

# QuEChERS-HPLC 法快速测定山茱萸中高效氯氰菊酯的残留量

陈伟, 任应党\*, 刘红彦, 刘玉霞, 范芳婷  
(河南省农业科学院 植物保护研究所, 河南 郑州 450002)

**摘要:** 采用乙腈提取, 基质固相萃取净化, HPLC 测定, 建立了高效氯氰菊酯在山茱萸上的残留分析方法。结果表明: 高效氯氰菊酯在  $0.03 \sim 0.12 \mu\text{g}$  范围内线性关系良好, 其相关系数为 0.9986, 仪器的最小检出量为  $1.5 \times 10^{-11} \text{g}$ 。在  $0.05 \mu\text{g}$ 、 $0.1 \mu\text{g}$ 、 $0.5 \mu\text{g}$  3 个添加水平上, 高效氯氰菊酯的平均回收率为  $80.87\% \sim 94.61\%$ , 相对标准偏差为  $2.09\% \sim 7.42\%$ 。该方法灵敏度和精密度均能满足微量农药残留分析要求, 可实现对山茱萸样品中高效氯氰菊酯的快速定量测定。

**关键词:** 山茱萸; 高效氯氰菊酯; HPLC; QuEChERS

中图分类号: O657.7<sup>+</sup>2 文献标识码: A 文章编号: 1004-3268(2011)02-0111-04

## A Simplified QuEChERS-HPLC Method for Determining Residues of Beta-cypermethrin in *Cornus officinalis*

CHEN Wei, REN Ying-dang\*, LIU Hong-yan, LIU Yu-xia, FAN Fang-ting  
(Institute of Plant Protection, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** A simplified method was developed for determining the residue of beta-cypermethrin pesticide in *Cornus officinalis* using HPLC for analysis. The QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe) sample preparation method was modified to produce good analytical results for pesticide beta-cypermethrin. The pesticide was extracted from samples with acetonitrile, and purified by matrix solid-phase dispersion using anhydrous  $\text{MgSO}_4$ , PSA and C18. The results showed that good linearity for beta-cypermethrin existed in the range of  $0.03 \sim 0.12 \mu\text{g}$  with the correlation coefficient of 0.9986. The detection limit of the instrument was  $1.5 \times 10^{-11} \text{g}$ . Use of matrix-matched standards provided acceptable results for pesticide beta-cypermethrin with overall average recovery between  $80\%$  and  $94\%$ . The consistent RSD was  $< 4.5\%$  for pesticide in sarco-carp and  $< 7.5\%$  for pesticide in leaf.

**Key words:** *Cornus officinalis*; Beta-cypermethrin; HPLC; QuEChERS

山茱萸(*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.) 是山茱萸科(Cornaceae)山茱萸属植物, 主产于河南、陕西、浙江等地, 具有调节免疫系统功能和降血糖作用, 其果实可作为保健饮料和食品添加剂原料<sup>[1-3]</sup>。山茱萸在生长发育过程中可遭受多种病虫害危害, 生产上常使用化学农药进行防治<sup>[4]</sup>, 随着化学农药的长期使用, 带来了农药残留和环境污染问题, 不但严重影响山茱萸的品质, 还影响到当地农民的经济收入。在化学农药还不能被其他防治手段替代的今

天, 科学、安全、合理施用化学农药是提高中药材品质的前提和保障。

高效氯氰菊酯是防治山茱萸蛀果蛾的常用药剂, 对其进行残留量快速分析在生产上具有重要意义。在杀虫剂残留分析中, 提取净化的过程普遍存在样品前处理繁琐、费用高、使用有机溶剂量较多等不足<sup>[5-10]</sup>。由 Lehotay 和 Anastassiadas 提出的 QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe) 方法<sup>[11-13]</sup> 提供了新的解决途径, 弥补了它

收稿日期: 2010-08-26

基金项目: 河南省重点科技攻关计划项目(08210233001)

作者简介: 陈伟(1983-), 男, 河南夏邑人, 在读硕士研究生, 研究方向: 食品安全与分析。E-mail: a040713047@126.com

\*通讯作者: 任应党(1970-), 男, 河南宜阳人, 副研究员, 博士, 主要从事害虫生物防治和昆虫分类区系研究。

E-mail: renyd@126.com

们的不足之处。该法是一种新颖的样品前处理技术,采用含 1%醋酸的乙腈对样品进行抽提,接着加入硫酸镁和氯化钠的混合物,振荡促其分层,取上清液添加丙基乙二胺(PSA)和无水硫酸镁净化分离,最后加入分析保护剂,用带有各种检测器的 LC 或 GC 进行分析。本试验在此基础上,研究、建立了快速测定山茱萸中高效氯氰菊酯残留的 QuEChERS-HPLC 分析方法。

1 材料和方法

1.1 材料

- 1.1.1 试验药剂 4.5%高效氯氰菊酯(beta-cypermethrin)乳油,天津龙灯化工有限公司。
- 1.1.2 试剂 硫酸镁,氯化钠,丙基乙二胺(PSA),C18(平均粒径:50μm;平均孔径:60Å;比表面积:480 m<sup>2</sup>/g;天津博纳艾杰尔科技有限公司),甲醇(色谱纯),乙腈(分析纯),顺式氯氰菊酯标准溶液(100 μg/mL,农业部环境保护科研检测所)。
- 1.1.3 仪器 液相色谱仪:Agilent 1100(配备二极管阵列检测器),美国 Agilent 公司;分析天平:FA 2004A,上海精天电子仪器有限公司;循环水式真空泵:SHB-D(II),巩义英峪予华仪器厂;低温冷冻干燥器:GT1 型德国 SRK 公司;超声波清洗器:KQ-250DB,昆山超声仪器有限公司;离心机:TGL-16G-A 型,上海安亭技术有限公司;真空干燥箱:DZF-200 型,上海浦东荣丰科学仪器有限公司;超纯水机:Heal Force RO 30,上海力新仪器有限公司;涡旋仪:Vortex-Genie 2 美国 Scientific Industries 公司。
- 1.2 田间试验

于 2009 年 8 月 10 日在河南省嵩县车村镇天桥沟村进行。设施药区和对照区,施药区按当地农民习惯,用普通背负式喷雾器以 4.5%高效氯氰菊酯乳油 3 000 倍液喷雾,对照区喷清水,各处理 3 株,设 3 次重复。在山茱萸生长期于施药后的 14、28、60 d 分别采集果实和叶片样品。

1.3 测定方法

- 1.3.1 样品制备 将采集到的山茱萸果实和叶片样品收集到适宜容器内,充分混匀,用四分法分取 10~20 g 样品,在干燥器上干燥,经粉碎机粉碎后装于自封袋内,-20℃储存,备用。
- 1.3.2 提取与净化 将山茱萸粉碎样品过 380 μm 筛网后,精密称取 0.5000 g(精确至 0.0002 g)至 50 mL 离心管中,加入 10 mL 乙腈,静置 20 min 使其充分浸泡,再添加 3 g 硫酸镁和 0.8 g 氯化钠,手动振荡 1 min,然后超声振荡处理 15 min,浸提液离

心处理 10 min(7 000×g,室温)。取上清液 1 mL,放入 10 mL 离心管中,然后加入 0.08 g PSA 和 0.08 g C18 粉末,顺式涡旋 1 min(10 档),然后离心处理 15 min(14 000×g,4℃),上清液过 0.22 μm 滤膜,取 10 μL 上机测试<sup>[14]</sup>。

1.3.3 色谱分析条件 色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C18(4.6 mm×150 mm,5 μm);柱温:25℃;流速:0.8 mL/min;流动相:甲醇-水(体积比 85:15);检测波长:230 nm;进样量:10 μL。

2 结果与分析

2.1 干燥条件的选择

为使山茱萸果肉和果仁更好的分开,达到快速提取目标物的目的,试验中探索了不同的干燥方式,结果见表 1,可以看出,利用低温冷冻干燥器在-10℃条件下干燥时,山茱萸果肉和果仁能够很好的分离。所以,试验中最终选择低温干燥方式分离果肉和果仁。

表 1 不同干燥条件对山茱萸果实的影响

干燥设备	温度条件/℃	现象
真空干燥器	60	果肉和果仁不能很好的分离,黏度大
	100	果肉和果仁融合在一起,干瘪状,得不到样品
低温冷冻干燥器	-10	果肉和果仁能够很好的分离

2.2 检测波长的选择

用二极管阵列检测器在 200~400 nm 扫描得到高效氯氰菊酯的最大吸收波长在 220~250 nm 处。考虑到样品中杂质对测定的干扰问题,选择 230 nm 作为此方法的检测波长<sup>[15-17]</sup>。

2.3 标准曲线的绘制

取 100 μg/mL 高效氯氰菊酯标准品溶液 1 mL,使用流动相将其稀释至 10 g/mL,分别吸取 3、5、8、10、12 μL 上机测定其峰面积。以峰面积为纵坐标(y),质量为横坐标(x)绘制标准工作曲线,得到的回归方程为  $y=439.57x+0.8229$  ( $r=0.9986$ ),表明高效氯氰菊酯在 0.03~0.12 μg 范围内线性关系良好(图 1)。高效氯氰菊酯的保留时间为 4.06 min。按 3 倍信噪比计算出仪器的最低检出限为  $1.5\times 10^{-11}$  g。

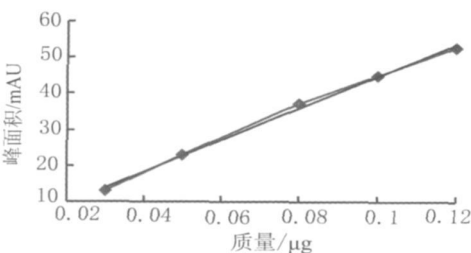


图 1 高效氯氰菊酯标准曲线

2.4 方法的准确度和精密度

在果肉和叶片的空白对照样品中分别添加不同质量的高效氯氟菊酯标样(0.05、0.1、0.5 $\mu$ g), 然后进行高效氯氟菊酯的提取、净化和测定, 重复 5 次。结果见表 2。由表 2 可知: 当添加量较少时, 回收率

偏低, 但符合痕量分析标准; 当添加量较大时, 回收率水平较高, 也满足痕量分析要求。平均回收率为 80.87%~94.61%, 相对标准偏差(RSD)为 2.09%~7.42%, 在残留测定允许的公差范围内, 满足农药残留分析要求。

表 2 山茱萸果肉和叶片中高效氯氟菊酯的回收率

样品	添加量/ $\mu$ g	回收率/%					平均回收率/%	RSD/%
		1	2	3	4	5		
山茱萸果肉	0.05	85.37	87.46	86.59	82.81	86.41	85.73	2.09
	0.1	93.18	95.42	89.58	94.05	93.75	93.20	2.34
	0.5	92.46	88.44	105.24	89.25	97.18	94.51	7.31
山茱萸叶片	0.05	79.84	76.32	82.65	85.07	80.46	80.87	4.04
	0.1	83.03	98.74	101.37	94.75	95.16	94.61	7.42
	0.5	87.05	97.18	92.05	89.38	91.78	91.49	4.12

2.5 山茱萸样品分析

对不同采摘时期的山茱萸果实和叶片, 按照上述同样的方法对所含的高效氯氟菊酯进行测定, 结果见表 3。从表 3 可以看出, 4.5% 高效氯氟菊酯乳油以 3 000 倍液喷雾处理, 14 d 和 28 d 时山茱萸果肉和叶片均有明显的农药残留, 然而其在山茱萸果肉中的残留量(10.48~99.88 mg/kg)明显高于叶片(0.73~16.45 mg/kg)。原因分析如下: ①由于山茱萸在富集营养的过程中, 果肉较叶片吸收多, 因此对高效氯氟菊酯的吸收相应增加, 导致其含量增大, 完全降解需要较长时间; ②由于光合作用的影响, 使得叶片中高效氯氟菊酯的降解速度较果肉中快。另外, 在收获时(10 月 9 日)山茱萸果肉中高效氯氟菊酯的最终残留量仍达 7.63 mg/kg, 超出了残留限量标准(3.0 mg/kg)<sup>[18]</sup>。这可能是由于温度的影响使其在果肉中的降解速度减缓, 因此, 建议农民提前喷施药剂时间。

表 3 山茱萸中高效氯氟菊酯含量的测定结果

采摘时间/(月·日)	高效氯氟菊酯含量/(mg/kg)	
	果肉	叶片
08-24	99.88	16.45
09-07	10.48	0.73
10-09	7.63	未采摘

3 讨论

本试验建立了山茱萸上高效氯氟菊酯残留分析的 QuEChERS-HPLC 法, 其最小检出量为 1.5 $\times$ 10<sup>-11</sup>g; 在 0.05~0.5 $\mu$ g 添加水平上, 高效氯氟菊酯的平均回收率为 80.87%~94.61%, 相对标准偏差为 2.09%~7.42%, 其灵敏度和精密度均满足微量农药残留分析要求。实际样品分析表明, 该方法可

快速实现对山茱萸样品中高效氯氟菊酯的定量测定。

本试验中田间药剂处理是按照高效氯氟菊酯的推荐浓度和当地农民用药习惯而设计的, 但该农药检测结果超出了农药残留限量标准, 因此, 建议厂家增大该农药施用的稀释倍数, 并加大培训力度, 使当地农民安全、规范使用农药, 这对于指导山茱萸 GAP 建设、提高山茱萸药材品质和规范农药安全使用等方面均具有重要意义。

参考文献:

[1] 白成科, 俞君如, 于凤, 等. 山茱萸种质资源的 ISSR 遗传多样性分析与初级核心种质库的构建[J]. 西北植物学报, 2009, 29(12): 2401-2407.

[2] 欧静. 我国山茱萸科植物资源及其园林应用前景[J]. 广东农业科学, 2009(10): 83-87.

[3] 冯建时. 山茱萸苗木培育[J]. 安徽林业, 2009(4): 57-58.

[4] 汪海洋. 中药材山茱萸栽培与炭疽病防治技术[J]. 现代农业科技, 2005(4): 8.

[5] 王继臣. 气相色谱法测定水果中菊酯类农药残留量[J]. 河南农业科学, 2008(5): 81-82.

[6] 贺敏, 戴荣彩, 余平中, 等. 小麦和土壤中辛硫磷残留量的液相色谱分析方法研究[J]. 华北农学报, 2008, 23(2): 210-213.

[7] 王洁莲. 农药残留检测前处理技术的发展[J]. 山西农业科学, 2008, 36(10): 28-29.

[8] 余正萍. 水果中氯氟菊酯残留量的测定[J]. 化学工程与装备, 2009(11): 152-153, 114.

[9] 张涛, 姜瑞德, 王文娇, 等. 高效氯氟菊酯、氰戊菊酯、三唑酮在黄瓜上的残留动态研究[J]. 山东农业科学, 2009(9): 51-53.

[10] 马涛. 农药残留检测中现代前处理技术的应用[J]. 山西农业科学, 2007, 35(2): 80-82.

[11] Lehotay S J, Mastovska K, Yun S J. Evaluation of two

(下转第 117 页)

中草药, 2000, 31(9): 647-647.

[ 8 ] Hollingsworth M L, Hollingsworth P M, Jenkins G L, *et al.* The use of molecular markers to study patterns of genotypic diversity in some invasive alien Fallopia spp. (Polygonaceae)[ J ]. *Mol Eco*, 1998, 7: 1681-1691.

[ 9 ] Fang D Q, Krueger R R, Roose M L. Phylogenetic relationships among selected Citrus germplasm accessions revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) Markers[ J ]. *J Am Soc Hort Sci*, 1998, 123: 612-617.

[ 10 ] 杜景红, 左廷兵, 李凤兰, 等. 柴胡属植物(*Bupleurum* L.)研究进展[ J ]. 东北农业大学学报, 2003, 34(3): 352-359.

[ 11 ] 谢志明, 初敬华, 张朝举. 北柴胡在白城地区的驯化栽培研究[ J ]. 现代农业科技, 2009(4): 22.

[ 12 ] 侯典云, 马占强, 王荔. 柴胡 GAP 栽培技术[ J ]. 现代农业科技, 2006(03s): 13.

[ 13 ] 刘永春, 丛陪臣. 柴胡的化学成分及药理作用研究概况[ J ]. 黑龙江医药, 2006, 3(19): 216-218.

[ 14 ] 周平, 谢东浩, 陈俊, 等. 不同采收期春柴胡中总黄酮的含量测定[ J ]. 药学与临床研究, 2007, 15(6): 467-467.

[ 15 ] 刘鹏飞, 程爱卿, 邓天昇, 等. 苦参中总黄酮含量的测定及分布研究[ J ]. 中成药, 2007, 29(4): 596-598.

[ 16 ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[ S ]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 198.

[ 17 ] 王斌, 张腾霄, 刘利军. 明水县不同采收期柴胡多糖含量动态积累分析[ J ]. 人参研究, 2009(2): 12-15.

[ 18 ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[ S ]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 附录 56.

[ 19 ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[ S ]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 附录 57.

[ 20 ] 谢东浩, 王团结, 欧阳臻, 等. 不同采收期春柴胡挥发油化学成分的 GC-MS 分析[ J ]. 现代中药研究与实践, 2008, 22(6): 48-49.

[ 21 ] 谭玲玲, 胡正海, 蔡霞, 等. 北柴胡营养器官中主要化学成分的组织化学定位及其含量比较[ J ]. 分子细胞生物学报, 2007, 40(4): 214-222.

(上接第 113 页)

fast and easy methods for pesticide residue analysis in fatty food matrixes[ J ]. *Journal of AOAC International*, 2005, 88: 630-633.

[ 12 ] Anastassiadas M, Lehotay S J, Stajnbaher D. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and ‘dispersive solid-phase extraction’ for the determination of pesticide residues in produce[ J ]. *Journal of AOAC International*, 2003, 86: 412-413.

[ 13 ] Lehotay S J. Quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe (QuEChERS) approach for determining pesticide residue[ M ]. USA: Humana Press, 2004.

[ 14 ] Katerina M, Kelly J D, Strven J L, *et al.* Analysis in cereal grains using modified QuEChERS method combined with automated direct sample introduction GC-TOFMS and UPLC-MS/MS techniques[ J ]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(10): 5959-5972.

[ 15 ] 孙洪涛. 4.5% 高效氯氰菊酯水乳剂分析方法的研究[ J ]. 中国石油和化工标准与质量, 2007(11): 40-42.

[ 16 ] 钱坤, 谭辉华, 伍华英, 等. 20% 烯唑醇·高效氯氰菊酯水乳剂高效液相色谱分析[ J ]. 农药, 2008, 47(7): 511-512.

[ 17 ] 何盼, 尹艳丽, 游永. 7% 阿维菌素·高效氯氰菊酯乳油的高效液相色谱分析[ J ]. 农药科学与管理, 2006, 25(7): 8-11.

[ 18 ] 陈家春, 贾敏如. 中、美、英、日和欧洲药典中植物药重金属和农药残留量的限量规定及分析[ J ]. 华西药学杂志, 2005, 20(6): 525-527.