

二步净化-气相色谱-串联质谱测定茶叶中 22 种农药残留量

陈丽娟^{1,2}, 杨方^{1,2*}, 李捷^{1,2}, 李耀平^{1,2}

(1. 福州海关技术中心, 福州 350001; 2. 福建省检验检疫技术研究重点实验室, 福州 350001)

摘要: 目的 建立了基于多酚-钙沉淀及磁性吸附材料二步净化与气相色谱-串联质谱测定茶叶中多种农药残留的方法。**方法** 根据多酚类物质与金属离子尤其是钙离子的作用原理在前处理方法中引入无水氯化钙进行初步净化和除水, 后续采用磁性石墨烯与石墨化炭黑进行二次净化。对提取方式、二步净化条件进行了优化, 选择了 22 种有代表性的农药化合物, 验证了线性范围、检出限、定量限、精密度与回收率, 并对仅采用磁性石墨烯进行净化可行性进行了探讨。**结果** 所建立的方法在 0~200 ng/mL 浓度范围呈良好线性关系, 相关系数均大于 0.995, 在 0.01、0.05 和 0.10 mg/kg 添加水平下, 平均回收率为 63.03%~98.69%, 相对标准偏差为 2%~21%, 检出限和定量限分别在 1~10 µg/kg 和 5~35 µg/kg。**结论** 该方法操作简便、准确、快速, 适用于乌龙茶、红茶和黑茶中农药残留的分析与监控。

关键词: 二步净化; 茶叶; 农药残留; 气相色谱-串联质谱

Determination of multi-pesticide residues in tea by two-step clean-up and gas chromatography-tandem mass spectrometry

CHEN Li-Juan^{1,2}, YANG Fang^{1,2*}, LI Jie^{1,2}, LI Yao-Ping^{1,2}

(1. *Technology Center of Fuzhou Customs, Fuzhou 350001, China*; 2. *Fujian Key Laboratory for Technology Research of Inspection and Quarantine, Fuzhou 350001, China*)

ABSTRACT: Objective To establish a method for determination of multi-pesticide residues in tea based on polyphenol-calcium precipitation and magnetic adsorption material two-step clean-up and gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** According to the principle of action of polyphenols and metal ions, especially calcium ions, anhydrous calcium chloride was introduced into the pretreatment method for preliminary clean-up and water removal, followed by secondary clean-up using magnetic graphene and graphitized carbon black. The extraction method and conditions of the two-step clean-up method were optimized, and 22 representative pesticide compounds were selected, and the linear range, detection limit, limit of quantification, precision, and recovery were verified. The feasibility of clean-up using only magnetic graphene was discussed. **Results** The established method had a good linear relationship in the concentration range of 0 to 200 ng/mL, and the correlation coefficients were all greater than 0.995. At the addition levels of 0.01, 0.05, and 0.10 mg/kg, the average recoveries were 63.03%~98.69%, with relative standard deviations of 2%~21%, and the range of Limits of detection and limits of quantitative were 1~

基金项目: 国家重点研发专项(No.2017YFF0211304)、福建省科技项目(No.2017I0021)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (No.2017YFF0211304), Fujian Science and Technology Project (No.2017I0021)

***通讯作者:** 杨方, 主任技师, 主要研究方向为食品检测。E-mail: 964890740@qq.com

***Corresponding author:** Yang Fang, Chief Technician, Technology Center of Fuzhou Customs, Fuzhou 350001, China. E-mail: 964890740@qq.com

10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 5~35 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. **Conclusion** The method is simple, accurate and fast, and suitable for the analysis and monitoring of 22 pesticide residues in oolong tea, black tea and black tea.

KEY WORDS: two-step clean-up; tea; pesticide residues; gas chromatography-tandem mass spectrometry

1 引言

茶叶的农药残留问题一直受到重视, 各种检测残留的技术也层出不穷^[1-4]。有相当一部分实验室具备了检测数百种甚至更多农药残留的能力, 但在实际操作中, 由于茶叶基质复杂, 所含有机化学成分达 450 多种, 无机矿物元素 40 多种, 用次生代谢产物多, 基质效应明显, 易对农药残留检测造成干扰^[5-7]。在进行多残留检测时往往需要繁琐的样品提取与净化步骤以去除干扰, 使得前处理步骤繁琐、检测成本高、劳动强度大。现有的标准方法主要为固相萃取法(solid phase extraction, SPE)^[8,9]。因此, 开发新型新处理技术, 实现真正意义上的快速筛查, 具有十分重要的意义。

茶叶为干制品, 进行农残提取时采用了加水浸泡这一步骤^[10], 而加水浸泡使得提取液中的杂质增多, 其中以茶多酚为主^[6]。已有研究表明茶多酚含有多个酚羟基, 具有较强的酸碱缓冲能力, 可作为多基配体与金属离子络合, 形成环状的螯合物^[11-15], 具有较低溶解度, 因此可以利用合适的金属离子化合物作为前处理方法中的净化材料^[16], 降低提取液中多酚物质, 达到初步净化效果。

近年来, 磁性纳米材料的研究受到了重视, 包括作为净化材料用于残留分析中^[17-19]。与其它材料相比, 磁性材料具有与基体溶液快速分离的优势, 无需多步离心、涡旋等, 操作方便, 尤其适用于批量样品的处理。磁性四氧化三铁纳米粒子具有比表面积大、吸附位点多等特点而被广泛研究, 但其稳定性欠佳, 易氧化且在极端酸、碱条件下不稳定, 对四氧化三铁进行功能化修饰后的磁性材料具有更高的实际应用价值。李媛等^[17]将磁性四氧化三铁纳米粒子与石墨化炭黑(graphitizing of carbon black, GCB)、无水 MgSO_4 相混合制成混合装填固相萃取柱, 该萃取柱与 N-丙基乙二胺(N-propylethylenediamine, PSA)分散基质萃取相比, 具有更佳的净化效果。但该方法失去磁性四氧化三铁纳米粒子快速分离的优势。其他磁性复合材料在各种样品基质的前处理方法也有广泛应用。石墨烯作为一种新型碳纳米材料, 其具有良好的物理化学性质、高比表面积、良好的化学稳定性和热稳定性。但目前该材料在农残检测前处理方法中的应用主要是将石墨烯及相关复合物作为固相萃取柱的填充材料^[20-22], 但目前应用范围主要集中于水样、水果、蔬菜中, 在茶叶基体中的应用较少。

本研究建立了茶叶中 22 种农药残留的 QuEChERS-气相色谱-串联质谱(gas chromatography-tandem mass

spectrometry, GC-MS/MS)分析检测方法。样品经饱和食盐水浸泡、乙腈超声提取后, 添加无水氯化钙干燥和初步净化, 用 GCB 和磁性石墨烯二次净化, 乙酸乙酯定容。本方法改善了快速前处理方法中净化效果不佳的问题, 方法简便快捷, 适用于乌龙茶、红茶、普洱茶这 3 类茶叶中的 22 种农药残留的分析与监控, 为相关监测单位的日常监管工作提供参考。

2 材料与方 法

2.1 仪器、试剂与材料

TQ8040 气相色谱-三重四极杆串联质谱仪(日本岛津公司); CR22G 离心机(日本日立公司); HN200 多功能氮吹仪(海能仪器股份有限公司); AG245 电子分析天平(瑞士梅特勒托利多公司); S900H 超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)。

乙腈、正己烷、乙酸乙酯、甲苯(色谱纯, 美国 Thermo Fisher 公司); 氯化钠、无水氯化钙、无水硫酸镁(分析纯, 国药集团有限公司); N-丙基乙二胺(PSA)和石墨化炭黑(GCB)填料(美国安捷伦科技有限公司); 磁性石墨烯(丰纳米材料科技有限公司); 0.22 μm 有机针头滤膜(美瑞泰克科技有限公司); Cleanert TPT SPE 小柱(1 g/6 mL, 博纳艾杰尔公司)。

农药标准品(单标, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 德国 Dr. Ehrenstorfer 公司)。根据标准物质的溶解性和测定需要选择甲苯、甲醇等溶剂稀释, 再以甲醇配制成浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准溶液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 下避光保存。

本实验采用的自然污染阳性样品为乌龙茶, 是本课题组依靠已有项目研究经验, 模拟茶园种植环境, 采用田间喷洒施用筛选的代表性农药, 经采摘后烘干粉碎备用。阴性样品为经国标方法 GB/T 23204-2008《茶叶中 519 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法》^[8]确证的乌龙茶、红茶和普洱茶样品。

2.2 实验方法

2.2.1 样品前处理

称取粉碎后的茶叶样品 2.0 g 于 50 mL 离心管中, 加入 3 mL 饱和食盐水, 涡旋 20 s; 加入 10.0 mL 乙腈, 混匀, 超声提取 10 min。加入 2 g 无水氯化钙, 涡旋 2 min, 离心 5 min(4000 r/min), 取上清液于 10 mL 的离心管中, 氮吹至近干, 加入 2 mL 乙酸乙酯, 加入 80 mg GCB, 40 mg 磁性石墨烯, 漩涡 30 s, 磁铁吸附分离后, 取上清液过 0.22 μm 滤膜, GC-MS/MS 测定。

2.2.2 仪器条件

色谱条件: Rtx-5MS 毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 升温程序: 50 °C保持 1 min, 以 25 °C/min 升温速率升至 125 °C, 以 10 °C/min 升至 300 °C, 保持 8.5 min; 进样方式: 不分流进样; 进样量: 1 μL; 流速: 1.0 mL/min; 载气: 氦气, 纯度≥99.999%; 进样口温度: 250 °C。

质谱条件: 电子轰击离子源(EI); 电子能量: 70 eV; 扫描方式: 正离子扫描; 检测方式: 多反应监测(multiple-reaction monitoring, MRM); 载气和碰撞气: 氦气; 离子源温度 230 °C; 传输线温度: 250 °C; 溶剂延迟: 5 min; 一级质谱质量扫描范围: m/z 50~600; 二级质谱质量扫描范围: m/z 50~400; 采集速率: 2 spectra/s; 采集时间: 200 ms/spectrum。

检测目标物的 GC-MS/MS 主要参数信息见表 1。

3 结果与分析

3.1 提取条件的优化

茶叶为干制品, 部分科研工作者通过加标回收的方式对加水浸泡是否影响提取率进行了研究, 认为加水浸泡样品对提取率没有影响, 且经过加水浸润后会导致会使提取体系中共萃取得到的杂质增多, 使得后续净化效果不佳^[23]。为验证此观点, 本文采用自然污染阳性样品进行实验, 结果表明, 该样本中含有的 22 种农药, 直接溶剂提取的检测结果均低于复水后的检测值。这与药物施用后在植物体内有代谢降解有关, 药物与植物体结合形式多样, 而非如人为添加仅附着在样品表面, 因而在提取方式、提取溶剂的使用等均同人为添加药物残留的检测不同。

表 1 22 种代表性农药相关信息以及 GC-MS/MS 主要参数表
Table 1 Totally of 22 representative pesticides information and GC-MS/MS main parameter

序号	中文名	英文名	保留时间/min	母离子(m/z)	子离子(m/z)
1	邻苯基苯酚	2-phenylphenol	8.855	170.00	141.20*,115.10,115.20
2	百菌清	chlorothalonil	12.03	264.00	228.90*,231.00,167.90,133.00
3	甲霜灵	metalaxyl	12.98	249.20	190.10*,146.10,217.10
4	毒死蜱	chlorpyrifos	13.64	313.90	257.90*,285.90,193.90
5	氟虫腴	fipronil	14.39	367.00	213.00*,178.00,245.00
6	腐霉利	procymidone	14.68	283.00	96.00*,255.00,68.00
7	多效唑	paclobutrazol	15.01	236.10	125.00*,167.00,132.00
8	alpha-硫丹	α -endosulfan	15.14	207.00	172.20*,159.00,160.00
9	丙溴磷	profenofos	15.49	336.90	266.90*,308.90,294.90
10	腈菌唑	myclobutanil	15.67	179.10	125.00*,152.00,90.00
11	氟硅唑	flusilazole	15.70	233.10	165.10*,152.10,91.00
12	噻嗪酮	buprofezin	15.72	172.10	57.00*,131.10,116.10
13	虫螨腈	chlorfenapyr	15.94	247.10	227.00*,200.00
14	beta-硫丹	β -endosulfan	16.31	195.00	159.00*,160.00,172.20
15	硫丹硫酸酯	endosulfan-sulfate	17.05	272.00	236.70*,238.60
16	联苯菊酯	bifenthrin	17.96	181.10	166.10*,153.10,179.10
17	甲氰菊酯	fenpropathrin	18.14	265.10	210.00*,152.00,181.00
18	氯氟氰菊酯	gamma-cyhalothrin	18.94	197.00	141.00*,161.00,91.00
19	哒螨灵	pyridaben	19.90	147.10	117.10*,132.10,119.10
20	氟氯氰菊酯	cyfluthrin	20.45	226.10	206.10*,199.10,151.10
21	氯氟菊酯	cypermethrin	20.77	163.00	127*.00,152.10
22	茚虫威	indoxacarb	22.06	264.00	176.00*,232.00,148.00

注: *表示定量离子。

本文比较了超纯水与饱和食盐水复水的效果结果表明, 使用饱和食盐水能有效降低共萃取的杂质。大部分农药提取效率与饱和食盐水加入量呈正相关。当茶叶量/添加饱和 NaCl 溶液体积为 1 g/1 mL 时, 检测值增长的趋势开始减缓。此外, 水溶性较大的农药, 检测值明显随食盐水加入量增大而增大, 而非水溶性或水溶性较小的化合物趋势则不明显。综合考虑, 本研究最终选择 1 g 茶叶样品/1.5 mL 饱和 NaCl 溶液进行复水。

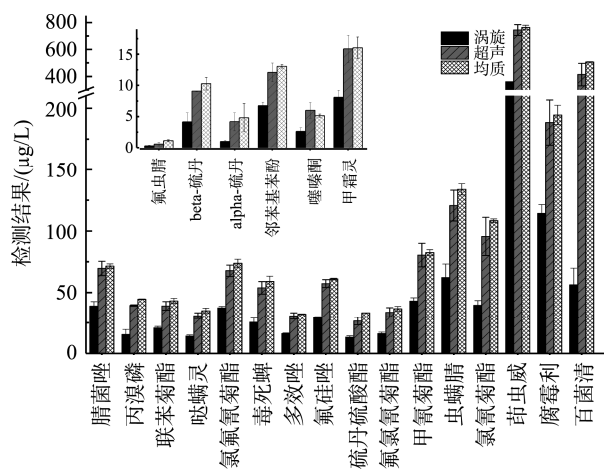


图 1 3 种提取方式的检测结果(n=3)
Fig.1 Detection results of three extraction methods(n=3)

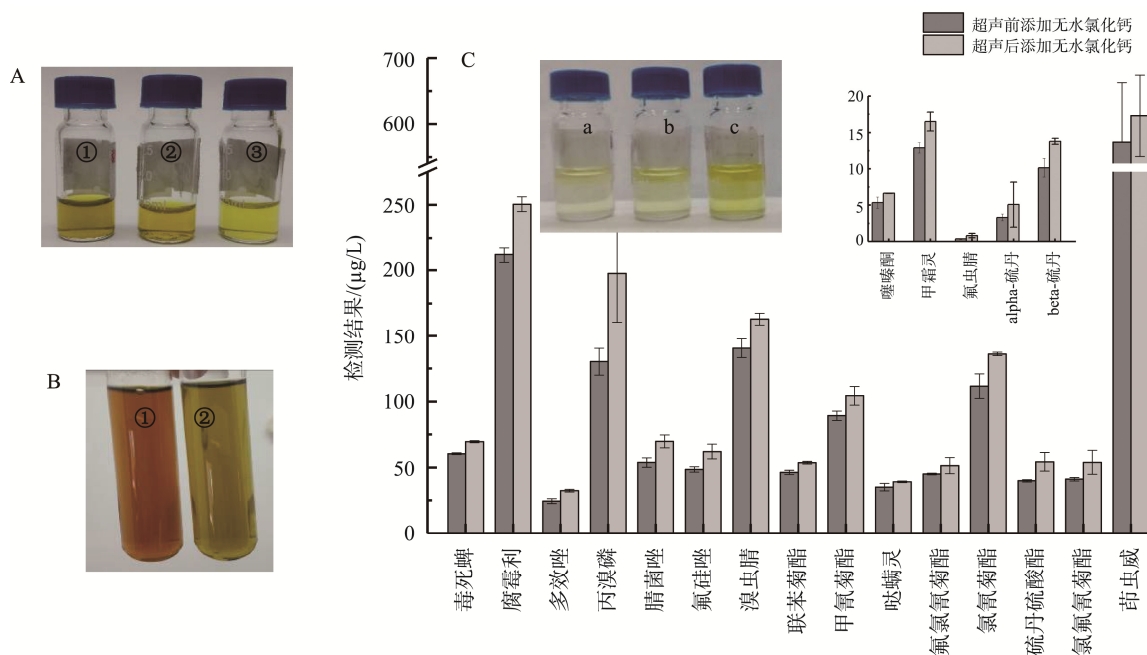
目前的农药残留提取方式主要包括浸泡、震荡、均质、超声。纯浸泡提取费时且因仅靠溶剂渗透作用提取待测物, 效率低, 现有提取方法大多辅以震荡、均质、超声等方式。本文对涡旋、均质和超声这三种不同提取方式的提取效果进行对比。检测结果如图 1 所示, 涡旋即使采用二次提取, 其提取效果仍远低于另外 2 种提取方式; 超声和均质的提取效果接近。

为进一步优化提取条件, 对超声和均质这两种提取方式进行了提取次数影响的详细对比考察, 结果见图 2。无论超声或是均质, 提取次数对检测结果的影响均不明显。从操作方面考虑, 超声提取方式在进行大量样品处理时具有优势, 操作简便; 而均质提取在处理批量时, 因需清洗刀头以避免交叉污染, 操作明显耗时耗力。因此, 本研究选择超声提取式, 并比较了提取时间, 最终确定为 10 min。

3.2 基于多酚-金属离子共沉淀的初净化

茶叶基质复杂, 以儿茶素为主的多酚类物质是茶叶中最主要的成分, 其含量约占干茶重量 18%~35%。多酚类物质可与无机盐中的金属离子如 Ca²⁺、Mg²⁺等配位生成沉淀^[20]。在相同实验条件下, 比较了 Ca²⁺、Mg²⁺的沉淀效果, 结果表明, 酚-钙沉淀较完全(见图 2A 和图 2B)。

为探讨添加无水 CaCl₂ 的合适时机, 本研究选择了在操作流程中 3 个不同步骤节点进行添加试验, 结果见图 2C。由图中可见, 在离心结束后添加无水 CaCl₂ 的净化效



注: A.提取液添加无水 CaCl₂ 与无水 MgSO₄; ①无添加②添加无水 MgSO₄③添加无水 CaCl₂; B.①未添加无水 CaCl₂ 的提取液, ②添加无水 CaCl₂ 后的提取液; C.不同顺序添加无水 CaCl₂ 效果(n=3): a 超声前、b 超声后、c 超声结束离心分离后。

图 2 净化结果
Fig.2 Purification result

果较差,这可能是因为乙腈虽然可以与水互溶,但具有一定饱和度,通过离心分离后,有机溶液中的水分相对较少,添加的无水 CaCl_2 因吸水产生的钙离子也相对较少,可与之发生反应的酚类及有机酸少;对超声前和超声后 2 种添加无水 CaCl_2 方式的检测结果进行对比,超声前添加无水 CaCl_2 的回收率相对较差的原因可能是在超声提取后添加无水 CaCl_2 不仅具有共沉淀茶叶中酚类及有机酸的作用,还具有盐析及去除体系中水分的作用,提高提取效率,而在超声前加入无水 CaCl_2 在共沉淀杂质的同时也会带走部分待测化合物,导致回收率降低。

对不同用量无水 CaCl_2 效果进行了探讨,分别添加 1、2、3、4、5 g 无水 CaCl_2 。大部分目标物的检出值随无水 CaCl_2 的用量增加呈先增后降的趋势,在添加量为 3 g 的时候达到最高。但也有少数化合物例外,如甲霜灵、多效唑和氯氟菊酯,呈渐下降的趋势;氯氟菊酯和噻嗪酮在添加量为 2 g 时达到最高值;氟虫腈的结果变化不明显。综合考虑,确定添加无水 CaCl_2 的量为与检测样品量等同。

3.3 磁性材料二次净化

茶叶中农残提取方法中最为常用的净化剂为 GCB、PSA、 C_{18} 等,同时这几种材料的研究与使用也很纯熟。GCB 在吸附色素方面具有显著的效果。本实验采取在换相过程中进行加标,对 GCB 的使用量进行优化。随着 GCB 用量的增加,溶液颜色逐渐变浅,当 GCB 的用量达到 80 mg 之后溶液颜色变化不明显,从回收率上看,

大部分回收率在 70%~120%,能达到检测要求,此外,还有部分农药由于基质增强效应比较严重,回收率远大于 120%。所以在定量的时候,有必要采用基质加标的方法进行定量。

由于每次离心分离取上清液的过程都会造成一定的损失,并且费时。而磁性材料可以省去离心操作,缩短前处理时间,直接将磁性材料(如纳米四氧化三铁)和 GCB 或 PSA 混合,再利用磁性特性进行分离,但分离效果不佳,故选择其他磁性复合材料。经过将磁性石墨烯与 PSA 的吸附效果进行对比发现,磁性石墨烯与 PSA 的吸附效果相近,可以使用磁性石墨烯将 PSA 替换进行后续净化实验。对选取的 22 种农药标准溶液用不同有机溶剂洗脱,对比回收率。

回收率结果如图 3 所示:正己烷的整体回收率最低,有一半的农药被完全吸附,且无法洗脱。乙腈的洗脱效果优于正己烷,但有 7 个化合物的回收率低于 50%。而使用乙酸乙酯和甲苯:乙腈(1:3, V/V)混合溶液的两组回收率都比较高,且结果相近。甲苯:乙腈(1:3, V/V)混合溶液为已经过确认用来提高农残回收率的混合溶液,可以有效洗脱一些被 GCB 吸附的平面结构的化合物^[24]。从安全角度来说,甲苯毒性较强,故在 2 种回收效果相差不大的情况下选择乙酸乙酯作为洗脱溶剂。通过 5 个添加量(0、40、60、80、100 mg)对磁性石墨烯用量进行优化,综合考虑选择 40 mg 作为合适的添加量。

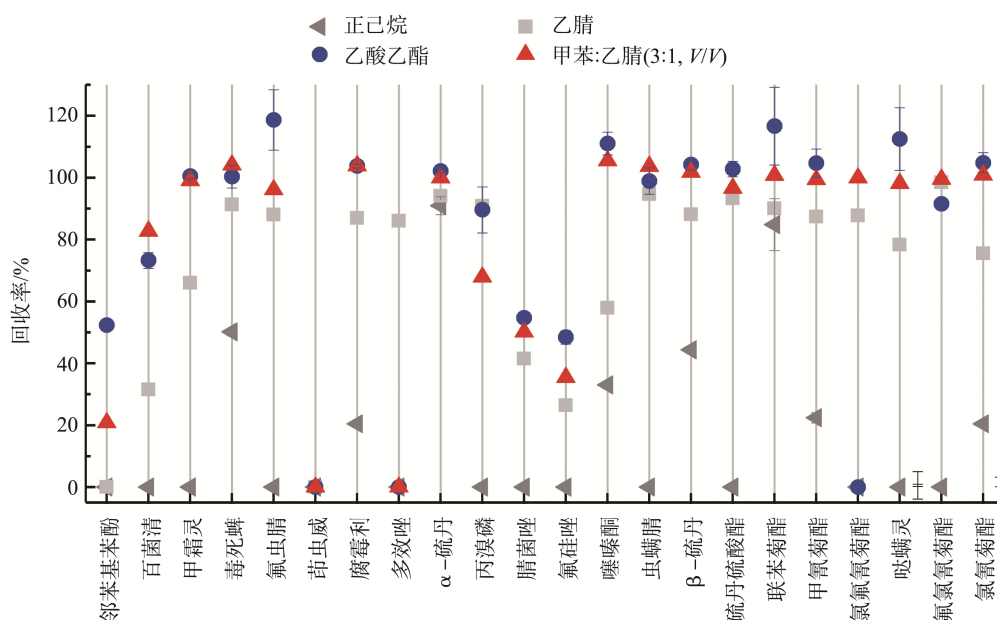


图 3 不同溶剂的洗脱回收率结果对比($n=3$)

Fig.3 Comparison of elution recovery results for different solvents($n=3$)

3.4 方法学验证

使用经过标准方法验证过的不含检测目标物的茶叶进行回收率实验和线性实验。配制 0 ~ 200 ng/mL 浓度范围的标准溶液; 在空白样品中添加低浓度的 22 种农药混合标准溶液, 测定方法检出限(limit of detection, LOD)和定量限(limit of quantitation, LOQ), 分别为信噪比(S/N)的 3 倍和 10 倍, 以峰面积 Y 为纵坐标, 浓度 X 为横坐标绘制工作曲线。测定的 22 种农药在 0 ~ 200 ng/mL 范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.995。检出限 LODs 范围在 1~10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间, 定量限 LOQs 范围在 5~35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间(见表 2)。

表 2 22 种农药的线性范围、回归方程、相关系数、LODs 与 LOQs
Table 2 Linear ranges, regression equations, correlation coefficients, LODs and LOQs for 22 pesticides

序号	名称	回归方程	相关系数	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	邻苯基苯酚	$Y = 3.61 \times 10^6 X + 3.1 \times 10^3$	0.9956	1	5
2	百菌清	$Y = 0.90 \times 10^5 X - 366.69$	0.9967	1	5
3	甲霜灵	$Y = 7.34 \times 10^5 X + 1401.4$	0.9995	1	5
4	毒死蜱	$Y = 1.06 \times 10^6 X - 280.21$	0.9996	1	5
5	氟虫腈	$Y = 7.46 \times 10^5 X - 455.83$	0.9999	1	5
6	腐霉利	$Y = 1.25 \times 10^6 X + 1911.3$	0.9998	1	5
7	多效唑	$Y = 2.73 \times 10^6 X + 5252.8$	0.9998	1	5
8	α -硫丹	$Y = 2.02 \times 10^5 X + 1200.4$	0.9979	9	30
9	丙溴磷	$Y = 5.35 \times 10^5 X + 616.15$	0.9999	4	15
10	腈菌唑	$Y = 3.17 \times 10^6 X + 7992.7$	0.9999	1	5
11	氟硅唑	$Y = 8.88 \times 10^5 X + 648.86$	0.9999	1	5
12	噻嗪酮	$Y = 3.43 \times 10^5 X + 1294.4$	0.9996	2	5
13	虫螨腈	$Y = 1.36 \times 10^5 X + 150.28$	0.9985	5	15
14	β -硫丹	$Y = 2.84 \times 10^5 X + 45.193$	0.9994	3	10
15	硫丹硫酸酯	$Y = 4.62 \times 10^5 X + 1101.3$	0.9993	1	5
16	联苯菊酯	$Y = 1.15 \times 10^7 X - 14008$	0.9973	2	5
17	甲氧菊酯	$Y = 6.97 \times 10^5 X - 964.22$	0.9989	3	10
18	氯氟氰菊酯	$Y = 1.75 \times 10^6 X + 1693$	0.9960	3	10
19	哒螨灵	$Y = 7.46 \times 10^6 X - 2530.4$	0.9987	10	35
20	氟氯氰菊酯	$Y = 9.21 \times 10^5 X + 1695.8$	0.9984	3	10
21	氯氰菊酯	$Y = 1.84 \times 10^6 X - 1148.1$	0.9993	2	5
22	茚虫威	$Y = 1.41 \times 10^5 X + 2672.2$	0.9965	5	20

回收率和精密度: 取空白样品添加 3 个浓度水平的 22 种农药混合标准溶液, 静置 30 min, 按 2.2.1 中的方法处理样品后上机检测, 进行加标回收试验, 计算平均回收率和精密度 RSD。方法的平均回收率在 63%~98%之间。当浓度较低时(0.01 mg/kg)的精密度为 6%~21%, 而其他 2 个浓度水平的精密度均在 2%~16%。该方法的回收率在可接受范围内, 但个别回收率偏低, 如百菌清、丙溴磷和氟硅唑(见表 3)。

本方法适用的 22 种农药中, 噻嗪酮, 氟氯氰菊酯, 氯氟氰菊酯, 氯氰菊酯, 硫丹(硫丹硫酸酯, α -硫丹和 β -硫丹), 虫螨腈, 哒螨灵, 甲氧菊酯, 克百威, 联苯菊酯, 噻嗪酮, 茚虫威 14 种农药在 GB 2763-2016《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》^[9]有最大残留限量规定, 本方法能够满足 GB 2763-2016 中的检测要求。

表 3 22 种农药的回收率和精密度($n=6$)
Table 3 Recoveries and precision statistics of 22 pesticides ($n=6$)

序号	名称	0.01 mg/kg		0.05 mg/kg		0.10 mg/kg	
		回收率 /%	相对标准 偏差 /%	回收率 /%	相对标准 偏差 /%	回收率 /%	相对标准 偏差 /%
1	邻苯基苯酚	98.69	8	84.17	13	81.91	7
2	百菌清	66.44	21	63.93	16	63.03	9
3	甲霜灵	68.99	15	75.00	3	75.98	3
4	毒死蜱	79.35	14	82.93	7	83.00	5
5	氟虫腈	64.96	13	83.88	6	85.94	6
6	腐霉利	82.12	7	76.12	4	75.62	4
7	多效唑	71.75	6	80.75	4	78.53	4
8	α -硫丹	98.51	9	91.29	10	73.43	12
9	丙溴磷	69.59	16	69.84	2	67.41	4
10	腈菌唑	76.68	7	75.66	6	70.76	6
11	氟硅唑	67.62	13	66.45	7	65.12	6
12	噻嗪酮	83.76	18	78.67	8	70.85	9
13	虫螨腈	96.82	21	79.35	6	76.76	8
14	β -硫丹	79.72	19	87.90	9	80.75	6
15	硫丹硫酸酯	68.33	19	72.69	7	74.37	6
16	联苯菊酯	81.25	7	71.89	3	71.52	5
17	甲氧菊酯	81.65	12	79.40	2	77.90	6
18	氯氟氰菊酯	94.12	12	77.36	3	79.32	6
19	哒螨灵	83.21	9	77.94	4	76.27	5
20	氟氯氰菊酯	78.08	17	84.56	8	83.43	8
21	氯氰菊酯	70.40	11	70.93	3	71.34	5
22	茚虫威	70.57	15	84.93	15	81.46	8

3.5 实际样品检测

本实验于超市随机采购 27 例茶叶样品,共检出农药残留 96 频次,31 种。单例样品中最多检出 7 种农药残留,分别为氯氟氰菊酯、联苯菊酯、毒死蜱、噻嗪酮、三唑磷、醚菊酯和甲氰菊酯。检出频次超过 10 次的农药为联苯菊酯(26 频次),检出浓度范围在 0.004~0.141 mg/kg 之间。检出浓度最高的农药为腈菌唑(0.453 mg/kg)。

3.6 关于仅采用磁性石墨烯净化的讨论

本方法将磁性石墨烯作为固相吸附材料与 GCB 共同使用以达到净化效果。但是否能仅采用磁性石墨烯净化,本课题组对该想法的可行性作了进一步研究。

关于石墨烯与有机化合物之间的吸附作用推测可能发生 π - π 吸附, π - π 相互作用主要是发生在苯环之间,茶叶基质主要干扰成分之一茶色素是由茶叶中以儿茶素为主的多酚类化合物氧化衍生而来的一类水溶性物质,这类物质有可能在含水介质中与 H 生成 N-H、O-H、F-H 等形式的共价键氢键。一般来说,氢键之间的作用力强于 π - π 键,若这些杂质分子与溶剂间存在氢键,那么就有可能使这些杂质物质更倾向于留在溶剂中而不是被磁性石墨烯吸附,而一些极性相对较弱、不能在含水介质中与 H 生成氢键的农药更多被磁性石墨烯吸附,那么在弃水相后,吸附在磁性石墨烯上的农药可选择合适的溶剂将其洗脱,以达到净化的目的。为扩大适用目标物范围,取空白茶叶样品选择添加 74 种农药进行添加回收实验,对检测回收率与磁性石墨烯作为吸附剂的用量及吸附体系溶剂环境之间的关系作进一步探讨。

在空白茶叶提取液中加入水,使乙腈相比例为 10%,加入农药混合标液,使浓度为 100 μ g/L,分别加入不同用量磁性石墨烯,检测结果见表 4,对检测结果进行统计(见表 5)。由表 4 可见,随着磁性石墨烯用量的增大,目标物回收率也渐增高,如用量为 20 mg 时 74 种农药中仅有 18.9% 的化合物被检出,且回收率不佳;而过量(120 mg)时也有部分残留未检出(未检出 5 种)。造成前者的原因可能是因磁性石墨烯用量过小,多种农药未被吸附,仍留在含水溶剂中被弃去。而过高的磁性石墨烯用量使得后续洗脱可能存在困难,部分农药仍被磁性石墨烯吸附,未被洗脱。

吸附体系溶剂环境:在空白样品提取液中加水配制不同乙腈相比溶液,加标使浓度为 100 μ g/L,加入 100 mg 磁性石墨烯,检测结果见表 6,对检测结果进行统计(见表 7)。由表 6 可见,当乙腈含量过高,农药回收率不佳,由于 π - π 吸附之间的作用力较弱,在乙腈含量过高时,大部分的农药化合物仍留在溶剂中未被磁性石墨烯吸附。在含水高(90%)的溶剂环境中,所测试的 74 种农药添加回收率均在 60% 以上。

上述实验结果在一定程度上验证了本文推测,在适当的溶剂环境中,磁性石墨烯可吸附农药残留,并可被有机溶剂洗脱,实现净化效果。该操作更为简单,适用于大批量样品的净化处理。

表 4 回收率与磁性石墨烯用量的关系

Table 4 Relationship between recovery rate and the amount of magnetic graphene

序号	中文名	回收率/%			
		20 mg 磁性 石墨烯	80 mg 磁性 石墨烯	100 mg 磁性 石墨烯	120 mg 磁性 石墨烯
1	螺螨酯	63.0	77.3	90.7	90.8
2	氟丁酰草胺	未检出	未检出	64.1	62.5
3	脱叶磷	未检出	75.1	93.2	88.4
4	吡螨胺	未检出	71.1	83.1	86.3
5	杀螨酯	未检出	66.0	71.3	71.9
6	增效醚	未检出	77.7	85.9	88.2
7	七氟菊酯	66.0	72.6	81.5	77.9
8	联苯菊酯	89.9	98.1	109.0	111.8
9	对硫磷	未检出	66.1	76.3	80.2
10	伏杀硫磷	未检出	65.4	71.4	74.1
11	溴螨酯	未检出	67.3	78.5	85.4
12	反式苄氯菊酯	79.3	91.0	105.7	108.7
13	杀螨特	未检出	68.8	77.5	未检出
14	苯虫醚	未检出	68.1	76.3	78.7
15	毒死蜱	未检出	57.0	63.7	60.3
16	异艾氏剂	67.3	66.8	76.1	72.3
17	丙溴磷	未检出	66.1	74.7	76.5
18	丙虫磷	未检出	53.8	63.1	68.4
19	除线磷	未检出	59.9	68.2	65.0
20	甲氧滴滴涕	未检出	54.1	67.4	72.2
21	α -硫丹	未检出	57.9	65.1	68.2
22	β -硫丹	未检出	59.1	68.7	71.0
23	o,p'-滴滴涕	64.3	67.7	77.6	84.3
24	p,p'-滴滴涕	未检出	71.4	80.8	82.9
25	杀螨好	72.8	63.6	68.4	66.6
26	禾草灵	未检出	76.5	85.3	89.8
27	联苯肼酯	未检出	58.0	65.8	65.7
28	艾氏剂	63.6	63.5	73.2	66.6
29	异氯磷	未检出	未检出	63.7	62.9
30	甲基立枯磷	未检出	52.6	60.4	未检出
31	溴苯烯磷	未检出	51.9	60.3	66.7
32	虫螨磷	未检出	68.4	75.0	73.2
33	灭蚁灵	75.4	72.4	81.3	84.1

续表 4

序号	中文名	回收率/%			
		20 mg	80 mg	100 mg	120 mg
		磁性 石墨烯	磁性 石墨烯	磁性 石墨烯	磁性 石墨烯
34	硫丹硫酸酯	未检出	58.2	66.3	72.1
35	七氯	未检出	58.2	66.9	未检出
36	螺甲螨酯	未检出	67.3	77.9	84.4
37	倍硫磷	未检出	57.6	65.0	66.3
38	异丙乐灵	未检出	69.4	83.8	82.8
39	除草醚	未检出	59.1	66.1	63.0
40	抑草磷	未检出	52.4	63.9	64.0
41	乙丁氟灵	未检出	51.1	60.7	未检出
42	乙基溴硫磷	67.2	75.0	82.0	80.5
43	八氯苯乙烯	72.4	74.5	84.9	83.1
44	氟吡甲禾灵	未检出	未检出	61.0	64.5
45	碳氯灵	未检出	61.1	69.2	63.8
46	磷酸三苯酯	未检出	66.4	71.0	73.7
47	溴硫磷	未检出	58.9	66.0	63.6
48	碘硫磷	未检出	62.9	69.8	69.6
49	反式九氯	66.1	67.2	75.0	75.8
50	稗草丹	未检出	69.6	79.9	89.6
51	毒壤磷	未检出	66.6	76.6	73.2
52	芬螨酯	未检出	58.6	66.9	64.8
53	敌瘟磷	未检出	67.2	75.8	79.9
54	肟菌酯	未检出	54.4	68.7	73.6

续表 4

序号	中文名	回收率/%			
		20 mg	80 mg	100 mg	120 mg
		磁性 石墨烯	磁性 石墨烯	磁性 石墨烯	磁性 石墨烯
55	狄氏剂	未检出	57.5	68.5	79.1
56	灭锈胺	未检出	56.2	63.3	70.5
57	啶草磷	未检出	53.0	68.6	75.2
58	益棉磷	未检出	69.8	64.6	70.2
59	炔螨特	未检出	未检出	98.6	101.6
60	吡丙醚	未检出	76.4	82.3	83.8
61	野麦畏	未检出	57.0	69.2	未检出
62	甲氯酰草胺	未检出	未检出	60.6	62.7
63	氟节胺	未检出	64.8	74.2	75.5
64	啶硫磷	未检出	61.8	62.3	66.0
65	哒螨灵	61.3	84.5	100.5	100.3
66	硫丙磷	未检出	72.5	85.0	84.1
67	苯腈磷	未检出	68.5	74.1	77.8
68	苯硫磷	未检出	73.4	81.1	82.3
69	三硫磷	未检出	72.0	82.8	86.9
70	三氯杀螨砒	未检出	66.0	71.5	75.9
71	三唑磷	未检出	61.3	63.1	70.2
72	四氟苯菊酯	未检出	65.1	74.8	75.6
73	呋线威	未检出	63.2	72.6	82.8
74	醚菊酯	70.4	66.5	73.7	73.1

表 5 回收率与磁性石墨烯用量关系统计表

Table 5 Statistical table of the relationship between the recovery rate and the amount of magnetic graphene

回收率范围/%	20 mg 磁性石墨烯		80 mg 磁性石墨烯		100 mg 磁性石墨烯		120 mg 磁性石墨烯	
	个数	比例	个数	比例	个数	比例	个数	比例
未检出	60	81.08%	5	6.76%	0	0	5	6.76%
≤60	0	0	22	29.73%	0	0	0	0
> 60, ≤80	13	17.57%	44	59.46%	55	74.32%	45	60.81%
> 80, ≤120	1	1.35%	3	4.05%	19	25.68%	24	32.43%

表 6 回收率与吸附体系溶剂环境的关系

Table 6 Relationship between recovery rate and solvent environment of adsorption system

序号	中文名	回收率/%			
		50%	30%	20%	10%
		乙腈水	乙腈水	乙腈水	乙腈水
1	螺螨酯	25.2	47.6	88.6	90.7
2	氟丁酰草胺	未检出	未检出	28.2	64.1
3	脱叶磷	未检出	44.0	58.9	93.2

续表 6

序号	中文名	回收率/%			
		50%	30%	20%	10%
		乙腈水	乙腈水	乙腈水	乙腈水
4	吡螨胺	未检出	30.8	41.8	83.1
5	杀螨酯	15.3	32.1	38.8	71.3
6	增效醚	未检出	29.8	37.2	85.9
7	七氟菊酯	未检出	35.1	56.2	81.5

续表 6

序号	中文名	回收率/%			
		50% 乙腈水	30% 乙腈水	20% 乙腈水	10% 乙腈水
8	联苯菊酯	19.3	74.1	84.0	109.0
9	对硫磷	未检出	未检出	37.3	76.3
10	伏杀硫磷	17.5	30.1	30.3	71.4
11	溴螨酯	未检出	24.4	42.5	78.5
12	反式苯氯菊酯	未检出	71.0	75.9	105.7
13	杀螨特	未检出	未检出	29.8	77.5
14	苯虫醚	未检出	未检出	49.9	76.3
15	毒死蜱	14.0	32.2	40.1	63.7
16	异艾氏剂	未检出	36.4	54.9	76.1
17	丙溴磷	11.1	25.0	30.8	74.7
18	丙虫磷	未检出	12.6	19.7	63.1
19	除线磷	13.4	36.7	52.2	68.2
20	甲氧滴滴涕	未检出	未检出	34.1	67.4
21	α -硫丹	未检出	未检出	23.7	65.1
22	β -硫丹	未检出	未检出	28.8	68.7
23	o,p'-滴滴涕	未检出	39.3	60.6	77.6
24	p,p'-滴滴涕	未检出	36.4	56.7	80.8
25	杀螨好	38.4	54.4	58.1	68.4
26	禾草灵	15.1	42.3	52.8	85.3
27	联苯肼酯	未检出	未检出	31.9	65.8
28	艾氏剂	未检出	33.7	54.1	73.2
29	异氯磷	未检出	未检出	30.5	63.7
30	甲基立枯磷	未检出	28.0	39.5	60.4
31	溴苯烯磷	未检出	未检出	20.3	60.3
32	虫螨磷	33.4	54.9	59.9	75.0
33	灭蚁灵	8.6	43.6	52.3	81.3
34	硫丹硫酸酯	未检出	未检出	24.5	66.3
35	七氯	未检出	24.6	43.6	66.9
36	螺甲螨酯	未检出	未检出	49.8	77.9
37	倍硫磷	未检出	27.7	38.3	65.0
38	异丙乐灵	未检出	未检出	53.4	83.8
39	除草醚	未检出	11.8	26.3	66.1
40	抑草磷	未检出	未检出	38.4	63.9
41	乙丁氟灵	未检出	11.5	32.5	60.7

续表 6

序号	中文名	回收率/%			
		50% 乙腈水	30% 乙腈水	20% 乙腈水	10% 乙腈水
42	乙基溴硫磷	28.6	56.3	64.0	82.0
43	八氯苯乙烯	17.9	56.0	64.9	84.9
44	氟吡甲禾灵	未检出	21.9	36.3	61.0
45	碳氯灵	未检出	28.6	48.4	69.2
46	磷酸三苯酯	15.1	29.1	33.7	71.0
47	溴硫磷	18.6	36.8	44.0	66.0
48	碘硫磷	未检出	37.4	42.8	69.8
49	反式九氯	7.2	34.3	51.0	75.0
50	稗草丹	未检出	26.0	47.3	79.9
51	毒壤磷	22.6	47.0	54.4	76.6
52	芬螨酯	未检出	24.1	48.7	66.9
53	敌瘟磷	未检出	19.1	24.9	75.8
54	脞菌酯	未检出	未检出	31.8	68.7
55	狄氏剂	未检出	未检出	46.7	68.5
56	灭锈胺	未检出	未检出	20.9	63.3
57	啶草磷	未检出	未检出	32.8	68.6
58	益棉磷	未检出	未检出	25.4	64.6
59	快螨特	133.1	266.7	33.5	98.6
60	吡丙醚	未检出	26.4	27.9	82.3
61	野麦畏	未检出	31.4	51.0	69.2
62	甲氧氟草胺	未检出	17.8	27.9	60.6
63	氟节胺	未检出	未检出	43.0	74.2
64	啶硫磷	未检出	23.4	28.6	62.3
65	哒螨灵	未检出	11.7	65.2	100.5
66	硫丙磷	18.7%	50.1	58.8	85.0
67	苯腈磷	12.4%	27.6	34.7	74.1
68	苯硫磷	未检出	33.7	38.7	81.1
69	三硫磷	未检出	48.4	57.3	82.8
70	三氯杀螨砜	11.0%	28.1	33.2	71.5
71	三唑磷	未检出	17.9	22.0	63.1
72	四氟苯菊酯	未检出	26.2	46.8	74.8
73	呋线威	未检出	未检出	29.7	72.6
74	醚菊酯	22.8	48.8	53.2	73.7

表 7 回收率与吸附体系溶剂环境的关系统计

Table 7 Statistical table of the relationship between recovery rate and solvent environment of adsorption system

回收率范围/%	50%乙腈水		30%乙腈水		20%乙腈水		10%乙腈水	
	个数	比例	个数	比例	个数	比例	个数	比例
未检出	52	70.27%	21	28.38%	0	0	0	0
≤60	21	28.38%	50	67.57%	67	90.54%	0	0
> 60, ≤80	0	0	2	2.70%	5	6.76%	55	74.32%
> 80, ≤120	0	0	0	0	2	2.70%	19	25.68%
> 120	1	1.35%	1	1.35%	0	0	0	0

4 结 论

本文建立了茶叶中多种农药残留的二步净化-气相色谱

谱-串联质谱分析方法。样品经饱和食盐水浸泡、乙腈超声提取后,添加无水氯化钙干燥及初步净化,用 GCB 和磁性石墨烯二次净化, GC-MS/MS 测定,对于乌龙茶、红茶、普

洱茶等均取得良好效果。与现有固相萃取及 QuEChERS 方法相比, 操作简便快速, 无需离心过滤, 仅外加磁场即可实现相分离, 净化效果好, 适于在日常检测工作中推广使用。

参考文献

- [1] 赵悦臣, 张新忠, 罗逢健, 等. 超高效合相色谱-四极杆飞行时间质谱法测定水果和茶叶中手性农药顺式-氟环唑对映体残留[J]. 分析化学, 2016, (8): 1200-1208.
Zhao YC, Zhang XZ, Luo FJ, *et al.* Residue determination of cis-epoxiconazole enantiomers in fruit and tea by ultra performance convergence chromatography combined with quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2016, (8): 1200-1208.
- [2] Chen X, Bian Y, Liu F, *et al.* Comparison of micellar extraction combined with ionic liquid based vortex-assisted liquid-liquid microextraction and modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method for the determination of difenoconazole in cowpea [J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1518: 1.
- [3] 贾玮, 储晓刚, 凌云, 等. 粮油作物及茶叶中农药多残留检测的前处理技术进展[J]. 分析测试学报, 2014, 33(6): 732-738.
Jia W, Chu XG, Ling Y, *et al.* Progress of sample pretreatment techniques in detection of pesticide residues in cereals, oil crops and tea [J]. *J Instrum Anal*, 2014, 33(6): 732-738.
- [4] Wu CC. Multiresidue method for the determination of pesticides in Oolong tea using QuEChERS by gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2017, 229: 580-587.
- [5] 吕文英, 吕品. 茶叶及其浸出物中微量元素的测定与研究[J]. 食品科学, 2001, 22(11): 78-81.
Lv WY, Lv P. Determination and study of trace elements in tea and its extracts [J]. *Food Sci*, 2001, 22(11): 78-81.
- [6] 申雯, 黄建安, 李勤, 等. 茶叶主要活性成分的保健功能与作用机制研究进展[J]. 茶叶通讯, 2016, 43(1): 8-13.
Shen W, Huang JA, Li Q, *et al.* The research progress of health care function and mechanism of the active ingredients in tea [J]. *Tea Commun*, 2016, 43(1): 8-13.
- [7] Zhu Y, Shao CY, Lv HP, *et al.* Enantiomeric and quantitative analysis of volatile terpenoids in different teas (*Camellia sinensis*) [J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1490: 177.
- [8] GB/T 23204-2008 茶叶中 519 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法[S].
GB/T 23204-2008 Determination of 519 pesticides and related chemicals residues in tea-GC-MS method [S].
- [9] GB 23200.13-2016 茶叶中 448 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-质谱法[S].
GB 23200.13-2016 National food safety standards-Determination of 448 pesticides residues in tea liquid chromatography - mass spectrometry [S].
- [10] Wu CC. Multiresidue method for the determination of pesticides in Oolong tea using QuEChERS by gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2017, 229: 580-587.
- [11] Khokhar S, Apenten RO. Iron binding characteristics of phenolic compounds: Some tentative structure-activity relations [J]. *Food Chem*, 2003, 81(1): 133-140.
- [12] Chen YM, Wang MK, Huang PM. Catechin transformation as influenced by aluminum [J]. *Agric Food Chem*, 2006, 54(1): 212-218.
- [13] Andjelković M, Camp JV, Meulenaer BD, *et al.* Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups [J]. *Food Chem*, 2006, 98(1): 23-31.
- [14] 明珠, 吴云海, 阿依妮尔·艾尔肯. 茶汤与金属离子络合反应的研究 [J]. 环境科技, 2015, (4): 5-11.
Ming Z, Wu YH, Arken AEK. Study on complexation reaction of tea infusion with metal ions [J]. *Environ Sci Technol*, 2015, (4): 5-11.
- [15] 郭炳莹, 程启坤. 茶汤组分与金属离子的络合性能[J]. 茶叶科学, 1991, (2): 139-144.
Guo BY, Cheng QK. Complex of tea infusion componets with metal iond [J]. *J Tea Sci*, 1991, (2): 139-144.
- [16] Wang W, Ma X, Wu Q, *et al.* The use of graphene-based magnetic nanoparticles as adsorbent for the extraction of triazole fungicides from environmental water [J]. *J Separat Sci*, 2012, 35(17): 2266.
- [17] 李媛, 肖乐辉, 周乃元, 等. 在茶叶农药残留测定中用四氧化三铁纳米粒子去除样品中的色素[J]. 分析化学, 2013, 41(1): 63-68.
Li Y, Xiao LH, Zhou NY, *et al.* Purification of pigments by iron oxide nanoparticles for analysis of pesticide residues in tea [J]. *J Anim Sci*, 2013, 41(1): 63-68.
- [18] Pakapongpan S, Pooarporn RP. Self-assembly of glucose oxidase on reduced graphene oxide-magnetic nanoparticles nanocomposite-based direct electrochemistry for reagentless glucose biosensor [J]. *Mater Sci Eng C*, 2017, 76: 398.
- [19] Boruah PK, Sharma B, Hussain N, *et al.* Magnetically recoverable Fe₃O₄/graphene nanocomposite towards efficient removal of triazine pesticides from aqueous solution: Investigation of the adsorption phenomenon and specific ion effect [J]. *Chemosphere*, 2017, 168: 1058.
- [20] Ke Y, Zhu F, Zeng F, *et al.* Preparation of graphene-coated solid-phase microextraction fiber and its application on organochlorine pesticides determination [J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1300(14): 187-192.
- [21] Han Q, Wang Z, Xia J, *et al.* Application of graphene for the SPE clean-up of organophosphorus pesticides residues from apple juices [J]. *J Separat Sci*, 2014, 37(1-2): 99.
- [22] Li N, Chen J, Shi YP. Magnetic graphene solid-phase extraction for the determination of carbamate pesticides in tomatoes coupled with high performance liquid chromatography [J]. *Talanta*, 2015, 141: 212-219.
- [23] 余璐, 宋伟, 吕亚宁, 等. 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法快速筛查茶叶中的 204 种农药残留[J]. 色谱, 2015, (6): 597-612.
Yu L, Song W, Lv YN, *et al.* Rapid determination of 204 pesticide residues in tea by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2015, (6): 597-612.
- [24] 张媛媛, 张卓, 陈忠正, 等. QuEChERS 方法在茶叶农药残留检测中的应用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, (9): 2711-2716.
Zhang YY, Zhang Z, Chen ZZ, *et al.* QuEChERS methodology and its application in pesticide residues determination in tea [J]. *J Food Saf Qual*, 2014, (9): 2711-2716.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



陈丽娟, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全分析。
E-mail: 494113873@qq.com



杨方, 博士, 主任技师, 主要研究方向为食品安全分析。
E-mail: 964890740@qq.com