

## 固相萃取法用于茶叶中有机杂环类农药残留量的测定

### 1 前言

茶叶是一种天然的保健饮料药物，具有独特的香气，口感以及抗癌，延缓衰老等药用和保健功效。饮茶有利于健康，然而茶叶的质量安全，特别是茶叶中农药污染的问题，一直影响着茶叶的健康消费。茶叶基质复杂，要检测的残余农药种类多，性质差异大，直接通过仪器时不能达到精确检验，需要经过精细的样品前处理过程进行分离富集。因此准确测定茶叶中的农药残留不仅需要高灵敏的痕量检测技术，还需要高效快速的样品前处理技术。

### 2 仪器与试剂

#### 2.1 仪器

SPE400 全自动机械臂固相萃取仪；气相色谱-质谱联用仪；粉碎机；离心机；氮吹仪

#### 2.2 试剂及耗材

丙酮；正己烷；氯化钠；无水硫酸钠；活性炭固相萃取小柱，3ml，填充物 250mg；中性氧化铝固相萃取小柱，3ml，填充物 250mg

丙酮-正己烷（1+3）溶液：取 100 mL 丙酮，加入 300 mL 正己烷，摇匀备用；

丙酮-正己烷（2+1）溶液：取 200 mL 丙酮，加入 100 mL 正己烷，摇匀备用。

### 3 实验方法

#### 3.1 实验步骤

### 3.1.1 取样

茶叶样品经过粉碎后通过孔径为 0.84mm 筛，混匀。



### 3.1.2 提取

准确称取 1g 均匀试样于 10mL 离心管中，加入 1g 氯化钠，加入 2mL 蒸馏水，于混匀器上混匀 30s，放置 30min，再加入 4mL 丙酮和正己烷混合液，在混合器上混匀 2min。在 2500 r/min 下离心 1min，吸取上层正己烷提取液于另一 15mL 刻度试管中。再分别加入 2mL 丙酮和正己烷混合液重复提取两次，合并提取液，加入 1g 无水硫酸钠干燥。将干燥后的提取液完全转移至样品管中，后在氮吹仪上 50°C 下氮吹至约 1mL，待净化。



(加入 NaCl 后)



(加入蒸馏水后)



(离心前)



(离心后)



(氮吹前)



(氮吹后)

### 3.1.3 固相萃取仪器设定

过程	试剂名称	用量	速度	等待时间	空气助推	次数
活化	丙酮	1mL	0.5mL/min	0s	1mL	3
	正己烷	1mL	0.5mL/min	0s	1mL	3
上样		1mL	2mL/min	0s	2mL	2
润洗上样	正己烷	1mL	60mL/min	0s	2mL	2
洗脱	丙酮+正己烷 (2+1)	6mL	3mL/min	5s	2mL	1

将收集的洗脱液置于 50℃下氮气流吹至近干。最后用正己烷定容于 0.5 mL，供色谱分析备用。

### 3.1.4 色谱测定条件

色谱柱：石英毛细管柱，5%苯基甲基聚硅氧烷固定相。30m\*0.2mm（内径），膜厚 0.25um，或相当者；

色谱柱温度：70℃保持 2min，以 8℃/min 上升至 180℃，再以 3℃/min 上升至 280℃，保持 18min；

进样口温度：250℃；

色谱-质谱接口温度：220℃；

载气：氦气（纯度 > 99.995%），0.6mL/min；

进样量：1uL；

进样方式：无分流进样，1min 后开阀；

电离方式：EI；

电离能量：70ev；

测定方式：选择离子监测方式；

监测离子（m/z）：见下表；

溶剂延迟：15min。

9 种杂环类农药的监测离子

农药	采集时间/min	监测离子（m/z）
莠去津	15~20	173,187,200 <sup>a</sup> ),215
乙烯利核利	20~25	187,198,212 <sup>a</sup> ),285

腐霉利	25~26.5	96 <sup>a)</sup> ,255,283,285
氟菌唑	25~26.5	219,248,278 <sup>a)</sup> ,287
抑霉唑	26.5~28.2	173 <sup>a)</sup> ,215,240,296
噻嗪酮	28.2~30.5	105 <sup>a)</sup> ,172,175,305
丙环唑	30.5~36	173 <sup>a)</sup> ,191,259,261
氯苯嘧啶醇	36~40.5	139 <sup>a)</sup> ,219,251,330
哒螨灵	40.5~43	117,147 <sup>a)</sup> ,309,364
a)标记离子为定量离子		

### 3.1.5 色谱测定

根据样液中莠去津、乙烯菌核利、腐霉利、氟菌唑、抑霉唑、噻嗪酮、丙环唑、氯苯嘧啶醇、哒螨灵的含量情况，选定峰面积相近的标准工作溶液。标准工作溶液和样液中莠去津、乙烯菌核利、腐霉利、氟菌唑、抑霉唑、噻嗪酮、丙环唑、氯苯嘧啶醇、哒螨灵的响应值均应在仪器检测的线性范围内。对标准工作液的样液等体积参插进样测定。

### 3.1.6 质谱确证

对标准溶液及样液进行测定，如果样液中与标准溶液相同的保留时间有峰出现，则对其进行质谱确证。当待测物全部监测离子的相对丰度与标准品一致，且相似度正负 10%之内时，可确证此待测物。在上述气相色谱-质谱条件下，9 种杂环类农药的保留时间及监测离子丰度比 (m/z)见下表。

9种杂环类农药的保留时间和监测离子丰度比

农药	保留时间/min	监测离子丰度比
莠去津	18.14	173 : 187 : 200 : 215 ( 26:3:100:58 )
乙烯利核利	21.09	187 : 198 : 212 : 285 ( 74:89:100:86 )
腐霉利	25.46	96 : 255 : 283 : 285 ( 100:8:69:5 )
氟菌唑	25.67	219 : 248 : 278 : 287 ( 18:7:100:53 )
抑霉唑	27.33	173 : 215 : 240 : 296 ( 76:100:9:6 )
噻嗪酮	28.30	105 : 172 : 175 : 305 ( 100:35:25:6 )
丙环唑	32.20,32.58	173 : 191 : 259 : 261 ( 100:27:88:57 )
氯苯嘧啶醇	39.12	139 : 219 : 251 : 330 ( 100:63:54:36 )
哒螨灵	41.64	117 : 147 : 309 : 364 ( 15:100:7:6 )

## 4 结果与讨论

4.1 实验过程为 A/B 串柱类型，经过活性炭固相萃取 A 柱的样品溶液上样后直接收集，收集液再过中性氧化铝固相萃取 B 柱，用润洗液对收集管润洗两次后一起过 B 柱，最后将目标物从 B 柱洗脱。

4.2 活化过程中的 0.5mL/min 的流速为国标中明确要求，上样和洗脱过程流速应当适当慢一些，以使目标物尽量保留在柱内以及最后可以完全洗脱。

4.3 因活化过程流速很慢，为保证整个实验过程的处理速度故此阶段空气助推设置的尽量小。借助仪器默认空气助推值保证溶剂完全推出。

### 4.4 结论

用固相萃取法净化茶叶中有机杂环残留量的净化过程实现自动化处理,减少人力的消耗,实验过程中使用的有机溶剂采用密封处理,降低了对人体的伤害且仪器能精准的控制活化、上样、洗脱等溶剂流速,使样品净化的更为充分。

## 参考文献

[1] GB 23200.26-2016 食品安全国家标准 茶叶中 9 种有机杂环类农药残留量的检测方法

## 注意事项

样品加入蒸馏水混匀后会出现严重挂壁情况,之后加丙酮正己烷时需尽量将其冲下,残留的可以通过离心将其混匀。离心并干燥后的提取液转移至样品管后,需用适量正己烷润洗离心管,将上层润洗液一并倒进样品管后氮吹浓缩。