

超高效液相色谱法测定茶叶中三氯杀螨醇

彭臻菲, 黄慧, 李泳宁*, 林清清, 蔡美虹 (福建卫生职业技术学院, 福建福州 350101)

摘要 [目的]建立一种超高效液相色谱快速测定茶叶中三氯杀螨醇的方法。[方法]采用 Waters H-Class 超高效液相色谱仪, ACQUITY UPLC BEH[®] C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 测定波长 230 nm, 流动相为 A(甲醇):B(1% 乙酸水)=90:10, 流速 0.5 mL/min。茶叶中的三氯杀螨醇采用丙酮和正己烷进行提取, 经浓硫酸净化和浓缩后, 用甲醇定容后进行分析检测。[结果]三氯杀螨醇在 0.05~10.00 mg/L 具有较好的线性关系($R^2=0.999\ 2$), 检测限为 0.05 mg/L。茶叶样品中添加 3 个浓度三氯杀螨醇的平均回收率为 93.9%~106.0%, 变异系数为 3.3%~11.1%。[结论]该方法快速、准确、灵敏, 可用于茶叶中三氯杀螨醇的分析检测。

关键词 超高效液相色谱; 三氯杀螨醇; 茶叶

中图分类号 O 657.7; TS 272.7 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2020)03-0200-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.03.058

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Determination of Dicofol in Tea by Ultra Performance Liquid Chromatography

PENG Zhen-fei, HUANG Hui, LI Yong-ning et al (Fujian Health College, Fuzhou, Fujian 350101)

Abstract [Objective] The research aimed to establish a method for the rapid determination of dicofol in tea by ultra performance liquid chromatography (UPLC). [Method] The system composed of a Waters H-Class UPLC and a ACQUITY UPLC BEH[®] C₁₈ column (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), and detection wavelength was set at 230 nm. The mobile phase was A (methanol):B (water containing 1% acetic acid)=90:10 and the flow rate was 0.5 mL/min. The dicofol residues in the tea were extracted by acetone and hexane, and purified by concentrated sulfuric acid. The final residues were fixed in methanol for detection. [Result] The good linear range was 0.05–10.00 mg/L ($R^2=0.999\ 2$). The limit of detection was 0.05 mg/L. The average recoveries of dicofol which were added into the tea were 93.9%–106.0% and variation coefficients (CVs) ranged from 3.3%–11.1%. [Conclusion] The method is rapid, accurate and high sensitivity, which can be used for the detection of dicofol in the tea.

Key words Ultra performance liquid chromatography; Dicofol; Tea

三氯杀螨醇是一种具有杀螨谱广、高效的有机氯杀螨剂, 被广泛应用于蔬菜、果树和棉花等种植中病虫害的防治。但近年来研究发现, 由于三氯杀螨醇具有不易分解、残留量高, 对动物和人类有毒性和雌激素效应等作用而受到关注^[1-3]。我国是茶叶产品生产和出口大国, 大量茶叶因农药残留不达标而被阻止出口, 其产生的绿色壁垒对我国茶叶出口贸易具有一定的制约作用^[4-6]。目前, 由于三氯杀螨醇使用效果显著, 部分茶叶中仍可检出三氯杀螨醇, 因此茶叶中三氯杀螨醇的残留情况越来越受到关注^[7-8]。

三氯杀螨醇的检测方法主要有气相色谱法^[9-10]、气相色谱-质谱联用法^[11-12]和液相色谱法等^[13-14]。气相色谱法为最常用的检测方法, 灵敏度高, 但检测时间较长; 气相色谱-质谱联用法更为准确和灵敏, 但其对仪器有较高的要求; 液相色谱法是目前进出口茶叶中三氯杀螨醇残留量的检测方法, 其检测准确度和灵敏度也相对较高。超高效液相色谱 (ultra performance liquid chromatography, UPLC) 是近年来快速发展的一种基于 1.7 μm 颗粒度填料的液相色谱技术, 比高效液相色谱分析速度更快更灵敏, 具有更高的柱效、分析时间短、减少溶剂消耗等优点^[15], 被广泛应用于中草药、农药和药物的检测分析^[16-20]。笔者采用超高效液相色谱法, 建立三氯杀螨醇残留量的检测方法, 以期检测茶叶中三氯杀螨醇残留量提供有效方法。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器 三氯杀螨醇标准品购自上海源叶生物科技有限公司; 甲醇为色谱纯; 其他试剂均为分析纯。超高效液相色谱系统 H-class, 配二极管阵列检测器, 美国 Waters 公司。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件。 色谱柱为 ACQUITY UPLC BEH[®] C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 柱温 25 ℃, 进样量 5 μL, 检测波长 230 nm。流动相为 A(甲醇):B(1% 乙酸水)=90:10; 流速 0.5 mL/min。

1.2.2 三氯杀螨醇标准曲线的绘制。 先配制三氯杀螨醇标准溶液 10.0 mg/L, 再稀释成一系列不同浓度的标准溶液 (0.01、0.05、0.10、0.50、1.00、2.50、5.00 mg/L), 在“1.2.1”色谱条件下进样检测, 将不同三氯杀螨醇浓度与峰面积作图, 计算出回归方程式。

1.2.3 茶叶中三氯杀螨醇的提取方法。 准确称取 1.000 g 茶叶样品于 10 mL 试管中, 加入 1.0 mL 丙酮和 2.0 mL 正己烷。置于旋涡振荡器上剧烈振荡 30 s。3 000 r/min 离心 2 min, 将上清移入另一 10 mL 试管中。残渣再重复提取 2 次, 将提取上清液合并。将合并的上清液置于恒温水浴中, 60 ℃ 恒温蒸发、浓缩至 4~5 mL, 取出。往试管中缓慢加入 1.5 mL 浓硫酸, 轻轻混匀后, 3 500 r/min 离心 2 min, 取出。将下层磺化液吸出, 再加入 1.5 mL 浓硫酸, 重复 1 次, 最后将上清液移入一干净试管中, 在取出上清液的原试管中再加入 2.0 mL 正己烷, 混匀 30 s, 3 500 r/min 离心 2 min, 取出, 将上清液小心移入同一干净试管中。将试管于 50 ℃ 恒温水浴

基金项目 福建卫生职业技术学院科技创新团队项目 (2018-1-3)。
作者简介 彭臻菲 (1978—), 女, 福建福州人, 讲师, 博士, 从事生物大分子检测研究。* 通信作者, 副教授, 博士, 硕士生导师, 从事检测分析研究。

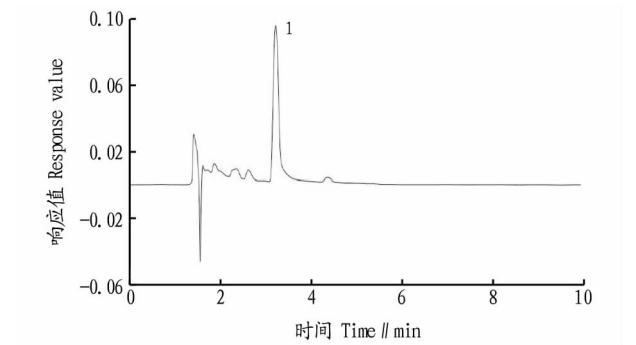
收稿日期 2019-08-06

中,空气流下,蒸干,准确加入 1.0 mL 甲醇溶解残留物,作为待测液。

1.2.4 加标回收率试验。准确称取 1.000 g 未检出三氯杀螨醇的茶叶样品,向样品中添加三氯杀螨醇标准品(通过液体稀释后加入),得到 0.1、1.0 和 10.0 mg/kg。按“1.2.3”的方法进行提取,进行液相分析。根据三氯杀螨醇标准曲线,计算出样品的三氯杀螨醇含量。每个样品设 6 个重复,以回收率和变异系数确定其准确度。

2 结果与分析

2.1 三氯杀螨醇标准曲线的绘制 按照“1.2.2”方法进行色谱检测,色谱结果如图 1 所示。从图 1 可以看出,在该色谱条件下,三氯杀螨醇标准品(1.0 mg/L)的保留时间为 3.386 min,峰型较好。不同浓度下测定的结果表明,在三氯杀螨 0.05~10.00 mg/L 具有较好的线性关系,线性方程为 $y=79.268x-0.8034(R^2=0.9992)$,检测限为 0.05 mg/L。茶叶样品中加入三氯杀螨醇标准品,提取后采用超高效液相色谱检测的色谱图见图 2 所示。从图 2 可以看出,提取后茶叶样品中的三氯杀螨醇峰型较好,未与其他杂质干扰,可用于茶叶样品中三氯杀螨醇的分析检测。

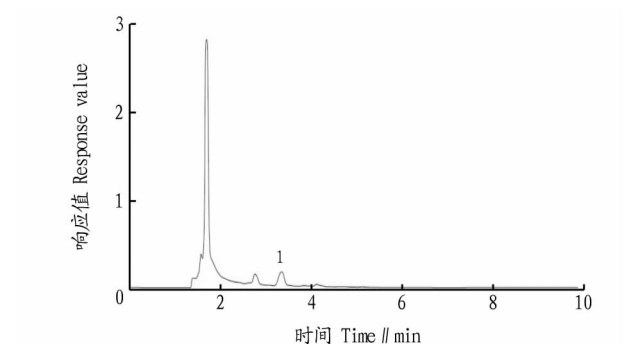


注:1 为三氯杀螨醇

Note: 1 is dicofol

图 1 三氯杀螨醇标准品色谱图

Fig.1 Chromatogram of dicofol standard



注:1 为三氯杀螨醇

Note: 1 is dicofol

图 2 茶叶中三氯杀螨醇加标检测色谱图

Fig.2 Chromatogram of dicofol added in tea

2.2 茶叶中三氯杀螨醇加标回收率 按照“1.2.4”方法操作,通过提取后采用超高效液相色谱仪进行测定样品的三氯杀螨醇含量,计算茶叶样品的三氯杀螨醇回收率,结果如表 1

所示。从表 1 可以看出,在添加 3 个浓度的三氯杀螨醇标准的平均回收率为 93.9%~106.0%,回收率较高,CV 值为 3.3%~11.1%,具有较好的重复性。表明该研究建立的超高效液相色谱法检测具有较高的准确度和重复性。

表 1 茶叶中三氯杀螨醇的加标回收率				
Table 1 Added recovery rate of dicofol in tea (n=6)				
添加量 Added amount mg/kg	次数 Times	测定值 Measured value mg/kg	平均回收率 Average recovery rate/%	CV %
0.1	6	0.11±0.01	106.0	11.1
1.0	6	0.96±0.04	96.0	4.6
10.0	6	9.39±0.31	93.9	3.3

3 讨论

近年来,随着经济全球化和贸易自由化的发展,各国对我国茶叶进入国际市场提出了更苛刻的要求,绿色贸易壁垒成为茶叶贸易出口的主要障碍^[21-22]。我国农业部发布自 2018 年 10 月 1 日起,全面禁止三氯杀螨醇销售和使用,世界卫生组织国际癌症研究机构将三氯杀螨醇列在 3 类致癌物清单中。但由于长期以来茶树病虫害的发生,而三氯杀螨醇的使用效果显著,目前仍有被违法使用于茶叶种植中,使得在部分茶叶中仍可检出三氯杀螨醇残留。河南省茶叶中重金属污染和农药残留状况调查分析,结果表明,茶叶中可检测到禁用农药三氯杀螨醇,检出率为 5.00%^[8]。可见,由于我国茶叶的农药残留问题长期以来未被得到重视和解决,导致大量茶叶因不达标而被阻止出口^[23]。因此,建立快速、灵敏的农药残留检测方法是目前工作的一个重点。

目前,在茶叶的有机农药残留检测中,其中有机类农药包括有机氯农药、有机磷农药、有机金属类农药、氨基甲酸酯类农药和拟除虫菊酯类农药等^[24]。多数具有热稳定、弱极性和挥发性的农药如有机磷、有机氯和拟除虫菊酯等则采用气相色谱法进行检测^[25],一些热不稳定或蒸汽压较低的杀虫剂,如氨基甲酸酯类和 N-甲基氨基甲酸酯类,则可采用液相色谱法^[26]。三氯杀螨醇报道的较多是气相色谱法,而液相色谱法报道的较少。倪晓琳等^[13]建立了液相色谱法测定茶叶中三氯杀螨醇的方法,在 0.1~10.0 mg/L 具有良好的线性关系,检出限为 0.02 mg/kg,加标回收率为 95.4%~105.2%,RSD 为 1.4%~5.5%,该方法操作简便、快速、准确度高。张雷等^[14]建立了茶叶中三氯杀螨醇残留量的高效液相色谱快速检测方法,在 0.02~5.00 mg/kg,三氯杀螨醇线性关系良好,在绿茶、红茶、黄茶、青茶、白茶、黑茶 6 种茶叶中的加标回收率为 80.9%~108.3%,RSD 为 1.2%~14.0%。目前,已经有部分液相色谱法被应用于成品茶(干茶)和茶制品的农残定量分析^[25]。

UPLC 是以小颗粒填料(<2 μm)和超高压系统(>105 kPa)为特征的超高效液相色谱,可以获得更加高效和快速的色谱分离性能^[27]。UPLC 由于其具有的速度、灵敏度及分离度均比 HPLC 有数倍的提高,近年来被广泛应用于各种中药、药物、化妆品和环境等领域分析检测中,而结合质谱的超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS)检测方法更被

广泛应用于食品、蔬菜、水果和茶叶中多菌灵、啉虫脒、氟虫脒等氨基甲酸酯类和有机磷类等农药残留检测中^[27-31]。因此,UPLC 的应用越来越广泛。该研究应用 UPLC 建立的检测三氯杀螨醇的方法,出峰时间短、灵敏度高、重复性好,该方法可用于茶叶中三氯杀螨醇的快速检测。

4 结论

该研究中采用 UPLC 建立了一种快速检测茶叶中三氯杀螨醇的方法,三氯杀螨醇浓度在 0.05~10.00 mg/L 具有较好的线性范围,最低检测限为 0.05 mg/L。茶叶样品中添加 3 个浓度的三氯杀螨醇平均回收率为 93.9%~106.0%,CV 值为 3.3%~11.1%。该方法快速、准确、灵敏,可用于茶叶样品中三氯杀螨醇的分析检测。

参考文献

- [1] DEBABRATA P, SIVAKUMAR M. Sonochemical degradation of endocrine-disrupting organochlorine pesticide Dicofof: Investigations on the transformation pathways of dechlorination and the influencing operating parameters [J]. Chemosphere, 2018, 204: 101-108.
- [2] THIEL A, GUTH S, BÖHM S, et al. Dicofof degradation to p,p'-dichlorobenzophenone-A potential antiandrogen [J]. Toxicology, 2011, 282(3): 88-93.
- [3] AHMAD A, AHMAD M. Deciphering the toxic effects of organochlorine pesticide, dicofof on human RBCs and lymphocytes [J]. Pesticide biochemistry and physiology, 2017, 143: 127-134.
- [4] 王健, 刘路, 申流柱, 等. 毕节市茶叶农药残留监测与对策分析 [J]. 安徽农业科学, 2018, 46(11): 164-166.
- [5] 崔磊. 绿色贸易壁垒对我国茶叶出口的影响及对策 [J]. 财会学习, 2018(15): 191-193.
- [6] 吕小东. 绿色贸易壁垒对我国茶叶出口影响及对策分析 [J]. 管理观察, 2017(13): 87-88.
- [7] 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: 855-866.
- [8] 付鹏钰, 李杉, 杨丽, 等. 河南省茶叶中重金属污染和农药残留状况调查分析 [J]. 河南预防医学杂志, 2018, 29(9): 651-653.
- [9] 崔泓, 张尧. QuEChERS-GC 法测定茶叶中三氯杀螨醇和拟除虫菊酯农药 [J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(10): 2459-2460.
- [10] 李晓晶, 于鸿, 贺小平, 等. 固相萃取结合气相色谱法测定茶叶中三氯杀螨醇和拟除虫菊酯类农药残留 [J]. 中国食品卫生杂志, 2011, 23

(4): 326-329.

- [11] 仲岳桐, 陈春晓, 康莉. 气质联用法检测茶叶中三氯杀螨醇等多种农药 [J]. 中国热带医学, 2011, 11(11): 1346-1347.
- [12] KURTH D, KRAUSS M, SCHULZE T, et al. Measuring the internal concentration of volatile organic compounds in small organisms using micro-QuEChERS coupled to LVI-GC-MS/MS [J]. Analytical and bioanalytical chemistry, 2017, 409(25): 6041-6052.
- [13] 倪晓琳, 石声鑫, 胡庆蓉. 高效液相色谱法测定茶叶中三氯杀螨醇含量 [J]. 食品安全导刊, 2017(9): 137.
- [14] 张雷, 曹淑瑞, 谭斯匀, 等. 高效液相色谱法快速检测茶叶中三氯杀螨醇 [J]. 分析实验室, 2017, 36(9): 1048-1052.
- [15] 陈佳, 王钢力, 姚令文, 等. 超高效液相色谱 (UPLC) 在药物分析领域中的应用 [J]. 药物分析杂志, 2008, 28(11): 1976-1981.
- [16] 毕丹, 张水英, 任晋, 等. 超高效液相色谱法同时测定广藿香中 6 个成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2018, 38(8): 1331-1336.
- [17] 伍世恒, 黄志海, 龚又明. UPLC 法测定不同产地五指毛桃中补骨脂素的含量 [J]. 新中医, 2017, 49(8): 16-19.
- [18] 蒋芳, 向仲朝, 杨文婉. 超高效液相色谱法测定水中的 2,4-二氨基甲苯和 2,6-二氨基甲苯 [J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(3): 341-343.
- [19] 禚开智, 纪少凡, 符灵梅. 超高效液相色谱测定鱼体中的苯佐卡因残留量研究 [J]. 食品工业, 2018, 39(1): 308-311.
- [20] 赵坤, 梅升辉, 李新刚, 等. 超高效液相色谱法测定阿司匹林和水杨酸的血液浓度 [J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(3): 207-210, 243.
- [21] 宁坤, 林冬冬. 绿色贸易壁垒对我国茶叶出口影响及对策分析 [J]. 学理论, 2015(30): 34-35.
- [22] 王敬涛. 绿色贸易壁垒对福建省茶叶贸易出口的影响及法律应对策略 [J]. 中国市场, 2018(4): 94-96.
- [23] 刘云, 高凛. 论扩大茶叶出口的农药残留限量问题及法律应对措施 [J]. 安徽农业通报, 2017, 23(20): 3-7.
- [24] 黎洪霞, 晏婉婷. 茶叶农药残留研究进展 [J]. 广东茶业, 2017(3): 6-9.
- [25] 文洋, 谭君, 谭斌, 等. 茶叶中农药残留检测方法研究进展 [J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(3): 826-831.
- [26] 施杰, 来庆华, 郭思聪, 等. 茶叶农药残留与检测技术 [J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(5): 1243-1249.
- [27] 许紫婷, 陈珠灵, 孙建军. ACQUITY Arc 液相色谱系统的使用与维护 [J]. 分析测试技术与仪器, 2017, 23(3): 195-200.
- [28] 董亚蕾, 刘文婧, 曹进, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定坚果中 38 种农药残留 [J]. 分析化学, 2017, 45(9): 1397-1404.
- [29] 吴延灿, 戚传勇, 操海群, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定香菇中 56 种农药残留 [J]. 农药学报, 2018, 20(1): 58-66.
- [30] 马琳, 黄兰淇, 陈建波, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定草莓中 19 种农药残留量 [J]. 分析测试学报, 2016, 35(6): 698-703.
- [31] 仲伶俐, 胡莉, 雷绍荣, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定茶叶中 6 种农药残留 [J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(5): 2081-2086.

(上接第 154 页)

- [5] 刘兆辉, 吴小宾, 谭德水, 等. 一次性施肥在我国主要粮食作物中的应用与环境效应 [J]. 中国农业科学, 2018, 51(20): 3827-3839.
- [6] 王强, 姜丽娜, 潘建清, 等. 缓释氮肥一次性施肥对单季稻氮素吸收和产量的影响 [J]. 中国农业科学, 2018, 51(20): 3951-3960.
- [7] 许仙菊, 马洪波, 宁运旺, 等. 缓释氮肥运筹对稻麦轮作周年作物产量和氮肥利用率的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2016, 22(2): 307-316.
- [8] 陈文超, 徐生, 孙婷, 等. 稻麦轮作模式下控释 BB 肥一次性基施效果研究 [J]. 江苏农业科学, 2018, 46(9): 63-65.
- [9] 李敏, 武际, 韩上, 等. 稻油轮作制下控释氮肥的施用效应 [J]. 植物营养与肥料学报, 2018, 24(1): 105-113.
- [10] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [11] 鲁艳红, 聂军, 廖育林, 等. 不同控释氮肥减量施用对双季水稻产量和

氮素利用的影响 [J]. 水土保持学报, 2016, 30(2): 155-161, 174.

- [12] 谭德水, 林海涛, 朱国梁, 等. 黄淮海东部冬小麦一次性施肥的产量效应 [J]. 中国农业科学, 2018, 51(20): 3887-3896.
- [13] 杨焕焕, 孙克刚, 张琨, 等. 控释尿素在冬小麦上的一次性施肥节肥增效研究 [J]. 河南科学, 2017(11): 1797-1800.
- [14] 谭德水, 江丽华, 房灵涛, 等. 控释氮肥一次施用对小麦群体调控及养分利用的影响 [J]. 麦类作物学报, 2016, 36(11): 1523-1531.
- [15] 韩宝文, 贾良良, 刘小玲, 等. 河北省冬小麦主产区控释尿素应用效果研究 [J]. 河北农业科学, 2010, 14(9): 56-57, 79.
- [16] 邓先亮, 屠晓, 李军, 等. 缓控释肥一次性基施对小麦产量及其形成的影响 [J]. 中国土壤与肥料, 2019(3): 87-93.
- [17] 焦晓光, 罗盛国, 闻大中. 控释尿素施用对水稻吸氮量及产量的影响 [J]. 土壤通报, 2003, 34(6): 525-528.
- [18] 孙晓, 景建元, 吕慎强, 等. 不同缓/控释尿素在黄土台塬区春玉米的减量施用效果 [J]. 中国生态农业学报, 2017, 25(6): 848-855.