

全新一代三重四极杆质谱TSQ Fortis结合变色龙软件同时检测药材及饮片30种农药残留

孙银、刘钊、高鹏、陈冰、王立杰
赛默飞世尔科技(中国)有限公司

关键词

TSQ Fortis、药材及饮片、农残

摘要

本文在变色龙软件的控制下建立了针对药材及饮片中30种农药的超高效液相色谱串联三重四极杆质谱TSQ Fortis的分析方法。所用色谱条件：色谱柱为Accucore aQ (100×2.1 mm, 2.6μm)，流动相A为0.1%甲酸（含5mmol/L甲酸铵）水溶液，B为乙腈-0.1% 甲酸水溶液（含5mmol/L甲酸铵）（95:5），流速0.3mL/min，柱温40℃。使用ESI源，扫描方式为选择反应监测（SRM）。结果表明：采用QuEChERS法对人参、甘草、金银花等10种中药基质样品进行前理，TSQ Fortis进行测定，以金银花基质为例，30种农药限值均能满足药典中“0212药材和饮片检定通则”中定量限的要求；在0.1~100ng/mL浓度范围内，所有化合物线性关系良好；5ng/mL浓度水平下连续6针进样，30种农药RSD均小于10%。因此，该方法可用于基质样品的检测分析。

1. 引言

我国是中药资源最丰富的国家，随着我国医药的不断发展，药材及饮片使用量不断增多，中药材产业的发展日益受到人们的重视。然而，为了追求经济效益的最大化，在中药种植和保存过程中滥用农药的行为屡见不鲜，这将不利于中药行业的长期稳定发展。近年来，国家药典委员会颁布了一系列检测法规以提高中药材质量。最近《中国药典》2020版也已发行，预计将于12月30日正式实施。这对于保障公众用药的安全性和有效性，推进医药产业升级以及提高药材质量具有重要意义。

2020版《中国药典》四部通则修订了“0212药材和饮片检定通则”以及“2341 农药残留测定法”。其中“0212药材和饮片检定通则”中明确规定禁用农药种类及限量标准，并在“2341农药残留测定法”中第五法给出禁用农药的具体检测方法，标准中规定使用LC-MS/MS方法检测的化合物有30种。

LC-MS/MS方法因其检测灵敏度高、选择性好、分析速度快等优点，从而成为农药残留分析检测的重要方法。本文基于新版药典通则，建立了超高效液相色谱串联三重四极杆质谱TSQ Fortis分析药材及饮片中30种农残的方法，在多种中药基质中均取得了良好的灵敏度、重现性和线性，因此方法符合新版药典标准要求，可用于药材及饮片中农残的准确定量分析。

2. 实验部分

2.1 仪器与试剂:

Thermo Scientific™ Vanquish超高效液相色谱仪；Thermo Scientific™ TSQ Fortis三重四极杆质谱配置变色龙软件；乙腈（LCMS级，美国Thermo Fisher公司）、甲醇（LCMS级，美国Thermo Fisher公司）；实验用水为去离子水；甲酸（LCMS级，Fisher A117-50）；甲酸铵（LCMS级，SIGMA）。30种农药化合物清单如下表。

表1 30个化合物列表

序号	化合物名称	英文名称	分子式	CAS号	分子量
1	甲胺磷	Methamidophos	C ₂ H ₈ NO ₂ PS	10265-92-6	141.13
2	苯线磷	Fenamiphos	C ₁₃ H ₂₂ NO ₃ PS	22224-92-6	303.36
3	苯线磷砒	Fenamiphos-sulfone	C ₁₃ H ₂₂ NO ₅ PS	31972-44-8	335.36
4	苯线磷亚砒	Fenamiphos-sulfoxide	C ₁₃ H ₂₂ NO ₄ PS	31972-43-7	319.36
5	地虫硫磷	Fonofos	C ₁₀ H ₁₅ OPS ₂	944-22-9	246.33
6	治螟磷	Sulfotep	C ₈ H ₂₀ O ₆ P ₂ S	3689-24-5	333.32
7	克百威	Carbofuran	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	1563-66-2	221.25
8	3-羟基克百威	Carbofuran-3-hydroxy	C ₁₂ H ₁₅ NO ₄	16655-82-6	237.25
9	胺苯磺隆	Ethametsulfuron-methyl	C ₁₅ H ₁₈ N ₆ O ₆ S	97780-06-8	410.41
10	甲磺隆	Metsulfuron-methyl	C ₁₄ H ₁₅ N ₅ O ₆ S	74223-64-6	381.37
11	氯磺隆	Chlorsulfuron	C ₁₂ H ₁₂ ClN ₅ O ₄ S	64902-72-3	357.77
12	硫线磷	Cadusafos	C ₁₀ H ₂₈ O ₂ PS ₂	95465-99-9	270.4
13	氯唑磷	Isazafos	C ₉ H ₁₇ ClN ₃ O ₃ PS	42509-80-8	313.7
14	甲拌磷	Phorate	C ₇ H ₁₇ O ₂ PS ₃	298-02-2	260.38
15	甲拌磷亚砒	Phorate-sulfoxide	C ₇ H ₁₇ O ₃ PS ₃	2588-03-6	276.37
16	甲拌磷砒	Phorate-sulfone	C ₇ H ₁₇ O ₄ PS ₃	2588-04-7	292.38
17	蝇毒磷	Coumaphos	C ₁₄ H ₁₆ ClO ₅ PS	56-72-4	362.77
18	硫环磷	Phosfolan	C ₇ H ₁₄ NO ₃ PS ₂	947-02-4	255.29
19	磷胺	Phosphamidon	C ₁₀ H ₁₉ ClNO ₅ P	13171-21-6	299.69
20	涕灭威	Aldicarb	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	116-06-3	190.26
21	涕灭威砒	Aldicarb-sulfone	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	1646-88-4	222.26
22	涕灭威亚砒	Aldicarb-sulfoxide	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₃ S	1646-87-3	206.26
23	久效磷	Monocrotophos	C ₇ H ₁₄ NO ₅ P	2157-98-4	223.16
24	内吸磷	Demeton	C ₈ H ₁₉ O ₃ PS ₂	8065-48-3	258.33
25	灭线磷	Ethoprophos	C ₈ H ₁₉ O ₂ PS ₂	13194-48-4	242.33
26	特丁硫磷砒	Terbufos-sulfone	C ₉ H ₂₁ O ₄ PS ₃	56070-16-7	320.43
27	特丁硫磷亚砒	Terbufos-sulfoxide	C ₉ H ₂₁ O ₄ PS ₂	56165-57-2	288.36
28	水胺硫磷	Isocarbophos	C ₁₁ H ₁₆ NO ₄ PS	24353-61-5	289.29
29	杀虫脒	Chlordimeform	C ₁₀ H ₁₃ ClN ₂	6164-98-3	196.68
30	甲基异柳磷	Isofenphos-methyl	C ₁₄ H ₂₂ NO ₄ PS	99675-03-3	331.37

2.2 色谱条件

色谱柱: Thermo Scientific Accucore aQ (100 × 2.1 mm, 2.6 μm); 柱温40 °C; 进样量2 μL; 流动相A: 0.1%甲酸, 5 mmol/L 甲酸铵水溶液, B: 乙腈-0.1% 甲酸水溶液 (含5 mmol/L甲酸铵) (95:5); 梯度洗脱程序见表2。

表2 梯度洗脱程序

Time (min)	Flow (mL/min)	A(%)	B(%)
0	0.3	70	30
1	0.3	70	30
12	0.3	0	100
14	0.3	0	100
14.1	0.3	70	30
16	0.3	70	30

2.3 质谱条件

表3 离子源参数

Ion Source Type	ESI (+)
Positive Ion (v)	4000
Sheath Gas (Arb)	35
Aux Gas (Arb)	10
Sweep Gas (Arb)	0
Ion Transfer Tube Temp (°C)	350
Vaporize Temp (°C)	350
Q1 Resolution (FWHM)	0.7
Q3 Resolution (FWHM)	1.2
CID Gas (mTorr)	1.5

表4 30个化合物SRM参数

化合物名称	分子量	母离子	子离子	碰撞能	Tube Lens	Source Fragmentation
涕灭威亚砷	206.26	207	132*	5.25	50	4.9
		207	89.054	12.67	50	4.9
3-羟基克百威	237.25	238.088	220.125*	5.25	89	11.4
		238.088	163.042	13.72	89	11.4
苯线磷砷	335.36	336.053	188.042*	26.82	95	11.4
		336.053	266.042	18.9	95	11.4
苯线磷亚砷	319.36	320.058	232.97*	23.41	97	11.4
		320.058	292.125	14.65	97	11.4
甲基异柳磷	331.37	332.02	230.958*	13	49	1
		332.02	273.042	5.25	49	1
甲磺隆	381.37	382.082	167.056*	16	86	0
		382.082	199.006	20	86	0
甲拌磷砷	292.38	293	170.946*	10.27	64	8.1
		293	247	5.25	64	8.1
甲拌磷亚砷	276.37	277.095	143.038*	23	80	0
		277.095	97.13	34	80	0
涕灭威	190.26	208.085	116.042*	7.32	56	0
		208.085	89.071	15.61	56	0
涕灭威砷	222.26	223.075	148*	10	87	11.4
		223.075	166.083	8.88	87	11.4
硫线磷	270.4	271.045	158.97*	13.42	77	0
		271.045	214.97	8.75	77	0
克百威	221.25	222.112	165.125*	11.82	87	0
		222.112	123	21.63	87	0
杀虫脒	196.68	197.18	117.183*	31	79	0
		197.18	152.098	23	79	0
氯磺隆	357.77	358.015	141.175*	21	95	0
		358.015	167.122	20	95	0
蝇毒磷	362.77	363	227*	24.76	96	8.1
		363	306.875	16.67	96	8.1
内吸磷	258.33	259	89.071*	8.24	54	0
		259	61.054	31.66	54	0

化合物名称	分子量	母离子	子离子	碰撞能	Tube Lens	Source Fragmentation
胺苯磺隆	410.41	411	196.071*	15.07	74	0
		411	168	27.16	74	0
灭线磷	242.33	243.014	130.958*	20	80	3.2
		243.014	214.97	10.81	80	3.2
苯线磷	303.36	304.113	217*	23.04	102	1
		304.113	201.929	35.48	102	1
地虫硫磷	246.33	247	108.929*	17.72	62	3.2
		247	137.071	10.39	62	3.2
氯唑磷	313.7	314	162.071*	15.61	71	9.7
		314	120	25.81	71	9.7
水胺硫磷	289.29	307.09	188.887*	10.86	75	0
		307.09	230.958	15.32	75	0
甲胺磷	141.13	141.962	94.014*	14.3	79	0
		141.962	124.96	14.3	79	0
久效磷	223.16	224.068	127*	16.17	84	1
		224.068	193	10.25	84	1
甲拌磷	260.38	261	75.125*	10.18	55	0
		261	199	7.23	55	0
硫环磷	255.29	256.095	140.039*	27	80	5
		256.095	61.343	26	80	5
磷胺	299.69	300.038	174.125*	12.5	80	6.5
		300.038	226.958	12.83	80	6.5
治螟磷	333.32	323.03	171.071*	14.5	98	1
		323.03	114.889	29.31	98	1
特丁硫磷砒	320.43	321.065	115.074*	28	97	1
		321.065	143.045	22	97	1
特丁硫磷亚砒	288.36	305.071	187*	10.23	97	0
		305.071	96.946	39.34	97	0

*为定量离子

2.4 样品前处理

参考“2341通则《第五法药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定》”快速样品处理法（QuEChERS）对10种中药基质进行处理，耗材清单见表5。

10种基质如下：

根	茎	花	果实
人参、党参	泽泻、甘草、半夏	金银花、菊花	五味子、车前子、陈皮

表5 QuEChERS 法所用耗材

方法类别	规格	货号
快速样品处理法（QuEChERS 法）	无水硫酸镁6 g, 无水乙酸钠1.5 g, 50/包	60105-335-B
	无水硫酸镁 900 mg、N - 丙基乙二胺 300 mg、十八烷基硅烷键合硅胶300 mg、硅胶 300 mg、石墨化碳黑 90 mg, 15 mL, 50/包	60105-509-B
色谱柱	Accucore aQ C18 (100 × 2.1 mm, 2.6 μm)	17326-102130

前处理流程:

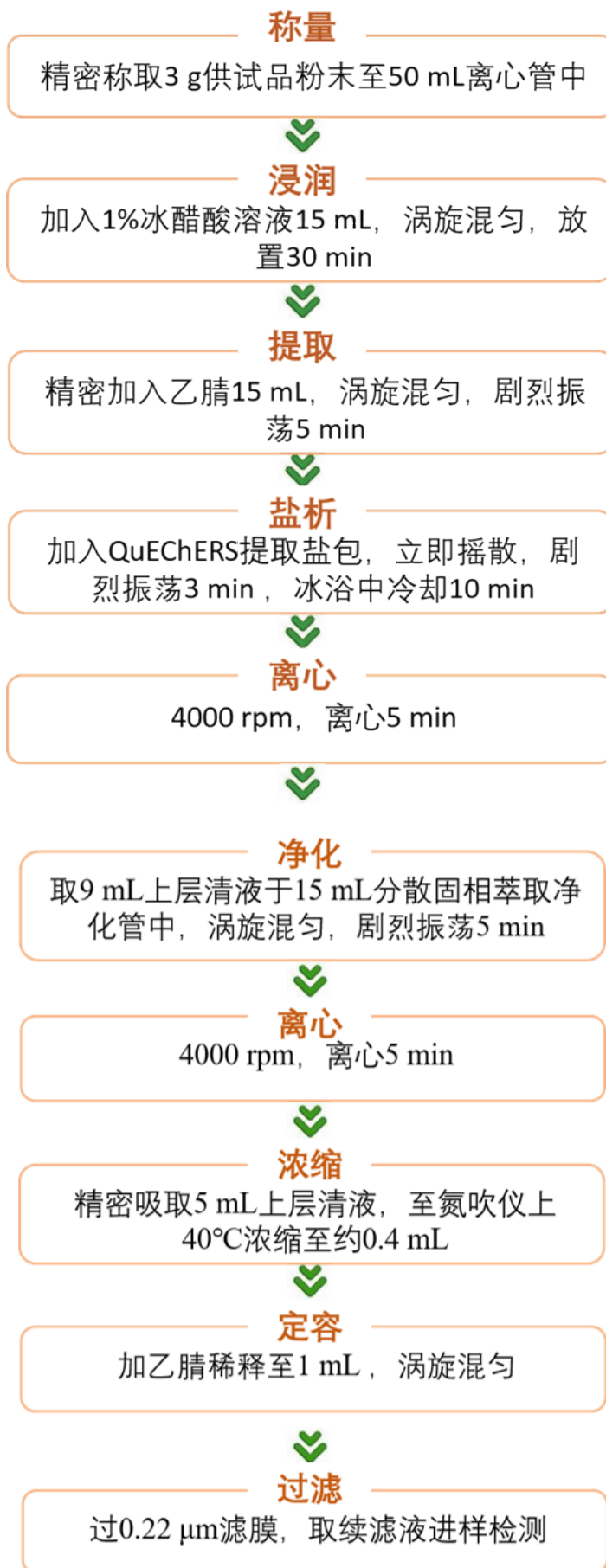


图1 QuEChERS法前处理流程图

3. 结果与讨论

3.1 样品的色谱图

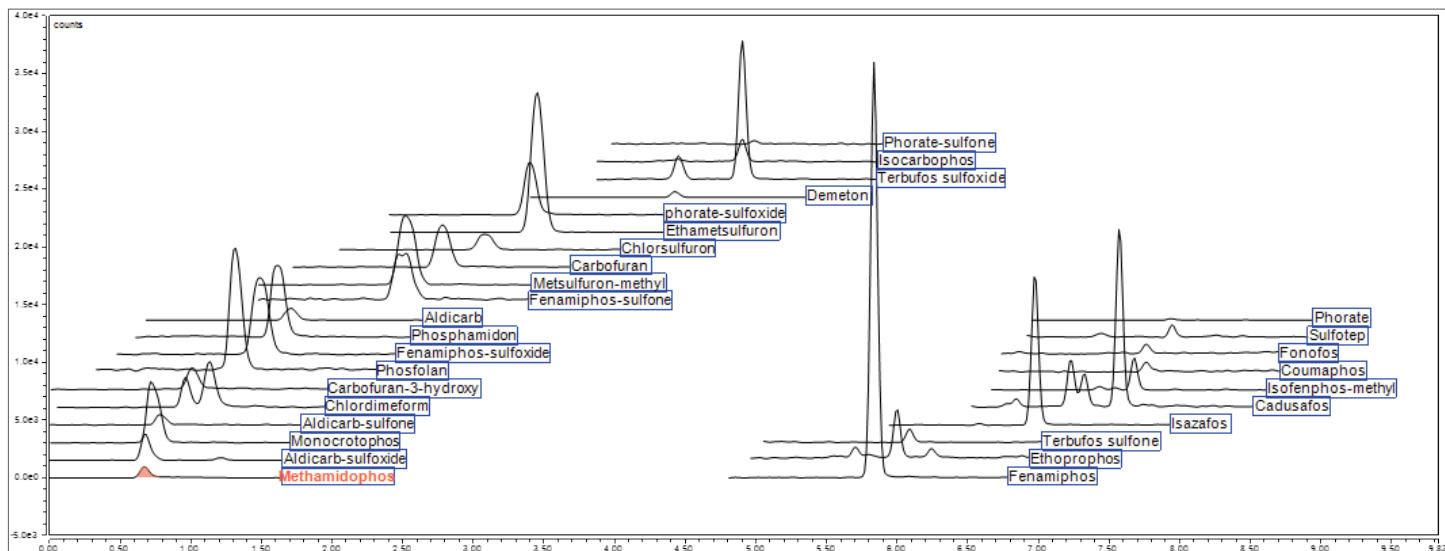


图2 5ng/mL浓度下金银花基质中30个化合物的提取离子流图

3.2 仪器灵敏度、线性 and 精密度

以金银花基质为例，采用2.4样品前处理方式制备空白基质，将高浓度混标逐级稀释，配制成浓度为0.1ng/mL、0.2ng/mL、0.5ng/mL、1ng/mL、5ng/mL、10ng/mL、20ng/mL、100ng/mL的基质标准溶液，使用Fortis进行分析检测，考察仪器灵敏度和线性范围。另配制浓度为5ng/mL的基质加标样品，连续进样6次，考察精密度。

表6 30个化合物LOQ、线性以及重现性

化合物	LOQ (µg/kg)	通则定量限 (µg/kg)	线性方程	线性范围	相关系数	RSD%(n=6)
甲胺磷	1	50	$y = 3.14 + 13.64x$	1-100	$R^2 = 0.9980$	3.65
涕灭威亚砷	0.2	总量100	$y = 2.40 + 28.15x$	0.2-100	$R^2 = 0.9983$	1.91
涕灭威砷	0.5		$y = 0.93 + 12.68x$	0.5-100	$R^2 = 0.9977$	3.71
涕灭威	0.2		$y = 0.13 + 16.41x$	0.2-100	$R^2 = 0.9969$	2.89
久效磷	0.1	30	$y = 1.30 + 94.62x$	0.1-100	$R^2 = 0.9994$	1.05
杀虫脒	0.1	20	$y = 0.49 + 32.09x$	0.1-100	$R^2 = 0.9973$	5.41
3-羟基克百威	0.5	总量50	$y = 8.78 + 26.58x$	0.5-100	$R^2 = 0.9977$	3.96
克百威	0.2		$y = 18.27 + 81.25x$	0.2-100	$R^2 = 0.9984$	1.87
硫环磷	0.1	30	$y = 1.88 + 208.97x$	0.1-100	$R^2 = 0.9996$	0.99
苯线磷亚砷	0.1	总量20	$y = 0.87 + 159.92x$	0.1-100	$R^2 = 0.9986$	1.96
苯线磷砷	0.2		$y = 3.34 + 111.81x$	0.2-100	$R^2 = 0.9992$	1.30
苯线磷	0.1		$y = 6.95 + 421.74x$	0.1-100	$R^2 = 0.9989$	0.81
磷胺	0.2	50	$y = 11.88 + 137.09x$	0.2-100	$R^2 = 0.9988$	1.37
甲磺隆	0.1	50	$y = 6.41 + 161.67x$	0.1-100	$R^2 = 0.9994$	5.09
氯磺隆	0.1	50	$y = 4.69 + 31.19x$	0.1-100	$R^2 = 0.9991$	5.15
甲拌磷亚砷	1	总量20	$y = 81.90 + 72.87x$	1-100	$R^2 = 0.9994$	9.47
甲拌磷砷	1		$y = -0.09 + 3.31x$	1-100	$R^2 = 0.9997$	9.25
甲拌磷	1		$y = 5.59 + 10.89x$	1-100	$R^2 = 0.9967$	7.99
胺苯磺隆	0.1	50	$y = 9.70 + 239.96x$	0.1-100	$R^2 = 0.9996$	4.66
水胺硫磷	0.2	50	$y = 1.59 + 24.16x$	0.2-100	$R^2 = 0.9996$	2.63
内吸磷	0.5	20	$y = -0.19 + 7.13x$	0.5-100	$R^2 = 0.9987$	1.29
特丁硫磷亚砷	0.1	总量20	$y = 2.41 + 150.00x$	0.1-100	$R^2 = 0.9990$	1.88
特丁硫磷砷	0.2		$y = 0.26 + 12.69x$	0.2-100	$R^2 = 0.9996$	3.11
灭线磷	0.2	20	$y = -1.86 + 50.04x$	0.2-100	$R^2 = 0.9994$	1.79
氟唑磷	0.1	10	$y = 5.14 + 155.52x$	0.1-100	$R^2 = 0.9979$	2.53
硫线磷	0.1	20	$y = 2.54 + 177.87x$	0.1-100	$R^2 = 0.9991$	2.62
甲基异柳磷	0.2	20	$y = 0.63 + 30.92x$	0.2-100	$R^2 = 0.9976$	4.22
蝇毒磷	0.5	50	$y = 5.13 + 10.05x$	0.5-100	$R^2 = 0.9983$	6.68
地虫硫磷	0.5	20	$y = -0.72 + 8.69x$	0.5-100	$R^2 = 0.9989$	4.31
治螟磷	0.2	20	$y = -0.83 + 1.54x$	0.2-100	$R^2 = 0.9942$	4.51

结果表明，所有化合物的LOQ在0.1~1ng/mL之间，具有良好的灵敏度，限量值与国标限值相比较，所有化合物定量限均低

于药典中“0212药材和饮片检定通则”规定的定量限；所有化合物在0.1~100ng/mL浓度范围内，线性关系良好；5ng/mL连续6针进样，峰面积重现性均小于10%。图3为金银花基质中30个化合物的线性关系。

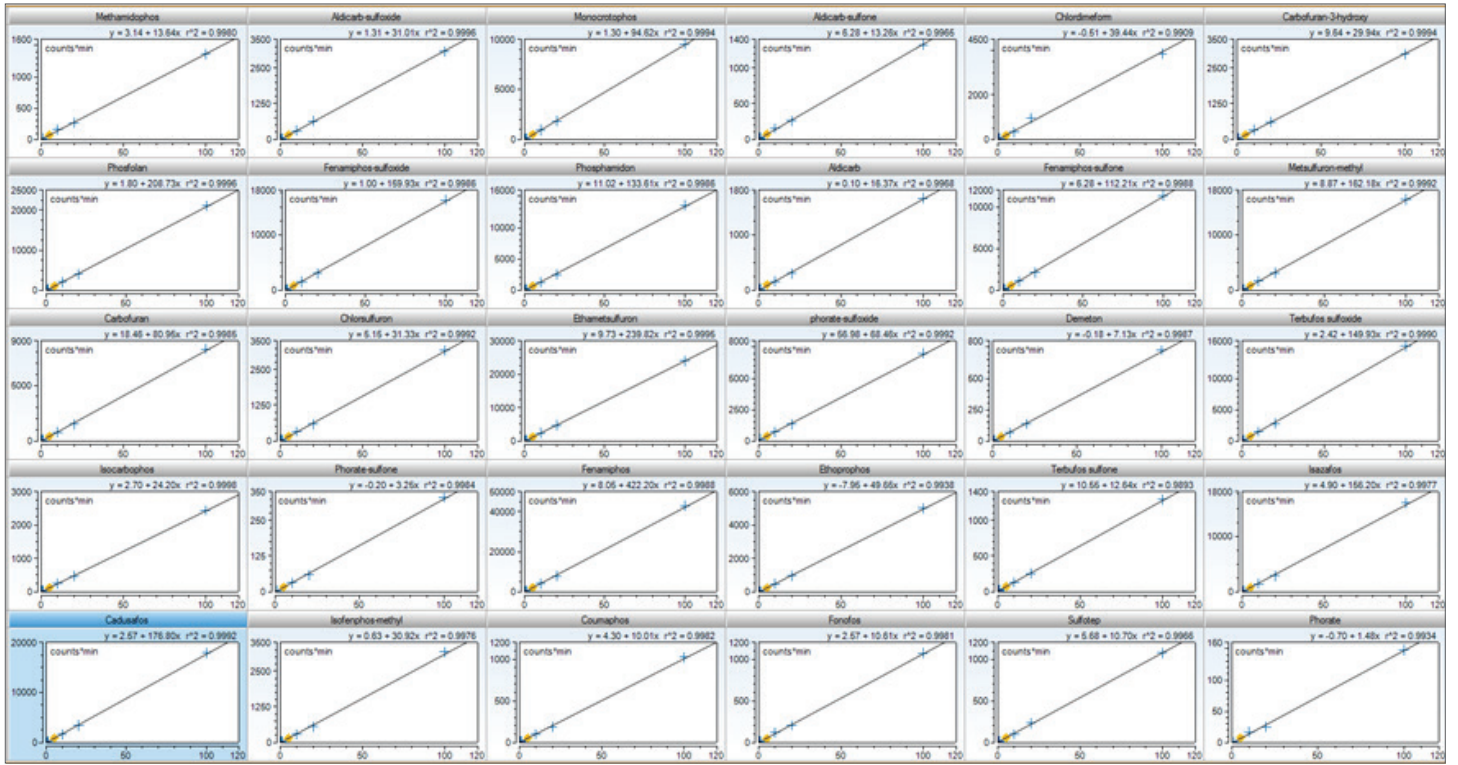


图3 金银花基质中30个化合物的线性关系 (1-100ng/mL)

3.3 回收率实验

选用人参、党参、泽泻、甘草、半夏、金银花、菊花、五味子、车前子、陈皮10种中药基质为代表，按照2.4样品前处理方式进行处理，加标浓度分别为5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，每个浓度水平平行处理3份样品，考察前处理方法的稳定性。结果表明，每种基质的回收率结果符合2341通则方法学指标，前处理精密度良好，可用于中药基质的实际测定。

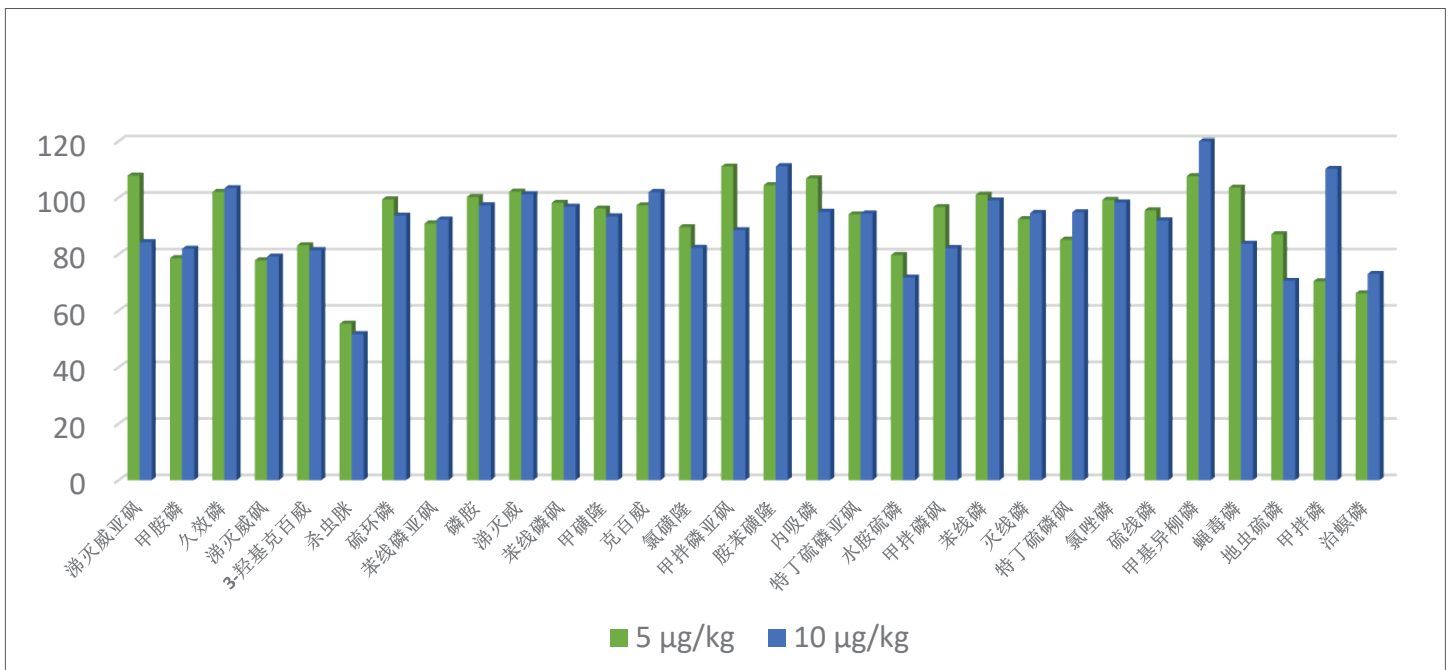


图3 金银花基质加标回收率结果

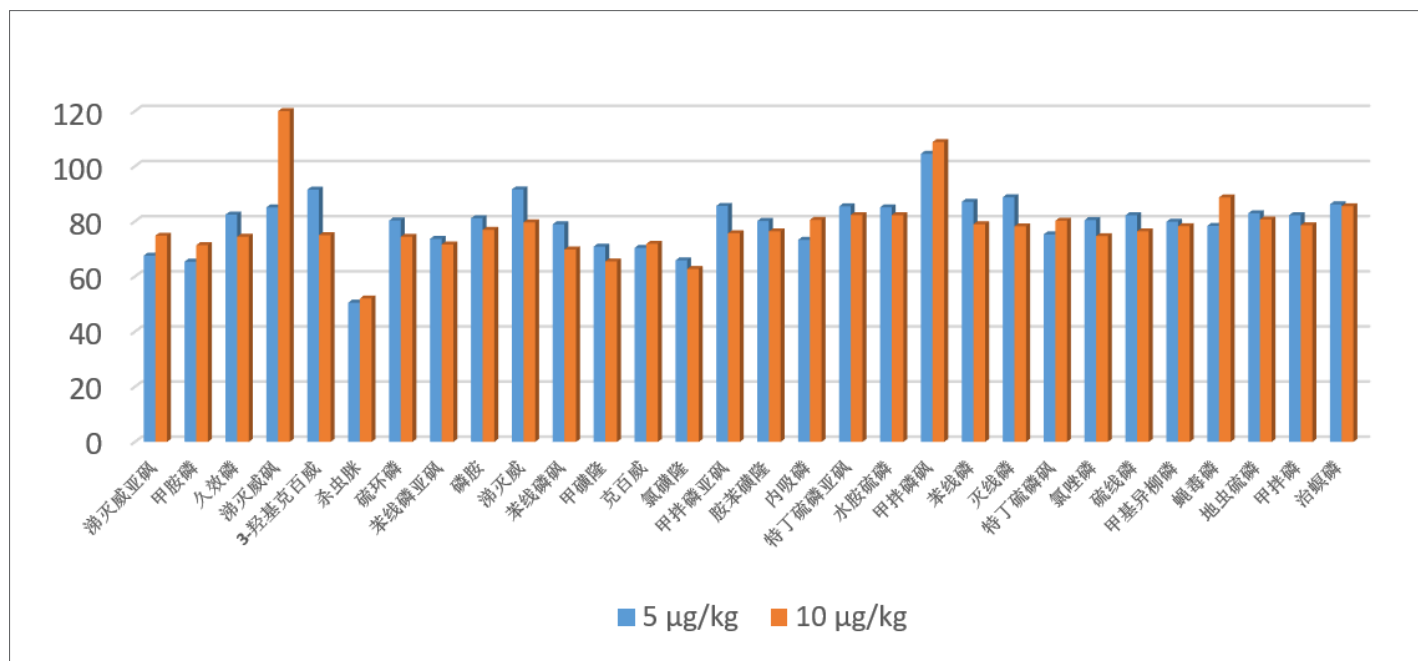


图4 陈皮基质加标回收率结果

4. 结论

本文建立了TSQ Fortis检测药材和饮片30种农残的方法，结果表明，所有化合物灵敏度均能满足要求，所得定量限均在0.1~1ng/mL之间，远优于药典中“0212药材和饮片检定通则”规定各化合物的定量限；按照“2341农药残留测定法”采用QuEChERS法对人参、甘草、金银花等10种中药基质样品进行前处理，加标回收率以及方法重现性均能满足方法学指标，表明该方法可用于中药材及饮片中农药残留的分析检测。



赛默飞
官方微信

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com