

QuEChERS 法联合在线 GPC-GC-MS 测定独活中 27 种农药残留

惠恩健, 盛振华, 方文忠, 任学聪, 葛尔宁*

(浙江中医药大学分析测试中心, 杭州 310053)

[摘要] 目的: 采用 QuEChERS 样品前处理方法与在线凝胶色谱-气相色谱-质谱联用仪(GPC-GC-MS)联用, 建立独活中 27 种农药多残留的快速检测方法。方法: 以 1% 醋酸的乙腈为提取溶剂, 超声提取, 分散固相萃取净化, 采用在线 GPC-GC-MS 分析, 以选择离子检测(SIM)模式检测。结果: 27 种农药成分的峰面积与其浓度均有良好的线性关系, 相关系数均在 0.994 3~0.999 9。方法的检出限和定量限分别在 0.037 5~3.040 0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 0.125 0~10.100 0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 在加标 0.1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 情况下, 回收率均在 61.7%~114%, RSD 1.03%~13.9%。结论: 该方法简单、快速、选择性好、灵敏度高, 符合农药多残留检测的要求, 可用于独活中 27 种农药多残留的测定。

[关键词] 在线凝胶色谱-气相色谱-质谱联用仪; QuEChERS; 独活; 农药多残留

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0138-04

[doi] 10.11653/syfyj2013080138

Determination of 27 Pesticide Residues in Angelica Pubescentis Radix by QuEChERS and Online GPC-GC-MS

HUI En-jian, SHENG Zhen-hua, FANG Wen-zhong, REN Xue-cong, GE Er-ning*

(Analytical Instrumentation Center, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a quick method for the determination of 27 pesticide multi-residues in Angelica Pubescentis Radix by using QuEChERS and online gel permeation chromatography-gas chromatography/mass spectrometry (GPC-GC-MS). **Method:** Pesticides were extracted from samples with 1% acetic acid in acetonitrile under ultrasonic operation and cleaned up by dispersive solid phase extraction, and then analyzed by using online GPC-GC-MS in selective ion monitoring mode (SIM). **Result:** Twenty-seven kinds of pesticides showed good linearity in a detected concentration range with good correlation coefficient ($r = 0.994\ 3\text{--}0.999\ 9$). The limits of detection and limits of quantization ranged from 0.037 5 to 3.040 0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and 0.125 0 to 10.100 0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. The recoveries were 61.7%~114% and the relative standard deviations were 1.03%~13.9% at the spiked level of 0.1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. **Conclusion:** This method is simple, rapid, selective and accurate, meet the requirement of pesticide multi-residues analysis. It can detect 27 pesticide multi-residues in Angelica Pubescentis Radix.

[Key words] online GPC-GC-MS; QuEChERS; Angelica Pubescentis Radix; pesticide multi-residues

独活为常用中药材,始载于《神农本草经》,列

为上品,是治疗风湿痹痛要药^[1],而其农药残留检测尚未有文献报道。

由于农药种类及其理化性质(极性、对热及光稳定性等)差异极大、样品基质种类及干扰成分各异、农药残留量极低等原因,使得农残分析对样品前处理和分析仪器的要求越来越高。气相-质谱联用仪(GC-MS)已经成为农药多残留分析的常用方法之一^[2-3],

[收稿日期] 20120803(008)

[第一作者] 惠恩健, 硕士, 从事仲景方剂的研究, Tel: 18768154563, E-mail: qynh2006@126.com

[通讯作者] *葛尔宁, 研究员, 从事仲景方剂的研究, Tel: E-mail:

而样品基质中色素、油脂等大分子会污染 GC 进样口及色谱柱前端,产生基质效应。凝胶渗透色谱(GPC)则能很好地去除此类大分子,进而减小基质效应、降低分析背景、改善色谱峰形。美国 EPA 方法 3640A^[4]和国标 GB/T 19650-2006^[5]都采用了 GPC 净化。同时,在线 GPC-GCMS 克服了常规 GPC(离线)消耗溶剂量大、自动化差、操作繁琐等问题。

农药多残留分析方法 QuEChERS(quick, easy, cheap, effective, rugged and safe)采用乙腈作为提取溶剂、分散固相萃取法净化。因具有快速、简单、安全、样品通量高、回收率高及成本低等优点而广泛用于农药、兽药等污染物检测^[6-7],但其净化能力较弱从而干扰农药的定性与定量。

本文将 QuEChERS 法与在线 GPC-GC-MS 联用对独活中 27 种农药进行测定,既克服了 QuEChERS 提取、净化能力的不足,也加强了对 GPC-GC-MS 的维护;建立了 1 种快速、准确、可靠的中药材农药残留检测方法,为独活的质量标准的建立及临床的安全使用提供参考。

1 材料

GPC-GC-MS-QP2010 在线凝胶渗透色谱-气相色谱-质谱联用仪(日本岛津公司),BS110S 型分析天平(北京赛多利斯天平有限公司),XW-80A 漩涡混合仪(海门事其林贝儿仪器制造有限公司),SG-2200HE 型超声波清洗器(上海冠特超声仪器有限公司),Allegra 64R 型离心机(美国 Beckman 公司)。

丙酮、环己烷、乙腈(色谱纯,美国 Tedia 公司),PSA(美国 Supelco 公司),无水硫酸镁(分析纯,上海试四赫维化工有限公司),临用前在 500 °C 马弗炉烘干 5 h,200 °C 取出装瓶贮于干燥器,冷却备用。无水醋酸钠(分析纯,温州润华化工有限公司),乙酸(分析纯,杭州化学试剂有限公司),无水甲酸(分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司)。

27 种农药对照品:有机磷混标(敌敌畏,甲胺磷,甲拌磷,氧化乐果,二嗪农,乐果,甲基对硫磷,马拉硫磷,对硫磷,水胺硫磷,啶硫磷;批号 SB05-069-2008),氨基甲酸酯混标(涕灭威,灭多威,速灭威,异丙威,仲丁威,残杀威,恶虫威,克百威,抗蚜威,甲萘威;批号 SB05-070-2008),乙酰甲胺磷(批号 GSB05-2322-2008),敌百虫(批号 GSB05-2297-2008),久效磷(批号 GSB05-2290-2008),百菌清(批号 GSB05-2312-2008),毒死蜱(批号 GSB05-1869-2008),三唑酮(批号 GSB05-2339-2008)。混标质量浓度为 50 mg·L⁻¹,单标质量浓度为 100 mg·L⁻¹,纯

度均 >99%,均购自农业部环境科研监测所。

独活购于市售,经浙江中医药大学药学院宋捷民教授鉴定为伞形科植物重齿毛当归 *Angelica pubescens* Maxim. f. *biserrata* Shan et Yuan 的根。

2 方法与结果

2.1 标准溶液的配制 分别精密移取各标准品,配制成 1 mg·L⁻¹的农药混合标准储备液,于冰箱避光保存备用。使用前将混合标准储备液用流动相稀释成浓度为 0.01 ~ 0.5 mg·L⁻¹的系列标准溶液。

2.2 QuEChERS 前处理方法 取 200 g 独活样品剪切、粉碎,冰箱冷藏过夜。取 2.0 g 样品于 50 mL 塞聚四氟乙烯离心管中,加入 10 mL 冷的去离子水漩涡 1 min,常温浸泡 60 min,加入 15 mL 含 1% 醋酸的乙腈并震荡 1 min,超声提取 5 min,再加入 6.0 g 无水 MgSO₄ 和 1.5 g 无水 NaOAc,立即剧烈震荡 1 min,然后 4 500 r·min⁻¹离心 5 min。取上述 1 mL 上清液,加入至含 50 mg PSA 和 150 mg 无水 MgSO₄ 的离心管中,剧烈震荡 1 min,4 500 r·min⁻¹离心萃取 5 min;取萃取液至进样瓶,加入 10 μL 含 5% 甲酸的乙腈,即得 GPC-GC-MS 分析用供试品溶液。

2.3 GPC-GC-MS 分析条件

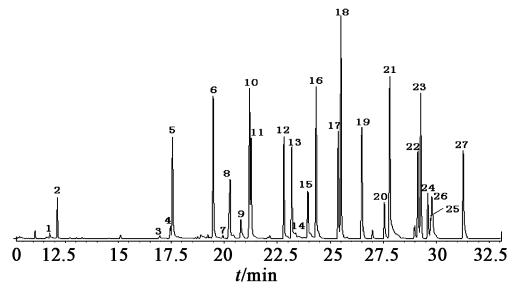
2.3.1 GPC 条件 Shodex CLNpak EV-200AC 凝胶色谱柱(2.1 mm × 150 mm)(日本 Shodex),流动相-丙酮-环己烷(30:70),柱温 40 °C,流速 0.1 mL·min⁻¹,紫外检测器波长 210 nm,进样量 10 μL。

2.3.2 GC-MS 条件 DB-5 ms 毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)(美国安捷伦公司),PTV 进样方式不分流进样,进样口温度程序:初始温度 120 °C 保持 6.5 min,以 80 °C·min⁻¹升至 250 °C 保持 34.87 min;柱温箱升温程序:初始温度 82 °C 保持 5 min,以 5 °C·min⁻¹升至 250 °C 保持 4.4 min;载气高纯氮气,柱前压 120 kPa,柱流速 1.75 mL·min⁻¹,离子源温度 200 °C,气质接口温度 250 °C,离子化方式 EI,电子能量 70 eV,扫描开始时间 10.2 min,结束时间 43 min,扫描范围 *m/z* 85 ~ 400,数据采集方式 SIM,扫描间隔 0.2 s,将 27 种农药成分的扫描分为 6 个时间段,选取质量数大、丰度高、同扫描时间段其他农药及背景中不存在的离子作为定量和定性离子并进一步优化,具体 SIM 离子参数见表 1,总离子流色谱图见图 1。

2.4 标准曲线和检出限 采用外标法进行定量,取适量 0.01 ~ 0.5 mg·L⁻¹混标在建立的条件下进行测定,以峰面积(*Y*)对质量浓度 *X*(μg·L⁻¹)进行线性回归,建立标准曲线。以信噪比(*S/N*)为 3 确定

表 1 27 种农药 GC-MS 测定的 SIM 参数

扫描 时间段/min	No.	农药	保留 时间/min	定量 离子	定性离子
10.54 ~ 13.01	1	甲胺磷	11.758	94	94, 95, 126
	2	敌敌畏	12.133	109	109, 185, 220
13.01 ~ 18.59	3	乙酰甲胺磷	16.958	136	136, 183, 125
	4	敌百虫	17.450	110	110, 139, 145
18.59 ~ 22.00	5	速灭威	17.558	108	108, 107, 90
	6	异丙威	19.492	121	121, 136, 103
	7	涕灭威	19.950	144	87, 144, 89
22.00 ~ 24.82	8	灭多威	20.267	105	88, 105, 115
	9	氧化乐果	20.775	126	126, 141, 213
	10	仲丁威	21.208	122	122, 107, 103
24.81 ~ 28.45	11	残杀威	21.275	110	110, 152
	12	恶虫威	22.825	151	126, 151, 166
	13	甲拌磷	23.200	121	121, 231, 260
28.45 ~ 32.18	14	久效磷	23.375	192	192, 164, 193
	15	乐果	23.950	93	93, 143, 229
	16	克百威	24.342	164	131, 149, 164
32.18 ~ 36.75	17	百菌清	25.392	266	264, 266, 268
	18	二嗪农	25.525	179	137, 152, 179
	19	抗蚜威	26.500	166	166, 238
36.75 ~ 40.32	20	甲基对硫磷	27.567	263	263, 233, 246
	21	甲萘威	27.817	144	144, 145, 201
	22	马拉硫磷	29.142	173	173, 158, 211
40.32 ~ 43.89	23	毒死蜱	29.283	314	314, 258, 286
	24	对硫磷	29.625	291	291, 139, 155
	25	三唑酮	29.767	208	208, 128, 181
43.89 ~ 47.46	26	水胺硫磷	29.808	136	136, 230, 289
	27	啶硫磷	31.292	146	146, 118, 157



1. 甲胺磷; 2. 敌敌畏; 3. 乙酰甲胺磷; 4. 敌百虫; 5. 速灭威;
6. 异丙威; 7. 涕灭威; 8. 灭多威; 9. 氧化乐果; 10. 仲丁威;
11. 残杀威; 12. 恶虫威; 13. 甲拌磷; 14. 久效磷; 15. 乐果;
16. 克百威; 17. 百菌清; 18. 二嗪农; 19. 抗蚜威;
20. 甲基对硫磷; 21. 甲萘威; 22. 马拉硫磷; 23. 毒死蜱;
24. 对硫磷; 25. 三唑酮; 26. 水胺硫磷; 27. 啶硫磷

图 1 27 种农药对照品的总离子流色谱

定, 检出甲胺磷 $0.080 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、敌百虫 $0.495 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、残杀威 $0.0152 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 其他农药则未检出。参照 GB 2763-2005《食品中农药最大残留限量》^[8]和 NY 660-2003《茶叶中甲萘威、丁硫克百威、多菌灵、残杀威和抗蚜威的最大残留限量》^[9], 甲胺磷和残杀威未超标, 敌百虫超标。

3 讨论

QuEChERS 法适用于蔬菜、水果等含水量高的样品, 其通过 1 min 剧烈震荡萃取后由分散固相萃取剂 PSA, GCB, C_{18} 净化。对于干性、基质更为复杂的中药材样品, QuEChERS 法提取、净化能力不足而需要改进。但 GCB 会吸附平面结构农药百菌清, C_{18} 去除脂质能力较佳但独活不含脂质。故本实验采用超声提取强化提取; 未使用 GCB, C_{18} 而通过 GPC 强化 PSA 净化。同时, 在线 GPC-GCMS 配备了程序升温进样口 (PTV) 和大体积进样, 从而简化了浓缩步骤、提高了灵敏度, 也可分析对高温易分解的氨基甲酸酯类从而实现农药多残留分析的要求。

目前我国尚未制订中药材农药残留的法规与标准, 这也是导致中药材国际化中遭遇的主要技术壁垒之一, 2010 年版《中国药典》和《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》仅对少数中药材、少数农药残留限量作了规定, 如独活中检出的敌百虫、残杀威就未被收录。

本文采用 QuEChERS 法联合 GPC-GC-MS 测定独活中 5 类 27 种农药残留, 此方法的检出限和添加回收率都符合农药多残留检测的要求, 具有简单、去除干扰能力好、灵敏度高、重复性好等特点, 可用于独活中农药多残留分析, 并为其他中药材中农药多残留分析与中药材农药残留标准的建立提供参考。

最低检出限, S/N 为 10 确定最低定量限。27 种农药相关系数均在 $0.9943 \sim 0.9999$ 。线性方程、线性范围、相关系数、检出限及定量限详见表 2。

2.5 精密度试验 取 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 混标, 在 2.3 项色谱条件下, 连续平行进样 6 次考察精密度, RSD 在 $0.710\% \sim 0.986\%$, 表明仪器精密度良好。

2.6 回收率试验 精密称取 2.0 g 独活样品考察方法的回收率, 添加水平为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 按 2.2 和 2.3 项下各步骤操作, 平行 6 次。回收率在 $61.7\% \sim 114\%$, RSD 在 $1.03\% \sim 13.9\%$, 结果表明该方法的回收率良好。

2.7 样品检测 对市售独活中农药残留进行了测

表 2 27 种农药的线性方程及检出限

农药	线性方程	线性范围/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	相关系数	检出限/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	定量限/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
甲胺磷	$Y = 255.8025X + 7045.371$	0.016 0 ~ 0.400 0	0.995 2	0.250 0	0.833 0
敌敌畏	$Y = 984.1276X + 5761.995$	0.020 0 ~ 0.500 0	0.999 4	0.312 0	1.040 0
乙酰甲胺磷	$Y = 364.1481X - 1352.769$	0.020 0 ~ 0.500 0	0.999 9	0.281 0	0.937 0
敌百虫	$Y = 232.2783X - 5755.523$	0.020 0 ~ 0.500 0	0.997 2	1.110 0	3.720 0
速灭威	$Y = 403.3137X - 21418.0$	0.016 0 ~ 0.400 0	0.999 8	0.068 6	0.228 0
异丙威	$Y = 4301.205X + 11193.98$	0.016 0 ~ 0.400 0	0.999 6	0.084 5	0.281 0
涕灭威	$Y = 33.95537X + 823.3652$	0.020 0 ~ 0.500 0	0.999 8	2.640 0	8.800 0
灭多威	$Y = 6319.482X - 249864.8$	0.144 0 ~ 3.600 0	0.996 7	0.296 0	0.988 0
氧化乐果	$Y = 188.2507X - 634.024$	0.020 0 ~ 0.500 0	0.997 2	3.040 0	10.100 0
仲丁威	$Y = 427.3032X + 346.0396$	0.016 0 ~ 0.400 0	0.999 7	0.276 0	0.920 0
残灭威	$Y = 4861.869X - 598.4211$	0.016 0 ~ 0.400 0	0.999 8	0.390 0	1.300 0
恶虫威	$Y = 3147.038X + 7152.521$	0.024 00 ~ 0.600	0.999 7	0.123 0	0.410 0
甲拌磷	$Y = 1184.761X + 1687.991$	0.020 0 ~ 0.500 0	0.999 3	0.159 0	0.532 0
久效磷	$Y = 404.9729X - 14544.09$	0.020 0 ~ 0.500 0	0.997 5	2.250 0	7.520 0
乐果	$Y = 698.3945X - 1135.638$	0.016 0 ~ 0.400 0	0.999 5	0.364 0	1.210 0
克百威	$Y = 3894.076X - 5036.252$	0.032 0 ~ 0.800 0	0.999 8	0.099 9	0.333 0
百菌清	$Y = 2063.676X + 1881.975$	0.020 0 ~ 0.500 0	0.999 7	0.090 8	0.302 0
二嗪农	$Y = 1551.545X + 14844.42$	0.020 0 ~ 0.500 0	0.999 5	0.079 6	0.265 0
抗蚜威	$Y = 4020.75X + 24728.55$	0.020 0 ~ 0.500 0	0.999 9	0.050 1	0.167 0
甲基对硫磷	$Y = 816.2577X + 315.9633$	0.020 0 ~ 0.500 0	0.994 3	0.065 7	0.219 0
甲萘威	$Y = 9707.914X - 58546.04$	0.060 0 ~ 1.500 0	0.999 8	0.037 5	0.125 0
马拉硫磷	$Y = 1585.465X - 6134.265$	0.020 0 ~ 0.500 0	0.999 7	0.090 8	0.302 0
毒死蜱	$Y = 825.3045X + 4409.015$	0.020 0 ~ 0.500 0	0.999 8	0.093 7	0.312 0
对硫磷	$Y = 736.2434X - 1249.556$	0.020 0 ~ 0.500 0	0.997 9	0.073 6	0.245 0
三唑酮	$Y = 803.678X - 210.3805$	0.020 0 ~ 0.500 0	0.999 8	0.104 0	0.349 0
水胺硫磷	$Y = 1516.206X - 5359.988$	0.020 0 ~ 0.500 0	0.999 3	0.121 0	0.403 0
啶硫磷	$Y = 1729.445X - 1316.365$	0.020 0 ~ 0.500 0	0.999 9	0.103 0	0.345 0

[参考文献]

- [1] 龚高柏,吴红玲.独活常见药对的临床应用[J].现代中西医结合杂志,2005,14(20):2653.
- [2] 何笑荣,邹定,冯金红,等.固相萃取/GC-MS测定金银花中有机磷农药残留量[J].中国药学杂志,2007,42(24):1901.
- [3] 苗水,陆继伟,郑征伟,等.气相色谱-质谱联用法同时测定中药材中53种农药残留方法[J].中国药学杂志,2010,45(16):1263.
- [4] US. EPA 3640A, Gel-permeation cleanup, revision 6[S]. 2004:11.
- [5] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 19650-2006 动物肌肉中
- [6] 沈伟健,余可垚,桂茜雯,等.分散固相萃取-气相色谱-串联质谱法测定蔬菜中107种农药的残留量[J].色谱,2009,27(4):391.
- [7] 吴剑威,徐荣,赵润怀,等. QuEChERS-气相色谱法快速检测五十种中药材中九种有机氯农药残留的方法研究[J].分析科学学报,2011,27(2):167.
- [8] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB 2763-2005 食品中农药最大残留限量[S].北京:中国标准出版社,2005:31,43.
- [9] 中华人民共和国农业部. NY 660-2003 茶叶中甲萘威、丁硫克百威、多菌灵、残杀威和抗蚜威的最大残留限量[S].北京:中国标准出版社,2003:1.

[责任编辑 顾雪竹]