

应用LPGC-MS/MS快速分析浮萍药材中33种禁用农残

邢江涛 王喜智

赛默飞世尔科技（中国）有限公司

关键词

LPGC、TSQ 9610、AEI、药典、农残

目的

本研究分析了LPGC技术在中药农残分析中的优势，并结合配备AEI源的Thermo Scientific™ TSQ™ 9610三重四极杆气质联用仪评估了其方法学指标。结果完全符合药典相关要求。

前言

2020版中国药典新增的第五法《药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法》明确规定了33种禁用农残的限量要求以及采用GCMSMS/LCMSMS的分析方法。三重四极杆质谱技术能够较好的解决中药材中农药残留分析面临的种类多、残留量低以及基质复杂等挑战。然而，较长的分析时间（GCMSMS法约需60min）会造成样品通量低；复杂的基质（高糖、高色素、高油脂等）又会因污染系统导致分析性能以及色谱柱寿命的下降。两个问题交织一起，会造成实验室时间成本和经济成本的显著上升，这亟待需要解决。

LPGC技术的精髓在于能够利用质谱的真空加速分析，而实现相同程度的分离。3-4倍分析效率的提升可显著增加样品通量，节省不必要的载气、电量等消耗。同时也可避免待测样品的等待时间，减小农残降解或反应变化的概率。同时，配有AEI离子源的TSQ 9610系统可让方法灵敏度提高5-10倍，这允许我们使用分流进样来减小样品基质对系统的污染，同时降低不稳定化合物在进样口的停留时间。最后，专利的VPI技术可在不卸真空的情况下，拆卸离子源、更换色谱柱以及灯丝，方便操作者快速回升仪器性能。

综上所述，在不影响方法学指标的前提下，能够实现快速分析、减小仪器污染以及方便维护仪器的解决方案，对于中药禁用农残分析是极其有必要的。文章对结合LPGC技术的TSQ 9610 AEI系统在浮萍中禁用农残分析的方法耐用性等方面进行了评估。



实验部分

样品制备

参照药典，采用直接提取法。取供试品粉末（过三号筛）5g精密称定，加氯化钠1g，立即摇散，再加入乙腈50mL，匀浆处理2分钟（转速不低于每分钟12000转），离心（每分钟4000转），分取上清液，沉淀再加乙腈50mL，匀浆处理1分钟，离心，合并两次提取的上清液，减压浓缩至约3~5mL，放冷，用乙腈稀释至10.0mL，摇匀即得。

标曲工作液制备

参照药典，选取适当浓度的标液，利用乙腈溶剂稀释20倍，得到最低浓度为1 μ g/mL的使用液，然后分别精密量取上述样品制备提取液适量，分别加入标液使用液10 μ L、20 μ L、50 μ L、100 μ L、150 μ L、200 μ L，加乙腈稀释至1mL，最后加入300 μ L浓度为0.1 μ g/mL

的内标溶液（磷酸三苯酯）涡旋混匀即得。最终最低点上机浓度为7-19 µg/L。

通过3个序列的连续进样考察系统耐用性及稳定性。每个序列由基质标曲（6个点，其中最低点连续进样8次）、74针基质样品（添加内标）、基质标曲（6个点）构成，共计94针。序列之间仅更换一次衬管，质谱不洗源、不做调谐。通过282针前后的基质加标最低点的响应数据进行评价。



图1 试验采集方案

GCMSMS方法参数

实验采用配备Thermo Scientific™ Advanced Electron Ionization (AEI源)和Thermo Scientific™ TRACE 1610 GC的TSQ 9610三重四极杆GCMSMS系统进行。详细参数见表1。

表1 仪器参数

Trace 1610气相色谱参数	
进样量	1µL
衬管	超高惰性不分流衬管 (453A1925-UI)
进样口温度	260°C
载气	氦气, 2mL/min
进样模式	分流进样 (分流比, 10:1)
色谱柱	TG-5LPGC-MS (21098-2865)
升温程序	80°C (1min) 35°C/min 320°C (5min)
TSQ 9610质谱参数	
传输线温度	280°C
离子源温度	AEI源, 320°C
碰撞气	氩气, 70psi
采集模式	Timed-SRM

数据处理

使用Thermo Scientific™ Chromeleon色谱数据系统 (CDS) 变色龙软件对数据进行采集、处理和报告分析, 该软件可同时实现仪器控制、方法开发、定量/定性分析以及报告编辑。此外, 变色龙软件

可以自定义显示所需的信息, 也支持标记、数据追踪等设置, 轻松满足规范要求。

结果和讨论

LPGC技术

传统的快速气相分析方法, 主要通过增大柱流速、提高升温速率、薄膜加窄内径的短柱以及氢气做载气等方法。其中, 采用氢气做载气的理论与技术与LPGC技术均起源于上世纪60年代左右, 但由于氢气会导致一些分析物的分解, 减少惰性金属表面以及存在易燃易爆安全隐患而未被广泛使用。薄膜和窄内径均会降低色谱柱的样品承载量。例如, 0.53mm内径色谱柱的样品容量是0.25mm色谱柱的9.5倍, 是0.18mm色谱柱的25.5倍。同样的样品量采用样品容量大的色谱柱可以获得更好的稳定性和更少的维护时间。LPGC技术相较于以上技术具有明显的优势, 如下表所示:

表2 LPGC技术优势概览

优势	延伸
分析效率提高3-4倍	<ul style="list-style-type: none"> 样品通量加大; 待测样品等待时间缩短, 避免降解或反应;
灵敏度提高2.5倍左右	<ul style="list-style-type: none"> 节省载气和用电量; 峰宽缩小一倍, 峰更窄, 峰高更高;
样品承载量变大	<ul style="list-style-type: none"> 更好的稳定性和更少的维护时间; 色谱柱寿命更长;
降低化合物蒸气压	<ul style="list-style-type: none"> 可根据情况增加进样量; 对于乙腈溶剂, 无需将初始柱温降低至其沸点以下, 或采用PTV进样口; 化合物在更低温度即可汽化。对热不稳定化合物更友好, 柱流失也会降低; 相同的升温程序, 可分析经典气相分析不了的高沸点物质; 分析柱内的真空, 有助于色谱柱长期清洁;

色谱图

依照上述条件对浮萍基质进行前处理并进行加标, TIC图如下。

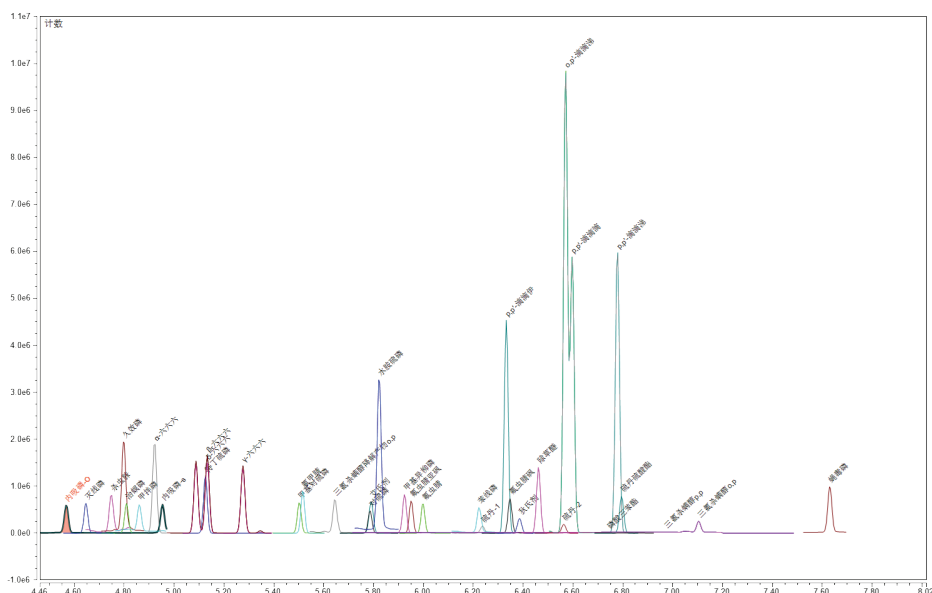


图3 基质样品加标200µg/L (分流比10:1) 的TIC图

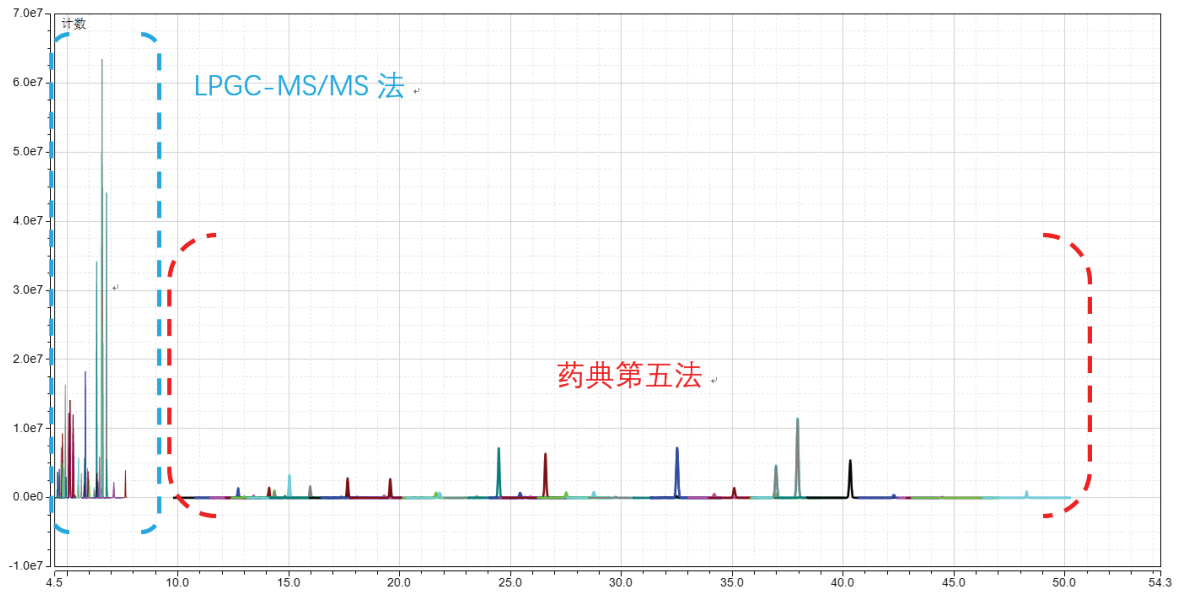
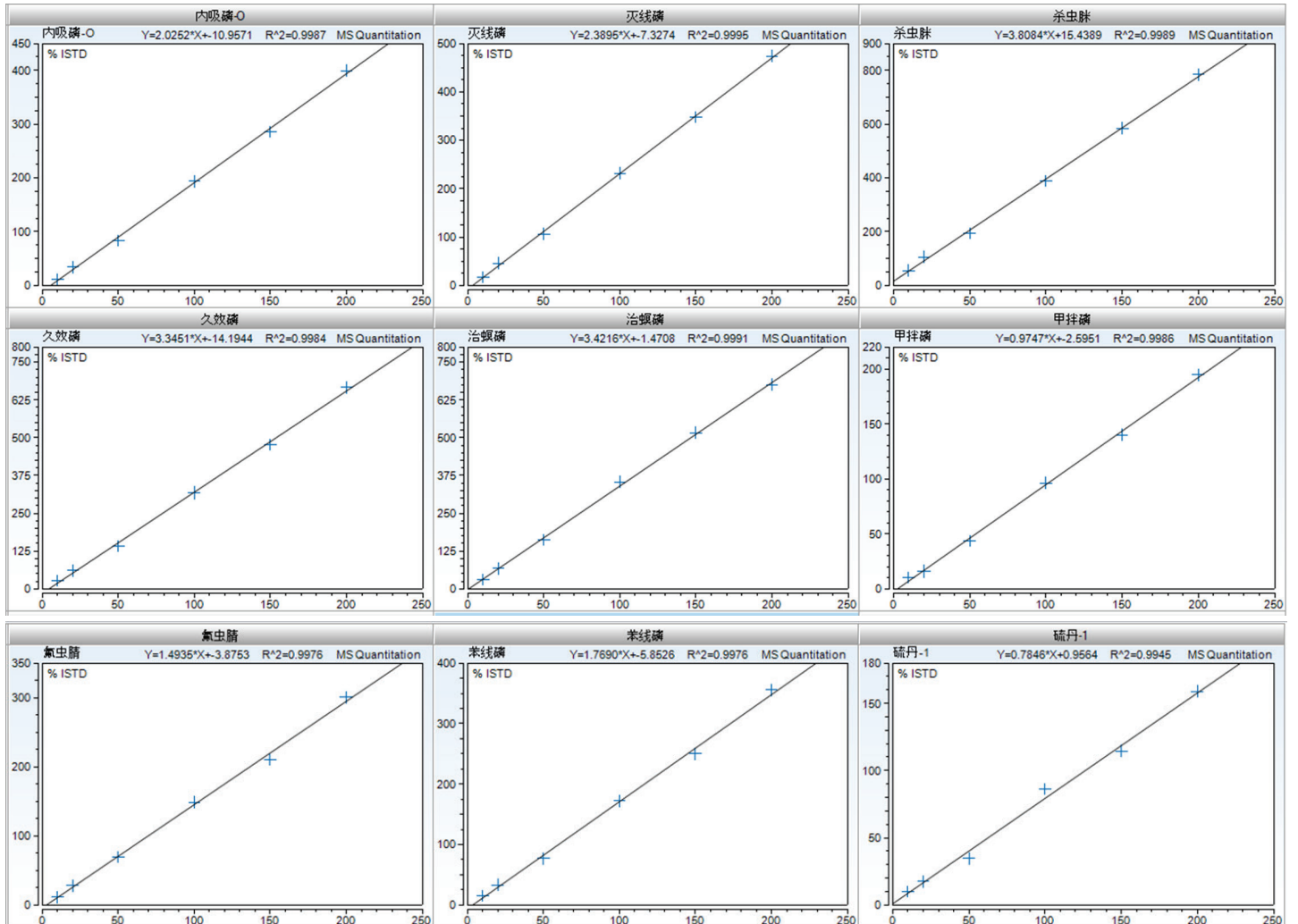


图4 LPGC-MS/MS法与药典第五法分析效率比较

将LPGC-MS/MS的TIC图（图3）与药典第五法条件下得到的TIC图进行对比，如图4。以最后出峰的蝇毒磷的保留时间评价，LPGC方法分析效率提高了6倍左右。

标准曲线及方法检出限MDL

依照上述条件采集数据，对化合物进行内标线性拟合，部分化合物标曲结果如图5所示。基质加标最低点连续进样8次的RSD以及由此计算的MDL结果如图6所示。



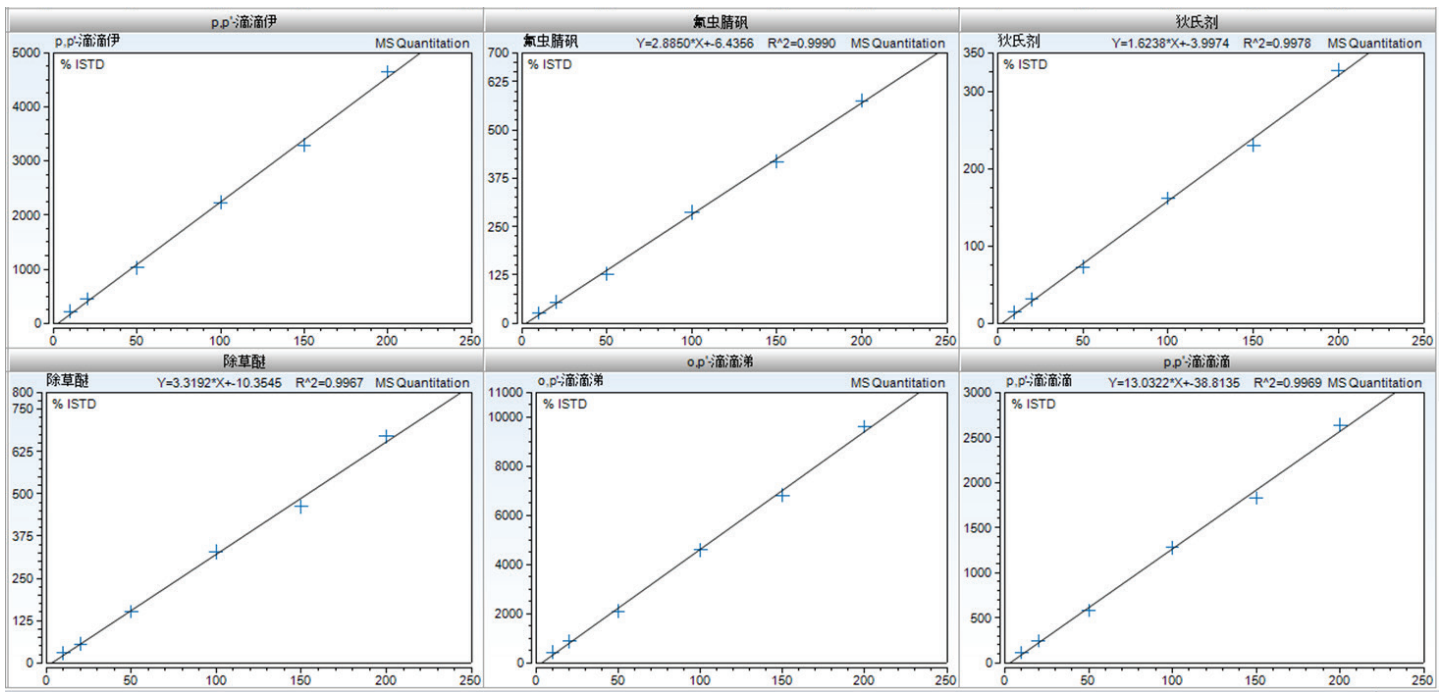


图5 基质标（分流比10:1）部分化合物的标曲结果

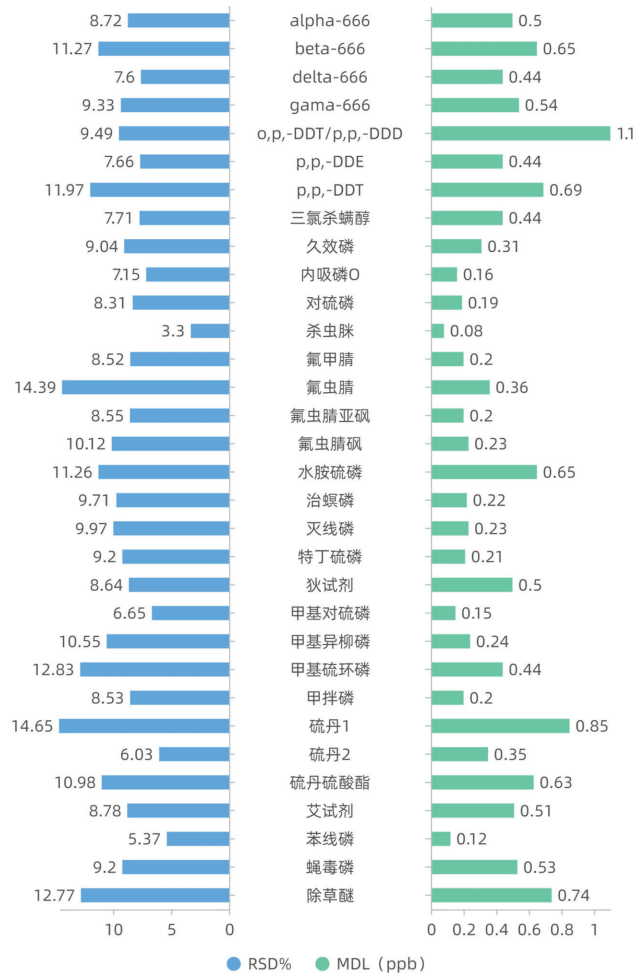


图6 基质标最低浓度点（分流比10:1）连续进样8次的RSD及MDL结果

备注：o,p,-DDT与p,p,-DDD在LPGC法下未能基线分离，故合并计算。此操作也符合药典要求。

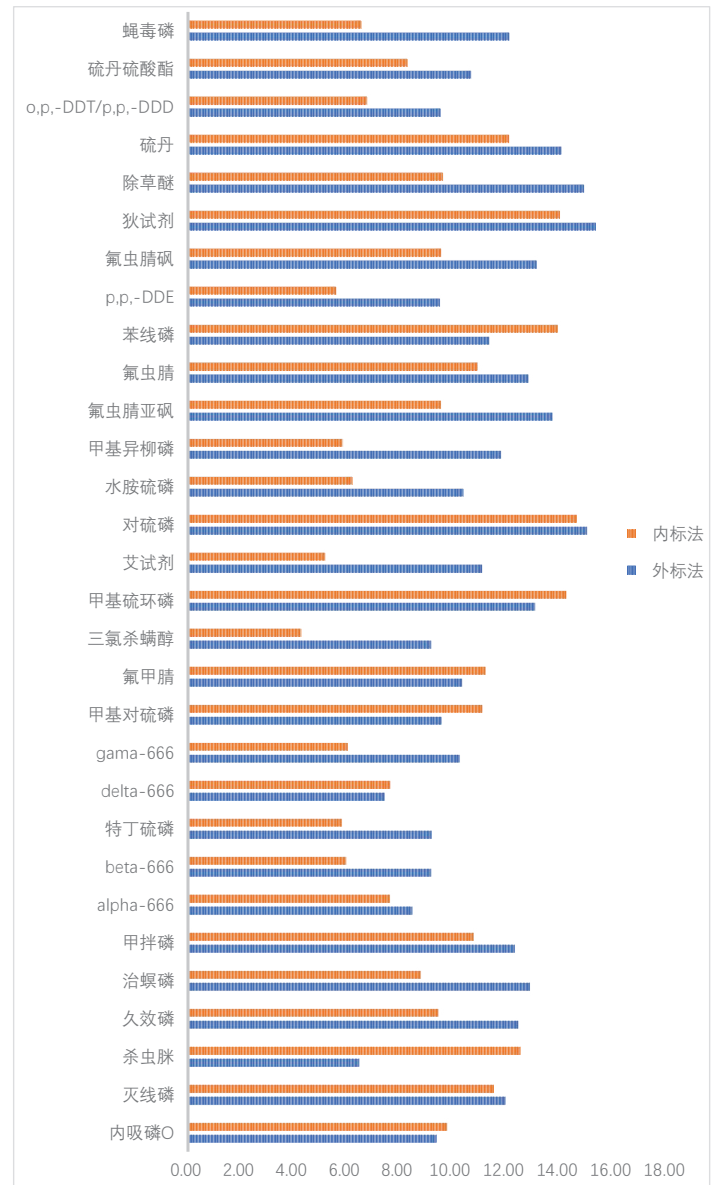


图7 24针基质加标最低点（分流比10:1）RSD汇总结果

耐用性测试

三个序列共计282次进样的内标TPP峰面积RSD结果如下：

序列	RSD%
序列1	11.01
序列2	9.02
序列3	5.91
汇总	12.52

将三个序列中基质加标最低点连续8次进样的数据进行汇总，分别以外标法与内标法计算24针数据的RSD，结果如图7。

结论

试验采用LPGC技术，结合配有AEI源的TSQ 9610三重四极杆气质联用仪对浮萍中禁用农残进行了方法学验证。结果表明，LPGC技术能够显著提高方法效率和稳定性。AEI源能够提供更高的仪器灵敏度，从而样品采用分流进样，降低了基质样品对系统的污染，进一步增加了方法通量。该方法可显著降低实验室的经济成本和实验成本，可作为定量或筛查方法使用。

参考文献

- [1] Maštovská K, Lehotay SJ. Practical approaches to fast gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2003;1000(1-2):153-80.
- [2] Rodriguez-Ramos R, Lehotay SJ, Michlig N, Socas-Rodriguez B, Rodriguez-Delgado MA. Critical review and re-assessment of analyte protectants in gas chromatography. *J Chromatogr A*. 2020;1632:461596.
- [3] Sapozhnikova Y, Lehotay SJ. Review of recent developments and applications in low-pressure (vacuum outlet) gas chromatography. *Anal Chim Acta*. 2015;899:13-22.



赛默飞
官方微信

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

Thermo Fisher
SCIENTIFIC