

魏丹, 国明, 陶星名, 等. 在线大体积进样柱切换-离子色谱法测定茶叶中的微量敌草快和百草枯农药残留 [J]. 农药, 2019, 58(1): 57-60.

## 在线大体积进样柱切换-离子色谱法测定茶叶中的 微量敌草快和百草枯农药残留

魏丹<sup>1</sup>, 国明<sup>2</sup>, 陶星名<sup>1</sup>, 阮亚男<sup>1</sup>, 姚华珍<sup>1</sup>, 张志学<sup>1</sup>, 刘催萍<sup>1</sup>

(1.杭州万向职业技术学院 环境健康与食品科技系, 杭州 310023; 2.浙江省化工研究院 分析测试中心, 杭州 310023)

**摘要:** [目的]建立茶叶中的微量敌草快和百草枯农药残留的分析检测方法。[方法]大体积(2 mL)进样后, 样品通过在线净化分离, 将敌草快和百草枯离子富集在Dionex IonPac SCG短柱中, 通过柱切换使目标离子进入分析柱Dionex IonPac SCS进行分离, 紫外检测器检测。[结果]敌草快和百草枯的线性范围分别为0.0030~2.5、0.0015~2.5 mg/kg, 相关系数分别为0.9991和0.9984, 检出限分别为0.75、0.30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 茶叶样品回收率范围为86.9%~102.9%, 精密度(相对标准偏差)小于10.1%。[结论]方法简便、检测快速、重复性良好, 在敌草快和百草枯农药残留食品安全监察方面具有很好的应用潜力。

**关键词:** 柱切换; 离子色谱法; 敌草快; 百草枯; 茶叶

**中图分类号:** TQ450.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1006-0413(2019)01-0057-04

## Determination of Low Level Diquat and Paraquat Residues in Tea by On-line Column-switching Ion Chromatography

WEI Dan<sup>1</sup>, GUO Ming<sup>2</sup>, TAO Xing-ming<sup>1</sup>, RUAN Ya-nan<sup>1</sup>,

YAO Hua-zhen<sup>1</sup>, ZHANG Zhi-xue<sup>1</sup>, LIU Cui-ping<sup>1</sup>

(1.Department of Environment, Health and Food Technology, Hangzhou Wanxiang Polytechnic, Hangzhou 310023, China;

2.Zhejiang Research Institute of Chemical Industry, Hangzhou 310023, China)

**Abstract:** [Aims] Determination of low level diquat and paraquat residue in tea was developed. [Methods] After large volume (2 mL) injection of tea sample, the on-line sample clean-up and separation was achieved and then enriched on Dionex IonPac SCG column. After column switching, the separation and determination of diquat and paraquat cation ions was performed using Dionex IonPac SCS column and UV detection. [Results] Good linearity in the range of 0.0030-2.5 and 0.0015-2.5 mg/kg was obtained with correlation coefficient ( $R^2$ ) of 0.9991 and 0.9984 for diquat and paraquat, respectively. Limits of detection ( $S/N=3$ ) were 0.75, 0.30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  for diquat and paraquat, respectively. Recoveries ranged from 86.9 to 102.9% and repeatability results were acceptable with relative standard deviation of less than 10.1%. [Conclusions] The proposed method was simple, rapid and reliable and may have the high potential as screening tools for food safety and inspection controls.

**Key words:** column-switching; ion chromatography; diquat; paraquat; tea

DOI:10.16820/j.cnki.1006-0413.2019.01.015

百草枯(paraquat)和敌草快(diquat)是内吸性触杀灭生性除草剂,已经广泛用于去除茶园、果园中的杂草,其具有高毒性,长期摄入将对人的眼睛、肝脏、肾脏及心脏造成严重的损害,给人类的健康带来危害<sup>[1]</sup>。

目前,敌草快和百草枯的检测方法主要有气相色谱法<sup>[2]</sup>、气相色谱质谱联用法<sup>[3-4]</sup>、毛细管电泳法<sup>[5-7]</sup>、液相色谱法<sup>[8-11]</sup>、液相色谱质谱联用法<sup>[12-15]</sup>等。这类强碱性季铵盐类有机化合物在常规反相高效液相色谱柱上无保留,在酸性水溶液中可以完全电离为阳离子,可用阳离子交换色谱柱分离。茶叶基质较为复杂并且茶叶中这2种除草剂的含量较低,样品的富集和净化的前处理技术十分重

要。柱切换技术是近年来发展起来的一种在线前处理技术,可以实现复杂样品进行的在线富集和净化,操作简单、快速、实用性强,广泛应用于色谱分析中<sup>[16-18]</sup>。到目前为止,基于离子色谱法柱切换技术测定茶叶中的敌草快和百草枯农药残留的文献报道较少,本方法简便、自动化程度高、检测快速、重复性好,在茶叶中的敌草快和百草枯农药残留测定中具有良好的应用潜力。

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器与试剂

Dionex ICS-3000离子色谱仪(赛默飞世尔科技有限

收稿日期:2018-05-26,修返日期:2018-10-02

作者简介:魏丹(1986—),女,河北石家庄人,博士,主要从事农药残留分析及离子色谱研究工作。E-mail:wei-dan@163.com。

公司,美国),配有柱温箱和电导检测器,一台四元梯度泵,2个六通阀;Chromleon 6.8色谱工作站(赛默飞世尔科技有限公司,美国);Milli-Q超纯水器(Milli-pore公司,美国),前处理柱为Dionex IonPac NG1,分离柱为Dionex IonPac SCS(50 mm×4 mm,i.d.),保护柱Dionex IonPac SCG(50 mm×4 mm,i.d.)(赛默飞世尔科技有限公司,美国);0.45 μm微孔滤膜(上海安谱科学仪器有限公司,中国);Ultimate 3000二级阵列管检测器(赛默飞世尔科技有限公司,美国);SBL-5DTS超声波恒温清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

百草枯、敌草快标准样品(含量98%,阿拉丁化学有限公司),Na、K、Mg、Ca为国家标准试剂,乙腈为色谱纯试剂,甲基磺酸(≥99%,Sigma-Aldrich公司),超纯水(电阻率≥18.2 MΩ·cm),由Millipore超纯水发生器产生。百草枯和敌草快的化学结构式见图1。

茶叶样品购自杭州超市。

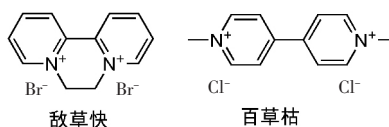


图1 敌草快和百草枯的化学结构式

## 1.2 标准溶液的配制

百草枯、敌草快标准储备液的配制:分别准确称取0.1000 g百草枯、敌草快于100 mL容量瓶中,用去离子水溶解、定容,得到1000 mg/L标准储备溶液,存放于4 °C冰箱内备用。

百草枯、敌草快混合标准溶液的配制:准确移取百草枯、敌草快标准储备液,用去离子水稀释配制成0.0005~5 mg/kg混合标准溶液,存放于4 °C冰箱内备用。

基质匹配标准溶液:称取茶叶空白样品约1 g(精确至0.0001 g)至10 mL离心管中,加入超纯水5 mL,准确移取适量混合标准工作液,浸泡15 min,超声提取30 min,经10 000 r/min离心10 min后,静置10 min,取上层清液,通过0.45 μm滤膜过滤后,配制系列空白基质匹配标准溶液。

## 1.3 样品预处理方法

将茶叶样品粉碎并过425 μm筛,粉碎后的茶叶样品混合均匀,分装于样品瓶中置于干燥器中保存。

称取茶叶样品约1 g(精确至0.0001 g)至10 mL离心管中,加入超纯水5 mL,浸泡15 min,超声提取30 min,经10 000 r/min离心10 min后,静置10 min,取上层清液,通过0.45 μm滤膜过滤后,离子色谱定量分析。

向空白绿茶、红茶、白茶和乌龙茶中分别添加高、中、低3个质量分数(0.005、0.050、1.500 mg/kg)的敌草快和百草枯标准品,经上述前处理后,每份样品平行测定3次,做添加回收率试验。

## 1.4 柱切换离子色谱法

### 1.4.1 离子色谱分析条件

前处理柱为Dionex IonPac NG1(50 mm×4 mm,i.d.),分离柱为Dionex IonPac SCS(50 mm×4 mm,i.d.),保护柱Dionex IonPac SCG(50 mm×4 mm,i.d.),非抑制电导检测,柱温30 °C,进样量2 mL,前处理柱为5 mmol/L甲基磺酸等度淋洗,分离柱为5 mmol/L甲基磺酸和20%乙腈等度淋洗,流速1 mL/min,峰面积定量,敌草快和百草枯检测波长分别为308、257 nm。

### 1.4.2 柱切换实验操作步骤

柱切换具体操作步骤表1及见图2。

表1 柱切换操作程序

操作过程	时间/min	前处理柱流动相	分析柱流动相	阀1	阀2
1.样品装载到定量环		5 mmol/L甲基磺酸	5 mmol/L甲基磺酸+20%乙腈	加载	进样
2.阀切换在线样品前处理	0~5.0	5 mmol/L甲基磺酸	5 mmol/L甲基磺酸+20%乙腈	进样	加载
3.分离目标分析物及冲洗前处理柱NG1	5.0~10.0	100%乙腈	5 mmol/L甲基磺酸+20%乙腈	加载	进样
4.分离目标分析物及平衡前处理柱NG1	10.5~20.0	5 mmol/L甲基磺酸	5 mmol/L甲基磺酸+20%乙腈	加载	加载

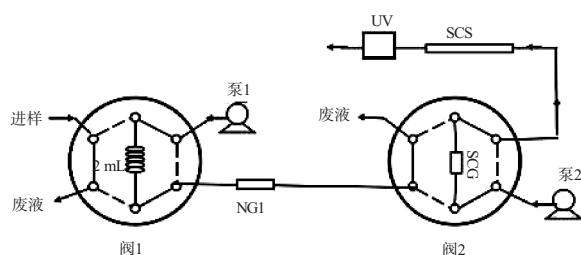


图2 柱切换系统配置图

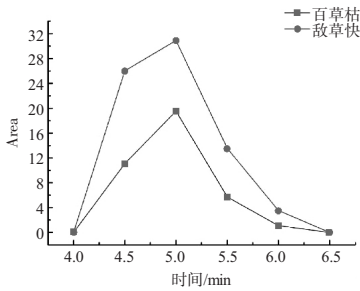
## 2 结果与讨论

### 2.1 柱切换时间的确定

装载在定量环的样品在泵流动相5 mmol/L甲基磺酸的作用下进入前处理柱IonPac NG1进行预分离,小分子有机水溶基质在反相色谱柱IonPac NG1中有保留,而敌草快和百草枯农药是强碱性的季铵盐类农药,水溶液中完全电离为阳离子,此类农药直接流入IonPac SCS柱进

行收集,然后通过阀切换,IonPac SCG柱收集的待测阳离子进入分离柱IonPac SCS进行分析。同时,泵中流动相切换成乙腈,冲洗前处理柱IonPac NG1。

首先比较了反相色谱柱IonPac NG1和C<sub>18</sub>反相色谱柱、C<sub>8</sub>反相色谱柱,相较于C<sub>18</sub>反相色谱柱和C<sub>8</sub>反相色谱柱,反相色谱柱IonPac NG1具有pH值适用范围广的特性,更适用于作为离子色谱的前处理柱。然后,将前处理柱IonPac NG1与电导检测器连接,以5 mmol/L甲基磺酸为流动相,流速为1.0 mL/min时,测定待测阳离子的出峰情况。考察前处理柱IonPac NG1柱切换时间与峰面积的关系,由图3可以看出:柱切换时间由4.0~5.0 min时,经前处理柱预处理后所收集的待测离子的峰面积逐渐增加,柱切换时间为5.0 min时,所收集的待测物峰面积最大,柱切换时间继续增加,待测物的峰面积反而下降。因此,确定当前处理柱流速为1.0 mL/min,柱切换时间为5.0 min,可以使基质最大程度的消除并且保证所有待测离子收集完全。



进样量2 mL,前处理柱流速1.0 mL/min,流动相5 mmol/L甲基磺酸,分析柱流速1.0 mL/min,流动相5 mmol/L甲基磺酸和20%乙腈,紫外检测器

图3 柱切换时间的优化

### 2.2 流动相的优化

将5 mmol/L的甲基磺酸中加入不同体积分数的乙腈(0~50%),由图4可以看出:加入20%乙腈分离度较好,保留时间较短。因此,选择5 mmol/L的甲基磺酸加入20%乙腈作为淋洗液分离目标分析物。

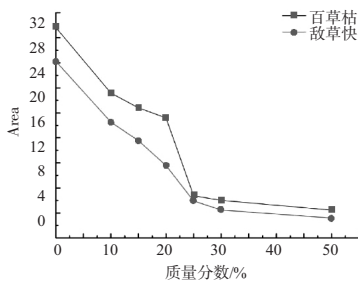
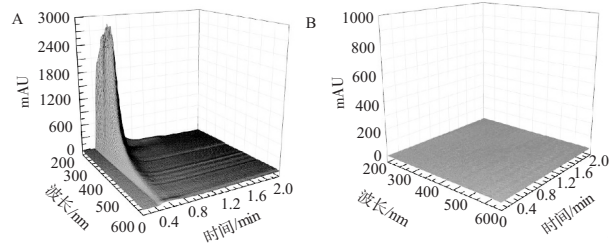


图4 乙腈质量分数对敌草快和百草枯保留时间的影响

### 2.3 茶叶样品基质的消除

茶叶基质比较复杂,含有大量水溶性有机物杂质,这些有机杂质同样不可进入分析系统。试验采用柱切换技术,通过验证试验证明柱切换技术基质消除可行性。

通过将六通阀、Dionex IonPac NG1前处理柱和紫外检测器依次连接,Ultimate 3000二级阵列管检测器的波长设定在200~400 nm,淋洗液为5 mmol/L甲基磺酸。由图5可以看出:样品经过Dionex IonPac NG1前处理柱后,有机质大大减少。



(A)实际样品直接进样,(B)实际样品柱切换处理进样(流速均为1.0 mL/min);进样体积25 μL,UV检测器波长200~400 nm,流动相5 mmol/L甲基磺酸

图5 实际样品三维图

### 2.4 方法线性范围、检出限、定量限及精密度

配制质量分数为0.0005~5 mg/kg敌草快和百草枯混合标准溶液,在优化后的柱切换离子色谱分析条件下测定,每个质量分数平行测定3次,以待测物峰面积对浓度做标准曲线,得到方法的线性方程、线性范围和相关系数,以3倍信噪比作为检出限,10倍信噪比作为定量限。

由表2可知:敌草快和百草枯的线性范围分别为0.0030~2.5、0.0015~2.5 mg/kg,相关系数分别为0.9991、0.9984。检出限分别为0.75、0.30 μg/kg;用同一质量分数混合标准溶液平行测定6次,峰面积相对标准偏差均小于2.0%,保留时间相对标准偏差均小于1.5%。

表2 方法线性、检出限、定量限及重现性 (n=5)

化合物	线性方程(y=)	R <sup>2</sup>	线性范围/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	LOD/ (μg·kg <sup>-1</sup> )	LOQ/ (μg·kg <sup>-1</sup> )	重现性/% 峰保留时 面积 间/min
敌草快	1.1256x+0.4615	0.9991	0.0030~2.5	0.75	2.20	2.0 1.5
百草枯	1.5617x+2.2198	0.9984	0.0015~2.5	0.30	0.90	1.8 1.1

### 2.5 实际样品添加回收率

将空白茶叶样品通过优化后的试验条件进行分析,采用外标法定量,检测结果见表3,实际样品色谱图见图6,每份样品平行测定5次,取平均值。同时,对实际样品进行3水平加标试验,每个加标量平行测定3份实际样品,计算添加回收率,添加回收率和精密度结果见表3。

表3 实际样品回收率 (n=5)

化合物	添加质 量分数/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	白茶		绿茶		红茶		乌龙茶	
		回收 率/%	RSD/ %	回收 率/%	RSD/ %	回收 率/%	RSD/ %	回收 率/%	RSD/ %
敌草快	0.005	98.4	5.0	90.1	7.0	96.2	10.1	90.9	4.9
	0.05	90.6	4.2	90.5	8.2	98.2	5.9	100.0	6.0
	1.5	92.2	8.0	102.9	5.3	96.4	6.0	99.8	5.9
百草枯	0.005	90.9	4.8	96.0	6.0	86.9	7.9	92.0	8.9
	0.05	97.9	5.9	98.2	8.3	105.1	5.9	93.9	8.9
	1.5	101.1	5.9	95.3	6.9	89.1	9.0	94.9	8.6

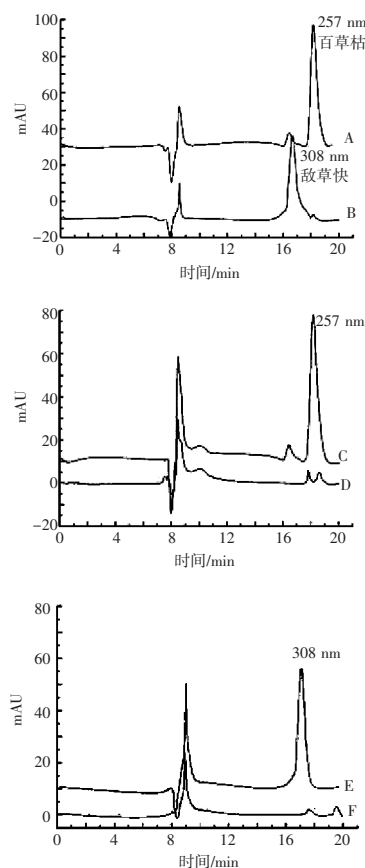


图6 实际样品色谱图

### 3 小结

建立了大体积进样柱切换离子色谱法测定的方法,此方法前处理简便、检测快速,灵敏度高,用于茶叶中敌草快和百草枯农药残留含量的检测,试验通过大体积进样,然后采用Dionex IonPac NG1柱对茶叶中的敌草快和百草枯进行在线净化,Dionex IonPac SCG对目标离子进行收集,最后通过Dionex IonPac SCS分析柱进行分离,紫外检测器进行检测。所建立方法操作简便、分析速度快、重复性好,适用于测定茶叶样品中微量敌草快和百草枯农药残留。

#### 参考文献:

- [1] 陈静, 刘召金, 安保超. 在线净化/固相萃取-高效液相色谱法测定饮用水和环境水体中的百草枯和敌草快[J]. 色谱, 2012, 3(10): 1068-1073.
- [2] 陈姗姗, 邓晓, 刘景坤, 等. 百草枯检测方法的研究进展[J]. 农药, 2014, 53(1): 4-6.
- [3] GAO Li-na, LIU Jun-ting, YUAN Hui-ya, *et al.* Solid-phase Microextraction Combined with GC-MS for Determination of Diquat and Paraquat Residues in Water[J]. Chromatographia, 2015, 78(1/2): 125-130.
- [4] SAITO T, FUKUSHIMA T, YUI Y, *et al.* Monolithic Spin Column Extraction and GC-MS for the Simultaneous Assay of Diquat, Paraquat and Fenitrothion in Human Serum and Urine[J].

- Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011, 400(1): 25-31.
- [5] PEREZ-RUIZ T, MARTINEZ-LOZANO C, SANZ A, *et al.* Simultaneous Determination of Diquat and Paraquat Residues in Various Matrices by Capillary Zone Electrophoresis with Diode Array Detection[J]. Chromatographia, 1996, 43(9/10): 468-472.
- [6] SONG X, BUDDER W. Capillary Electrophoresis-electrospray Mass Spectra of the Herbicides Paraquat and Diquat[J]. Journal of American Society for Mass Spectrometry, 1996(7): 981-986.
- [7] MOYANO E, GAMES D, GALCERAN M. Determination of Quaternary Ammonium Herbicides by Capillary Electrophoresis/Mass Spectrometry[J]. Rapid Communication Mass Spectrometry, 1996, 10(11): 1379-1385.
- [8] IBANEZ M, PICO Y, MANES J. On-line Liquid Chromatographic Trace Enrichment and High Performance Liquid Chromatographic Determination of Paraquat and Difenzoquat in Water[J]. Journal of Chromatography A, 1996, 728(1/2): 325-331.
- [9] CHICHILA T M P, GILVYDIS D M. Determination of Paraquat and Diquat in Low-moisture Food Crops Using Silica Column Cleanup and Liquid Chromatography with UV Detection [J]. Journal of AOAC International, 1993, 76(6): 1323-1328.
- [10] MARR J C, KING J B. A Simple High Performance Liquid Chromatography/Ionspray Tandem Mass Spectrometry Method for the Direct Determination of Paraquat and Diquat in Water[J]. Rapid Communication in Mass Spectrometry, 1997, 11(5): 479-483.
- [11] JANECEK M, QUILLIAM M A, LAWRENCE J F. Analysis of Paralytic Shellfish Poisoning Toxins by Automated Pre-column Oxidation and Microcolumn Liquid Chromatography with Fluorescence Detection[J]. Journal of Chromatography, 1993, 644(2): 321-331.
- [12] YOSHIDA M, WATABIKI T, TOKIYASU T, *et al.* Determination of Paraquat and Diquat by Liquid Chromatography-thermospray Mass Spectrometry[J]. Journal of Chromatography, 1993, 628(2): 235-239.
- [13] BARCELO D, DURAND G, VREEKEN R J. Determination of Quaternary Amine Pesticides by Thermospray Mass Spectrometry[J]. Journal of Chromatography, 1993, 647(2): 271-277.
- [14] KAMBHAMPATI I, ROINESTAD K, HARTMAN T, *et al.* Determination of Diquat and Paraquat in Water Using HPLC with Confirmation by Liquid Chromatography-particle Beam Mass Spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 1994, 688(1/2): 67-73.
- [15] HAO Chun-yan, ZHAO Xiao-ming, MORSE D, *et al.* Optimized Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Approach for the Determination of Diquat and Paraquat Herbicides[J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1304: 169-176.
- [16] 谢佩瑾, 张钦杰, 孙剑英, 等. 应用离子色谱-液相色谱柱切换法测定草甘膦异丙胺盐[J]. 农药, 2017, 56(9): 655-657.
- [17] ALTUNOK M, KONIG A, AHMED W M M, *et al.* Automated Determination of Sulfadiazine in Water, Fish Plasma and Muscle by HPLC with On-line Column-switching [J]. Clean-Soil Air Water, 2016, 44(8): 967-974.
- [18] 王海霞, 赵清华. 草铵膦原药中铵离子的离子色谱分析[J]. 农药, 2017, 56(6): 426-428.

责任编辑:李新