

气相色谱 质谱法测定茶叶中的 25 种有机氯农药残留

赵琼晖, 靳保辉, 谢丽琪, 吴卫东, 蓝芳, 林黎, 韩瑞阳
(深圳出入境检验检疫局, 广东 深圳 518067)

摘要: 利用气相色谱 质谱(GC-MS)联用技术建立了茶叶中 25 种有机氯农药残留同时测定的方法。茶叶样品中有
机氯农药残留通过正己烷 丙酮(体积比为 2:1)溶液提取, 浓缩后过弗罗里硅土柱净化, 采用正己烷 乙酸乙酯(体
积比为 9:1)溶液淋洗 GC-MS 选择离子监测模式(SIM)检测。方法的线性范围为 0.010~0.500 mg/L。在茶叶样
品中 0.01~0.20 mg/kg 加标水平下有机氯混标的加标回收率为 70.8%~105.5% 相对标准偏差为 1.6%~
12.7%。除硫丹 I 和硫丹 II 的定量限为 0.02 mg/kg 以外, 其余 23 种有机氯农药的定量限均为 0.01 mg/kg。
关键词: 气相色谱 质谱; 有机氯农药; 茶叶
中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2006)06-0629-04 栏目类别: 研究论文

Determination of 25 Organochlorine Pesticides in Tea by
Gas Chromatography Mass Spectrometry

ZHAO Qionghui, JIN Baohui, XIE Liqi, WU Weidong, LAN Fang, LIN Li, HAN Ruiyang
(Shenzhen Entry Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shenzhen 518067, China)

Abstract: A high performance gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) method for the
determination of 25 organochlorine pesticides in tea has been developed. The samples of tea were
extracted with *n* hexane acetone (2:1, v/v). The extract was purified by using a Florisil column
with *n* hexane ethyl acetate (9:1, v/v) as elution solvent. Chromatographic analysis was per
formed on a DB 35MS capillary column. Satisfactory separation and sensitivity of 25 organochlo
rine pesticides were obtained with the proposed method. The analytical results show the working
curves for 25 organochlorine pesticides were linear in the range of 0.010–0.500 mg/L by GC-MS
on selective ion monitoring mode. The recoveries of 25 organochlorine pesticides at spiked levels
of 0.01–0.20 mg/kg were 70.8%–105.5% and relative standard deviations (RSDs) were 1.6%
–12.7%. The limits of quantitation were 0.01 mg/kg except that for endosulfan I and endosul
fan II that were 0.02 mg/kg.

Key words: gas chromatography mass spectrometry (GC-MS); organochlorine pesticides; tea

有机氯农药(organochlorine pesticides)曾因广
谱、高效、价廉而被广泛使用^[1-2]。有机氯农药的脂
溶性强, 容易在食物链中蓄积, 最终进入人体并对人
体产生慢性毒害作用, 动物实验证实其有致畸、致癌
作用。六六六、滴滴涕等有机氯农药在很多国家已
相继被禁用, 我国也在 1984 年停止使用这两种农
药。由于此类农药理化性质稳定, 易在生物体内富
集, 半衰期长达数年, 在自然界极难分解, 因此各类
食品中有机氯农药残留超标的现象时有发生。我国
茶叶种植中曾较广泛地使用过有机氯农药, 因此茶
叶中有机氯农药残留超标的现象较为严重。

目前国内外茶叶中有机氯的检测主要采用气相

色谱法^[3-4] 和气相色谱 质谱法^[5-6], 但最多只能同
时检测十几种有机氯农药^[7-9]。而且由于茶叶样品
的提取物极其复杂, 在气相色谱分析中干扰物与待
测物在同一根色谱柱上具有相同保留时间的现象经
常发生, 因此极易造成测定结果的假阳性。本文
采用气相色谱 质谱法(GC-MS)在选择离子监测模
式下对茶叶中 25 种有机氯农药的残留量直接进行
了分析, 较好地排除了复杂基体的测定干扰。该法
在定性确证的同时, 建立了定量分析的方法, 且各项
技术指标均满足目前残留检测的要求和欧盟等
国家与组织最高残留限量(MRL)要求, 可同时检测
25 种有机氯农药, 大大提高了目前茶叶中有机氯农

收稿日期: 2005 12 31
第一作者: 赵琼晖, 女, 工程师, Tel: (0755) 26677383, E-mail: zqh@hotmail.com.
通讯联系人: 靳保辉, 男, 工程师, Tel: (0755) 26816888, E-mail: jbaohui@163.com.
基金项目: 国家“十五”食品安全重大科技专项课题(2001BA804A17 01 1)。

的多残留检测能力。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 6890 5975 型气相色谱 质谱仪(美国),配有电子轰击离子源(EI)。DB 35MS 石英毛细管柱: 30 m×0.25 mm i. d.×0.25 μm; 旋涡混合仪(MS2 Minishaker, 中国); 吹氮浓缩仪(Zymark, 美国); 离心机(Hettich, 德国); 固相萃取装置(美国 Agilent); 离心管: 15 mL; 弗罗里硅土柱(Agilent, 美国): 1 000 mg/6 mL。

除另有说明外,所用试剂均为分析纯,水为二次去离子水。正己烷为色谱纯; 丙酮、乙酸乙酯为优级纯; 氯化钠、无水硫酸钠为分析纯,无水硫酸钠在 650 ℃下灼烧 4 h,置于干燥器中备用。

有机氯农药标准品: 六六六的 4 种异构体(α BHC、β BHC、γ BHC、δ BHC)、滴滴涕的 4 种异构体(*p,p'*-DDE、*o,p'*-DDT、*p,p'*-DDD、*p,p'*-DDT)、六氯苯、五氯硝基苯、七氯、环氧七氯、艾氏剂、狄氏剂、异狄氏剂、硫丹 I 和硫丹 II 购自农业部环境保护科研检测所,质量浓度为 100 mg/L; 顺式氯丹和反式氯丹购买自 Sigma,质量浓度为 10 mg/L; 异艾氏剂(纯度 98.0%)、四氯硝基苯(99.5%)、土菌灵(97.5%)、灭蚁灵(98.0%)、八氯二丙醚(98.0%)、乙酯杀螨醇(99.5%)和百菌清(98.0% 内标)购自 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司。

1.2 样品前处理

将 100 g 茶叶样品磨碎成粉,置于离心管中,加入 1 g 氯化钠和 3 mL 水,用旋涡混合仪高速振荡 3 min,再加入 3 mL 正己烷 丙酮(体积比为 2:1)混合液,振荡提取 3 min,离心,将上层提取液移至另一离心管中,残渣反复提取两次,合并提取液,于 40 ℃水浴中吹入氮气使其浓缩至 1~2 mL。

在弗罗里硅土固相萃取小柱中填装 1 cm 高的无水硫酸钠,并用 2 mL 丙酮淋洗 3 次。然后将提取液倾入弗罗里硅土柱中,弃去流出液,再用 10 mL 正己烷 乙酸乙酯(体积比为 9:1)混合液进行洗脱。收集洗脱液,于 40 ℃水浴中吹氮浓缩至干,用正己烷溶解并定容至 1.0 mL,供气相色谱 质谱分析。

1.3 分析条件

GC 条件: 进样口温度 250 ℃,不分流进样,柱温采用程序升温。升温程序如下: 初始温度 50 ℃,保持 1 min 后,以 25 ℃/min 的升温速率升至 100 ℃并保持 3 min,再以 10 ℃/min 的升温速率升至 200 ℃,然后以 3 ℃/min 的升温速率升至 280 ℃,最后以 20 ℃/min 的升温速率升至 320 ℃并保持 1

min。传输线温度 300 ℃; 载气为氦气,总流量 1.5 mL/min。

MS 条件: 电子轰击(EI)电离模式,电离能 70 eV; 检测器温度 230 ℃; 溶剂延迟 5.0 min; 扫描范围 50~400 u。

2 结果和讨论

2.1 提取溶液的选择

茶叶中含有大量的色素,前处理难度较高。本文选择不同配比的正己烷 丙酮混合液作提取溶液,由添加回收实验比较发现,正己烷和丙酮的体积配比为 1:1 时提取回收率最高(85.3%),但共提取的色素较多,测定干扰大; 正己烷和丙酮的体积比大于 2:1 时,提取到的干扰物较少,且提取回收率较高(在其体积比分别为 2:1,4:1,6:1 和 8:1 时,提取回收率分别为 84.1% 80.8% 77.9% 和 73.4%),因此选择正己烷 丙酮(2:1)溶液为提取溶液。

2.2 净化条件的选择

有机氯农药残留分析中的净化多选用固相萃取法、凝胶渗透法和磺化法等。磺化法操作简单,净化效果较好,但七氯、艾氏剂、狄氏剂、异狄氏剂等有机氯农药在磺化过程中损失较大,回收率低^[10]。而凝胶渗透法仪器设备昂贵,不易推广使用^[11]。本文选用液 液分配和固相萃取法净化,即采用正己烷 丙酮 水相液液分配后,去除部分色素干扰,然后通过固相萃取柱。经小柱净化可以去除大部分的色素与其他干扰物质,基本满足检测要求。比较了 Florisil 硅土、中性氧化铝、活性炭 3 种固相萃取柱的净化效果,典型组分的回收率见图 1。可见经活性炭柱净化后,有机氯农药组分的回收率较低,而 Florisil 硅土、中性氧化铝柱对有机氯净化后回收率均在 80% 以上,但相近的回收率条件下,中性氧化铝柱消耗的

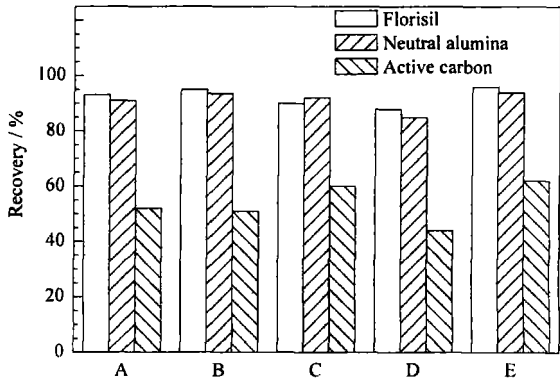


图 1 不同固相萃取柱对有机氯农药回收率的影响

Fig. 1 Effects of SPE columns on the recoveries of organochlorines

A: α BHC; B: aldrin; C: trans chlordane; D: endosulfan II; E: chlorobenzilate.

洗脱溶剂较多。因此净化时选择 Florisil 硅土柱。

2.3 洗脱剂及用量的选择

洗脱剂的选择直接关系到测定结果的回收率。由于待测的 25 种有机氯农药的极性范围较宽, 单一溶剂不能将待测组分洗脱完全。本文比较了不同体积比的正己烷 丙酮溶液和正己烷 乙酸乙酯溶液, 发现以正己烷 乙酸乙酯(体积比为 9:1)洗脱, 回收率最高。正己烷 乙酸乙酯洗脱液的柱洗脱曲线(见图 2)表明, 对于有机氯农药标准溶液, 10 mL 左右的淋洗液用量回收率达到 90% 以上, 因此柱净化过程选择 10 mL 正己烷 乙酸乙酯洗脱液。

2.4 质谱条件的优化

通过 SCAN 模式获得总离子流色谱图(TIC), 由于 SCAN 模式通常不能提供痕量分析中必要的灵敏度, 因此根据 TIC 中目标化合物的保留时间和

相应的质谱棒图, 确定 SIM 模式的分析条件。25 种有机氯农药及内标物的保留时间和相应选择离子见表 1, 其中丰度为 100% 的离子为定量离子。

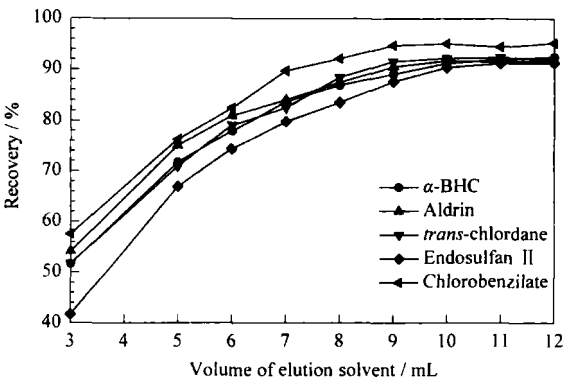


图 2 洗脱曲线
Fig. 2 Elution curve
Elution solvent: *n* hexane ethyl acetate (9:1, v/v).

表 1 有机氯农药的保留时间和特征选择离子及其相对丰度
Table 1 Retention times (*t_R*), characteristic ions and their relative abundance of organochlorine pesticides

<i>t_R</i> in TIC/min	Organochlorine compound	Time in SIM/min	Selected ions (<i>m/z</i>) and their relative abundances (%)
13.607	etridiazole (土菌灵)	5.00	211(100), 183(80), 185(53), 213(65)
15.812	tecnazene (四氯硝基苯)	15.00	203(100), 178(42), 215(77), 261(64)
16.933	HCH 六氯苯	16.30	284(100), 286(79), 214(20), 249(29)
17.271	α BHC (α 六六六)	17.10	183(100), 181(98), 219(88), 111(57)
18.096	quintozene (五氯硝基苯)	17.70	237(100), 214(62), 249(71), 95(83)
18.421	γ BHC (γ 六六六)	18.30	181(100), 109(112), 183(101), 219(107)
19.320	β BHC (β 六六六)	18.90	219(100), 109(91), 181(94), 183(91)
19.588	heptachlor (七氯)	19.44	272(100), 100(124), 237(29), 274(79)
19.831	octachlorodipropylether (八氯二丙醚)	19.70	130(100), 132(99), 83(67), 109(32)
20.276	δBHC (δ 六六六)	20.10	181(100), 109(112), 183(101), 219(107)
20.441	chlorothalonil (百菌清, IS)	20.35	266(100), 124(62), 229(9), 268(49)
20.680	aldrin (艾氏剂)	20.55	263(100), 66(186), 265(66), 293(45)
22.296	isodrin (异艾氏剂)	21.50	193(100), 147(34), 263(37), 195(80)
23.273	heptachlor epoxide (环氧七氯)	22.50	353(100), 81(106), 263(20), 355(38)
23.990	cis chlordane (顺式氯丹)	23.60	373(100), 272(45), 375(99), 377(48)
24.435	trans chlordane (反式氯丹)	24.20	373(100), 375(98), 377(53), 272(11)
24.588	endosulfan I (硫丹 I)	25.00	241(100), 339(71), 265(63), 207(70)
25.643	<i>p, p'</i> -DDE (<i>p, p'</i> -滴滴伊)	25.00	246(100), 318(68), 248(64), 176(29)
25.952	dieldrin (狄氏剂)	26.90	263(100), 79(495), 108(76), 277(75)
27.209	chlorobenzilate (乙酯杀螨醇)	26.90	251(100), 139(87), 253(71), 111(37)
27.453	endrin (异狄氏剂)	27.70	263(100), 81(101), 265(65), 261(63)
27.959	α <i>p'</i> -DDT (α <i>p'</i> -滴滴涕)	27.70	235(100), 236(15), 199(10), 165(28)
28.565	<i>p, p'</i> -DDD (<i>p, p'</i> -滴滴滴)	28.20	235(100), 237(63), 199(130), 165(41)
28.908	endosulfan II (硫丹 II)	28.75	195(100), 241(86), 339(61), 227(60)
29.979	<i>p, p'</i> -DDT (<i>p, p'</i> -滴滴涕)	29.60	235(100), 165(43), 199(13), 237(65)
34.839	mirex (灭蚁灵)	34.50	272(100), 237(46), 270(54), 274(75)

2.5 线性范围和定量限

对 25 种有机氯农药进行了测定, 内标法定量, 总离子流色谱图见图 3。测定结果表明, 在 0.010 ~ 0.500 mg/L 范围内农药的质量浓度与响应值均有良好的线性关系, 除硫丹 I 和硫丹 II 的定量限为 0.02 mg/kg 以外, 其余 23 种有机氯农药的定量限均为 0.01 mg/kg, 具体数据见表 2。

2.6 方法的回收率和精密度

在茶叶样品中分别添加 0.01, 0.02, 0.05, 0.10, 0.20 mg/kg 水平的有机氯农药及一定浓度的

内标物, 每一水平平行测定 8 次。实验结果表明, 方法的总体平均回收率为 70.8%~105.5% 平均相对标准偏差为 1.6%~12.7%。

3 结论

本方法的前处理过程简单, 利用 GC/MS 选择离子监测模式, 选择特征性强的离子为监测离子, 较好的排除了基体干扰, 分析灵敏度高。经实验表明, 方法的回收率、精密度满足检测要求, 适合于茶叶中 25 种有机氯农药残留量同时定性及定量分析。

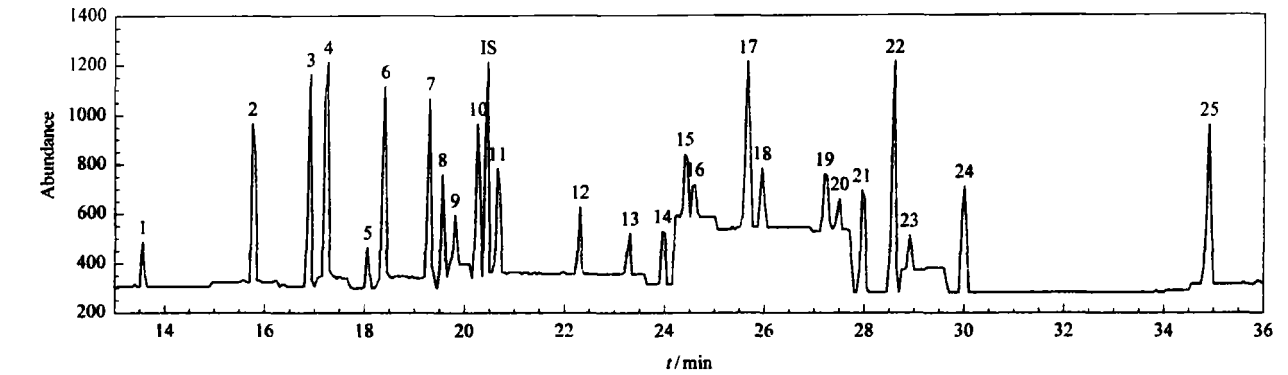


图 3 0.01 mg/L 有机氯农药标准溶液的总离子流色谱图

Fig 3 TIC chromatogram of 0.01 mg/L mixed organochlorine pesticide standard solution

1. etridiazole; 2. tecnazene; 3. HCB; 4. α BHC; 5. quintozene; 6. γ BHC; 7. β BHC; 8. heptachlor; 9. octachlorodipropylether; 10. δBHC; 11. aldrin; 12. isodrin; 13. heptachlor epoxide; 14. cis chlordane; 15. trans chlordane; 16. endosulfan I; 17. p, p' DDE; 18. dieldrin; 19. chlorobenzilate; 20. endrin; 21. α, p DDT; 22. p, p' DDD; 23. endosulfan II; 24. p, p' DDT; 25. mirex; IS; chlorothalonil; 0.100 mg/L.

表 2 25 种有机氯农药的线性关系及检出限与定量限

Table 2 Regression equations correlation coefficients (r), limits of detection and limits of quantitation of 25 organochlorines

Organochlorine	Regression equation	r	Limit of detection/(μg/L)	Limit of quantitation/(μg/kg)
Etridiazole	$Y=0.546X-0.0151$	0.9967	3.0	10.0
Tecnazene	$Y=2.801X-0.0433$	0.9975	3.0	10.0
α BHC	$Y=1.581X+0.0355$	0.9958	3.0	10.0
HCB	$Y=5.05X+0.142$	0.9993	3.0	10.0
β BHC	$Y=1.28X+0.00442$	0.9975	3.0	10.0
Quintozene	$Y=0.747X-0.0141$	0.9968	5.0	10.0
γ BHC	$Y=1.42X+0.0108$	0.9981	3.0	10.0
δBHC	$Y=0.981X+0.00908$	0.9973	3.0	10.0
Heptachlor	$Y=1.12X-0.111$	0.9972	4.5	10.0
Octachlorodipropylether	$Y=0.964X+0.115$	0.9971	4.5	10.0
Aldrin	$Y=1.09X+0.0329$	0.9962	4.5	10.0
Isodrin	$Y=1.71X+0.021$	0.9959	4.5	10.0
Heptachlor epoxide	$Y=0.289X+0.00158$	0.9964	4.5	10.0
trans Chlordane	$Y=2.22X-0.000897$	0.9969	4.0	10.0
Endosulfan I	$Y=0.41X+0.411$	0.9971	5.0	20.0
cis Chlordane	$Y=1.93X+0.00239$	0.9982	4.0	10.0
Dieldrin	$Y=0.617X+0.0374$	0.9978	4.5	10.0
p, p' DDE	$Y=4.12X-0.0207$	0.9979	3.0	10.0
α, p DDT	$Y=2.08X-0.352$	0.9966	3.0	10.0
Endrin	$Y=3.65X-0.187$	0.9975	5.0	10.0
Endosulfan II	$Y=0.437X-0.00827$	0.9969	5.0	20.0
Chlorobenzilate	$Y=2.17X-0.0809$	0.9986	3.0	10.0
p, p' DDD	$Y=9.51X+0.444$	0.9978	3.0	10.0
p, p' DDT	$Y=8.30X+0.00378$	0.9957	3.0	10.0
Mirex	$Y=9.25X+0.0218$	0.9986	2.5	10.0

Y: one percent of the peak area of compound; X: mass concentration of compound, μg/L.

参考文献:

[1] Yan Zheng, Feng Di, Li Shenjie, Zhao Yakui, Yang Hui. Chinese Journal of Chromatography (阎正, 封棣, 李申杰, 赵亚奎, 杨慧. 色谱), 2005, 23(3): 308

[2] Zhao Xiaomeng, Yu Tongquan, Zhu Gaoqun, Lu Ping, Yang Liu, Wang Shuying, Wang Jianli. Chinese Journal of Chromatography (赵晓萌, 于同泉, 朱高群, 路苹, 杨柳, 王淑英, 王建立. 色谱), 2005, 23(3): 328

[3] Professional Standard of the People's Republic of China for Entry Exit Inspection and Quarantine (中华人民共和国进出口商品检验行业标准), SN 0497 1995

[4] GB/T 5009. 146 2003

[5] Xu Hua, Cao Hong, Cai Xuefeng, Lin Li. Journal of Instrumental Analysis (许华, 曹红, 蔡雪凤, 林立. 分析测试学报), 2004, 23(Suppl): 270

[6] Sadao Nakamura. Tropical Agricultural Engineering (热带农业工程), 2002 (4): 30

[7] Zhao Yunfeng, Chen Jianmin, Wang Xuqing. Journal of Hygiene Research (赵云峰, 陈建民, 王绪卿. 卫生研究), 1998, 27(6): 425

[8] Luo Fengjian, Liu Guangming, Chen Zongmao. Modern Scientific Instruments (罗逢健, 刘光明, 陈宗懋. 现代科学仪器), 2003(1): 13

[9] Hao Guiming, Li Huanxin, Zhao Chunjie, E Yunjuan. Food Science (郝桂明, 李欢欣, 赵春杰, 鄂蕴娟. 食品科学), 2001, 22(11): 73

[10] Doong R A, Lee C Y. Analyst, 1999, 124(9): 1 287

[11] Furusawa N, Okazaki K, Iriguchi S, Yamaguchi H, Saitoh M. J AOAC Int, 1998, 81(5): 1 033