

专题——中药安全性和有效性质量控制研究

液相色谱-串联质谱法同时测定丹参中 139 种农药残留

李雯婷 苗 水 陈 铭 周 恒 兰 岚 毛秀红 季 申

(上海市食品药品检验所,上海,201203)

摘要 目的:采用液相色谱-串联质谱法建立丹参中农药多残留的测定方法。方法:样品经改良的 QuEChERS 方法提取,采用分散固相萃取(d-SPE)二次净化法净化,并采用液相色谱-串联质谱技术在多反应监测(MRM)模式下测定,内标法定量。结果:丹参中 139 种农药在 0.005~0.2 mg/L 范围内线性关系均良好;在 10、50 和 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加水平下,除了噻菌灵回收率偏低(67.2~67.9)外,其余农药的平均回收率为 70.2%~126.1%,相对标准偏差(RSD)为 1.2%~19.5%,139 种农药的检测限为 0.005~0.05 mg/kg。结论:该方法样品前处理简单快速,灵敏度、准确度和精密度均符合农药多残留检测技术的要求,适用于丹参中 139 种农药残留的快速筛查测定。

关键词 液相色谱-串联质谱法;农药残留;QuEChERS 法;丹参;分散固相萃取;固相萃取;盐析剂;匀浆法

Simultaneous Determination of 139 Pesticide Residues in Salvia miltiorrhiza by LC-MS/MS

Li Wenting, Miao Shui, Chen Ming, Zhou Heng, Lan Lan, Mao Xiuhong, Ji Shen

(Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

Abstract Objective: To study the multi-residues detection methods for Salvia miltiorrhiza by LC-MS/MS. **Methods:** A method using a modified QuEChERS and d-SPE clean-up followed by LC-MS/MS has been established for the quantitative determination of the residues. The extract was determined by LC-MS/MS in multi-reaction monitoring(MRM) mode, and internal standard method was applied to quantify the pesticides. **Results:** All the 139 pesticides showed good linearity in the range of 0.005~0.2 mg/L. The average recoveries of the pesticides at the spiked levels of 10, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ranged from 70.2~126.1% with the RSDs of 1.2~19.5%, except for Thiabendazole(67.2~67.9%). The limits of detection(LODs) of 139 pesticides were 0.005~0.05 mg/kg. The results demonstrated that this method was simple, rapid and suitable for the determination of 139 pesticide residues in Salvia miltiorrhiza. **Conclusion:** The analytical sensitivity and accuracy can meet the requirements of multiple pesticide residue analysis.

Key Words LC-MS/MS; Pesticide residues; QuEChERS; Salvia miltiorrhiza; dSPE; SPE; Salting-out agent; Homogenate

中图分类号:R284.1 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.04.001

丹参(*Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*)为唇形科植物丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)的干燥根和根茎,具有活血祛瘀,通经止痛,清心除烦,凉血消痛的功效^[1]。临床应用范围广泛,属于大宗常用中药材。在丹参大规模人工种植情况下,农药的使用是保障丹参产量与质量的重要手段。但随着农药的广泛使用,丹参农药残留问题日趋严重,直接影响了人民用药的安全性和有效性,也是制约中药走向国际市场的瓶颈。因此,建立简便、高效的丹参中农药多残留检测方法,对保证用药安全及推进中药现代化、国际化具有重要的意义。

农药多残留分析亟需解决的主要问题之一是去除基质干扰对于残留农药定量准确度、灵敏度及仪

器污染的影响。因此,前处理中净化方法的选择和优化是农药多残留检测的关键。目前,常用的前处理技术主要包括固相分散萃取^[2-4]、固相微萃取^[5]、凝胶渗透色谱^[6]以及 QuEChERS^[7-8]等。而 QuEChERS 法以其快速、简便、高效、安全等特点,已广泛应用于中药材农药多残留分析,是当前国内外实验室普遍采用的前处理方法。

仪器检测方法主要有气相色谱法(GC)^[9-11]、气相色谱-质谱法(GC-MS)^[12-13]、气相色谱-串联质谱法(GC-MS/MS)^[14-17]、液相色谱-质谱法(LC-MS)^[18]以及液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)^[19-22]等。常用的色谱法由于检测器的局限,多农药筛查能力较弱;且由于丹参基质的干扰,无法通过保留时间定性定

基金项目:广西壮族自治区科学技术厅重大专项计划(2015AC05038);国家中药标准化项目(ZYBZH-C-GX-09);国家药典委员会项目(ZG2016-2)

作者简介:李雯婷(1984.11—),女,硕士,主管药师,研究方向:中药及食品质量分析与检测,E-mail:liwenting-84@163.com

通信作者:季申(1963.08—),女,主任药师,研究方向:中药质量控制和安全性检测技术研究,E-mail:jishen2013@163.com

量,易产生假阳性和假阴性的结果。GC-MS 和 LC-MS 被广泛应用于农药多残留检测中,但 2 种检测方法对于几百种农药的多残留检测需建立多个检测方法,样品需反复测定,耗时耗力;且在选择离子检测(SIM)模式下采集的质谱信息少,选择性较差,结果存在较大的不确定性。液相色谱-三重四极杆串联质谱通过其高通量的离子传输性能,在高选择性的多反应监测(MRM)模式下可实现一次进样同时分析百余种化合物,且基质干扰少,能有效减少和避免假阳性和假阴性的现象,是中药材农药多残留检测的必然选择。丹参中存在大量的脂溶性色素和水溶性酚酸等,对农药残留测定干扰大。本文以改良的 QuEChERS 法提取,采用分散固相萃取(d-SPE)二次净化法净化,并采用 LC-MS/MS 在 MRM 模式下进行测定,内标法定量,快速准确地测定了丹参中 139 种农药残留。该方法具有操作简便、灵敏度高、应用广泛等特点,对丹参药材的安全监测有重要的意义。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 1290 超高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),AB SCIEX 5500 三重四极杆质谱仪(美国 AB SCIEX 公司),旋转蒸发仪(瑞士 BüCHI 公司),N-EVAPTM 112 型氮吹仪(美国 Organomation 公司),匀浆机(上海 Fluko 公司),IKA KS260C 振荡器(德国 IKA 公司),VisiprepTM DL 固相萃取装置(美国 Supelco 公司),IKA MS 2 涡旋混合器(德国 IKA 公司),UV2550(日本岛津公司)

1.2 试剂与材料 139 种农药标准品(Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司或 Chem Service 公司);乙腈、甲醇、丙酮、乙酸均为色谱纯;无水醋酸钠,无水硫酸镁为分析纯;C18 固相萃取柱(400 mg/6 mL)、石墨化碳:乙二胺-N-丙基硅烷混合型固相萃取柱(PC/PSA-SPE)(400 mg;400 mg/6 mL);吸附剂:N-丙基乙二胺(PSA)、佛罗里硅土(Florisil)、石墨化炭黑(GCB)、十八烷基键合硅胶(C18)、硅胶(Silica)、Chlorofiltr 均购于天津博纳艾杰尔科技有限公司;丹参药材均购于上海华宇药业。

1.3 分析样品 实验用丹参样品分别来源于上海华宇药业有限公司、上海养和堂中药饮片有限公司、上海中西制药有限公司共 9 批,依次编号为 1~9。

2 方法与结果

2.1 LC-MS/MS 色谱质谱条件 色谱条件:色谱柱:Agilent SB-C₁₈(3.5 μm,2.1×150 mm);流动相:A 相,0.1% 甲酸+10 mmol/L 甲酸钠水溶液;B 相,乙腈。梯度洗脱程序:0~15.00 min,75% A~10%

A;15.00~20.00 min,10% A~10% A;20.00~28.00 min,75% A~25% A。流速:0.40 mL/min;进样量:2.0 μL。

质谱条件:离子源:电喷雾离子源(ESI);扫描方式:正离子扫描;检测方式:多反应监测(MRM)模式;电喷雾电压:5 500 V;雾化气压力:50.0 psi;辅助气压力:50.0 psi;气帘气压力:20.0 psi;碰撞气压力:7.0 psi;离子源温度:500 ℃;扫描时间:50 ms;碰撞室入口电压:10 V;碰撞室出口电压:12 V;监测离子对及其相关质谱参数见表 1。按照上述 LC-MS/MS 条件所得 139 种农药 MRM 图谱见图 1。

2.2 标准品溶液的配制 标准品储备溶液的制备:精密称取各农药对照品适量,根据各农药溶解性加乙腈或甲苯分别制成每 1 mL 中含 1 000 μg 的溶液,即得,贮存在 4 ℃冰箱中备用。

内标储备溶液的制备:精密称取氧代莠去津(Atrazine-d5)标准品适量,加乙腈溶解并制成每 1 mL 含 1 000 μg 的溶液,即得。

混合标准品溶液的制备:精密量取上述标准品储备液适量,用含 0.05% 醋酸的乙腈分别制成每 1 mL 含 100 μg 和 1 000 μg 的 2 种溶液,即得。

内标溶液的制备:精密量取内标储备溶液适量,加乙腈制成每 1 mL 含 6 μg 的溶液,即得。

基质混合标准品工作溶液的制备:取丹参空白基质样品 3 g,一式 6 份,同供试品溶液的制备方法处理至“吸取上清液 0.5 mL”,置氮吹仪上于 40 ℃水浴浓缩至约 0.2 mL,分别加入混合标准品溶液(100 μg/L)25 μL、50 μL,混合标准品溶液(1 000 μg/L)25 μL、50 μL、100 μL、200 μL,加乙腈定容至 0.5 mL,涡旋混匀,用微孔滤膜滤过(0.22 μm),取续滤液,即得系列基质混合标准品工作溶液。

2.3 供试品制备方法 提取:取供试品,粉碎成粉末(过三号筛),取约 3 g(精确至 0.01 g),置 50 mL 聚苯乙烯具塞离心管中,加入 1% 冰醋酸溶液 15 mL,涡旋使药粉充分浸润,放置 30 min,精密加入乙腈 15 mL 与内标溶液 100 μL,涡旋使混匀,置振荡器上剧烈振荡(500 次/min)5 min,加入无水硫酸镁与无水醋酸钠的混合粉末(4:1)7.5 g,立即摇散,再置振荡器上剧烈震荡(500 次/min)3 min,于冰浴中冷却 10 min,离心(4 000 r/min)5 min,待净化。

净化:精密移取上清液 9 mL 置已预先装有净化材料的分散固相萃取净化管(佛罗里硅土 300 mg,十八烷基键合硅胶 300 mg, N-丙基乙二胺 600 mg,

表 1 139 种农药的保留时间及优化的质谱参数

编号	农药品种	保留时间 (min)	母离子	子离子(定量离 子/定性离子)	碰撞电压(V)(定量 离子/定性离子)	去簇电 压(V)
1	Acephate(乙酰甲胺磷)	2.5	184.0	143.0/125.0	13/24	100
2	Acetamiprid(啉虫脒)	4.1	223.5	126.0/90.0	17/43	100
3	Alachlor(甲草胺)	6.6	270.1	238.1/162.1	15/26	90
4	Aldicarb(涕灭威)	4.5	208.1	116.1/89.0	10/22	60
5	Aldicarb-sulfone(涕灭威砜)	3.3	223.1	166.1/148.0	8/11	120
6	Aldicarb-sulfoxide(涕灭威亚砜)	2.9	207.1	132.0/89.0	9/20	110
7	Allethrin(丙烯菊酯)	9.1	303.2	135.0/169.0	15/12	80
8	Ametryn(莠灭净)	5.5	228.1	186.1/96.1	26/34	160
9	Atrazine(莠去津)	5.2	216.1	174.1/104.0	23/38	130
10	Azinphos-ethyl(益棉磷)	6.7	346.0	289.0/261.0	8/11	100
11	Azinphos-methyl(保棉磷)	5.8	318.0	160.1/132.0	9/20	110
12	Azoxystrobin(腈嘧菌酯)	5.9	404.1	372.1/344.1	18/32	110
13	Benalaxyl(苯霜灵)	7.1	326.2	294.2/208.1	14/21	90
14	Bifenazate(联苯肼酯)	6.2	301.1	170.1/198.1	29/15	81
15	Bitertanol(联苯三唑醇)	6.4	338.2	269.2/99.1	10/18	70
16	Boscalid(啶酰菌胺)	6.1	343.0	307.1/140.0	26/25	170
17	Buprofezin(噻嗪酮)	9.5	306.2	201.1/116.1	15/20	100
18	Butachlor(丁草胺)	9.2	312.0	238.1/162.2	17/33	41
19	Cadusafos(硫线磷)	7.6	271.0	159.0/97.0	21/51	81
20	Carbaryl(甲萘威)	5	202.1	145.1/127.1	13/39	110
21	carbendazim(多菌灵)	3.4	192.1	160.1/132.1	21/40	110
22	Carbofuran(克百威)	4.9	222.1	165.1/123.0	16/27	110
23	carbofuran-3-hydroxy(3-羟基呋喃丹)	3.9	238.1	181.1/163.1	14/23	100
24	Chlorantraniliprole(氯虫酰胺)	5.4	481.9	450.9/283.9	23/20	90
25	Chlorfenvinphos(毒虫畏)	6.9	359.0	155.0/127.0	16/22	110
26	Coumaphos(蝇毒磷)	7.6	363.0	307.0/227.0	22/35	180
27	Cyhalofop-butyl(氰氟草酯)	8.6	375.2	358.1/256.1	10/22	60
28	Cyprodinil(啮菌环胺)	6.8	226.1	108.1/93.1	35/44	160
29	Diazinon(二嗪磷)	7.6	305.1	277.1/169.1	19/29	110
30	Dichlofenthion(除线磷)	9.3	314.9	258.9/286.9	23/17	41
31	Dicrotophos(百治磷)	3.5	238.1	112.1/193.0	19/15	86
32	Difenoconazole(苯醚甲环唑)	7.3	406.1	337.0/251.0	24/36	130
33	Diiflubenzuron(除虫脲)	6.2	311.0	158.0/141.0	21/45	100
34	Dimepiperate(哌草丹)	6	276.1	244.1/168.1	20/33	80
35	Dimethoate(乐果)	4	230.0	199.0/125.0	13/29	90
36	Diniconazole(烯唑醇)	6.7	326.1	159.0/70.0	42/53	100
37	Disulfoton sulfone(乙拌磷砜)	5.5	307.0	261.0/153.0	14/17	120
38	Disulfoton sulfoxide(乙拌磷亚砜)	5	291.0	213.0/185.0	13/20	80
39	Edifenphos(克瘟散)	6.9	311.0	172.9/282.9	25/16	180
40	EPN(O-ethyl O-(4-nitrophenyl) phenylphosphonothioate)(苯硫磷)	8.2	324.1	296.0/157.0	18/30	100
41	Ethion(乙硫磷)	9.5	385.0	199.0/142.9	14/36	110
42	Ethoprophos(灭线磷)	6.2	243.1	215.0/130.9	17/29	120
43	Etofenprox(醚菊酯)	11.8	394.2	359.2/177.1	15/21	100
44	Etrimfos(乙嘧硫磷)	4	293.1	265.0/125.0	24/42	110
45	Fenamiphos sulfone(苯线磷砜)	4.7	336.1	308.1/266.0	21/28	160
46	Fenarimol(氯苯嘧啶醇)	6	331.0	268.1/139.0	32/48	160
47	Fenbuconazole(腈苯唑)	6.3	337.1	125.0/70.0	38/24	120
48	Fenchlorphos oxon(氧皮蝇磷)	6	304.9	272.9/109.0	30/31	180
49	Fenpyroximate(啞螨酯)	9.9	422.2	366.1/215.1	24/35	100
50	Fensulfothion(丰索磷)	5.2	309.0	281.0/253.0	20/25	140
51	Fensulfothion-oxon(氧丰索磷)	4	293.1	265.0/237.0	20/21	140
52	Fensulfothion-oxon-sulfone(氧丰索磷砜)	4.5	309.1	281.0/253.0	15/23	130
53	Fensulfothion-sulfone(丰索磷砜)	5.7	325.0	297.0/269.0	16/23	140

续表 1 139 种农药的保留时间及优化的质谱参数

编号	农药品种	保留时间 (min)	母离子	子离子(定量离 子/定性离子)	碰撞电压(V)(定量 离子/定性离子)	去簇电 压(V)
54	Fenthion-oxon(氧倍硫磷)	5. 2	263. 1	231. 0/216. 0	22/32	170
55	Fenthion-oxon-sulfone(氧倍硫磷砒)	4. 1	295. 0	217. 1/104. 1	26/34	150
56	Fluazifop-P-butyl(精吡氟禾草灵)	9	384. 1	328. 1/282. 1	24/29	160
57	Flusilazole(氟硅唑)	6. 3	316. 1	247. 1/165. 1	25/37	80
58	Flutolanil(氟酰胺)	6. 4	324. 1	262. 1/242. 1	26/35	150
59	Fonophos(地虫硫磷)	7. 7	247. 0	137. 0/109. 0	15/25	60
60	Fosthiazate(噻唑膦)	5	284. 1	228. 0/104. 0	14/32	100
61	Furathiocarb(呋线威)	8. 9	383. 2	252. 1/195. 0	17/25	110
62	Haloxyp(吡氟氯禾灵)	7. 9	376. 1	316. 0/288. 0	25/35	160
63	Hexaconazole(己唑醇)	6. 4	314. 1	185. 0/159. 0	30/41	110
64	Hexazinone(环嗪酮)	4. 4	253. 0	171. 1/71. 1	25/45	26
65	Imazalil(烯菌灵)	5	297. 1	255. 0/159. 0	25/30	150
66	Imidacloprid(吡虫啉)	3. 9	256. 0	209. 1/175. 1	23/28	110
67	Indoxacarb(茚虫威)	7. 9	528. 1	293. 0/249. 0	19/23	160
68	Iprodione(异菌脲)	6. 3	330. 0	244. 9/247. 0	20/20	100
69	Isazofos(氯唑膦)	6. 9	315. 0	163. 0/120. 0	22/35	100
70	Isofenphos(异硫磷)	8. 2	346. 1	287. 1/245. 0	8/19	60
71	Isofenphos-methyl(甲基异柳磷)	7. 5	332. 0	273. 0/231. 0	10/30	100
72	Isoprocab(异丙威)	5. 3	194. 0	152. 0/137. 0	11/13	100
73	Isoprothiolane(稻瘟灵)	6. 5	290. 9	188. 9/231. 0	30/15	50
74	Malaoxon(马拉氧磷)	4. 8	315. 1	269. 0/127. 0	11/17	100
75	Malathion(马拉硫磷)	6. 4	331. 0	285. 0/127. 0	10/17	110
76	Mecarbam(灭蚜磷)	6. 8	330. 1	227. 0/199. 0	12/21	110
77	Mepronil(灭锈胺)	6. 3	270. 1	228. 1/119. 0	20/32	130
78	Metalaxyl(甲霜灵)	5. 1	280. 2	248. 1/220. 1	14/19	100
79	Methacrifos(虫螨畏)	5. 8	241. 0	209. 0/125. 0	12/26	100
80	Methamidophos(甲胺磷)	1. 8	142. 0	125. 0/94. 0	19/21	100
81	Methidathion(杀扑磷)	5. 7	303. 0	145. 0/85. 0	13/30	120
82	Methiocarb(灭虫威)	5. 6	226. 1	169. 1/121. 1	14/26	130
83	Methomyl(灭多威)	3. 4	163. 1	106. 0/88. 0	13/12	80
84	Methoxyfenozide(甲氧虫酰肼)	6. 2	369. 2	313. 2/149. 1	10/24	70
85	Metolachlor(异丙甲草胺)	6. 6	285. 0	253. 0/177. 0	19/33	100
86	Metolcarb(速灭威)	4. 6	166. 0	109. 1/94. 0	17/43	46
87	Metribuzin(草克净)	4. 8	215. 1	187. 1/84. 1	25/28	110
88	Mevinphos(速灭磷)	3. 8	225. 1	193. 0/127. 0	11/22	100
89	Molinate(草达灭)	6. 3	188. 1	126. 1/55. 1	19/34	100
90	Monocrotophos(久效磷)	3. 3	224. 1	193. 0/127. 0	11/22	120
91	Myclobutanil(腈菌唑)	5. 9	289. 1	125. 0/70. 0	50/24	130
92	Napropamide(敌草胺)	6. 3	272. 2	199. 1/171. 1	26/26	140
93	Omethoate(氧化乐果)	2. 7	214. 0	183. 0/155. 0	15/21	90
94	Oxadiazon(恶草酮)	9. 2	345. 1	303. 0/220. 0	19/28	160
95	Oxadixyl(恶霜灵)	4. 6	279. 1	219. 1/132. 1	16/43	100
96	Oxamyl(杀线威)	3. 3	237. 1	220. 1/90. 1	7/12	70
97	Paclobutrazol(多效唑)	5. 5	294. 1	165. 0/125. 0	31/52	100
98	paraoxon-ethyl(乙基对氧磷)	5. 2	276. 0	248. 0/220. 0	14/22	120
99	Paraoxon-methyl(甲基对氧磷)	4. 6	248. 0	231. 0/202. 0	24/27	140
100	Phenthoate(稻丰散)	7. 3	321. 0	275. 0/247. 0	8/14	80
101	Phorate-oxon-sulfone(氧甲拌磷砒)	4. 2	277. 0	249. 0/183. 0	14/16	120
102	Phorate-sulfone(甲拌磷砒)	5. 6	293. 0	247. 0/171. 0	9/16	130
103	Phosalone(伏杀硫磷)	7. 8	368. 0	322. 0/182. 0	14/23	140
104	Phosmet(亚胺硫磷)	5. 9	318. 0	160. 0/133. 0	24/51	130
105	Phosphamidon(磷胺)	4. 3	300. 1	227. 0/174. 1	19/19	150
106	Phoxim(辛硫磷)	7. 7	299. 1	153. 1/129. 0	11/16	100
107	Piperonyl butoxide(胡椒基丁醚)	8. 7	356. 2	177. 1/119. 1	15/49	180

续表 1 139 种农药的保留时间及优化的质谱参数

编号	农药品种	保留时间 (min)	母离子	子离子(定量离 子/定性离子)	碰撞电压(V)(定量 离子/定性离子)	去簇电 压(V)
108	Pirimicarb(抗蚜威)	4. 7	239. 1	182. 1/137. 1	22/32	130
109	Pirimiphos(嘧啶磷)	9. 6	334. 1	306. 1/198. 1	23/21	160
110	Pirimiphos-methyl(甲基嘧啶磷)	8. 1	306. 1	164. 1/108. 1	30/39	140
111	Pretilachlor(丙草胺)	8. 2	312. 0	252. 1/132. 1	23/63	46
112	Prochloraz(咪酰胺)	7	376. 0	308. 0/70. 0	17/45	66
113	Profenofos(丙溴磷)	8. 2	372. 9	344. 9/302. 9	18/26	140
114	Promecarb(猛杀威)	5. 8	208. 1	109. 0/151. 0	23/13	56
115	Propanil(敌稗)	5. 5	218. 1	162. 1/127. 1	21/33	100
116	Propargite(炔螨特)	9. 9	368. 2	231. 2/175. 1	14/23	60
117	Propetamphos(胺丙畏)	6. 6	282. 0	138. 0/156. 0	25/19	46
118	Propiconazole(丙环唑)	6. 8	342. 1	205. 0/159. 0	25/35	150
119	Propoxur(残杀威)	4. 8	210. 1	168. 1/111. 0	11/19	110
120	Prothiophos(丙硫磷)	11	344. 8	241. 0/132. 9	27/69	36
121	Pyraclostrobin(百克敏)	7. 5	388. 1	296. 1/194. 1	19/17	80
122	Pyridaben(哒螨灵)	10. 7	365. 0	147. 0/309. 0	31/19	66
123	Pyriproxyfen(吡丙醚)	9. 1	322. 1	227. 1/185. 1	21/32	90
124	Quinalphos(喹硫磷)	7. 1	299. 1	271. 0/163. 0	19/33	110
125	RH5849(抑食肼)	5. 2	297. 0	241. 0/105. 0	8/25	60
126	Sulfotep(治螟磷)	7. 6	323. 0	295. 0/170. 9	14/20	130
127	Tau-Fluvalinate(氟胺氰菊酯)	11. 5	520. 1	208. 1/181. 1	23/35	71
128	Tebuconazole(戊唑醇)	6. 2	308. 1	125. 0/70. 0	55/27	170
129	Tebufenozide(抑虫肼)	6. 7	353. 2	297. 2/133. 1	11/25	70
130	Tetramethrin(胺菊酯)	8. 8	332. 0	314. 0/286. 0	12/13	100
131	Thiabendazole(噻菌灵)	3. 5	202. 0	175. 0/131. 1	35/45	160
132	Thiacloprid(噻虫啉)	4. 3	253. 0	186. 0/126. 0	20/30	120
133	Thiamethoxam(噻虫嗪)	3. 6	292. 0	211. 1/181. 1	18/31	90
134	Tolclofos-methyl(甲基立枯磷)	7. 8	301. 0	269. 0/175. 0	23/35	110
135	Tolylfluanid(甲苯氟磺胺)	7. 6	364. 0	238. 0/137. 0	21/38	60
136	Triazophos(三唑磷)	6. 4	314. 1	178. 0/162. 1	29/25	80
137	trichlorfon(敌百虫)	3. 6	256. 9	109. 0/221. 0	25/15	110
138	Tricyclazole(三环唑)	4. 3	190. 0	163. 0/136. 0	28/34	180
139	Trifloxystrobin(肟菌酯)	8. 1	409. 1	206. 1/186. 1	19/18	90
is	Atrazine-d5(ethyl-d5)(氘代莠去津)	5. 1	221. 0	178. 8/101. 1	35/35	100

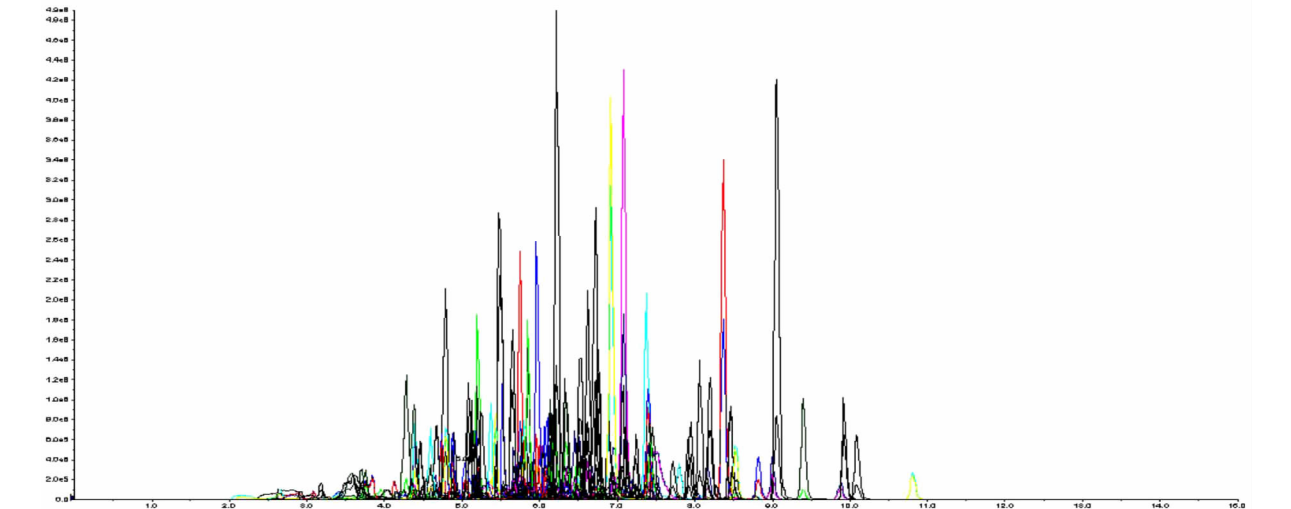


图 1 139 种农药及内标的混合标准品溶液总离子流色谱图

石墨化炭黑 150 mg,无水硫酸镁 900 mg)中,涡旋使
充分混匀,再置振荡器上剧烈震荡(500 次/min)

5 min使净化完全,离心(4 000 r/min)5 min,精密吸
取上清液 5 mL,置氮吹仪上于 40 ℃水浴浓缩至约

0.4 mL,加乙腈定容至1 mL,涡旋使混匀,加入N-丙基乙二胺50 mg、无水硫酸镁150 mg,涡旋60 s使净化完全,离心(4 000 r/min)5 min,取上清液0.5 mL,涡旋混匀,用微孔滤膜(0.22 μm)滤过,取续滤液,即得。

2.4 线性范围和检出限 按照“2.2”项下的方法配置基质标准溶液,进行测定。以各组分的质量浓度为横坐标(X),各组分的峰面积与内标峰面积比为纵坐标(Y),进行回归分析,结果见表2。139种农药在0.005~0.2 mg/kg线性范围内线性关系良好,相关系数(r)均≥0.99。采用在空白丹参基质中添加较低浓度水平的混合标准品溶液的方法,确定

各农药在丹参基质中的最低检出限,本实验是以实际看到峰的最低浓度作为检出限,检出限结果见表2,从表2可得约90%农药的检出限可到达0.005 mg/kg,说明方法的灵敏度高。

2.5 回收率和精密度 将混合标准品储备溶液添加到丹参空白基质中,分别制成质量浓度为10、50、100 μg/kg的加标样品溶液,以“1.3”所述方法进行前处理,一式6份,计算回收率和相对标准偏差(RSD)。3个加标水平下,除了噻菌灵回收率偏低(67.2~67.9),其余农药的平均回收率为70.2%~126.1%,RSD为1.2%~19.5%,数据表明该方法具有良好的适用性,回收率满足农药残留检测要求。

表2 139种农药的检出限、相关系数、加标回收率及精密度

编号	农药品种	检测限 (mg/kg)	r	回收率(RSDs)(%,n=6)		
				0.01 mg/kg	0.05 mg/kg	0.1 mg/kg
1	Acephate(乙酰甲胺磷)	0.005	0.999 5	80.4(4.0)	76.3(4.7)	79.6(6.1)
2	Acetamiprid(啉虫脒)	0.005	0.999 4	96.5(9.7)	103.2(6.4)	107.4(7.7)
3	Alachlor(甲草胺)	0.005	0.999 6	95.4(6.7)	106.9(5.1)	107.1(3.5)
4	Aldicarb(涕灭威)	0.005	0.999 2	100.1(6.6)	75.6(3.6)	70.2(11.1)
5	Aldicarb-sulfone(涕灭威亚砷)	0.005	0.997 7	90.0(7.4)	109.7(4.4)	107.7(5.7)
6	Aldicarb-sulfoxide(涕灭威亚砷)	0.005	0.999 8	86.0(5.1)	114.5(3.1)	108.3(3.2)
7	Allethrin(丙烯菊酯)	0.005	0.999 8	102.9(5.1)	107.2(5.3)	105.6(6.0)
8	Ametryn(莠灭净)	0.005	0.999 6	87.0(5.1)	99.7(4.2)	100.1(5.5)
9	Atrazine(莠去津)	0.005	0.998 3	101.7(7.9)	103.0(5.4)	100.8(5.8)
10	Azinphos-ethyl(益棉磷)	0.005	0.999 7	91.9(10.9)	107.3(4.3)	104.6(8.8)
11	Azinphos-methyl(保棉磷)	0.005	0.999 5	89.6(8.3)	109.6(4.2)	105.9(5.0)
12	Azoxystrobin(腈嘧菌酯)	0.005	0.999 7	94.0(6.1)	108.1(4.3)	106.1(4.8)
13	Benalaxyl(苯霜灵)	0.005	0.999 9	99.0(6.9)	108.4(4.0)	110.2(4.3)
14	Bifenazate(联苯肼酯)	0.005	0.998 9	108.5(8.1)	93.5(5.1)	89.2(5.4)
15	Bitertanol(联苯三唑醇)	0.005	0.999 9	93.5(4.3)	100.8(3.4)	102.6(5.1)
16	Boscalid(啉酰菌胺)	0.005	0.999 5	95.5(9.3)	100.4(7.4)	100.9(4.9)
17	Buprofezin(噻嗪酮)	0.005	0.998 6	84.2(9.1)	103.6(7.7)	106.4(3.7)
18	Butachlor(丁草胺)	0.005	0.998 8	93.7(3.9)	101.7(4.6)	101.2(4.2)
19	Cadusafos(硫线磷)	0.005	0.999 8	92.0(7.7)	107.8(2.8)	108.0(4.8)
20	Carbaryl[西维因(甲萘威)]	0.005	0.998 8	98.8(7.6)	105.0(6.7)	100.0(8.1)
21	carbendazim(多菌灵)	0.01	0.999 4	78.2(2.8)	79.3(6.3)	72.5(7.5)
22	Carbofuran[克百威(呋喃丹)]	0.005	0.999 4	97.9(5.1)	106.9(4.1)	106.4(1.8)
23	carbofuran-3-hydroxy(3-羟基呋喃丹)	0.005	0.999 2	92.5(9.2)	100.8(9.3)	98.6(8.2)
24	Chlorantraniliprole(氯虫酰胺)	0.005	0.999 2	93.6(7.3)	93.5(4.9)	95.5(4.4)
25	Chlorfenvinphos(毒虫畏)	0.005	0.999 5	90.8(8.0)	112.1(2.2)	112.3(3.4)
26	Coumaphos(蝇毒磷)	0.005	0.999 3	80.7(7.7)	93.2(5.1)	95.6(6.8)
27	Cyhalofop-butyl(氰氟草酯)	0.005	0.999 3	101.3(9.1)	102.8(4.9)	109.8(5.1)
28	Cyprodinil(啉菌环胺)	0.005	0.999 6	76.0(4.7)	81.8(3.8)	85.9(6.8)
29	Diazinon(二嗪磷)	0.005	0.999 8	95.8(7.3)	107.0(4.5)	107.9(4.8)
30	Dichlofenthion(除线磷)	0.01	0.998 2	—	100.9(8.2)	107.3(7.9)
31	Dicrotophos(百治磷)	0.01	0.999 3	—	96.3(6.0)	95.1(9.9)
32	Difenoconazole(苯醚甲环唑)	0.005	0.999 8	93.6(9.1)	103.9(4.0)	103.4(5.0)
33	Diflubenzuron(除虫脲)	0.005	0.999 1	89.2(19.5)	95.8(11.5)	101.0(4.6)
34	Dimepiperate(啉草丹)	0.005	0.999 4	91.4(3.5)	107.1(3.7)	105.1(4.4)
35	Dimethoate(乐果)	0.005	0.998 8	100.6(8.1)	108.2(6.4)	107.2(7.6)
36	Diniconazole(烯啶唑醇)	0.05	0.998 8	88.7(7.3)	89.5(5.5)	93.3(4.0)
37	Disulfoton sulfone(乙拌磷磺)	0.005	0.996 6	100.7(13.6)	113.7(1.6)	114.6(1.2)
38	Disulfoton sulfoxide(乙拌磷亚砷)	0.005	0.995 8	99.2(8.0)	115.0(2.6)	115.0(2.5)

续表 2 139 种农药的检出限、相关系数、加标回收率及精密度

编号	农药品种	检测限 (mg/kg)	r	回收率(RSDs) (% , n = 6)		
				0. 01 mg/kg	0. 05 mg/kg	0. 1 mg/kg
39	Edifenphos(克瘟散)	0. 005	0. 999 5	96. 3(6. 5)	114. 9(2. 1)	116. 0(2. 7)
40	EPN(O-ethyl O-(4-nitrophenyl) phenylphosphonothioate) (苯硫磷)	0. 005	0. 999 3	87. 4(9. 9)	107. 7(4. 0)	110. 5(4. 8)
41	Ethion(乙硫磷)	0. 005	0. 998 8	96. 1(8. 9)	124. 8(6. 3)	126. 1(3. 4)
42	Ethoprophos[灭线磷(丙线磷)]	0. 01	0. 999 6	—	107. 7(6. 3)	105. 2(6. 3)
43	Etofenprox(醚菊酯)	0. 005	0. 999 2	92. 6(5. 0)	99. 9(3. 6)	99. 5(4. 1)
44	Etrimfos(乙嘧硫磷)	0. 005	0. 998 1	100. 5(12. 3)	90. 3(7. 9)	100. 7(7. 3)
45	Fenamiphos sulfone(苯线磷砒)	0. 005	0. 999 8	95. 3(6. 4)	107. 4(2. 2)	108. 4(4. 5)
46	Fenarimol(氯苯嘧啶醇)	0. 005	0. 998 6	91. 4(11. 3)	105. 6(4. 8)	102. 8(3. 2)
47	Fenbuconazole(腈苯唑)	0. 005	0. 999 4	95. 8(7. 5)	101. 6(2. 9)	101. 7(4. 3)
48	Fenchlorphos oxon(氧皮蝇磷)	0. 01	0. 993 7	—	106. 3(7. 1)	107. 4(7. 3)
49	Fenpyroximate(唑螨酯)	0. 005	0. 999 9	89. 4(5. 8)	100. 9(4. 6)	101. 8(5. 5)
50	Fensulfothion(丰索磷)	0. 01	0. 999 7	—	107. 6(10. 4)	106. 5(7. 6)
51	Fensulfothion-oxon(氧丰索磷)	0. 005	0. 996 7	89. 1(10. 0)	109. 0(3. 7)	112. 2(4. 5)
52	Fensulfothion-oxon-sulfone(氧丰索磷砒)	0. 01	0. 994 6	—	98. 5(14. 6)	113. 9(3. 4)
53	Fensulfothion-sulfone(丰索磷砒)	0. 01	0. 998 3	—	106. 7(7. 3)	110. 8(5. 9)
54	Fenthion-oxon(氧倍硫磷)	0. 005	0. 997 2	87. 0(8. 5)	74. 7(8. 3)	74. 5(14. 6)
55	Fenthion-oxon-sulfone(氧倍硫磷砒)	0. 005	0. 999 7	96. 6(5. 8)	106. 9(5. 3)	106. 4(6. 5)
56	Fluazifop-P-butyl(精吡氟禾草灵)	0. 005	0. 999 6	93. 3(5. 0)	105. 1(4. 6)	104. 6(4. 7)
57	Flusilazole(氟硅唑)	0. 005	0. 999 4	94. 1(7. 0)	103. 9(4. 1)	106. 0(4. 1)
58	Flutolanil(氟酰胺)	0. 005	0. 999 8	97. 0(6. 2)	108. 3(3. 4)	107. 8(3. 6)
59	Fonophos(地虫硫磷)	0. 005	0. 999 5	92. 0(4. 5)	100. 3(4. 4)	104. 0(4. 7)
60	Fosthiazate(噻唑膦)	0. 005	0. 999 4	92. 7(9. 0)	105. 9(5. 8)	106. 0(4. 5)
61	Furathiocarb(呋线威)	0. 005	0. 999 9	96. 4(6. 2)	104. 2(3. 5)	103. 4(4. 7)
62	Haloxyp(吡氟氯禾灵)	0. 005	0. 996 9	95. 0(14. 4)	109. 0(8. 1)	104. 5(6. 6)
63	Hexaconazole(己唑醇)	0. 01	0. 998 1	—	114. 7(2. 9)	108. 1(5. 8)
64	Hexazinone(环嗪酮)	0. 005	0. 999 3	85. 8(7. 1)	102. 6(3. 7)	100. 2(6. 3)
65	Imazalil(烯菌灵)	0. 005	0. 999 8	86. 8(6. 9)	74. 9(4. 3)	76. 2(5. 3)
66	Imidacloprid(吡虫啉)	0. 005	0. 999 7	89. 7(12. 6)	99. 2(5. 0)	99. 2(6. 9)
67	Indoxacarb(茚虫威)	0. 005	0. 999 5	106. 8(10. 2)	111. 3(5. 0)	112. 0(5. 7)
68	Iprodione(异菌脲)	0. 005	0. 999 8	103. 5(10. 0)	100. 4(6. 9)	104. 3(8. 3)
69	Isazofos(氯唑磷)	0. 005	0. 999 2	83. 3(9. 4)	108. 9(7. 0)	109. 0(3. 8)
70	Isofenphos(异硫磷)	0. 005	0. 999 3	91. 3(8. 0)	113. 1(2. 2)	115. 3(1. 8)
71	Isofenphos-methyl(甲基异柳磷)	0. 005	0. 999 5	96. 9(8. 4)	114. 6(2. 5)	113. 7(1. 7)
72	Isoprocab(异丙威)	0. 01	0. 999 3	—	110. 4(3. 8)	111. 2(4. 7)
73	Isoprothiolane(稻瘟灵)	0. 005	0. 999 6	88. 9(10. 9)	108. 8(4. 6)	109. 8(5. 8)
74	Malaoxon(马拉氧磷)	0. 005	0. 999 3	99. 9(6. 0)	110. 4(3. 7)	109. 2(5. 7)
75	Malathion(马拉硫磷)	0. 005	0. 999 6	90. 8(8. 0)	109. 1(4. 8)	109. 6(4. 6)
76	Mecarbam(灭蚜磷)	0. 005	0. 999 5	97. 1(5. 6)	113. 7(3. 5)	115. 5(2. 1)
77	Mepronil(灭锈胺)	0. 005	0. 999 8	87. 3(5. 5)	106. 5(5. 4)	108. 1(6. 6)
78	Metalaxyl(甲霜灵)	0. 005	0. 999 6	98. 5(5. 7)	108. 9(5. 6)	110. 3(4. 1)
79	Methacrifos(虫螨畏)	0. 005	0. 999 4	91. 4(15. 3)	105. 0(7. 8)	105. 4(7. 8)
80	Methamidophos(甲胺磷)	0. 005	0. 999 0	79. 9(5. 0)	75. 3(3. 4)	77. 3(5. 0)
81	Methidathion(杀扑磷)	0. 005	0. 998 7	85. 6(7. 0)	112. 9(3. 7)	111. 4(5. 6)
82	Methiocarb(灭虫威)	0. 005	0. 996 3	107. 2(7. 4)	96. 3(11. 3)	98. 4(5. 3)
83	Methomyl(灭多威)	0. 005	0. 997 7	76. 7(6. 6)	106. 0(4. 9)	104. 8(7. 4)
84	Methoxyfenozide(甲氧虫酰肼)	0. 005	0. 999 5	93. 7(6. 3)	107. 5(3. 7)	106. 8(4. 5)
85	Metolachlor(异丙甲草胺)	0. 005	0. 999 0	88. 9(11. 5)	107. 5(2. 7)	107. 2(4. 7)
86	Metolcarb(速灭威)	0. 005	0. 998 1	99. 7(4. 7)	108. 8(2. 3)	106. 4(4. 8)
87	Metribuzin(草克净)	0. 005	0. 996 8	93. 3(10. 3)	99. 7(4. 2)	98. 0(6. 4)
88	Mevinphos(速灭磷)	0. 005	0. 998 8	94. 8(7. 9)	95. 7(5. 6)	97. 3(6. 5)
89	Molinate(草达灭)	0. 005	0. 999 0	106. 1(7. 1)	101. 2(5. 9)	98. 6(6. 1)
90	Monocrotophos(久效磷)	0. 005	0. 999 3	86. 1(9. 5)	103. 1(7. 3)	101. 6(6. 8)
91	Myclobutanil(腈菌唑)	0. 005	0. 999 7	89. 1(13. 6)	105. 9(5. 0)	105. 2(5. 4)
92	Napropamide(敌草胺)	0. 005	0. 999 4	101. 3(11. 5)	103. 4(4. 6)	103. 5(3. 4)

续表 2 139 种农药的检出限、相关系数、加标回收率及精密度

编号	农药品种	检测限 (mg/kg)	r	回收率(RSDs) (% , n = 6)		
				0. 01 mg/kg	0. 05 mg/kg	0. 1 mg/kg
93	Omethoate(氧化乐果)	0. 005	0. 999 1	88. 3(5. 4)	83. 7(2. 2)	87. 9(5. 1)
94	Oxadiazon(恶草酮)	0. 005	0. 999 5	87. 3(12. 2)	113. 6(2. 9)	112. 0(3. 3)
95	Oxadixyl(恶霜灵)	0. 005	0. 999 5	91. 4(7. 0)	104. 2(3. 1)	104. 6(7. 4)
96	Oxamyl(杀线威)	0. 005	0. 999 4	84. 8(7. 0)	98. 3(5. 5)	97. 6(4. 8)
97	Paclobutrazol(多效唑)	0. 005	0. 999 6	101. 6(4. 8)	102. 7(2. 7)	102. 8(6. 3)
98	paraoxon-ethyl(乙基对氧磷)	0. 005	0. 999 1	90. 6(11. 8)	108. 6(4. 8)	108. 1(6. 7)
99	Paraoxon-methyl(甲基对氧磷)	0. 05	0. 998 1	96. 8(8. 9)	100. 9(7. 9)	101. 3(10. 0)
100	Phenthoate(稻丰散)	0. 05	0. 999 7	97. 0(12. 5)	106. 9(7. 7)	107. 9(3. 6)
101	Phorate-oxon-sulfone(氧甲拌磷砒)	0. 005	0. 999 8	91. 9(5. 4)	106. 5(5. 1)	105. 5(5. 7)
102	Phorate-sulfone(甲拌磷砒)	0. 01	0. 997 9	—	98. 9(15. 5)	110. 6(4. 3)
103	Phosalone(伏杀硫磷)	0. 005	0. 999 3	100. 2(9. 4)	104. 9(7. 7)	105. 3(5. 1)
104	Phosmet(亚胺硫磷)	0. 005	0. 998 2	96. 4(8. 2)	110. 9(4. 3)	104. 8(6. 2)
105	Phosphamidon(磷胺)	0. 005	0. 999 5	97. 2(5. 6)	105. 1(4. 9)	104. 8(4. 9)
106	Phoxim(辛硫磷)	0. 005	0. 999 4	105. 9(6. 7)	107. 5(4. 1)	109. 0(4. 1)
107	Piperonyl butoxide(胡椒基丁醚)	0. 005	0. 999 4	88. 9(6. 0)	112. 8(2. 3)	113. 9(2. 4)
108	Pirimicarb(抗蚜威)	0. 005	0. 999 2	90. 6(5. 2)	97. 9(3. 5)	97. 6(3. 7)
109	Pirimiphos(嘧啶磷)	0. 005	0. 999 3	94. 0(6. 5)	114. 2(2. 8)	115. 1(3. 0)
110	Pirimiphos-methyl(甲基嘧啶磷)	0. 005	0. 999 8	91. 4(6. 0)	106. 8(4. 9)	110. 6(4. 3)
111	Pretilachlor(丙草胺)	0. 005	0. 999 5	90. 8(7. 4)	112. 2(2. 4)	114. 7(2. 7)
112	Prochloraz(咪唑胺)	0. 005	0. 999 8	92. 6(7. 3)	100. 6(4. 5)	101. 0(3. 4)
113	Profenofos(丙溴磷)	0. 005	0. 999 8	85. 2(11. 6)	108. 9(4. 5)	112. 1(2. 8)
114	Promecarb(猛杀威)	0. 005	0. 999 7	91. 8(6. 2)	109. 5(3. 4)	108. 6(3. 6)
115	Propanil(敌稗)	0. 005	0. 999 0	88. 9(10. 3)	96. 5(9. 0)	97. 4(7. 9)
116	Propargite(炔螨特)	0. 005	0. 999 5	88. 4(6. 8)	109. 1(7. 1)	107. 0(7. 6)
117	Propetamphos(胺丙畏)	0. 005	0. 999 1	94. 5(8. 8)	105. 9(4. 1)	107. 0(4. 9)
118	Propiconazole(丙环唑)	0. 005	0. 998 9	83. 0(9. 4)	102. 8(4. 7)	104. 3(4. 5)
119	Propoxur(残杀威)	0. 005	0. 999 7	109. 1(3. 0)	107. 2(3. 7)	105. 6(7. 9)
120	Prothiophos(丙硫磷)	0. 005	0. 999 8	82. 4(9. 1)	99. 1(7. 0)	99. 6(5. 9)
121	Pyraclostrobin(百克敏)	0. 005	0. 999 7	88. 9(6. 5)	100. 3(4. 2)	101. 0(4. 8)
122	Pyridaben(哒螨灵)	0. 005	0. 999 6	87. 7(4. 9)	101. 3(2. 9)	101. 0(5. 5)
123	Pyriproxyfen(吡丙醚)	0. 005	0. 999 9	91. 6(5. 2)	103. 4(4. 8)	103. 6(5. 1)
124	Quinalphos(喹硫磷)	0. 005	0. 999 2	94. 6(3. 4)	97. 9(4. 1)	100. 2(5. 3)
125	RH5849(抑食肼)	0. 005	0. 999 2	97. 4(8. 1)	103. 7(6. 3)	106. 3(5. 3)
126	Sulfotep(治螟磷)	0. 005	0. 999 6	101. 9(8. 5)	113. 0(2. 3)	114. 1(3. 5)
127	Tau-Fluvalinate(氟胺氰菊酯)	0. 005	0. 999 3	91. 1(12. 3)	102. 8(3. 1)	107. 1(5. 2)
128	Tebuconazole(戊唑醇)	0. 005	0. 999 4	110. 4(10. 2)	102. 6(6. 3)	102. 8(5. 4)
129	Tebufenozide(抑虫肼)	0. 005	0. 999 8	95. 1(6. 6)	109. 9(2. 8)	108. 7(4. 0)
130	Tetramethrin(胺菊酯)	0. 005	0. 998 7	88. 7(11. 5)	103. 8(5. 5)	105. 3(4. 9)
131	Thiabendazole(噻菌灵)	0. 005	0. 997 7	67. 2(1. 3)	67. 4(4. 4)	67. 9(7. 7)
132	Thiacloprid(噻虫啉)	0. 005	0. 998 8	86. 8(4. 6)	111. 0(4. 6)	106. 8(3. 0)
133	Thiamethoxam(噻虫嗪)	0. 005	0. 997 1	86. 0(9. 2)	110. 6(5. 9)	108. 8(3. 1)
134	Tolclofos-methyl(甲基立枯磷)	0. 01	0. 997 7	—	98. 7(5. 6)	103. 4(5. 0)
135	Tolylfluaniid(甲苯氟磺胺)	0. 005	0. 997 4	101. 7(10. 9)	105. 1(6. 5)	102. 2(5. 5)
136	Triazophos(三唑磷)	0. 005	0. 999 1	94. 9(8. 1)	104. 5(4. 3)	103. 0(5. 9)
137	trichlorfon(敌百虫)	0. 005	0. 999 6	92. 4(5. 4)	97. 7(7. 9)	101. 4(9. 6)
138	Tricyclazole(三环唑)	0. 005	0. 999 7	77. 1(7. 3)	84. 6(3. 4)	83. 7(5. 9)
139	Trifloxystrobin(肟菌酯)	0. 005	0. 999 7	93. 9(7. 1)	114. 0(2. 7)	114. 1(2. 8)

2. 6 样品测定结果 采用所建立的分析方法对 9 批丹参药材进行农药残留检测,样品测定结果见表 3。

3 讨论

3. 1 检测农药品种的选择 根据我国中药材中农

药的施用情况,并参照国内外农药残留监测动向,依据以下原则选择检测农药的品种:国内国际禁限用农药品种的名单;在我国有关部门登记常用农药中毒性较大,对人类存在“三致”危险的农药;我国食品国家标准(GB)中监控的农药,且毒性较大的农

药;美国、欧洲等各国药典针对植物药的农药残留监控的品种。根据以上原则筛选的农药品种再结合液相色谱串联质谱分析的特点,最终选择检测农药为 139 种。

表 3 样品测定结果

编号	检出农药	检出量 (mg/kg)
1	多菌灵	0.078
2	多菌灵	0.009
3	多菌灵	0.009
4	啶虫脒	0.006
5	—	—
6	多菌灵	0.047
7	—	—
8	多菌灵	0.139
	吡虫啉	0.011
9	多菌灵	0.032

注:“—”为未检出

3.2 提取方法的优化

3.2.1 提取方式的选择 选用丹参阳性样品(检出多菌灵),分别采用加水浸泡后提取的改良 QuEChERS 法与直接用乙腈提取的匀浆法提取,实验发现改良 QuEChERS 法的药材溶胀率为匀浆法的 3 倍左右,且改良 QuEChERS 法的提取效率明显高于匀浆法,这是由于中药材丹参含水量较少,直接使用有机溶剂难以有效提取目标分析物;而加水溶胀后提取溶剂可渗入细胞及组织内部,提高提取效率,故最终采用改良 QuEChERS 法提取。

3.2.2 提取溶剂的选择 目前,农药多残留检测常用的提取溶剂有乙酸乙酯、丙酮和乙腈。乙酸乙酯由于与水不互溶,不易渗入植物细胞,不利于农药萃出。本研究比较了丙酮、乙腈 2 种提取溶剂,结果显示(图 2),丙酮提取液的颜色远深于乙腈,说明提取液中共萃物的杂质较多,对后续净化与分析过程产生不利影响,且丙酮的沸点较低,易于挥发,提取时易造成提取溶剂的体积变化;而乙腈适合的农药极性范围较广,可以有效萃取丹参中的农药残留同时减少糖类、色素与脂肪类成分等共萃物的提取,故而选用乙腈作为提取溶剂。

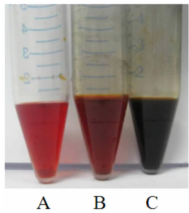


图 2 不同提取溶剂的比较

注:A:1% 醋酸-乙腈(盐析剂:醋酸钠);B:水-乙腈(盐析剂:氯化钠);C:水-丙酮

3.2.3 浸泡时间的考察 本实验考察了不同浸泡时间对提取效率的影响。选用丹参阳性样品(检出多菌灵)加水分别浸泡 0.5、1、3 h,然后加乙腈振荡提取。结果可见,不同浸泡时间对于阳性样品表现出一致的提取效率,说明浸泡 0.5 h 即可将残留农药提取完全,故最终确定浸泡时间为 0.5 h。

3.2.4 盐析剂的选择 QuEChERS 法中盐析剂的使用可以促进目标化合物由水相分配至有机相中。本实验比较了 NaCl 和 NaAc 2 种盐析剂,实验发现 2 种盐析剂对农药回收率的影响没有明显的区别,平均回收率分别为 102.7% 和 98.3%。但在提取液中加入 NaAc,可以使提取液形成 HAc-NaAc 缓冲系统,保证萃取液的 pH 值稳定在 4~5 之间,从而减少或防止在碱性或中性环境中不稳定农药的降解,提高了方法的适用范围;且采用 NaAc 作为盐析剂的提取液颜色明显浅于 NaCl(图 2),说明其中色素等共提取较少,故最终选择 NaAc 作为盐析剂。

3.3 净化条件的优化

3.3.1 净化方法的选择 目前,农药多残留的常用净化方法有固相萃取法(SPE)和分散固相萃取法(d-SPE)。本实验比较了固相萃取法(C18 柱/500 mg、GCB/PSA 串联柱/400 mg/400 mg/)、一次分散固相萃取净化法(Florisl/300 mg、C18/300 mg、PSA/300 mg、GCB/150 mg、无水硫酸镁/900 mg)、二次分散固相萃取净化法(①Florisl/300 mg、C18/300 mg、PSA/300 mg、GCB/150 mg、无水硫酸镁/900 mg②PSA50 mg,无水硫酸镁 150 mg)。通过比较净化液的颜色深浅来评价净化效果,实验发现二次 d-SPE 净化法效果最佳,SPE 法次之,一次 d-SPE 净化法稍差;并且二次 d-SPE 法较 SPE 法操作简便,重复性好,溶剂用量少,耗时短,故本实验选择二次 d-SPE 净化法作为净化方法。

3.3.2 净化材料的优选

3.3.2.1 一次净化材料的选择 针对丹参基质主要含有脂溶性色素类、水溶性酚酸类、黄酮类、三萜类和甾醇类等干扰成分。本实验比较了 C18、PSA、Florisl、Silica、GCB 和 Chlorofiltr 等六种净化材料。其中 GCB 与 Chlorofiltr 均可用于除去基质中的色素类杂质,但 GCB 的净化效果明显好于 Chlorofiltr,且用量较少,故选择 GCB 作为净化材料;Florisl 和 Silica 均可用于除去羟基类及含杂原子或杂环化合物的极性干扰物,但 Florisl 的净化效果较好,故选择 Florisl 作为净化材料;C18 可去除丹参基质中的脂类和甾醇类干扰成分;PSA 可去除与 GCB 不同的有

机酸和极性色素类干扰成分。故最终优选 GCB、C18、PSA 及 Florisil 作为净化材料,4 种净化材料具有不同的净化机理,一次净化,可去除多种干扰成分。

3.3.2.2 二次净化材料的选择 针对丹参中色素类干扰成分多的特点,选择了 GCB、PSA 和 Florisil 3 种净化材料进行考察,实验发现 GCB/15 mg 与 PSA/50 mg 净化效果相当,Florisil/50 mg 稍差;由于 GCB 对个别含平面及对称结构的农药有一定的吸附作用,故最终选择 PSA/50 mg 作为二次净化的净化材料。

3.3.3 净化材料配比的考察

3.3.3.1 GCB 用量的考察 GCB 虽然可以有效地去除色素,但由于其表面的正六元环结构会吸附一些平面及对称结构的农药(如多菌灵、蝇毒磷、噻菌环胺、噻菌灵、三环唑等),导致这些组分回收率降低。所以 GCB 用量要根据基质所含色素干扰成分的多少决定,使其既能起到净化作用又不降低这类农药的回收率。本实验对不同用量的 GCB 进行了考察,由图 3 可见多菌灵、蝇毒磷等 5 种农药随着 GCB 用量的增加,回收率逐渐减小;当 GCB 用量为 150 mg 时,回收率符合要求,所以确定 GCB 的用量为 150 mg。

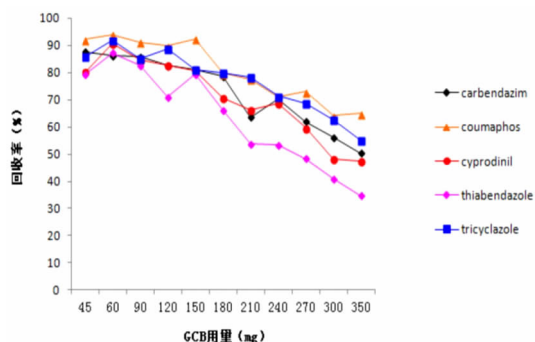


图3 不同用量 GCB 净化对农药回收率的影响

3.3.3.2 PSA、C18、Florisil 用量的考察 在石墨化炭黑用量确定的基础上,对 PSA、C18 和 Florisil 3 种净化材料的用量进行考察。采用紫外光谱扫描,分别比较了 3 种净化材料的用量为 300 mg、600 mg、900 mg 时的净化效果,实验发现随着 Florisil、C18 用量的增加,对丹参提取液的净化效果没有明显的提升;而随着 PSA 用量的增加,对丹参提取液的净化效果提升明显,故确定增加 PSA 的用量。

考察了 PSA 的用量对农药回收率的影响,实验发现增大 PSA 用量,虽然净化效果明显,但对部分农药的回收率产生影响,不能满足检测要求;而当 PSA 用量为 600 mg 时,各农药的回收率最佳,因此

最终确定净化材料的配比为 Florisil/300 mg, C18/300 mg, PSA/600 mg, GCB/150 mg, 无水硫酸镁/900 mg。

3.4 基质效应的评价 基质效应是指基质中共提取干扰物影响目标化合物的离子化,从而使化合物在仪器上的响应发生增强或抑制。因此,需要对目标化合物的基质效应进行评价,并根据评价结果选择适合的方法对基质效应进行抵消。本试验通过测定溶剂标准溶液和基质标准溶液,分别建立标准曲线,比较两条标准曲线斜率的差异,从而判断基质效应的强弱,计算公式如下:基质效应 = [(基质匹配标准曲线的斜率/溶剂标准曲线的斜率) - 1] × 100%。实验发现,139 种农药中,仅 16 种农药的基质效应不明显(±30%),其余 123 种农药均产生中等和较强的基质抑制效应(<-30%)。由于基质抑制效应明显,最终采用基质匹配内标标准曲线法对样品中的农药残留进行定量,以抵消基质效应的影响。

3.5 丹参检测结果分析 9 批丹参药材中有 7 批检出 1~2 种农药,检出率为 78%;检出农药分别为多菌灵、吡虫啉、啶虫脒;且有 6 批药材均检出多菌灵,提示多菌灵为丹参种植常用农药,需加强丹参中多菌灵的监测。

本研究采用改良的 QuEChERS 提取,针对丹参基质研发的二次分散固相萃取法净化,建立了液相色谱-串联质谱同时测定丹参中 139 种农药残留的分析方法。该方法样品前处理简单,灵敏度、准确性均能满足农药残留检测要求,为中药材丹参中多类农药残留的快速筛查、风险评估等研究提供了一种高效、可靠的分析手段。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 76-77.
- [2] 苗水, 郑征伟, 毛秀红, 等. 气相色谱串联质谱法同时测定黄芪中 238 种农药残留[J]. 中国药理学杂志, 2012, 47(4): 303-310.
- [3] 李继革, 施家威, 王玉飞. 固相萃取-气相色谱-串联质谱法测定纹股蓝中 75 种农药残留[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(19): 2746-2753.
- [4] 刘运明, 李放. 固相萃取-气相色谱同时测定含西洋参保健食品中 18 种有机氯农药残留[J]. 江苏预防医学, 2017, 28(6): 706-707, 710.
- [5] 吴丽苹, 曾宪录, 卢任杰, 等. SPME-GC-MS 法测定人参中 6 种有机氯农药残留[J]. 食品工业, 2018, 39(1): 286-289.
- [6] 何曼莉, 谢建军, 陈捷, 等. 凝胶渗透色谱-固相萃取-气相色谱法同时测定药食两用中药材中 17 种有机氯类农药残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(3): 893-901.

(下接第 797 页)

素含量则符合药典规定限量。针对总胆红素, 中华人民共和国药典 2015 年版一部中“人工牛黄”胆红素含量限度为“按干燥品计算, 含胆红素($C_{33}H_{36}N_4O_6$) 不得少于 0.63%”, 水分限度为不得过 5.0%, 方法同为紫外—可见分光光度法。按人工牛黄中牛黄处方量, 及液相与紫外—可见分光光度法的差异本品理论含量限度应为每 g 不少于 71.4 μg 胆红素(人工牛黄)。考虑到原料制成制剂的损失, 且胆红素易分解, 以理论量的 70% 制订含量限度。即“本品每 g 含人工牛黄以胆红素计, 不得少于 45 μg ”。含人工牛黄的 3 批样品含量均未达到限度。对于体外培育牛黄, 根据中华人民共和国药典有关含量限度, 含体外培育牛黄的 4 批样品含量均符合规定。

人工牛黄投料的小儿化毒散中总胆红素以及部分胆红素的含量远低于体外培育牛黄投料制剂, 因此人工牛黄对雄黄的减毒作用及其本身的药效都不及体外培育牛黄。考虑到处方中含有雄黄, 又是小儿用药, 故建议将中华人民共和国药典中“小儿化毒胶囊(散)”处方中的人工牛黄重新改为牛黄(包括天然牛黄及体外培育牛黄)。

本研究建立的方法可快速、准确测定“小儿化毒胶囊(散)”中的游离胆红素、总胆红素和部分胆红素, 可以有效区分所投牛黄是人工牛黄还是体外培育牛黄, 并进一步对投料牛黄进行质量评价, 为其他含牛黄的中药制剂的质量控制提供借鉴。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年[S]. 1 部.

- [2] 赵姗姗, 罗定强, 吴芳, 等. 高效液相色谱法测定小儿化毒胶囊人工牛黄中胆红素含量[J]. 中国药业, 2018, 27(6): 11-13.
- [3] 张力, 高思华, 周超凡, 等. 从牛黄解毒片(丸)看含砷中成药的安全性问题[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 2010-2013.
- [4] 郭娟. 中成药牛黄解毒丸(片)的不良反应[J]. 中国医药指南, 2013, 11(32): 192-193.
- [5] 郭集军, 潘金城. 长期服用牛黄解毒片致慢性砷中毒及黑皮病 1 例报告[J]. 中国职业医学, 2003, 30(2): 7.
- [6] 汤毅珊, 王宁生. 安宫牛黄丸中配伍药物对雄黄可溶性砷含量的影响[J]. 现代食品与药物杂志, 2006, 16(3): 4-7.
- [7] 冯承阳, 张程亮, 刘东. 牛黄的现代研究(二): 质量控制[J]. 医药导报, 2017, 36(2): 117-122.
- [8] ZAHIR F, RABBANI G, KHAN R H, et al. The pharmacological features of bilirubin; the question of the century[J]. Cell Mol Biol Lett, 2015, 20(3): 418-447.
- [9] JANGI S, OTTERBEIN L, ROBSON S. Themolecular basis for the immunomodulatory activities of unconjugated bilirubin[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2013, 45(12): 2843-2851.
- [10] 郑文杰, 杨芳, 曾鑫华. 胆红素的结构、发光与配位化学[J]. 暨南大学学报, 2000, 21(5): 57-64.
- [11] 曹帅, 夏晶, 杨新华, 等. 3 种牛黄及安宫牛黄丸中总胆红素含量测定方法的优化[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(2): 329-334.
- [12] 郝博, 曹帅, 夏晶, 等. 大活络丸及其同系列品种中牛黄的质量分析研究[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(8): 1470-1475.
- [13] 郝博, 曹帅, 夏晶, 等. 六应丸中牛黄品种和质量控制方法的研究[M]. 中国药品标准, 2016, 17(2): 99-102.
- [14] 曹帅, 夏晶, 钟吉强, 等. 牛黄及安宫牛黄丸中游离胆红素的 RP-HPLC 测定方法改进[J]. 中成药, 2014, 36(3): 536-540.
- [15] 夏晶, 曹帅, 沙祎炜, 等. 天然牛黄和体外培育牛黄中不同胆红素含量及比例的初步探究[J]. 中国药理学杂志, 2017, 52(11): 971-977.
- [16] 夏晶, 曹帅, 杨新华, 等. 安宫牛黄丸中牛黄的质量分析和研究对策[J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(23): 2048-2055.

(2019-03-10 收稿 责任编辑: 徐颖)

(上接第 792 页)

- [7] 梁利鹏, 丁辉, 余河水, 等. QuEChERS 法结合气相色谱-质谱快速测定人参中 33 种农药残留[J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19(9): 63-67.
- [8] 王建国, 魏玉霞, 王芳, 等. 气相色谱-三重四级杆串联质谱法快速检测中草药中 85 种农药残留[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(3): 324-330.
- [9] 李妮娜, 王举涛. 气相色谱法对丹参中有机氯农药残留的分析研究[J]. 安徽医药, 2015, 19(4): 656-659.
- [10] 沈廷明, 刘知远, 吴仲玉, 等. 气相色谱法测定金钱莲中六六六和滴滴涕农药残留[J]. 中草药, 2016, 47(22): 4082-4084.
- [11] 陆继伟, 苗水, 毛秀红, 等. 固相萃取-气相色谱双塔双柱法同时测定中药材中 53 种有机磷类农药残留量[J]. 中成药, 2010, 32(1): 94-99.
- [12] 刘洪波. 气质联用测定杭白菊等 3 种中药中 5 种拟除虫菊酯类农药残留[J]. 浙江农林大学学报, 2015, 32(1): 110-115.
- [13] 林林, 刘广桢, 穆向荣, 等. 气相色谱-质谱法测定瓜蒌中的 70 种农药残留[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(9): 1217-1221.
- [14] 苗水, 郑延伟, 毛秀红, 等. 液相色谱-串联质谱法同时测定穿心

- 莲中敌克松、甲基托布津、甲萘威和敌百虫的农药残留量[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(3): 529-533.
- [15] 田绍琼, 毛秀红, 苗水, 等. 气相色谱-串联质谱法测定人参与黄芩中 7 种毒杀芬残留量[J]. 色谱, 2012, 30(1): 14-20.
- [16] 程志, 张蓉, 刘韦华, 等. 气相色谱-串联质谱法快速筛查测定中药材中 144 种农药残留[J]. 色谱, 2014, 32(1): 57-68.
- [17] 王建国, 万丽葵, 魏玉霞, 等. 气相色谱-串联质谱同位素内标法测定中草药中 124 种农药及其代谢物残留[J]. 分析试验室, 2017, 36(2): 220-225.
- [18] 刘银, 龚婧如, 毛秀红, 等. 高效液相色谱-质谱联用法测定白芍药材中 23 种农药残留[J]. 农药学报, 2011, 13(5): 496-502.
- [19] 林涛, 陈兴连, 姚清华, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定金银花中 77 种农药残留[J]. 分析试验室, 2018, 37(9): 1037-1044.
- [20] 俞建忠, 苍涛, 戴芬, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定浙贝母中 6 种农药残留[J]. 农药学报, 2018, 20(3): 370-376.
- [21] 黄莉莉, 李丽莉, 罗轶, 等. LC-MS/MS 法测定桑叶药材中 100 种农药残留量[J]. 中国药房, 2016, 27(15): 2122-2126.
- [22] 郑尊涛, 龚勇, 孙丰收, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定枸杞中 24 种农药残留[J]. 农药, 2018, 57(11): 826-828, 839.

(2019-03-10 收稿 责任编辑: 徐颖)