

GC-MS/MS 法测定中药材北沙参中 35 个禁用农药残留物含量

GCMSMS-214

摘要： 本文采用岛津三重四极杆气质联用仪 GCMS-TQ8040 NX 结合岛津农残数据库建立了中药材北沙参中 35 个禁用农药残留物的 GC-MS/MS 检测方法，本方法依照 2020 年版《中国药典》通则 2341 第五法《药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法》规定建立。在 2~40 $\mu\text{g/L}$ （以对硫磷计）浓度范围内建立内标曲线，线性关系良好，相关系数 r 均大于 0.996，在 20~50 $\mu\text{g/kg}$ 加标浓度下，35 个农药残留物回收率分布在 60%~130% 之间。该方法适用于《中国药典》2020 年版规定的药材及饮片（植物类）中禁用农药残留量的定量测定。

关键词： 三重四极杆气相色谱质谱联用仪 北沙参 农药残留

《中国药典》是国家保证药品质量可控、确保人民用药安全制定的药品法典，是药品研制、生产、经营、使用和管理都必须严格遵守的法定依据。自 1953 年第一部《中国药典》发行以来，《中国药典》不断推陈出新，收载品种的安全性、有效性及质量控制水平不断提高。2020 年版《中国药典》已于 2020 年 12 月 30 日正式实施，其中《0212 药材和饮片检定通则》涉及中药材及饮片禁用农药残留量，规定了 33 种禁用农药不得检出（低于定量限）。《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》，该法针对 0212 药材和饮片检定通则》中禁用农药残留物种类，给出具体的测定方法，其中 GCMSMS 检测 35

个禁用农药残留物（包括母体和代谢物）。

《2341 农药残留量测定法》第五法中给出多种前处理方法，针对不同中药基质，可选用不同方法。北沙参是伞形科植物珊瑚菜的干燥根，有养阴清肺，益胃生津之功效。本文采用《2341 农药残留量测定法》中第五法的 4.3 固相萃取法的方式三作为前处理方法，采用岛津 GCMS-TQ8040 NX 三重四极杆气相色谱质谱联用仪，建立了北沙参中 35 个禁用农药残留物测定的 MRM 方法。该方法灵敏度高，重复性好，完全满足 2020 年版《中国药典》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

GCMS-TQ8040 NX 三重四极杆气相色谱质谱联用仪

1.2 分析条件

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

进样口温度：250 $^{\circ}\text{C}$

进样方式：不分流进样

进样时间：1 min

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)

载气控制方式：恒压力，146 KPa

进样量：1 μL

离子化方式：EI

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，离子对信息见表 1

表 1 农药残留物及内标磷酸三苯酯的保留时间及 MRM 条件设置

| No. | 化合物名称 | 英文名称 | 保留时间 (min) | CAS 号 | 特征离子对 | 碰撞电压 (CE) |
|-----|---------------|----------------------------|------------|-------------|-------------|-----------|
| 1、8 | 内吸磷 (O&S) | demeton(O&S) | 11.859 | 8065-48-3 | 88.0>60.0 | 4 |
| | | | 16.320 | | 88.0>59.0 | 20 |
| 2 | 灭线磷 | Ethoprophos | 12.827 | 13194-48-4 | 199.7>157.8 | 5 |
| | | | | | 157.8>96.7 | 20 |
| 3 | 杀虫脒 | chlordimeform free base | 13.513 | 6164-98-3 | 152.0>117.0 | 15 |
| | | | | | 196.0>181.0 | 5 |
| 4 | 治螟磷 | Sulfotep | 14.275 | 3689-24-5 | 322.0>174.0 | 15 |
| | | | | | 322.0>294.0 | 10 |
| 5 | 甲拌磷 | Phorate | 14.478 | 298-02-2 | 260.0>75.0 | 5 |
| | | | | | 230.8>175.0 | 10 |
| 6 | α -六六六 | alpha-BHC | 15.131 | 319-84-6 | 181.0>145.0 | 15 |
| | | | | | 218.7>182.9 | 5 |
| 7 | 特丁硫磷 | Terbufos | 16.142 | 13071-79-9 | 230.8>129.0 | 25 |
| | | | | | 230.8>175.0 | 13 |
| 9 | γ -六六六 | gamma-BHC (Lindane) | 17.840 | 58-89-9 | 181.0>145.0 | 15 |
| | | | | | 218.7>182.9 | 5 |
| 10 | 久效磷 | Monocrotophos | 18.305 | 6923-22-4 | 127.0>109.0 | 12 |
| | | | | | 127.0>95.0 | 16 |
| 11 | 氟甲腈 | fipronil-de- sulfinyl | 19.603 | 205650-65-3 | 388.0>333.0 | 20 |
| | | | | | 388.0>281.0 | 35 |
| 12 | β -六六六 | beta-BHC | 19.820 | 319-85-7 | 181.0>145.0 | 15 |
| | | | | | 218.7>182.9 | 5 |
| 13 | δ -六六六 | delta-BHC | 21.916 | 319-86-8 | 181.0>145.0 | 15 |
| | | | | | 218.7>182.9 | 5 |
| 14 | 艾氏剂 | Aldrin | 22.058 | 309-00-2 | 262.7>192.7 | 30 |
| | | | | | 255.0>220.0 | 20 |
| 15 | 甲基对硫磷 | Parathion-meth- yl | 23.802 | 298-00-0 | 263.1>109.0 | 13 |
| | | | | | 263.1>136.0 | 5 |
| 16 | o,p'-三氯杀螨醇 | o,p'-Dicofol | 24.876 | 10606-46-9 | 250.0>139.0 | 15 |
| | | | | | 250.0>215.0 | 5 |
| 17 | 氟虫腈亚砷 | fipronil-sulfide | 25.798 | 120067-83-6 | 420.0>351.0 | 12 |
| | | | | | 420.0>255.0 | 20 |
| 18 | 氟虫腈 | Fipronil | 25.983 | 120068-37-3 | 367.0>213.0 | 35 |
| | | | | | 351.0>255.0 | 20 |
| 19 | 对硫磷 | Parathion | 26.241 | 56-38-2 | 291.0>109.0 | 25 |
| | | | | | 291.0>81.0 | 30 |

| | | | | | | |
|----|---------------|---------------------|--------|-------------|-------------|----|
| 20 | p,p'- 三氯杀螨醇 | p,p'-Dicofol | 26.905 | 155-32-2 | 250.0>139.0 | 15 |
| | | | | | 250.0>215.0 | 5 |
| 21 | 甲基异柳磷 | Isofen-phos-methyl | 27.864 | 99675-03-3 | 241.0>120.8 | 20 |
| | | | | | 241.0>199.0 | 5 |
| 22 | 水胺硫磷 | Isocarbophos | 29.128 | 24353-61-5 | 135.7>108.0 | 15 |
| | | | | | 120.7>65.0 | 20 |
| 23 | α - 硫丹 | alpha-Endosulfan | 30.101 | 959-98-8 | 240.8>205.6 | 15 |
| | | | | | 240.8>170.0 | 25 |
| 24 | 氟虫腈砜 | fipronil-sulfone | 31.896 | 120068-36-2 | 383.0>255.0 | 20 |
| | | | | | 383.0>213.0 | 32 |
| 25 | 狄氏剂 | Dieldrin | 32.866 | 60-57-1 | 263.0>193.0 | 35 |
| | | | | | 276.8>240.7 | 10 |
| 26 | 4,4'- 滴滴伊 | p,p'-DDE | 32.866 | 72-55-9 | 246.0>176.0 | 30 |
| | | | | | 316.0>246.0 | 25 |
| 27 | 苯线磷 | Fenamiphos | 34.581 | 22224-92-6 | 303.1>122.0 | 20 |
| | | | | | 303.1>154.0 | 30 |
| 28 | 甲基硫环磷 | phosfolan-methyl | 35.438 | 5120-23-0 | 168.0>109.0 | 15 |
| | | | | | 227.0>92.0 | 10 |
| 29 | 2,4'- 滴滴涕 | o,p'-DDT | 37.356 | 789-02-6 | 235.0>165.0 | 25 |
| | | | | | 235.0>199.0 | 15 |
| 30 | 除草醚 | Nitrofen | 37.319 | 1836-75-5 | 201.8>138.7 | 28 |
| | | | | | 282.8>253.0 | 10 |
| 31 | 4,4'- 滴滴涕 | p,p'-DDD | 38.349 | 72-54-8 | 235.0>165.0 | 25 |
| | | | | | 237.0>165.0 | 25 |
| 32 | β - 硫丹 | beta-Endosulfan | 38.349 | 33213-65-9 | 206.8>171.8 | 15 |
| | | | | | 194.8>124.7 | 30 |
| 33 | 4,4'- 滴滴涕 | p,p'-DDT | 40.778 | 50-29-3 | 235.0>165.0 | 25 |
| | | | | | 235.0>199.0 | 15 |
| 34 | 硫丹硫酸酯 | Endosulfan sulfate | 42.674 | 1031-07-8 | 271.8>236.7 | 15 |
| | | | | | 273.8>238.9 | 15 |
| IS | 磷酸三苯酯 (内标) | Triphenyl phosphate | 44.654 | 115-86-6 | 326.0>233.0 | 10 |
| | | | | | 326.0>215.0 | 25 |
| 35 | 蝇毒磷 | Coumaphos | 48.345 | 56-72-4 | 361.8>109.0 | 16 |
| | | | | | 361.8>81.0 | 32 |

■ 样品前处理

样品处理流程见下图 1。

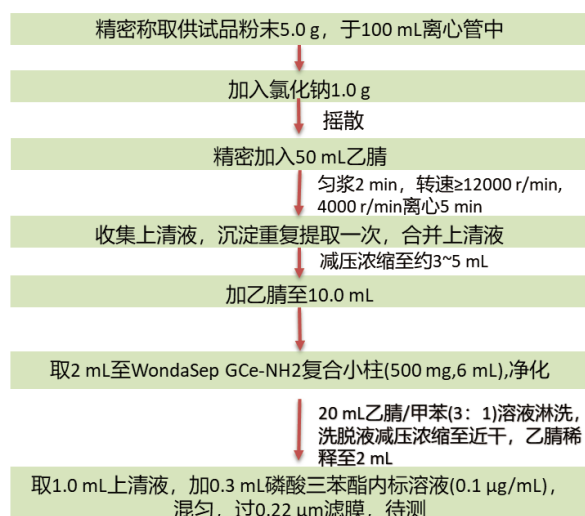


图1 样品前处理流程

■ 结果与讨论

3.1 标样总离子流和质量色谱图

35个禁农药残留物混标溶液MRM总离子流图见图2, 各物质出峰时间详见表1。

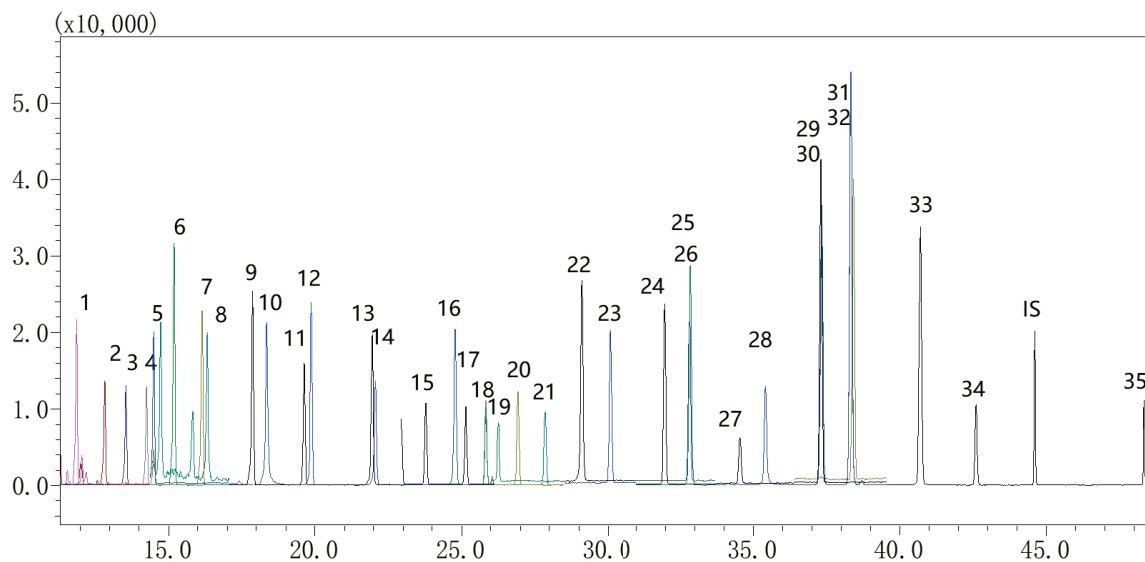


图2 35个农药残留物和磷酸三苯酯(TPP)混标溶液MRM总离子流图(10~25 μg/L)

使用北沙参空白基质配置浓度为2~5 μg/L(以对硫磷计)的35个禁用农药残留物的标准溶液(相当于北沙参中禁用农药含量为0.002~0.005 mg/kg), 其中部分农药组分的MRM质量色谱图如图3所示。

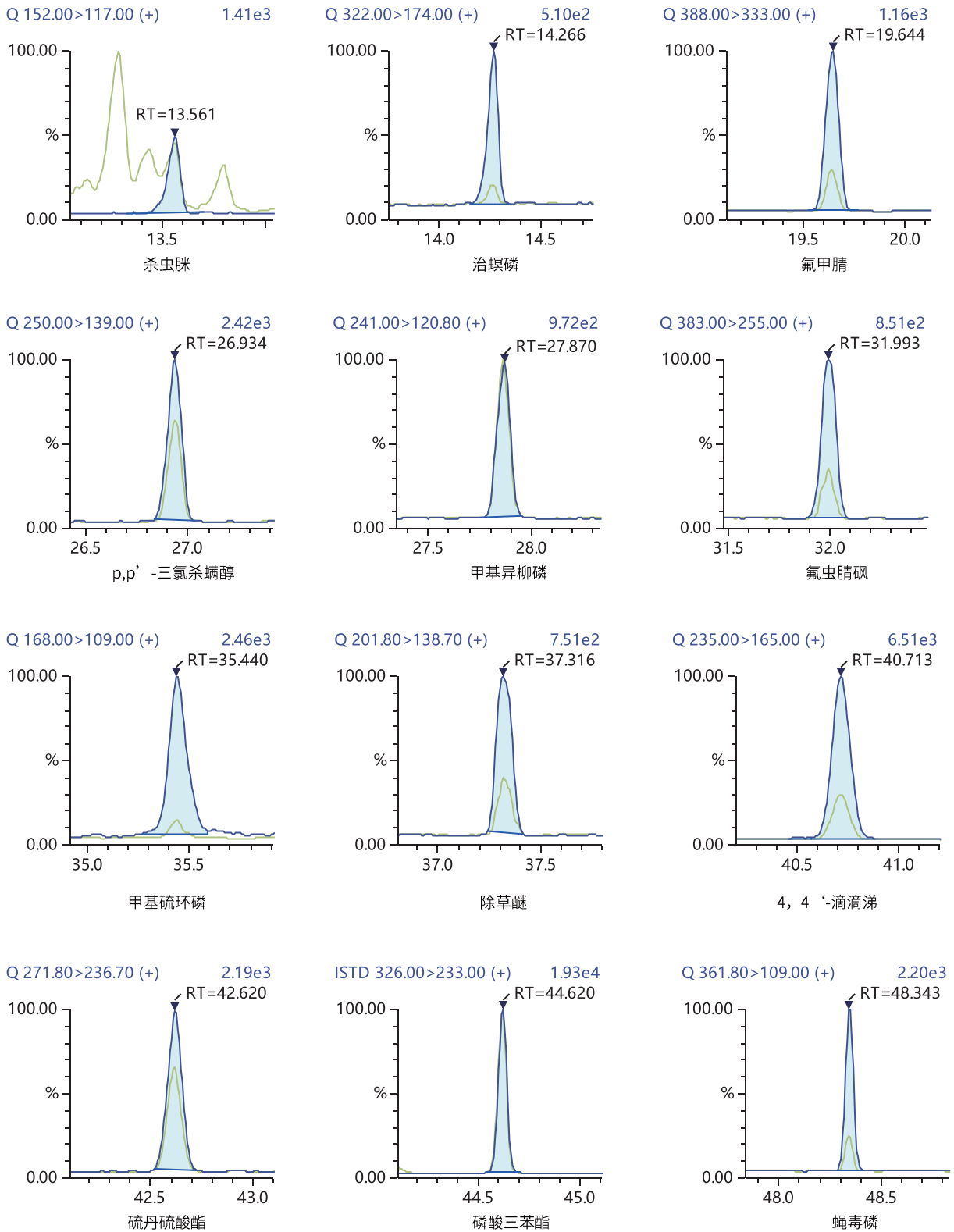


图3 北沙参空白基质加标农药组分质量色谱图 (农药组分浓度 2~5 μg/L)

注：由于篇幅所限，只列出了部分农药及代谢物的质量色谱图

3.3 标准曲线

使用北沙参空白基质配制农药混合标准溶液，浓度分别为 2/5~40/100 $\mu\text{g/L}$ （混合标准品中各农药组分浓度不同），每 1 mL 标准溶液加入 0.3 mL 浓度为 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 磷酸三苯酯作为内标（参照《中国药典》通则 2341 第五法），取 1 μL 进样。以目标农药与内标浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标，制作内标曲线。因篇幅所限，部分农药组分内标曲线如图 4 所示，各组分内标曲线线性相关系数见表 2。

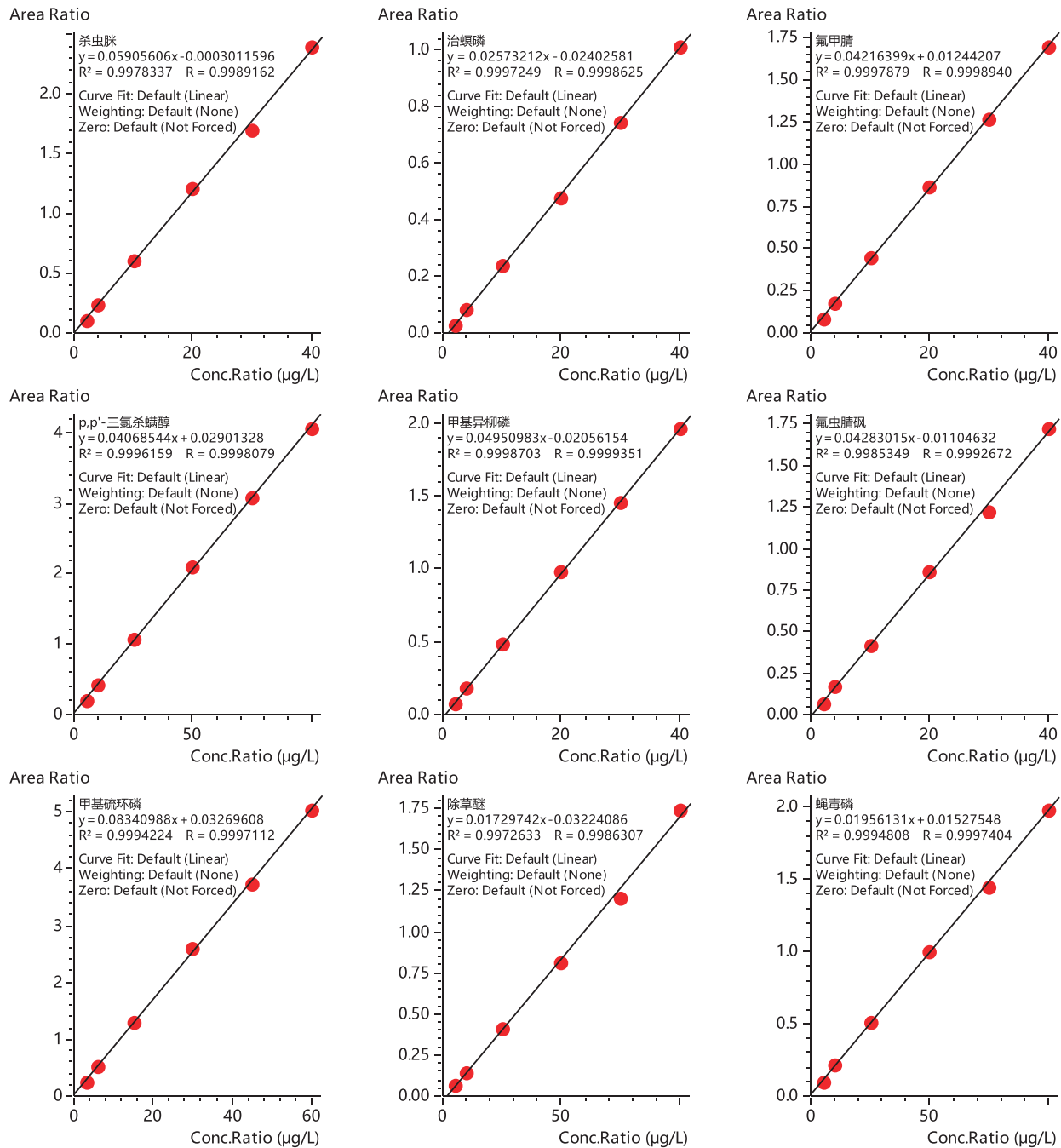


图 4 部分禁用农药标准曲线 ((2-5) ~ (40-100) $\mu\text{g/L}$)

3.4 检出限及重复性

根据 2~5 $\mu\text{g/L}$ 标准混合溶液数据, 计算方法检出限 (3 倍噪声计算, 噪声计算方式为峰至峰), 35 个农药残留物的标准混合溶液 (2~5 $\mu\text{g/L}$) 重复测定 6 次, 考察仪器重复性。各组分检出限及重复性见表 2。

表 2 33 个农药残留物线性相关系数、检出限及重复性数据

| No. | 化合物名称 | 相关系数 (R) | LOD ($\mu\text{g/kg}$) | RSD %(n=6) |
|-----|--------------------|----------|--------------------------|------------|
| 1、8 | 内吸磷 (O&S) | 0.9993 | 0.111 | 4.80 |
| 2 | 灭线磷 | 0.9997 | 0.091 | 4.30 |
| 3 | 杀虫脒 | 0.9989 | 0.019 | 2.39 |
| 4 | 治螟磷 | 0.9998 | 0.026 | 6.24 |
| 5 | 甲拌磷 | 0.9966 | 0.030 | 8.21 |
| 6 | α -六六六 | 0.9995 | 0.010 | 5.51 |
| 7 | 特丁硫磷 | 0.9993 | 0.006 | 8.55 |
| 9 | γ -六六六 | 0.9992 | 0.014 | 3.50 |
| 10 | 久效磷 | 0.9994 | 0.068 | 8.26 |
| 11 | 氟甲腈 | 0.9999 | 0.023 | 5.82 |
| 12 | β -六六六 | 0.9996 | 0.007 | 2.17 |
| 13 | δ -六六六 | 0.9993 | 0.008 | 4.09 |
| 14 | 艾氏剂 | 0.9996 | 0.041 | 6.03 |
| 15 | 甲基对硫磷 | 0.9986 | 0.065 | 7.10 |
| 16 | <i>o,p'</i> -三氯杀螨醇 | 0.9993 | 0.015 | 2.66 |
| 17 | 氟虫腈亚砷 | 0.9999 | 0.026 | 4.78 |
| 18 | 氟虫腈 | 0.9999 | 0.030 | 6.38 |
| 19 | 对硫磷 | 0.9983 | 0.735 | 7.55 |
| 20 | <i>p,p'</i> -三氯杀螨醇 | 0.9998 | 0.013 | 3.69 |
| 21 | 甲基异柳磷 | 0.9999 | 0.028 | 4.96 |
| 22 | 水胺硫磷 | 0.9994 | 0.232 | 2.66 |
| 23 | α -硫丹 | 0.9997 | 0.122 | 3.71 |
| 24 | 氟虫腈砷 | 0.9991 | 0.028 | 4.70 |
| 25 | 狄氏剂 | 0.9988 | 0.127 | 5.99 |
| 26 | 4,4'-滴滴伊 | 0.9994 | 0.010 | 1.86 |
| 27 | 苯线磷 | 0.9996 | 0.112 | 8.91 |
| 28 | 甲基硫环磷 | 0.9997 | 0.067 | 3.56 |
| 29 | 除草醚 | 0.9986 | 0.070 | 8.02 |
| 30 | 2,4'-滴滴涕 | 0.9991 | 0.008 | 3.49 |
| 31 | 4,4'-滴滴涕 | 0.9997 | 0.006 | 1.16 |
| 32 | β -硫丹 | 0.9995 | 0.159 | 6.34 |
| 33 | 4,4'-滴滴涕 | 0.9993 | 0.017 | 3.76 |
| 34 | 硫丹硫酸酯 | 0.9998 | 0.027 | 4.50 |
| 35 | 蝇毒磷 | 0.9997 | 0.027 | 1.83 |

3.5 加标回收率

在北沙参空白样品中加入禁用农药混标，添加浓度为 20~50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ （《0212 药材和饮片检定通则》规定的定量限），按照样品前处理流程分别处理 3 份，北沙参中农药的加标平均回收率结果见表 3。

表 3 加标回收率结果

| No. | 化合物名称 | 加标浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 平均回收率 (%) | No. | 化合物名称 | 加标浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 平均回收率 (%) |
|-----|----------------|-------------------------------------|--------------|-----|---------------|-------------------------------------|--------------|
| 1、8 | 内吸磷 (O&S) | 20 | 88.36 | 19 | 对硫磷 | 20 | 115.01 |
| 2 | 灭线磷 | 20 | 116.06 | 20 | p,p'- 三氯杀螨醇 | 50 | 116.22 |
| 3 | 杀虫脒 | 20 | 110.90 | 21 | 甲基异柳磷 | 20 | 117.87 |
| 4 | 治螟磷 | 20 | 99.83 | 22 | 水胺硫磷 | 50 | 108.11 |
| 5 | 甲拌磷 | 20 | 113.84 | 23 | α - 硫丹 | 50 | 112.73 |
| 6 | α - 六六六 | 50 | 117.14 | 24 | 氟虫腈砒 | 20 | 117.45 |
| 7 | 特丁硫磷 | 20 | 118.80 | 25 | 狄氏剂 | 50 | 113.83 |
| 9 | γ - 六六六 | 50 | 115.25 | 26 | 4,4'- 滴滴伊 | 50 | 117.78 |
| 10 | 久效磷 | 30 | 114.61 | 27 | 苯线磷 | 20 | 118.01 |
| 11 | 氟甲腈 | 20 | 111.46 | 28 | 甲基硫环磷 | 30 | 112.04 |
| 12 | β - 六六六 | 50 | 118.02 | 29 | 除草醚 | 50 | 119.26 |
| 13 | δ - 六六六 | 50 | 104.55 | 30 | 2,4'- 滴滴涕 | 50 | 113.86 |
| 14 | 艾氏剂 | 50 | 110.86 | 31 | 4,4'- 滴滴涕 | 50 | 119.24 |
| 15 | 甲基对硫磷 | 20 | 118.91 | 32 | β - 硫丹 | 50 | 111.46 |
| 16 | o,p'- 三氯杀螨醇 | 50 | 116.88 | 33 | 4,4'- 滴滴涕 | 50 | 110.18 |
| 17 | 氟虫腈亚砒 | 20 | 114.93 | 34 | 硫丹硫酸酯 | 50 | 96.95 |
| 18 | 氟虫腈 | 20 | 106.64 | 35 | 蝇毒磷 | 50 | 113.17 |

■ 结论

采用岛津 GCMS-TQ8040 NX 三重四极杆气质联用仪测定 2020 版《中国药典》四部通则 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》中规定的农药组分，采用 4.3 固相萃取法方式三作为前处理方法，净化效果明显。校准曲线在 2~40 $\mu\text{g}/\text{L}$ （以对硫磷计）浓度范围内，农药残留物线性良好，线性相关系数均大于 0.996；浓度为 1~2.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的 33 个农药残留物的混合标准溶液（基质标液）重复进样 6 次，各组分峰面积 RSD 均小于 8.26%，该方法重复性良好；对样品进行加标回收实验，在 20~50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标浓度下（《0212 药材和饮片检定通则》规定的定量限），农药残留物回收率分布在 60%~130% 之间。该方法完全满足 2020 年版《中国药典》通则 0212 对药材及饮片（植物类）中禁用农药限量值的要求。

岛津应用云

