

GC-MS/MS 法测定中药材中 74 种农药 残留含量

摘要: 本文利用岛津 GCMS-TQ8040 三重四极杆气质联用仪建立了 GC-MS/MS 测定 2015 版《中国药典》通则 2341 中规定的 74 种农药残留的方法。在 1~50 $\mu\text{g/L}$ 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 0.995。该方法适用于 2015 版药典中对中药材中农药残留量的快速定量测定。

关键词: GC-MS/MS 中药材 有机磷类农药 有机氯类农药 拟除虫菊酯类农药

自1953年第一部《中国药典》发行以来, 中国药典已成为国家监管药品质量的法定技术依据。2014年3月, 国家药典委员会发布了关于《中国药典》2015版通则(草案)公开征求意见通知。与2010版药典相比, 2015版药典在收载品种数上有较大增幅, 在整体构架上也有较大调整, 主要表现在将2010版三部的附录凡例、制剂通则、分析方法指导原则等三合一, 独立成卷作为第四部, 制定了统一的技术要求。

关于中药材中农药残留, 通则2431《农药残留量测定法》建立和完善了中药材中农药残留量的测定方法, 包括气相色谱-串联质谱法和液相色谱-串联质谱法。其中气相色谱-串联质谱法涉及74种农药(不含2种氘代内标), 并规定了检出限范围0.005~0.025mg/kg。

本文采用了GC-MS/MS的MRM多反应监测模式, 有效降低背景干扰, 避免了单四极杆GCMS因为基质干扰导致的定性不准问题, 提高了分析灵敏度, 大部分待测组分的检出限低于1 $\mu\text{g/L}$ 。该方法满足新版药典对中药材中农药残留含量测定的要求。

1 实验部分

1.1 仪器

GCMS-TQ8040 三重四极杆气质联用仪

1.2 分析条件

GC-MS/MS参数:	10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _300 $^{\circ}\text{C}$ (3.5min)
色谱柱: InertCap-5ms NP/Sil, 30m \times 0.25mm \times 0.25 μm	接口温度: 280 $^{\circ}\text{C}$ 离子源温度: 200 $^{\circ}\text{C}$
进样口温度: 250 $^{\circ}\text{C}$	碰撞气: 氩气
进样方式: 不分流进样	检测器电压: 调谐电压+0.6kv
进样时间: 1min	农药组分MRM采集条件见表1
载气控制方式: 恒线速度	
载气线速度: 47.2cm/sec	
柱温程序: 50 $^{\circ}\text{C}$ (1min)_25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _125 $^{\circ}\text{C}$ _	

表 1. 农药组分保留时间及 MRM 参数

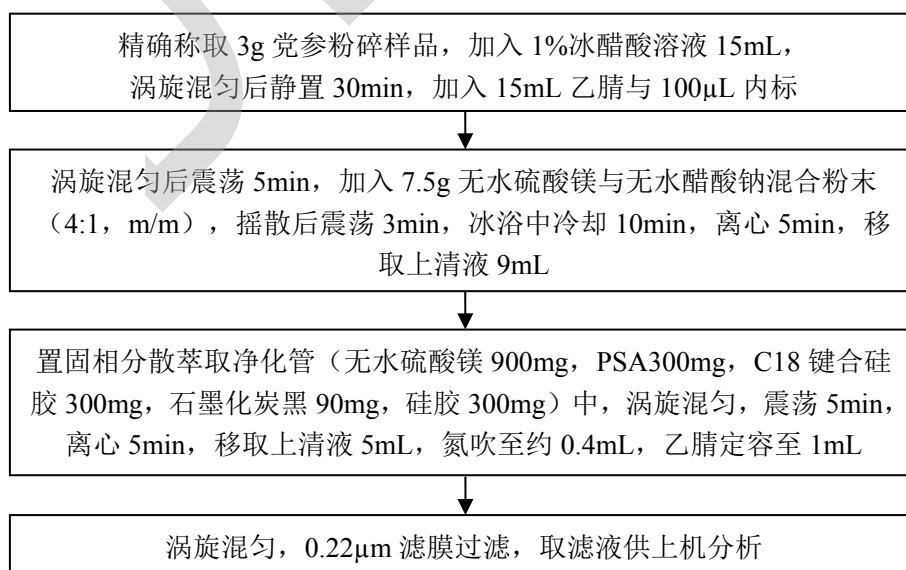
No.	保留时间 (min)	化合物名称	英文名称	CAS No.	定量离子对 (CE)	定性离子对 (CE)
1	5.97	敌敌畏	Dichlorvos	62-73-7	185.0>93.0 (14)	185.0>109.0 (14)
2	9.61	四氯硝基苯	Tecnazene	117-18-0	260.9>202.9 (14)	260.9>230.9 (8)
3	10.01	二苯胺	Diphenylamine	122-39-4	169.1>66.0 (24)	169.1>77.0 (28)
4	10.34	氟乐灵	Trifluralin	1582-09-8	306.1>264.1 (8)	306.1>206.1 (14)
5	10.30	杀虫脒	Chlordimeform	6164-98-3	196>181 (10)	181>140 (15)
6	10.80	alpha-六六六	BHC-alpha	319-84-6	218.9>182.9 (8)	218.9>144.9 (20)
7	10.88	六氯苯	Hexachlorobenzene	118-74-1	283.8>248.8 (24)	283.8>213.8 (28)
8	10.98	五氯甲氧基苯	Pentachloranisole	1825-21-4	265>237 (15)	280>265 (10)
9	11.08	氯硝胺	Dicloran	99-30-9	206.0>176.0 (10)	206.0>160.0 (16)
10	11.25	氘代莠去津 (内标)	Atrazine-d5 (IS)	-	205.0>127.0 (10)	205.0>105.0 (15)
11	11.39	五氯硝基苯	Quintozene	82-68-8	294.8>236.8 (16)	294.8>264.8 (12)
12	11.38	beta-六六六	BHC- beta	319-85-7	218.9>182.9 (8)	218.9>144.9 (20)
13	11.53	特丁硫磷	Terbufos	13071-79-9	231.0>174.9 (14)	231.0>128.9 (26)
14	11.49	gamma-六六六	BHC- gamma	58-89-9	218.9>182.9 (8)	218.9>144.9 (20)
15	11.92	七氟菊酯	Tefluthrin	79538-32-2	177.0>127.1 (16)	177.0>137.1 (16)
16	11.85	百菌清	Chlorothalonil	1897-45-6	265.9>230.8 (14)	265.9>168.0 (22)
17	12.07	delta-六六六	BHC-delta	319-86-8	218.9>182.9 (10)	218.9>144.9 (20)
18	12.39	五氯苯胺	Pentachloroaniline	527-20-8	262.80>191.9 (21)	264.80>193.9 (21)
19	12.64	甲基毒死蜱	Chlorpyrifos-methyl	5598-13-0	285.9>93.0 (22)	285.9>270.9 (14)
20	12.71	乙烯菌核利	Vinclozolin	50471-44-8	285.0>212.0 (12)	285.0>178.0 (14)

21	12.77	甲基对硫磷	Parathion-methyl	298-00-0	263.0>109.0 (14)	263.0>136.0 (8)
22	12.92	七氯	Heptachlor	76-44-8	271.8>236.9 (20)	271.8>117.0 (32)
23	12.97	皮蝇磷	Fenclorphos	299-84-3	284.9>269.9 (16)	284.9>93.0 (24)
24	13.11	八氯二丙醚	Octachlorodipropyl ether (S421)	127-90-2	130>95 (20)	181>85 (10)
25	13.27	杀螟硫磷	Fenitrothion	122-14-5	277.0>260.0 (6)	277.0>109.1 (14)
26	13.38	甲基五氯苯基硫醚	Methyl-pentachlorophenyl sulfide	1825-19-0	296>263 (15)	246>211 (20)
27	13.39	苯氟磺胺	Dichlofluanid	1085-98-9	223.9>123.1 (8)	223.9>77.0 (28)
28	13.63	艾氏剂	Aldrin	309-00-2	262.9>193.0 (28)	262.9>203.0 (26)
29	13.56	毒死蜱	Chlorpyrifos	2921-88-2	313.9>257.9 (14)	313.9>285.9 (8)
30	13.67	氯酞酸甲酯	Chlorthal-dimethyl	1861-32-1	300.9>222.9 (26)	300.9>272.9 (14)
31	13.62	氘代倍硫磷 (内标)	Fenthion- <i>d</i> 6(IS)	-	284.0>169.0 (15)	284.0>115.0 (20)
32	13.72	对硫磷	Parathion	56-38-2	291.1>109.0 (14)	291.1>137.0 (6)
33	13.78	三唑酮	Triadimefon	43121-43-3	208.1>181.0 (10)	208.1>127.0 (14)
34	13.90	仲丁灵	Butralin	33629-47-9	266.1>236.1 (8)	266.1>190.1 (12)
35	13.89	三氯杀螨醇	Dicofol	-	250.0>139.0 (14)	250.0>215.0 (8)
36	14.01	溴硫磷	Bromophos	2104-96-3	330.9>315.9 (14)	330.9>285.9 (28)
37	14.21	二甲戊灵	Pendimethalin	40487-42-1	252.1>162.1 (10)	252.1>191.1 (8)
38	14.30	氟虫腈	Fipronil	120068-37-3	366.9>212.9 (30)	366.9>254.9 (22)
39	14.39	氧化氯丹	Chlordane-oxy	27304-13-8	386.8>287.0 (26)	386.8>323.0 (18)
40	14.39	环氧七氯 B 异构体	Heptachlor exo-Epoxide	1024-57-3	352.8>262.9 (14)	352.8>281.9 (12)
41	14.47	环氧七氯 A 异构体	Heptachlor endo-Epoxide	28044-83-9	352.8>289.0 (6)	352.8>253.0 (26)
42	14.61	腐霉利	Fipronil	120068-37-3	366.9>212.9 (30)	366.9>254.9 (22)

43	14.61	三唑醇	Triadimenol	55219-65-3	168.1>70.0 (10)	168.1>112.1 (4)
44	14.62	哌草丹	Dimepiperate	61432-55-1	145.1>112.1 (8)	145.1>69.1 (18)
45	14.80	乙基溴硫磷	Bromophos-ethyl	4824-78-6	358.9>302.9 (16)	358.9>330.9 (10)
46	14.85	反式氯丹	Chlordane-trans	5103-74-2	372.8>336.8 (10)	372.8>263.9 (28)
47	14.91	o,p'-滴滴伊	o,p'-DDE	3424-82-6	246.0>176.0 (30)	246.0>211.0(22)
48	14.96	氟节胺	Flumetralin	62924-70-3	143.00>107.00 (21)	143.00>83.00 (18)
49	15.10	顺式氯丹	Chlordane-cis	5103-71-9	372.8>336.8 (10)	372.8>263.9 (28)
50	15.11	α -硫丹	Endosulfan I	959-98-8	338.9>160.0 (18)	338.9>266.9 (8)
51	15.53	p,p'-滴滴伊	p,p'-DDE	72-55-9	246.0>176.0 (30)	246.0>211.0(22)
52	15.64	狄氏剂	Dieldrin	60-57-1	276.9>241.0 (8)	276.9>170.0 (38)
53	15.66	o,p'-滴滴滴	o,p'-DDD	53-19-0	235.0>165.0 (24)	235.0>199.0 (14)
54	15.82	溴虫腈	Chlorfenapyr	122453-73-0	247.1>227.0 (16)	247.1>200.0 (24)
55	16.04	异狄氏剂	Endrin	72-20-8	262.9>191.0 (30)	262.9>193.0 (28)
56	16.01	除草醚	Nitrofen	1836-75-5	282.9>162.0 (24)	282.9>253.0 (12)
57	16.25	β -硫丹	Endosulfan II	33213-65-9	338.9>160.0 (18)	338.9>266.9 (8)
58	16.34	p,p'-滴滴滴	p,p'-DDD	72-54-8	235.0>165.0 (24)	235.0>199.0 (14)
59	16.37	o,p'-滴滴涕	o,p'-DDT	789-02-6	235.0>165.0 (24)	235.0>199.0 (16)
60	16.98	硫丹硫酸盐	Endosulfan sulfate	1031-07-8	386.8>288.8 (10)	386.8>252.9 (16)
61	17.04	p,p'-滴滴涕	p,p'-DDT	50-29-3	235.0>165.0 (24)	235.0>199.0 (16)
62	17.88	联苯菊酯	Bifenthrin	82657-04-3	181.1>166.1 (12)	181.1>153.1 (8)
63	17.98	溴螨酯	Bromopropylate	18181-80-1	340.9>182.9 (18)	340.9>184.9 (20)
64	18.09	甲氰菊酯	Fenpropathrin	39515-41-8	265.1>210.1 (12)	265.1>172.1 (14)

65	18.08	甲氧滴滴涕	Methoxychlor	72-43-5	227.1>169.1 (24)	227.1>212.1 (14)
66	18.47	苯醚菊酯	Phenothrin	26002-80-2	183.1>168.1 (14)	183.1>153.1 (14)
67	18.69, 18.87	氯氟氰菊酯-1,2	Cyhalothrin-1,2	68085 - 85 - 8	197.0>161.0 (8)	197.0>141.0 (12)
68	19.02	氟丙菊酯	Acrinathrin	101007-06-1	289.1>93.0 (14)	289.1>77.0 (26)
69	19.01	灭蚊灵	Mirex	2385-85-5	272.>237 (15)	270>235 (5)
70	19.71, 19.83	氯菊酯-1,2	Permethrin-1,2	52645-53-1	183.1>168.1 (14)	183.1>165.1 (14)
71	20.24, 20.34, 20.40, 20.45 20.57,	氟氯氰菊酯 -1,2,3,4	Cyfluthrin-1,2,3,4	68359-37-5	226.1>206.1 (14)	226.1>199.1 (6)
72	20.68, 20.73, 20.77	氯氰菊酯 -1,2,3,4	Cypermethrin-1,2, 3,4	52315-07-8	181.1>152.1 (22)	181.1>127.1 (22)
73	20.73, 20.93	氟氰戊菊酯-1, 2	Flucythrinate-1,2	70124-77-5	199.1>157.1 (10)	199.1>107.1 (22)
74	20.77	喹禾灵	Quizalofop-ethyl	76578-14-8	372.1>299.1 (14)	372.1>272.1 (10)
75	21.47, 21.67	氰戊菊酯-1,2	Fenvalerate-1,2	51630-58-1	419.1>225.1 (6)	419.1>167.1 (12)
76	22.05, 22.27	溴氰菊酯-1,2	Deltamethrin-1,2	52918 - 63 - 5	252.9>93.0 (20)	252.9>171.9 (8)

1.3 样品前处理



2 结果

2.1 标准样品谱图

混标溶液(10 $\mu\text{g/L}$)MRM 总离子流谱图如图 1 所示。部分农药组分(5 $\mu\text{g/L}$)MRM 质量色谱图如图 2 所示。

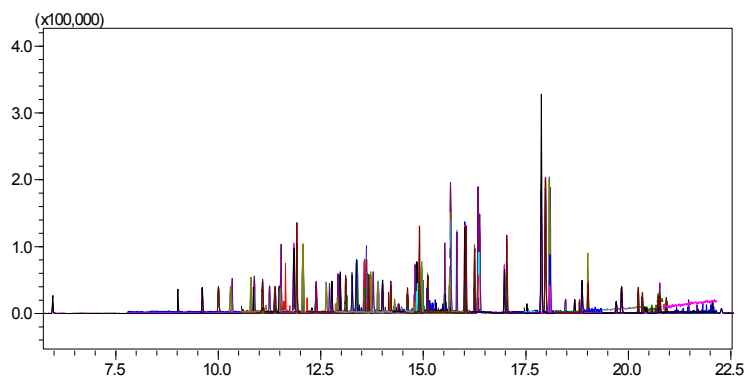


图 1. 混标溶液 MRM 总离子流谱图 (10 $\mu\text{g/L}$)

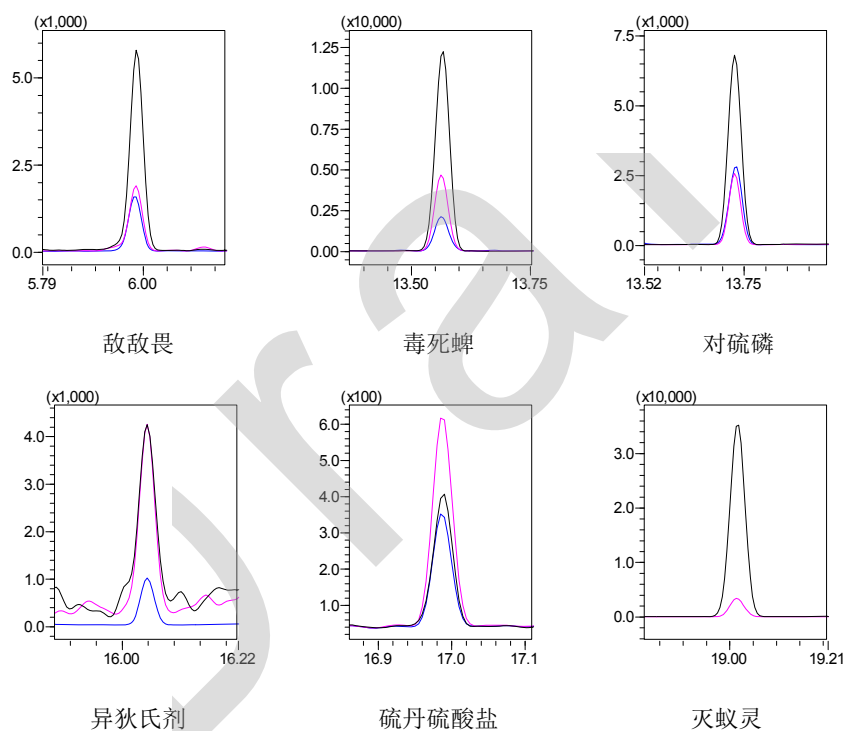


图 2. 部分农药组分 MRM 图 (5 $\mu\text{g/L}$)

2.2 标准曲线

使用基质空白配制农药混合标准系列，浓度分别为 1、2、5、10、20、50 $\mu\text{g/L}$ 。以浓度为横坐标，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下所示，各组分内标曲线相关系数见表 2。

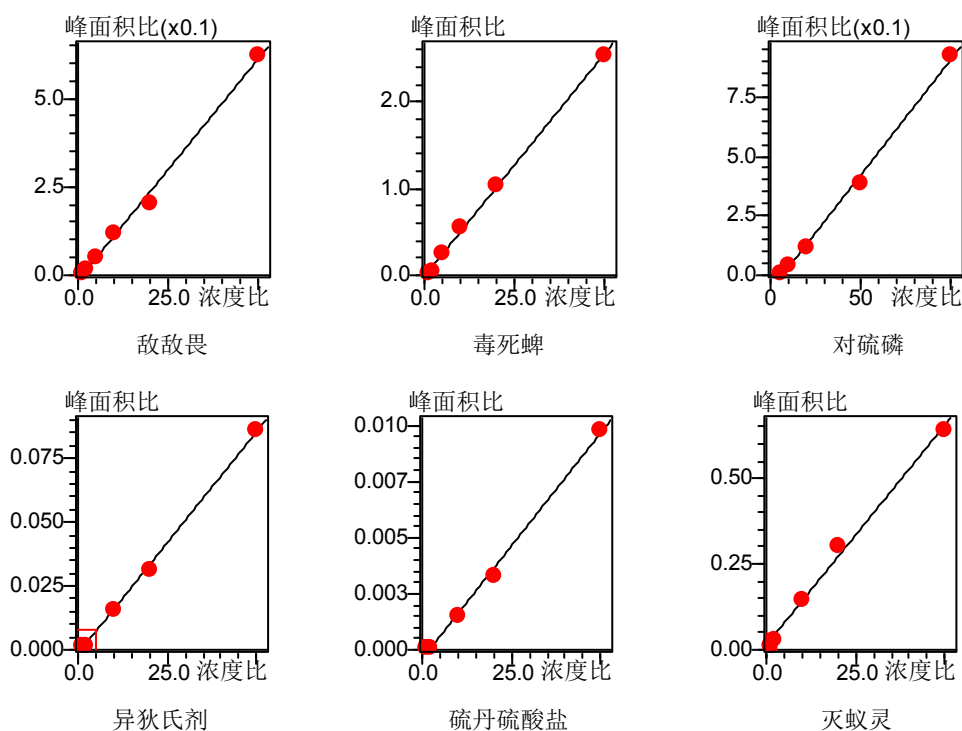


图 3. 部分组分标准曲线

2.3 检出限及重复性

根据 1 $\mu\text{g/L}$ 标准溶液数据，计算方法检出限（3 倍噪声计算），5 $\mu\text{g/L}$ 标准溶液重复测定 6 次，考察仪器重复性。各组分检出限及重复性见表 2。

表 2. 相关系数及检出限

No.	化合物名称	相关系数	LOD ($\mu\text{g/L}$)	RSD % (n=6)	No.	化合物名称	相关系数	LOD ($\mu\text{g/L}$)	RSD % (n=6)
1	敌敌畏	0.9996	0.03	7.30	39	氧化氯丹	0.9999	0.7	4.15
2	四氯硝基苯	0.9991	0.02	6.95	40	环氧七氯 B 异构体	0.9993	0.18	6.16
3	二苯胺	0.9995	0.14	3.70	41	环氧七氯 A 异构体	0.9979	0.91	6.63
4	氟乐灵	0.9996	0.03	6.81	42	腐霉利	0.9998	0.06	8.69
5	杀虫脒	0.9996	0.27	7.50	43	三唑醇	0.9980	0.52	6.43
6	alpha-六六六	0.9995	0.02	7.03	44	哌草丹	0.9987	0.09	4.38
7	六氯苯	0.9997	0.02	8.33	45	乙基溴硫磷	0.9985	0.01	7.40
8	五氯甲氧基苯	0.9998	0.02	4.76	46	反式氯丹	0.9991	0.03	2.79
9	氯硝胺	0.9987	0.35	8.98	47	o,p'-滴滴伊	0.9971	0.05	3.58
10	氘代莠去津 (内标)	-	-	5.49	48	氟节胺	0.9981	0.02	9.76
11	五氯硝基苯	0.9988	0.22	9.09	49	顺式氯丹	0.9989	0.14	5.05
12	beta-六六六	0.9992	0.01	8.30	50	α -硫丹	0.9957	0.95	6.52
13	特丁硫磷	0.9992	0.18	5.57	51	p,p'-滴滴伊	0.9997	0.01	4.56
14	gamma-六六六	0.9989	0.01	8.38	52	狄氏剂	0.9991	0.45	6.33

六									
15	七氟菊酯	0.9996	0.01	8.12	53	o,p'-滴滴滴	0.9980	0.01	3.36
16	百菌清	0.9953	0.36	8.93	54	溴虫腈	0.9963	0.42	8.96
17	delta-六六六	0.9993	0.07	6.67	55	异狄氏剂	0.9998	1.06	7.39
18	五氯苯胺	0.9996	0.01	8.65	56	除草醚	0.9978	0.06	7.52
19	甲基毒死蜱	0.9990	0.75	7.92	57	β-硫丹	0.9966	0.97	7.92
20	乙烯菌核利	0.9995	0.06	7.32	58	p,p'-滴滴滴	0.9986	0.01	4.85
21	甲基对硫磷	0.9997	0.13	6.37	59	o,p'-滴滴涕	0.9982	0.01	7.25
22	七氯	0.9988	0.03	8.42	60	硫丹硫酸盐	0.9959	0.24	6.29
23	皮蝇磷	0.9988	0.02	4.04	61	p,p'-滴滴涕	0.9995	0.01	8.52
24	八氯二丙醚	0.9989	0.03	10.48	62	联苯菊酯	0.9992	0.05	3.39
25	杀螟硫磷	0.9995	0.11	8.29	63	溴螨酯	0.9989	0.01	2.68
26	甲基五氯苯基 硫醚	0.9995	0.01	9.34	64	甲氰菊酯	0.9961	0.35	3.61
27	苯氟磺胺	0.9951	0.10	6.82	65	甲氧滴滴涕	0.9993	0.95	7.38
28	艾氏剂	0.9995	0.11	9.64	66	苯醚菊酯	0.9977	0.36	4.69
29	毒死蜱	0.9986	0.08	8.88	67	氯氟氰菊酯	0.9955	0.37	8.39
30	氯酞酸甲酯	0.9994	0.02	5.80	68	氟丙菊酯	0.9951	0.49	6.74
31	氘代倍硫磷 (内标)	-	-	4.88	69	灭蚊灵	0.9987	0.01	9.55
32	对硫磷	0.9988	0.13	6.85	70	氯菊酯	0.9983	0.69	3.92
33	三唑酮	0.9969	0.69	10.81	71	氟氯氰菊酯	0.9999	0.72	6.74
34	仲丁灵	0.9970	0.07	10.76	72	氯氰菊酯	0.9986	0.76	6.7
35	三氯杀螨醇	0.9996	0.05	8.68	73	氟氰戊菊酯	0.9962	0.89	5.49
36	溴硫磷	0.9988	0.04	4.69	74	啶禾灵	0.9982	0.04	5.67
37	二甲戊灵	0.9992	0.02	8.65	75	氰戊菊酯	0.9980	0.36	8.03
38	氟虫腈	0.9994	0.05	3.49	76	溴氰菊酯	0.9988	0.57	8.11

2.3 加标回收率

对空白样品进行 5ng/kg 加标回收测试，所得色谱图如图 4 所示，回收率见表 3。

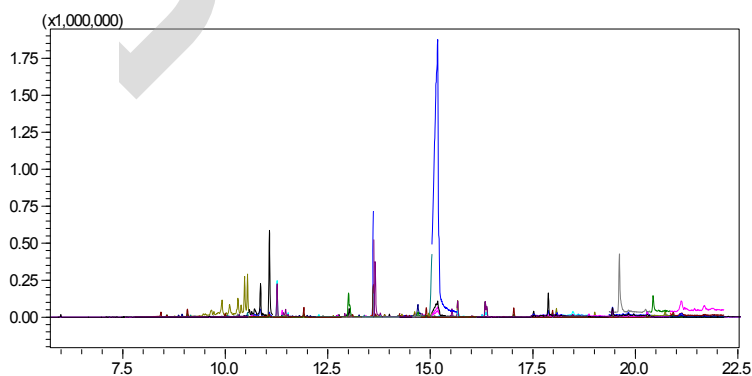


图 4. 5ng/kg 加标样品的 MRM 图

表 3. 5ng/kg 加标回收率

No.	化合物名称	加标回收率%	No.	化合物名称	加标回收率%
1	敌敌畏	106.40	39	氧化氯丹	82.83
2	四氯硝基苯	83.38	40	环氧七氯 B 异构体	102.02
3	二苯胺	100.07	41	环氧七氯 A 异构体	76.62
4	氟乐灵	99.94	42	腐霉利	106.01
5	杀虫脒	78.06	43	三唑醇	97.23
6	alpha-六六六	90.59	44	啶草丹	97.41
7	六氯苯	67.21	45	乙基溴硫磷	69.71
8	五氯甲氧基苯	65.56	46	反式氯丹	91.56
9	氯硝胺	101.40	47	o,p'-滴滴伊	87.80
10	氘代莠去津(内标)	-	48	氟节胺	94.76
11	五氯硝基苯	66.24	49	顺式氯丹	79.07
12	beta-六六六	103.71	50	α-硫丹	68.37
13	特丁硫磷	99.96	51	p,p'-滴滴伊	84.04
14	gamma-六六六	97.38	52	狄氏剂	76.99
15	七氟菊酯	96.55	53	o,p'-滴滴滴	90.89
16	百菌清	65.26	54	溴虫腈	83.60
17	delta-六六六	93.82	55	异狄氏剂	110.47
18	五氯苯胺	62.51	56	除草醚	96.86
19	甲基毒死蜱	85.01	57	β-硫丹	60.82
20	乙烯菌核利	102.69	58	p,p'-滴滴滴	107.46
21	甲基对硫磷	94.41	59	o,p'-滴滴涕	89.26
22	七氯	88.66	60	硫丹硫酸盐	79.32
23	皮蝇磷	84.84	61	p,p'-滴滴涕	76.35
24	八氯二丙醚	92.54	62	联苯菊酯	84.36
25	杀螟硫磷	96.85	63	溴螨酯	94.11
26	甲基五氯苯基硫醚	62.59	64	甲氰菊酯	100.82
27	苯氟磺胺	97.35	65	甲氧滴滴涕	90.98
28	艾氏剂	84.49	66	苯醚菊酯	66.64
29	毒死蜱	82.75	67	氯氟氰菊酯	108.85
30	氯酞酸甲酯	92.37	68	氟丙菊酯	83.06
31	氘代倍硫磷(内标)	-	69	灭蚁灵	65.91
32	对硫磷	96.28	70	氯菊酯	70.41
33	三唑酮	77.02	71	氟氯氰菊酯	94.76
34	仲丁灵	100.62	72	氯氰菊酯	90.92
35	三氯杀螨醇	89.89	73	氟氰戊菊酯	95.90
36	溴硫磷	78.04	74	啶禾灵	75.35
37	二甲戊灵	84.56	75	氰戊菊酯	83.39
38	氟虫腈	113.88	76	溴氰菊酯	89.89

3 结论

采用岛津公司 GCMS-TQ8040 三重四极杆气质联用仪分析 2015 版《中国药典》通则 2341 中规定的农药组分，方法操作简单，在 1~50 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内，大部分农药线性良好，相关系数大于 0.995，加标回收率在 60~120%之间，可以应对 2015 版《中国药典》中对中药材中农药残留量的测定要求。