

气相色谱三重四极杆质谱联用仪用于中药材中33种禁用农药测定

邓武剑 彭倩

赛默飞世尔科技(中国)有限公司

关键词:

药材及饮片, 多农残测定, QuEChERS, Retain PEP, TG-17MS, TSQ 9000

摘要:

为了应对《中国药典》2020版的实施, 根据《中国药典》2020版2341通则第五法的要求, 本文建立了一种运用三重四极杆气质联用仪(GC-MS/MS)检测中药材中33种禁用农药的分析方法。样品经过QuEChERS方法前处理, 或Retain PEP小柱通过式净化, 采用TG-17MS色谱柱, GC-MS/MS测定, 用内标法定量计算。农药组分在5.0~200.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性关系良好, 线性相关系数均大于0.995。按照IUPAC(国际理论(化学)与应用化学联合会)方法规定计算各组分检出限, 各组分定量限在0.008~0.806 $\mu\text{g/kg}$ 之间。对加标浓度为10.0 $\mu\text{g/kg}$ 的样品连续进样8针, RSD(%)在1.81%~9.66%之间。加标浓度为10.0 $\mu\text{g/kg}$ 的样品, 各化合物的回收率在符合药典的要求。结果表明, 赛默飞世尔科技TSQ 9000完全可以应对2020版《中国药典》关于GC-MS/MS检测药材、饮片及制剂中农药残留量的检测要求。

1. 前言

随着对药材农药残留的报道日益增多, 人们对农药残留危害的认识也越来越深入, 药典对其制定检测方法也越来越全面, 越来越科学。以下是中国药典对农药残留检测法的变革: 《中国药典》2000年版首次规定了9种有机氯农药残留的检测方法。2005年版, 除甘草、黄芪等药材外, 对其余药材均未提出限量要求。我国最近的第2010版《中国药典》中不仅规定了9种有机氯农药残留的检测方法, 而且规定了12种有机磷类的检测方法, 还规定了3种拟除虫菊酯农药残留量的检测方法, 然而在限量标准方面仅规定了甘草和黄芪两种药物的六六六、滴滴涕、五氯硝基苯的限量标准, 其它中药材尚未涉及。2015版《中国药典》首次规定了用GC-MS/MS和LC-MS/MS等技术用于药材中多农残检测。2020版《中国药典》再次扩大了农药残留检测范围。历版《中国药典》对药材农药残留量部分主要变化如表1所示:

表1: 历版《中国药典》对药材农药残留量部分主要变化

出版年份	限定与变化
2000	提出了9种有机氯农药残留的检测方法
2005	没变化
2010	9种有机氯农药残留的检测方法 12种有机磷农药残留的检测方法 3种拟除虫菊酯的检测方法
2015	第四法农药多残留量测定法-质谱法 (其中GC-MS/MS 76种, LC-MS/MS 153种)
2020	第四法农药多残留量测定法-质谱法 (其中GC-MS/MS 91种, LC-MS/MS 526种) 新增第五法 33种农药禁用清单

本文根据2341通则第五法, 测定了中药材中33种禁用农药。

2. 实验部分

2.1 仪器和试剂

Thermo Scientific™ AI 1310自动进样器; Thermo Scientific™ Trace1310-TSQ 9000三重四极杆质谱仪; 乙腈(色谱纯, 美国Thermo Fisher公司)、实验用水为Milli-Q去离子水。

2.2 仪器方法

气相方法:

色谱柱: TG-17MS, 30m x 0.25mm x 0.25 μm

(PN: 26089-1420)

进样口: 不分流进样, 不分流时间: 1.5min; 进样口温度: 250 $^{\circ}\text{C}$; 载气: 高纯氦气(99.999%), 恒压模式; 柱前压力 146Kpa;

柱温箱：60°C保持1min，以10°C/min升至160°C，再以2°C/min升至230 °C，最后以15°C/min升温至300°C，保持6min。

传输线：280 °C

质谱方法：离子源温度为300°C，采用Time-SRM方法扫描，具体检测离子对参数如表2所示：

表2：化合物SRM参数

序号	中文名	英文名	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)
1	灭线磷	Ethoprop (Ethoprophos)	16.7	157.9	96.9	16
				157.9	113.9	6
				200	158	6
2	杀虫脒	Chlordimeform	17.4	117.1	89.8	18
				181.1	140	16
				196	181.1	8
3	治螟磷	Sulfotep	18.07	202	145.9	10
				265.9	145.9	15
				322	202	10
4	内吸磷	Demeton-S	18.13	114	81	14
				142.5	114.9	6
				170	114	8
5	甲拌磷	Phorate	18.29	75	47	8
				121	65	8
				260	75	8
6	α-六六六	BHC, Alpha	18.95	182.8	146.7	12
				218.8	146.6	20
				218.8	183	8
7	特丁硫磷	Terbufos	19.94	230.9	128.9	22
				230.9	174.9	12
				230.9	203	8
8	γ-六六六	BHC, gamma	21.7	180.9	109	26
				180.9	145	14
				218.7	183	8
9	久效磷	Monocrotophos	22.38	96.9	82	10
				127	95	16
				127	109	10
10	氟甲腈	Fipronil-desulfinyl	23.39	333.05	231.03	15
				333.05	281.04	10
				388.01	333.05	15
11	β-六六六	BHC, Beta	23.7	180.9	145	14
				218.7	146.6	18
				218.7	183	8
12	δ-六六六	BHC, delta	25.7	182.8	146.7	14
				218.8	146.5	20
				218.8	182.9	8
13	艾氏剂	Aldrin	25.79	255	220	10
				262.7	191	30
				262.7	192.9	32
14	甲基对硫磷	Parathion-methyl	27.57	124.9	47	12
				124.9	79	6
				263	109	12
15	氟虫腈亚砷	Fipronil-sulfide	29.6	351	255	15
				420.1	255.1	30
				420.1	351.1	10
16	氟虫腈亚砷	Fipronil	29.81	366.9	212.9	28
				366.9	244.9	20
				368.8	214.9	30
17	对硫磷	Parathion (ethyl)	30.01	109	81	10
				124.9	97	6
				291	109	12
18	三氯杀螨醇	Dicofol	30.66	111	74.9	12
				139	111	12
				250.9	139	12
19	甲基异柳磷	Isfenphos-methyl	31.64	199	65	34
				199	121	10
				241.1	121.1	20

20	水胺硫磷	Isocarbophos	32.9	121.1	65	14
				136	69	30
				136	108	12
				194.7	125	22
21	α -硫丹	Endosulfan peak 1	33.85	194.7	159.4	8
				240.6	205.9	14
				262.8	190.9	30
				262.8	192.9	30
22	狄氏剂	Dieldrin	36.58	262.8	227.8	16
				246	176.1	28
				317.8	246	20
				317.8	248	18
23	p,p'-滴滴伊	DDE p, p	36.6	335	255	10
				383	241	10
				383	255	15
				154	139	10
24	氟虫腈砜	Fipronil-sulfone	37.03	216.9	202	12
				303.1	195.2	8
				168	109	15
				227	92	10
25	苯线磷	Fenamiphos	38.48	227	167.8	10
				235	165.1	22
				235	199.5	10
				236.8	165	22
26	甲基硫环磷	Phosfolan-methyl	39.44	202	139	24
				283	202	10
				283	253	10
				235	165.1	20
27	o,p'-滴滴涕	DDT o,p	41.1	235	199	14
				235	199	14
				236.8	165	20
				158.9	123	12
28	除草醚	Nitrofen	41.13	194.7	159	8
				240.6	205.8	12
				235	165.1	22
				235	199.5	10
29	p,p'-滴滴滴	DDD p,p	42.12	236.8	165	22
				236.8	165	20
				158.9	123	12
				194.7	159	8
30	β -硫丹	Endosulfan peak 2	42.24	240.6	205.8	12
				235	165.1	22
				235	199.5	10
				236.8	165	22
31	p,p'-滴滴涕	DDT p,p	44.47	238.7	203.9	12
				271.7	234.9	12
				271.7	236.8	12
				215	168.1	16
32	硫丹硫酸酯	Endosulfan sulfate	46.48	326.1	168.6	28
				326.1	233	10
				209.9	119	22
				209.9	182	10
33	磷酸三苯酯	Triphenylphosphate (TPP)	48.58	226	163	18

注：化合物33为内标物，其余均为目标化合物

2.3样品前处理

2.3.1 快速样品处理法（QuEChERS）法

取金银花供试品粉末（过三号筛）3g，精密称定，置50ml聚苯乙烯具塞离心管中，加入1%冰醋酸溶液15ml，涡旋使药粉充分浸润，放置30分钟，精密加入乙腈15ml，涡旋使混匀，置振荡器上剧烈振荡（每分钟500次）5分钟，加入6g MgSO₄，1.5g NaOAC（PN：60105-335-B），立即摇散，再置振荡器上剧烈振荡（每分钟500次）3分钟，于冰浴中冷却10分钟，离心（每分钟4000转）5分钟，取上清液9ml，置含有300mg PSA / 300mg C18 / 90mg Carb / 900mg MgSO₄ / 300mg Silica的15mL离心管中（PN：60105-509-B），涡旋使充分混匀，置振荡器上剧烈振荡（每分钟500次）5分钟使净化完全，离心（每分钟4000转）5分钟，精密吸取上清液5ml，置氮吹仪上于40℃水浴浓缩至约0.4ml，加乙腈稀释至1.0ml，涡旋混匀，滤过，取续滤液，即得。

2.3.2 Retain PEP 固相萃取法

取金银花供试品粉末（过三号筛）5g，精密称定，加NaCl 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，得待净化液。量取待净化溶液3~5ml，通过亲水亲油平衡材料固相萃取柱HyperSep Retain PEP, 200mg, 6ml（PN：60107-212）净化，收集全部净化液，混匀，即得。

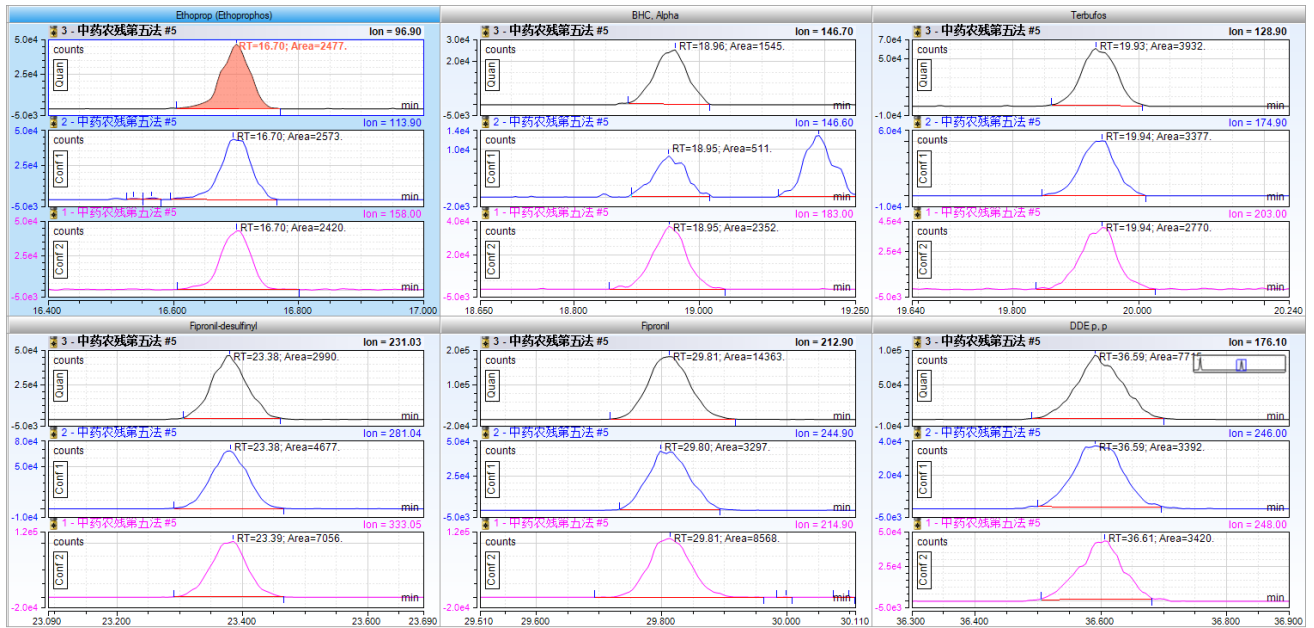


图2: 10.0μg/L标液部分农残的定量离子流图

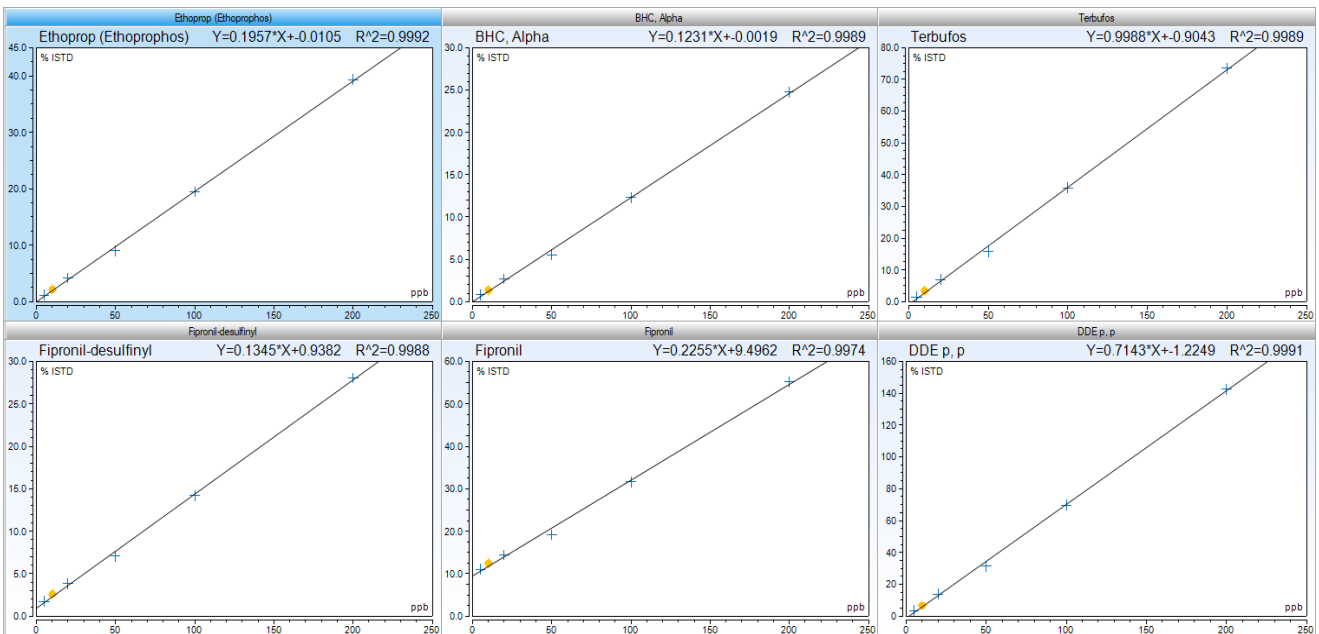


图3. 部分化合物的标准曲线

3.2标准曲线线性、检出限及精密度

采用上述仪器方法（2.2）进样分析，考察各组分的线性。实验结果表明33种农药组分在5.0~200.0μg/L线性关系良好，线性相关系数均大于0.995,对加标浓度为10.0μg/kg的样品连续进样8针，RSD（%）在1.81%~9.66%之间，重复性良好；加标浓度为10.0μg/kg的样品进行回收率计算，按2.3.1的前处理方法，各化合物的回收率在73.6%~113.6%之间，按2.3.2的前处理方法，各化合物的回收率在71.26%~108.01%之间。计算各组分定量限（信噪比为10），定量限范围在0.008-0.459μg/kg之间，根据本应用方法的前处理，其检出限都满足最新药典对于农残分析定量限的要求（详见表3）。

表3 中药材中33种农残的线性相关系数、定量限及回收率等

序号	中文名	英文名	线性方程	线性相关系数(R ²)	药典定量限 (µg/kg)	定量限 (µg/kg)	RSD% (n=8)	回收率% (QuE-ChERS)	回收率% (Retain PEP SPE)
1	艾氏剂	Aldrin	Y=0.0958*X+-0.1359	0.9995	50	0.306	4.07	87.0	88.9
2	α-六六六	BHC, Alpha	Y=0.1231*X+-0.0019	0.9994	共计100	0.139	8.23	88.4	81.6
3	β-六六六	BHC, Beta	Y=0.2023*X+-0.0139	0.9994		0.079	7.61	88.3	71.3
4	δ-六六六	BHC, delta	Y=0.0477*X+-0.0693	0.9998		0.093	7.06	91.9	82.2
5	γ-六六六	BHC, gamma	Y=0.0824*X+-0.0652	0.9995		0.068	7.07	92.5	88.9
6	杀虫脒	Chlordimeform	Y=0.1197*X+-0.0731	0.9995		20	0.059	1.81	73.6
7	蝇毒磷	Coumaphos	Y=0.0449*X+-0.0236	0.9997	50	0.199	2.06	87.8	94.6
8	p,p'-滴滴涕	DDD p,p	Y=1.2811*X+-2.1008	0.9996	共计100	0.035	5.43	91.2	77.6
9	p,p'-滴滴涕伊	DDE p,p	Y=0.7143*X+-1.2249	0.9995		0.052	5.62	90.4	78.8
10	o,p-滴滴涕	DDT o,p	Y=0.8718*X+-3.1464	0.9991		0.075	3.86	85.5	86.2
11	p,p'-滴滴涕	DDT p,p	Y=0.9254*X+-4.1455	0.9988		0.055	2.77	88.8	88.1
12	内吸磷	Demeton-S	Y=0.0291*X+-0.0294	0.9998		20	0.577	9.66	84.0
13	三氯杀螨醇	Dicofol	Y=0.2431*X+-0.0660	0.9994	20	0.155	4.02	92.9	85.5
14	狄氏剂	Dieldrin	Y=0.0320*X+-0.1128	0.9985	50	0.241	3.29	83.9	85.6
15	α-硫丹	Endosulfan peak 1	Y=0.0216*X+-0.0665	0.9997	共计50	0.177	7.52	97.0	80.0
16	β-硫丹	Endosulfan peak 2	Y=0.0257*X+-0.0864	0.9998		0.13	6.69	104.6	86.8
17	硫丹硫酸酯	Endosulfan sulfate	Y=0.0308*X+-0.0607	0.9990		0.021	4.58	92.5	88.9
18	灭线磷	Ethoprop (Ethoprophos)	Y=0.1957*X+-0.0105	0.9996	20	0.159	5.55	96.5	87.9
19	苯线磷	Fenamiphos	Y=0.1951*X+-0.4156	0.9996	20	0.395	4.09	86.6	76.8
20	氟虫腈	Fipronil	Y=0.2255*X+-9.4962	0.9987	共计20	0.008	5.58	96.1	92.1
21	氟甲腈	Fipronil-desulfinyl	Y=0.1345*X+-0.9382	0.9994		0.011	9.32	113.6	108.0
22	氟虫腈亚砷	Fipronil-sulfide	Y=0.0068*X+-1.0930	0.9976		0.016	8.12	108.8	79.6
23	氟虫腈砷	Fipronil-sulfone	Y=0.0266*X+-0.1177	0.9995		0.008	7.93	77.2	78.7
24	水胺硫磷	Isocarboxiphos	Y=0.1811*X+-9.1788	0.9981	50	0.143	5.81	89.6	75.9
25	甲基异柳磷	Isofenphos-methyl	Y=0.1857*X+-0.0871	0.9994	20	0.11	5.51	94.5	85.5
26	久效磷	Monocrotophos	Y=0.2421*X+-0.8848	0.9995	30	0.459	6.47	73.9	81.9
27	除草醚	Nitrofen	Y=0.1571*X+-0.4711	0.9993	50	0.124	3.56	89.6	93.9
28	对硫磷	Parathion (ethyl)	Y=0.1555*X+-0.4216	0.9991	20	0.085	7.18	91.1	80.2
29	甲基对硫磷	Parathion-methyl	Y=0.0797*X+-0.0527	0.9996	20	0.129	5.04	80.0	87.2
30	甲拌磷	Phorate	Y=0.2926*X+-0.4967	0.9992	20	0.054	7.67	88.5	85.6
31	甲基硫环磷	Phosfolan-methyl	Y=0.3039*X+-0.0761	0.9998	30	0.13	2.27	82.9	93.0
32	治螟磷	Sulfotep	Y=0.2145*X+-0.1071	0.9995	20	0.161	9.43	90.2	91.1
33	特丁硫磷	Terbufos	Y=0.3699*X+-0.9043	0.9994	20	0.071	7.29	87.0	92.1
34	磷酸三苯酯	Triphenylphosphate (TPP)	Y=0.0000*X+-0.0000	n.a.	n.a.	n.a	n.a	n.a	n.a

注：第34项磷酸三苯酯为内标物

3.3 样品前处理分析讨论

参考第五法，本文在金银花空白样品中加入农药混标，添加浓度为10.0µg/kg（《0212 药材和饮片检定通则》规定的定量限），按照五种前处理方式对金银花中33种禁用农药进行了测定，其中2.3.1 QuEChERS法及2.3.2 Retain PEP SPE法金银花中农药的加标平均回收率比较符合药典回收率要求（70-120%），详细结果见表3，

通过综合比较药典5种前处理方案，从样品净化程度以及回收率结果来看，QuEChERS法及Retain PEP SPE法更适合于金银花中33种禁用农药的检测。对于其他样品基质，药典也规定：根据供试品基质特点和方法确认结果，选择一种最适宜的供试品溶液制备方法。

4.结论

本文参考《中国药典》第五法前处理方法，用内标法定量，建立了气相色谱三重四极杆质谱法（GC-MS/MS）测定金银花中的33种禁用农药。该方法在5~200µg/L浓度范围内，线性相关系数均大于0.995，检出限范围在0.008-0.459µg/kg之间。通过空白基质加标测试，QuEChERS法和Retain PEP SPE法两种前处理方法取得了优异的稳定性和良好的加标回收率。可满足医药生产商对于中药材及饮片中药管控的定量要求，也能满足监管单位对药材进行风险监测的要求。



赛默飞
官方微信

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

Thermo Fisher
SCIENTIFIC