

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)22-0108-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.22.024



气相色谱质谱联用法测定重楼药材中多种农药残留*

陈健, 唐瑜, 向鹏宇

(重庆市食品药品检验检测研究院三分院, 重庆 408000)

摘要:目的 建立测定重楼药材中15种农药残留量的气相色谱质谱联用法。方法 色谱柱为Agilent 19091S-431UI柱, HP-624毛细管柱(15.0 m × 0.25 mm, 0.25 μm), 载气为氦气, 流速1.0 mL/min, 不分流进样, 进样口温度为280 °C, 程序升温; 溶剂延迟时间为3.75 min, 进样量为1 μL, 离子源温度为280 °C, 传输线温度为280 °C, 电离方式为电子轰击离子源(EI), 能量为70 eV。结果 15种成分质量浓度均在0.05~1.0 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好; 定量限为0.010~0.025 mg/kg; 精密性、稳定性试验结果的RSD均小于7%; 平均加样回收率为78.73%~95.93%, RSD为4.43%~7.41% (n=9)。结论 该法前处理简单、快速, 分辨率高, 能更好地满足检测需求, 可用于重楼药材中农药残留的检测。

关键词:气相色谱-质谱联用法; 重楼; 农药残留; 定性检测

Determination of Multiple Pesticide Residues in Paridis Rhizoma by Gas Chromatography - Mass Spectrometry

CHEN Jian, TANG Yu, XIANG Pengyu

(Chongqing Food and Drug Inspection and Testing Research Institute <Third Branch>, Chongqing, China 408000)

Abstract: Objective To establish a gas chromatography - mass spectrometry (GC - MS) method for determining the residues of 15 pesticides in Paridis Rhizoma. **Methods** The chromatographic columns were the Agilent 19091S - 431UI column and HP - 624 capillary column (15.0 m × 0.25 mm, 0.25 μm), the carrier gas was helium, the flow rate was 1.0 mL / min, the splitless injection was adopted, the injection inlet temperature was 280 °C, the programmed temperature was adopted; the solvent delay time was 3.75 min, the injection volume was 1 μL, the ion source temperature was 280 °C, the transmission line temperature was 280 °C, the electron impact ion source (EI) was adopted with the energy of 70 eV. **Results** The linear ranges of fifteen components were in the range of 0.05 - 1.0 μg / mL. The limit of quantification (LOQ) was in the range of 0.010 - 0.025 mg / kg. The RSDs of precision and stability tests were lower than 7%. The average recovery rate was in the range of 78.73% - 95.93% with the RSDs of 4.43% - 7.41% (n = 9). **Conclusion** This method is simple, fast, and has high resolution, which can better meet the detection needs and can be used for the detection of pesticide residues in Paridis Rhizoma.

Key words: GC - MS; Paridis Rhizoma; pesticide residue; qualitative detection

重楼 *Paris polyphylla Smith var. yunnanensis* (Franch.) Hand. - Mazz 为百合科重楼属多年生草本植物, 根茎入

*基金项目: 重庆市涪陵区科研项目 [FLKJ, 2022CBZ4064]。

第一作者: 陈健, 男, 大学本科, 副主任中药师, 研究方向为中药质量标准及其检验检测, (电子邮箱) 295592572@qq.com。

参考文献

- [1] 王燕, 鹿龙, 欧扬, 等. 消糜片治疗气阴两虚兼痰瘀互结证干性年龄相关性黄斑变性疗效观察[J]. 新中医, 2014, 46(7): 133 - 135.
- [2] 韩珮, 张春椿, 熊耀康. 珍珠粉临床应用的最新研究进展[J]. 中医学报, 2011, 26(7): 835 - 837.
- [3] 杨亮, 王锦秋, 王民. 牛黄锌滴眼液的研制及疗效观察[J]. 西北药学杂志, 2008, 23(3): 164 - 165.
- [4] 毕雪艳, 盖自宽, 任刚, 等. 火焰原子吸收法测定硫酸锌片中锌的含量[J]. 中南药学, 2013, 11(5): 387 - 389.
- [5] 廖颖妍, 谭颖贤, 方宇希, 等. 原子吸收光谱法测定沅江荻芦嫩茎中8种元素的含量[J]. 中南药学, 2017, 15(5): 654 - 657.
- [6] 蔡慧侠, 宋亚玲, 杨梦聪, 等. 火焰原子吸收光谱法测定人工虎骨粉中5种元素的含量[J]. 中南药学, 2021, 19(2): 282 - 285.
- [7] 周丹, 赖伟勇, 张俊清, 等. 益智不同生长期不同产地微量元素含量测定[J]. 中南药学, 2018, 16(3): 395 - 400.
- [8] 李彦超, 李宜鲜. 火焰原子吸收光谱法同时测定养血软坚片中钙、锌、镁含量[J]. 中南药学, 2021, 30(14): 63 - 65.
- [9] 张玉昆, 郭珊珊, 牛雯颖, 等. 固本安神胶囊中5种重金属和有害元素残留量测定及健康风险评估[J]. 中国药业, 2020, 29(17): 9 - 12.
- [10] 卢小兰, 王健, 黄富宏. 原子吸收分光光度法测定镇痛片中钙含量[J]. 中国药业, 2019, 28(24): 38 - 40.
- [11] 袁玲玲, 钱如贵, 陈龙芳, 等. 几种常见钙剂中镁的含量测定[J]. 中国药品标准, 2020, 21(2): 135 - 139.
- [12] 刘晓芳, 萨力塔娜提, 徐鸿, 等. 火焰原子吸收光谱法测定大青盐中微量钾、钙和镁的含量[J]. 中国药房, 2012, 23(15): 1389 - 1391.

(收稿日期: 2024-03-18; 修回日期: 2024-08-15)

药,其性寒,味苦,有小毒,有清热解毒、消肿止痛、凉肝定惊等功效,主要用于治疗疔疮痈、咽喉肿痛、蛇虫咬伤、跌扑伤痛、惊风抽搐^[1-2]。其始载于《神农本草经》,历代本草古籍均有论述,并收载于2020年版《中国药典(一部)》。重楼生长易受病虫害的影响,如叶斑病、灰霉病等多种病害和害虫等,目前多采取农药喷洒确保产量和品质^[3-4],但也易导致农药残留污染。中药材残留农药成分危害身体,也严重降低中药材在国际市场的竞争力,阻碍中药材产业发展。准确并快速地检测农药残留是保障中药材安全的重要手段之一。常用检测法包括气相色谱法、高效液相色谱-柱后衍生-荧光检测法、高效液相色谱串联质谱(HPLC-MS/MS)法、气相色谱质谱联用法,各有优劣^[5-13]。鉴于此,本研究中采用多反应监测模式(MRM),通过保留时间和特征离子对质量扫描确证待测组分,在20 min内完成了重楼中有机氯、有机磷和氯氰菊酯类等15种农药残留量的分析,建立了重楼农药残留的气相色谱质谱联用法,为其进一步研究与检测提供参考。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器:7890B/7000D型气相色谱-质谱联用仪(安捷伦科技有限公司),AB204-S型电子天平(梅特勒-托利多国际股份有限公司,精度为0.01 mg)。

试剂:标准物质甲拌磷(批号为A23060298,质量浓度为1 000 μg/mL);氧乐果(批号为A2305189),甲拌磷砒(批号为A2305547),甲拌磷亚砒(批号为22041022),乐果(批号为A2309323),甲基毒死蜱(批号为A2305463),氰戊菊酯(批号为A2210107),敌敌畏(批号为A2203201),质量浓度均为100 μg/mL;标准物质苯醚甲环唑(批号为23050093,含量99.4%),毒死蜱(批号为22110452,含量99.9%);均购自坛墨质检科技股份有限公司。标准物质百菌清(批号为ALT071032),醚菌酯(批号为FS1804115),均购自First Standard公司,含量均为99.8%。标准物质三唑酮(批号为1-F-70A,含量97.9%),氯氰菊酯(批号为0509-RB-0002,含量97.7%),溴氰菊酯(批号为0323-RC-0018,含量99.8%),均购自广州佳途科技股份有限公司。乙腈、丙酮均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。重楼药材[自制,批号2022-CL-07(监督抽样中不含15种农药残留的留样品种,留样编号D21YW00053)、2022-CL-01、2022-CL-02、2022-CL-03样品产地均为重庆;批号2022-CL-04、2022-CL-05、2022-CL-06样品产地均为云南]。

2 方法与结果

2.1 试验条件

色谱条件:色谱柱为Agilent 19091S-431UI柱,HP-624毛细管柱(15.0 m × 0.25 mm, 0.25 μm);载气为氦气,纯度≥99.999%,流速为1.0 mL/min,不分流进样;进样口温度为280 °C,程序升温:60 °C保持1 min,以40 °C/min速率升至170 °C,再以10 °C/min速率升至310 °C,保持3 min;溶剂延迟时间:3.75 min,进样量:1 μL。

质谱条件:离子源温度为280 °C,传输线温度为280 °C,电离方式为电子轰击离子源(EI),能量为70 eV,扫描类型为二级质谱(MS²,MRM)。母离子MS²扫描起点数为30,MS²扫描终点数为该母离子加1,中间能量值20 V。离子对信息见表1。

表1 15种成分及代谢物CAS号及离子对信息

Tab. 1 CAS numbers and ion pair information of 15 components and metabolites

待测成分	CAS号	定量离子对		定性离子对	
		m/z	碰撞电压(V)	m/z	碰撞电压(V)
百菌清	1897-45-6	266.0→132.9	35	264.0→168.0	35
毒死蜱	2921-88-2	196.9→169.0	15	198.9→171.0	15
甲基毒死蜱	5598-13-0	285.9→92.9	20	278.9→92.9	20
氯氰菊酯-I	52315-07-8	163.0→91.0	10	163.0→127.0	5
氯氰菊酯-II	52315-07-8	163.0→91.0	10	163.0→127.0	5
氯氰菊酯-III	52315-07-8	163.0→91.0	10	163.0→127.0	5
氯氰菊酯-IV	52315-07-8	163.0→91.0	10	163.0→127.0	5
敌敌畏	62-73-7	109.0→79.0	5	184.9→93.0	10
乐果	60-51-5	86.9→46.0	15	142.9→111.0	10
溴氰菊酯	52918-63-5	252.9→93.0	15	250.7→172.0	5
苯醚甲环唑-I	119446-68-3	322.8→264.8	15	264.9→202.0	20
苯醚甲环唑-II	119446-68-3	322.8→264.8	15	264.9→202.0	20
氟戊菊酯-I	51630-58-1	167.0→120.0	5	224.9→119.0	15
氟戊菊酯-II	51630-58-1	167.0→120.0	5	224.9→119.0	15
醚菌酯	143390-89-0	116.0→89.0	15	116.0→63.0	30
氧乐果	1113-02-6	155.9→110.0	5	109.9→79.0	15
甲拌磷	298-02-2	260.0→75.0	5	230.9→128.9	25
甲拌磷砒*	2588-4-7	153.0→97.0	10	124.9→96.9	5
甲拌磷亚砒*	2588-3-6	96.9→64.9	20	199.0→142.9	10
三唑酮	43121-43-3	208.0→181.1	5	208.0→111.0	20

注:*为代谢物质。

Note:* represents the metabolites.

2.2 溶液制备

混合标准溶液(5.0 μg/mL):分别准确吸取各标准物质1.0 mL,置20 mL容量瓶中,用丙酮溶解并定容,混匀,即得(避光、-18 °C保存,有效期3个月)。

基质标准曲线溶液:精密吸取一定量的混合标准

溶液,用正己烷逐级稀释为质量浓度为0.05,0.10,0.20,0.50,0.80,1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准工作溶液。氮气吹干空白基质溶液,分别加入上述标准工作溶液1 mL复溶,经0.45 μm 微孔滤膜滤过,配成系列混合标准工作溶液。

供试品溶液:取药材样品10 g,精密称定,置50 mL离心管中,加入冷冻乙腈10 mL,再加入硫酸镁5 g、氯化钠2 g、柠檬酸钠1 g、柠檬酸氢二钠0.5 g及陶瓷均质子1颗,加盖,迅速剧烈振摇1 min后5 000 r/min离心5 min^[14],取上清液,移入20 mL比色管,残渣用冷冻乙腈10 mL再提取1次,合并上清液,定容后置50 mL离心管内,加入硫酸镁1.5 g、乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶(PISA)300 mg及石墨化炭黑(GCB)30 mg,并迅速涡旋混匀1 min,5 000 r/min离心5 min,取上清液,置50 mL氮吹管中,置40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中氮气吹至近干。加正己烷1 mL复溶,经0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得^[1,3]。

空白基质溶液:取药材样品(批号2022-CL-07),同供试品溶液制备方法,制得空白基质溶液。

2.3 方法学考察

系统适用性试验:取2.2项下混合标准溶液,在全扫描模式下得各成分标样的质谱图和保留时间,并确定各待测成分的母离子,确定离子对。15种成分的质谱

图见图1[1-15分别为敌敌畏、氧乐果、甲拌磷、乐果、百菌清、甲基毒死蜱、毒死蜱、甲拌磷砒、甲拌磷亚砒、三唑酮、醚菌酯、氯氰菊酯(I、II、III、IV)、氰戊菊酯(I、II)、苯醚甲环唑(I、II)、溴氰菊酯]。离子对信息见表1。

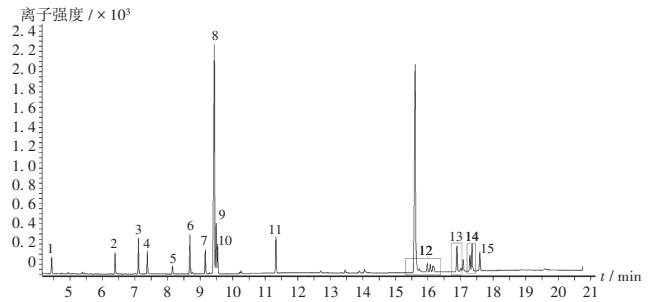


图1 15种成分全扫描质谱图

Fig. 1 Full - scan mass spectra of 15 components

按2.1项试验条件进样,得15种成分及其代谢物质量浓度为0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时的MRM色谱图,见图2(氰戊菊酯和氰戊菊酯-copy为同分异构体)。

线性关系考察:取2.2项下混合标准溶液,加丙酮稀释,得不同质量浓度系列混合标准溶液,以待测成分定量离子对峰面积(Y)为纵坐标、待测成分质量浓度(X, $\mu\text{g}/\text{mL}$)为横坐标进行线性回归,得回归方程和线

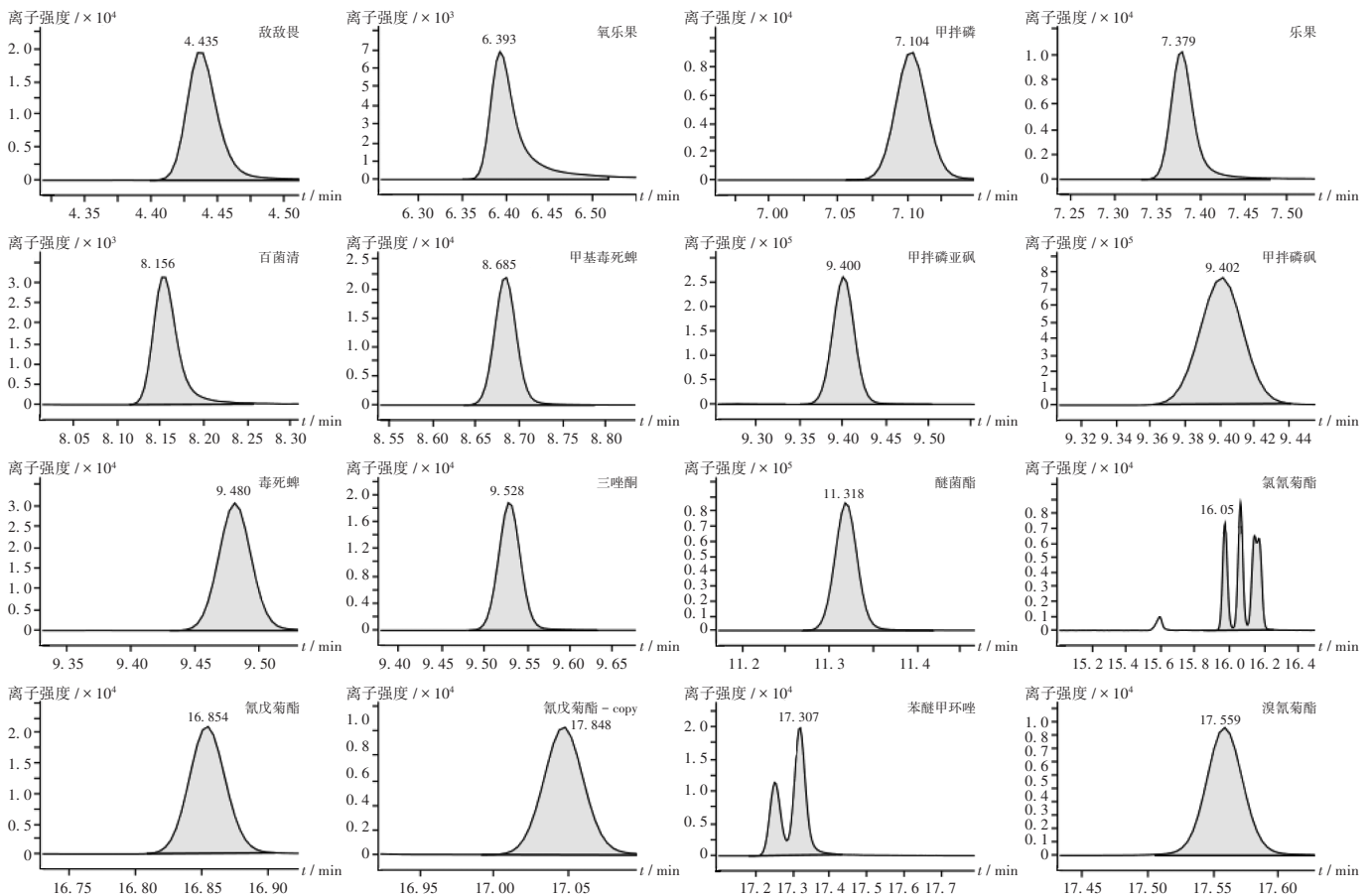


图2 15种成分及其代谢物物质的MRM色谱图

Fig. 2 MRM chromatograms of 15 components and metabolites

表2 回归方程与定量限
Tab. 2 Regression equation and LOQ

农药名称	回归方程	<i>r</i>	线性范围(μg/mL)	定量限(μg/mL)	平均回收率(%)	RSD(%)
百菌清	$Y_1 = 2.91 \times 10^4 X_1 - 6.71 \times 10^2$	0.998 7	0.05 ~ 1.0	0.025	86.07	5.33
毒死蜱	$Y_2 = 1.83 \times 10^5 X_2 - 2.72 \times 10^3$	0.998 9	0.05 ~ 1.0	0.010	86.23	5.43
甲基毒死蜱	$Y_3 = 1.62 \times 10^5 X_3 - 3.47 \times 10^3$	0.998 2	0.05 ~ 1.0	0.010	80.83	5.33
氯氰菊酯	$Y_4 = 1.71 \times 10^5 X_4 + 2.02 \times 10^3$	0.999 3	0.05 ~ 1.0	0.010	84.42	6.77
敌敌畏	$Y_5 = 9.79 \times 10^4 X_5 - 5.03 \times 10^2$	0.997 3	0.05 ~ 1.0	0.010	80.41	5.53
乐果	$Y_6 = 1.12 \times 10^5 X_6 - 2.21 \times 10^3$	0.999 8	0.05 ~ 1.0	0.010	80.23	5.77
溴氰菊酯	$Y_7 = 1.21 \times 10^5 X_7 - 5.81 \times 10^3$	0.998 5	0.05 ~ 1.0	0.010	89.17	7.41
苯醚甲环唑	$Y_8 = 3.29 \times 10^5 X_8 - 7.34 \times 10^3$	0.999 6	0.05 ~ 1.0	0.010	88.42	5.47
氰戊菊酯	$Y_9 = 1.68 \times 10^5 X_9 - 5.91 \times 10^3$	0.999 1	0.05 ~ 1.0	0.010	84.43	5.36
醚菊酯	$Y_{10} = 4.62 \times 10^5 X_{10} - 7.86 \times 10^3$	0.999 6	0.05 ~ 1.0	0.010	95.93	4.43
氧乐果	$Y_{11} = 1.36 \times 10^5 X_{11} - 1.72 \times 10^3$	0.999 5	0.05 ~ 1.0	0.010	78.73	7.61
甲拌磷	$Y_{12} = 5.70 \times 10^4 X_{12} - 1.55 \times 10^3$	0.998 8	0.05 ~ 1.0	0.010	80.22	6.61
甲拌磷砒	$Y_{13} = 4.45 \times 10^6 X_{13} - 5.51 \times 10^3$	0.999 6	0.05 ~ 1.0	0.010	80.21	6.83
甲拌磷亚砒	$Y_{14} = 1.81 \times 10^6 X_{14} - 3.02 \times 10^4$	0.999 1	0.05 ~ 1.0	0.010	88.13	4.77
三唑酮	$Y_{15} = 1.21 \times 10^5 X_{15} - 1.99 \times 10^3$	0.998 9	0.05 ~ 1.0	0.010	82.33	6.77

性范围。详见表2。

定量限考察:吸取线性关系考察中最低质量浓度的混合标准溶液,按2.1项下试验条件进样测定,记录色谱图,计算含量。以信噪比为10:1时的含量为定量限。结果见表2。

精密度试验:取同一质量浓度标准工作溶液,按2.1项下试验条件连续进样测定6次,记录氧乐果、甲拌磷、甲拌磷砒、甲拌磷亚砒、乐果、百菌清、甲基毒死蜱、毒死蜱、三唑酮、醚菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯、苯醚甲环唑、溴氰菊酯、敌敌畏的峰面积,结果的RSD分别为1.42%、0.65%、0.83%、0.69%、1.57%、0.77%、0.91%、0.69%、1.54%、1.39%、0.52%、1.41%、1.44%、1.36%、0.72%(*n* = 6)。表明仪器精密度良好。

重复性试验:取样品(批号为2022-CL-07)6份,分别添加同一质量浓度标准工作溶液,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下试验条件进样,记录氧乐果、甲拌磷、甲拌磷砒、甲拌磷亚砒、乐果、百菌清、甲基毒死蜱、毒死蜱、三唑酮、醚菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯、苯醚甲环唑、溴氰菊酯、敌敌畏的峰面积,并计算含量,结果的RSD分别为5.62%、5.11%、4.94%、4.25%、6.03%、6.28%、4.91%、3.56%、4.34%、5.45%、6.02%、6.41%、5.08%、6.58%、5.47%(*n* = 6)。表明方法重复性良好。

加样回收试验:取药材样品9份,分别加入低、中高质量浓度标准物质溶液,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下试验条件进样测定,记录定量离子对峰面积。结果平均回收率为78.73%~95.93%,RSD为4.43%~7.41%(*n* = 9)。详见表2。

2.4 样品含量测定

取6批药材样品(除批号2022-CL-07样品),按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下试验条件进样,以外标法计算15种农药残留量。结果均未检出,表明重楼在农药残留方面控制较好。

3 讨论

3.1 二级质谱的优势

二级质谱是在一级质谱基础上选择性分析部分碎片,如对母离子继续给能量打碎,产生碎片,采集数据,基本为被分析物质产生的碎片。结合待测成分出峰顺序的特点,分时间段采集特征离子峰,可减少每个时间中所采集离子的数目,增加特征离子在单位时间内被扫描的次数,从而进一步降低背景干扰、提高信噪比和降低检测限^[15-16]。其中甲拌磷砒和甲拌磷亚砒的出峰时间几乎相同,但两者离子对不同,根据其不同的离子对可通过二级质谱分别提取出来。

3.2 试剂回归曲线与基质回归曲线的比较

试剂回归曲线直接采用最终复溶样品,基质回归曲线采用空白样品基质按照样品制备方法处理好后将多个基质液合并在一起的基质溶液。基质常会显著干扰对分析物的分析过程,并影响结果的准确性,目前最常用的去除基质效应的方法为,采用已知不含分析物的样品,并建立校正曲线校对。本研究中,其结果为70%~102%,较满意。

3.3 目标离子的选择

根据目标化合物的全扫描质谱图,确定化合物保留时间。并选择离子强度大的离子作为母离子,在产物