

高效薄层色谱法分析茶叶中高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯农药残留

樊玮¹ 汤锋² 岳永德²

(1. 安徽农业大学 安徽省农产品安全重点实验室, 合肥, 230036; 2. 国际竹藤网络中心, 北京, 100102)

摘要 建立了茶叶中高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯残留的高效薄层色谱分析法。样品用乙酸乙酯机械振荡提取, 活性炭固相萃取柱和氟罗里硅土固相萃取柱串联净化。采用半自动点样仪将待测样品溶液点样到高效薄层板上, 用展开剂[正己烷:二氯甲烷 = 6:4(v:v)混合溶液]单向上行展开, 高效薄层色谱扫描仪于 230nm 处检测。结果表明, 在该色谱条件下高效氯氟氰菊酯(比移值 $R_f = 0.42$) 和联苯菊酯(比移值 $R_f = 0.63$) 的最小检测限分别为 10ng 和 20ng, 茶叶中高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯的添加回收率分别为 82.1%~105% 和 75.2%~98.6% (添加浓度为 0.50~10.0 mg/kg), 相对标准偏差分别为 3.59%~12.0% 和 6.94%~13.3%。该分析方法的准确性、精确性、灵敏度和重现性均达到了农药残留分析的要求。

关键词 高效薄层色谱法 高效氯氟氰菊酯 联苯菊酯 茶叶 残留

1 前言

高效氯氟氰菊酯(λ -cyhalothrin)和联苯菊酯(bifenthrin)是当前茶叶生产中常用的拟除虫菊酯类农药,用于防治如茶尺蠖、茶小绿叶蝉等常见茶树虫害,同时又不可避免的带来茶叶中农药残留的问题。

目前,茶叶中包括高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯在内的菊酯类农药残留的分析方法是以气相色谱法(GC)为主要的检测手段^[1-3]。高效液相色谱法(HPLC)虽然在灵敏度和选择性上较之气相色谱法稍逊一筹,但它对样品净化的要求相对较低,使其在茶叶中菊酯类农药检测上也具有一定的优势^[4,5]。质谱法与气相色谱法或液相色谱法联用,使其在分析方法的灵敏度、选择性上都有了更进一步的提高,成为茶叶中菊酯类农药检测方法发展的新趋势^[6,7]。

传统的薄层色谱法(TLC),因其在定性定量以及重现性上无法与现代气相色谱法和高效液相色谱法相媲美,已经逐渐淡出农药残留分析方法的舞台,仅偶尔用作田间和市场的快速筛选方法^[8]。高效薄层色谱法(HPTLC)可将传统的薄层色谱仪器化,采用高效薄层板,可将传统薄层板的有效板数提高了

近 10 倍,显著改善了薄层板的分离能力,通过高质量的薄层扫描仪可得到具有极高分辨率的色谱图,大大提高了定量结果的准确度和重现性,使之成为与气相色谱法及液相色谱法同样重要的色谱分析技术^[9],并在农药的残留分析中得到应用^[10,11]。本文建立了茶叶中高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯残留的高效薄层色谱分析法。实验证明,本方法具有较高的准确度,灵敏度和较好的重现性。

2 实验部分

2.1 仪器与材料

2.1.1 仪器

CAMAG Linomat 5 半自动点样仪,带不锈钢盖的双槽展开缸,100 μ L 进样针,CAMAG TLC Scanner 薄层扫描仪(瑞士 CAMAG 公司);G₆₀F₂₅₄ HPTLC 硅胶板(20cm \times 10cm、10cm \times 10cm)(德国 Merck 公司)。

SPE 装置(美国 Waters 公司);ENVI-Carb (6 mL)固相萃取柱和 ENVI-FLORISIL (6mL)固相萃取柱(美国 Supelco 公司)。

LD-02 中药粉碎机(中国浙江温岭市大海药材器械厂);水浴恒温振荡器(常州国华电器有限公司);FA1104 电子天平,精确至万分之一(上海天平

作者简介:樊玮,女,1979年9月出生,博士研究生,主要从事农药残留分析方法的研究。E-mail: fanwei-0551@163.com

通讯作者:岳永德, E-mail: yueyd@icbr.ac.cn

仪器厂);N-EVAP™ 111 氮吹仪(美国 Organomation 公司);EYELA, N-1000 旋转蒸发仪(日本东京理化器械株式会社)。

2.1.2 试剂

试验所用有机溶剂均为分析纯;实验用水均为纯净水。

2.1.3 农药标准品

高效氯氟氰菊酯(纯度 99.0%)和联苯菊酯(纯度 98.3%)均由北京国家农药质检中心提供。

2.2 实验方法

2.2.1 农药标准溶液配制

用正己烷分别将高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯配制成 1 g/L 标准储备液,存于冰箱(4℃),备用。使用时,用正己烷稀释成所需浓度的混合标准工作液。

2.2.2 样品预处理

绿茶购自安徽农业大学茶园。将茶叶用中药粉碎机粉碎,过 40 目筛,贮于 500 mL 具塞棕色广口瓶中,备用。

2.2.3 农药添加

准确称取预处理过的茶叶样品 5.00 g 于 150 mL 具塞三角瓶中,添加混合标准工作溶液,使添加浓度分别为 0.50、5.00、10.0 mg/kg。空白对照样品添加等量正己烷。将添加农药的样品混匀,置于暗处平衡 2h,待提取。每次处理重复 3 次。

2.2.4 样品前处理

样品中加入 50mL 乙酸乙酯,机械振荡提取 60min,提取液通过装有无水硫酸钠的漏斗过滤,取

20 mL 滤液减压浓缩至近干,用固相萃取柱净化。将活性炭固相萃取柱和氟罗里硅土固相萃取柱串联,以 5mL 乙酸乙酯预淋洗,用 1mL 乙酸乙酯溶解浓缩瓶中的残渣上样,以 3mL 乙酸乙酯淋洗,收集淋洗液,氮吹至干,用正己烷定容至 0.5mL,供 HPTLC 法测定。

2.2.5 检测

使用 CAMAG Linomat 5 半自动点样仪在高效薄层板上分别点上农药标准品和待测样品溶液后,将高效薄层板放入双槽展开缸(展开剂为正己烷:二氯甲烷 = 6:4(v:v)),单向上行展开。将展开后的高效薄层板放入 CAMAG TLC Scanner 薄层扫描仪,使用 Wincats 工作站操作扫描,扫描波长为 230nm。

根据比移值(R_f)值定性,采用外标法定量。

3 结果与讨论

3.1 检测系统的优化

3.1.1 展开系统的选择

由于高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯的极性相对较弱,因此选择正己烷作为底剂,二氯甲烷作为极性调节溶剂,调节不同的配比,在带盖的双槽展开缸中,单向上行展开两种菊酯的标准样品。经过反复试验,选择两种菊酯的最佳展开剂为正己烷:二氯甲烷 = 6:4(v:v)的混合溶剂系统。在此展开系统中,高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯的峰形对称,可以达到基线分离(见图 1)。

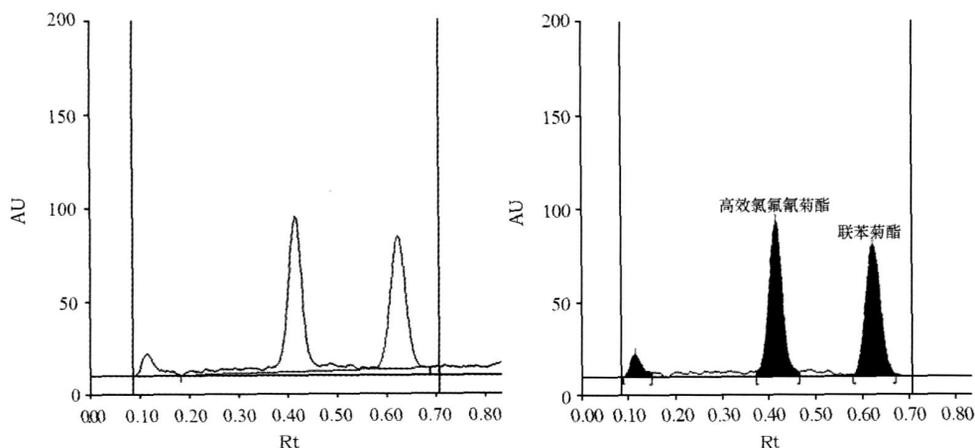


图 1 高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯标准品高效薄层色谱图

3.1.2 扫描波长的选择

通过对高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯的吸附态农药光吸收曲线的测定,高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯最大吸收波长分别为 200 nm 和 210 nm。为了避免试验过程中吸收波长在 200nm 附近的杂质干扰,选择 230nm 为检测波长。

3.2 标准曲线绘制

用正己烷配制系列浓度的高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯混合标准溶液进行点样、展开、扫描,以点样量 (ng) 为横坐标,峰面积 (AU) 为纵坐标作图,得到高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯的标准曲线。在 20 ~ 300 ng 的测定范围内,高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯呈现良好的线性关系 (见表 1)。

表 1 高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯的标准曲线方程和最小检测限

农药名称	R_f	标准曲线方程	相关系数 r	最小检测限 (ng)
高效氯氟氰菊酯	0.42	$Y = 4.66X + 20.7$	0.9975	10
联苯菊酯	0.63	$Y = 5.50X + 19.1$	0.9994	20

3.3 方法的准确度和精密度

在选定的色谱条件下,称取 5.00 g 空白样品,添加高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯混合标准溶液,使得两种菊酯在样品中的添加浓度分别为 0.50、5.00、10.0 mg/kg,进行添加回收试验,结果见表 2 和图 2。结果表明,在添加浓度范围内,高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯的平均添加回收率分别为 82.1% ~ 105% 和 75.2% ~ 98.6%,相对标准偏差分别为 3.59% ~ 12.0% 和 6.94% ~ 13.3%。本方法的准确度和精密度均达到农药残留分析的要求。

表 2 茶叶中高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯的添加回收试验结果

农药名称	添加浓度 (mg/kg)	点样量 (μ L)	平均添加回收率 (%)	相对标准偏差 (%)
高效氯氟氰菊酯	0.50	35	91.0	12.0
	5.00	10	105	3.59
	10.0	5	82.1	4.86
联苯菊酯	0.50	35	98.6	10.9
	5.00	10	75.2	13.3
	10.0	5	77.3	6.94

注:每次处理重复 3 次。

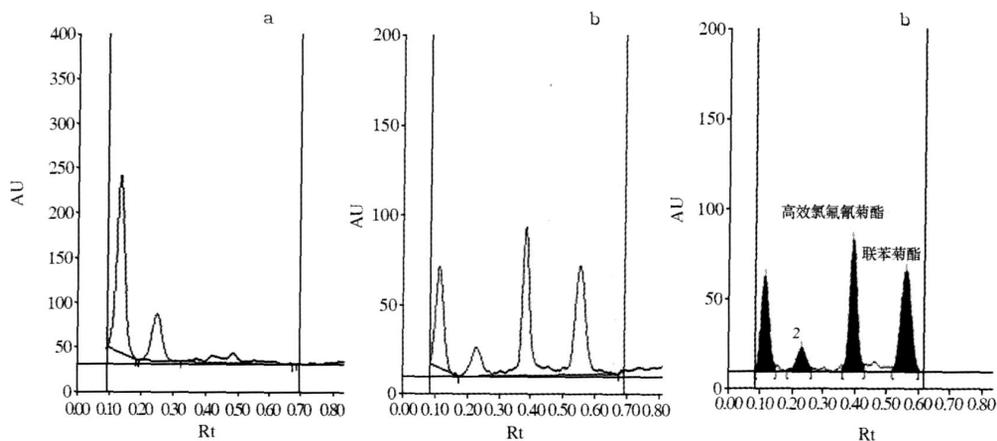


图 2 茶叶中高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯添加回收色谱图

a. 空白样品 b. 添加样品 (添加浓度为 10 mg/kg)

3.4 方法的灵敏度

在上述检测条件下,以信噪比为 3:1 时相应的点样量,确定高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯的最小检测限分别为 10ng 和 20ng。按照 5.00g 茶样所建立

的前处理方法提取、净化并定容至 0.50 mL,点样体积为 35 μ L (本方法所用最大点样体积) 计算,本方法的最低检测浓度为 0.238mg/kg 和 0.476mg/kg。欧盟规定,茶叶中高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯的最

大残留限量分别为 1mg/kg 和 5mg/kg ^[12]。实验表明,本方法可以满足欧盟对茶叶中农药限量标准的检测需要。

4 结论

高效薄层色谱法在土壤、水和其他共提物较少的基质农药残留分析中已有应用,而用于茶叶这类复杂基质中农药残留的分析尚不多见。本文采用高效薄层色谱法检测茶叶中高效氯氟氰菊酯和联苯菊酯的残留,与传统薄层层析法相比较,减少了显色反应的步骤,通过紫外扫描可得到高分辨率的色谱图,使定量结果的准确度和重现性都大幅度提高。与气相色谱法和高效液相色谱法相比较,高效薄层色谱法是开放性色谱,固定相是一次性的,因此避免了样品因净化不完全而导致固定相污染。在一块 $10\text{cm} \times 20\text{cm}$ 的高效薄层板上,可以一次性展开 20 个样品,大大缩短样品检测的时间。本方法快速、高效、消耗溶剂少,且环境友好。随着高效薄层色谱法的进一步完善和发展,它在农药残留分析中将具有良好的应用前景。

参考文献

- 1 马纪伟,闫冬良. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(1): 77-78
- 2 李华. 化学分析计量, 2001, 10(9): 19-20
- 3 袁宁,余彬彬,张茂升等. 色谱, 2006, 24(6): 636-640
- 4 李云春,易军,弓振斌等. 厦门大学学报(自然科学版), 2003, 42(1): 78-82
- 5 林子俺,龚巧燕,林旭聪. 光谱实验室, 2007, 24(4): 675-678
- 6 王翔,宋国新,胡耀铭. 质谱学报, 2008, 29(2): 97-100
- 7 穆小丽,蒋腊梅,杜文. 农药, 2009, 48(5): 365-367
- 8 汤富彬,刘光明,罗逢建等. 中国茶叶, 2005, (1): 24-25
- 9 何丽一. 平面色谱方法及应用. 北京: 化学工业出版社, 2004: 2-2, 17-17
- 10 Fan W, Yue Y D, Tang F, et al. Journal of Planar Chromatography, 2007, 20(6): 419-421
- 11 Cao H Q, Yue Y D, Hua R M, et al. Journal of Planar Chromatography, 2005, 18(2): 155-158
- 12 欧盟农药数据库 http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cf

收稿日期: 2009-11-24

High performance thin layer chromatographic analysis of lambda-cyhalothrin and bifenthrin residues in tea. Fan Wei¹, Tang Feng², Yue Yongde² (1. Key Laboratory for Agricultural Food Safety of Anhui Province, Anhui Agriculture University, Hefei, 230036; 2. International Center for Bamboo and Rattan, Beijing, 100102)

A method was developed for analysis of lambda-cyhalothrin and bifenthrin residues in tea by high performance thin layer chromatography (HPTLC). Samples were extracted with ethyl acetate (accompanied by mechanical shaking), and cleaned up by an SPE tandem column. The extracts were applied as bands on to the glass-backed silica gel 60F₂₅₄ HPTLC plates. The plates were developed with mixed solution of hexane and dichloromethane (6:4, v/v), and detected by a TLC scanner at 230nm densitometrically. The detection limits were 10ng and 20ng, the recoveries were 82.1% ~ 105% and 75.2% ~ 98.6%, and RSDs were 3.59% ~ 12.0% and 6.94% ~ 13.3% for lambda-cyhalothrin ($R_f = 0.42$) and bifenthrin ($R_f = 0.63$), respectively. The method is accurate, precise and sensitive, and has good repeatability.