

◆ 残留与环境 ◆

国际标准在川芎农药残留检测中的应用

董自艳¹, 马晓英¹, 宋玉华², 章晨峰¹, 王团结¹, 刘茫茫¹

(1. 中药制药过程控制与智能制造技术全国重点实验室, 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏连云港 222001; 2. 梅里埃检测技术(青岛)有限公司, 山东青岛 266000)

摘要:按照FDA和欧盟法规的农药种类、限度以及方法验证要求, 采用改良的QuEChERS法结合液相色谱-串联质谱技术, 建立川芎中54种农药残留检测方法。样品使用1%乙酸水溶液充分浸泡, 经乙腈提取, Cleanert MSA-Q盐包盐析分层, QuEChERS净化, 液相色谱-串联质谱检测, 并采用过程校正标准曲线法进行定量。结果表明, 54种农药线性关系良好, 决定系数(R^2)均大于0.99; 在0.01、0.05和0.1 mg/kg加标水平下, 加标回收率为92.5%~105.5%, 日内精密度为0.4%~6.6%, 日间精密度为1.0%~11.7%。方法操作简单、快速、准确, 适用于川芎中多农药残留的高通量检测。

关键词: 国际法规; QuEChERS; 液相色谱-串联质谱; 川芎; 农药残留; 检测

中图分类号: TQ 450.2+63 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1671-5284.2024.03.013

Application of international standards in the determination of pesticide residues in Szechwan Lovage Rhizome

DONG Ziyang¹, MA Xiaoying¹, SONG Yuhua², ZHANG Chenfeng¹, WANG Tuanjie¹, LIU Mangmang¹

(1. State Key Laboratory of Process Control and Intelligent Manufacturing Technology for Chinese Traditional Medicine, Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Jiangsu Lianyungang 222001, China; 2. Merieux NutriSciences Testing Technology (Qingdao) Co., Ltd., Shandong Qingdao 266000, China)

Abstract: According to FDA and EU regulations on pesticides, residue limits, and method validation requirements, a detection method for 54 pesticide residues in Szechwan Lovage Rhizome was established using a modified QuEChERS method combined with LC-MS/MS. The samples were soaked with acetic acid aqueous solution 1%, extracted by acetonitrile, purified by QuEChERS, detected by LC-MS/MS, and procedural standard calibration method was used for quantification. The results showed that the linear relationships of 54 pesticides were good, and the correlation coefficients (R^2) were over 0.99. At the three spiked levels of 0.01, 0.05 and 0.1 mg/kg, the average recoveries were 92.5%-105.5%, intra-day RSD ($n=5$) were 0.4%-6.6% and inter-day RSD ($n=10$) were 1.0%-11.7%. The method was simple, fast, accurate, and suitable for high-throughput detection of pesticide residues in Szechwan Lovage Rhizome.

Key words: international standard; QuEChERS; LC-MS/MS; Szechwan Lovage Rhizome; pesticide residue; determination

川芎(Szechwan Lovage Rhizome)为药食两用的道地药材,具活血行气、祛风止痛之功效,用于小胸痹心痛、胸胁刺痛、跌扑肿痛、月经不调、经闭痛经、癥瘕腹痛、头痛、风湿痹痛。在四物合剂、天舒片、大川芎口服液等很多常用制剂中均有使用。

中药是国际传统药的重要组成部分,进入国际市场是提高中药质量和长远发展的重要手段。中药材及饮片、植物提取物、中成药都是我国重要的出口产品,其农药残留问题也一直备受国际关注^[1-2]。随着一系列越来越严苛的国际农药残留限量标准出

收稿日期: 2023-10-09

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFC1712802)

作者简介: 董自艳(1985—),女,硕士,副主任中药师。研究方向: 中药国际化方向的质量标准研究。E-mail: dzywell@163.com

台,建立药材中农药残留检测方法,控制药材农药残留则越来越重要。

目前,川芎中农药残留研究文献报道较少,杨书良等^[3]采用气相色谱法测定川芎中林丹的残留量,邹沫君等^[4]和喻文等^[5]采用气相色谱-质谱联用法分别测定川芎中菊酯类等农药残留量。QuEChERS技术结合色谱-串联质谱方法具有专属性好、灵敏度高和适用范围广等特点,已被广泛应用于乳制品、中药、茶叶和果蔬等基质中农药的检测^[6-10]。目前,适用于川芎中农药残留检测的QuEChERS-液相色谱-串联质谱联用法尚未见报道。

本研究按照欧洲药典和美国药典的限度标准和方法验证指导文件进行方法的开发与验证^[11-13],采用QuEChERS-液相色谱-质谱联用法,检测川芎中54种农药残留。

1 材料与仪器

1.1 仪器

1290 II-6495C液相色谱-三重四极杆质谱联用仪,美国Agilent公司;ME2002E/02型、ME55/02型电子分析天平,瑞士Mettler Toledo公司;组织研磨机,美国SPEX SamplePrep公司;Vortex Genie 2涡旋混合器,美国Scientific Industries公司;X1P离心机,美国Thermo Fisher公司。

1.2 药品与试剂

乙腈、甲醇、甲酸、乙酸铵均为色谱纯;乙酸为分析纯;Cleanert MSA-Q盐包(6 g无水硫酸镁、1.5 g乙酸钠混合粉末);QuEChERS净化管(包括无水硫酸镁900 mg、*N*-丙基乙二胺300 mg、十八烷基硅烷

键合硅胶300 mg、硅胶300 mg和石墨化炭黑90 mg);54种农药标准品来源于Dr. E、CATO、First Standard等公司,质量分数均大于95%。

1.3 中药材

从市场及种植基地共采集川芎药材12批,均来自于四川省,经鉴定为伞形科植物川芎*Ligusticum chuanxiong* Hort.的干燥块茎。

2 方法

2.1 色谱条件

以Agilent Eclipse Plus RRHD C₁₈为色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.8 μm),柱温40℃,进样体积1 μL。流动相A为2 mmol/L乙酸铵+0.1%甲酸水溶液,流动相B为甲醇,按表1进行梯度洗脱。流速0.3 mL/min。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	流动相A/%	流动相B/%
0	90	10
3.0	50	50
8.0	20	80
10.0	0	100
12.5	0	100
12.6	90	10
14.0	90	10

2.2 质谱条件

电喷雾离子源(ESD;扫描方式:正离子扫描;检测模式:动态多反应监测模式(dMRM);干燥气温度:150℃;干燥气流速:15 L/min;雾化气压力:0.24 MPa;鞘气温度:350℃;鞘气流速:15 L/min;毛细管电压:3 500 V(+)。54种农药的质谱参数见表2。

表 2 54 种农药在 USP/EP 中的最大残留限量及质谱条件

农药	英文名称	保留时间/ min	MRL/ (mg/kg)	定量离子		定性离子	
				<i>m/z</i>	CE/eV	<i>m/z</i>	CE/eV
乙酰甲胺磷	acephate	1.97	0.10	184.00>143.00	5	184.00>125.00	10
甲草胺	alachlor	8.38	0.50	270.00>162.00	20	270.00>238.00	10
益棉磷	azinphos-ethyl	8.16	0.10	346.00>132.00	15	346.00>97.00	35
保棉磷	azinphos-methyl	6.89	1.00	318.00>132.00	10	318.00>125.00	20
毒虫畏	chlorfenvinphos	9.05	0.50	359.05>155.00	10	359.05>127.00	15
毒死蜱	chlorpyrifos	10.27	0.20	352.20>199.90	30	352.20>96.90	45
溴氰菊酯	deltamethrin	10.61	0.50	523.00>281.00	15	523.00>181.00	50
二嗪磷	diazinon	9.07	0.50	305.05>153.00	20	305.05>169.00	20
苯氟磺胺	dichlofluanid	8.11	0.10	350.00>223.90	13	350.00>123.00	33
敌敌畏	dichlorvos	5.24	1.00	221.00>109.00	15	221.00>145.00	10
乐果	dimethoate	3.94	0.10	230.00>199.00	5	230.00>171.00	10
呋虫胺	dinotefuran	2.41	0.01	203.20>129.20	5	203.20>87.10	10
乙硫磷	ethion	10.15	2.00	385.00>199.00	5	385.00>171.00	15

(续表 2)

农药	英文名称	保留时间/ min	MRL/ (mg/kg)	定量离子		定性离子	
				<i>m/z</i>	CE/eV	<i>m/z</i>	CE/eV
乙噻硫磷	etrimfos	8.92	0.05	293.10>265.00	18	293.10>238.20	20
氧皮蝇磷	fenchlorophos-oxon	8.16	0.10	304.90>108.90	26	304.90>257.90	34
甲氰菊酯	fenpropathrin	10.46	0.03	367.20>125.00	15	367.20>180.90	40
丰索磷	fensulfothion	6.45	0.05	309.05>157.00	25	309.05>235.00	25
氧代丰索磷	fensulfothion-oxon	4.50	0.05	293.05>237.00	20	293.05>265.00	10
丰索磷氧代砒	fensulfothion-oxon sulfone	4.63	0.05	309.10>252.90	12	309.10>174.90	24
丰索磷砒	fensulfothion-sulfone	6.62	0.05	325.00>269.00	9	325.00>173.00	21
倍硫磷	fenthion	8.88	0.01	279.10>169.00	15	279.10>247.00	10
氧代倍硫磷	fenthion-oxon	6.89	1.00	263.10>231.00	12	263.10>216.00	24
倍硫磷氧代砒	fenthion-oxon-sulfone	4.06	0.05	295.00>217.00	18	295.00>104.00	26
倍硫磷氧代亚砒	fenthion-oxon-sulfoxid	3.92	0.05	279.00>264.00	18	279.00>104.00	30
倍硫磷砒	fenthion-sulfone	5.78	0.05	311.10>125.00	16	311.10>109.00	25
倍硫磷亚砒	fenthion-sulfoxid	5.54	0.20	295.10>280.00	15	295.10>109.00	25
氟氰戊菊酯	flucythrinate	10.29	0.10	469.20>412.00	8	469.20>198.80	20
地虫硫磷	fonofos	9.01	4.00	247.10>137.10	8	247.10>109.10	18
稻瘟灵	isoprothiolane	7.69	0.10	291.10>231.00	5	291.10>189.00	20
马拉氧磷	malaoxon	5.46	0.50	315.00>127.00	10	315.00>99.00	25
马拉硫磷	malathion	7.72	0.20	331.00>127.00	5	331.00>125.00	30
灭蚜磷	mecarbam	8.23	0.50	330.00>227.00	10	330.00>199.00	15
虫螨畏	methacrifos	6.80	1.00	241.10>125.10	25	241.10>209.10	1
甲胺磷	methamidophos	1.66	0.01	142.00>94.00	15	142.00>125.00	10
杀扑磷	methidathion	6.77	0.10	303.10>145.00	5	303.10>85.00	10
久效磷	monocrotophos	3.22	0.05	224.10>193.00	5	224.10>127.00	20
<i>N</i> -脱乙基甲基嘧啶磷	<i>N</i> -desethyl-pirimiphos-methyl	6.31	3.00	278.10>124.90	25	278.10>136.00	35
氧乐果	omethoate	2.21	0.05	214.10>183.00	5	214.10>125.00	20
对氧磷	paraoxon-ethyl	6.23	4.00	276.10>220.10	9	276.10>94.10	41
甲基对氧磷	paraoxon-methyl	4.78	0.05	248.00>90.00	30	248.00>109.00	35
二甲戊灵	pendimethalin	10.32	0.05	282.10>212.10	5	282.10>194.10	16
氯菊酯	permethrin	10.98	0.01	408.10>182.90	15	410.10>182.90	20
甲拌磷	phorate	9.29	0.10	261.10>75.00	12	261.10>47.00	38
甲拌磷砒	phorate-sulfone	6.27	0.50	293.00>171.00	5	293.00>97.00	30
甲拌磷亚砒	phorate-sulfoxide	6.12	0.10	277.00>199.00	5	277.00>171.00	10
伏杀硫磷	phosalone	9.26	1.00	368.05>182.00	10	368.05>322.00	5
亚胺硫磷	phosmet	6.96	0.50	318.05>160.00	10	318.05>133.00	35
增效醚	piperonyl butoxide	10.17	0.20	356.20>177.10	10	356.20>119.00	35
嘧啶磷	pirimiphos-ethyl	10.07	0.50	334.10>198.00	20	334.10>182.00	25
甲基嘧啶磷	pirimiphos-methyl	9.24	0.50	306.20>164.00	20	306.20>108.00	30
喹硫磷	quinalphos	8.72	0.10	299.00>147.00	20	299.00>163.00	20
氟胺氰菊酯	tau-fluvalinate	10.75	1.00	503.00>181.00	28	503.00>208.00	10
戊唑醇	tebuconazole	8.89	0.10	308.10>70.00	35	308.10>125.00	30
羟基戊唑醇	hydroxy-tebuconazole	7.50	0.01	324.10>70.00	30	324.10>125.00	35

2.3 标样溶液的配制

单标储备液:准确称取10 mg的各农药标准品,根据农药的溶解性,选择合适溶剂溶解并定容,得到质量浓度为1 000 mg/L的单标储备液,-18℃保

存。其中,甲草胺等22种农药选择甲苯作为溶剂,益棉磷等13种农药选择甲醇作为溶剂,乙酰甲胺磷等13种农药选择乙酸乙酯作为溶剂,倍硫磷氧代砒和*N*-脱乙基甲基嘧啶磷选择乙腈作为溶剂,地虫硫磷

和伏杀硫磷选择丙酮作为溶剂,氧代倍硫磷和氟氰戊菊酯选择环己烷作为溶剂。

中间标样溶液:按照农药的性质,将54种农药分为2组溶液配制。分别移取适量毒死蜱等30种农药储备液至容量瓶中,选择乙酸乙酯作为溶剂;分别移取适量乙酰甲胺磷等24种农药储备液至容量瓶中,选择乙腈作为溶剂。将上述2组溶液混合定容后,分别得到质量浓度为20 mg/L的2组混合标样溶液, -18℃保存。

标样工作溶液:分别移取2组混合标样溶液各0.5 mL至10 mL容量瓶,用乙腈稀释至刻度,得到质量浓度为1 mg/L的标样工作溶液, 0~4℃保存。

2.4 样品处理

称取3 g粉碎的川芎样品至50 mL具塞聚苯乙烯离心管中,加入1%乙酸水溶液15 mL,涡旋,放置30 min;再加入乙腈15 mL,涡旋混匀,置组织研磨机上剧烈振荡(500次/min) 5 min;加入Cleanert MSA-Q盐包7.5 g,立即摇散,继续剧烈振荡(500次/min) 3 min后于冰浴中冷却10 min,离心(4 000 r/min) 5 min;取上清液9 mL至预先装有净化材料的QuEChERS净化管中,涡旋使充分混匀,剧烈振荡(500次/min) 5 min,离心(4 000 r/min) 5 min;吸取上清液2.5 mL至氮吹仪,于40℃水浴浓缩至约0.4 mL,加乙腈稀释至1.0 mL,涡旋混匀,过0.22 μm尼龙滤膜,待测。

3 方法的开发和验证

根据美国药典USP 561和欧洲药典EP 2.8.13中关于农药残留检测方法的要求,并按照指导文件SANTE/11312/2021,分别对线性、基质效应、专属性、重复性、回收率、中间精密度、离子比率、保留时间和定量限进行方法学验证。

3.1 线性及范围

称取3 g川芎样品,分别加入质量浓度为1 mg/L的标样工作溶液24 μL、30 μL、150 μL、300 μL和360 μL,稀释得到质量分数分别为0.008、0.01、0.05、0.10和0.12 mg/kg的过程校正工作溶液,上机分析,过程标准校正法进行定量。以化合物的峰面积为纵坐标(y),质量浓度为横坐标(x),绘制标准曲线。

结果表明,54种农药在0.008~0.12 mg/kg时,线性关系良好,决定系数(R^2)均大于0.99,各校正浓度水平的相对误差均在-20%到20%之间。

3.2 基质效应

基质效应(matrix effect, ME)是样品中目标分析物以外的组分对目标分析物分析过程的离子化

产生的信号抑制或增强作用。ME在-20%~20%时,基质效应可以忽略;ME小于-20%,为基质抑制效应;ME大于20%时,为基质增强效应。

用溶剂和基质空白样品溶液配制相同浓度的标样溶液,在同样的仪器条件下运行,比较分析物的响应情况。乙酰甲胺磷、呋虫胺、丰索磷、丰索磷氧代砒、倍硫磷砒和氧乐果的ME值均在-20%到20%之间,基质效应可以忽略;其他分析物的ME值均小于-20%,呈现基质抑制效应。考虑到不同分析物基质效应的差异,统一采用过程标准校正法进行定量分析。

3.3 专属性

分别检测溶剂空白溶液、溶剂标样溶液、空白样品溶液、加标样品溶液。结果显示,在保留时间附近,溶剂空白、样品均无干扰峰,符合干扰峰响应小于30%定量限的要求,说明本方法的专属性良好。

3.4 回收率和重复性

在川芎空白样品中分别添加0.01、0.05、0.10 mg/kg 3个水平的54种混合标样溶液,按照2.4前处理方法进行添加回收试验,每个水平平行制备5份,回收率及相对标准偏差(RSD)见表3。

结果表明,平均回收率为92.5%~105.5%,日内相对标准偏差($n=5$)为0.4%~6.6%,日间相对标准偏差($n=10$)为1.0%~11.7%,日内和日间相对标准偏差均小于20%。方法的准确度和精密度满足SANTE/11312/2021要求。

3.5 离子比率

离子比率为定性离子与定量离子的响应比率,是阳性结果定性的重要依据。连续进样校正标样溶液、空白样品溶液、0.01 mg/kg、0.05 mg/kg和0.10 mg/kg加标样品溶液,以校正标样溶液中分析物的离子比率平均值为基准,0.01 mg/kg、0.05 mg/kg和0.10 mg/kg加标样品的离子比率与之进行比较。

结果表明,54种分析物的离子比率偏差均介于-30%~30%,说明本方法农药的离子比率稳定性良好,可用于样品中阳性结果的定性。

3.6 保留时间

连续进样校正标样溶液、空白样品溶液、0.01 mg/kg、0.05 mg/kg和0.10 mg/kg加标样品溶液,以校正标样溶液中化合物保留时间平均值为基准,加标样品中化合物保留时间与之进行比较。结果表明,54种农药的保留时间偏差均在0.1 min内,说明本方法中农药的保留时间稳定性良好,可用于样品中阳性结果的定性。

表 3 54 种农药的相关系数、定量限、回收率和精密度

农药	R^2	LOQ/ (mg/kg)	加标水平0.01 mg/kg			加标水平0.05 mg/kg			加标水平0.10 mg/kg		
			平均回 收率/%	日内 RSD/%	日间 RSD/%	平均回 收率/%	日内 RSD/%	日间 RSD/%	平均回 收率/%	日内 RSD/%	日间 RSD/%
乙酰甲胺磷	0.997 3	0.01	103.4	1.3	1.7	100.5	1.5	1.9	99.9	0.4	1.4
甲草胺	0.999 9	0.01	105.3	1.4	1.4	101.5	1.6	2.0	101.1	1.4	4.8
益棉磷	0.999 9	0.05				101.1	1.1	2.3	102.7	1.0	6.4
保棉磷	0.999 6	0.01	104.8	1.2	3.1	101.4	0.9	1.9	100.3	1.1	1.8
毒虫畏	0.999 4	0.01	105.5	2.1	3.6	101.0	1.3	1.8	101.5	2.2	5.7
毒死蜱	0.999 2	0.01	103.0	2.0	3.7	102.7	2.5	3.4	99.5	1.1	5.6
溴氰菊酯	0.995 9	0.05				99.1	6.6	5.5	103.7	3.7	4.5
二嗪磷	0.999 9	0.01	102.6	2.0	2.2	100.4	2.5	2.5	99.8	1.3	3.7
苯氟磺胺	0.997 8	0.01	98.4	5.7	5.3	102.1	3.1	3.7	105.0	1.9	11.7
敌敌畏	0.999 7	0.01	102.3	1.3	1.4	100.1	1.3	2.0	99.8	1.3	1.8
乐果	0.999 0	0.01	103.0	4.9	4.4	100.1	3.2	3.3	100.5	3.7	3.9
呋虫胺	0.999 4	0.01	102.4	1.8	2.6	101.3	2.2	2.6	99.9	0.8	2.1
乙硫磷	0.999 0	0.01	101.5	2.1	2.3	102.6	2.0	2.7	101.3	2.5	1.9
乙嘧硫磷	0.999 9	0.01	102.6	2.6	2.7	101.6	2.1	1.9	100.6	0.6	4.2
氧皮蝇磷	0.999 4	0.01	102.2	1.9	3.0	101.1	1.7	2.5	102.6	1.9	7.1
甲氰菊酯	0.999 9	0.05				98.9	1.5	4.4	101.6	3.1	3.6
丰索磷	0.999 8	0.01	102.9	2.1	1.9	101.9	0.8	2.9	99.0	1.4	1.7
氧代丰索磷	0.999 5	0.01	102.2	1.9	1.9	100.6	1.2	2.0	100.3	0.8	1.8
丰索磷氧代砒	0.999 7	0.01	102.9	1.9	2.4	100.5	1.8	2.1	99.4	1.3	2.2
丰索磷砒	0.999 7	0.01	101.5	0.4	2.2	103.2	0.8	3.1	101.5	0.6	1.1
倍硫磷	0.999 8	0.01	105.2	3.2	4.1	99.9	2.9	2.7	100.7	2.2	10.9
氧代倍硫磷	0.999 8	0.01	103.6	1.2	2.3	101.8	0.8	2.3	99.6	1.2	1.1
倍硫磷氧代砒	0.999 6	0.01	102.0	3.5	3.3	99.8	2.4	2.5	98.6	2.1	2.8
倍硫磷氧代亚砒	0.999 3	0.01	102.0	2.7	2.5	100.5	1.6	2.5	100.2	1.7	2.6
倍硫磷砒	0.999 8	0.01	103.8	1.9	3.1	100.2	1.6	1.7	99.2	1.8	2.2
倍硫磷亚砒	0.999 8	0.01	101.4	1.5	1.8	100.4	1.2	1.6	100.3	1.0	1.5
氟氰戊菊酯	0.999 7	0.05				105.7	4.0	8.0	96.6	4.7	7.1
地虫硫磷	1.000 0	0.01	103.2	3.9	4.5	99.8	2.9	3.5	100.2	1.6	8.0
稻瘟灵	0.999 8	0.01	102.8	1.2	2.7	100.8	0.6	1.1	98.7	1.2	2.3
马拉氧磷	0.999 8	0.01	101.7	1.0	1.7	100.5	1.4	2.0	100.2	1.2	1.6
马拉硫磷	0.999 8	0.01	103.2	1.5	2.4	99.7	1.8	1.9	100.0	1.6	2.1
灭蚜磷	1.000 0	0.01	102.2	1.3	1.7	101.3	0.7	2.0	101.0	0.7	6.6
虫螨畏	0.999 7	0.05				99.8	0.8	1.8	101.8	2.0	1.9
甲胺磷	0.999 9	0.01	101.8	1.6	1.6	100.6	1.2	2.0	99.7	0.5	1.5
杀扑磷	1.000 0	0.01	100.6	2.4	2.0	101.3	1.0	1.7	101.5	1.1	1.5
久效磷	0.998 4	0.01	103.3	2.1	2.2	100.6	1.9	2.6	100.3	0.8	1.8
N-脱乙基甲基嘧啶磷	0.999 9	0.01	102.9	3.0	3.0	100.9	1.5	1.5	99.7	1.8	2.7
氧乐果	0.998 0	0.01	103.8	1.0	1.9	101.2	1.1	2.3	100.1	0.6	1.4
对氧磷	0.999 6	0.01	102.7	2.3	2.7	99.9	1.2	1.6	99.8	2.2	2.6
甲基对氧磷	0.999 0	0.01	103.5	4.2	3.3	99.8	1.0	1.9	97.9	2.0	3.2
二甲戊乐灵	0.999 9	0.01	101.3	3.2	3.3	101.4	1.9	1.6	101.9	1.7	1.6
氯菊酯	0.999 1	0.05				100.1	5.1	5.6	101.9	2.8	4.0
甲拌磷	0.998 5	0.01	92.5	4.2	9.4	101.6	5.3	4.7	100.6	3.2	3.3
甲拌磷砒	0.999 8	0.01	102.1	2.4	3.6	101.4	2.6	2.9	99.6	1.2	3.6
甲拌磷亚砒	1.000 0	0.01	102.3	2.0	1.9	101.6	1.2	2.3	99.9	0.8	1.6

(续表 3)

农药	R ²	LOQ/ (mg/kg)	加标水平 0.01 mg/kg			加标水平 0.05 mg/kg			加标水平 0.10 mg/kg		
			平均回 收率 /%	日内 RSD/%	日间 RSD/%	平均回 收率 /%	日内 RSD/%	日间 RSD/%	平均回 收率 /%	日内 RSD/%	日间 RSD/%
伏杀硫磷	0.998 0	0.05				104.8	2.7	3.1	98.3	2.6	2.4
亚胺硫磷	0.999 8	0.05				98.5	1.9	3.6	100.7	1.4	2.0
增效醚	0.999 7	0.01	99.9	2.2	2.5	101.9	1.9	1.9	100.3	0.8	3.0
啉啉磷	0.999 8	0.01	101.7	2.4	2.9	100.7	1.2	2.1	100.2	2.1	3.4
甲基啉啉磷	1.000 0	0.01	101.7	2.1	2.4	102.2	0.8	1.8	101.8	1.1	2.0
啉啉磷	1.000 0	0.01	102.2	1.1	2.3	102.3	1.2	1.0	101.0	2.4	5.0
氟啉氟菊酯	0.999 7	0.05				100.7	2.6	3.3	102.7	4.4	3.6
戊唑醇	0.999 3	0.01	104.4	1.8	2.4	102.1	2.1	2.3	101.0	0.6	3.4
羟基戊唑醇	0.999 6	0.01	102.4	1.7	1.8	100.9	1.2	1.3	98.6	1.2	2.4

3.7 定量限

根据验证结果,将益棉磷、溴氰菊酯、甲氰菊酯、氟啉戊菊酯、虫螨畏、氯菊酯、伏杀硫磷、亚胺硫磷和氟啉氟菊酯9种分析物的定量限设定为0.05 mg/kg,其他分析物的定量限设定为0.01 mg/kg。在定量限水平,平均回收率在70%~110%范围内,加标回收率的相对标准偏差(n=10)小于20%。定量限均小于或等于其对应的残留限量^[11-12]。

3.8 实际样品测定

为验证所建立方法的可靠性和实用性,采用本方法测定12批川芎药材。按照欧洲药典EP和美国药典USP法规要求,12批样品中,有8批样品检出毒死蜱,均未超出最大残留限量标准(0.2 mg/kg);有7批样品检出戊唑醇,其中1批超出最大残留限量标准(0.05 mg/kg)。其他农药未检出,结果见表4。

表 4 12 批川芎样品中农药检出结果

样品编号	质量分数/(mg/kg)	
	毒死蜱	戊唑醇
1009829-001	0.054	0.013
1009866-001	0.043	ND
1009867-001	0.011	0.013
1009868-001	ND	0.058
1009869-001	0.052	0.012
852814-001	0.044	0.012
852815-001	0.019	ND
852816-001	ND	0.044
852817-001	0.064	ND
870141-001	0.041	0.017
875046-001	ND	ND
888278-001	ND	ND

注:ND表示小于定量限。

4 讨论和结论

4.1 仪器条件的优化

考察流动相组成对农药响应的影响。首先选定2 mmol/L乙酸铵+0.1%甲酸水溶液作为流动相中的水相,然后分别用甲醇和乙腈作为有机相,比较这2种有机相对农药响应的影响。当使用乙腈作为流动相时,部分极性强的农药由于溶剂效应出现拖尾现象,不利于对该类农药的测定,因此选择以甲醇作为有机相。考虑到质谱采用正离子模式进行检测时,通常使用含有酸的流动相,以便分析物更加容易被质子化,从而提高检测的灵敏度,试验比较了2 mmol/L乙酸铵+0.1%甲酸水溶液和2 mmol/L乙酸铵+0.1%乙酸水溶液对仪器灵敏度的影响。当使用2 mmol/L乙酸铵+0.1%甲酸水溶液作为流动相时,仪器的灵敏度更高。超高效液相色谱中流动相的选择对目标化合物的离子化效率及峰形具有非常显著的影响,根据试验结果选择2 mmol/L乙酸铵+0.1%甲酸水溶液和甲醇作为流动相。

使用LC-MS/MS对目标化合物进行母离子全扫描,确定各个化合物的准分子离子[M+H]⁺峰或[M+NH₄]⁺峰调节质谱参数。以[M+H]⁺峰或[M+NH₄]⁺峰丰度最大的质谱条件为最佳质谱条件,对[M+H]⁺峰或[M+NH₄]⁺峰进行二级质谱扫描,选择丰度较高且质量数较大的碎片作为特征子离子,每个化合物检测2组离子对,选择响应值高且干扰少的离子对作为定量离子对。54种农药混合标样溶液(5 μg/L)的总离子流色谱图见图1。

4.2 前处理条件的选择

USP、EP农药残留列表中农药种类较多,农药性质差异较大,建立同时分析所有农药的方法,需要

兼顾大多数农药的性质。QuEChERS技术已广泛应用于中草药^[14-17],本研究基于QuEChERS方法建立了川芎中多农药残留的前处理方法和净化方法,采用市售QuEChERS净化管能够满足验证和分析要求。

本研究采用QuEChERS技术结合高效液相色谱-串联质谱法,按照SANTE/11312/2021指导文件进行了方法学验证,建立了川芎中54种农药及代谢物残留的检测方法。相对于中国药典方法,本方法的仪器运行时间短,仅需14 min,大大提高了检测效率和仪器通量,可应用于川芎中农药残留的定性定量分析,为川芎药材安全性研究和国际注册提供依据。

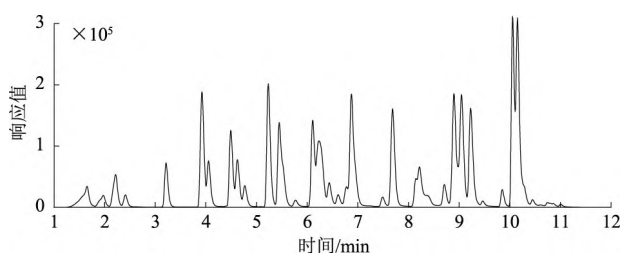


图1 54种农药混合标样溶液的总离子流色谱图(5 µg/L)

参考文献

- [1] 朱蕾. 我国中药产业国际化发展的挑战、机遇及推进策略[J]. 对外经贸实务, 2020, 11: 57-60.
- [2] 丁惠, 刘田园, 程素盼, 等. 中药材中农药残留及其分析检测研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21(10): 171-175.
- [3] 杨书良, 凌宁生, 种宏国, 等. GC法测定川芎等7味中药材中六六六的残留量[J]. 中草药, 2002, 33(5): 423-424.
- [4] 邹沫君, 余敏灵, 景赞, 等. GC-MS测定川芎中3种菊酯类农药残留[J]. 食品工业, 2018, 39(6): 277-280.
- [5] 喻文, 张德林, 苟琰, 等. 气相色谱-串联质谱测定川芎中65种农药残留[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(6): 1009-1018.
- [6] 李蓉, 储大可, 张朋杰, 等. QuEChERS/HPLC-MS/MS法测定黄瓜、菜心、葡萄、香蕉中127种农药残留[J]. 分析测试学报, 2015, 34(5): 502-511.
- [7] 姚蕴恒, 白龙律, 武伦鹏, 等. QuEChERS/GC-MS/MS测定人参中41种农药残留[J]. 分析测试学报, 2020, 9(4): 500-506.
- [8] 王敬, 张海超, 陈敏娜, 等. QuEChERS/气相色谱-串联质谱法测定乳制品中232种农药残留[J]. 分析测试学报, 2021, 40(9): 1293-1302.
- [9] 苗水, 李雯婷, 陈铭, 等. 液相色谱-串联质谱法同时测定三七中508种农药残留[J]. 分析测试学报, 2019, 38(7): 761-774.
- [10] 王艳丽, 李洁, 李海霞, 等. 固相萃取-气相色谱-三重四极杆串联质谱法测定茶叶中45种有机磷农药残留[J]. 农药学报, 2020, 22(4): 675-684.
- [11] COUNCIL of EUROPE. European pharmacopoeia pesticide residues [DB/OL]. [2023-10-09]. <https://crs.edqm.eu/>.
- [12] The UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. Artical of botanical origin[DB/OL]. [2023-10-09]. <https://www.usp.org/>.
- [13] EUROPEAN COMMISSION. Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed[DB/OL]. [2023-10-09]. https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-11/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2021-11312.pdf.
- [14] 李纯, 陈俊妃, 熊颖, 等. QuEChERS高效液相色谱-串联质谱法测定黄金罗汉果中50种常用农药残留[J]. 分析测试学报, 2022, 41(12): 1793-1799.
- [15] ZHOU Y, YU Y H, HUANG Q, et al. Simultaneous determination of 26 pesticide residues in traditional chinese medicinal leeches by modified QuEChERS coupled with HPLC-MS/MS[J]. ACS Omega, 2023, 8: 12404-12410.
- [16] FAN X Y, TANG T, DU S, et al. Simultaneous determination of 108 pesticide residues in three traditional Chinese medicines using a modified QuEChERS mixed sample preparation method and HPLC-MS/MS[J]. Molecules, 2022, 27: 7636.
- [17] HU Y C, WAN L, ZHANG J M, et al. Rapid determination of pesticide residues in Chinese materia medica using QuEChERS sample preparation followed by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2012, 2(3): 286-293.

(编辑: 顾林玲)

唑草酮、砒吡草唑复配除草剂扩作登记

近日,富美实公司的Anthem Flex除草剂获得了美国环保署(EPA)的标签扩展批准,将除草剂浸渍处理后用于棉花。这一进展为棉农提供了一种新型高效、灵活的杂草管理方案。

Anthem Flex除草剂由唑草酮和砒吡草唑2种活性成分组成,这一独特的组合为棉花种植者提供了一种新颖的解决方案,以应对关键禾本科杂草和阔叶杂草的苗前管理,特别适用于长芒苋、稗草、牛筋草、黍草、狐尾草等难除杂草的防治。

富美实表示,Anthem Flex的长时效性使其成为关键的杂草管理工具,有助于实现整个生长季的持续控制。该除草剂的灵活性体现在其施用方式上,种植者可以选择空中施用或地面施用,将除草剂浸渍在肥料上,以在整个出苗前窗口期中更有效地控制杂草。

随着杂草对现有除草剂抗性的不断增强,Anthem Flex的推出为棉农提供了一种急需且及时的杂草管理工具,以应对长芒苋等多种作用机理除草剂产生抗性的杂草。

(来源:世界农化网)