Carb/PSA 固相萃取净化-气相色谱质谱法测定茶叶中的 34 种农药成分

陈健航，叶瑜霏，张少丰，梁志刚，尹小菲，吴春梅
（东莞市农产品质量安全监督检测所，广东东莞 523086）

摘要：建立了茶叶中34种农药多残留的气相色谱质谱分析方法。茶叶样品用乙腈一次性提取后，经Carb/PSA固相萃取小柱净化，气相色谱质谱定性定量。添加回收试验的结果表明：34种农药的平均回收率为70%~124%，相对标准偏差为0.2%~14.9%。方法的检出限为0.1~25.0 μg/kg。该方法的灵敏度、准确度和精密度均符合农药残留测定的技术要求。

关键词：固相萃取；气相色谱质谱法；农药残留；茶叶

文章篇号：1673-9078(2012)8-1080-1083

Detemination of 34 Pesiticide Residues in Tea by GC-MS with Carb/PSA Solid-phase Extraction

CHEN Jian-hang, YE Yu-fei, ZHANG Shao-feng, LIANG Zhi-gang, YIN Xiao-fei, WU Chun-mei
(Dongguan Supervision and Test Institution of Agricultural Products Quality and Safety, Dongguan 523086, China)

Abstract: A multiresidue analytical method was developed for the determination of 34 pesticide residues in tea using gas chromatography-mass spectrometry. The samples were extracted by acetonitrile and cleaned up by Carb/PSA solid phase extraction(SPE) columns. The results of the spiked level test showed that the average recovery of 34 pesticides ranged from 70% to 124% with relative standard deviations (RSDs) of 0.2%~14.9%. The limits of detection were 0.1~25.0 μg/kg. The sensitivity and accuracy meet the requirements of the multiple pesticide residue analysis.

Key words: SPE; gas chromatography-mass spectrometry; pesticide recidues; tea

我国是茶叶的生产和贸易大国之一，近年来欧盟、日本等国家或地区对进口茶叶实施更为严格的农药残留检测标准，茶叶检测项目不断增加，最大残留限量大幅降低。欧盟在2006年更新了茶叶中农药残留的 MRL，对大多数农药采用方法检出限作为 MRL；日本 2006 年 5 月 29 日起正式施行的《食品中农业化学品肯定列表制度》规定与茶叶有关的农药残留限量标准涉及 251 种，其最大残留限量标准也更加苛刻[1]。

本文中涉及的农药品种，有的早已在我国农业上禁用，如六六六、滴滴涕；有的近年在我国农业上禁用，如久效磷、对硫磷、甲基对硫磷等；有的在我国茶叶作物上禁用，如氰戊菊酯；有的因高毒，我国正在考虑禁用或者多年来实际不用于茶叶作物，如甲拌磷、治螟磷、灭线磷、地虫硫磷、特丁硫磷、水胺硫磷等。六六六、氰戊菊酯、水胺硫磷等农药虽然国家陆续禁用，但是国家农业部等单位的茶叶监测计划、英国食品能力验证计划（FAPAS）等均包括这些项目的测定和考核。一些执法抽检是以是否检测出禁用农药残留为执法依据。因此建立一种实用的茶叶中 34 种农药多残留检测方法具有实际应用的意义。

收稿日期：2012-05-09

作者简介：陈健航，农艺师

茶叶基体复杂，其中含有大量的色素、茶多酚、生物碱、有机酸、糖类、蛋白质、蜡质等大分子物质[3]，因此选择合适的净化方法尤为重要。目前茶叶中农残检测的研究主要采用 Carb/NH_2 固相萃取小柱净化，GC-FPD 检测有机磷类农药多残留，GC-ECD 检测有机氯和拟除虫菊酯类农药多残留[4-7]。近年来随着多残留检测需求的发展，不少研究采用气相色谱质谱法对茶叶中的农残定性确证和定量检测[1~2,8~9]。茶叶中使用 Carb 和 PSA 串联的 Carb/PSA 固相萃取小柱净化的研究还鲜有报道。

本研究结合实际工作，在参考已有文献的基础上，重点考察了茶叶中农药残留的提取和净化方式，建立了茶叶中有机磷、有机氯和拟除虫菊酯类 34 种农药多残留的气相色谱质谱分析方法。适用于绿茶、乌

龙茶、红茶和普洱茶等茶叶中多种农药残留的检测。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Agilent 6890N-5973B 气相色谱质谱联用仪：美国安捷伦公司；搅拌机：飞利浦公司；多功能振动器：德国 IKA-Werke Gmbh 公司；3-18K 离心机：Sigma 公司；Labora 4003 旋转蒸发仪：德国 Heidoph 公司。

乙腈、甲苯、正己烷、丙酮、二氯甲烷均为色谱纯。

Supelco Carb/NH_2 固相萃取小柱(500 mg, 6 mL)、Supelco Carb/PSA 固相萃取小柱(500 mg, 6 mL)、Supelco Florisil 固相萃取小柱(500 mg, 6 mL)、Supelco Eniv-Carb 固相萃取小柱(500 mg, 6 mL)。

标准溶液：治螟磷、久效磷、甲拌磷、甲基对硫磷、乐果、毒死蜱、杀螟硫磷、对硫磷、水胺硫磷、甲基异柳磷、喹硫磷、敌百虫、灭线磷、特丁硫磷、二嗪磷、地虫硫磷、倍硫磷、三唑酮、*p,p*'-滴滴伊、*p,p*'-滴滴滴、*o,p*'-滴滴涕、*p,p*'-滴滴涕、五氯硝基苯、乙烯菌核利、联苯菊酯、甲氰菊酯、氯氟氰菊酯、氟氯氰菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯、*α*-六六六、*β*-六六六、*γ*-六六六、*δ*-六六六（1000 mg/L，农业部环境保护科研监测所（天津））。

1.2 标准储备液的配制

分别准确吸取 0.8 mL 农药 1000 mg/L 单标母液，以丙酮或正己烷定容至 20 mL,配制成 40 mg/L 的单标储备溶液，分装到八个 5 mL 贮液瓶，置于-20 ℃冰箱中保存。使用时取一瓶以正己烷稀释并配制成所需的混合标准工作液。

1.3 色谱-质谱条件

DB-5MS UI（30 m×0.25 μm ×0.25 mm），氦气流速 1.2 mL/min。柱温起始温度 95 ℃，保持 1.5 min，以 20 ℃/min 升温到 190 ℃，以 5 ℃/min 升温到 230 ℃，以 25 ℃/min 升温到 275 ℃，以 25 ℃/min 升温到 290 ℃，保持 8 min。不分流进样方式，进样量为 2 μL。进样口温度 250 ℃，传输线温度 280 ℃，离子源 230 ℃，MS 四极杆 150 ℃。

1.4 茶叶提取

准确称取磨碎的茶叶样品 5.00 g，置于 50 mL 离心管中，加入 20 mL 乙腈，超声提取 20 min，8000 r/min 离心 5 min，转移上清液。再加入 10 mL 乙腈，超声提取 20 min，8000 r/min 离心 5 min，合并上清液于鸡心瓶中。45 ℃水浴旋转蒸发至近干，加入 2 mL 乙腈+甲苯（3+1）溶解。

1.5 提取液的净化

先用 5 mL 乙腈+甲苯（3+1）预淋洗 Carb/PSA 固相萃取小柱，将 1.4 节中待净化液上样并收集滤液，用乙腈+甲苯（3+1）清洗鸡心瓶两次（每次 2 mL），将洗涤液一并加到小柱上，再用 25 mL 乙腈+甲苯（3+1）洗脱，收集滤液于 45 ℃水浴旋转蒸发至近干，正己烷定容 2 mL。

2 结果与讨论

2.1 提取液的选择

茶叶中含有大量的色素，而且同时检测的农药项目较多，极性差别较大。茶叶中农残检测经常采用乙腈、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯/正己烷、丙酮/正己烷作为提取溶剂。通过实验发现，后 4 种有机溶剂提取样品后，颜色比乙腈提取液深，说明许多杂质同时被提取，而采用乙腈提取，虽然回收率无明显改善，但是提取的杂质较少。乙腈具有极性大、穿透力强的特点，也是最适合萃取宽范围农药多残留的溶剂，因此方法选了乙腈作为提取溶剂。各农药的典型质谱图见图 1，空白试验质谱图见图 2。

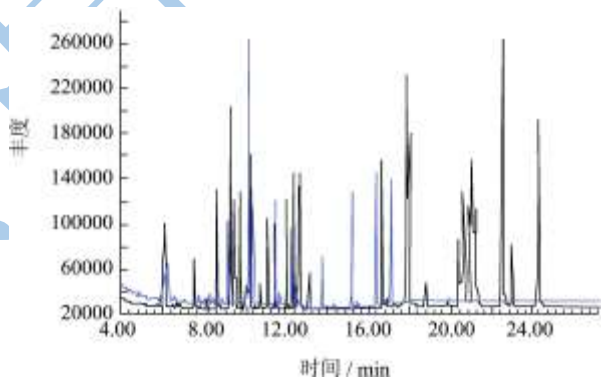


图 1 34 种农药质谱图

Fig.1 GC-MS chromatogram of 34 pesiticide residues

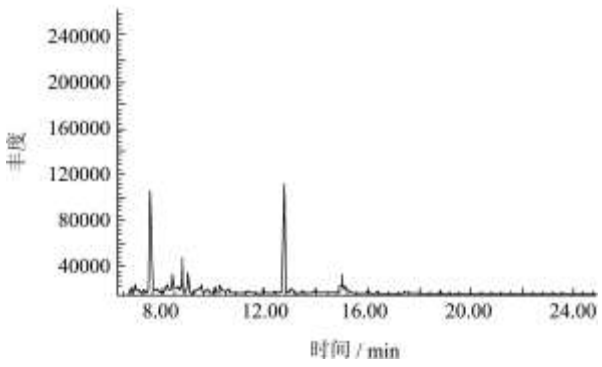


图 2 乌龙空白基质质谱图

Fig.2 GC-MS chromatogram of woolong tea blank

2.2 固相萃取小柱的选择

试验研究了 Eniv-Carb 柱、Florisil 柱、Carb/NH_2 和 Carb/PSA 固相萃取小柱的净化效果。结果表明：

Carb/NH_2 或 Carb/PSA 固相萃取小柱效果明显好于 Eniv-Carb 柱和 Florisil 柱。而 Carb/NH_2 和 Carb/PSA 两种固相萃取小柱的效果接近。使用 Carb/PSA 固相萃取小柱净化，部分农药的回收率优于 Carb/NH_2 固相萃取小柱，见图 3。因此本实验采用 Carb/PSA 固相萃取小柱净化。

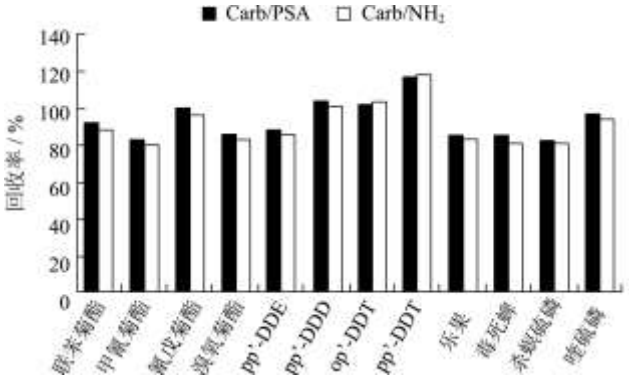


图3 回收率比较

Fig.3 Comparison of the recovery of 12 compounds

2.3 淋洗体系的选择

Carb/PSA 净化的淋洗体系，比较了乙腈+甲苯（3+1）与丙酮+二氯甲烷（1+1），34 种农药的添加回收率接近，无显著性差别。乙腈+甲苯（3+1）的净化效果比丙酮+二氯甲烷（1+1）稍好一些，明显基线更平稳，干扰少。因此本次实验选用乙腈+甲苯（3+1）淋洗体系。

实验结果表明，25 mL 洗脱液就能达到完全的回收，本方法选择的洗脱量为 25 mL。

2.4 基质效应

许多研究采用 Carb/NH_2 小柱净化后上 FPD 检测有机磷农药残留，ECD 检测有机氯和拟除虫菊酯类农药残留。但是作者研究发现，茶叶基体杂质对毒死蜱、溴氰菊酯的气相色谱定量存在干扰。而使用 Carb/PSA 净化，采用选择离子监测模式下(SIM)定性定量的 GC-MS 检测，消除了火焰光度检测器-气相色谱法（FPD-GC）测定毒死蜱和电子捕获检测器-气相色谱法（ECD-GC）测定溴氰菊酯的基质干扰。

2.5 标准曲线、线性范围及检出限的测定

将混合农药标准储备液配制成0.04、0.08、0.16、0.4(0.48) mg/L的系列标准工作液，备用。

以乌龙茶为例，分别准确称取5.00 g空白茶叶样品5份于50 mL离心管中，按照1.4和1.5节进行样品前处理，45 ℃水浴旋转蒸发至近干后加入相应浓度的标准工作液，即得基质校准工作溶液。按照1.3节色谱条件进行测定，以峰面积(Y)对质量浓度(X, m g /L)进行线性回归，得到各化合物的线性回归方程和相关系数(r)，所有化合物的r值均大于0.99。结果表明：在相应的质量浓度范围内，各农药的响应值与其质量浓度均呈良好的线性关系，见表1。

2.6 方法的回收率和精密度

在已知不含 34 种农药的 5.00 g 空白茶叶样品中，分别加入 0.1，0.2，0.4 mL 混合标准储备液（浓度为 4 mg/L），静置 1 h，使各种农药标准品被茶叶充分吸收，然后按照本实验方法提取、净化和检测。并使用茶叶空白基质标液校准得到相应的测定值。重复 5 次测定，计算各种农药的平均回收率和相对标准偏差（RSD），结果见表 1。

表1 34种化合物的定性定量离子、线性范围、相关系数、线性方程、检出限、平均回收率和相对标准偏差

Table 1 Quantative and qualitative ions, linear ranges, correlation coefficients(r), linear equations, limits of detection, average recoveries and RSDs of the 34 compounds

No.	Compound	RT/ min	Quantitive ion(m/z)	Qualitative ion(m/z)	Linear range (mg/kg)	r	Linear equation	LOD/ (μg/kg)	Recovery (RSD)/%		
									0.08 mg/kg	0.16 mg/kg	0.32 mg/kg
1	治螟磷	9.001	322	202,238	0.04~0.40	1.000	Y=178000X-1600	1	76(0.2)	77(4.8)	74(2.7)
2	久效磷	9.05	127	192,97	0.04~0.40	0.999	Y=249000X-4420	18.8	78(5.5)	72(2.7)	71(1.0)
3	甲拌磷	9.225	121	260,231	0.04~0.40	1.000	Y=58900X-568	21.4	76(1.1)	74(6.3)	76(4.8)
4	α-六六六	9.33	181	219,183	0.04~0.40	1.000	Y=84900X+345	2.4	70(12.3)	79(6.8)	77(6.2)
5	乐果	9.531	125	93,229	0.04~0.40	1.000	Y=16800X-200	18.2	87(5.9)	95(5.1)	80(2.7)
6	β-六六六	9.77	219	183,181	0.04~0.40	1.000	Y=73300X+186	4.4	70(10.7)	79(5.2)	79(9.3)
7	γ-六六六	9.917	181	183,219	0.04~0.40	1.000	Y=74300X-68	3.2	72(14.0)	73(13.3)	80(10.2)
8	δ-六六六	10.47	219	183,181	0.04~0.40	1.000	Y=71400X-117	3.8	74(14.9)	80(9.0)	75(8.1)
9	甲基对硫磷	11.2	263	125,109	0.04~0.40	0.993	Y=111000X-3260	7.5	85(0.2)	80(8.6)	77(3.9)
10	杀螟硫磷	11.75	277	125,260	0.04~0.40	0.995	Y=63100X-1340	6.8	83(0.4)	79(6.6)	75(3.4)
11	毒死蜱	12.13	197	314,199	0.04~0.40	1.000	Y=77800X+1210	2	77(4.3)	87(6.7)	79(0.8)

转下页

接上页

12	对硫磷	12.33	291	109,139	0.04~0.40	0.991	Y=86400X-2850	6.3	89(0.2)	81(6.4)	75(1.2)
13	水胺硫磷	12.43	136	230,289	0.04~0.40	0.999	Y=47500X-1000	7.2	89(7.5)	82(12.0)	72(10.5)
14	甲基异柳磷	12.85	199	231,241	0.04~0.40	1.000	Y=218000X-2540	1	81(0.4)	81(6.8)	76(2.3)
15	联苯菊酯	17.55	181	166,197	0.04~0.40	0.992	Y=778000X+138000	5	116(12.0)	121(12.5)	84(4.7)
16	甲氰菊酯	17.72	181	125,265	0.04~0.40	1.000	Y=61400X+715	3.8	81(12.2)	86(8.3)	77(5.7)
17	氯氟氰菊酯	18.49	181	197,208	0.04~0.40	1.000	Y=161000X+3890	4.1	88(12.9)	97(12.5)	78(11.9)
18	氟氯氰菊酯	20.13 20.27 20.36 20.41	181	163,226	0.04~0.40	0.996	Y=15200X-194	25	98(8.1)	81(13.1)	72(5.5)
19	氯氰菊酯	20.61 20.79 20.88 20.95	181	163,208	0.04~0.40	0.995	Y=6330X+289	22.2	86(11.4)	94(10.3)	75(5.3)
20	氰戊菊酯	22.23 22.66	167	181,419	0.04~0.40	1.000	Y=37500X+695	15.4	110(12.5)	124(9.7)	100(7.6)
21	溴氰菊酯	23.46 23.97	181	251,253	0.04~0.40	0.995	Y=67900X-1550	18.5	102(7.8)	94(9.4)	76(13.5)
22	灭线磷	8.719	158	200,242	0.04~0.48	0.999	Y=62200X-5	12.5	91(10.8)	120(9.2)	117(9.4)
23	五氯硝基苯	9.812	237	295,249	0.04~0.48	0.998	Y=17800+6	4.1	87(6.9)	114(7.9)	123(3.2)
24	特丁硫磷	9.959	231	153,288	0.04~0.48	0.998	Y=141000+1320	2	98(13.8)	98(12.0)	96(12.6)
25	二嗪磷	10.02	179	137,304	0.04~0.48	0.999	Y=105000X-946	2.4	75(13.7)	75(7.5)	114(5.7)
26	地虫硫磷	10.06	109	137,246	0.04~0.48	1.000	Y=134000X-373	10.1	71(8.4)	71(10.5)	70(10.3)
27	乙烯菌核利	11.09	285	212,198	0.04~0.48	0.999	Y=42700X-347	5	98(13.9)	96(13.8)	110(4.0)
28	倍硫磷	12.23	278	125,169	0.04~0.48	0.998	Y=251000-3410	0.5	85(11.4)	77(10.8)	70(7.9)
29	三唑酮	12.39	208	181,210	0.04~0.48	0.999	Y=64700X-728	12.3	71(8.0)	78(6.4)	79(4.9)
30	喹硫磷	13.42	146	157,298	0.04~0.48	0.997	Y=26900X-512	4	103(6.3)	100(8.3)	96(10.5)
31	*p,p*'-DDE	14.85	246	318,248	0.04~0.48	1.000	Y=198000X-728	3.6	84(10.2)	87(8.0)	100(3.1)
32	*p,p*'-DDD	16.02	234	237,199	0.04~0.48	0.999	Y=485000X-562	3.6	97(3.1)	105(2.2)	119(2.4)
33	*o,p*'-DDT	16.07	234	237,165	0.04~0.48	0.999	Y=485000X-562	2.7	97(3.1)	105(2.2)	119(2.4)
34	*p,p*'-DDT	16.76	234	237,246	0.04~0.48	0.991	Y=147000X-4790	3.4	121(12.3)	124(6.9)	114(3.0)

实验结果表明：34 种农药的平均回收率范围为70%~124%，RSD 范围为 0.2%~14.9%，准确度和精密度均达到农药残留分析的要求。

2.7 实际样品测定

表2 FAPAS茶叶中农残测定结果

Table 2 Determination of FAPAS pesticide residues in tea

Compound	Determination value/(μg/kg)	|z|
p,p'-DDE	100	1.2
杀螟硫磷	248	1.4
喹硫磷	48.7	1.5

参加英国FAPAS食品分析水平测试计划19102（tea），在所确定的样品预处理和色谱条件下进行处理和测定。考核样品定性准确，各化合物测试结果的|z|≦2，全部结果满意。结果表明本方法满足茶叶中多残留检测的要求。具体数据见表2。

3 结论

本法采用乙腈溶液一次性提取茶叶中农残，Carb/PSA固相萃取净化，气相色谱质谱法检测茶叶中34种农残。该方法实用性强，操作简单，适用于茶叶中多残留检测的要求。与目前主要采用Carb/NH_2固相萃取小柱净化的方法可以接轨兼用，而采用Carb/PSA固相萃取小柱净化，乐果、毒死蜱、杀螟硫磷、喹硫磷、联苯菊酯、甲氰菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯、*pp*'-DDE、*pp*'-DDD

的回收率比采用Carb/NH_2固相萃取小柱净化的方法更优。该方法能去除茶叶中大部分的色素和干扰物，减少仪器维护的成本，满足茶叶农药残留限量检测要求。

参考文献

[1] 陈红平,刘新,汪庆华,等.气相色谱-串联质谱法测定茶叶中88 种农药残留量[J].色谱,2011,29(5):409-416

[2] 王兴宁,蔡秋,朱明,等.固相萃取净化-气相色谱/串联质谱法测定茶叶中 54 种农药残留量[J].分析试验室,2011,30(11):110-116

[3] 蒋俊树,赵彬,周莉.气相色谱-质谱法测定茶叶中 36 种农药残留[J].食品科学,2009,30(14):276

[4] 楼正云,陈宗懋,罗逢健.固相萃取-气相色谱法测定茶叶中残留的 92 种农药[J].色谱,2008,26(5):568-576

[5] 蒋永祥,叶丽,汤淼荣.茶叶中 7 种有机磷农药残留量的同时测定[J].分析试验室,2007,26(1):97-101

[6] 叶江雷,陈銮,弓振斌,等.GC-μECD/FPD 同时测定茶叶中多种有机氯、拟除虫菊酯和有机磷农药残留[J].食品科学,2007,28(11):428-434

[7] 徐倩,刘静明,诸思燕,等.茶叶有机磷及菊酯类农药残留检测中净化处理的研究[J].食品科学,2005,26(8):299-302

[8] 沈崇钰,沈伟健,蒋原,等.气相色谱-负化学源质谱联用法测定菊酯类农药[J].分析化学,2006,34(9):S36-40

[9] 胡贝贞,沈国军,邵铁锋,等.加速溶剂萃取/凝胶渗透色谱-固相萃取净化/气相色谱-质谱法测定茶叶中残留的 33 种农药[J].分析试验室,2009,28(1):80-83

[10] 冼燕萍,郭新华,黄金凤,等.高效液相色谱-荧光法测定茶叶中的苯并(α)芘残留量的研究[J].现代食品科技,2008,3:281-282,289

[11] 凌育赵.反相高效液相色谱测定白毛茶水提取物中的嘌呤碱[J].现代食品科技,2005,2:147-149,137

现代食品科技