

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240924005

植物源性食品中百草枯的检测方法研究进展

陈艳芳^{1,2#}, 周逸凡^{3#}, 李雯婷², 苗水^{1,2*}

(1. 上海中医药大学中药研究所, 上海 201203; 2. 上海市食品药品检验研究院, 国家药品监督管理局中药质量控制重点实验室, 上海 201203; 3. 南昌市洪都中医院, 江西 330008)

摘 要: 百草枯是一种具有快速灭生性作用的除草剂, 具触杀与内吸作用, 除草效果好, 加之经济易得, 在农业植保领域使用广泛。但滥用及不合理地使用百草枯的情况时有发生, 对食品安全和环境造成一定的危害, 农业农村部已在公告中禁止该除草剂的使用。由于百草枯的极性高、挥发性差及其在紫外光下的不稳定性, 导致常规仪器对其检测难度大; 另外百草枯在植物源性食品中残留量低, 常需要痕量检测。本文针对上述难点与关键技术问题, 通过国内外文献的综合分析, 系统归纳了百草枯残留检测方法的研究现状, 总结并展望现有分析方法的优缺点和发展趋势, 为开发简单、快速、准确的新技术和新方法提供参考, 为植物源性食品中百草枯的相关安全研究提供技术依据。

关键词: 百草枯; 植物源性食品; 检测方法; 前处理

Research progress on detection methods of paraquat in plant-derived foods

CHEN Yan-Fang^{1,2#}, ZHOU Yi-Fan^{3#}, LI Wen-Ting², MIAO Shui^{1,2*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Shanghai Institute for Food and Drug Control, National Medical Products Administration Key Laboratory for Quality Control of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 3. Nanchang Hongdu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiangxi 330038, China)

ABSTRACT: Paraquat is a kind of herbicide with rapid inactivating action, with poisoning and systemic action, with good herbicidal effect, coupled with economic availability, it is widely used in the field of agricultural plant protection. However, the misuse and irrational use of paraquat has occurred from time to time, causing certain harm to food safety and the environment, and the Ministry of Agriculture and Rural Development has banned the use of this herbicide in the announcement. In view of its high polarity, poor volatility and instability under ultraviolet light, paraquat is difficult to be detected by instrumentation. In addition, paraquat has low residue levels in foods of plant origin, and trace detection are often required. In order to address the above difficulties and key technical problems, this paper summarized the current research status of paraquat residue detection methods through comprehensive analysis of domestic and international literature, summarized and prospected the advantages and disadvantages of the existing analytical methods and the

基金项目: 国家药典委员会项目(2024Z03)、上海市中药和保健食品品质与安全检测专业技术服务平台项目(21DZ2290200)

Fund: Supported by the National Pharmacopoeia Committee Project (2024Z03), and the Technical Service Platform for Quality and Safety Testing of Traditional Chinese Medicine and Healthy Food in Shanghai (21DZ2290200)

#陈艳芳和周逸凡为共同第一作者

CHEN Yan-Fang and ZHOU Yi-Fan are Co-first Authors

*通信作者: 苗水, 硕士, 主任药师, 主要研究方向为中药、天然药物及保健食品和有害残留物的质量标准研究。E-mail: qmiao2008@163.com

*Corresponding author: MIAO Shui, Master, Chief Pharmacist, Shanghai Institute for Food and Drug Control, No.1500 Zhangheng Road, Pudong New District, Shanghai 201203, China. E-mail: qmiao2008@163.com

development trend, and provided references for the development of simple, rapid and accurate new technologies and methods, so as to provide a technical basis for the safety research of paraquat in food of plant origin.

KEY WORDS: paraquat; plant-derived foods; detection method; pretreatment

0 引 言

百草枯(paraquat)是由英国波内门化学工业有限公司研发的非选择性触杀型除草剂^[1]。自 1962 年以来,已在 130 多个国家使用,因其杀草谱广、起效快速、经济易得,在粮食、蔬菜、果类和小农作物的种植过程中应用广泛。然而由于百草枯不合理使用及其滥用情况的发生,对食品安全及环境造成了一定的隐患。研究发现百草枯中毒会导致明显的肝肾毒性、肺损伤以及神经毒性等毒副作用^[2],并且百草枯暴露可能与帕金森和老年痴呆等疾病存在一定的关联^[3]。由于百草枯对人的毒性极高,世界卫生组织已将百草枯列为 II 类有毒物质^[4],欧盟等 30 多个国家和地区也已先后禁止百草枯的使用。农业部公告第 1745 号、2445 号、269 号明确要求,自 2014 年 7 月 1 日起,撤销百草枯水剂登记和生产许可、停止生产,保留母药生产企业水剂出口境外使用登记,允许专供出口生产,2016 年 7 月 1 日停止水剂在国内销售和使用。百草枯可溶胶剂登记证于 2018 年 9 月 25 日到期,不再批准境内使用登记延续,自 2020 年

9 月 26 日起禁止百草枯可溶胶剂在境内销售、使用。

国际食品法典委员会、欧盟、美国、日本和我国等均已针对百草枯制定了最大残留限量标准及每日允许摄入量,国内外标准限量比较见表 1。GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》对百草枯的最大残留限量为 0.05~2.00 mg/kg。国家及相关行业均重视该限量的执行,出台了多种检测技术标准,例如 SN/T 2093—2014《出口植物源性食品中百草枯和敌草快残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》、SN/T 4698—2016《出口果蔬中百草枯检测 拉曼光谱法》、HJ 914—2017《水质百草枯和杀草快的测定 固相萃取-高效液相色谱法》、T/SQIA 001—2022《蔬菜水果中百草枯的快速检测 胶体金免疫层析法》、DB42/T 1790—2021《水中百草枯和敌草快的测定 液相色谱串联质谱法》等标准,具体信息见表 2。目前对于百草枯的研究较少,相关检验标准不全。鉴于百草枯的高极性、不易挥发以及其对紫外线的敏感性,并且残留量低、检验难度大^[5]的特点,因此准确、灵敏、快速地检测百草枯残留的分析方法成为了研究的热点。

表 1 国内外标准限量比较
Table 1 Comparison of standard limits at home and abroad

国内外标准	食品类别及最大残留限量/(mg/kg)				
	谷物	油料和油脂	蔬菜、水果	坚果	茶叶
中国	0.03~0.50	0.05~2.00	0.05~0.10	0.05	0.2
国际食品标准	0.03~0.50	0.10~2.00	0.01~0.02	0.05	0.2
欧盟	0.02~0.05	0.02~0.05	0.02~0.05	0.02	0.05
日本	0.02~0.50	2	0.01~0.10	0.05	0.2
美国	0.05~0.10	2	0.05~0.25	0.05	—

注:—表示无此项,表 2 同。

表 2 植物源性食品中百草枯残留量检验标准
Table 2 Inspection standards of paraquat herbicide residues in plant-derived foods

标准	检测方法	适用范围	检出限
SN/T 0293—2014	液相色谱-质谱/质谱法(liquid chromatography-tanderm mass spectrometry, LC-MS/MS)	粮食、豆类、水果、蔬菜	0.01 mg/kg
SN/T 4698—2016	拉曼光谱法	水果、蔬菜	0.01 mg/kg
HJ 914—2017	固相萃取-高效液相色谱法 (solid-phase extraction-high performance liquid chromatographhy, SPE-HPLC)	水	—
T/SQIA 001—2022	胶体金免疫层析法 (goldimmunochromatographic assay, GICA)	水果、蔬菜	—
DB42/T 1790—2021	LC-MS/MS	水	2~3 µg/L

本文围绕样品前处理和检测技术两个方面,综述了百草枯残留的分析方法,总结比较传统和新型分析方法的优缺点,为准确、灵敏测定植物源性食品中该类除草剂方法建立及标准制定提供一定参考。

1 前处理方法

百草枯极性较强,在极性溶剂中溶解度较大,使用水、甲醇和酸性甲醇作为提取溶剂。目前百草枯常用的前处理方法有液-液萃取法、SPE、衍生化法和极性农药快速提取法(quick polar pesticides extraction method, QuPPe)。

1.1 液-液萃取法

液-液萃取法是一种常用的分离技术,基于不同溶剂之间互溶性差异原理,以达到提纯并富集的目的。样品通常使用水、甲醇极性溶剂提取,后用石油醚、氯仿等非极性溶剂去除脂溶性杂质。NEEDHAM 等^[6]报道了一种检测大麻样品中百草枯的 HPLC 法。使用 6 mol/L 盐酸水溶液将样本中的百草枯提取出来,然后用氯仿/异丙醇的混合物净化水提取物除去脂溶性杂质,回收率为 90%~97%。由于食品类基质较为复杂,且百草枯在基质中含量较低,故较少使用简单的液液萃取法提取。

1.2 液-液微萃取法

液-液微萃取法利用少量液体的作为萃取剂来分离目标化合物,相较液-液萃取法来说,它有机溶剂消耗少,且是可以用于处理痕量组分的前处理技术。RASHIDIPOUR 等^[7]建立了盐辅助液-液萃取(salting-out liquid-liquid extraction, SALLE)和反相分散液-液微萃取法(reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction, RP-DLLME)测定环境和食品样品中百草枯的新方法,通过 SALLE 将百草枯萃取到乙腈中,然后采用 RP-DLLME 将其浓缩到水相中,应用于水、土壤和番茄、黄瓜、芹菜、生菜等蔬菜样品中百草枯浓度的测定。RAHIMI-KAKAVANDI 等^[8]使用三乙胺和水的混合物作为可切换的亲水性溶剂提取样本中的百草枯。

1.3 固相萃取法

SPE 利用选择性吸附和选择性洗脱的液相色谱分离的原理对样品进行分离、净化的方法。比传统的液液萃取法较能够提高回收率,操作简单,省时省力,广泛地应用于食品、化工等领域,可实现样本中痕量待测成分的分离。用于净化百草枯的萃取柱主要有专属性强的阳离子交换柱和 C₁₈ 柱、氰基柱^[9]、亲水亲脂混合柱^[10]。阳离子交换柱的填料通常是硅胶键合磺酸盐、羧酸盐等,在一定条件下实现样本的分离,比其他类型的萃取柱有回收率高、重复性好的优点。陈健豪^[11]使用 PCX 强阳离子交换小柱对茶叶中的百草枯进行净化,测得检出限为 0.004 mg/kg,相对标准偏差

(relative standard deviation, RSD)在 0.7%~8.0%之间。

1.4 磁分散固相萃取法

磁固相萃取是一种分散的 SPE 技术,使用磁性或磁性化材料作为吸附剂基质,与传统 SPE 法相比,具有非常高的萃取能力和萃取效率,在百草枯的分离和预富集中得到越来越多的应用。SHA 等^[12]以 Fe₃O₄@SiO₂ 纳米颗粒作为磁性固相萃取剂,将吸附在纳米颗粒上的百草枯用氢氧化钠和抗坏血酸洗脱。

1.5 衍生化法

衍生化是一种利用化学变换把化合物转化为其类似化合结构的过程,用于提高分析物检测灵敏度和选择性的化学转化方法,尤其适用于那些非挥发性、弱极性或难于直接检测的化合物。对于百草枯而言,其作为强极性化合物,衍生化能够将百草枯中的极性基团转化为无极性或者挥发性基团,使其进入常规仪器进行检测^[13]。LAMEI 等^[14]使用 NaBH₄ 还原百草枯,并将还原的衍生物提取到三乙胺中,检出限和定量限分别在 0.06~0.13 μg/L 和 0.2~0.3 μg/L 范围内,回收率在 90.9%~92.4%之间。GAO 等^[15]首先使用试剂混合物(NaBH₄-NiCl₂)还原百草枯,然后进行固相微萃取,回收率在 94%~100.34%之间。

1.6 极性农药快速提取法

QuPPe 法是由欧盟标准实验室开发的高极性农药残留检测方法,该方法允许使用 1%盐酸甲醇同时从食品和植物源基质中提取百草枯残留及其代谢物^[16]。HEYDEBRECK^[17]使用优化的 QuPPe 方法检测大豆中的百草枯残留,前处理简单,定量限为 0.008 mg/kg。陆静等^[18]使用甲醇-0.5 mol/L 盐酸溶液提取蔬菜水果中的百草枯,同时使用内标法和基质匹配曲线定量,适用于大量蔬菜水果样品中百草枯的高通量分析和检测。近年来研究者在检测食品中百草枯时对该法加以改进^[19-21],使用 QuPPe 方法中水和酸化甲醇提取,沉淀了部分蛋白质和其他杂质,同时使用 QuEChERS 法中的分散固相萃取(dispersive solid phase extraction, dSPE)进一步净化了复杂基质中的杂质,实现低残留样本的检测。KACZYŃSKI^[22]采用改良的 QuPPe 法和 QuEChERS 法结合检测小麦、土豆、洋葱等中的百草枯,该研究同时评估了 C₁₈、florisil、石墨化炭黑、壳聚糖和石墨烯等 5 种吸附剂净化小麦、土豆和豌豆中基质的效果。降低了样品基质的干扰,百草枯回收率在 64%~97%范围内。

2 检测方法

2.1 色谱法

2.1.1 高效液相色谱法

HPLC 在检测百草枯中至关重要。百草枯的化学结构

式为 $(C_{12}H_{14}N_2)^{2+}$,属于联吡啶杂环化合物。为使其能够被紫外检测,须经过衍生化后变成具有特征基团的物质,如加入芳香环、醛基、酮基等,从而可以间接在 HPLC 中检测到百草枯。RASHIDIPOUR 等^[7]将 SALLE 与 RP-DLLME 相结合,在 257 nm 处检测蔬菜的百草枯,检出限和定量限分别 0.0001 mg/kg 和 0.0005 mg/kg, RSD 为 3.5%~7.5%。唐骏等^[23]利用紫外检测器在 259 nm 检测食用菌中的百草枯,测得定量限为 0.001 mg/kg, RSD 为 1.23%~3.90%。HPLC 方法操作简单,重现性好,检出限高,对于极微量的百草枯进行定量有一定的困难^[24]。

2.1.2 离子色谱法

离子色谱电导检测法(ion chromatography conductivity, IC-CD)无需衍生,当样本通过阴离子交换柱时,百草枯阳离子会与固定相上的离子交换基团发生相互作用,从而实现与其他离子的分离。魏丹等^[9]通过柱切换使目标离子进入分析柱进行分离,用离子色谱法测定茶叶中的微量百草枯农药残留,检出限 0.0003 mg/kg, RSD 小于 10.1%。

2.2 色谱-质谱联用法

近年来,质谱检测发展迅速,其高准确性、高灵敏度的优势适合检测基质复杂的植物源性食品,与色谱联用后,更能准确的定性和定量。目前在百草枯检测方面较多应用的色谱-质谱法主要包括气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、反相液相色谱-质谱法和亲水作用色谱-质谱法(hydrophilic interaction chromatography-mass spectrometry, HILIC-MS)。

2.2.1 气相色谱-质谱法

GC-MS 是将色谱和质谱结合起来的技术,用于分析样品中的各种化合物,同时具备色谱好的分离性和质谱的高选择性。宫田娇等^[25]建立针对覆盆子果实、覆盆子枝叶和土壤中残留的百草枯的 GC-MS 定性分析方法,检出限分别为 0.005、0.005、0.008 mg/kg。但该方法需要进行复杂的衍生化反应,耗时长,效率低,前处理复杂,衍生过程难免会受到基质的影响,出现假阳性等情况。

2.2.2 液相色谱-质谱法

(1)反相液相色谱-质谱法

LC-MS/MS 对是否衍生都可检测,有灵敏度高的特点。国内外研究均以电喷雾离子源正离子模式、多反应监测模式质谱条件检测样品中百草枯的残留。孟宇珍等^[26]以百草枯氘代作为标准物质,检材样品调节 pH 后,经乙腈沉淀蛋白,使用苯基柱进行洗脱,在多反应监测模式下检测生物检材中百草枯及其代谢物。线性范围为 5~800 ng/mL, RSDs 为 5%~14%。TSAO 等^[27]采用百草枯的相应同位素标记的类似物作为内标,乙腈和二氯甲烷分别用于蛋白质沉淀和有机溶剂反洗,然后将上层水相注入 LC-MS/MS 系统。BAUER 等^[28]通过开发的方法对基质番茄、柠檬、奇亚籽、小麦进行验证,回收率为

77%~120%, RSD 为 1%~13%。传统的反相色谱柱难以有效保留,需使用离子对试剂提高百草枯在反相色谱柱上的保留能力,但离子对试剂易对质谱仪产生污染,且会降低百草枯的响应。

(2)亲水作用色谱-质谱法

百草枯属于极性较强的阳离子化合物,所以在正常的反相色谱柱中难以保留,但用 HILIC 柱中则得到保留,近年来国内外研究中使用 HILIC-MS 方法分析百草枯的频率逐步上升,且国内针对植物源性食品中的百草枯制订了 SN/T 2093—2014,水果、蔬菜、粮谷和豆类中的检出限均为 0.01 mg/kg,符合 GB 2763—2021 中规定的检测要求。亲水作用色谱不仅能够提高强极性物质的保留型,同时一定程度上增加了物质的信号强度。王成龙等^[10]对食用农产品中的百草枯进行了检测,用亲水亲脂聚合物固相萃取柱净化,使用正相氨基色谱柱,同时方法使用同位素内标稀释法的定量方式,补偿了部分样品存在的基质效应,结果准确且能满足各类样品基质检测需求。OULKAR 等^[29]用亲水相互作用色谱和串联电喷雾电离质谱检测水果中的百草枯,定量限为 0.01 mg/kg, RSD 小于 20.0%。该方法常与 QuPPe 前处理方法结合,用以测量食品中的百草枯残留量,以内标法和基质匹配曲线定量,结果较为准确,适用于大量食品中百草枯的高通量分析和检测。

2.3 光谱法

2.3.1 分光光度法

分光光度法是指通过测量待分析物在特定波长或一定波长处的吸光度,来对该分析化合物进行定量和定性分析。目前有两种光谱方法可用于检测百草枯。第一种方法是基于百草枯与碱性二硫代硫酸酯溶液反应时形成蓝色自由基。另一个是在乙醇、丙酮或淀粉存在下,由百草枯和 HgI_4^{2-} 形成的沉淀物悬浮液的稳定性^[30]。YAÑEZ-SEDEÑO 等^[31]发现 BiI_4^- 与阿拉伯树胶同时存在时可用于测定百草枯。样品加入 BiI_4^- ,这导致形成不溶于有机溶剂的红色沉淀物。加入阿拉伯树胶后,可以防止沉淀,得到橙色溶液。此方法检测快速,但蓝色自由基不太稳定,且不能进行微量检测,目前此方法已经较少使用。

2.3.2 表面增强拉曼光谱法

表面增强拉曼光谱法(surface enhanced raman spectra, SERS)指的是吸附在粗糙金属表面或半导体表面的分子具有一定的拉曼散射现象。其谱图可以看出分子结构、构象等信息。文献^[32]表明,拉曼基底可以实现 10^{14} ~ 10^{15} 的增强因子,远远超过了传统拉曼检测的效果,证明了 SERS 技术具有极高的检测灵敏度。SERS 在农残中的应用主要有直接测定和间接测定两种方法^[33]。直接测定法^[34]的原理是利用农药目标检测物与 SERS 基底的相互作用导致 SERS 信号增强来建立的分析方法。间接测定法^[35]主要分

为建立适配体传感器和自建预测模型 2 种。LIN 等^[36]使用 SERS 和金纳米星作为 SERS 基底来检测绿茶样品中广泛使用的农药百草枯, 检出限为 0.2 mg/kg。覃重阳等^[37]基于花状银衬底的 SERS 对不同茶类中的百草枯进行定性与定量检测。检出限最低为 1.86×10^{-2} mg/kg。

2.4 电化学检测

电化学传感器的使用代表了检测各种有机化合物(如农药和药物化合物)的首选工具, 因为它具有简单、快速、可靠、成本低、样品需求少、灵敏度高、响应快和仪器体积小等优点。根据电化学传感器的不同可分为纯金属的电极、金属纳米粒子电极、生物传感器、基于支撑或添加金属的电极和化学改性碳电极^[38]。贾丽丛等^[39]利用氧化石墨烯和多巴胺分子制备了聚多巴胺-还原氧化石墨烯复合膜, 通过复合膜传感器检测了百草枯。实验结果表明该传感器有好的电化学催化作用, 检出限为 2.2×10^{-8} mol/L。李猛^[40]采用水热法合成氧化铁掺杂 BCN 纳米片($\text{Fe}_2\text{O}_3\text{-BCN}$), 并成功构建了一种简单、低成本的 $\text{Fe}_2\text{O}_3\text{-BCN/GCE}$ 传感器用于检测环境中百草枯。SANT'ANNA 等^[41]开发了一种基于活性生物炭和还原氧化石墨烯的新型电化学传感器, 并对其进行了食品样品中百草枯的检测, 检出限和定量限分别为 0.02 $\mu\text{mol/L}$ 和 0.07 $\mu\text{mol/L}$ 。因此, 寻找一种检出限较低、线性范围宽、电极能反复使用、成本较低的检测方法仍是本领域努力的方向。

2.5 比色检测

比色法是测定百草枯的一种简便、快速的方法。在检测过程中颜色变化是明显的标志之一。在碱性溶液中还原百草枯的过程中, 溶液的颜色逐渐变为蓝色。蓝色的强度随着百草枯的浓度而变化。SIANGPROH 等^[42]建立了一种简便、快速、灵敏、经济的比色法测定百草枯的方法, 合成了柠檬酸盐包被的纳米银作为比色探针, 该检测方法的机制与正电荷百草枯诱导的带负电荷的 AgNPs 聚集有关, 正电荷百草枯由库仑吸引引起, 库仑吸引导致颜色根据百草枯的浓度从深绿黄色变为淡黄色。通过肉眼即可判定, 植物样品的检出限为 0.10 mg/L, 可用于植物源性食品的现场快速测定。

2.6 荧光检测

由于其灵敏度和简单性, 荧光是检测分析物的已知有效技术之一。它被广泛用于质量控制和临床实验室。然而, 常规荧光法不能用于检测百草枯, 因为百草枯不具有荧光开启特性。因此, 荧光猝灭法检测百草枯引起了研究者的重视。然而, 百草枯由于其强电负性, 导致猝灭所有荧光团, 并且猝灭常数为 10^7M^{-1} 。因此, 开发用于有效测定百草枯的荧光团更加烦琐和具有挑战性^[43]。REN 等^[44]提出了一种基于金纳米团簇的百草枯荧光传感方法, 检出限为 1.2 ng/mL。刘天月等^[45]合成了一种新的荧光探针用

于检测小白菜中的百草枯。由于设计探针及其他传感器步骤复杂, 不能实现大批量的百草枯检测。

2.7 免疫化学分析法

免疫分析法是以抗原-抗体反应为基础的分析方法。由于灵敏度高、特异性强, 所以有着重要的地位。百草枯作为一种小分子半抗原, 其本身不具备免疫原性, 无法触发免疫系统的抗体生成反应。只有当它与载体结合, 形成百草枯完全抗原后, 才具备引发免疫反应的能力。此外, 百草枯半抗原与载体结合的效果直接决定了所产生的抗体水平的高低, 这一结合结果进而对百草枯的免疫检测效果产生重要影响。因此, 研发新型、适用于合成完全抗原的百草枯半抗原, 具有至关重要的意义。

2.7.1 胶体金免疫层析法

GICA 是以胶体金为标记物, 根据抗原抗体原理, 在光镜、电子镜下对物质进行定性、定量的方法。其技术具有灵敏度高、操作简单、特异性高、检测时间短等特点, 得到广泛的应用^[46]。孙秀兰等^[47]采用金标免疫层析法检测粮食中的百草枯。通过柠檬酸三钠还原法制备胶体金, 研究胶体金与抗体蛋白的作用过程, 确定稳定标记 1.0 mL 胶体金需 8~10 μg 抗体蛋白, 标记体系的最佳 pH 为 8.5。以金标抗体为分析探针, PQ-h-OVA 为竞争抗原, 羊抗兔 IgG 为控制抗体, 构建直接竞争胶体金标免疫层析检测体系。李楠楠等^[48]研制了适用于生物样本中的痕量百草枯直接检测的免疫层析试纸条, 无需前处理即可定量检测。

2.7.2 酶联免疫分析法

酶联免疫分析法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)是各种免疫分析方法中最通用的一种, 通过被酶标记的抗原或抗体检测抗原抗体相互作用产生的复合物, 加入酶反应底物, 即可生成有色产物, 通过检测颜色变化, 达到检测的目的^[49]。欧阳子程^[50]基于单克隆抗体建立了百草枯残留检测的间接竞争酶联免疫法, 检出限为 0.015 $\mu\text{g/L}$ 。

2.8 毛细管电泳法

毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)是一种依据样品中各组分之间淌度和分配系数上的差异, 通过高压直流电场为驱动力的分析方法。该方法应用广泛, 可以分析离子型化合物, 具有操作简单、分析速度快、效率高和用量少等优点, 因而被广泛应用于生物医学、化工、环境和食品分析等领域。VU 等^[51]用一种具有电容耦合非接触式电导率检测(C^4D)的专用毛细管电泳仪器来检测百草枯。使用由 10 mmol/L 组氨酸组成的电解质用乙酸调节至 pH 4 来测定百草枯, 测得检出限为 0.5 mg/L。此方法简单且经济高效, 方便用于以早期诊断急性除草剂中毒。

近年来, 植物源性食品中百草枯残留分析方法的研究情况总结如表 3。

表 3 百草枯残留分析方法总结

基质	前处理	检测方法	检出限	文献
茶叶	SPE	IC-CD	0.0003 mg/kg	[9]
大白菜、雪梨、大米	液-液萃取+ SPE	LC-MS	0.00015 mg/kg	[10]
茶叶	液-液萃取+ SPE	LC-MS	0.004 mg/kg	[11]
水、苹果汁	液-液萃取+ 衍生	GC-FID	0.20 µg/L 和 0.06 µg/L	[14]
玉米、香菇、西兰花、橙子	QuPPE	LC-MS	0.002 mg/kg	[18]
大麦、小麦	QuEChERS+ QuPPE	LC-MS	0.006 mg/kg	[19]
植物源性食品	QuEChERS+ QuPPE	HILIC-MS	0.01 mg/kg	[22]
覆盆子果实 枝叶	液-液萃取	GC-MS	0.005 mg/kg	[25]
葡萄、苹果、石榴	QuPPE	HILIC-MS	0.01 mg/kg	[29]
绿茶、红茶、黑茶	液-液萃取+ SPE	SERS	0.0186 mg/kg	[37]
大白菜	液-液萃取	GICA	4.4 µmol/L	[47]
青菜、大豆	液-液萃取	GICA	0.51/1.52 mg/kg	[48]

注: 气相色谱-火焰离子化检测(gas chromatography-flame ionization detection, GC-FID)。

3 结束语

百草枯的性质特殊, 在痕量分析方面有一定的难度, 且现有的检验标准和各种检测方法均存在一定的不足之处, 为加强食品中百草枯残留量的监管和控制, 选择适宜的方法对提高检测的准确度和灵敏度至关重要。

对于前处理而言, SPE 节省溶剂, 但处理通量较小、操作烦琐, 且固相萃取柱及配件成本较高; 改良的 QuPPE 法和 QuEChERS 法结合, 处理简单、处理通量大, 且使用多种净化材料来满足复杂基质的净化要求。不受耗材、仪器成本制约时, 优先考虑改良的 QuEChERS 法和 QuPPE 法, 可以大幅度提高检测的精密度和效率。

近年来, 色谱-质谱联用被用于测定水果、蔬菜和中药材中的除草剂, 特别是 HILIC 的出现, 非常适用于极性农药的分析, 可用于精密的检测。对于快速实地的定性测定, 可以选择免疫分析法, 对于高精度要求的定量测定, 可选择色谱-质谱联用法, 两种方法互相补充、验证正逐步成为新的发展趋势。酶联免疫试剂盒技术的发展, 可对可能含有百草枯残留的样品进行快速的初筛, 检测出阳性样品后, 再用质谱定量, 最终实现植物源性食品中百草枯使用及残留量的高效率监管。当前亟需完善食品中百草枯的残留限量标准与发展相应的分析技术, 同时需要加强膳食暴露、残留量和毒性分析等综合研究, 确保食品的质量安全, 保障人民的健康安全。

参考文献

[1] 孙金秋, 马艳, 任相亮, 等. 百草枯新剂型的研究进展及未来应用前景分析[J]. 现代农药, 2020, 19(1): 6–9, 13.
SUN JQ, MA Y, REN XL, *et al.* Research progress and application prospect of new dosage forms of paraquat [J]. Mod Agrochem, 2019, 19(1): 6–9, 13.

[2] 王欣欣, 冯乃林. 百草枯中毒治疗的研究进展[J]. 现代农药, 2015, 14(2): 1–3, 7.
WANG XX, FENG NL. Research progress of paraquat poisoning treatment [J]. Mod Agrochem, 2015, 14(2): 1–3, 7.

[3] 吴思雨. 鱼藤酮和百草枯诱发帕金森病神经毒性及其线粒体相关膜蛋白机制[D]. 上海: 华东师范大学, 2018.
WU SY. Neurotoxicity induced by rotenone and paraquat in Parkinson's disease and its mitochondrial associated membrane protein mechanism [D]. Shanghai: East China Normal University, 2018.

[4] DAWSON AH, EDDLESTON M, SENARATHNA L, *et al.* Acute human lethal toxicity of agricultural pesticides: A prospective cohort study [J]. PloS Med, 2010, 7(10): e1000357.

[5] 胡继业, 赵殿英, 宁君, 等. 气相色谱-氮磷检测器测定草甘膦在土壤和苹果中的残留量[J]. 农药学学报, 2007(3): 285–290.
HU JY, ZHAO DY, NING J, *et al.* Determination of glyphosate residues in soil and apples by gas chromatography-nitrogen and phosphorus detector [J]. Chin J Pestic Sci, 2007(3): 285–290.

[6] NEEDHAM L, PASCHAL D, ROLLEN ZJ, *et al.* Determination of paraquat in marijuana by reversed-phase paired-ion high performance liquid chromatography [J]. J Chromatogr Sci, 1979, 17(2): 87–90.

[7] RASHIDIPOUR M, HEYDARI R, MALEKI A, *et al.* Salt-assisted liquid-liquid extraction coupled with reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction for sensitive HPLC determination of paraquat in environmental and food samples [J]. J Food Meas Char, 2019, 13: 269–276.

[8] RAHIMI-KAKAVANDI N, EZODDIN M, ABDI K, *et al.* Ion-pair switchable-hydrophilicity solvent-based homogeneous liquid-liquid microextraction for the determination of paraquat in environmental and biological samples before high-performance liquid chromatography [J]. J Sep Sci, 2017, 40(18): 3703–3709.

[9] 魏丹, 国明, 陶星名, 等. 在线大体积进样柱切换-离子色谱法测定茶叶中的微量敌草快和百草枯农药残留[J]. 农药, 2019, 58(1): 57–60.
WEI D, GUO M, TAO XM, *et al.* Determination of trace residues of paraquat and paraquat in tea by ion chromatography with on-line mass injection column switching [J]. Agrochemicals, 2019, 58(1): 57–60.

[10] 王成龙, 刘佳, 徐振林, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测 6 种样品基质中百草枯农药残留[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(12): 2155–2162.
WANG CL, LIU J, XU ZL, *et al.* Determination of paraquat pesticide residues in 6 samples by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Pharm Anal, 2022, 42(12): 2155–2162.

[11] 陈健豪. 固相萃取-同位素稀释-UPLC-MS/MS 法检测茶叶中百草枯和敌草快残留量[J]. 福建轻纺, 2021(5): 16–21.
CHEN JH. Determination of residues of paraquat and Diaquat in tea by solid phase extraction-isotope dilution-UPLC-MS /MS method [J]. Light Textile Ind Fujian, 2021(5): 16–21.

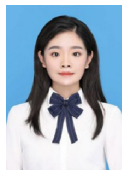
[12] SHA O, WANG Y, YIN X, *et al.* Magnetic solid-phase extraction using

- Fe₃O₄@SiO₂ magnetic nanoparticles followed by UV-Vis spectrometry for determination of paraquat in plasma and urine samples [J]. *J Anal Methods Chem*, 2017, 2017(1): 8704639.
- [13] NAVARATNE A, SUSANTHA N. An electroanalytical sensor for the detection of gramoxone (paraquat) [J]. *Anal Lett*, 2000, 33(8): 1491–1499.
- [14] LAMEI N, EZODDIN M, KAKAVANDI NR, *et al.* Ultrasound-assisted switchable solvent in determination of quaternary ammonium herbicide paraquat in biological, environmental water, and apple juice samples using chemical reduction process coupled to GC-MS detection [J]. *Chromatographia*, 2018, 81: 923–930.
- [15] GAO L, LIU J, WANG C, *et al.* Fast determination of paraquat in plasma and urine samples by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2014, 944: 136–140.
- [16] ANASTASSIADES M, KOLBERG DI, EICHHORN E, *et al.* Quick method for the numerous highly polar pesticides in food of involving extraction with acidified methanol and LC-MS/MS measurement (QuPpe method, version 11) [EB/OL]. [2020-12-02]. [https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlSRM/meth_QuPpe_PO_V11\(1\).pdf](https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlSRM/meth_QuPpe_PO_V11(1).pdf) [2024-10-12].
- [17] HEYDEBRECK F. Monitoring of paraquat in soya products intended for animal feed [J]. *Int J Food Contam*, 2021, 8: 1–9.
- [18] 陆静, 成婧, 杨纯, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜水果中的百草枯和敌草快残留 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(2): 586–593.
- LU J, CHENG J, YANG C, *et al.* Determination of fast residues of paraquat and Diaquat in vegetables and fruits by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(2): 586–593.
- [19] FRANCESQUETT JZ, RIZZETTI TM, CADAVAL J, *et al.* Simultaneous determination of the quaternary ammonium pesticides paraquat, diquat, chlormequat, and mepiquat in barley and wheat using a modified quick polar pesticides method, diluted standard addition calibration and hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1592: 101–111.
- [20] CAÑO-CARRILLO I, MARTÍNEZ-PIERNAS AB, GILBERT-LÓPEZ B, *et al.* Simultaneous analysis of highly polar and multi-residue-type pesticides by heart-cutting 2D-LC-MS [J]. *Talanta*, 2024, 266: 124918.
- [21] TSAGKARIS AS, NELIS JLD, ROSS GMS, *et al.* Critical assessment of recent trends related to screening and confirmatory analytical methods for selected food contaminants and allergens [J]. *TrAC Trends Anal Chem*, 2019, 121: 115688.
- [22] KACZYŃSKI P. Clean-up and matrix effect in LC-MS/MS analysis of food of plant origin for high polar herbicides [J]. *Food Chem*, 2017, 230: 524–531.
- [23] 唐俊, 漆仲华, 史陶中, 等. 微波提取-高效液相色谱法测定食用菌中百草枯 [J]. *食品科学*, 2013, 34(6): 188–191.
- TANG J, QI ZH, SHI TZ, *et al.* Determination of paraquat in edible fungi by microwave extraction and high performance liquid chromatography [J]. *Food Sci*, 2013, 34(6): 188–191.
- [24] 范家明, 刘河, 李鹏飞, 等. 血浆、尿液中百草枯定量检测方法研究进展 [J]. *国际检验医学杂志*, 2018, 39(14): 1753–1756.
- FAN JM, LIU H, LI PF, *et al.* Research progress of quantitative detection methods of paraquat in plasma and urine [J]. *Int J Lab Med*, 2018, 39(14): 1753–1756.
- [25] 宫田娇, 于晓军. 气相色谱-质谱法检测体内、体外百草枯 [J]. *食品工业*, 2019, 40(4): 292–295.
- GONG TJ, YU XJ. Determination of paraquat *in vivo* and *in vitro* by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Food Ind*, 2019, 40(4): 292–295.
- [26] 孟宇珍, 龚铎, 李文越, 等. 液相色谱-三重四极杆质谱法同时检测生物检材中百草枯及其代谢物 [J]. *刑事技术*, 2022, 47(1): 49–57.
- MENG YZ, GONG D, LI WY, *et al.* Simultaneous determination of paraquat and its metabolites in biological samples by liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Forensic Sci Technol*, 2022, 47(1): 49–57.
- [27] TSAO YC, LAI YC, LIU HC, *et al.* Simultaneous determination and quantitation of paraquat, diquat, glufosinate and glyphosate in postmortem blood and urine by LC-MS-MS [J]. *J Anal Toxicol*, 2016, 40(6): 427–436.
- [28] BAUER A, LUETJOHANN J, ROHN S, *et al.* Development of an LC-MS/MS method for simultaneous determination of the quaternary ammonium herbicides paraquat, diquat, chlormequat, and mepiquat in plant-derived commodities [J]. *Food Anal Method*, 2018, 11: 2237–2243.
- [29] OULKAR D, SHINDE R, KHAN Z, *et al.* High throughput residue analysis of paraquat and diquat involving hydrophilic interaction liquid chromatographic separation and mass spectrometric determination [J]. *Food Addit Contam: Part A*, 2019, 36(1): 120–130.
- [30] KESARI R, RAI M, GUPTA VK. Spectrophotometric method for determination of paraquat in food and biological samples [J]. *J Aoac Int*, 1997, 80(2): 388–391.
- [31] YAÑEZ-SEDEÑO P, DIEZ LMP. Spectrophotometric determination of paraquat with BiI₄[−] in the presence of gum arabic [J]. *Talanta*, 1986, 33(9): 745–747.
- [32] 曹晓林, 江泽军, 洪思慧, 等. 利用拉曼光谱识别新烟碱类农药 [J]. *分析实验室*, 2017, 36(9): 1007–1010.
- CAO XL, JIANG ZJ, HONG SH, *et al.* Identification of neonicotinoids by Raman spectroscopy [J]. *Chin J Anal Lab*, 2017, 36(9): 1007–1010.
- [33] 黎小椿, 庞永丰, 苏可珍, 等. 表面增强拉曼光谱法测定农药残留的研究进展 [J]. *食品科技*, 2019, 44(12): 354–359.
- LI XC, PANG YF, SU KZ, *et al.* Research progress of surface enhanced Raman spectroscopy for the determination of pesticide residues [J]. *Food Sci Technol*, 2019, 44(12): 354–359.
- [34] 沈起兵, 刘同方, 李淑娟, 等. 水果中农药残留的表面增强拉曼光谱技术快速检测研究 [J]. *现代农业科技*, 2023(2): 90–94.
- SHEN QB, LIU TF, LI SJ, *et al.* Rapid detection of pesticide residues in fruits by surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. *Mod Agric Sci Technol*, 2023(2): 90–94.
- [35] 徐芳. MOFs 负载 TGA 修饰 AuNPs 的 SERS 传感器研究及其在检测百草枯和敌草快中的应用 [D]. 广州: 华南理工大学, 2022.
- XU F. Study on SERS sensor modified with MOFs loaded TGA-modified AuNPs and its application in detecting paraquat and Diparaquat [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2022.
- [36] LIN MH, SUN L, KONG F, *et al.* Rapid detection of paraquat residues in green tea using surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) coupled with gold nanostars [J]. *Food Control*, 2021, 130: 108280.
- [37] 覃重阳, 张媛媛, 邓薪睿, 等. 表面增强拉曼光谱法快速检测茶叶中百

- 草枯与敌百虫农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(14): 4439–4446.
- QIN CY, ZHANG YY, DENG XR, *et al.* Rapid detection of paraquat and trichlorfon residues in tea by surface enhanced Raman spectroscopy [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(14): 4439–4446.
- [38] LAGHRIB F, BAKASSE M, LAHRICH S, *et al.* Electrochemical sensors for improved detection of paraquat in food samples: A review [J]. Mater Sci Eng: C, 2020, 107: 110349.
- [39] 贾丽丛, 任晓雪, 郝紫羽, 等. 纳米金/聚多巴胺-还原氧化石墨烯复合膜修饰传感器的构建及对百草枯测定研究[J]. 化学研究与应用, 2020, 32(10): 1753–1758.
- JIA LC, REN XX, HAO ZY *et al.* Construction of nano-gold/polydopamine-reduced graphene oxide composite membrane modified sensor and its determination of paraquat [J]. Chem Res Appl, 2020, 32(10): 1753–1758.
- [40] 李猛. 基于金属负载 BCN 纳米复合材料对环境水体中有机污染物的电化学传感研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2022.
- LI M. Electrochemical sensing of organic pollutants in environmental water based on metal-supported BCN nanocomposites [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2022.
- [41] SANT'ANNA MVS, JONATAS DOSS, GEVAERD A, *et al.* Selective carbonaceous-based (nano) composite sensors for electrochemical determination of paraquat in food samples [J]. Food Chem, 2022, 373: 131521.
- [42] SIANGPROH W, SOMBOONSUK T, CHAILAPAKUL O, *et al.* Novel colorimetric assay for paraquat detection on-silica bead using negatively charged silver nanoparticles [J]. Talanta, 2017, 174: 448–453.
- [43] YAO F, LIU H, WANG G, *et al.* Determination of paraquat in water samples using a sensitive fluorescent probe titration method [J]. J Environ Sci, 2013, 25(6): 1245–1251.
- [44] REN HX, MAO MX, LI M, *et al.* A fluorescent detection for paraquat based on β -CDs-enhanced fluorescent gold nanoclusters [J]. Foods, 2021, 10(6): 1178.
- [45] 刘天月, 高兢松, 周帅, 等. 智能手机辅助铜纳米簇/金属有机框架杂化荧光探针检测小白菜中的百草枯[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(18): 231–238.
- LIU TY, GAO JH, ZHOU S, *et al.* Detection of paraquat in Chinese cabbage by smart phone-assisted copper nanocluster/metal-organic framework hybrid fluorescence probe [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(18): 231–238.
- [46] 司芳芳, 郭逸蓉, 赵颖, 等. 纳米标记免疫层析法在农药残留检测中的应用研究进展[J]. 农药学报, 2017, 19(4): 409–417.
- SI FF, GUO YR, ZHAO Y, *et al.* Application of nano-labeled immunochromatography in the detection of pesticide residues [J]. Chin J Pestic Sci, 2017, 19(4): 409–417.
- [47] 孙秀兰, 杨婷婷, 张银志. 粮食中百草枯残留的金标免疫层析检测方法研究[J]. 分析测试学报, 2010, 29(5): 507–510.
- SUN XL, YANG TT, ZHANG YZ. Study on gold standard immunochromatographic method for detection of paraquat residues in grain [J]. J Instrum Anal, 2010, 29(5): 507–510.
- [48] 李楠楠, 谢斯哲, 莫冬冬, 等. 两种检测百草枯中毒的免疫层析试纸条研制[J]. 军事医学, 2022, 46(12): 932–938.
- LI NN, XIE SZ, MO DD, *et al.* Development of two kinds of immunochromatographic test strips for detecting paraquat poisoning [J]. Mil Med Sci, 2022, 46(12): 932–938.
- [49] 周邦萌, 李其美. 酶联免疫吸附分析技术在食品农药残留检测中的应用探究[J]. 食品安全导刊, 2020(18): 87–88.
- ZHOU BM, LI QM. Application of enzyme-linked immunosorbent assay in the detection of pesticide residues in food [J]. China Food Saf Magaz, 2020(18): 87–88.
- [50] 欧阳子程. 蔬菜中百草枯残留的免疫学快速检测方法学研究[D]. 深圳: 深圳大学, 2020.
- OUYANG ZC. Study on rapid immunological detection method of paraquat residues in vegetables [D]. Shenzhen: Shenzhen University, 2020.
- [51] VU AP, NGUYEN TN, DO TT, *et al.* Clinical screening of paraquat in plasma samples using cap00691lary electrophoresis with contactless conductivity detection: Towards rapid diagnosis and therapeutic treatment of acute paraquat poisoning in Vietnam [J]. J Chromatogr B, 2017, 1060: 111–117.

(责任编辑: 安香玉 于梦娇)

作者简介



陈艳芳, 硕士研究生, 主要研究方向为中药质量控制与安全性研究。
E-mail: 1992232906@qq.com



周逸凡, 硕士, 中药师, 主要研究方向为中药制剂开发及质量控制研究。
E-mail: zlisayfavor@163.com



苗水, 硕士, 主任药师, 主要研究方向为中药、天然药物及保健食品和有害残留物的质量标准研究。
E-mail: qmiao2008@163.com