

实验技术与方法

气相色谱法同时测定茶叶中 10 种有机磷农药残留

廖和菁¹,张雪春²,胡礼渊¹,钟海翠¹,孙高英¹,刘瑞芳¹

(1. 广西东兴出入境检验检疫局,广西 东兴 538100; 2. 西南林业大学林学院,云南 昆明 650224)

摘要:目的 建立用气相色谱法同时测定茶叶中 10 种有机磷农药残留的方法。方法 采用乙腈做萃取溶剂超声波提取,经 CARB/NH₂ 固相萃取小柱净化,用气相色谱法 FPD 检测器检测茶叶中 10 种有机磷农药。结果 在 0.05 ~ 1.0 mg/kg 浓度范围内具有良好的线性关系,相关系数为 0.999 63 ~ 0.999 86;在有机磷农药添加浓度为 0.02 ~ 1.0 mg/kg,回收率 80.0% ~ 102.0%,相对标准偏差 1.8% ~ 5.8%,最低检出限 (LOD, S/N = 3) 为 0.002 ~ 0.013 mg/kg。结论 建立的气相色谱法是一种操作简单、分离效果好、回收率高、方便快速的检测方法。

关键词:茶叶;有机磷农药;多残留分析;气相色谱;农药残留

中图分类号:O657.71;TQ453.22 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2015)01-0041-04

DOI:10.13590/j.cjfh.2015.01.011

Simultaneously detection of 10 kinds of organophosphorus pesticides residues in tea by gas chromatography

LIAO He-jing, ZHANG Xue-chun, HU Li-yuan, ZHONG Hai-cui, SUN Gao-ying, LIU Rui-fang
(Guangxi Import and Export Inspection and Quarantine Bureau, Guangxi Dongxing 538100, China)

Abstract: Objective A rapid, efficient and accurate method was developed for the determination of 10 kinds of organophosphorus pesticides in tea by gas chromatography. **Methods** 10 kinds of organophosphorus pesticides were extracted by ultrasonic assisted with acetonitrile as solvent, and next purified by CARB/NH₂ SPE cartridges. At last, they were detected by gas chromatography-FPD. **Results** The linear range of the method was 0.05-1.0 mg/kg ($r=0.999\ 63-0.999\ 86$), relative recoveries for the spiked samples with 0.02-1.0 mg/kg of organophosphorus pesticides were ranged from 80.0% to 102.0%; the relative standard deviations ($RSD, n=5$) was 1.8%-5.8%, and the limits of detection ($S/N=3$) was 0.002-0.013 mg/kg. **Conclusion** The proposed gas chromatography-FPD method is convenient, quick and easy maneuverability, high separation effective and recovery rate.

Key words: Tea; phosphate pesticides; multiresidues analysis; gas chromatography; pesticide residues

开门七件事“柴、米、油、盐、酱、醋、茶”,茶在我们的日常生活中扮演着一个重要的角色。茶叶从古到今一直都是我国重要的经济作物,同时也是我国重要的出口创汇的农产品之一,我国在茶叶的生产、制造、饮用等方面都有着深厚的茶文化底蕴^[1]。但是茶叶种植方式还停留在“粗放式、模糊式、经验式经营”的阶段。许多茶园缺乏有效的监管,存在乱用、滥用农药的现象^[2]。随着人们生活水平的提高,人们越来越关注食品安全问题,对茶叶的品质也有了更高的要求。近年来,欧盟对茶叶中农药残留限量的规定项目不断增多,最大残留限值大幅度降低,检测限也越来越低^[3-4]。

茶叶本身含有数百种化学成分,基质比较复杂,茶

叶在种植的过程中,通过环境迁移,根茎吸收传导等途径,农药很容易进入到茶叶组织内部^[5],这也增加了检测的难度,茶叶中农药多残留分析研究,已成为国际上食品安全检测技术研究的难点和热点之一。

我国原有的农药残留检测技术,前处理通常采用传统的液-液萃取、柱层析净化等手段及填充柱气相色谱检测方法^[6],这些方法只适合已知、单残留(单类、几种)测定,已不能适应茶叶农药快速检测的要求。目前茶叶中多种有机磷农药残留检测最常用的方法采用 GB/T 5009.20—2003《食品中有机磷农药残留量的测定》^[7],但该方法中没有对样品进行较好的净化处理,尤其是茶叶这种基质复杂,色素含量高的样品,会使仪器进样口、毛细管柱以及检测器等受到污染,影响仪器寿命。

本试验选用乙腈作为萃取溶剂,并采用超声波技术萃取茶叶样品,缩短了前处理时间。净化过程采用 CARB/NH₂ 固相萃取小柱,操作简单、快速、净化效果

收稿日期:2014-04-04

作者简介:廖和菁 女 助理工程师 研究方向为食品理化检验检疫

E-mail:363985487@qq.com

好。洗脱溶剂用量少,降低了实验操作人员的有机溶剂暴露风险。经 HP-5 弱极性柱石英毛细管柱分离后用气相色谱火焰光度检测器(FPD)测定,结果证明方法重现性好、回收率高。检出限低于欧盟对茶叶的最大残留限量(MRL)值,符合实际检验要求。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

气相色谱仪(配有 FPD 检测器,美国 Agilent)、漩涡振荡器、多功能振荡器、旋转蒸发仪、台式离心机、超声波清洗仪。

乙腈、丙酮、二氯甲烷均为色谱纯,无水硫酸钠(使用前 650 °C,烘烤 4 h),CARB/NH₂ 固相萃取小柱(500 mg/500 mg,6 ml,德国 CNW),敌敌畏、甲拌磷、乐果、二嗪磷、杀螟硫磷、马拉硫磷、倍硫磷、水胺硫磷、甲基异柳磷、乙硫磷均购自国家标准物质中心,浓度 100 μg/ml,混合标准液用丙酮稀释配制。

1.2 方法

1.2.1 茶叶样品分析方法

样品前处理:茶叶样品经粉碎后,过 20 目筛制成粉状样品,密封装样,4 °C 冰箱中保存。

提取:称取 1 g(精确至 0.01 g)茶叶样品置于 50 ml 离心管中,加适量水浸泡 30 min 后,加入 25 ml 乙腈,漩涡混匀 1 min,超声提取 10 min 后,5 000 r/min 离心 5 min,取上清液于 100 ml 茄形瓶中,残渣再加入 10 ml 乙腈提取 2 次,合并 3 次提取液。在 40 °C 下水浴减压浓缩至近干,加 2 ml 丙酮,待净化。

净化:取 CARB/NH₂ 小柱,加入 2 cm 高的无水硫酸钠,用 3 ml 丙酮、3 ml 二氯甲烷预淋洗柱子,将待净化的 2 ml 丙酮样液加到柱子上。用 2 ml 丙酮洗涤茄形瓶,将清洗液同样加到柱子上,重复两次。再用 4 ml 丙酮、10 ml 二氯甲烷淋洗柱子,收集洗脱液,40 °C 水浴旋转蒸发浓缩至近干,将剩余溶液转移至 15 ml 离心管中,并用适量丙酮多次冲洗茄形瓶,合并冲洗液于 15 ml 离心管中,用氮吹仪吹干后,加 1 ml 丙酮制成分析液,用于气相色谱测定。

1.2.2 10 种有机磷混标线性方程及检测限

从浓度为 100 μg/ml 的 10 种有机磷标准品中分别吸取 100 μl 标准溶液注入到 10 ml 容量瓶中,用丙酮稀释至刻度,配制成 1 μg/ml 的农药混合标准储备液,临用前分别稀释成 0.05、0.1、0.2、0.4、0.5、1.0 μg/ml 6 个浓度的有机磷混合标样,用气相色谱进行分析,以峰面积作为纵坐标,质量浓度作为横坐标做线性回归。以 3 倍信噪比确定 10 种有机磷农药的最低检测限。

1.2.3 10 种有机磷农药的回收率及相对标准偏差

为考察本方法同时测定茶叶中 10 种有机磷农药的准确度和精密度,称取 3 份茶叶各 1.0 g 作为空白样品(已测定不含待测项目),分别添加 3 种不同浓度水平的有机磷混标,按照 1.2.2 方法进行加标回收试验,并计算 10 种有机磷农药的回收率及相对标准偏差。

1.2.4 仪器条件

色谱柱:HP-5(30 m × 0.32 mm,0.25 μm),进样口温度 250 °C;离子源温度 250 °C;氢气流量 75 ml/min;空气流量 100 ml/min;尾吹流量(N₂) 60 ml/min,恒流模式;柱流量 2.0 ml/min。

升温程序:50 °C 保持 1 min,以 30 °C/min 速率升至 160 °C 保持 1 min,以 5 °C/min 速率升至 178 °C 保持 4 min,再以 2 °C/min 速率升至 180 °C 保持 2 min,以 10 °C/min 速率升至 210 °C,以 30 °C/min 速率升至 260 °C 保持 3 min。进样量 1 μl,不分流进样,外标法定量。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂及净化柱子的选择

根据提取的“相似相溶”原则,提取溶剂的选择与农药的极性有关。有机磷农药的极性较强,常用极性较强的溶剂乙酸乙酯、丙酮和乙腈来提取^[8]。其中丙酮易溶出色素,因此适合色素少的样品,而茶叶本身含有大量色素,不适合以丙酮作为溶剂。相比乙酸乙酯,乙腈对绝大部分农药的溶解度较大,且溶入的杂质适中,因此本试验选用乙腈作为提取剂。

通常茶叶中的有机氯农药采用弗罗里硅土净化,有机磷农药采用 C₁₈ 柱净化,而多种农残组分的分析采用 CARB/NH₂ 小柱净化^[9-11]。经测定,发现 CARB/NH₂ 小柱对 10 种有机磷农药的回收率最高,净化液不含色素,因此采用 CARB/NH₂ 小柱来净化样品。

2.2 10 种有机磷农药的气相色谱图

茶叶中 10 种有机磷农药的分离效果良好,出峰时间分别为:敌敌畏 5.482 min;甲拌磷 9.866 min;乐果 10.415 min;二嗪磷 11.762 min;杀螟硫磷 15.530 min;马拉硫磷 16.406 min;倍硫磷 16.799 min;水胺硫磷 17.320 min;甲基异柳磷 18.290 min;乙硫磷 21.196 min。见图 1。

2.3 线性关系与检出限

10 种有机磷农药的线性范围和检出限结果见表 1。以 3 倍信噪比确定最低检测浓度。在有机磷农药含量为 0.05 ~ 1.0 μg/ml 时,峰面积与有机磷农药的质量浓度呈良好的线性关系,相关系数为 0.999 63 ~ 0.999 86 检出限为 0.002 ~ 0.013 mg/kg。因此本试验的方法线性范围宽,检出限较低。

2.4 方法准确度及精密度

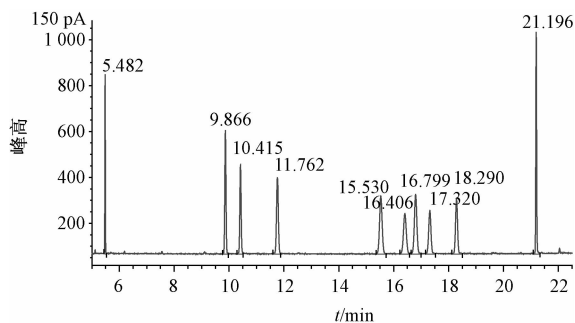


图 1 10 种有机磷农药的气相色谱图

Figure 1 Gas chromatogram of 10 kinds of organophosphorus pesticides residues

10 种有机磷农药的回收率及相对标准偏差的试验结果见表 2。由表 2 可知, *RSD* 为 1.8% ~ 5.8%, 在所采用的仪器条件下, 样品的重现性较好, 回收率为 80.0% ~ 102.0%, 符合要求。表明所建

立的方法准确, 可满足茶叶中 10 种有机磷农药检测分析的技术要求。

表 1 10 种有机磷农药线性关系及检出限

Table 1 Linear correlation and detection limit of 10 kinds of organophosphorus pesticide residues

农药	线性范围 / (μg/ml)	线性方程	相关系数	检出限 / (mg/kg)
敌敌畏	0.05 ~ 1.0	$y = 4548.47x - 8.07$	0.999 73	0.003
甲拌磷	0.05 ~ 1.0	$y = 5057.16x + 8.43$	0.999 74	0.004
乐果	0.05 ~ 1.0	$y = 3084.57x - 4.33$	0.999 77	0.008
二嗪磷	0.05 ~ 1.0	$y = 5424.73x + 14.15$	0.999 67	0.006
杀螟硫磷	0.05 ~ 1.0	$y = 4422.72x + 12.70$	0.999 80	0.009
马拉硫磷	0.05 ~ 1.0	$y = 3457.67x + 10.54$	0.999 63	0.013
倍硫磷	0.05 ~ 1.0	$y = 4755.31x + 12.94$	0.999 67	0.009
水胺硫磷	0.05 ~ 1.0	$y = 3179.31x + 9.88$	0.999 86	0.011
甲基异硫磷	0.05 ~ 1.0	$y = 3645.37x + 11.90$	0.999 81	0.008
乙硫磷	0.05 ~ 1.0	$y = 6152.06x - 3.14$	0.999 66	0.002

表 2 样品加标回收试验结果

Table 2 Results of recovery of tea samples

农药	加标量 / (mg/kg)	测定值 / (mg/kg)	回收率 / %	<i>RSD</i> / %	农药	加标量 / (mg/kg)	测定值 / (mg/kg)	回收率 / %	<i>RSD</i> / %
敌敌畏	0.02	0.017	85.0	3.5	马拉硫磷	0.02	0.016	80.0	2.1
	0.2	0.185	92.5	3.7		0.2	0.175	87.5	2.2
	1.0	0.950	95.0	4.8		1.0	0.923	92.3	3.6
甲拌磷	0.02	0.017	85.0	2.1	倍硫磷	0.02	0.017	85.0	1.8
	0.2	0.177	88.5	2.5		0.2	0.188	94.0	3.6
	1.0	0.928	92.8	1.9		1.0	0.978	97.8	4.3
乐果	0.02	0.016	80.0	3.1	水胺硫磷	0.02	0.017	85.0	2.4
	0.2	0.164	82.0	5.6		0.2	0.173	86.5	3.6
	1.0	0.888	88.8	5.8		1.0	0.949	94.9	4.2
二嗪磷	0.02	0.018	90.0	3.0	甲基异硫磷	0.02	0.017	85.0	2.0
	0.2	0.184	92.0	4.2		0.2	0.178	89.0	2.2
	1.0	0.929	92.9	3.4		1.0	0.945	94.5	3.1
杀螟硫磷	0.02	0.016	80.0	3.1	乙硫磷	0.02	0.019	95.0	3.9
	0.2	0.175	87.5	3.5		0.2	0.204	102.0	4.0
	1.0	0.936	93.6	3.0		1.0	1.009	100.9	4.1

3 小结

本试验建立了一种检测茶叶中 10 种有机磷农药残留的气相色谱法, 采用乙腈做萃取溶剂, 用超声波法提取样品, 大大缩短了萃取时间, 提高了萃取效率; 选用 CARB/NH₂ 固相萃取小柱净化样品, 样品净化效果良好。本方法在 0.05 ~ 1.0 mg/kg 浓度范围内具有良好的线性关系, 相关系数为 0.999 63 ~ 0.999 86; 在有机磷农药添加浓度为 0.02 ~ 1.0 mg/kg 时, 回收率为 80.0% ~ 102.0%, 相对标准偏差为 1.8% ~ 5.8%, 最低检出限为 0.002 ~ 0.013 mg/kg。试验所建立的气相色谱法操作简单、分离效果好、回收率高、方便快捷, 适用于茶叶中有机磷农药的日常检测。

参考文献

[1] 刘文聪, 符靖雯, 刘惠茹. 气相色谱法同时测定茶叶中 3 种有机磷农药残留[J]. 惠州学院学报, 2012, 32(3): 54-57.

[2] 蒋俊树, 赵彬, 周莉. 气相色谱-质谱法测定茶叶中 36 种农药残留[J]. 食品科学, 2009, 30(14): 276-280.

[3] 日本《食品中农业化学品肯定列表制度》对我国茶叶出口的影响及应对措施[J]. 农化市场十日讯, 2006(17): 11.

[4] The European Commission. Commission Directive 2000/42/EC of 22 June 2000 amending the annexes to council directives 86/362/EEC, 86/363/EEC and 90/642/EEC on the fixing of maximum levels for pesticide residues in and on cereals, foodstuffs of animal origin and certain products of plant origin, including fruit and vegetables respectively[J]. Official Journal of the European Communities, 2000, 158: 51-75.

[5] 朱旭君, 侯如燕. 茶叶农药残留分析的研究进展[G]. 全国茶业科技学术研讨会论文集, 2012: 414-426.

[6] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009. 145—2003 植物性食品

- 中有机磷和氨基甲酸酯类多种残留的测定[S].北京:中国标准出版社,2003.
- [7] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009. 20—2003 食品中有机磷农药残留量的测定[S].北京:中国标准出版社,2003.
- [8] 陈小华,汪群杰.固相萃取技术与应用[M].2版.北京:科学出版社,2010:19-23.
- [9] 汤富彬,陈宗懋,罗逢健,等.固相萃取-气相色谱法检测茶叶中的有机磷农药残留量[J].分析试验室,2007,26(2):43-47.
- [10] 李拥军,黄志强,戴华,等.茶叶中多种拟除虫菊酯类农药残留量的气相色谱-质谱测定[J].分析化学,2002,30(7):865-868.
- [11] 张莹,黄志强,李拥军.气相色谱法测定茶叶中多种有机磷农药残留量[J].色谱,2001,19(3):273-275.

· 公告 ·

关于发布《食品安全国家标准 食品添加剂 硬脂酸钾》 (GB 31623—2014)等13项食品安全国家标准和 《食品安全国家标准 食品添加剂 天门冬氨酸钙》 (GB 29226—2012)第1号修改单的公告

2014年第19号

根据《中华人民共和国食品安全法》和《食品安全国家标准管理办法》规定,经食品安全国家标准审评委员会审查通过,现发布《食品安全国家标准 食品添加剂 硬脂酸钾》(GB 31623—2014)等13项食品安全国家标准和《食品安全国家标准 食品添加剂 天门冬氨酸钙》(GB 29226—2012)第1号修改单。其编号和名称如下:

- GB 31623—2014 食品安全国家标准 食品添加剂 硬脂酸钾
- GB 31620—2014 食品安全国家标准 食品添加剂 β -阿朴-8'-胡萝卜素醛
- GB 5009. 139—2014 食品安全国家标准 饮料中咖啡因的测定
- GB 5009. 148—2014 食品安全国家标准 植物性食品中游离棉酚的测定
- GB 5009. 190—2014 食品安全国家标准 食品中指示性多氯联苯含量的测定
- GB 5009. 204—2014 食品安全国家标准 食品中丙烯酰胺的测定
- GB 4789. 9—2014 食品安全国家标准 食品微生物学检验 空肠弯曲菌检验
- GB 4789. 11—2014 食品安全国家标准 食品微生物学检验 β 型溶血性链球菌检验
- GB 4789. 14—2014 食品安全国家标准 食品微生物学检验 蜡样芽孢杆菌检验
- GB 15193. 22—2014 食品安全国家标准 28天经口毒性试验
- GB 15193. 23—2014 食品安全国家标准 体外哺乳类细胞染色体畸变试验
- GB 15193. 24—2014 食品安全国家标准 食品安全性毒理学评价中病理学检查技术要求
- GB 15193. 25—2014 食品安全国家标准 生殖发育毒性试验
- GB 29226—2012 食品安全国家标准 食品添加剂 天门冬氨酸钙 第1号修改单

特此公告。

GB 31623—2014《食品安全国家标准 食品添加剂 硬脂酸钾》等13项食品安全国家标准和1项标准修改单.zip

(相关链接:<http://www.nhfpc.gov.cn/sps/s7891/201412/d90fdffa375b4dbc85b0449c067c022b.shtml>)

国家卫生计生委
二〇一四年十二月一日