

## 实验技术与方法

固相萃取结合气相色谱法测定茶叶中三氯杀螨醇  
和拟除虫菊酯类农药残留

李晓晶,于鸿,贺小平,黄聪,甘平胜  
(广州市疾病预防控制中心,广东 广州 510440)

**摘要:**目的 建立茶叶中三氯杀螨醇和7种拟除虫菊酯类农药的检测方法。方法 以丙酮作为提取溶剂,提取液经石墨碳黑/氨基(Carbon/NH<sub>2</sub>)固相萃取小柱净化后,用DB-5毛细管柱分离,采用气相色谱-电子捕获检测器(GC-ECD)进行测定。结果 三氯杀螨醇和拟除虫菊酯类农药在20~800 μg/L范围内线性良好,相关系数(*r*)均在0.998以上,最低检出限为0.23~1.38 μg/kg,样品的加标回收率在88.5%~106.4%之间,相对标准偏差(*RSD*)在2.5%~10.7%之间。结论 本方法净化效果好、灵敏度高、重现性好,可用于茶叶样品中三氯杀螨醇和拟除虫菊酯类农药残留量的检测。

**关键词:**茶叶;三氯杀螨醇;拟除虫菊酯;气相色谱法-电子捕获检测器;农药残留

**中图分类号:**TS207.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2011)04-0326-04

## Determination of dicofol and pyrethroid pesticide residues in tea by GC-SPE

Li Xiaojing, Yu Hong, He Xiaoping, Huang Cong, Gan Pingsheng  
(Guangzhou Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou 510440, China)

**Abstract: Objective** To establish a method of determining dicofol and seven pyrethroid pesticide residues in tea. **Methods** Pesticide residues were extracted from tea samples by using acetone. Extracts were cleaned up by Carbon/NH<sub>2</sub> SPE column. Pesticides were separated by DB-5 capillary column and determined by gas chromatography equipped with electron capture detector (GC-ECD). **Results** The linear range of pesticides was from 20 to 800 μg/L with a good correlation coefficient (*r* > 0.998). The minimum detection limit was 0.23-1.38 μg/kg. The recovery was in the range of 88.5%-106.4% with a *RSD* in the range of 2.5%-10.7%. **Conclusion** The purification effect of this method was good, and the detection was high in sensitivity and good at repeatability. The method could be applied to determine dicofol and pyrethroid pesticide residues in routine analysis of tea.

**Key words:** Tea; dicofol; pyrethroid pesticides; GC-ECD; pesticide residues

三氯杀螨醇是一种有机氯类杀螨剂,我国已经严格限制使用。作为有机氯农药的替代品之一,拟除虫菊酯类农药在农业生产中得到了广泛应用。这类农药施用量较小、易生物降解、残留期较短,对病菌、害虫、杂草等具有很强的杀伤作用。但该类农药也有一定的蓄积性,部分对人有致畸、致突变作用<sup>[1,2]</sup>。茶叶作为一种饮品,其质量安全受到关注。我国是茶叶生产大国,产品远销日本、欧盟等国,这些国家对茶叶中农药残留都有严格规定<sup>[3]</sup>。因此,加强茶叶中农药残留检测方法的研究,对于保障人们饮食健康,促进我国茶叶出口贸易具有重要意义。

目前,由于茶叶样品基质复杂,含有大量的色素和油脂等,严重干扰提取液中农药残留的检测,因此前处理技术对茶叶中农药残留提取和分离富集等检测开发和研究具有非常重要的意义。茶叶中农药的前处理有

固相萃取(SPE)<sup>[4]</sup>、微波辅助萃取(MAE)<sup>[5]</sup>、固相微萃取(SPME)<sup>[6]</sup>、凝胶渗透色谱法(GPC)<sup>[7]</sup>、基质固相萃取(MSPD)<sup>[8]</sup>等。其中SPE技术能很好地减少茶叶基质干扰,大大提高样品的处理量。

本文采用全自动固相萃取技术,茶叶样品经丙酮提取后,浓缩近干再用丙酮-二氯甲烷(1:1, V/V)混合溶剂溶解,过石墨碳黑/氨基(Carbon/NH<sub>2</sub>)固相萃取柱净化后,采用气相色谱-电子捕获检测器(GC/ECD)对茶叶中三氯杀螨醇和7种拟除虫菊酯类农药同时分析测定。该方法灵敏度高、重现性好、样品前处理净化效果好,可满足农药残留检测和目前国外检测限量(MRL)的需要,提高了茶叶中多种农药残留检测能力。

## 1 材料与amp;方法

## 1.1 仪器与试剂

Agilent 7890型气相色谱仪,配Ni-ECD检测器(美国,Agilent公司);Gilson ASPECXL全自动固相

收稿日期:2010-10-02

作者简介:李晓晶 女 技师 硕士生 研究方向为理化检验

E-mail: saiant@163.com

萃取仪(美国,吉尔森);Organomation N-EVAP 氮吹仪(美国);AS7240BDT 超声波清洗器;色谱柱为DB-5 石英毛细管柱(30.0 m×0.32 mm×0.25 μm)。

正己烷、丙酮、二氯甲烷均为分析纯,均须重蒸;无水硫酸钠(分析纯,使用前 650 °C 灼烧 4 h 后转到 130 °C 烘箱保持 3 h);石墨碳黑/氨基(Carbon/NH<sub>2</sub>)固相萃取柱(6 ml,1 g),美国 Agilent 公司。

### 1.2 标准品

三氯杀螨醇(dicofol)、联苯菊酯(bifenthrin)、甲氰菊酯(fenpropathrin)、氯菊酯(permethrin)、氯氰菊酯(cypermethrin)、氟氯氰菊酯(iambda-cyhalothrin)、氰戊菊酯(fenvalerate)、氟氯氰菊酯(beta-cyfluthrin),均购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司,纯度均≥99.8%。

### 1.3 标准溶液的配制

分别将各标准品用正己烷配制成氯菊酯为 20.0 mg/L,其它均成 10.0 mg/L 储备液,再分别吸取各储备液 2 ml 于 10 ml 容量瓶中,用正己烷定容至刻度,配成氯菊酯为 4 mg/L,其它均为 2 mg/L 的农药混合标准工作储备液。

### 1.4 样品提取

将茶叶样品粉碎,过 20 目筛。准确称取 5.0 g 茶叶样品于 100 ml 锥形瓶中,加入 30 ml 丙酮溶液,超声提取 30 min,过滤,残渣用 20 ml 丙酮液分 2 次洗涤,每次 10 ml,合并提取液,过无水硫酸钠于 50 ml 比色管中,于 40 °C 下氮气浓缩近干。用 6 ml

丙酮-二氯甲烷(1:1,V/V)溶液分 3 次洗涤浓缩瓶,待过柱净化。

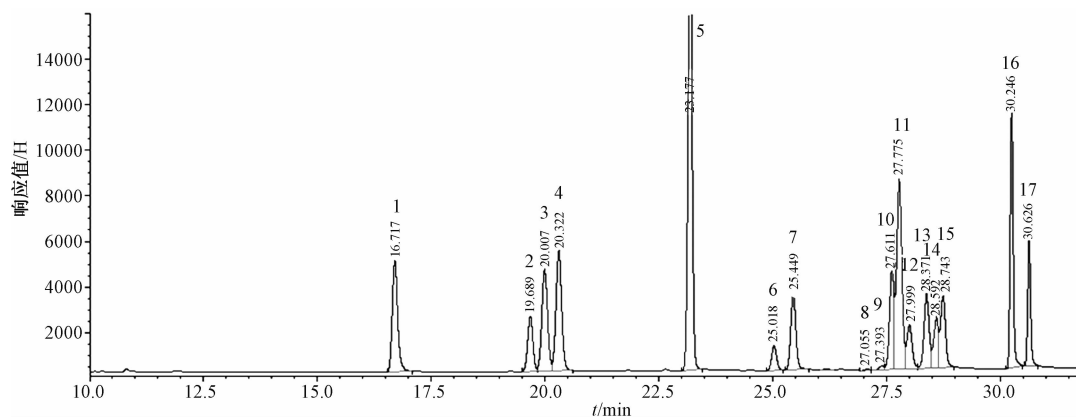
### 1.5 提取液的净化

采用全自动固相萃取仪运行设定的程序对浓缩液进行净化处理。Carbon/NH<sub>2</sub> 固相萃取柱先用 5 ml 丙酮-二氯甲烷(1:1,V/V)预淋洗,然后将浓缩液分 3 次每次 2 ml 转移至柱头,再用 10 ml 丙酮-二氯甲烷(1:1,V/V)洗脱。收集洗脱液,在 40 °C 的水浴下氮气浓缩近干,用正己烷定容至 1.0 ml,供色谱分析用。

### 1.6 色谱分析条件

色谱柱:DB-5 (30.0 m×0.32 mm×0.25 μm);载气:高纯氮气,流速 2.0 ml/min,恒流;吹扫流速 3.0 ml/min;尾吹气(高纯氮气)流速 30 ml/min;进样口温度 250 °C;检测器温度 300 °C;柱温程序:初始柱温 100 °C,保持 1 min 后以 40 °C/min 速率升温至 200 °C,保持 6 min 后以 2 °C/min 速率升温至 222 °C,再以 10 °C/min 速率升温至 237 °C,再以 2 °C/min 速率升温至 250 °C,再以 15 °C/min 速率升温至 280 °C,保持 2 min;进样量 1.0 μl;分流比 2:1。

根据农药标准的保留时间定性,采用峰面积外标法定量。其中三氯杀螨醇、氯氰菊酯、氰戊菊酯、氟氯氰菊酯、氯菊酯的峰面积以各异构体的峰面积之和计算。在该色谱条件下三氯杀螨醇和 7 种拟除虫菊酯类农药的分离效果见图 1。



1,2:三氯杀螨醇(进样口分解);3:联苯菊酯;4:甲氰菊酯;5:氯氟氰菊酯;6,7:氯菊酯;  
8,9,10,11:氟氯氰菊酯;12,13,14,15:氯氟氰菊酯;16,17:氰戊菊酯

图1 农药标准色谱图

Figure 1 The standard chromatogram of pesticides

## 2 结果与分析

### 2.1 提取溶剂的选择

分别采用了乙腈-水(80:20,V/V)、丙酮、乙腈和正己烷对样品进行提取,其中乙腈-水(80:20,V/V)提取出的水溶性杂质较多很难净化,其余3种溶剂中丙酮的提取效率最高,且杂质少。因此,本实验选用丙酮作提取剂。

### 2.2 固相萃取柱的选择

茶叶中对农药残留检测有干扰的物质主要有叶绿素等色素类物质,以及黄酮类、生物碱及酸性化合物等成分。本实验分别比较了弗罗里硅土(Florisil)、石墨碳黑(Carbon)和石墨碳黑/氨基柱(Carbon/NH<sub>2</sub>)等固相萃取柱对目标物的净化效果,其中弗罗里硅土柱进行固相萃取,大量色素无法除去,不仅

干扰大,且色谱柱污染严重。由于茶叶基质复杂且含有大量色素,单一填料的石墨碳黑净化效果也不理想,难以完全除去干扰化合物。实验发现使用复合型的石墨碳黑/氨基小柱可有效去除色素,净化后的净化液无色透明,进样色谱分析时干扰物质少,得到最佳净化效果。其中石墨碳黑柱可去除茶叶中多种色素(叶绿素、叶黄素),氨基柱可有效去除酸性干扰物(如脂肪酸、有机酸和某些多酚类色素)。因此,最终实验采用石墨碳黑/氨基柱(Carbon/NH<sub>2</sub>)作为净化固相萃取小柱对茶叶中农药进行提取净化。

### 2.3 固相萃取柱洗脱溶剂的选择

为了选择合适的洗脱剂,得到较好的回收率且减少干扰。本实验分别考察了乙腈-甲苯(3:1,

V/V)、正己烷-乙酸乙酯(1:1,V/V)、丙酮-二氯甲烷(1:1,V/V)洗脱效果,结果发现,乙腈-甲苯(3:1,V/V)和丙酮-二氯甲烷(1:1,V/V)洗脱效果较好,均具有较好的回收率,但考虑到了甲苯的毒性,最终选择丙酮-二氯甲烷(1:1,V/V)为洗脱溶剂。

### 2.4 标准曲线及线性范围

将标准储备液(氯菊酯为 400 μg/L,其它均为 200 μg/L)配制成氯菊酯为 40、80、160、320 和 800 μg/L 和其余均为 20、40、80、160 和 400 μg/L 的标准工作液,在 1.6 色谱条件下进行测定,以浓度(x)对色谱峰面积(y)作标准曲线,得三氯杀螨醇和拟除虫菊酯类农药的线性方程及相关系数,并以三倍信噪比计算方法检出限,结果见表 1。

表 1 线性及检出限

Table 1 The linearity and detection limits of pesticides

农药	线性范围(μg/L)	回归方程	相关系数(r)	检出限(μg/kg)
三氯杀螨醇	22.3 ~ 446.0	y = 132382x - 580	0.99935	0.53
联苯菊酯	20.4 ~ 408.0	y = 96030x - 138	0.99992	0.79
甲氰菊酯	21.2 ~ 424.0	y = 109271x - 543	0.99973	0.75
氯氟氰菊酯	20.5 ~ 410.0	y = 290674x - 2824	0.99973	0.23
氯菊酯	41.8 ~ 836.0	y = 40517x + 484	0.99972	1.38
氟氯氰菊酯	20.3 ~ 406.0	y = 246184x - 3290	0.99899	0.37
氯氰菊酯	20.6 ~ 412.0	y = 197549x - 2383	0.99890	0.43
氰戊菊酯	20.2 ~ 404.0	y = 194436x - 1610	0.99949	0.25

### 2.5 回收率及精密度

准确称取 5.0 g 空白茶叶样品若干份,分别加入 20、50、150 μl 混合农药标准储备液(氯菊酯为 4 mg/L,其它均为 2 mg/L),按选定的方法提取、净化和检测,每个水平重复实验 6 次,计算添加水平的回收率为 88.5% ~ 106.4%,相对标准偏差(RSD)分别为 2.5% ~ 10.7%。见表 2。

### 2.6 样品分析

按照前述提取和固相萃取分离富集方法对广州市售的云南红茶、云南普洱茶、英德绿茶、潮州单丛茶、福建黄金桂茶、杭州龙井茶、铁观音进行测定,根据峰面积外标法定量,计算样品中农药残留量,结果见表 3。其中云南普洱茶样品色谱分离图见图 2(其他茶叶样品的色谱分离图省略)。从表 3 可以看出,所检测的茶叶样品中氯菊酯和氟氯氰菊酯均未检出,其它农药均有检出,且龙井茶中检出的氰戊菊酯超过了欧盟规定的茶叶中最大农药残留限量。

## 3 结论

本实验样品前处理方法采用石墨碳黑/氨基固相萃取小柱净化茶叶样品,该方法净化效果好,最大限度地消除杂质背景的干扰,提高了方法的准确

表 2 样品加标回收率

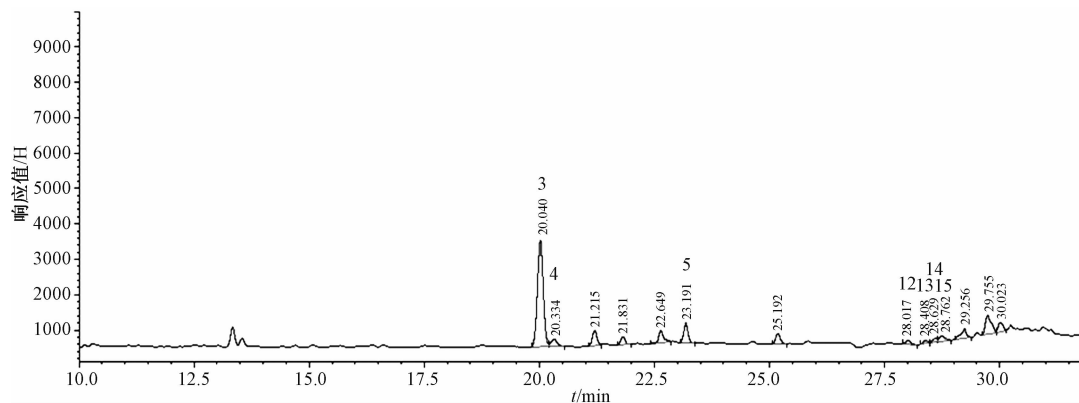
Table 2 Spiked recovery of samples (n = 6)

农药	添加质量浓度(μg/kg)	平均回收率(%)	RSD(%)
三氯杀螨醇	8.9	90.4	10.1
	22.3	91.6	8.9
	66.9	94.2	7.4
联苯菊酯	8.2	103.2	6.3
	20.4	105.1	2.5
	61.2	102.8	5.0
甲氰菊酯	8.5	98.6	7.2
	21.2	102.3	6.1
	63.6	104.2	4.9
氯氟氰菊酯	8.2	103.8	6.8
	20.5	102.6	5.2
	61.5	99.2	7.3
氯菊酯	16.7	93.2	3.5
	41.8	90.1	2.9
	125.4	88.5	4.6
氟氯氰菊酯	8.1	102.4	7.5
	20.3	98.7	4.9
	60.9	99.5	9.1
氯氰菊酯	8.2	106.4	7.8
	20.6	105.3	9.6
	61.8	102.9	10.7
氰戊菊酯	8.1	101.4	3.1
	20.2	98.9	5.2
	60.6	99.6	6.8

表3 茶叶样品中三氯杀螨醇和拟除虫菊酯类农药残留的测定结果  
Table 3 The results of dicofol and pyrethroid pesticide residues in tea (mg/kg)

农药	检测结果							欧盟限量	日本限量
	红茶	普洱茶	绿茶	单丛茶	黄金桂茶	龙井茶	铁观音		
三氯杀螨醇	—	—	—	0.015	—	—	0.010	20.00	3.0
联苯菊酯	—	0.140	0.034	0.820	0.150	0.007	0.092	5.00	25.0
甲氧菊酯	—	0.012	—	0.023	0.009	—	—	0.05	25.0
氯氟氰菊酯	—	0.009	—	0.030	0.017	0.008	0.057	20.00	15.0
氯菊酯	—	—	—	—	—	—	—	0.10	20.0
氟氯氰菊酯	—	—	—	—	—	—	—	0.10	20.0
氯氰菊酯	—	0.015	—	0.086	—	—	0.092	0.50	20.0
氰戊菊酯	—	—	—	—	—	0.096	—	0.05	1.0

注:—为未检出。



3:联苯菊酯;4:甲氧菊酯;5:氯氟氰菊酯;12,13,14,15:氯氰菊酯

图2 云南普洱茶样品色谱图

Figure 2 The chromatogram of Yunnan Pu'er tea samples

性和灵敏度,减少了对仪器的污染。通过实际方法验证,本方法检测灵敏度高,重现性好,适用于茶叶中三氯杀螨醇和拟除虫菊酯类残留的同时检测。

### 参考文献

- [1] 郑伟华,赵建庄,马德英. 溴氰菊酯的毒性和致突变性的研究进展[J]. 北京农学院学报,2004,19(1):77-80.
- [2] 孔祥虹,海云,乐爱山,等. 固相萃取-毛细管气相色谱法同时测定黄瓜中23种有机氯和拟除虫菊酯类农药残留量[J]. 食品科学,2007,28(2):267-270.
- [3] 胡小钟,储晓刚,余建新,等. 基质固相分散和气相色谱-质谱法测定浓缩苹果汁中22种有机氯农药和15种拟除虫菊酯农药的残留量[J]. 分析测试学报,2004,23(5):38-42.
- [4] 傅若农. 近年国内固相萃取-色谱分析的进展[J]. 分析实验室,2007,26(2):100-122.
- [5] Ji Jie, DENG Chunhui, ZHANG Huiqin, et al. Microwave-assisted steam distillation for the determination of organochlorine pesticides and pyrethroids in chinese teas[J]. Talanta,2007,71:1068-1074.
- [6] 耿昱,郭寅龙. 固相微萃取/气相色谱/质谱联用技术在农药残留分析中的应用[J]. 分析测试技术与仪器,2007,7(4):230-235.
- [7] HUANG Zhiqiang, LI Yongjun, CHEN Bo. Simultaneous determination of 102 pesticide residues in chinese teas by gas chromatography-mass spectrometry [J]. J chromatography B, 2007,853:154-162.
- [8] HU Yanyun, ZHENG Ping, HE Youzhao, et al. Response surface optimization for determination of pesticide multiresidues by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography [J]. J Chromatography A,2005,1098:188-193.