

李凤凤,张毅鹏,龚达林,等.QuEChERS/UPLC-MS/MS法测定雷公藤及根际土壤中3种农药残留[J].华中农业大学学报,2023,42(1):205-211.DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2023.01.025

QuEChERS/UPLC-MS/MS法测定雷公藤 及根际土壤中3种农药残留

李凤凤¹,张毅鹏¹,龚达林²,刘三波²,黄麒元^{1,3},
梅之南¹,王学奎¹,舒少华¹

1. 华中农业大学植物科学技术学院,武汉 430070; 2. 华润三九(黄石)药业有限公司,黄石 435000;
3. 国药集团中联药业有限公司,武汉 430070

摘要 为建立雷公藤种植过程中常用农药的残留含量检测方法,采用快速样品前处理结合超高效液相色谱-串联质谱法(quick, easy, cheap, effective, rugged and safe/ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, QuEChERS/UPLC-MS/MS)测定雷公藤及根际土壤中辛硫磷、氯氰菊酯和乙基多杀菌素的含量。样品中加入适量的水浸润后用乙腈超声提取,N-丙基乙二胺(PSA)吸附净化,利用优化后的UPLC-MS/MS方法进行检测,基质外标法定量。结果显示,3种农药在根样基质中的检出限(LOD)为0.001~0.714 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限(LOQ)为0.002~2.380 $\mu\text{g}/\text{kg}$;在土壤基质中的检出限(LOD)为0.002~0.810 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限(LOQ)为0.006~2.410 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。线性关系、回收率和相对标准偏差均符合农药残留检测的相关规定。结果表明,该方法能满足雷公藤及根际土壤中3种农药残留含量的快速检测要求。

关键词 雷公藤; QuEChERS; 超高效液相色谱-串联质谱; 农药残留; 快速检测; 中草药

中图分类号 S481⁺.8 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2023)01-0205-07

雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook.f.)是卫矛科(Celastraceae)雷公藤属植物,是我国传统的中药材之一,其主要活性成分为萜类和生物碱类化合物,具有抗炎、免疫抑制、抗肿瘤、抗菌、止痛等多种作用^[1]。在雷公藤栽培过程中,白绢病、炭疽病、丽长角巢蛾等多种病虫害对其造成严重危害。目前,生产上多采用辛硫磷、氯氰菊酯、乙基多杀菌素等农药来防治丽长角巢蛾等害虫。其中,辛硫磷作为广谱、高效、低毒、易分解的杀虫剂,已经成为乐果、甲胺磷等高毒农药的替代产品^[2];氯氰菊酯是一种广谱性拟除虫菊酯类杀虫剂,对害虫具有触杀和胃毒作用^[3];乙基多杀菌素因低毒、低残留、作用位点独特、杀虫谱广,已经应用到了多种作物上^[4]。雷公藤活性成分复杂,施用化学农药后农药残留会直接影响其药效,且长期摄入残留农药会对人体造成神经毒性、致癌、致畸等危害^[5-6]。因此,农药残留量检测是雷公藤中药

材质量控制的一项重要指标。

目前,常见的检测中药材中农药残留的方法主要包括色谱法、色谱-质谱联用技术、毛细管电泳法、免疫分析法和生物传感器技术等,其中色谱和质谱法在实际应用中比较广泛。中药材基质复杂,且待测农药大多数在高温下不稳定,所以液质联用技术成为了测定农药残留的主导技术^[7-8]。

QuEChERS法是在固相萃取基础上开发的一种新型样品前处理技术^[9],最初针对一定含水量(>75%)的蔬果等样本中的农药进行提取,具有快速、便捷、廉价、高效、耐用和安全等特点,得到快速广泛应用。Lehotay等^[10]利用QuEChERS法结合液质联用技术检测了蔬菜和水果中229种农药残留。为保证提取效率,学者根据样本特点和待提取物性质进行了多种改进和优化^[11]。针对干燥或含水量较低的样品,向样品中添加适量的水,可提高样品的浸

收稿日期: 2022-09-16

基金项目: 华润三九(黄石)药业有限公司资助项目;“十三五”重点研发计划中药现代化专项(2017YFC1700700)

李凤凤, E-mail: lifengfeng@mail.hzau.edu.cn

通信作者: 舒少华, E-mail: shushaohua@mail.hzau.edu.cn

润性,弱化待测组分与样品基质之间的相互作用,使待测组分更容易在提取过程中被充分萃取^[12-13]。

目前,针对我国雷公藤种植生产过程中常用的3种农药残留检测方法报道较少,且目前我国没有雷公藤药材中的农药残留标准。本研究通过快速样品前处理结合超高效液相色谱-串联质谱(QuEChERS/UPLC-MS/MS)法测定雷公藤及根际土壤中辛硫磷、氯氰菊酯和乙基多杀菌素3种农药残留含量,并与相关国际标准进行对比,旨在为3种农药在雷公藤及根际土壤中的残留检测提供方法指导,并为我国尽快制订雷公藤中药材中的农药残留标准提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

乙酸铵(色谱纯),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;乙腈(色谱纯),中国武汉弗顿控股有限公司;乙腈和甲醇(质谱纯),美国Fisher公司;无水硫酸镁(MgSO₄,分析纯),中国上海麦克林生化科技有限公司;氯化钠(NaCl,分析纯),德国BioFro公司;N-丙基乙二胺(PSA, 40~63 μm),美国Agela Technologies公司;乙基多杀菌素原药(100 mg,纯度为88.28%),德国Dr. Ehrensorfer公司;氯氰菊酯标准溶液(1 000 mg/L,丙酮中)和辛硫磷标准溶液(100 mg/L,丙酮中),坛墨质检科技股份有限公司。

雷公藤根样、土壤样品于2021年11月13日采集于湖北省阳新县平原村雷公藤种植基地(115°E, 29°N)。随机取30株雷公藤作为检测植株样品,其中根样取自于所选定的雷公藤植株地下10~20 cm处,土样选择对应部位的根际土壤(黄棕壤,有机质17.88 g/kg,全氮0.46 g/kg,全磷0.86 g/kg,全钾6.29 g/kg,碱解氮84.35 mg/kg,速效磷25.92 mg/kg,pH 4.94)。

1.2 仪器与设备

超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪(TSQ Altis™),美国Thermo Fisher Scientific公司;色谱柱ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)和ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm),美国Waters公司;FW80高速粉碎机、101-AB电热鼓风干燥箱,天津市泰斯特仪器有限公司;BX3200H超声波清洗仪,上海新苗医疗器械制造有限公司;AR223CN分析天平,奥豪斯仪器(上海)有限公司;B-20R型冷冻离心机,德国NACHT公

司;MX-S型旋涡混合器,美国Scilogex公司。

1.3 样品前处理

将雷公藤根样洗净,擦净表面水分后于65℃烘箱中烘干6 h,粉碎,过孔径230 μm筛,试验前于65℃烘箱中烘干4 h,备用。土壤样品自然风干,除去碎石、杂草和植物根茎等杂物,过孔径280 μm筛,备用。准确称取雷公藤根样和土壤样品各2 g(精确至0.01 g),分别置于50 mL离心管中,各加入去离子水4 mL,充分浸润后,加入乙腈4 mL,涡旋混匀1 min,超声30 min后依次加入氯化钠0.4 g和无水硫酸镁1.6 g,再次涡旋2 min后4 000 r/min离心5 min。精密量取上清液2 mL于15 mL离心管中,分别加入N-丙基乙二胺0.1 g和无水硫酸镁0.3 g,旋涡1 min,于4℃、5 000 r/min离心5 min,取上清液过0.22 μm有机膜,待测。

1.4 标准溶液的配制

乙基多杀菌素标准储备溶液:准确称取乙基多杀菌素标准品10 mg(精确至0.1 mg)至10 mL容量瓶中,加入乙腈溶解,定容至刻度,摇匀,配制成1 000 mg/L的标准储备溶液,在4℃冰箱中保存,待用。空白基质溶液:分别准确称取未施药的雷公藤根样和土壤样品各2 g(精确至0.01 g),按照本文“1.3”方法进行样品前处理,得到根样空白基质溶液和土壤空白基质溶液。空白基质标准工作溶液:用空白基质溶液分别稀释3种农药标准品溶液,配制一系列浓度的空白基质标准工作溶液,用于做基质匹配校准工作曲线。

1.5 超高效液相色谱-串联质谱检测条件

色谱条件:色谱柱Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm);柱温40℃;进样量1 μL;流速0.4 mL/min;流动相A:乙腈;流动相B:5 mmol/L乙酸铵溶液;梯度洗脱程序:0 min,5% A,95% B;10 min,99% A,1% B;13 min,99% A,1% B;13.1 min,5% A,95% B;15 min,5% A,95% B。

质谱条件:Thermo Fisher超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪(TSQ Altis™)检测,电喷雾离子源(electrospray ionization,ESI);正离子扫描模式;选择反应监测模式(selective reaction monitoring,SRM);毛细管电压3.5 kV;离子传输线温度325℃;雾化温度350℃;辅助气和鞘气均为N₂,辅助气流速10 mL/min;鞘气流速40 mL/min。优化后的各目标化合物的质谱参数见表1。

表1 辛硫磷、氯氰菊酯和乙基多杀菌素的质谱参数

Table 1 Mass spectrometry parameters of phoxim, cypermethrin and spinetoram

化合物 Compound	分子式 Molecular formula	母离子/(<i>m/z</i>) Parent ion	子离子/(<i>m/z</i>) Daughter ion	碰撞能量/V Collision energy	保留时间/min Retention time
辛硫磷 Phoxim	C ₁₂ H ₁₅ N ₂ O ₃ PS	299	271/129*	18	9.1
氯氰菊酯 Cypermethrin	C ₂₂ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃	433.2	119/191*	21	10.3
乙基多杀菌素-J Spinetoram-J	C ₄₂ H ₆₉ NO ₁₀	748.5	203.1/142.1*	23	10.8
乙基多杀菌素-L Spinetoram-L	C ₄₃ H ₆₉ NO ₁₀	760.5	203.1/142.1*	25	11.0

注:*定量离子。Note: * Quantitative ion.

2 结果与分析

2.1 色谱与质谱检测条件的优化

考察了2种超高效液相色谱柱 Waters ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)和 Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)在乙腈-0.1%甲酸水和乙腈-5 mmol/L的乙酸铵溶液2种流动相和梯度洗脱条件下分离目

标物的情况。3种农药在不同的色谱柱和流动相条件下的保留时间、峰形和分离情况见表2。结果表明,采用乙腈-5 mmol/L的乙酸铵溶液为流动相,在本文“1.5”的梯度洗脱条件下,使用HSS T3 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)色谱柱,15 min内3种农药均可得到较高的灵敏度、峰形和重现性。其中乙基多杀菌素的2种本体乙基多杀菌素-J和乙基多杀菌素-L能达到较好分离,符合系统适用性的要求。

表2 4种色谱条件下化合物的保留时间、峰形和分离度情况

Table 2 Retention time, peak shape and resolution of compounds under four different chromatographic conditions

条件 Conditions	保留时间/min Retention time				峰形 Peak shape	分离度 Resolution
	辛硫磷 Phoxim	氯氰菊酯 Cypermethrin	乙基多杀菌素-J Spinetoram-J	乙基多杀菌素-L Spinetoram-L		
1	9.1	9.1	9.0	9.6	较好 Better	较好 Better
2	10.3	10.6	10.2	10.7	差 Bad	较好 Better
3	10.8	10.8	10.8	10.6	较好 Better	差 Bad
4	11.0	11.0	11.0	11.0	差 Bad	差 Bad

注:1:HSS T3 (1.8 μm)色谱柱和乙腈-5 mmol/L的乙酸铵溶液为流动相;2:HSS T3 (1.8 μm)色谱柱和乙腈-0.1%甲酸水为流动相;3:BEH C18 (1.7 μm)色谱柱和乙腈-5 mmol/L的乙酸铵溶液为流动相;4:BEH C18 (1.7 μm)色谱柱和乙腈-0.1%甲酸水为流动相。
Note: 1: HSS T3 (1.8 μm) column and acetonitrile-5 mmol/L ammonium acetate solution as mobile phase; 2: HSS T3 (1.8 μm) column and acetonitrile-0.1% formic acid water as mobile phase; 3: BEH C18 (1.7 μm) column and acetonitrile-5 mmol/L ammonium acetate solution as mobile phase; 4: BEH C18 (1.7 μm) column and acetonitrile-0.1% formic acid water as mobile phase.

2.2 线性范围、检出限与定量限分析

按照本文“1.4”方法配制一系列空白基质标准工作溶液,以浓度为横坐标(*x*),峰面积为纵坐标(*y*),线性回归分析,拟合得各农药的基质匹配线性回归方程以及相关系数。如表3所示,在根样空白基质和土壤空白基质中,辛硫磷(0.5~100.0 ng/mL)、氯氰菊酯(5~2 000 ng/mL)、乙基多杀菌素-J(0.01~1 000.00 ng/mL)、乙基多杀菌素-L(0.1~1 000 ng/mL)的线性关系良好,相关系数均大于0.999。为最大程度消除基质效应的影响,保证检测的准确性,在实际样品检测中采用基质匹配标准曲线进行定量分析。

以信噪比(S/N)为10和3时对应的空白基质标

准溶液的浓度为定量限(LOQ)和检出限(LOD),3种农药的定量限和检出限结果如表3所示,均远低于相关国际标准中3种农药在药用植物中的最大残留限量(MRL)(表4)。结果证明本研究建立的QuEChERS/UPLC-MS/MS方法灵敏度高,可满足实际定量检测需求。

2.3 方法的回收率与精密度分析

3种农药在雷公藤根和土壤样中的回收率试验结果见表5。参考3种农药在国内外标准体系中的最大残留限量,每种农药设定3个添加水平,分别加入到不含农药残留的雷公藤根样和土壤样品(未施药)中,每个水平平行6次,计算得出平均加样回收率在85.22%~113.08%,相对标准偏差(RSD)为2.56%~

表3 3种农药的线性方程、相关系数、检出限和定量限

Table 3 Linear equations, correlation coefficients, LODs and LOQs of three pesticides

化合物 Compound	空白基质 Blank matrix	线性方程 Linear equation	相关系数 Correlation coefficient	检出限/($\mu\text{g}/\text{kg}$) LOD	定量限/($\mu\text{g}/\text{kg}$) LOQ
辛硫磷 Phoxim	根 Root	$y = 9536.8x - 1259.0$	0.999 9	0.012	0.041
	土壤 Soil	$y = 9176.5x - 2353.5$	0.999 9	0.015	0.046
氯氰菊酯 Cypermethrin	根 Root	$y = 442.21x - 3871.8$	0.999 2	0.714	2.380
	土壤 Soil	$y = 395.18x + 1184.4$	0.999 8	0.810	2.410
乙基多杀菌素-J Spinetoram-J	根 Root	$y = 98936x + 172421$	0.999 6	0.001	0.002
	土壤 Soil	$y = 115432x + 69355$	0.999 9	0.002	0.006
乙基多杀菌素-L Spinetoram-L	根 Root	$y = 29800x - 9730.4$	0.999 9	0.006	0.021
	土壤 Soil	$y = 25398x - 1446.4$	0.999 9	0.007	0.022

表4 国内外标准体系中3种农药的最大残留限量

Table 4 The maximum residue limits of three pesticides in domestic and foreign standard systems mg/kg

化合物 Compound	GB 2763—2021 (参考枸杞干 Refer to dried <i>Matrimony vine</i>)	中国药典(2020 版) Chinese pharmacopoeia 2020	美国药典(40版) Pharmacopeia USP 40	欧盟药典(9.2 版) European pharmacopoeia 9.2	日本药典(2017版) Japanese pharmacopoeia 2017	韩国药典(10版) Korean pharmacopoeia 10
辛硫磷 Phoxim	—	—	0.01	0.01	0.01	—
氯氰菊酯 Cypermethrin	2	—	1	1	1	0.5
乙基多杀菌素-J Spinetoram-J	1	—	0.01	0.01	0.01	—
乙基多杀菌素-L Spinetoram-L	1	—	0.01	0.01	0.01	—

注：“—”表示该农药在相应标准中无最大残留限量规定。Note：“—” indicates that there are no pesticide maximum residue limits in the corresponding standard.

表5 3种农药在雷公藤根和土壤样中的平均回收率和相对标准偏差($n=6$)Table 5 Average recoveries and RSDs of three pesticides in roots and soil samples ($n=6$)

化合物 Compound	添加水平/($\mu\text{g}/\text{kg}$) Added levels	平均回收率/% Average recovery		相对标准偏差/% RSD	
		根 Root	土壤 Soil	根 Root	土壤 Soil
辛硫磷 Phoxim	50	108.31	103.89	2.39	5.21
	5	86.75	102.11	5.12	4.89
	1	88.36	113.08	5.67	3.98
氯氰菊酯 Cypermethrin	2 000	107.48	106.31	3.50	4.05
	200	108.23	97.44	2.56	4.32
	5	105.78	96.69	3.86	3.28
乙基多杀菌素-J Spinetoram-J	1 000	104.19	85.22	4.71	4.23
	50	97.47	86.97	3.65	3.97
	1	106.34	97.05	4.34	5.55
乙基多杀菌素-L Spinetoram-L	1 000	108.24	86.56	4.93	4.89
	50	90.45	88.87	3.45	3.68
	1	107.17	98.09	5.02	5.38

5.67%,均符合农药残留检测的技术标准。

2.4 雷公藤样品和土壤样品中3种农药残留检测

对采集于华润三九(黄石)药业有限公司雷公藤GAP种植示范基地(湖北省阳新县平原村)的雷公藤根部样品和土壤样品各30份进行检测,结果见表6。由表6可见,土壤样品中辛硫磷、乙基多杀菌素、氯氰菊酯的残留量均未检出;根部样品中辛硫磷的残留量为0.010~0.037 mg/kg,乙基多杀菌素-J的残留量为<LOQ~0.005 mg/kg,乙基多杀菌素-L的残留量为<LOQ~0.004 mg/kg,氯氰菊酯的残留量为2.940~6.540 mg/kg。

表6 雷公藤根样和土壤样品中3种农药残留量检出范围

Table 6 Detected range of three pesticides residues in real samples mg/kg		
化合物 Compound	根样 Root samples	土壤样品 Soil samples
辛硫磷 Phoxim	0.010~0.037	ND
氯氰菊酯 Cypermethrin	2.940~6.540	ND
乙基多杀菌素-J Spinetoram-J	<LOQ~0.005	ND
乙基多杀菌素-L Spinetoram-L	<LOQ~0.004	ND

注 Note:ND表示未检出 Not detected.

3 讨论

本研究检测的3种农药是雷公藤种植过程中最常用的农药,其中辛硫磷属于有机磷类农药,见光易分解、残留期短、残留危害小,适合施入土中,防止地下害虫。乙基多杀菌素(XDE-175-J, XDE-175-L)是多杀菌素类的杀虫剂,具有生物农药的安全性和化学农药的速效性,主要降解方式是光解和微生物降解,最终分解为碳、氮、氧等^[14]。氯氰菊酯是广谱性的菊酯类杀虫剂,广泛应用于中药材的生产、运输和储存过程,其残留超标会对人体造成神经毒性和生殖内分泌毒性,这类农药超标较为严重的中药材是菊花、金银花和枸杞等^[7],但目前氯氰菊酯在雷公藤种植过程中的残留情况很少见相关报道。

QuEChERS前处理方法,操作简便,耗时短,溶剂少;UPLC-MS/MS检测方法线性关系良好,检出限和定量限均较低,具有较高的灵敏度和准确度,且串联质谱的选择反应监测(SRM)模式能较好地避免干扰,二者联合可满足定性和定量检测要求。QuEChERS/UPLC-MS/MS法的不足之处是需要

使用较为贵重的超高效液相色谱-串联质谱仪,仪器操作相对复杂。

采用 QuEChERS/UPLC-MS/MS 法测定雷公藤及根际土壤中3种农药残留,在实际样品的检测结果中,土壤样品中3种农药残留均未检出,说明在雷公藤的种植过程中科学规范使用辛硫磷、氯氰菊酯和乙基多杀菌素3种农药不会对雷公藤根际土壤造成残留污染。雷公藤根部样品中辛硫磷和乙基多杀菌素的残留量较低,均低于GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》中对药用植物枸杞(干)规定的最大残留限量(2 mg/kg),同时也低于《美国药典-国家处方集》(USP40—NF35)、《欧盟药典》(EP 9.2)和《日本药典》(JP 17)中规定的2种农药的最大残留限量(0.01 mg/kg)。张治科等^[15]采用液相色谱法测定辛硫磷在甘草中的残留量,最低检出限为5.0 μg/kg。本研究建立的UPLC-MS/MS检测技术最低检出限为12.5 ng/kg,灵敏度更高。实际检测结果表明雷公藤根部样品中辛硫磷的残留量均较低,说明在雷公藤的种植过程中科学规范使用辛硫磷不会对中药材造成残留污染。GB 2763—2021中对药用植物只规定了枸杞(干)中氯氰菊酯的最大残留限量(2 mg/kg),《中国药典》未对药用植物中氯氰菊酯的残留限量做出规定,一些国外的标准体系中制定了药用植物中氯氰菊酯的最大残留限量标准,其中《美国药典-国家处方集》(USP40—NF35)、《欧盟药典》(EP 9.2)和《日本药典》(JP 17)中规定的最大残留限量为1.0 mg/kg,《韩国药典》(KP10)中规定的最大残留限量为0.5 mg/kg。杨红兵等^[16]采用气相色谱法测定了枸杞中氯氰菊酯的残留量,检出限是4.360 μg/kg,而本研究建立的方法检出限是0.714 μg/kg,灵敏度更高。实际样品检测结果中,氯氰菊酯在土壤样品中未检出,但在雷公藤根部样品中残留量在2.940~6.540 mg/kg,表明雷公藤可能对氯氰菊酯具有富集作用。

本研究建立的检测方法和实际样品检测结果,为制定3种农药在雷公藤及根际土壤中的残留限量标准提供了分析方法,对雷公藤种植过程中常用农药的风险监控具有一定的指导作用。但本研究只测定了乙基多杀菌素2种本体乙基多杀菌素-J和乙基多杀菌素-L的残留量,为更加严格控制残留,后续研究应增加2种代谢物N-脱甲基-乙基多杀菌素-J(N-demethyl-XDE-175-J)和N-甲酰基-乙基多杀菌素-J

(N-formyl-XDE-175-J)的残留量检测^[17]。同时应继续深入研究氯氰菊酯在雷公藤中的残留动态和富集情况,确定其在雷公藤上的使用剂量、施用方式、安全间隔期和安全采收期等,为科学评价该农药在雷公藤上应用的残留风险提供依据,同时应参考国外相关标准,结合中国雷公藤种植实际情况,尽快制定出更完善的农药残留限量标准。

参考文献 References

- [1] LI X X, DU F Y, LIU H X, et al. Investigation of the active components in *Tripterygium wilfordii* leading to its acute hepatotoxicity and nephrotoxicity [J]. Journal of ethnopharmacology, 2015, 162: 238-243.
- [2] 简应权, 张金霞, 王文章, 等. 雷公藤主要虫害防治技术 [J]. 现代农业科技, 2018(9): 153-154. JIAN Y Q, ZHANG J X, WANG W Z, et al. Integrated control techniques of main pests of *Tripterygium wilfordii* [J]. Modern agricultural science and technology, 2018(9): 153-154 (in Chinese).
- [3] ELERSEK T, FILIPIC M. Organophosphorus pesticides-mechanism of their toxicity [M]//STOYTCHIEVA M. Pesticides: the impacts of pesticides exposure. Oxford, UK: Blackwell Professional, 2011: 243-268.
- [4] 李增鑫, 李亮, 朱坤森, 等. 华中地区稻纵卷叶螟对 7 种杀虫剂的敏感性监测 [J]. 华中农业大学学报, 2021, 40(2): 130-141. LI Z X, LI L, ZHU K M, et al. Susceptibility monitoring of *Cnaphalocrocis medinalis* Guenée to seven insecticides in central China [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2021, 40(2): 130-141 (in Chinese with English abstract).
- [5] 姜波, 彭楠, 武迪, 等. 拟除虫菊酯类农药引起脑组织氧化应激反应的研究进展 [J]. 毒理学杂志, 2020, 34(6): 511-513. JIANG B, PENG N, WU D, et al. Research progress of pyrethroid pesticides induced oxidative stress in brain tissue [J]. Journal of toxicology, 2020, 34(6): 511-513 (in Chinese).
- [6] 王珂慧, 郭超, 刘艳丽, 等. 多杀菌素类杀虫剂的应用及其抗性研究进展 [J]. 世界农药, 2022, 44(2): 18-24. WANG K H, GUO C, LIU Y L, et al. Research progress on application and resistance of spinosyn insecticides [J]. World pesticide, 2022, 44(2): 18-24 (in Chinese with English abstract).
- [7] 任理雪, 邓高琼, 龙婉君, 等. 中药材中常见农药残留及其研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(11): 2899-2908. REN L X, DENG G Q, LONG W J, et al. Research progress on common pesticide residues in Chinese medicinal materials [J]. China journal of Chinese materia medica, 2022, 47(11): 2899-2908 (in Chinese with English abstract).
- [8] 王迪, 俞佳, 詹固, 等. 液质联用技术在中药研究中的应用进展 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(2): 68-71. WANG D, YU J, ZHAN G, et al. Advances in application of liquid chromatography-mass spectrometry technology in study of traditional Chinese medicine [J]. Chinese archives of traditional Chinese medicine, 2022, 40(2): 68-71 (in Chinese with English abstract).
- [9] ANASTASSIADES M, LEHOTAY S J, ŠTAJNBAHER D, et al. 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, 2019, 86(2): 412-431.
- [10] LEHOTAY S J, KOK A D, HIEMSTRA M, et al. Validation of a fast and easy method for the determination of residues from 229 pesticides in fruits and vegetables using gas and liquid chromatography and mass spectrometric detection [J]. Journal of AOAC International, 2019, 88(2): 595-614.
- [11] PERESTRELO R, SILVA P, PORTO-FIGUEIRA P, et al. QuEChERS-fundamentals, relevant improvements, applications and future trends [J]. Analytica chimica acta, 2019, 1070: 1-28.
- [12] KOESUKWIWAT U, LEHOTAY S J, MASTOVSKA K, et al. Extension of the QuEChERS method for pesticide residues in cereals to flaxseeds, peanuts, and doughs [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2010, 58(10): 5950-5958.
- [13] MASTOVSKA K, DORWEILER K J, LEHOTAY S J, et al. Pesticide multiresidue analysis in cereal grains using modified QuEChERS method combined with automated direct sample introduction GC-TOFMS and UPLC-MS/MS techniques [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2010, 58(10): 5959-5972.
- [14] LIU Y Q, LI X Y, ZHOU C, et al. Toxicity of nine insecticides on four natural enemies of *Spodoptera exigua* [J/OL]. Scientific reports, 2016, 6: 390601 [2022-09-16]. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20779-3>.
- [15] 张治科, 李少南, 张蓉, 等. 辛硫磷在宁夏甘草及对应根际土壤中的残留及消解动态 [J]. 西北农业学报, 2010, 19(2): 52-56. ZHANG Z K, LI S N, ZHANG R, et al. Residues and degradation dynamics of phoxim in *Glycyrrhiza uralensis* and rhizospheric soil in Ningxia [J]. Acta agriculturae boreali-occidentalis sinica, 2010, 19(2): 52-56 (in Chinese with English abstract).
- [16] 杨红兵, 鲁立良, 王自军. 枸杞中拟除虫菊酯农药残留量的检测研究 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(4): 846-847. YANG H B, LU L L, WANG Z J. Studies on the determination of pyrethroids in *Fructus lycii* [J]. Lishizhen medicine and materia medica research, 2008, 19(4): 846-847 (in Chinese with English abstract).
- [17] 牛艳, 杨静, 冶海雄, 等. 枸杞中乙基多杀菌素及其代谢物的检测方法 [J]. 农药, 2019, 58(11): 828-830. NIU Y, YANG J, YE H X, et al. Detection method of spinetoram and its metabolites in *Lycium* fruit [J]. Agrochemicals, 2019, 58(11): 828-830 (in Chinese with English abstract).

Determining three pesticide residues content in *Tripterygium wilfordii* root and its rhizosphere soil with QuEChER/UPLC-MS/MS method

LI Fengfeng¹, ZHANG Yipeng¹, GONG Dalin², LIU Sanbo²,
HUANG Qiyuan^{1,3}, MEI Zhinan¹, WANG Xuekui¹, SHU Shaohua¹

1. College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. China Resources Sanjiu (Huangshi) Pharmaceutical Co., Ltd, Huangshi 435000, China;

3. Sinopharm Zhonglian Pharmaceutical Co., Ltd, Wuhan 430070, China

Abstract QuEChERS pretreatment combined with ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method was developed and used to determine pesticide residues including phoxim, cypermethrin and spinetoram in *T. wilfordii* root and its rhizosphere soil to establish the method for detecting the content of three pesticide residues commonly used in the process of planting *Tripterygium wilfordii*. The sample was soaked with appropriate amount of water and then extracted by acetonitrile ultrasonic, purified by N-propyl ethylenediamine (PSA) adsorption, detected by optimized UPLC-MS/MS method, and quantified by matrix external standard method. The results showed that the detection limit of pesticides in root like matrix was 0.001-0.714 $\mu\text{g}/\text{kg}$, LOQ was 0.002-2.380 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The limit of detection (LOD) of three pesticides in root and soil samples was 0.001-0.714 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 0.002-0.810 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. The limit of quantitation (LOQ) of three pesticides in root and soil samples was 0.002-2.380 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 0.006-2.410 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. The linear relationship, recovery rate and relative standard deviation were in line with the relevant provisions of detecting pesticide residue. It is indicated that the method established is simple, rapid, sensitive and accurate, and can meet the requirements of rapidly determining three pesticide residues in *Tripterygium wilfordii* and rhizosphere related soil.

Keywords *Tripterygium wilfordii*; QuEChERS; UPLC-MS/MS; pesticide residues; rapid determination; Chinese herbal medicine

(责任编辑:赵琳琳)