

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250206002

引用格式: 李霞雪, 杨巧慧, 郑云华, 等. 非衍生化结合液相色谱-串联质谱技术测定茶叶中氯酞酸、茅草枯和草芽畏[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(11): 146–153.

LI XX, YANG QH, ZHENG YH, *et al.* Determination of chlorthal-diacid, dalapon and trysben in tea by non-derivatization coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(11): 146–153. (in Chinese with English abstract).

# 非衍生化结合液相色谱-串联质谱技术测定茶叶中 氯酞酸、茅草枯和草芽畏

李霞雪<sup>1</sup>, 杨巧慧<sup>1</sup>, 郑云华<sup>2</sup>, 廖强<sup>2</sup>, 曾艳<sup>1\*</sup>, 杨树萍<sup>3\*</sup>

(1. 雅安市农产品质量监测检验中心, 雅安 625000; 2. 雅安市质量检验检测院, 雅安 625000;  
3. 甘孜藏族自治州农产品质量安全中心, 甘孜 626000)

**摘要:** **目的** 建立一种非衍生化前处理, 亲水亲脂平衡柱(hydrophile-lipophile balance, HLB)净化结合液相色谱-串联质谱技术(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)测定茶叶中氯酞酸、茅草枯、草芽畏的检测方法。**方法** 样品经 20 mL 1%乙酸水+10 mL 二氯甲烷提取, HLB (300 mg/3 mL)滤过净化, 十八烷基硅烷(octadecylsilane, C<sub>18</sub>)色谱柱分离, 液相色谱-串联质谱仪负离子模式测定, 外标法定量检测。**结果** 3种除草剂在色谱柱上分离良好, 在 0.01~2.00 μg/mL 范围内线性良好( $r^2>0.998$ ), 在 0.05、0.25、0.50 和 1.00 mg/kg 4个添加水平下, 3种农药在茶叶空白基质中平均回收率为 71.1%~119.2%, 相对标准偏差为 3.3%~18.3%。3种除草剂在茶叶中的检出限在 0.002~0.009 mg/kg 之间, 定量限在 0.008~0.029 mg/kg 之间。**结论** 该方法前处理简单快捷, 无需衍生化, 对检测人员和环境友好, 可作为大批量检测茶叶中氯酞酸、茅草枯、草芽畏残留的方法。

**关键词:** 氯酞酸; 茅草枯; 草芽畏; 茶叶; 非衍生化; 液相色谱-串联质谱法

## Determination of chlorthal-diacid, dalapon and trysben in tea by non-derivatization coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LI Xia-Xue<sup>1</sup>, YANG Qiao-Hui<sup>1</sup>, ZHENG Yun-Hua<sup>2</sup>, LIAO Qiang<sup>2</sup>,  
ZENG Yan<sup>1\*</sup>, YANG Shu-Ping<sup>3\*</sup>

(1. Ya'an Agricultural Products Quality Monitoring and Inspection Center, Ya'an 625000, China; 2. Ya'an Quality Inspection and Testing Institute, Ya'an 625000, China; 3. Ganzi Tibetan Autonomous Prefecture Agricultural Product Quality and Safety Center, Ganzi 626000, China)

收稿日期: 2025-02-06

基金项目: 四川省市场监督管理局科技项目(SCSJS2023009); 四川省农产品质量安全风险监测项目(川农函[2024]98号)

第一作者: 李霞雪(1990—), 女, 硕士, 高级农艺师, 主要研究方向为农产品及产地环境质量安全检测。E-mail: 376480510@qq.com

\*通信作者: 曾艳(1983—), 女, 硕士, 正高级农艺师, 主要研究方向为农产品及产地环境质量安全检测和风险评估研究。E-mail: 276874503@qq.com

杨树萍(1978—), 女, 硕士, 高级农艺师, 主要研究方向为农产品及产地环境质量安全检测。E-mail: violet978@qq.com

**ABSTRACT: Objective** To establish a non-derivatized extraction method for the simultaneous determination of chlorthal-diacid, dalapon and trysben in tea by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) combined with hydrophile-lipophile balance (HLB) clean-up. **Methods** Tea samples were extracted by 20 mL of 1% acetic acid in water and 10 mL of methylene chloride; clean-up by HLB (300 mg/3 mL) filtration. Separation of the target analytes was achieved on an octadecylsilane (C<sub>18</sub>) chromatographic column, and quantitation was performed by LC-MS/MS in negative ion mode. **Results** The 3 kinds of herbicides were effectively separated on the C<sub>18</sub> column with good linearity in the range of 0.01–2.00 µg/mL ( $r^2 > 0.997$ ). At 4 spiked levels of 0.05, 0.25, 0.50 and 1.00 mg/kg, the average recoveries of the 3 kinds of pesticides in the blank matrix of tea ranged from 71.1% to 119.2%, with the relative standard deviations between 3.3% and 18.3%. The limits of detection were ranged from 0.002–0.009 mg/kg, and the limits of quantitation were ranged from 0.008–0.029 mg/kg of the 3 kinds of herbicides. **Conclusion** The developed method offers a simple and rapid pretreatment procedure, eliminating the need for derivatization. It is friendly to the inspectors and the environment, and can be used as a method for large-scale detection of chlorthal-diacid, dalapon and trysben residues in tea.

**KEY WORDS:** chlorthal-diacid; dalapon; trysben; tea; non-derivatization; liquid chromatography-tandem mass spectrometry

## 0 引言

茶叶具有抗氧化、提神醒脑、降脂减肥、预防心脑血管疾病、抗癌等功效<sup>[1-2]</sup>。茶树生长在较为湿润的气候环境中, 茶园极易滋生杂草, 这些杂草会与茶树争夺水分养分、影响光照通风、甚至诱发病虫害, 从而影响茶树正常生长。因此, 在种植过程中, 常会使用化学农药进行茶园除草。茅草枯为内吸传导型脂肪族类除草剂, 适用于茶园、林地等, 对多年生杂草防治效果显著<sup>[3]</sup>。草芽畏为内吸传导型苯甲酸类除草剂, 也用作植物生长调节剂促进茶叶生长<sup>[4]</sup>, 氯酞酸、茅草枯、草芽畏是一类酸性除草剂。目前这 3 种农药在茶园领域并未获得登记, 实际却有用于促进茶叶生长、除茶园杂草的情况。这些除草剂对人体有一定毒性, 长期接触或误食可能会对人体的神经系统、肝脏、肾脏等造成不同程度的损害<sup>[5-6]</sup>, 同时, 这类除草剂会在周围环境如土壤水和生物体内累积, 进而对环境生态多样性产生影响<sup>[7-8]</sup>。因此, 建立有效的方法来监测茶叶中的氯酞酸、茅草枯和草芽畏至关重要。

当前, 国内尚未制定茶叶中氯酞酸、茅草枯和草芽畏的检测标准。3 种除草剂由于分子量小, 结构中以苯环为主, 具有沸点较高, 难以气化、碎片离子响应弱等特点, 多研究<sup>[9-11]</sup>显示, 在前处理时需进行前衍生才能进行检测。目前检测 3 种除草剂残留的主要方法为先用有机试剂或水相提取后再进行柱前衍生, 结合气相色谱-串联质谱法<sup>[12]</sup>或液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)<sup>[13-14]</sup>测定。该类方法虽灵敏度较高, 但操作过程复杂, 衍生时间较长, 衍生化试剂会污染离子源<sup>[15]</sup>, 且衍生试剂毒性较高<sup>[16]</sup>, 对人员健康和环

境保护不利。张伟彪等<sup>[13]</sup>、丁立平<sup>[17]</sup>曾报道到采用非衍生化测定果蔬、谷物中茅草枯, 但仅针对茅草枯或草芽畏等单一目标物, 所用基质相对简单, 易于净化。而茶叶基质复杂, 对 3 种除草剂的检测存在较大干扰, 目前以茶叶为基质同时测定 3 种除草剂的检测方法鲜见报道。

为了解决以上问题, 简化前处理步骤, 实现对茶叶复杂基质中 3 种除草剂的同时测定, 本研究建立了一种快速提取净化, 结合 LC-MS/MS 用于检测茶叶中氯酞酸、茅草枯、草芽畏残留方法, 该方法无需衍生化、简便高效, 能准确测定茶叶中这 3 种除草剂含量, 为茶叶质量安全提供有力保障, 促进茶叶贸易发展。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

试验样品中茶叶采自四川省茶叶主产区, 包括藏茶、红茶、黄茶、花茶和绿茶。氯酞酸、茅草枯、草芽畏标准品(纯度 $\geq 98\%$ , 坛墨质检标准物质中心); 甲醇、甲酸、乙腈、乙酸、二氯甲烷[色谱纯, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司]; HLB 柱(300 mg/3 mL, 美国沃特世科技公司); QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) 专用净化管[内含物为 5 mg 复合多壁碳纳米管(carbon multi-walled carbon nano-tubes, C-MWCNTs)、45 mg 中性氧化铝和 25 mg C<sub>18</sub>, 北京科德诺思技术有限公司]; Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> 柱(50 mm $\times$ 0.30 mm, 2.1 µm, 美国安捷伦公司); 试验用一级水(Milli-Q 型超纯水仪, 德国默克生命科学公司)。

### 1.2 仪器与设备

1290-6470 型液相色谱串联质谱仪[配电喷雾离子源

(electro-spray ionization, ESI)、Zorbax SB-C<sub>18</sub> 色谱柱(50 mm×0.30 mm, 2.1 μm)(美国安捷伦公司); TP-602 型电子天平(精度 0.01 mg, 北京赛多利斯仪器系统有限公司); TGL-16 型高速冷冻离心机(四川蜀科仪器有限公司); KN-026S 型强力多管漩涡混合仪(北京科德诺思技术有限公司); PD500 型高速分散匀浆机[普律玛仪器(上海)有限公司]; GD16 Plus 型高速研磨仪(深圳新锐科技有限公司); Milli-Q 超纯水机(美国默克生命科学公司)。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 标准溶液配制

分别准确称取含各目标物 10 mg 标准品于 10 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇定容, 转移至棕色标样瓶中, 配制成质量浓度为 1 mg/mL 的单标准品储备液, 于 -20 °C 储存。用以上储备液配制 0.01、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、2.00 μg/mL 的混合标准曲线。

#### 1.3.2 样品前处理

将干茶叶混合均匀并粉碎。称取 2.00 g(精确至 0.01 g) 茶叶粉样品, 至 50 mL 具塞离心管中。加入 20 mL 1% 乙酸水+10 mL 二氯甲烷, 涡旋混匀 2 min, 6000 r/min, 4 °C 冷冻离心 5 min。取 1.5 mL 上清液于 QuEChERS 净化管内, 涡旋混匀 2 min 后以 6000 r/min 离心 5 min。取净化后上清液 1 mL 过 0.22 μm×13 mm 聚四氟乙烯微孔滤头于 2 mL 进样瓶, 待 LC-MS/MS 分析。

试验前处理过程中比较了提取试剂的提取效率, 分别为: A 组(20 mL 水+10 mL 含 1% 甲酸的甲醇); B 组(20 mL 1% 乙酸水+10 mL 二氯甲烷); C 组(10 mL 水+20 mL 含 1% 甲酸的乙腈); 比较了提取剂中的酸度对 3 种药物的影响, 分别在水中加入了 1%、2%、3%、4% 的乙酸和甲酸; 比较了净化效果, 每组提取溶剂对应 2 种净化管: HLB 和改进的 QuEChERS 净化管, 取 1.5 mL 上清液于 QuEChERS 净化管中, 涡旋混匀, 于 6000 r/min 下离心 5 min; 取上清液过 0.22 μm×13 mm 尼龙 66 (Nylon) 滤头, 滤液收集于 2 mL 进样瓶中, 待 LC-MS/MS 分析; HLB 净化方式为取 1.5 mL 上清液过 HLB 柱(下端接微孔滤头, 小柱无需活化), 柱推杆直接下压过 0.22 μm 滤头, 滤液收集至 2 mL 进样瓶中, 待 LC-MS/MS 分析。

#### 1.3.3 仪器条件

##### (1) 色谱条件

色谱柱 Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> (50 mm×0.30 mm, 2.1 μm); 进样量为 1.0 μL, 柱温为 35 °C, 流速为 0.3 mL/min, 流动相: A 为甲醇、B 为水(含 5 mmol/L 乙酸铵)。梯度洗脱程序: 0~1.0 min, 20% A; 1.0~6.6 min, 20%~80% A; 6.6~7.0 min, 80%~90% A; 7.0~7.1 min, 90%~98% A; 7.1~11.6 min, 98% A; 11.6~15.0 min, 20% A。

##### (2) 质谱条件

ESI 源; 干燥气 350 °C; 干燥气流速 10 mL/min; 雾化

器压力 15 psi; 鞘气 300 °C; 鞘气流速 11 mL/min; 毛细管电压 4000 V; 动态多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM), 外标法定量。

#### 1.3.4 方法学考察

向茶叶(藏茶)粉中添加低、中、高 3 水平(0.25、0.50、1.00 mg/kg) 混合标准溶液, 按 1.3.2 进行前处理, 用 LC-MS/MS 进行检测。计算其回收率和相对标准偏差(relative standard deviation, RSD), 从而进行方法正确度、精密度考察。以公式检出限(limit of detection, LOD)=3.3×(SD/k), 定量限(limit of quantitation, LOQ)=10×(SD/k)<sup>[18]</sup> 计算得到方法 LOD 和 LOQ。基质效应(matrix effect, ME)值的定义为校准曲线斜率与溶剂标准曲线斜率的比值减 1, 用以表示空白基质的 ME。当|ME|值低于 20% 时, 认为 ME 较弱, 可以不予考虑; |ME|为 20%~50% 时, 表示中等 ME; 当|ME|值超过 50% 时, 意味着样品会显示出强 ME<sup>[19-20]</sup>。

#### 1.3.5 实际样品检测

利用建立的方法对 2023 年随机抽取四川多地区的 20 份藏茶、20 份红茶、10 份黄茶、10 份花茶和 40 份绿茶共 100 份样品进行氯酚酸、茅草枯和草芽畏残留检测。

### 1.4 数据处理

试验测定数据导出后用 WPS Excel 和 SPSS Statistics 27.0.1 进行数据统计分析, 用 Origin 2022 进行图形绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 仪器条件优化

氯酚酸、茅草枯和草芽畏均为氯代酸性农药, 均容易失去一个质子带负电, 所以选择负离子模式进行分析。流动相选择甲醇和含 5 mmol/L 乙酸铵的水, 甲醇能提高 3 种除草剂的分离效果, 乙酸铵的加入可以调节流动相的 pH 和离子强度, 能够使 3 种除草剂形成稳定的负离子, 且不会在离子源中形成结晶阻塞和污染离子源。

在全扫描模式下选择响应较高的分子离子作为目标物的母离子, 然后对该分子离子进行轰击, 获得二次碎裂的子离子, 选择 2 个信号强度适宜的子离子组成监测离子对, 在此基础上依次优化各目标物的扫描电压、碰撞能量等质谱参数, 用于后续的定性和定量分析。

氯酚酸在负离子模式下羧基上的氢原子失去形成响应较高的  $m/z$  302.9 和  $m/z$  300.9 两个同位素分子离子峰, 因此选择  $m/z$  302.9 和  $m/z$  300.9 为母离子, 在施加碰撞能量后, 两个母离子发生脱一分子羧酸反应, 分别形成  $m/z$  258.9 和  $m/z$  256.9 两个碎片离子, 而  $m/z$  256.9 较  $m/z$  258.9 峰响应更高、稳定性更好, 因此试验选择为  $m/z$  302.9~ $m/z$  258.9 为氯酚酸的定性离子对,  $m/z$  300.9~ $m/z$  256.9 为其定量离子对。茅草枯在负离子模式下失去羧基上氢原子形成

$m/z$  141.0 分子离子, 施加碰撞能量后, 失去羧基后得到  $m/z$  96.8 碎片离子或脱去一分子氯化氢(HCl)得到  $m/z$  104.8 碎片离子,  $m/z$  104.8 较  $m/z$  96.8 峰响应更高、灵敏度更强, 试验选择  $m/z$  141.0~ $m/z$  96.8 为茅草枯的定性离子对,  $m/z$  141.0~ $m/z$  104.8 为其定量离子对。草芽畏在负离子模式下羧基上的氢原子失去, 形成响应较高的  $m/z$  224.9 和  $m/z$

223.0 两个同位素分子离子峰, 在施加碰撞能量后, 两个母离子发生脱一分子羧酸反应, 分别形成  $m/z$  180.9 和  $m/z$  179 两个碎片离子, 而  $m/z$  179 较  $m/z$  180.9 峰响应更高、稳定性更好, 因此试验选择为  $m/z$  224.9~ $m/z$  180.9 为草芽畏的定性离子对,  $m/z$  223.0~ $m/z$  179 为其定量离子对。3 种除草剂的扫描电压、碰撞能量见表 1, MRM 如图 1 所示。

表 1 3 种除草剂名称及质谱采集条件  
Table 1 Names and mass spectrometry acquisition conditions of 3 kinds of herbicides

序号	农药名称	CAS	离子对	扫描电压/V	碰撞能量/V	保留时间/min
1	氯酞酸	2136-79-0	302.9-258.9/300.9-256.9*	40	5	0.59
2	茅草枯	75-99-0	141.0-96.8/141.0-104.8*	70	5	1.16
3	草芽畏	50-31-7	224.9-180.9/223.0-179*	40	5	2.40

注: \*为定量离子。

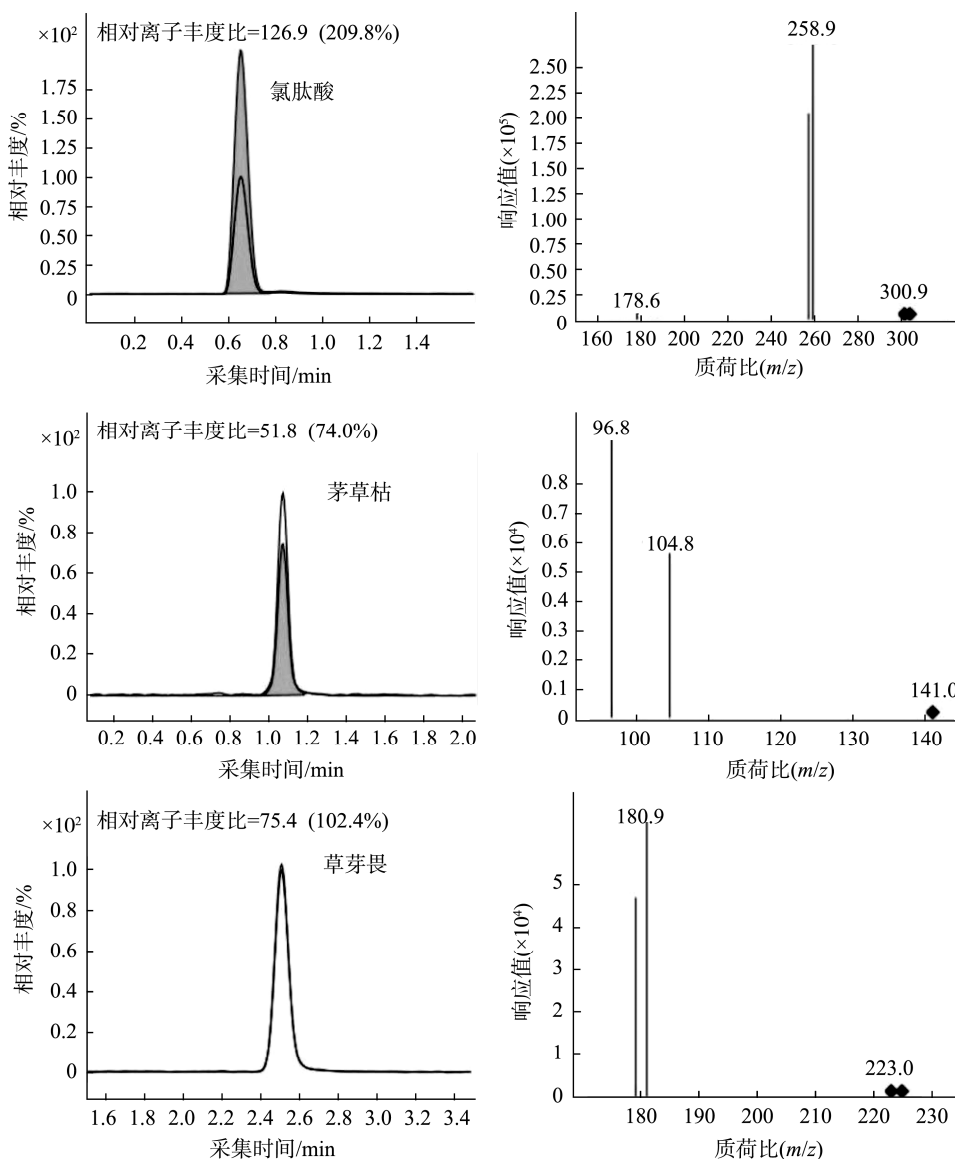
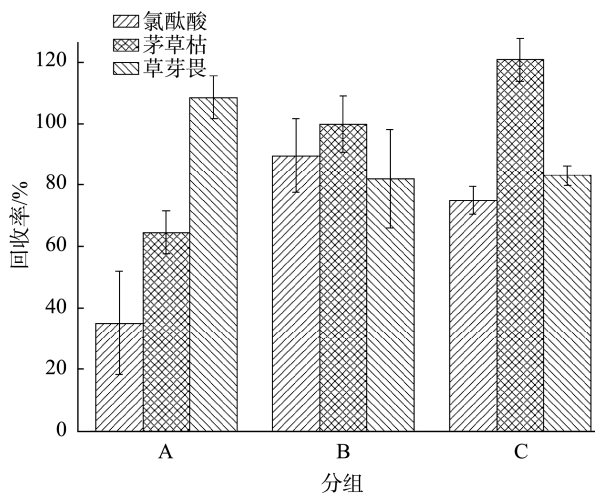


图 1 3 种除草剂的 MRM 图  
Fig.1 MRM plots of the 3 kinds of herbicides

## 2.2 提取剂优化

### 2.2.1 提取剂种类

已有研究表明,有机酸类除草剂非衍生活常用的提取剂有氢氧化钠<sup>[21]</sup>、水<sup>[22-23]</sup>、水与乙腈混合溶液<sup>[24]</sup>等。因此,试验对 A 组(20 mL 水+10 mL 含 1%甲酸的甲醇)、B 组(20 mL 1%乙酸水+10 mL 二氯甲烷)和 C 组(10 mL 水+20 mL 含 1%甲酸的乙腈)作为提取剂提取茶叶(绿茶)的效果比较。结果显示 B 组提取剂的效果最佳(图 2),这与林丽敏等<sup>[25]</sup>研究结论一致,即用水与二氯甲烷混合溶液作为提取剂可以破乳破酯,提高提取效率,较单纯使用水作为提取剂效果更佳。



注: A. 20 mL 水+10 mL 含 1%甲酸的甲醇; B. 20 mL 1%乙酸水+10 mL 二氯甲烷; C. 10 mL 水+20 mL 含 1%甲酸的乙腈。

图 2 不同提取剂对 3 种除草剂回收率的影响  
(添加量 0.25 mg/kg, n=3)

Fig.2 Effects of different extraction agents on the recovery of 3 kinds of herbicides (spiked at 0.25 mg/kg, n=3)

### 2.2.2 提取剂酸度

由于 3 种除草剂均为有机酸农药,解离状态下难溶于有机溶剂。有研究发现,对样品进行酸化处理可以抑制目标化合物的解离,破坏分析物和基质之间的吸附作用,从而将样品基质中的目标化合物更好地提取到有机溶剂中,以此提高回收率<sup>[26-27]</sup>。黄科等<sup>[28]</sup>研究比较了不同含量的甲酸作为提取剂,对蔬菜中酸性除草剂的提取效果,但未考察其他有机酸的提取效果。本试验参考已有研究中使用有机酸调节酸度提高提取效果的思路;选择向提取剂中加入甲酸和有机酸,通过设置不同浓度梯度,可以系统考察不同酸度条件对 3 种除草剂提取效果的影响,从而确定最佳的提取剂酸度,为优化提取条件提供依据。本试验比较了在水中加入 1%、2%、3%、4%甲酸和 1%、2%、3%、4%乙酸 2 种有机酸的提取效果(图 3)。结果发现,在水中添加有机酸后,茶叶(绿茶)中 3 种除草剂农药在 1%乙酸提取后回收率在 80%~120%之间,回收效果最佳,因此后续试验选用 1%乙酸水加二氯甲烷作为提取剂。

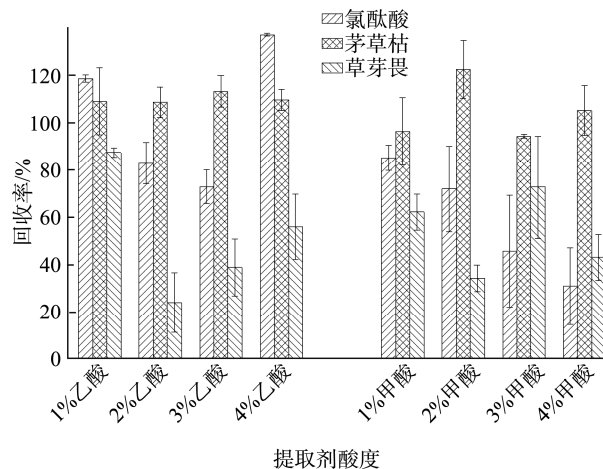


图 3 不同有机酸及酸度对 3 种除草剂的提取影响  
(添加量 0.25 mg/kg, n=3)

Fig.3 Effects of different acids and acidity on the extraction of 3 kinds of herbicides (spiked at 0.25 mg/kg, n=3)

## 2.3 净化方式优化

李立等<sup>[29]</sup>研究发现在酸性除草剂净化中,混合型阳离子固相萃取(cation exchange column, PCX)柱可有效地对目标物进行回收并可有效地去除基质中脂肪等杂质干扰物,但当面对复杂基质如茶叶时,仅使用 PCX 效果不佳,还需增加石墨化炭黑固相萃取净化步骤,以实现同时对叶绿素和固醇类的有效去除。强阳离子交换固相萃取(strong cation exchange, SCX)柱虽对目标物回收方面表现尚可,但净化效果欠佳,在仪器测定中基质干扰严重。鉴于此,以上 2 种净化管在本研究中不予考虑。由于 3 种除草剂在提取时有水相,传统 QuEChERS 柱内含无水硫酸镁等除水盐类而不能用于后续净化。郑云华等<sup>[30]</sup>检测草甘膦类农药时,采用水相提取,后续用 HLB 和改进的 QuEChERS 对草甘膦类农药的进行净化,取得了较好的效果。因此,本试验参考并比较了 HLB (300 mg/3 mL)和改进 QuEChERS(内含物见 1.1) 2 种净化管在茶叶(绿茶)中 3 种除草剂农药的净化效果。结果发现,HLB 的净化效果优于改进的 QuEChERS,3 种目标物回收率在 80%~110%之间(图 4)。HLB 柱填料为亲水亲脂的反相吸附剂,由 N-乙烯吡咯烷酮和亲脂性二乙烯基苯聚合而成,是疏水性强且具有良好水浸润性的聚合物吸附剂,可吸附脂肪、脂溶性杂质,除色素效果较好<sup>[30]</sup>。综上所述,后续试验选择 HLB 净化柱进行净化。

## 2.4 方法学验证

### 2.4.1 标准曲线、正确度与精密度

用储备液配制了 0.01、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、2.00  $\mu\text{g/mL}$  茶叶(绿茶)基质混合工作曲线。结果如表 2 和表 3 所示。结果显示 3 种除草剂在 0.01~2.00  $\mu\text{g/mL}$  范围内,

呈现良好的线性关系,  $r^2$  均在 0.998 以上。在 0.05、0.25、0.50 和 1.00 mg/kg 4 个添加水平下, 3 种除草剂在茶叶空白基质中平均回收率为 71.1%~119.2%, 相对标准偏差在 3.3%~18.3%之间。

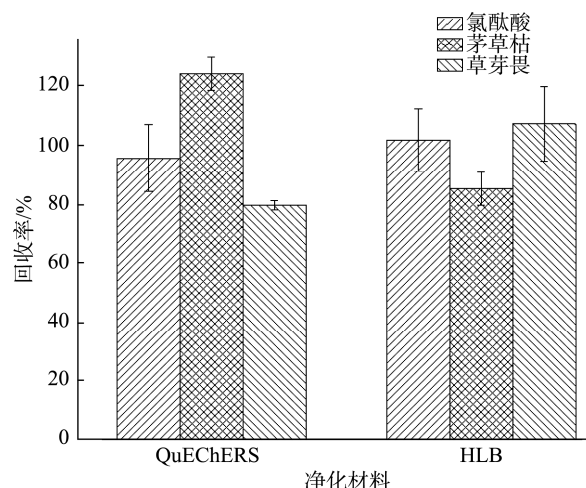


图 4 不同净化材料对 3 种除草剂回收率的影响 (添加量 0.25 mg/kg,  $n=3$ )

Fig.4 Effects of different purification materials on the recovery of the 3 kinds of herbicides (spiked at 0.25 mg/kg,  $n=3$ )

表 2 茶叶中 3 种除草剂不同添加水平下的正确度与精密度 ( $n=3$ , %)

Table 2 Correctness and precision of the 3 kinds of herbicides in tea at different spiked levels ( $n=3$ , %)

添加量 (mg/kg)	氯酞酸		茅草枯		草芽畏	
	回收率	RSDs	回收率	RSDs	回收率	RSDs
0.05	71.1	18.3	83.8	12.5	78.4	10.2
0.25	93.8	9.7	90.4	17.2	82.9	5.9
0.50	87.2	9.1	99.2	6.9	113.5	10.4
1.00	74.0	4.6	119.2	6.9	82.0	3.3

#### 2.4.2 检出限与定量限

以 1.4.1 方法计算得到茶叶基质的 LOD 和 LOQ 见表 3。茶叶中 3 种除草剂的 LOD 在 0.002~0.009 mg/kg 之间, LOQ 在 0.008~0.029 mg/kg 之间。试验收集了 3 种除草剂在不同国家和地区的限量值信息发现, 目前仅在中国的 GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》中, 针对饮料类对这 3 种除草剂做出了临时限量规定, 限量值设定为 0.01 mg/kg, 而在干茶叶中并无限量值, 欧盟<sup>[31]</sup>仅对茅草枯制定了临时限量值(0.05 mg/kg), 国际食品法典委员会 (Codex Alimentarius Commission, CAC)<sup>[32]</sup>、美国<sup>[33]</sup>和日本<sup>[34]</sup>等其他国家地区均未对 3 种除草剂进行限量设定, 这在监管方面存在较大空白。本研究 3 种除草剂 LOD 均较低, 可以满足日常定性、定量检测的实际需求。

表 3 茶叶中 3 种除草剂的 LODs、LOQs 及线性关系  
Table 3 LODs, LOQs and linearity of the 3 kinds of herbicides in tea

农药名称	线性关系	相关系数 ( $r^2$ )	LODs (mg/kg)	LOQs (mg/kg)	饮料中临时 限量值 (mg/kg)
氯酞酸	$Y=8199.845X+733.959$	0.998	0.009	0.029	0.01
茅草枯	$Y=70854.290X-485.349$	0.998	0.002	0.008	0.01
草芽畏	$Y=327877.628X+6049.386$	0.999	0.004	0.013	0.01

#### 2.4.3 基质效应

以 1.3.4 方法计算 3 种化合物在藏茶、绿茶、红茶、花茶、黄茶 5 种样本中的 ME。结果表明(表 4): 草芽畏和茅草枯在 4 种茶叶中呈现弱 ME, 在藏茶中呈现中等 ME; 氯酞酸的 ME 在 20%~50%之间, 为较强 ME, 表现为可接受。有研究指出, 具有极性或者能够形成强烈氢键的酸碱化合物, 特别是包含有特定官能团(如-O-CO-、-NH-CO-、-OH 等)的农药, 对 ME 表现出较高的敏感性<sup>[35-36]</sup>。因此, 为确保测定结果的准确性, 试验采用基质匹配校准曲线, 外标法定量进行样品的检测。

表 4 5 种茶叶中 3 种除草剂的 Mes (%)

Table 4 MEs of 3 kinds of herbicides in 5 kinds of teas (%)

名称	氯酞酸	茅草枯	草芽畏
黄茶	29.0	15.5	12.0
红茶	33.1	17.3	14.7
花茶	25.6	13.5	12.7
绿茶	32.8	14.5	13.5
藏茶	41.5	25.6	27.0

#### 2.5 实际样品检测

利用建立的方法对 2023 年随机抽取四川多地区的 20 份藏茶、20 份红茶、10 份黄茶、10 份花茶和 40 份绿茶共 100 份样品进行氯酞酸、茅草枯和草芽畏残留检测。经检测, 绿茶样品中检出茅草枯 2 份(含量分别为 0.009 mg/kg 和 0.056 mg/kg), 其中 1 份为不合格样品, 定性检出草芽畏 1 份(含量为 0.004 mg/kg, 低于 LOQ); 红茶样品中定性检出草芽畏 1 份(含量为 0.012 mg/kg, 但超过限量值)为不合格样品; 花茶样品定性检出 1 份草芽畏(含量为 0.012 mg/kg, 超过限量值)为不合格样品; 黄茶样品中定性检出 1 份草芽畏(含量为 0.0099 mg/kg); 藏茶样品中 3 种除草剂均未检出。由此可知, 茶园中存在使用草芽畏的风险隐患, 氯酞酸和茅草枯使用相对较少, 3 种除草剂的潜在危害不容忽视, 应当引起重视并加以管控, 避免其残留对人体造成危害。

### 3 结论

本研究建立了一种非衍生化提取, HLB 净化结合 LC-MS/MS 检测茶叶中氯酞酸、茅草枯、草芽畏的方法。

样品经 20 mL 1%乙酸水+10 mL 二氯甲烷提取后,用 HLB 柱过滤净化, C<sub>18</sub> 色谱柱分离, LC-MS/MS 负离子外标法定量检测。方法具有前处理简单, 无需衍生化, 试剂用量少的显著特点, 既对检测人员健康, 又利于保护环境, 可作为大批量检测茶叶中 3 种除草剂残留的方法。3 类除草剂在 GB 2763—2021 中, 饮料类新增的检测项目草芽畏、氯酚酸尚无推荐检测标准, 经查阅也无可供参考的检测标准; 而原有检测项目茅草枯的最大残留限量已下调至 0.01 mg/kg, 当前推荐的检测标准 GB 23200.13—2016《食品安全国家标准 茶叶中 448 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-质谱法》LOQ 为 0.23 mg/kg, 已不能满足检测要求。本研究建立的 3 种除草剂 LOQ 均低于 0.03 mg/kg, 茅草枯 LOQ 为 0.01 mg/kg, 能够满足茶叶中 3 种除草剂的检测要求, 也为建立 3 种除草剂的检测标准提供一定的技术基础。

将方法应用于 100 份四川地区市售茶叶检测, 结果表明, 这 100 份茶叶中共检出茅草枯 2 次, 以 GB 2763—2021 中饮料中的临时限量(0.01 mg/kg)判定则超标 1 次; 而欧盟<sup>[31]</sup>中茅草枯的临时限量值为 0.05 mg/kg, 以此判定则为合格样品。草芽畏共检出 4 次, 超出限量值 3 次。建立的方法中, 草芽畏 LOQ 为 0.013 mg/kg, 高于饮料中的临时限量规定(0.01 mg/kg), 其为定性检出。因此, 该方法有待进一步试验优化, 以此降低其 LOD 和 LOQ, 同时应尽快明确茶叶中 3 种除草剂的准确限量值, 为后续有效判定提供有力的依据。

## 参考文献

- [1] ROSTAMIANMASHHADI M, HOSEINI SRA. The interaction effect of green tea consumption and exercise training on fat oxidation, body composition and blood lipids in humans: A review of the literature [J]. *Sport Sciences for Health*, 2023, 19(2): 461–477.
- [2] SHARIF MS, MOHSENI HS, KHANA VI, *et al.* Exploring the synergistic effect of sildenafil and green tea polyphenols on breast cancer stem cell-like cells and their parental cells: A potential novel therapeutic approach [J]. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2024, 24(4): 304–315.
- [3] HASANUZZAMAN M, MOHSIN SM, BHUYAN MHMB, *et al.* Phytotoxicity, environmental and health hazards of herbicides: Challenges and ways forward [J]. *Agrochemicals Detection, Treatment and Remediation*, 2020, 1: 55–99.
- [4] BACON MH, VANDELAC L, GAGNON MA, *et al.* Poisoning regulation, research, health, and the environment: The glyphosate-based herbicides case in Canada [J]. *Toxics*, 2023, 11(2): 121.
- [5] 纪明山. 除草剂药害的产生与控制[J]. *现代农药*, 2024, 23(3): 13–16.  
JI MS. Occurrence and control of herbicide phytotoxicity [J]. *Modern Agrochemicals*, 2024, 23(3): 13–16.
- [6] ROSE MT, ZHANG P, ROSE TJ, *et al.* Herbicide residues in Australian grain cropping soils at sowing and their relevance to crop growth [J]. *The Science of the Total Environment*, 2022, 833: 155105.
- [7] MA J, REN W, DAI S, *et al.* Spatial distribution and ecological-health risks associated with herbicides in soils and crop kernels of the black soil region in China [J]. *The Science of the Total Environment*, 2024, 908: 168493.
- [8] ZHENG X, ZOU C, WANG Y, *et al.* Herbicide applications reduce gaseous N losses: A field study of three consecutive wheat-maize rotation cycles in the north China plain [J]. *Agronomy*, 2024, 14(2): 283.
- [9] MCMANUS SL, MOLONEY M, RICHARDS KG, *et al.* Determination and occurrence of phenoxyacetic acid herbicides and their transformation products in groundwater using ultra high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. *Molecules*, 2014, 19: 20627–20649.
- [10] 张辰凌, 桂建业, 张莉, 等. 超声衍生萃取-气相色谱-质谱法测定土壤中茅草枯含量[J]. *理化检验: 化学分册*, 2014(4): 452–454.  
ZHANG CL, GUI JY, ZHANG L, *et al.* Ultrasonic derivatisation and extraction-GC-MS determination of dalapon in soil [J]. *Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis)*, 2014(4): 452–454.
- [11] 付萌, 毕瑞锋, 张伟伟, 等. 气相色谱-串联质谱法测定 5 种植物源性食品中氯酚酸和草芽畏残留量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(11): 237–243.  
FU M, BI RF, ZHANG WW, *et al.* Determination of chlorthal and 2,3,6-trichlorobenzoic acid residues in 5 kinds of plant-origin food by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(11): 237–243.
- [12] 张永涛, 张莉, 左海英, 等. 重氮甲烷衍生气相色谱-质谱法检测地下水中 17 种酸性除草剂[J]. *岩矿测试*, 2010, 29(4): 345–349.  
ZHANG YT, ZHANG L, ZUO HY, *et al.* Detection of 17 acid herbicide residues in groundwater by gas chromatography-mass spectrometry with diazomethane derivation [J]. *Rock and Mineral Analysis*, 2010, 29(4): 345–349.
- [13] 张伟彪, 张晓鸿, 张晓强. 液相色谱串联质谱法测定蔬菜水果中六种农药残留[J]. *农业与技术*, 2019, 39(13): 24–26.  
ZHANG WB, ZHANG XH, ZHANG XQ. Determination of six pesticide residues in vegetables and fruits by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Agriculture and Technology*, 2019, 39(13): 24–26.
- [14] 张文, 张新中, 闫君, 等. 柱前衍生-超高液相色谱三重四极杆质谱法测定茶叶中草甘膦、草铵膦及氨基甲酸磷残留量[J]. *食品科技*, 2024, 49(9): 310–315.  
ZHANG W, ZHANG XZ, YAN J, *et al.* Determination of glyphosate, glufosinate and methylaminophosphate residues in tea by pre-column derivation-UPLC-MS/MS method [J]. *Food Science and Technology*, 2024, 49(9): 310–315.
- [15] 邱世婷, 侯雪, 韩梅, 等. 基于亲水作用色谱-串联质谱的非衍生化法测定绿茶中草甘膦、草铵膦及其代谢物残留[J]. *农产品质量与安全*, 2021(4): 30–35.  
QIU ST, HOU X, HAN M, *et al.* Determination of glyphosate, glufosinate and its metabolite residues in green tea by non-derivatisation method based on hydrophilic interaction chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Quality and Safety of Agro-Products*, 2021(4): 30–35.
- [16] 陈月龙. UPLC-MS/MS 测定茶叶中茅草枯, 草芽畏, 戊消酚, 烯啶吡啶和毒菌酚 5 种农药残留[J]. *福建分析测试*, 2023, 32(2): 44–49.  
CHEN YL. Simultaneous determination of dalapon, 2,3,6-TBA, dinosam, dinex, hexachloro-phene in tea by ultra performance liquid chromatography coupled with triple quadru-pole mass spectrometry [J]. *Fujian Analysis & Testing*, 2023, 32(2): 44–49.
- [17] 丁立平. 分散固相萃取-气相色谱法测定谷物中 4 种苯甲酸类除草剂[J]. *分析实验室*, 2023, 42(4): 496–500.  
DING LP. Determination of four benzoic acid herbicides in grains by

- dispersive solid phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2023, 42(4): 496–500.
- [18] TAMIMA A, ALZAHIRANI S, AL-SUBAIE S, *et al.* Fast simultaneous determination of 23 veterinary drug residues in fish, poultry, and red meat by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Arabian Journal of Chemistry, 2022, 15(104116): 1–10.
- [19] 杨志敏, 张文, 吴福祥, 等. 气相色谱-三重四极杆质谱动态多反应监测模式测定枸杞干果中 118 种农药残留[J]. 色谱, 2021, 39(6): 659–669. YANG ZM, ZHANG W, WU FX, *et al.* Determination of 118 pesticide residues in dried wolfberry by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry in dynamic multiple reaction monitoring mode [J]. China Journal of Chromatography, 2021, 39(6): 659–669.
- [20] HE Z, CHEN S, WANG L, *et al.* Multiresidue analysis of 213 pesticides in leek and garlic using QuEChERS-based method and gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2015, 407(9): 2637–2643.
- [21] 周芹, 吴玉梅. 超高效液相色谱串联质谱非衍生化法测定土壤中草甘膦及其代谢物氨基磷酸含量[J]. 中国农学通报, 2020, 36(27): 72–80. ZHOU Q, WU YM. Glyphosate and aminomethyl phosphonic acid in soil: determined by direct injection liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2020, 36(27): 72–80.
- [22] 赵佳胤, 魏峰, 俞秋红, 等. 非衍生化液相色谱-串联质谱法测定茶叶中草铵膦残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(20): 7322–7328. ZHAO JY, WEI F, YU QH, *et al.* Determination of glufosinate ammonium residue in tea by non-derivatized liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(20): 7322–7328.
- [23] 潘胜东, 童廷德, 叶美君, 等. 基于超高效液相色谱-高分辨质谱的非衍生化法测定面粉和燕麦中草甘膦及氨基磷酸残留[J]. 色谱, 2019, 37(12): 1321–1330. PAN SD, TONG YD, YE MJ, *et al.* Determination of residual glyphosate and aminomethylphosphonic acid in wheat flour and oats samples by non-derivatization method based on ultra-performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2019, 37(12): 1321–1330.
- [24] 诸骏杰, 孙文闪, 周婷婷, 等. 一种快速测定植物油中的草铵膦、草甘膦及其代谢物氨基磷酸残留的方法[J]. 生物加工过程, 2020, 18(4): 478–483. ZHU JJ, SUN WS, ZHOU TT, *et al.* A method for the rapid determination of glyphosate, glyphosate and its metabolite aminomethylphosphonic acid residues in vegetable oil [J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2020, 18(4): 478–483.
- [25] 林丽敏, 张建莹, 肖锋, 等. 非衍生化/液相色谱-串联质谱法测定果蔬中氨基酸类有机磷除草剂残留[J]. 分析测试学报, 2022, 41(11): 1702–1706. LIN LL, ZHANG JY, XIAO F, *et al.* Determination of organophosphorus amino acids herbicides residues in fruits and vegetables by underivatization/liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2022, 41(11): 1702–1706.
- [26] 陆静, 成婧, 杨纯, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜水果中的百草枯和敌草快残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(2): 586–593. LU J, CHENG J, YANG C, *et al.* Determination of paraquat and diquat in vegetables and fruits by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(2): 586–593.
- [27] 朱萌萌, 叶群, 胡松, 等. 气相色谱-串联质谱法测定茶叶中 10 种酸性除草剂的残留量[J]. 理化检验(化学分册), 2019, 55(7): 762–768. ZHU MM, YE Q, HU S, *et al.* Determination of ten acidic herbicide residues in tea by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2019, 55(7): 762–768.
- [28] 黄科, 张建莹, 邓慧芬, 等. 液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中 20 种酸性除草剂残留[J]. 分析科学学报, 2019, 35(6): 824–830. HUANG K, ZHANG JY, DENG HF, *et al.* Determination of 20 kind of acid herbicide residues in vegetables by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Analytical Science, 2019, 35(6): 824–830.
- [29] 李立, 付建, 高洪良, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定多种农产品中杀草强的残留量[J]. 色谱, 2010, 28(3): 301–304. LI L, FU J, GAO HL, *et al.* Determination of amitrole in agricultural products by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2010, 28(3): 301–304.
- [30] 郑云华, 杨巧慧, 蒋文隆, 等. 非衍生化分散固相萃取结合液相色谱-串联质谱测定茶叶和花椒中草铵膦、草甘膦及其代谢物残留[J]. 农药学报, 2024, 26(6): 1161–1170. ZHENG YH, YANG QH, JIANG WL, *et al.* Non-derivatized dispersive solid-phase extraction coupled with LC-MS/MS for the determination of residues of glufosinate, glyphosate and their metabolites in tea and *Zanthoxylum bungeanum* [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2024, 26(6): 1161–1170.
- [31] European Commission (European Union). EU pesticides database [EB/OL]. (2024-10-28) [2025-01-18]. <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/mrls>
- [32] Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and World Health Organization (WHO). Codex online pesticide databases [EB/OL]. (2024-11-15) [2025-01-18]. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticides/en/>
- [33] U.S. Environmental Protection Agency (EPA). Tolerances and exemptions for pesticide chemical residues in food authority [EB/OL]. (2024-06-12) [2025-01-18]. <https://www.ecfr.gov/current/title-40/chapter-I/subchapter-E/part-180?toc=1>
- [34] The Japan Food Chemical Research Foundation. Maximum residue limits (MRLs) list of agricultural chemicals in foods [EB/OL]. (2024-03-04) [2025-01-18]. [http://db.ffcr.or.jp/front/pesticide\\_comp](http://db.ffcr.or.jp/front/pesticide_comp)
- [35] 许炳雯, 孙程鹏, 葛祥武, 等. 气相色谱-串联质谱法测定 30 种果蔬中 61 种农药的基质效应及其克服方式[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(15): 6068–6076. XU BW, SUN CP, GE XW, *et al.* Matrix effects and their countermeasures of 61 kinds of pesticides in 30 kinds of fruits and vegetables by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(15): 6068–6076.
- [36] 闫君, 陈婷, 张婕, 等. 农药残留检测的基质效应研究综述[J]. 食品科技, 2024, 49(6): 335–341. YAN J, CHEN T, ZHANG J, *et al.* A review of matrix effects in pesticide residue detection [J]. Food Science and Technology, 2024, 49(6): 335–341.

(责任编辑: 蔡世佳 韩晓红)