

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.10.006

QuEChERS 结合气相色谱-串联质谱法测定 吐根药材中 38 种农药残留

孙 茜¹, 袁 浩¹, 徐艳梅¹, 郭一璇²

(1. 河北省药品检验研究院, 河北 石家庄 050011; 2. 河北省辛集市第一中学, 河北 石家庄 052300)

摘要:目的 建立基于 QuEChERS 结合气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)法快速检测吐根药材中 38 种禁限用农药残留量的方法。方法 采用改良 QuEChERS 法对样品进行前处理, 过有机膜后经 GC-MS/MS 测定, 多反应监测模式(MRM)用于定量。结果 38 种农药在一定含量范围内线性关系良好, 相关系数(r)均大于 0.995。在 3 个添加浓度水平进行了添加回收率试验, 平均回收率均在 66.4%~88.7% 之间, RSD 2.4%~9.2%; 38 种农药成分的检出限在 0.15~5.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 7 批吐根药材样品均未检出上述农药残留。结论 该方法操作简便快捷, 灵敏可靠, 适用于测定吐根药材中多种农药的残留。

关键词: 吐根药材; 农药残留; QuEChERS; 气相色谱-串联质谱法; 快速检测

中图分类号: R284.1; R282.71

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2018)10-0019-04

Content Determination of 38 Pesticide Residues in *Radix Ipecacuanhae* by QuEChERS and GC-MS/MS

Sun Han¹, Yuan Hao¹, Xu Yanmei¹, Guo Yixuan²

(Hebei Provincial Institute for Drug Control, Shijiazhuang, Hebei, China 050011; 2. No. 1 Middle School of Xinji, Shijiazhuang, Hebei, China 052300)

Abstract: Objective To establish a method for the rapid determination of 38 pesticides in *Radix Ipecacuanhae* by QuEChERS and GC-MS/MS. **Methods** The samples were prepared by QuEChERS, then cleaned-up by mixed sorbents and analyzed by GC-MS/MS. Multi-reaction monitoring(MRM) mode was used for quantitative analysis. **Results** The 38 pesticides had good linearity in certain rang with the coefficient(r) higher than 0.995. The average recoveries of the 38 organophosphorus pesticides at the three fortification levels were between 66.4% and 88.7%, the RSD s were 2.4%~9.2%. The limits of quantification(LOQs) of 38 pesticides were 0.15~5.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$. No pesticide residue was detected in 7 lots of samples. **Conclusion** The method is simple, quick, sensitive and reliable, which is suitable for the determination of pesticides residue in *Radix Ipecacuanhae*.

Key words: *Radix Ipecacuanhae*; pesticide residue; QuEChERS; GC-MS/MS; rapid determination

吐根为茜草科头九节属植物 *Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich. 或 *Cephaelis acuminata* Karsten 的干燥根及根茎, 主要有效成分为生物碱, 《欧洲药典》^[1]《美国药典》^[2]《日本药局方》^[3]均有收载。吐根主产地为巴西, 我国不产, 因此没有相关标准, 相关研究也较少。其主要用于催吐、镇咳祛痰等, 我国多用于止咳类成方制剂中, 如小儿化痰止咳颗粒等。吐根主要活性成分为生物碱, 其中主要成分为吐根碱、吐根酚碱等异喹啉型生物碱^[4]。早期, 我国企业主要通过进口流浸膏进行吐根酊及含吐根类成方制剂的生产, 近些年随着需求量的增加, 国内企业也开始进口吐根药材进行生产。随着国内需求量连年增加, 野生吐根已供不应求, 种植面积必然会不断增大, 但国内暂无关于农药残留等的相关检测与研究, 对于多用于儿童止咳类成方制剂的药材来说风险较大。本研究中参考国家禁限用农药名目, 最终确定适宜使用气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)法测定吐根中 38 种农药残留, 并参考 QuEChERS 方法^[5-10], 确定样品提取

方法。通过制订 GC-MS/MS 检测法^[11-15], 并通过科学的验证方式, 建立了快速、灵敏的农药残留测定方法, 收集了样品农残数据。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

GCMS-TQ8040 型气相色谱-三重四极杆质谱联用仪, 配有电子轰击源(EI, 日本 Shimadzu 公司); AE240 型电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); 超纯水仪(美国 Millipore 公司); 精密移液器(德国 Eppendorf 公司)。

1.2 试剂

38 种农药试剂购自农业部环境保护科研检测所、Solution in Methanol 公司及 DR. Ehrenstorfer GmbH 公司; 乙腈、丙酮为 GC 纯, 醋酸为色谱纯(美国默克公司); 无水硫酸镁, 无水乙酸钠, PSA, C_{18} , 硅胶, 石墨化碳黑(博纳艾吉尔公司)。吐根药材来源于河北安国中药市场, 产地为巴西和哥斯达黎加, 经河北省药品检验研究

第一作者: 孙茜, 女, 汉族, 大学本科, 主管药师, 研究方向为中药质量控制方法, (电话)0311-85212007-8071(电子信箱)297372905@qq.com。

院中药室段吉平主任中药师鉴定均为正品。

2 方法与结果

2.1 分析条件

2.1.1 色谱条件

色谱柱: HP-5 毛细管色谱柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm); 柱温梯度: 起始温度 50 ℃, 保持 1 min, 以

25 ℃/min 的速率升至 125 ℃, 再以 10 ℃/min 的速率升至 280 ℃, 保持 10 min; 进样口温度: 200 ℃; 流速: 1 mL/min; 进样量: 1 μL; 进样方式: 不分流。

2.1.2 质谱条件

离子源: EI 源; 离子源温度: 230 ℃; 质谱传输接口温度: 280 ℃; 碰撞气体: 氦气; 监测模式: 多反应监测模

表 1 38 种农药的保留时间、优化的质谱分析参数及试验结果

编号	成分	保留时间	母离子	碎片离子	CEV	回收率(%)	RSD(%)	检出限(μg/kg)
1	杀虫脒(Chlordimeform)	11.15	196.0	181.0, 154.0	10, 15	71.4	8.0	1.2
2	除草醚(NIP)	19.01	282.9	162.0, 253.0	24, 12	76.2	3.6	4.8
3	艾试剂(Aldrin)	14.53	262.9	193.0, 203.0	28, 26	78.2	5.7	2.4
4	甲基对硫磷(parathion-methyl)	13.64	263.0	109.0, 136.0	14, 8	82.6	7.7	2.4
5	磷胺(phosphamidon)	13.44	264.0	127.0, 67.0	12, 21	81.2	6.1	5.2
6	地虫硫磷(Fonofos)	12.52	246.0	109.0, 137.0	18, 6	80.5	4.4	0.8
7	硫线磷(Cadusafos)	11.46	159.0	131.0, 97.0	9, 15	79.1	5.1	4.8
8	蝇毒磷(Coumaphos)	21.09	362.0	109.0, 334.0	18, 9	86.4	6.3	2.4
9	治螟磷(Sulfotep)	11.43	322.0	202.0, 294.0	10, 4	83.5	6.1	1.2
10	特丁硫磷(Terbufos)	12.44	231.0	175.0, 129.0	14, 26	80.6	7.4	1.3
11	杀扑磷(Methidathion)	15.76	145.0	58.0, 71.0	8, 14	75.1	7.1	1.2
12	灭线磷(Ethoprophos)	10.87	200.0	158.0, 114.0	6, 14	78.2	8.9	4.8
13	氯唑磷(Isazofos)	12.94	257.0	162.0, 119.0	8, 18	73.6	6.7	0.9
14	水胺硫磷(Isopropyl)	14.74	289.1	136.0, 113.0	14, 6	76.8	8.6	2.8
15	α-硫丹(α-Endosulfan)	16.01	338.9	160.0, 267.0	18, 8	72.1	5.4	0.9
16	β-硫丹(β-Endosulfan)	17.10	338.9	160.0, 267.0	18, 8	73.5	7.1	0.9
17	氰戊菊酯(Fenvalerate I)	23.69	419.0	167.0, 125.0	12, 27	76.1	6.7	4.0
		24.11		125.0, 167.0	24, 12	78.0	5.3	4.0
18	毒死蜱(Chlorpyrifos)	14.59	313.9	258.0, 286.0	14, 8	75.3	8.4	3.6
19	三唑磷(Triazophos)	17.53	257.0	162.0, 134.0	8, 22	74.7	3.7	1.2
20	α-六六六(α-BHC)	11.67	218.9	183.0, 145.0	8, 20	85.2	4.1	0.6
21	β-六六六(β-BHC)	12.21	218.9	183.0, 145.0	8, 20	83.5	3.5	1.2
22	γ-六六六(γ-BHC)	12.35	218.9	183.0, 145.0	10, 20	82.6	6.7	1.6
23	δ-六六六(δ-BHC)	12.83	218.9	183.0, 145.0	8, 20	88.7	5.2	1.2
24	O,P'-滴滴涕(O,P'-DDT)	17.30	235.0	165.0, 199.0	24, 16	85.6	6.2	0.5
25	P,P'-滴滴涕(P,P'-DDE)	16.43	246.0	176.0, 211.0	30, 22	82.1	3.9	0.5
26	P,P'-滴滴涕(P,P'-DDD)	17.22	235.0	165.0, 199.0	24, 16	78.6	4.6	1.0
27	p,p'-滴滴涕(p,p'-DDT)	17.93	235.0	165.0	24, 24	80.9	4.5	0.5
28	啉氧菌酯(Picoxystrobin)	16.12	335.0	173.0, 303.0	12, 9	75.3	7.6	1.3
29	马拉硫磷(Malathion)	14.38	173.1	99.0, 127.0	14, 6	79.6	7.2	0.5
30	香芹酚(Carvacrol)	6.66	550.0	135.1, 135.1	9, 12	74.1	9.1	1.0
31	氟硅唑(Flusilazole)	16.60	233.0	165.1, 152.1	18, 18	74.7	5.6	1.1
32	氟氯氰菊酯(Cyfluthrin)	21.51	226.0	206.1, 199.1	18, 9	76.8	7.9	4.0
		21.64		206.2, 199.2	18, 12	73.5	8.4	4.0
		21.77		206.1, 199.1	18, 12	72.1	6.1	4.0
		21.81		206.1, 192.2	18, 12	75.2	9.2	4.0
33	毒杀酚 26(Parlar26)	16.90	231.0	195.0, 193.0	3, 3	83.2	2.4	0.2
34	毒杀酚 32(Parlar32)	17.35	233.0	162.0, 197.0	21, 9	83.0	5.1	0.2
35	毒杀酚 40(Parlar40)	17.99	231.0	195.0, 193.0	3, 3	67.3	6.0	0.2
36	毒杀酚 44(Parlar44)	18.20	195.0	173.0, 71.0	39, 24	70.2	8.2	0.2
37	毒杀酚 50(Parlar50)	18.55	341.0	73.0, 325.0	21, 3	66.4	7.0	0.2
38	毒杀酚 62(Parlar62)	19.56	305.0	269.0, 232.0	12, 18	74.0	8.5	0.2

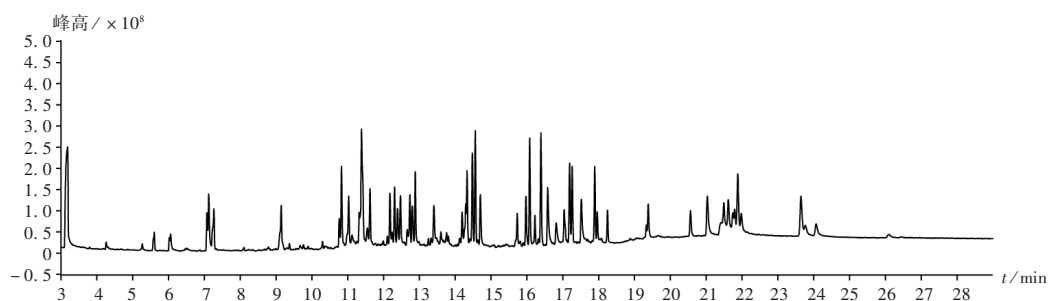


图1 38种有机磷农药混合标准溶液的全扫描总离子流图

式(MRM),每个农药选择2个特征MRM,其中一个作为定量离子对,另一个作为定性离子对,其中存在异构体的品种每个异构体选择2个特征MRM,一个作为定量离子对,另一个作为定性离子对。详见表1。

2.2 溶液制备

标准贮备液:称取固体农药试剂适量,精密称定,分别用丙酮配置成质量浓度约为100 μg/mL的单一农药成分的标准贮备液;精密量取液体农药标准试剂适量,分别用丙酮配制成质量浓度为5~50 μg/mL的单一农药成分的标准贮备液,储藏于-18℃冰箱中。精密量取标准贮备液,加丙酮配制成高、中、低3个质量浓度的38种农药混合标准溶液。取高浓度混合标准溶液,在scan模式下测定总离子流图(见图1)。

供试品溶液:取药材样品,粉碎,过100目筛(样品有一定毒性,易引起过敏,注意防护),取样品3g,精密称定,加乙腈15mL,浸泡30min,匀浆,加入无水硫酸镁与无水乙酸钠的混合粉末(4:1)5g,摇匀,再置振荡器上剧烈振摇(350次/分)3min,于冰浴中冷却10min,离心(4000 r/min)5min,取上清液9mL,置已预先装有净化材料的分散固相萃取净化管(无水硫酸镁200mg,PSA200mg,C₁₈200mg)中,涡旋,充分混匀,再置振荡器上剧烈振摇(350次/分)5min,离心(4000 r/min)5min,精密吸取上清液5mL,氮气吹至近干,用丙酮溶解并定容至1mL,混匀。

空白样品基质溶液:取空白药材样品,按供试品溶液制备方法制备空白基质溶液。

2.3 方法学考察

线性关系考察:取系列质量浓度的38种农药标准溶液加入空白基质,按拟订色谱条件进样分析,以质量浓度(μg/L)为横坐标、峰面积(A)为纵坐标绘制标准曲线。结果表明,在选定范围内两者线性关系良好($r \geq 0.995$)。

回收率试验:分别取空白吐根药材3g,按照38个农药品种的线性数据,以线性低点2倍,5倍,10倍的浓度折算加入量,每个点加入2份样品,按拟订方法进行试验,计算38种农药回收率。结果见表1。

精密度试验:因样品均未检出上述农药成分,因此使用回收率中加标回收数据作为连续测定数据,结果的 $RSD \leq 9.6\%$ (见表1)。

检出限测定:以回收率试验测定方法制备测定溶液进行试验,以信噪比=3确定方法的检出限,38种农药的检出限范围为0.2~5.2 μg/kg(见表1)。

2.4 样品检测

对7批次的吐根药材按拟订方法进行检测,结果并未检出上述农药残留。经与药材提供方进行沟通发现,本次收集到的样品以野生吐根为主,这应该是农药残留较少的主要原因。

3 讨论

3.1 提取方法选择

提取方法的选择是残留测定重要步骤,方法简便、效率高、净化效果好等都是需要考虑的内容。本研究中参考近些年发展起来的QuEChERS农药残留测定方法,并根据自有设备对样品提取方法进行研究。样品提取中采用匀浆法替代中药提取中常用的超声法。此法简便快捷,提取效率高,能有效减少试验时间,但主要针对蔬菜、水果等含水量较高的样品。而中药材多为水分低于10%的干物质,提取中不利于目标物的游离,因此试验中考虑加水浸泡使植物细胞膨胀,以提高提取效率。

3.2 净化吸附剂选择

选择净化吸附剂时考虑到样品与待测成分的性质。对PSA、C₁₈、氧化铝、硅胶、弗罗里硅土等进行了比较,PSA主要用于去除糖类、酚类、有机酸、脂肪酸,并对亲脂性色素有一定吸附作用,C₁₈是重要的净化剂,两者实际应用较广,与中性氧化铝和弗罗里硅土相比对回收的影响更小,但是对色素的净化作用弱;石墨化碳黑可去除色素等物质,但同时会导致回收率下降。考虑到吐根药材色素含量低,不需要增加脱色剂,为保证回收率并兼顾溶液净化效果,经过对比试验,选择无水硫酸镁,PSA,C₁₈各200mg作为净化吸附剂。

3.3 应用价值

虽然本试验中的样品均未检出相应农药残留,但研究中建立的测定吐根中38种农药残留的GC-MS/MS