

分散液相微萃取-气相色谱串联质谱法测定 茶饮料中联苯菊酯

徐 豪¹, 钱家亮¹, 李 洋¹, 赵 峰^{2*}

(1. 临沂海关, 临沂 276000; 2. 临沂大学, 自动化与电气工程学院, 临沂 276000)

摘要: 目的 建立分散液相微萃取(dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)-气相色谱串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)测定茶饮料中联苯菊酯的分析方法。**方法** 样品经分散液相微萃取提取(60 μL 氯苯为萃取剂, 0.8 mL 乙腈为分散剂, 超声萃取 0.5 min), 采用 GC-MS/MS 在多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM)下分析, 外标法定量。**结果** 联苯菊酯在 10~200 $\mu\text{g/L}$ 的浓度范围内线性关系良好, 相关系数(r^2)大于 0.99, 检出限($S/N=3$)为 0.0027 $\mu\text{g/L}$, 在 0.5、1.0 和 2.5 $\mu\text{g/L}$ 3 个水平的添加浓度下, 回收率在 92.5%~98.7%之间, 相对标准偏差小于 5.7%($n=6$)。**结论** 该方法操作简便快速、准确可靠、灵敏度高, 可用于茶饮料中联苯菊酯的检测。

关键词: 分散液相微萃取; 气相色谱-串联质谱法; 茶饮料; 联苯菊酯

Determination of bifenthrin in tea drink by dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry

XU Hao¹, QIAN Jia-Liang¹, LI Yang¹, ZHAO Feng^{2*}

(1. Linyi Customs, Linyi 276000, China;

2. School of Automation and Electrical Engineering, Linyi University, Linyi 276000, China)

ABSTRACT: Objective To develop a method for determination of bifenthrin in tea drink by dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). **Methods** The tea drink samples were extracted by DLLME (60 μL chlorobenzene as the extraction solvent, 0.8 mL acetonitrile as the dispersive solvent, sonication for 0.5 min). The treated samples were then subjected to GC-MS/MS using multiple reaction monitor (MRM) acquisition mode, and the external standard method was used for quantification. **Results** Bifenthrin had the good linear relationship in the range of 10-200 $\mu\text{g/L}$ ($r^2 > 0.99$). The limit of detection ($S/N=3$) of the method was 0.0027 $\mu\text{g/L}$. The recoveries at levels of 0.5, 1.0 and 2.5 $\mu\text{g/L}$ were ranged from 92.5% to 98.7%. The relative standard deviations (RSDs) were less than 5.7% ($n=6$). **Conclusion** The established method is rapid, simple, sensitive, repeatable, and reliable for analysis of bifenthrin in tea drink.

KEY WORDS: dispersive liquid-liquid microextraction; gas chromatography-tandem mass spectrometry; tea drink; bifenthrin

基金项目: 原山东出入境检验检疫局科研项目(SK201749)

Fund: Supported by Shandong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau Foundation (SK201749)

*通讯作者: 赵峰, 博士, 主要研究方向为智能检测。E-mail: fzhao1986163@163.com

*Corresponding author: ZHAO Feng, Ph.D, School of Automation and Electrical Engineering, Linyi University, Linyi 276000, China. E-mail: fzhao1986163@163.com

1 引言

茶饮料是以茶叶的水提取液、浓缩液、速溶茶粉为主要原料,经过滤、调配、杀菌、灌装等工序加工而成,含有一定量的茶叶有效成分且具茶风味的液体制品^[1],由于具有自然、健康、清新等诸多优点越来越赢得广大消费群体的喜爱^[2]。杀虫剂、杀菌剂等农药在茶叶种植过程中的广泛使用不可避免的残留在茶叶中,进而残留在茶饮料中。虽然我国国家标准 GB 2763-2016《食品安全国家标准食品中农药最大残留限量》^[3]、GB 2763.1-2018《食品安全国家标准 食品中百草枯等 43 种农药最大残留限量》^[4]只规定了茶叶中农药残留的限量,对茶饮料中农药的限量并未做规定,但随着人们食品安全意识的增强,茶饮料中农药残留的检测也日益受到关注。

目前,对茶饮料中农药残留的研究较少,且主要采用固相萃取^[5-8]、液液萃取^[9-11]等前处理技术,具有操作繁琐、有机溶剂用量大、检测成本高等缺点。分散液相微萃取(dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)是 2006 年 Rezaee 等^[12]提出的一种集萃取和富集于一体的样品前处理技术,该方法相当于微型化的液液萃取,具有有机溶剂用量少,操作简便快速等优点,目前已被广泛的应用于食品^[13,14]、药品^[15,16]、环境^[17]等样品的检测。本研究通过优化分散液相微萃取条件,建立了分散液相微萃取与气相色谱串联质谱联用(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)测定茶饮料中联苯菊酯的分析方法,为茶饮料中农药残留的检测提供了技术支撑。

2 材料与amp;方法

2.1 仪器与试剂

451GC-Scion TQ 气相色谱串联质谱仪(美国 Bruker 公司); SK8200H 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司); CR22GIII 高速冷冻离心机(日本日立公司); GENIUS 3 涡旋震荡器(德国 IKA 公司)。

联苯菊酯标准物质(纯度 99.5%,德国 Dr. Ehrenstorfer 公司); 甲醇、乙腈、丙酮(色谱纯,美国 Tedia 公司); 二氯甲烷、四氯化碳(分析纯,江苏强盛功能化学

股份有限公司); 三氯甲烷(分析纯,天津市海光化学试剂厂); 氯苯(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

实验用茶饮料(购于当地超市): 龙井绿茶(娃哈哈茉莉花味, 500 mL)。

2.2 实验方法

2.2.1 农药标准溶液配制

准确称取联苯菊酯标准物质以乙腈溶解配制成浓度为 500 mg/L 的联苯菊酯储备液,在-18 °C 避光存放,临用时用乙腈稀释成不同浓度的标准工作液。

2.2.2 DLLME 操作过程

在 15 mL 尖底带塞离心管中加入 5 mL 茶饮料样品,用注射器分别将 0.8 mL 乙腈和 60 μ L 氯苯迅速注入茶饮料样品中,超声振荡 0.5 min 形成均匀的乳浊液,再以 10000 r/min 离心 5 min,用注射器将离心管底部的沉积相转移到进样小瓶中(带玻璃内插管),进 GC-MS/MS 分析。

2.2.3 气相色谱-串联质谱条件

色谱条件: BR-5 MS 毛细管柱(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m, 美国 Bruker 公司); 载气氮气(纯度 \geq 99.999%); 恒流流速 1.0 mL/min; 进样口温度 280 °C; 进样量 1 μ L; 进样方式为不分流进样; 柱温箱升温程序: 初始温度 70 °C(保持 2 min),以 20 °C/min 升至 150 °C,再以 5 °C/min 升至 280 °C(保持 10 min)。

质谱条件: 离子源温度 230 °C; 电子轰击电离(electron impact, EI); 轰击能量 70 eV; 碰撞气氩气(纯度 \geq 99.999%); 碰撞池压力 2 mTorr; 腔体温度 40 °C; 溶剂延迟时间 5 min; 数据采集模式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)。联苯菊酯的保留时间、MRM 参数见表 1。

3 结果与分析

3.1 DLLME 萃取条件优化

影响 DLLME 萃取效果的关键技术参数有萃取剂的种类和体积、分散剂的种类和体积、萃取方式、萃取时间等。为了使联苯菊酯的萃取效率最佳,对其关键技术参数进行了优化,优化时茶饮料中联苯菊酯的添加浓度均为 2 μ g/L。

表 1 联苯菊酯的保留时间、MRM 参数
Table 1 Retention time, mass spectrometric parameters of bifenthrin

农药名称	保留时间/min	定量离子			定性离子		
		母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	轰击能 CE/V	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	轰击能 CE/V
联苯菊酯	30.35	181	165	18	181	166	10

3.1.1 萃取剂种类的选择

萃取剂的种类是影响DLLME中富集因子的重要因素^[18]。以1 mL乙腈为分散剂,分别考察了二氯甲烷(密度1.320~1.330 g/mL)、三氯甲烷(密度1.471~1.484 g/mL)、四氯化碳(密度1.592~1.598 g/mL)、氯苯(密度1.105~1.109 g/mL)4种萃取剂(用量均为80 μL)对联苯菊酯的萃取效果。实验发现用三氯甲烷、四氯化碳和氯苯作萃取剂时离心后萃取剂沉积较好,二氯甲烷作萃取剂时经离心后只得到很少的二氯甲烷沉积相,过少的沉积相不方便移取,操作误差也大,说明二氯甲烷不适合用于该实验体系。对比三氯甲烷、四氯化碳、氯苯3种萃取剂对联苯菊酯的萃取效果,其中氯苯的萃取效果优于其余2种。因此,最终选择氯苯为萃取剂。

3.1.2 分散剂种类的选择

DLLME中,分散剂起着桥梁作用^[19]。以80 μL氯苯为萃取剂,分别考察了甲醇、乙腈、丙酮3种分散剂(用量均为1 mL)对联苯菊酯萃取效果的影响。结果表明3种分散剂中乙腈的效果最佳,因此最终选择乙腈为分散剂。

3.1.3 萃取剂体积的选择

以1 mL乙腈为分散剂,20、40、60、80 μL氯苯为萃取剂,考察了萃取剂体积对联苯菊酯萃取效果的影响。当萃取剂体积为20 μL时,沉积相的体积过少,操作误差也大。当萃取剂用量由40 μL增加到60 μL时,联苯菊酯回收率有所增加,当萃取剂用量从60 μL增加到80 μL时,联苯菊酯回收率无明显变化。更少体积的萃取剂可以获得更高的富集倍数和更低的检出限^[12],因此最终选择氯苯的体积为60 μL。

3.1.4 分散剂体积的选择

分散剂用量直接影响水、分散剂、萃取剂乳浊液的形成,进而影响萃取剂在水溶液中的分散及萃取效率^[18]。以60 μL氯苯为萃取剂,0.6、0.8、1.0 mL乙腈为分散剂,考察了分散剂体积对联苯菊酯萃取效果的影响。结果表明,随着分散剂体积的增加,联苯菊酯的回收率呈先增加后降低的趋势。可能是当分散剂体积为0.6 mL时,氯苯不能很好的在茶饮料中分散开来,当分散剂体积为1.0 mL时,使联苯菊酯与氯苯在茶饮料中溶解度增加,从而使萃取效率降低。因此,最终选择分散剂的体积为0.8 mL。

3.1.5 萃取方式和萃取时间的选择

萃取方式和萃取时间也会影响DLLME的萃取效果。实验考察了涡旋振荡和超声振荡2种萃取方式对联苯菊酯萃取效果的影响,结果表明超声振荡的重现性更好,因此选择超声振荡的萃取方式。在DLLME中,萃取时间是指将萃取剂和分散剂混合溶液快速注入待测样液开始到离心前的这段时间^[19]。考察了超声0.5、1、2、5 min对联苯菊酯萃取效果的影响,结果发现超声时间对萃取效果无明显影响,因此实验中超声时间为0.5 min。

3.2 方法的富集效果

用优化的DLLME方法对茶饮料中的联苯菊酯(2 μg/L)进行检测,图1为联苯菊酯的MRM色谱图。

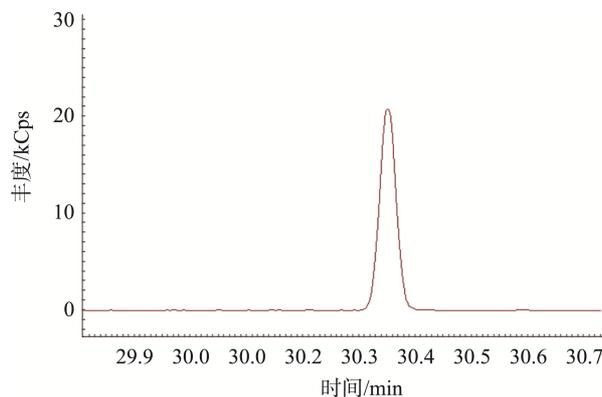


图1 联苯菊酯的MRM色谱图

Fig. 1 MRM chromatogram of bifenthrin

根据富集因子(enrichment factor, EF)的计算方法^[12]:

$$EF = C_{\text{sed}} / C_0$$

中 C_{sed} 为富集后沉淀相中目标物的浓度(μg/L), C_0 为富集前水相中目标物的浓度(μg/L)。通过计算得出联苯菊酯的富集因子是79,可见该方法对茶饮料中的联苯菊酯具有较好的富集效果。

3.3 线性范围及检出限

在优化的实验条件下对不含目标物的茶饮料进行处理,用10、20、50、100和200 μg/L的标准溶液复溶,联苯菊酯在该浓度范围内线性关系良好,线性方程为 $Y = 7.65 \times 10^4 X - 1.26 \times 10^3$ (其中 Y 为联苯菊酯色谱峰面积, X 为联苯菊酯浓度),相关系数为0.9965。以信噪比(signal to noise, S/N)为3计算出方法的检出限(limit of detection, LOD)为0.0027 μg/L,可见该方法有较高的灵敏度。

3.4 添加回收率及精密度

以空白茶饮料为样品,在0.5、1.0和2.5 μg/L 3个水平下进行加标回收实验,每个添加水平重复测定6次,平均加标回收率和相对标准偏差见表2。3个添加水平下联苯菊酯的回收率在92.5%~98.7%之间,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)在4.0%~5.7%之间。说明该方法有较高的准确度和良好的稳定性。

表2 联苯菊酯回收率及相对标准偏差($n=6$)
Table 2 Recoveries and relative standard deviations of bifenthrin ($n=6$)

农药名称	加标水平/(μg/L)	回收率/%	重现性 RSD/%
联苯菊酯	0.5	92.5	5.7
	1.0	98.7	4.6
	2.5	96.1	4.0

3.5 实际样品测定

用本方法对购于超市的 5 个不同批次的茶饮料进行检测, 结果均未检出。

4 结 论

本研究建立了分散液相微萃取与气相色谱串联质谱联用分析茶饮料中联苯菊酯的检测方法, 该方法仅需要在 5 mL 茶饮料样品加入 0.8 mL 分散剂乙腈和 60 μ L 萃取剂氯苯, 超声振荡 0.5 min, 富集倍数为 79, 检出限为 0.0027 μ g/L。该方法具有操作简便快速、有机溶剂用量少、富集倍数高和灵敏度高等优点, 适用于茶饮料样品中联苯菊酯的快速检测。

参考文献

- [1] 孙其富, 张凌云, 梁月荣. 我国茶饮料工业的现状与发展趋势[J]. 粮油加工与食品机械, 2003, (6): 58–60.
Sun QF, Zhang LY, Liang YR. Status and development trend of China's tea beverage industry [J]. Cere Oil Proc, 2003, (6): 58–60.
- [2] 陈锋. 茶饮料的市场现状及发展前景[J]. 福建茶叶, 2015, 37(5): 25–27.
Chen F. Tea beverage market status and development prospects [J]. Tea Fujian, 2015, 37(5): 25–27.
- [3] GB 2763-2016 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S].
GB 2763-2016 National food safety standard-Maximum residue limits for pesticides in food [S].
- [4] GB 2763.1-2018 食品安全国家标准 食品中百草枯等 43 种农药最大残留限量[S].
GB 2763.1-2018 National food safety standard-Maximum residue limits for 43 pesticides in food [S].
- [5] 苏婷, 侯如燕, 赵秀霞, 等. 茶叶、茶鲜叶及茶汤中啉虫脒残留的检测[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(10): 174–177.
Su T, Hou RY, Zhao XX, *et al.* A method for determination of acetamiprid residue in tea, fresh tea and tea infusion [J]. Food Ferm Ind, 2011, 37(10): 174–177.
- [6] 宋宁慧, 单正军, 郭敏. 气相色谱-质谱法检测茶饮料中拟除虫菊酯类农药残留[J]. 分析实验室, 2011, 30(10): 102–106.
Song NH, Shan ZJ, Guo M. Determination of multi-residues of pyrethroid pesticides in tea drink by GC-MS [J]. Chin J Anal Lab, 2011, 30(10): 102–106.
- [7] 傅强, 杨仁斌, 刘双双, 等. 气相色谱法检测茶饮料中 4 种残留农药[J]. 中国食品卫生杂志, 2012, 24(5): 435–437.
Fu Q, Yang RB, Liu SS, *et al.* Determination of four kinds of pesticide residues in tea drinks by GC [J]. Chin J Food Hyg, 2012, 24(5): 435–437.
- [8] 黎浩劲, 胡克生, 李丰耀, 等. 气相色谱-质谱联用法检测液体饮料中多种农药残留[J]. 海峡科技与产业, 2016, (5): 85–86.
Li HJ, Hu KS, Li FY, *et al.* Determination of multi-residues of pesticides in liquid drink by GC-MS [J]. Technol Ind Across Straits, 2016, (5): 85–86.
- [9] 韩丙军, 汤建彪, 林靖凌, 等. 气相色谱法测定茶饮料中腐霉利、哒螨灵、高效氯氟菊酯残留[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(4): 290–291.
Han BJ, Tang JB, Lin JL, *et al.* Residues determination of procymidone, pyridaben and lambda-cyhalothrin in tea drinks by gas chromatograph [J]. Jiangsu Agric Sci, 2012, 40(4): 290–291.
- [10] 方祖凯, 李俊凯, 程玲, 等. 气相色谱法检测茶饮料中高效氯氟菊酯和哒螨灵的残留量[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2011, 8(2): 254–255, 289.
Fang ZK, Li JK, Cheng L, *et al.* Residues determination of lambda-cyhalothrin and pyridaben in tea drinks by gas chromatograph [J]. J Yangtze Univ (Nat Sci Ed), 2011, 8(2): 254–255, 289.
- [11] 陈兴连, 邵金良, 方海仙, 等. 气相色谱法同时快速测定茶饮料及其制品中 17 种有机氯、拟除虫菊酯农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(6): 1275–1283.
Chen XL, Shao JL, Fang HX, *et al.* Rapid and simultaneous determination of 17 kinds of organochlorine and pyrethroid pesticides in tea drink and its products by gas chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(6): 1275–1283.
- [12] Rezaee M, Assadi Y, Milani HMR, *et al.* Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction [J]. J Chromatogr A, 2006, 1116: 1–9.
- [13] 叶静青, 姚周麟, 聂晶, 等. 分散液相微萃取技术在柑橘农药残留检测的研究进展[J]. 浙江柑橘, 2016, 33(2): 7–10.
Ye JQ, Yao ZL, Nie J, *et al.* Research progress of dispersive liquid-liquid microextraction technology for detection of pesticide residues in citrus [J]. Zhejiang Citrus, 2016, 33(2): 7–10.
- [14] 何浩, 陈幸莺, 梁林富, 等. 分散液液微萃取-气相色谱法测定复杂食品基质中对羟基苯甲酸酯类[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(23): 146–150.
He H, Chen XY, Liang LF, *et al.* Determination of p-hydroxy benzoates in complex food matrix using dispersive liquid-liquid microextraction /gas chromatography [J]. Food Res Dev, 2017, 38(23): 146–150.
- [15] 周艳芬, 高原, 贺筱雅, 等. 分散液液微萃取-气相色谱/质谱法测定中药甘草中邻苯二甲酸酯残留[J]. 分析科学学报, 2018, 34(4): 518–522.
Zhou YF, Gao Y, He XY, *et al.* Determination of phthalate esters residue in Chinese medicine licorice by dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Anal Sci, 2018, 34(4): 518–522.
- [16] 马妍, 陈颀, 陈曦, 等. 分散固相萃取-分散液液微萃取-气相色谱-质谱联用法测定中草药类保健食品中 29 种有机磷农药残留[J]. 中国食品卫生杂志, 2017, 29(5): 556–560.
Ma Y, Chen D, Chen X, *et al.* Determination of 29 organophosphorus pesticide residues in health food from Chinese herbal medicines by dispersive solid phase extraction and dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Food Hyg, 2017, 29(5): 556–560.
- [17] 廖且根, 张大文, 罗林广. 超声辅助悬浮固相分散液液微萃取-液相色谱-串联质谱法测定环境水样中氯硝柳胺[J]. 分析科学学报, 2018, 34(6): 834–836.
Liao QG, Zhang DW, Luo LG. Analysis of niclosamide in environmental water samples by ultrasound-assisted liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Anal Sci, 2018, 34(6): 834–836.

834-836.

[18] 崔淑敏, 王卫平, 缪吉根, 等. 分散液液微萃取技术在气相色谱法测定农药残留量中的应用[J]. 理化检验(化学分册), 2013, 49(8): 1011-1016.
Cui SM, Wang WP, Miao JG, *et al.* Application of dispersive liquid-liquid microextraction to GC-determination of residual amounts of pesticides [J]. Part B: Chem Anal, 2013, 49(8): 1011-1016.

[19] 张雪莲, 焦必宁. 分散液液微萃取技术及其在食品和环境农药残留检测中的应用[J]. 食品科学, 2012, 33(9): 307-313.
Zhang XL, Jiao BN. Application of dispersive liquid-liquid microextraction for analysis of pesticide residues in food and environment [J]. Food Sci, 2012, 33(9): 307-313.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介

徐 豪, 工程师, 主要研究方向为食品中农药残留分析。
E-mail: xuhao678@126.com

赵 峰, 博士, 主要研究方向为智能检测。
E-mail: fzhaof1986163@163.com



“农药、兽药以及重金属残留分析”专题征稿函

食用产品中农药、兽药以及重金属的残留问题是国内外广泛关注的课题。

鉴于此, 本刊特别策划了“**农药、兽药以及重金属残留分析**”专题, 由福州大学化学学院的付凤富教授和中山大学化学学院的李攻科教授共同担任专题主编主要围绕食品中农兽药残留与重金属检测方法与风险评估、重金属与农药分析、农兽药的代谢与迁移转化、农兽药与重金属残留样品前处理方法、农兽药与重金属残留检测技术与应用、农兽药与重金属残留现场检测技术、农兽药与重金属残留市场监测与结果分析等或者您认为与本专题相关有意义的领域展开论述和研究, 综述及研究论文均可。

鉴于您在该领域丰富的研究经历和突出的学术造诣, 本刊主编吴永宁研究员、专题主编付凤富教授、李攻科教授及编辑部全体成员特别邀请您为本专题撰写稿件, 综述、研究论文、研究简报均可, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。

本专题计划在 2020 年 8 月出版, 请在 2020 年 6 月 15 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

同时烦请您帮忙在同事之间转发一下, 再次感谢您的关怀与支持!

谢谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com(备注: 投稿请登录食品安全质量检测学报主页-作者登录-注册投稿-投稿选择“专题: **农药、兽药以及重金属残留分析**”)

E-mail: jfoodsq@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部