

◆ 残留与环境 ◆

贵州省不同产区茶叶中7种农药的基质效应评价

刘佳¹, 赵昌燕², 蔡滔^{1*}, 庞宏宇¹

(1. 贵州省农产品质量安全监督检验测试中心, 贵阳 550001; 2. 贵州医科大学公共卫生与健康学院, 贵阳 550001)

摘要: 选取7种农药和4大类65个茶叶基质, 考察在QuEChERS前处理条件下采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)技术的基质效应行为。结果显示, 在LC-MS/MS检测中, 7种农药产生的基质效应以基质抑制为主, 且不同农药在不同茶叶中的基质效应差异较大。乙酰甲胺磷和氧乐果主要表现为强基质抑制效应, 噻虫嗪主要表现为弱基质抑制效应, 啉虫脒、克百威、苯醚甲环唑和辛硫磷主要表现为弱基质效应。茶叶的种类会对不同农药产生不同程度基质效应影响。因此, 在检测茶叶中农药残留时, 应根据农药的基质效应行为强弱, 选取合适的前处理和定量方法。

关键词: 基质效应; 茶叶; 农药残留; QuEChERS

中图分类号: TQ 450 文献标志码: A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2023.02.011

Matrix Effect Analysis of Seven Pesticide Residues in Tea from Guizhou Province

LIU Jia¹, ZHAO Changyan², CAI Tao^{1*}, PANG Hongyu¹

(1. Guizhou Agricultural Product Quality and Safety Supervision, Inspection and Testing Center, Guiyang 550001, China; 2. School of Public Health and Wellness, Guizhou Medical University, Guiyang 550001, China)

Abstract: Seven pesticides and four categories of 65 tea substrates were selected to investigate their matrix effect behavior under QuEChERS pretreatment conditions and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) technology. The results showed that in the LC-MS/MS detection, the matrix effect of seven pesticides was mainly matrix inhibition, and the matrix effect of different pesticides in different tea was quite different. Acephate and omethoate mainly showed strong matrix inhibition effect. Thiamethoxam mainly showed weak matrix inhibition effect. Acetamiprid, carbendazim, difenoconazole and phoxim mainly showed weak matrix effect. The type of tea would have different matrix effects on the different pesticides. Therefore, when we analyze pesticide residues, choose the appropriate pretreatment and quantitative methods according to the matrix effects of pesticides.

Key words: matrix effect; tea; pesticide residue; QuEChERS

中国是茶叶的摇篮, 同时也是世界上茶叶产量和消费量最大的国家, 在中国按加工工艺和发酵程度, 茶叶主要分为六大类: 绿茶、白茶、青茶、红茶、黑茶和黄茶^[1]。茶树喜爱湿热的生长环境, 贵州省属于亚热带季风性湿润气候, 雨量充沛, 雨热同期, 四季分明, 加上贵州省多山多丘陵的地势, 非常适宜大面积种植, 近几年茶园面积增长迅速。然而大规模茶树种植过程中离不开农药的使用, 因此农药残留问题难以避免^[2-3]。由于茶农不合理地使用化学农

药, 导致茶叶中农药残留超标, 严重影响了茶产品的质量与安全, 也制约和限制了我国茶叶的对外贸易。因此, 提升茶叶的农药残留检测技术, 对于保障茶叶食品安全具有重大意义。

由于茶叶中含有多种有机酸、咖啡因、游离糖、儿茶素、色素、锌、硒、锰和其他微量物质^[4], 在农药残留检测过程中这些成分通常会产生基质效应, 根据不同的影响效果又可分为基质增强效应和基质减弱效应^[5]。若在分析过程中未考虑基质效应, 计算

收稿日期: 2022-03-21

作者简介: 刘佳(1990—), 女, 黑龙江大庆人, 硕士, 实验师, 主要从事农产品质量安全及标准化研究。E-mail: 1044306377@qq.com

通信作者: 蔡滔(1969—), 男, 贵州贵阳人, 硕士, 高级经济师, 主要从事农产品质量安全及标准化研究。E-mail: ct88win@163.com

待测物在实际样品中的含量时会产生较大的误差,从而影响检测结果的准确性。因此,研究评价不同产区茶叶中农药基质效应是非常有必要且意义重大。

液相色谱-串联质谱法和气相色谱-串联质谱法是检测和分析农药残留最常用的方法。它们具有高灵敏度、高通量和准确定量的优点^[6-9]。然而,在液质分析中大多数农药表现出基质减弱效应,这也是液质分析的主要缺点之一。由于茶叶样品基质复杂,在检测过程中会产生强烈的基质效应,需要通过前处理对其进行净化。固相萃取^[10]、液液萃取^[11]、基质固相分散萃取^[12]等是在茶叶农残检测中传统的前处理方法,常需多次净化步骤,操作繁琐且费时。QuEChERS前处理法具有经济环保、操作简单、适用范围广的特点^[13],在茶叶中农药多残留检测中应用最为广泛。

本试验基于QuEChERS前处理结合液相色谱-串联质谱法,以茶树种植大省贵州省不同种植区的红茶、绿茶、白茶和黑茶为研究基质,在低、中、高3种不同添加水平下考察了克百威、啶虫脒、乙酰甲胺磷、噻虫嗪、氧乐果、辛硫磷和苯醚甲环唑的基质效应,并进行分析评价,旨在提高茶叶中农药残留检测的精度,为茶叶中多种农药残留检测提供补充和参考,为保障茶叶品质提供重要技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

克百威、啶虫脒、乙酰甲胺磷、噻虫嗪、氧乐果、辛硫磷和苯醚甲环唑,7种标准物质溶液均为1 000 $\mu\text{g/mL}$,农业部环境质量监督检验测试中心。

甲醇、乙腈(色谱纯),赛默飞世尔科技公司;纯净水,娃哈哈集团有限公司;QuEChERS茶叶前处理提取包和净化包,安捷伦公司;有机相微孔滤膜(0.2 μm),岛津仪器公司。

电子天平(0.01 g)、移液枪,梅特勒托利多公司;多管涡旋振荡器,杭州米欧仪器有限公司;冷冻离心机,德国安本德;LC-MS/MS(AB SCIEX QTRAP 5500)、液相色谱柱(2.6 μm , C_{18} 100 mm \times 2.1 mm),美国飞诺美公司。

1.2 标准溶液的配制

1.2.1 农药标准溶液的配制

准确吸取1.00 mL农药标准物质溶液分别于10.00 mL容量瓶中,甲醇定容,得到各农药的标准储备溶液。避光4 $^{\circ}\text{C}$ 保存,保存期为半年。

分别准确移取1.00 mL各单标标准储备液于25

mL容量瓶中,甲醇定容,得到混合标准溶液。于4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存,保存期为3个月。

1.2.2 基质混合标准工作溶液的配制

用各个空白茶叶样品的提取液配制成不同浓度的基质混合标准工作溶液,现配现用。

1.3 样品的前处理

1.3.1 样品采集

从贵州省的几大茶叶主产区:黔东南州、遵义市、铜仁市、安顺市、都匀市和黔南州选取深受消费者喜爱且远销国内外的红茶、绿茶、白茶和黑茶共65个样品作为本次试验用样品。

1.3.2 样品前处理

称取2 g茶叶试样(精确至0.01 g)于50 mL塑料离心管中,加入10 mL水涡旋混匀,静置30 min,加入15 mL乙腈、QuEChERS茶叶前处理提取包及陶瓷均质子,盖上盖子放入多管涡旋振荡器2 500 r/min振荡5 min,4 200 r/min离心5 min。吸取8 mL上清液加到15 mL的QuEChERS茶叶净化管中,涡旋振荡1 min,4 200 r/min离心5 min。准确吸取2 mL上清液过微孔滤膜装入进样瓶中。每份样品做2个平行。

1.3.3 加标试验

精确称取5 g茶叶样品,添加一定量的混合标准溶液,静置30 min后,参照1.3.2节进行样品前处理。每份样品做2个平行。

1.4 样品的测定

1.4.1 高效液相色谱条件

色谱柱: C_{18} , 100 mm \times 2.1 mm;流动相A:甲醇;流动相B:0.05%甲酸水溶液,流速为0.300 mL/min;柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;进样量:2 μL 。流动相梯度条件见表1。

表1 茶叶中7种农药残留色谱测定流动相及其梯度条件

时间/min	甲醇/%	0.05%甲酸水/%
0	10	90
7.00	90	10
9.00	90	10
9.10	10	90
11.00	10	90

1.4.2 液相色谱质谱分析条件

离子源类型:电喷雾离子源;扫描方式:正离子模式;多反应监测:每种农药分别选择2个离子,所有待测参数的子离子按照出峰顺序,分时段分别检测。每种农药的保留时间、母离子、子离子及质谱参数,参见表2。

表 2 茶叶中 7 种农药残留 LC-MS/MS 分析条件

名称	母离子	子离子	去簇电压/ V	入口电压/ V	碰撞能/ V
乙酰甲胺磷	184.1	142.9	41	10	13
	184.1	125	41	10	23
啉虫脒	223.2	126.1	56	10	29
	223.2	99.1	56	10	47
苯醚甲环唑	406.1	251	90	10	36
	406.1	337.3	90	10	25
克百威	222.2	165.2	46	10	17
	222.2	122.8	46	10	31
氧乐果	214.3	183.1	31	10	17
	214.3	125	31	10	31
辛硫磷	299.1	77	56	10	43
	299.1	129.1	56	10	15
噻虫嗪	292	210.9	51	10	17
	292	181.3	51	10	33

1.5 数据处理

本试验用MultiQuant软件和Excel对数据进行计算和分析。基质效应 (ME) 按照式 (1) 计算。

$$ME/\% = \frac{A_2 - A_1}{A_1} \times 100 \quad (1)$$

式中: A_1 和 A_2 分别为乙腈和茶叶样品中农药的峰响应值。 $-20\% \leq ME < 0$ 为弱基质抑制效应; $-50\% \leq ME < -20\%$ 之间为中等基质抑制效应; $ME < -50\%$ 为强基质抑制效应; $0 < ME \leq 20\%$ 为弱基质增强效应, 在 $20\% < ME \leq 50\%$ 之间为中等基质增强效应; $ME > 50\%$ 为强基质增强效应; $ME = 0$ 为无基质效应。

2 试验结果

2.1 加标回收率

在添加水平为0.20、0.40 mg/kg和1.00 mg/kg下进行加标回收试验, 每个样设置1个平行样, 结果详见表3。结果显示, 乙酰甲胺磷和氧乐果的纯溶液标准溶液定量回收率明显偏低, 添加水平为0.20 mg/kg时, 回收率为30%左右, 而当使用基质标校正后回收率有非常明显的提升, 达到60%以上; 啉虫脒、克百威、苯醚甲环唑和辛硫磷的纯溶剂标准溶液定量回收率与其对应的基质标定量回收率没有明显的变化; 噻虫嗪的回收率经过基质标校正后略有提升。

表 3 7 种农药在茶叶中的加标回收率统计

农药名称	纯溶剂标准溶液定量回收率/%			基质标定量回收率/%		
	0.20 mg/kg	0.40 mg/kg	1.00 mg/kg	0.20 mg/kg	0.40 mg/kg	1.00 mg/kg
乙酰甲胺磷	30.4	47.6	53.3	61.7	66.9	70.0
啉虫脒	63.8	75.0	79.0	73.8	83.1	79.0
克百威	90.0	97.5	90.0	75.0	82.5	83.5
苯醚甲环唑	67.0	70.0	74.5	75.0	72.5	78.5
氧乐果	37.5	49.6	54.5	62.5	73.1	73.0
辛硫磷	77.5	76.9	82.5	77.5	76.9	82.5
噻虫嗪	60.8	63.8	64.8	71.3	75.0	73.0

2.2 茶叶整体基质效应评价

研究随机选取了贵州省4大类65个不同茶叶基质, 其中绿茶、红茶和白茶各20个、黑茶5个。考察乙酰甲胺磷、啉虫脒、克百威、苯醚甲环唑、氧乐果、辛硫磷、噻虫嗪共7种农药在QuEChERS前处理下采用液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS) 进行测定时的茶叶中的基质效应。7种农药在茶叶中整体基质效应评价情况如图1所示。由于基质成分的差异, 不同农药在不同茶叶基质中的基质效应存在一定差异, 但在同一大类基质上也表现出一定的基质效应趋势。7种农药在茶叶中产生基质抑制效应占比72%, 基质增强效应占比28%。其中强基质抑制效应占比25%; 中等基质抑制效应占比18%; 弱基质抑制效应占比29%; 强基质增强效应占比0.2%; 中等基质增强

效应占比2.8%; 弱基质增强效应占比25%。说明在不同茶叶基质中, LC-MS/MS测定不同农药的基质效应主要以基质抑制效应为主, 而不同农药在茶叶基质中的基质效应强弱存在差异。

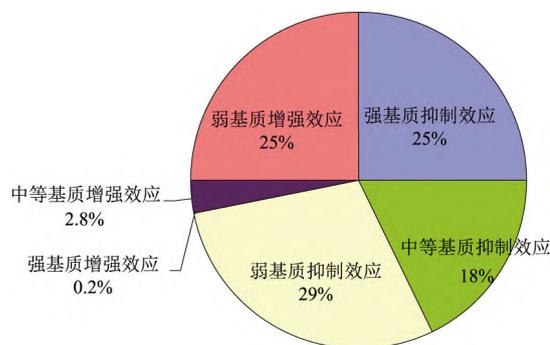


图 1 7 种农药在茶叶中整体基质效应评价

2.3 不同农药在茶叶中的基质效应分析

规定基质效应在-20%~20%之间为弱基质抑制(增强)效应,在-50%~-20%和20%~50%之间为中等基质抑制(增强)效应,超出±50%为强基质抑制(增强)效应。研究结果显示,7种农药在茶叶基质中的基质效应影响程度均不相同,具体的基质效应

情况详见图2。7种农药在茶叶中均存在基质效应,但不同农药的基质效应差异较大。乙酰甲胺磷和氧乐果在茶叶中主要表现为强基质抑制效应和中等基质抑制效应;啶虫脒、克百威、苯醚甲环唑和辛硫磷在茶叶中主要表现为弱基质效应;噻虫嗪在茶叶中主要表现为中等基质抑制和弱基质抑制效应。

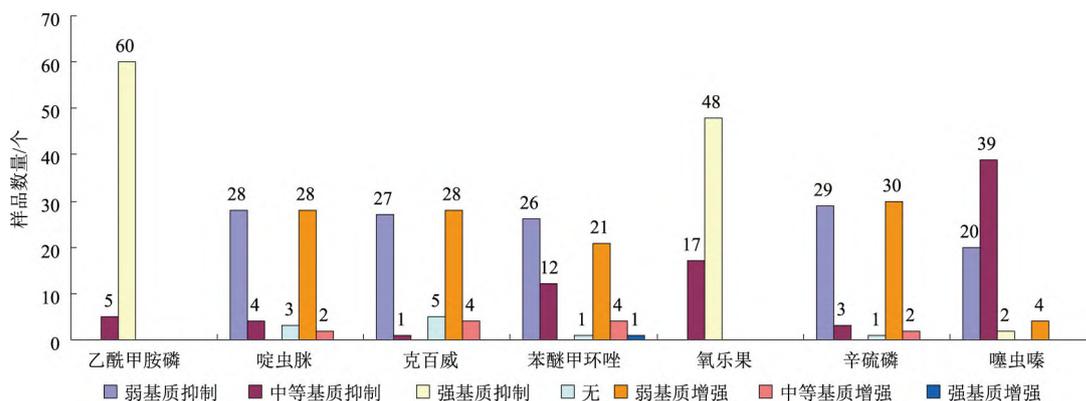


图2 7种农药在65种茶叶中的基质效应情况

2.4 不同种类茶叶基质效应分析

试验结果显示,乙酰甲胺磷在红茶和黑茶中表现出明显的强基质抑制效应;在绿茶和白茶中表现出强基质抑制效应和中等基质抑制效应。啶虫脒和

克百威在红茶、绿茶和白茶中表现出弱基质抑制和弱基质增强效应;在黑茶中表现为弱基质抑制(表4)。由此可推断,不同种类的茶叶基质对农药的基质效应有较大的影响。

表4 7种农药在不同茶叶基质中的基质效应

类型	乙酰甲胺磷	啶虫脒	克百威	苯醚甲环唑	氧乐果	辛硫磷	噻虫嗪
红茶	强基质抑制	弱基质增强、抑制	弱基质增强、抑制	弱、中等基质增强、抑制	中等、强基质抑制	弱基质增强、抑制	弱、中等基质抑制
绿茶	强、中等基质抑制	弱基质增强、抑制	弱基质增强、抑制	弱基质增强、中等基质抑制	中等、强基质抑制	弱基质增强、抑制	弱、中等基质抑制
白茶	强、中等基质抑制	弱基质增强、抑制	弱基质增强、抑制	弱基质增强、抑制	强基质抑制	弱基质增强、抑制	弱、中等基质抑制
黑茶	强基质抑制	弱基质抑制	弱基质抑制	弱基质抑制	强基质抑制	弱基质抑制	中等基质抑制

3 讨论与结论

运用QuEChERS前处理方法,结合液相色谱-串联质谱法,对贵州省的红茶、绿茶、黑茶和白茶在不同添加水平下对克百威、啶虫脒、乙酰甲胺磷、噻虫嗪、氧乐果、辛硫磷和苯醚甲环唑的基质效应进行研究。结果显示,采用LC-MS/MS测定7种农药在茶叶中的基质效应主要以基质抑制效应为主。不同农药在不同茶叶中均存在基质效应差异;乙酰甲胺磷和氧乐果在茶叶中主要表现为强基质抑制效应,啶虫脒、克百威、苯醚甲环唑和辛硫磷主要表现为弱基质效应,噻虫嗪主要表现为中等基质抑制效应。茶叶的种类对7种农药在茶叶中的基质效应影响较大。

按照加工工艺将茶叶分成红茶(全发酵茶)、绿

茶(不发酵茶)、白茶(部分发酵茶)和黑茶(后发酵茶)。由于绿茶中含有很多的儿茶酚类物质,随着发酵程度的增加这些物质在发酵过程中转化成茶红素和茶黄素类物质^[4],结合7种农药在不同种类茶叶中的不同基质效应,可以推测,随着不同的发酵过程中儿茶素类物质及其氧化物的变化,茶叶的基质效应也会产生一定的变化。

综上所述,茶叶样品基体复杂,含有大量的生物碱、茶多酚、糖类、有机酸、类脂类、色素、蜡质等大分子物质,贵州省复杂的地理条件使得不同产地的茶叶在经纬度和海拔高度、日照强度和气候条件等自然环境均不相同,这可能会影响茶叶中各组成成分的差异,进而导致不同地域的茶叶对同一农药

(下转第75页)

- Pathology, 2014, 15(9): 907-917.
- [18] GOODING G V J, HEBERT T T. A simple technique for purification of tobacco mosaic virus in large quantities[J]. Phytopathology, 1967, 57(11): 1285.
- [19] 周雪平, 徐志新, 徐静, 等. 侵染丝瓜的黄瓜花叶病毒研究[J]. 华南农业大学学报, 1995, 16(2):74-79.
- [20] 罗亮指. 新型吡啶并[1,2- α]嘧啶介离子化合物的抗PVY活性及初步作用机制研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2022.
- [21] 戈林泉, 赵伟春, 祝树德, 等. 水稻条纹叶枯病毒单克隆抗体的制备及其特性研究[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2010, 31(1): 76-80.
- [22] SONG B A, ZHANG H P, WANG H, et al. Synthesis and antiviral activity of novel chiral cyanoacrylate derivatives[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53 (20): 7886-7891.
- [23] GAN X H, HU D Y, WANG Y J, et al. Novel trans-ferulic acid derivatives containing a chalcone moiety as potential activator for plant resistance induction[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(22): 4367-4377.
- [24] LUO H, LIU J J, JIN L H, et al. Synthesis and antiviral bioactivity of novel (1*E*, 4*E*)-1-aryl-5-(2-(quinazolin-4-yloxy)phenyl)-1,4-pentadien-3-one derivatives[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2013, 63: 662-669.
- [25] JAMES D, TRYTTEN P A, MACKENZIE D J, et al. Elimination of apple stem grooving virus by chemotherapy and development of an immunocapture RT-PCR for rapid sensitive screening [J]. Annals of Applied Biology, 1997, 131(3): 459-470.
- [26] RUSAK G, KRAJACIC M, PLESE N. Inhibition of tomato bushy stunt virus infection using a quercetagenin flavonoid isolated from *Centaurea rupestris* L[J]. Antiviral Research, 1997, 36(2): 125-129.
- [27] POGANY J, STORK J, LI Z H, et al. *In vitro* assembly of the tomato bushy stunt virus replicase requires the host heat shock protein 70[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(50): 19956-19961.

(责任编辑: 金兰)

(上接第 69 页)

产生不同的基质效应。

不同农药在不同的茶叶中所表现的基质效应及强度是不同的, 因此在日常检验检测工作中, 应当根据具体的茶叶种类、产地, 并结合不同的测定浓度、待测农药种类合理地选择茶叶基质, 避免造成较大的检测误差。

参考文献

- [1] 杨延峰, 袁晓丽. 气相色谱法测定茶叶中有机氯和拟虫菊酯类农药残留的基质效应[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(20): 7482-7488.
- [2] 丁亦男, 童小麟, 赖国银, 等. 国内外茶叶农药残留限量标准与出口茶叶安全研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(23): 8140-8145.
- [3] HAZARIKA L K, BHUYAN M, HAZARIKA B N. Insect pests of tea and their management[J]. Annual Review of Entomology, 2009, 54: 267-284.
- [4] 刘腾飞, 董明辉, 杨代凤, 等. 茶叶质量安全主要化学影响因素分析方法研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(9): 310-318.
- [5] 叶学敏. 新型QuEChERS方法在果蔬农残分析中的应用研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2020.
- [6] HUANG Y S, SHI T, LUO X, et al. Determination of multi-pesticide residues in green tea with a modified QuEChERS protocol coupled to HPLC-MS/MS[J]. Food Chemistry, 2019, 275: 255-264.
- [7] GAO Y X, CHEN P H, NIE D D. Determination of 53 pesticide residues in tea by gas chromatography-tandem mass spectrometry and double internal standard method[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2018, 36(6): 531-540.
- [8] LI Y, WANG Z B, GAO F M, et al. Selection of representative matrices for the multiresidue analysis of pesticides in tea by GC-MS/MS[J]. Analytical Methods, 2018, 10(8): 855-866.
- [9] 李俊芳, 景伟文, 李德强, 等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联高分辨质谱法测定新疆苹果中 7 种农药残留[J]. 食品科学, 2018, 39(8): 295-301.
- [10] 曾艳, 郎红, 杨巧慧, 等. 固相萃取-GC/LC-MS/MS测定茶叶中79种农药残留[J]. 茶叶科学, 2019, 39(5): 576-586.
- [11] MOINFAR S, HOSSEINI M. Development of dispersive liquid - liquid microextraction method for the analysis of organophosphorus pesticides in tea[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 169(1-3): 907-911.
- [12] WANG F Q, LI S H, FENG H, et al. An enhanced sensitivity and cleanup strategy for the nontargeted screening and targeted determination of pesticides in tea using modified dispersive solid-phase extraction and cold-induced acetonitrile aqueous two-phase systems coupled with liquid chromatography-high resolution mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2019, 275: 530-538.
- [13] 鲍忠赞, 邓昭浦. 气相色谱法检测果蔬中30种有机磷类农药残留的基质效应[J]. 湖北农业科学, 2019, 58(20): 152-156.
- [14] 李岩. 茶叶中农药多残留测定时基质效应研究[D]. 秦皇岛: 燕山大学, 2013.

(责任编辑: 金兰)