

# QuEnChERS在线GPC-GCMS法测定 中草药中33种农药残留

GCMS-090

**摘要:** 本实验建立了对中草药中的农药残留分析的在线凝胶渗透色谱-气相色谱质谱(GPC-GCMS)联用检测方法。样品采用改良后的QuEnChERS方法提取,使用基质固相分散法(d-SPE)净化,在样品预先取样完毕并加水充分膨胀的准备工作完成后,单个样品的前处理时间可在15分钟内完成。经GPC-GCMS分析,结果显示该方法各组分分离良好,灵敏度高,重现性好。该方法可实现对中草药中农药残留准确、灵敏的定性定量检测。

**关键词:** GPC-GCMS QuEnChERS方法 烟草制品 农药残留

农药残留是中草药出口检测的重要指标,国外如韩国、日本、欧盟等都对手续中农残限量有着较为细致、严格的规定。随着国外不断出台的安全规范,农药残留检测种类不断增加,检测限要求也越来越低,气相色谱质谱联用仪(GCMS)具有质谱辅助定性及良好的灵敏度,可同时检测多种农残,是一种理想的检测手段。

QuEnChERS方法是一种简便快速的前处理方法,已在农残分析中得到了广泛的验证和推广,但该方法去除干扰物质的能力比较差,易造成仪器污染,从而影响定性、定量结果准确性。凝胶渗透色谱(GPC)可以很好地去掉样品基质中可能干扰测定组分的色素、油脂、聚合物等大分子化合物,欧盟、日本及我国都在农残检测方法中都使用该方法,但常规的GPC方法一般都是离线方法,存在速度慢、有机溶剂使用量大、操作烦琐等问题,制约了GPC技术在农残分析上的应用。

本文通过在线GPC-GCMS净化克服了QuEnChERS方法去除干扰物的不足,并将GPC净化和GCMS检测合为一体。可以真正实现对中草药多农残进行快速、可靠、准确的分析。

## 实验部分

### 1.1 仪器和试剂

GPC-GCMS在线凝胶渗透色谱-气相色谱质谱联用仪,岛津;氮吹仪,离心机;乙酸、乙腈,HPLC级;丙酮、环己烷,农残级;无水硫酸镁、无水乙酸钠,分析纯;

乙二胺-n-丙基(PSA)粉末、石墨炭黑粉末,HPLC级。

#### 1.2 仪器工作条件

GPC条件:

色谱柱:Shodex CLNpak EV-200(2.1 mm×150 mm)

流动相:丙酮/环己烷(3/7,V/V)

流速:0.1 mL/min

柱温:40°C

进样量:10 μL

GCMS条件:

色谱柱:惰性石英管:5 m×0.53 mm

预柱:Rtx-5MS,5 m×0.25 mm×0.25 μm

分析柱:Rtx-5MS,25 m×0.25 mm×0.25 μm

PTV进样口温度程序:120°C(4.5 min)\_80°C/min\_280°C(33 min)

柱温程序:82°C(5 min)\_15°C/min\_200°C(0 min)\_5°C/min\_300°C(7 min)

载气:氦气

压力程序:120kPa(0 min)\_100kPa/min\_180kPa(4.4 min)\_49.8 kPa/min\_120kPa(33 min)

不分流进样:7 min

接口温度:280°C

离子源温度:260°C

采集方式:SIM

定量方法:外标法

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 标准溶液配制

以空白中草药（本实验使用了红花、银杏叶）基质为溶剂，配制 6 个浓度点标准溶液，浓度分别为 0.005 mg/L、0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L 和 0.2 mg/L。

#### 1.3.2 样品前处理

供试品，粉碎，过三号筛，准确称取样品，加入水数毫升，放置使药粉充分溶胀，加入 0.1% 乙酸乙腈溶液，放置 30 分钟，剧烈振摇提取，再加入预先称好无水硫酸镁与无水乙酸钠的混合粉末，再次剧烈振摇后离心。吸取提取液，于氮气流下吹至约 1 mL，待净化。

将上述提取浓缩液置于离心管，加入无水硫酸镁和 PSA 或无水硫酸镁和 GCB 的混合粉末，剧烈振摇后离心，吸上层清液置氮吹仪上吹至近干，加入磷酸三苯酯内标工作溶液 1 mL 使溶解，混匀，即得。

## ■ 结果讨论

### 2.1 标准谱图

农药混合标准溶液总离子流图如图 1 所示。

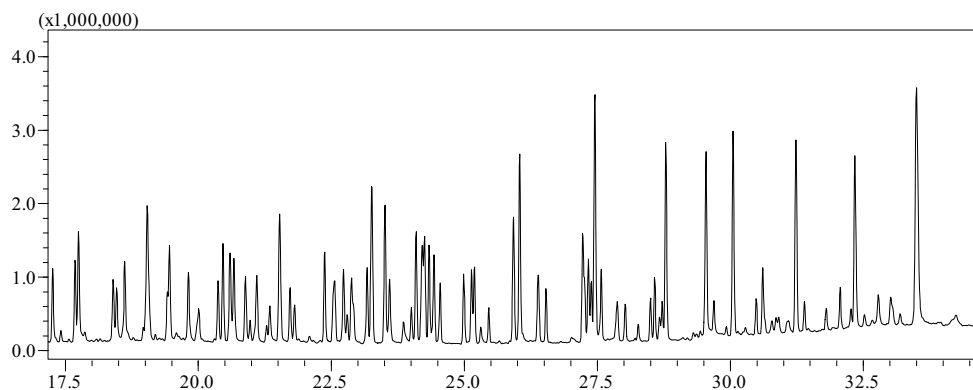
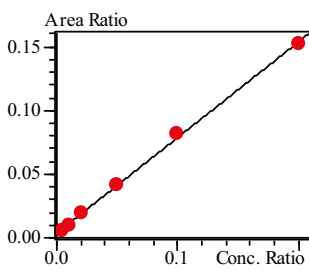


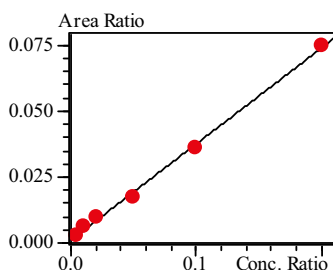
图1 农药混合标准溶液总离子流图

### 2.2 标准曲线

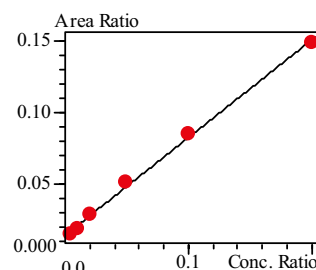
使用中草药基质溶液配制农药混合标准系列，浓度为 0.005 mg/L、0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.2 mg/L，各农药组分的标准曲线如下所示。



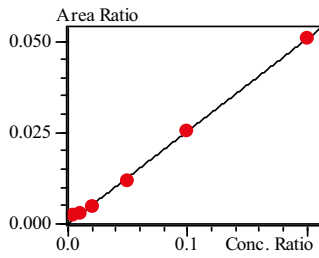
氟乐灵 R=0.9995



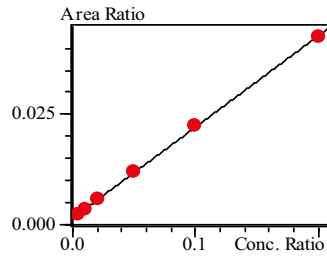
α-六六六 R=0.9983



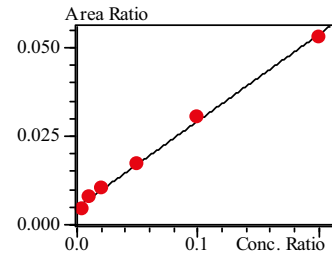
六氯苯 R=0.9985



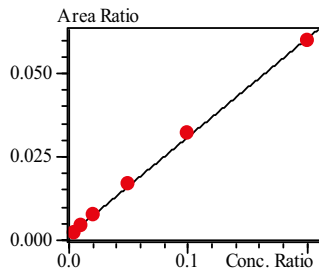
β-六六六 R=0.9999



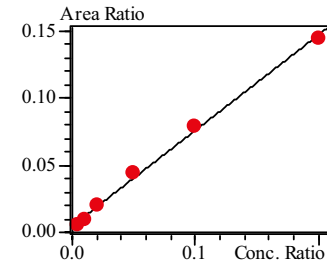
五氯硝基苯 R=0.9999



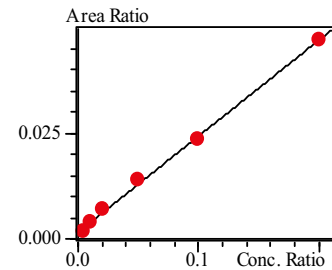
林丹 R=0.9986



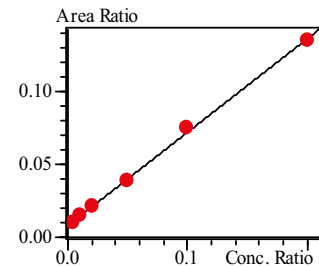
二嗪磷 R=0.9994



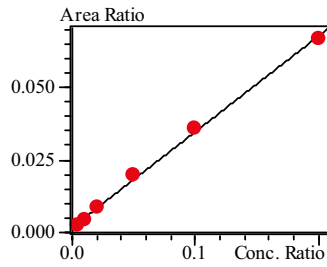
五氯苯胺 R=0.9984



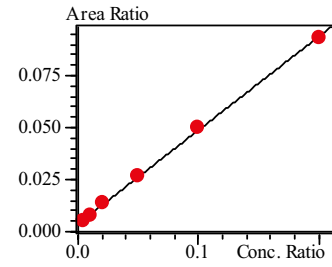
乙烯菌核利 R=0.9987



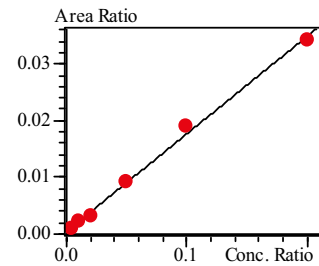
甲草胺 R=0.9994



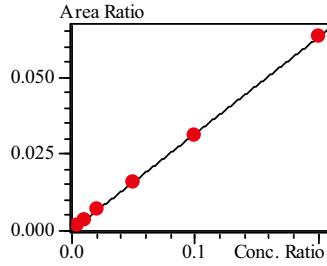
七氯 R=0.9991



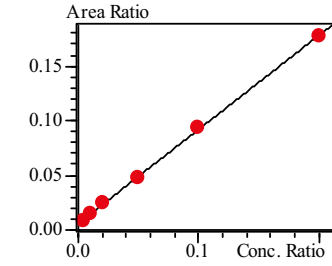
杀螟硫磷 R=0.9997



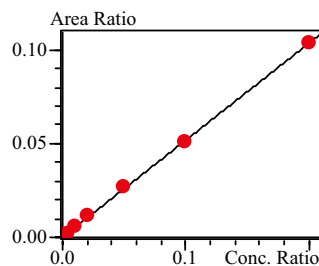
艾氏剂 R=0.9984



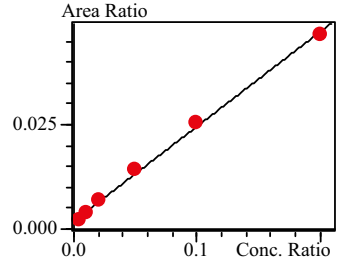
对硫磷 R=0.9998



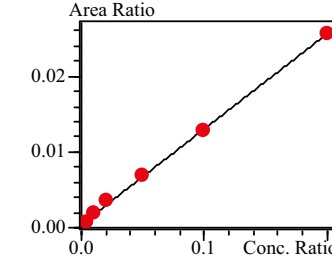
二甲戊乐灵 R=0.9998



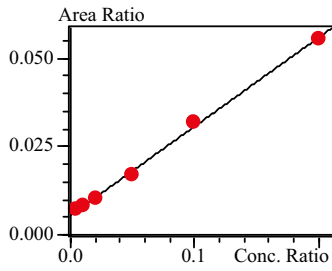
氟虫腈 R=0.9997



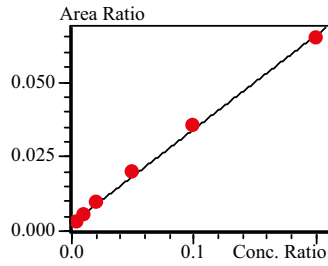
环氧七氯 (顺式) R=0.9989



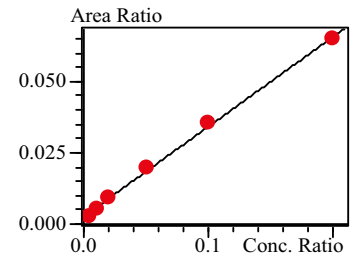
灭蚜磷 R=0.9994



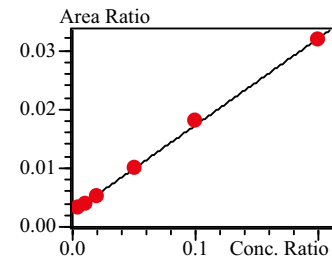
腐霉利 R=0.9991



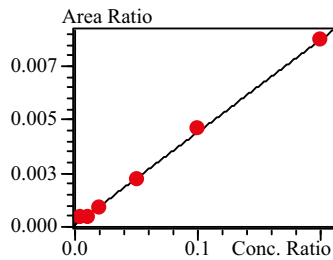
顺式-氯丹 R=0.9988



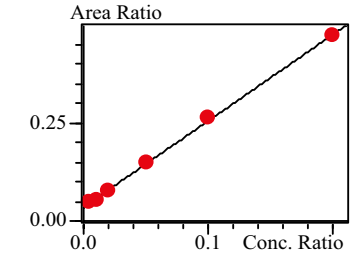
反式-氯丹 R=0.9988



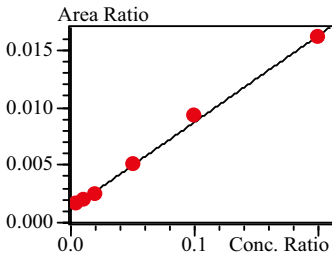
丙溴磷 R=0.9993



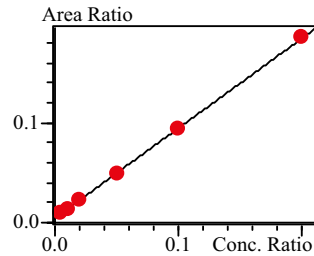
̢-硫丹 R=0.9994



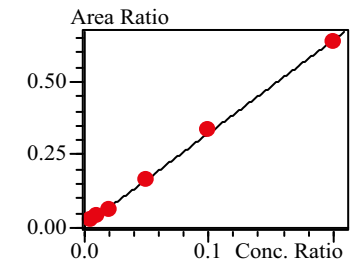
4,4'-滴滴滴 R=0.9995



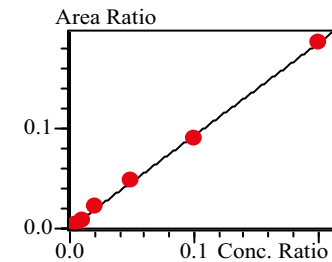
硫丹硫酸盐 R=0.9987



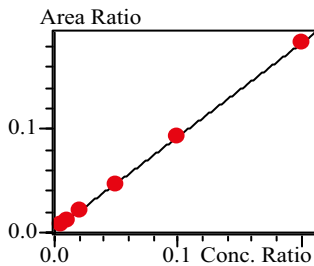
4,4'-滴滴涕 R=0.9999



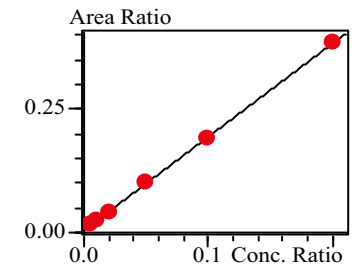
异菌脲 R=0.9996



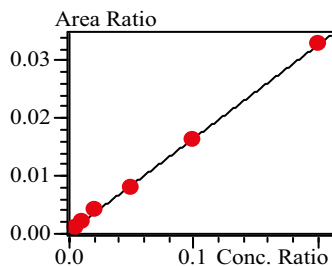
联苯菊酯 R=0.9996



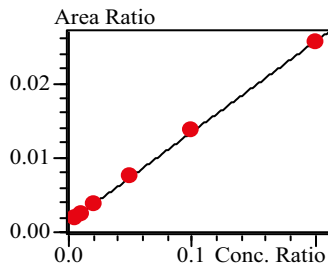
溴螨酯 R=0.9999



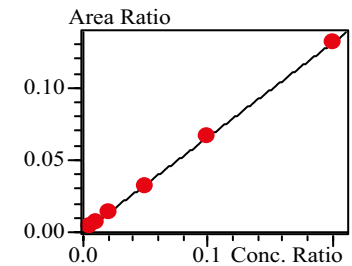
甲氧滴滴涕 R=0.9998



伏杀硫磷 R=0.9996



吡啶磷 R=0.9998



腈啉菌酯 R=0.9998

## 2.3 方法线性及检出限

根据 0.005 mg/L 标准溶液数据, 通过 GCMSsolution 软件计算仪器检出限 (3 倍噪声计算)。各农药组分保留时间、检出限和检测特征离子见表 1。

表1 农药组分保留时间、检出限和特征离子

序号	农药名称	保留时间 (min)	检出限 (mg/kg)	特征离子
1	氟乐灵	17.280	$5.36 \times 10^{-4}$	306.00、264.00、335.00
2	$\alpha$ -六六六	17.706	$2.99 \times 10^{-3}$	219.00、216.90、220.90
3	六氯苯	17.774	$7.64 \times 10^{-4}$	284.00、286.00、282.00
4	$\beta$ -六六六	18.419	$3.04 \times 10^{-3}$	219.00、216.90、220.90
5	五氯硝基苯	18.477	$3.28 \times 10^{-4}$	237.00、295.00、249.00
6	林丹	18.633	$5.79 \times 10^{-3}$	216.90、218.90、220.90
7	二嗪磷	19.055	$3.86 \times 10^{-4}$	304.00、227.10、276.05
8	五氯苯胺	19.822	$2.60 \times 10^{-4}$	265.00、263.00、267.00
9	乙烯菌核利	20.363	$1.39 \times 10^{-3}$	285.00、212.00、287.00
10	甲草胺	20.450	$3.05 \times 10^{-4}$	188.00、237.00、269.00
11	七氯	20.577	$1.51 \times 10^{-3}$	272.00、337.00、274.00
12	杀螟硫磷	21.052	$8.33 \times 10^{-4}$	277.00、278.00、260.00
13	艾氏剂	21.475	$8.49 \times 10^{-4}$	263.00、265.00、293.00
14	对硫磷	21.650	$8.53 \times 10^{-4}$	291.00、235.00、186.00
15	二甲戊乐灵	22.286	$2.37 \times 10^{-3}$	252.00、191.00、281.00
16	氟虫腈	22.430	$4.11 \times 10^{-4}$	367.00、369.00、370.95
17	环氧七氯 (顺式)	22.466	$4.67 \times 10^{-4}$	353.00、355.00、351.00
18	灭蚜磷	22.622	$7.49 \times 10^{-4}$	329.05、296.10、226.00
19	腐霉利	22.779	$1.22 \times 10^{-4}$	283.00、285.00、255.00
20	顺式-氯丹	23.391	$6.37 \times 10^{-4}$	373.00、375.00、377.00
21	反式-氯丹	23.394	$6.37 \times 10^{-4}$	373.00、375.00、377.00
22	丙溴磷	23.895	$4.57 \times 10^{-4}$	339.00、337.00、374.00
23	$\beta$ -硫丹	24.869	$2.78 \times 10^{-3}$	268.90、340.85、339.00
24	4,4'-滴滴涕	25.017	$6.77 \times 10^{-4}$	235.00、237.00、199.00
25	硫丹硫酸盐	25.816	$9.73 \times 10^{-4}$	272.00、274.00、387.00
26	4,4'-滴滴涕	25.932	$2.35 \times 10^{-4}$	235.00、237.00、199.00
27	磷酸三苯酯 (内标)	25.957	-	326.00、325.00、215.00
28	异菌脲	26.928	$1.43 \times 10^{-3}$	314.00、316.00、245.00
29	联苯菊酯	27.147	$3.14 \times 10^{-4}$	181.00、166.00、165.00
30	溴螨酯	27.171	$1.71 \times 10^{-3}$	341.00、183.00、339.00
31	甲氧滴滴涕	27.305	$8.06 \times 10^{-4}$	227.00、228.00、212.00
32	伏杀硫磷	27.964	$4.37 \times 10^{-4}$	182.00、367.00、265.00
33	吡啶磷	28.667	$1.25 \times 10^{-3}$	232.10、373.00、265.00
34	腈嘧菌酯	32.905	$9.28 \times 10^{-4}$	344.00、345.00、388.00

## 2.4 回收率和重现性

将农药混合标准溶液添加到红花、银杏叶空白样品中，按照样品前处理方法制备，加标样品最终浓度分别为 0.05 mg/kg 和 0.1 mg/kg。每浓度加标样品分别平行制样 6 次后进样，以考察方法的重现性。银杏叶中各农药组分的平均回收率和重现性见表 2。

表2 农药组分加标回收率和重现性

序号	农药名称	加标 1 平均回收率%	RSD% (n=6)	加标 2 平均回收率%	RSD% (n=6)
1	氟乐灵	101.17	10.98	97.38	15.55
2	$\alpha$ -六六六	85.08	15.45	88.48	11.55
3	六氯苯	65.87	8.39	81.47	12.08
4	$\beta$ -六六六	70.34	3.91	89.33	4.99
5	五氯硝基苯	87.23	12.49	96.63	12.32
6	林丹	120.93	14.11	114.25	11.84
7	二嗪磷	86.24	7.20	103.98	3.84
8	五氯苯胺	82.97	13.57	86.49	14.55
9	乙烯菌核利	96.43	9.48	103.16	7.69
10	甲草胺	96.71	11.49	86.47	9.19
11	七氯	85.49	10.87	84.70	9.88
12	杀螟硫磷	98.15	5.61	105.35	5.04
13	艾氏剂	91.87	1.86	92.58	7.74
14	对硫磷	92.48	10.23	106.66	5.30
15	二甲戊乐灵	76.30	6.56	91.20	1.15
16	氟虫腈	86.79	8.94	94.08	2.41
17	环氧七氯(顺式)	93.01	9.99	111.02	8.52
18	灭蚜磷	95.21	10.05	93.86	9.99
19	腐霉利	93.85	7.68	104.67	6.74
20	顺式-氯丹	75.81	10.84	86.07	11.85
21	反式-氯丹	75.81	10.84	86.07	11.85
22	丙溴磷	83.45	3.36	94.81	4.25
23	$\beta$ -硫丹	87.29	4.73	94.96	7.96
24	4,4'-滴滴滴	91.31	11.15	97.47	12.31
25	硫丹硫酸盐	97.97	9.59	108.72	12.69
26	4,4'-滴滴涕	74.67	7.51	76.70	0.68
27	磷酸三苯酯(内标)	-	-	-	-
28	异菌脲	81.23	5.59	99.80	6.34
29	联苯菊酯	101.92	4.27	97.03	8.17
30	溴螨酯	93.23	4.87	94.69	9.57
31	甲氧滴滴涕	95.71	7.44	97.46	1.30
32	伏杀硫磷	98.91	7.43	100.29	3.53
33	吡啶磷	83.56	3.98	106.22	7.67
34	腈嘧菌酯	90.57	10.38	102.82	5.46

## ■ 结论

采用岛津公司在线凝胶渗透色谱 - 气相色谱质谱 (GPC-GCMS) 结合改良的 QuEnChERS 方法分析中草药中农药残留, 方法操作简单, 检测灵敏度高, 重现性好。将离线 GPC 的样品净化步骤改为在线 GPC 处理, 能够大量降低有机溶剂使用量; 全自动的仪器处理提高了工作效率。本方法可以用于中草药农药残留的全面监测。