

吴茱萸药材水胺硫磷农药残留量检测技术研究

郑金芳¹ 梁国斌^{2*}

1.新余市综合检验检测中心 江西 新余 338004

2.江西省药品检查员中心 江西 吉安 343000

【摘要】目的：通过科学的农药残留检测技术，保证检验数据的准确性，为吴茱萸药材产业高质量发展提供参考。方法：采用快速提取法、直接取法和固相萃取法^[1]三种前处理方法，以气相色谱-质谱联用仪（GC-MS）和液相色谱-质谱联用仪（LC-MS）共同完成吴茱萸农药残留检测。结果：对吴茱萸采用直接提取+固相萃取三的前处理方法，使用气相色谱-质谱联用（GC-MS）和液相色谱-质谱联用（LC-MS）检查吴茱萸农药成分“水胺硫磷”具有很好的分离度，从而保证农药残留数据的较高准确性。结论：采用直接提取+固相萃取三的药材前处理方法，使用GC-MS与LC-MS检测吴茱萸中农药成分“水胺硫磷”的技术，是有效保证吴茱萸农药残留含量准确性的手段。

【关键词】：吴茱萸；农药残留；检测技术；固相萃取法

Study on Detection Technology of Amphophos Pesticide Residues in Evodia Rubra

Jinfang Zheng¹ Guopin Liang^{2*}

1. Xinyu Comprehensive Inspection and Testing Center Jiangxi Xinyu 338004

2. Jiangxi Drug Inspector Center Jiangxi Ji'an 343000

Abstract: Objective: To ensure the accuracy of test data through scientific pesticide residue detection technology, and to provide reference for the high-quality development of Rucornus officinalis industry. Methods: Rapid extraction, direct extraction and solid phase extraction^[1] were used to detect pesticide residues in Evodia officinalis by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). Results: The method of direct extraction and solid phase extraction (SPE) was used to determine the chemical composition of "aquathion" by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), so as to ensure the high accuracy of pesticide residue data. Conclusion: The method of direct extraction + solid phase extraction and gC-MS and LC-MS were used to detect the pesticide "aquathion" in Evodia officinalis, which was an effective means to ensure the accuracy of pesticide residue content in Evodia officinalis.

Keywords: Evodia rubra; Pesticide residues; Detection technology; Solid phase extraction

吴茱萸主产于贵州、湖南、四川、云南、陕西。种植历史悠久，为芸香科果实类中药，具有散寒止痛，降逆止呕，助阳止泻之功效。药材质量上乘，常用于厥阴头痛，寒湿腹痛，寒湿脚气，经行腹痛，脘腹胀痛等症状^[2]。近年来，随着中医药大健康产业的蓬勃发展，吴茱萸需求量逐年增加，药材的农业种植得到大力推广^[3]。但伴随其种植面积的扩大，因不合理栽培模式导致吴茱萸病虫害发生率日渐提高^[4]。对吴茱萸病虫害的防治上，主要存在农药依赖严重、农药的误用滥用等现象，吴茱萸药材的农药残留超标问题已成为当前药材行业的热点问题之一^[5]。而不规范使用农药不仅会导致吴茱萸农药残留超标，环境污染，吴茱萸病虫害出现抗药性等现象发生，更会导致农药在人体内富集，危害身体健康^[6]。随着《中国药典》2020年版对植物类中药材农药残留检测标准的正式施行，吴茱萸现阶段农药残留检出率比较高，其中尤以甲基异柳（isofenphos-methyl）、克百威（carbofuran）、甲拌磷（phorate）、水胺硫磷（isocarbophos）等品种检出率

最高，水胺硫磷更是时有超出标准范围现象，为促进吴茱萸在生产中农药的科学使用，保障药材质量，本文对吴茱萸水胺硫磷农药残留的检测方法进行研究^[7]，以提高吴茱萸农药残留检测技术，为吴茱萸药材产业高质量发展提供参考^[8]。

1 材料

1.1 仪器

LE-204E电子天平（梅特勒托利多仪器（上海）有限公司）；QTSXR超声仪（天津市瑞普电子仪器公司）；GCMS-TQ8040 NX气相色谱-质谱联用仪（日本岛津公司）；LCMS-8045+LC-20ADxR液相色谱-质谱联用仪（日本岛津公司）；FSH-2A高速匀浆机（杭州旌斐仪器科技有限公司）；TDL-30B百欧离心机（山东百欧医疗科技有限公司）；JOYN-DCY-24S氮吹仪（上海乔跃电子科技有限公司）；XW-80A涡旋仪（海门市其林贝尔仪器制造有限公司）；QB-600振荡仪（海门市其林贝尔仪器制造有限公司）；RE-DC201D旋蒸仪（上海东玺制冷仪器设备有限公司）；

HT-200 多管旋涡混匀仪(上海沪析实业有限公司)。

1.2 试剂试药

磷酸三苯酯对照品(编号:380-03368)、55种GC-MS混合标准品(编号:380-03385)与55种LC-MS混合标准品(编号:380-03386)均来源岛津公司;乙腈(HPLC)(批号20210118)、乙腈(MS)(批号20210730)来源国药集团化学试剂有限公司;甲酸(MS)(批号:C12122684)、甲酸铵(MS)(批号:C12052604)来源上海麦克林生化有限公司;屈臣氏饮用水来源广州屈臣氏食品饮料有限公司)其它试剂均为市售分析纯。

1.3 吴茱萸药材

江西康万家中药制药有限公司(批号:20210801),江西弘康中药饮片有限公司(批号:20211201),江西九州堂中药饮片有限公司(批号:20211101),其它富含大量色素和生物碱类雷同吴茱萸性质的药材:如金银花、紫草、枸杞子、菊花、丹参、蒲公英、海金沙、红花、姜黄、绵茵陈、半枝莲、栀子、金钱草、松木、紫苏叶、鱼腥草、砂仁、艾叶、茉莉花、细辛、透骨草、厚朴、川楝子、茜草药材共计302批,来源于江西康万家中药制药有限公司、江西弘康中药饮片有限公司、江西九州堂中药饮片有限公司、江西碧福源中药饮片有限公司、江西古方原中药饮片有限公司、江西康堡堂中药饮片有限公司、樟树市仁德中药饮片有限公司、江西樟树国康中药饮片有限公司。

2 方法与结果

2.1 气相色谱-串联质谱法

2.1.1 色谱条件

石英毛细管柱(岛津SH-Rxi-17sil MS Columns, 30 m *0.25 mm*0.25 μm, 编号:221-75916-30),进样口温度250℃,不分流进样。载气为高纯氦气(He)。进样口为恒压模式,柱前压力为146kPa。程序升温:初始60℃,保持1分钟,每分钟30℃升至120℃,每分钟10℃升至160℃,每分钟2℃升至230℃,每分钟15℃升至300℃,保留6分钟。

2.1.2 质谱条件

以三重四极杆串联质谱仪检测:离子源为电子轰击源(EI),离子源温度设为250℃,选择氩气为碰撞气,质谱传输接口温度设为250℃,质谱监测模式为多反应监测(MRM)。

2.2 高效液相色谱-串联质谱法

2.2.1 色谱条件

色谱柱(岛津shim-pack Velox C18, 2.1mm *100 mm, 2.7 μm, 编号:227-32009-03);以0.1% 甲酸溶液(含5mmol/l 甲酸铵)为流动相A,以乙腈-0.1% 甲酸溶液(含5mmol/l

甲酸铵)(95:5)为流动相B,梯度洗脱:0~1min,流动相A:流动相B=70%:30%,1~12min,流动相A:70%→0%,流动相B:30%→100%;12~14min:流动相B:100%。流速为每分钟0.3ml,柱温为40℃。

2.2.2 质谱条件

以三重四极杆串联质谱仪检测:离子源为电喷雾(ESI)离子源,正离子扫描模式。监测模式为多反应监测(MRM)。

2.3 溶液制备

2.3.1 混合对照品溶液的制备

精密移取混合农药对照品溶液100μl,置10ml容量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3.2 磷酸三苯酯(内标)溶液的制备

精密移取磷酸三苯酯对照品溶液10μl,置10ml容量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3.3 空白基质溶液的制备

取空白基质样品,同供试品溶液的制备方法处理制成空白基质溶液。

2.3.4 基质混合对照溶液的制备

分别精密移取空白基质溶液1.0ml 6份,置氮吹仪上,40℃水浴浓缩至约0.6ml,分别加入混合对照品溶液10μl、20μl、50μl、100μl、150μl、200μl,加乙腈稀释至1ml,涡旋混匀,即得。

2.4 供试品溶液的制备

2.4.1 快速样品处理法(QuEChERS)法

取吴茱萸(批号:20210801)粉末3g,精密称定,置50ml聚苯乙烯具塞离心管中,加入1%冰醋酸溶液15ml,涡旋使药粉充分浸润,放置30分钟,精密加入乙腈15ml,涡旋使混匀,置振荡器上剧烈振荡(500次/min)5分钟,加入盐包7.5g,立即摇散,再置振荡器上剧烈振荡(500次/min)3分钟,于冰浴中冷却10分钟,离心(4000转/min)5分钟,取上清液9ml,置净化管中,涡旋使充分混匀,置振荡器上剧烈振荡(500次/min)5分钟使净化完全,离心(每分钟4000转)5分钟,精密吸取上清液5ml,置氮吹仪上于40℃水浴浓缩至约0.4ml,加乙腈稀释至1.0ml,涡旋混匀,滤过,取续滤液,即得样品1。

2.4.2 直接提取法

取吴茱萸(批号:20210801)粉末5g,精密称定,加氯化钠1g,立即摇散,再加入乙腈50ml,匀浆处理2分钟(12000转/min),离心(4000转/min),分取上清液,沉淀再加乙腈50ml,匀浆处理1分钟,离心,合并两次提取的上清液,减压浓缩至约3~5ml,放冷,用乙腈稀释至10.0ml,摇匀,即得。

(1) 固相萃取方式二

量取 2.4.2 项下直接提取法制备的供试品溶液 3~5ml, 通过固相萃取柱净化, 收集全部净化液, 混匀, 即得样品 2。

(2) 固相萃取方式三

量取 2.4.2 项下直接提取法制备的供试品溶液 2ml, 加在复合固相萃取小柱, 用乙腈-甲苯混合溶液 (3: 1) 20ml 洗脱, 收集洗脱液, 减压浓缩至近干, 用乙腈转移并稀释至 2.0ml, 混匀, 即得样品 3。

2.5 测定法

2.5.1 气相色谱-串联质谱法

分别精密吸取基质混合对照溶液和供试品溶液各 1ml, 精密加入内标溶液 0.3ml, 混匀, 滤过, 取续滤液。分别精密吸取上述两种溶液各 1 μ l, 注入 GC-MS^[9]。

2.5.2 高效液相色谱-串联质谱法^[10]

分别精密吸取基质混合对照溶液和供试品溶液各 1ml, 精密加入水 0.3ml, 混匀, 滤过, 取续滤液。分别精密吸取上述两种溶液各 4 μ l, 注入 LC-MS。

2.6 试验结果

2.6.1 取快速样品处理法得样品

(1) 直接提取法+固相萃取方式二样品处理法得样品 2、直接提取法+固相萃取方式三样品处理法得样品 3, 分别注入 GC-MS 和 LC-MS。记录质谱图, 见表 3、表 4。结果说明, LC-MS 检测吴茱萸农药水胺硫磷成分, 三种提取方法对水胺硫磷的提取影响不大。GC-MS 对采用直接提取法+固相萃取方式三前处理方法所得样品, 农药残留水胺硫磷目标组分基质干扰少, 峰形完整且对称, 基线水平, 分离较佳^[11]。直接提取法+固相萃取方式三适用于检测吴茱萸中水胺硫磷农药残留量。

表 1 三种不同提取方法的 GC-MS 质谱图

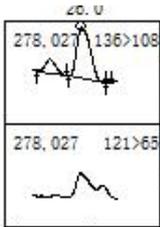
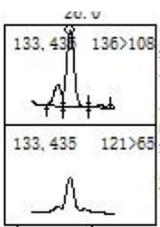
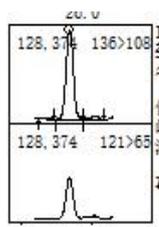
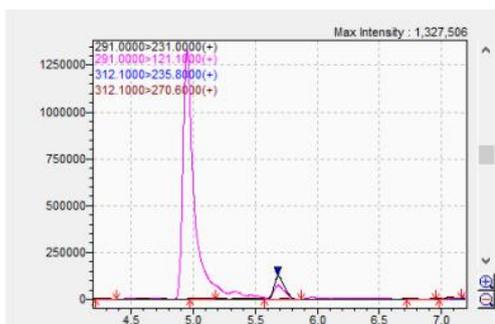
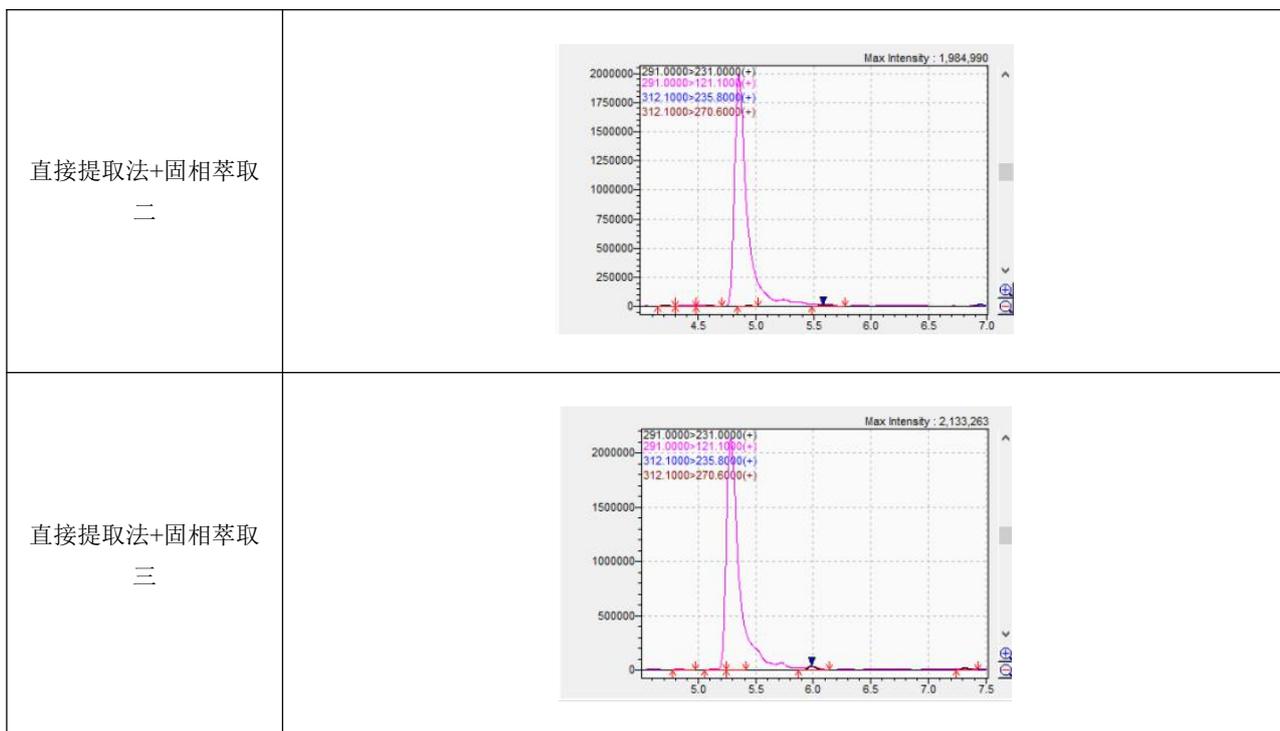
快速样品处理法	直接提取法+固相萃取二	直接提取法+固相萃取三
 <p>ID#: 22 m/z: 135.70 > 108.00 类型: 目标组分 名称: 水胺硫磷 保留时间: 28.819 峰面积: 1642044 浓度: 176.86 μg/L 事件号: 1:MRM</p>	 <p>ID#: 22 m/z: 135.70 > 108.00 类型: 目标组分 名称: 水胺硫磷 保留时间: 28.705 峰面积: 696016 浓度: 83.69 ppm 事件号: 1:MRM</p>	 <p>ID#: 22 m/z: 135.70 > 108.00 类型: 目标组分 名称: 水胺硫磷 保留时间: 28.681 峰面积: 817140 浓度: 108.24 μg/L 事件号: 1:MRM</p>

表 2 三种不同提取方法的 LC-MS 质谱图

样品处理方法	LC-MS 图
快速样品处理法	 <p>Max intensity: 1,327,506</p> <p>291.0000>231.0000(+) 291.0000>121.1000(+) 312.1000>235.8000(+) 312.1000>270.6000(+)</p>



2.7 样品农药残留测定

取吴茱萸 3 批，其它同性质药材 302 批，分别精密称定适量样品，按“2.4.2”与“2.4.2（2）”项下制备供试液，在“2.1”与“2.2”项色谱与质谱条件下分别精密吸取上述

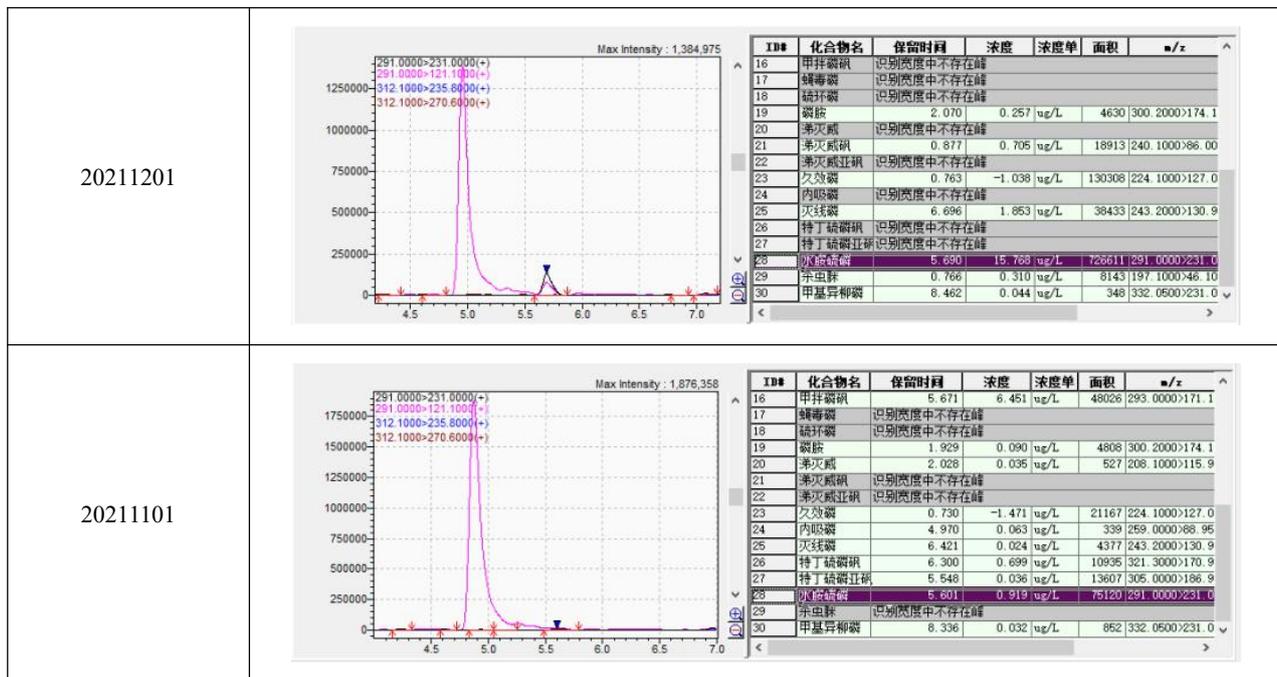
各供试液 1 μl 与 4 μl，注入 GC-MS 与 LC-MS，试验表明：样品采取直接提取法+固相萃取方式三处理后，采取 GC-MS、LC-MS 法测定，均能有效的检测吴茱萸同性质药材中的水胺硫磷农药残留量。记录吴茱萸水胺硫磷质谱图。

表 3 吴茱萸水胺硫磷 GC-MS 质谱图

20210801	20211201	20211101

表 4 吴茱萸水胺硫磷 LC-MS 质谱图

批号	LC-MS 图																																																																																																																
20210801	<table border="1"> <thead> <tr> <th>ID#</th> <th>化合物名</th> <th>保留时间</th> <th>浓度</th> <th>浓度单</th> <th>面积</th> <th>m/z</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>16</td><td>甲拌磷磷</td><td>6.030</td><td>6.941</td><td>ug/L</td><td>60109</td><td>293.0000>171.1</td></tr> <tr><td>17</td><td>磷毒磷</td><td>识别宽度中不存在峰</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>18</td><td>敌敌磷</td><td>识别宽度中不存在峰</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>19</td><td>氯吡啶</td><td>2.139</td><td>0.151</td><td>ug/L</td><td>6464</td><td>300.2000>174.1</td></tr> <tr><td>20</td><td>涕灭磷</td><td>2.255</td><td>0.048</td><td>ug/L</td><td>210</td><td>208.1000>115.9</td></tr> <tr><td>21</td><td>涕灭威磷</td><td>0.906</td><td>0.220</td><td>ug/L</td><td>16480</td><td>240.1000>86.00</td></tr> <tr><td>22</td><td>涕灭威乙磷</td><td>0.713</td><td>0.031</td><td>ug/L</td><td>974</td><td>207.1000>89.00</td></tr> <tr><td>23</td><td>灭多威</td><td>识别宽度中不存在峰</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>24</td><td>内吸磷</td><td>5.073</td><td>0.074</td><td>ug/L</td><td>260</td><td>259.0000>88.95</td></tr> <tr><td>25</td><td>灭线磷</td><td>7.000</td><td>0.528</td><td>ug/L</td><td>37682</td><td>243.2000>130.9</td></tr> <tr><td>26</td><td>特丁硫磷磷</td><td>识别宽度中不存在峰</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>27</td><td>特丁硫磷磷</td><td>5.730</td><td>0.119</td><td>ug/L</td><td>34463</td><td>305.0000>186.9</td></tr> <tr><td>28</td><td>水胺硫磷</td><td>6.586</td><td>2.490</td><td>ug/L</td><td>164112</td><td>291.0000>231.0</td></tr> <tr><td>29</td><td>杀虫磷</td><td>1.104</td><td>0.148</td><td>ug/L</td><td>379</td><td>197.1000>76.10</td></tr> <tr><td>30</td><td>甲基异柳磷</td><td>识别宽度中不存在峰</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>	ID#	化合物名	保留时间	浓度	浓度单	面积	m/z	16	甲拌磷磷	6.030	6.941	ug/L	60109	293.0000>171.1	17	磷毒磷	识别宽度中不存在峰					18	敌敌磷	识别宽度中不存在峰					19	氯吡啶	2.139	0.151	ug/L	6464	300.2000>174.1	20	涕灭磷	2.255	0.048	ug/L	210	208.1000>115.9	21	涕灭威磷	0.906	0.220	ug/L	16480	240.1000>86.00	22	涕灭威乙磷	0.713	0.031	ug/L	974	207.1000>89.00	23	灭多威	识别宽度中不存在峰					24	内吸磷	5.073	0.074	ug/L	260	259.0000>88.95	25	灭线磷	7.000	0.528	ug/L	37682	243.2000>130.9	26	特丁硫磷磷	识别宽度中不存在峰					27	特丁硫磷磷	5.730	0.119	ug/L	34463	305.0000>186.9	28	水胺硫磷	6.586	2.490	ug/L	164112	291.0000>231.0	29	杀虫磷	1.104	0.148	ug/L	379	197.1000>76.10	30	甲基异柳磷	识别宽度中不存在峰				
ID#	化合物名	保留时间	浓度	浓度单	面积	m/z																																																																																																											
16	甲拌磷磷	6.030	6.941	ug/L	60109	293.0000>171.1																																																																																																											
17	磷毒磷	识别宽度中不存在峰																																																																																																															
18	敌敌磷	识别宽度中不存在峰																																																																																																															
19	氯吡啶	2.139	0.151	ug/L	6464	300.2000>174.1																																																																																																											
20	涕灭磷	2.255	0.048	ug/L	210	208.1000>115.9																																																																																																											
21	涕灭威磷	0.906	0.220	ug/L	16480	240.1000>86.00																																																																																																											
22	涕灭威乙磷	0.713	0.031	ug/L	974	207.1000>89.00																																																																																																											
23	灭多威	识别宽度中不存在峰																																																																																																															
24	内吸磷	5.073	0.074	ug/L	260	259.0000>88.95																																																																																																											
25	灭线磷	7.000	0.528	ug/L	37682	243.2000>130.9																																																																																																											
26	特丁硫磷磷	识别宽度中不存在峰																																																																																																															
27	特丁硫磷磷	5.730	0.119	ug/L	34463	305.0000>186.9																																																																																																											
28	水胺硫磷	6.586	2.490	ug/L	164112	291.0000>231.0																																																																																																											
29	杀虫磷	1.104	0.148	ug/L	379	197.1000>76.10																																																																																																											
30	甲基异柳磷	识别宽度中不存在峰																																																																																																															



3 讨论

(1) 植物类中药农药残留检测是一项专业性较强的工作,对检测人员的能力素质和仪器设备、检测条件要求较高,要通过人员比对、参加能力验证或进行实验室间比对等方式监控和评价检测人员能力保持情况;同时根据实验条件,配置相应的仪器设备、检测条件,加强对仪器的保养和维护,以保证检测结果的准确性^[12]。

(2) 试验发现,基质效应干扰会对检测结果产生较大影响,课题组在对吴茱萸水胺硫磷农药残留检测的过程中,有效的通过前处理环节将样品净化处理干净,使其尽可能接

近标准溶液的化学环境,从而减少了基质效应的影响;同时为将富含大量色素和生物碱类雷同吴茱萸性质的药材作为一个大类,准备一种基质匹配的标准溶液进行定量,避免了每种药材在检测水胺硫磷农药残留时,都要寻找空白基质样品,配制相应基质匹配的标准溶液,从而有效减轻了检验工作的负荷。课题组建议在进行农药残留检测时,分析检测人员应通过技术活动来寻求合适的办法,减少基质效应干扰^[13]。在实际工作中将样品基质匹配标准溶液法、样品基质净化法、同步内标法或是其他消除或补偿的方法结合起来,综合使用,以保证样品检测结果的准确性。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.2020年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2020:275-276.
- [2] 金家圆,王健.江西道地药材技术创新现状分析与启示--以吴茱萸为例[J].内蒙古科技与经济,2021,(23):26-28+30.
- [3] 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(01).
- [4] 姜琴.农药残留检测技术及关键环节控制探讨[J].科技创新与应用,2022,12(01):144-146.
- [5] 陈静梅,严辉,周桂生,等.当归药材农药残留研究进展[J].中国中药杂志,2022(01).
- [6] 李富根,朴秀英,廖先骏,等.农药残留国家标准体系建设现状与展望[J].现代农药,2021,20(06):1-5.
- [7] 王莹,申明睿,李纯,等.中药农药残留检测标准发展情况及监管思路[J].中国食品药品监管,2021,(10):76-85.
- [8] 刘雪萍.农药残留检测技术及处理方法[J].农业工程技术,2021,41(23):89-90.
- [9] 武杨柳,李栋,康露,等.质谱技术在农药残留分析中的研究进展[J].质谱学报,2021,42(05):691-708.
- [10] 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(07):645-648+662.
- [11] 李紫兰.农药残留检测技术关键环节控制[J].农业技术与装备,2021,(02):107-108.
- [12] 申明睿,翟为民,何轶石,等.《中华人民共和国药典》2020年版中药禁用农药残留限量标准的研究思路[J].药物分析杂志,2020,40(11):2075-2081.
- [13] 明云云.农药残留提取方法对比分析[J].食品安全导刊,2020,(30):154.