

## 尿液中百草枯、敌草快的LC-MS/MS快速检测方案

# A Rapid LC-MS/MS Method for Quantification of Paraquat and Diquat in Urine

陈西<sup>1</sup>, 王璐<sup>2</sup>, 张静<sup>3</sup>, 张茂林<sup>4</sup>, 刘冰洁<sup>1</sup>, 郭立海<sup>1</sup>

Chen xi<sup>1</sup>, Zhang maolin<sup>2</sup>, Liu bingjie<sup>1</sup>, Guo lihail<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SCIEX中国; <sup>2</sup> 阿克苏地区疾病预防控制中心; <sup>3</sup> 四川大学华西公共卫生学院(四川大学华西第四医院)

<sup>4</sup> 重庆市职业病防治院;

<sup>1</sup> SCIEX China; <sup>2</sup> Akesu Center of Disease Control and Prevention

<sup>3</sup> West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University

<sup>4</sup> Chongqing Prevention and Treatment Center for Occupational Diseases;

**Key words:** Triple Quad; Paraquat; Diquat; Urine

### 前言

百草枯与敌草快均为快速灭生性除草剂,在农业上广泛用于茶园、果园中的杂草去除。但是,百草枯对人毒性极大,口服中毒死亡率极高,已被20多个国家禁止或者严格限制使用<sup>[1]</sup>。作为百草枯的替代品,敌草快毒性虽弱于百草枯,但仍属于剧毒农药。迄今为止,百草枯及敌草快中毒尚无特效解毒剂。由于百草枯成本低效果好,部分不法商家仍在敌草快中混入百草枯,所以敌草快中毒多合并有百草枯中毒<sup>[2]</sup>。

中毒病情的严重程度与往往与毒物摄入量相关,因此明确中毒农药种类和浓度对患者的救治及预后评价非常重要。由于百草枯口服后不经代谢,多以原形从肾脏排出<sup>[3]</sup>,因此可选用于取样的尿液作为监测中毒患者体内百草枯和敌草快浓度变化的检材。由于两种除草剂强极性、难挥发的特点,在样品提取和分析中均面临挑战。

本文介绍了尿液中百草枯和敌草快的LC-MS/MS定量方法,该方法前处理简单,灵敏度高,重复性好,可以用于除草剂中毒者尿液的检测。

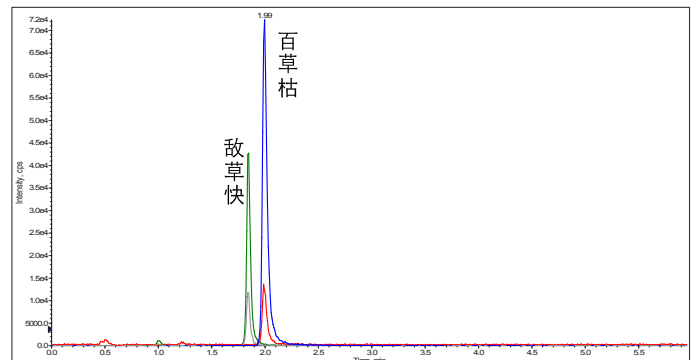


图1. 尿液中百草枯和敌草快的典型色谱图

### 本方案技术特点和优势:

#### 1. 灵敏度高

本方法中各化合物定量下限(LLOQ)低至ppt (pg/mL)级别。

#### 2. 线性范围宽

所有化合物在宽的浓度范围内拥有良好的线性关系,相关性系数 $r > 0.999$ ,可有效减少用户在检测不同样品过程中的稀释步骤。

### 3. 高通量

样品前处理简单，检测时间仅6 min；结合SCIEX OS软件可快速进行批量样本的定量定性工作。

## 实验方法

### 1. 液相条件:

色谱柱: Phenomenex Kinetex HILIC (100×2.1mm, 2.6 μm)

流动相: A相: 100mM甲酸铵 (含0.5%FA)

B相: 乙腈

流速: 0.5 mL/min;

洗脱程序:

Time(min)	A (%)	B (%)
0.0	40	60
1.5	80	20
4.0	80	20
4.1	40	60
6.0	40	60

### 2. 质谱方法:

离子源: ESI源, 正离子模式

气帘气 CUR: 35 psi

碰撞气 CAD: 9

雾化气 GS1: 50 psi

辅助气 GS2: 55 psi

IS电压: 5500 V

源温度 TEM: 600°C

表1. 化合物质谱参数

化合物	母离子	子离子	去簇电压 (DP)	碰撞能量 (CE)
百草枯	93.2	171	60	17
	186	171	100	25
	171	155	100	38
敌草快	183.3	157.2	40	29
	183.3	168.3	100	35
	183.3	130.0	40	44

### 3. 样品的制备

取100 μl尿液, 加300 μl纯甲醇, 涡旋1 min, 离心10 min (13000 rpm), 取上清液进样测定。

## 结果与讨论

### 1. 进样瓶的选择

玻璃容器对百草枯和敌草快的吸附严重, 即使是装瓶后立即进样, 与塑料内插管 (聚丙烯材料) 相比, 两个化合物的响应也显著下降 (图2), 塑料内插管中样品经考察, 在10小时内响应没有明显变化。结果提示在样品采集和处理过程中应避免玻璃器皿, 进样时可尝试使用塑料进样瓶或内插管。

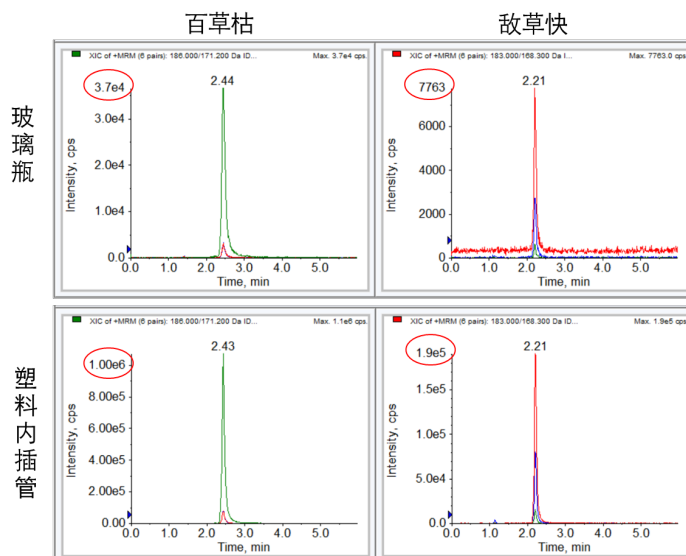


图2. 同一标品分别装入玻璃瓶和塑料内插管后立即进样的色谱图。

### 2. 前处理方法优化

百草枯和敌草快均为强极性化合物, 极易溶于水而难溶于有机溶剂, 且在标准品配制过程中发现, 敌草快若用纯有机相为溶剂, 则在质谱中出现双峰 (图3), 但在50%有机溶剂中为正常的单峰, 因此标准品配制均需加入一定比例的水。

实验对不同沉淀剂 (纯甲醇、纯乙腈和80%乙腈) 对4批次尿液中百草枯和敌草快的提取效果进行了考察和对比 (样品与沉淀剂体积1:3进行沉淀, 每个沉淀剂平行处理2份), 结果发现当使用纯乙腈作为沉淀剂时, 4批次尿液中百草枯和敌草快的提取回收率

重现性较差，但使用纯甲醇和80%乙腈作为沉淀剂时不同样本中回收率符合检测要求且在样品间重现性较好（表1）。最终选择甲醇作为沉淀剂。

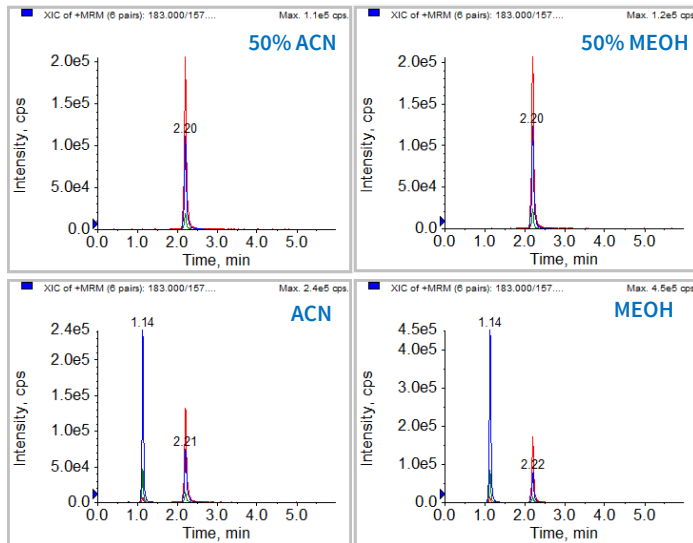


图3. 敌草快在不同溶剂中的色谱行为

表1. 不同沉淀剂回收率对比

化合物	样品	加标回收率%		
		乙腈	80%乙腈	甲醇
百草枯	Urine 1	95.6	95.4	97.3
	Urine 2	23.6	86.0	95.9
	Urine 3	24.3	94.8	97.3
	Urine 4	77.4	95.4	96.4
敌草快	Urine 1	107.8	104.2	106.7
	Urine 2	21.5	92.5	106.1
	Urine 3	22.7	104.8	107.0
	Urine 4	82.6	102.9	105.3

### 3. 线性范围

百草枯、敌草快在常规进样量下，检测下限即可达ppt级，在宽的浓度范围内有良好的线性关系（ $r > 0.999$ ），保证了不同浓度水平样品的准确定量（图4）。

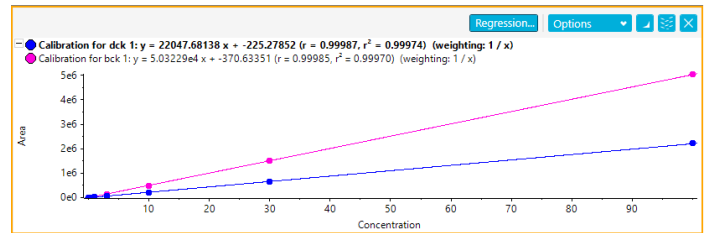


图4. 百草枯、敌草快的标准曲线

### 4. 加标回收率

分别配制2 ng/mL、20 ng/mL和200 ng/mL三个浓度尿液样品，每个浓度平行配制6份，经前处理后进样，加标回收率均在89.4%~113.5%之间，相对标准偏差（RSD%）在3.24%以内，表明该方法不受样品基质干扰（表2）。

表2. 百草枯和敌草快在不同浓度的加标回收率结果

化合物	2 ng/mL		20 ng/mL		200 ng/mL	
	回收率 %	RSD %	回收率 %	RSD %	回收率 %	RSD %
百草枯	93.7 ± 3.0	3.24	96.8 ± 1.3	1.37	100.3 ± 1.2	1.17
敌草快	104.4 ± 3.4	3.23	105.9 ± 1.3	1.20	111.3 ± 1.5	1.39

### 总结

本方案基于SCIEX Triple Quad™ 液质联用系统建立了尿液中百草枯和敌草快的检测方法。该方法有前处理简单、灵敏度高、检测时间短，适合大批量样品的快速分析，可以用于除草剂中毒者尿液的检测。



SCIEX Triple Quad™ LC-MS/MS系统

## 参考文献

- [1] 陈健豪, 固相萃取-同位素稀释-UPLC-MS/MS法检测茶叶中百草枯和敌草快残留量, 福建轻纺, 2021年5月第5期。
- [2] 何宇敏, 柯俊等, 血浆中百草枯、敌草快液相色谱-质谱法测定方法建立, 创伤与急诊电子杂志, 2020年7月第8卷第3期。
- [3] 陈辉凤, 宋乃国, 百草枯中毒血、尿标本分析检测方法的研究进展, 实验与检验医学, 第27卷第6期。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息, 请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标, 也包括相关的标识、标志的所有权, 归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2023 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15531-ZH-A



### SCIEX中国

北京分公司  
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话: 010-5808-1388  
传真: 010-5808-1390  
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心  
上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话: 021-2419-7201  
传真: 021-2419-7333  
官网: [sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州办公室  
广州国际生物岛星岛环北路1号  
B2栋501、502单元  
电话: 020-8842-4017

官方微信: [SCIEX-China](#)