

中国药典—三七 贝母中中药农残的分析方法

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》中第二法高效液相色谱法-串联质谱法 三七、浙贝母、川贝母、湖北贝母、伊贝母、平贝母、白术部分，利用Cleanert MAS-Q分散固相萃取结合液相色谱串联质谱对三七、浙贝母、平贝母等样品进行检测。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均在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；三七；贝母；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
吡蚜酮	Pymetrozin	123312-89-0	C ₁₀ H ₁₁ N ₅ O	217.23
霜霉威	Propamocarb	24579-73-5	C ₉ H ₂₀ N ₂ O ₂	188.27
多菌灵	Carbendazim	10605-21-7	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂	191.19

吡虫啉	Imidacloprid	138261-41-3	C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂	255.66
啶虫脒	Acetamiprid	135410-20-7	C ₁₀ H ₁₁ ClN ₄	222.67
啉霉胺	Pyrimethanil	53112-28-0	C ₁₂ H ₁₃ N ₃	199.25
甲霜灵	Metalaxyl	57837-19-1	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	279.33
啉酰菌胺	Boscalid	188425-85-6	C ₁₈ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O	343.21
咯菌腈	Fludioxonil	131341-86-1	C ₁₂ H ₆ F ₂ N ₂ O ₂	248.18
烯酰吗啉	Dimethomorph	110488-70-5	C ₂₁ H ₂₂ ClNO ₄	387.86
啉菌环胺	Cyprodinil	121552-61-2	C ₁₄ H ₁₃ N ₃	225.29
氟环唑	Epoxiconazole	133855-98-8	C ₁₇ H ₁₃ ClFN ₃ O	329.76
中文名称	英文名称	CAS号	分子式	分子量
噻呋酰胺	Thifluzamide	130000-40-7	C ₁₃ H ₆ Br ₂ F ₆ N ₂ O ₂ S	528.06
氟硅唑	Flusilazole	85509-19-9	C ₁₆ H ₁₅ F ₂ N ₃ S	315.4
虫酰肼	Tebufozid	112410-23-8	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₂	352.47
醚菌酯	Kresoxim-methyl	143390-89-0	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	313.35
戊唑醇	Tebuconazole	107534-96-3	C ₁₆ H ₂₂ ClN ₃ O	307.82
二嗪磷	Diazinon	333-41-5	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ P	304.35
丙环唑	Propiconazole	60207-90-1	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₂	342.22
己唑醇	Hexaconazole	79983-71-4	C ₁₄ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O	314.21
吡唑醚菌酯	Pyraclostrobin	175013-18-0	C ₁₉ H ₁₈ ClN ₃ O ₄	387.82
十三吗啉	Tridemorph	24602-86-6	C ₁₉ H ₃₉ NO	297.52



苯醚甲环唑	Difenoconazole	119446-68-3	$C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$	406.26
除虫菊素II	Pyrethrin II	121-29-9	$C_{22}H_{28}O_5$	372.45
氟啶胺	Fluazinam	79622-59-6	$C_{13}H_4Cl_2F_6N_4O_4$	465.09
毒死蜱	Chlorpyrifos	2921-88-2	$C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$	350.59
甲氨基阿维菌素苯甲酸盐	Emamectin benzoate	155569-91-8	$C_{49}H_{77}NO_{13}$	888.13
除虫菊素I	Pyrethrin I	121-21-1	$C_{21}H_{28}O_3$	328.45
唑螨酯	Fenpyroximate	111812-58-9	$C_{24}H_{27}N_3O_4$	421.49
哒螨灵	Pyridaben	96489-71-3	$C_{19}H_{25}ClN_2OS$	364.93
阿维菌素	Abamectin	71751-41-2	$C_{49}H_{74}O_{14}$	887.11

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 MSA-Q净化包：15mL 50/pk

Cat：DZ-SPE-24044

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：甲醇中31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，置冰浴中放置20min。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 9ml，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 5mL，用乙腈稀释至 20mL，摇匀，过0.22μm 尼龙 (NY) 滤膜，精密吸取1mL于棕色进样小瓶中，加入0.3mL 水，混匀，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 °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
吡蚜酮	218	105*	55	25
	218	78	55	30
霜霉威	188.7	102.1*	70	24
	188.7	74	70	34
多菌灵	192.1	160.1*	80	25
	192.1	132.1	80	41
吡虫啉	256	209*	45	22

啉虫脒	256	175	45	27
	223	126*	65	28
	223	99	65	60
啉霉胺	200.1	168*	30	40
	200.1	183.1	30	33
甲霜灵	280.2	192.3*	75	24
	280.2	220.1	75	18
化合物	Q1	Q3	DP/V	CE/V
啉酰菌胺	343	307.1*	100	28
	343	140	100	27
咯菌腈	266.1	228.9*	30	17
	266.1	158	30	46
烯酰吗啉	388.1	301.1*	105	29
	388.1	165.1	105	43
啉菌环胺	226.1	108.1*	96	35
	226.1	93.1	96	50
氟环唑	330.1	121.2*	85	55
	330.1	101	85	70
噻呋酰胺	526.9	486.8*	80	22
	526.9	407.8	80	30
氟硅唑	316.1	247.1*	50	26
	316.1	165.1	50	37
虫酰肼	353.2	133.1*	35	24
	353.2	297.1	35	11
醚菌酯	314.1	267.1*	60	9
	314.1	222	60	20
戊唑醇	308.1	125*	95	47
	308.1	70	95	49
二嗪磷	305.1	169*	90	28
	305.1	153	90	28
丙环唑	342.1	159*	75	32
	342.1	205	75	20
己唑醇	314.1	70.1*	85	45
	314.1	159.1	85	40
吡唑醚菌酯	388.1	163*	50	36
	388.1	194.1	50	18
十三吗啉	298	130*	120	35
	298	98	120	37
苯醚甲环唑	406.1	251*	105	35
	406.1	337	105	24
除虫菊素II	373.3	160.9*	75	13
	373.3	133	75	22

毒死蜱	350	198*	75	28
	350	97	75	25
甲氨基阿维菌素苯甲酸盐	886.5	158.1*	50	41
	886.5	82	50	110
除虫菊素I	329.2	161.1*	75	13
	329.2	133.1	75	22
唑螨酯	422	366.1*	90	23
	422	135.1	90	43
哒螨灵	365.2	309.1*	77	17
	365.2	147	77	34
阿维菌素	890.5	305.1*	95	33
	890.5	145	95	58

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。精密吸取空白基质溶液1.0mL，置氮吹仪上，40℃水浴浓缩至约0.4mL，精密加入标品2μL，乙腈稀释至1mL，精确加入0.3mL水，涡旋混匀，过0.22μm尼龙（NY）滤膜，待上机。

3.4.2方法准确度

考虑到31种标品响应及方法本身，故三七、平贝母、浙贝母基质选择0.020mg/kg加标，由表4~表6可知，三七、平贝母、浙贝母等基质添加水平相对回收率均在50%~140%之间，RSD均小于15；本实验色谱图见图1~6。

表4.三七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
吡蚜酮	0.0200	0.01150	57.50	11.1
霜霉威	0.0200	0.01012	50.60	1.0
多菌灵	0.0200	0.01751	87.54	0.5
吡虫啉	0.0200	0.02242	112.08	1.8
啶虫脒	0.0200	0.02149	107.47	9.5
啉霉胺	0.0200	0.01683	84.14	3.0
甲霜灵	0.0200	0.02067	103.34	4.8

啉酰菌胺	0.0200	0.02388	119.38	4.6
咯菌腈	0.0200	0.02188	109.42	10.7
烯酰吗啉	0.0200	0.02188	109.40	1.8
啉菌环胺	0.0200	0.01540	77.00	3.5
氟环唑	0.0200	0.01891	94.54	1.8
噻呋酰胺	0.0200	0.02327	116.33	3.3
氟硅唑	0.0200	0.01969	98.46	0.6
虫酰肼	0.0200	0.02199	109.95	5.5
醚菌酯	0.0200	0.02371	118.54	4.6
戊唑醇	0.0200	0.02037	101.83	2.5
二嗪磷	0.0200	0.02042	102.12	0.0
丙环唑	0.0200	0.02032	101.60	6.5
己唑醇	0.0200	0.02106	105.29	1.5
吡唑醚菌酯	0.0200	0.01949	97.43	5.1
十三吗啉	0.0200	0.01293	64.67	4.8
苯醚甲环唑	0.0200	0.02189	109.44	3.7
除虫菊素II	0.0200	0.02060	103.02	4.7
毒死蜱	0.0200	0.02051	102.57	10.2
甲氨基阿维菌素	0.0200	0.01287	64.37	4.9
苯甲酸盐	0.0200	0.02337	116.87	3.1
除虫菊素I	0.0200	0.02126	106.29	2.9
唑螨酯	0.0200	0.02385	119.27	3.8
哒螨灵	0.0200	0.02178	108.92	14.0
阿维菌素	0.0200	0.02393	119.65	3.5

注：表4中结果为去空白后值。

表5.平贝母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
吡蚜酮	0.0200	0.01022	51.12	3.2
霜霉威	0.0200	0.01066	53.30	4.3
多菌灵	0.0200	0.01617	80.83	0.8
吡虫啉	0.0200	0.02010	100.52	4.1
啶虫脒	0.0200	0.01951	97.57	4.9
啉霉胺	0.0200	0.01505	75.25	1.6
甲霜灵	0.0200	0.02254	112.71	4.9
啉酰菌胺	0.0200	0.02339	116.93	3.7

咯菌腈	0.0200	0.02556	127.78	3.5
烯酰吗啉	0.0200	0.02292	114.59	1.0
啉菌环胺	0.0200	0.01101	55.06	3.0
氟环唑	0.0200	0.01891	94.57	6.8
噻呋酰胺	0.0200	0.02529	126.45	7.8
氟硅唑	0.0200	0.02169	108.47	1.9
虫酰肼	0.0200	0.02066	103.30	4.0
醚菌酯	0.0200	0.01882	94.09	5.7
戊唑醇	0.0200	0.02019	100.94	1.1
二嗪磷	0.0200	0.02098	104.89	5.3
丙环唑	0.0200	0.02088	104.39	3.9
己唑醇	0.0200	0.02072	103.61	2.8
吡唑醚菌酯	0.0200	0.01745	87.26	1.5
十三吗啉	0.0200	0.01276	63.81	2.7
苯醚甲环唑	0.0200	0.01938	96.92	1.0
除虫菊素II	0.0200	0.02358	117.92	10.8
毒死蜱	0.0200	0.02052	102.62	0.6
甲氨基阿维菌素	0.0200	0.01145	57.27	4.3
苯甲酸盐	0.0200	0.01843	92.14	5.6
除虫菊素I	0.0200	0.01881	94.03	4.0
唑螨酯	0.0200	0.02312	115.61	1.3
阿维菌素	0.0200	0.01614	80.70	7.0
氟啶胺	0.0200	0.02393	119.66	1.3

注：表5中结果为去空白后值。

表6.浙贝母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
吡蚜酮	0.0200	0.01261	63.07	1.6
霜霉威	0.0200	0.01031	51.55	2.5
多菌灵	0.0200	0.01751	87.53	2.2
吡虫啉	0.0200	0.02299	114.93	0.9
啶虫脒	0.0200	0.02281	114.03	6.6
啉霉胺	0.0200	0.01875	93.76	2.2
甲霜灵	0.0200	0.02317	115.87	0.5
啉酰菌胺	0.0200	0.02665	133.26	1.1
咯菌腈	0.0200	0.02419	120.94	11.6
烯酰吗啉	0.0200	0.02416	120.81	3.8
啉菌环胺	0.0200	0.01513	75.65	3.5
氟环唑	0.0200	0.01911	95.55	8.4

噻呋酰胺	0.0200	0.02255	112.75	5.3
化合物	理论浓度 (mg/kg)	平均结果 (mg/kg)	回收率%	RSD
氟硅唑	0.0200	0.02283	114.17	2.7
虫酰肼	0.0200	0.02375	118.75	0.5
醚菌酯	0.0200	0.02354	117.72	6.4
戊唑醇	0.0200	0.02210	110.49	1.9
二嗪磷	0.0200	0.02210	110.49	2.3
丙环唑	0.0200	0.02260	112.99	1.4
己唑醇	0.0200	0.02176	108.80	4.3
吡唑醚菌酯	0.0200	0.02306	115.30	1.7
十三吗啉	0.0200	0.01403	70.17	4.7
苯醚甲环唑	0.0200	0.02229	111.43	1.9
除虫菊素II	0.0200	0.02103	105.13	9.0
毒死蜱	0.0200	0.02348	117.38	4.8
甲氨基阿维菌素	0.0200	0.01365	68.23	5.2
苯甲酸盐	0.0200	0.02205	110.23	1.9
唑螨酯	0.0200	0.02172	108.61	3.7
哒螨灵	0.0200	0.02632	131.60	4.2
阿维菌素	0.0200	0.02048	102.40	9.3
氟啶胺	0.0200	0.02687	134.33	1.1

注：表6中结果为去空白后值。

3.5实验谱图

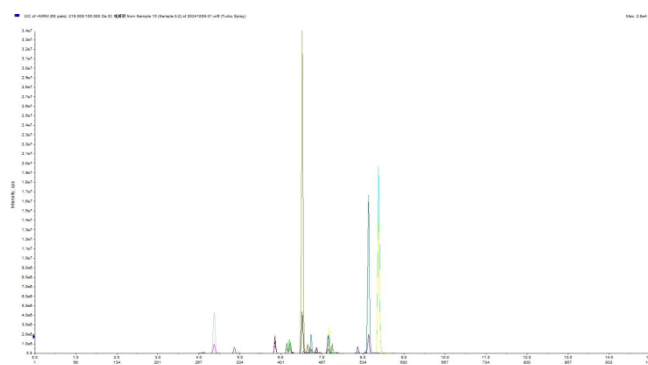


图1.三七样品正离子质谱图 (理论浓度
0.100mg/kg)

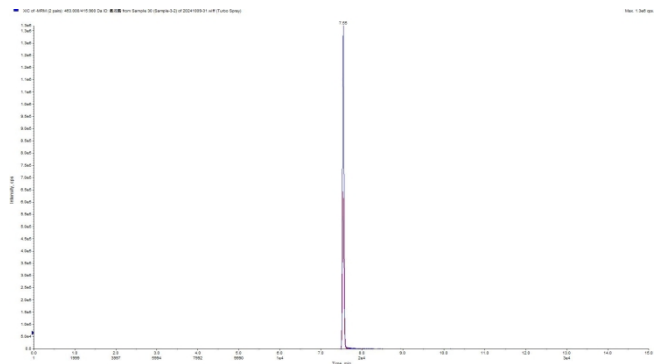


图2.三七样品负离子质谱图 (理论浓度
0.100mg/kg)

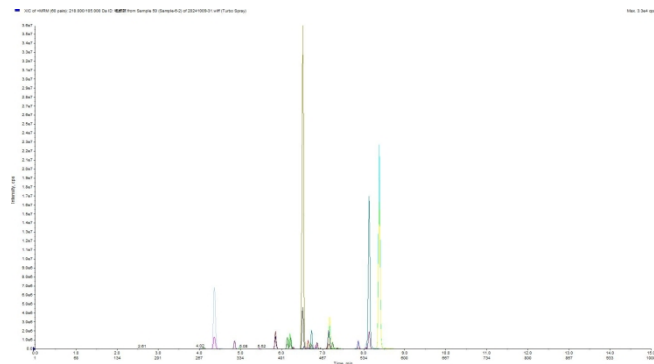


图5.浙贝母样品正离子质谱图 (理论浓度
0.020mg/kg)

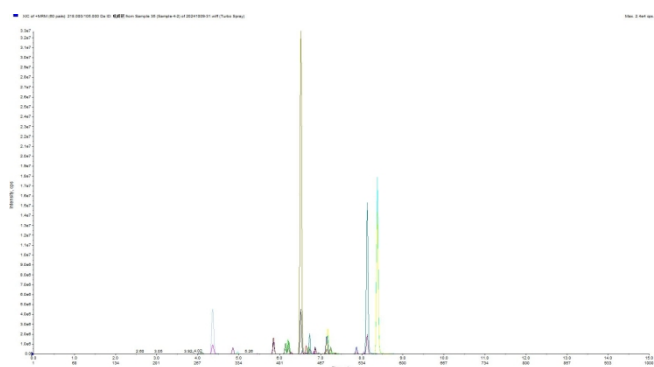


图3.平贝母样品正离子质谱图 (理论浓度
0.020mg/kg)

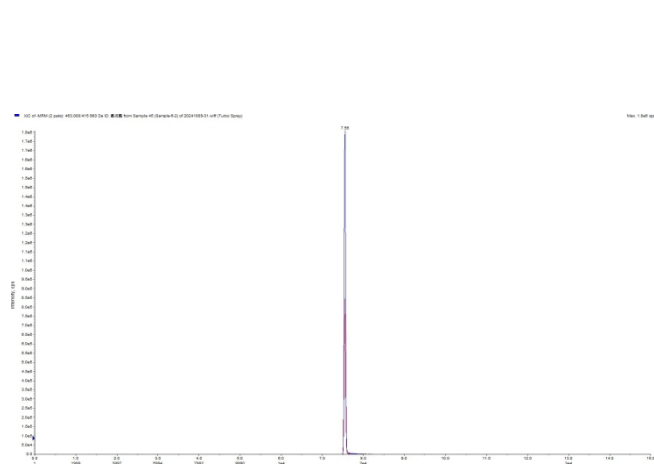


图6.浙贝母样品负离子质谱图 (理论浓度
0.020mg/kg)

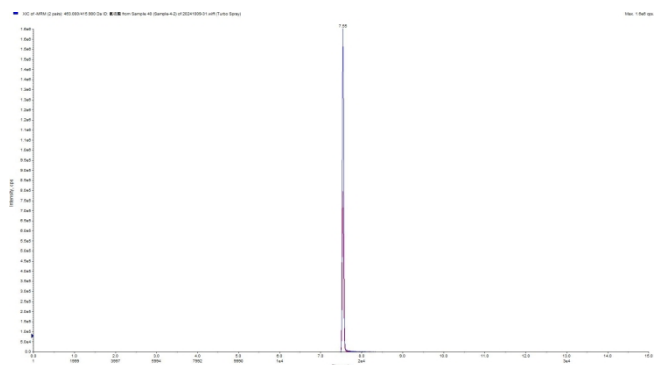


图4.平贝母样品负离子质谱图 (理论浓度
0.020mg/kg)

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》中第二法高效液相色谱法-串联质谱法 三七、浙贝母、川贝母、湖北贝母、伊贝母、平贝母、白术部分，利用Cleanert MAS-Q分散固相萃取结合液相色谱串联质谱对三七、浙贝母、平贝母等样品进行检测。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均在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

