

茶叶中 7 种拟除虫菊酯农药残留量的检测方法

丁慧瑛, 鲍晓霞, 郑自强

(浙江出入境检验检疫局, 浙江 杭州 310012)

摘 要: 建立了一种同时测定茶叶中 7 种拟除虫菊酯农药残留量的气相色谱方法。试样中的拟除虫菊酯农药残留经丙酮-水(体积比 8:1)体系萃取, 正己烷反萃取, 然后用乙腈萃取, 弗罗里硅土柱净化, 以 GC-ECD 方法测定, 外标法定量。实验表明, 试样中添加质量分数(w) $0.01 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-6}$ 含量水平的联苯菊酯、氯菊酯、氰菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯, 方法回收率为 75.0% ~ 103.0%, 最小检测含量 $0.1 \times 10^{-7}(w)$; 试样中添加 $0.002 \times 10^{-6} \sim 0.20 \times 10^{-6}$ 含量水平的甲氰菊酯, 方法回收率为 92.0% ~ 100.0%, 最小检测含量 $0.2 \times 10^{-8}(w)$; 试样中添加 $0.001 \times 10^{-6} \sim 0.10 \times 10^{-6}$ 含量水平的三氟氯氰菊酯, 方法回收率为 96.0% ~ 102.0%, 最小检测含量 $0.1 \times 10^{-8}(w)$ 。同一样品中 10 次测定这 7 种拟除虫菊酯农药残留的标准偏差为 0.001 1 ~ 0.004 7, 相对标准偏差为 3.10% ~ 6.15%。

关键词: 拟除虫菊酯; 农药残留; 茶叶; 气相色谱

中图分类号: S482.35 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2000)06-0031-04

我国是世界上最大的茶叶生产、出口国, 在茶叶种植过程中使用多种拟除虫菊酯类农药。欧盟、日本等国对茶叶中拟除虫菊酯农药残留量规定了严格的限量, 联苯菊酯、氯菊酯、氰菊酯、氰戊菊酯为 0.1×10^{-6} , 甲氰菊酯 0.2×10^{-7} , 三氟氯氰菊酯 0.1×10^{-7} , 溴氰菊酯 5.0×10^{-6} 。由于茶叶成分复杂, 含有大量色素和其它干扰物质, 现有的测定食品中一种或几种拟除虫菊酯农药残留量的方法不能用于茶叶的测定, 如果没有准确有效的快速检测多种拟除虫菊酯农药残留的方法, 将会影响我国的茶叶出口贸易。目前, 对农药残留的检测趋向采用多种残留物同时检测的方法^[1], 因此, 建立能同时测定这类农药在茶叶中多种残留的方法是十分必要的。本文研究了用 GC-ECD 同时测定茶叶中 7 种拟除虫菊酯残留量的分析方法, 可满足实际检验工作的需要。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

HP-6890 气相色谱仪, 配有 ECD 检测器; 旋转蒸发器; 均质器; 10 μ L 微量注射器。

收稿日期: 2000-03-11; 修订日期: 2000-09-28

作者简介: 丁慧瑛(1962-), 女, 浙江萧山人, 工程师。

(上接 30 页)

Determination of Isoflavones in Soybean and Radix Puerariae by HPLC

JIANG He-yuan¹, LÜ Fei-jie¹, TAI Jian-xiang¹, CHEN Bin², DONG Hui-ru³, FU Qin¹

(1. Institute of Crop Breeding and Cultivation, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Beijing 100081, China;

2. Department of Bioresources, Wuling University, Zhangjiajie 427000, China; 3. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Seven isoflavones in soybeans and Radix Puerariae were determined by HPLC with a Shim-Pack CLC ODS column (150 mm $\times$ 6.0 mm ID; 5 μ m) and UV detector at 254 nm. The MeOH-HAc-H₂O system (30:3.5:66.5 by volume) was used as a mobile phase. The flow rate was 1.0 mL/min in the period from 0 to 8.5 min and 1.5 mL/min from 8.5 to 47 min. Column temperature was 50 $^{\circ}$ C. An external standard method was used for the quantitative analysis.

Keywords: HPLC; Soybeans; Radix Puerariae; Isoflavones

无水硫酸钠柱: 80 mm × 40 mm(id), 筒形漏斗, 底部垫 0.5 cm 脱脂棉, 再装 5 cm 无水硫酸钠; 净化柱: 200 mm × 15 mm(id) 玻璃柱, 底部填约 0.5 cm 脱脂棉、2 cm 无水硫酸钠和 10 g 氟罗里硅土, 顶端加 2 cm 无水硫酸钠, 使用前用 20 mL 正己烷淋洗。

除另有规定外, 所用试剂均为分析纯, 水为蒸馏水; 乙腈、丙酮、乙醚、正己烷均需重蒸馏; 150 g/L 氯化钠水溶液; 洗脱液: 正己烷-乙醚(体积比 70:30); 无水硫酸钠: 650 °C 灼烧 4 h; 弗罗里硅土: 650 °C 灼烧 4 h, 使用前一天 130 °C 烘 4 h, 在干燥器内冷却至室温, 加 2% 水脱活, 备用; 提取剂 I: 重蒸后的正己烷加入少量乙腈饱和, 摇匀; 提取剂 II: 重蒸后的乙腈加入少量正己烷饱和, 摇匀。

联苯菊酯、甲氰菊酯、三氟氯氰菊酯、氯氰菊酯、氯菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯标准溶液: 分别为 100 mg/L, 标准品由国家出入境检验检疫局商检研究所提供, 根据需要用正己烷稀释至适当含量的混合标准工作液。

1.2 色谱条件

色谱柱: HP-1701, 30 m × 0.25 mm(id) × 0.25 μm(膜厚) 的石英毛细管柱; 载气: 氮气, 纯度 > 99.99%, 流速 1.0 mL/min; 柱温: 从 200 °C 起以 10 °C/min 的升温速率升至 250 °C, 再以 5 °C/min 的速率升至 270 °C, 保留 20 min; 进样口温度: 280 °C; 检测器(ECD)温度: 300 °C; 分流比 10:1; 进样量: 2 μL。

1.3 分析步骤

称取 5.0 g 磨碎的均匀试样(精确到 0.1 g)置于 100 mL 三角烧瓶中, 加入 50 mL 丙酮-水(体积比 8:1), 在均质器中均质 5 min, 过滤, 滤液用丙酮定容至 50 mL。精确量取 20.0 mL 滤液至预先装有 50 mL 150 g/L 氯化钠溶液和 25 mL 正己烷的 125 mL 分液漏斗中, 激烈振摇, 静置, 将正己烷层过无水硫酸钠柱至浓缩瓶中。水层中再加入 25 mL 正己烷, 重复操作, 合并正己烷层, 40 °C 水浴减压浓缩至约 5 mL。

用 20 mL 提取剂 I 以及 20 mL 提取剂 II 淋洗浓缩瓶并溶解残渣。将溶液分别移入同一 125 mL 分液漏斗中, 激烈振摇 2 min, 静置, 分离乙腈层于另一分液漏斗中, 在正己烷层中再加入 20 mL 提取剂 II, 重复上述操作, 合并乙腈层于上述分液漏斗中, 加入 30 mL 提取剂 I, 激烈振摇 2 min, 静置, 分离乙腈层于 100 mL 浓缩瓶中, 在 70 °C 以下水浴减压浓缩至干。

残渣分别用 5 mL 正己烷溶解洗涤 2 次, 将此液体移入净化柱中, 弃去流出液, 用 80 mL 乙醚-正己烷(体积比 3:7)洗脱。收集全部洗脱液, 在 50 °C 水浴上减压浓缩至干, 用 2.0 mL 正己烷定容, 供 GC 测定。

2 结果与讨论

2.1 萃取条件的选择

从茶叶中提取拟除虫菊酯农药残留可选用不同的萃取溶剂, 其中包括乙醚-正己烷, 丙酮-水和乙腈-石油醚等^[2,3], 经比较后发现, 丙酮-水(体积比 8:1)作为萃取溶剂的萃取效率比其他几种溶剂好。通常的机械振荡和索氏抽提所需的提取时间较长, 一般需要几个小时, 而样品用均质器加溶剂均质后的提取效率比前 2 种方法更佳, 且时间大大缩短, 仅需几分钟。茶叶含有大量的色素, 提取液直接进行柱净化处理的效果不佳。用正己烷饱和的乙腈从正己烷相萃取拟除虫菊酯农药, 茶叶中的色素等干扰杂质大部分留在正己烷相, 把乙腈相浓缩干, 再进行柱净化就可以去除杂质的干扰, 满足色谱分析的要求。

2.2 洗脱液选择和淋洗曲线试验

茶叶样品中含有大量的色素, 选用弗罗里硅土柱层析净化非常有效^[3], 关键是要选择有较好的洗脱效果又能最大限度地减少杂质干扰的洗脱液。经本实验摸索, 选用乙醚-正己烷(体积比 3:7)的混合液作为洗脱液。经淋洗曲线试验, 表明洗脱液的用量在 60 mL 左右就可将 7 种拟除虫菊酯农药完全洗脱, 但洗脱液用量过大, 杂质干扰就会增加。为保证洗脱完全, 且避免杂质干扰过大, 经试验确定洗脱液的用量为 80 mL。

2.3 线性关系和最小检测量

在本法所确定的实验条件下, 配制一系列不同标样含量的标准溶液进行色谱测定, 以各组分的峰面积(y)对质量浓度(x)绘制标准曲线, 标准曲线线性关系和最小检测量见表 1。标准图谱和样品空白图谱如图 1A 和 B 所示。

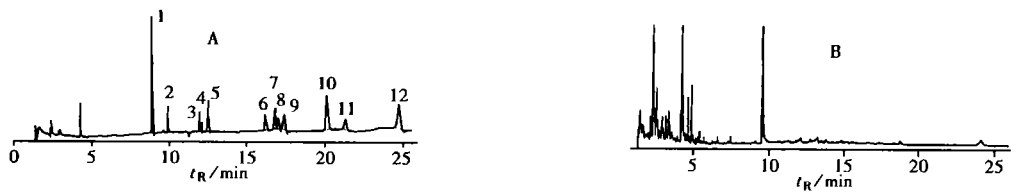


图 1 7 种拟除虫菊酯标准(A)和样品空白(B)色谱图

Fig.1 Chromatograms of 7 standard pyrethroids(A) and blank sample(B)

1. 联苯菊酯(bifenthrin), 100 ng; 2. 甲氰菊酯(fenpropathrin), 20 ng; 3. 三氟氯氰菊酯(cyhalothrin), 10 ng; 4. 5. 氯菊酯(permethrin), 100 ng; 6. 7. 8. 9. 氯氰菊酯(cypermethrin), 100 ng; 10. 11. 氰戊菊酯(fenvalerate), 100 ng; 12. 溴氰菊酯(deltamethrin), 100 ng

试验证明, 各种拟除虫菊酯农药残留的色谱分析线性良好, 可以满足定量分析的需要。经实验得到的最小检测含量是国外规定限量的 1/10。

2.4 精密度试验

用同一样品添加同一含量的拟除虫菊酯农药标准溶液, 按方法操作步骤进行测试, 得到的测试精密度结果见表 2。

2.5 回收率试验

在茶叶样品中添加不同含量的 3 个水平 7 种拟除虫菊酯农药标准溶液, 按方法操作步骤进行回收率试验, 得到的回收率结果见表 3。

表 1 线性关系和最小检测量
Table 1 Linear equations and minimum detectable quantity

Pesticide	Reten- tion time t_R/min	Linear range $\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	Linear equation	Correlation coefficient r	Minimum detec- table quantity m/ng
Bifenthrin(联苯菊酯)	8.9	0.01 ~ 1.0	$y = 26\,649.6x - 51.2$	0.999 8	20
Fenpropathrin(甲氰菊酯)	9.9	0.002 ~ 0.2	$y = 6\,841.3x - 2.53$	0.999 9	4
Cyhalothrin(三氟氯氰菊酯)	11.9	0.001 ~ 0.1	$y = 5\,463.0x - 2.88$	0.999 5	2
Permethrin isomer 1(氯菊酯异构体1)	12.1	0.01 ~ 1.0	$y = 2\,694.9x + 4.32$	1.000 0	20
Permethrin isomer 2(氯菊酯异构体2)	12.5	0.01 ~ 1.0	$y = 11\,015.9x + 10.7$	1.000 0	20
Cypermethrin isomer 1(氯氰菊酯异构体1)	16.2	0.01 ~ 1.0	$y = 9\,158.8x - 34.3$	0.999 6	20
Cypermethrin isomer 2(氯氰菊酯异构体2)	16.8	0.01 ~ 1.0	$y = 14\,116.0x - 68.2$	0.999 4	20
Cypermethrin isomer 3(氯氰菊酯异构体3)	17.0	0.01 ~ 1.0	$y = 8\,602.4x - 86.4$	0.998 4	20
Cypermethrin isomer 4(氯氰菊酯异构体4)	17.4	0.01 ~ 1.0	$y = 10\,075.1x - 85.2$	0.998 7	20
Fenvalerate isomer 1(氰戊菊酯异构体1)	20.1	0.01 ~ 1.0	$y = 26\,731.4x - 92.7$	0.999 7	20
Fenvalerate isomer 2(氰戊菊酯异构体2)	21.3	0.01 ~ 1.0	$y = 9\,368.5x - 29.9$	0.999 7	20
Deltamethrin(溴氰菊酯)	24.7	0.01 ~ 1.0	$y = 27\,916.9x - 196.3$	0.999 0	20

表 2 精密度试验结果($n = 10$)
Table 2 Result of precision test ($n = 10$)

Pesticide	Added $w_A/10^{-6}$	Found $w_F/10^{-6}$	Mean value $\bar{w}_F/10^{-6}$	Standard deviation $s/10^{-6}$	RSD $s_r/\%$
Bifenthrin(联苯菊酯)	0.10	0.071 ~ 0.079	0.075	0.003 2	4.32
Fenpropathrin(甲氰菊酯)	0.020	0.016 ~ 0.019	0.018	0.001 1	6.15
Cyhalothrin(三氟氯氰菊酯)	0.010	0.009 ~ 0.010	0.009	0.000 5	5.49
Permethrin(氯菊酯)	0.10	0.077 ~ 0.089	0.083	0.003 3	3.95
Cypermethrin(氯氰菊酯)	0.10	0.091 ~ 0.099	0.096	0.003 0	3.10
Fenvalerate(氰戊菊酯)	0.10	0.089 ~ 0.103	0.099	0.004 1	4.17
Deltamethrin(溴氰菊酯)	0.10	0.086 ~ 0.103	0.099	0.004 7	4.76

表 3 回收率试验结果 ($n = 2$)
Table 3 Result of recovery test ($n = 2$)

Pesticide	Added $w_A/10^{-6}$	Recovery $R/\%$	Pesticide	Added $w_A/10^{-6}$	Recovery $R/\%$
Bifenthrin (联苯菊酯)	0.01 0.1 1.0	80.0 76.0 80.5	Cypermethrin (氯氰菊酯)	0.01 0.1 1.0	93.5 98.0 92.6
Fenpropathrin (甲氰菊酯)	0.002 0.02 0.2	100.0 95.0 93.5	Fenvalerate (氰戊菊酯)	0.01 0.1 1.0	97.5 96.0 93.1
Cyhalothrin (三氯氯氰菊酯)	0.001 0.01 0.1	100.0 100.0 99.0	Deltamethrin (溴氰菊酯)	0.01 0.1 1.0	90.0 94.0 93.5
Permethrin (氯菊酯)	0.01 0.1 1.0	103.0 93.0 89.0			

3 结 论

本法对茶叶中 7 种拟除虫菊酯农药残留的检测前处理步骤较为简便、快捷, 试剂通用性强, 测定结果准确可靠, 方法灵敏度高, 最小检测含量可达质量分数 0.1×10^{-8} , 可同时进行茶叶中多种拟除虫菊酯农药残留的快速分析。

参考文献:

- [1] PANG Guo-fang, ZHAO Tie-sheng, CHAO Yan-zhong, et al. Cleanup with two florisil columns for gas chromatographic determination of multiple pyrethroid insecticides in products of animal origin[J]. J AOAC Int, 1994, 77(6): 1634.
- [2] BAKER P G, BOTTOMLEY P. Determination of residues of synthetic pyrethroids in fruit and vegetables by gas - liquid and high - performance liquid chromatography[J]. Analyst, 1982, 107(1271): 206.
- [3] 默 涛. 农药残留分析方法[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1992. 7, 98 ~ 142.

Determination of 7 Pyrethroids Residues in Tea

DING Hui-ying, BAO Xiao-xia, ZHENG Zi-qiang

(Zhejiang Entry - Exit Inspection & Quarantine Bureau, Hangzhou 310012, China)

Abstract: A method for the simultaneous determination of residues of 7 pyrethroids—bifenthrin, fenpropathrin, cyhalothrin, permethrin, cypermethrin, fenvalerate and deltamethrin—in tea was established by gas chromatography. The pyrethroids in tea were extracted by acetone - water (8 : 1 by volume) solution, followed by *n*-hexane reextraction. After the extract was purified through a florisil column, the pyrethroids were analyzed by GC - ECD and quantified by external standard method. Recovery rates of the pyrethroids are more than 75%, minimum detectable quantities are less than $1.0 \times 10^{-8}(w)$, whereas RSD of the method is in the range of 3.10% ~ 6.15%.

Keywords: Pyrethroid; Pesticides residues; Tea; Gas chromatography

维生素检测学术交流会在穗召开

由国家轻工局香料化妆品质量监督站广州站、国家轻工局食品质量监督广州站、中国广州分析测试中心及罗氏(中国)有限公司联合主办的“维生素检测学术交流会”于 2000 年 9 月 22 日在广州花园酒店举行。来自政府检测机构、行业协会及大型食品、药品、化妆品企业的 80 余名人员参加了此次会议。罗氏公司瑞士技术中心的维生素检测专家豪夫迈博士在会上就脂溶性维生素及水溶性维生素的检测方法作了专业发言。