

文章编号: 1004-4353(2015)02-0149-04

气流式微注射器萃取与气相色谱-质谱联用 直接分析烟叶中菊酯类农药

洪莲¹, 南莹², 李东浩¹, 金桂顺^{2*}

(1. 长白山生物资源与功能分子教育部重点实验室(延边大学), 吉林 延吉 133002;
2. 吉林烟草工业有限责任公司, 吉林 延吉 133000)

摘要: 将气流式微注射器萃取技术(GP-MSE)与气相色谱-质谱(GC-MS)联用, 建立了一种快速、简单的检测烟叶中菊酯类农药的方法, 并通过优化萃取条件和加标回收率实验评价了方法的准确性. 结果表明, 6 种菊酯类农药的加标回收率在 83.56%~95.87%之间, 相对标准偏差在 1.3%~7.6%之间, 具有很好的回收率与重复性, 说明本文方法可用于检测烟叶样品中的菊酯类农药.

关键词: 微萃取; GC-MS; 菊酯类农药; 烟叶

中图分类号: O656.31 **文献标识码:** A

Directly analysis of pyrethroid pesticides in tobacco leaf using gas purge microsyringe extraction technique combined with gas chromatography-mass spectroscopy

HONG Lian¹, NAN Ying², LI Donghao¹, JIN Guishun^{2*}

(1. Key Laboratory of Natural Resources of the Changbai Mountain & Functional Molecules (Yanbian University),
Ministry of Education, Yanji 133002, China; 2. Jilin Tobacco Industrial CO., LTD., Yanji 133000, China)

Abstract: To achieve a rapid, simple analytical method of pyrethroid pesticides in tobacco leaves, the gas purge microsyringe extraction (GP-MSE) combined with gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS) is applied. The accuracy of this method is evaluated by spiked recoveries and optimized extractive condition. The results showed that recoveries were 83.56%-95.87%, relative standard deviations (RSD) were 1.3%-7.6%, respectively. These results further indicate that this method possess good recovery and repeatability. Therefore, it can be used for the detection of the pyrethroid pesticides in tobacco leaves samples.

Key words: microextraction; GC-MS; pyrethroid pesticides; tobacco leaves

0 引言

拟除虫菊酯类农药^[1]是继有机氯、有机磷和氨基甲酸酯类农药之后人工化学合成的一类环境相容性好、生物活性优异的广谱性杀虫剂, 广泛使用在烟草栽培过程中^[2], 但其在烟叶上残留较为严重^[3-6], 给烟叶的品质带来很大影响. 传统的对烟

叶拟除虫菊酯类农药残留的分析方法主要有超声萃取、索氏提取和微波辅助萃取, 但这些方法存在操作繁琐, 溶剂用量多, 基质干扰较大等问题^[7-8], 且由于烟叶基质复杂, 萃取时共萃取物较多, 往往需要进行净化分离(如固相柱净化)才能满足分析的需要; 因此, 建立一种快速简便, 灵敏度高, 选择

收稿日期: 2015-03-06

* 通信作者: 金桂顺(1964—), 女, 工程师, 研究方向为烟草成分分析及其加工方式.

性好的菊酯类农药检测方法具有重要意义。

气流式微注射器萃取技术(Gas Purge Microsyringe Extraction, GP-MSE)^[9]是一种新型的前处理方法,集萃取、浓缩、净化为一体,可用于挥发性和半挥发性物质的快速分离和富集。本文首次采用气流式微注射器萃取技术与气相色谱-质谱(GC-MS)联用的方法来检测烟叶中菊酯类农药的含量,并探讨该方法在不同的烟叶样品中对菊酯类农药进行分析的应用效果。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

正己烷、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯均为色谱纯,购买于加拿大 Caledon 公司;菊酯类标样(联苯菊酯、氯菊酯、甲氰菊酯、氟氯氰菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯)纯度均高于 99%,购自于美国 Supelco 公司;氮气纯度为 99.999%;石墨碳固相柱(Dispersive SPE 2 mL)购自美国瓦里安公司。

仪器有:GC-MS 2010(日本岛津公司),AS20500AH 型超声波清洗器(天津 AU-TO-SCIENCE 公司),FW-100 高速万能粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司),冷冻干燥机(北京艾泽信科技公司),Milli-QA10 超纯水仪(美国默克密理博公司)。

1.2 样品采集及预处理

1.2.1 烟叶样品 供试烟叶样品分别采集于河南漯河(2007 年)和湖北鹤峰(2008 年),其中漯河为 3 个(样品 1、样品 2、样品 3),鹤峰为 2 个(样品 4、样品 5),共 5 个。采集后的样品用超纯水充分漂洗后,利用冷冻干燥机进行冷冻干燥,然后用粉碎机粉碎样品,待测。

1.2.2 烟叶加标样品 取空白烟草样品,分别加入 3 个不同浓度的菊酯类农药混合标准样液(用正己烷配制),充分摇匀,制得烟叶的菊酯类农药加标样品,用于分析烟叶样品中菊酯类农药的方法回收率。

1.3 样品萃取及净化

准确称取粉碎的烟叶样品 1.00 g,然后加入 6 mL 正己烷萃取。将萃取液混匀后,吹氮浓缩至 1 mL。净化方式使用商品化的石墨碳固相柱,用 6 mL 的正己烷作为洗脱溶剂,接收洗脱液后将其

浓缩定容至 0.5 mL。

1.4 气流式微注射器萃取方法

烟叶样品的气流式微注射器萃取装置按文献[9]的方式组装。具体萃取方法为:使用微注射器准确取 10 μ L 烟叶萃取液装入样品池内,然后用隔热垫密封样品池口;将 100 μ L 微注射器经冷凝装置垂直插入样品池中,至隔热垫下适当的位置,样品池开始萃取。萃取结束后,取下注射器,定容至 100 μ L,用于 GC-MS 分析。

1.5 色谱分析条件

毛细管色谱柱为 DB-5MS(30 m \times 0.32 mm \times 0.25 μ m),载气为氦(纯度 \geq 99.99%),进样口温度为 280 $^{\circ}$ C,进样量为 2 μ L;采用不分流模式进样,载气流速为 1 mL/min;采用程序升温,起始温度为 150 $^{\circ}$ C,保留 6 min,然后以 30 $^{\circ}$ C/min 升温至 250 $^{\circ}$ C,再以 4 $^{\circ}$ C/min 升温至 280 $^{\circ}$ C,保留 10 min;以离子源为电子轰击源,离子源温度为 200 $^{\circ}$ C,电子能量为 70 eV。选择离子模式扫描并进行样品的定性定量分析。

2 结果与讨论

2.1 实验参数优化

为在 GP-MSE 技术中实现目标物的完全萃取,需要对萃取温度、萃取时间和萃取溶剂等参数进行优化。

1) 萃取温度与时间的优化。分别选择 200、220、240、260、280、300、320 $^{\circ}$ C 7 个不同的萃取温度进行测试。由图 1 可知,当萃取温度从 200 $^{\circ}$ C 到 320 $^{\circ}$ C 时,目标物的回收率逐渐提高,且在 320 $^{\circ}$ C 时 6 种菊酯类农药的萃取率都达到了 80% 以上,因此本文选择 320 $^{\circ}$ C 为萃取温度。在一定的时间范围内,通过萃取时间的延长可以提高目标化合物的萃取率。分别选择 5、6、7、8、9、10 min 5 个不同萃取时间进行测试。由图 2 可知:当萃取时间为 5 min 时,氟氯氰菊酯、氰戊菊酯和溴氰菊酯的萃取率在 65%~70% 范围内;当萃取时间为 6 min 时,6 种目标物的萃取率均在 75% 以上;当萃取时间超过 6 min 时,萃取率未随萃取时间的延长而有明显的提高。为了减少共萃取物,降低基质干扰,故本文选择萃取时间为 6 min。

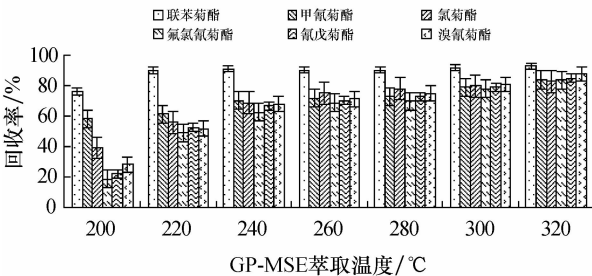


图 1 萃取温度对 GP-MSE 回收率的影响

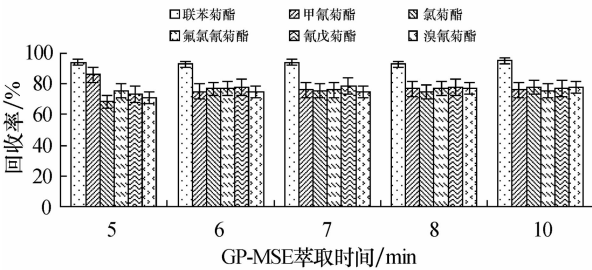


图 2 萃取时间对 GP-MSE 回收率的影响

2) 萃取溶剂的优化. 根据相似相溶原理, 选取二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、丙酮 4 种非极性有机溶剂进行测试. 由图 3 可知, 二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯和丙酮对菊酯类农药的萃取率分别为 83.37%~96.18%、82.58%~92.19%、83.12%~94.18%和 80.70%~96.97%, 均满足回收率的要求. 由于正己烷作为萃取溶剂时, 共萃取物含量较少, 受基质影响较小, 因此本文选择正己烷作为菊酯类农药的萃取溶剂.

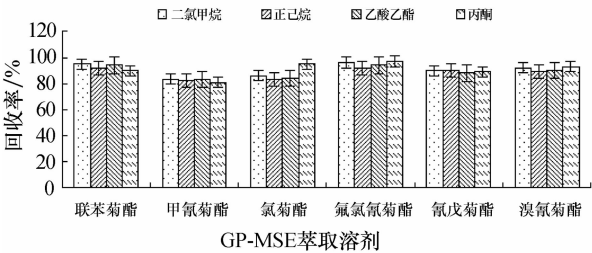


图 3 萃取溶剂对 GP-MSE 回收率的影响

根据以上实验结果, 本文最终确定 GP-MSE 的萃取条件为: 萃取温度(样品池温度)为 320 ℃, 冷凝温度为-4 ℃, 气流吹扫速率为 1.5 mL/min, 萃取溶剂为正己烷, 萃取时间为 6 min.

2.2 线性关系、检出限和回收率

将 6 种目标物的混合标准溶液依次配制为

10、100、200、300、500 μg/mL, 然后以目标化合物的浓度为自变量, 各目标化合物的峰面积为因变量进行线性回归, 且在最佳条件下测定其线性关系、方法检出限和重现性. 在测定相对标准偏差时, 选择混合溶液样品的浓度为 200 μg/mL. 平行测定 6 次, 结果见表 1. 由表 1 可知, 6 种菊酯类农药的相关系数均大于 0.999, 相对标准偏差(RSD)在 6.61%~8.51%之间. 联苯菊酯和氯聚酯的检出限最低为 2 μg/g, 甲氰菊酯和氟氯菊酯的检出限为 4.5 μg/g, 氯氰菊酯和溴氰菊酯的检出限分别为 6 μg/g 和 5 μg/g. 以上结果说明, 本文方法(GP-MSE 与 GC-MS 联用)用于检测烟叶样品中的菊酯类农药是可行的.

表 1 GP-MSE 与 GC-MS 联用测定菊酯类农药的线性关系、相关系数和检出限

目标物	线性范围/ (μg/g)	相关 系数	仪器检出限/ (μg/g)	RSD/% (n=6)
联苯菊酯	10~500	0.999 5	2	6.62
氯菊酯	10~500	0.999 5	2	8.01
甲氰菊酯	10~500	0.999 1	4.5	8.51
氟氯菊酯	10~500	0.999 7	4.5	7.25
氯氰菊酯	10~500	0.999 5	6	7.32
溴氰菊酯	10~500	0.999 6	5	6.11

为了确定本文分析方法的准确度和精密度, 按照 1.1.2 所述样品前处理方法和分析条件对空白烟草样品分别添加高、中、低 3 个水平的标准溶液进行分析, 对每个添加水平实验, 平行做 6 次. 菊酯类农药的加标回收率的计算公式^[10]为:

回收率 / % =

$$\frac{(A_{\text{加标样品}} \times A_{\text{标准样品内标物}}) / A_{\text{加标样品内标}}}{A_{\text{标准品}}} \times 100,$$

式中 A 表示峰面积.

表 2 中给出了空白烟草样品中 6 种菊酯类农药的加标回收率和相对标准偏差(RSD). 由表 2 可知, 6 种菊酯类农药在 20 ng 添加水平下的平均回收率在 83.97%~95.87%之间, 在 50 ng 和 100 ng 添加水平下的平均回收率分别为 83.56%~90.44%和 85.26%~93.91%, 相对标准偏差均低于 7.6%, 由此说明本文方法准确性高, 重复性较好, 可以用于烟叶中的菊酯类农药分析.

表 2 烟叶样品中菊酯类农药的加标回收率

目标物	不同加标量下的回收率		
	20 ng	50 ng	100 ng
联苯菊酯	83.97±2.2	90.43±7.6	93.91±5.3
氯菊酯	85.90±3.9	85.63±1.3	85.29±3.7
甲氰菊酯	88.29±4.4	90.44±5.4	86.89±3.6
氟氯氰菊酯	88.59±4.0	86.98±4.8	85.26±3.3
氯氰菊酯	87.26±5.0	87.07±5.5	86.21±3.5
溴氰菊酯	95.87±7.1	83.56±4.4	89.11±7.0

表 3 烟叶样品中检测的菊酯类农药残留量

ng

目标物	联苯菊酯	氯菊酯	甲氰菊酯	氟氯氰菊酯	氯氰菊酯	溴氰菊酯
样品 1	nd	37.73	nd	nd	120.59	nd
样品 2	nd	68.39	nd	nd	nd	nd
样品 3	nd	nd	nd	26.83	nd	nd
样品 4	10.41	95.38	nd	nd	353.09	nd
样品 5	15.63	73.62	nd	nd	300.49	nd

注: nd 为未检出.

3 结论

本文采用气流式微注射器萃取技术作为前处理方法,联用气相色谱-质谱,对烟叶样品中的 6 种菊酯类农药进行了检测. 6 种菊酯类农药在 20~100 ng添加浓度范围内,回收率为 83.56%~95.87%,且相对标准偏差均小于 7.6%. 该方法操作简便快速,共萃取物少,灵敏度高,判断采用保留时间和特征选择离子,减少了基质干扰,结果准确可靠,可用于批量烟叶样品中菊酯类农药的快速分析.

参考文献:

[1] 石杰州,杨静,刘惠民,等. 超声波提取一固相萃取净化一气相色谱法分析烟草中拟除虫菊酯类农药及氟节胺残留[J]. 分析实验室,2010,29(4):22-24.

[2] 李薇,雷丽萍,徐照丽,等. 玉溪烟叶有机氯、拟除虫菊酯类杀虫剂农药残留分析[J]. 西南农药学报,2012,25(1):173-178.

[3] 饶志,彭一荣,贾漫珂,等. 蔬菜和水体中菊酯类农药的分析[J]. 三峡大学学报:自然科学版,2012,34

2.3 实际样品应用

准确称取干燥的烟叶样品(样品 1—样品 5),按照 1.2.1 所述的前处理方法进行处理后,以内标法定量测定菊酯类农药在烟叶中的残留量,结果见表 3. 由表 3 可知,从 5 个烟叶样品中检测出联苯菊酯、氯菊酯、氟氯氰菊酯和氯氰菊酯 4 种农药残留,未检出甲氰菊酯和溴氰菊酯,其中样品 4 和 5 中均检测出联苯菊酯、氯菊酯和氯氰菊酯.

(2):86-89.

[4] 李艳芳,陈仕丽,叶瑜霏,等. GC-ECD 定量检测榴莲、山竹中 20 种有机氯类、菊酯类农药残留[J]. 广东农业科学,2014(5):150-154.

[5] 杨晓凤,谢淋,韩梅,等. GC-ECD 法测定茶叶中 30 种有机氯及菊酯类农药残留[J]. 西南农业学报,2010,23(3):764-767.

[6] 宇清. 蔬菜中 7 种菊酯类农药的 GC-MS 同时测定法[J]. 职业与健康,2009,25(21):2269-2270.

[7] 李永波,李红光,陈艳,等. 气相色谱法同时测定叶菜中 15 种有机氯和拟除虫菊酯类农药残留量[J]. 中国卫生检验杂志,2008,18(12):2550-2552.

[8] 方波,蔡曦,丁坚强,等. 固相萃取-气相色谱法测定蔬果菜中 6 种菊酯类农药的探讨[J]. 中国卫生检验杂志,2010,20(12):3156-3157.

[9] Yang Cui, Piao Xiangfan, Li Donghao, et al. Gas purge microsyringe extraction for quantitative direct gas chromatographic-mass spectrometric analysis of volatile and semivolatile chemicals[J]. Journal of Chromatography A, 2011,1218(12):1549-1555.

[10] 王浩,宋玉梅,耿仁杰. 气流式微注射器萃取技术与 GC-MS 联用直接分析不同植物叶片中痕量的多环芳烃[J]. 延边大学学报:自然科学版,2011,37(2):132-135.