

云南普洱茶主产区茶叶中农药残留的 GC-NCI-MS-SIM 分析

陈泽宇¹, 毛林夏², 袁智¹, 刘钧¹

(1. 西双版纳出入境检验检疫局, 云南西双版纳 666100; 2. 红河出入境检验检疫局, 云南红河 661100)

摘要 [目的]建立云南茶叶中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯类农药残留量气相色谱-负化学离子源-质谱-选择离子监测(GC-NCI-MS-SIM)同时测定的新方法。[方法]以有机磷、有机氯、拟除虫菊酯这些含电负性原子的农药为检测对象,建立了云南茶叶中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯类农药残留 GC-NCI-MS-SIM 同时测定的分析方法。[结果]在 10~200 μg/L 浓度时,定量离子的峰面积与浓度有很好的相关性,相关系数都在 0.999 以上,方法加标回收率在 70.65%~103.52%,RSD 在 1.13%~8.94%,方法最低检测限远低于国家标准和欧盟残留限量标准。应用 GC-NCI-MS-SIM 方法分析云南茶叶中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯这些含电负性原子的农药,在最低检出限、选择性和抗干扰能力等方面均具有明显优势。[结论]该方法高效、准确、选择性好、抗干扰能力强,在云南茶叶农药残留分析领域具有较好的发展前景。

关键词 茶叶;农药残留;凝胶渗透色谱;气相色谱;气相色谱-质谱;云南

中图分类号 S481⁺.8;TS207⁺.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)28-0088-04

Determination of Pesticide Residues in Tea of Main Producing Areas of Yunnan Pu'er Tea by GC-NCI-MS-SIM

CHEN Ze-yu¹, MAO Lin-xia², YUAN Zhi¹ et al (1. Xishuangbanna Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Xishuangbanna, Yunnan 666100; 2. Honghe Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Honghe, Yunnan 661100)

Abstract [Objective] To establish a new method for simultaneous determination of organophosphorus, organochlorine and pyrethroid pesticide residues in Yunnan tea by GC-NCI-MS-SIM. [Method] Organophosphorus, organochlorine, pyrethroid, and these negatively charged pesticides were tested, Yunnan organophosphate, organochlorine and pyrethroid was established by GC-NCI-MS-SIM analysis method for simultaneous determination of pesticide residues. [Result] Between 10 and 200 μg/L, peak area of quantitative ion had a good correlation with concentration. The recoveries of method were 70.65% to 103.52% with a relative standard deviation ranging from 1.13% to 8.94%. The limit of detection was lower than the limit standards of national and EU. The method was sensitive and selective, compared favorably with other detection methods, when analyzed pesticides have large electron affinity. [Conclusion] The method is efficient, accurate, selective and has strong anti-interference ability, it had preferable development in pesticides residues.

Key words Tea; Pesticide residue; Gel permeation chromatography (GPC); Gas chromatography (GC); Gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS); Yunnan

茶叶是云南出口创汇的大宗商品,茶叶产业在云南省农业经济中占有相当重要的地位。近年来,日本、欧盟等发达国家和地区制定的农产品安全标准越来越严格,致使云南省茶叶出口阻力逐年加大。目前,我国的茶叶卫生标准和检测标准还不够完善,达不到国外要求。尽快建立和完善云南茶叶中农药残留检测体系和标准是当前亟待解决的课题。农药残留是指农药使用后存留在环境、生物体和食品等中的农药及其降解代谢产物、杂质,还包括环境背景中存有的污染物或持久性的农药的残留物在商品中形成的残留^[1-2]。有关云南省茶叶中农药残留分析方法的研究报道很少,主要是单一类型农药残留分析的研究,而且检测技术较单一、前处理方法较为繁琐。笔者针对云南省茶园现在和过去农药使用的情况以及其环境中可能存在的农药,较为系统地开展了云南茶叶中农药残留分离分析方法的研究。

目前,茶叶中有机磷、有机氯和拟除虫菊酯类农药残留通常采用气相色谱-电子捕获法(GC-ECD)、气相色谱-火焰光度法(GC-FPD)及气相色谱-电子轰击离子源-质谱法(GC-EI-MS)检测^[3-4],GC-ECD虽然灵敏度较高,但容易受到样品基质干扰,对样品前处理要求很高。GC-FPD只能测定单一类型的农药,灵敏度低,限制了其在农药残留分析中的广泛应用。GC-EI-MS能够获取丰富的物质

信息,而且可以直接进行物质的定性与定量分析,但是易受样品基体的干扰而降低方法的灵敏度和增大方法的检测限,难以满足发达国家越来越严格的残留限量标准。

气相色谱-负化学离子源-质谱法(GC-NCI-MS)具有灵敏度高、抗干扰能力强,并且能同时进行定性与定量分析。GC-NCI-MS在有机氯和拟除虫菊酯类农药残留分析中的应用报道较多^[5-6],但用于有机磷、有机氯和拟除虫菊酯类农药残留分析中尚少见报道。近年来,茶叶农药残留检测项目不断增加,最大残留限量大幅降低,限量标准日趋严格。为此,建立灵敏度高和选择性好的农药残留分析方法十分必要。笔者应用GC-NCI-MS技术建立了云南茶叶中有机磷、有机氯和拟除虫菊酯类农药残留的分析方法,该方法选择性好、抗干扰能力强、灵敏度高、检测限低。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要仪器。日本岛津气相色谱-质谱(GC-MS-QP-2010),配有AOC-20i自动进样器,WBI-2010进样口,四极杆质量分析器,GCMS solution工作软件;色谱分离柱为Rtx-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm),美国吉尔森公司凝胶渗透色谱(GPC),配有Biobeads S-X3玻璃柱(50 cm×2 cm),307泵,112UV检测器,自动馏分收集器和Gilson工作站;天津奥特赛恩斯MTN-2800W氮吹浓缩装置;天津奥特赛恩斯AS3120型超声波清洗器;天津泰斯特仪器有限公司高速万能粉碎机;梅特勒-托利多AB104-S分析天平;江苏

海门麒麟医用仪器厂 GL-88B 漩涡混合器。

1.1.2 主要试剂。 农药标准品:乐果、 γ -六六六、毒死蜱、噻嗪酮、p,p'-DDD、联苯菊酯、甲氰菊酯,德国 Dr Ehrenstorfer GmbH 公司中国农业部环境保护监测所;正己烷、丙酮、环己烷、乙酸乙酯均为分析纯;无水硫酸钠(A.R.)。

1.2 标样溶液的配制 分别准确称取 50 mg (精确到 0.000 1 g) 农药标准品,用丙酮定容至 50 mL 容量瓶中,得到 1 g/L 各农药标准溶液,取各农药标准溶液 1 mL 到 100 mL 的容量瓶中,配制 10 mg/L 的混合标准储备溶液;根据各种农药在 GC-MS 上的响应情况,采用逐级稀释法将 10 mg/L 混合标准储备溶液配制成浓度分别是 10、20、50、100、200 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准溶液。

1.3 样品提取与净化 准确称取经磨碎的茶叶样品 0.50 g 于具塞三角锥形瓶中,加入 1.0 g 无水硫酸钠,用 20 mL 正己烷-丙酮混合提取溶剂(1:1, V/V) 平分 2 次超声提取,每次超声提取 10 min, 2 次提取液合并于离心管中,以 4 000 r/min 离心 5 min, 在 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴下氮吹至约 1 mL。

将浓缩后的提取液转移至 GPC 柱内,以环己烷-乙酸乙酯(1:1, V/V) 作为流动相,流速为 5 mL/min, 收集 6~22 min 的馏分,在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下氮吹至近干,用正己烷定容至 1 mL, 进 GC-MS 分析。

1.4 色谱条件 GC 条件: RTX-5MS 毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm); 载气为氦气(99.999%); 流速为 1.5 mL/min; 进样方式为不分流进样; 进样口温度为 250 $^{\circ}\text{C}$; 柱温由 100 $^{\circ}\text{C}$ 升至 230 $^{\circ}\text{C}$ (15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$), 然后升至 290 $^{\circ}\text{C}$ (30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$), 保持 4 min; 进样量 1 μL 。

MS 条件: 电离方式为 NCI, 反应气 CH_4 ; 离子源温度 200 $^{\circ}\text{C}$, 接口温度 230 $^{\circ}\text{C}$; 扫描方式选择离子监测模式(SIM), 应根据目标物的保留时间先后顺序, 在对应的时间窗内设定特征离子, 扫描间隔 0.2 s, 扫描范围 45~550 amu; 溶剂切除时间 6.5 min。

1.5 测定 定性测定: 进行样品测定时如果检出的峰面积保留时间与标准样品相一致, 并且在扣除背景后的样品图谱中均出现所选择的离子, 而且所选的离子丰度比与标准品的离子丰度比一致(相对丰度 $\geq 50\%$, 允许 $\pm 10\%$ 偏差; 相对丰度在 20%~50%, 允许 $\pm 15\%$ 偏差; 相对丰度在 10%~20%, 允许 $\pm 20\%$ 偏差; 相对丰度在 $< 10\%$, 允许 $\pm 50\%$ 偏差), 则可判断样品中可能存在这种农药。

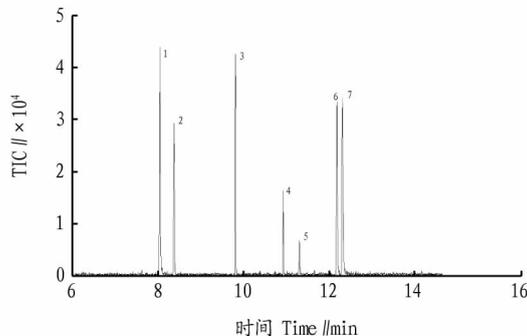
定量测定: 该试验采用外标标准曲线法单离子定量测定。

2 结果与分析

2.1 色谱条件优化 改变色谱柱、程序升温条件及载气流速, 考察待测农药色谱分离情况。色谱柱、程序升温 and 载气流速不同, 待测农药分离的情况也不同, 根据在最短时间获得最佳分离效果的原则, 最终确定了“1.4”中的色谱条件。待测农药采用 RTX-5MS 色谱柱在经优化的色谱条件下的 TIC 分离情况见图 1。

2.2 SIM 扫描方式特征离子的选择 茶叶中组成成分复

杂, 易干扰待测农药的测定。为了有效提高信噪比, 降低方法的检测限, 所以采用选择离子监测方式进行农药残留分析。采用选择离子监测模式, 首先必须在全扫描模式下得到各待测农药的质谱图, 依据质谱图来确定各待测农药的特征离子。



注: 1. 乐果; 2. γ -六六六; 3. 毒死蜱; 4. 噻嗪酮; 5. p,p'-DDD; 6. 联苯菊酯; 7. 甲氰菊酯

Note: 1. Rogor; 2. γ -benzene hexachloride; 3. chlorpyrifos; 4. Buprofezin; 5. p,p'-DDD; 6. bifenthrin; 7. fenprothrin

图 1 NCI-Scan 模式下农药标准品的 TIC 图

Fig. 1 The TIC diagram of pesticide standard under NCI-Scan model

选择特征离子应尽量满足以下条件: 选择特征性高的碎片离子; 选择质荷比大的碎片离子; 相对丰度较高的碎片离子; 杂质离子干扰较小的离子。为提高定性的准确性, 可根据总离子流图保留时间、3 个特征离子(1 个定量离子、2 个参考离子)及相对丰度作为判定阳性的指标。一般使用相对丰度最大的特征离子作为定量离子, 以提高检测方法的灵敏度。图 2 和图 3 为联苯菊酯和 γ -六六六标样质谱图, 根据上述原则, 联苯菊酯定量离子为 205、参考离子为 241 和 243, γ -六六六定量离子为 71、参考离子为 73 和 70, 其他农药的定量离子和参考离子也依此原则来确定, 全部农药的保留时间、定量离子、参考离子见表 1。

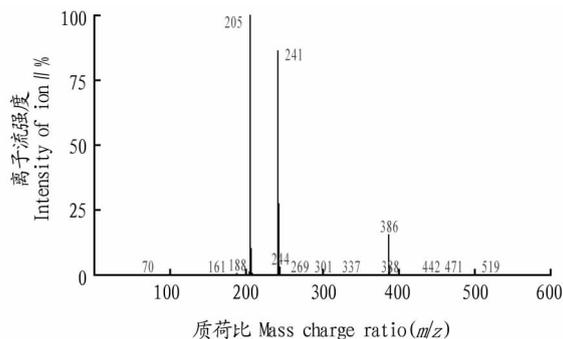


图 2 GC-NCI-MS-SCAN 扫描模式下联苯菊酯标样质谱

Fig. 2 The mass spectrum of bifenthrin of GC-NCI-MS-SCAN

2.3 线性方程、相关系数和检测限 将“1.2”中不同浓度的混合标准溶液, 按“1.4”的色谱条件进行 GC-NCI-MS-SIM 进行分析, 以外标法作为定量方法, 以峰面积(Y)对浓度(X, $\mu\text{g/L}$)作线性回归分析, 得到待测农药的线性方程及相关系数。图 4 为 24 种农药标样的质量(MC)色谱图。线性

方程及相关系数见表2,该方法的最低检测限、国标最大残留限量和欧盟最大残留限量见表3。

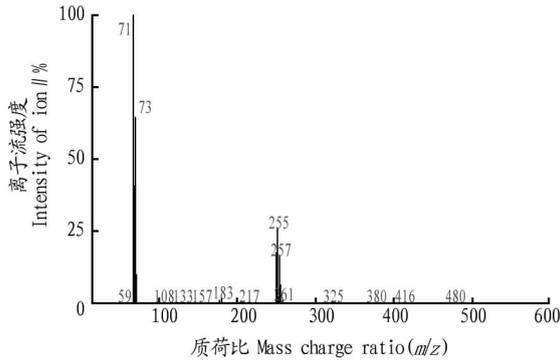
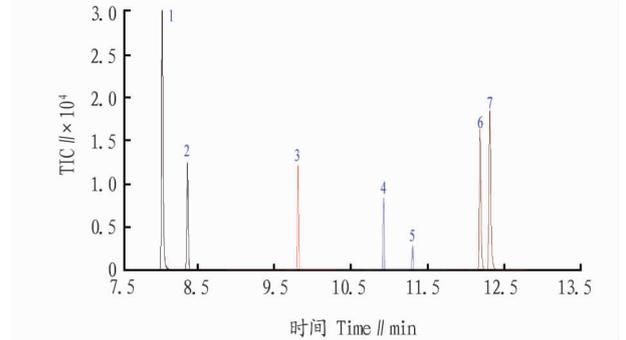


图3 GC-NCI-MS-SCAN 扫描模式下 γ -六六六标样质谱

Fig.3 The mass spectrum of γ -BHC of GC-NCI-MS-SCAN

从表2可以看出,7种农药在10~200 $\mu\text{g/L}$ 的线性关系内,农药的相关系数都在0.999~0.9999,说明峰面积与浓度之间有很好的相关性,并且符合农药残留分析的要求。

由表3可知,该方法的最低检测限很低,远低于国家标准和欧盟的最大残留限量标准,是一种理想的含电负性原子



注:1.乐果;2. γ -六六六;3.毒死蜱;4.噻嗪酮;5. p,p'-DDD;6. 联苯菊酯;7. 甲氧菊酯

Note:1. Rogor;2. γ -benzene hexachloride;3. chlorpyrifos;4. Buprofezin;5. p,p'-DDD;6. bifenthrin;7. fenpropathrin

图4 SIM模式下农药标准品的MC图谱

Fig.4 The MC of pesticides standard by SIM

表1 农药标样的保留时间、定量离子和参考离子

Table 1 Retention times, quantitative ions and reference ions of 7 pesticides standard

农药 Pesticides	保留时间 Retention time//min	定量离子 Quantitative ion	参考离子 I Reference ion I	参考离子 II Reference ion II
乐果 Rogor	8.04	157	159	158
γ -六六六 γ -benzene hexachloride	8.38	71	70	73
毒死蜱 Chlorpyrifos	9.81	169	214	212
噻嗪酮 Buprofezin	10.93	136	137	260
p,p'-DDD	11.31	71	73	72
联苯菊酯 Bifenthrin	12.19	205	241	243
甲氧菊酯 Fenpropathrin	12.32	141	142	143

表2 7种农药线性范围、线性方程及相关系数

Table 2 Linear range, regression equation and correlation coefficient of 7 pesticides

农药 Pesticides	线性范围 Linear range// $\mu\text{g/L}$	线性方程 Linear equation	相关系数 Correlation coefficient (R)
乐果 Rogor	10~200	$Y = 124.5796X - 13460.23$	0.9995276
γ -六六六 γ -benzene hexachloride	10~200	$Y = 377.2215X - 32390.08$	0.9999134
毒死蜱 Chlorpyrifos	10~200	$Y = 60.75846X - 4875.923$	0.9998547
噻嗪酮 Buprofezin	10~200	$Y = 87.93885X - 7136.692$	0.9997295
p,p'-DDD	10~200	$Y = 357.2742X - 30421.46$	0.9996275
联苯菊酯 Bifenthrin	10~200	$Y = 176.0008X - 14675.54$	0.9999845
甲氧菊酯 Fenpropathrin	10~200	$Y = 68.73115X - 5661.308$	0.9995988

农药残留的检测方法,足以打破现今发达国家针对这7类农药制定的技术贸易壁垒,也可以应对今后发达国家越来越严

格的残留限量标准,说明该方法具有潜在的参考和应用价值。

表3 方法最低检测限和茶叶中农药最大残留限量

Table 3 Detection limits of the method and the maximum residue limits in tea

农药 Pesticides	方法最低检测限 Method minimum detection limit mg/kg	国家标准 National standard mg/kg	欧盟 European Union mg/kg
乐果 Rogor	0.0003	0.1	0.2
γ -六六六 γ -benzene hexachloride	0.0008	0.2	0.02
毒死蜱 Chlorpyrifos	0.0005	—	0.1
噻嗪酮 Buprofezin	0.0006	—	0.02
p,p'-DDD	0.0004	0.2	0.2
联苯菊酯 Bifenthrin	0.0001	5	5
甲氧菊酯 Fenpropathrin	0.0002	5	0.02

注:“—”代表没有规定最大残留限量

Note:“—” stands for no maximum residue limit

2.4 方法的加标回收率和精密度 为了考察该方法的准确性和精密度,在茶叶样品中分别添加 0.10、0.05、0.02 mg/kg 3 个浓度水平的混合标准溶液,按照选定的方法提取、净化和

检测,每个浓度水平重复测定 5 次,计算各待测组分的回收率及相对标准偏差,结果见表 4。

表 4 方法的加标回收率和精密度

Table 4 Calibration recovery and precision of the method

农药 Pesticides	加标 0.10 mg/kg Added 0.10 mg/kg		加标 0.05 mg/kg Added 0.05 mg/kg		加标 0.02 mg/kg Added 0.02 mg/kg	
	回收率 Rate of recovery	RSD	回收率 Rate of recovery	RSD	回收率 Rate of recovery	RSD
乐果 Rogor	103.52	1.13	97.23	5.23	88.92	4.28
γ -六六六 γ -benzene hexachloride	93.04	3.00	86.06	4.81	83.84	8.14
噻嗪酮 Buprofezin	81.51	5.59	91.62	4.07	74.58	2.61
毒死蜱 Chlorpyrifos	90.49	4.36	89.20	3.35	82.92	7.69
p,p'-DDD	72.93	6.64	70.65	7.84	71.84	5.47
联苯菊酯 Bifenthrin	84.82	5.39	89.34	8.94	75.83	3.75
甲氰菊酯 Fenpropathrin	85.12	2.48	90.23	6.68	76.83	5.89

试验结果表明,在 0.10、0.05、0.02 mg/kg 的添加水平,待测组分的平均回收率为 70.65% ~ 103.52%,相对标准偏差为 1.13% ~ 8.94%,准确度和精密度均达到茶叶中农药残留检测技术的要求。

2.5 茶叶样品检测 应用该试验所建立的方法,对云南的普洱茶、红茶、绿茶进行检测,结果见表 5。普洱茶中检出噻嗪酮和联苯菊酯,红茶中检出联苯菊酯,绿茶中检出 γ -六六六、联苯菊酯和甲氰菊酯,但农药残留含量都很低。

表 5 茶叶样品测定结果

Table 5 Determination results of tea samples

样品 Sample	噻嗪酮 Buprofezin	联苯菊酯 Bifenthrin	γ -六六六 γ -benzene hexachloride	甲氰菊酯 Fenpropathrin
大理普洱茶 Dali Puer tea	12.05	74.53	—	—
临沧红茶 Lincang black tea	—	18.92	—	—
西双版纳绿茶 Xishuangbanna green tea	—	—	39.17	60.43
临沧绿茶 Lincang green tea	—	23.17	—	—

注:“—”表示未检出

Note:“—” indicates not detected

3 结论

该试验建立了云南茶叶中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯类农药残留量 GC-NCI-MS-SIM 同时测定的新方法。样品前处理过程中采用凝胶渗透色谱技术进行净化,净化效果较为理想,在 10 ~ 200 $\mu\text{g/L}$ 的线性范围内,定量离子的峰面积与浓度有很好的相关性,相关系数都在 0.999 以上,方法加标回收率在 70.65% ~ 103.52%,相对标准偏差在 1.13% ~ 8.94%,方法最低检测限远低于国家标准和欧盟残留限量标准,能克服欧盟国家日趋苛刻的最大残留限量标准,打破发达国家制定的贸易技术壁垒。试验结果表明,该方法高效、准确、选择性好、抗干扰能力强,在农药残留分析领域具

有较好的应用前景。

参考文献

- [1] 陈万义,屠子钦,钱传范. 农药与应用[M]. 北京:化学工业出版社,1991:18-25.
- [2] 陈家华. 现代食品分析新技术[M]. 北京:化学工业出版社,2005:301-339.
- [3] 汪正范,杨树民,吴侗天,等. 色谱联用技术[M]. 北京:化学工业出版社,2000.
- [4] 杨广,程章平,刘新,等. 茶叶中拟除虫菊酯类农药残留的检测[J]. 福建农林大学学报(自然科学版),2004,33(3):339-342.
- [5] BLAKE T A,ZHENG X B,AGGERHOLM T. Determination of pentachlorophenol by negative ion chemical ionization with membrane introduction mass spectrometry[J]. Analyst,2002,127(11):1463-1466.
- [6] 汤桦,陈大舟,冯洁,等. 高分辨同位素稀释质谱法测定亚太区域比茶叶样品中的农药残留[J]. 化学通报,2010(10):920-926.

(上接第 67 页)

- [21] 马杰,虞琳琳,金路,等. 改性碳纳米管原始样品吸附亚甲基蓝的性能研究[J]. 环境化学,2012,31(5):646-652.
- [22] ONYANGO M S,KOJIMA Y,AOYI O,et al. Adsorption equilibrium modeling and solution chemistry dependence of fluoride removal from water by

trivalent-cation-exchanged zeolite F-9[J]. J Colloid Interface Sci,2004,279(2):341-350.

- [23] TAHIR S S,RAUF N. Removal of cationic dye from aqueous solutions by adsorption onto bentonite clay[J]. Chemosphere,2006,63(11):1842-1848.