

研究报告

气相色谱-负化学源-质谱法测定乌龙茶中拟除虫菊酯和有机氯农药多残留

朱盼¹, 万欢², 吕芬¹, 姚敬¹, 龙朝阳¹, 黄伟雄¹, 吴永宁³

(1. 广东省疾病预防控制中心, 广东 广州 511430; 2. 华南农业大学资源环境学院, 广东 广州 510642; 3. 国家食品安全风险评估中心, 北京 100021)

摘要:目的 建立一种基于液液萃取-固相萃取-气相色谱-负化学源-质谱(GC-NCI-MS)测定乌龙茶中多组分拟除虫菊酯和有机氯类杀虫剂的分析方法。方法 茶叶样品粉碎过筛后,经沸水浸泡、丙酮-正己烷液液萃取、Carb-NH₂固相萃取柱进化后,用GC-NCI-MS方法进行定性、定量分析。结果 18种拟除虫菊酯和9种有机氯类杀虫剂分别在0.006~1.00 μg/mL和0.006~0.50 μg/mL浓度范围内具有良好的线性关系,相关系数(*r*)均大于0.996,加标回收率为60.1%~119.8%,相对标准偏差为1.5%~10.4%(*n*=6),方法检出限和定量限分别为0.5~4.8 μg/kg和1.7~16.0 μg/kg。结论 该方法快速、准确,能满足乌龙茶样品中18种拟除虫菊酯和9种有机氯类杀虫剂残留的快速检测分析要求。

关键词:气相色谱-负化学源-质谱; 乌龙茶; 拟除虫菊酯; 有机氯

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2021)04-0415-08

DOI:10.13590/j.cjfh.2021.04.002

Determination of pyrethroids and organochlorine pesticides in oolong tea by gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry

ZHU Pan¹, WAN Huan², LV Fen¹, YAO Jing¹, LONG Chaoyang¹, HUANG Weixiong¹, WU Yongning³

(1. Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention, Guangdong Guangzhou 511430, China; 2. The College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangdong Guangzhou 510642, China; 3. National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China)

Abstract: Objective To establish a method for the determination of several kinds of pyrethroids and organochlorine pesticides in Chinese oolong tea samples based on liquid-liquid extraction-solid phase extraction-gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry (GC-NCI-MS). **Methods** Oolong tea samples were crushed and screened, soaked in boiling water, extracted with acetone-n-hexane, purified by Carb-NH₂ column, and then identified and quantified by GC-NCI-MS. **Results** All the 18 kinds of pyrethroids and 9 kinds of organochlorine pesticides showed good linear relationships in range of 0.006-1.00 μg/mL and 0.006-0.50 μg/mL respectively, and the correlation coefficients were above 0.996. The recoveries at different spiked levels for all target compounds in blank matrices were 60.1%-119.8%, and the relative standard deviation (RSD) were 1.5%-10.4% (*n*=6). The limits of detection and quantification of the method were 0.5-4.8 μg/kg and 1.7-16.0 μg/kg, respectively. **Conclusion** The method was suitable for rapid screening and analysis of 18 pyrethroids and 9 organochlorine pesticides in Chinese oolong tea with the advantage of accuracy, rapidity and high sensitivity.

Key words: Gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry; oolong tea; pyrethroids; organochlorine pesticides

收稿日期:2021-01-12

基金项目:广东省自然科学基金(2020A1515010655);广东省医学科研基金(A2017035,C2020010)

作者简介:朱盼 女 助理研究员 研究方向为食品安全
E-mail:529134125@qq.com

通信作者:吴永宁 男 研究员 研究方向为食品安全
E-mail:wuyongning@cfsa.net.cn

中国是茶叶的发源地,是世界上最大的茶叶生产、消费和出口国。为有效降低病虫害,保障茶叶产量及其质量,通常在茶叶种植、加工和储存过程主要施用拟除虫菊酯和有机氯类杀虫剂,该两类杀虫剂均属于内分泌干扰素^[1],对神经系统、生殖系统、免疫系统等产生毒害作用^[2],茶叶中杀虫剂残留一直备受关注。

茶叶样品含有大量色素、咖啡因、生物碱、多酚类等物质,给茶叶中杀虫剂检测提出了较大挑战^[3]。近年来用于茶叶中拟除虫菊酯和有机氯类杀虫剂残留的检测方法主要包括气相色谱法(gas chromatography, GC)^[4]、气相色谱-质谱联用法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[5-11]和气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)等^[12-15],其中由于GC-MS具有选择性强、灵敏度高等特点,应用最为广泛。已有研究报道所建立的GC-MS和GC-MS/MS方法绝大部分采用的是离子源(EI源),而对于拟除虫菊酯和有机氯类杀虫剂而言,其分子结构中都含有电负性较强的离子(如氯离子、溴离子或平面苯环结构),导致其在EI源条件下响应低、杂质干扰大、灵敏度和准确性均偏低,而负化学离子源(negative chemical ionization, NCI)对含有电负性基团的物质具有高选择性和高灵敏度^[16],对实际样品分析具有较大的优势。目前国内外对茶叶中拟除虫菊酯和有机氯类杀虫剂残留的GC-NCI-MS分析报道较少^[17-19]。

本试验采用丙酮-正己烷液液萃取、Carb-NH₂柱净化结合GC-NCI-MS仪,对广东省本地产乌龙茶中18种拟除虫菊酯和9种有机氯类杀虫剂残留进行快速分离分析,同时对影响提取效率的提取溶剂和净化条件进行优化。本试验为同时检测茶叶中多组分拟除虫菊酯和有机氯类杀虫剂残留提供了一种快速、准确、灵敏的分析方法,为保障我国茶叶进出口贸易安全提供技术支持,为大众饮茶健康保驾护航。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品

采集广东省乌龙茶主产区潮州市凤凰镇茶叶原产地生产的凤凰单丛茶共32份,避风避光冷冻干燥保存。

1.1.2 主要仪器与试剂

气相色谱-质谱联用仪(美国Agilent, 7890B-5977MSD),涡旋混合器(Kylin-Bell, Vortex-5), Milli-Q超纯水系统(美国Millipore),高速冷冻离心机(美国Sigma),水浴氮吹仪,电子天平(梅特勒), Carb-NH₂固相萃取柱(美国Agilent, 500 mg, 6 mL), Florisil固相萃取柱(美国Agilent, 2 mg, 12 mL)。

所有拟除虫菊酯和有机氯类杀虫剂标准品(表1)均购自德国Dr. Ehrenstorfer GmbH,纯度均大于96.0%;丙酮、正己烷、二氯甲烷、乙腈、甲苯均为色谱纯;氯化钠、无水硫酸钠均为分析纯;试验用水为

符合GB/T 6682—2008《分析实验室用水规格和试验方法》规定的一级水。

丙酮-二氯甲烷(1:1, V/V)淋洗液:分别量取50 mL丙酮和50 mL二氯甲烷混合均匀备用;乙腈-甲苯(3:1, V/V)淋洗液:分别量取25 mL甲苯和75 mL乙腈混合均匀备用。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液的配制

分别准确称取27种杀虫剂标准品约0.010 0 g(折合标准品的纯度),溶于乙酸乙酯后,用乙酸乙酯于10 mL容量瓶中定容,配置成浓度为1.000 mg/mL的单标储备液,-20℃保存备用。分别移取上述单标储备液,用正己烷定容,配制成18种终浓度为2.0 μg/mL的拟除虫菊酯类杀虫剂和9种终浓度为1.0 μg/mL的有机氯类杀虫剂的混合标准中间液,-20℃保存备用。考虑到各化合物的定量限(limit of quantitation, LOQ)水平差异较大,另单独配制10倍LOQ混合标准中间液用于加标回收试验,-20℃保存备用。

1.2.2 样品前处理

茶叶样本粉碎过筛,称取2.00 g茶叶粉末于50 mL离心管,加入10 mL沸水浸泡30 min,加入20 mL丙酮涡旋1 min,超声提取30 min,加入2 g NaCl和20 mL正己烷,涡旋液液萃取1 min,静置分层后取上层有机相,用20 mL正己烷重复萃取一次,合并上层有机相,35℃水浴氮吹至净干,待Carb-NH₂柱净化。

Carb-NH₂柱上加0.5 cm厚的无水硫酸钠,丙酮-二氯甲烷(1:1)作为淋洗液。5 mL淋洗液活化柱子,样品用1 mL淋洗液复溶上样并收集,12 mL淋洗液3 mL/次分4次淋洗柱子。35℃水浴氮吹至净干,以0.5 mL正己烷复溶,0.22 μm微孔滤膜过滤后,上机测定。空白基质匹配标准曲线外标法定量。

1.2.3 仪器条件

色谱:Agilent HP-5 ms UI毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);柱升温程序:60℃保持1 min,30℃/min升至130℃,5℃/min升至250℃,10℃/min升至280℃保持7 min,共计37.3 min;恒流模式,流速1.1 mL/min;进样口温度270℃;不分流进样,进样体积1 μL。

质谱:传输线温度150℃,离子源温度150℃,四极杆温度150℃,溶剂切除时间10 min;负化学源选择性离子检测模式。18种拟除虫菊酯和9种有机氯类杀虫剂名录及其质谱学参数详见表1,色谱图见图1。

表 1 18 种拟除虫菊酯和 9 种有机氯类杀虫剂质谱学参数、线性相关系数、检出限和定量限

Table 1 Mass spectrometric parameters, correlation coefficients (<i>r</i>), MDLs and LOQs of 18 pyrethroids and 9 organochlorine pesticides									
序号	农药名称	保留时间/min	GC-NCI-MS/SIM				标准曲线 <i>r</i>	MDLs /($\mu\text{g/kg}$)	LOQs /($\mu\text{g/kg}$)
			定量离子		定性离子				
1	α -六六六	13. 007	71	73	255	257	0. 999 5	0. 5	1. 7
2	β -六六六	14. 023	71	73	255	257	0. 999 2	0. 5	1. 7
3	γ -六六六	14. 200	71	73	255	257	0. 999 5	0. 5	1. 7
4	δ -六六六	15. 129	71	73	255	247	0. 998 5	0. 5	1. 7
5	七氟菊酯	15. 433	241	243	242	205	0. 998 1	0. 5	1. 7
6	四氟苯菊酯	16. 904	207	209	211	173	0. 998 3	0. 5	1. 7
7	三氯杀螨醇	18. 493	250	253	254	251	0. 999 8	0. 5	1. 7
8	丙烯菊酯	20. 060	167	168	134		0. 996 1	0. 6	2. 0
9	生物丙烯菊酯	20. 600	167	168	132		0. 997 1	0. 5	1. 7
10	炔丙菊酯	20. 607	167	168	132	134	0. 997 1	3. 5	11. 7
11	p, p'-DDE	21. 846	318	316	322	281	0. 999 7	2. 4	8. 0
12	o, p'-DDT	23. 351	248	71	73	283	0. 998 9	2. 0	6. 7
13	p, p'-DDD	23. 430	248	71	73	283	0. 998 8	1. 0	3. 2
14	p, p'-DDT	24. 651	71	73	248	283	0. 998 9	2. 0	6. 7
15	胺菊酯(I , II)	26. 427, 26. 710	331	165	167	332	0. 999 5	2. 4	8. 0
16	联苯菊酯	26. 710	386	241	205	387	0. 997 4	0. 5	1. 7
17	甲氧菊酯	26. 896	140	142	207	400	0. 997 2	0. 5	1. 7
18	高效氯氟氰菊酯(I , II)	28. 234, 28. 560	241	205	243	206	0. 997 3	0. 5	1. 7
19	氟丙菊酯	28. 924	333	334	167	305	0. 996 7	0. 9	3. 0
20	苯醚氰菊酯(I , II , III)	29. 154, 29. 254, 29. 314	167	168	306	169	0. 998 1	2. 5	8. 3
21	氯菊酯(I , II)	29. 635, 29. 824	207	209	333	354	0. 998 7	4. 8	16. 0
22	氟氯氰菊酯(I , II , III , IV)	30. 509, 30. 657, 30. 753, 30. 817	207	209	171	173	0. 998 7	1. 6	5. 3
23	氯氰菊酯(I , II , III , IV)	30. 952, 31. 118, 31. 221, 31. 292	207	209	171	173	0. 997 6	1. 2	4. 0
24	氟氰戊菊酯(I , II)	31. 317, 31. 638	243	244	245	148	0. 997 3	1. 5	5. 0
25	氰戊菊酯(I , II)	32. 498, 32. 892	211	213	212		0. 997 5	2. 9	9. 7
26	氟胺氰菊酯(I , II)	32. 902, 33. 043	294	296	258	502	0. 997 4	1. 2	4. 1
27	溴氰菊酯(I , II)	33. 562, 34. 004	79	81	297	299	0. 997 2	4. 3	14. 3

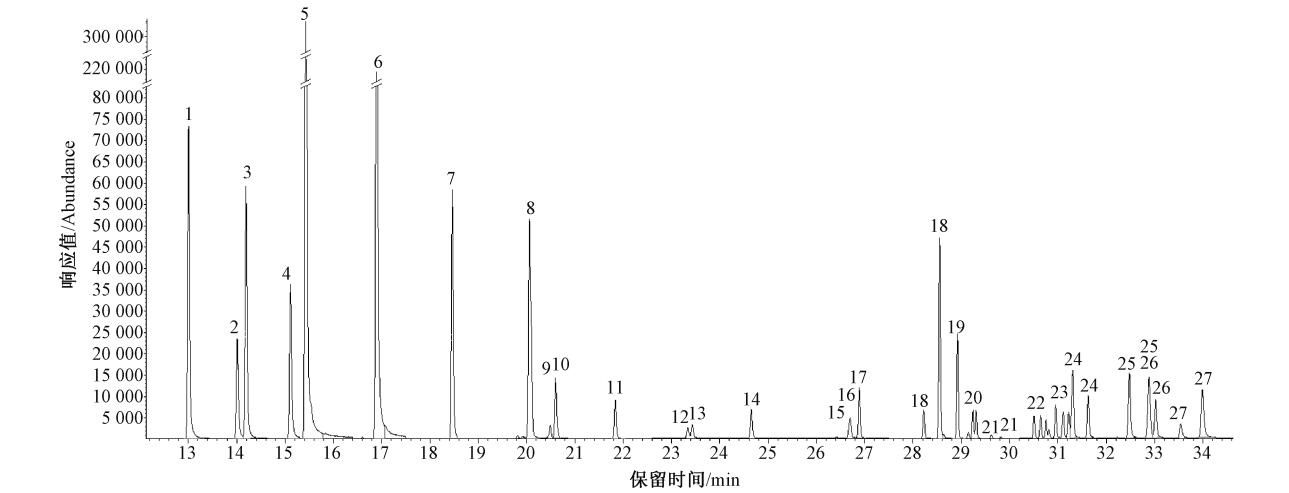


图 1 27 种杀虫剂纯标准溶液 GC-NCI-MS 色谱图(0.2 mg/L)

Figure 1 GC-NCI-MS chromatograms of the mixed standard of 27 pesticides (0.2 mg/L)

2 结果与分析

2.1 仪器方法的建立和优化

EI 源是硬电离源,是当前 GC-MS 分析中最常用的离子源,而 NCI 源是软电离源,在实际分析中应用相对较少。本试验比较了 GB 23200. 8—2016《食品安全国家标准 水果和蔬菜中 500 种农药及相

关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法》中 EI 源和本研究中 NCI 源条件下 27 种杀虫剂的响应及其灵敏度差异(图 2),可以看出绝大部分化合物在 NCI 源条件下表现出了较高的灵敏度和选择性,尤其在低浓度条件下体现得更为明显。

2.2 提取条件的优化

在茶叶检测过程中,是否需要用开水浸泡一

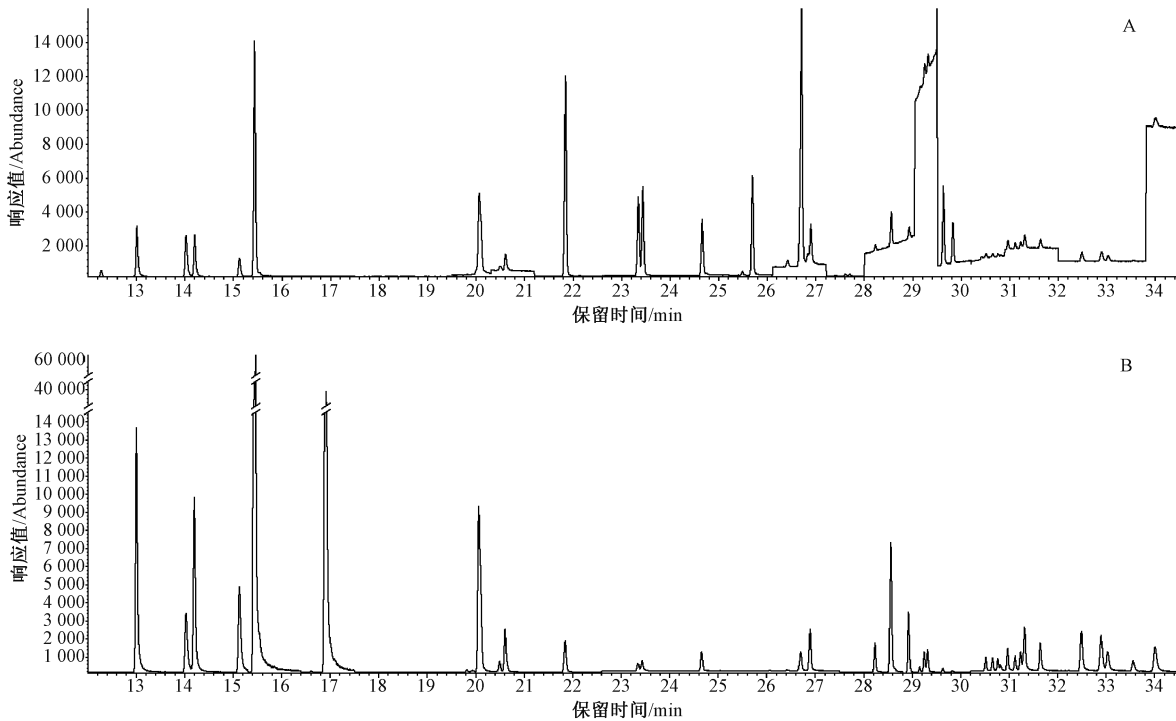


图 2 不同离子源模式条件下 27 种杀虫剂色谱图对比 (A. EI 源, 0.1 mg/L; B. NCI 源, 0.05 mg/L)

Figure 2 Comparison of chromatograms of the 27 mixed pesticides between EI and NCI modes

直备受争议。本试验采用空白茶叶样本添加混合标准混匀静置冷藏过夜后再进行前处理,比较加沸水浸泡 30 min 和不加沸水浸泡对目标化合物提取效率的影响。空白茶叶样本加标试验结果显示,采用丙酮-正己烷作为提取溶剂条件下,不加水 and 加水浸泡处理,除 δ -666 回收率略低 (仅 55.1%) 外,其余

26 种杀虫剂的回收率水平相当,并无明显差异 (图 3)。但考虑以下两个因素的影响:其一,采用开水浸泡可使焙烤的茶叶粉末充分溶胀展开,可在一定程度上提高样品提取效率;其二,当前人群摄入茶叶均采用开水浸泡的方式,因此本试验最终采用加沸水浸泡模式。

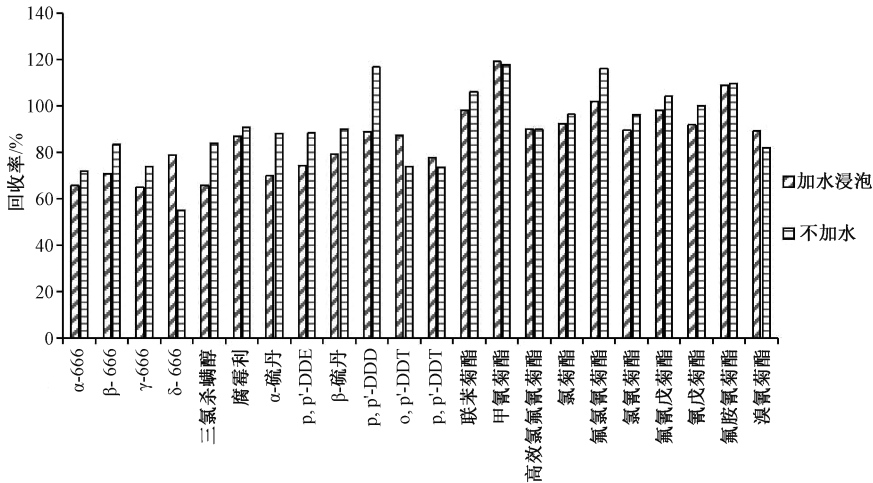


图 3 茶叶不加水 and 加水浸泡提取效率对比

Figure 3 Comparison of extraction efficiency between tea leaves without water and soaked in water

当前,关于多组分杀虫剂残留检测的食品安全国家标准 (GB 23200. 112—2018《食品安全国家标准 植物源性食品中 9 种氨基甲酸酯类农药及其代谢物残留量的测定 液相色谱-柱后衍生法》、GB 23200. 8—2016 和 GB/T 23204—2008《茶叶中 519 种农药及相关化学品残留量的测定

气相色谱-质谱法》等) 中的方法和文献报道的方法采用的提取溶剂均为乙腈^[5-8,9-14]。在参考大量文献的基础上,本试验重点比较了单一提取溶剂 (乙腈) 和混合提取溶剂 (丙酮-正己烷)^[15,17] 对目标化合物的提取效率差异。结果显示:其一,乙腈提取液对个别目标化合物存在较大的基

质增强效应(图4),该影响可通过空白基质匹配曲线来校正;其二,乙腈溶剂相较于丙酮-正己烷溶剂更难氮吹干,提取效率偏低;其三,根据相似相容原理,该两类农药更易溶于丙酮-正己烷溶液,且

丙酮-正己烷液液萃取可有效去除水溶性色素的干扰。综合考虑以上因素,在回收率均能达到试验要求的基础上,本试验优先选择丙酮-正己烷作为最终提取溶剂。

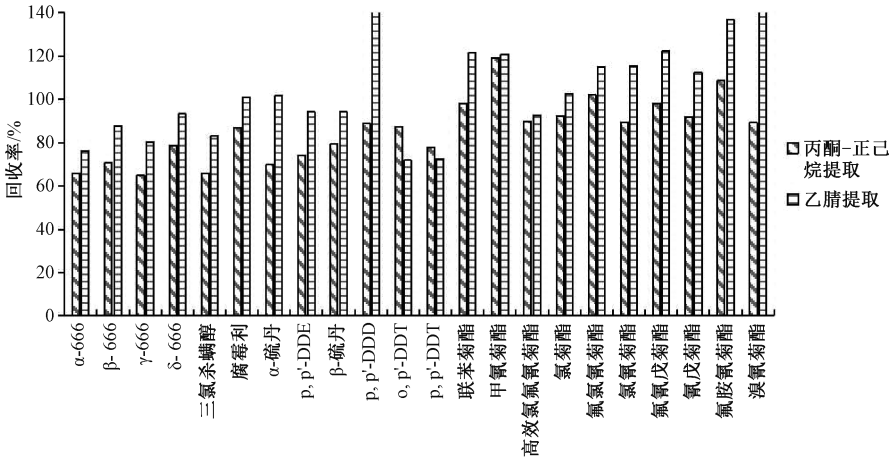


图4 不同提取溶剂对目标化合物提取效率对比
Figure 4 Recoveries of different solvents on the extraction of target pesticides

2.3 净化条件的优化

由于茶叶基质较为复杂,共萃取组分较多,已有文献多采用 Carb-NH₂ 柱^[10,15] 和 Florisil 柱^[8,17] 净化。本试验重点比较了 Florisil 柱和 Carb-NH₂ 柱对目标化合物的净化效率。空白茶叶加标样品经丙酮-正己烷溶液提取后,分别采用 Florisil 柱和 Carb-NH₂ 柱净化,淋洗液分别为丙酮-正己烷溶液(1:9, V/V)^[17] 和丙酮-二氯甲烷溶液(1:1, V/V)^[19]。结果显示,各目标化合物回收率均介于 60%~110% (图5),均可满足茶叶中 27 种杀虫剂同时测定的

需求。

对于 Carb-NH₂ 柱而言,甲苯-乙腈(1:3)是应用最为广泛的淋洗液。由于甲苯的毒性较大,甲苯-乙腈淋洗液很难氮吹干,因此本试验重点比较了乙腈-甲苯(3:1)和丙酮-二氯甲烷(1:1)作为淋洗液的净化效率差异。结果显示,采用丙酮-二氯甲烷(1:1)作为淋洗液时,各化合物的回收率均在 65% 以上,而采用乙腈-甲苯(3:1)作淋洗液各化合物的回收率普遍偏低(图5),可能是洗脱不彻底所致。

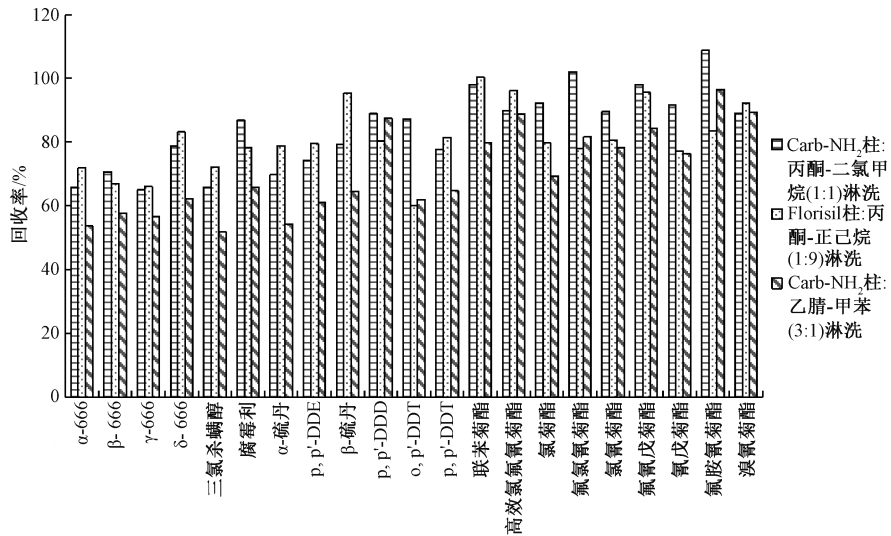


图5 不同色谱柱和淋洗液对部分目标化合物洗脱效果的对比
Figure 5 Recoveries of different SPE elutes and different elution solutions

2.4 加标回收率和精密度

按照本试验优化的前处理方法和仪器条件,分别考察了茶叶空白基质在 LOQs、25 μg/kg、

50 μg/kg、100 μg/kg 的加标浓度下 18 种拟除虫菊酯类农药和 LOQs、12.5 μg/kg、25 μg/kg 和 50 μg/kg 的加标浓度下 9 种有机氯类杀虫剂的回

收率,每个加标浓度平行测试 6 次,外标法基质匹配标准曲线定量。结果表明,18 种拟除虫菊酯类杀虫剂的平均回收率范围为 60.1%~119.3%,相对标准偏差(relative standard deviation,RSD)介于 1.5%~

10.4%之间;9 种有机氯类杀虫剂的平均回收率范围为 61.5%~111.1%,相对标准偏差(RSD)介于 1.6%~10.1%之间(表 2),其精密度和准确度均符合检测方法确认的技术要求。

表 2 4 种不同加标浓度中 27 种杀虫剂的回收率和 RSD($n=6$)
Table 2 Recoveries and RSD of 27 pesticides in 4 spiked concentrations ($n=6$)

序号	农药名称	LOQs			低水平加标			中水平加标			高水平加标		
		浓度	回收	RSD	浓度	回收	RSD	浓度	回收	RSD	浓度	回收	RSD
		/($\mu\text{g/kg}$)	率/%	/%	/($\mu\text{g/kg}$)	率/%	/%	/($\mu\text{g/kg}$)	率/%	/%	/($\mu\text{g/kg}$)	率/%	/%
1	α -666	1.7	66.3	9.4	12.5	72.8	2.5	25	65.7	9.9	50	62.7	4.1
2	β -666	1.7	62.6	5.3	12.5	61.5	4.1	25	70.7	10.7	50	68.1	4.2
3	γ -666	1.7	65.5	9.2	12.5	72.8	3.3	25	64.9	9.3	50	62.2	3.6
4	δ -666	1.7	68.2	7.5	12.5	68.0	7.8	25	80.7	8.5	50	75.7	4.5
5	七氟菊酯	1.7	60.3	2.1	25	65.6	2.8	50	64.2	3.7	100	66.7	6.1
6	四氟苯菊酯	1.7	61.4	7.2	25	66.4	6.1	50	61.1	6.7	100	63.3	5.7
7	三氯杀螨醇	1.7	71.7	5.5	12.5	80.3	9.6	25	70.8	10.1	50	70.1	2.3
8	丙烯菊酯	2.0	60.1	8.6	25	61.4	8.2	50	66.5	9.1	100	71.3	7.5
9	生物丙烯菊酯	1.7	71.2	2.5	25	68.1	8.4	50	67.6	6.7	100	72.0	8.1
10	炔丙菊酯	11.7	72.3	4.9	25	68.1	7.5	50	67.6	5.8	100	72.3	8.6
11	p, p'-DDE	8.0	95.1	4.6	12.5	109.8	6.1	25	94.6	9.2	50	111.1	4.9
12	o, p'-DDT	6.7	105.5	6.9	12.5	95.8	5.2	25	92.8	1.6	50	106.7	2.8
13	p, p'-DDD	3.2	72.9	8.0	12.5	77.1	7.8	25	83.2	7.2	50	102.0	1.6
14	p, p'-DDT	6.7	77.7	7.2	12.5	76.4	4.8	25	77.8	6.8	50	100.0	2.7
15	胺菊酯(Ⅰ,Ⅱ)	8.0	82.9	6.2	25	94.5	6.7	50	84.7	9.5	100	78.0	8.4
16	联苯菊酯	1.7	87.7	3.1	25	112.1	6.4	50	102.5	9.2	100	113.5	5.2
17	甲氧菊酯	1.7	107.1	1.8	25	119.3	2.2	50	95.4	2.5	100	105.9	2.9
18	高效氯氟氰菊酯(Ⅰ,Ⅱ)	1.7	93.6	8.3	25	90.1	4.3	50	80.7	3.2	100	99.1	5.9
19	氟丙菊酯	3.0	66.8	8.3	25	68.0	8.2	50	66.4	7.9	100	65.8	8.4
20	苯醚氰菊酯(Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ)	8.3	80.5	7.1	25	79.6	8.7	50	63.8	5.2	100	89.7	6.1
21	氯菊酯(Ⅰ,Ⅱ)	16.0	90.4	6.3	25	96.4	7.1	50	90.7	10.4	100	108.2	3.2
22	氟氯氰菊酯(Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ,Ⅳ)	5.3	83.5	6.6	25	89.1	7.3	50	102.0	2.6	100	92.8	1.7
23	氯氰菊酯(Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ,Ⅳ)	4.0	83.2	6.7	25	85.2	4.9	50	89.5	7.8	100	91.7	4.5
24	氟氰戊菊酯(Ⅰ,Ⅱ)	5.0	90.3	8.9	25	84.3	6.8	50	97.9	9.9	100	88.0	3.7
25	氰戊菊酯(Ⅰ,Ⅱ)	9.7	81.3	2.8	25	82.8	4.4	50	91.8	9.4	100	87.3	5.0
26	氟胺氰菊酯(Ⅰ,Ⅱ)	4.1	101.0	4.3	25	87.9	4.2	50	108.7	6.9	100	85.8	2.8
27	溴氰菊酯(Ⅰ,Ⅱ)	14.3	86.1	3.4	25	81.5	3.8	50	89.2	5.9	100	82.9	1.5

2.5 线性范围和方法检出限、定量限

最新研究结果显示,采用 GC-NCI-MS 分析方法,拟除虫菊酯类杀虫剂在蔬菜水果中的基质效应在 20%~35%^[20],而茶叶基质更为复杂,非极性共萃取组分较多。同时参考食品安全国家标准(GB 23200.112—2018、GB 23200.8—2016 等)及相关文献报道^[15,17-20],为避免基质效应引起的定量结果不准确,本试验最终选择空白基质匹配标准曲线来实现准确定量。选用国家市场监督管理总局组织的 2020 年国家级能力验证提供的空白对照茶叶样品作为本研究的空白基质样本。该样本采用 GB 23200.113—2018《食品安全国家标准 植物源性食品中 208 种农药及其代谢物残留量的测定 气相色谱-质谱联用法》中 QuEChERS 前处理方法进行处理后经 GC-NCI-MS 测定,确定该样本中没有 27 种目标化合物残留。称取该空白样品若干份,经过提取和净化等前处理步骤得到上清液合并过膜,作为配制曲线

的空白基质溶液。针对 18 种拟除虫菊酯和 9 种有机氯类杀虫剂,分别在 0.006 25~1.00 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.006 25~0.50 $\mu\text{g/mL}$ 范围内配制基质匹配标准曲线上机测定,各目标化合物线性关系良好,相关系数(r)均大于 0.996(表 1)。

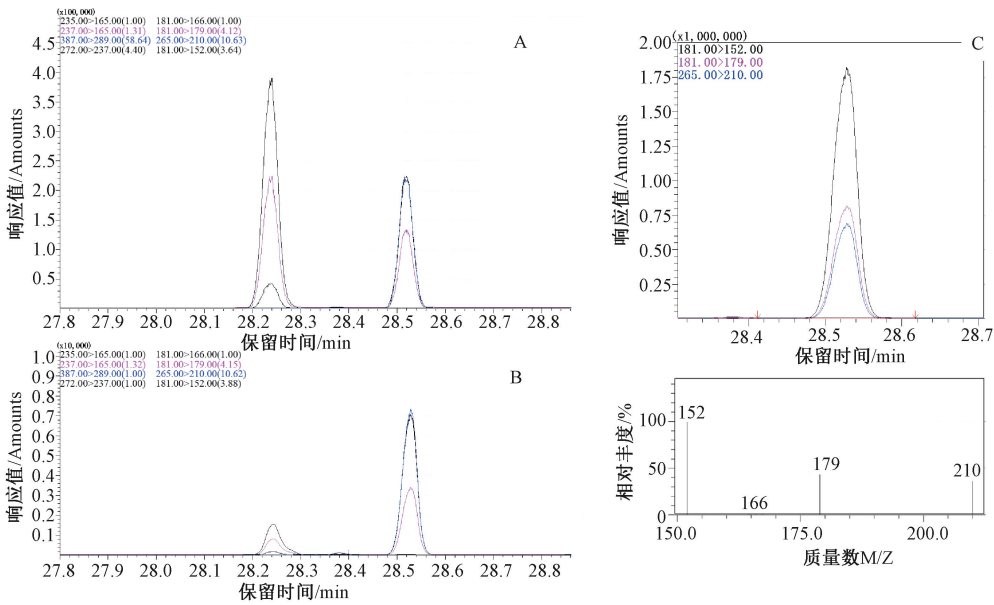
本试验采用样品加标方式测定并计算方法检出限(method detection limit,MDL),即加标样品经过前处理后上机测定,检测信号为 3 倍基线噪声时的添加浓度为该方法检出限,检测信号为 10 倍基线噪声时的添加浓度为方法的定量限(LOQ)。经计算,该方法检出限和定量限分别为 0.5~4.8 $\mu\text{g/kg}$ 和 1.7~16.0 $\mu\text{g/kg}$ (表 1),均低于当前多项食品安全国家标准(GB 23200.112—2018、GB 23200.8—2016、GB/T 23204—2008 和 GB/T 23376—2009《茶叶中农药多残留测定 气相色谱/质谱法》等)中的检出限或定量限;经比对,该方法的灵敏度高于文献报道的 GC-EI-MS 方法^[5,8-10],甚至可以达到

GC-MS/MS 的水平^[12-13,15]。

2.6 样品检测结果

应用本方法对 32 份乌龙茶进行检测,结果显示:检出的主要品种为甲氰菊酯(含量 ND~8.36 mg/kg,中位数 0.01 mg/kg)、联苯菊酯(含量 ND~4.08 mg/kg,中位数 0.4 mg/kg)、氯氰菊酯(含量 ND~2.34 mg/kg,中位数 0.01 mg/kg)、高效氯氟氰菊酯(含量 ND~

0.66 mg/kg,中位数 0.007 mg/kg)和三氯杀螨醇(含量 ND~0.05 mg/kg,中位数 0.004 mg/kg),其中只有一份样品中甲氰菊酯含量超标(含量为 8.36 mg/kg,超标率 3.1%)(图 6)。由此可以看出,该茶园主要施用的杀虫剂品种为联苯菊酯,个别品种茶树施用了甲氰菊酯或氯氰菊酯,而其他检出的杀虫剂可能是存在少量施用或者环境污染土壤蓄积所致。



(A. 纯标准色谱图; B. 阳性超标样本色谱图; C. 阳性超标样本定性色谱质谱图)

图 6 阳性超标样本 GC-MS/MS 确证

Figure 6 GC-MS/MS confirmation chromatograms of the positive sample

3 小结

本试验通过对乌龙茶样品提取条件、净化方法和 GC-NCI-MS 条件的优化,建立了可以同时检测茶叶样品中 18 种拟除虫菊酯和 9 种有机氯类杀虫剂的方法。该方法一方面利用液液萃取和固相萃取相结合的前处理方法,既有效去除了水溶性色素的干扰,又大大提高了提取效率,同时还保证了良好的提取效果;另一方面选择负化学源选择性离子监测模式,有效提高了方法的灵敏度和选择性,具有快速、简便、灵敏、准确等特点,为茶叶饮用安全性评价和茶叶中多组分杀虫剂的快速准确定量分析提供技术支持。

参考文献

[1] ZORTÉA T, BARETTA D, MACCARI A P, et al. Influence of cypermethrin on avoidance behavior, survival and reproduction of Folsomia candida in soil[J]. Chemosphere, 2015, 122: 94-98.
[2] BABINA K, DOLLARD M, PILOTTO L, et al. Environmental exposure to organophosphorus and pyrethroid pesticides in South Australian preschool children: A cross sectional study [J]. Environment International, 2012, 48: 109-120.

[3] HOU X, LEI S R, QIU S T, et al. A multi-residue method for the determination of pesticides in tea using multi-walled carbon nanotubes as a dispersive solid phase extraction absorbent[J]. Food Chemistry, 2014, 153: 121-129.
[4] 李晓颖, 张红医, 常巧英, 等. 气相色谱-四极杆飞行时间质谱准确鉴定常见水果蔬菜中的农药残留[J]. 色谱, 2014, 32(3): 268-277.
[5] SHOERBI S, AMIRAHMADI M, RASTEGAR H, et al. An applicable strategy for improvement recovery in simultaneous analysis of 20 pesticides residue in tea [J]. Journal of Food Science, 2013, 78(5): T792-T796.
[6] PANG G F, FAN C L, ZHANG F, et al. High-throughput GC/MS and HPLC/MS/MS techniques for the multiclass, multiresidue determination of 653 pesticides and chemical pollutants in tea[J]. Journal of AOAC International, 2011, 94(4): 1253-1296.
[7] XU X M, YU C, HAN J L, et al. Multi-residue analysis of pesticides in tea by online SEC-GC/MS [J]. Journal of Separation Science, 2011, 34(2): 210-216.
[8] 刘慧, 徐怡, 游燕, 等. 气相色谱-质谱联用法测定茶叶中 17 种农药残留[J]. 广州化工, 2017, 45(18): 87-89.
[9] 刘相真, 叶美君, 陆小磊. GC-MS 和 LC-MSMS 法快速测定茶叶中 35 种农药残留[J]. 中国茶叶加工, 2019(3): 48-58.
[10] 张秀丰, 翟硕莉, 杨亚君, 等. 改良的 QuEChERS-气相色谱-质谱联用法测定茶叶中多种农药残留[J]. 分析试验室, 2018, 37(5): 524-528.

[11] 郭红勤, 詹磊. 固相萃取-气相色谱质谱法测定茶叶中 11 种农药残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(5): 1346-1350.

[12] ZHU B Q, XU X Y, LUO J W, et al. Simultaneous determination of 131 pesticides in tea by on-line GPC-GC-MS/MS using graphitized multi-walled carbon nanotubes as dispersive solid phase extraction sorbent[J]. Food Chemistry, 2019, 276: 202-208.

[13] BENETA A, MUTAVDŽIC PAVLOVIC D, PERIŠA I, et al. Multiresidue GC-MS/MS pesticide analysis for evaluation of tea and herbal infusion safety [J]. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2018, 98(11): 987-1004.

[14] CHEN Y, LOPEZ S, HAYWARD D G, et al. Determination of multiresidue pesticides in botanical dietary supplements using gas chromatography-triple-quadrupole mass spectrometry (GC-MS/MS) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(31): 6125-6132.

[15] 潘煜晨, 伊雄海, 邓晓军, 等. 亚临界水萃取及气相色谱-串联质谱法检测红茶中多种农药残留 [J]. 色谱, 2012, 30(11): 1159-1165.

[16] 林竹光, 陈美瑜, 张莉莉, 等. 气相色谱-负离子化学源质谱法分析牛奶饮品和奶粉中 19 种有机磷农药残留 [J]. 分析测试学报, 2007, 26(3): 331-334.

[17] ZHU P, MIAO H, DU J, et al. Organochlorine pesticides and pyrethroids in Chinese tea by screening and confirmatory detection using GC-NCI-MS and GC-MS/MS [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(29): 7092-7100.

[18] 胡贝贞, 沈国军, 邵铁锋, 等. 加速溶剂萃取-气相色谱-负化学源质谱法测定茶叶中有机氯和拟除虫菊酯类农药残留量 [J]. 分析试验室, 2009, 28(1): 80-83.

[19] 刘丽, 张琦, 王海雁, 等. 串联双柱固相萃取-气相色谱-串联质谱法检测茶叶中拟除虫菊酯 [J]. 色谱, 2017, 35(8): 860-866.

[20] 李燕妹, 连增维. QuEChERS 结合气相色谱-负化学源质谱法测定蔬菜水果中 37 种农药残留 [J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(15): 5074-5079.

研究报告

4 起副溶血性弧菌食源性疾病暴发事件分离株病原学特征和溯源分析

吴莹¹, 王银平¹, 李心朋², 刘军¹

(1. 淄博市疾病预防控制中心, 山东 淄博 255026; 2. 山东省疾病预防控制中心, 山东 济南 250014)

摘要:目的 分析 2019 年淄博市 4 起副溶血性弧菌食源性疾病暴发事件分离株的病原学特征。方法 采用血清学分型、毒力基因检测(*tlh*、*tdh*、*trh*)、微量肉汤稀释法药敏试验和脉冲场凝胶电泳(PFGE)对 11 株分离株进行分析。结果 9 株患者分离株血清型鉴定为 O3:K6 型,毒力基因均为 *tlh*⁺*tdh*⁺*trh*⁻; 2 株环境分离株血清型分别为 O8:K22 和 O1:K32 型,毒力基因均为 *tlh*⁺*tdh*⁻*trh*⁻。11 株分离株全部对头孢唑林耐药,部分菌株对氨苄西林和甲氧苄啶/磺胺甲噁唑耐药。其中,2 株对 3 种抗生素均耐药,对其他抗生素均敏感。经 PFGE 聚类分析,同一暴发事件中患者分离株高度相关。结论 4 起暴发事件的患者分离株均为流行株 O3:K6 型,均携带 *tdh* 基因,部分菌株出现多重耐药情况,同一暴发事件的分离株之间同源性高,提示可能为同源暴发,应加强对副溶血性弧菌污染源头的监管力度,减少食源性疾病的发生。

关键词:副溶血性弧菌; 血清型; 毒力基因; 药物敏感性; 脉冲场凝胶电泳

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004- 8456(2021)04- 0422- 04

DOI:10. 13590/j. cjfh. 2021. 04. 003

Virulence gene detection and traceability analysis of 4 *Vibrio parahaemolyticus* food poisoning incidents

WU Ying¹, WANG Yinping¹, LI Xinpeng², LIU Jun¹

(1. Zibo Center for Disease Prevention and Control, Shandong Zibo 255026, China;
2. Shandong Center for Disease Prevention and Control, Shandong Ji'nan 250014, China)

Abstract: Objective To analyze the etiological characteristics of strains isolated from *Vibrio parahaemolyticus* food poisoning incidents occurred in Zibo in 2019. **Methods** Serotyping and virulent genes (*tlh*, *tdh*, *trh*) were detected by