

GC/MS 研究茶叶中拟除虫菊酯类农药残留的提取方法

王 翔, 宋国新, 胡耀铭

(复旦大学分析测试中心, 上海 200433)

摘要: 针对茶叶中拟除虫菊酯类农药残留的提取方法进行研究, 比较了加水浸泡对农残提取的影响。结果表明, 加水浸泡的样品农残提取率反而降低, 通过对样品净化淋洗剂种类和体积的优化选择, 总结出一套简便实用的前处理方法。茶叶不用水浸泡, 直接用 50 mL $V(\text{丙酮}) : V(\text{正己烷}) = 1 : 1$ 的溶液超声提取, 提取液过活性炭柱, 浓缩后再过 Florisil 柱, 用 15 mL $V(\text{正己烷}) : V(\text{乙酸乙酯}) = 2 : 1$ 的溶液淋洗, 浓缩后用 GC/MS 法测定。回收率为 81%~120%, RSD 为 2.2%~7.8%, 检测限为 0.002~0.01 mg · kg⁻¹。

关键词: 拟除虫菊酯; 农药残留; 茶叶; 提取方法; GC/MS

中图分类号: O 657.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2008)02-97-04

Study on Extraction of Pyrethroid Pesticide Multi-Residues in Tea by GC/MS

WANG Xiang, SONG Guo-xin, HU Yao-ming

(The Research Center of Analysis and Measurement, Fudan University, Shanghai 200433, China)

Abstract: The factors of extracting pyrethroid pesticide multi-residues from tea were studied, especially for the influence of adding water into samples before organic solvents extraction. Results show that higher extracting efficiency is acquired without adding water. A simple and accurate pretreatment for pyrethroids in tea is reached by optimizing the choices and volumes of eluting solvents. The samples without water immersing were extracted by 50 mL of $V(\text{hexane}) : V(\text{acetone}) = 1 : 1$, followed by cleaning up with columns of activated carbon and Florisil respectively. 15 mL of $V(\text{hexane}) : V(\text{ethyl acetate}) = 2 : 1$ was employed to elute the Florisil column, then was determined by GC/MS. The recoveries range from 81% to 120%, RSDs are 2.2%-7.8%, and the limits of detection are 0.002-0.01 mg · kg⁻¹.

Key words: pyrethroid; pesticide residue; tea; extraction method; GC/MS

拟除虫菊酯类农药因具有广谱、高效、低毒的优点, 被广泛用于茶叶生产中的害虫防治, 但如果使用不当造成茶产品中的农药高残留会严

重威胁人类健康, 并直接影响我国茶产品的出口, 对此已引起相关方面的高度重视。特别是 2006 年 5 月, 日本实施的“肯定列表制度”将茶

叶的农残限量指标从 83 项增加到 276 项,因此茶叶中的农残检测是当前的一个研究热点。

正确的样品前处理是进行茶叶中农残检测的关键,而样品提取率的高低直接影响到检测方法的准确性。楼国柱等^[1-3]比较了单一和混合溶剂对茶叶农残提取的影响,认为用 $V(\text{丙酮}):V(\text{石油醚})=1:1$ 的溶液提取效果最好;而日本环境厅等^[1,3-4]认为,在有机溶剂提取前加水浸泡有利于茶叶组织内农残的提取,但缺少提取方面的比较数据。因此本工作拟对茶叶中拟除虫菊酯类农残的提取进行研究,设计在加水浸泡与无水情况下,用混合溶剂提取高农残茶样品,通过优化 Florisil 柱淋洗剂的种类和体积,总结出一套简便实用的前处理方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Focus-DSQ 气相色谱-质谱联用仪;美国热电公司产品;VF-5ms 石英毛细管色谱柱($30\text{ m}\times 0.25\text{ mm}$, $0.25\text{ }\mu\text{m}$);超声波振荡清洗仪(HS6150);食品粉碎机;氮吹浓缩仪(HGC-12A);具塞玻璃层析柱($250\text{ mm}\times 10\text{ mm}$);K-D 浓缩器。

正己烷、丙酮、乙酸乙酯和乙醚(农残级);无水硫酸钠(分析纯, $650\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灼烧 4 h 后冷却备用);Florisil(分析纯, $620\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灼烧 4 h 后备用,使用前 $140\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘 2 h,趁热加 5% 水灭活);活性炭(用 $3.0\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸浸泡过夜,蒸馏水洗涤至中性, $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘干备用)。

农药标准品:六氯苯(内标)、联苯菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯,浓度为 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,购自农业部环境保护科研检测所。

1.2 实验方法

1.2.1 提取 准确称取 5.0 g 茶叶粉碎样品于 100 mL 具塞三角瓶中,加入 15 mL $V(\text{正己烷}):V(\text{丙酮})=1:1$ 混合溶液,超声振荡 15 min ,重复提取 3 次,并用 5 mL 混合液清洗残渣,合并提取液约 50 mL 。

1.2.2 净化 用活性炭柱和 Florisil 柱分别去除提取液中的色素和油脂。活性炭层析柱自下而上依次填入少许脱脂棉、 1 g 无水硫酸钠、 2 g 活性炭、 2 g 无水硫酸钠,先用 10 mL $V(\text{正己烷}):V(\text{丙酮})=1:1$ 混合液预淋洗,弃去预淋液,在液面近干时倒入提取液,最后再加入 5 mL

正己烷洗脱,将洗脱液于 K-D 浓缩器上浓缩至近 1 mL ,备用。Florisil 柱由下至上依次填入少许脱脂棉、 1 g 无水硫酸钠、 4 g Florisil、 2 g 无水硫酸钠,同上先预淋洗层析柱,倒入上述备用的浓缩液后,用 15 mL $V(\text{正己烷}):V(\text{乙酸乙酯})=2:1$ 混合液以 $2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 洗脱,洗脱液 K-D 浓缩至近 1 mL ,加入 $2.0\text{ }\mu\text{L}$ $0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 六氯苯内标,待 GC/MS 测定。

1.2.3 GC/MS 测定 载气:氦气(99.99%);进样口: $280\text{ }^{\circ}\text{C}$;离子源(EI, 70 eV); $230\text{ }^{\circ}\text{C}$;接口温度: $250\text{ }^{\circ}\text{C}$;程序升温: $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 1 min ,以 $30\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 $150\text{ }^{\circ}\text{C}$,再以 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 $300\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 12 min ;不分流进样,进样量 $1.0\text{ }\mu\text{L}$;全扫描方式检测;内标法定量。

4 种拟除虫菊酯类农药标准品总离子色谱图示于图 1,其中氯氰菊酯、氰戊菊酯分别有 4 个和 2 个同分异构体峰。

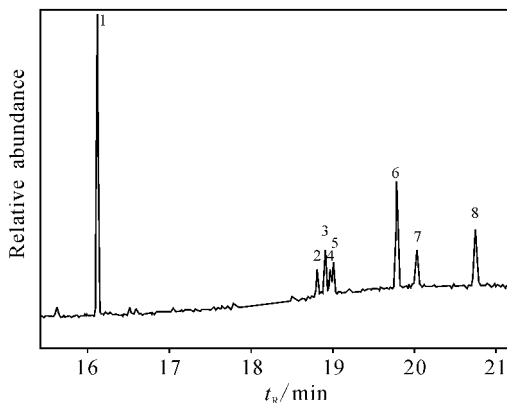


图 1 农药标准品总离子色谱图(TIC)

1. 联苯菊酯; 2~5. 氯氰菊酯;
6~7. 氰戊菊酯; 8. 溴氰菊酯

Fig. 1 TIC of the pyrethroid standards

1. bifenthrin; 2~5. cypermethrin;
6~7. fenvalerate; 8. deltamethrin

2 结果与讨论

2.1 提取剂的优化

楼国柱等^[2-3]比较了单一和混合溶剂对茶叶农残提取的影响,得出用 $V(\text{丙酮}):V(\text{石油醚})=1:1$ 混合液提取的效果最好。而 Ogawa 等^[3-4]认为采用蒸馏水浸泡使茶叶细胞组织吸水膨胀,有利于组织中残留的农药析出,但没有提取方面的比较数据。因此,本实验设计用 $V(\text{正己烷}):V(\text{丙酮})=1:1$ 混合液和 $V(\text{正己烷}):$

$V(\text{乙酸乙酯})=1:1$ 混合液作提取剂,在加水浸泡与不加水两种情况下,分别提取茶叶样品中的除虫菊酯类农残,比较它们的提取效率。

准确称取 20.0 g 粉碎均匀的高农残茶叶样品,平均分成 4 组,分别加入 A1、A2、B1、B2 四个具塞三角瓶中。B1、B2 先加入 15 mL 饱和食盐水,浸泡 1 h。A1、B1 和 A2、B2 分别加入 50 mL $V(\text{正己烷}):V(\text{丙酮})=1:1$ 混合液和 50 mL $V(\text{正己烷}):V(\text{乙酸乙酯})=1:1$ 混合液,按 2.2.1 提取。其中 B 组通过充分机械振荡,以正己烷液-液萃取方式获得有机相。3 次平行样取平均值,所得结果列于表 1。

表 1 不同提取剂农残提取效率对比表
Table 1 Statistics for extracting efficiencies of different solvents

样品/ (mg · kg ⁻¹)	联苯菊酯	氯氰菊酯	氰戊菊酯	溴氰菊酯
A1	4.29	2.10	ND	ND
A2	3.85	1.77	ND	ND
B1	2.91	1.34	ND	ND
B2	1.79	0.96	ND	ND

注:ND 为未检出

在 A 组中,A1(正己烷/丙酮)比 A2(正己烷/乙酸乙酯)的提取效率高,其原因是丙酮的极性相对较强,相应增强了其对细胞的穿透力,因此提取效率相对较高。而 B 组(加水)的提取效率远低于 A 组(不加水),与文献[3-4]报道的结果不同,与所用溶剂的极性和溶剂与水的作用有关。当向 B 组中加入 $V(\text{正己烷}):V(\text{丙酮})=1:1$ 混合液时,提取液即分为两层,上层为正己烷,下层为丙酮/水混合相。尽管加水使茶叶组织膨胀,但却阻止了正己烷与叶片的直接接触,只能先通过丙酮提取,再分配到正己烷中,而丙酮/水混合相的极性大,水与农药不互溶,致使其提取不完全;而且农药在液液分配中会残留一部分在丙酮/水混合相中,使其提取率降低。而 B2 中乙酸乙酯和正己烷与水都不互溶,水层直接隔绝了有机相与茶叶的接触,因此其提取率低。实验结果表明,用 $V(\text{正己烷}):V(\text{丙酮})=1:1$ 混合液不加水浸泡,直接提取农残的效果最好。

2.2 净化步骤的优化

实验设计分别用活性炭柱和 Florisil 柱去

除提取液中的色素和油脂,过活性炭柱后的淋洗液先浓缩再过 Florisil 柱,可以提高 Florisil 的吸附效率,减少淋洗剂的用量。

2.2.1 Florisil 柱条件优化 称取 5.0 g 空白茶叶粉碎样品,提取后过活性炭柱,K-D 浓缩至 1.0 mL,加入 10.0 μL 100 mg · L⁻¹ 的贮备液,配成 1.0 mg · L⁻¹ 的加标基质。过 Florisil 柱,用若干体积的不同淋洗剂淋洗柱子,浓缩后加内标进样分析。

2.2.2 淋洗剂优化 由文献[3,6-7]可知,单一溶剂淋洗的效果较差,而拟除虫菊酯类农药是弱极性物质,且实验过程中为达到环保要求尽量避免使用毒性大的溶剂,因此选用下列混合溶剂: $V(\text{正己烷}):V(\text{丙酮})=4:1$ 、 $V(\text{正己烷}):V(\text{乙酸乙酯})=4:1$ 、 $V(\text{正己烷}):V(\text{乙醚})=1:1$ 、 $V(\text{正己烷}):V(\text{丙酮}):V(\text{乙醚})=3:1:1$ 。淋洗体积选为 25 mL,实验结果示于图 2。

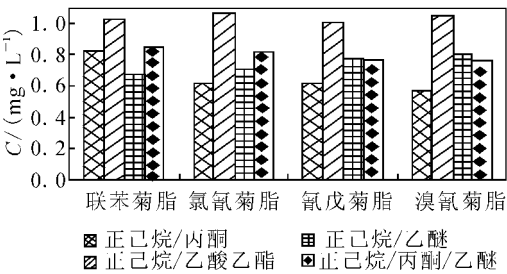


图 2 不同淋洗剂淋洗效率对比图
Fig. 2 Efficiencies of different elutants

通过实验发现, $V(\text{正己烷}):V(\text{乙酸乙酯})=4:1$ 淋洗效率最高。在此基础上再优化体积比,分别选取体积比为 2:1、4:1、9:1 混合液淋洗柱子,由图 3 可知, $V(\text{正己烷}):V(\text{乙酸乙酯})=2:1$ 的淋洗效率最高。取 1.0 mL 1 mg · L⁻¹ 加标基质过 Florisil 柱,用 25 mL $V(\text{正己烷}):V(\text{乙酸乙酯})=2:1$ 混合液淋洗,每 5 mL 收集一管,在氮吹仪上浓缩至近 1 mL,加入 2.0 μL 内标,GC/MS 测定,检测数据列于表 2,只需 15 mL 混合溶液即可把目标物全部淋洗下来。

2.3 回收率与检测限

准确称取 5.0 g 空白茶叶粉碎样品,吸取 100 mg · L⁻¹ 贮备液分别配成 0.02 和 0.2 mg · kg⁻¹ 的加标样品进行回收率实验。按以上最优

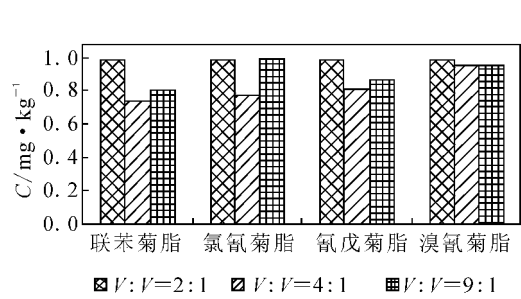


图 3 正己烷/乙酸乙酯不同体积比的淋洗效率图

Fig. 3 Efficiencies of different volume ratios of hexane and ethyl acetate

化条件提取、净化、检测样品,每个浓度平行测定 5 次,结果列于表 3。

表 2 淋洗体积曲线数据

Table 2 Statistics for eluting curves

淋洗体积/mL	联苯菊酯	氯氰菊酯	氰戊菊酯	溴氰菊酯
0~5	86.6%	92.9%	85.3%	85.9%
5~10	13.3%	6.9%	14.7%	14.0%
10~15	0.1%	0.1%	ND	ND
15~20	ND	ND	ND	ND
20~25	ND	ND	ND	ND

表 3 添加回收率(n=5)与检测限

Table 3 Statistics for recoveries (n=5) and detection limits

农药	添加量: 0.02 mg·kg ⁻¹		添加量: 0.2 mg·kg ⁻¹		回收率/%	检测限/(mg·kg ⁻¹)
	实测平均值	RSD/%	实测平均值	RSD/%		
联苯菊酯	0.020 8	2.8	0.212	2.2	88~103	0.002
氯氰菊酯	0.019 0	7.8	0.194	4.0	81~112	0.01
氰戊菊酯	0.021 2	5.7	0.208	3.8	89~116	0.01
溴氰菊酯	0.020 6	4.3	0.211	3.0	98~120	0.01

3 结 论

通过实验发现,茶叶经加水浸泡后,用 V (正己烷):V (丙酮) = 1 : 1 的混合液超声提取,不仅步骤增多,操作繁琐,而且提取效率也不如溶剂直接提取,这与文献报道的结果不一致,可能是水阻止了有机溶剂与茶叶的直接接触,不利于菊酯类农残的提取。本实验将茶样品用 V (正己烷):V (丙酮) = 1 : 1 的混合液直接超声提取,提取液再分别过活性炭柱和 Florisil 柱除去其中的色素和油脂,只需 15 mL V (正己烷) : V (乙酸乙酯) = 2 : 1 的混合液淋洗 Florisil 柱,即可将农药全部淋洗下来。回收率为 81% ~120%,RSD 为 2.2%~7.8%,检测限为 0.002 ~0.01 mg·kg⁻¹,可以很好地满足当前茶叶中除虫菊酯类农药残留的检测要求。

参考文献:

[1] CHEN Z M, WANG Y H, et al. Chromatographic methods for the determination of pyrethrin and pyrethroid pesticide residues in crops, foods and environmental samples[J]. Journal of Chromatog-

raphy A, 1996, 754:367-395.

[2] 楼国柱,徐 倩,白晓荣,等. 不同提取剂对茶叶中多种农药残留检测影响的研究[J]. 食品科学, 2004,25(12):165-168.

[3] 李拥军,黄志强,戴 华,等. 茶叶中多种拟除虫菊酯类农药残留量的气相色谱-质谱测定[J]. 分析化学, 2002,7(30):865-868.

[4] OGAWA M, SAKAI T, OHKUMA K, et al. Rapid determination of multiple pesticide residues in agricultural products by GPC clean-up and GC/MS-SIM[J]. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 1997, 38(2):49-61.

[5] 朱 坚,汪国权,陈正夫,等. 食品中危害残留物的现代分析技术[M]. 上海:同济大学出版社,2003: 200-210.

[6] 林竹光,金 珍,刘 勇,等. GC-NCI-MS 分析茶叶中 17 种有机氯和拟除虫菊酯农药残留[J]. 高等学校化学学报, 2005,26(12):2 218-2 222.

[7] 李胜清,田 华. 固相萃取-气相色谱法用于蔬菜中拟除虫菊酯类农药残留的检测研究[J]. 分析科学学报, 2005,21(3):289-291.