

引用:杨琴,刘明容,蒲雪,王芯.QuEChERS结合在线GPC-GC-MS/MS法测定川牛膝中24种农药残留[J].中医导报,2023,29(1):55-60.

QuEChERS结合在线GPC-GC-MS/MS法 测定川牛膝中24种农药残留*

杨 琴,刘明容,蒲 雪,王 芯
(乐山市中医医院,四川 乐山 614000)

[摘要] 目的:建立QuEChERS结合在线凝胶渗透色谱-气相色谱-串联质谱法(GPC-GC-MS/MS)测定川牛膝中24种农药残留的方法。方法:粉碎混匀后的川牛膝样品经乙腈提取,采用QuEChERS净化处理,以在线凝胶渗透色谱气质联用法进行分析,用农药残留的特征碎片离子建立气质联用检测条件,采用内标法定量。结果:在0.0~0.5 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内,线性关系良好,24种农药残留检测限范围为0.001~0.008 mg/kg,定量限为0.003~0.020 mg/kg,回收率为68.4%~111.9%,相对标准偏差为0.7%~8.8%。结论:该方法操作简便、批量处理时间短、定性定量准确、灵敏度高,适合道地药材川牛膝中农药残留的检测。

[关键词] 川牛膝;农药残留;QuEChERS;在线凝胶色谱;气质联用

[中图分类号] S481+.8 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2023)01-0055-06

DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2023.01.010

Determination of 24 Pesticides in Chuan Niuxi (Cyathulae Radix) by QuEChERS-Online Gel Permeation Chromatography Coupled with Gas Chromatography-Mass Spectrometry

YANG Qin, LIU Mingrong, PU Xue, WANG Xin

(The Hospital of Traditional Chinese Medicine of Leshan, Leshan Sichuan 614000, China)

[Abstract] Object: A method for the simultaneous determination of 24 pesticides in Chuan Niuxi (Cyathulae Radix) by QuEChERS coupled with online gel permeation chromatography-gas chromatography-mass spectrometry (GPC-GC-MS/MS) was developed. Methods: Chuan Niuxi (Cyathulae Radix) powder was extracted with acetonitrile and purified by QuEChERS method. The identification and quantification were performed by GPC-GC/MSMS in MRM mode and internal standard method, to evaluate the method from the recovery, precision, detection limit and actual samples respectively. Results: The linear relationship was good with the mass concentration range from 0.0 $\mu\text{g/mL}$ to 0.5 $\mu\text{g/mL}$. The average recoveries of pesticide residues in Chuan Niuxi (Cyathulae Radix) ranged from 68.4% to 111.9% at different spiked levels with relative standard deviation between 0.7% to 8.8%. The limits of detection of the method was 0.001-0.008 mg/kg and the limit of quantitation was 0.003-0.020 mg/kg. Conclusion: The method is easy to operate, short in batch processing time, accurate in qualitative and quantitative analysis, and high in sensitivity. It is suitable for the determination of pesticide residues in Chuan Niuxi (Cyathulae Radix).

[Keywords] Chuan Niuxi (Cyathulae Radix); pesticides residues; QuEChERS; GPC; GC-MS/MS

道地药材是具有中国特色、根植于中医药理论体系、来源于生产和用药实践、世人所公认的特定产区名优正品药材的代名词。川牛膝作为著名川产道地药材之一,药用历史悠久^[1]。川牛膝为苋科植物川牛膝(*Cyathula officinalis Kuan*)的干燥根,现收载于2020年版《中华人民共和国药典》(一部);其味甘、微苦,性平,归肝、肾经,具有逐瘀通经、通利关节、利

尿通淋之功^[2]。滕利等^[3]从川牛膝分离纯化15个化合物。马笃军等^[4]以兔骨关节炎模型从现代医学的角度验证了川牛膝功效成分。然而随着时代变迁,川牛膝也存在着品种混乱、应用不当、质量标准低等现状^[5]。

由于农药使用不当和生产环境污染等因素,中药材中农药残留已经成为一个不容忽视的问题^[6]。王莹等^[7]建立了符合

*基金项目:乐山市科学技术局重点研究项目(22SZD124)

中药使用特点的农药残留风险评估体系,形成了风险评估的指导原则,用以开展中药中农药残留风险评估工作。高岩等^[8]对全国中药资源普查女贞子样品中农药残留进行分析,检测出5种农药残留。农药残留进入人体蓄积后会导致多种疾病,如引发心肌炎^[9]、危害神经系统、损伤内脏^[10]。此外,为了推动中药材的国际化,将中医药产业推向世界,中药材的质量标准和检测水平需要不断提高^[11]。

检测中药材农药残留的方法较多,如张慧等^[12]建立了液质联用法分析牛膝饮片中农药残留。此外,目前还有气相色谱法、液相色谱法、毛细管电泳法^[13]、气质联用法^[14]、拉曼光谱法^[15]等方法。电化学法^[16]和酶联免疫法应用范围较少,同时存在假阳性和假阴性的缺点,还在进一步完善中;色谱类仪器因为价格较低、普及比较广泛,但定性能力较差;气质联用法和液质联用法被国家标准和药典采用的越来越多,有高通量^[17]、定性能力强^[18]、灵敏度高^[19]等诸多优点。本研究选取大多为中高毒性和使用率较高的农药作为考察对象,建立QuEChERS结合在线凝胶渗透色谱-气相色谱-串联质谱法(GPC-GC-MS/MS)测定川牛膝中24种农药残留的方法,旨在为中药材的生产与质量控制提供一定的数据基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器 在线GPC-GC-MS/MS系统(岛津中国有限公司,型号:TQ-8040);垂直振荡器[睿科集团(厦门)股份有限公司,型号:V12];高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司,型号:CHT210R);电子天平(德国赛多利斯集团,型号:BSA224S);氮吹仪(广州得泰仪器科技有限公司,型号:MFV-12);刀式研磨仪(北京格瑞德曼仪器设备有限公司,型号:HM300)。

1.2 材料 敌敌畏(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-2298-2016, 有效期:2022年12月20日)、灭线磷(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-1877-2016, 有效期:2022年12月20日)、甲拌磷(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-2294-2016, 有效期:2022年12月20日)、乐果(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-2286-2016, 有效期:2023年6月27日)、氯唑磷(100 μg/mL, 1 mL, 批号:SB05-116-2008, 有效期:2022年12月20日)、马拉硫磷(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-2293-2016, 有效期:2022年12月20日)、毒死蜱(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-1869-2016, 有效期:2022年12月20日)、水胺硫磷(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-2332-2016, 有效期:2022年12月20日)、甲基异柳磷(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-2335-2016, 有效期:2022年12月20日)、氟虫腈(100 μg/mL, 1 mL, 批号:SB05-071-2008, 有效期:2022年12月20日)、腐霉利(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-2338-2016, 有效期:2022年12月20日)、杀扑磷(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-2295-2016, 有效期:2022年12月20日)、丙溴磷(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-2640-2010, 有效期:2022年12月20日)、三唑磷(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-2650-2010, 有效期:2022年12月20日)、戊唑醇(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-2643-2010, 有效期:2022年12月20日)、氟环唑(100 μg/mL, 1 mL, 批号:SB05-336-2016, 有效期:2023年6月26日)、联苯菊酯(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-2333-2016, 有效期:2022年12月20日)、甲

氰菊酯(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-2306-2016, 有效期:2022年12月20日)、氯氟氰菊酯(100 μg/mL, 1 mL, 批号:SB05-422-2018, 有效期:2023年4月22日)、哒螨灵(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-2658-2010, 有效期:2023年6月26日)、腈苯唑(100 μg/mL, 1 mL, 批号:SB05-150-2008, 有效期:2023年6月26日)、氯氰菊酯(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-2308-2016, 有效期:2022年12月20日)、氰戊菊酯(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-2307-2016, 有效期:2022年12月20日)、溴氰菊酯(100 μg/mL, 1 mL, 批号:GSB05-2310-2016, 有效期:2022年12月20日)均购自农业农村部环境保护科研监测所。环氧七氯B对照品(100 μg/mL, 1 mL, 批号:G21120231, 有效期:2023年3月1日)购自北京坛墨质检科技股份有限公司。

乙腈、丙酮、环己烷均为色谱纯,购自百灵威科技有限公司。无水硫酸镁、无水乙酸钠均为优级纯,购自成都科龙化工试剂厂。N-丙基乙二胺(PSA)、十八烷基硅烷键合硅胶、硅胶、石墨化炭黑(GCB)均购自上海安谱实验科技股份有限公司。

川牛膝样品均购于乐山市各区县药店及中药材公司。经李佳霖副主任中药师鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 气相色谱质谱条件 (1)进样口:280 ℃,不分流(PTV进样)。(2)毛细管柱:Rtx-5silMS(30 m×0.25 mm, 0.25 μm),柱温采用梯度升温,起始温度40 ℃(保持1 min),以25 ℃/min升至130 ℃,以10 ℃/min升至270 ℃(保持15 min)。(3)线速度:70 cm/s。(4)载气:高纯氮气,纯度大于99.999%。(5)溶剂延迟:9.5 min;离子源为EI源,温度220 ℃;MS接口温度为260 ℃。(6)PTV进样口温度程序:初始温度120 ℃,保持5 min,然后以100 ℃/min升温至250 ℃,保持27.5 min。(7)进样口压力程序:初始压力120 kPa,以100 kPa/min升压至180 kPa,保持4.4 min,然后以49.8 kPa/min降压至120 kPa,保持27.6 min。(8)隔垫吹扫程序:初始流量5.0 mL/min,进样采集后以10 mL/min的速度降低至0 mL/min,保持6 min,然后以10 mL/min的速度升至5 mL/min,保持5 min。(9)GPC条件。色谱柱:Shodex CLNpak EV-200(2.1 mm×150 mm, 16 μm);流动相:丙酮-环己烷[V(丙酮):V(环己烷)=3:7];流速:0.1 mL/min;柱温:40 ℃;进样量:10 μL。在线式凝胶色谱时间控制程序见表1。

表 1 在线式凝胶色谱时间控制程序

时间(min)	对象	事件
0.01	Option Box vp	Valve A Position 0
0.01	Option Box vp	Valve B Position 0
3.67	Option Box vp	Valve A Position 1
4.27	控制器	Event 1
5.67	Option Box vp	Valve A Position 0
5.87	Option Box vp	Valve B Position 1
8.55	Option Box vp	Degassing Unit State Operate
8.65	Option Box vp	Degassing Unit State OFF
8.67	Option Box vp	Valve B Position 0
8.67	控制器	Stop

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液的制备 取24种对照品各1支,准确

移取1 mL,用丙酮-环己烷[V(丙酮):V(环己烷=3:7)]稀释定容至10 mL混匀,配制质量浓度为10 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品储备溶液,冷藏备用。按照样品制备处理方法,提取空白基质溶液,用于不同浓度对照品系列工作溶液的配制。

2.2.2 供试品溶液的制备 取供试品,用研磨机制成细粉,精密称取3 g于50 mL带盖离心管中,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,涡旋使混匀,置振荡器上剧烈振荡5 min, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷冻10 min。加入无水硫酸镁与无水乙酸钠的混合粉末(质量比为4:1)7.5 g,立即摇散,在振荡器上剧烈振荡3 min,于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷却5 min,离心(6 000 r/min)5 min,移取7 mL上层溶液,置于已预先装有净化材料的离心管中[无水硫酸镁900 mg, N-丙基乙二胺(PSA)300 mg,十八烷基硅烷键合硅胶300 mg,硅胶300 mg,石墨化炭黑(GCB)90 mg],涡旋使充分混匀,再置于振荡器上剧烈振荡(500次/min)5 min使净化完全,离心(6 000 r/min)5 min,精密吸取上清液5 mL,置于氮吹仪上用 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴浓缩至约0.2 mL,加乙腈定容至1 mL,再加入20 μL 环氧七氯B作为内标,涡旋混匀,用微孔滤膜(0.22 μm)滤过,滤液上机测定。

2.3 前处理及质谱条件的优化 农药残留的检测经常采用正己烷、丙酮、乙腈、乙酸乙酯作为提取溶剂,但丙酮有机相与水相不易分开,乳化现象严重,同时丙酮目前为管制试剂,故不予以考虑。在同样的条件下,本试验采用正己烷、乙腈、

乙酸乙酯对目标成分进行提取。结果表明:正己烷对有机氯菊酯类农药有较好的回收率;乙酸乙酯对各农药残留提取率一般,回收率不稳定;乙腈对各成分均有较好的回收率,得到的溶液颜色也最浅。本研究综合考虑将乙腈作为提取试剂。加入冰醋酸水溶液一方面可以将供试品充分浸润,有利于乙腈的渗透,另一方面酸性条件下也使得农药更为稳定可防止其降解。各种填料净化剂GCB、 C_{18} 和PSA的使用,可以有效吸附非极性杂质、色素、糖、脂肪等,减少基质效应对气质联用仪的污染,提高检测的灵敏度。在建立气质联用方法时本研究选择农药残留离子碎片中质荷比大,响应高的离子进行二次碎裂,得到定性定量离子对。24种农残保留时间和质谱参数见表2。以环氧七氯B作为内标,进一步校正各种误差对测定结果带来的影响,可保证结果的准确、可靠。

2.4 在线式凝胶色谱与QuEChERS方法的比较 经QuEChERS方法提取净化后的溶液颜色深浅不一,说明仍然有干扰物存在于溶液中,也直接导致了较为明显的基质效应。在线式凝胶渗透色谱的原理主要根据不同化合物分子量的大小进行分离,通过仪器的时间程序控制可以精确的将农药残留目标成分与提取液中的油脂、色素、糖类等大分子物质分离。质谱扫描图显示,经过在线凝胶渗透色谱再次净化后,相比单一的QuEChERS方法,色谱图基线更加平滑,杂峰明显减少,降低了分析背景,灵敏度进一步得到了提高。(见图1~2)

表2 农药残留保留时间和质谱参数

农药名称	保留时间(min)	定量离子对(m/z)	定量离子碰撞电压(V)	定性离子对(m/z)	定性离子碰撞电压(V)
敌敌畏	10.471	109.0>79.0	8	185.0>93.0	14
灭线磷	14.484	200.0>158.0	6	158.0>97.0	18
甲拌磷	15.107	260.0>75.0	8	231.0>129.0	24
乐果	15.458	125.0>47.0	14	125.0>79.0	8
氯唑磷	16.327	257.0>162.0	6	257.0>119.0	14
马拉硫磷	17.829	173.1>99.0	14	173.1>127.0	6
毒死蜱	17.983	196.9>168.9	14	313.9>257.9	14
水胺硫磷	18.209	289.1>136.0	14	230.0>212.0	10
甲基异柳磷	18.515	199.0>121.0	14	241.1>121.1	22
氟虫腈	18.702	366.9>212.9	30	368.9>214.9	30
环氧七氯B	18.847	352.8>262.9	14	354.8>264.9	20
腐霉利	19.020	283.0>96.0	10	285.0>96.0	10
杀扑磷	19.222	145.0>85.0	8	145.0>58.0	14
丙溴磷	19.862	338.9>268.9	18	336.9>266.9	14
三唑磷	20.992	161.0>134.0	8	161.0>106.0	14
戊唑醇	21.709	250.1>125.1	22	125.1>89.0	18
氟环唑	21.966	192.0>138.0	14	192.0>111.0	26
联苯菊酯	22.309	181.1>166.1	12	181.1>179.1	12
甲氰菊酯	22.497	181.1>152.1	22	265.1>210.1	12
氯氟氰菊酯	23.335	208.0>181.0	8	197.0>141.0	12
哒螨灵	24.627	147.1>117.1	22	147.1>132.1	14
腈苯唑	25.184	198.1>129.1	10	129.1>102.1	18
氯氰菊酯	25.779/25.974/26.080/26.163	163.1>127.1	6	163.1>91.0	14
氰戊菊酯	27.661/28.180	225.1>119.1	20	225.1>147.1	10
溴氰菊酯	29.711	180.9>151.9	22	252.9>93.0	20

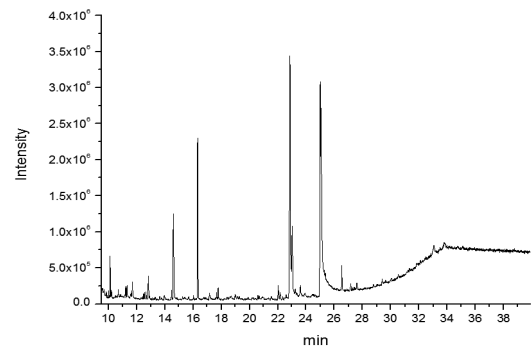


图 1 提取液经 QuEChERS 净化后总离子流色谱图

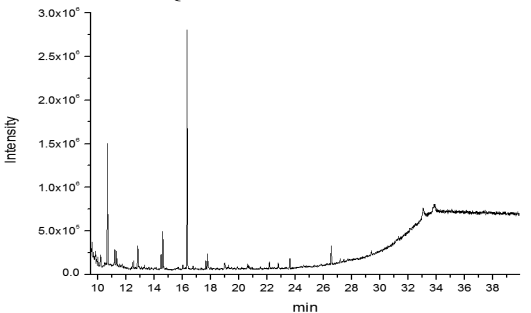


图 2 提取液经 QuEChERS 和在线凝胶渗透色谱净化后总离子流色谱图

2.5 基质效应考察 本试验分别以纯溶剂和空白基质溶液配制对照品系列工作溶液,在不经在线凝胶渗透色谱(GPC)净化条件下进行GC-MS/MS进样分析,拟合线性回归方程后,通过比较两者斜率来评估基质效应的影响。计算公式为 $ME=A/B\times 100\%$,其中A为目标成分用基质溶液配制的标准曲线斜率,B为目标成分用纯溶剂配制的标准曲线斜率, $ME>100\%$ 表示有基质增强效应, $ME<100\%$ 表示有基质减弱效应。分别配制低、中、高3个浓度的对照品溶液,测定并计算后结果见表3。低浓度下有15种农药残留存在非常明显的基质增强效应:随着基质浓度的升高,基质效应有减弱的趋势,但是仍有少数农药呈现增强的结果。为了减少基质效应对检测结果的影响,本试验采用空白基质溶液配制对照品溶液进行检测。

2.6 线性范围与检测限、定量限考察 将24种农药残留对照品溶液用空白基质提取液稀释成0.0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 $\mu\text{g/mL}$

的对照品系列工作溶液,加入20 μL 环氧七氯B内标溶液,过微孔滤膜配制成系列基质混合对照品工作溶液,供测定用。以农药残留定量离子峰面积和内标物定量离子峰面积的比值为纵坐标、农药对照品溶液质量浓度和内标物质量浓度的比值为横坐标,绘制标准曲线。以3倍的S/N计算方法为检测限,以10倍的S/N计算方法为定量限,结果见表4。在0~0.5 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内,线性关系良好,24种农药残留检测限范围为0.001~0.008 mg/kg ,定量限为0.003~0.020 mg/kg 。

表 4 24 种农药残留线性范围和检测限、定量限

农药名称	回归方程	r	检测限 (mg/kg)	定量限 (mg/kg)	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)
敌敌畏	$y=24.081x-0.196\ 3$	0.998\ 8	0.005	0.015	0.0~0.5
灭线磷	$y=26.959x-0.238\ 9$	0.998\ 7	0.001	0.004	0.0~0.5
甲拌磷	$y=6.045\ 9x-0.253\ 9$	0.997\ 4	0.002	0.007	0.0~0.5
乐果	$y=18.151x-0.148\ 7$	0.998\ 4	0.001	0.004	0.0~0.5
氯唑磷	$y=10.532x+0.117\ 0$	0.998\ 2	0.001	0.003	0.0~0.5
马拉硫磷	$y=47.881x-0.376\ 7$	0.998\ 9	0.001	0.004	0.0~0.5
毒死蜱	$y=22.842x+0.132\ 1$	0.999\ 0	0.001	0.003	0.0~0.5
水胺硫磷	$y=6.406\ 7x+0.094\ 2$	0.997\ 6	0.002	0.007	0.0~0.5
甲基异柳磷	$y=85.649x+0.917\ 6$	0.998\ 3	0.001	0.003	0.0~0.5
氟虫腈	$y=11.158x-0.144\ 0$	0.998\ 1	0.001	0.004	0.0~0.5
腐霉利	$y=16.035x+0.135\ 6$	0.998\ 7	0.004	0.013	0.0~0.5
杀扑磷	$y=102.470x-1.071\ 2$	0.998\ 1	0.001	0.001	0.0~0.5
丙溴磷	$y=10.694x-0.066\ 7$	0.998\ 7	0.001	0.001	0.0~0.5
三唑磷	$y=36.848x-0.344\ 8$	0.998\ 6	0.002	0.002	0.0~0.5
戊唑醇	$y=23.370x+0.274\ 0$	0.998\ 3	0.001	0.001	0.0~0.5
氟环唑	$y=74.937x+0.718\ 7$	0.996\ 9	0.001	0.001	0.0~0.5
联苯菊酯	$y=188.09x-1.985\ 1$	0.998\ 3	0.001	0.001	0.0~0.5
甲氰菊酯	$y=23.682x+0.222\ 3$	0.996\ 8	0.008	0.008	0.0~0.5
氯氟氰菊酯	$y=34.090x-0.456\ 0$	0.995\ 3	0.001	0.001	0.0~0.5
哒螨灵	$y=167.300x-1.918\ 1$	0.996\ 6	0.001	0.001	0.0~0.5
腈苯唑	$y=101.390x-1.086\ 8$	0.996\ 5	0.001	0.001	0.0~0.5
氯氰菊酯	$y=30.712x-0.372\ 6$	0.996\ 8	0.003	0.003	0.0~0.5
氰戊菊酯	$y=12.196x-0.167\ 5$	0.996\ 0	0.004	0.004	0.0~0.5
溴氰菊酯	$y=13.054x-0.174\ 3$	0.998\ 6	0.006	0.006	0.0~0.5

表 3 农药残留基质效应测定结果

农药名称	低浓度(%)	中浓度(%)	高浓度(%)	农药名称	低浓度(%)	中浓度(%)	高浓度(%)
敌敌畏	162	177	182	丙溴磷	166	144	127
灭线磷	135	129	107	三唑磷	179	160	143
甲拌磷	279	238	197	戊唑醇	161	148	133
乐果	153	166	183	氟环唑	143	126	109
氯唑磷	137	116	106	联苯菊酯	145	125	110
马拉硫磷	192	183	149	甲氰菊酯	146	137	120
毒死蜱	133	112	103	氯氟氰菊酯	159	141	129
水胺硫磷	192	177	159	哒螨灵	152	121	113
甲基异柳磷	144	126	105	腈苯唑	154	166	170
氟虫腈	186	177	151	氯氰菊酯	162	152	143
腐霉利	127	119	102	氰戊菊酯	154	138	126
杀扑磷	168	155	132	溴氰菊酯	142	133	121

2.7 准确度与相对标准偏差考察 为验证方法的准确性和相对标准偏差,本试验向空白基质样品中添加低、中、高浓度的农药残留对照品溶液,依照上述样品提取方法制备提取液,上机测试,同时平行测定3次,结果见表5。加标样品总离子色谱图见图3。各农药残留加标回收率为68.4%~111.9%,相对标准偏差为0.7%~8.8%。乐果、氟环唑在低浓度水平下回收率稍低,可能的原因为水浴氮吹时有损失。同时各种填料净化剂GCB、C₁₈和PSA的使用,除了净化样品基质外,对目标成分也会有不同程度的吸附作用,从而造成回收率降低。

表5 加标回收率和相对标准偏差 (n=3)

农药名称	0.1 mg/kg		0.2 mg/kg		0.5 mg/kg	
	平均回收率(%)	RSD(%)	平均回收率(%)	RSD(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
敌敌畏	77.9	3.0	82.3	4.9	85.5	2.7
灭线磷	94.7	3.6	103.3	2.5	99.2	1.4
甲拌磷	76.2	2.2	80.8	3.8	85.9	6.6
乐果	69.2	5.6	73.1	1.3	76.2	0.7
氯唑磷	87.8	3.9	92.4	4.6	99.9	3.4
马拉硫磷	77.0	7.3	74.1	7.2	100.2	5.4
毒死蜱	95.5	1.9	96.1	2.3	92.4	3.0
水胺硫磷	87.7	4.3	89.5	8.8	107.3	4.5
甲基异柳磷	90.0	0.8	89.3	2.6	91.9	2.9
氟虫腈	84.8	6.9	95.5	3.9	100.1	7.4
腐霉利	97.4	0.8	101.2	6.7	111.9	4.0
杀扑磷	73.6	1.8	77.5	0.9	88.0	4.1
丙溴磷	89.2	3.3	96.5	3.1	96.1	1.6
三唑磷	90.0	3.1	104.5	5.2	101.6	2.0
戊唑醇	97.1	5.4	89.3	6.0	99.5	1.6
氟环唑	70.3	3.6	68.4	2.3	77.9	4.8
联苯菊酯	105.2	0.9	100.3	5.3	99.5	3.7
甲氰菊酯	81.1	4.8	79.9	6.1	88.8	2.1
氯氟菊酯	91.2	0.7	89.7	2.5	90.9	2.2
哒螨灵	84.6	4.1	87.7	5.9	86.2	4.4
腈苯唑	89.7	1.8	100.4	1.6	99.2	3.9
氯氟菊酯	101.5	3.9	99.0	2.0	107.4	5.4
氰戊菊酯	79.5	5.2	89.2	2.9	88.1	3.5
溴氰菊酯	77.9	1.7	72.8	4.1	80.4	1.9

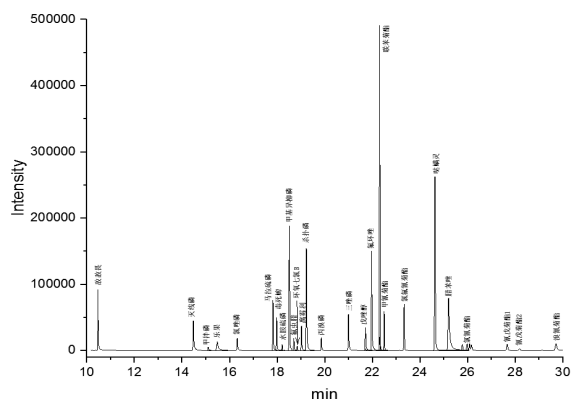


图3 加标样品总离子色谱图

2.8 对照品溶液及仪器稳定性考察 将空白基质配制的对照品溶液分别于0、12、24 h后进样分析,考察对照品溶液及仪器的稳定性。图4显示,各检测时间点对对照品溶液峰面积均无明显差异,说明稳定性良好。

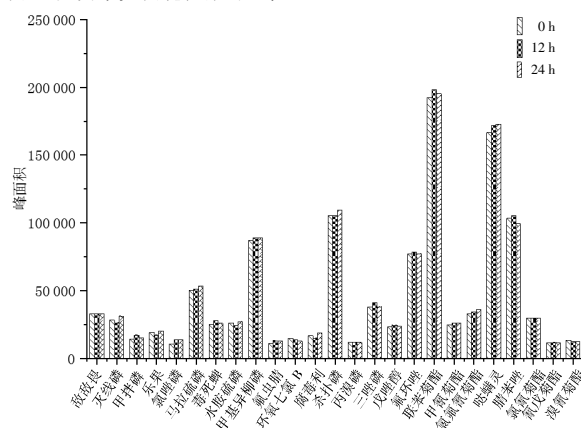


图4 对照品溶液及仪器稳定性

2.9 川牛膝质量分析 通过对37批次购买的川牛膝样品进行检测分析,有3批次川牛膝含有高于定量限的农药残留,包括毒死蜱、丙溴磷、联苯菊酯、氯氟菊酯、氯氟菊酯。原因可能是种植户未严格按照农药使用规范施用,也有可能受到相邻种植区水果蔬菜喷洒农药的污染。此外,川牛膝在低海拔与粮食作物的间种也会导致农药残留的检出。

3 讨 论

道地药材是优质中药材代名词,传承、发展、推广好道地药材离不开科学严谨的质量标准和有效的检测手段^[20]。目前尚未有川牛膝农药残留的检测标准,故本研究建立了QuEChERS结合在线GPC-GC-MS/MS法测定川牛膝中24种农药残留的方法。

乙腈提取、QuEChERS净化、利用在线凝胶渗透色谱都是为了减少基质效应的干扰^[21],提高目标物的富集程度和灵敏度^[22]。本研究在对比了空白基质配制对照品与纯溶剂配制对照品测定结果的影响后,发现川牛膝农药残留测定过程中存在比较严重的基质干扰,而空白基质配制对照品和应用在线凝胶渗透色谱可以在很大程度上减小这种效应,并且能有效避免对气质联用仪的污染。内标法定量能够充分降低各种误差对测定结果准确性的影响,同时多反应离子监测进行定量可以最大程度上避免测试时假阳性和假阴性的产生^[23]。由于平衡净化效果和时间成本的考虑,个别农药残留回收率稍低,但整体上线性关系、灵敏度、准确度和方法的稳定性都满足了测定的需要,同时该方法还具有高通量、检测时间短等优点。随着检测技术和监测水平的提高,越来越多的标准将采用质谱法作为主要的农药残留分析手段,从而促进中药材生产种植标准化的提升。

参考文献

- [1] 刘维,裴瑾,杨梅,等.川产道地药材川牛膝产地变迁探讨[J].中草药,2016,47(9):1625-1628.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].北京:中国

- 医药科技出版社,2020.
- [3] 滕利,杨龙飞,付强.川牛膝化学成分分离与鉴定[J].中药材,2022,45(1):84-88.
- [4] 马笃军,彭力平,蒋顺琬,等.牛膝醇提物干预BMSC-Exos对OA模型兔局部骨组织超微结构及炎症小体的影响[J].中医导报,2022,28(1):12-18.
- [5] 施崇精,王姗姗,刘小妹,等.川产道地药材川牛膝现状探讨[J].亚太传统医药,2017,13(22):55-58.
- [6] 任理雪,邓高琼,龙婉君,等.中药材中常见农药残留及其研究进展[J].中国中药杂志,2022,47(11):2899-2908.
- [7] 王莹,张磊,左甜甜,等.中药中农药残留风险评估指导原则的形成及其研究思路[J].中国药物警戒,2021,18(7):645-648,662.
- [8] 高岩,刘薇,熊慧,等.全国中药资源普查采集女贞子样品农药残留研究[J].中医药学报,2018,46(4):50-53.
- [9] 陈士利,宗强,卢朝辉,等.舒血宁联合常规疗法治疗有机磷农药中毒性心肌炎30例临床观察[J].中医导报,2014,20(14):78-80.
- [10] 管彤,钱智勇.农药及农药残留的危害[J].职业与健康,2018,34(12):1726-1728.
- [11] 苗水,毛秀红,周恒,等.中药中农药残留防控的现状与建议[J].中国食品药品监管,2022(3):96-103.
- [12] 张慧,闫梦真,张振凌,等.牛膝不同炮制方法不同商品等级饮片有害残留物含量比较[J].中医导报,2021,27(9):86-90.
- [13] CHEN G Y, ZHANG H, ZHAO C P, et al. On-line immobilized acetylcholinesterase microreactor based on capillary electrophoresis for the determination of organophosphorus pesticide residues[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2021, 49(12): 11-17.
- [14] ZHOU G W, LI Y M, LIU C N, et al. Rapid simultaneous determination of 43 pesticide residues in *Schizonepeta tenuifolia* by gas chromatography mass spectrometry[J]. Int J Anal Chem, 2021, 2021: 8934998.
- [15] WAN L C, FENG L, GUO F S, et al. Rapid and sensitive detection of pesticide residues using dynamic surface - enhanced Raman spectroscopy[J]. Journal of Raman Spectroscopy, 2020, 51(4): 611-618.
- [16] LI Y, YANG F, YUAN R, et al. Electrochemiluminescence covalent organic framework coupling with CRISPR/Cas12a-mediated biosensor for pesticide residue detection[J]. Food Chem, 2022, 389: 133049.
- [17] 熊颖,李纯,侯惠婵,等.QuEChERS-GC-MS/MS测定化橘红65种农药残留[J].中国现代中药,2021,23(6):1043-1050.
- [18] 李纯,任晋,熊颖,等.液质联用法分析陈皮中41种农药残留[J].中成药,2021,43(6):1663-1668.
- [19] 官金艳,苏小路,胡亦清,等.QuEChERS-气相色谱法快速测定桃胶中16种有机磷农药残留[J].分析科学学报,2022,38(2):260-264.
- [20] 韩丹波.中药质量树对中药饮片全程质量控制的价值[J].中医药管理杂志,2020,28(9):195-196.
- [21] 牛宗红,谢莉,范传彩.在线GPC-气相色谱-质谱联用测定绿叶蔬菜中14种农药残留[J].中国卫生检验杂志,2021,31(23):2839-2842.
- [22] 李媛,王娟,张楠,等.QuEChERS结合UPLC-MS/MS法测定茵陈蒿口服液中14种农药残留[J].中成药,2022,44(2):652-655.
- [23] 戴唯,李巧,朱明,等.QuEChERS-同位素内标-高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中植物生长调节剂类农药残留[J].色谱,2021,39(11):1213-1221.

(收稿日期:2022-06-02 编辑:蒋凯彪)