

中国药典—中药农残固相萃取法方式三的分析方法

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 固相萃取法方式三，利用Cleanert PestiCarb/NH₂固相萃取结合液相色谱串联质谱对天麻样品进行检测。样品经乙腈提取后，Cleanert PestiCarb/NH₂固相萃取柱净化，Luna Omega Polar C18 (1.6 μm, 2.1 × 100 mm) 液相色谱柱进行检测，采用外标法定量。结果表明，除甲磺隆、氯磺隆、胺苯磺隆等三种磺隆类农药外，添加水平相对回收率在70% ~ 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	31972-44-8	C ₁₃ H ₂₂ NO ₃ PS	335.36

磺胺	sulfone			
苯线磷砒	fenamiphos	31972-43-7	C ₁₃ H ₂₂ NO ₄ PS	319.36
砒	sulfoxide			
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
胺苯磺隆	Ethametsulfuron-methyl	97780-06-8	C ₁₅ H ₁₈ N ₆ O ₆ S	410.41
甲磺隆	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
甲拌磷砒	phorate	2588/3/6	C ₇ H ₁₇ O ₄ PS ₂	276.38
砒	sulfoxide			
甲拌磷砒	phorate	2588/4/7	C ₇ H ₁₇ O ₄ PS ₃	292.38
磺胺	sulfone			
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	1646-88-4	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	222.26
磺胺	sulfone			
涕灭威砒	aldicarb	1646-87-3	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	206.26
砒	sulfoxide			



久效磷	monocrotophos	2157-98-4	C ₁₇ H ₂₁ NO ₂	223.16
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 S	437.15

中文名称	英文名称	CAS号	分子式	分子量
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 2S	453.15
氟虫胺	Sulfuramid	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 PestiCarb/NH₂：500mg/500mg/6mL

Cat：PN0006

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%冰醋酸溶液：量取10mL冰醋酸加入990mL水中，混匀。
- 洗脱液 (乙腈：甲苯=3:1)：量取300mL乙腈与100mL甲苯于溶剂瓶中，混匀。

3.2 样品前处理方法

称量：称取天麻样品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；

活化：Cleanert PestiCarb/NH₂小柱用 10mL 洗脱液活化；

上样：精密吸取提取液2mL小柱上样，接流出；
洗脱：20mL 洗脱液洗脱小柱，抽干小柱；
浓缩：40℃氮气吹至0.5mL~1mL，每次加入5mL乙腈进行溶剂置换，置换两次后，氮气吹至0.1mL。用乙腈定容至 2.0mL，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 × 100 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℃；
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℃

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
化合物	Q1	Q3	DP/V	CE/V
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
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

对硫磷	323	171.2	70	22
	292	264*	70	18
蝇毒磷	292	236	70	25
	363	227.2*	100	37
地虫硫磷	363	307.1	100	28
	247	109.1*	50	26
甲拌磷	247	137.1	50	17
	261	75*	51	17
硫线磷	261	47	51	53
	271.1	131.1*	40	29
氟虫腈	271.1	159.2	40	21
	434.9	330*	-25	-24
氟甲腈	434.9	250	-25	-38
	387	351*	-30	-19
氟虫腈亚砷	387	282	-30	-47
	419	262*	-20	-35
氟虫腈砷	419	383	-20	-22
	450.9	282*	-28	-38
氟虫胺	450.9	415	-28	-26
	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，按3.2中浓缩步骤氮吹浓缩定容后，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，故天麻基质选择0.030mg/kg加标，由表4可知，除甲磺隆、氯磺隆、胺苯磺隆等三种磺隆类农药外，添加浓度的回收率在70%~140%，RSD均小于15；本实验色谱图见图1~2。

表4.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	0.02875	95.82	5.0

乙酰甲胺磷	0.0300	0.03383	112.76	7.9
涕灭威亚砷	0.0300	0.03246	108.21	5.1
氧乐果	0.0300	0.02866	95.54	8.0
涕灭威砷	0.0300	0.02168	72.26	7.9
灭多威	0.0300	0.03715	123.82	7.4
久效磷	0.0300	0.02821	94.05	7.9
杀虫脒	0.0300	0.02374	79.13	8.9
甲基硫环磷	0.0300	0.02297	76.56	7.1
3-羟基克百威	0.0300	0.03021	100.70	1.3
乐果	0.0300	0.02865	95.49	1.4
硫环磷	0.0300	0.02659	88.62	2.3
涕灭威	0.0300	0.02363	78.78	4.9
磷胺	0.0300	0.02578	85.92	6.1
克百威	0.0300	0.02443	81.43	8.7
甲磺隆	0.0300	0.00000	-0.01	-
苯线磷亚砷	0.0300	0.02376	79.19	8.4
苯线磷砷	0.0300	0.02269	75.63	6.6
氯磺隆	0.0300	-0.00060	-2.00	-1.3
胺苯磺隆	0.0300	-0.00001	-0.04	-
甲拌磷亚砷	0.0300	0.02603	86.76	3.7
甲拌磷砷	0.0300	0.02309	76.95	3.8
水胺硫磷	0.0300	0.02200	73.34	5.4
杀扑磷	0.0300	0.02328	77.60	12.8
内吸磷	0.0300	0.02326	77.52	10.7
特丁硫磷亚砷	0.0300	0.02361	78.69	3.8
特丁硫磷砷	0.0300	0.02278	75.95	10.0
氯唑磷	0.0300	0.02349	78.30	9.0
灭线磷	0.0300	0.02323	77.44	5.0
苯线磷	0.0300	0.02249	74.97	9.8
甲基异柳磷	0.0300	0.02184	72.81	8.3
治螟磷	0.0300	0.02635	87.83	8.4
对硫磷	0.0300	0.04155	138.48	5.9
蝇毒磷	0.0300	0.02251	75.03	2.7
地虫硫磷	0.0300	0.03286	109.52	8.1
甲拌磷	0.0300	0.03098	103.28	3.4
硫线磷	0.0300	0.02512	83.73	7.3
氟虫腈	0.0300	0.03133	104.44	0.9
氟甲腈	0.0300	0.02952	98.39	1.0
氟虫腈亚砷	0.0300	0.03040	101.33	1.6
氟虫腈砷	0.0300	0.02995	99.83	0.4

注：表4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。

氮吹对农药回收率影响较大。所以选择基质标同氮吹来消除氮吹的干扰。同样在氮吹过程中不能吹干，由于洗脱液中含有甲苯对质谱不友好，选择通过溶剂置换的方法来解决洗脱液中甲苯的问题。

由结果可知《中国药典—2341 农药残留量测定法药典 标准草案公示稿》中第二法高效液相色谱法-串联质谱法 固相萃取法方式三不适合做磺隆类农药，磺隆类药物建议用固相萃取法前两种方式。

3.5实验谱图

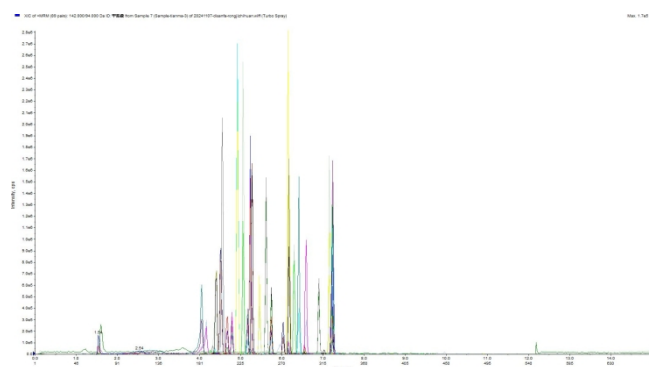


图1.天麻样品正离子质谱图（理论浓度
0.030mg/kg）

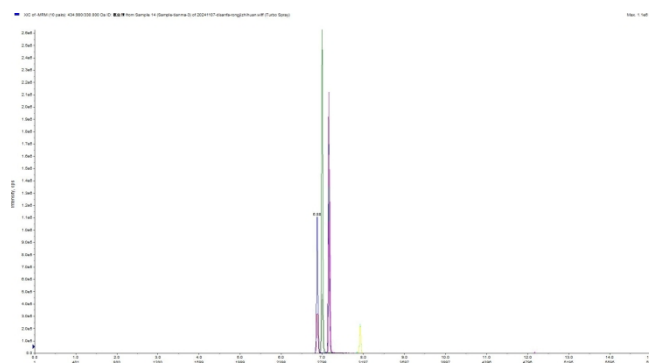


图2.天麻样品负离子质谱图（理论浓度
0.030mg/kg）



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 固相萃取法方式三，利用 Cleanert PestiCarb/NH₂固相萃取结合液相色谱串联质谱对天麻样品进行检测。样品经乙腈提取后，Cleanert PestiCarb/NH₂固相萃取柱净化，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，除甲磺隆、氯磺隆、胺苯磺隆等三种磺隆类农药外，添加水平相对回收率在70% ~ 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

