

中国药典—中药农残固相萃取法方式一的分析方法

应用及技术服务部

天津博纳艾杰尔科技有限公司，天津开发区西区南大街179号，300462

概述

本实验重现了《中国药典—2341 农药残留量测定法药典 标准草案公示稿》中第一法高效液相色谱法-串联质谱法 固相萃取法方式一，利用Cleanert MAS-Q分散固相萃取结合液相色谱串联质谱对薄荷叶、天麻、丹参等样品进行检测。样品经乙腈提取后，Cleanert MAS-Q分散固相萃取净化，Luna Omega Polar C18 (1.6 μ m , 2.1 $\times$ 100 mm) 液相色谱柱进行检测，采用外标法定量。结果表明，添加水平相对回收率在50% ~ 140%之间，能够满足检测要求。

实验所用标品均采购于天津阿尔塔科技有限公司

关键词

中国药典；中药农残；Luna Omega Polar C18

化合物信息

表1. 化合物信息

中文名称	英文名称	CAS号	分子式	分子量
甲胺磷	methamidophos	10265-92-6	C ₂ H ₈ NO ₂ PS	141.13
苯线磷	fenamiphos	22224-92-6	C ₁₃ H ₂₂ NO ₃ PS	303.36
苯线磷砒	fenamiphos sulfone	31972-44-8	C ₁₃ H ₂₂ NO ₅ PS	335.36

苯线磷亚砒	fenamiphos sulfoxide	31972-43-7	C ₁₃ H ₂₂ NO ₄ PS	319.36
地虫硫磷	fonofos	994-22-9	C ₁₀ H ₁₅ OPS ₂	246.33
治螟磷	sulfotep	3689-24-5	C ₈ H ₂₀ O ₅ P ₂ S ₂	322.3
克百威	carbofuran	1563-66-2	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	221.25
3-羟基克百威	3-hydroxy carbofuran	16655-82-6	C ₁₂ H ₁₅ NO ₄	237.25
胺苯磷隆	Ethametsulfuron-methyl	97780-06-8	C ₁₅ H ₁₈ N ₆ O ₆ S	410.41
甲磷隆	metsulfuron-methyl	74223-64-6	C ₉ H ₁₇ NOS	381.36
中文名称	英文名称	CAS号	分子式	分子量
氯磺隆	chlorsulfuron	64902-72-3	C ₁₂ H ₁₂ ClN ₅ O ₄ S	357.77
硫线磷	cadusafos	95465-99-9	C ₁₀ H ₂₃ O ₂ PS ₂	270.39
氯唑磷	isazofos	42509-80-8	C ₉ H ₁₇ ClN ₃ O ₃ PS	313.74
甲拌磷	phorate	298-02-2	C ₇ H ₁₇ O ₂ PS ₃	260.38
甲拌磷亚砒	phorate sulfoxide	2588/3/6	C ₇ H ₁₇ O ₄ PS ₂	276.38
甲拌磷砒	phorate sulfone	2588/4/7	C ₇ H ₁₇ O ₄ PS ₃	292.38
蝇毒磷	coumaphos	56-72-4	C ₁₄ H ₁₆ ClO ₅ PS	362.78
硫环磷	phosfolan	947-02-4	C ₇ H ₁₄ NO ₃ PS ₂	255.29
磷胺	phosphamidon	13171-21-6	C ₁₀ H ₁₉ ClNO ₅ P	299.69
涕灭威	aldicarb	116-06-3	C ₁₅ H ₁₂ D ₄ O ₂	190.26
涕灭威砒	aldicarb sulfone	1646-88-4	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	222.26
涕灭威亚砒	aldicarb sulfoxide	1646-87-3	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	206.26
久效磷	monocrotop	2157-98-4	C ₁₇ H ₂₁ NO ₂	223.16



中文名称	英文名称	CAS号	分子式	分子量
内吸磷	demeton	8065-48-3	C ₁₆ H ₃₈ O ₆ P ₂ S ₄	258.34
灭线磷	ethoprophos	13194-48-4	C ₈ H ₁₉ O ₂ PS ₂	242.33
特丁硫磷	terbufos	56070-16-7	C ₉ H ₂₁ O ₄ PS ₃	320.4
砒	sulfone			
特丁硫磷	terbufos	10548-10-4	C ₉ H ₂₁ O ₃ PS ₃	304.4
亚砒	sulfoxide			
水胺硫磷	isocarbophos	24353-61-5	C ₁₁ H ₁₆ NO ₄ PS	289.29
杀虫脒	chlordimeform	6164-98-3	C ₁₀ H ₁₃ ClN ₂	196.67
甲基异柳磷	isofenphos-methyl	99675-03-3	C ₁₄ H ₂₂ NO ₄ PS	331.37
乙酰甲胺磷	Acephate	30560-19-1	C ₄ H ₁₀ NO ₃ PS	183.17
氧乐果	Omethoate	1113-02-6	C ₅ H ₁₂ NO ₄ PS	213.19
灭多威	Methomyl	16752-77-5	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₂ S	162.21
甲基硫环磷	Phosfolan-methyl	5120-23-0	C ₅ H ₁₀ NO ₃ PS ₂	227.24
乐果	Dimethoate	60-51-5	C ₅ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	229.26
对硫磷	Parathion	56-38-2	C ₁₀ H ₁₄ NO ₃ PS	291.26
氟虫腈	Fipronil	120068-37-3	C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₆ N ₄ O ₂ S	437.15
氟甲腈	Fipronil desulfinyl	205650-65-3	C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₆ N ₄	389.08
氟虫腈硫化物	Fipronil sulfide	120067-83-6	C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₆ N ₄ S	421.15
氟虫腈砒	Fipronil sulfone	120068-36-2	C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₆ N ₄ O ₂ S	453.15
氟虫胺	Sulfluramid	4151-50-2	C ₁₀ H ₆ F ₁₇ NO ₂ S	527.2
杀扑磷	Methidathion	950-37-8	C ₆ H ₁₁ N ₂ O ₄ PS ₃	302.33

实验部分

3.1仪器、试剂与材料

3.1.1主要仪器设备

液相色谱串联质谱仪(AB SCIEX API 5500+) ,
配有电喷雾离子源(ESI) ;

3.1.2试剂材料

Cleanert MAS-Q提取盐包 : 50ml 50/pk

Cat : MS-MG5052-1

Cleanert MAS-Q净化包 : 50/pk

Cat : MS-9PA1233

微孔滤膜 : 0.22 μm 尼龙 (NY) 滤膜

实验用水为屈臣氏水 ; 甲酸、甲醇、乙腈为色谱纯试剂 ; 冰醋酸、甲酸铵为分析纯。

3.1.3标准溶液配制

1. 标品 : 乙腈中43种农药混标溶液 (天津阿尔塔科技有限公司) 。

3.1.4溶液配制

1. 1%冰醋酸溶液 : 量取10mL冰醋酸加入990mL水中 , 混匀。

3.2样品前处理方法

称量 : 称取样品3.0g (精确至0.001g) 置于50mL带螺旋盖的离心管中 , 加标 ;

提取 : 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 , 剧烈手摇5分钟 , 加入4颗玻璃均质子 , 后加入Cleanert MAS-Q提取盐包立即摇散 , 剧烈手摇3分钟 , 置冰浴中冷却 10分钟 , 4000r/min 离心5分钟 , 上清液作为提取液 ;

净化 : 精密吸取提取液 3ml , 置于Cleanert MAS-Q净化包中 , 涡旋使充分混匀 , 剧烈手摇5分钟使净化完全 , 8000r/min 离心5分钟 , 取上清液过0.22μm 尼龙 (NY) 滤膜于棕色进样小瓶中 , 待测定。

3.3仪器检测条件

3.3.1色谱条件

色谱柱：Luna Omega Polar C18 1.6 μm , 2.1

$\times 100\text{ mm}$;

P/No：00D-4748-AN

流动相：A：0.1%甲酸-5mM甲酸铵水溶液；

B：甲醇：0.1%甲酸-5mM甲酸铵水溶

液=95:5；

流速：0.2 mL/min；

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$ ；

进样量：3 μL ；

梯度程序见表2：

表2. 梯度条件

时间 (min)	流速 (mL/min)	A (%)	B (%)
0	0.2	95	5
1.00	0.2	95	5
3.00	0.2	50	50
6.00	0.2	10	90
8.00	0.2	0	100
10.00	0.2	0	100
10.50	0.2	95	5
15.00	0.2	95	5

3.3.2质谱条件

离子源类型：电喷雾离子源 (ESI)

扫描方式：多反应监测正、负离子模式

喷雾针电压：5500 V

离子源温度：350 $^{\circ}\text{C}$

加热器 (GS1)：55 psi

辅助加热气 (GS2)：55 psi

气帘气 (CUR)：30 psi

碰撞气 (CAD)：10 psi

为获得较好的稳定和灵敏度，各化合物监测离

子对的去簇电压 (DP) 和碰撞电压 (CE)，目标化合物定量定性离子对参数均经过系统优化，优化信息参见表3。

表3. 化合物定性、定量离子和质谱分析参数

化合物	Q1	Q3	DP/V	CE/V
甲胺磷	142	94 ⁺	54	17
	142	125	54	16
乙酰甲胺磷	184	143 ⁺	50	12
	184	125	50	25
涕灭威亚砷	207.1	89.2 ⁺	55	17
	207.1	132.4	55	10
氧乐果	214	182.9 ⁺	60	16
	214	109	60	36
涕灭威砷	223.1	86.1 ⁺	30	18
	223.1	76.1	30	15
氧乐果	163	88 ⁺	38	12
	163	106	38	14
涕灭威砷	224.1	193.1 ⁺	71	15
	224.1	127.1	71	17
灭多威	197.1	46.2 ⁺	75	41
	197.1	117.1	75	40
久效磷	228	168 ⁺	30	20
	228	109	30	35
杀虫脒	238.1	163.2 ⁺	70	21
	238.1	220.2	70	13
甲基硫环磷	230	199 ⁺	56	13
	230	125	56	29
3-羟基克百威	256	140.1 ⁺	40	30
	256	168.1	40	24
乐果	208.1	89.2 ⁺	47	24
	208.1	116.1	47	17
硫环磷	300.1	174.1 ⁺	75	25
	300.1	127.1	75	25
涕灭威	222.1	165.2 ⁺	70	14
	222.1	123.2	70	27
磷胺	382.1	167.3 ⁺	40	22
	382.1	199.2	40	29
克百威	320	233.2 ⁺	100	31
	320	171.3	100	31
甲磺隆	336.1	266.2 ⁺	90	27
	336.1	188.3	90	37



苯线磷亚砷	358	141.3*	51	28
	358	167.3	51	28
苯线磷砷	411.1	196.3*	49	23
	411.1	168.3	49	41
氯磺隆	184	143*	50	12
	184	125	50	25
胺苯磺隆	207.1	89.2*	55	17
	207.1	132.4	55	10
甲拌磷亚砷	277	97.1*	25	44
	277	199	25	15
甲拌磷砷	293	171*	65	28
	293	247.1	65	12
水胺硫磷	273.1	231*	67	15
	291	231.1	67	15
化合物	Q1	Q3	DP/V	CE/V
杀扑磷	303	145*	59	13
	303	85	59	28
内吸磷	259	89.2*	48	18
	259	61.1	48	46
特丁硫磷亚砷	305.1	187.2*	70	17
	305.1	97	70	56
特丁硫磷砷	321	171.2*	49	16
	321	97	49	55
氯唑磷	314	162.3*	70	25
	314	120.2	70	41
灭线磷	243.1	97*	51	25
	243.1	131.1	51	30
苯线磷	304.1	217*	77	31
	304.1	234.3	77	28
甲基异柳磷	332.1	273.1*	20	13
	332.1	231.2	20	16
治螟磷	323	97.1*	70	51
	323	171.2	70	22
对硫磷	292	264*	70	18
	292	236	70	25
蝇毒磷	363	227.2*	100	37
	363	307.1	100	28
地虫硫磷	247	109.1*	50	26
	247	137.1	50	17
甲拌磷	261	75*	51	17
	261	47	51	53
硫线磷	271.1	131.1*	40	29

	271.1	159.2	40	21
氟虫腈	434.9	330*	-25	-24
	434.9	250	-25	-38
氟甲腈	387	351*	-30	-19
	387	282	-30	-47
氟虫腈亚砷	419	262*	-20	-35
	419	383	-20	-22
氟虫腈砷	450.9	282*	-28	-38
	450.9	415	-28	-26
氟虫胺	526	169*	-90	-38
	526	219	-90	-34

注：表3中标“*”为定量离子。

3.4结果与讨论

3.4.1基质匹配标准曲线的制备

本实验为单点定量。精密吸取标品于净化后的空白基质中，即得到基质标，液质联用仪测定。

3.4.2方法准确度

考虑到49种标品响应及方法本身，故薄荷叶、天麻、丹参等三个基质选择0.030mg/kg加标，由表4~6可知，添加浓度的回收率在50%~140%，RSD均小于15；本实验色谱图见图1~6。

表4.薄荷叶基质加标回收实验结果

化合物	理论浓度 (mg/kg)	平均结果 (mg/kg)	回收率%	RSD
甲胺磷	0.0300	0.02445	81.50	1.8
乙酰甲胺磷	0.0300	0.02454	81.78	7.7
涕灭威亚砷	0.0300	0.02707	90.22	1.7
氧乐果	0.0300	0.02437	81.25	1.7
涕灭威砷	0.0300	0.02791	93.04	9.8
灭多威	0.0300	0.02877	95.91	3.1
久效磷	0.0300	0.02803	93.45	4.0
杀虫脒	0.0300	0.02383	79.42	4.8
甲基硫环磷	0.0300	0.02490	83.00	3.1
3-羟基基百威	0.0300	0.02928	97.60	3.0
乐果	0.0300	0.02929	97.64	2.3
硫环磷	0.0300	0.02884	96.14	1.4

涕灭威	0.0300	0.02922	97.39	1.0
磷胺	0.0300	0.02944	98.15	1.7
克百威	0.0300	0.03020	100.67	1.3
甲磺隆	0.0300	0.02105	70.17	3.1
苯线磷亚砷	0.0300	0.03035	101.18	3.0
苯线磷砷	0.0300	0.02769	92.29	2.3
氯磺隆	0.0300	0.01572	52.40	4.1
胺苯磺隆	0.0300	0.02639	87.95	3.4
甲拌磷亚砷	0.0300	0.02885	96.16	4.1
甲拌磷砷	0.0300	0.01847	61.56	3.7
水胺硫磷	0.0300	0.02924	97.48	4.9
杀扑磷	0.0300	0.02952	98.40	6.9
内吸磷	0.0300	0.02497	83.22	1.4
特丁硫磷亚砷	0.0300	0.02848	94.94	2.3
特丁硫磷砷	0.0300	0.02838	94.59	4.8
氯唑磷	0.0300	0.02871	95.70	6.1
灭线磷	0.0300	0.03033	101.10	1.7
苯线磷	0.0300	0.02761	92.05	4.3
甲基异柳磷	0.0300	0.02874	95.79	3.4
治螟磷	0.0300	0.03151	105.02	0.5
对硫磷	0.0300	0.02608	86.94	9.1
蝇毒磷	0.0300	0.02814	93.80	3.6
地虫硫磷	0.0300	0.02998	99.94	2.3
甲拌磷	0.0300	0.02722	90.72	8.3
硫线磷	0.0300	0.03297	109.88	11.4
氟虫腈	0.0300	0.03067	102.22	1.2
氟甲腈	0.0300	0.03103	103.44	0.6
氟虫腈亚砷	0.0300	0.03245	108.16	2.0
氟虫腈砷	0.0300	0.03265	108.82	1.3

注：表4中结果为去空白后值。

表5.天麻基质加标回收实验结果

化合物	理论浓度 (mg/kg)	平均结果 (mg/kg)	回收率%	RSD
甲胺磷	0.0300	0.02413	80.42	0.7
乙酰甲胺磷	0.0300	0.02950	98.34	11.7
涕灭威亚砷	0.0300	0.02845	94.83	2.6
氧乐果	0.0300	0.02896	96.54	6.1
涕灭威砷	0.0300	0.03131	104.37	2.0
化合物	理论浓度 (mg/kg)	平均结果 (mg/kg)	回收率%	RSD
灭多威	0.0300	0.03178	105.94	1.3

久效磷	0.0300	0.02931	97.69	3.4
杀虫脒	0.0300	0.02537	84.57	3.1
甲基硫环磷	0.0300	0.02978	99.26	2.3
3-羟基克百威	0.0300	0.02946	98.19	2.1
乐果	0.0300	0.03086	102.88	2.6
硫环磷	0.0300	0.02956	98.53	2.6
涕灭威	0.0300	0.03138	104.61	2.4
磷胺	0.0300	0.03076	102.52	2.1
克百威	0.0300	0.03032	101.08	0.8
甲磺隆	0.0300	0.02085	69.51	2.4
苯线磷亚砷	0.0300	0.02871	95.71	4.8
苯线磷砷	0.0300	0.02950	98.32	4.3
氯磺隆	0.0300	0.01844	61.46	2.6
胺苯磺隆	0.0300	0.02808	93.60	0.7
甲拌磷亚砷	0.0300	0.02834	94.46	3.3
甲拌磷砷	0.0300	0.03103	103.45	3.4
水胺硫磷	0.0300	0.03230	107.66	5.5
杀扑磷	0.0300	0.03178	105.93	2.3
内吸磷	0.0300	0.02910	97.01	2.0
特丁硫磷亚砷	0.0300	0.02971	99.05	1.9
特丁硫磷砷	0.0300	0.03007	100.22	4.5
氯唑磷	0.0300	0.02994	99.81	3.0
灭线磷	0.0300	0.03200	106.68	3.7
苯线磷	0.0300	0.02891	96.37	1.5
甲基异柳磷	0.0300	0.02974	99.14	1.4
治螟磷	0.0300	0.03276	109.19	3.1
对硫磷	0.0300	0.02804	93.48	10.4
蝇毒磷	0.0300	0.03043	101.42	3.9
地虫硫磷	0.0300	0.03037	101.22	5.5
甲拌磷	0.0300	0.03202	106.72	9.3
硫线磷	0.0300	0.02990	99.65	3.2
氟虫腈	0.0300	0.03207	106.89	1.5
氟甲腈	0.0300	0.03125	104.16	1.7
氟虫腈亚砷	0.0300	0.03377	112.55	2.8
氟虫腈砷	0.0300	0.03217	107.22	1.6

注：表5中结果为去空白后值。

表6.丹参基质加标回收实验结果

化合物	理论浓度 (mg/kg)	平均结果 (mg/kg)	回收率%	RSD
甲胺磷	0.0300	0.02329	77.65	5.0

乙酰甲胺磷	0.0300	0.02522	84.05	1.6
涕灭威亚砷	0.0300	0.02744	91.47	2.6
氧乐果	0.0300	0.02656	88.55	1.7
涕灭威砷	0.0300	0.02809	93.63	2.6
灭多威	0.0300	0.02762	92.08	3.0
久效磷	0.0300	0.02630	87.68	2.9
杀虫脒	0.0300	0.02363	78.78	3.6
甲基硫环磷	0.0300	0.02688	89.60	2.5
3-羟基克百威	0.0300	0.02967	98.92	6.0

化合物	理论浓度 (mg/kg)	平均结果 (mg/kg)	回收率%	RSD
乐果	0.0300	0.02918	97.27	0.8
硫环磷	0.0300	0.03011	100.38	4.6
涕灭威	0.0300	0.02774	92.47	2.0
磷胺	0.0300	0.02868	95.59	3.7
克百威	0.0300	0.02836	94.53	4.4
甲磺隆	0.0300	0.02247	74.89	2.9
苯线磷亚砷	0.0300	0.02814	93.81	4.6
苯线磷砷	0.0300	0.02976	99.20	3.7
氯磺隆	0.0300	0.01998	66.60	4.0
胺苯磺隆	0.0300	0.02703	90.10	1.4
甲拌磷亚砷	0.0300	0.03104	103.45	5.8
甲拌磷砷	0.0300	0.03374	112.46	2.2
水胺硫磷	0.0300	0.02908	96.93	2.3
杀扑磷	0.0300	0.02696	89.87	5.4
内吸磷	0.0300	0.02457	81.91	0.4
特丁硫磷亚砷	0.0300	0.02936	97.86	4.2
特丁硫磷砷	0.0300	0.02991	99.69	11.3
氯唑磷	0.0300	0.02964	98.79	4.1
灭线磷	0.0300	0.02912	97.07	5.9
苯线磷	0.0300	0.02637	87.91	1.9
甲基异柳磷	0.0300	0.03021	100.70	1.7
治螟磷	0.0300	0.03941	131.37	13.1
对硫磷	0.0300	0.04029	134.31	3.8
蝇毒磷	0.0300	0.04113	137.09	10.0
地虫硫磷	0.0300	0.03386	112.85	11.8
甲拌磷	0.0300	0.02463	82.11	9.0
硫线磷	0.0300	0.03648	121.59	8.7
氟虫腈	0.0300	0.02959	98.65	1.5
氟甲腈	0.0300	0.02906	96.88	0.7
氟虫腈亚砷	0.0300	0.03055	101.82	1.0
氟虫腈砷	0.0300	0.03023	100.78	0.7

注：表6中结果为去空白后值。

3.4.3讨论

实验过程中发现最后上机液中如果加0.3mL水上机结果会整体偏高，并且对溶剂效应没有特别大的改善，所以实验选择净化后过滤膜直接上机。

丹参基质比较特殊，基质会对内吸磷农药产生吸附或降解的作用，所以实验操作中要去除掉浸润及冰浴的等待时间，尽快上机检测，减少基质干扰时间。

3.5实验谱图

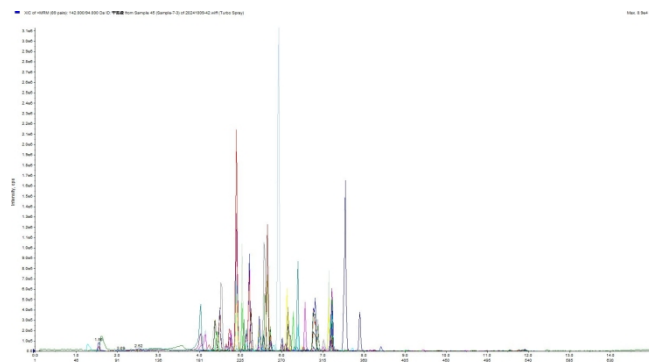


图1.薄荷叶样品正离子质谱图（理论浓度
0.030mg/kg）

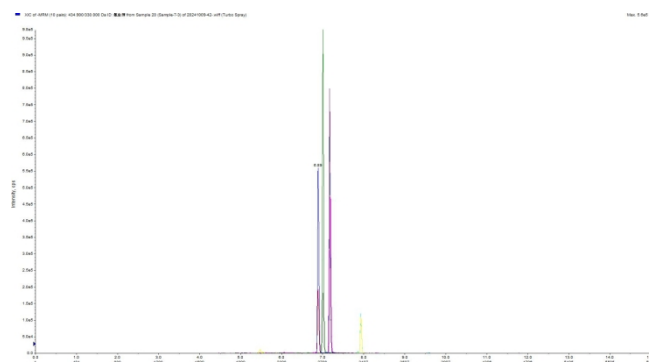


图2.薄荷叶样品负离子质谱图（理论浓度

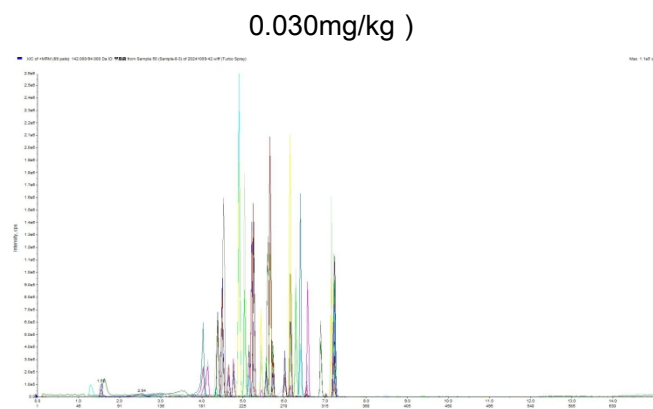


图3.天麻样品正离子质谱图 (理论浓度

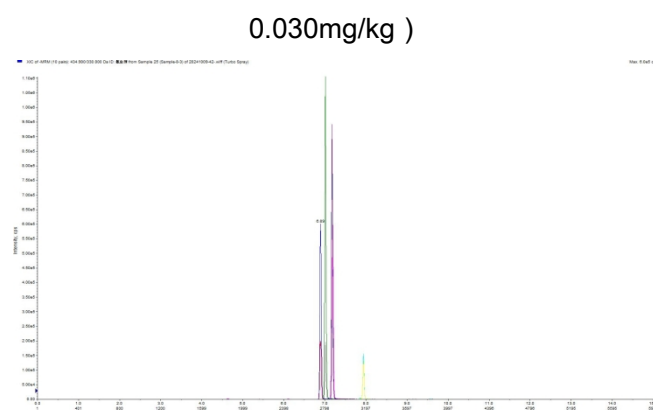


图4.天麻样品负离子质谱图 (理论浓度

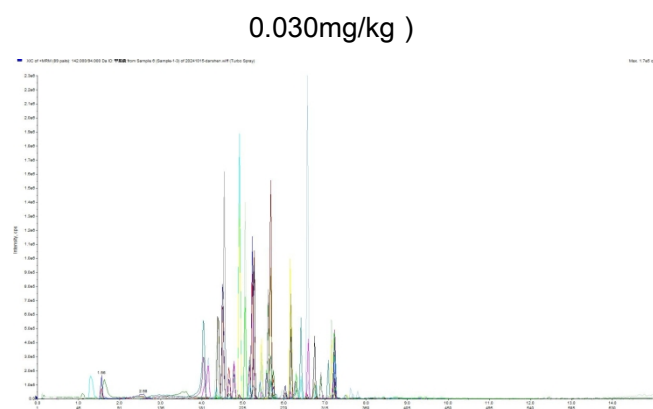


图5.丹参样品正离子质谱图 (理论浓度

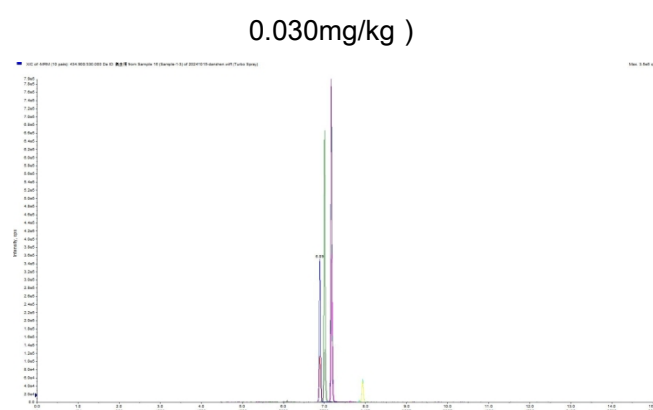


图6.丹参样品负离子质谱图 (理论浓度
0.030mg/kg)

结论

本实验重现了《中国药典—2341 农药残留量测定法药典 标准草案公示稿》中第一法高效液相色谱法-串联质谱法 固相萃取法方式一，利用Cleanert MAS-Q分散固相萃取结合液相色谱串联质谱对薄荷叶、天麻、丹参等样品进行检测。样品经乙腈提取后，Cleanert MAS-Q分散固相萃取净化，Luna Omega Polar C18 (1.6 μm , 2.1 $\times$ 100 mm) 液相色谱柱进行检测，采用外标法定量。结果表明，添加水平相对回收率在50% ~ 140%之间，RSD均小于15，能够满足检测要求。





Xccelerator 加速服务

探索分离, 使命加速

Mission to Accelerate Separation

在新药、仿制药研发和科学研究过程中, 抢占先机越来越多被大家提及, 同时在食品、环境、临床等行业的客户也都面临着项目周期压缩的压力。基于此, 我们成立了上海和天津两个方法开发服务中心, 为客户加快项目进度提供支持。

Xccelerator 以客户为中心, 以色谱技术为中心, 为药物研发和科学研究提供全方位加速服务。

三大研发中心

中国天津

地址: 天津市开发区西区南大街179号

电话: 400-606-8099

邮箱: cninfo@phenomenex.com

中国上海

地址: 上海市长宁区福泉北路518号1号楼1层

电话: 400-606-8099

邮箱: cninfo@phenomenex.com

美国总部

地址: 411 Madrid Avenue Torrance, CA 90501-1430, USA

Tel: +1 (310) 212-0555

Fax: +1 (310) 328-7768

Email: cninfo@phenomenex.com

仅用于研究目的, 不可用于临床诊断程序。

© 2022 天津博纳艾杰尔科技有限公司保留所有权利。



如果您对于本方法的执行有任何问题, 或想要了解更多信息,
请拨打400-606-8099 联系我们的技术专家, 我们很乐意为您提供帮助!

Confidential - Company Proprietary

