

气相色谱—串联质谱法同时测定黑茶中 9 种农药残留

Simultaneously Determination of nine Kinds of Pesticide Residues in Dark Tea by Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (GC-MS/MS)

程水连 何建国 黄静 卢桂英

CHENG Shui-lian HE Jian-guo HUANG Jing LU Gui-ying

(国家黑茶产品质量监督检验中心, 湖南 益阳 413000)

(China National Center of Quality Supervision and Inspection of Dark Tea Products, Yiyang, Hunan 413000, China)

摘要:建立了同时对黑茶中 9 种农药残留进行定性定量分析的气相色谱三重四级杆质谱确证方法。样品经乙腈提取、Cleanert TPT 固相萃取柱净化后,用气相色谱—串联质谱 MRM 采集方式进行分析测定。研究结果显示:这 9 种农药在 0.4~3.2 mg/L 浓度范围内与峰面积呈良好的线性关系,9 种农药的相关系数均在 0.99 以上,相对标准偏差(RSD)为 1.5%~5.6%,最低检出限均在 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下,平均加标回收率为 81.6%~98.6%。该方法分离效果好、准确度高、重现性好且操作简单快速。

关键词:黑茶;气相色谱;三重四级杆质谱;Cleanert TPT 固相萃取柱;农药残留

Abstract: Developed a qualitative and quantitative analysis method which simultaneously determined nine kinds of pesticide residues in dark tea by gas chromatography in combination with triple quadrupole mass spectrometry. After being extracted by acetonitrile and purified by Cleanert TPT solid-phase extraction column, they were analyzed by GC-triple quadrupole MS. The results showed that the calibration curve for nine kinds of pesticide was the linear in the range of 0.4~3.2 mg/L and peak area, each correlation coefficient is above 0.99, and the relative standard deviation (RSD) was between 1.5% and 5.6%. At the same time, the average recovery was ranged from 81.6% to 98.6%, and the determining limits are below 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. This method which has advantages in great efficiency of separation, high accuracy, good reproducibility and easy and fast for operation.

Keywords: dark tea; gas chromatography; triple quadrupole mass spectrometry; Cleanert TPT solid-phase extraction column; pesticide

作者简介:程水连(1979—),女,国家黑茶产品质量监督检验中心高级工程师,硕士。E-mail:383052482@qq.com

收稿日期:2018-06-09

residues

为了防治茶树的各种病虫害,长期以来化学农药在茶园中被广泛使用,农药的使用一方面提高了茶叶的产量,另一方面农药残留对人体将造成极其大的伤害,能导致身体免疫力下降、加重肝脏负担、导致胃肠道疾病、还存在致癌的风险,并且污染环境,破坏生态。为此,中国农业部先后发布了[2002]194号、[2002]199号、[2003]274号公告文件,列出了禁用农药和限用农药清单^[1-3]。在 GB 2763—2014《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》中明确规定了茶叶中农残限量指标。因此农药残留问题一直是茶叶检测的重中之重,有必要建立一种准确、快速、可靠的农药多残留检测方法对黑茶中的农药残留进行测定。

目前,茶叶中农药残留涉及 GB/T 23204—2008 中气质联用仪检测的有 14 种,而且鉴于中国还未建立气相色谱—串联质谱(GC/MS/MS)的相关方法,基于 GB/T 23204—2008 中的单四级杆气质法,本试验拟采用灵敏度更高的气相色谱—串联质谱(GC/MS/MS)来建立黑茶中苯醚甲环唑、哒螨灵、啉虫脒、噻嗪酮、噻嗪酮、三氯杀螨砒、三唑酮、溴螨酯、异稻瘟净 9 种农药残留检测的方法。吴易峰^[4]采用气相色谱—串联质谱(GC/MS/MS)法测定茶叶中 20 种农药残留,但与本研究的农药品名不同。茶叶中这 9 种农药残留的检测在 GB/T 23204—2008 中只明确规定了 8 种,未包含啉虫脒,且该标准所涉及的只有绿茶、红茶、普洱茶和乌龙茶四类,未包含黑茶,且 GB/T 23204—2008 的前处理用到的甲苯毒害大。本试验拟用正己烷—丙酮预洗固相净化柱和只采用乙腈为洗脱液、气相色谱—串联质谱法的 MRM 采集方式进行测定。以期为黑茶产品中建立高效的多种农残检测技术提供参考,同时为日常食品安全监管工作提供强有力的技术支撑。

1 材料与方法

1.1 仪器

三重四级杆气质联用仪:GCMS-TQ8040型,具有EI源,日本岛津公司;

电子分析天平:AEY-210型,湘仪天平仪器设备有限公司;

电子天平:AUW120D型,日本岛津公司;

均质器:AVS-100型,天津奥特赛恩斯仪器有限公司;

旋转蒸发器:EV321型,莱伯泰科仪器股份公司;

八通道浓缩仪:Multivap-8型,莱伯泰科仪器股份公司;

离心机:TD5型,长沙英泰仪器有限公司;

一次性Cleanert TPT固相萃取柱:2 g/10 mL,浙江月旭科技有限公司;

有机相微孔滤膜:0.22 μm ,浙江月旭科技有限公司。

1.2 试剂

苯醚甲环唑-1和-2、哒螨灵、啉虫脒、噻螨酮、噻嗪酮、三氯杀螨砜、三唑酮、溴螨酯、异稻瘟净标准溶液(甲醇溶液):均为1 000 mg/L,农业部环境保护科研监测所;

甲苯:分析纯,衡阳市凯信化工试剂股份有限公司;

丙酮:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;

乙腈、正己烷、甲醇:色谱纯,德国Merck公司。

1.3 方法

1.3.1 色谱和质谱条件 色谱柱:Rxi-5 ms,30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm ;进样口温度:290 $^{\circ}\text{C}$;柱温:程序升温,80 $^{\circ}\text{C}$ (保持0 min),以15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至300 $^{\circ}\text{C}$,保持14 min;载气控制方式:恒线速度;压力:115.2 kPa;进样方式:不分流进样;总流量:50.0 mL/min;柱流量:1.69 mL/min;载气线速度:47.9 cm/s;离子源温度:250 $^{\circ}\text{C}$;接口温度:280 $^{\circ}\text{C}$;检测器电压:调谐电压+0.6 kV;溶剂延迟时间:2.50 min;采集模式:MRM,离子信息见表1。

1.3.2 标准曲线制备

(1) 9种农残混合标准储备液配制:分别移取上述9种农残标准溶液0.5 mL于10 mL容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,得到50 mg/L混合标准储备液。

(2) 9种农残混合标准使用液配制:分别移取上述储备

液0.20,0.40,0.80,1.20,1.60 mL于25 mL容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,分别得到约0.4,0.8,1.6,2.4,3.2 mg/L混合标准使用液。

1.3.3 样品处理

(1) 提取:准确称取粉碎过20目筛的2 g黑茶试样(精确至0.000 1 g)于50 mL具塞离心管中,加入10 mL乙腈,15 000 r/min均质提取1 min,4 200 r/min离心5 min后取上清液,残渣再用10 mL乙腈均质提取1次,合并提取液于100 mL圆底烧瓶中,于40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中减压浓缩至干,待净化。

(2) 净化、定容:用10 mL正己烷—丙酮(体积比1:1)溶液预洗一次性Cleanert TPT固相萃取柱,保持TPT柱湿润,弃去流出液。下接与八通道浓缩仪配套的80 mL瓶,放入固定架上。将上述提取样品用2 mL乙腈清洗瓶壁并将此溶液小心全部转移至经预清洗TPT柱中,用2 mL乙腈洗涤液瓶,重复3次,并将洗涤液移入TPT柱中,再用30 mL乙腈洗涤TPT柱,收集上述所有流出液于与八通道浓缩仪配套的80 mL瓶中,于40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中氮吹浓缩至1.0 mL,加入5 mL甲醇进行溶剂交换,重复3次。定容至1.0 mL,经0.45 μm 有机系滤膜过滤至进样瓶中,供GC-MS/MS检测,以色谱峰面积外标法定量。

1.4 数据处理

黑茶中这9种农残含量测定的数据处理采用外标法,以色谱峰峰面积归一化来定量计算。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂的优化

由于黑茶中不含油脂,故在净化的过程中不必考虑去除油脂的问题,所以在提取过程中只要选择一种合适的有机溶剂能起到有效提取混合农药即可^[5-7]。由于本试验中这9种农药均为弱极性有机化合物,而且GB/T 23204—2008中所用到的提取溶剂为乙腈+甲苯(体积比3:1),由于甲苯具有相对大的毒性,且黑茶中含有大量的色素,前处理要求较高^[8-10]。所以拟研究乙腈、乙酸乙酯、正己烷和丙酮为提取溶剂的提取效果。结果见表2。

表1 9种农药组分保留时间及MRM参数

Table 1 Retention time and MRM parameter of nine kinds of pesticide components

组分	保留时间/min	定量离子(CE)/丰度比/%	定性离子(CE)/丰度比/%
异稻瘟净	9.330	204.0>91.0(8)/100	204.0>122.0(12)/46.59
三唑酮	10.415	208.1>181.0(10)/100	208.1>127.0(14)/60.13
噻螨酮	11.170	184.0>149.0(10)/100	156.0>112.0(15)/24.6
噻嗪酮	11.695	172.1>57.0(14)/100	172.1>131.1(6)/46.30
啉虫脒	13.120	152.0>116.0(18)/100	152.0>89.0(26)/54.99
溴螨酯	13.265	340.9>182.9(18)/100	340.9>184.9(20)/76.91
三氯杀螨砜	13.605	355.9>228.9(12)/100	355.9>159.0(18)/94.44
哒螨灵	14.540	147.1>117.1(22)/100	147.1>132.1(14)/68.13
苯醚甲环唑-1	16.135	323.0>265.0(14)/100	323.0>202.0(28)/16.95
苯醚甲环唑-2	16.200	323.0>265.0(14)/100	323.0>202.0(28)/17.35

从表 2 可看出,乙腈对这 9 种农药的回收率比乙酸乙酯+正己烷(体积比 1:1)和正己烷+丙酮(体积比 1:1)的回收率高,而且用乙酸乙酯+正己烷(体积比 1:1)和正己烷+丙酮(体积比 1:1)作提取剂时提取的色素等杂质较多,对仪器的干扰较大;用乙腈作提取剂时提取的干扰较小,而且回收率也能达到要求,故本研究采取乙腈作为提取溶剂。

表 2 不同提取溶剂对分析物的回收率

Table 2 Recovery of analyte with different extraction solvents %

组分	乙腈	乙酸乙酯+正己烷 (1:1)	正己烷+丙酮 (1:1)
异稻瘟净	85.86	71.32	101.43
三唑酮	81.03	68.16	84.06
噻螨酮	90.25	86.97	95.27
噻嗪酮	80.47	64.34	81.34
啶虫脒	75.69	58.47	71.33
溴螨酯	81.13	89.68	88.46
三氯杀螨砜	87.24	81.24	86.03
哒螨灵	88.67	76.05	91.05
苯醚甲环唑-1	94.89	65.47	85.14
苯醚甲环唑-2	96.16	69.31	84.06

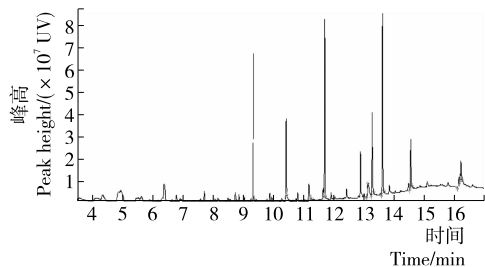


图 1 9 种待测农药的多反应监测色谱图(TIC)

Figure 1 Multi reaction monitoring chromatograms of nine kinds of detected pesticides(TIC)

2.2 仪器条件的优化

根据 GC-MS/MS 母离子和子离子所对应的多反应监测模式(MRM),通过设定多个时间段和扫描离子通道同时分析这 9 种农药成分,先通过 GC-MS 对其分离和全扫描(SCAN)(图 1),确定农药的出峰时间(表 1)和一级碎片离子,选择离子强度高的一级碎片离子作为母离子(表 1)。子离子扫描时,利用 EI 源对离子轰击扫描模式对母离子在不同碰撞能量下进行二次电离,选择 2 个信号较强的二级碎片离子作为子离子,选择丰度高且稳定的离子做定量离子(表 1),以产生信号强度最强的碰撞能量作为最终优化碰撞能量,这 9 种待测农药的多反应监测(MRM)见图 2。

2.3 线性范围、检出限与定量限

使用 9 种农残标准品的浓度 0.4,0.8,1.6,2.4,3.2 mg/L 混合标准使用液,以浓度作横坐标 x ,峰面积作纵坐标 y ,对测定结果进行线性回归,线性方程、相关系数、检出限(LOD)及定量限见表 3。

2.4 回收率和精密度

取同一批次的黑茶样品,粉碎,过筛,准确称取 10 g(精确至 0.01 g),分别加入 2 种标样添加水平(400,800 ng),按上述试验条件进行加标回收试验,每个水平进行 5 次平行测定,各浓度农药的加标回收率(5 次平行样回收率及 RSDs)结果见表 4。

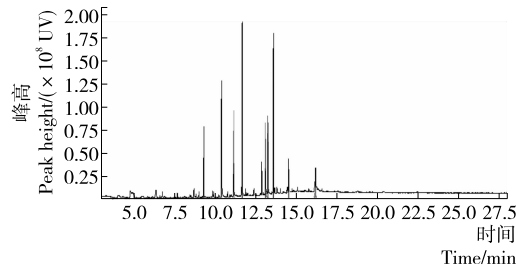


图 2 9 种农残标准物质的 MRM 图

Figure 2 MRM figure of standard materials for nine kinds of pesticide residues

表 3 各农药组分的线性方程、相关系数、检出限及定量限

Table 3 Linear equations, correlation coefficient, LODs and LOQs of pesticides

组分	线性方程	R^2	检出限/ $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	定量限/ $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$
异稻瘟净	$y = 3\ 017\ 003.5x - 568\ 732.7$	0.998 7	0.35	1.07
三唑酮	$y = 2\ 164\ 137.3x - 492\ 542.2$	0.998 2	0.17	0.59
噻螨酮	$y = 573\ 217.9x - 102\ 201.8$	0.999 4	0.26	0.86
噻嗪酮	$y = 1\ 404\ 423.0x - 147\ 278.8$	0.999 1	0.08	0.20
啶虫脒	$y = 182\ 771.4x - 47\ 445.4$	0.998 2	0.21	0.76
溴螨酯	$y = 1\ 598\ 839.5x - 278\ 166.0$	0.998 6	0.30	0.95
三氯杀螨砜	$y = 783\ 876.5x - 53\ 028.0$	0.998 7	0.19	0.63
哒螨灵	$y = 5\ 173\ 132.0x - 265\ 724.5$	0.998 0	0.05	0.17
苯醚甲环唑-1	$y = 1\ 146\ 224.8x - 98\ 898.7$	0.998 8	0.11	0.47
苯醚甲环唑-2	$y = 4\ 480\ 249.1x - 742\ 795.1$	0.993 5	0.14	0.51

表4 农药组分的回收率和精密度
Table 4 Recoveries and precisions of pesticide

组分	加标量 400 ng			加标量 800 ng		
	测定值/ng	平均回收率/%	精密度 RSD/%	测定值/ng	平均回收率/%	精密度 RSD/%
异稻瘟净	366	91.4	1.9	756	94.5	1.5
三唑酮	350	87.6	2.4	691	86.4	2.1
噻螨酮	346	86.5	5.5	745	93.1	5.6
噻嗪酮	385	96.3	4.7	726	90.8	4.8
啉虫脲	326	81.6	2.3	759	94.9	2.4
溴螨酯	337	84.3	3.4	703	87.9	3.6
三氯杀螨砜	394	98.6	4.8	658	82.2	5.0
哒螨灵	374	93.4	3.7	679	84.9	4.4
苯醚甲环唑-1	337	84.3	4.1	699	87.4	4.3
苯醚甲环唑-2	362	90.5	5.2	768	96.0	5.4

从表4可以看出,这9种农药的平均加标回收率为81.6%~98.6%;5次平行样的相对标准偏差为1.5%~5.6%,满足试验要求。

2.5 实际黑茶样品分析

利用所建立的分析方法对益阳安化黑茶共6类样品进行了这9种农残检测。在不同种类的黑茶样品中均检测到不同浓度的农残,其中以异稻瘟净、噻螨酮、啉虫脲、溴螨酯、苯醚甲环唑居多,浓度范围为0.02~0.18 mg/kg,均符合茶叶产品农残限量的要求,详见表5。

表5 实际黑茶样品的测定结果

Table 5 Determination result of the actual tea samples

样品	农残名称	含量/ (mg · kg ⁻¹)	限量值/ (mg · kg ⁻¹)
黑毛茶	异稻瘟净	0.113	不得检出噻螨酮
		0.024	15
茯砖茶	啉虫脲	0.068	10
千两茶	异稻瘟净	0.178	不得检出
		啉虫脲	0.031
黑砖茶	溴螨酯	0.056	不得检出
		苯醚甲环唑	0.087
花砖茶	苯醚甲环唑	0.049	10
湘尖茶 (以天尖为例)	噻螨酮	0.034	15

3 结论

本试验建立了以乙腈为提取溶剂,用正己烷—丙酮预洗固相净化柱,采用乙腈为洗脱液、气相色谱—串联质谱法的MRM采集方式测定,对黑茶中9种农药残留进行了定性和定量分析。试验结果表明:该方法前处理操作简单,重复性好,灵敏度高,在分别加入2种标样添加水平(400,800 ng)下,这9种农药的回收率均为81.6%~98.6%,满足日常的农药残留痕量分析工作的需要;且对GB/T 23204—2008中的农药残留检测加以补充;同时结合GC-MS/MS技术中的

MRM采集方式,不仅避免了杂质干扰,而且有效地消除了基质对这9种农药残留含量测定的干扰,降低了检出限,减少了假阳性的检出率,能够提高分析的选择性和检测灵敏度,适用于黑茶中苯醚甲环唑、哒螨灵、啉虫脲、噻螨酮、噻嗪酮、三氯杀螨砜、三唑酮、溴螨酯、异稻瘟净9种农药残留的检测。

参考文献

- [1] 刘亮,孙艳萍,周蔚.我国农药禁用政策实施情况及建议[J].农药科学与管理,2013,34(7):1-4.
- [2] 林真,陈健,李捷,等.基于气相色谱-质谱联用法的绿茶8种农药残留的同时检测[J].中国农学通报,2015,31(11):162-165.
- [3] 杨梅.固相萃取-气质联用测定茶叶中的26种农药残留[J].农药科学与管理,2015,36(1):26-30.
- [4] 吴易峰.气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)法测定茶叶中20种农药残留[J].武夷科学,2015(31):197-201.
- [5] 苏建峰,钟茂生,陈晶,等.气相色谱-质谱法与气相色谱法测定茶叶及茶叶加工品中295种农药多残留[J].分析测试学报,2015,34(6):625-638.
- [6] 徐敦明,卢声宇,陈达捷,等.加速溶剂萃取-气相色谱-串联质谱法测定茶叶中10种吡唑和吡咯类农药残留[J].色谱,2013,31(3):218-222.
- [7] 黄宝勇,潘灿平,王一茹,等.气质联机分析蔬菜中农药多残留及基质效应的补偿[J].高等学校化学学报,2006,34(2):227-232.
- [8] 蒋俊树,赵斌,周莉.气相色谱法-质谱法测定茶叶中36种农药残留气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)法测定茶叶中20种农药残留[J].食品科学,2009,30(14):276-280.
- [9] 陈红平,刘新,汪庆华,等.茶叶中7种除草剂农药残留气相色谱-串联质谱测定[J].茶叶科学,2011,31(4):283-288.
- [10] 赵琼辉,靳保辉,谢丽琪,等.气相色谱-质谱法测定茶叶中的25种有机氯农药残留[J].色谱,2006,24(5):629-632.