

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 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。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

文章编号: 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 $\mu\text{g}/\text{kg}$. 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

收稿日期: 2012-05-09

作者简介: 陈健航, 农艺师

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。

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/NH₂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^[11-28-9]。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；多功能振荡器：德国 IKA-Werke GmbH 公司；3-18K 离心机：Sigma 公司；Labora 4003 旋转蒸发器：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/NH₂ 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、啶硫磷、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'*-滴滴涕、*o,p'*-滴滴涕、五氯硝基苯、乙烯菌核利、联苯菊酯、甲氰菊酯、氯氟菊酯、氟氯菊酯、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 °C 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 °C，保持 1.5 min，以 20 °C/min 升温到 190 °C，以 5 °C/min 升温到 230 °C，以 25 °C/min 升温到 275 °C，以 25 °C/min 升温到 290 °C，保持 8 min。不分流进样方式，进样量为 2 μL。进样口温度 250 °C，传输线温度 280 °C，离子源 230 °C，MS 四极杆 150 °C。

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 °C 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 °C 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。

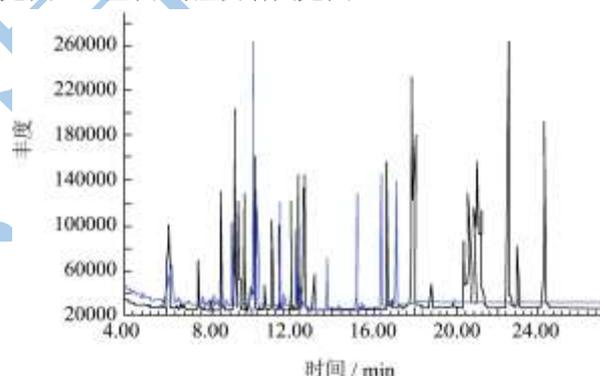


图 1 34 种农药质谱图

Fig.1 GC-MS chromatogram of 34 pesticide residues

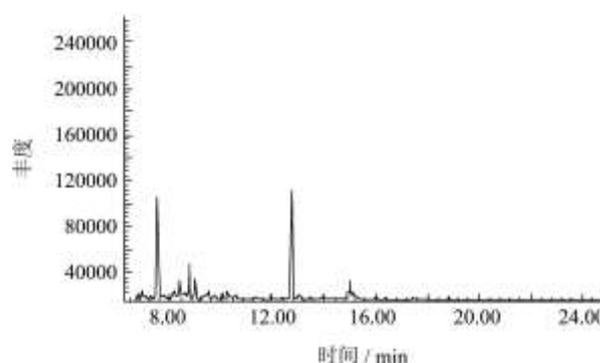


图 2 乌龙空白基质质谱图

Fig.2 GC-MS chromatogram of wulong tea blank

2.2 固相萃取小柱的选择

试验研究了 Eniv-Carb 柱、Florisil 柱、Carb/NH₂ 和 Carb/PSA 固相萃取小柱的净化效果。结果表明：

Carb/NH₂ 或 Carb/PSA 固相萃取小柱效果明显好于 Eniv-Carb 柱和 Florisil 柱。而 Carb/NH₂ 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/NH₂ 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。

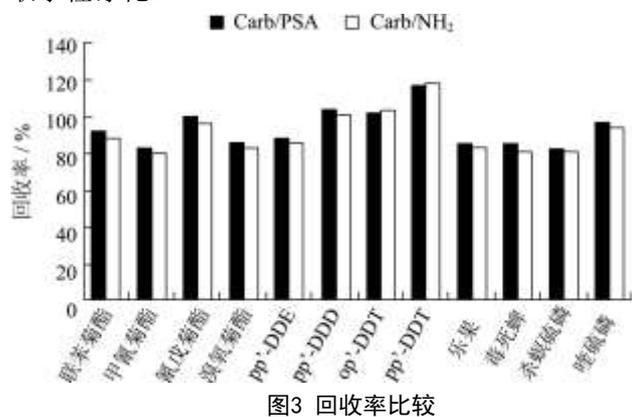


图3 回收率比较

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/NH₂ 小柱净化后上 FPD 检测

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	Quantitative ion(m/z)	Qualitative ion(m/z)	Linear range (mg/kg)	r	Linear equation	LOD/(μ g/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)

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 °C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, mg/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。

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)

		20.13									
18	氟氯氰菊酯	20.27 20.36	181	163,226	0.04~0.40	0.996	Y=15200X-194	25	98(8.1)	81(13.1)	72(5.5)

		20.41									
		20.61									
19	氯氰菊酯	20.79 20.88	181	163,208	0.04~0.40	0.995	Y=6330X+289	22.2	86(11.4)	94(10.3)	75(5.3)

		20.95									
20	氟戊菊酯	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	啶硫磷	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	<i>p,p'</i> -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	<i>p,p'</i> -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	<i>o,p'</i> -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	<i>p,p'</i> -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

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/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	z
<i>p,p'</i> -DDE	100	1.2
杀螟硫磷	248	1.4
啶硫磷	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 $|z| \leq 2$ ，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/NH₂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、啶硫磷、联苯菊酯、甲氰菊酯、氟戊菊酯、溴氰菊酯、*pp'*-DDE、*pp'*-DDD

的回收率比采用Carb/NH₂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,陈鑫,弓振斌,等.GC- μ ECD/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] 洗燕萍,郭新华,黄金凤,等.高效液相色谱-荧光法测定茶叶中的苯并(a)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