

张江兆,郑尊涛,卢飞,等. 中草药中 3 种杀虫剂液质联用检测方法的建立[J]. 江苏农业科学,2021,49(5):169-172.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.05.031

中草药中 3 种杀虫剂液质联用检测方法的建立

张江兆^{1,2,3}, 郑尊涛⁴, 卢飞^{1,2,3}, 沈燕¹

[1. 江苏省食品质量安全重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地,江苏南京 210014;

2. 农业农村部农产品质量安全风险评估实验室(南京),江苏南京 210014;

3. 农业农村部农产品质量安全控制技术与标准重点实验室,江苏南京 210014; 4. 农业农村部农药检定所,北京 100125]

摘要:为研究中草药中常用农药的液质联用检测方法,建立三唑磷、水胺硫磷、啉虫脒 3 种农药在菊花、山药、麦冬和金银花 4 种中草药中的液相色谱-三重四级杆串联质谱测定方法。三唑磷、水胺硫磷、啉虫脒 3 种农药以各自对应定量离子的峰面积对应质量浓度得到的线性回归方程中相关系数分别为 0.999 17、0.999 49、0.999 48,峰面积与对应杀虫剂浓度在 0.001~0.500 mg/L 浓度范围内均呈现出良好的线性关系。该方法稳定性高、准确度和精密度高,适合在中草药的农药残留高通量检测中推广使用。

关键词:液质串联;中草药;杀虫剂;农药残留

中图分类号:TQ450.2⁺6

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2021)05-0169-04

在农药检测的众多方法中,高效液相色谱与质谱联用的方法极为常见。利用固定相和流动相分配系数的不同将样品中的残留农药分离并进行检测,具有分析速度快、效率高等优点,主要适用于沸点高且挥发性低的农药残留检测。中草药在种植过程中经常施用一些农药来防护作物生长过程中产生的病虫害等危害,而农药的过度使用会造成严重的农药残留现象。目前在中草药农药残留分析研究中常见的几种分析方法有气相色谱-质谱法、气相色谱法以及液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)^[1]。

三唑磷(Triazophos)是一种中等毒性应用广泛的广谱有机磷杀虫剂,在中草药作物中使用,主要用于防治鳞翅目害虫、有害螨类及地下害虫等,具有强烈的触杀和胃毒作用,杀虫、杀卵效果极好,具有较强的渗透作用,无内吸作用^[2]。水胺硫磷(Isocarbophos)为一种速效杀虫剂、杀螨剂,主要用于防治蛛形纲的螨类和昆虫纲中的鳞翅目和同翅目昆虫。啉虫脒(Acetamiprid)是一种具有触杀、胃

毒、渗透和内吸等杀虫作用的杀虫剂,其作用机制主要是通过刺激昆虫神经系统突触后膜的烟碱乙酰胆碱受体及周围神经,使昆虫持续兴奋、麻痹致死^[3]。啉虫脒主要用于防治如蚜虫、粉虱、白蚁、叶蝉等同翅目害虫,小菜蛾、桃小食心虫等鳞翅目害虫以及天牛等鞘翅目害虫和蓟马等缨翅目害虫,并具有一定的杀卵、杀幼虫活性。啉虫脒的优点在于同目前使用的有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂无交互抗性^[4]。

前人在啉虫脒等烟碱类杀虫剂中采用气相色谱-质谱联用的方法检测了大米^[5];利用液相色谱法检测水果蔬菜中的啉虫脒等烟碱类杀虫剂^[6]。本试验于 2020 年 7 月在江苏省农业科学院进行,通过利用液相色谱与质谱串联的方法进行啉虫脒、三唑磷和水胺硫磷的检测。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

98% 三唑磷、98% 水胺硫磷和 98% 啉虫脒(标准品),购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司;甲醇(色谱纯),购自德国 Merck 公司;乙腈(分析纯),购自天津市科密欧化学试剂有限公司;SupelcleanTM PSA(固相萃取填料),购自美国 Supelco 公司;C₁₈(固相萃取填料),购自美国 Sigma-Aldrich 公司;石墨化炭黑(固相萃取填料),购自天津博纳艾杰尔科技有限公司。

收稿日期:2020-09-01

基金项目:科技部“中医药现代化研究”重点研发专项(编号:2017YFC1700800);国家自然科学基金(编号:31772198)。

作者简介:张江兆(1996—),男,河南南阳人,研究方向为农药安全性分析。E-mail:13598080722@163.com。

通信作者:沈燕,博士,副研究员,研究方向为食品安全分析。E-mail:529816626@qq.com。

1.2 仪器与设备

1290-6470A 液相色谱-串联质谱仪,购自美国 Agilent 公司;QL-901 涡流混合器,购自海门市麒麟医用仪器厂;AL204 十万分之一电子天平,购自梅特勒托利多仪器(上海)有限公司;Talboys 数显型多管式旋涡混合器,购自上海安谱实验科技股份有限公司;R10. V. V 食品切碎搅拌机,购自 Robot Coupe 公司;JJ-200 百分之一电子天平,购自常州双杰电子有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品采集 山药、金银花、菊花、麦冬均于 2020 年 6 月采购于江苏省南京市苏果超市。

1.3.2 样品提取净化 称量 5.0 g 样品,置于 50 mL 离心管中,加入 20 mL 乙腈溶液,在数显形多管道式漩涡混合器中振荡 25 min,5 000 r/min 离心 5 min;吸取 2 mL 上清液于含固相萃取填料 PSA 和 C₁₈ 及石墨化炭黑的填料柱中,充分混匀经填料柱过滤,滤出液置于进样瓶中,待测。

1.3.3 标准溶液的配制 称取三唑磷、水胺硫磷、啶虫脒标准品,用乙腈溶解配制成 1 000 mg/L 标准储备液,在 4 ℃ 下保存待用。

溶液标准曲线的配制:使用乙腈将 3 种农药混合稀释为 10 个不同浓度的标样(0.001、0.002、0.005、0.010、0.020、0.050、0.100、0.200、0.500、1.000 mg/L)。

1.3.4 HPLC-MS/MS 检测条件 色谱条件:Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 50 mm,1.8 μm);柱温 35 ℃;进样体积 2.0 μL;流动相为 80% 乙腈和 20% 甲酸水(甲酸浓度 0.1%),流速为 0.35 mL/min。

质谱条件:电喷雾离子源;多反应监测正离子扫描模式;毛细管电压 3 500 V;干燥气温度 300 ℃;干燥气流速 6 L/min;喷雾器压力 172 kPa;鞘流气温度 250 ℃;鞘流气流速 5 L/min;采集参数见表 1。

表 1 三唑磷、水胺硫磷与啶虫脒的质谱参数

化合物	离子质荷比 (<i>m/z</i>)	传输电压 (V)	碰撞能量 (V)
三唑磷	314.1/162.1 *	110	27
	314.1/119.1	110	48
水胺硫磷	312/270 *	90	13
	312/236	90	6
啶虫脒	223.1/126.1 *	90	10
	223.1/56.0	90	10

注: * 表示定量离子。

HPLC-MS/MS 测定采用标准曲线法定量,组分含量按公式(1)计算:

$$X_i = C_i \times V_m \times V_2 / (V_1 \times M) \quad (1)$$

式中: X_i 为试样中被测组分含量,mg/kg; C_i 为从标准工作曲线得到的供试样品溶液中被测组分的质量浓度,mg/L; M 为被测样品质量,g; V_m 为供试样品提取液的总体积,mL; V_1 为供试样品移取提取液的体积,mL; V_2 为供试样品定容体积,mL。

2 结果与分析

2.1 检测条件的优化

采用甲醇与水的梯度洗脱为 HPLC-MS/MS 的流动相,正离子扫描反应离子监测模式检测三唑磷、水胺硫磷与啶虫脒,保证上述农药有较高的灵敏度和准确度。进入一级质谱后,在正离子检测方式下,三唑磷、水胺硫磷与啶虫脒产生稳定的[$M + H$]+分子离子峰,即 m/z 314.1、 m/z 312 和 m/z 223.1。进行二级质谱扫描,得到三唑磷的特征碎片离子为 m/z 162.1 和 m/z 119.1,水胺硫磷的特征碎片离子为 m/z 270 和 m/z 236;啶虫脒的特征碎片离子为 m/z 126.1 和 m/z 56.0。分别选取 m/z 162.1、 m/z 270 和 m/z 126.1 为三唑磷、水胺硫磷与啶虫脒的定量离子, m/z 119.1、 m/z 236 和 m/z 56.0 为三唑磷、水胺硫磷与啶虫脒的定性离子。

乙腈是作为农药残留的提取溶剂,相较丙酮等有机溶剂,具有农药提取效率高、杂质少、不易短时间内挥发影响提取浓度的计算等优点,借鉴 QuEChERS 净化方法^[7-11],经比较后,采用 PSA、石墨化碳黑和 C₁₈ 填料,PSA > 100 mg 时,添加回收率 < 78%;石墨化碳黑 > 50 mg 时,添加回收率 < 76%;C₁₈ > 50 mg 时,添加回收率 < 73%。PSA ≤ 100 mg、石墨化碳黑 ≤ 50 mg 和 C₁₈ ≤ 50 mg 时,2 种农药回收率均不低于 85%。为保持良好的添加回收率,综合考虑,使用 100 mg PSA、50 mg 石墨化碳黑和 50 mg C₁₈ 作为 QuEChERS 处理的吸附剂。

2.2 方法的线性范围、定量限、精密度和准确度

使用空白溶剂,配制标准工作溶液 1、2、5、10、20、50、100、200、500 和 1 000 μg/L,在“1.3.3”节液相色谱-质谱条件下测定,以三唑磷、水胺硫磷与啶虫脒标准溶液的质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准工作曲线。其中,三唑磷线性回归方程为 $y = 2.49987 \times 10^8 x + 4.98416 \times 10^4$ ($r = 0.99917$);水胺硫磷线性回归方程为 $y =$

$4.690\ 89 \times 10^7 x - 3\ 712.482\ 47 (r=0.999\ 49)$; 啉虫脒线性回归方程为 $y = 3.644\ 88 \times 10^7 x - 8\ 655.812\ 17 (r=0.999\ 48)$ 。峰面积与溶液质量浓度间呈良好的线性关系。以 3 信噪比为仪器检出限,三唑磷、水胺硫磷与啉虫脒的检出限均为 2×10^{-3} ng。

如表 2 所示,在定量限 (0.01 mg/kg)、0.10、0.50 mg/kg 3 个添加水平下,三唑磷在菊花、山药、金银花和麦冬中回收率分别为 88% ~ 91%、87% ~ 94%、91% ~ 94% 和 95% ~ 101%,相对标准偏差分别为 4.3% ~ 6.1%、2.4% ~ 4.7%、4.3% ~ 5.6% 和 5.3% ~ 6.7%;水胺硫磷在菊花、山药、金银花和

麦冬中回收率分别为 90% ~ 97%、87% ~ 93%、95% ~ 98% 和 89% ~ 91%,相对标准偏差分别为 2.8% ~ 6.8%、4.2% ~ 6.3%、3.9% ~ 6.5% 和 5.4% ~ 7.8%;啉虫脒在菊花、山药、金银花和麦冬中回收率分别为 88% ~ 95%、92% ~ 97%、94% ~ 99% 和 88% ~ 94%,相对标准偏差分别为 2.8% ~ 6.8%、4.2% ~ 6.3%、3.9% ~ 6.5% 和 5.4% ~ 7.8%。各样本的添加回收率和变异系数在允许范围内,符合 NY/T 788—2018《农作物中农药残留试验准则》的要求^[12]。空白添加典型图谱见图 1。

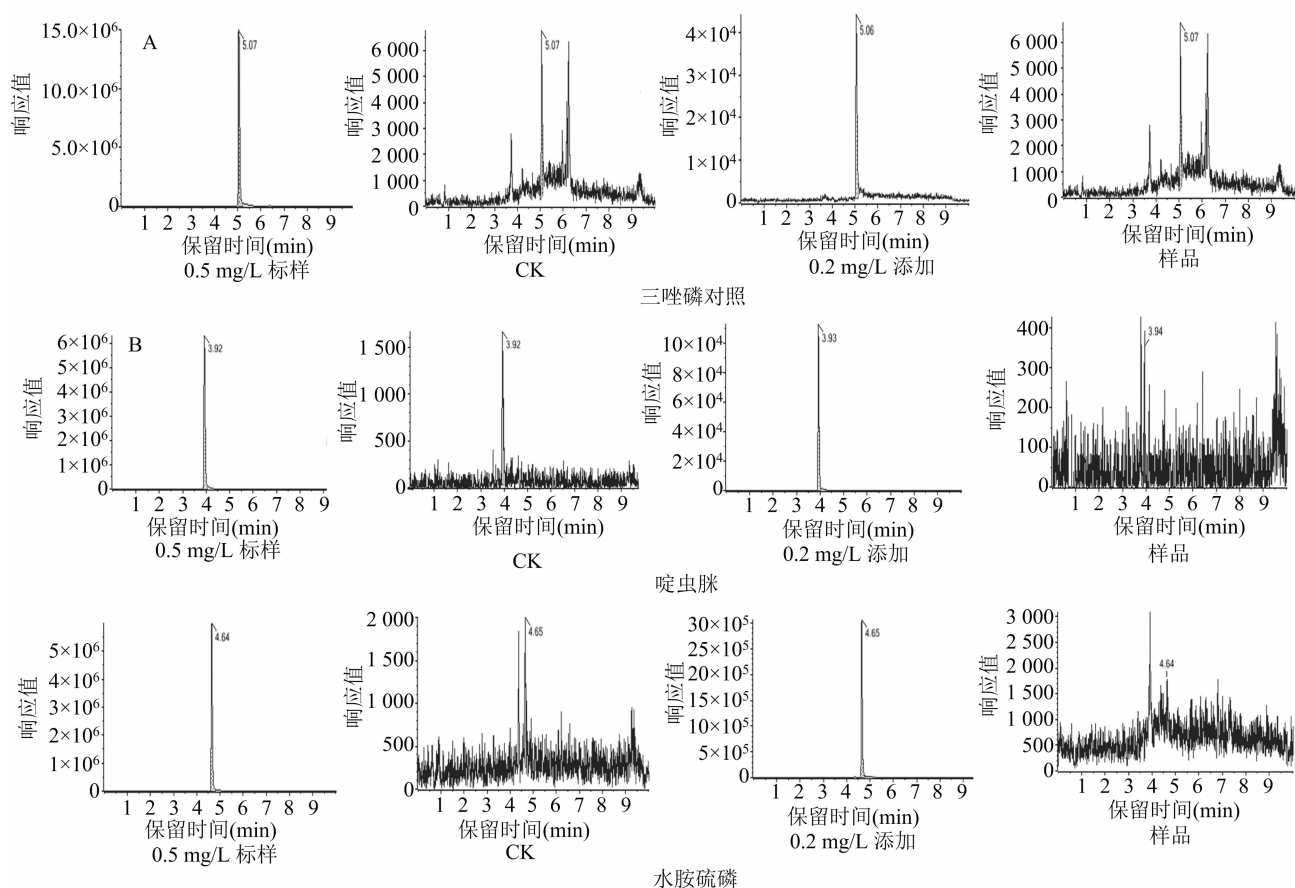


图 1-A 依次为三唑磷 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 标准品响应图谱、空白处理响应图谱、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 添加量响应图谱及典型样品三唑磷响应图谱;
图 1-B 依次为水胺硫磷 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 标准品响应图谱、空白处理响应图谱、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 添加量响应图谱及典型样品水胺硫磷响应图谱;
图 1-C 依次为啉虫脒 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 标准品响应图谱、空白处理响应图谱、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 添加量响应图谱及典型样品啉虫脒响应图谱

图1 三唑磷、水胺硫磷与啉虫脒添加典型图谱

3 结论与讨论

本研究建立了菊花、山药、金银花和麦冬中三唑磷、水胺硫磷及啉虫脒残留的 QuEChERS - LC - MS/MS 分析方法。样品采用 PSA、 C_{18} 及石墨化炭黑纯化,经仪器可检测三唑磷、水胺硫磷和啉虫脒。

方法准确度和紧密度较高,可用于中草药山药、金银花、菊花和麦冬中的三唑磷、水胺硫磷及啉虫脒的定量分析。在 4 种中草药的三唑磷、水胺硫磷和啉虫脒中的残留结果中发现,用空白基质分别配制的 10 种浓度梯度的混合标准液,经测定,以各种定量离子的峰面积为 y ,对应质量浓度为 $x (\mu\text{g/mL})$ 得

表 2 三唑磷、水胺硫磷与啶虫脒在菊花、山药、金银花和麦冬的添加回收率和相对标准偏差($n=5$)

化合物	基质	定量限 (mg/kg)	添加水平 (mg/kg)	回收率 (%)	相对标准 偏差 RSD (%)
三唑磷	菊花	0.01	0.01	91	4.6
			0.10	88	4.3
			0.50	90	6.1
	山药	0.01	0.01	93	3.1
			0.10	94	2.4
			0.50	87	4.7
	金银花	0.01	0.01	91	4.3
			0.10	92	4.7
			0.50	94	5.6
	麦冬	0.01	0.01	95	5.9
			0.10	99	6.7
			0.50	101	5.3
水胺硫磷	菊花	0.01	0.01	97	2.8
			0.10	90	6.8
			0.50	91	4.2
	山药	0.01	0.01	93	5.3
			0.10	89	4.2
			0.50	87	6.3
	金银花	0.01	0.01	95	6.1
			0.10	95	6.5
			0.50	98	3.9
	麦冬	0.01	0.01	89	5.4
			0.10	91	7.8
			0.50	91	7.2
啶虫脒	菊花	0.01	0.01	88	2.8
			0.10	92	4.9
			0.50	95	6.8
	山药	0.01	0.01	97	4.4
			0.10	92	4.2
			0.50	94	6.3
	金银花	0.01	0.01	99	3.9
			0.10	94	6.5
			0.50	98	5.5
	麦冬	0.01	0.01	88	5.7
			0.10	94	5.4
			0.50	90	7.8

到的线性回归方程三唑磷为 $y = 2.499\ 87 \times 10^8 x + 4.984\ 16 \times 10^4$ ($r = 0.999\ 17$); 水胺硫磷为 $y = 4.690\ 89 \times 10^7 x - 3\ 712.482\ 47$ ($r = 0.999\ 49$); 啶虫脒为 $y = 3.644\ 88 \times 10^7 x - 8\ 655.812\ 17$ ($r =$

0.999 48),峰面积和溶液的质量浓度在 0.001 ~ 0.500 mg/L 浓度范围内均呈现良好的线性关系。在定量限(0.01 mg/kg)、0.1、0.5 mg/kg 3 个添加水平下,各样本的添加回收率和变异系数均在允许的范围。

本文建立了高效液相色谱-质谱法在测定菊花、金银花、山药、麦冬 4 种中草药中三唑磷、水胺硫磷和啶虫脒残留的分析方法,该方法简便有效,且定量限可达 0.01 mg/kg,能够满足中草药中残留检测的相关标准。同时这一方法在中草药农药残留测定中的稳定性高、准确度和精密度高,检测快速,适合其他中草药或作物中多种农药残留的检测。

参考文献:

[1] 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.

[2] 毛燕芬,王丹,张新生,等. 气相色谱法测定金桔中 2 种农药残留[J]. 现代农业科技,2018,12(16):110,113.

[3] 李惠明,邢平,王小平,等. 啶虫脒防治蚜虫药效试验[J]. 长江蔬菜,2000,14(5):19-20.

[4] 吴志平,谢成伦,蒋辉. 莫比朗防治几种害虫药效试验[J]. 农药,2001,40(7):29-31.

[5] 许秀莹,施海燕,王鸣华. 气相色谱-质谱联用测定大米中 6 种烟碱类农药残留[J]. 质谱学报,2012,33(2):99-103.

[6] 侯如燕,蔡荟梅,张正竹,等. 液相色谱法检测水果蔬菜中的烟碱类农药残留[J]. 分析试验室,2010,29(2):59-63.

[7] 孙星,闫小龙,杨邦保,等. QuEChERS-HPLC-MS/MS 法分析丙硫菌唑及其代谢物在小麦和土壤中的残留[J]. 食品科学, 2018,39(22):269-275.

[8] Lehotay S J. Quick,easy,cheap,effective,rugged,and safe approach for determining pesticide residues[M]//Pesticide Protocols. Totowa, NJ:Humana Press,2006:239-261.

[9] Gao J P, Garrison W, Hoehamer C F, et al. Uptake and phytotransformation of organophosphorus pesticides by axenically cultivated aquatic plants[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2000,48(12):6114-6120.

[10] Rashid A, Nawaz S, Barker H, et al. Development of a simple extraction and clean-up procedure for determination of organochlorine pesticides in soil using gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A,2010,1217(17):2933-2939.

[11] 杨昌彪,付春艳,罗廷武,等. QuEChERS-LC-MS/MS 快速检测番茄 18 种农药残留[J]. 江苏农业科学,2020,48(9):218-222.

[12] 中华人民共和国农业农村部. 农作物中农药残留试验准则: NY/T 788—2018[S]. 北京:中国标准出版社,2018.