOQ分别为 0.03mg/kg 和 0.08mg/kg 。此外,Careri等^[29]还采用离子交换液相色谱串联质谱法分析了番茄制品中矮壮素的残留。而国内周艳明等^[30-31]也在参考国外文献的基础上建立了分析果蔬中矮壮素残留的LC-ESI-MS技术。

缩节胺和矮壮素同属季铵类农药,因而常被一起分析。Riediker等^[32]采用在线SPE-HPLC-ESI-MS-MS分析了梨、番茄和面粉中缩节胺和矮壮素的残留,并比较了几种常见的商业化阳离子交换树脂(BondElut SCX、Isolute SCX、DVB SCX、LiChrolut SCX)的净化效率,实验证明LiChrolut SCX的净化效果最好,样品经提取后整个净化、分离测定过程仅需15min,且LOQ等于或低于 $5\mu\text{g/kg}$,变异系数(CV) $>7\%$ 。而Esparza等^[33]以1:4(V/V)的甲醇和甲酸铵缓冲溶液作为提取剂超声提取,SPE C_{18} 柱净化后以亲水作用色谱串联质谱测定了新鲜水果、蔬菜、果汁等食品中缩节胺和矮壮素的残留。该方法不需使用离子对试剂,矮壮素和缩节胺的LOD分别为 $0.1\mu\text{g/kg}$ 和 $0.03\mu\text{g/kg}$,LOQ分别为 $0.25\mu\text{g/kg}$ 和 $0.1\mu\text{g/kg}$,RSD分别小于8.0%和5.2%,其选择性和灵敏度足以满足农残检测的要求。而王金花等^[34]采用超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)分析了番茄及其制品中矮壮素和缩节胺的残留量,由于UPLC的使用,仅需约2min的检测时间,完全满足番茄及其制品中矮壮素和缩节胺残留的快速、高灵敏度分析要求。

质谱联用技术分析多效唑残留的报道也较多,白桦等^[35]采用GC-MS分析了苹果中多效唑的残留,但GC-MS的灵敏度不够高。而Sancho等^[36]以LC-ESI-MS/MS分析多效唑在梨中的残留,前处理无需任何净化、浓缩过程,且LOD达 $0.7\mu\text{g/kg}$ 。此外,Ferracini等^[37]用LC-MS/MS分析了芒果中多效唑的残留也取得了较好的效果。

QuEChERS是一种快速、简单、廉价、有效、可靠、安全的前处理技术,经不断改进与完善后已在国际上得到广泛应用,2006年欧盟委员会还专门制定了相应的SANCO操作指南,现常与质谱联用技术结合广泛用于果蔬农残分析。Valverde等^[38]采用QuEChERS结合

LC-MS/MS测定了西瓜中氯吡啶的残留,并评价了在花期使用过氯吡啶的温室西瓜中氯吡啶的残留量。该方法前处理简单、快速,LOD达 $1\mu\text{g/kg}$,平均回收率为82%~106%,RSD $<18\%$ 。而Valverd等^[39]以QuEChERS-LC/TOF-MS分析了番茄、西葫芦和西瓜中氯吡啶的残留,该方法不仅前处理简单、快速,且没有观察到基质效应。

目前农药残留的检测已由单一农药品种检测发展为多农药残留组分同时检测,而质谱联用技术在这方面的应用最多。Anastassiades等^[40]采用超临界流体萃取(SFE)、柱前衍生GC-MS测定了果蔬中2,4-D等4种农药。前处理过程无需净化,经2,2,2-三氯乙醇或溴甲基五氟苯衍生化后直接进行分析,与传统的溶剂提取相比更加经济、快速,且回收率、检测限和重现性都符合残留检测的要求。Blasco等^[41]首次采用液相色谱-大气压化学电离-离子阱-三重四极杆串联质谱分析了柑橘中抑霉唑等6种农药。样品经乙酸乙酯提取,在单级、串联和三级质谱模式下的最低检出限为 $0.0005\sim 0.3\text{mg/kg}$,回收率72%~94%,RSD $<19\%$ 。他们还发现虽然三级质谱的灵敏度低于单级和串联质谱,但选择性较好。而国内吴凤琪^[42]、王静静^[43]等也分别建立了水果中8种外源性调节剂(乙烯利、丁酰肼、抑芽丹、赤霉素、玉米素、氯吡啶、矮壮素、 α -萘乙酸)的SPE-LC-MS/MS技术和果蔬中6种植物生长抑制剂(氯化胆碱、矮壮素、缩节胺、噻啉醇、多效唑、烯效唑)的SPE-HPLC-ESI-MS/MS技术。

质谱联用技术可以简化前处理程序、缩短检测时间、减少误判、提高准确度,是国际公认具有法律效力的标准方法。而常用的色谱法依靠保留时间定性,假阳性和假阴性是不可避免的,为了提高检测结果的可靠性,质谱联用技术(特别是串联质谱技术)的推广是必然的,但因其价格昂贵,目前普及还较困难。

2.4 酶联免疫吸附测定(ELISA)技术

ELISA技术是在免疫技术上发展起来的一种新型免疫测定技术,具有特异性强、灵敏度高、快速简便、可准确定性、定量,容易推广普及等优点,若开发成试剂盒,可广泛用于现场样品的测试。Harrison等^[44]建立了基于单克隆抗体测定农产品中马来酰肼残留的酶联免疫法,LOD为 $0.11\sim 1.3\text{mg/kg}$,在两周内单克隆抗体可重复使用,适合烟草、马铃薯和洋葱中马来酰肼残留的常规分析。Pantaleón等^[45]也以ELISA分析了猕猴桃中氯吡啶的残留,并评价了不同颜色猕猴桃的基质效应。后来,Jiang Xiaoxue等^[46]又采用ELISA测定了农产品中烯效唑的残留,且在对烯效唑的三唑类杀菌剂类似物进行分析时,除烯效唑外没有发现明显的交叉反应。而Williams等^[47]先用ELISA试剂盒对橘桔样品进行筛选,然后用GC-MS对筛选出样品中2,4-D的含量进行验证也取得了较好的效果。作为一种快速筛选方法,ELISA技术在食品安全检测领域中的应用潜力很大,但还存在很多缺陷:如不能同时分析多种类型残留组分;

对结构类似的化合物有一定程度的交叉反应等,因此还有待进一步改进、完善。

2.5 毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)技术

CE技术是经典电泳技术和现代微柱技术相结合的产物,不仅分离效率高,时间短,昂贵和有毒的有机试剂用量少,而且可以对样品进行在线富集,因此越来越受到农残检测研究者们的重视。Kubilius等^[48]利用固

相萃取结合毛细管胶束电动色谱技术分析了土豆和洋葱中的马来酰肼,方法的回收率分别为74%~89%和80%~90%,LOD为2mg/kg。国内张玉芬等^[49]也用毛细管胶束电泳法测定了番茄中的环境激素2,4-D。虽然CE技术在农残检测中有较强的应用潜力,但还存在着重现性差等缺点,因此实际应用也不多。

2.6 其他技术

表2 果蔬中常用植物生长调节剂的分析方法

Table 2 Analytical methods for plant growth regulators in fruits and vegetables

名称	样品基质	前处理方法	分析方法	检测限(LOD)	参考文献
乙烯利	苹果、番茄、葡萄、猕猴桃	顶空进样	GC-FID	0.1mg/kg	[1]
	浓缩菠萝汁	顶空进样	GC-FID	0.025mg/kg	[2]
	芒果原浆	顶空 SPME	GC-FID		[3]
	果蔬	SPE	GC-MS	4pg	[21]
丁酰肼	苹果、甜樱桃、番茄	液液萃取	LC-MS/MS	0.02mg/kg	[22]
	瓜果	SPE	IC	0.050μg/kg	[19]
	水果、果汁	SPE	GC-ECD	9μg/kg	[4]
	苹果	SPE	GC-MS	0.05mg/kg	[23]
2,4-D	苹果	SPE	LC-MS/MS	0.008mg/kg	[24]
	水果	液-液萃取	LC-MS/MS	2.5μg/kg	[25]
	柑橘	SPE	GC-ECD	0.0004mg/kg	[7]
	农产品	SPE	HPLC	0.006mg/kg	[15]
4-CPA	蔬菜	液-液萃取	衍生化 HPLC-FLD	4.43nmol/L	[16]
	柑橘	SFE	柱前衍生 GC-MS	0.006mg/kg	[40]
	番茄	液液萃取	CE	0.9375mg/L	[49]
	农产品	SPE	HPLC	0.006mg/kg	[15]
烯啶醇	番茄、四季豆	SPE	GC-ECD	0.001mg/kg	[6]
α-萘乙酸	蔬菜	液-液萃取	衍生化 HPLC-FLD	7.24nmol/L	[16]
	蔬菜	液-液萃取	衍生化 HPLC-FLD	14.8nmol/L	[16]
吲哚乙酸	蔬菜	SPE	IC	0.10μg/kg	[20]
马来酰肼	马铃薯、大头菜、甜菜、胡萝卜	SPE	HPLC-UV		[8]
	农产品	SPE	HPLC-UV	0.5mg/kg	[9]
	土豆、洋葱	SPE	CE	2mg/kg	[48]
	马铃薯、洋葱、大蒜	SPE	HPIEC	0.002mg/L	[10]
氯吡脲	西瓜	SPE	HPLC-UV	0.005mg/kg	[11]
	农产品	SPE	HPLC-UV	0.005mg/kg	[12]
	果蔬	SPE	RP-HPLC-UV	0.02mg/kg	[13]
	猕猴桃	MSPD	HPLC-UV	0.005mg/kg	[15]
多效唑	西瓜	QuEChERS	LC-MS/MS	1μg/kg	[38]
	番茄、西葫芦、西瓜	QuEChERS	LC/TOF-MS	10μg/kg	[39]
	苹果	SPE	GC-MS	0.02mg/kg	[35]
	梨	液-液萃取	LC-ESI-MS/MS	0.7μg/kg	[36]
矮壮素	梨	SPE	LC-MS	0.04μg/kg	[26]
	梨	液-液萃取	LC-MS/LC-MS/MS	0.017/0.007mg/kg	[27]
	水果	SPE	LC-MS/MS	0.03mg/kg	[28]
	果蔬	SPE	LC-ESI-MS	0.02mg/kg	[30-31]
缩节胺	梨	液-液萃取	IC	0.5mg/kg	[18]
	梨、番茄、面粉	在线 SPE	LC-MS/MS	< 5μg/kg	[32]
	果蔬、果汁	SPE	亲水作用 LC-MS/MS	0.03μg/kg	[33]
	番茄	液-液萃取	UPLC-MS/MS	0.8μg/kg	[34]
缩节胺	梨、番茄、面粉	在线 SPE	LC-MS/MS	< 5μg/kg	[32]
	果蔬、果汁	SPE	亲水作用 LC-MS/MS	0.1μg/kg	[33]
	番茄	液-液萃取	UPLC-MS/MS	0.8μg/kg	[34]

其他技术,如分子印记技术^[50]和薄层色谱^[51]等分析手段也开始应用到调节剂的检测中,但还有待于进一步完善。表2对果蔬中常用的植物生长调节剂分析的方法进行了总结。

3 结 语

我国是世界上使用调节剂数量最多的国家之一,为避免其残留可能对人体产生的健康隐患,打破发达国家和地区针对我国出口果蔬中调节剂残留的贸易技术壁垒,除加大对其使用的指导外,分析检测技术的提高也是一项重要而艰巨的任务。由于调节剂品种多、化学结构和性质各异、待测组分复杂,残留水平一般较低,需要更有效的前处理技术和更为灵敏的检测技术。

繁琐冗长的样品前处理过程一直困扰着农残检测,人们也一直致力于研究开发快速、简便和经济的前处理技术。目前果蔬中调节剂残留分析前处理技术以SPE为主,基本取代了传统的液-液萃取。SPE技术虽然有许多优点,但操作较复杂、耗时,无法满足大批量样品快速处理的要求,且检测成本较高。因此,MSPD等简单、快速的前处理技术将会逐步应用于果蔬中调节剂残留分析中。其中最具发展潜力的当属QuEChERS法,使用该方法可在30min内完成发10个样品的处理,且有机溶剂用量少、操作简便,检测成本仅1美元左右。此外,在线SPE技术、SFE等新型前处理技术也将随着自身不断的发展和完善开始应用于实际检测中。但任何一种前处理技术都不是通用的,都有其优缺点和适用范围,在实际应用中应根据调节剂和基质种类、测定结果要求及检测仪器的不同,结合实际条件选用合适的前处理技术。

在分析仪器方面,因对样品前处理的要求相对较低且灵敏度高,质谱联用技术也将逐步取代传统的GC及HPLC分析技术。其中LC-MS/MS不仅具有几乎通用的多残留组分分析能力,且对复杂基质有更好的灵敏度,无需衍生化便可分析几乎所有调节剂。因此,QuEChERS结合LC-MS/MS将是未来调节剂残留分析的主要手段。而酶联免疫试剂盒法、生物传感器法等速测技术也将以其自身的优势和在方法上的不断完善,成为调节剂分析的一个重要分支。

此外,在保证定性、定量准确的前提下将调节剂同杀虫剂、杀菌剂及除草剂等农残一起分析也是多残留检测的需要,而对于调节剂的代谢产物的分析检测及其潜在的风险研究也应给予足够的重视。可以预见,随着科技的进步和现代检测手段的不断发展,果蔬中调节剂的分析方法必将进一步成熟,其在农药残留分析中的应用必将越来越广泛,也将逐渐用于日常的农药残留监测。

参 考 文 献:

- [1] TSENG S H, CHANG P C, CHOU S S. A rapid and simple method for the determination of ethephon residue in agricultural products by GC with headspace sampling[J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2000, 8(3): 213-217.
- [2] 储晓刚, 雍炜, 蔡慧霞, 等. 顶空气相色谱法快速测定浓缩菠萝汁中乙烯利的残留量[J]. 色谱, 2001, 19(3): 286-288.
- [3] 李丽华, 郑玲. 固相微萃取-气相色谱联用技术测定芒果原浆中乙烯利的残留量[J]. 分析实验室, 2007(增刊 1): 287-289.
- [4] SUZUKI T, NEMOTO S, SAITO Y. Determination of plant growth regulator, daminozide and 1,1-dimethylhydrazine in fruits and fruit juice by gas chromatography[J]. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 1990, 31(2): 177-181.
- [5] BRINKMAN J H W, van DIJK A G, WAGENAAR R, et al. Determination of daminozide in apples using gas chromatography with nitrogen phosphorus detection[J]. Journal of Chromatography A, 1996, 723(2): 355-360.
- [6] AMER M M, SHEHATA M A, LOTFY H M, et al. Determination of tetraconazole and diniconazole fungicide residues in tomatoes and green beans by capillary gas chromatography[J]. Yakugaku Zasshi, 2007, 127(6): 993-999.
- [7] 杨挺, 芦晓红, 皇甫伟国. 柱前衍生-气相色谱法测定柑橘中2,4-D残留量[J]. 中国农学通报, 2006, 22(10): 330-333.
- [8] NEWSOME W H. A Method for the determination of maleic hydrazide and Its β -D-glucoside in foods by high-pressure anion-exchange liquid chromatography[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1980, 28(2): 270-272.
- [9] KOBAYASHI M, NAGAYAMA T, TAKANO I, et al. Simple analysis of maleic hydrazide in agricultural products by HPLC[J]. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 2002, 43(6): 356-361.
- [10] 潘广文, 赵增运, 胡忠阳, 等. 高效离子排斥色谱法测定蔬菜中的马来酰肼[J]. 色谱, 2010, 28(7): 712-715.
- [11] HU Jiye, LI Jianzhong. Determination of forchlorfenuron residues in watermelon by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography [J]. Journal of AOAC International, 2006, 89(6): 1635-1640.
- [12] KOBAYASHI M, TAKANO I, TAMURA Y, et al. Clean-up method of forchlorfenuron in agricultural products for HPLC analysis[J]. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 2007, 48(5): 148-152.
- [13] ZHANG Hua, YANG Xin, DONG Aijun, et al. Residue analysis of forchlorfenuron in fruit and vegetable by RP-HPLC[C]//4th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering. Chengdu: IEEE Conference Publishing, 2010: 1-4.
- [14] 胡江涛, 盛毅, 方智, 等. 分散固相萃取-高效液相色谱法快速检测猕猴桃中的氯吡啶[J]. 色谱, 2007, 25(3): 441-442.
- [15] SHIN E H, CHOI J H, ABD EI-ATY A M, et al. Simultaneous determination of three acidic herbicide residues in food crops using HPLC and confirmation via LC-MS/MS[J]. Biomedical Chromatography, 2011, 25(1/2): 124-135.
- [16] CHEN Hao, ZHANG Zixing, ZHANG Gumin, et al. Liquid chromatographic determination of endogenous phytohormones in vegetable samples based on chemical derivatization with 6-oxy(acetylpiperazine) fluorescein [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(8): 4560-4564.
- [17] 周艳明, 忻雪. 高效液相色谱法测定果蔬中7种植物激素的残留量[J]. 食品科学, 2010, 31(18): 301-304.

- [18] PEETERS M C, DEFLOOR I, COOSEMANS J, et al. Simple ion chromatographic method for the determination of chlormequat residues in pears[J]. *Journal of Chromatography A*, 2001, 920(1/2): 255-259.
- [19] 颜金良, 王立. 离子色谱法快速测定瓜果中乙烯利含量研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2008, 18(8): 1544-1545.
- [20] 颜金良, 王立. 离子色谱法快速测定蔬菜中吡啶乙酸[J]. *中国卫生检验杂志*, 2009, 19(8): 1796-1797.
- [21] TAKENAKA S. New method for ethephon ((2-chloroethyl) phosphonic acid) residue analysis, and detection of residual levels in the fruit and vegetables of Western Japan[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(26): 7515-7519.
- [22] MARÍN J M, POZOÓJ, BELTRÁN J, et al. An ion-pairing liquid chromatography/tandem mass spectrometric method for the determination of ethephon residues in vegetables[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2006, 20(3): 419-426.
- [23] LIU C H, MATTERN G C, SINGER G M, et al. Determination of daminozide in apples by gas chromatography/chemical ionization-mass spectrometry[J]. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 1989, 72(6): 984-986.
- [24] HANS G J M, RUUD C J V D, ROB J V, et al. Determination of daminozide in apples and apple leaves by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 1999, 833(2): 53-60.
- [25] 余苹中, 宋稳成, 李雪生, 等. 液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱测定水果中的丁酰肼[J]. *农药*, 2010(3): 191-193.
- [26] EVANS C S, STARTIN J R, GOODALL D M, et al. Improved sensitivity in detection of chlormequat by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2000, 897(1/2): 399-404.
- [27] HANS G J M, RUUD C J V D, ROB J V, et al. Determination of chlormequat in pears by liquid chromatography/mass spectrometry[J]. *Journal of AOAC International*, 2000, 83(3): 742-747.
- [28] CASTRO R, MOYANO E, GALCERAN M T. Determination of chlormequat in fruit samples by liquid chromatography-electrospray-mass spectrometry/mass spectrometry[J]. *Journal of AOAC International*, 2001, 84(6): 1903-1908.
- [29] CARERI M, ELVIRI L, MANGIA A, et al. Rapid method for determination of chlormequat residues in tomato products by ion-exchange liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2002, 16(19): 1821-1826.
- [30] 周艳明, 韩瑜, 田宏哲, 等. 高效液相色谱-质谱法对水果中矮壮素的检测[J]. *分析测试学报*, 2009, 28(10): 1206-1908.
- [31] 周艳明, 韩瑜, 田宏哲, 等. 高效液相色谱-质谱法测定蔬菜中矮壮素残留[J]. *食品科学*, 2010, 31(14): 197-200.
- [32] RIEDIKER S, OBRIST H, VARGAN, et al. Determination of chlormequat and mepiquat in pear, tomato, and wheat flour using on-line solid-phase extraction (Prospekt) coupled with liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, 966(1): 15-23.
- [33] ESPARZA X, MOYANO E, GALCERAN M T. Analysis of chlormequat and mepiquat by hydrophilic interaction chromatography coupled to tandem mass spectrometry in food samples[J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216(20): 4402-4406.
- [34] 王金花, 卢晓宇, 黄梅, 等. 超高效液相色谱-质谱法快速分析番茄及其制品中矮壮素和缩节胺残留量[J]. *分析化学*, 2007, 35(10): 1509-1512.
- [35] 白桦, 邱月明, 张青. 气相色谱-质谱法测定苹果中多效唑残留量[J]. *分析测试学报*, 2005, 24(4): 64-66.
- [36] SANCHEZ J V, POZO J Ó, ZAMORA T, et al. Direct determination of paclobutrazol residues in pear samples by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(15): 4202-4206.
- [37] FERRACINI V L, QUEIROZ S C N, ROSA M A, et al. Determination of paclobutrazol in mango by LC/MS/MS system[J]. *Toxicology Letters*, 2008, 80(Suppl 1): 166.
- [38] VALVERDE A, PIEDRA L, AGUILERA A, et al. Analysis and residue levels of forchlorfenuron (CPPU) in watermelons[J]. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 2007, 42(7): 801-807.
- [39] VALVERDE A, AGUILERA A, FERRER C, et al. Analysis of forchlorfenuron in vegetables by LC/TOF-MS after extraction with the buffered quechers method[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(5): 2818-2823.
- [40] ANASTASSIADES M, SCHWACK W. Analysis of carbendazim, benomyl, thiophanate methyl and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in fruits and vegetables after supercritical fluid extraction[J]. *Journal of Chromatography A*, 1998, 825(1): 45-54.
- [41] BLASCO C, FONT G, PICÓ Y. Multiple-stage mass spectrometric analysis of six pesticides in oranges by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-ion trap mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1043(2): 231-238.
- [42] 吴凤琪, 靳保辉, 陈波, 等. 水果中8种外源性植物生长调节剂的液相色谱-串联质谱测定[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(15): 115-119.
- [43] 王静静, 鹿毅, 杨涛, 等. HPLC-MS/MS法同时测定果蔬中6种植物生长抑制剂残留[J]. *分析测试学报*, 2011, 30(2): 128-134.
- [44] HARRISON R O, BRIMFIELD A A, NELSON J O. Development of a monoclonal antibody-based enzyme immunoassay method for analysis of maleic hydrazide[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1989, 37(4): 958-964.
- [45] PANTALEÓN C S, MERCADER J V, AGULLÓC. et al. Hapten synthesis and polyclonal antibody-based immunoassay development for the analysis of forchlorfenuron in kiwifruit[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(15): 8502-8511.
- [46] JIANG Xiaoxue, SHI Haiyan, WU Ni, et al. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for diniconazole in agricultural samples[J]. *Food Chemistry*, 2011, 125(4): 1385-1389.
- [47] WILLIAMS K J, JAMES C R, THORPE S A. et al. Two analytical methods for the measurement of 2,4-D in oranges: an ELISA screening procedure and a GC-MS confirmatory procedure[J]. *Journal of Pesticide Science*, 1997, 50(2): 135-140.
- [48] KUBILIUS D T, BUSHWAY R J. Determination of maleic hydrazide in potatoes and onions by capillary electrophoresis[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998, 46(10): 4224-4227.
- [49] 张玉芬, 席海山, 谢凤山, 等. 毛细管胶束电泳测定番茄中环境激素2,4-滴的含量[J]. *农药*, 2007, 46(9): 607-609.
- [50] YAN Shoulei, FANG Yanjun, GAO Zhixian. Determination of daminozide in apple sample by mip-coated piezoelectric quartz sensor[J]. *Analytical Letters*, 2007, 40(6): 1013-1021.
- [51] LAUTÍE J P, STANKOVIC V, SINOQUET G. Determination of chlormequat in pears by high-performance thin layer chromatography and high-performance liquid chromatography with conductimetric detection[J]. *Analysis*, 2000, 28(2): 155-158.