

应用搅拌棒吸附萃取-热脱附-气相色谱-质谱测定 烟叶和茶叶中拟除虫菊酯类农药残留

侯 英^{1,2}, 曹秋娥², 谢小光², 王保兴¹, 徐济仓¹,
杨 蕾³, 杨 燕¹, 杨 勇¹

(1. 云南瑞升烟草技术(集团)有限公司, 云南 昆明 650106; 2. 云南大学, 云南 昆明 650091;
3. 云南师范大学, 云南 昆明 650092)

摘要 :应用搅拌棒吸附萃取(SBSE)技术分别萃取烟叶和茶叶中的5种拟除虫菊酯,并利用热脱附系统将萃取到的物质进行热脱附,然后通过气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)进行分析测定。实验过程中对影响SBSE的因素及影响热脱附的条件进行了优化。在优化条件下,采用外标法分别对烟叶和茶叶中的5种拟除虫菊酯类农药残留进行了定量分析。结果表明,烟叶中5种拟除虫菊酯的检出限范围为3.3~11.4 ng,加标回收率为94.8%~103.4%,6次测定的相对标准偏差(RSD)为5.3%~8.6%;茶叶中5种拟除虫菊酯的检出限范围为4.2~10.5 ng,加标回收率为98.2%~110.1%,6次测定的RSD为5.0%~9.6%。实验证明该法具有较高的准确度、灵敏度和较好的重现性,可用于烟叶和茶叶中拟除虫菊酯类农药残留的快速分析测定。

关键词 :搅拌棒吸附萃取;热脱附;气相色谱-质谱;拟除虫菊酯;农药残留;烟叶;茶叶

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713(2007)01-0025-05 栏目类别 :研究论文

Determination of Pyrethroid Pesticide Residues in Tobacco Leaves and Tea Using Stir Bar Sorptive Extraction-Thermal Desorption and Gas Chromatography-Mass Spectrometry

HOU Ying^{1,2}, CAO Qiue², XIE Xiaoguang², WANG Baoxing¹, XU Jicang¹,
YANG Lei³, YANG Yan¹, YANG Yong¹

(1. Yunnan Reascend Tobacco Technology (Group) Co., Ltd., Kunming 650106, China; 2. Yunnan University, Kunming 650091, China; 3. Yunnan Normal University, Kunming 650092, China)

Abstract : A novel method for the determination of 5 pyrethroid pesticide residues in tobacco leaf and tea samples was established. The pesticide residues in the samples were extracted and concentrated with stir bar, desorbed by thermal desorption system, and then determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The pesticide residues in the samples were extracted with a stir bar at 1 100 r/min for 1 h. The desorption was carried out at 300 °C for 4 min under a helium flow of 50 mL/min while maintaining a cryofocusing temperature of 0 °C in the CIS-4 injector of the GC-MS system. Finally, the CIS-4 injector was raised to a temperature of 300 °C and then the analytes were separated by GC and detected by MS. The limits of detection of this method for the tobacco leaves ranged from 3.3 ng to 11.4 ng. The recoveries of pesticides from the tobacco leaves ranged from 94.8% to 103.4% and the relative standard deviations (RSDs) of peak areas ranged from 5.3% to 8.6% ($n=6$). The limits of detection of this method for tea ranged from 4.2 ng to 10.5 ng. The recoveries of pesticides from tea ranged from 98.2% to 110.1% and the RSDs of peak areas were less than 9.6% ($n=6$). Therefore, this method can satisfy the requirements for the rapid analysis of pesticide residues in the tobacco leaf and tea samples.

Key words : stir bar sorptive extraction; thermal desorption; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); pyrethroid; pesticides residues; tobacco leaves; tea

拟除虫菊酯类农药是一类广谱性杀虫剂,具有高效、低毒、低残留等优点,近些年来广泛用于虫害的防治。美国、日本和欧盟等国对烟叶和茶叶中的拟除虫菊酯类农药残留量都有最高限量(MRL)规定或推荐最高限量规定^[1-2]。由于烟叶和茶叶的成分十分复杂,在进行农药残留测定时干扰物质比较多,因此为了降低方法的检出限和(或)避免基体带来干扰,需要对样品进行净化处理。目前使用最多的样品前处理技术是固相萃取(SPE),SPE虽然具有较强的选择性,但在使用过程中需经过活化、冲洗和洗脱等多个操作步骤,这些操作步骤繁琐、花费时间并且消耗一定量的有机试剂,易对环境造成污染,如果操作不当容易引起目标物的损失。为了满足茶叶和烟叶等产品中农药残留的快速检测要求,需要研究一种快速、有效的样品提取和前处理技术。

搅拌棒吸附萃取(SBSE)是一种较新的样品预处理技术,关于其原理及与固相微萃取的不同之处文献^[3]已有表述。目前,SBSE已被用来测定不同样品中的挥发性和半挥发性有机物,包括不同样品中的农药残留等^[4-8]。

本文利用SBSE和热脱附(TD)并结合气相色谱-质谱(GC-MS)来测定烟叶和茶叶中的5种拟除虫菊酯,对影响SBSE的因素(萃取时间、萃取液中的甲醇含量和氯化钠含量)和影响TD的条件(脱附温度、脱附时间和CIS-4进样口温度)进行了优化。采用外标法对烟叶和茶叶样品中的5种拟除虫菊酯类农药残留进行了定量分析,结果表明SBSE和TD应用于烟叶和茶叶中拟除虫菊酯残留的分析测定具有较高的准确度、灵敏度和较好的重现性,适用于烟叶和茶叶中拟除虫菊酯残留量的快速分析测定。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

Gerstel TDS-2 热脱附装置, Gerstel CIS-4 冷进样系统, Gerstel 玻璃热脱附管, Gerstel Twister 搅拌棒(0.5 mm 厚, 10 mm 长, 涂层为聚二甲甲基硅氧烷(PDMS)(德国)); Agilent 6890N/5973N GC-MS(美国); HP-5MS 毛细管柱(0.25 mm × 30 m × 0.25 μm, 美国); Corning 搅拌/加热台(美国)。

甲醇(HPLC级, 美国DIMA公司), NaCl(优级纯, 上海化学试剂有限公司); 氯菊酯(permethrin, 99%), 氟氯氰菊酯(cyfluthrin, 98%), 氯氰菊酯(cypermethrin, 98%), 顺式氯氰菊酯(alpha-cypermethrin, 99%)和溴氰菊酯(deltamethrin, 99%)标准品(美国Chem Service公司)。

1.2 仪器条件

热脱附条件:不分流进样;从20℃以60

℃/min的速率升至300℃,保持4min;传输线温度350℃。冷进样系统CIS-4条件:采用溶剂排空模式进样,从0℃以12℃/s的速率升至300℃,保持3min。

GC-MS条件:柱温从70℃(保持2min)以15℃/min的速率升至220℃,以5℃/min的速率升至290℃(保持3min);载气为氦气,流速1.0 mL/min;GC与MS传输线温度为280℃;电子轰击离子源(EI),离子源温度230℃,电离能70 eV;质谱仪采用选择离子监测模式(SIM)采集数据,选择监测离子(m/z):163和181(氯氰菊酯和顺式氯氰菊酯)、163和183(氯菊酯)、206和226(氟氯氰菊酯)、181和253(溴氰菊酯)。

1.3 混合标准溶液的配制

用甲醇配制氯菊酯、氟氯氰菊酯、氯氰菊酯、顺式氯氰菊酯和溴氰菊酯储备液,质量浓度分别为6.05、3.86、7.02、3.77和3.10 g/L。分别取10 mL储备液于100 mL容量瓶中,用甲醇定容,然后用甲醇逐级稀释2倍,稀释次数为5次,得到6个浓度梯度的混合标准工作溶液。

1.4 实验步骤

搅拌棒在初次使用前需进行条件标准化,方法是将5个搅拌棒放在一根空的热脱附样品管中在300℃时加热4 h,氦气流量为50 mL/min。

将烟叶和茶叶样品粉碎后过40目筛,然后装入密封袋中待用。

称取15.000 g样品(或空白样品)于三角瓶中,加入30 mL甲醇,超声萃取30 min后,取上层的甲醇萃取液2 mL加入到20 mL的顶空进样瓶中,加入18 mL蒸馏水,然后放入搅拌棒,以1 100 r/min搅拌1 h。在搅拌棒吸附萃取完成后,取出搅拌棒,用少许蒸馏水洗涤搅拌棒表面,然后用滤纸吸干表面的水分,放入热脱附样品管中。将样品管插入已冷却到20℃的TDS-2解吸室,然后热脱附仪以60℃/min的速率升温到300℃并保持4 min,加热过程中载气将目标物带入已经冷却到0℃的CIS-4中,目标物在CIS-4中低温聚焦和浓缩。在热脱附系统加热完成后,CIS-4以12℃/s的速率升温至300℃并保持3 min,将收集的目标物送入气相色谱的毛细管柱进行分离和质谱检测。

2 结果与讨论

2.1 萃取条件的优化

影响萃取的因素包括萃取时间、萃取液中的甲醇含量和NaCl含量,这些条件的优化是取2 μL混合标准溶液(氯菊酯、氟氯氰菊酯、氯氰菊酯、顺式

氯氰菊酯和溴氰菊酯的质量浓度分别为 151.0, 96.5, 175.5, 94.2 和 77.5 mg/L) 加入到 20 mL 水中来完成的(在甲醇含量的优化实验中甲醇和水的总体积为 20 mL)。

2.1.1 萃取时间

考察不同萃取时间(0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 和 16 h)对搅拌棒吸附萃取量的影响。根据 5 个拟除虫菊酯的峰面积大小(每个拟除虫菊酯的峰面积为其异构体的峰面积之和)来确定所需的萃取时间,实验结果见图 1。

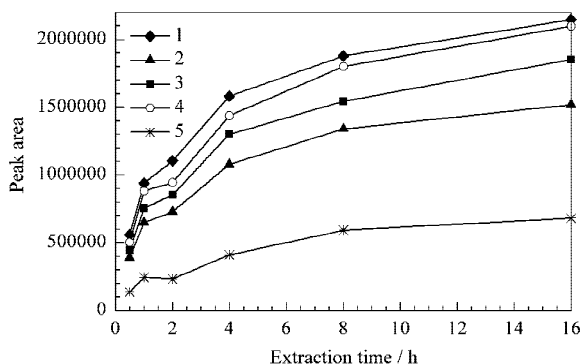


图 1 萃取时间对搅拌棒吸附萃取量的影响

Fig. 1 Effect of extraction time on the extraction amounts of compounds

1. permethrin; 2. cyfluthrin; 3. cypermethrin; 4. alpha-cypermethrin; 5. deltamethrin.

从图 1 中可以看出,5 个拟除虫菊酯的峰面积均随着萃取时间的延长而增大,萃取 16 h 时,萃取仍然未达到平衡,但是为了达到快速测定的目的,本实验选用萃取时间 1 h 来进行实验。鉴于所选的萃取时间未达到萃取平衡,为保证获得较好的重现性,实验过程中一定要严格控制好萃取时间。

2.1.2 萃取液中甲醇的含量

由于茶叶和烟叶为固体样品,不能直接用搅拌棒来进行吸附萃取,因此在进行萃取之前,先用甲醇对样品进行萃取,然后再将甲醇萃取液用蒸馏水稀释后再进行搅拌棒吸附萃取。由于用蒸馏水稀释后的甲醇萃取液中甲醇含量对目标物的回收率可能会产生影响,因此实验中用甲醇替代甲醇萃取液用水进行稀释,考察甲醇的体积分数(0, 10%, 20%, 40% 和 60%)对萃取量的影响,结果见图 2。

从图 2 可以看出,由于甲醇的含量不同,搅拌棒对各目标物的萃取量有一定的变化,甲醇所占体积分数为 10% 和 20% 时可以增加搅拌棒对目标物的萃取,但是甲醇所占体积分数为 40% 和 60% 时反而降低搅拌棒对目标物的萃取,因此本实验选取甲醇的体积分数为 10%,即在采用 SBSE 预处理前,取 2 mL 甲醇萃取液用 18 mL 水来稀释。

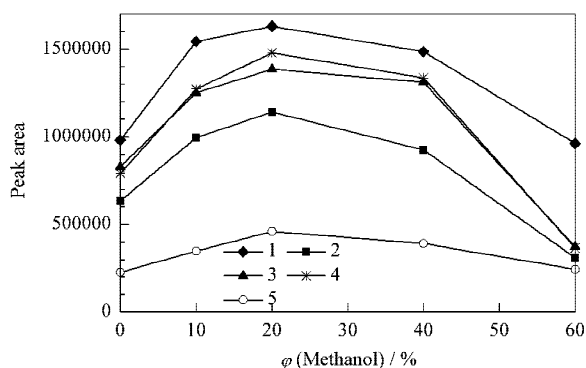


图 2 甲醇含量对搅拌棒吸附萃取量的影响

Fig. 2 Effect of methanol content on the extraction amounts of compounds

1. permethrin; 2. cyfluthrin; 3. cypermethrin; 4. alpha-cypermethrin; 5. deltamethrin.

2.1.3 萃取液中 NaCl 的含量

考察了体系中 NaCl 的质量分数(0, 5%, 10% 和 20%)对目标物萃取量的影响,结果见图 3。

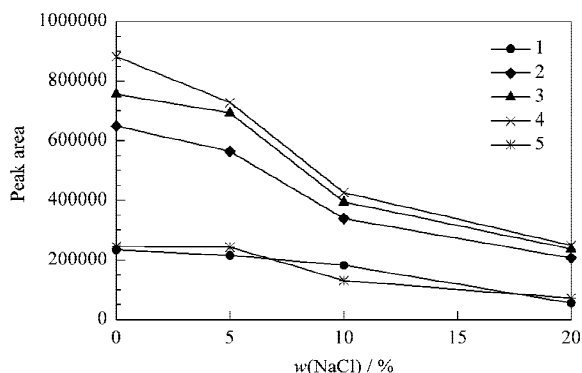


图 3 NaCl 含量对搅拌棒吸附萃取量的影响

Fig. 3 Effects of NaCl content on the extraction amounts of compounds

1. permethrin; 2. cyfluthrin; 3. cypermethrin; 4. alpha-cypermethrin; 5. deltamethrin.

结果表明,经过 NaCl 的盐析作用,搅拌棒对 5 个拟除虫菊酯的萃取量有明显的变化,盐析作用不能增加目标物的萃取量,相反随着 NaCl 含量的增加目标物的萃取量反而会降低,故实验中不添加 NaCl。

2.2 热脱附条件的优化

在相同的 SBSE 条件下,脱附温度、脱附时间和 CIS-4 冷聚焦温度这 3 个因素主要影响目标物从搅拌棒热脱附进入毛细管柱是否完全。因此固定 SBSE 条件,采用正交试验法,选 3 个因素和三水平进行正交试验,各因素和水平分别为:脱附温度(250, 280 和 300 °C)、脱附时间(2, 3 和 4 min)及 CIS-4 进样口温度(0, -50 和 -100 °C)。考察 5 个目标物的总峰面积的大小,以获得总峰面积最大的实验条件组合作为较优水平组合。实验结果表明, CIS-4

进样口温度对实验结果影响最大,脱附温度对实验结果的影响居中,脱附时间对实验结果的影响最小。较优的水平组合为搅拌棒在 300 ℃ 下脱附 4 min, CIS-4 进样口温度为 0 ℃ 时冷却收集目标物,得到 5 个目标物的总峰面积最大。

2.3 方法的评价

2.3.1 线性关系与检出限

在制作标准曲线时,分别在 2 mL 的空白样品萃

取液中加入 2 μL 不同浓度的混合标准工作溶液和 18 mL 水来进行,在上述的优化条件下进行吸附萃取、热脱附和 GC-MS 分析。以各个目标物的总峰面积(Y)对其质量(X , ng)进行回归计算,得到线性回归方程和相关系数(r),根据信噪比为 3 确定出最低检出限(LOD),结果见表 1。结果表明在所测定的含量范围内,农药峰面积与其质量的线性关系良好。

表 1 5 种拟除虫菊酯类农药的线性范围、回归方程、相关系数和检出限

Table 1 Linear ranges, regression equations, correlation coefficients and limits of detection of five pyrethroid pesticides

Pyrethroid pesticide	Tobacco leaf				Tea			
	regression equation	linear range/ng	r	LOD/ng	regression equation	linear range/ng	r	LOD/ng
Permethrin	$Y = 195.78X + 9878.2$	75.6 - 1210	0.9965	3.3	$Y = 2828.3X + 346.56$	37.8 - 605	0.9989	7.5
Cyfluthrin	$Y = 273.55X - 190.52$	48.2 - 772	0.9996	7.1	$Y = 3502X + 20512$	24.1 - 386	0.9980	6.2
Cypermethrin	$Y = 244.89X - 4036.5$	87.7 - 1404	0.9973	4.6	$Y = 3449.8X + 44.174$	43.9 - 386	0.9963	4.2
Alphacypermethrin	$Y = 204.05X - 658.91$	47.1 - 754	0.9996	5.8	$Y = 2699.4X - 7209.2$	23.5 - 377	0.9960	5.0
Deltamethrin	$Y = 75.86X - 289.43$	38.0 - 620	0.9999	11.4	$Y = 1153.1X + 3968.3$	19.4 - 310	0.9986	10.5

Y : peak area; X : mass, ng.

2.3.2 准确度和精密度

为了考察方法在测定烟叶和茶叶中拟除虫菊酯农药残留时的准确度和精密度,分别准确吸取 2 mL 的空白样品萃取液 6 份,每份中准确加入 2 μL 的混合标准溶液,5 种拟除虫菊酯的添加量为 150 ~ 351 μg/kg,按上述所选择的最优条件进行测定。计算加标回收率和 6 次测定的相对标准偏差(RSD),结果见表 2。

表 2 方法的回收率和相对标准偏差($n = 6$)

Table 2 Recovery and relative standard deviation (RSD) of the method ($n = 6$) %

Pyrethroid pesticide	Tobacco leaves		Tea	
	recovery	RSD	recovery	RSD
Permethrin	101.7	5.6	98.2	9.2
Cyfluthrin	94.8	8.6	99.5	9.6
Cypermethrin	99.0	7.2	106.4	5.0
Alphacypermethrin	103.4	6.2	110.1	9.1
Deltamethrin	97.2	5.3	102.4	6.2

从表 2 结果可见,烟叶中 5 种拟除虫菊酯的加标回收率为 94.8% ~ 103.4%,RSD 为 5.3% ~ 8.6%;茶叶中 5 种拟除虫菊酯的加标回收率为 98.2% ~ 110.1%,RSD 为 5.0% ~ 9.6%。结果表明该方法测定烟叶和茶叶中的拟除虫菊酯农药残留的准确度和精密度较好,可以满足农药残留分析的要求。

2.4 样品的测定

分别对市场上随机购买的 3 个茶叶样品和玉溪地区的 3 个烟叶样品进行测定,烟叶样品和空白加标烟叶样品的 SIM 图见图 4。测定结果表明,在 1 个茶叶样品中检出了氯菊酯(含量为 8 μg/kg)、氯氰菊酯(含量为 6.5 μg/kg)和顺式氯氰菊酯(含量

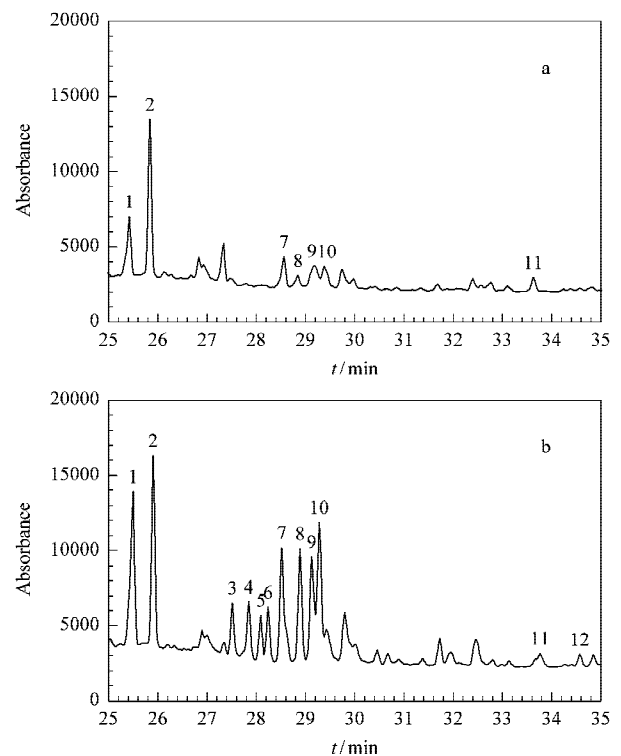


图 4 (a)烟叶样品和(b)空白加标烟叶样品的 SIM 色谱图
Fig. 4 SIM chromatograms of (a) a real tobacco leaf sample and (b) a spiked tobacco leaf sample

1 and 2: permethrin (optically active isomers); 3 - 6: cyfluthrin (optically active isomers); 7 and 8: cypermethrin (optically active isomers); 9 and 10: alphacypermethrin (optically active isomers); 11 and 12: deltamethrin (optically active isomers).

为 13.8 μg/kg),在 1 个烟叶样品中检出氯菊酯(含量为 10.0 μg/kg)、氯氰菊酯(含量为 18.0 μg/kg)、顺式氯氰菊酯(含量为 12.1 μg/kg)和溴氰菊酯(含量为 15.0 μg/kg),在其他 4 个样品中未

检出这些拟除虫菊酯类农药残留。

3 结论

本文应用 SBSE 和 TD 这种快速和新颖的前处理技术,并结合 GC-MS 测定烟叶和茶叶中拟除虫菊酯类农药残留。对影响 SBSE 和 TD 的几个因素进行了优化,得到的优化条件是:用涂有聚二甲基硅氧烷(PDMS)涂层的搅拌棒以 1 100 r/min 的转速萃取 20 mL 样品水溶液(由 2 mL 的甲醇萃取液和 18 mL 的水溶液构成,不加 NaCl),萃取 1 h,然后将搅拌棒置于 300 °C 的 TD-2 中脱附 4 min,目标物被流速为 50 mL/min 的氦气转移到冷却至 0 °C 的 CIS-4 进样口进行冷聚焦,最后 CIS-4 进样口从 0 °C 程序升温到 300 °C 将被测组分加热后转移到 GC-MS 的毛细管柱中进行分离,然后在 MS 中进行鉴定。烟叶中拟除虫菊酯的检出限为 3.3 ~ 11.4 ng,加标回收率为 94.8% ~ 103.4%,相对标准偏差为 5.3% ~ 8.6%;茶叶中 5 种拟除虫菊酯的检出限为 4.2 ~ 10.5 ng,加标回收率为 98.2% ~ 110.1%,相对标准偏差为 5.0% ~ 9.6%。实验证明该法具有较高

的准确度、灵敏度和较好的重现性,可用于烟叶和茶叶中拟除虫菊酯农药的快速分析测定。

致谢:感谢德祥科技有限公司提供搅拌棒和热脱附仪器。

参考文献:

- [1] Chen Z M. China Tea (陈宗懋. 中国茶叶), 2004, 26(6): 12
- [2] Li Y L, transl. Tobacco Science & Technology (李亚龙,译. 烟草科技), 1995(1): 46
- [3] Hou Y, Yang L, Wang B X, Xu J C, Yang Y, Yang Y, Cao Q E, Xie X G. Chinese Journal of Chromatography (侯英,杨蕾,王保兴,徐济仓,杨勇,杨燕,曹秋娥,谢小光. 色谱), 2006, 24(6): 601
- [4] Sandra P, Tienpont B, David F. J Chromatogr A, 2003, 1000: 299
- [5] Liu W M, Hu Y, Zhao J H, Xu Y, Guan Y F. J Chromatogr A, 2005, 1095: 1
- [6] Juan-García A, Picó Y, Font G. J Chromatogr A, 2005, 1073: 229
- [7] Blasco C, Font G, Picó Y. J Chromatogr A, 2002, 970: 201
- [8] Blasco C, Fernandez M, Picó Y, Font G. J Chromatogr A, 2004, 1030: 77

会 讯

岛津 GC50 周年庆典

2006 年 12 月 16 日下午,岛津公司在具有百年历史的北京饭店莱佛士 B1 宝石厅隆重举行“岛津 GC50 周年庆典”活动。岛津公司荣幸地邀请到国家科技部条件财务司吴波尔司长、国家科技部国家科技基础条件平台中心张渝英主任、中国分析测试协会副理事长兼秘书长王顺昌先生、中国色谱学会理事长中科院大连化物所张玉奎院士、广东色谱学会张汉英理事长、中国疾病预防控制中心营养与食品安全所化学污染物监控室副主任赵云峰研究员以及来自全国各地的政府官员、相关学者及岛津新老用户近 200 位宾客参加了此次庆典活动。

庆典活动由岛津国际贸易(上海)有限公司市场部经理曹磊先生主持。

庆典活动在岛津公司纪念 GC50 周年的短片中拉开帷幕。短片回顾了岛津公司 GC50 周年的发展历程,向大家展示岛津公司历代 GC 产品。岛津国际贸易(上海)有限公司董事长田中繁次先生发表庆典感言。对广大中国用户对岛津的支持表示感谢,并表示岛津公司在未来还将一如既往地为中国用户提供更加优质的仪器和服务。岛津国际贸易(上海)有限公司分析仪器事业部部长刘文玉先生介绍了岛津中国分析仪器的概况、面临的机遇和挑战、今后的工作方向等。

中国色谱学会理事长、中科院大连化物所张玉奎院士到会致辞并作了“气相色谱技术的最新进展”的学术报告,介绍了气相色谱近几年的新技术及气相色谱未来的发展方向。岛津应用技术部部长日根隆先生介绍了岛津 GC50 年的发展历程及未来 GC 的发展方向。他表示,岛津公司将以 GC 研发 50 周年为契机,向着更高、更强的目标迈进!

广东色谱学会张汉英理事长、中国疾病预防控制中心营养与食品安全所化学污染物监控室赵云峰研究员作为用户代表发言。另外,北京、辽宁和广东等地区的岛津产品用户通过视频发表了使用岛津仪器的感言。他们都对岛津公司的仪器给予他们研究工作的帮助表示感谢并希望岛津公司能为中国广大用户提供性能更加完美和先进的仪器。

晚上,在庆典活动的晚宴上,岛津国际贸易(上海)有限公司总经理马瀚嘉昭先生致祝酒词,与会宾客共同分享了岛津公司 GC50 周年的大型生日蛋糕。最后岛津制作所国际本部副部长古泽宏二先生致宴会结束语。