

# GC-MS/MS 法测定药材中 33 个农药残留物作业指导书 (SOP)

标准号: 《2341 农药残留量测定法》

## ■ 参考标准

2020 年版《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

## ■ 方法概述

### 2.1 方法编制说明

2020 年版《中国药典》通则 0212 中规定了药材和饮片中 33 种禁用农药的定量限, 并明确要求 33 种禁用农药不得检出 (不得过定量限)。33 种禁用农药包括 53 个农药残留物。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》明确了 33 种禁用农药 (53 个农药残留物) 的分析方法, 其中 33 个农药残留物使用 GC-MS/MS 法进行检测, 30 个农药残留物使用 LC-MS/MS 法进行检测。

### 2.2 方法使用范围

本方法适用于采用气相色谱 - 串联质谱法 (GC-MS/MS) 测定中药材和饮片 (植物类) 中 33 个农药残留物, 包括有灭线磷、杀虫脒、治螟磷、甲拌磷、 $\alpha$ -六六六、特丁硫磷、内吸磷 (O 型异构体和 S 型异构体)、 $\gamma$ -六六六、久效磷、氟甲腈、 $\beta$ -六六六、 $\delta$ -六六六、艾氏剂、甲基对硫磷、氟虫腈亚砷、氟虫腈、对硫磷、三氯杀螨醇 (o,p 构型和 p,p 构型)、甲基异柳磷、水胺硫磷、 $\alpha$ -硫丹、氟虫腈砷、狄氏剂、4,4'-DDE、苯线磷、甲基硫环磷、2,4'-DDT、除草醚、4,4'-DDD、 $\beta$ -硫丹、4,4'-DDT、硫丹硫酸酯、蝇毒磷等。

### 2.3 方法技术指标

本方法的定量限: 不超过 0.0005mg/kg。

本方法标准溶液线性范围:

0.002~0.04mg/L (通则 0212 规定定量限为 0.02mg/kg 的农药)

0.003~0.06mg/L (通则 0212 规定定量限为 0.03mg/kg 的农药)

0.005~0.1mg/L (通则 0212 规定定量限为 0.05mg/kg、0.1mg/kg 和 0.2mg/kg 的农药)

## ■ 方法原理

在粉碎后的药材及饮片中加入冰乙酸水溶液, 在酸性环境下乙腈提取, 净化后浓缩, 乙腈定容, 使用 GC-MS/MS 检测, 定量方法为内标法。

## ■ 仪器设备及辅助设备

### 4.1 仪器设备

岛津 GCMS-TQ8040 NX 三重四极杆气相色谱质谱联用仪, EI 离子源

### 4.2 辅助设备

分析天平: Shimadzu AP135W;

高速中药粉碎机;

离心机: BECKMAN COULTER AllegraTM 64R;

涡旋仪: Talboys;

氮吹仪：EYELA NE-1001；

移液枪：10mL，1mL，200μL，20μL

## ■ 标准品、试剂、耗材

33 个农药残留物标准品：购自岛津（上海）实验器材有限公司。浓度等信息见表 2；

乙腈：色谱级；

冰乙酸：色谱级；

离心管：50mL；

离心管：10mL 或 15mL

提取盐试剂包：6g 无水硫酸镁，1.5g 无水乙酸钠，购自岛津（上海）实验器材有限公司；

净化管 I：无水硫酸镁 900mg，N- 丙基乙二胺 300mg，十八烷基硅键合硅胶 300mg，石墨化碳黑 90mg，购自岛津（上海）实验器材有限公司；

无针注射器：5mL

微孔过滤膜：WondaDisc 疏水聚四氟乙烯针头滤器 0.22μm；

## ■ 操作步骤

### 6.1 标准工作曲线制作

#### 6.1.1 混合标准中间溶液配制（浓度见表 4）

根据通则 0212 各农药限量值，精密量取 33 个农药残留物对照品溶液（表 2 已标示各相关农药品种的浓度）适量，置 20mL 容量瓶中，用乙腈稀释至刻度摇匀即得。于 -20℃冰箱中保存，使用时取出，放至室温。混合标准中间溶液有效期为 6 个月。

#### 6.1.2 内标溶液配制（0.1 mg/L）

取 10 μg/mL 的磷酸三苯酯乙腈溶液 0.1 mL，加水稀释至 10 mL，摇匀，即得（每 1mL 含内标磷酸三苯酯约 0.1μg），于 -20℃冰箱中保存，使用时取出，放至室温。内标溶液有效期为 6 个月。

#### 6.1.3 空白基质溶液的制备

取空白基质样品，同供试品溶液的制备方法处理制成空白基质溶液。

#### 6.1.4 标准工作溶液配制

分别精密量取空白基质溶液 1.0mL（6 份），置氮吹仪上，40℃水浴浓缩至约 0.6mL，分别加入混合对照品溶液 10、20、50、100、150 和 200μL，加乙腈定容至 1 mL，涡旋混匀，即得。基质混合标准溶液应现用现配。

No.	混合标准中间溶液加入量 (μL)	空白基质溶液取用量	最终乙腈定容体积	最终浓度 (ng/mL)	备注
1	10	1mL	1mL	2、3、5	由于母液中不同农药的浓度存在差异，所以各个浓度标准工作溶液中农药的浓度或有不同。 例如，对硫磷限量值为 0.02mg/kg，标准工作溶液中，对硫磷浓度梯度为 2、4、10、20、30、40 ng/mL。
2	20	1mL	1mL	4、6、10	
3	50	1mL	1mL	10、15、25	
4	100	1mL	1mL	20、30、50	
5	150	1mL	1mL	30、45、75	
6	200	1mL	1mL	40、60、100	

## 6.2 仪器条件

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

进样口温度：250℃

柱温程序：60℃ (1min)\_ 30℃ /min\_120℃ \_10℃ /min\_160℃ \_2℃ /min\_230℃ \_15℃ /min\_300℃ (6min)

载气：氦气

载气控制方式：恒压，146KPa

不分流进样：1min；

接口温度：250℃；离子源温度：250℃

采集方式：MRM，定量离子对及参考离子对见表 2

定量方法：内标法

进样量：1μL

## 6.3 样品前处理

- 1) 冰醋酸溶液配制：称取 1g 冰醋酸（色谱纯），置于 100mL 容量瓶中，使用去离子水定容至刻度。
- 2) 称样：取供试品，粉碎成粉末（过三号筛），取约 3g，精密称定，置 50mL 聚苯乙烯聚塞离心管。
- 4) 向离心管中精密加入乙腈 15mL，涡旋使混匀，置振荡器上剧烈振荡（500 次 /min）5 分钟。
- 5) 再加入无水硫酸镁与无水乙酸钠的混合粉末（4:1）7.5g，立即摇散，再置振荡器上剧烈振荡（500 次 /min）3 分钟，于冰浴中冷却 10 分钟。
- 6) 使用离心机，离心（4000 转 /min）5 分钟。
- 7) 取上清液 9mL，置预先装有净化材料的分散固相萃取净化管 [无水硫酸镁 900mg，N- 丙基乙二胺（PSA）300mg，十八烷基硅烷键合硅胶 300mg，硅胶 300mg，石墨化碳黑 90mg] 中，涡旋使充分混匀，置振荡器上剧烈振荡（500 次 /min）5 分钟使净化完全。
- 8) 使用离心机，离心（4000 转 /min）5 分钟。
- 9) 精密吸取上清液 5mL，置于 15mL 离心管中置氮吹仪上，于 40℃水浴浓缩至约 0.4mL。
- 10) 加乙腈定容至 1mL，涡旋混匀，用微孔有机滤膜（0.22μm）滤过，取滤液待测。

## 6.4 加标试样

称取 3g 中药材粉末试样于 50mL 离心管中，加入 200-500 μg/L 农药残留物混标 150 μL，加标量分别为 5-25ng（加标浓度为 5-25 μg/kg），涡旋混合均匀，以下同样品前处理方法。

## 6.5 测定

按照 5.2 的仪器分析条件进行分析，进样量为 1.0μL，若检测溶液中的残留量超过本方法的标准曲线范围，则需要稀释检测溶液后进样分析。

## 6.6 计算和报告

### 6.6.1 定性分析

进行样品测定时，如果检出的色谱峰的保留时间与标准样品一致，并且在扣除背景后的样品质谱图中，所选择的离子对均出现，且离子丰度比与标准样品的离子丰度比满足下方表格中允许偏差要求的，则可判断样品中存在该农药。

离子对相对比例（和基峰比 %）	相对离子强度最大允许偏差
> 50%	±20%
> 20% ~ 50%	±25%
> 10% ~ 20%	±30%
≤ 10%	±50%

### 6.6.2 定量分析

本方法采用内标法单离子对定量测定。内标物为磷酸三苯酯。为减少基质的影响，定量用标准溶液应采用基质混合标准工作溶液。标准溶液的浓度应与待测化合物的浓度相近。

气相色谱—质谱测定结果可由计算机按照内标法自动计算，也可按照下式计算：

$$X = C_s \times \frac{A}{A_s} \times \frac{C_i}{C_{si}} \times \frac{A_{si}}{A_i} \times \frac{V}{m}$$

X — 试样中被测物残留量，单位为 mg/kg；

C<sub>S</sub> — 基质标准工作溶液中被测物的浓度，单位为 μg/mL；

A — 试样溶液中被测物的色谱峰面积；

A<sub>s</sub> — 基质标准工作溶液中被测物的色谱峰面积；

C<sub>i</sub> — 试样溶液中内标物的浓度，μg/mL；

C<sub>si</sub> — 基质标准工作溶液中内标物的浓度，μg/mL；

A<sub>si</sub> — 基质标准工作溶液中内标物的色谱峰面积；

A<sub>i</sub> — 试样溶液中内标物的色谱峰面积；

V — 试样最终定容体积，mL；

m — 试样溶液所代表试样的质量，g。

## ■ 质量控制

表 1 质量控制要求对照表

项目	浓度	判定准则	频率
标准曲线	0.002~0.04mg/L	R ≥ 0.99	每批次
	0.003~0.06mg/L		
	0.005~0.1mg/L		
空白基质加标	0.02-0.05 mg/kg	回收率 60%-130%	每批次

表 2 各农药标准的信息

No.	化合物名称	英文名称	CAS 号	标液浓度 (μg/mL)
1	灭线磷	Ethoprophos	13194-48-4	20
2	杀虫脒	chlordimeform free base	6164-98-3	20
3	治螟磷	Sulfotep	3689-24-5	20
4	甲拌磷	Phorate	298-02-2	20
5	α-六六六	alpha-BHC	319-84-6	50
6	特丁硫磷	Terbufos	13071-79-9	20
7	内吸磷 (O&S)	Demeton (O&S)	8065-48-3	20
8	γ-六六六	gamma-BHC	58-89-9	50
9	久效磷	Monocrotophos	6923-22-4	30
10	氟甲腈	fipronil-desulfinyl	205650-65-3	20
11	β-六六六	beta-BHC	319-85-7	50
12	δ-六六六	delta-BHC	319-86-8	50
13	艾氏剂	Aldrin	309-00-2	50

14	甲基对硫磷	Parathion-methyl	298-00-0	20
15	氟虫腈亚砷	fipronil-sulfide	120067-83-6	20
16	氟虫腈	Fipronil	120068-37-3	20
17	对硫磷	Parathion	56-38-2	20
18	三氯杀螨醇	Dicofol deg.	0-00-0	50
19	甲基异柳磷	Isofenphos-methyl	99675-03-3	20
20	水胺硫磷	Isocarbophos	24353-61-5	50
21	$\alpha$ -硫丹	alpha-Endosulfan	959-98-8	50
22	氟虫腈砷	fipronil-sulfone	120068-36-2	20
23	狄氏剂	Dieldrin	60-57-1	50
24	4,4'-DDE	p,p'-DDE	72-55-9	50
25	苯线磷	Fenamiphos	22224-92-6	20
26	甲基硫环磷	phosfolan-methyl	5120-23-0	30
27	2,4'-DDT	o,p'-DDT	789-02-6	50
28	除草醚	Nitrofen	1836-75-5	50
29	4,4'-DDD	p,p'-DDD	72-54-8	50
30	$\beta$ -硫丹	beta-Endosulfan	33213-65-9	50
31	4,4'-DDT	p,p'-DDT	50-29-3	50
32	硫丹硫酸酯	Endosulfan sulfate	1031-07-8	50
33	磷酸三苯酯 (内标)	Triphenyl phosphate	115-86-6	100
34	蝇毒磷	Coumaphos	56-72-4	50

表 3 33 个农药残留物及内标的定量离子对和参考离子对

No.	化合物名称	英文名称	保留时间 (min)	特征离子对	碰撞电压 (CE)
1	灭线磷	Ethoprophos	16.891	157.8>96.7	20
				199.7>157.8	5
2	杀虫脒	Chlordimeform free base	17.675	152.0>117.0	15
				196.0>181.0	5
3	治螟磷	Sulfotep	18.377	322.0>174.0	15
				322.0>294.0	10
4	甲拌磷	Phorate	18.610	260.0>75.0	5
				230.8>175.0	10
5	$\alpha$ -六六六	alpha-BHC	19.298	181.0>145.0	15
				218.7>182.9	5
6	特丁硫磷	Terbufos	20.302	230.8>129.0	25
				230.8>175.0	13
7	内吸磷 (O&S)	Demeton (O&S)	20.498	88.0>60.0	4
				88.0>59.0	20

8	γ-六六六	gamma-BHC (Lindane)	22.058	181.0>145.0	15
				218.7>182.9	5
9	久效磷	Monocrotophos	22.585	127.0>109.0	12
				127.0>95.0	16
10	氟甲腈	fipronil-desulfinyl	23.858	388.0>333.0	20
				388.0>281.0	35
11	β-六六六	beta-BHC	24.124	181.0>145.0	15
				218.7>182.9	5
12	δ-六六六	delta-BHC	26.240	181.0>145.0	15
				218.7>182.9	5
13	艾氏剂	Aldrin	26.319	262.7>192.7	30
				255.0>220.0	20
14	甲基对硫磷	Parathion-methyl	28.112	263.1>109.0	13
				263.1>136.0	5
15	氟虫腈亚砷	fipronil-sulfide	30.134	420.0>351.0	12
				420.0>255	20
16	氟虫腈	Fipronil	30.355	351.0>255.0	20
				367.0>213.0	35
17	对硫磷	Parathion	30.586	291.0>109.0	25
				291.0>81.0	30
18	三氯杀螨醇	Dicofol deg.	31.257	250.0>139.0	15
				250.0>215.0	5
19	甲基异柳磷	Isofenphos-methyl	32.189	241.0>120.8	20
				241.0>199.0	5
20	水胺硫磷	Isocarbophos	33.476	135.7>108.0	15
				120.7>65.0	20
21	α-硫丹	alpha-Endosulfan	34.463	240.8>205.6	15
				240.8>170.0	25
22	氟虫腈砷	fipronil-sulfone	36.373	383.0>255.0	20
				383.0>213.0	32
23	狄氏剂	Dieldrin	37.233	263.0>193.0	35
				276.8>240.7	10
24	4,4'-DDE	p,p'-DDE	37.243	246.0>176.0	30
				316.0>246.0	25
25	苯线磷	Fenamiphos	38.964	303.1>122.0	20
				303.1>154.0	30
26	甲基硫环磷	phosfolan-methyl	39.899	168.0>109.0	15
				227.0>92.0	10

27	2,4'-DDT	o,p'-DDT	41.760	235.0>165.0	25
				235.0>199.0	15
28	除草醚	Nitrofen	41.768	201.8>138.7	28
				282.8>253.0	10
29	4,4'-DDD	p,p'-DDD	42.767	235.0>165.0	25
				237.0>165.0	25
30	β- 硫丹	beta-Endosulfan	42.897	206.8>171.8	15
				194.8>124.7	30
31	4,4'-DDT	p,p'-DDT	45.148	235.0>165.0	25
				235.0>199.0	15
32	硫丹硫酸酯	Endosulfan sulfate	46.991	271.8>236.7	15
				271.8>141.0	40
33	磷酸三苯酯 (内标)	Triphenyl phosphate	48.830	326.0>233.0	10
				326.0>215.0	25
34	蝇毒磷	Coumaphos	52.564	361.8>109.0	16
				361.8>81.0	32

表 4 检测指标汇总、混合对照品溶液浓度及限度

序号	农药名称	化合物单体	混标浓度 (ng/ml)	限度 (mg/kg)
1	甲基对硫磷	甲基对硫磷	200	0.02
2	对硫磷	对硫磷	200	0.02
3	久效磷	久效磷	300	0.03
4	六六六	α- 六六六	500	0.1
		β- 六六六	500	
		γ- 六六六	500	
		δ- 六六六	500	
5	滴滴涕	4,4'- 滴滴涕	500	0.1
		2,4'- 滴滴涕	500	
		4,4'- 滴滴伊	500	
		4,4'- 滴滴滴	500	
6	杀虫脒	杀虫脒	200	0.02
7	除草醚	除草醚	500	0.05
8	艾氏剂	艾氏剂	500	0.05
9	狄氏剂	狄氏剂	500	0.05
10	苯线磷	苯线磷	200	0.02
11	蝇毒磷	蝇毒磷	500	0.05
12	治螟磷	治螟磷	200	0.02
13	特丁硫磷	特丁硫磷	200	0.02

14	甲拌磷	甲拌磷	200	0.02
15	甲基异柳磷	甲基异柳磷	200	0.02
16	内吸磷	内吸磷	200	0.02
17	灭线磷	灭线磷	200	0.02
18	水胺硫磷	水胺硫磷	500	0.05
19	硫丹	$\alpha$ -硫丹	500	0.05
		$\beta$ -硫丹	500	
		硫丹硫酸酯	500	
20	氟虫腈	氟虫腈	200	0.02
		氟甲腈	200	
		氟虫腈砒	200	
		氟虫腈亚砒	200	
21	三氯杀螨醇	三氯杀螨醇	500	0.2
22	甲基硫环磷	甲基硫环磷	300	0.03

岛津应用云

