2020 版《中国药典》2341 中药农残测定通则解决方案（枸杞）

北京莱伯泰科仪器股份有限公司

前言

近年来，随着医药产业的快速发展和公众对药品安全认知水平的不断提升，加强对中药外源性有害物质的控制，建立有关标准已成为满足药品监管需求、保障公众用药安全的重要手段。中药材大部分来源于植物和动物，在种植（养殖）过程中不可避免地会发生病虫草害，需要使用农药进行防治；而使用农药不意味着滥用农药，国家对于高毒、高残留、高安全风险的化学农药出台了禁用名单，需要首先加以监控。

在参考了我国农业农村部自 2002 年至今发布过的化学农药禁限用公告后，《中国药典》2020 年版经剔除杀鼠剂、重金属类农药、熏蒸剂、多异构体、难以获得对照品及难以采用常规气质、液质测定的农药品种后，总计 33 种农药 55 个化学单体作为禁用农药检测品种的检测指标。

本文参考 2020 版《中国药典》2341 通则中的第五法使用 LabTech SPE 1000 全自动固相萃取系统对常用果实类药材枸杞中的农药残留进行固相萃取，分别采用 GC-MS、LC-MS 检测，建立了一套中药农残的处理检测方法，采用 HLB 柱净化样品，此方法回收率及平行性良好， GC-MS 组和 LC-MS 组分别为 74.7%~112.5% 和 77.1%~110.4%，重复性 RSD 分别为 0.7%~9.3% 和 1.8%~9.0%，均满足药典要求。

关键词：SPE 1000　MultiVap-10　EV400VAC　2020 版《中国药典》　农药残

留　**2341 通则第五法　枸杞**

1 仪器设备及试剂

1.1 仪器设备

1.1.1 SPE 1000 全自动固相萃取系统（莱伯泰科公司）；

1.1.2 7890B-5977B 气相色谱质谱联用仪（安捷伦公司）；

1.1.3 SCIEX Exion LC™液相系统+ Triple Quad™ 4500 质谱系统（SCIEX 中国公司）；

1.1.4 Flex-MVP 全自动高通量真空平行浓缩仪（莱伯泰科公司）；

1.2 试剂及耗材

1.2.1 乙腈（色谱级）；

1.2.2 甲苯（农残级）；

1.2.3 氯化钠（分析纯）；

1.2.4 蒸馏水；

1.2.5 HLB 固相萃取住（200mg，6mL，莱伯泰科）；

1.2.6 GCB/NH_2 固相萃取柱（500mg/500mg，6mL，莱伯泰科）

1.2.7 33 种农残混标工作液：5μg/L，溶剂为乙腈，购自坛墨质检；

1.2.8 磷酸三苯酯内标工作液：0.1mg/L，溶剂为乙腈，购自坛墨质检；

1.2.9 30 种农残混标工作液：5μg/L，溶剂为乙腈，购自坛墨质检；

北京莱伯泰科仪器有限公司
地　址：北京空港工业区
电　话：010-80486450(总部)/64973119(市场)
传　真：010-80486354(总部)/64974268(市场)

2 试验方法

2.1 样品处理

称取枸杞样品 5g，加氯化钠 1g，摇散后加入乙腈 50mL，匀浆处理 2min（每分钟不低于 12000 转），离心 5min（每分钟 4000 转），取上清液，沉淀再加入 50mL 乙腈匀浆，离心，合并两次上清液，放入全自动高通量真空平行浓缩仪上，按 38℃水浴加热、200rpm 转速、100 真空度平行浓缩至 3~5mL 后，用乙腈定容至 10mL。

2.2 HLB 柱固相萃取法

将 2.1 样品各取 3mL 放入 SPE 1000 全自动固相萃取系统，按照图 1 所示的方法进行样品的固相萃取净化步骤，收集净化液。

图 1 HLB 柱固相萃取流程

2.3 基质加标回收率实验

基质加标配制：按照 2.2 制备空白基质溶液，各取 1mL（每种方法所得样品

平行 3 份）至 MultiVap-10 全自动高通量平行浓缩仪上，40℃浓缩至约 0.6mL，加入 20μL 混标工作液，加乙腈定容至 1mL，混匀。

按 2.1 方法准备样品，进行加标实验，5g 样品加标 1μg，然后按照 2.2 方法进行实验，同时进行 6 个平行样品，用来测定加标回收率及平行性。

取处理好的样品溶液（或基质混标溶液）1mL，GC-MS 法精密加入内标 0.3mL，LC-MS 法精密加入水 0.3mL，混匀待测。

2.4 GC-MS 分析条件

2.4.1 气相色谱条件

色谱柱：Agilent DB-5ms 毛细管柱：30 m*250 μm*0.25 μm；

进样口温度：270℃；

柱温程序：初始温度 100℃，以 5℃/min 升至 180℃，保持 5min，然后以 5℃/min 升至 220℃保持 6min，再以 10℃/min 升至 280℃，保持 5min；

进样量：1 μL；

进样方式：不分流进样；

流速：1.0mL/min；

2.4.2 质谱条件

离子源温度：280℃；

辅助加热温度：290℃；

溶剂延迟：3min；

扫描方式：全扫描（SCAN）方式用于定性/选择离子扫描模式（SIM）用于定量；

2.5 LC-MS 分析条件

2.5.1 液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack Velox C18（2.7μm，2.1*100mm）；

流动相：A: 0.1％甲酸溶液（含 5 mmol/L 乙酸铵）；B:乙腈-0.1％甲酸溶液（含 5 mmol/L 乙酸铵）（95:5）；

流速：0.4 mL/ min；柱温：40℃；进样量：2 μL；

洗脱梯度：0~1min，30%B；7min~8min，100%B；8.1~10min，30%B；

2.5.2 质谱条件

离子源：ESI 源，正离子模式；

离子源参数：

IS 电压：5500V 气帘气 CUR:30 psi；

雾化气 GS1:55 psi 辅助气 GS2:55 psi；

源温度 TEM:550 ℃ 碰撞气 CAD: Medium；

3 结果和讨论

3.1 各样品色谱图

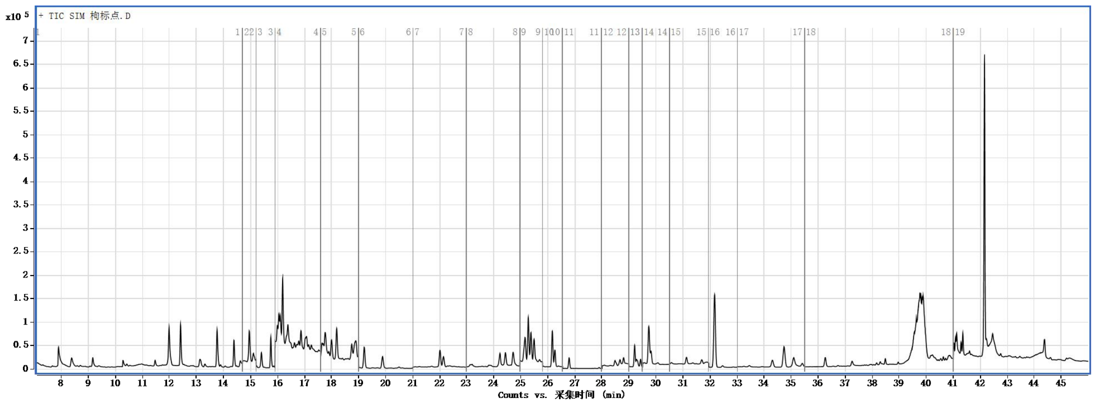

图 2 标准工作液 GC-MS 选择离子流色谱

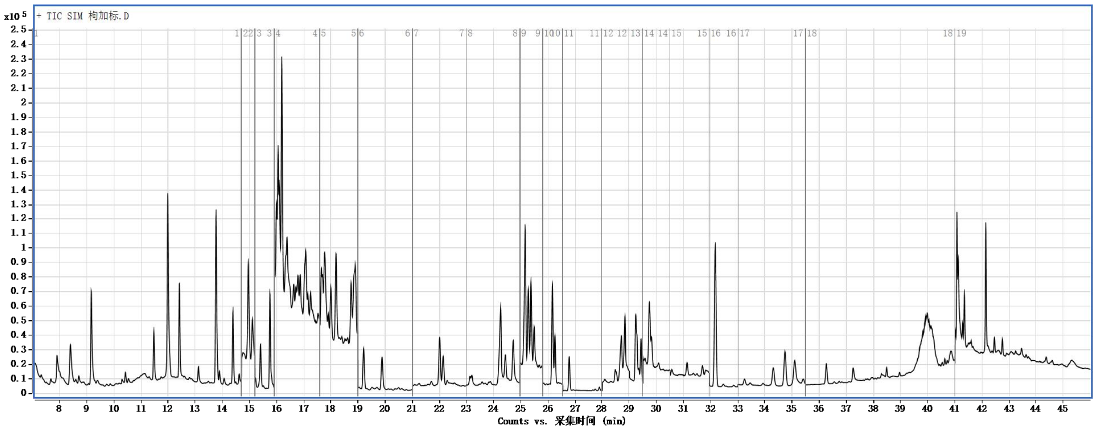

图 3 基质加标 GC-MS 选择离子流色谱图

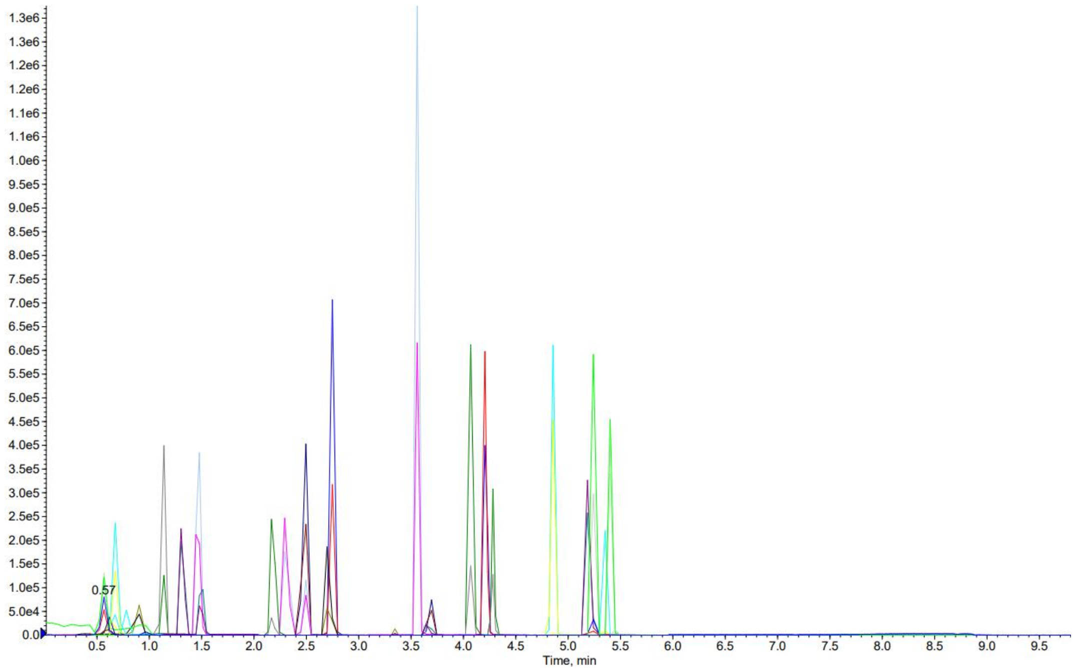

图 4 标准工作液 LC-MS 总离子流色谱图

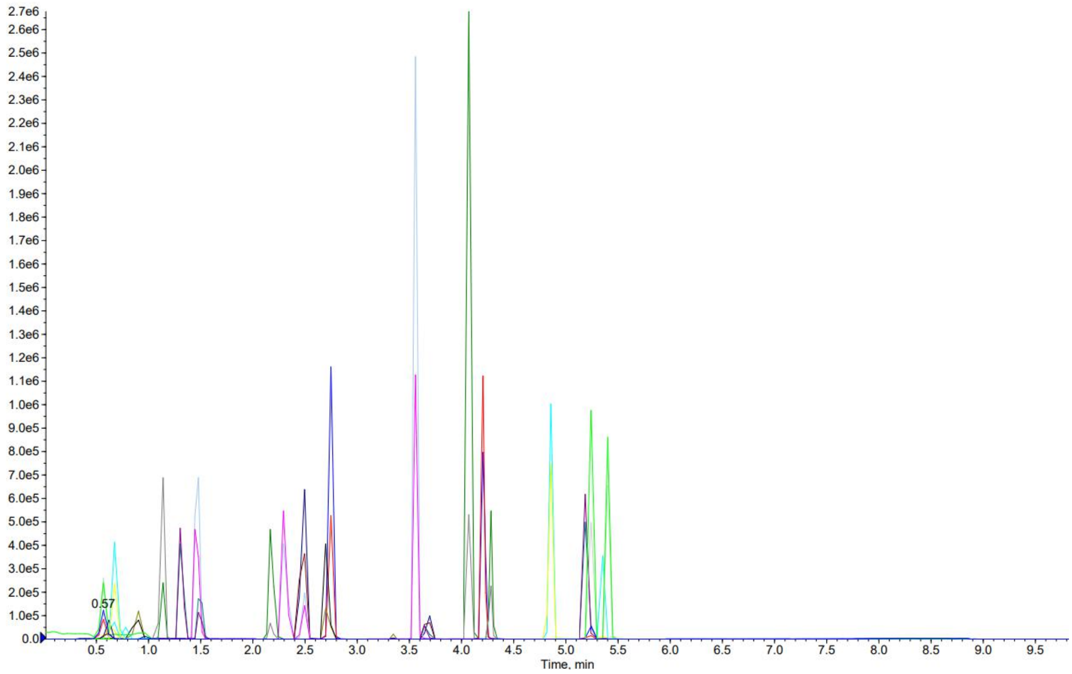

图 5 基质加标 LC-MS 总离子流色谱图

3.2 加标回收率

加标样品经固相萃取净化后，分别进行 GC-MS、LC-MS 分析、定量，计算得到的加标回收率及相对标准偏差如表 1、2 所示。

表 1 33 种农残 GC-MS 法加标回收率

物质名称	回收率（%）			平均值（%）	RSD
	1	2	3		
内吸磷 1	92.4	87.2	81.7	87.1	6.2%
灭线磷	88.6	85.8	90.6	88.3	2.7%
杀虫脒	99.8	104.4	104.0	102.7	2.5%
治螟磷	104.8	109.5	106.5	106.9	2.2%
甲拌磷	107.8	110.5	113.5	110.6	2.6%
久效磷	105.0	94.8	99.7	99.8	5.1%
α-BHC	72.2	78.7	92.9	81.3	9.1%
内吸磷 2	93.1	94.1	97.5	94.9	2.4%
β-BHC	102.3	114.5	113.9	110.2	6.2%
γ-BHC	89.6	88.2	89.7	89.2	1.0%

物质名称	回收率（%）			平均值（%）	RSD
	1	2	3		
特丁硫磷	101.8	100.2	108.7	103.6	4.3%
δ-BHC	78.3	79.2	79.2	78.9	0.7%
氰甲腈	101.8	113.8	110.5	108.7	5.7%
甲基对硫磷	98.2	105.0	93.8	99.0	5.7%
艾氏剂	103.6	95.2	97.7	98.8	4.4%
甲基硫环磷	96.2	93.0	77.4	88.8	9.3%
对硫磷	96.6	97.2	95.4	96.4	0.9%
水胺硫磷	79.2	74.5	73.1	75.6	4.3%
三氯杀螨醇	90.7	81.4	78.7	83.6	7.5%
甲基异硫磷	103.5	110.7	99.5	104.5	5.4%
氟虫腈亚砜	109.4	113.5	114.6	112.5	2.4%
氟虫腈	98.6	116.2	108.3	107.7	8.2%
α-硫丹	74.0	72.9	77.2	74.7	3.0%
苯线磷	71.3	82.6	74.0	76.0	7.7%
狄氏剂	75.4	73.8	76.3	75.2	1.6%
4, 4’-DDE	83.4	74.0	77.0	78.2	6.1%
氟虫腈砜	105.2	109.0	109.3	107.8	2.2%
除草醚	84.4	85.7	89.9	86.7	3.3%
β-硫丹	81.3	96.7	100.5	92.8	8.9%
4, 4’-DDD/2 4’-DDE	94.1	90.9	95.8	93.6	2.6%
硫丹硫酸酯	110.1	97.0	99.3	102.1	6.9%
4, 4’-DDT	80.3	80.6	75.5	78.8	3.6%
蝇毒磷	108.8	99.8	100.5	103.0	4.9%

表 2　30 种农残 LC-MS 法加标回收率（HLB 柱固相萃取法）

物质名称	回收率（%）			平均值（%）	RSD
	1	2	3		
甲胺磷	90.2	83.5	82.2	85.3	5.0%
苯线磷	105.4	100.4	108.4	104.8	3.9%
苯线磷砜	98.0	108.7	109.9	105.5	6.2%
苯线磷亚砜	100.5	96.7	105.3	100.9	4.3%
地虫硫磷	79.8	80.1	92.2	84.0	8.4%
治螟磷	95.5	84.7	98.8	93.0	7.9%
克百威	101.1	93.9	88.6	94.5	6.6%
3-羟基克百威	98.1	99.9	96.4	98.1	1.8%

物质名称	回收率（%）			平均值（%）	RSD
	1	2	3		
胺苯磺隆	84.5	78.8	85.0	82.7	4.2%
甲磺隆	91.0	84.1	96.3	90.5	6.8%
氯磺隆	81.0	82.7	94.1	85.9	8.3%
硫线磷	101.7	99.3	105.5	102.2	3.0%
氯唑磷	84.0	89.6	81.1	84.9	5.1%
甲拌磷	85.2	76.1	81.6	81.0	5.6%
甲拌磷亚砜	85.8	95.3	87.6	89.6	5.6%
甲拌磷砜	103.4	101.8	105.5	103.6	1.8%
蝇毒磷	87.7	79.7	82.6	83.3	4.8%
硫环磷	94.5	83.6	81.9	86.7	7.9%
磷胺	101.5	94.4	102.6	99.5	4.5%
涕灭威	89.4	93.5	91.0	91.3	2.3%
涕灭威砜	90.5	99.8	87.2	92.5	7.1%
涕灭威亚砜	98.3	92.4	98.8	96.5	3.7%
久效磷	101.0	94.8	93.7	96.5	4.1%
内吸磷	80.3	77.4	73.7	77.1	4.3%
灭线磷	95.9	96.1	90.8	94.3	3.2%
特丁硫磷砜	98.9	94.1	97.4	96.8	2.5%
特丁硫磷亚砜	95.8	95.1	91.9	94.3	2.2%
水胺硫磷	110.1	118.2	102.8	110.4	7.0%
杀虫脒	89.9	86.8	84.9	87.2	2.9%
甲基异柳磷	85.5	98.4	83.6	86.8	9.0%

4 结论

由表 1、2 可知，2020 版《中国药典》2341 第五法中 HLB 柱固相萃取的加标回收率在 GC-MS 组为 74.7%~112.5%，重复性 RSD 为 0.7%~9.3%，LC-MS 组 HLB 柱固相萃取的加标回收率为 77.1%~110.4%，重复性 RSD 为 1.8%~9.0 %，均满足药典要求。

综上所述，莱伯泰科 SPE 1000 全自动固相萃取系统、全自动高通量真空平行浓缩仪能够高效、稳定地达到实验的要求，适用于 2020 版《中国药典》2341

第五法中规定的中药农残测定，适用于中药枸杞样品的前处理实验。

参考文献：

[1] 中华人民共和国药典 2020 年版. 四部［S］.2020: 30ChP 2020. Vol Ⅳ［S］. 2020: 30.

[2] 申明睿,翟为民,何轶,石上梅,杨昭鹏,兰奋.《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.

撰稿人：QSY