

测定茶叶中 27 种有机氯和拟除虫菊酯农药多组分残留气相色谱法

蒋定国 方从容 杨大进 王竹天
(中国疾控中心营养与食品安全所,北京 100021)

摘要:为了更有效地对我国茶叶的质量和安全性进行监管,建立了一种快速测定茶叶中 20 种有机氯和 7 种拟除虫菊酯农药多残留的气相色谱法。试样中农药残留在超声波振荡条件下用乙腈提取,提取液经氮气流浓缩和 Florisil 固相萃取小柱净化,用气相色谱-电子捕获检测器测定,色谱柱为 HP-5 小口径石英毛细管柱(30 m ×0.32 mm ×0.25 μm)。农药的添加水平在 6.0~228 μg/kg 范围时,在绿茶中的平均添加回收率为 71.2%~115%,相对标准差为 3.42%~18.9%;在花茶中的平均添加回收率为 71.1%~121%,相对标准差为 3.55%~19.2%。方法的检测限范围为 0.12~6.0 μg/kg。该方法快速、灵敏、准确、成本低,能满足农药多残留快速扫描的分析要求。
关键词:茶叶;色谱法;气相;农药残留量;杀虫剂;有机氯;除虫菊酯类

Determination of 27 organochlorine and pyrethroid pesticide multi-residues in teas by gas chromatography
JIANG Ding-guo, FANG Cong-rong, YANG Da-jin, WANG Zhu-tian
(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100021, China)

Abstract: To control the pesticide residues in tea, a rapid and sensitive method has been established for the determination of 27 organochlorine and pyrethroid pesticide multi-residues in teas. The pesticide residues in tea samples were extracted with acetonitrile and by ultrasonic, the extracts were concentrated with stream of nitrogen, cleaned up by Florisil solid phase extraction column, and then determined by gas chromatography with electron capture detector. The column used was HP-5 capillary column (30 m ×0.32 mm ×0.25 μm). Twenty organochlorine and 7 pyrethroid pesticide multi-residues in teas were determined by this method. When pesticide residues in teas were at the 6.0~228 μg/kg levels, the mean recoveries in green teas ranged from 71.2% to 115% with the relative standard deviation of 3.42% to 18.9%, and the mean recoveries in floscular tea ranged from 71.1% to 121% with the relative standard deviation of 3.55% to 19.2%. The limits of detection of this method, based on chromatograms of blank samples and pesticide standards, were estimated to be from 0.12 to 6.0 μg/kg of the pesticides in tea. Therefore, the method can meet with the fast analysis of pesticide multi-residues in teas.
Key word: FOLIUM THEAE; Chromatography, Gas; Pesticide Residues; Insecticides, Organochlorine; Pyrethrins

当前我国茶叶生产中仍存在农药用量大、次数多、滥用的现象。在全国茶叶抽检中也经常发现部分茶叶被检测出含量较高的六六六、滴滴涕、三氯杀螨醇以及拟除虫菊酯类农药残留。作为茶叶生产和消费大国,为了更有效地对我国茶叶的质量和安全性进行监管,必须建立一套对茶叶中多种农药残留

进行有效监测的快速分析技术。
我国原有的农药残留技术,前处理通常采用传统的液-液萃取、柱层析净化等手段及填充柱气相色谱检测方法^[1-4],这些方法只适合已知、单残留(单类、几种)测定,不能适应茶叶农药快速检测的要求。目前国内关于茶叶中有机氯农药和拟除虫菊酯农药同时进行检测的文献报导甚少。本文介绍一种新的分析茶叶中 20 种有机氯、7 种拟除虫菊酯农药

基金项目:食品安全重大专项[全国食品污染物监测体系的研究](2001BA804A36)
作者简介:蒋定国 男 助理研究员 博士生
通讯作者:王竹天 男 研究员

This work was supported by the Special Funds of Ministry of Science and Technology, China. (2001BA804A36)

残留量的气相色谱法,在分析农药种类上多于同类文献报导,而且解决了茶叶尤其是花茶的基质干扰问题。本方法的优点是快速、灵敏、准确、成本低、可靠性强,检测单个样品中有机氯类、拟除虫菊酯类 27 种农药只需 1.5 h。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

主要试剂 乙腈(农药残留级),正己烷(分析纯,重蒸),丙酮(分析纯,重蒸),乙醚(分析纯,重蒸),氯化钠(分析纯); Florisil[®] 固相萃取柱(1 g)(Waters 公司,美国)。

农药标准品 α -六六六(α -HCH)、 β -六六六(β -HCH)、 γ -六六六(γ -HCH)、 δ -六六六(δ -HCH)、 p,p' -滴滴涕(p,p' -DDT)、 p,p' -滴滴滴(p,p' -DDD)、 p,p' -滴滴伊(p,p' -DDE)、 o,p' -滴滴涕(o,p' -DDT)、 o,p' -滴滴伊(o,p' -DDE)、七氯(heptachlor)、环氧七氯(heptachlor epoxide)、艾氏剂(aldrin)、狄氏剂(Dieldrin)、异狄氏剂(Endrin)、三氯杀螨醇(Dicofol)、五氯硝基苯(PCNB)、五氯苯胺(PCA)、五氯苯基甲基硫醚(M-PCPS)、六氯苯(HCB)、百菌清(chlorothalonil)、二氯苯醚菊酯(permethrin)、三氟氯氰菊酯(功夫)(cyhalothrin)、氰戊菊酯(fenvalerate)、溴氰菊酯(deltamethrin)、联苯菊酯(bifenthrin)、氟胺氰菊酯(fluralinate)、甲氰菊酯(fenpropathrin),纯度大于 99%,购自 SIGMA 公司。

农药标准溶液的配制 分别准确称取上述标准品,用正己烷溶解并配成 1 mg/ml 的储备液(β -六六六需先用苯溶解)。再根据各农药品种在仪器上的响应情况,吸取不同量的标准储备液,用正己烷稀释成混合标准使用液。

主要仪器 Agilent 6890N 气相色谱仪附电子捕获检测器(ECD), HP-5, 30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25 μ m 色谱柱,化学工作站(安捷伦公司,美国);超声波震荡器;粉碎机;氮吹仪;旋涡混合器。

1.2 试样前处理与色谱分析

1.2.1 试样的提取与浓缩 取茶叶样品经粉碎机粉碎,过 20 目筛制成粉状试样,用千分之一天平准确称取 5 g 加入锥形瓶中,准确加入 20 ml 乙腈并盖上瓶塞,超声波提取 20 min,将提取液通过滤纸滤入 25 ml 的具塞比色管中,静置 2 min,准确吸取 10 ml 提取溶液放入浓缩瓶里,在 80 $^{\circ}$ C 水浴上用蒸汽加热,用氮气流吹干。加入 2 ml 正己烷溶解残留物。

1.2.2 试样净化与浓缩 绿茶试样的净化过程:先用 5 ml 乙醚 + 正己烷(20 + 80,体积分数)条件化

Florisil 固相萃取小柱,再加 5 ml 正己烷淋洗小柱。当溶剂液面到达柱吸附层表面时,将 2 ml 正己烷溶解的试样溶液加到已条件化的固相萃取柱上,并用 15 ml 刻度试管接收洗脱液。在重力作用下,洗脱液逐滴流下。分别用 2.5、2.5、7 ml 乙醚 + 正己烷(20 + 80,体积分数)清洗浓缩瓶,当柱上液面到达柱吸附层表面时,将清洗液加到柱上洗脱。洗脱完成后,将接收液放在吹氮装置上,水浴温度 55 $^{\circ}$ C,通氮气缓缓蒸发至近干,用正己烷准确定容至 2.0 ml。在旋涡混合器上混匀试管中的溶液,并倒入气相色谱试样瓶中,用 GC-ECD 分析。

花茶试样的净化过程 先用 10 ml 乙醚 + 正己烷(5 + 95,体积分数)条件化 Florisil 固相萃取小柱,再加 10 ml 正己烷淋洗小柱。当溶剂液面到达柱吸附层表面时,将 2 ml 正己烷溶解的试样溶液加到已条件化的固相萃取柱上,并用 25 ml 比色管接收洗脱液。分别用 2.5、2.5、5 ml 正己烷清洗浓缩瓶,当柱上液面到达柱吸附层表面时,将清洗液加到柱上洗脱,再加 10 ml 正己烷继续洗脱。正己烷洗脱完成后,再换另一 25 ml 比色管接收洗脱液,并用 12 ml 乙醚 + 正己烷(20 + 80,体积分数)洗脱后面的农药组分。将 2 个洗脱组分分别放在吹氮装置上,水浴温度 55 $^{\circ}$ C,通氮气缓缓蒸发至近干,用正己烷准确定容至 2.0 ml。在旋涡混合器上混匀比色管中的溶液,并分别倒入气相色谱试样瓶中,用 GC-ECD 分析。

1.2.3 气相色谱参考条件 色谱柱:HP-5, 30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25 μ m;载气(N_2)流速:1.4 ml/min,恒流方式;尾吹气(N_2)流速:60 ml/min;进样量:1 μ l;进样口温度:250 $^{\circ}$ C;检测器温度:300 $^{\circ}$ C;柱温程序:柱温 50 $^{\circ}$ C,恒温 1 min 以后以 15 $^{\circ}$ C/min 的速率程序升温至 220 $^{\circ}$ C,恒温 10 min 以后以 10 $^{\circ}$ C/min 的速率程序升温至 250 $^{\circ}$ C,恒温 20 min。

1.2.4 色谱分析 采用自动进样器进样,在相同的气相色谱条件下,分别将 27 种农药的混合标准和试样净化液注入气相色谱仪中,以保留时间定性,以试样峰高或峰面积与标准比较定量。

2 结果与讨论

2.1 提取溶剂的选择 传统方法和文献报导^[2~5]较多的提取溶剂有丙酮、石油醚、二氯甲烷等或者它们的混合溶剂。通过对比试验,发现用丙酮提取时,提取杂质较多,需要净化步骤多,而用乙腈提取,杂质少,净化简单,本方法选择乙腈作为提取最佳溶剂。

2.2 固相萃取吸附剂的选择 根据以往经验和文

献报导^[5,6],在分析植物试样中有机氯和拟除虫菊酯类农药的前处理净化方法中,常用的吸附剂有弗罗里硅土、酸性/中性氧化铝、硅胶、活性炭等,而弗罗里硅土比较适合有机氯和拟除虫菊酯两类农药的净化,故选用 Florisil 固相萃取小柱,它已商品化,试验的重现性好。固相萃取 (SPE) 技术能有效除去杂质,简化操作步骤,减少溶剂的使用量,快速、简单,比传统的液-液分配技术优越。

2.3 固相萃取柱淋洗剂的选择 通过用正己烷、不同比例的丙酮+正己烷、不同比例的乙醚+正己烷等洗脱液分别淋洗已负载标准溶液或试样空白液的固相萃取柱,收集流分,进行色谱分析,考查净化效果,建立淋洗曲线,针对不同茶叶品种筛选出各自适合的洗脱液。

由于茶叶试样干扰物质较多,用不同比例的丙酮+正己烷洗脱净化效果不好,有较多干扰杂质未被除去,而增加提取后的液-液分配净化也无效果。通过改变洗脱液的极性,调节乙醚+正己烷的比例可以优化洗脱性能。

2.3.1 绿茶试样 对于绿茶,分别试验了乙醚+正己烷(10+90)、乙醚+正己烷(15+80)、乙醚+正己烷(20+80)和乙醚+正己烷(25+75)4种洗脱液,当每种洗脱液洗脱0~12 ml时,前2种洗脱结果显示百菌清的洗脱率分别为0%和54.8%,其它农药的洗脱率为74.6%~107%,色谱图较为干净;乙醚+正己烷(20+80)洗脱时,百菌清的洗脱率为82.2%,其它农药的洗脱率为88.3%~108%,只在溴氰菊酯出峰附近有一干扰峰,但可辨别开;乙醚+正己烷(25+75)洗脱时,农药洗脱率可满足要求,但出现一些杂质干扰。故选定乙醚+正己烷(20+80)为最佳洗脱液。

2.3.2 花茶试样 对于花茶,由于含有花的香味物质,干扰物比绿茶多,分别试验了乙醚+正己烷(2.5+97.5)、乙醚+正己烷(5+95)、乙醚+正己烷(10+90)和乙醚+正己烷(20+80)4种洗脱液,洗脱结果发现,乙醚含量越高,杂质洗下来越多,某些农药洗脱率也越高。尤其狄氏剂、异狄氏剂、 δ -六六六、氰戊菊酯、氟胺氰菊酯、溴氰菊酯和百菌清等农药受到的干扰影响很大,故不能找到合适的比例。而选用分段洗脱方式既可以避免杂质的干扰又可以保证农药的洗脱率。先用正己烷淋洗前段有机氯等农药,再用乙醚+正己烷(20+80)淋洗后面的拟除虫菊酯等农药。通过分别洗脱10、15、20、25 ml正己烷发现洗脱20 ml较为理想,前段农药除了百菌清未洗下来,其余19种有机氯农药均洗脱得较好,联苯菊酯也洗脱下来,茶叶空白在色谱图没有杂质峰;后段用乙醚+正己烷(20+80)洗脱12 ml,将百菌清

和另外6种拟除虫菊酯全部洗脱,色谱前段干扰物不干扰百菌清,色谱后段干扰物只在溴氰菊酯出峰附近有一干扰峰。具体洗脱情况见表1。

表 1 27 种农药在固相萃取柱上的洗脱率 %

农药名称	正己烷			乙醚 + 正己烷 (20 + 80)
	0 ~ 10 ml 的回收率	0 ~ 15 ml 的回收率	0 ~ 20 ml 的回收率	0 ~ 12ml 的回收率
α - 六六六	90.0	92.2	96.2	—
β - 六六六	80.5	85.4	89.8	—
γ - 六六六	81.9	90.4	105.0	—
δ - 六六六	74.3	86.7	93.9	—
<i>p,p'</i> - 滴滴涕	92.4	97.0	99.3	—
<i>p,p'</i> - 滴滴涕	46.3	65.6	77.0	—
<i>p,p'</i> - 滴滴伊	112.0	115.0	118.0	—
<i>o,p'</i> - 滴滴涕	96.3	99.3	106.0	—
<i>o,p'</i> - 滴滴伊	72.4	80.2	83.4	—
七氯	111.0	113.0	115.0	—
环氧七氯	98.1	99.2	100.0	—
艾氏剂	53.7	67.3	74.7	—
狄氏剂	95.8	98.4	107.0	—
异狄氏剂	101.0	105.0	107.0	—
三氯杀螨醇	103.0	104.0	106.0	—
五氯硝基苯	64.3	78.1	84.3	—
五氯苯胺	74.1	81.2	93.8	—
五氯苯基甲基 硫醚	102.0	106.0	114.0	—
六氯苯	103.0	104.0	109.0	—
百菌清	—	—	—	74.8
联苯菊酯	40.4	68.8	89.3	10.9
甲氰菊酯	—	—	8.9	93.8
二氯苯醚菊酯	—	—	—	107.0
三氯氯菊酯	—	—	—	89.6
氰戊菊酯	—	—	—	94.5
氟胺氰菊酯	—	—	—	104.0
溴氰菊酯	—	—	—	107.0

注:“—”为未检出

2.4 方法的准确度和精密度 为了考察方法在测定有机氯和拟除虫菊酯农药时的准确度和精密度,分别对绿茶、花茶空白试样进行了添加有机氯和拟除虫菊酯农药标准的回收试验,每个试样在同一添加水平重复3次,农药的添加水平在6.0~228 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围,并计算27种农药在每个试样的平均回收率和相对标准差,具体结果见表2。

从表1、表2的结果可以看出,绿茶的平均添加回收率为百菌清71.2%,其余82.9%~115%,相对标准差为3.42%~18.9%;花茶的平均添加回收率为:正己烷洗脱液的 δ -六六六71.1%,联苯菊酯88.6%,其余为81.1%~121%;乙醚+正己烷(20+80)洗脱液的百菌清为68.9%,其余为91.1%~110%;相对标准差为3.55%~19.2%。这些结果表明该方法测定有机氯和拟除虫菊酯农药的准确度和精密度较好,可以满足农药残留分析的要求。

2.5 方法的检测限、农药出峰时间 根据测定有机氯和拟除虫菊酯农药时的称样量、定容体积、标准物质的响应值、ECD的灵敏度、空白试样的噪声水平等因素来确定每个农药的检测限,结果都远低于MRL值(见表3)。

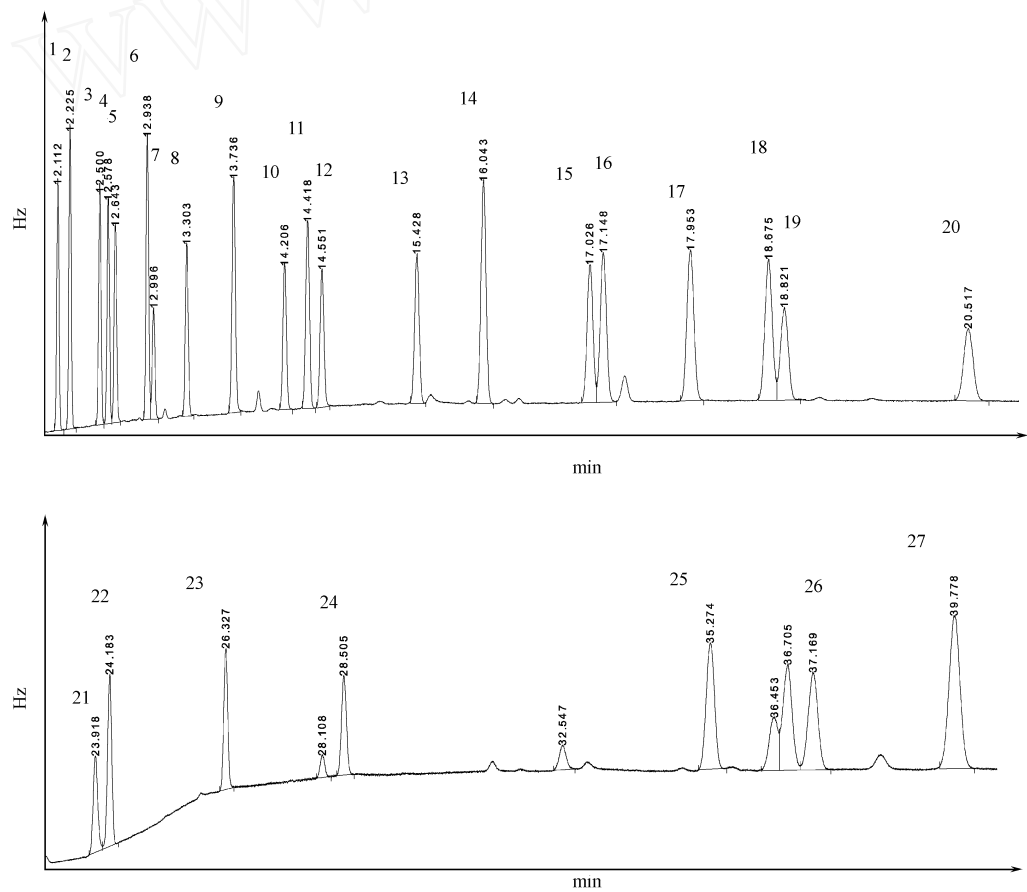
表 2 绿茶、花茶的添加回收试验 (n=3)

农药名称	添加水平 (µg/kg)	绿茶		花茶	
		平均回收率 (%)	相对标准差 (%)	平均回收率 (%)	相对标准差 (%)
α- 六六六	10.8	85.5	4.41	90.0	5.12
β- 六六六	13.6	112.0	6.02	90.5	4.62
γ- 六六六	24.5	84.4	3.42	81.9	5.32
δ- 六六六	12.2	114.0	5.11	84.3	8.13
p,p'- 滴滴涕	9.6	97.0	8.10	92.5	6.12
p,p'- 滴滴滴	16.2	87.9	8.90	71.1	11.20
p,p'- 滴滴伊	13.8	71.2	12.30	68.9	12.50
o,p'- 滴滴涕	8.8	83.4	11.60	96.3	9.65
o,p'- 滴滴伊	20.8	115.0	7.15	82.4	8.34
七氯	6.0	82.1	13.10	106.0	10.50
环氧七氯	13.8	86.2	6.11	98.1	5.03
艾氏剂	104.0	85.6	12.10	83.0	13.20
狄氏剂	12.6	88.0	5.23	95.8	3.55
异狄氏剂	30.0	93.4	5.62	101.0	6.44
三氯杀螨醇	15.6	90.7	5.78	113.0	8.12
五氯硝基苯	19.6	89.7	8.15	81.1	10.80
五氯苯胺	27.0	91.9	7.21	84.0	11.00
五氯苯基甲基硫醚	23.2	92.1	6.53	102.0	8.54
六氯苯	32.2	122.0	13.70	118.0	14.60
百菌清	35.8	119.0	18.90	121.0	19.20
联苯菊酯	68.0	88.3	7.16	88.6	11.00
甲氰菊酯	110.0	82.9	7.19	91.1	10.20
二氯苯醚菊酯	56.0	88.0	8.01	98.6	8.65
三氟氯氰菊酯	228.0	86.2	8.22	94.5	8.12
氰戊菊酯	92.0	83.5	9.35	110.0	9.61
氟胺氰菊酯	164.0	82.9	11.00	92.5	9.85
溴氰菊酯	144.0	88.5	10.60	107.0	10.20

表 3 有机氯和拟除虫菊酯农药的保留时间和检测限

编号	农药名称	保留时间(min)	检测限(µg/kg)
1	α- 六六六	12.115	0.20
2	β- 六六六	12.227	0.20
3	γ- 六六六	12.494	0.44
4	δ- 六六六	12.579	0.22
5	p,p'- 滴滴涕	12.646	0.20
6	p,p'- 滴滴滴	12.937	0.20
7	p,p'- 滴滴伊	12.996	0.26
8	o,p'- 滴滴涕	13.305	0.20
9	o,p'- 滴滴伊	13.739	0.28
10	七氯	14.210	0.12
11	环氧七氯	14.422	0.22
12	艾氏剂	14.555	1.70
13	狄氏剂	15.433	0.30
14	异狄氏剂	16.047	0.50
15	三氯杀螨醇	17.031	0.38
16	五氯硝基苯	17.155	0.34
17	五氯苯胺	17.959	0.44
18	五氯苯基甲基硫醚	18.679	0.68
19	六氯苯	18.826	0.72
20	百菌清	20.517	0.72
21	联苯菊酯	23.918	1.00
22	甲氰菊酯	24.183	2.60
23	二氯苯醚菊酯	26.327	1.50
24	三氟氯氰菊酯	28.108,28.505	6.00
25	氰戊菊酯	31.135,35.274,36.453	1.40
26	氟胺氰菊酯	36.705,37.169	2.60
27	溴氰菊酯	32.547,38.282,39.778	2.00

2.6 色谱图



此色谱图中色谱峰的编号与表 3 农药的编号一致

图 1 有机氯和拟除虫菊酯农药标准色谱图

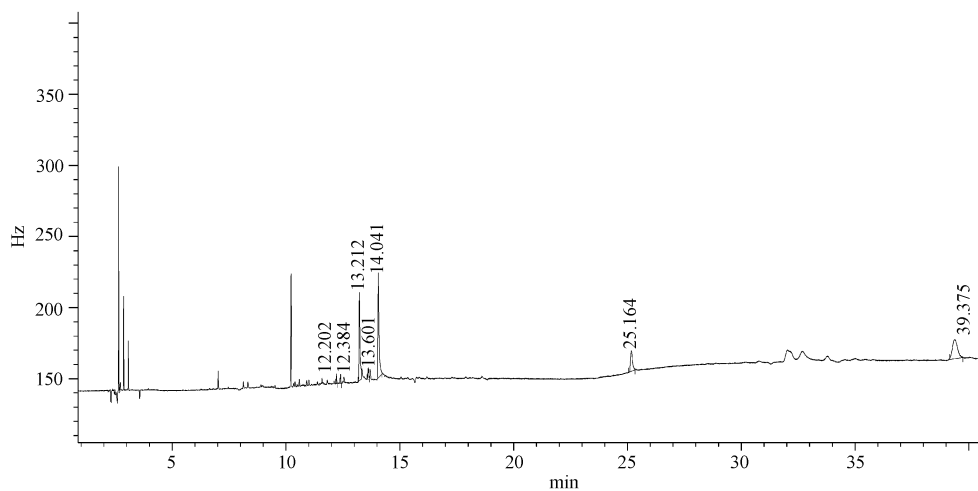


图 2 绿茶空白色谱图

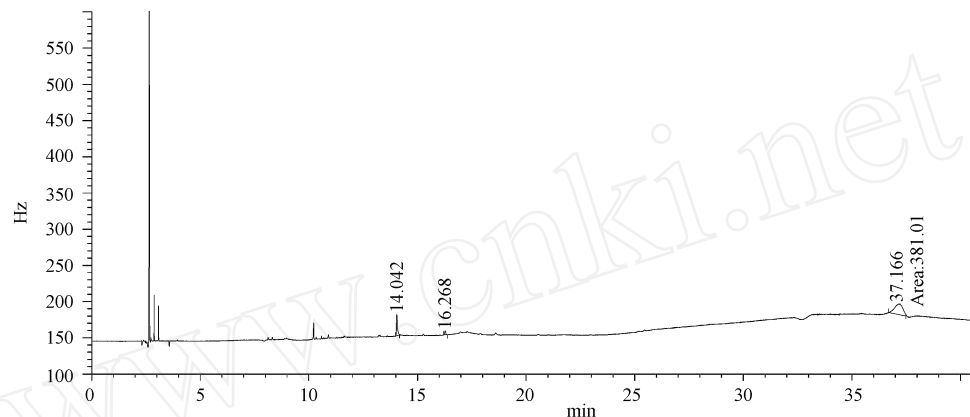


图 3 正己烷洗脱的花茶空白样色谱图

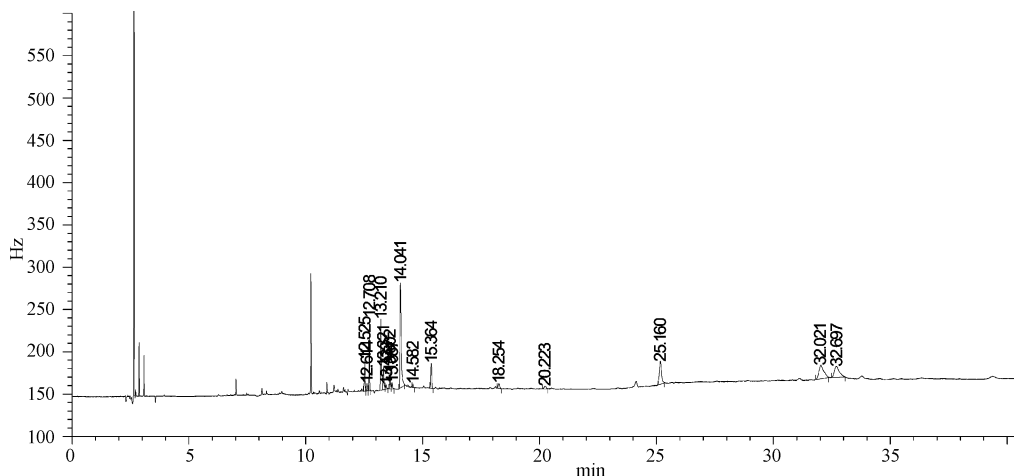


图 4 乙醚 + 正己烷 (20 + 80) 洗脱的花茶空白样色谱图

参考文献

- | | |
|--|--|
| [1] GB/T 5009.19—2003. 食品卫生检验方法 理化部分[S]. | [4] GB/T 5009.176—2003. 食品卫生检验方法 理化部分[S]. |
| [2] GB/T 5009.110—2003. 食品卫生检验方法 理化部分[S]. | [5] GB/T 5009.146—2003. 食品卫生检验方法 理化部分[S]. |
| [3] 余建新,邵俊杰,胡小钟,等. 水果、蔬菜中有机氯农药的毛细管气相色谱测定法[J]. 分析测试学报,1999,18(3):29-31. | [6] 李樱,译. 固相抽提提纯法测定烟草中有机氯和拟除虫菊酯杀虫剂残留物[J]. 烟草科技,2000,9,33-36. |

[收稿日期:2005 - 07 - 08]

中图分类号:R15;O657.71 文献标识码:A 文章编号:1004 - 8456(2005)05 - 0385 - 05

测定茶叶中 27 种有机氯和拟除虫菊酯农药多组分残留气相色谱法——蒋定国 方从容 杨大进等

— 389 —