

固相萃取-气相色谱质谱法测定茶叶中 11 种 农药残留量

郭红勤*, 詹 磊

(永州市疾病预防控制中心, 永州 425000)

摘 要: **目的** 建立固相萃取-气相色谱质谱联用法测定茶叶中 11 种农药残留量的分析方法。**方法** 茶叶样品中的农药残留经丙酮提取, 无水硫酸镁除水, 采用 Carbon/NH₂ 固相萃取柱在线净化与富集, DB-17MS 毛细管柱分离检测, 多离子反应模式, 外标法定量。**结果** 在 20~200 mg/L 的浓度范围, 11 种农药残留均与其对应的峰面积呈线性关系, 方法的检出限($S/N=3$)在 0.001~0.018 mg/kg 之间。以空白样品为基体进行加标回收实验, 所得回收率在 72.0%~93.2%之间, 测定值的相对标准偏差($n=6$)在 2.35%~6.34%之间。**结论** 该方法准确度较高、稳定性较好、检出限低, 适用于茶叶样品中有机磷、氨基甲酸酯、拟除虫菊酯和杀菌剂等多组分农药残留量的同时测定。

关键词: 固相萃取; 气相色谱仪质谱联用法; 茶叶; 农药残留

Determination of 11 kinds of pesticide residues in tea by solid phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry

GUO Hong-Qin*, ZHAN Lei

(Yongzhou Municipal Center for Disease Control and Prevention, Yongzhou 425000, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 11 kinds of pesticide residues in tea by solid phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry. **Methods** The pesticide residues in the tea were extracted with acetone, and the water was removed by anhydrous magnesium sulfate. The carbon/NH₂ solid phase extraction column was used for on-line purification and enrichment, DB-17MS capillary column for separation detection, with multi-ion reaction mode, and external standard method for quantity. **Results** In the concentration range of 20~200 mg/L, the 11 kinds of pesticide residues showed a linear relationship with their corresponding peak areas. The detection limit ($S/N=3$) of the method was between 0.001 mg/kg and 0.018 mg/kg. The blank sample was used as the matrix to carry out the spike recovery test. The recoveries were between 72.0% and 93.2%, and the relative standard deviations of the measured values ($n=6$) were between 2.35% and 6.34%. **Conclusion** This method has high accuracy and stability, and has low detection limit, which is suitable for simultaneous determination of multi-component pesticide residues such as organophosphorus, carbamate, pyrethroid and bactericide in tea samples.

KEY WORDS: solid phase extraction; gas chromatography-mass spectrometry; tea; pesticide residues

*通讯作者: 郭红勤, 主管技师, 主要研究方向为食品安全风险检测。E-mail: 849379032@qq.com

*Corresponding author: GUO Hong-Qin, Chief Technician, Yongzhou Center for Disease Control and Prevention, No. 159, Station Road, Lengshuitan District, Yongzhou 425000, China. E-mail: 849379032@qq.com

1 引言

随着农业产业化的大力发展,农产品越来越依赖于激素、抗生素和农药等外源物质。我国的农药在茶叶、蔬菜、水果^[1]、粮食上的用量一直居高不下,而这些物质的不合理使用必将导致农产品农药残留超标,影响消费者的食用安全,严重时还会造成消费者生病、发育畸形,甚至会导致中毒死亡。近年来茶叶中农药残留问题越来越受到人们的关注,茶叶是我们国家的特产,随着人民生活水平的提高,茶文化的兴起,喝茶已成为我国传统生活的一部分^[2]。而随着茶叶需求量的增加,人们越来越重视茶叶安全问题,对茶叶的品质也有了更高的要求,其中茶叶的农药残留问题一直是人们关注的热点^[3-5]。目前国内茶叶生产中存在农药用量大、次数多、滥用的现象^[6],例如,2015年杭州地区范围内采集的75份茶叶中菊酯类农残的检出率高达为53.3%,40份阳性样品中有30份的样品检出农药种类高于2种^[7]。因此,建立茶叶中多种农药残留的快速、简便、准确的检测方法具有重要的实际意义^[8-11]。

茶叶中多种类农残检测的传统方法是分类别检测,样品在前处理上采用液液萃取方法,取样量大、有机试剂消耗大、后续净化处理效果差、前处理周期长等,本研究选用的样品前处理方法,在农残的提取过程中采用固相萃取装置这种前处理技术对茶叶中的农药残留进行富集与净化,它的优点在于萃取效率高,可提高检测的灵敏度,节省溶剂,可自动化批量处理,重现性好等,已广泛应用于食品、农产品、环境、药材中农药的残留分析^[12,13]。由于气相色谱法测定茶叶中农药残留量时,有机氯、拟除虫菊酯和其他种类的农药所用的检测器不同,而且样品前处理也不相同,因此检测较为复杂,存在耗时长、成本高等不足之处^[14,15]。

本方法利用溶剂超声提取,固相萃取仪进行批量净化浓缩,采用气相色谱质谱联用仪(gas chromatography-mass spectrometer, GC/MS)对茶叶中具有代表性的菊酯类农药联苯菊酯、甲氰菊酯、氯氟氰菊酯、氟氯氰菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯和有机氯类农药三氯杀螨醇以及分子结构中含有杂环或醛基等结构的其他种类杀虫剂虫螨腈、啉虫脒、茚虫威进行定性定量分析,快速高效,回收率好,以期实现茶叶中多种类农药残留的同时快速检测。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

2.1.1 仪器

7890B-5977A 气相色谱质谱联用仪、Carbon/NH₂ 固相萃取柱 500 mg/6 mL (美国安捷伦科技公司); GX-274 固相萃取仪(美国吉尔森公司); EV311 旋转蒸发仪(河南莱伯科

泰有限公司); TTL-DCII 氮吹浓缩仪(辽宁赛亚斯科技有限公司)。

2.1.2 试剂

无水硫酸镁(分析纯,国药集团化学试剂有限公司),使用前经过灼烧(600 °C 烘烤 3 h); 丙酮(色谱纯,国药集团化学试剂有限公司); 二氯甲烷(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。三氯杀螨醇、虫螨腈、联苯菊酯、甲氰菊酯、氯氟氰菊酯、啉虫脒、氟氯氰菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯、茚虫威、溴氰菊酯标准物质均购自农业部环境保护科研监测所,浓度为 100 µg/mL,不确定度在±(0.06~0.28)之间,使用时用丙酮稀释到所需要的浓度。

2.2 实验方法

2.2.1 标准与样品的处理

(1) 标准溶液的配制

将各农药标准品用丙酮稀释,依据各种农药的响应情况配制混合标准储备液,其中,三氯杀螨醇、虫螨腈、啉虫脒、茚虫威为 5.0 µg/mL; 甲氰菊酯、联苯菊酯为 2.0 µg/mL; 其他菊酯类均为 8.0 µg/mL 的储备液,再分别吸取各储备液,用丙酮稀释,配成不同浓度的混合标准工作液。其中三氯杀螨醇、虫螨腈、啉虫脒、茚虫威的标准系列浓度分别为 0.25、1.25、2.5、5.0 µg/mL; 甲氰菊酯、联苯菊酯分别为 0.1、0.5、1.0、2.0 µg/mL; 其他菊酯类分别为 0.4、2.0、4.0、8.0 µg/mL。

(2) 样品的处理

准确称取 2.5 g 茶叶样品于塑料离心管中,加入 25 mL 丙酮,10 g 无水硫酸镁,超声提取 10 min; 以 5000 rpm 离心 5 min。准确移取 15 mL 样品提取液,在 45 °C 水浴中用旋转蒸发仪减压浓缩至近干,浓缩液于固相萃取系统上进行净化富集。收集洗脱液(15 mL)于 50 mL 锥形瓶中,在 45 °C 水浴中用旋转蒸发仪减压浓缩至近 3 mL 后转移至 5 mL 刻度试管中,浓缩液用氮气吹至近干后用 1 mL 丙酮准确定容,待气相色谱质谱仪分析测定。

2.2.2 分析条件

(1) 固相萃取富集设备的洗脱条件

设置好全自动固相萃取装置,系统设置 3 个步骤。活化: 分别用 10 mL 体积比为 1:1 的丙酮和二氯甲烷的混合溶液作为淋洗液活化 Carbon/NH₂ 固相萃取柱; 上样: 调节上样速度,使样品浓缩液均匀转移到已活化的固相萃取柱上; 洗脱: 加样结束,用 12 mL 淋洗液以 0.7 mL/min 的速度淋洗小柱,淋洗洗脱目标化合物,收集洗脱液。

(2) 气相色谱-质谱分析条件

色谱柱: DB-17MS 毛细管色谱柱(30 m×250 µm, 0.25 µm); 汽化室温度: 250 °C; 程序升温: 初始温度: 80 °C, 保持 1 min, 以 20 °C/min 升至 180 °C, 保持 2 min, 再以 10 °C/min 升至 280 °C, 保持 14 min; 色谱柱流速: 1.0 mL/min, 恒流模式; 载气为高纯氮气, 纯度≥99.999%;

进样方式: 不分流进样; 进样量: 1.0 μL ; 电离方式: EI; 离子源温度: 230 $^{\circ}\text{C}$; 四级杆温度: 150 $^{\circ}\text{C}$; 传输线温度: 280 $^{\circ}\text{C}$; 溶剂延迟: 8 min。标准溶液中 11 种农药的保留时间、定性和定量离子见表 1。

3 结果与分析

3.1 11 种农药混合标准溶液的特征离子流色谱图

按照 2.2.2(2)中设定的工作条件, 配制混合农药标准溶液进样, 采用 SCAN 扫描模式进行定性, SIM 扫描模式进行定量, 每种化合物均有很高的信噪比且得到了很好的分离。采用峰面积外标法定量, 其中氟氯氰菊酯、氯氰菊

酯、氰戊菊酯的峰面积以各异构体的峰面积之和计算。在该色谱条件下农药混合标准溶液的特征离子流谱图见图 1, 其中各峰号所对应的化合物同表 1。

3.2 方法的线性范围及检出限

配制 11 种农药混合标准系列的浓度在 20~200 mg/L 时, 以峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标, 二者有良好的线性关系。若按 3 倍信噪比($S/N=3$)确定方法检出限、10 倍信噪比($S/N=10$)确定方法定量限, 11 种组分的检出限和定量限如表 2 所示, 检出限为 0.001~0.018 mg/kg , 定量限为 0.003~0.060 mg/kg 。说明该方法灵敏度满足工作要求。

表 1 11 种农药残留的保留时间及定性、定量离子
Table 1 Retention time and qualitative and quantitative ions of 11 pesticide residues

序号	农药	保留时间/min	定量离子	定性离子
1	三氯杀螨醇	14.6	139	75 111 250
2	虫螨腈	16.2	247	137 363 328
3	联苯菊酯	17.7	181	165 166
4	甲氰菊酯	18.5	265	181 349
5	氯氟氰菊酯	19.0	181	197 208
6	啉虫脒	21.7	166	126 152 221
7	氟氯氰菊酯(1-3)	21.9~22.3	163	206 226
8	氯氰菊酯(1-3)	23.0~23.4	163	165 181
9	氰戊菊酯(1-2)	26.0~26.8	167	225 181
10	茚虫威	28.9	527	264 218 203
11	溴氰菊酯	29.9	181	253 251 172

注: 序号为 7、8 和 9 的农药种类有 2~3 个同分异构体

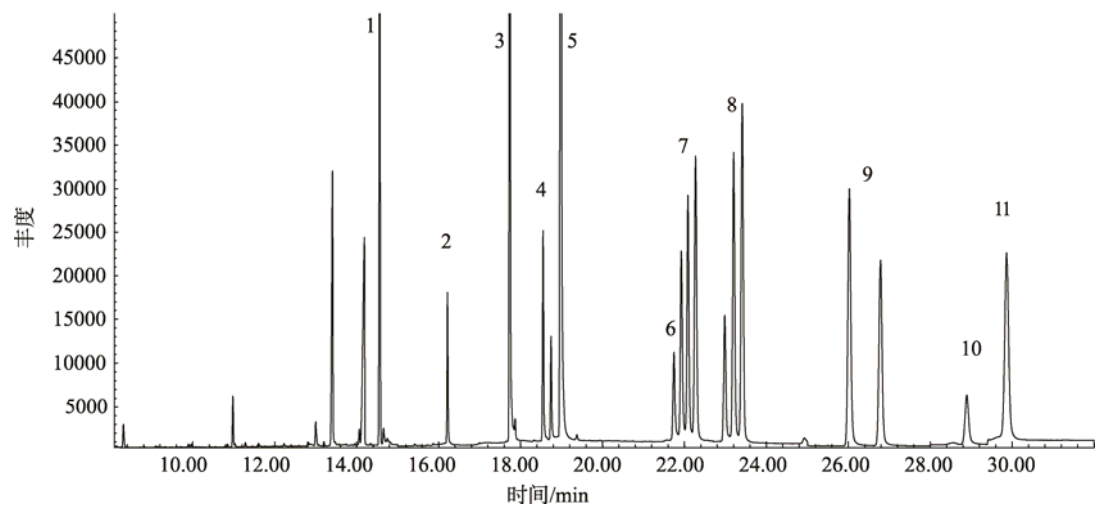


图 1 11 种农药混合标准溶液的特征离子流图
Fig.1 Characteristic ion flow diagram of 11 pesticide mixed standard solutions

表 2 11 种农药的线性范围、相关系数和检出限
Table 2 Linear range, correlation coefficient and detection limit of 11 pesticides

农药组分	线性方程	相关系数(r)	检出限/(mg/kg)	定量限/(mg/kg)
三氯杀螨醇	Y=13484.2X-8975	0.9994	0.002	0.007
虫螨腈	Y=1770.0X-563	0.9989	0.010	0.033
联苯菊酯	Y=71290.0X-47231	0.9992	0.002	0.007
甲氰菊酯	Y=13384.2X-5646	0.9992	0.008	0.027
氯氟氰菊酯	Y=25319.5X-15987	0.9995	0.001	0.003
啶虫脒	Y=2583.5X-1259	0.9981	0.016	0.053
氟氯氰菊酯	Y=17267.5X-23561	0.9996	0.002	0.007
氯氰菊酯	Y=13769.7X-10236	0.9992	0.002	0.007
氰戊菊酯	Y=18705.4X-15674	0.9997	0.003	0.010
茚虫威	Y=1186.9X-856	0.9984	0.018	0.060
溴氰菊酯	Y=7935.2X-6542	0.9992	0.006	0.020

表 3 方法的回收率及精密度实验结果(n=6)
Table 3 Recovery and precision of the method (n=6)

目标物	加标水平/(μg/mL)	测定值/(μg/mL)	回收率/%	RSD/%
三氯杀螨醇	0.5	0.446	89.2	5.32
	5.0	4.60	92.0	3.54
虫螨腈	0.5	0.399	79.8	2.78
	5.0	4.38	87.6	3.96
联苯菊酯	0.5	0.456	93.2	4.35
	5.0	5.06	81.2	3.51
甲氰菊酯	0.5	0.395	79.0	5.35
	5.0	4.52	90.4	4.63
氯氟氰菊酯	0.5	0.451	90.2	2.35
	5.0	5.29	85.8	3.14
啶虫脒	0.5	0.406	81.2	5.61
	5.0	4.76	85.2	6.32
氟氯氰菊酯	0.5	0.393	78.6	3.64
	5.0	4.58	86.6	4.32
氯氰菊酯	0.5	0.446	79.2	5.31
	5.0	4.56	81.2	4.68
氰戊菊酯	0.5	0.447	79.4	3.36
	5.0	4.32	86.4	2.52
茚虫威	0.5	0.395	72.0	5.47
	5.0	4.51	86.2	6.34
溴氰菊酯	0.5	0.462	82.4	4.21
	5.0	4.84	86.8	3.68

3.3 方法的精密度和回收率

为了考察方法的准确度与精密度,在空白茶叶样品中添加 2 种不同浓度的混合标准溶液,按照与样品相同的检测方法进行加标回收实验,每种水平重复 6 次,11 种杀虫剂的加标回收率为 72.0%~93.2%,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 2.35%~6.34%(见表 3)。

3.4 实际样品测定

采用本方法对 52 份茶叶样品进行检测,检出联苯菊酯 14 份,氯氟氰菊酯 5 份,氯氰菊酯 3 份,甲氰菊酯 3 份,三氯杀螨 1 份,其他未检出,联苯菊酯的检出率最高,含量为 0.018~1.34 mg/kg,除了联苯菊酯外,其他农药的残留范围在 0.016~0.66 mg/kg 之间。采用气质联用仪检测时,通

通过对特征离子的选择可以有效排除大部分的干扰物质^[16],大大提高了定性的准确性,避免了假阳性的干扰。

4 结 论

本研究采用固相萃取装置结合气相色谱-质谱联用技术同时测定茶叶中 11 种不同类别的农药残留量,回收率和精密度指标良好,检出限低,具有较高的准确度和可靠性,适合茶叶样品中多组分农药残留的检测。

参考文献

- [1] 范志刚, 林红, 王勇, 等. 气质联用检测草莓中毒死蜱残留量检出限测定方法研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 4(3): 944-949.
Fan ZG, Lin H, Wang Y, *et al.* Study on determination methods of detection limits of chlorpyrifos residues in strawberry by GC-MS [J]. J Food Saf Qual, 2013, 4(3): 944-949.
- [2] 郑国建, 骆少君. 提高茶叶质量 促进“茶为国饮”[C]. 倡导茶为国饮 打造杭为茶都 高级论坛论文集, 2005, (4): 9-13.
Zheng GJ, Luo SJ. Improving tea quality, promoting ‘tea to be national drink’ [C]. Promoting ‘tea to be national drink’, Building ‘Hangzhou as the tea capital of China’ Senior Forum, 2005, (4): 9-13.
- [3] 朱涛, 朱莉萍, 周宏琛, 等. 固相微萃取-气相色谱-质谱法检测 30 种农药残留[J]. 分析试验室, 2013, (3): 115-120.
Zhu T, Zhu LP, Zhou HC, *et al.* Determination of different kinds of pesticides by SPME-GC/MS [J]. Chin J Anal Lab, 2013, (3): 115-120.
- [4] 罗逢健, 陈宗懋, 汤富彬, 等. 固相萃取和气相色谱-质谱法测定茶叶中 34 种农药残留[J]. 农药, 2010, 49(5): 363-366.
Luo FJ, Chen ZM, Tang FB, *et al.* Determination of 34 pesticide residues in tea by solid phase-extraction and gas-chromatography-mass spectrometry [J]. Pesticide, 2010, 49(5): 363-366.
- [5] 谢吉林, 肖海军, 张假, 等. 分散固相萃取-气质联用法同时检测茶叶中 32 种农药多残留[J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2015, 40(12): 27-32.
Xie JL, Xiao HJ, Zhang W, *et al.* Determination of 32 pesticides in tea by GC-MS with dispersive solid phase extraction [J]. J Southwest Norm Univ (Nat Sci Ed), 2015, 40(12): 27-32.
- [6] 郑国建, 高海燕. 我国茶叶产品质量安全现状分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(7): 2869-2872.
Zheng GJ, Gao HY. The status analysis of tea quality safety in China [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(7): 2869-2872.
- [7] 任韧, 王妹婷, 何华丽, 等. 杭州地区市售茶叶中拟除虫菊酯类农药残留调查和分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(16): 1465-1467.
Ren R, Wang ST, He HL, *et al.* Investigation and analysis on the pyrethroid residues in tea from Hangzhou [J]. Chin J Health Lab Technol, 2016, 26(16): 1465-1467.
- [8] 胡贝贞, 蔡海江, 宋伟华. 茶叶中氟虫腈等 8 种农药残留的液相色谱-串联质谱法测定及不确定度评定[J]. 色谱, 2011, 30(9): 889-895.
Hu BZ, Cai HJ, Song WH. Determination of eight pesticide residues in tea by liquid chromatography- tandem mass spectrometry and its uncertainty evaluation [J]. Chin J Chromatogr, 2011, 30(9): 889-895.
- [9] 韩璐, 陈达炜, 吕冰, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速筛查茶叶中的多种农药残留[J]. 中国食品卫生杂志, 2015, 27(4): 386-393.
Han L, Chen DW, Lv B, *et al.* Rapid screening of multi-residue pesticides in tea by UPLC-MS/MS [J]. Chin J Food Hyg, 2015, 27(4): 386-393.
- [10] 刘腾飞, 杨代凤, 董明辉, 等. 分散固相萃取-气相色谱法测定茶鲜叶中 7 种拟除虫菊酯类农药残留[J]. 农药学报, 2015, 17(5): 571-578.
Liu TF, Yang DF, Dong MH, *et al.* Determination of pyrethroid residues in fresh tea leaves by dispersive solid phase extraction and gas chromatography [J]. Chin J Pest Sci, 2015, 17(5): 571-578.
- [11] 高艺溪, 陈萍虹, 聂丹丹. 气相色谱-串联质谱双内标法测定茶叶中 53 种农药残留[J]. 色谱, 2018, 36(6): 531-540.
Gao YX, Chen PH, Nie DD. Determination of pesticide residues in tea by gas chromatography-tandem mass spectrometry and double internal standard method [J]. Chin J Chromatogr, 2018, 36(6): 531-540.
- [12] 宓捷波, 张然, 王飞, 等. 在线固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定动物源食品中阿维菌素和伊维菌素的残留量[J]. 理化检验-化学分册, 2017, 53(9): 1009-1013.
Mi JB, Zhang R, Wang F, *et al.* Determination of avermectin and ivermectin residues in animal origin foods by LC-MS/MS coupled with online solid phase extraction [J]. Phys Test Chem Anal Part B Chem Anal, 2017, 53(9): 1009-1013.
- [13] 梁娜娜, 韩深, 王珮玥, 等. 在线固相萃取-液质联用检测饮用水中 9 种 PPCPs[J]. 分析试验室, 2018, 37(9): 1029-1032.
Liang NN, Han S, Wang PY, *et al.* The determination method of nine trace PPCPs pollutants in drinking water by the coupling technique of the on-line solid phase extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Chin J Anal Lab, 2018, 37(9): 1029-1032.
- [14] 陈浩, 王豹, 韦明元, 等. SPE-GC 在水果和蔬菜有机磷农药残留分析中的应用[J]. 食品科学, 2004, 25(10): 235-238.
Chen H, Wang B, Wei MY, *et al.* The application of SPE-GC method in residue detection of organ phosphorus pesticides in fruits and vegetables [J]. Food Sci, 2004, 25(10): 235-238.
- [15] 陈霞, 张雪梅, 杨华梅, 等. 凝胶渗透色谱-气相色谱法测定蔬菜中 24 种有机磷和氨基甲酸酯类农药残留[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(1): 75-76.
Chen X, Zhang XM, Yang HM, *et al.* Determination of 24 organophosphorus and carbamate pesticide residues in vegetables by gas chromatography with gel permeation chromatography [J]. Chin J Health Lab Technol, 2009, 19(1): 75-76.
- [16] 高利芳, 陈如登, 郭辉, 等. 气相色谱和气相色谱质谱联用在农药残留检测[J]. 福建农业科技, 2015, (8): 73-75.
Gao LF, Chen RD, Guo H, *et al.* Application of GC and GC-MS combination in pesticide residues detection [J]. Fujian Agric Sci Technol, 2015, (8): 73-75.

(责任编辑: 苏笑芳)

作者简介



郭红勤, 主管技师, 主要研究方向为食品安全风险检测。
E-mail: 849379032@qq.com