

LC-MS/MS 法测定中药材决明子中 30 种禁用农药及残留物

LCMSMS-549

摘要：本文利用岛津三重四极杆液质联用仪建立了 LC-MS/MS 测定 2020 版《中国药典》通则《2341 药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法》第五法规定的 30 种禁用农药及残留物方法。在 5.0~100.0 ng/mL（以甲胺磷计）浓度范围内建立标准曲线，线性关系良好，相关系数 r 均大于 0.996。精密度实验中，30 种禁用农药及残留物的保留时间和峰面积 RSD% 在 0.60% 和 7.10% 以内。在 0.05 mg/kg（以甲胺磷计）加标浓度下，30 种禁用农药及残留物回收率分布在 82.2~120.5% 之间。

关键词：三重四极杆液相色谱质谱联用仪 中药材 禁用农药

为了规范中药饮片生产，提高中药饮片质量，国家局于每年一次国评品种抽检选取易出现问题的代表性品种来评价全国中药饮片的质量。其中，2021 年中药饮片国评品种包含了中药材决明子。决明子为豆科植物决明或小决明的干燥成熟种子，其具有清热明目、润肠通便的功能，用于目赤涩痛，羞明多泪，头痛眩晕，目暗不明等。

2020 版《中国药典》已于 2020 年 12 月 30 日正式实施。其中，《0212 药材与饮片检定通则》首次收载 33 种禁用农药多残留测定项目，规定了禁用农药不得检出（不得过定量限）。通则《2341 农药残留量测

定法》中增加了第五法“药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法”，该法中 LC-MS/MS 法测定的农药残留物共有 30 个。

本文利用岛津 LCMS-8050 三重四极杆液相色谱质谱联用仪，参照《2341 农药残留量测定法》第五法的仪器参数、色谱条件及 30 种农药及残留物的推荐离子对，依照第五法的样品前处理方式，建立了中药材决明子中 30 种禁用农药及残留物测定的方法。该方法灵敏度高，重复性好，满足 2020 版《中国药典》对药材及饮片（植物类）中 30 种禁用农药及残留物限量值的要求。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。具体配置如下：

系统控制器：CBM-20A	柱温箱：CTO-30A
输液泵：LC-30AD×2	三重四极杆质谱仪：LCMS-8050
自动进样器：SIL-30AC	在线脱气机：DGU-20A5
色谱工作站：LabSolutions Ver 5.99, LabSolutions Insight Ver 3.7	

1.2 分析条件

色谱柱：Shim-pack Velox C18, 2.1 mm I.D.×100 mm L., 2.7 μ m (Shimadzu SGLC, P/N: 227-32009-03)
流动相：A 相 -0.1% 甲酸水溶液（含 5 mmol/L 甲酸铵）；
B 相 - 乙腈 -0.1% 甲酸水溶液（含 5 mmol/L 甲酸铵）（95:5, v/v）
流速：0.30 mL/min
柱温：40°C
洗脱方式：采用梯度洗脱，B 相初始浓度为 30%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	Command	Value
1.00	泵	B. Conc	30
12.00	泵	B. Conc	100
14.00	泵	B. Conc	100
14.10	泵	B. Conc	30
17.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI, 正离子模式分析

雾化气: 氮气 3.0 L/min

加热气: 干燥空气 10.0 L/min

DL 温度: 200°C

加热模块温度: 400°C

接口温度: 300°C

干燥气: 氮气 10.0 L/min

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 参数

No.	中文名	英文名	保留时间 (min)	前体离子 (m/z)	产物离子 (m/z)	Q1 Pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
1	甲胺磷	Methamidophos	0.637	142.05	94.00	-15.0	-15.0	-18.0
				142.05	124.95	-10.0	-17.0	-20.0
				304.10	217.00	-22.0	-24.0	-21.0
2	苯线磷	Fenamiphos	5.656	304.10	202.05	-22.0	-36.0	-21.0
				304.10	234.10	-11.0	-18.0	-15.0
3	苯线磷砷	Fenamiphos-sulfone	2.963	336.30	265.90	-17.0	-21.0	-17.0
				336.30	188.10	-10.0	-28.0	-18.0
				320.10	233.00	-12.0	-26.0	-15.0
4	苯线磷亚砷	Fenamiphos-sulfoxide	1.737	320.10	291.95	-22.0	-17.0	-29.0
				320.10	171.30	-13.0	-40.0	-30.0
5	地虫硫磷	Fonofos	7.787	247.20	108.80	-19.0	-21.0	-18.0
				247.20	137.10	-10.0	-12.0	-23.0
				323.00	115.05	-24.0	-28.0	-23.0
6	治螟磷	Sulfotep	7.990	323.00	171.15	-24.0	-15.0	-29.0
				323.00	96.95	-12.0	-40.0	-19.0
7	克百威	Carbofuran	3.168	222.10	165.10	-16.0	-13.0	-30.0
				222.10	123.10	-16.0	-21.0	-12.0
				238.10	163.10	-18.0	-16.0	-30.0
8	3-羟基克百威	Carbofuran-3-hydroxy	1.096	238.10	181.00	-18.0	-12.0	-30.0
				238.10	220.20	-19.0	-8.0	-10.0
9	胺苯磺隆	Ethametsulfuron-methyl	3.559	411.30	196.00	-12.0	-18.0	-20.0
				411.20	168.10	-16.0	-30.0	-16.0
10	甲磺隆	Metsulfuron-methyl	2.837	382.30	167.20	-11.0	-18.0	-16.0
				382.20	199.00	-15.0	-22.0	-19.0

11	氯磺隆	Chlorsulfuron	3.245	358.00	141.20	-27.0	-20.0	-28.0
				358.00	167.10	-13.0	-19.0	-16.0
				271.10	159.00	-10.0	-14.0	-15.0
12	硫线磷	Cadusafos	7.531	271.10	97.00	-20.0	-37.0	-17.0
				271.10	131.00	-10.0	-24.0	-13.0
13	氯唑磷	Isazafos	6.984	314.00	162.10	-24.0	-18.0	-30.0
				314.00	162.10	-22.0	-26.0	-22.0
14	甲拌磷	Phorate	8.008	261.25	75.10	-11.0	-12.0	-28.0
				261.25	47.10	-12.0	-37.0	-14.0
				277.00	97.00	-20.0	-34.0	-17.0
15	甲拌磷亚砷	Phorate-sulfone	3.561	277.00	199.05	-11.0	-10.0	-13.0
				277.00	170.90	-10.0	-14.0	-16.0
				277.00	142.90	-21.0	-21.0	-27.0
16	甲拌磷砷	Phorate-sulfoxide	5.118	293.00	171.15	-14.0	-11.0	-29.0
				293.00	114.90	-21.0	-25.0	-22.0
				293.00	247.00	-22.0	-8.0	-11.0
17	蝇毒磷	Coumaphos	7.674	363.00	226.90	-14.0	-26.0	-22.0
				363.20	306.80	-15.0	-19.0	-20.0
18	硫环磷	Phosfolan	1.432	256.00	140.00	-19.0	-23.0	-25.0
				256.00	168.00	-19.0	-16.0	-17.0
19	磷胺	Phosphamidon	1.931	300.20	174.15	-16.0	-13.0	-30.0
				300.20	127.00	-16.0	-25.0	-21.0
				213.15	89.05	-11.0	-19.0	-13.0
20	涕灭威	Aldicarb	1.969	213.15	116.10	-27.0	-20.0	-20.0
				208.10	115.90	-10.0	-9.0	-11.0
				208.10	88.90	-10.0	-16.0	-16.0
21	涕灭威砷	Aldicarb-sulfone	0.789	240.10	86.00	-18.0	-21.0	-15.0
				240.10	223.00	-18.0	-9.0	-10.0
22	涕灭威亚砷	Aldicarb-sulfoxide	0.642	207.10	89.00	-15.0	-16.0	-28.0
				207.10	132.00	-15.0	-9.0	-13.0
23	久效磷	Monocrotophos	0.701	224.10	127.00	-17.0	-17.0	-22.0
				224.10	193.10	-16.0	-10.0	-20.0
24	内吸磷	Demeton	4.465	259.00	88.95	-20.0	-12.0	-16.0
				259.00	61.15	-10.0	-36.0	-21.0
25	灭线磷	Ethoprophos	5.891	243.20	130.90	-10.0	-20.0	-25.0
				243.20	97.00	-13.0	-35.0	-16.0
26	特丁硫磷砷	Terbufos-sulfone	6.062	321.30	170.95	-11.0	-12.0	-30.0
				321.10	96.90	-12.0	-41.0	-17.0
27	特丁硫磷亚砷	Terbufos-sulfoxide	4.851	305.00	186.90	-22.0	-12.0	-19.0
				305.00	96.95	-22.0	-43.0	-17.0

				312.10	235.80	-12.0	-9.0	-27.0
28	水胺硫磷	Isocarbophos	5.041	312.10	270.60	-22.0	-15.0	-15.0
				291.00	231.00	-22.0	-32.0	-21.0
				291.00	121.10	-12.0	-9.0	-27.0
29	杀虫脒	Chlordimeform	0.874	197.10	117.05	-15.0	-28.0	-23.0
				197.10	152.00	-14.0	-19.0	-24.0
30	甲基异柳磷	Isofenphos-methyl	7.727	332.05	231.00	-26.0	-14.0	-23.0
				332.05	272.90	-24.0	-8.0	-12.0

注：表格中多对监测离子对供定量和定性分析选择使用。

1.3 混合对照品溶液的制备

取 30 个农药残留物混标母液（Shimadzu SGLC, Catalog No.: 380-03386）200 μ L，以乙腈定容至 20 mL，即为中间工作液。

1.4 供试品溶液的配制

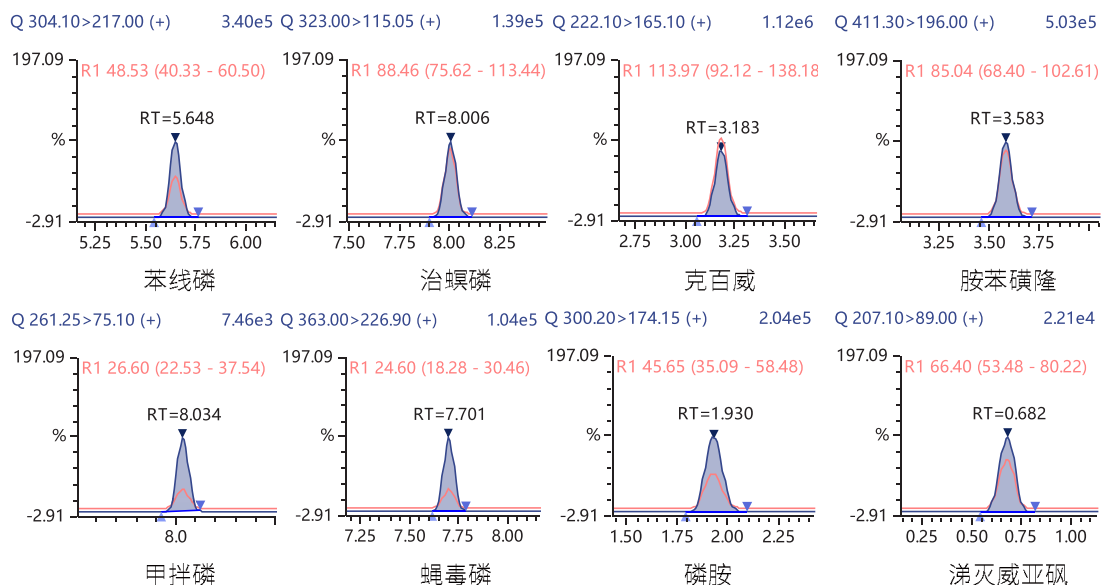
参照 2020 版《中国药典》四部通则“2341 农药残留量测定法第五法”4.3 固相萃取法方式二，取供试品粉末（过三号筛）5 g，精密称定，加氯化钠 1 g，立即摇散，再加入乙腈 50 mL 匀浆处理 2 分钟（每分钟 12000 转），离心（每分钟 4000 转），分取上清液，沉淀再加乙腈 50 mL，匀浆处理 1 分钟，离心，合并两次提取的上清液，减压浓缩至约 3~5 mL，放冷，用乙腈稀释至 10.0 mL，摇匀，量取 3~5 mL，通过亲水亲油平衡材料 HLB SPE（Shimadzu SGLC, P/N: 5010-81976）固相萃取柱（上 200 mg，6 mL）净化，收集全部净化液，混匀。上机时，精密量取 1 mL 供试品溶液，精密加入水 0.3 mL，混匀，过滤，取续滤液。取 2 μ L 注入液相相色谱串联质谱仪，记录峰面积。

1.5 空白基质溶液的制备

取空白基质样品，同 1.4 供试品溶液的制备方法处理制成空白基质溶液。上机时，精密量取 1 mL 空白基质溶液，精密加入水 0.3 mL，混匀，过滤，取续滤液。取 2 μ L 注入液相相色谱串联质谱仪，记录峰面积。

■ 结果与讨论

2.1 决明子基质混合对照品溶液 25 ng/mL(以甲胺磷计)MRM 色谱图 (部分)



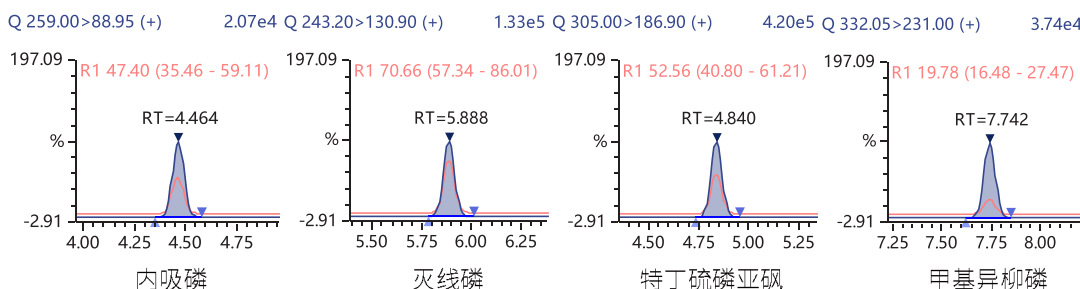


图1 决明子基质混合对照品溶液 25 ng/mL(以甲胺磷计)MRM 色谱图(部分)

2.2 标准曲线

分别精密量取 1.5 mL 中制备得到的决明子空白基质溶液, 分别加入不同体积的混合对照品溶液配制成标准曲线浓度(以甲胺磷计)为 5.0、10.0、15.0、25.0、50.0、100.0 ng/mL 的基质混合对照工作溶液。取 2 μ L 注入液相色谱串联质谱仪测定, 记录峰面积, 绘制标准曲线, 结果见表 3。

表 3 标准曲线结果

No.	中文名称	线性范围 (ng/mL)	标准曲线	相关系数 (r)	准确度 (%)	检出限 (μ g/kg)
1	甲胺磷	5.0-100.0	$Y = 2202.14X + 2200.31$	0.9984	91.0-111.2	0.120
2	苯线磷	2.0-40.0	$Y = 126195X + 39077.5$	0.9998	87.9-104.6	0.004
3	苯线磷砷	2.0-40.0	$Y = 2082.36X + (-113.383)$	0.9958	81.7-115.1	0.136
4	苯线磷亚砷	2.0-40.0	$Y = 37975.2X + 16107.0$	0.9998	81.7-106.0	0.160
5	地虫硫磷	2.0-40.0	$Y = 17860.5X + 3670.73$	0.9995	95.6-105.7	0.008
6	治螟磷	2.0-40.0	$Y = 48430.9X + 26729.0$	0.9993	81.1-111.0	0.024
7	克百威	5.0-100.0	$Y = 190153X + 144690$	0.9997	90.8-106.5	0.002
8	3- 羟基克百威	5.0-100.0	$Y = 18560.2X + 10223.4$	0.9998	96.2-107.8	0.008
9	胺苯磺隆	5.0-100.0	$Y = 90498.4X + (-52885.9)$	0.9995	95.9-106.2	0.012
10	甲磺隆	5.0-100.0	$Y = 38536.3X + (-33510.9)$	0.9994	95.3-103.9	0.104
11	氯磺隆	5.0-100.0	$Y = 16136.3X + (-3667.97)$	0.9999	96.7-104.3	0.034
12	硫线磷	2.0-40.0	$Y = 196211X + (-6788.42)$	0.9999	93.3-103.1	0.020
13	氯唑磷	1.0-20.0	$Y = 87830.8X + (-517.866)$	0.9992	94.8-107.3	0.008
14	甲拌磷	2.0-40.0	$Y = 3349.74X + (-2605.50)$	0.9977	80.2-115.0	0.060
15	甲拌磷亚砷	2.0-40.0	$Y = 151080X + 300707$	0.9997	90.0-107.6	0.004
16	甲拌磷砷	2.0-40.0	$Y = 4260.73X + (-734.586)$	0.9984	83.1-119.3	0.830
17	蝇毒磷	5.0-100.0	$Y = 15365.7X + 4657.21$	0.9994	91.8-105.0	0.612
18	硫环磷	3.0-60.0	$Y = 157915X + (-27738.0)$	0.9999	97.7-105.6	0.004
19	磷胺	5.0-100.0	$Y = 47401.9X + 15507.0$	0.9994	95.4-101.5	0.036
20	涕灭威	5.0-100.0	$Y = 7065.03X + 9112.39$	0.9992	90.3-104.9	0.190
21	涕灭威砷	5.0-100.0	$Y = 28640.6X + (-6041.02)$	0.9994	94.1-111.4	0.076
22	涕灭威亚砷	5.0-100.0	$Y = 4797.01X + 2026.19$	0.9990	82.8-109.9	0.338
23	久效磷	3.0-60.0	$Y = 15370.4X + 5457.21$	0.9990	94.8-106.0	0.166
24	内吸磷	2.0-40.0	$Y = 8595.67X + (-53.3516)$	0.9992	89.2-111.3	0.032
25	灭线磷	2.0-40.0	$Y = 51340.1X + 11750.1$	0.9999	94.8-103.9	0.106

26	特丁硫磷砒	2.0-40.0	$Y = 9116.58X + 1614.23$	0.9997	95.7-105.6	0.100
27	特丁硫磷亚砒	2.0-40.0	$Y = 164387X + (-10676.3)$	0.9995	95.5-109.9	0.014
28	水胺硫磷	5.0-100.0	$Y = 41647.1X + 32160.6$	0.9994	94.4-105.1	0.028
29	杀虫脒	2.0-40.0	$Y = 37771.4X + (-36098.1)$	0.9999	96.3-108.9	0.132
30	甲基异柳磷	2.0-40.0	$Y = 11760.8X + 10909.1$	0.9990	96.3-106.4	0.060

2.3 精密度考察

取 2.2 中的混合对照品溶液，按照 1.2 分析条件连续进样测定 6 次，计算目标化合物的保留时间和峰面积相对标准偏差（RSD%）。具体结果见表 4，目标化合物的保留时间和峰面积 RSD% 在 0.60% 和 7.10% 以内，结果表明该仪器具有良好精密度。

表 4 精密度考察结果 (n=6)

No.	中文名	浓度 (ng/mL)	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD(%)	No.	中文名	浓度 (ng/mL)	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD(%)
1	甲胺磷	25.0	0.27	5.87	16	甲拌磷砒	10.0	0.041	7.07
2	苯线磷	10.0	0.064	3.49	17	蝇毒磷	25.0	0.045	4.45
3	苯线磷砒	10.0	0.18	5.36	18	硫环磷	15.0	0.10	1.70
4	苯线磷亚砒	10.0	0.59	2.55	19	磷胺	25.0	0.088	1.60
5	地虫硫磷	10.0	0.052	3.22	20	涕灭威	25.0	0.098	4.94
6	治螟磷	10.0	0.040	2.72	21	涕灭威砒	25.0	0.089	2.10
7	克百威	25.0	0.085	1.44	22	涕灭威亚砒	25.0	0.29	3.08
8	3- 羟基克百威	25.0	0.36	4.42	23	久效磷	15.0	0.58	2.93
9	胺苯磺隆	25.0	0.095	1.62	24	内吸磷	10.0	0.092	4.32
10	甲磺隆	25.0	0.11	2.38	25	灭线磷	10.0	0.061	1.38
11	氯磺隆	25.0	0.11	1.40	26	特丁硫磷砒	10.0	0.032	5.17
12	硫线磷	10.0	0.047	0.80	27	特丁硫磷亚砒	10.0	0.083	3.09
13	氯唑磷	5.0	0.055	2.83	28	水胺硫磷	25.0	0.052	2.69
14	甲拌磷	10.0	0.047	4.86	29	杀虫脒	10.0	0.22	3.84
15	甲拌磷亚砒	10.0	0.096	3.51	30	甲基异柳磷	10.0	0.024	5.89

2.4 加标回收考察

取决明子供试品，精密加入混合对照品溶液（加标量以甲胺磷计为 0.05 mg/kg），按 1.4 供试品溶液的制备进行样品前处理，回收率测定结果见表 5。结果表明，30 种农药及残留物平均回收率在 82.2~ 120.5% 之间，符合规定。

表 5 回收率考察结果 (n=4)

No.	中文名	加标量 (mg/kg)	平均回收率 (%)	No.	中文名	加标量 (mg/kg)	平均回收率 (%)
1	甲胺磷	0.05	113.8	16	甲拌磷砒	0.02	105.4
2	苯线磷	0.02	93.6	17	蝇毒磷	0.05	107.6
3	苯线磷砒	0.02	109.7	18	硫环磷	0.03	111.7
4	苯线磷亚砒	0.02	99.2	19	磷胺	0.05	103.0
5	地虫硫磷	0.02	112.3	20	涕灭威	0.05	87.5
6	治螟磷	0.02	96.7	21	涕灭威砒	0.05	120.5
7	克百威	0.05	106.6	22	涕灭威亚砒	0.05	115.6
8	3-羟基克百威	0.05	91.0	23	久效磷	0.03	114.5
9	胺苯磺隆	0.05	109.2	24	内吸磷	0.02	92.3
10	甲磺隆	0.05	107.6	25	灭线磷	0.02	104.7
11	氯磺隆	0.05	108.8	26	特丁硫磷砒	0.02	103.4
12	硫线磷	0.02	105.6	27	特丁硫磷亚砒	0.02	106.6
13	氯唑磷	0.01	101.1	28	水胺硫磷	0.05	101.9
14	甲拌磷	0.02	95.8	29	杀虫脒	0.02	82.2
15	甲拌磷亚砒	0.02	111.7	30	甲基异柳磷	0.02	112.2

2.5 实际样品测定

取决明子样品, 按 1.4 供试品溶液的制备进行样品前处理, 按照 1.2 分析条件进样分析。结果表明, 决明子样品中未检出 30 种禁用农药及残留物, 符合规定。

表 6 决明子样品测试结果

No.	中文名	样品检出量 (mg/kg)	通则定量限 (mg/kg)	No.	中文名	样品检出量 (mg/kg)	通则定量限 (mg/kg)
1	甲胺磷	N.D.	0.05	16	甲拌磷砒	N.D.	0.02
2	苯线磷	N.D.	0.02	17	蝇毒磷	N.D.	0.05
3	苯线磷砒	N.D.	0.02	18	硫环磷	N.D.	0.03
4	苯线磷亚砒	N.D.	0.02	19	磷胺	N.D.	0.05
5	地虫硫磷	N.D.	0.02	20	涕灭威	N.D.	0.05
6	治螟磷	N.D.	0.02	21	涕灭威砒	N.D.	0.05
7	克百威	N.D.	0.05	22	涕灭威亚砒	N.D.	0.05
8	3-羟基克百威	N.D.	0.05	23	久效磷	N.D.	0.03
9	胺苯磺隆	N.D.	0.05	24	内吸磷	N.D.	0.02
10	甲磺隆	N.D.	0.05	25	灭线磷	N.D.	0.02
11	氯磺隆	N.D.	0.05	26	特丁硫磷砒	N.D.	0.02
12	硫线磷	N.D.	0.02	27	特丁硫磷亚砒	N.D.	0.02
13	氯唑磷	N.D.	0.01	28	水胺硫磷	N.D.	0.05
14	甲拌磷	N.D.	0.02	29	杀虫脒	N.D.	0.02
15	甲拌磷亚砒	N.D.	0.02	30	甲基异柳磷	N.D.	0.02

N.D. = Detected

■ 结论

本文参考 2020 版《中国药典》通则《2341 药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法》第五法，利用三重四极杆液质联用仪建立了 30 种禁用农药及残留物方法。该方法在 5.0~100.0 ng/mL（以甲胺磷计）浓度范围内建立标准曲线，线性关系良好，相关系数 r 均大于 0.996。精密度实验中，30 种禁用农药及残留物的保留时间和峰面积 RSD% 在 0.60% 和 7.10% 以内，仪器精密度良好。在 0.05 mg/kg（以甲胺磷计）加标浓度下，30 种禁用农药及残留物回收率分布在 82.2~120.5% 之间。该方法完全满足 2020 年版《中国药典》对禁用农药限量值的要求。

使用岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用测定中药材中 30 种禁用农药及残留物，结果显示仪器灵敏度高，重复性和回收率良好等优势。该系统适用于中药材及饮片的禁用农药及残留物分析。

岛津应用云

