

溶液吸收-气相色谱质谱测定天麻中二硫代氨基甲酸酯(盐)类农药的含量

张 婷, 段毅宏, 李彦生, 朱鹏静, 刘建辉*

(云南省疾病预防控制中心, 昆明 650022)

摘 要: 目的 建立溶液吸收-气相色谱质谱检测法测定天麻中二硫代氨基甲酸酯(盐)类农药残留量的方法。

方法 目标物在加热条件下经溶液吸收, 转化为二硫化碳, 经正己烷萃取, 采用气相色谱质谱法间接测定二硫代氨基甲酸酯(盐)类农药含量。对云南省 16 州市采集的 55 件天麻中的二硫代氨基甲酸酯(盐)类农药的残留量进行统计分析。**结果** 该方法的线性范围为 0.02~10 mg/kg, 相关系数 0.9996, 定量限 0.010 mg/kg, 空白基质加标回收率 90.5%~105.0%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 4.77% ($n=6$)。55 件天麻样品检出率 23.6%, 平均值 0.021 mg/kg, 含量范围为 ND~0.275 mg/kg。**结论** 该方法简便、快速、灵敏, 适合天麻中二硫代氨基甲酸酯(盐)类农药的测定。采集的天麻样品中二硫代氨基甲酸酯(盐)类农药含量水平总体较低。

关键词: 天麻; 二硫代氨基甲酸酯(盐); 气相色谱质谱法; 农药残留

Determination of dithiocarbamate (salt) pesticides in *Gastrodiaelata* by solution absorption-gas chromatography-mass spectrometry

ZHANG Ting, DUAN Yi-Hong, LI Yan-Sheng, ZHU Peng-Jing, LIU Jian-Hui*

(Yunnan Center for Disease Control and Prevention, Kunming 650022, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method of determination of dithiocarbamate (salt) pesticides in *Gastrodiaelata* by solution absorption-gas chromatography-mass spectrometry. **Methods** The target substance was absorbed by the solution under heating, converted into carbon disulfide, extracted by *n*-hexane, and the content of the dithiocarbamate (salt) pesticide was indirectly determined by gas chromatography-mass spectrometry. The residual amount of dithiocarbamate (salt) pesticides in 55 gastrodia collected in 16 cities of Yunnan province was statistically analyzed. **Results** The linear range of the method was 0.02–10 mg/kg, the correlation coefficient was 0.9996, the limit of quantification was 0.010 mg/kg, the recovery rate of blank matrix was 90.5%–105.0%, and the relative standard deviation (RSD) was 4.77% ($n=6$). The detection rate of 55 gastrodia samples was 23.6%, the average value was 0.021 mg/kg, and the content range was ND~0.275 mg/kg. **Conclusion** This method is simple, rapid and sensitive, which is suitable for the determination of dithiocarbamate (salt) pesticides in *Gastrodiaelata*. The level of dithiocarbamate (residue) pesticide residues in the collected *Gastrodiaelata* samples was generally low.

KEY WORDS: *Gastrodiaelata*; dithiocarbamate (salt); chromatography-mass spectrometry; pesticide residue

*通讯作者: 刘建辉, 主管技师, 主要研究方向为理化检验。E-mail: hui52211@163.com

*Corresponding author: LIU Jian-Hui, Technician, Yunnan Center for Disease Control and Prevention, Kunming 650022, China. E-mail: hui52211@163.com

1 引 言

天麻, 作为兰科天麻属植物的根茎, 有乌天麻、红天麻、黄天麻和绿天麻 4 种, 我国天麻的使用已有悠久的历史, 其既可以作为药材作用、民间亦作为一种保健食品, 目前对天麻的研究主要集中在其化学成分、药理作用等方面^[1-3], 农残的测定和分析较少, 且主要集中在传统的有机氯和有机磷农药测定^[4-6]。二硫代氨基甲酸酯(盐)类作为一种广谱高效杀菌剂, 主要包括二甲基二硫代氨基甲酸酯、乙撑二硫代氨基甲酸酯和丙撑二硫代氨基甲酸酯 3 种, 其代谢物具有致癌和致畸作用。此类农药除了在蔬菜、水果中广泛使用外, 在中药材中也有一定的使用^[7], 目前二硫代氨基甲酸酯(盐)类农药的测定方法主要有顶空-气相色谱法、气相色谱质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、液相色谱质谱法等^[7-11], 其中溶液吸收-气相色谱质谱法克服了顶空法重复性差、液质联用法样品前处理稍复杂的缺点, 有简便、快速和灵敏的优势, 该方法在水果、蔬菜、菌类、烟草等中已有一定应用^[12-14], 但在天麻中应用的报道较少。

本文采集了云南省所属 16 个州市的天麻样品, 参考国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册方法^[15], 通过反应条件优化, 采用溶液吸收-气相色谱质谱法对天麻中二硫代氨基甲酸酯(盐)类杀菌剂残留量进行测定, 并对结果进行统计分析, 以期为了解云南省天麻中农药残留现状, 地方标准的制修订以及补充杀菌剂的安全风险评估提供基础参考。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

Trace1310-TSQ8000 气相色谱-质谱联用仪(配自动进样器, 美国 Thermo Scientific 公司); 数显恒温水浴锅(江苏科析仪器有限公司); Mixer B-400 均质机(瑞士 BUCHI 公司); 3-18K 离心机(德国 SIGMA 公司); BP211D 电子天平(万分之一, 美国 Sartorius 公司); 50 mL 顶空瓶(美国 PerkinElmer 公司); 二硫化碳标准品(BW900709-100-B, 100 $\mu\text{g/mL}$, 北京坛墨质检科技有限公司); 福美双标准品(GBW(E)082386, 100 $\mu\text{g/mL}$, 北京坛墨质检科技有限公司); 正己烷、乙腈(色谱纯, 美国 J.T.Baker 公司); 氯化亚锡、盐酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

实验用水均为纯水(18.2 M $\Omega\cdot\text{cm}$), 天麻样品采自云南省所属 16 个州市, 共计 55 份样品, 采样地点包括农贸市场和商店(超市、便利店、专营店)2 种。

55 件天麻样品均来自于本地农贸市场和商店(超市、便利店、专营店)。

2.2 实验方法

2.2.1 样品前处理

准确称取 5 g(精确至 0.001 g)均质粉碎的天麻样品于 50 mL 顶空瓶中, 加入 20 mL 3% 氯化亚锡-盐酸溶液, 迅速密封后置于 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中消化反应 2 h(过程中每隔 15 min 摇动一次使其充分反应为二硫化碳), 冰水浴冷却, 用注射器准确加入 5 mL 正己烷, 振摇萃取 3 min, 3000 r/min 离心 3 min, 取上清液进 GC/MS^[15]。

2.2.2 标准配制

取一定量的二硫化碳标准品用正己烷稀释成 0.02、0.05、0.1、0.5、1.0、2.5、5.0、10 mg/L 标准系列溶液, 进 GC/MS。分别用 0.02~0.5 mg/L 和 0.5~10 mg/L 配制为 2 条高、低浓度标准曲线, 根据样品含量选择合适的曲线。

准确移取 200 μL 福美双标准品, 加入 800 μL 乙腈, 混匀, 为福美双标准应用液(20 mg/L)。

2.2.3 气相色谱-质谱条件

色谱柱: DB-624(30 m $\times$ 0.25 mm, 1.4 μm)毛细管色谱柱; 进样口温度: 200 $^{\circ}\text{C}$; 柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$ 保持 5.0 min, 以 30 $^{\circ}\text{C/min}$ 升温速率升至 200 $^{\circ}\text{C}$, 保持 3 min。载气: 氦气(纯度 $\geq 99.999\%$); 流速: 1.0 mL/min; 进样体积: 1 μL ; 进样方式: 分流进样; 分流比: 10:1。

电子轰击源(EI): 70 eV; 离子源温度: 230 $^{\circ}\text{C}$; 传输线温度: 250 $^{\circ}\text{C}$; 检测方式: 选择性离子监测(selective ion monitoring, SIM); 保留时间: 4.40 min; 扫描时间: 1 min; 定量离子 76 m/z 、定性离子 78 m/z 、44 m/z 。

2.3 数据处理与分析

所有数据运用 Excel 2013 和 SPSS 22.0 进行分析和统计。对未检出值(ND 值)的处理, 参照 WHO 发布的“食品中低水平污染物可信评价”的推荐性程序^[16], GEMS/Food 建议, 若检出值小于检出限(limit of detection, LOD)的数据量比例小于等于 60%, 以 1/2LOD 值代替未检出值代入统计计算; 若检出值小于检出限(limit of detection, LOD)的数据量比例大于 60%, 以 0 和 LOD 值分别代替未检出值代入统计计算。本研究选择以 LOD 值代替未检出值。

3 结果与分析

3.1 方法确认

3.1.1 反应条件优化

取福美双标准应用液 1.0 mL、水 10 mL, 按样品提取操作步骤进行处理后上机测定, 根据测定结果计算福美双转化率^[12], 测定了加入不同氯化亚锡-盐酸反应液的量, 在不同的反应温度、反应时间下福美双的转化率, 每组条件下平行测定 5 次, 结果见图 1~图 3。经过条件优化, 选择盐酸-氯化亚锡反应液量为, 反应温度 80 $^{\circ}\text{C}$ 、

反应时间 2 h, 测定结果福美双转化率为 103.1%, 说明将二硫代氨基甲酸酯(盐)类农药转化为二硫化碳测定的结果合理, 方法符合要求。

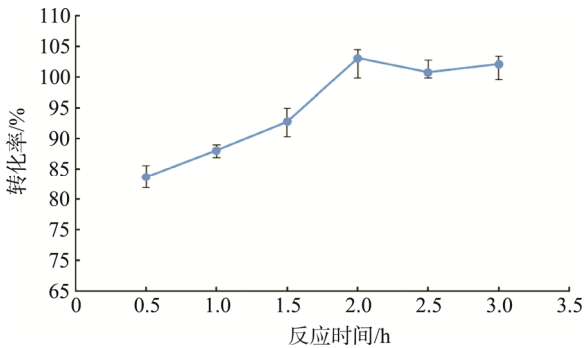


图 1 不同反应时间下福美双的转化率($n=5$)

Fig.1 Conversion rate of thiram under different reaction times ($n=5$)

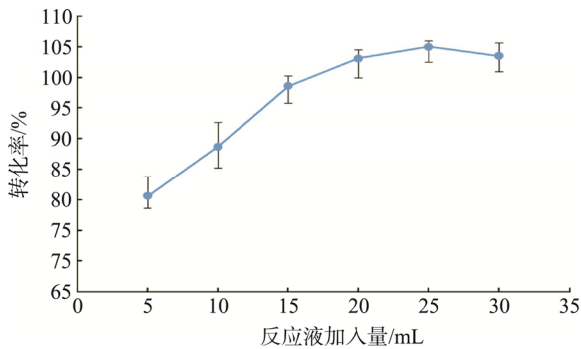


图 2 不同反应液加入量下福美双的转化率($n=5$)

Fig.2 Conversion rate of thiram under different amount of reaction solution ($n=5$)

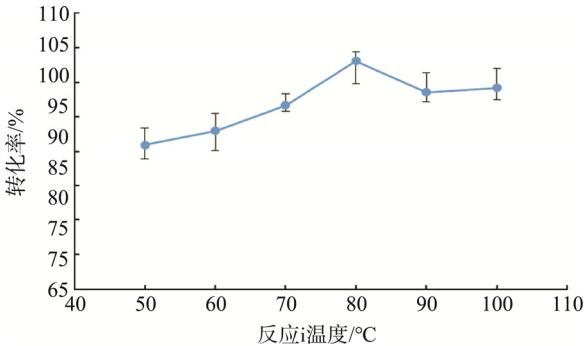


图 3 不同反应温度下福美双的转化率($n=5$)

Fig.3 Conversion rate of thiram under different reaction temperature ($n=5$)

3.1.2 标准曲线和检出限

标准经全扫描模式(SCAN)确定二硫化碳的保留时间为 4.40 min, 在保留时间相对偏差 $\leq 5\%$ 、相对离子丰度比偏差 $\pm 25\%$ 均满足的条件下对天麻样品定性。在保留时间 4.40 min、定量离子 76 m/z 、扫描时间 1 min 的条件下经 SIM 模式, 采用峰面积外标法定量。SIM 模式下 1.0 mg/L 二硫化碳标准溶液色谱图见图 4, 阳性天麻样品色谱图见图 5。

对高、低浓度标准系列点测定, 以定量离子峰面积为纵坐标、二硫化碳标准浓度为横坐标分别得到 3 条标准曲线(见表 1), 均显示良好的线性关系, 相关系数 r 在 0.9996~0.9999 之间。参照《2015 版中国药典》药品质量标准分析方法验证指导原则^[17], 以信噪比 3:1 对应的浓度确定检出限, 以信噪比 10:1 对应的浓度确定定量限, 在称样量为 5 g、萃取溶剂体积 5 mL 的条件下, 得到方法检出限为 0.003 mg/kg(以 CS_2 计), 定量限为 0.01 mg/kg(以 CS_2 计)。



图 4 二硫化碳标准色谱图

Fig.4 Standard chromatogram of carbon disulfide

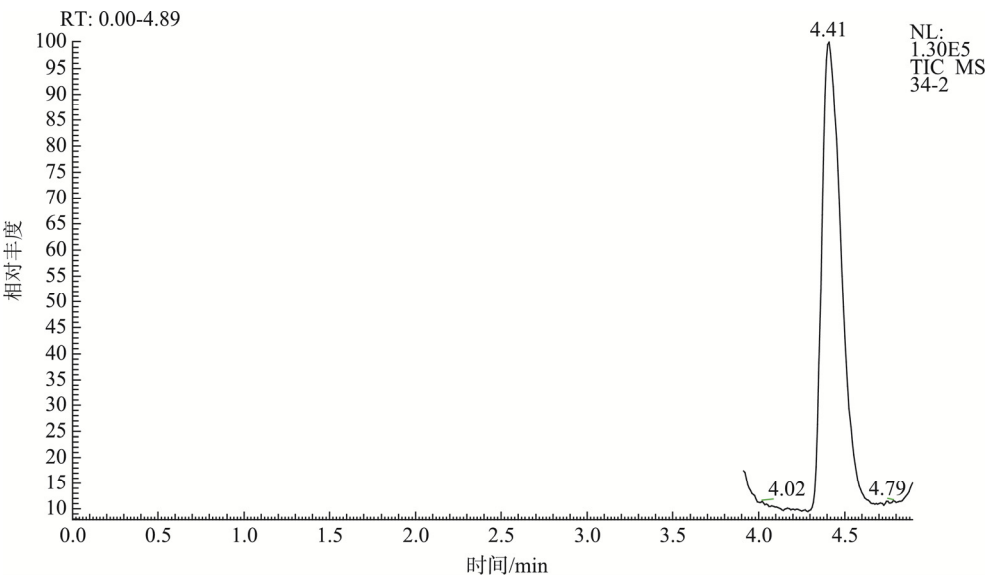


图 5 阳性天麻样品色谱图
Fig.5 Chromatogram of positive gastrodiaelata sample

表 1 二硫化碳的标准曲线、线性范围、检出限和定量限
Table 1 Standard curve, linear range, detection limit and quantitative limit of carbon disulfide

曲线	回归方程	相关系数 <i>r</i>	线性范围/(mg/kg)	检出限/(mg/kg)	定量限/(mg/kg)
低浓度点	$Y=-53728+5.60\times10^6X$	0.9997	0.02~0.5		
高浓度点	$Y=-2.28\times10^6+9.75\times10^6X$	0.9999	0.5~10	0.003	0.01
全系列点	$Y=-1.11\times10^6+9.61\times10^6X$	0.9996	0.02~10		

3.1.3 回收率和精密度

为验证方法准确度, 在同一空白基质样品分别加入高、中、低 3 个浓度水平的标准溶液(1、10、100 μL 二硫化碳标准品), 按照样品处理步骤进行测定后, 分别计算加标回收率, 见表 2, 加标回收率结果在 90.5%~105.0%之间, 回收 RSD 在 5.13%~7.01%之间。为验证方法精密度, 对同一阳性天麻样品平行测定 6 次, 计算相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 4.77%。

表 2 阴性天麻样品加标回收情况
Table 2 Recovery of negative gastrodiaelata samples

称样量/g	加入量/(mg/kg)	加标后量/(mg/kg)	回收率/%	RSD/%
	0.020	0.021	105.0	7.01
5.0161	0.199	0.180	90.5	5.13
	1.994	1.873	93.9	6.89

3.2 天麻中二硫代氨基甲酸酯(盐)类农药的残留情况

采用已建立的方法对 16 个州市的 55 件天麻样品中的

二硫代氨基甲酸酯(盐)类农药残留量进行测定, 根据实际样品含量选择合适的标准曲线, 监测结果见表 3。55 件样品总检出率 23.6% (13/55), 平均值(0.021±0.006) mg/kg, 最大值 0.275 mg/kg。16 个州市中 10 个州市均有检出, 丽江市平均含量(0.107 mg/kg)和最大值最高, 作为天麻主产地的昭通市采样量最大, 其检出率为 20%(2/10), 平均值(0.010±0.005) mg/kg, 最大值 0.039 mg/kg, 稍低于平均水平。

为比较不同监测地区、不同产地下天麻样品中二硫代氨基甲酸酯(盐)类农药残留量的相关性, 将不同监测地区、不同产地下含量间进行多独立样本检验, 经 Kruskal-Wallis 检验, *P* 值均为大于显著性水平, 说明不同监测地区、不同产地下天麻二硫代氨基甲酸酯(盐)类含量间无显著性差异(*P* > 0.05)。55 件样品均来自于农贸市场和商店(超市、便利店、专营店), 样本量分别为 25 件和 30 件, 经 Mann-Whitney 检验 2 种采样地点类型下二硫代氨基甲酸酯(盐)类含量的差异性, 结果 *P* 值为 0.525, 大于显著性水平, 说明 2 种采样地点类型下的农药残留量无显著性差异。

表 3 天麻样品中二硫代氨基甲酸酯(盐)类农药残留情况
Table 3 Residues of dithiocarbamate (ester) pesticides in gastrodiaelata samples

监测地区	检出率/%	含量/(mg/kg)				
		平均含量	最大值	P ₅₀	P ₉₀	P ₉₅
合计	23.6(13/55)	0.021±0.006	0.275	0.003	0.087	0.118
昭通市	20.0(2/10)	0.010±0.005	0.039	0.003	0.039	0.039
大理州	66.6(2/3)	0.070	0.117	—	—	—
曲靖市	33.3(1/3)	0.008	0.019	—	—	—
昆明市	0.00(0/3)	ND	ND	—	—	—
楚雄州	33.3(1/3)	0.009	0.022	—	—	—
德宏州	0.00(0/3)	ND	ND	—	—	—
普洱市	33.3(1/3)	0.030	0.085	—	—	—
红河州	0.00(0/3)	ND	ND	—	—	—
玉溪市	0.00(0/3)	ND	ND	—	—	—
怒江州	33.3 (1/3)	0.016	0.042	—	—	—
版纳州	33.3(1/3)	0.017	0.044	—	—	—
保山市	33.3(1/3)	0.042	0.119	—	—	—
迪庆州	0.00(0/3)	ND	ND	—	—	—
丽江市	66.6(2/3)	0.107	0.275	—	—	—
临沧市	0.00(0/3)	ND	ND	—	—	—
文山州	33.3(1/3)	0.034	0.096	—	—	—

4 结 论

本研究通过溶液吸收反应条件优化,采用气相色谱-质谱法选择性离子监测模式测定天麻中二硫代氨基甲酸(盐)酯类农药残留量。结果显示标准曲线拟合良好,方法线性范围宽、检出限和定量限较低;方法准确度和精密度较高,空白基质在 0.02、0.2、2 mg/kg 3 个浓度水平下加标回收率在 90.5%~105.0%之间,阳性样品重复性测量 RSD 在 5%以内,说明该方法适合天麻中二硫代氨基甲酸(盐)酯类杀菌剂的测定。

对云南省所属所有州市下采集的 55 件样品中二硫代氨基甲酸(盐)酯类农残含量进行测定,结果显示,13 件样品均有检出,平均值 0.021 mg/kg,最大值 0.275 mg/kg;丽江市平均含量(0.107 mg/kg)最高;作为天麻主产地的昭通市检出率、平均值和最大值均稍低于平均水平。由于天麻的现行标准 GB/T 19776-2008《地理标志产品昭通天麻》^[18]中只规定了六六六、滴滴涕类常用农药限量值(0.01 mg/kg),二硫代氨基甲酸(盐)酯类农药国家无标准限量值,参考 GB 2763-2016^[19]规定的 7 种二硫代氨基甲酸酯(盐)类农药在蔬菜和水果中限量值,其范围在 0.1~10 mg/kg 之间,参考欧

盟规定的包括草药在内的植物源产品中二硫代氨基甲酸酯的临时限量 0.1 mg/kg^[7,20],94.6%(52/55)的天麻样品均未超过最低限量值或欧盟临时限量(0.1 mg/kg),且天麻作为不常食用的保健食品,其摄入量较蔬菜、水果低,表明采集的天麻样品中二硫代氨基甲酸酯(盐)类农残含量水平总体较低。不同采样地点类型、采样地点、产地间的二硫代氨基甲酸酯(盐)类农药残留量无显著性差异结果显示,天麻产品虽极具地域性,却受环境条件影响较小,这可能是由于采集的天麻大部分为昭通天麻,少有的其余产地天麻其品种和昭通天麻差异小。

参考文献

[1] 周俊,杨雁宾,杨崇仁. 天麻的化学研究 I, 天麻化学成分的分和鉴定[J]. 化学学报, 1979, 37(3): 183-188.
Zhou J, Yang YB, Yang CR. The chemistry of *Gastrodiaelata* BL.I. The isolation and idendification of chemical constituents of *Gastrodiaelata* [J]. Acta Chim Sinica, 1979, 37(3): 183-188.

[2] 杨世林,兰进,徐锦堂. 天麻的研究进展[J]. 中草药, 2000, 31(1): 66-69.
Yang SL, Lan J, Xu JT. Research progress of *Gastrodiaelata* [J]. Chin Trad Herb Drug, 2000, 31(1): 66-69.

[3] 岑信钊. 天麻的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中药材, 2005, 28(10): 958-962.
Cen XZ. Advances in chemical constituents and pharmacological action of *Gastrodiaelata* [J]. Chin Med Mat, 2005, 28(10): 958-962.

[4] 何芳,孔祥虹,何强,等. 气相色谱-质谱法检测中药材中 81 种农药残留[J]. 化学分析计量, 2013, 22(3): 9-13.
He F, Kong XH, He Q, *et al.* Determiration of 81 pesticide residues in chinese herbal medicines by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chem Anal Met, 2013, 22(3): 9-13.

[5] 胡德禹,宋宝安,卢平,等. 毛细管气相色谱法分析中药天麻中有机氯农药的残留量[J]. 药物分析杂志, 2005, 25(11): 1293-1295.
Hu DY, Song BA, Lu P, *et al.* CGC-ECD determination of organochlorine pesticide residues in *Gastrodiaelata* BI. [J]. Chin J Pharm Anal, 2005, 25(11): 1293-1295.

[6] 隋吴彬. 中药材中多种有机磷农药残留量测定方法研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(5): 1942-1943.
Sui WB. Study onorganophoshorus pesticide residue in Chinese medicinal material [J]. J Anhui Agric Sci, 2008, 36(5): 1942-1943.

[7] 崔宗岩,曹彦忠,刘永明,等. 市售植物源中药材中二硫代氨基甲酸酯残留量测定与污染状况分析[J]. 农药, 2018, 57(5): 50-53.
Cui ZY, Cao YZ, Liu YM, *et al.* Determination and assessment of dithiocarbamate residues in commercial Chinese herbal medicines [J]. Agrochemicals, 2018, 57(5): 50-53.

[8] SN 0157-92 出口水果中二硫代氨基甲酸酯残留量检验方法[S].
SN 0157-92 Method for determination of dithiocarbamate residue in fruit for export [S].

[9] 陈鹭平,李久兴,吴敏,等. 非衍生化/液相色谱-串联质谱法测定食品中的二硫代氨基甲酸酯类农药残留[J]. 分析测试学报, 2013, 32(3): 287-292.
Chen LP, Li JX, Wu M, *et al.* Determination of dithiocarbamates in foodstuffs by LC-MS/MS [J]. J Insterum Anal, 2013, 32(3): 287-292.

- [10] SN/T 0711-2011 出口茶叶中二硫代氨基甲酸酯(盐)类农药残留量的检测方法液相色谱-质谱/质谱法[S].
SN/T 0711-2011 Determination of dithiocarbamates(salt) residues in tea products for export-LC-MS/MS method [S].
- [11] 邵辉, 刘磊, 李辉, 等. 溶剂吸收-气质联用法测定蔬菜和粮谷中代森铵残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(8): 138-144.
Shao H, Liu L, Li H, *et al.* Determination of amobam residues in vegetables and cereals by gas chromatography-mass spectrometry with solvent absorption [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(8): 138-144.
- [12] Abakerlia RB, Sparrapana R, Sawayaa ACHFF, *et al.* Carbon disulfide formation in papaya under conditions of dithiocarbamate residue analysis [J]. *Food Chem*, 2015, (188): 71-76.
- [13] 杨大鹏, 崔勇, 马杰, 等. 吉林省食用菌中二硫代氨基甲酸酯类农药残留监测及结果分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(3): 194-199.
Yang DP, Cui Y, Ma J, *et al.* Monitoring and analysis of dithiocarbamate pesticide residues in edible fungi in Jilin province [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(3): 194-199.
- [14] 边照阳, 唐纲岭, 张洪非, 等. 烟草中二硫代氨基甲酸酯农药残留量的测定[J]. 烟草科技, 2011, (3): 48-51, 56.
Bian ZY, Tang GL, Zhang HF, *et al.* Determination of dithiocarbamate pesticide residues in tobacco by gas chromatography-mass spectroscopy [J]. *Tobacco Chem*, 2011, (3): 48-51, 56.
- [15] 国家食品安全风险评估中心. 2018 年国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册: 植物性样品中二硫代氨基甲酸(盐)酯类农药残留量测定的标准操作程序(溶剂吸收气相色谱质谱法)[Z].
China National Center for Food Safety Risk Assessment. 2018 national food pollutant and hazardous factor risk monitoring manual: Standard operating procedures for the determination of dithiocarbamate (salt) ester pesticide residues in plant samples (solution absorption-gas chromatography-mass spectrometry) [Z].
- [16] World Health Organization. Second workshop on reliable evaluation of low-level contamination of food [R]. Rome: WHO, 1995.
- [17] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社.
National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press.
- [18] GB/T 19776-2008 地理标志产品昭通天麻[S].
GB/T 19776-2008 Product of geographical indication-zhaotongtianma [S].
- [19] GB 2763-2016 食品安全国家标准食品中农药最大残留限量[S]
GB 2763-2016 National food safety standard-Maximum residue limits for pesticides in food [S].
- [20] European Commission. EU Pesticides Database[EB/OL]. <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=dowload.MRL>.

(责任编辑: 陈雨薇)

作者简介



张 婷, 硕士, 主管技师, 主要研究方向为理化检验, 食品风险监测和食品安全。
E-mail: zting15@163.com



刘建辉, 主管医师, 主要研究方向为理化检验, 食品风险监测和食品安全。
E-mail: hui52211@163.com