

茶叶中 25 种有机氯农药多残留气相色谱 测定方法

靳保辉, 陈沛金, 谢丽琪, 赵琼晖, 吴卫东, 蓝芳, 林黎

(深圳出入境检验检疫局, 广东 深圳 518067)

摘要: 利用气相色谱 (GC) 建立了茶叶中 25 种有机氯农药同时测定的方法。茶叶中有机氯农药残留通过正己烷-丙酮 (体积比 2:1) 溶液提取, 浓缩后过弗罗里硅土柱净化, 采用正己烷-乙酸乙酯 (体积比 9:1) 溶液淋洗, 淋洗液吹氮至干后以正己烷定容供 GC 测定。标准工作曲线范围在 0.005~0.500 mg/L 之间。在茶叶样品中 0.005~0.100 mg/kg 水平有机氯混标加标回收率在 71%~110% 之间, 相对标准偏差在 4.6%~13.7% 之间。除乙酯杀螨醇定量下限为 8.0 μ g/kg 以外, 其余 24 种有机氯农药定量下限均为 5.0 μ g/kg。

关键词: 气相色谱; 有机氯农药; 茶叶

中图分类号: O657.71; S482.32 S571.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2007)01-0104-03

Determination of 25 Organochlorine Pesticides in Tea by GC Technique

JIN Bao-hui, CHEN Pei-jin, XIE Li-qi, ZHAO Qiong-hui, WU Wei-dong

LAN Fang, LIN Li

(Shenzhen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shenzhen 518067, China)

Abstract The method for determining 25 organochlorine pesticides in tea has been built utilizing GC/ECD technique. The residues of organochlorine pesticides in tea were extracted by the solution of *n*-hexane-actone (2:1 by volume) and cleaned up using florisil SPE column. *n*-Hexane-ethyl acetate (9:1 by volume) was used as elution solution. GC analytical results show the working curve is linear in the range of 0.005-0.500 mg/L. The recoveries of 0.005-0.100 mg/kg organochlorine pesticides were 71%-110%, RSD in the range of 4.6%-13.7%. The limits of quantitation of organochlorine pesticides are 5.0 μ g/kg except that chlorobenzilate is 8.0 μ g/kg.

Key words GC; Organochlorine pesticides; Tea

有机氯农药为广谱杀虫剂, 曾在茶叶种植中广泛使用, 在环境中容易造成残留进入食物链中影响人体健康。目前世界各国对茶叶中有机氯农药残留量作了限量要求。因此茶叶中有机氯农药残留量检测对于保障人民饮食健康, 保障我国茶叶进出口贸易具有重要意义。

目前我国现有的茶叶中有机氯农药的检测标准主要采用 GC/ECD 测定^[1-2], 灵敏度高, 定量准确, 分别能够同时检测 14 种^[1]和 10 种^[2]有机氯农药, 但方法前处理自动化程度低、提取净化效率不高, 速度慢, 试剂消耗量大。文献报道的茶叶中有机氯农药分析方法多适用于几种或十几种有机氯农药分析^[3-6], 多数方法采用硫酸磺化手段去除基体干扰, 净化效果较好, 但对七氯、艾氏剂、狄氏剂、异狄氏剂等回收率低^[7]。一次性检测农药的数量不能完全满足实际需要。

本文利用气相色谱 (GC/ECD) 技术对茶叶中 25 种有机氯农药同时测定, 以正己烷-丙酮提取, 液液分配和固相萃取净化手段, 有效地降低了茶叶本底干扰, 提高了检测灵敏度, 可满足残留检测和目前国外检测限量 (MRL) 的需要, 提高了目前茶叶中有机氯农药的多残留检测能力。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

6890plus 型气相色谱仪 (Agilent 美国), 带 ECD 检测器; DB-35MS 石英毛细管柱: 30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m; 旋涡混合仪 (MS2 Minishaker 中国); 吹氮浓缩仪 (Zymark, 美国); 离心机 (Hettich 德

收稿日期: 2005-12-24 修回日期: 2006-02-28

基金项目: 国家“十五”食品安全重大科技专项课题 (2001BA804A17-01-1)

作者简介: 靳保辉 (1975-), 男, 河南洛阳人, 工程师, 博士, Tel: 0755-26680670 E-mail: jbaohu@163.com

©1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

国); 固相萃取装置: 美国 Agilent 弗罗里硅土柱 (Agilent 美国): 1 000 mg×6 mL。

除另有规定外, 所用试剂均为分析纯, 水为二次去离子水。正己烷为色谱纯; 丙酮、乙酸乙酯为优级纯; 无水硫酸钠经 650 ℃灼烧 4 h, 置于干燥器中备用。

有机氯农药标准品: α-BHC、β-BHC、γ-BHC、δ-BHC、*p,p'*-DDE、*o,p'*-DDT、*p,p'*-DDD、*p,p'*-DDT、六氯苯、五氯硝基苯、七氯、环氧七氯、艾氏剂、狄氏剂、异狄氏剂, 硫丹 I、硫丹 II, 以上来自农业部环境保护科研检测所, 质量浓度为 100 mg/L; 顺式氯丹、反式氯丹, 购自 Sigma 公司, 质量浓度为 10 mg/L; 异艾氏剂 (纯度 98.0%)、四氯硝基苯 (99.5%)、土菌灵 (97.5%)、灭蚁灵 (98.0%)、百菌清 (98.0%)、乙酯杀螨醇 (99.5%), 购自 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司。

1.2 分析方法

1.2.1 提取与净化 将茶叶样品磨碎成粉, 置于离心管中, 加入 1 g氯化钠和 3 mL水, 用旋涡混合仪高速振荡 3 min, 再加入 3 mL正己烷-丙酮 (体积比 2:1)溶液, 振荡提取 3 min, 离心, 将上层提取液移至另一离心管中, 残渣反复提取两次, 合并提取液, 40 ℃水浴中吹氮浓缩至 1~2 mL。

在弗罗里硅土固相萃取小柱中填装 1 cm高无水硫酸钠, 并用 2 mL丙酮淋洗 3次。然后将提取液倾入弗罗里硅土柱中, 弃去流出液, 再用 10 mL正己烷-乙酸乙酯 (体积比 9:1)进行洗脱。收集洗脱液, 于 40 ℃水浴中吹氮浓缩至干, 用正己烷溶解并定容至 1.0 mL, 供气相色谱分析。

1.2.2 气相色谱条件 进样口温度 250 ℃; 分流进样, 分流比 20:1; 载气为氮气, 流量 1.5 mL/min; 柱温采用程序升温, 从 50 ℃保持 1 min后, 以 25 ℃/min升至 100 ℃并保持 3 min, 再以 10 ℃/min升至 200 ℃, 然后以 3 ℃/min升至 280 ℃, 最后以 20 ℃/min升至 320 ℃并保持 1 min; 检测器温度 350 ℃。

2 结果与讨论

2.1 色谱柱的选择

本实验考察了 DB-5、DB-1701、DB-35MS柱, 发现 DB-35MS对有机氯农药分离效果较好。

2.2 提取溶剂的选择

茶叶中含有大量色素, 前处理难度较高。本文选择不同配比的正己烷-丙酮提取溶液, 由添加回收实验比较发现, 正己烷和丙酮体积比 1:1时提取回收率最高, 但共提取色素较多, 测定干扰大; 正己烷和丙酮体积比大于 2:1时, 提取干扰物较少, 但回收率较低; 而体积比 2:1时提取回收率较高, 干扰也较小, 因此选择正己烷-丙酮 (2:1)溶液为提取溶液。

2.3 固相萃取条件的选择

本方法采用正己烷-丙酮与水相液液分配后, 去除了部分色素干扰, 然后通过固相萃取柱净化, 可以去除大部分的色素与其它干扰物质。试验比较了 Florisil硅土、中性氧化铝、活性碳 3种固相萃取柱的净化效果, 典型组分回收率见表 1。可见经活性碳柱净化后, 有机氯农药组分回收率较低, 而 Florisil硅土、中性氧化铝柱对有机氯净化后回收率均在 80% 以上, 但相近的回收率条件下, 中性氧化铝柱消耗的洗脱溶剂较多, 因此选择 Florisil硅土柱。

由于不同柱容量的固相萃取柱对茶叶的净化效果影响很大, 实验比较了 200 mg×3 mL, 500 mg×3 mL和 1 000 mg×6 mL 3种不同柱容量的 Florisil硅土柱, 发现 1 000 mg×6 mL Florisil硅土柱在净化茶叶提取液时具有较好的净化效果, 本底色素干扰在 ECD 信号中降至最低。

洗脱剂的选择直接关系到测定结果的回收率, 由于待测的 25种有机氯农药极性范围较宽, 单一溶剂不能将待测组分洗脱完全。比较了不同体积比的正己烷-丙酮溶液和正己烷-乙酸乙酯溶液, 发现正己烷-乙酸乙酯 (体积比 9:1)洗脱效果较好, 对于浓度范围在 0.005~0.100 0 mg/L有机氯农药标准溶液, 10 mL左右的淋洗液用量回收率达到 90% 以上, 因此柱净化过程选择 10 mL正己烷-乙酸乙酯 (体积比 9:1)洗脱液。

表 1 不同固相萃取柱有机氯农药回收率
Table 1 Recovery of organochlorines on the different kinds of SPE column

Pesticide	Recovery R %		
	Florisil	Alumina-N	Activated Carbon
α-666	93	91	52
Aldrin	95	94	51
cis-Chlordane	90	92	60
Endosulfan II	88	85	44
Chlorobenzilate	96	94	62

2.4 线性范围与定量下限

本方法实验条件下, 对 25 种有机氯农药进行测定, 内标法定量, 内标物为百菌清。结果表明, 有机氯农药在 0.005~0.500 mg/L 范围内与响应值均有良好的线性关系, 对于实际样品, 定量下限乙酯杀螨醇为 8.0 μg/kg, 其余 24 种有机氯化合物为 5.0 μg/kg。线性关系、检出限见表 2。

表 2 25 种有机氯农药的回归方程、相关系数、检出限及 10.0 μg/kg 有机氯农药回收率及相对标准偏差
Table 2 the regression equation, r , limit of detection of 25 organochlorines and recovery and RSD of 10.0 μg/kg organochlorine pesticides

Pesticide	Regression equation*	r	Lin it of detection($S/N=3$)	Recovery $R/\%$	RSD $s_r/\%$
			$\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$		
Aldrin(艾氏剂)	$Y=75\,944\,64X-389.03$	0.996 1	1.0	108	11.7
Dieldrin(狄氏剂)	$Y=80\,945\,40X-353.46$	0.999 1	1.0	97	8.8
trans-Chlordane(顺式-氯丹)	$Y=63\,769\,09X-102.19$	0.998 0	1.0	97	4.6
cis-Chlordane(反式-氯丹)	$Y=50\,320\,99X-90.46$	0.998 1	1.0	93	7.0
Chlorobenzilate(乙酯杀螨醇)	$Y=11\,660\,04X+60.20$	0.998 7	2.0	107	7.3
p,p' -DDE(p,p' -滴滴伊)	$Y=97\,837\,56X-450.37$	0.996 4	1.0	75	10.4
o,p' -DDT(o,p' -滴滴涕)	$Y=46\,774\,65X-156.21$	0.997 1	1.0	81	9.4
p,p' -DDD(p,p' -滴滴滴)	$Y=54\,662\,60X-229.07$	0.996 4	1.5	78	10.3
p,p' -DDT(p,p' -滴滴涕)	$Y=57\,240\,37X-239.18$	0.996 5	1.5	71	7.5
Endrin(异狄氏剂)	$Y=51\,646\,51X-129.85$	0.997 6	1.5	81	13.7
HCB(六氯苯)	$Y=76\,401\,01X-61.47$	0.997 8	1.0	110	10.1
α -666(α -六六六)	$Y=95\,991\,56X-546.41$	0.995 3	1.0	108	10.7
β -666(β -六六六)	$Y=39\,420\,43X-131.78$	0.997 4	1.0	92	10.8
γ -666(γ -六六六)	$Y=83\,377\,71X-428.60$	0.995 7	1.0	103	7.7
δ -666(δ -六六六)	$Y=86\,284\,65X-454.33$	0.996 0	1.0	109	10.3
Octachlorodipropylether(八氯二丙醚)	$Y=71\,623\,16X-149.18$	0.997 6	1.0	105	10.7
Heptachlor(七氯)	$Y=72\,928\,93X-323.10$	0.996 2	1.0	74	12.0
Quintozene(五氯硝基苯)	$Y=67\,870\,10X-83.25$	0.997 9	1.0	109	6.5
Tecnazene(四氯硝基苯)	$Y=202\,360\,56X-474.45$	0.997 9	1.0	90	9.4
Isodrin(异艾氏剂)	$Y=67\,040\,25X-137.87$	0.998 1	1.5	71	8.2
Heptachlor epoxide(环氧七氯)	$Y=76\,816\,21X-131.23$	0.998 0	1.0	86	10.7
Mirex(灭蚁灵)	$Y=127\,238\,12X+30.05$	0.997 7	1.0	107	8.4
Etridiazole(土菌灵)	$Y=14\,635\,10X-13.739$	0.995 6	1.0	86	10.7
Endosulfan I(硫丹 I)	$Y=51\,028\,75X-187.85$	0.997 0	1.0	79	8.0
Endosulfan II(硫丹 II)	$Y=64\,407\,34X+89.90$	0.998 2	1.5	74	11.1

* Y: 峰面积值; X: 有机氯农药浓度 (mg/L) 值 (Y: value of peak area X: value of concentration of pesticide(mg/L))

2.5 方法的回收率和精密度

在茶叶样品中分别添加 0.005、0.010、0.020、0.05、0.100 mg/kg 水平的有机氯农药及一定浓度内标物, 各水平平行测定 8 次。实验结果表明, 方法平均回收率在 71%~110% 之间, 相对标准偏差在 4.6%~13.7% 之间 (表 2)。0.01 mg/kg 添加水平的 25 种有机氯农药谱图及空白样品谱图见图 1、2。

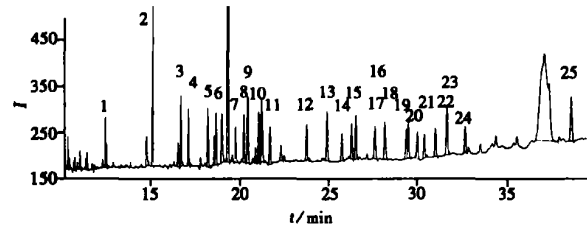


图 1 茶叶中添加 0.01 mg/kg 水平有机氯农药色谱图
Fig. 1 Chromatography of 0.01 mg/kg level organochlorine added in tea

1. etridiazole; 2. tecnazene; 3. HCB; 4. α -666; 5. quintozene;
6. γ -666; 7. β -666; 8. heptachlor; 9. δ -666;
11. aldrin; 12. isodrin; 13. heptachlor epoxide; 14. cis-chlordane;
15. trans-chlordane; 16. endosulfan I; 17. p,p' -DDE;
18. dieldrin; 19. chlorobenzilate; 20. endrin; 21. o,p' -DDT;
22. p,p' -DDD; 23. Endosulfan II; 24. p,p' -DDT; 25. mirex;
Is; chlorothalonil 0.02 mg/kg

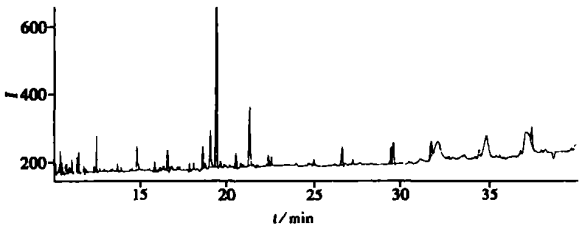


图 2 茶叶空白色谱图
Fig. 2 Chromatogram of blank sample

从表 1 可以看出 CSP1 对手性化合物拆分效果较好。可拆分的 7 种手性化合物是二醇、氨基酸、胺和二羧酸类物质, 对一醇和一羧酸类物质拆分效果较差, 对 *DL*-苯丙氨酸和 *DL*-酪氨酸拆分效果也较差。所以该手性柱的选择性倾向于拆分二醇、氨基酸、胺和二羧酸类物质。图 2 是对几种外消旋体拆分的色谱图, 可以看出这几对外消旋化合物均得到了较好的分离效果, 达到基线分离。

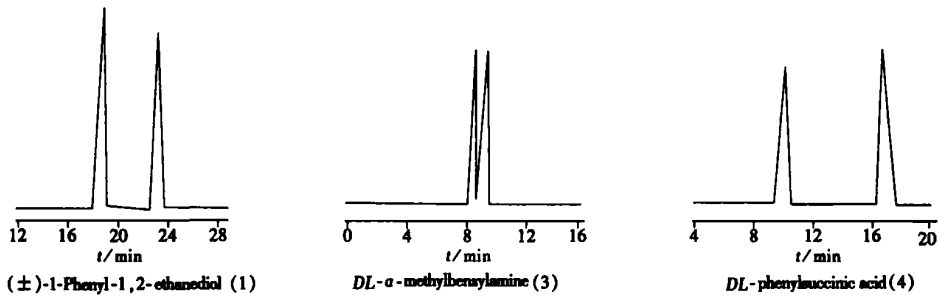


图 2 3 种外消旋体的色谱图
Fig. 2 Chromatograms of chiral separation of three racemates

手性拆分机理: 立体作用来自酰胺, 与具有羟基或氨基的对映体发生氢键等作用, 偶极-偶极相互作用, 另外苯环还可与具有苯环结构的物质发生 $\pi-\pi$ 相互作用, 以及相互吸引-空间适应作用, 使手性识别作用更强^[7]。

表 1 中还列出了这些手性化合物在纤维素三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)手性固定相(CSP2)上的拆分结果, 可以看出, 在 CSP1 上可以拆分的(±)苯基-1,2-乙二醇(1)、*DL*-苯基丁二酸(4)、(±)苯甘氨酸(6)、*DL*色氨酸(7)和(±)- α,α' -二对甲基苯甲酰-*D*-酒石酸(10)这几种外消旋体, 在 CSP2 上得不到拆分; 而在 CSP1 上得不到拆分的 *DL*-扁桃酸(5)和 *DL*-酪氨酸(9)在 CSP2 上可以拆分。所以 *D*-苯甘氨酸氨基酸类手性固定相与纤维素衍生物类手性固定相可以起到相互补充的作用。

参考文献:

[1] 尤启冬, 林国强. 手性药物的研究与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004 96

[2] 林国强, 陈耀全, 陈新滋, 等. 手性合成——不对称反应及其应用[M]. 北京: 科学出版社, 2000 18-20

[3] 袁黎明. 制备色谱技术及应用[M]. 北京: 化学化工出版社, 2005 92

[4] PRKLE W H, HOUSE DW, FNN JM, et al. Broad spectrum resolution of optical isomers using chiral high-performance liquid chromatographic bonded phases[J]. J Chromatogr 1980, 192: 143-158

[5] 尤田耙. 手性化合物的现代研究方法[M]. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1993 92-94

[6] KUBOTA T, YAMAMOTO C, OKAMOTO Y. Tri(cyclohexylcarbamate)s of cellulose and amylose as potential chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography and thin-layer chromatography[J]. J Am Chem Soc, 2000, 122: 4056-4059

[7] PIRKLE W H, HYUN M H, BANK B. A rational approach to the design of highly-effective chiral stationary phases[J]. J Chromatogr 1984, 316: 585-604

(上接第 106 页)

参考文献:

[1] 中华人民共和国进出口商品检验行业标准[S]. SN0497-95

[2] 中华人民共和国国家标准[S]. GB/T5009.146-2003

[3] 赵云峰, 陈建民, 王绪卿. GC-MS 分析法在人参有机氯农药残留检测中的应用[J]. 卫生研究, 1998, 27(6): 425-428

[4] 罗逢健, 刘光明, 陈宗懋. 茶叶中 23 种农药残留的多检出分析技术[J]. 现代科学仪器, 2003, 1: 13-16

[5] 郝桂明, 鄂蕴娟, 赵春杰. 气相色谱法测定茶叶中有机氯类农药残留量[J]. 食品科学, 2001, 22(11): 73-75

[6] JOHNSTONE J J, PETTY E E, VOLZ S A. Solid phase extraction GC/ECD method for the analysis of organochlorine pesticides in wildlife plasma[J]. Journal of High Resolution Chromatography, 2005, 20(8): 405-409

[7] 阎思忠, 王晋, 吕建民. 毛细管气相色谱法测定茶叶中有机氯农药残留[J]. 中国公共卫生, 2001, 17(8): 762