

LC-MS/MS测定中药材中30种禁用农药及代谢物的整体解决方案

Triple Quad™ 4500液相色谱-三重四极杆质谱技术

LC-MS/MS Method for Rapid Determination of 30 Forbidden Pesticides In Traditional Chinese Medicine

叶儿翠, 朱怀恩, 周哲
Ye Ercui, Zhu Huaen, Zhou Zhe

SCIEX, JAPAC Solution Innovation Center

Key Words: Forbidden Pesticides, Traditional Chinese Medicine, Triple Quad™ 4500

8月27日, 国家药典委发布了关于《中国药典》2015版四部0212药材和饮片检定通则、2341农药残留量测定法修订草案的公告。公告在《2341农药残留量测定法》中详细介绍了样品制备方法, 并对30种禁用农药及其代谢物残留量规范了LC-MS/MS的测定方法, 同时在《0212药材和饮片检定通则》中标明了药材及饮片中对禁用农药及代谢物的方法定量限。

为应对中药农残检测的更高要求, 达成质量控制的目标, 本文采用Triple Quad™ 4500建立了30种禁用农药的定量方法, 为检测工作者提供完整、灵敏、可靠的解决方案。

方法特点

1. 本方法覆盖了LC-MS/MS法检测的30种禁用农药及代谢物, 前处理流程(QuEChERS法)及检测方法完全遵从《第五法 药材及饮片(植物类)中禁用农药多残留测定法》。
2. 方法的定量限均低于《0212药材和饮片检定通则》要求。
3. 通过了严格的方法学验证, 可用于实际样品的残留分析检测。

仪器设备

SCIEX Exion LC™液相系统+ Triple Quad™ 4500质谱系统



SCIEX Exion LC™液相系统+ Triple Quad™ 4500质谱系统

样品前处理

参考《第五法 药材及饮片(植物类)中禁用农药多残留测定法》快速样品处理法(QuEChERS)法

前处理耗材: 无水硫酸镁与无水乙酸钠的混合包

(Agela, P/N: MS-MG5052);

分散固相萃取净化管(Agela, P/N: MS-9PP0268)

液相方法

色谱柱: Phenomenex Kinetex C18

(100 × 3.0 mm, 2.6 μm, PN 00D-4462-Y0)

流动相: A: 0.1%甲酸溶液(含5 mmol/L 甲酸铵)

B: 乙腈-0.1%甲酸溶液(含5 mmol/L 甲酸铵)(95:5)

流速: 0.4 mL/min

柱温：40℃

进样量：2 μL

梯度洗脱

Time (min)	A(%)	B(%)
0	70	30
1	70	30
7	0	100
8	0	100
8.1	70	30
10	70	30

质谱方法

离子源：ESI源，正离子模式

离子源参数：

IS电压：5500 V 气帘气CUR:30 psi
 雾化气GS1:55 psi 辅助气GS2:55 psi
 源温度TEM:550 °C 碰撞气CAD: Medium

各化合物质谱参数见附表

实验结果

1. 1针进样，无需分段采集，10分钟内即可完成30种农残的测定。

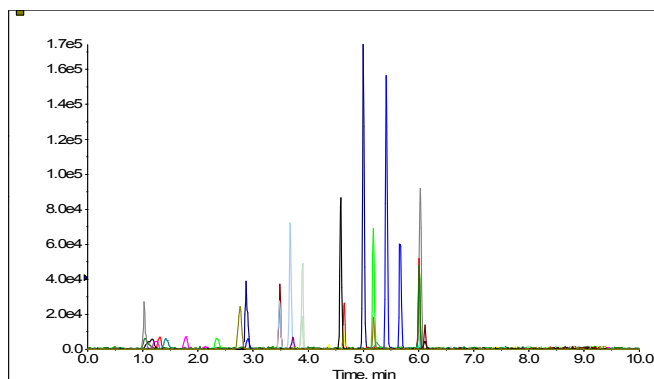


图1. Triple Quad™ 4500测定30种农药及代谢物。

2. 方法的定量限均低于《O212药材和饮片检定通则》要求，各化合物线性良好 (R>0.998)，可获得灵敏、可靠的检测结果。

表1. O212通则要求和本方法的定量限、线性范围及相关系数。

No.	农药名称	O212通则 (mg/kg)	本方法定量限 (mg/kg)	线性范围 (μg/L)	线性相关 系数
1	甲胺磷	0.05	0.005	0.1-100	0.99936
2	苯线磷		0.0001	0.1-50	0.99947
3	苯线磷砒	0.02	0.0001	0.1-100	0.99939
4	苯线磷亚砒		0.0001	0.1-100	0.99938
5	地虫硫磷	0.02	0.001	0.5-100	0.99875
6	治螟磷	0.02	0.0005	0.5-100	0.99965
7	克百威		0.0005	0.2-100	0.99961
8	3-羟基克百威	0.05	0.0005	0.5-100	0.99904
9	胺苯磺隆	0.05	0.0001	0.1-100	0.99940
10	甲磺隆	0.05	0.0001	0.1-100	0.99967
11	氯磺隆	0.05	0.0005	0.5-100	0.99919
12	硫线磷	0.02	0.0005	0.1-100	0.99845
13	氯唑磷	0.01	0.0001	0.1-50	0.99808
14	甲拌磷		0.005	5-100	0.99991
15	甲拌磷亚砒	0.02	0.0005	0.1-100	0.99969
16	甲拌磷砒		0.0005	0.1-100	0.99872
17	蝇毒磷	0.05	0.0005	0.5-100	0.99925
18	硫环磷	0.03	0.0001	0.1-100	0.99981
19	磷胺	0.05	0.0005	0.5-100	0.99951
20	涕灭威		0.001	0.5-100	0.99959
21	涕灭威砒	0.1	0.001	0.5-100	0.99898
22	涕灭威亚砒		0.001	0.1-100	0.99978
23	久效磷	0.03	0.0005	0.5-100	0.99971
24	内吸磷	0.02	0.005	2-100	0.99952
25	灭线磷	0.02	0.0001	0.1-100	0.99961
26	特丁硫磷砒	0.02	特丁硫磷, 特丁硫磷砒以及特丁硫磷亚砒之和 0.0002	0.1-100	0.99949
27	特丁硫磷亚砒		0.0002	0.1-100	0.99979
28	水胺硫磷	0.05	0.0005	0.1-100	0.99852
29	杀虫脒	0.02	0.001	0.5-100	0.99969
30	甲基异柳磷	0.02	0.0001	0.1-100	0.99881

3. 选用人参、枸杞、黄芪做添加回收实验，6次重复样本处理的准确度和精密度均满足残留分析的方法学指标，可放心用于实际样品的测定。

表2. 人参、枸杞、黄芪3种基质中的添加回收率和相对标准偏差（RSD）。

No.	农药名称	加标 浓度 µg/kg	人参		枸杞		黄芪	
			Recovery %	RSD %	Recovery %	RSD %	Recovery %	RSD %
1	甲胺磷	5	85.7	3.5	83.5	5.0	81.8	4.6
		10	86.6	5.8	85.8	4.7	83.8	1.5
2	苯线磷	5	102.7	1.9	100.7	3.0	104.8	4.1
		10	109.6	1.5	101.5	1.0	97.2	1.2
3	苯线磷砒	5	103.5	2.9	97.4	4.8	106.1	3.5
		10	103.8	1.0	96.8	3.0	107.5	0.6
4	苯线磷亚砒	5	100.9	2.2	90.7	2.7	103.9	4.1
		10	104.3	4.7	87.4	1.4	99.7	6.9
5	地虫硫磷	5	100.9	2.2	94.7	6.8	100.9	6.8
		10	104.3	5.8	92.0	6.5	96.5	5.7
6	治螟磷	5	104.8	0.5	93.6	3.7	94.0	4.8
		10	108.9	4.9	90.5	0.7	90.3	2.4
7	克百威	5	107.2	1.0	104.0	3.0	107.2	5.3
		10	108.3	4.1	108.9	2.8	109.6	1.3
8	3-羟基克百威	5	105.1	2.7	100.6	6.4	101.6	4.3
		10	101.7	5.0	100.5	1.5	103.0	4.7
9	胺苯磷隆	5	105.1	2.7	99.4	6.7	95.3	5.6
		10	101.7	5.0	91.9	9.6	93.4	2.1
10	甲磺隆	5	83.4	2.9	92.6	3.7	91.5	4.2
		10	88.9	4.9	94.4	4.2	91.5	2.5
11	氯磺隆	5	83.7	4.5	90.2	4.4	82.5	3.4
		10	81.2	2.4	94.0	3.8	79.8	3.0
12	硫线磷	5	103.2	2.5	98.8	6.4	102.0	5.2
		10	105.5	6.4	97.3	1.3	98.8	0.1
13	氯唑磷	5	106.4	2.9	109.3	2.3	106.3	4.3
		10	107.8	5.9	102.9	0.1	101.0	0.6
14	甲拌磷	5	87.3	8.2	92.8	9.5	90.8	9.7
		10	96.9	9.1	97.5	6.5	89.1	8.5
15	甲拌磷亚砒	5	105.5	7.1	87.4	7.4	103.0	6.6
		10	110.3	0.8	100.9	2.8	97.2	3.7

No.	农药名称	加标 浓度 µg/kg	人参		枸杞		黄芪	
			Recovery %	RSD %	Recovery %	RSD %	Recovery %	RSD %
16	甲拌磷砒	5	107.2	2.9	97.6	3.2	104.4	3.1
		10	110.7	0.5	93.7	4.7	104.5	0.2
17	蝇毒磷	5	89.2	5.3	104.9	6.9	99.8	5.8
		10	86.1	1.5	99.9	2.1	98.5	3.1
18	硫环磷	5	98.6	2.0	97.3	4.7	102.7	4.7
		10	103.5	0.5	96.8	4.5	102.7	3.1
19	磷胺	5	100.4	3.9	96.3	3.2	107.8	3.3
		10	107.7	0.8	94.4	0.8	103.9	1.5
20	涕灭威	5	102.8	6.7	100.3	4.5	98.3	5.6
		10	107.6	1.1	97.7	6.0	100.0	0.6
21	涕灭威砒	5	97.9	7.8	99.4	6.0	106.0	4.4
		10	109.0	3.7	97.9	0.6	104.3	4.8
22	涕灭威亚砒	5	93.0	6.2	97.8	8.4	97.2	5.0
		10	95.9	8.2	93.5	2.0	90.8	4.6
23	久效磷	5	96.3	7.6	93.5	6.7	97.3	5.9
		10	105.6	5.8	91.6	0.3	98.7	5.7
24	内吸磷	5	100.8	7.2	94.0	6.0	96.5	7.7
		10	109.4	8.1	96.0	1.8	103.7	2.6
25	灭线磷	5	102.1	3.2	94.1	1.7	100.0	4.3
		10	113.6	1.6	95.5	0.9	97.2	1.1
26	特丁硫磷砒	5	105.5	5.9	99.3	5.9	106.2	5.5
		10	114.9	6.3	97.8	1.6	101.5	0.9
27	特丁硫磷亚砒	5	105.3	1.7	94.5	3.3	107.5	2.7
		10	108.5	3.9	94.3	0.4	95.3	1.0
28	水胺硫磷	5	103.6	5.0	108.2	5.5	108.5	4.1
		10	107.6	1.9	101.8	4.2	100.5	7.6
29	杀虫脒	5	52.0	6.0	56.4	5.2	57.6	7.4
		10	58.3	2.8	51.2	4.1	53.6	2.4
30	甲基异柳磷	5	100.8	8.3	95.2	8.1	87.0	5.8
		10	112.8	7.8	95.8	7.1	93.1	5.9

4. 实际样品测定：通过本方法对市售某品牌人参，枸杞，黄芪进行农药残留筛查。

结果发现人参、枸杞中均未检出，黄芪样品中则含有甲基异柳磷，进而对其进行定量，测定其含量为8.9 µg/kg。

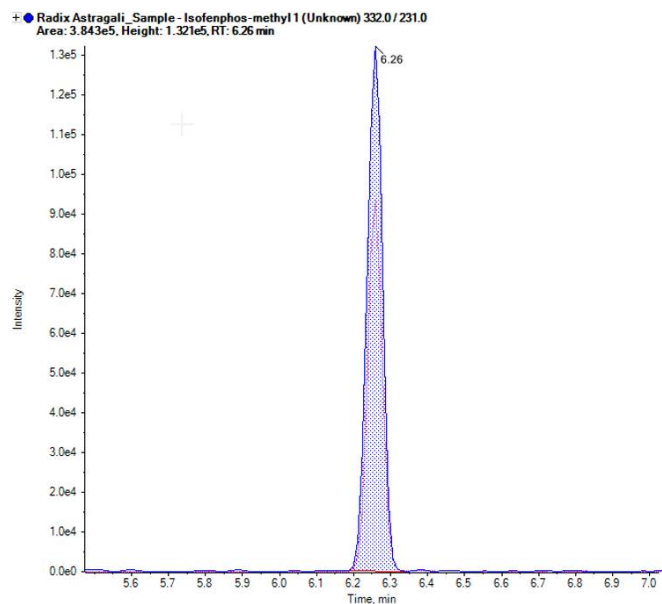


图2. 黄芪样品中甲基对硫磷的色谱图。

结论

本方法针对中草药材中30种禁用农药及代谢物，遵从2341农药残留量测定法，在Triple Quad™ 4500平台上建立了一套LC-MS/MS快速筛查和定量方法。一针进样，无需分段扫描，10分钟内完成30种禁用农药及代谢物的测定，且方法定量限均低于《0212药材和饮片检定通则》标明的定量限，各化合物线性良好，可获得灵敏、可靠的检测结果，参考《第五法 药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法》QuEChERS法进行添加回收实验，准确度和精密度均能满足方法学指标，可用于对中药材中禁用农药检测分析。

附表 30种农药及代谢物的质谱参数及保留时间。

Compound	Q1	Q3	DP	CE	RT(min)
甲胺磷	142.0	94.0	54	19	1.54
Methamidophos	142.0	125.0	54	18	1.54
苯线磷	304.2	217.1	77	31	5.19
Fenamiphos	304.2	202.0	77	45	5.19
苯线磷砒	336.0	266.1	60	28	3.64
Fenamiphos sulfone	336.0	308.1	60	21	3.64
苯线磷亚砒	320.1	233.0	60	34	3.03
Fenamiphos sulfoxide	320.1	292.1	60	21	3.03
地虫硫磷	247.0	109.1	50	25	6.35
Fonofos	247.0	201.0	50	20	6.35
治螟磷	323.0	115.0	70	43	6.36
Sulfotep	323.0	171.1	70	21	6.36
克百威	222.1	165.0	70	17	3.82
Carbofuran	222.1	123.1	70	29	3.82
3-羟基克百威	238.0	181.0	65	14	1.85
Carbofuran-3-hydroxy	238.0	163.0	65	20	1.85
胺苯磺隆	411.1	196.1	49	23	4.05
Ethametsulfuron-methyl	411.1	168.1	49	35	4.05
甲磺隆	382.0	167.0	36	21	3.85
Metsulfuron-methyl	382.0	199.0	36	27	3.85
氯磺隆	358.0	141.0	51	23	5.93
Chlorsulfuron	358.0	167.0	51	25	5.93
硫线磷	271.0	159.0	65	19	6.26
Cadusafos	271.0	97.0	65	51	6.26
氯唑磷	314.0	162.0	70	22	6.23
Isazofos	314.0	120.0	70	40	6.23
甲拌磷	261.0	75.0	51	21	6.44
Phorate	261.0	199.0	51	10	6.44
甲拌磷砒	293.0	247.1	60	12	5.37
Phorate-sulfone	293.0	115.1	60	33	5.37
甲拌磷亚砒	277.0	171.1	60	16	4.83
Phorate-sulfoxide	277.0	97.1	60	44	4.83
蝇毒磷	363.0	227.0	100	36	4.03
Coumaphos	363.0	307.0	100	25	4.03

附表 30种农药及代谢物的质谱参数及保留时间。(续)

Compound	Q1	Q3	DP	CE	RT(min)
硫环磷	256.2	168.0	51	31	6.28
Phosfolan	256.2	140.0	80	32	6.28
磷胺	300.0	174.0	75	19	2.47
Phosphamidon	300.0	126.9	75	36	2.47
涕灭威	116.1	89.0	47	11	3.03
Aldicarb	116.1	70.0	47	11	3.03
涕灭威砒	223.0	86.0	63	20	1.33
Aldicarb-sulfone	223.0	148.0	63	12	1.33
涕灭威亚砒	207.0	132.0	51	10	1.04
Aldicarb-sulfoxide	207.0	89.0	51	20	1.04
久效磷	224.1	127.0	71	21	1.25
Monocrotophos	224.1	98.0	71	17	1.25
内吸磷	259.1	89.0	53	18	5.38
Demeton	259.1	60.9	53	43	5.38
灭线磷	243.0	131.0	51	29	4.77
Ethoprophos	243.0	97.0	51	41	4.77
特丁硫磷砒	321.0	171.0	50	18	5.39
Terbufos sulfone	321.0	265.0	50	12	5.39
特丁硫磷亚砒	305.0	187.0	52	17	4.77
Terbufos sulfoxide	187.0	159.0	84	15	4.77
水胺硫磷	273.1	231.0	67	15	4.83
Isocarbophos	273.1	121.1	67	32	4.83
杀虫脒	197.1	117.1	75	39	1.51
Chlordimeform	197.1	89.0	75	61	1.51
甲基异柳磷	332.0	273.0	40	9	6.26
Isofenphos-methyl	332.0	231.0	40	20	6.26

For Research Use Only. Not for use in Diagnostic Procedures.

Trademarks and/or registered trademarks mentioned herein are the property of AB Sciex Pte. Ltd., or their respective owners, in the United States and/or certain other countries.

RUO-MKT-02-10302-ZH-A

AB SCIEX™ is being used under license.

© 2019 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.



SCIEX中国公司

北京分公司
地址：北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话：010-5808 1388
传真：010-5808 1390

上海公司及中国区应用支持中心
地址：上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419 7200
传真：021-2419 7333

广州分公司
地址：广州市天河区珠江江西路15号
珠江城1907室
电话：020-8510 0200
传真：020-3876 0835

全国免费垂询电话：800 820 3488, 400 821 3897 网址：www.sciex.com.cn 微博：@SCIEX