

GC-MS/MS法同时测定白芍、黄芪、猫爪草和山茱萸中69种农药的残留量^Δ

王倩*,朱艳春,李婷婷,樊磊磊,李振国,王雪芹[#](河南省食品药品检验所,郑州 450003)

中图分类号 R282.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)20-2829-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.20.18

摘要 目的:建立同时测定白芍、黄芪、猫爪草和山茱萸中69种农药残留量的方法。方法:采用气相色谱-串联质谱法。色谱柱为HP-5MS弹性石英毛细管柱,进样口温度为240℃,进样量为1μL,不分流进样,载气为高纯氦气,进样口模式为恒压模式,柱前压力为146kPa,程序升温;质谱仪为三重四级杆串联质谱仪,离子源为电子轰击源,离子源温度为230℃,离子化能量为70eV,碰撞气为氮气,质谱传输接口温度为280℃,四级杆温度为150℃,监测模式为多反应监测(MRM),溶剂延迟时间为5min。结果:69种农药残留的检测质量浓度线性范围为4.82~399.6ng/mL(r 均大于0.990);定量限为0.0017~0.0133mg/kg,检出限为0.0005~0.004mg/kg;精密性、稳定性试验的RSD均小于10%($n=6$),重复性试验的RSD均小于5%($n=6$);仅检出杀虫脒、氯菊酯;加样回收率为62.9%~123.5%(RSD均小于10%, $n=6$)。12批样品中,山茱萸中检出敌敌畏、二苯胺,黄芪中检出杀虫脒、氯菊酯,白芍中检出二苯胺、杀虫脒,猫爪草中检出二苯胺、乙烯菌核利,其他成分均未检出。结论:该方法操作简便、重复性好,可用于同时测定白芍、黄芪、猫爪草和山茱萸中69种农药的残留量。

关键词 气相色谱-串联质谱法;白芍;黄芪;猫爪草;山茱萸;农药残留量

Determination of 69 Kinds of Pesticide Residues in *Paeonia tactilora*, *Astragalus membranaceus*, *Ranunculus ternatus* and *Cornus officinalis* by GC-MS/MS

WANG Qian, ZHU Yanchun, LI Tingting, FAN Leilei, LI Zhenguo, WANG Xueqin (Henan Provincial Institute for Food and Drug Control, Zhengzhou 450003, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for simultaneous determination of 69 kinds of pesticide residues in *Paeonia tactilora*, *Astragalus membranaceus*, *Ranunculus ternatus* and *Cornus officinalis*. METHODS: GC-MS/MS method was adopted. The determination was performed on HP-5MS fused silica capillary column with splitless injecting samples. The injector temperature was set at 240℃, and sample size was 1μL. The carrier gas was high-purity helium, the inlet mode was constant pressure, the pre-column pressure was 146kPa, and the temperature was programmed. Triple four-pole tandem mass spectrometry was used for the detection, and electron impact ion source was used as ion source. The temperature of the ion source was 230℃, ionization energy was 70eV, and the collision gas was nitrogen. The inlet temperature was 280℃ and four-pole temperature was 150℃, mass spectrometry monitoring mode was multi-reaction monitoring (MRM), and solvent delay time was 5min. RESULTS: The linear range of 69 kinds of pesticide residue was 4.82-399.6ng/mL (all $r>0.990$). LODs were all in the range of 0.0017-0.0133mg/kg, and LOQs were all in the range of 0.0005-0.004mg/kg. RSDs of precision and stability tests were less than 10% ($n=6$). RSD of reproducibility test was lower than 5% ($n=6$, only pesticide amidine and permethrin were detected). The recoveries were in the range of 62.9%-123.5% (all RSD<10%, $n=6$). Among 12 batches of samples, dichlorvos and diphenylamine were detected in *C. officinalis*; chlordimeform and permethrin were detected in *A. membranaceus*; diphenylamine and chlordimeform were detected in *P. tactilora*; diphenylamine and vinclozolin were detected in *R. ternatus*. CONCLUSIONS: The method is simple in operation and reproducible for simultaneous determination of 69 kinds of pesticide residue in *P. tactilora*, *A. membranaceus*, *R. ternatus* and *C. officinalis*.

KEYWORDS GC-MS/MS; *Paeonia tactilora*; *Astragalus membranaceus*; *Ranunculus ternatus*; *Cornus officinalis*; Pesticide residues

中药作为我国传统药物,在预防和治疗疾病方面的作用是不可替代的,如白芍具有抗炎、调节免疫、抗类风

性关节炎、保护内皮细胞、保护神经等作用^[1-2];黄芪具有增强机体免疫功能、强心、降压、降血糖、利尿、抗衰老、抗肿瘤、抗疲劳、抗病毒等作用;是常用的补中益气、药食两用的中药材^[3-4];猫爪草具有抗结核、抗肿瘤、抗炎、治疗疟疾、增强免疫等作用^[5-6];山茱萸具有抗炎、抑菌、调节免疫、抗衰老、降血糖、抗休克等作用,也是常用中成药

Δ 基金项目:国家科技重大专项课题(No.2012ZX09304005)

* 药师,硕士。研究方向:药物分析。电话:0371-65566283。E-mail:1012299810@qq.com

通信作者:主任药师,硕士。研究方向:药物分析。电话:0371-65566281。E-mail:244852539@qq.com

“六味地黄丸”和“桃豆地黄汤”等的原料^[7-8]。随着这几类中药需求量的增长^[4,8-10],其质量问题也日益受到关注^[11]。大部分的中药材属植物,而农药是中药材最直接的污染物^[12],其主要来源于人工喷洒、环境残留、存储运输及生产制备等过程中^[11,13]。若药材被农药污染,会严重危害人体健康,如有机氯农药及其代谢产物具有神经毒性和致癌、致畸作用,进入人体后可诱发肝、肾疾病等^[16-17]。因此,检测中药材的农药残留量具有重要意义。

目前,虽然已有相关文献对中药材的农药残留量进行了检测,例如沈旭等^[17]采用基质固相分散-气相色谱法对黄芪中20种农药进行了检测;谭鹏等^[18]采用三重四级杆气相-质谱联用法同时测定知母中58种农药残留;马临科等^[19]采用高效液相-质谱联用法测定浙贝母中12种有机磷农药残留;李雯婷等^[20]采用液相色谱-串联质谱法测定丹参中139种农药残留;卢晓林等^[21]采用气相色谱法测定甘草中9种有机磷残留的含量。但这些研究检验的药材样品种类均较单一。为提高检测效率、节约检测时间和成本,同时结合目前农药检测的现状,本研究选取了目前中药市场上需求量较大的白芍、黄芪、猫爪草、山茱萸等4种中药饮片,通过气相色谱-串联质谱法(GC-MS/MS)同时测定上述饮片中的69种农药的残留量,旨在为快速、高效检测中药材中农药的残留量提供参考。

1 材料

1.1 仪器

7890A-7000型GC-MS仪(包括7890A型GC仪、7000型MS仪、7693型自动进样器)、分散固相萃取净化管购自美国Agilent公司;HGC-24A型氮吹仪(天津市恒奥科技发展有限公司);3-30K型离心机(德国Sigma公司);Multi-Tube Vortexer VX-II型振荡器(北京踏锦科技有限公司);XPE205型电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);Milli-Q超纯水机(美国Millipore公司)。

1.2 药品与试剂

敌敌畏、二苯胺、杀虫脒、氟乐灵、氯硝胺、特丁硫磷、毒死蜱、甲基毒死蜱、乙烯菌核利、甲基对硫磷、皮蝇磷、八氯二丙醚、苯氟磺胺、氯酞酸二甲酯、三唑酮、三氯杀螨醇、仲丁灵、溴硫磷、二甲戊乐灵、氟虫腈、腐霉利、三唑醇、啶草丹、乙基溴硫磷、氟节胺、溴虫腈、除草醚、溴螨酯(农药标准品混合贮备液A,批号:06031627), α -硫丹、 β -硫丹、硫丹硫酸盐、*o*、*p'*-滴滴伊、*o*、*p'*-滴滴滴、*o*、*p'*-滴滴涕、*p*、*p'*-滴滴伊、*p*、*p'*-滴滴滴、*p*、*p'*-滴滴涕、四氯硝基苯、 α -六六六、 β -六六六、 γ -六六六、 δ -六六六、六氯苯、五氯硝基苯、甲氧滴滴涕、灭蚁灵、七氯、艾氏剂、狄氏剂、异狄氏剂、顺式环氧七氯、反式环氧七氯、氧化氯丹、顺式氯丹混合溶液(农药标准品混合贮备液B,批号:

06031628),五氯甲氧基苯、七氟菊酯、五氯苯胺、甲基五氯苯硫醚、杀螟硫磷、联苯菊酯、甲氰菊酯、苯醚菊酯、氟丙菊酯、氯氟氰菊酯、氯菊酯、氟氯氰菊酯、氯氰菊酯、氟氰戊菊酯、氰戊菊酯混合溶液(农药标准品混合贮备液C,批号:06031629)均由北京曼哈格生物科技有限公司提供,所含农药成分质量浓度均为100 $\mu\text{g}/\text{mL}$;乙腈为色谱纯,冰醋酸、无水硫酸镁、无水乙酸钠均为分析纯,水为超纯水。

1.3 药材

白芍饮片(批号:20160605、20160606)、黄芪饮片(批号:20151009、20151021、20151027、20151112、20151122、20151125)、猫爪草饮片(批号:20160203、20160215)、山茱萸饮片(批号:20151103、20151124)均由河南省食品药品检验所提供,经河南省食品药品检验所雷留成主任药师鉴定分别为毛茛科植物芍药(*Paeonia lactiflora* Pall.)的干燥根、豆科植物蒙古黄芪[*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao]的干燥根、毛茛科植物小毛茛(*Ranunculus ternatus* Thunb.)的干燥块根、山茱萸科植物山茱萸(*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.)的干燥成熟果肉。

2 方法与结果

2.1 试验条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱:HP-5MS弹性石英毛细管柱(60 m \times 0.32 mm,0.25 μm);进样口温度:240 $^{\circ}\text{C}$;进样量:1 μL ,不分流进样;载气:高纯氦气;进样口模式:恒压模式;柱前压力:146 kPa;程序升温:初始温度70 $^{\circ}\text{C}$,保持2 min,以15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温到150 $^{\circ}\text{C}$,再以2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温到200 $^{\circ}\text{C}$,最后以5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温到280 $^{\circ}\text{C}$,保持10 min。

2.1.2 质谱条件 以三重四级杆串联质谱仪检测。离子源:电子轰击源(EI);离子源温度:230 $^{\circ}\text{C}$;离子化能量:70 eV;碰撞气:氮气;质谱传输接口温度:280 $^{\circ}\text{C}$;四级杆温度:150 $^{\circ}\text{C}$;质谱监测模式:多反应监测(MRM);溶剂延迟时间:5 min。

2.2 溶液的制备

2.2.1 系列混合对照品溶液 分别精密量取农药标准品混合贮备液A、B、C各1 mL,置于同一10 mL量瓶中,加含有0.05%醋酸的乙腈溶液定容,制成各农药成分质量浓度均为10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合对照品贮备液。取上述混合对照品贮备液适量,加含有0.05%醋酸的乙腈溶液稀释制得各农药成分质量浓度均分别为5、10、50、100、200、400 ng/mL的混合溶液,经0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得系列混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 分别取4种药材样品各适量,粉碎,过3号筛,取粉末约3 g,精密称定,置于50 mL聚苯乙烯具塞离心管中,加1%冰醋酸溶液15 mL,涡旋使粉末充

分浸润;放置 30 min 后,精密加入乙腈 15 mL,涡旋使混匀,置于振荡器中剧烈振荡(500 次/min)5 min,然后加入无水硫酸镁与无水乙酸钠的混合粉末(4:1, m/m)7.5 g,立即摇散,再置于振荡器中剧烈振荡(500 次/min)3 min;冷却至室温,以 4 000 r/min 离心 5 min,取上清液 9 mL,加入装有净化材料的分散固相萃取净化管(含无水硫酸镁 900 mg、N-丙基乙二胺 300 mg、十八烷基硅烷键合硅胶 300 mg、硅胶 300 mg、石墨化炭黑 90 mg)中,涡旋混匀,置于振荡器中剧烈振荡(500 次/min)5 min 使净化完全;以 4 000 r/min 离心 5 min,精密吸取上清液 5 mL,置于氮吹仪中在 40 ℃ 条件下浓缩至 0.4 mL;加入乙腈定容至 1 mL,涡旋混匀,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.3 69 种农药的总离子流图和检测参数

取“2.2.1”项下混合对照品溶液(各成分质量浓度均为 100 ng/mL)适量,按“2.1”项下试验条件进行分析。结果,69 种农药均能良好地分离。69 种农药的总离子流图见图 1,其检测参数见表 1。

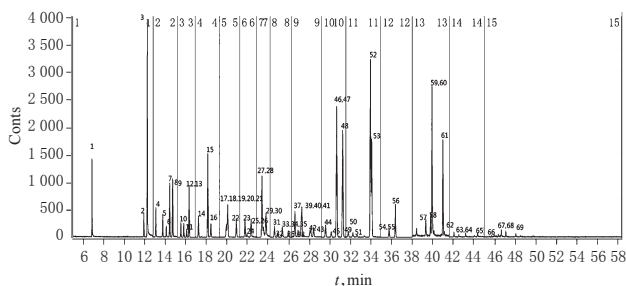


图 1 混合对照品溶液的总离子流图

Fig 1 Total ion chromatograms of mixed control

表 1 69 种农药检测参数

Tab 1 Detection parameters of 69 pesticides

待测成分	保留时间, min	母离子	子离子	碰撞能, V
敌敌畏	6.896	108.9	79.0	5
四氯硝基苯	11.939	260.7	202.8	10
二苯胺	12.273	169.0	168.2	15
杀虫脒	13.105	195.9	180.9	5
氟乐灵	13.765	305.9	263.8	5
α-六六六	14.120	216.9	180.8	5
六氯苯	14.450	283.7	213.7	30
氯硝胺	14.717	205.8	175.9	10
五氯甲氧基苯	14.736	279.7	236.7	22
γ-六六六	15.536	216.9	180.8	5
β-六六六	15.813	216.9	180.8	5

续表 1

Continued tab 1

待测成分	保留时间, min	母离子	子离子	碰撞能, V
五氯硝基苯	16.102	294.7	236.7	18
特丁硫磷	16.334	230.9	129.0	20
δ-六六六	17.243	181.0	145.1	15
七氟菊酯	18.145	176.9	126.9	15
五氯苯胺	18.453	264.7	191.8	20
甲基对硫磷	19.932	262.8	109.0	30
甲基毒死蜱	19.945	285.8	92.9	20
乙烯菌核利	20.026	211.8	144.8	30
七氯	20.087	271.7	236.8	15
皮蝇磷	20.917	284.8	269.7	15
八氯二丙醚	20.936	108.9	83.0	20
甲基五氯苯硫醚	21.758	295.7	262.7	20
杀螟硫磷	21.954	276.8	108.9	15
苯氟磺胺	22.352	223.9	122.9	10
艾氏剂	22.365	262.9	192.9	35
三氯杀螨醇	23.410	138.9	110.9	15
毒死蜱	23.561	313.8	257.7	15
三唑酮	23.791	207.9	180.9	5
氯酞酸二甲酯	23.804	300.7	220.8	25
溴硫磷	24.623	330.7	315.7	15
仲丁灵	24.946	265.9	174.0	20
顺式环氧七氯	25.386	352.7	262.8	15
反式环氧七氯	25.396	352.8	262.7	15
氧化氯丹	25.472	386.7	262.8	15
二甲戊乐灵	25.974	251.9	162.0	10
嘧草丹	26.610	144.9	112.1	5
三唑醇	26.905	168.0	70.0	10
顺式氯丹	27.220	271.7	236.7	20
氟虫腈	27.266	366.7	212.9	35
腐霉利	27.283	282.8	96.0	10

续表 1

Continued tab 1

待测成分	保留时间, min	母离子	子离子	碰撞能, V
α -硫丹	28.064	194.7	159.9	15
		275.5	240.7	5
乙基溴硫磷	28.167	358.6	302.7	15
		302.7	241.8	15
氟节胺	29.597	142.9	107.0	20
		142.9	73.0	20
狄氏剂	30.146	262.8	192.7	35
		276.8	236.8	5
o,p' -滴滴伊	30.663	245.8	175.9	30
		248.0	175.9	30
p,p' -滴滴伊	30.673	245.9	176.0	30
		317.8	245.9	15
o,p' -滴滴滴	31.252	234.9	164.9	20
		236.8	164.9	20
异狄氏剂	31.805	262.7	192.8	30
		244.8	172.9	35
除草醚	32.247	201.9	139.0	20
		282.8	252.8	10
溴虫腈	33.362	246.9	226.9	15
		327.8	246.9	15
p,p' -滴滴滴	33.952	234.9	165.0	20
		237.0	165.0	20
o,p' -滴滴涕	33.957	234.9	164.9	20
		237.0	164.9	20
硫丹硫酸盐	35.757	271.6	236.8	15
		386.6	274.0	4
β -硫丹	35.770	207.0	169.9	15
		271.7	192.9	14
p,p' -滴滴涕	36.371	234.9	165.0	20
		236.8	165.0	20
溴磷酯	39.327	340.8	182.9	15
		340.8	185.0	30
甲氧滴滴涕	39.795	227.0	169.0	25
		227.0	212.0	18
联苯菊酯	39.927	181.0	165.0	25
		181.0	166.1	20
甲氰菊酯	40.128	208.0	181.0	8
		264.9	209.0	5
灭蚊灵	40.981	271.7	236.7	15
		273.8	239.0	15
苯醚菊酯	41.128	183.0	167.9	12
		183.0	153.1	12
氯氟菊酯	42.065	197.8	140.9	10
		206.9	181.0	5
氯丙菊酯	42.068	181.0	152.0	30
		206.9	181.0	10
氯菊酯	44.366	183.0	164.9	10
		183.0	162.9	10
氯氟菊酯	45.976	162.9	127.0	5
		226.9	206.9	12
氯氟菊酯	46.668	180.9	151.9	10
		180.9	125.0	30
氟戊菊酯	46.670	157.0	107.0	15
		199.0	157.0	10
氟戊菊酯	48.084	167.00	125.0	5
		224.9	114.9	18

度(x , $\mu\text{g/mL}$)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归。结果, 69种农药质量浓度在4.82~399.6 ng/mL范围内线性关系均良好(r 均大于0.990), 详见表2。

表2 回归方程与线性范围

Tab 2 Regression equations and linear ranges

待测成分	回归方程	线性范围, ng/mL	r
敌敌畏	$y=20.492x-133.24$	4.94~395.2	0.993 2
四氯硝基苯	$y=8.098 4x-55.076$	4.95~396	0.997 1
二苯胺	$y=115.76x-835.86$	4.95~396	0.995 7
杀虫脒	$y=8.238x-35.072$	4.995~399.6	0.996 4
氟乐灵	$y=10.946x-146.68$	4.975~398	0.990 8
α -六六六	$y=6.445 3x-28.341$	4.99~399.2	0.998 0
六氯苯	$y=18.784x-31.744$	4.95~396	0.999 4
氯硝胺	$y=10.273x-111.69$	4.85~388	0.995 3
五氯甲基苯	$y=17.719x-48.382$	4.9~392	0.999 1
γ -六六六	$y=9.965 7x-52.313$	4.965~397.2	0.997 7
β -六六六	$y=9.580 9x-51.707$	4.965~397.2	0.997 8
五氯硝基苯	$y=5.277 4x-50.064$	4.995~399.6	0.994 9
特丁硫磷	$y=23.659x-245.04$	4.95~396	0.994 9
δ -六六六	$y=12.955x-93.339$	4.985~398.8	0.993 8
七氯菊酯	$y=54.682x-378.73$	4.82~385.6	0.997 1
五氯苯胺	$y=6.547 3x-32.151$	4.88~390.4	0.997 9
甲基对硫磷	$y=4.503x-55.541$	4.98~398.4	0.994 3
甲基毒死蜱	$y=8.765 6x-73.314$	4.925~394	0.997 4
乙烯菌核利	$y=4.936 1x-43.526$	4.975~398	0.994 7
七氯	$y=16.833x-152.74$	4.95~396	0.995 2
皮蝇磷	$y=11.801x-118.22$	4.99~399.2	0.992 6
八氯二丙醚	$y=4.831 6x-36.068$	4.9~392	0.993 0
甲基五氯苯硫醚	$y=7.628 1x-32.132$	4.99~399.2	0.998 4
杀螟硫磷	$y=2.351 2x-30.352$	4.9~392	0.994 1
苯氟磺胺	$y=4.397 8x-358.55$	49.8~398.4	0.998 2
艾氏剂	$y=9.001 7x-25.995$	4.95~396	0.998 6
三氯杀螨醇	$y=59.216x-490.45$	4.95~396	0.994 9
毒死蜱	$y=6.460 8x-69.367$	4.99~399.2	0.993 6
三唑酮	$y=10.678x-125.81$	4.985~398.8	0.990 8
氯酞酸二甲酯	$y=5.587 9x-36.253$	4.995~399.6	0.997 0
溴硫磷	$y=5.861 6x-61.099$	4.95~396	0.991 1
仲丁灵	$y=3.071 2x-45.003$	4.975~398	0.990 8
顺式环氧七氯	$y=3.795 5x-19.023$	4.985~398.8	0.997 9
反式环氧七氯	$y=3.792 9x-15.857$	4.995~399.6	0.998 8
氧化氯丹	$y=0.668 9x-2.009$	4.98~398.4	0.998 2
二甲戊乐灵	$y=5.398x-83.087$	4.965~397.2	0.991 8
嘧草丹	$y=20.277x-198.17$	4.95~396	0.996 9
三唑醇	$y=8.467x-83.329$	4.935~394.8	0.994 9
顺式氯丹	$y=7.876 4x-33.415$	4.98~398.4	0.998 4
氟虫腈	$y=3.934 8x-51.486$	4.87~389.6	0.993 2
腐霉利	$y=15.103x-113.61$	4.95~396	0.995 2
α -硫丹	$y=2.248x-14.744$	4.99~399.2	0.997 6
乙基溴硫磷	$y=7.209 2x-86.146$	4.97~397.6	0.991 4
氟节胺	$y=14.766x-161.71$	4.95~396	0.995 3
狄氏剂	$y=4.543x-1.989$	4.995~399.6	0.998 7
o,p' -滴滴伊	$y=48.471x-219.86$	4.95~396	0.998 2
p,p' -滴滴伊	$y=50.906x-225.81$	4.95~396	0.998 2
o,p' -滴滴滴	$y=75.354x-567.53$	4.95~396	0.996 7
异狄氏剂	$y=3.193 3x-20.583$	4.965~397.2	0.994 8
除草醚	$y=4.009 8x-45.646$	4.975~398	0.995 4
溴虫腈	$y=0.874x-10.981$	4.95~396	0.992 4
p,p' -滴滴滴	$y=60.4x-668.54$	4.95~396	0.992 8
o,p' -滴滴涕	$y=59.203x-669.56$	4.99~399.2	0.992 7
硫丹硫酸盐	$y=8.284 3x-65.569$	4.83~386.4	0.994 5

2.4 线性关系考察

取“2.2.1”项下系列混合对照品溶液各1.0 μL , 按“2.1”项下试验条件进行分析, 记录峰面积。以质量浓

续表2

Continued tab 2

待测成分	回归方程	线性范围, ng/mL	r
β-硫丹	y=0.518 5x-6.257 3	9.99~399.6	0.994 7
p,p'-滴滴涕	y=19.652x-202.53	4.9~392	0.997 3
溴螨酯	y=8.837 1x-105.31	4.95~396	0.995 2
甲氧滴滴涕	y=11.032x-132.35	4.985~398.8	0.996 6
联苯菊酯	y=89.003x-1 238.7	4.98~398.4	0.993 6
甲氰菊酯	y=3.893 4x-64.164	4.955~396.4	0.990 5
灭蚊灵	y=42.701x-168.39	4.935~394.8	0.998 4
苯醚菊酯	y=2.734 8x-53.436	9.65~386	0.994 0
氯氟菊酯	y=0.133 1x-2.454 8	49.9~399.2	0.991 9
氟丙菊酯	y=3.721 2x-35.866	4.97~397.6	0.996 8
氯菊酯	y=3.152 8x-42.71	4.955~396.4	0.994 2
氟氯菊酯	y=1.213 7x-11.721	4.975~398	0.997 1
氯菊酯	y=0.329 7x-8.169 4	9.86~394.4	0.993 0
氟戊菊酯	y=2.957 5x-19.396	4.87~389.6	0.998 6
氟戊菊酯	y=2.159 7x-23.111	4.975~398	0.996 8

2.5 定量限与检测限考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液(各成分质量浓度均为100 ng/mL)适量,加入未检出农药残留的阴性样品(批号:20151122)倍比稀释,按“2.1”项下试验条件进行分析,以信噪比10:1、3:1分别计算定量限、检测限。结果,69种农药的定量限为0.001 7~0.013 3 mg/kg,检出限为0.000 5~0.004 mg/kg。

2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液(各成分质量浓度均为100 ng/mL)适量,按“2.1”项下试验条件连续测定6次,记录峰面积。结果,69种农药峰面积的RSD均小于10%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液(各成分质量浓度均为100 ng/mL)适量,分别于室温下放置0、1、2、4、6、8、12 h时,按“2.1”项下试验条件进行分析,记录峰面积。结果,69种农药峰面积的RSD均小于10%(n=7),表明其在室温下放置12 h内基本稳定。

2.8 重复性试验

取黄芪样品(批号:20151009),粉碎,过3号筛,取3.0 g,共6份,精密称定,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下试验条件进行分析,记录峰面积并按外标法计算含量。结果,69种农药中杀虫脒的平均含量为0.017 1 mg/kg,氯菊酯的平均含量为0.117 4 mg/kg, RSD均小于5%(n=6),其他成分均未检出,表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

取黄芪样品(批号:20151009),粉碎,过3号筛,取3.0 g,共6份,精密称定,加入“2.2.1”项下混合对照品溶液(各成分质量浓度均为100 μg/mL)0.05 mL,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下试验条件进行分析,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表3。

表3 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 3 Results of recovery tests(n=6)

待测成分	加样回收率, %	RSD, %	待测成分	加样回收率, %	RSD, %
敌敌畏	93.3~97.7	1.7	二甲戊乐灵	84.1~89.0	2.3
四氯硝基苯	79.1~85.1	2.6	啶草丹	101.4~111.7	4.0
二苯胺	74.5~78.9	2.3	三唑醇	77.8~80.1	1.0
杀虫脒	87.1~93.0	3.1	顺式氯丹	66.4~71.0	2.3
氟乐灵	82.3~89.4	2.9	氟虫腈	79.8~98.3	8.8
α-六六六	68.4~72.9	2.0	腐霉利	79.2~86.4	3.5
六氯苯	67.6~72.3	2.3	α-硫丹	71.7~78.9	4.3
氯硝胺	93.7~105.0	4.1	乙基溴硫磷	115.1~122.5	3.1
五氯甲基苯	71.4~76.2	2.3	氟节胺	75.8~89.9	7.8
γ-六六六	72.0~76.7	2.3	狄氏剂	67.5~74.8	4.7
β-六六六	67.4~71.4	2.4	o,p'-滴滴涕	75.3~87.2	6.7
五氯硝基苯	79.5~85.7	2.6	p,p'-滴滴涕	74.8~86.4	6.6
特丁硫磷	93.2~99.8	2.4	o,p'-滴滴涕	87.2~104.9	8.1
δ-六六六	64.4~76.2	7.9	异狄氏剂	119.0~123.5	1.2
七氟菊酯	73.2~78.9	2.6	除虫醚	79.0~96.3	8.5
五氯苯胺	73.8~80.3	2.9	溴虫腈	111.6~119.6	2.8
甲基对硫磷	105.8~117.9	4.0	p,p'-滴滴涕	80.5~99.9	9.7
甲基毒死蜱	99.2~107.7	3.3	o,p'-滴滴涕	77.4~98.1	9.7
乙烯菌核利	76.0~82.1	2.8	硫丹硫酸盐	70.5~87.2	8.5
七氯	83.3~89.5	2.6	β-硫丹	78.2~98.2	8.8
皮蝇磷	99.6~107.8	2.7	p,p'-滴滴涕	86.3~104.0	7.0
八氯二丙醚	65.6~72.5	3.5	溴螨酯	91.6~98.8	3.3
甲基五氯苯硫醚	72.4~77.7	2.5	甲氧滴滴涕	83.9~95.1	4.8
杀螟硫磷	113.4~115.2	0.6	联苯菊酯	82.3~88.2	3.0
苯氟磺胺	65.6~69.1	1.9	甲氰菊酯	84.1~90.7	3.0
艾氏剂	62.9~67.4	2.7	灭蚊灵	77.0~82.4	2.8
三氯杀螨醇	82.1~89.6	3.1	苯醚菊酯	88.9~95.0	3.0
毒死蜱	94.8~103.7	3.1	氯氟菊酯	107.5~117.0	4.1
三唑酮	97.6~106.2	2.9	氟丙菊酯	96.1~105.1	3.4
氯酞酸二甲酯	75.4~80.9	2.4	氯菊酯	81.3~90.9	4.1
溴硫磷	109.2~120.1	3.7	氟氯菊酯	91.0~97.2	2.6
仲丁灵	70.1~89.5	4.2	氯菊酯	109.7~121.4	4.5
顺式环氧七氯	72.7~76.5	1.9	氟氯戊菊酯	105.5~111.0	2.1
反式环氧七氯	73.0~77.7	2.4	氟戊菊酯	90.6~103.4	4.8
氧化氯丹	71.4~78.4	3.7			

2.10 样品中农药残留量测定

取12批药材样品各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下试验条件进行分析,记录峰面积并按外标法计算69种农药的残留量,结果见表4(只检出5种农药残留,其他未检出)。

3 讨论

目前分析农药残留量的常用提取溶剂有乙腈、丙酮、甲醇等,由于乙腈对油脂和色素提取较少,在有机磷、有机氯、氨基甲酸酯类农药的分析中常被采用,可同时提取多种农药残留,操作简单^[19,22-23]。综合考虑,选择乙腈为提取溶剂。

由于待测成分为农药,为减少其对离子源和灯丝的污染,故本研究采用溶剂截留的方式截留溶剂峰。同时,本研究对质量浓度适宜的混合对照品溶液采用全扫描模式进行扫描,并通过检索谱库,确定了各待测成分的出峰时间、特征离子及溶剂峰的出峰时间。此外,还根据确定的各种参数,设定溶剂延迟时间为5 min,采用

时间分段、MRM同步监测,结果得到的色谱峰相应信号和峰形均较好。

表4 样品中69种农药残留量测定结果($n=3, \text{mg/kg}$)

Tab 4 Determination results of 69 kinds of pesticides residue in samples($n=3, \text{mg/kg}$)

药材	批号	敌敌畏	二苯胺	杀虫脒	氯菊酯	乙烯菌核利
白芍	20160605	未检出	0.010 7	0.046 0	未检出	未检出
	20160606	未检出	0.011 9	0.049 7	未检出	未检出
黄芪	20151009	未检出	未检出	0.017 1	0.117 4	未检出
	20151021	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
	20151027	未检出	未检出	未检出	0.114 0	未检出
	20151112	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
	20151122	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
	20151125	未检出	未检出	0.018 2	未检出	未检出
猫爪草	20160203	未检出	0.012 6	未检出	未检出	0.053 3
	20160215	未检出	0.012 5	未检出	未检出	0.052 1
山茱萸	20151103	0.022 9	0.011 7	未检出	未检出	未检出
	20151124	0.035 1	0.012 8	未检出	未检出	未检出

含量测定结果显示,12批样品中山茱萸中检出敌敌畏、二苯胺,黄芪中检出杀虫脒、氯菊酯,白芍中检出二苯胺、杀虫脒,猫爪草中检出二苯胺、乙烯菌核利,其他成分均未检出。

农药残留量是评价中药材质量的重要指标,目前我国对中药材农药残留的分析技术和质量标准都相对落后,因此建立一种简单、快速、高效的检测方法是同时检测多种中药材中农药残留的发展趋势^[18,24]。本研究建立的方法操作简便,重复性较好,适用于同时测定多种中药材、饮片及制剂中的农药残留量,可为国家药监部门对农药残留量的监管工作提供技术和数据参考。

参考文献

[1] 金林,赵万顺,郭巧生,等.白芍UPLC指纹图谱研究[J].中草药,2015,46(23):3564-3569.

[2] 张源潮,孙红胜,潘正论,等.白芍总苷在风湿免疫病中的研究进展[J].世界临床药物,2010,31(8):449-453.

[3] 唐国廷.黄芪药理作用与临床应用研究进展[J].中医药临床杂志,2010,22(9):844-845.

[4] 张蕾,高文远,满淑丽.黄芪中有效成分药理活性的研究进展[J].中国中药杂志,2012,37(21):3203-3207.

[5] 苗耀东,李小江,贾英杰.猫爪草的化学成分及药理作用研究进展[J].中草药,2014,45(11):1651-1654.

[6] 陈津慧.猫爪草药理作用的研究情况[J].内蒙古中医药,2015,34(7):141-142.

[7] 潘小华,赵池,叶小兰.山茱萸的药理作用研究进展[J].中国药房,2009,20(30):2398-2400.

[8] 李雅梅,李华,李春荣.山茱萸化学成分及其药理作用研究进展[J].武警医学院学报,2010,19(6):500-502.

[9] 中药市场宠儿猫爪草的种植方法[J].农家之友,2017(5):61.

[10] 崔虹,朱佳茜,冯秋芳,等.中药白芍化学成分及生物活性研究进展[J].海峡药学,2017,29(9):1-5.

[11] 马雯,薛晓利,秦雪梅,等.中药材农药残留及脱除方法研究进展[J].中草药,2018,49(3):745-753.

[12] 林诗云,刘汉青,黄进敏.中药材中农药残留分析方法的进展[J].农家参谋,2018(15):21-22.

[13] 薛健,金红宇,田金改,等.中药农药残留问题研究与思考[J].中草药,2007,38(10):1578-1581.

[14] 聂春林.色质联用技术在土壤及中药农残中的应用研究[D].长沙:中南大学,2009.

[15] 赵祥升,李倩,杨美华.碳纳米管在农药残留检测中的研究进展及在中药中的应用展望[J].中国中药杂志,2019. DOI:10.19540/j.cnki.cjcmm.20190606.201.

[16] 李淑芬,全灿,王幼君,等.中药材中农药残留的脱除与检测研究[J].中草药,2004,35(2):232-234.

[17] 沈旭,陈晓辉,果德安,等. MSPD-GC法测定黄芪中20种农药残留[J].中草药,2009,40(11):1814-1817.

[18] 谭鹏,张海珠,许莉,等.基于QuEChERS-GC-QQQ-MS/MS法同时测定知母中58种农药残留[J].中草药,2018,49(14):3397-3405.

[19] 马临科,李文庭,赵维良.高效液相-质谱联用法测定浙贝母中12种农药残留成分[J].中草药,2014,45(6):849-853.

[20] 李雯婷,苗水,陈铭,等.液相色谱-串联质谱法同时测定丹参中139种农药残留[J].世界中医药,2019,14(4):783-792.

[21] 卢晓林,曲婷丽,许晋芳,等.山西朔州甘草中重金属及有机氯农药残留含量测定[J].山西医科大学学报,2019,50(5):626-631.

[22] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:212-216.

[23] 黄莉莉,李丽莉,罗轶,等.LC-MS/MS法测定桑叶药材中100种农药残留量[J].中国药房,2016,27(15):2122-2126.

[24] 盛静,管健,屠婕红,等.气相色谱-质谱联用法测定杭白菊中32种残留农药[J].中草药,2008,39(10):1568-1572.

(收稿日期:2019-06-18 修回日期:2019-08-20)

(编辑:陈宏)