

GC-MS/MS 法测定中药材芡实中 35 个农药残留物含量

GCMSMS-229

摘要：本文参考 2020 版《中国药典》公示稿 2341 农药残留量测定法第五法《药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法》，建立了 GCMSMS 测定芡实中 35 个禁用农药残留物的方法。在 5~100 $\mu\text{g/L}$ （以甲胺磷计）浓度范围内建立内标基质标准曲线，线性关系良好，相关系数 r 均大于 0.995。STD3（限量值浓度）的芡实基质标连续分析 6 次，35 个禁用农药残留物峰面积精密度均在 10% 以内。该方法适用于 2020 版《中国药典》公示稿规定的药材及饮片（植物类）中 35 个禁用农药残留物的准确定量测定。

关键词：气相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪 禁用农药 芡实

2020 年 8 月，国家药典委员会官方网站公示了关于《中国药典》2020 年版四部通则 0212 药材和饮片检定通则、2341 农药残留量测定法第五法修订草案的公示。其中最大的变化是规定了 33 种禁用农药不得检出，并新增了“第五法 药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法”。此修订案一经公示即刻引起了行业内的广泛关注。

本文采用岛津 GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气质联用仪，参照《2341 农药残留量测定法》征求意见稿中第五法的仪器参数、35 个农药残留物的推荐离子对和色谱条件、并依照第五法的样品前处理方式，建立了中药材中 35 个农药残留物测定的方法。该方法灵敏度高，重复性好，完全满足 2020 版《中国药典》公示稿对药材及饮片（植物类）中禁用农药限量值的要求。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津三重四极杆气质联用仪 GCMS-TQ8050 NX

1.2 分析条件

SH-Rxi-17Sil MS, 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm

柱温程序：60 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)_30 $^{\circ}\text{C}$ /min_120 $^{\circ}\text{C}$ _

10 $^{\circ}\text{C}$ /min_160 $^{\circ}\text{C}$ _2 $^{\circ}\text{C}$ /min_230 $^{\circ}\text{C}$ _15 $^{\circ}\text{C}$ /min _300 $^{\circ}\text{C}$ (6 min)

进样口温度：250 $^{\circ}\text{C}$

进样方式：不分流

进样量：1 μL

载气控制方式：恒压

初始载气流量：2.43 mL/min

离子源温度：250 $^{\circ}\text{C}$

接口温度：250 $^{\circ}\text{C}$

检测器电压：调谐电压 +0.7 kV

采集模式：MRM，参数见表 1

■ 样品前处理

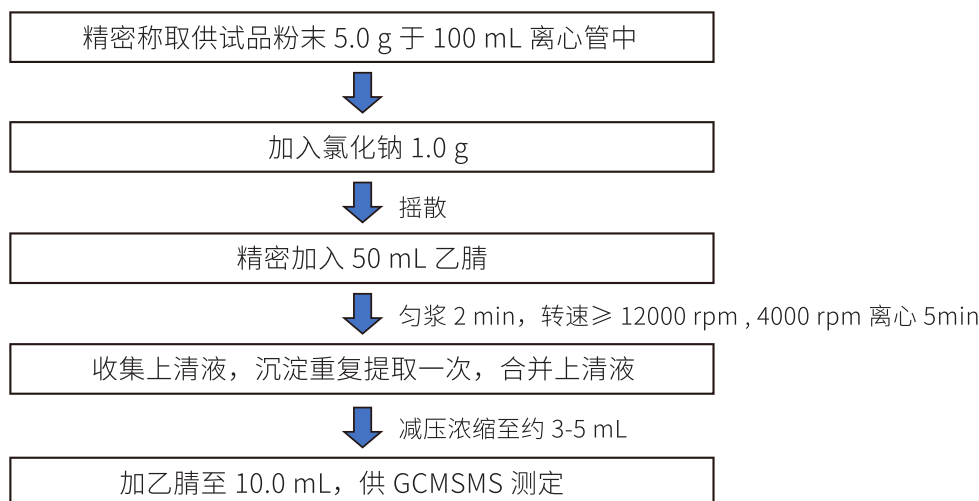


图 1 样品前处理流程图

■ 结果与讨论

3.1 标准溶液色谱图

35 个农药残留物和磷酸三苯酯 (内标) 的 MRM 色谱图如图 2 所示, 各组分出峰时间及 MRM 参数见表 1。各组分质量色谱图见图 3。

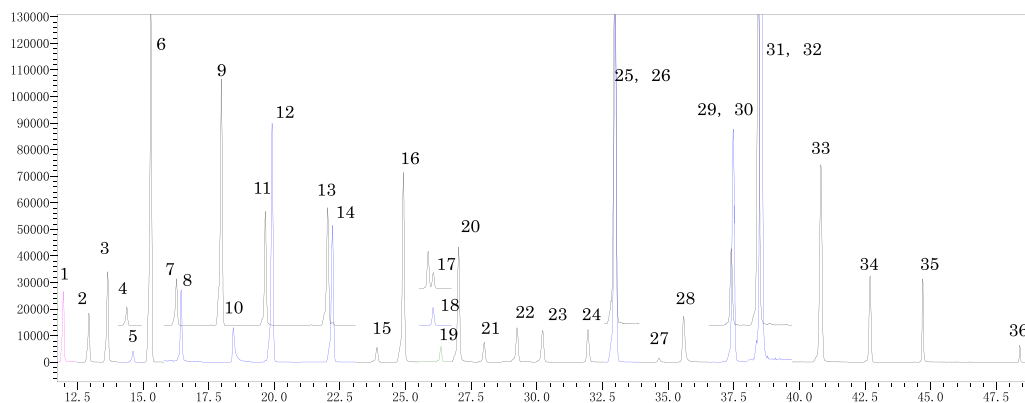


图 2 35 个农药及磷酸三苯酯 (内标) 混合标准溶液 MRM 色谱图 (STD5, 30-75 $\mu\text{g/L}$)

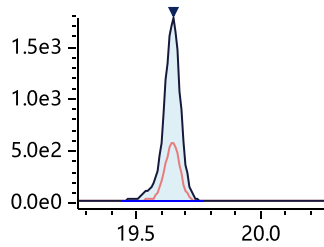
表 1 农药残留物和内标混合标液 MRM 参数

No	组分名称	英文名	保留时间	离子对	CE (碰撞能)
1	内吸磷-O	Demeton-O	12.058	88.00>60.00	4
				88.00>59.00	20
2	灭线磷	Ethoprophos	13.034	199.70>157.80	5
				157.80>96.70	20
3	杀虫脒	Chlordimeform	13.761	152.00>117.00	15
				196.00>181.00	5
4	治螟磷	Sulfotep	14.478	322.00>174.00	15
				322.00>294.00	10
5	甲拌磷	Phorate	14.734	260.00>75.00	5
				230.80>175.00	10
6	α -六六六	α -BHC	15.436	181.00>145.00	15
				218.70>182.90	5
7	特丁硫磷	Terbufos	16.397	230.80>129.00	25
				230.80>175.00	13
8	内吸磷-S	Demeton-S	16.561	88.00>60.00	4
				88.00>59.00	20
9	γ -六六六	γ -BHC	18.143	181.00>145.00	15
				218.70>182.90	5
10	久效磷	Monocrotophos	18.571	127.00>109.00	12
				127.00>95.00	16
11	氟甲腈	Fipronil desulfinyl	19.837	388.00>333.00	20
				388.00>281.00	35
12	β -六六六	β -BHC	20.115	181.00>145.00	15
				218.70>182.90	5

13	δ- 六六六	δ-BHC	22.231	181.00>145.00	15
				218.70>182.90	5
14	艾氏剂	Aldrin	22.394	262.70>192.70	30
				255.00>220.00	20
15	甲基对硫磷	Parathion-methyl	24.144	263.10>109.00	13
				263.10>136.00	5
16	o,p'- 三氯杀螨醇	2,4' -Dicofol	25.098	250.00>139.00	15
				250.00>215.00	5
17	氟虫腈亚砷	Fipronil sulfide	26.076	420.00>351.00	12
				420.00>255.00	20
18	氟虫腈	Fipronil	26.288	367.00>213.00	35
				351.00>255.00	20
19	对硫磷	Parathion	26.543	291.00>109.00	25
				291.00>81.00	30
20	p,p'- 三氯杀螨醇	4,4' -Dicofol	27.231	250.00>139.00	15
				250.00>215.00	5
21	甲基异柳磷	Isufenphos-methyl	28.178	241.00>120.80	20
				241.00>199.00	5
22	水胺硫磷	Isocarbophos	29.433	135.70>108.00	15
				120.70>65.00	20
23	α- 硫丹	α-Endosulfan	30.447	240.80>205.60	15
				240.80>170.00	25
24	氟虫腈砷	Fipronil-sulfone	32.222	383.00>255.00	20
				383.00>213.00	32
25	狄氏剂	Dieldrin	33.218	263.00>193.00	35
				276.80>240.70	10
26	4,4'- 滴滴伊	4,4' -DDE	33.203	246.00>176.00	30
				316.00>246.00	25
27	苯线磷	Fenamiphos	34.866	303.10>122.00	20
				303.10>154.00	30
28	甲基硫环磷	Phosfolan-methyl	35.756	168.00>109.00	15
				227.00>92.00	10
29	除草醚	Nitrofen	37.659	201.80>138.70	28
				282.80>253.00	10
30	2,4'- 滴滴涕	2,4' -DDT	37.707	235.00>165.00	25
				235.00>199.00	15
31	4,4'- 滴滴滴	4,4' -DDD	38.685	235.00>165.00	25
				237.00>165.00	25
32	β- 硫丹	β-Endosulfan	38.799	206.80>171.80	15
				194.80>124.70	30

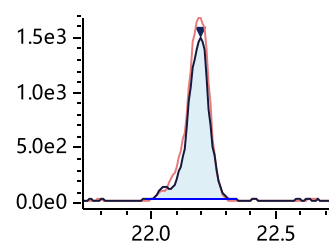
33	4,4'-滴滴涕	4,4' -DDT	41.072	235.00>165.00 235.00>199.00	25 18
34	硫丹硫酸酯	Endosulfan sulfate	42.900	271.80>236.70 273.80>238.90	15 15
35	磷酸三苯酯	Triphenyl phosphate	44.800	326.00>233.00 326.00>215.00	10 25
36	蝇毒磷	Coumaphos	48.519	361.80>109.00 361.80>81.00	16 32

Q 388.00>333.00 (+) 1.78e3



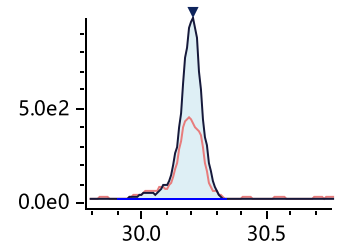
氟甲腈

Q 262.70>192.70 (+) 1.50e3



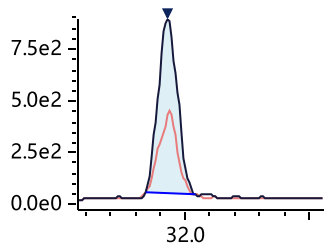
艾氏剂

Q 240.80>205.60 (+) 9.79e2



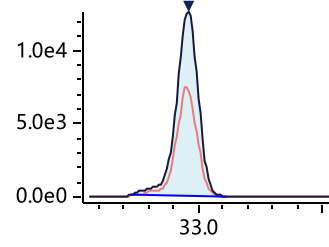
α-硫丹

Q 383.00>255.00 (+) 8.95e2



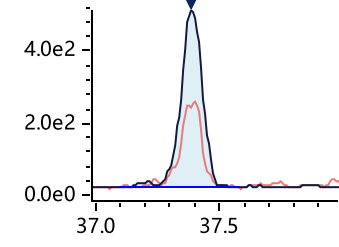
氟虫腈

Q 246.00>176.00 (+) 1.27e4



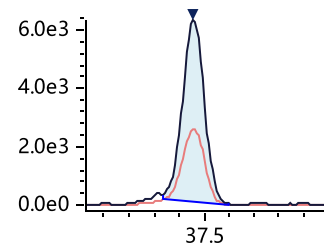
4,4'-滴滴伊

Q 201.80>138.70 (+) 5.12e2



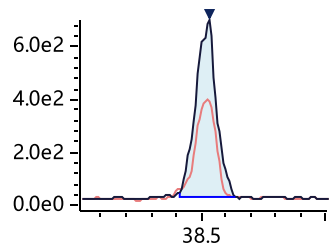
除草醚

Q 235.00>165.00 (+) 6.33e3



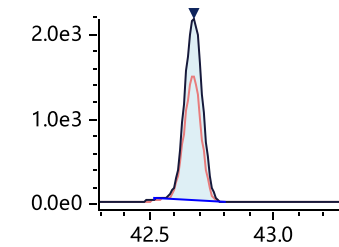
2,4'-滴滴涕

Q 206.80>171.80 (+) 6.99e2



β-硫丹

Q 271.80>236.70 (+) 2.19e3



硫丹硫酸酯

图3 标准品 MRM 色谱图 (部分组分, STD1, 2~5 μg/L)

3.2 标准曲线

分别精密量取空白基质溶液 1.0mL (6 份)，置氮吹仪上，40°C水浴浓缩至约 0.6mL，加入混合对照品溶液，配成浓度分别为 5、10、25、50、75、100 $\mu\text{g/L}$ (以甲胺磷计，分别对应代号 STD1-6) 的标准溶液，取 1 mL 标样加入 0.3 mL 磷酸三苯酯内标，涡旋混匀，取 1 μL 进样。以各目标物浓度比为横坐标，目标物峰面积比为纵坐标，以内标法绘制标准曲线，所得校准曲线线性关系良好，线性相关系数大于 0.995。曲线结果如下图 4 所示。线性方程及相关系数见表 3。

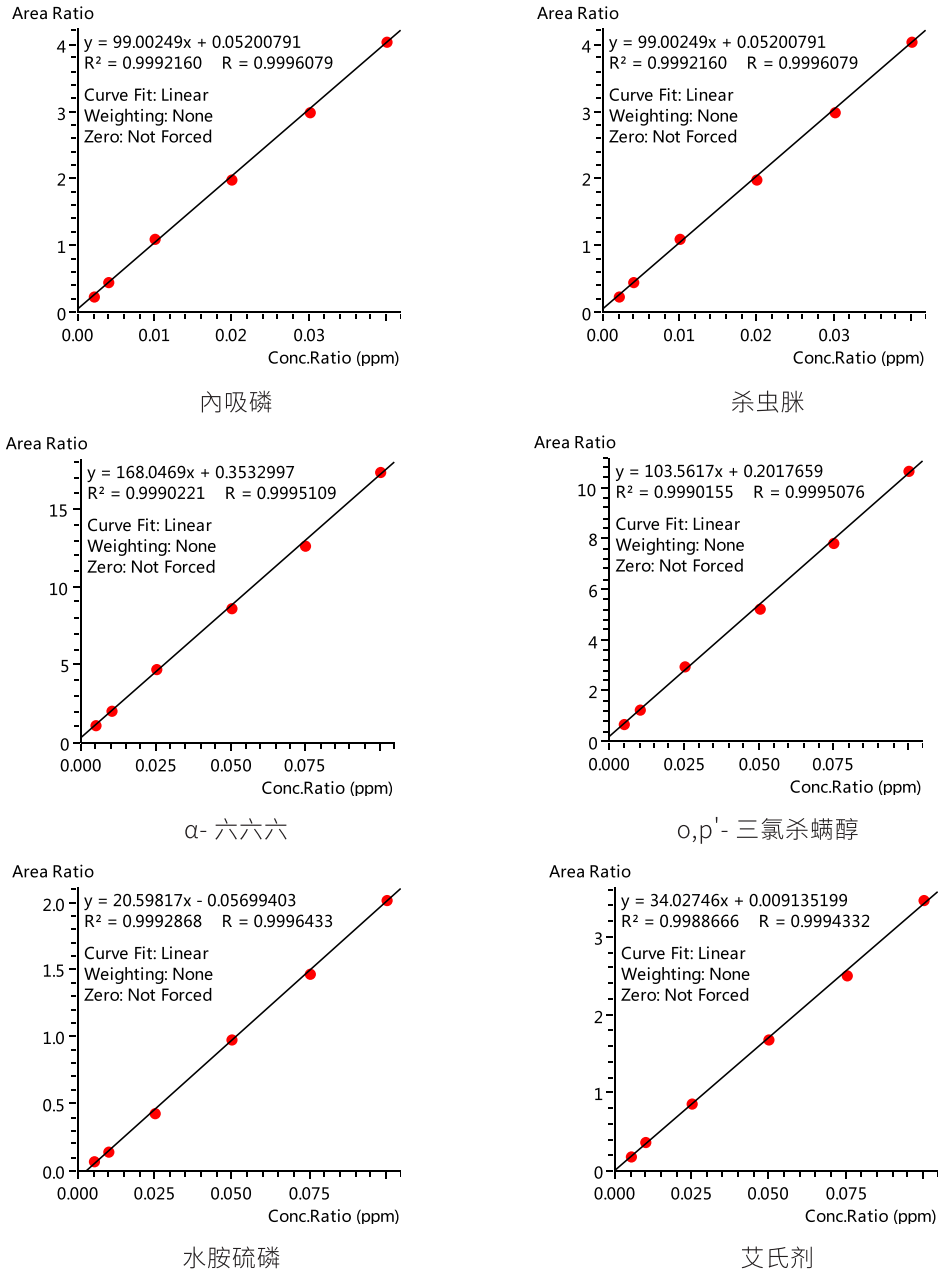


图 4 部分农药校准曲线

表 3 校准曲线相关系数

No.	组分名称	相关系数 r	浓度范围 (µg/mL)	No.	组分名称	相关系数 r	浓度范围 (µg/mL)
1	内吸磷 -O	0.9998	0.002~0.04	19	对硫磷	0.998	0.002~0.04
2	灭线磷	0.9996	0.002~0.04	20	p,p'- 三氯杀螨醇	0.9998	0.005~0.1
3	杀虫脒	0.9996	0.002~0.04	21	甲基异柳磷	0.9992	0.002~0.04
4	治螟磷	0.9990	0.002~0.04	22	水胺硫磷	0.9996	0.005~0.1
5	甲拌磷	0.998	0.002~0.04	23	α- 硫丹	0.9991	0.005~0.1
6	α- 六六六	0.9995	0.005~0.1	24	氟虫腈砒	0.9990	0.002~0.04
7	特丁硫磷	0.998	0.002~0.04	25	狄氏剂	0.9991	0.005~0.1
8	内吸磷 -S	0.997	0.002~0.04	26	4,4'- 滴滴伊	0.9994	0.005~0.1
9	γ- 六六六	0.9996	0.005~0.1	27	苯线磷	0.9993	0.002~0.04
10	久效磷	0.998	0.003~0.06	28	甲基硫环磷	0.9992	0.003~0.06
11	氟甲腈	0.9992	0.002~0.04	29	除草醚	0.998	0.005~0.1
12	β- 六六六	0.998	0.005~0.1	30	2,4'- 滴滴涕	0.9996	0.005~0.1
13	δ- 六六六	0.997	0.005~0.1	31	4,4'- 滴滴滴	0.994	0.005~0.1
14	艾氏剂	0.9994	0.005~0.1	32	β- 硫丹	0.9997	0.005~0.1
15	甲基对硫磷	0.998	0.002~0.04	33	4,4'- 滴滴涕	0.9994	0.005~0.1
16	o,p'- 三氯杀螨醇	0.9995	0.005~0.1	34	硫丹硫酸酯	0.9992	0.005~0.1
17	氟虫腈亚砒	0.9990	0.002~0.04	35	蝇毒磷	0.995	0.005~0.1
18	氟虫腈	0.9990	0.002~0.04				

3.3 重复性考察

配制低、中、高三个浓度标准溶液，连续进样 6 次，考察分析方法保留时间和峰面积的重复性。结果表明：35 种农药残留物保留时间的 RSD% 均小于 0.16% 和峰面积的 RSD% 均小于 15%，方法重复性良好，仪器精密程度良好。结果见表 4。

表 4 重复性测试 (n=6)

No.	组分名称	RSD% (STD1, 2-5 µg/L)		RSD% (STD3, 10~25 µg/L)		RSD% (STD4, 20~50 µg/L)	
		R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	内吸磷 -O	0.16	8.45	0.01	1.96	0.02	3.36
2	灭线磷	0.03	2.89	0.02	1.24	0.01	2.56
3	杀虫脒	0.02	2.11	0.02	1.25	0.01	1.91
4	治螟磷	0.03	4.54	0.02	1.19	0.02	3.50
5	甲拌磷	0.05	1.98	0.02	1.17	0.01	3.56
6	α- 六六六	0.02	1.18	0.01	0.36	0.02	1.84
7	特丁硫磷	0.01	0.83	0.02	0.89	0.01	1.68
8	内吸磷 -S	0.02	8.08	0.03	4.91	0.02	4.06
9	γ- 六六六	0.01	0.81	0.01	1.21	0.02	1.72
10	久效磷	0.16	8.45	0.07	9.02	0.04	14.18
11	氟甲腈	0.03	3.13	0.02	2.20	0.02	3.19
12	β- 六六六	0.02	2.72	0.02	1.07	0.01	1.37
13	δ- 六六六	0.02	1.26	0.01	1.80	0.01	1.24

14	艾氏剂	0.02	1.25	0.01	2.08	0.01	1.49
15	甲基对硫磷	0.04	1.68	0.01	2.10	0.01	1.64
16	o,p'-三氯杀螨醇	0.01	1.89	0.01	0.48	0.01	1.42
17	氟虫腈亚砷	0.03	2.96	0.02	3.37	0.02	2.27
18	氟虫腈	0.05	1.85	0.01	2.23	0.01	3.94
19	对硫磷	0.07	2.78	0.04	6.06	0.02	3.38
20	p,p'-三氯杀螨醇	0.01	1.47	0.01	1.01	0.01	1.59
21	甲基异柳磷	0.02	0.95	0.01	3.39	0.01	2.73
22	水胺硫磷	0.02	1.31	0.01	2.92	0.02	7.25
23	α -硫丹	0.03	3.33	0.01	1.48	0.01	2.72
24	氟虫腈砷	0.01	3.61	0.01	2.57	0.02	2.95
25	狄氏剂	0.03	2.36	0.01	1.11	0.01	3.38
26	4,4'-滴滴伊	0.02	1.46	0.00	0.88	0.01	1.77
27	苯线磷	0.04	5.31	0.01	2.87	0.01	3.57
28	甲基硫环磷	0.02	3.19	0.02	3.87	0.01	4.29
29	除草醚	0.03	3.73	0.02	2.37	0.02	1.98
30	2,4'-滴滴涕	0.01	2.78	0.00	1.23	0.02	4.10
31	4,4'-滴滴涕	0.01	1.38	0.01	0.85	0.01	1.50
32	β -硫丹	0.01	3.79	0.01	1.71	0.02	1.85
33	4,4'-滴滴涕	0.01	1.85	0.01	1.61	0.01	2.01
34	硫丹硫酸酯	0.01	3.96	0.00	0.83	0.01	3.84
35	蝇毒磷	0.01	7.28	0.00	2.96	0.01	3.19

3.4 加标回收实验

取茭实样品，按照第2章步骤制备样品和加标样品，三个水平加标浓度如下表5所示，各样品平行测定6次。测试结果显示：通过两步提取，各水平的加标回收率在64.94~105.65%之间，相对标准偏差RSD%在0.63~14.37%之间。

表5 基质加标实验结果

No.	组分名称	加标, n=6 (STD1, 2-5 $\mu\text{g/L}$)		加标, n=6 (STD3, 10~25 $\mu\text{g/L}$)		加标, n=6 (STD4, 20~50 $\mu\text{g/L}$)	
		回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%
1	内吸磷-O	85.69	2.59	91.26	0.82	91.82	2.61
2	灭线磷	88.17	5.73	86.34	1.98	86.72	2.63
3	杀虫脒	89.34	3.22	93.61	1.39	95.16	1.68
4	治螟磷	99.50	4.27	97.48	2.51	93.64	2.32
5	甲拌磷	86.50	4.72	88.66	1.71	97.93	2.37
6	α -六六六	90.60	1.94	93.78	0.85	93.93	2.06
7	特丁硫磷	94.72	4.90	92.26	3.08	92.37	1.91
8	内吸磷-S	95.71	3.16	83.68	1.92	91.56	2.97
9	γ -六六六	89.16	2.91	94.07	0.83	94.25	2.37
10	久效磷	64.94	3.86	105.65	4.67	90.60	8.64

11	氟甲腈	87.64	5.90	96.38	0.90	91.43	2.04
12	β-六六六	95.45	1.71	95.32	0.63	96.24	1.71
13	δ-六六六	78.93	6.44	88.41	14.37	76.28	3.59
14	艾氏剂	101.54	1.61	95.45	2.40	94.45	1.51
15	甲基对硫磷	93.61	3.66	94.76	3.12	96.51	1.16
16	o,p'-三氯杀螨醇	90.71	2.78	94.61	1.10	97.16	1.31
17	氟虫腈亚砷	81.53	3.36	89.65	2.16	95.85	1.92
18	氟虫腈	84.29	6.25	88.67	1.44	87.75	3.75
19	对硫磷	98.40	3.32	96.57	5.79	96.95	5.26
20	p,p'-三氯杀螨醇	94.66	1.39	95.78	0.80	98.58	1.95
21	甲基异柳磷	85.01	5.29	84.58	3.94	94.02	1.97
22	水胺硫磷	84.67	3.13	105.25	5.08	93.97	2.64
23	α-硫丹	93.28	1.37	90.26	3.02	92.80	3.50
24	氟虫腈砷	91.87	1.81	90.55	2.88	97.29	0.92
25	狄氏剂	90.52	3.29	91.82	1.90	94.43	1.17
26	4,4'-滴滴伊	91.02	1.49	94.51	1.12	90.22	1.65
27	苯线磷	73.85	3.31	92.51	3.54	95.85	3.34
28	甲基硫环磷	77.36	6.72	90.67	4.88	91.26	3.34
29	除草醚	91.51	7.76	91.95	3.60	95.17	2.91
30	2,4'-滴滴涕	86.94	2.24	95.07	2.28	92.31	2.70
31	4,4'-滴滴涕	92.83	1.71	97.64	3.12	99.60	4.06
32	β-硫丹	94.28	4.95	89.21	2.57	94.31	2.96
33	4,4'-滴滴涕	89.79	3.13	98.48	3.03	95.45	2.28
34	硫丹硫酸酯	86.15	3.10	95.16	2.72	93.84	2.32
35	蝇毒磷	79.16	4.91	93.57	4.32	92.88	1.67

3.5 样品测试

取芡实样品，按照第 2 章步骤制备样品，上机检测，如图 5 所示，样品中未检测出农药残留物。

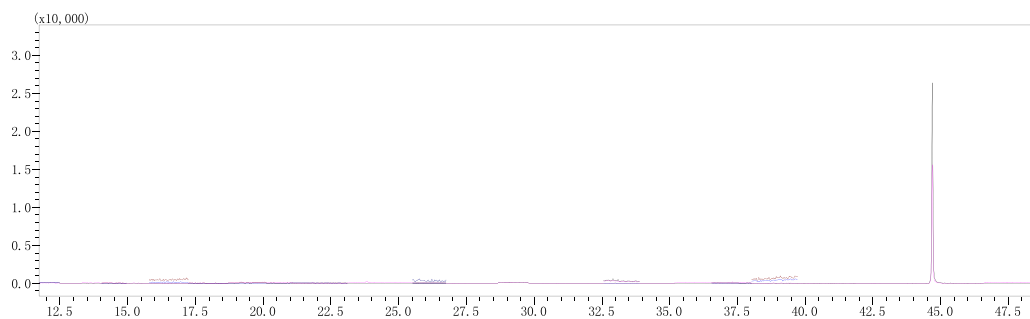


图 5 芡实样品 MRM 谱图

■ 结论

本文利用岛津 GCMS-TQ8050NX，建立一种简便、快速、准确的药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留的分析方法。该方法采用内标法定量，在 5-100 $\mu\text{g/L}$ 的范围内（以甲胺磷计），各组分线性相关系数均在 0.995 以上，线性良好。对高、中、低水平的标准溶液重复进样 6 针，保留时间和峰面积均表现出了良好的重复性。加标回收实验中，各物质回收率在 64.94~ 105.65% 之间，平行样品的峰面积 RSD% 值在 0.63~ 14.37% 之间，回收率及精密度良好。该方法操作简捷，为药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留的检测提供很好的参考。

岛津应用云

