

固相萃取-气相色谱法测定茶叶中多种有机磷农药

游飞明¹, 吴芳², 陆万平², 张庆², 张兰²

(1. 福建省产品质量检验研究院, 福建福州 350002;

2. 福州大学食品安全分析与检测教育部重点实验室, 福建福州 350002)

摘要: 建立了固相萃取-气相色谱法同时测定茶叶中16种有机磷农药残留的方法. 样品用丙酮超声提取后, 经自制的N-丙基乙二胺(PSA)/活性炭固相萃取柱净化, 以混合溶剂乙腈/甲苯(V(乙腈):V(甲苯)=1:3)洗脱, 采用气相色谱-氮磷检测器(GC-NPD)测定. 方法的回收率在62.8%~109.1%之间, 相对标准偏差小于14.7%, 16种有机磷农药的检出限在0.01~0.16 mg/kg之间. 方法快速简便、经济实用.

关键词: 固相萃取; 气相色谱; 茶叶; 有机磷; 农药残留

中图分类号: O657.72

文献标识码: B

文章编号: 1006-3757(2011)01-0006-05

随着绿色食品概念日益深入人心, 食品卫生安全问题备受关注, 世界各国对涉及人体健康的产品采取更严格的要求, 茶叶进口国如欧盟、日本等发达国家对进口茶叶制定了非常苛刻的农药最大残留限量标准(maximum residual limits, MRL). 茶叶中有机磷农药要求检测的项目逐年增加, 检出限量要求也逐渐降低, 已成了国际贸易中的技术壁垒. 由于有机磷种类多且性质差异大, 而茶叶背景成分复杂, 易干扰测定, 现有国家标准已难于满足测定要求. 所以, 建立高效的有机磷多残留分析方法十分必要, 对保障人民饮食健康及茶叶进出口贸易有重要的意义.

本文根据国内常用和禁用农药项目, 在参考已有文献的基础上^[1-8], 重点考察茶叶中有机磷农药的提取和净化的方法, 建立了超声提取、自制固相萃取小柱净化、气相色谱法测定茶叶中16种有机磷农药残留的分析方法, 其中磷胺、苯线磷2种农药在茶叶中的测定的报道不多^[9]. 方法采用超声提取, 快速简便, 自制固相萃取小柱的应用降低了检测成本.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 6890 气相色谱仪(美国 Agilent 公司),

配氮磷检测器(NPD); KQ-100E 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司); 中草药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司). 丙酮(色谱纯, 国药集团化学试剂有限公司); N-丙基乙二胺(PSA) 填料(150~250 μm, Agela 公司); 活性炭(分析纯, 小于25 nm, 上海实验试剂有限公司); 农药标准品购于 Sigma 公司, 试验用水为去离子水, 其余试剂均为分析纯.

1.2 固相萃取小柱的制备

1.2.1 活性炭预处理

30% 盐酸浸泡过夜, 二次水洗涤至中性, 140 °C 烘 3 h.

1.2.2 装柱过程

在 6 mL 固相萃取(SPE)柱底部垫一筛板(聚四氟乙烯)并压平, 然后往柱中加入 PSA 填料, 轻轻敲打使填料均匀, 再放入筛板并压实, 最后加入活性炭, 操作同 PSA.

1.3 农药标准溶液的配制

准确配制 1.00 mg/mL 的叔丁硫磷标准储备液, 4 °C 冰箱保存备用. 其他农药标准品溶液按照叔丁硫磷的方法配制. 使用前母液用丙酮稀释至所需浓度.

收稿日期: 2010-10-18; 修订日期: 2010-12-16.

基金项目: 本文系国家自然科学基金(21075016)、高等学校科技创新工程重大项目培育项目(708056)、福建省自然科学基金项目(2009J01028)和福建省质量技术监督局科技项目(FJQI2007004)资助.

作者简介: 游飞明(1965-), 女, 本科, 高级工程师, 研究方向: 质量分析. E-mail: youfeiming@163.com

通讯作者: 张兰, 女, 教授, 研究方向: 色谱, 食品安全, 药物分析. E-mail: zlan@fzu.edu.cn

1.4 气相色谱条件

色谱柱: DB-35MS(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 升温程序: 50 °C 保持 1 min, 以 15 °C/min 上升到 240 °C, 再以 5 °C/min 上升到 300 °C 保持 5 min; 载气(高纯氮)流速 1.0 mL/min; 不分流进样; 进样口温度: 250 °C; 检测器温度: 330 °C.

1.5 样品处理

提取: 茶叶粉碎后过 380 μm 筛, 于干燥器中保存备用. 准确称取 1.00 g 茶叶置于 10 mL 具塞刻度试管中, 加 10 mL 丙酮充分振荡并超声 30 min, 5 000 r/min 离心 5 min. 上清液小心转移至 10 mL 试管中, 于装有残渣的试管中加 1.0 mL 丙酮洗涤残渣 3 次, 合并收集于同一试管中, 45 °C 下氮吹干待净化.

净化: 用 1.0 mL 丙酮溶解上述残渣, 上样(固相萃取柱已用 10.0 mL 的 V(乙腈):V(甲苯) = 1:3 溶液活化), 重力过柱, 12.0 mL 的 V(乙腈):V(甲苯) = 1:3 洗脱剂分 3 次洗涤溶解样品的试管并淋洗小柱, 洗脱液合并收集于同一试管中. 洗脱液在 45 °C 下氮吹至近干, 用丙酮定容至 1.0 mL, 过 0.22 μm 滤膜, 供 GC-NPD 分析.

2 结果和讨论

2.1 色谱柱的选择

实验考察了 HP-5 及 DB-35MS 2 种色谱柱, 发现 DB-35MS 柱对有机磷的分离效果较好(图 1). 图中出峰顺序与表的标号一致, 其中 10 号为丙环唑两种异构体的峰.

2.2 提取方法的选择

现有的茶叶农残检测标准中, 农残提取普遍采用液-液萃取. 实验考察了液-液萃取和超声提取

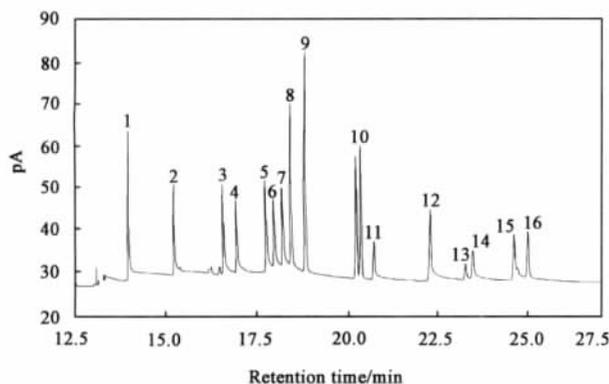


图1 最优化色谱条件下 16 种有机磷农药标准品色谱图

Fig.1 Chromatogram of 16 organophosphorus pesticides under optimal chromatographic conditions

法对农药提取效率的影响. 结果表明, 丙酮超声提取时杂质共提取物较少, 且操作简便, 节省时间和试剂, 30 min 即可完成提取, 故选择丙酮超声提取.

2.3 固相萃取条件的选择

实验采用自制的固相萃取小柱净化, 对固相萃取条件进行优化.

2.3.1 填料类型及填料量的确定

考察了单一填料及混合填料等多种固相萃取柱的净化效果. 实验发现, 采用单一填料弗罗里圭土、硅胶、C18、PSA 时, 洗脱液颜色较深, 说明除色素效果差, 加入石墨化碳或活性炭能有效去除色素, 且除色素效果以活性炭为佳, 洗脱液颜色最浅; PSA/活性炭的萃取小柱, 既能有效减少色素的干扰又不影响有机磷的洗脱, 故选择 PSA/活性炭作为固相萃取柱的填料. 进一步比较了不同质量的 PSA(500 ~ 1 500 mg)、活性炭(200 ~ 500 mg) 的净化效果. 结果表明, 随活性炭用量的增大, 茶叶基质干扰减小, 但对农药的吸附增大, 导致回收率偏低; 而 PSA 用量在试验范围内对回收率影响不大. 从净化效果和经济角度综合考虑, 确定 PSA、活性炭的用量分别为 500 mg 和 300 mg.

2.3.2 洗脱剂种类优化

洗脱剂的选择直接关系到测定结果的回收率. 由于待测有机磷农药极性不一, 单一溶剂很难将其洗脱完全. 实验分别选用了 V(丙酮):V(正己烷) = 4:1、V(丙酮):V(正己烷) = 1:1、V(乙酸乙酯):V(正己烷) = 6:1 和 V(乙腈):V(甲苯) = 3:1 作为洗脱剂, 结果表明, 前 3 种洗脱剂洗脱效果很差, 多数农药不能洗脱, 回收率分别在 12.2% ~ 66.8%、19.1% ~ 64.8% 和 40.6% ~ 129.2% 之间. 用 V(乙腈):V(甲苯) = 3:1 洗脱时, 回收率在 64.4% ~ 129.5% 之间, 效果最好, 因而选择 V(乙腈):V(甲苯) = 3:1 作为洗脱剂. 进一步优化了洗脱剂比例, 比较了乙腈和甲苯体积比分别 3:1、1:1、1:3 和 1:9 时的洗脱效果. 发现, 乙腈与甲苯的比例不同, 对目标分析物的洗脱效果也不同, 当乙腈与甲苯体积比为 1:3 时, 洗脱溶液中茶叶基质干扰最小, 回收率最佳, 故而确定该比例为最佳洗脱剂比例.

2.4.3 洗脱剂体积优化

考虑到洗脱剂的用量对回收率有影响, 选择了 8、10、12、15 mL 的洗脱剂对农药进行洗脱. 结果显示, 洗脱剂体积增大, 大多数农药的回收率随之增大, 但随着洗脱剂体积的增大, 被洗脱下来的杂质也

随着增多, 体积为 12 mL 时能保证各物质的回收率均在 60% 以上, 故本文选择洗脱剂体积为 12 mL.

2.5 线性和检出限

配制系列农药混合标准溶液在最佳色谱条件下进行分析. 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线. 各农药线性方程、相关系数见表 1. 方法的检测限 (limit of detection, LOD) 是依据本文 2.6

节中样品的低添加水平, 以 3 倍信噪比计算得出的, 16 种农药方法检测限见表 1.

2.6 方法的回收率与精密度

为考察方法的准确度和精密度, 在茶叶样品中添加 3 种不同浓度的有机磷混合标准溶液进行回收率实验, 回收率和精密度见表 2, 最优化条件下茶叶空白及其加标色谱图见图 2. 对比可见, 由于茶叶基

表 1 16 种有机磷农药的线性方程、相关系数和检出限

Table 1 Regression equation, correlation coefficient and limit of detection of 16 organophosphorus pesticides

序号	物质	线性范围/($\mu\text{g/mL}$)	线性方程 [*]	相关系数 r	RSD/%	LOD/(mg/kg)
1	叔丁硫磷	0.02 ~ 2.00	$y = 32.752x - 1.2107$	0.9961	2.24	0.02
2	磷胺	0.03 ~ 2.70	$y = 20.494x - 1.1984$	0.9949	6.93	0.03
3	异柳磷	0.02 ~ 1.50	$y = 33.339x - 0.3793$	0.9991	3.64	0.02
4	毒虫畏	0.02 ~ 1.50	$y = 23.254x - 0.3809$	0.9999	7.23	0.02
5	丙硫磷	0.02 ~ 1.50	$y = 27.913x - 0.373$	0.9989	7.09	0.02
6	苯线磷	0.02 ~ 2.00	$y = 34.284x - 1.477$	0.9954	5.11	0.02
7	杀扑磷	0.02 ~ 1.50	$y = 32.548x - 0.7009$	0.9988	5.26	0.02
8	氟硅唑	0.10 ~ 10.10	$y = 6.721x - 1.5534$	0.9951	5.71	0.05
9	腈菌唑	0.10 ~ 9.90	$y = 7.7259x - 1.3319$	0.9956	2.75	0.04
10	丙环唑	0.20 ~ 20.00	$y = 2.7593x - 0.6439$	0.9959	5.34	0.10
11	三唑磷	0.02 ~ 0.75	$y = 29.803x - 0.337$	0.9986	3.68	0.01
12	苯硫磷	0.02 ~ 1.50	$y = 28.266x + 0.2064$	0.9982	8.15	0.01
13	亚胺硫磷	0.02 ~ 1.50	$y = 25.541x + 0.1696$	0.9979	6.46	0.02
14	伏杀硫磷	0.02 ~ 1.50	$y = 25.358x - 0.0536$	0.9980	7.07	0.02
15	吡啶硫磷	0.02 ~ 2.00	$y = 30.588x - 0.9403$	0.9960	2.50	0.02
16	哒螨灵	0.20 ~ 20.10	$y = 1.6578x - 0.3657$	0.9951	4.62	0.16

* y : 峰面积; x : 有机磷农药浓度 (mg/L) 值 (y : value of peak area; x : value of concentration of pesticide)

表 2 添加回收率实验结果 ($n=5$)

Table 2 Recovery test ($n=5$)

序号	物质	加标水平 1/($\mu\text{g/mL}$)			加标水平 2/($\mu\text{g/mL}$)			加标水平 3/($\mu\text{g/mL}$)		
		添加量	回收率/%	RSD/%	添加量	回收率/%	RSD/%	添加量	回收率/%	RSD/%
1	叔丁硫磷	0.052	104.7	6.7	0.100	82.3	4.9	1.03	73.9	4.1
2	磷胺	0.068	100.9	1.5	0.140	104.5	3.9	1.35	81.9	5.5
3	异柳磷	0.049	95.0	3.0	0.097	74.5	3.0	0.97	71.2	2.7
4	毒虫畏	0.048	103.1	5.5	0.097	85.9	5.0	0.97	78.5	4.1
5	丙硫磷	0.049	99.2	5.0	0.098	89.9	5.0	0.98	75.4	3.9
6	苯线磷	0.047	109.1	7.4	0.095	62.8	1.3	0.95	68.5	3.3
7	杀扑磷	0.051	96.6	3.5	0.100	100.5	2.8	1.01	86.5	6.4
8	氟硅唑	0.250	81.9	1.5	0.500	79.7	4.4	4.98	63.9	5.3
9	腈菌唑	0.250	88.3	1.6	0.500	86.8	3.0	4.97	68.3	5.5
10	丙环唑	0.500	83.6	1.9	1.000	89.4	2.5	10.00	66.5	5.3
11	三唑磷	0.025	104.1	5.1	0.051	105.2	3.2	0.51	86.9	3.4
12	苯硫磷	0.050	95.6	4.8	0.099	99.1	4.7	0.99	79.9	3.9
13	亚胺硫磷	0.052	94.6	6.0	0.100	85.4	2.9	1.03	92.5	4.8
14	伏杀硫磷	0.050	85.7	3.9	0.100	79.1	3.2	1.01	94.0	1.5
15	吡啶硫磷	0.050	107.4	8.2	0.100	85.6	3.7	1.00	71.3	3.8
16	哒螨灵	0.500	83.4	4.3	1.010	82.9	1.2	10.00	83.4	4.0

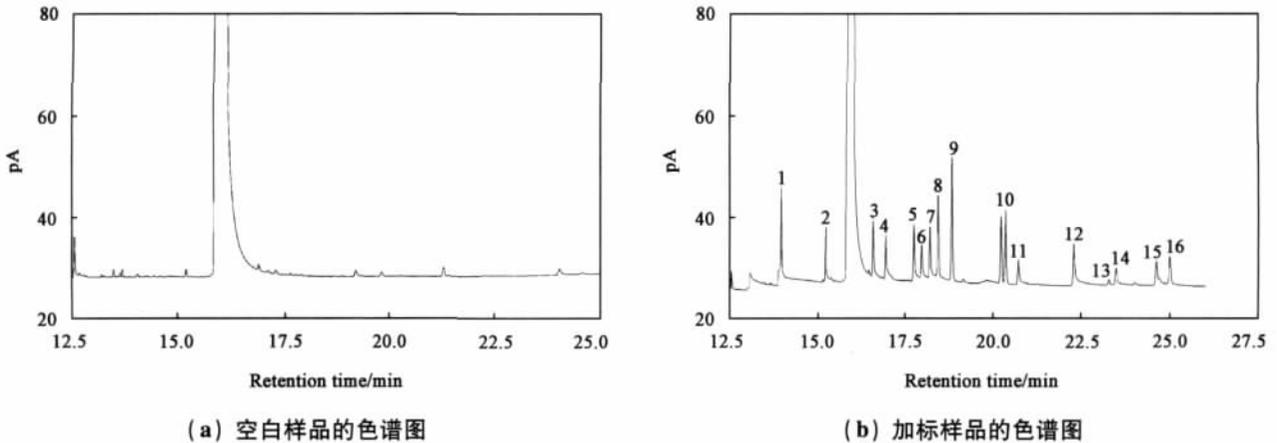


图2 最优化条件下茶叶样品的色谱图

Fig.2 Chromatograms of tea sample under optimal conditions

质复杂,茶样经净化后仍有一明显基质峰,但该基质峰不会干扰有机磷农药的检测。

3 结论

研究并建立了一种气相色谱法分析茶叶中有机磷农药多残留的方法.待测样品经丙酮超声提取,采用自制 PSA/活性炭固相萃取柱净化,可同时检测茶叶中 16 种有机磷农药,扩展了茶叶中农残的检测项目.方法的回收率在 62.8%~109.1% 之间,相对标准偏差小于 14.7%,16 种有机磷农药的检出限在 0.01~0.16 mg/kg 之间,各项技术指标达到茶叶中有机磷农药残留的分析测定的要求.方法快速简便、经济实用。

参考文献:

- [1] Commission Regulation (EC) No 149/2008 of 29 January 2008 amending Regulation(EC) No396/2005 of the European Parliament and of the council by establishing Annexes II, III and IV setting maximum residue levels for products covered Annex I thereto, Official Journals of the European Union L58 [S]. 01/03/2008.
- [2] 何聿,陈金泉,张兰. 有机磷农药残留前处理技术的研究[J]. 福建分析测试, 2007, 16(3): 6-11.
- [3] 蒋永祥,叶丽,汤森荣. 茶叶中 7 种有机磷农药残留量的同时测定[J]. 分析实验室, 2007, 26(1): 97-101.
- [4] 陈珠灵,陈飞,陈红青. 高效液相色谱法测定蔬菜中 3 种有机磷农药残留量[J]. 福州大学学报, 2005, 33(1): 98-100.
- [5] 吴芳,段红斌,张兰. 固相萃取气相色谱-质谱法测定蔬菜中含氮杂环农药残留[J]. 分析测试技术与仪器, 2010, 16(3): 179-184.
- [6] 万郑凯,何娟,康长安,等. 气相色谱-质谱联用在农药残留检测方面的应用进展[J]. 分析测试技术与仪器, 2006, 12(1): 51-58.
- [7] 郑小严,陆万平,黄红霞,等. 固相萃取气相色谱法测定蔬菜、水果中的多种有机磷农药残留[J]. 分析测试技术与仪器, 2009, 15(3): 144-150.
- [8] 张卓旻,陈金泉,张兰. 固相萃取-高效液相色谱联用分析蔬菜中的 5 种有机磷[J]. 分析测试技术与仪器, 2008, 14(2): 87-91.
- [9] 王明泰,牟峻,王国民,等. 进出口食品中苯线磷残留量的检测方法. 气相色谱-质谱法[S]. SN/T 2 156-2 008.

Determination of Organophosphorus Pesticide Residues in Tea by Solid – phase Extraction Gas Chromatography

YOU Fei – ming¹, WU Fang², LU Wan – ping², ZHANG Qing², Zhang Lan²

(1. Fujian Inspection and Research Institute for Product Quality, Fuzhou 350002, China;

2. Instrumentation Analysis and Measurement Center of Fuzhou University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: A method for the determination of 16 organophosphorus pesticide residues in tea by Gas Chromatography – Nitrogen Phosphorus Detector(GC – NPD) with ultrasonic extraction was established. Tea samples were extracted with 10 mL of acetone, and then cleaned by homemade PSA/activated carbon SPE cartridge and eluted with acetonitrile – toluene (1 : 3, V/V) . 16 organophosphorus pesticides were well separated and detected with high repeatability and precision. The recovery rate of the method was between 62.8% and 109.1% . The relative standard deviation was less than 14.7% . The limit of detection of 16 organophosphorus was between 0.01 mg/kg and 0.16 mg/kg. The method is reliable rapid and is, suitable for the analysis of pesticide residues in real samples.

Key words: organophosphorus; pesticide residue; SPE; gas chromatography; tea

Classifying number: O657.72

动态

2011 年有机质谱系列培训班计划

2010 年信立方质谱培训中心举办的有机质谱培训已圆满结束。本年度中心共开办 8 期有机质谱培训班, 培训学员 233 人, 学员涉及各大高校、科研单位、企事业单位、分析检测中心和仪器厂商。课程内容备受广大学员好评。培训期间共有 24 位学员获得了培训班的优秀学员奖励。

为了满足更多广大分析技术工作者的需求, 2011 年培训中心将继续举办此系列质谱培训班, 并适当增加培训内容, 现将 2011 年培训中心拟举办有机质谱系列培训班情况公布如下, 欢迎有志于提高有机质谱分析应用技术水平人员前来参加。

【培训计划】 气质联用应用技术培训提高班(新)

液质联用应用技术培训班

有机质谱谱图解析技术专题培训班

有机质谱在石油石化领域应用技术培训班

气质联用工作站使用及数据分析处理培训班(网络)

液质联用在医药行业应用技术培训班(新)

【课程特色】 1、独有的有机质谱应用技术水平测试题, 可清楚对比学习前后的技术水平;

2、学员专享网上社区, 互动交流, 免费下载资料, 参加网上答疑活动;

3、培训结束后学员均送仪器信息网 VIP 积分 2000 分, 以下载资料或换取礼品;

4、每个培训班均设三个优秀学员, 颁发优秀学员奖励。

【报名方式】电话: 010 – 51299927 – 101、13269178446 , 传真: 010 – 51413697, 联系人: 张老师。 Email: training@ instrument. com. cn

更多内容及详细课程设置请查阅 <http://www.instrument.com.cn/training/>

仪器信息网供稿