

苯氧羧酸类除草剂残留检测技术的研究进展

魏茂琼^{1,2}, 林 昕^{1,2}, 杨 娟^{1,2}, 兰珊珊^{1,2}, 沙凌杰^{1,2}, 林 涛^{1,2}, 刘宏程^{1,2*}

(1. 云南省农业科学院质量标准与检测技术研究所, 昆明 650222;

2. 农业部农产品质量安全风险评估实验室(昆明), 昆明 650223)

摘 要: 以 2,4-D 为代表的苯氧羧酸类除草剂, 低浓度为保花保果生长调节剂, 调节细胞生长及愈伤的分化、提高保鲜时间, 高浓度为除草剂, 该类除草剂难降解, 易污染地下水, 广泛、大量的应用会使植物产生畸形, 影响人体中枢神经系统, 具有潜在的致癌性和致突变性。因此, 快速、灵敏、准确地检测出苯氧羧酸类残留是保证农产品、环境安全的重要手段, 本文概述了苯氧羧酸类除草剂的前处理方法及不同检测方法在检测农产品、环境水样等样品中苯氧羧酸类除草剂残留的研究进展。综合对比了色谱法、联合技术、免疫法、纳米材料及传感器等检测方法在苯氧羧酸类检测中应用的优缺点, 提出了未来检测小分子物质的发展趋势。

关键词: 苯氧羧酸类; 前处理; 残留检测

Research progress on detection technology of phenoxy carboxylic acid herbicides residues

WEI Mao-Qiong^{1,2}, LIN Xin^{1,2}, YANG Juan^{1,2}, LAN Shan-Shan^{1,2}, SHA Ling-Jie^{1,2},
LIN Tao^{1,2}, LIU Hong-Cheng^{1,2*}

(1. Agri-Food Quality Standard & Testing Technology Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650222, China; 2. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Agro-Product, Ministry of Agriculture (Kunming), Kunming 650223, China)

ABSTRACT: Phenoxy carboxylic acid herbicides represented by 2,4-D as a growth regulator for flower and fruit conservation in low concentration, which can regulate cell growth and differentiation of callus and improve the fresh-keeping time. Phenoxy carboxylic acid herbicides are herbicides with high concentration, which are difficult to degrade and easy to pollute groundwater. Its extensive and extensive application will cause deformity of plants and affect the human central nervous system, which has potential carcinogenicity and mutagenicity. It is an important means to ensure the safety of agricultural products and environment that detecting phenoxy carboxylic acid herbicides residue in rapid, sensitive and accurate method. This paper summarized the research progress of pretreatment methods and different detection methods in detecting phenoxy carboxylic acid herbicides residues in agricultural products, environmental water samples and other samples, comprehensively compared the advantages and disadvantages of each method, and put forward the development trend of detection of small molecule substances in the future.

基金项目: 云南省科技计划青年项目(2017FD020)、科技创新平台建设计划(公共科技服务)(2014DA001)

Fund: Supported by Yunnan Science and Technology Program Youth Project (2017FD020), and Science and Technology Innovation Platform Construction Plan (Public Service of Science and Technology)(2014DA001)

***通讯作者:** 刘宏程, 研究员, 主要研究方向为农产品品质与安全研究。E-mail: liuorg@163.com

***Corresponding author:** LIU Hong-Cheng, Professor, Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Agro-products (Kunming), Ministry of Agriculture, Institute of Quality Standards and Testing Technology, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, No.9 Xueyun Road, Kunming 650223, China. E-mail: liuorg@163.com

KEY WORDS: phenoxy carboxylic acids; pretreatment methods; residue detection

1 引言

我国是个农业大国, 由于农作物病虫草害常年发生, 农药的生产和消费在世界上排名第二。农药已成为农业生产中不可或缺的一部分, 大量使用农药给农业的丰产丰收提供保障的同时也带来了一系列的食品安全和环境问题, 如农药在农畜产品中的残留及积累, 对人畜产生不良影响; 虫害、病害的抗药性及破坏生态平衡等。随着人们的生活水平提高, 人类对农产品残留带来的危害更加关注, 大量农药残留可导致急性中毒, 残留在人体的累积毒性可能会引起致畸、致癌、致突变。因此, 农药残留的准确、快速检测也变的越来越重要。

我国使用的苯氧羧酸类除草剂主要有两大种类: 2,4-D 系列和 2 甲 4 氯系列, 此类除草剂不仅用作除草剂, 部分品种在低浓度时可以作为保花保果的植物生长调节剂^[1,2]。以 2,4-D 类为代表, 广泛、大量的应用会污染地下水, 使植物产生畸形, 影响人体中枢神经系统, 具有潜在的致癌性和致突变性^[3]。因苯氧羧酸类除草剂的特殊生理作用, 它们在农业领域不可替代。鉴于氯代苯氧羧酸类除草剂带来的危害, 国际农药残留量联席会议(Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues, JMPR)规定了 2,4-D 的最大残留限量: 小麦, 0.5 mg/kg; 柑桔, 2 mg/kg; 蛋、肉、乳与乳制品, 0.05 mg/kg^[4]。我国国家标准 GB 2763-2016《食品中农药残留最大限量》中规定了 2,4-D 的最大残留限量: 小麦、玉米 2、0.05 mg/kg, 茄子、辣椒 0.1 mg/kg, 柑橘 0.1 mg/kg; 2,4-D 丁酯的最高残留限量: 小麦、玉米中 0.05 mg/kg; 2 甲 4 氯的最高残留限量: 小麦、玉米 0.1、0.05 mg/kg, 2 甲 4 氯的最高残留限量: 柑橘 0.1 mg/kg。本文对近年来苯氧羧酸类的前处理及检测方法进行分析和探讨, 旨在提供简便、准确、快速的检测方法。

2 苯氧羧酸类的前处理方法

常用的苯氧羧酸类除草剂的前处理方法有: 液-液萃取法、固相萃取法、固相微萃取法、分散液相微萃取法和分子印迹技术等^[5]。张涇凯等^[6]用乙酸乙酯萃取水中的灭草松和 2,4-D, 与高效液相色谱联用, 检出限均为 0.05 $\mu\text{g/L}$, 回收率分别为 89%~107%和 86%~106%。杨春平等^[7]以 C_{18} 固相萃取为净化手段, 与 HPLC 法联用检测番茄、葡萄、枇杷和黄瓜 4 种蔬果中的 2,4-D, 检测限为 1.2 $\mu\text{g/kg}$, 2,4-D 的添加回收率为 81.8%~116.0%。杨素萍等^[8]建立了以 $[\text{C}_6\text{HyMIMTf}_2\text{N}]$ 作为提取剂, $[\text{C}_4\text{MIMBF}_4]$ 作为分散剂, 与高效液相色谱联用的功能化离子液体/离子液体分散液-液法。自来水、河水、田间水中加标实验的回收率为

70.2%~107.5%, 检出限为 0.05~0.2 $\mu\text{g/L}$ 。张吉苹等^[9]与高效液相色谱连用, 建立了以磷酸三丁酯为萃取剂, 以甲醇为分散剂的分散液液微萃取法, 检测水样中麦草畏和 2,4-二氯苯氧乙酸, 检出限分别是 0.44 $\mu\text{g/L}$ 和 0.49 $\mu\text{g/L}$, 富集倍数分别为 85 和 90, 样品中的加标回收率为 75.7%~104.0%。马梅花等^[10]制备了 2,4-二氯苯氧乙酸分子印迹聚合物, 作为固相萃取剂富集豆芽样品中添加的 2,4-D 回收率为 86%~104%, 方法的检出限为 20 ng/g。王家斌等^[11]用 C_{18} 毛细管整体柱作为固相微萃取整体柱富集水样中 5 种苯氧羧酸类除草剂, 后采用高效液相色谱测定, 5 种苯氧羧酸类除草剂的检出限为 4~9 $\mu\text{g/L}$, 加标回收率为 79%~98%。Hadi 等^[12]用磁性微凝胶吸附苯氧羧酸类除草剂, 用毛细管电泳检测, 检出限在 3~10 ng/mL, 回收率在 80%~85%。

3 氯代苯氧羧酸类除草剂残留的检测方法

氯代苯氧羧酸类除草剂最常用的方法为色谱法、仪器连用检测法、免疫学检测法等, 就此常用检测方法分述如下。

3.1 色谱法

色谱法是目前较为成熟的色谱方法之一, 可以定性、定量的检测, 灵敏度高, 重复性好, 特异性好, 国内外有较多的研究报道。De Amarante 等^[13]用高效液相色谱技术测定了按农田作土壤中 2,4-D 的含量, 以 0.1、1.0、2.0、3.0、4.0 mg/kg 浓度测定回收率, 回收率在 85%~98%间, 其最低检测限在 0.02 mg/kg。耿志明等^[14]用高效液相色谱检测柑橘中的 2,4-D 的残留。以固相萃取方法提取目标产物。在波长为 282 nm 下, 二极管矩阵检测器检测, 2,4-D 的添加范围在 0.2~2.0 mg/kg 内, 回收率 86.5%~96.6%, 最低检测限为 0.05 mg/kg。郑志福等^[15]用乙酸乙酯提取 2,4-D, 选择 C_{18} 柱净化提取液, HPLC 法检测 2,4-D 的残留量, 在合理用药的条件下, 芦柑果皮 2,4-D 残留量 0.74 mg/kg, 回收率 86%~92%, 变异系数 1.4%~5.5%。王艳等^[16]将水样过 Ion PACAS19 型分析柱, 以 KOH 为淋洗液, 用离子色谱法同时测定了水中的草甘膦、2,4-滴和灭草松的方法, 检出线在 1.7%~6.2%, 回收率为 94.5%~115%。宋志法^[17]用乙腈超声提取土壤中的七种氯代苯氧羧酸除草剂, 液相色谱法检测的检出限为 0.00444~0.0164 mg/kg, 加标回收率在 96%~111%。彭晓俊等^[18]自制多壁碳纳米管作为萃取柱, 测定农产品中 2 甲 4 氯和 2,4-滴的残留量, 检出限在 0.02 mg/kg, 2 种除草剂的加标回收率为 81%~105%。色谱法中前处理方法一般用固相萃取的方法, 目前有科学家使用多壁碳纳米管代替萃取柱进行前处理, 接着通过 HPLC 仪器检测目标产物, 灵敏度最低达到 0.02 mg/kg。

3.2 色谱/质谱联用法

由于单一的分析技术难以达到检测的要求, 为了达到更好的检测效果, 将不同的检测技术联合使用能得到理想的效果, 准确性高, 避免“假阳性”的出现, 检出限低。顾秀英等^[19]发明了一种采用气相色谱质谱法同时测定果蔬中氯吡脞、2,4-D、多效唑残留量的方法。用乙腈提取目标物, 佛罗里硅土柱除杂质, 检测范围在 0.04~10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 方法的回收率在 85.7%~95.9%。赵健等^[20]将油料作物经过二氯甲烷提取, 衍生化反应, 通过固相萃取-气相色谱-质谱联用法检测, 平均回收率在 73.6%~100.8%之间。李鹏等^[21]建立了用薄层色谱扫描和气相色谱-质谱法检测血中的 2,4-D 丁酯中毒的快速检测法, 定量检测的线性范围在 0.25~100.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 最低检测限为 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。丁丽等^[22]用酸化乙腈提取豆芽中多菌灵、2,4-二氯苯氧乙酸、恩诺沙星, 经超高效液相色谱-质谱分析, 检出限在 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间。多菌灵、2,4-D、恩诺沙星的回收率在 80.4%~97.8%之间。吴晓峰等^[23]用乙酸乙酯提取水稻植株、土壤和田水中硝磺草酮和 2 甲 4 氯, C_{18} 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱分析, 平均回收率分别为 75%~102.5%和 89.9%~112.5%, 最低检测浓度分别为 0.01 mg/kg 和 0.05 mg/kg 。郑磊等^[24]以 C_{18} 固相萃取待测物, 高效液相色谱串联质谱测定饮用水中灭草松和 2, 4-滴, 检出限分别为 0.078 和 0.235 ng/L , 回收率分别在 88.8%~103%和 92.3%~93.1%间。李慧等^[25]用固相萃取-硅烷化衍生-气相色谱-质谱法测定 2,4-D。Peng 等^[26]用 Fe_3O_4 修饰的多壁碳纳米管吸附水中的 7 种苯氧羧酸类农药, 液相色谱-质谱-质谱联用检测, 检出限在 0.01~0.02 $\mu\text{g}/\text{L}$, 检出范围在 92.3%~103.2%。不同检测技术的联合使用可以达到 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的检出限, 较单一色谱法要灵敏, 前处理方法同色谱法类似且需使用有机溶剂, 整个操作需要有专业背景。

3.3 免疫学检测方法

免疫学检测法是一类利用抗原抗体的特异性结合的原理, 来检测目标产物的分析方法。具有快速, 特异性, 灵敏度高、大批量操作等优点。近年来广泛运用于农兽残留的检测, 为快速检测奠定了坚实的理论基础。

3.3.1 酶联免疫技术

酶联免疫技术(enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA)是以免疫学反应为基础, 抗原抗体的特异性反应与酶催化底物后的显色反应相结合的一种方法, 它们都保持着免疫学和酶学活性。Vdovenko 等^[27]在大豆过氧化物酶催化下, 通过化学发光-ELISA 法检测 5 种橙子和 5 种橘子的 2,4-D 含量, 它们的含量分别为 79~104 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 1.66~2.82 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 回收率 92%~104%。李会娜等^[28]用 ELISA 法检测了蔬菜、地下水等样品中的 2,4-D 含量, 间接竞争法 ELISA 检测样品的回收率误差低于 15%, 变异系数小于

15%, 最低检测限为 50 ng/mL 。龚芳等^[29]通过杂交瘤细胞技术成功获得了 2,4-D 单克隆鼠抗的杂交瘤细胞株, 筛选出三株特异性高的杂交瘤细胞, 对 2,4-D 的 IC_{50} 分别时 0.801、1.332、1.564 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。魏茂琼等^[30]对比了试剂盒与 UPLC-MS 检测茄果类蔬菜中的 2,4-D 残留量, ELISA 与 UPLC-MS 的检测灵敏度分别可以达到 1.739 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。酶联免疫法用于 2,4-D 的检测已经比较成熟, 最低检测限可以达到 $\mu\text{g}/\text{L}$, 操作简单, 易上手, 可以满足大批量检测, 但有颜色的待测样品会干扰测定结果, 易出现假阳性, 重复性没有仪器的稳定。

3.3.2 胶体金免疫层析技术

胶体金免疫层析技术(gold immunochromatography assay, GLCA)是一项新型体外速测技术, 将以条带状硝酸纤维素膜上固定了特异性的抗原或抗体, 结合垫上吸附胶体金标记试剂, 当待测样品加到试纸条一端的样品垫后, 移动至结合垫上的胶体金标记试剂, 相互反应后再移动至固定了抗原或抗体的区域, 待测物和金标试剂的复合物又与之发生特异性结合, 在胶体金标记物的作用下得到直观的显色结果^[31]。王宝芹^[32]制作了 2,4-D 胶体金试纸条, 最低检测限为 10.0 ng/mL , 能够在 1~2 min 内出线, 从而得到一种快速检测 2,4-D 的方法。同时创新的将金磁微粒运用在试纸条上, 初步探究了制备金磁试纸条的方法。洪霞等^[33]制备了免疫胶体金检测卡, 用来检测除草剂 2,4-D。胶体金试纸的优势在于显色更加直观, 快捷且灵敏度高, 而且无需酶标仪, 对于市场、基地的直接筛查、定量更加方便。

3.4 量子点在 2,4-D 快速检测领域的应用

量子点(quantum dots, QDs), 又称半导体纳米晶体。目前研究较多的量子点是 II-VI, III-V 或 IV-VI 族元素。其尺寸为 1~10 nm 的球形或类球形的微粒, 这样的尺寸属于纳米量级, 展现出许多不同于宏观材料的光学性质, 如小尺寸效应和宏观量子隧道效应等; 与有机染料相比, 其发射光谱窄而对称, 激发光谱覆盖面宽, 光稳定性, 荧光寿命长等独特的光学特性。量子点进行表面修饰后(如- COOH), 可以稳定的与抗原、抗体和酶等大分子物质连接。

量子点标记免疫技术是以量子点作为荧光标记物, 在免疫反应的基础上检测目标产物。这种技术操作简便, 高效, 无复杂前处理, 特异性灵敏度高, 且成本低, 是农药检测中的一种非常重要的技术。Nichkova 等^[34]利用 CdTe 量子点标记的多通道免疫检测技术, 将其成功应用于拟除虫菊酯类杀虫剂和除草剂的检测, 偶联上 2,4-D-碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)的 CdTe 量子点探针与样品中游离的 2,4-D 抗体反应, 通过荧光检测 2,4-D, 最低检出限可达到 250 pg/mL 。

3.5 磁性纳米粒子在 2,4-D 快速检测领域的应用

Fe_3O_4 磁性纳米粒子是一种新型的纳米材料, 目前的

研究比较详细,它具有常规材料所不具有的特性,量子效应、小尺寸效应、磁分离性以及安全无毒副作用等,而这些特殊的特性使得其更有利于应用于食品安全检测领域^[35]。

磁分离酶联免疫法(magnetic affinity immunoassay, MAIA)将磁性纳米粒子与酶联免疫法检测相结合,在外加磁场作用下,磁性粒子所具有的超顺磁性可以快速分离检测物,达到富集浓缩作用,而本身不会被永久磁化。这种技术可以提高灵敏度、检测速度快、特异性好、成本低等。

将磁性纳米粒子应用于免疫学研究中,由于其快速和富集的分离能力,超高的比表面积,以及特异性的识别,可以用来进行 ELISA 检测。Loh 等^[36]应用:由于 2,4-D 能抑制磷酸酯酶催化反应,将磷酸酯酶偶联在 Fe_3O_4 粒子上,通过酶活性的变化引起电化学信号的改变,从而检测 2,4-D 的含量。实验证明, Fe_3O_4 的存在显著放大了相应电流信号。朱展望^[37]将磁性、荧光双探针应用于 2,4-D 残留检测中。样品中的 2,4-D 与 2,4-D-OVA 标记的荧光探针共同竞争磁性探针上的 2,4-D 抗体,外加磁场分离复合物,最后测定荧光信号,结果显示:最低检测限达 43 ng/mL,均低于市面所售的 ELISA 试剂盒和胶体金试纸条。该体系中的 2,4-D 可以换成其他小分子及其对应的抗原、抗体,这也是食品中小分子有害残留物的快速检测的新途径。

3.6 分子印迹在 2,4-D 检测领域的应用

分子印迹的原理类似于酶与底物、抗体与抗原等的特异性作用,是一类以目标分子物为模板合成印迹高分子聚合物(molecularly Imprinted polymer, MIP)的新技术^[38]。分子印迹材料具有专一性强、构效预定性、快速识别等特性,因此在分子识别,色谱分离等领域有广阔的应用前景。通过分子印迹技术来实现对 2,4-D 的检测和分离一直是研究的热点^[38-40]。分子印迹材料具有专一性强、构效预定性、快速识别等特性,因此在分子识别,色谱分离等领域有广阔的应用前景。通过分子印迹技术来实现对 2,4-D 的检测和分离一直是研究的热点^[39,40]。

高超^[41]以合成的含二氧化硅的偶氮苯为功能单体,2,4-D 为模板分子,TEOS 为交联剂,制备分子印迹聚合物材料。在 365 nm 和 440 nm 的紫外/可见光反复照射下,可以达到在光控下的吸附和释放。2,4-D 的吸附容量约 73.8%,印迹材料对样品的萃取吸附能力的提高,能更好的对 2,4-D 检测,最终实现材料的工业化应用。银珍红等^[42]以甲基丙烯酸(Methacrylic Acid, MAA)为功能单体,二甲基丙烯酸乙二醇酯(ethylene glycol dimethacrylate, EGDMA)为交联剂,制备了可以作为高效液相色谱固定相的分子印迹整体柱,15 min 内将 2,4-D 及其类似物苯氧乙酸分离,分离度为 1.52,同时在柑橘提取液中实现了对 2,4-D 的分离。徐莉等^[43]以油酸包裹的 Fe_3O_4 表面涂上分子印迹聚合物层,对除草剂 2,4-D 有特异性识别,作为固相萃取材料,结合

高效液相色谱分析,模拟水样中的 2,4-D 的回收率再 91.7%~110.4%。Fang 等^[44]以含偶氮苯基团的分子为功能单体,EGDMA 为交联剂,制备了对 2,4-D 有光响应性的分子印迹材料,吸附容量为 10.0 $\mu\text{mol/g}$,并且紫外-可见光的照射可以控制模板分子的吸收与释放,材料在分离萃取及检测中有巨大的应用前景。贾梦凡^[45]以二氧化硅纳米粒子为壳层,构建了有量子点的新型分子印迹荧光传感器,用于豆芽样品中 2,4-D 的检测,回收率再 95%~110.1%;以纤维素纸作为基底材料,通过化学手段将量子点修饰在其表面,当 2,4-D 溶液涂再纸芯纸上,形成复合物,导致量子点的荧光减弱,线性范围 0.83~100 $\mu\text{mol/L}$ 。徐晴等^[46]发明了一种用于检测 2,4-D 的分子印迹传感器,根据电流差值找出对应的 2,4-D 浓度值。王红梅^[47]以多孔二氧化硅和石墨烯为原料,构建检测 2,4-D 的分子印迹电化学传感器。最低检出限分别为 $1.17 \times 10^{-11} \text{ mol/L}$ (3Sa/b)和 $7.82 \times 10^{-12} \text{ mol/L}$ (3Sa/b)。目前分子印迹技术多用于识别、分离目标物,效果明显,而实现对目标物的检测还需要借助电信号、光信号及显色法等技术。

3.7 传感器技术在 2,4-D 检测领域的应用

传感器是将感受到的信息变为所需形式的一种检测装置,目前所用的有免疫传感器、生物传感器,将待测物与分子识别元件特异性结合后,通过信号转换器将所产生的复合物变为可以输出的电信号:电信号、光信号,从而达到对待测物的定性、定量目的。

周宏敏等^[48]建立了用表面等离子体子生物传感器(surface plasmon resonance, SPR)技术快速定量检测 2,4-D 的方法。将抗原偶联到等离子共振芯片表面,利用抗原抗体的结合及二抗 IgG 的信号放大作用,提高检测灵敏度,最终灵敏度达到 0.05 ng/mL。余琼珍等^[49]对水中的 2,4-D 采用在线免疫传感器进行监测,在 10~200 $\mu\text{g/L}$ 的浓度范围内,信号响应值符合半对数线性方程,传感器运行稳定,信号可靠。和建萍等^[50]以平面波导型荧光免疫传感器为依托,利用间接免疫的反应原理,建立了检测 2,4-D 的方法,最低检测限低于 1.9 $\mu\text{g/L}$,回收率在 88%~111%之间。钟菲菲等^[51]将 2,4-D 固定在纳米金修饰的金电极表面,制备出检测 2,4-D 的免疫传感器,检测范围为 1~5000 ng/mL,检测下限 0.5 ng/mL。Boro 等^[52]将 2,4-D 与纳米金结合,通过酶联免疫反应,纳米金催化鲁米诺和硝酸银,在 425 nm 处产生发光信号,检测限在 3 ng/mL。张萍等^[53]利用表面增强拉曼光谱技术快速检测果蔬中 2,4-D 残留,用于现场快速筛查 2,4-D 农药残留。陈全胜等^[54]发明了一种基于金纳米薄膜 SERS 技术的 2,4-D 农药的检测方法,可以对 2,4-D 农药实现原位检测。传感器技术一般都与免疫技术相结合,通过信号的识别、放大可以更加精确的对待测物定性、定量。这种技术为其他污染物的识别提供更加直观、快捷的新方法、新思路。

4 展 望

快速、高效、准确的前处理方法对检测样品中苯氧羧酸类除草剂有至关重要的作用。利用纳米材料对目标物的特异吸附性及快速分离的特性, 能实现高富集、快速分离的需求, 更好的应用在复杂基质中。在检测 2,4-D 的各种方法中, 色谱法的显著优点是: 灵敏度高、重现性好、检测效率高等, 但由于其需要复杂的前处理、昂贵的仪器、专业的技术人员、较高的检测费用等不足, 难以应对大批量样品的检测, 这样不便于其在食品快速检测中的应用; 免疫法具有快速、敏感、准确、特异、成本低、大批量检测等显著优势, 但是免疫法也会存在一些问题, 比如 ELISA 法: ①实验中的天然酶免疫标记物的活性易受反应条件影响, 不稳定、容易失活等问题; ②在实际样品检测中样品基质效应的影响对 ELISA 也是一个瓶颈。目前, 免疫法与纳米材料的联合使用应用于 2,4-D 检测上取得了很好的效果, 这类技术的优点是检测时间短, 大批量, 准确且灵敏度高于单独使用免疫法。而分子印迹、传感器应用于 2,4-D 残留的检测还处于初步探索阶段, 该技术的实际应用还有待深入研究。现阶段 2,4-D 残留的研究集中于纳米材料与免疫技术的结合。如果能将苯氧羧酸类除草剂的前处理通过材料快速富集的特性, 在少量或者不使用有机溶剂的情况下达到简单、快速的吸附一类目标物。然后将富集的目标物在免疫反应下, 通过一系列的光、电、颜色等信号的释放达到定量, 大大缩短了检测所需的时间及操作流程, 既安全环保又低成本, 为 2,4-D 或者其他小分子有害残留物的检测提供崭新的可操作性的平台。

参考文献

- [1] Oturan MA. An ecologically effective water treatment technique using electrochemically generated hydroxyl radicals for in situ destruction of organic pollutants: Application to herbicide 2,4-D [J]. *J Appl Electrochem*, 2000, 30(4): 475–482.
- [2] 龚芳, 席俊, 职爱民, 等. 2, 4-D 的毒性与残留检测方法研究进展[J]. *河南农业科学*, 2011, 40(8): 40–43.
- [3] Gong F, Xi J, Zhi AM, *et al*. A review in toxicity and residue detection of 2, 4-D [J]. *J Henan Agric Sci*, 2011, 40(8): 40–43.
- [4] Deng SB, Ma R, Yu Q, *et al*. Enhanced removal of pentachlorophenol and 2,4-D from aqueous solution by an aminated biosorbent [J]. *J Hazardous Mater*, 2009, 165: 408–414.
- [5] 居莹. 孔雀石绿、2,4-D 免疫检测技术研究[D]. 上海: 上海师范大学, 2013.
- [6] Ju Y. The research on immune detection for malachite green and 2,4-D [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2013.
- [7] 许仁杰, 蔡春平, 丁立平, 等. 水中苯氧羧酸类除草剂残留检测的研究进展[J]. *食品工业*, 2017, 38(1): 258–262.
- [8] Xu RJ, Cai CP, Ding LP, *et al*. Advances on detection of phenoxy carboxylic acid herbicides residues in water [J]. *Food Ind*, 2017, 38(1): 258–262.
- [9] 张泾凯, 鄢姝恺, 顾俊, 等. 液液萃取/高效液相色谱法测定水中灭草松和 2,4-D [J]. *中国给水排水*, 2013, 29(6): 100–101, 105.
- [10] Zhang JK, Yan SK, Gu J, *et al*. Determination of bentazone and 2,4-D in water by liquid-liquid extraction/high performance liquid chromatography [J]. *China Water Wastewater*, 2013, 29(6): 100–101, 105.
- [11] 杨春平, 宁红, 陈华保, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定 4 种蔬果中 2,4-D 的残留量[J]. *核农学报*, 2016, 30(6): 1157–1162.
- [12] Yang CP, Ning H, Chen HB, *et al*. Determination of 2,4-D acid residues in four kinds of vegetables and fruits by solid phase extraction and high performance liquid chromatography [J]. *J Nucl Agric Sci*, 2016, 30(6): 1157–1162.
- [13] 杨素萍, 郭振福, 刘敏, 等. 功能化离子液体/离子液体分散液-液微萃取测定水中苯氧羧酸类除草剂[J]. *分析化学研究简报*, 2015, 43(6): 904–908.
- [14] Yang SP, Guo ZF, Liu M, *et al*. Functionalized ionic liquid/ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction for determination of phenoxy acid herbicides in water samples [J]. *Chin J Anal Chem*, 2015, 43(6): 904–908.
- [15] 张吉苹, 蒋新娣, 黄薇, 等. 基于分子络合的分散液液微萃取与高效液相色谱联用检测环境水样中 2 种苯氧羧酸类除草剂[J]. *色谱*, 2018, 36(5): 458–463.
- [16] Zhang JP, Jiang XD, Huang W, *et al*. Dispersive liquid-liquid microextraction based on molecular complexation followed by high performance liquid chromatography for the determination of two phenoxy carboxylic acid herbicides in environmental water samples [J]. *Chin J Chromatogr*, 2018, 36(5): 458–463.
- [17] 马梅花, 牛玉玲, 龚艳茹, 等. 基于表面引发原子转移自由基聚合技术制备 2,4-二氯苯氧乙酸分子印迹聚合物及其识别特性分析[J]. *农药学报*, 2014, 16(2): 165–173.
- [18] Ma MH, Niu YL, Gong YR, *et al*. Preparation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid molecular-imprinted materials via surface-initiated atom transfer radical polymerization and its recognition character analysis [J]. *Chin J Pestic Sci*, 2014, 16(2): 165–173.
- [19] 王家斌, 吴芳玲, 赵琦. 整体柱在线固相微萃取-高效液相色谱同步富集检测水中的苯氧羧酸类除草剂[J]. *色谱*, 2015, 33(8): 849–855.
- [20] Wang JB, Wu FL, Zhang Q. Synchronous extraction and determination of phenol acid herbicides in water by on-line monolithic solid phase microextraction-high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Chromatogr*, 2015, 33(8): 849–855.
- [21] Hadi T, Kamal K, Yasamin B, *et al*. Application of pH-sensitive magnetic microgel as a sorbent for the preconcentration of phenoxy acid herbicides in water samples [J]. *J Chromatogr A*, 2015, 1407: 1–31.
- [22] De Amarante OP, Brito NM, Santos TC, *et al*. Determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its major transformation product in soil samples by liquid chromatographic analysis [J]. *Talanta*, 2003, 60(1): 115–121.
- [23] 耿志明, 陈明, 王冉, 等. 高效液相色谱法测定柑橘中 2,4-二氯苯氧乙酸残留[J]. *江苏农业学报*, 2007, 23(1): 67–70.
- [24] Gen ZM, Chen M, Wang R, *et al*. Determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid residue in orange using high performance liquid chromatography [J]. *Jiangsu J Agric Sci*, 2007, 23(1): 67–70.
- [25] 郑志福, 郭佳莉. 固相萃取-高效液相色谱法测定芦柑 2,4-D 残留[J]. *化学工程与装备*, 2014, (9): 193–196.
- [26] Zheng ZF, Guo JL. Solid phase extraction coupled with HPLC for the determination of 2,4-D residues in citrus [J]. *Chem Eng Equip*, 2014, (9): 193–196.

- 193–196.
- [16] 王艳, 江阳, 雍莉, 等. 淋洗液在线发生离子色谱法同时测定水中草甘膦、2,4-D 和灭草松[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(23): 3374–3376.
Wang Y, Jiang Y, Yong L, *et al.* Simultaneous determination of glyphosate, 2,4-D and bentazone in water by ion chromatography with on-line eluent generation [J]. Chin J Health Lab Technol, 2017, 27(23): 3374–3376.
- [17] 宋志法. 土壤中氯代苯氧羧酸类除草剂测定方法的研究[D]. 青岛: 青岛理工大学, 2015.
Song ZF. Research on detection method of chlorinated phenoxyacid herbicides in soil [D]. Qingdao: Qingdao University of Technology, 2015.
- [18] 彭晓俊, 温绮靖, 庞晋山. 改性多壁碳纳米管固相萃取测定农产品中苯氧羧酸类除草剂残留[J]. 分析测试学报, 2012, 31(11): 1373–1378.
Peng XJ, Wen QJ, Pang JS. Determination of phenoxyacid herbicides in agricultural products by solid phase extraction using modified multi-walled carbon nanotubes as adsorbent [J]. J Instrum Anal, 2012, 31(11): 1373–1378.
- [19] 顾秀英, 许荣年, 姚春华, 等. 一种采用气相色谱质谱法同时测定果蔬中氯吡啶、2,4-D、多效唑残留量的方法: CN 106442747 A [P]. 2017-02-22.
Gu XY, Xu RN, Yao CH, *et al.* A method for simultaneous determination of pyridamide, 2,4-D and paclobutrazol residues in fruits and vegetables by gas chromatography-mass spectrometry: CN 106442747 A [P]. 2017-02-22.
- [20] 赵健, 张宇. 全自动固相萃取-气相色谱-质谱联用法测定油料作物中 2,4-二氯苯氧乙酸和 2,4,5-三氯苯氧乙酸的残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(9): 3611–3618..
Zhao J, Zhang Y. Determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid residues in oil crops by automatic solid phase extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(9): 3611–3618.
- [21] 李鹏, 贾雪峰, 韩胜, 等. 薄层色谱扫描和气相色谱-质谱法快速检测血中 2,4-滴丁酯[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(2): 204–207.
Li P, Jia XF, Han S, *et al.* Rapid detection of 2,4-butyl drops in blood by TLCS and GC-MS [J]. Chin J Health Lab Technol, 2008, 18(2): 204–207.
- [22] 丁丽, 曾绍东, 魏晓莹, 等. 超高效液相色谱-质谱法测定豆芽中多菌灵、2,4-二氯苯氧乙酸、恩诺沙星残留[J]. 食品科学, 2014, 35: 169–175.
Ding L, Zeng SD, Wei XY, *et al.* Determination of carbendazim, 2,4-D and enrofloxacin residues in bean sprouts by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2014, 35: 169–175.
- [23] 吴晓峰. 硝磺草酮和 2 甲 4 氯钠在水稻田生态系统中的残留研究[D]. 娄底: 湖南人文科技学院, 2016.
Wu XF. Residue dissipation of mesotrione and MCPA-Na in rice ecosystem [D]. Loudi: Hunan Institute of Humanities, Science and Technology, 2016.
- [24] 郑磊, 胡小键, 张海婧, 等. 饮用水中痕量灭草松和 2,4-滴的固相萃取-高效液相色谱串联质谱测定法[J]. 环境与健康杂志, 2015, 32(3): 246–248.
Zheng L, Hu XJ, Zhang HJ, *et al.* Determination of 2,4-D and bentazone in drinking water by solid phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Environ Health, 2015, 32(3): 246–248.
- [25] 李慧, 戴晓莹, 许欢. 固相萃取-硅烷化衍生-气相色谱-质谱法测定水中 2,4-滴[J]. 理化检验 (化学分册), 2013, 49(8): 997–998.
Li H, Dai XY, Xu H. Determination of 2,4-D in Water by solid phase extraction-silanization derivatization-gas chromatography-mass spectrometry [J]. Phys Test Chem Anal B, 2013, 49(8): 997–998.
- [26] Peng M, Han YQ, Xia H, *et al.* Rapid and sensitive detection of the phenoxy acid herbicides in environmental water samples by magnetic solid-phase extraction combined with LC-MS/MS [J]. J Separat Sci, 2018, 41(10): 2221–2228.
- [27] Vdovenko MM, Stepanova AS, Eremin SA, *et al.* Quantification of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in oranges and mandarins by chemiluminescent ELISA [J]. Food Chem, 2013, 141(2): 865–868.
- [28] 李会娜, 曹远银. 2,4-D 残留检测的 ELISA 方法的建立和初步应用[J]. 现代农业科技, 2006, 6(3): 28–30.
Li HN, Cao YY. The preparation of polyclone antibody for 2,4-D residue [J]. J Agric Univ Hebei, 2006, 6(3): 28–30.
- [29] 龚芳, 席俊, 李青梅, 等. 抗 2,4-D 单克隆抗体制备及免疫学特性鉴定[J]. 西北农业学报, 2012, 21(11): 24–28.
Gong F, Xi J, Li QM, *et al.* Preparation and immunological characterization of monoclonal antibody against 2,4-D [J]. Acta Agric Boreali-occident Sin, 2012, 21(11): 24–28.
- [30] 魏茂琼, 刘宏程, 林涛, 等. 直接竞争 ELISA 法检测蔬菜中 2,4-二氯苯氧乙酸[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(12): 4961–4965.
Wei MQ, Liu HC, Lin T, *et al.* Detection of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in vegetables by direct competitive ELISA method [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(12): 4961–4965.
- [31] 贾春平, 赵建龙. 免疫标记技术的进展及纳米技术在其中的应用[J]. 生命科学, 2008, 20(5): 749–753.
Jia CP, Zhao JL. Progress of immune-labeling assay and application of nano-technology [J]. Chin Bull Life Sci, 2008, 20(5): 749–753.
- [32] 王宝芹. 农药 2,4-D 的多克隆抗体制备及残留的免疫快速检测技术研究[D]. 上海: 上海师范大学, 2014.
Wang BQ. Pesticide polyclonal antibody preparation of 2,4-D and immune rapid detection technology of residual research [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2014.
- [33] 洪霞, 杜霞. 除草剂 2,4-D 的免疫胶体金检测卡及其制备方法: CN 105572390 A [P]. 2016-05-11.
Hong X, Du X. Immunocolloidal gold detection card for herbicide 2,4-D and its preparation method: CN 105572390 A [P]. 2016-05-11.
- [34] Nickkova M, Dosev D, Davies AE, *et al.* Quantum dots as reporters in multiplexed immunoassays for biomarkers of exposure to agrochemicals [J]. Anal Lett, 2007, 40(7): 1423–1433.
- [35] Wu W, He QG, Jiang CZ. Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis and surface functionalization strategies [J]. Nanosc Res Lett, 2008, (3): 397–415.
- [36] Loh KS, Lee YH, Musa A. Use of Fe₃O₄ nanoparticles for enhancement of biosensor response to the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid [J]. Sensors, 2008, (8): 5775–5791.
- [37] 朱展望. 量子点和磁性纳米/亚微米粒子的制备及其在 2,4-二氯苯氧乙酸检测中的应用探讨[D]. 上海: 上海师范大学, 2014.
Zhu ZW. Preparation of quantum dots and magnetic nano/sub-micron particles and discussion on its application in the detection of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2014.

- [38] 柯珍, 朱华, 钟世安, 等. 分子印迹技术及其应用研究进展[J]. 化学研究与应用, 2018, 30(6): 865–874.
- Ke Z, Zhu H, Zhong SA, *et al.* Molecular imprinting technique and its application research [J]. Chem Res Appl, 2018, 30(6): 865–874.
- [39] Xie C, Gao S, Guo Q, *et al.* Electrochemical sensor for 2,4-dichlorophenoxy acetic acid using molecularly imprinted polypyrrole membrane as recognition element [J]. Microchim Acta, 2010, 169(1-2): 145–152.
- [40] Wang X, Yu J, Wu X, *et al.* A molecular imprinting-based turn-on ratiometric fluorescence sensor for highly selective and sensitive detection of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid(2,4-D) [J]. Biosens Bioelect, 2016, 81: 438–444.
- [41] 高超. 溶胶-凝胶法制备 2,4-二氯苯氧乙酸光响应性分子印迹材料及其吸附性能研究[D]. 重庆: 西南大学, 2012
- Gao C. Preparation and adsorption property studies of photoresponsive molecularly imprinted materials for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by sol-gel process [J]. Chongqing: Xinan University, 2012.
- [42] 银珍红, 陈小明. 2,4-二氯苯氧乙酸分子印迹整体柱的制备、表征及色谱性能研究[J]. 分析测试学报, 2009, 28: 949–953.
- Yin ZH, Chen XM. Synthesis and characterization of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid molecularly imprinted monolithic column and its chromatographic property [J]. J Instrum Anal, 2009, 28: 949–953.
- [43] 徐莉, 徐小艳, 许志峰, 等. 2,4-二氯苯氧乙酸磁性印迹聚合物的制备与吸附性能[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2015, 54(5): 72–76.
- Xu L, Xu XY, Xu ZF, *et al.* Synthesis and adsorption property of magnetic molecularly imprinted polymers for analysis of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid [J]. J Zhongshan Univ (Nat Sci Ed), 2015, 54(5): 72–76.
- [44] Fang LJ, Chen SJ, Zhang Y, *et al.* Azobenzene-containing molecularly imprinted polymer microspheres with photoresponsive template binding properties [J]. J Mater Chem, 2011, 21: 2320–2329.
- [45] 贾梦凡. 2,4-D 分子印迹荧光传感器的制备及其在果蔬检测中的应用[D]. 西安: 陕西师范大学, 2018.
- Jia MF. Synthesis of 2,4-D molecular imprinted fluorescence sensor and its application in the detection of fruits and vegetables [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2018.
- [46] 徐晴, 王红梅, 胡效亚. 一种分子印迹检测 2,4-D 用的传感器的制备方法及应用: CN 106525948 A [P]. 2017-03-22.
- Xu Q, Wang HM, Hu XY. Synthesis and application of a sensor for molecular imprinting detection of 2,4-D: CN 106525948 A [P]. 2017-03-22.
- [47] 王红梅. 基于多孔材料的分子印迹电化学传感器的制备及其在食品安全检测中的应用[D]. 扬州: 扬州大学, 2018.
- Wang HM. Synthesis of molecularly imprinted electrochemical sensor based on porous materials and its application in food safety detection [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2018.
- [48] 周宏敏, 欧惠超, 王洁, 等. 一种基于 SPR 的 2,4-D 检测技术[J]. 环境科学与技术, 2014, 37(120): 337–339.
- Zhou HM, Ou HC, Wang J, *et al.* A novel detection technique of 2,4-D by surface plasmon resonance technique [J]. Environ Sci Technol, 2014, 37(120): 337–339.
- [49] 余琼珍, 张毓麟, 朱志华, 等. 2,4-二氯苯氧乙酸在线免疫传感器监测技术的应用研究[J]. 上海师范大学学报(自然科学版), 2018, 47(5): 610–616.
- Yu QZ, Zhang CL, Zhu ZH, *et al.* Application of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on-line immunosensor monitoring technology [J]. J Shanghai Agric Univ, 2018, 47(5): 610–616.
- [50] 和建萍, 潘学军, 周小红, 等. 生物传感器测定农药污染物 2,4-D 的检测方法研究[J]. 海峡科技与产业, 2016, 10: 118–122.
- He JP, Pan XJ, Zhou XX, *et al.* The study on the detection method of 2,4-D pesticide pollutants by biosensor [J]. Technol industry Across Straits, 2016, 10: 118–122.
- [51] 钟菲菲, 章建辉, 李乐, 等. 纳米金修饰的免疫传感器直接测定 2,4-D 的研究[J]. 湖南农业科学, 2011, (1): 145–147.
- Zhong FF, Zhang JH, Li L, *et al.* Direct determination of 2,4-D by gold nanoparticles modified immunosensor [J]. Hunan Agric Sci, 2011, (1): 145–147.
- [52] Boro RC, Kaushal J, Nangia Y, *et al.* Gold nanoparticles catalyzed chemiluminescence immunoassay for detection of herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid [J]. Analyst, 2011, 136(10): 2125–2130.
- [53] 张萍, 郑大威, 曹智, 等. 一种果蔬中 2,4-二氯苯氧乙酸残留检测方法: CN 107044974 A [P]. 2017-08-15.
- Zhang P, Zheng DW, Cao Z, *et al.* A method for determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid residues in fruits and vegetables: CN 107044974 A [P]. 2017-08-15.
- [54] 陈全胜, 许艺, 陈敏, 等. 一种基于金纳米薄膜 SERS 技术的 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)农药的检测方法: CN108344726 A [P]. 2018-07-31.
- Chen QS, Xu Y, Chen M, *et al.* A method for the determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) pesticides based on gold nanofilm SERS Technology: CN108344726 A [P]. 2018-07-31.

(责任编辑: 武英华)

作者简介



魏茂琼, 研究实习员, 主要研究方向为食品安全。
E-mail: weimaobsyz@163.com



刘宏程, 研究员, 主要研究方向为农产品品质与安全研究。
E-mail: liuorg@163.com