

## · 基础研究 ·

GC-MS/MS测定何首乌中100种农药多残留<sup>△</sup>

王莹, 刘芫汐, 范晶, 詹珂, 杨建波\*, 金红宇, 马双成\*

中国食品药品检定研究院, 北京 102629

**[摘要]** 目的: 建立何首乌中100种农药的气相色谱-质谱法(GC-MS/MS)测定方法, 并采用此方法对53批何首乌(包括43批生品和10批制品)样品进行农药初步筛查。方法: 样品经乙腈高速匀浆提取, 浓缩后加分析保护剂, 采用GC-MS/MS进行测定。质谱以动态多反应监测模式(MRM)采集数据, 采用空白基质匹配-分析保护剂标液进行定量计算, 在提高响应值的同时改善了峰形。结果: 100种农药线性关系良好,  $r$ 均大于0.99, 加标回收率试验中100种农药(113个单体)的回收率为70.4%~107.4%, RSD均小于11.40%, 符合痕量测定的要求。检测的53批何首乌样品中均未检测到本方法涉及的农药, 初步表明何首乌农药残留引起的风险较小。结论: 此方法检测指标基本包括GC-MS/MS可测定的大多数禁用农药, 方法灵敏度高、准确性好, 可用于何首乌中农药残留的筛查检测, 同时为基质类似中药材的农药残留检测方法提供参考。

**[关键词]** 何首乌; 农药; 气相色谱-质谱法; 基质效应; 多反应监测

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2022)10-1886-07

**doi:**10.13313/j.issn.1673-4890.20220129004

**Determination of Residues of 100 Pesticides in Polygoni Multiflora Radix by GC-MS/MS**

WANG Ying, LIU Yuan-xi, FAN Jing, ZAN Ke, YANG Jian-bo\*, JIN Hong-yu, MA Shuang-cheng\*

National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China

**[Abstract]** **Objective:** To establish a gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) method for the determination of 100 pesticides in Polygoni Multiflora Radix, and to use this method to detect pesticides in 53 batches of samples (10 batches of Polygoni Multiflora Radix Praeparata and 43 batches of raw products). **Methods:** The sample were respectively mixed with acetonitrile, extracted by high speed homogenizer, concentrated, and added with analyte protectant before GC-MS/MS analysis. For the MS, multiple reaction monitoring (MRM) was applied to collect data, and blank matrix matching-analyte protectant standard method was used for quantitative analysis to increase the accuracy and improve the peak shape. **Results:** The calibration curves of all targets showed good linearity with correlation coefficients>0.99. The average recoveries for all target compounds ranged from 70.4% to 107.4%, with relative standard deviations<11.40%, which met the requirements of trace determination. A total of 53 batches of samples were determined and the results showed that no pesticide was detected in them. This indicated that the risk caused by pesticide residues in Polygoni Multiflora Radix was low. **Conclusion:** This method is applicable to most of the banned pesticides, which is highly sensitive with high accuracy. It can be employed to the screen and detect pesticide residues in Polygoni Multiflora Radix and can serve as a reference for the detection of pesticide residues with matrix similar to Chinese medicinal material.

**[Keywords]** Polygoni Multiflora Radix; pesticide residue; GC-MS/MS; matrix effect; MRM

何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 为蓼科多年生草本植物, 块根是其主要的药用部位, 具有抗衰老、调血脂、抗癌、抗炎、促进免疫调节、保护

神经等作用<sup>[1]</sup>。近年来, 多次出现何首乌及其制品致肝损伤的报道, 引起社会广泛关注<sup>[2-4]</sup>。为进一步了解何首乌药用安全情况, 对市场收集的多批次何首

<sup>△</sup> [基金项目] 国家自然科学基金项目(81973476)

\* [通信作者] 杨建波, 副研究员, 研究方向: 中药药效物质基础; E-mail: yangjianbo@nifdc.org.cn  
马双成, 研究员, 研究方向: 中药质量与安全; E-mail: masc@nifdc.org.cn

乌药材及饮片进行农药残留测定。何首乌为多年生根类药材,分布于河南、贵州、云南、四川、广东等地,多为栽培品<sup>[5]</sup>。长期的种植栽培可能产生一定量的有机氯残留。前期,已有学者建立了何首乌中有机氯类农药测定方法,并对其进行检测<sup>[6-7]</sup>;同时,有报道建立了何首乌中26种有机磷的气相色谱-火焰光度检测器(GC-FPD)测定法<sup>[8]</sup>。但随着农药品种使用的不断扩大,《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)自2015年版开始收录气相色谱-质谱法(GC-MS/MS)及液相色谱-质谱法(LC-MS/MS)对农药多残留进行测定。目前,何首乌中关于农药多残留的测定方法及筛查数据尚未见报道。本课题组通过调研并结合国家禁用农药名录等,筛选出100种农药(113种农药单体)作为检测指标,采用GC-MS/MS对收集到的53批何首乌进行测定。

## 1 材料

### 1.1 样品

从市场及种植基地共收集何首乌样品53批。其中,20批收集于饮片市场,33批收集于种植基地,有确定产地来源。53批样品中包括10批制品(Z1~Z10)和43批生品(S1~S43),见表1。样品经中国食品药品检定研究院中药民族药检定所杨建波副研究员鉴定均为正品。

### 1.2 仪器

QP2040型气相色谱-质谱仪(日本岛津公司);FA1004C FA/JA-C型电子分析天平(上海越平科学仪器有限公司);Z260A型离心机(德国Hermble公司);Hel-VAP Advantage ML/HB型旋转蒸发仪(德国Heidolph公司);AH30型高速全自动匀浆仪(睿科仪器有限公司);HLB固相萃取柱(安捷伦公司500 mg/6 mL)。

### 1.3 试剂

D-山梨醇(纯度:99.5%,美国Sigma公司,批号:0001423711);D-核糖酸内酯(纯度:95.0%,上海源叶生物科技有限公司,批号:S26834);乙腈为色谱纯(赛默飞世尔科技有限公司);氯化钠(批号:20191206,国药集团化学试剂有限公司);水为屈臣氏蒸馏水。农药对照物质来源于中国食品药品检定研究院、中国计量科学院、德国Ehrenstorfer公

表1 何首乌样品信息

编号	样品来源	品种	编号	样品来源	品种
Z1	安徽亳州市场	制品	S18	四川宜宾	生品
Z2	安徽亳州市场	制品	S19	四川宜宾	生品
Z3	安徽亳州市场	制品	S20	四川宜宾	生品
Z4	安徽亳州市场	制品	S21	四川宜宾	生品
Z5	安徽亳州市场	制品	S22	广东高州	生品
Z6	河南禹州市市场	制品	S23	广东高州	生品
Z7	河北安国市场	制品	S24	广东高州	生品
Z8	陕西西安万寿市场	制品	S25	广东高州	生品
Z9	陕西西安万寿市场	制品	S26	广东高州	生品
Z10	广西百色	制品	S27	安徽阜阳	生品
S1	安徽亳州市场	生品	S28	安徽阜阳	生品
S2	安徽亳州市场	生品	S29	安徽阜阳	生品
S3	安徽亳州市场	生品	S30	安徽阜阳	生品
S4	安徽亳州市场	生品	S31	安徽阜阳	生品
S5	安徽亳州市场	生品	S32	广东德庆	生品
S6	安徽亳州市场	生品	S33	广东德庆	生品
S7	安徽亳州市场	生品	S34	广东德庆	生品
S8	安徽亳州市场	生品	S35	云南文山	生品
S9	安徽亳州市场	生品	S36	云南文山	生品
S10	河北安国市场	生品	S37	云南文山	生品
S11	河南禹州市市场	生品	S38	云南文山	生品
S12	广西百色	生品	S39	云南文山	生品
S13	四川达州	生品	S40	云南曲靖	生品
S14	四川达州	生品	S41	云南曲靖	生品
S15	四川达州	生品	S42	云南曲靖	生品
S16	四川达州	生品	S43	云南曲靖	生品
S17	四川宜宾	生品			

司等。自行配制质量浓度为 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (溶剂为乙腈)的单标储备溶液, $-20\ ^\circ\text{C}$ 密封避光保存。

## 2 方法与结果

### 2.1 测定条件

DM17ms弹性石英毛细管柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25  $\mu\text{m}$ );载气为高纯氮气;流速为 $1.3\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ;进样口温度为 $240\ ^\circ\text{C}$ ;高压不分流进样;升温程序(初始温度 $60\ ^\circ\text{C}$ ,保持1 min,以 $30\ ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 $120\ ^\circ\text{C}$ ,以 $10\ ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 $160\ ^\circ\text{C}$ ,以 $2\ ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 $230\ ^\circ\text{C}$ ,以 $15\ ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 $300\ ^\circ\text{C}$ ,保持6 min,以 $20\ ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 $320\ ^\circ\text{C}$ ,保持3 min)。电子轰击电离(EI)测定条件: $70\ \text{eV}$ ,离子源温度为 $200\ ^\circ\text{C}$ ,接口温度为 $250\ ^\circ\text{C}$ 。GC-MS/MS质谱测定条件见表2。

表2 何首乌中113种农药化合物的 $t_R$ 、定量离子、定性离子、 $r$ 、方法定量限(LOQ)及回收率

序号	农药	$t_R$ /min	定量离子对	CE1/ eV	定性离子对	CE2/ eV	标准曲线	$r$	LOQ/ mg·kg <sup>-1</sup>	回收率/%	回收率RSD/%
1	二溴氯丙烷	4.876	157.0>75.0	15	157.0>95.0	20	$Y=1\ 641.42X+397.37$	0.998 7	0.020	79.7	4.35
2	溴菌腈	5.925	106.0>66.0	8	106.0>39.1	20	$Y=554.07X+194.98$	0.998 6	0.010	93.0	4.40
3	敌敌畏	7.458	185.0>93.0	14	185.0>109.0	14	$Y=1\ 506.39X+672.40$	0.997 8	0.005	94.1	8.75
4	氯唑灵	12.654	210.9>182.9	10	210.9>139.9	22	$Y=2\ 221.40X+565.97$	0.999 0	0.020	80.6	7.05
5	禾草敌	16.003	126.1>83.0	6	126.1>55.0	14	$Y=1\ 249.91X+2\ 420.52$	0.993 4	0.020	75.2	6.17
6	氟乐灵	16.024	306.1>264.1	8	306.1>206.1	14	$Y=1\ 381.17X+311.55$	0.998 8	0.020	82.9	8.97
7	灭线磷*	18.994	199.7>157.8	5	199.7>114.0	14	$Y=550.14X+1\ 582.53$	0.997 4	0.020	86.2	4.30
8	杀虫脒*	19.848	151.9>116.9	15	196.9>180.9	5	$Y=1\ 291.54X - 497.93$	0.999 2	0.010	70.4	6.12
9	六氯苯	20.259	283.8>248.8	24	283.8>213.8	28	$Y=2\ 432.28X+1\ 014.28$	0.999 0	0.005	93.2	7.51
10	甲拌磷*	20.846	260.1>75.0	5	230.8>174.5	10	$Y=464.08X+84.40$	0.999 6	0.010	78.6	7.02
11	$\alpha$ -六六六*	21.545	181.1>145.1	15	218.7>147.1	23	$Y=6\ 350.90X+2\ 620.89$	0.998 9	0.010	80.2	9.43
12	特丁硫磷*	22.650	230.8>128.9	25	230.8>202.9	5	$Y=2\ 026.82X+1\ 384.66$	0.998 5	0.010	78.9	6.98
13	五氯硝基苯	23.400	294.8>236.8	16	294.8>264.8	12	$Y=452.62X+152.50$	0.998 9	0.010	91.0	9.24
14	莠去津	24.135	215.1>200.1	6	215.1>58.0	14	$Y=435.26X+1\ 341.79$	0.999 8	0.020	83.6	6.09
15	$\gamma$ -六六六*	24.337	181.1>145.0	15	218.9>182.9	10	$Y=4\ 962.00X+2\ 337.43$	0.999 1	0.010	80.2	9.36
16	久效磷*	25.316	126.9>108.9	12	126.9>94.9	16	$Y=185.62X+423.15$	0.998 1	0.010	75.4	5.23
17	噻霉胺	25.399	198.1>183.1	14	198.1>158.1	18	$Y=1\ 406.70X+771.66$	0.999 2	0.010	85.4	7.25
18	氟甲腈	26.136	388.0>332.9	20	388.0>281.0	32	$Y=2\ 062.64X+518.62$	0.998 5	0.020	80.4	6.41
19	草除灵	26.150	199.0>170.0	21	170.0>134.0	18	$Y=1\ 345.19X+914.45$	0.995 8	0.010	79.5	8.24
20	乐果	26.179	125.0>47.0	14	125.0>79.0	8	$Y=568.33X - 37.66$	0.999 5	0.020	85.5	8.15
21	$\beta$ -六六六*	26.334	181.1>145.0	15	218.9>182.9	10	$Y=4\ 742.37X+2\ 983.32$	0.998 3	0.010	79.9	10.76
22	2,4-滴丁酯	26.735	276.0>185.0	10	276.0>57.0	20	$Y=1\ 132.06X+186.30$	0.999 3	0.010	83.1	8.98
23	八氯二丙醚	26.866	130.0>95.0	21	130.0>60.0	30	$Y=1\ 005.82X+185.45$	0.999 4	0.020	73.5	3.42
24	五氯苯胺	27.148	265.0>194.0	23	265.0>203.0	23	$Y=1\ 436.80X+369.17$	0.999 1	0.010	83.2	6.32
25	乙烯菌核利	27.057	285.0>212.0	12	285.0>178.0	14	$Y=687.37X+167.99$	0.999 1	0.010	89.4	5.60
26	乙草胺	27.054	223.1>132.1	22	223.1>147.1	10	$Y=1\ 462.78X+769.34$	0.998 9	0.020	81.2	7.30
27	异丙草胺	27.279	162.1>120.1	18	162.1>147.1	15	$Y=1\ 445.74X+1\ 786.34$	0.991 6	0.010	92.8	6.88
28	甲草胺	27.829	188.1>160.1	10	188.1>132.1	18	$Y=1\ 588.40X+1\ 014.67$	0.998 4	0.010	92.0	8.78
29	$\delta$ -六六六*	28.111	181.1>145.0	15	218.9>182.9	10	$Y=4\ 035.62X+1\ 083.18$	0.998 8	0.010	74.6	9.45
30	艾氏剂*	28.099	262.7>192.7	30	262.7>202.7	20	$Y=1\ 648.31X+696.87$	0.999 2	0.010	83.0	5.23
31	百菌清	28.113	265.9>168.0	22	265.9>230.8	14	$Y=246.52X - 223.34$	0.999 3	0.020	107.4	4.24
32	甲基毒死蜱	28.388	285.9>93.0	22	285.9>270.9	14	$Y=1\ 092.88X+245.20$	0.997 6	0.010	87.5	8.37
33	敌稗	29.205	160.9>99.0	24	160.9>90.0	22	$Y=861.65X+297.96$	0.999 0	0.010	82.5	9.21
34	甲基五氯苯基 硫醚	29.334	296.0>263.0	16	296.0>246.0	30	$Y=1\ 292.28X+196.81$	0.999 3	0.010	92.4	4.87
35	甲基立枯磷	29.394	264.9>249.9	14	264.9>93.0	24	$Y=2\ 504.96X+1\ 745.95$	0.995 0	0.010	91.5	5.96
36	甲基对硫磷*	29.582	263.1>109.1	13	263.1>79.1	35	$Y=917.05X - 237.02$	0.999 1	0.010	104.4	7.56
37	仲丁灵	29.667	266.1>236.1	8	266.1>190.1	12	$Y=858.19X+375.81$	0.995 1	0.010	91.5	7.10
38	甲基嘧啶磷	29.659	305.1>180.1	8	305.1>290.1	12	$Y=679.32X+189.76$	0.992 2	0.020	83.0	9.42
39	莠灭净	29.768	227.1>170.1	14	227.1>185.1	6	$Y=833.39X - 14.15$	0.995 8	0.010	82.8	4.23
40	甲霜灵	29.872	249.2>190.1	8	249.2>146.1	22	$Y=1\ 037.69X+660.02$	0.997 9	0.010	83.9	3.83
41	异丙甲草胺	29.912	238.1>162.1	12	238.1>133.1	26	$Y=5\ 636.62X+2\ 876.55$	0.997 2	0.010	73.7	3.88
42	草克净	30.198	198.1>82.0	14	198.1>110.1	10	$Y=616.75X+6\ 684.56$	0.997 6	0.020	82.2	6.53
43	三唑酮	30.575	208.1>181.0	10	208.1>127.0	14	$Y=1\ 821.06X+674.67$	0.998 6	0.020	79.1	5.65
44	禾草丹	30.983	257.1>100.1	8	257.1>72.0	22	$Y=2\ 478.53X+1\ 228.59$	0.999 0	0.020	87.3	8.45
45	氟虫腈亚砷*	31.137	420.0>351.0	18	420.0>255.0	32	$Y=1\ 914.91X+343.72$	0.998 2	0.010	84.5	3.96

续表2

序号	农药	$t_R$ /min	定量离子对	CE1/ eV	定性离子对	CE2/ eV	标准曲线	$r$	LOQ/ mg·kg <sup>-1</sup>	回收率/%	回收率RSD/%
46	杀螟硫磷	31.141	277.0>260.0	6	277.0>109.1	14	$Y=1\ 013.86X+59.31$	0.998 5	0.010	82.5	11.24
47	马拉硫磷	31.111	173.1>99.0	14	173.1>127.0	6	$Y=2\ 430.19X+1\ 286.13$	0.998 6	0.010	87.9	5.57
48	氟虫腈*	31.332	366.9>212.9	35	366.9>332.0	20	$Y=1\ 195.11X+132.21$	0.998 6	0.010	82.6	3.75
49	对硫磷*	31.473	290.9>109.0	25	290.9>80.9	30	$Y=267.25X - 78.41$	0.998 7	0.020	75.5	2.98
50	三氯杀螨醇*	32.053	250.0>139.0	15	250.0>215.0	5	$Y=2\ 689.08X+1\ 332.08$	0.998 0	0.010	85.3	6.47
51	二甲戊灵	32.440	252.1>162.1	10	252.1>191.1	8	$Y=648.06X+260.36$	0.998 2	0.010	94.5	10.24
52	甲基异柳磷*	32.654	240.9>198.8	5	240.9>166.7	10	$Y=990.29X+391.52$	0.999 9	0.010	79.1	5.85
53	倍硫磷	32.578	278.0>109.0	20	278.0>125.0	20	$Y=1\ 696.38X+994.27$	0.998 4	0.010	88.2	4.73
54	氟节胺	32.704	404.0>143.0	18	404.0>157.0	35	$Y=997.01X+18.68$	0.999 4	0.010	81.9	8.46
55	异柳磷	33.044	213.0>121.0	17	213.0>185.0	8	$Y=3\ 120.52X+1\ 088.75$	0.999 1	0.010	93.2	2.90
56	噻菌环胺	33.467	224.1>208.1	16	224.1>197.1	22	$Y=3\ 040.49X+1\ 865.9$	0.996 9	0.010	88.2	6.41
57	水胺硫磷*	33.655	135.7>107.9	15	120.7>64.9	20	$Y=6\ 433.34X+2\ 581.19$	0.997 2	0.020	83.6	9.43
58	丁草胺	33.659	176.0>147.0	13	176.0>134.0	13	$Y=1\ 406.57X+56.63$	0.999 3	0.050	91.2	10.75
59	三唑醇	34.067	168.1>70.0	10	168.1>112.1	4	$Y=3\ 715.62X+2\ 059.27$	0.998 3	0.010	93.7	11.03
60	腐霉利	34.344	283.0>96.0	10	283.0>255.0	12	$Y=1\ 617.03X+667.71$	0.999 6	0.010	92.9	6.85
61	$\alpha$ -硫丹*	34.480	240.8>205.6	15	240.8>169.8	25	$Y=1\ 252.45X+213.32$	0.998 9	0.010	83.6	8.49
62	菌核净	34.997	243.0>187.0	10	243.0>215.0	6	$Y=1\ 086.07X+196.80$	0.999 6	0.020	93.4	5.80
63	丙草胺	35.381	262.1>202.1	10	262.1>174.1	18	$Y=1\ 830.37X+1\ 056.36$	0.998 0	0.010	82.9	5.08
64	氟虫腈砒*	35.674	383.0>255.1	22	383.0>213.0	32	$Y=1\ 789.37X+501.58$	0.998 8	0.010	81.3	7.61
65	噁草酮	35.708	258.0>175.0	8	258.0>112.0	28	$Y=2\ 528.97X+1\ 380.12$	0.998 7	0.020	81.3	8.26
66	噻唑酰胺	35.976	448.9>428.9	20	448.9>402.0	34	$Y=1\ 499.05X+369.52$	0.998 2	0.010	91.1	11.12
67	$p,p'$ -滴滴伊*	36.369	245.8>175.9	30	245.8>220.0	25	$Y=10\ 352.28X+7\ 198.07$	0.998 2	0.010	83.3	4.87
68	狄氏剂*	36.482	276.8>240.7	10	276.8>169.7	35	$Y=858.47X+207.16$	0.998 7	0.010	82.6	8.00
69	吡氟禾草灵	36.409	282.0>238.0	18	282.0>91.0	20	$Y=1\ 560.24X+952.16$	0.997 5	0.020	91.2	6.78
70	乙氧氟草醚	36.620	361.0>300.1	12	361.0>252.1	23	$Y=1\ 177.45X - 263.16$	0.999 5	0.020	83.3	6.36
71	氟酰胺	36.836	173.0>145.0	14	173.0>95.0	26	$Y=7\ 725.60X+4\ 164.44$	0.998 4	0.010	82.6	3.72
72	丙溴磷	37.185	336.9>266.9	14	336.9>308.9	6	$Y=1\ 105.77X+457.41$	0.998 8	0.010	89.8	6.58
73	$o,p'$ -滴滴涕*	37.879	234.9>164.9	25	237.0>165.0	20	$Y=1\ 169.86X+1\ 330.82$	0.991 1	0.010	89.7	5.21
74	虫螨腈	37.810	247.1>227.0	16	247.1>200.0	24	$Y=770.21X+472.71$	0.994 9	0.010	92.4	8.90
75	甲基硫环磷*	38.443	226.9>91.9	10	226.9>167.8	10	$Y=339.02X+21.39$	0.999 6	0.020	80.7	9.37
76	异狄氏剂	38.628	262.9>191.0	30	262.9>193.0	28	$Y=444.26X+258.54$	0.997 6	0.020	91.5	7.40
77	烯啶醇	39.195	268.0>232.0	12	268.0>149.0	24	$Y=2\ 320.54X+884.90$	0.998 8	0.010	90.5	5.24
78	除草醚*	39.568	201.8>138.7	28	282.8>201.8	15	$Y=1\ 460.51X+279.71$	0.998 9	0.010	77.5	9.90
79	苯氧菌酯	39.864	206.1>116.1	7	206.1>131.1	14	$Y=1\ 049.81X+514.63$	0.996 9	0.020	80.7	3.71
80	$p,p'$ -滴滴涕*	40.206	234.9>164.9	25	237.0>164.9	25	$Y=16\ 826.0X+10\ 957.65$	0.997 1	0.010	79.6	4.12
81	稻瘟灵	40.112	290.1>118.0	14	290.1>204.1	6	$Y=791.44X+230.94$	0.996 5	0.010	91.5	5.99
82	咯菌腈	40.275	248.0>182.0	14	248.0>154.0	20	$Y=2\ 252.19X+595.76$	0.996 7	0.010	90.5	6.04
83	$\beta$ -硫丹*	40.440	194.8>158.9	10	194.8>124.7	30	$Y=982.56X - 2.01$	0.996 6	0.020	85.7	4.96
84	$p,p'$ -滴滴涕*	41.834	234.9>164.9	25	234.9>198.9	18	$Y=11\ 134.95X+2\ 531.32$	0.999 2	0.010	74.1	8.30
85	丙环唑	42.439	259.0>69.0	14	259.0>191.0	8	$Y=1\ 882.43X+908.10$	0.998 1	0.010	83.2	8.69
86	抑食肼	42.536	240.1>105.1	12	240.1>77.1	27	$Y=731.37X+277.58$	0.998 9	0.010	92.2	10.89
87	联苯菊酯	42.752	181.1>166.1	12	181.1>153.1	8	$Y=1\ 1485.71X+7\ 435.14$	0.998 6	0.010	94.1	8.83
88	硫丹硫酸酯*	43.330	271.8>236.7	15	271.8>140.8	40	$Y=3\ 106.46X+727.53$	0.999 2	0.010	85.8	7.78
89	倍硫磷亚砒	43.350	278.0>109.0	20	278.0>153.0	11	$Y=584.68X+109.99$	0.998 4	0.010	77.5	8.69
90	倍硫磷砒	43.565	310.0>105.0	17	310.0>136.0	18	$Y=513.86X - 137.54$	0.999 8	0.010	93.4	7.81
91	三唑磷	44.312	257.0>162.0	8	257.0>134.0	22	$Y=1\ 311.29X+596.61$	0.998 8	0.010	79.7	10.61

续表2

序号	农药	$t_R$ /min	定量离子对	CE1/ eV	定性离子对	CE2/ eV	标准曲线	$r$	LOQ/ mg·kg <sup>-1</sup>	回收率/%	回收率RSD/%
92	噁霜灵	44.380	163.1>132.1	8	163.1>117.1	24	$Y=3\ 193.66X+1\ 667.02$	0.997 5	0.020	91.6	4.46
93	溴螨酯	44.530	340.9>182.9	18	340.9>184.9	20	$Y=2\ 748.03X+1\ 373.64$	0.998 4	0.010	83.2	7.73
94	甲氧菊酯	45.122	265.1>210.1	12	265.1>172.1	14	$Y=733.15X+261.50$	0.996 9	0.020	85.6	7.43
95	异菌脲	45.282	314.0>245.0	12	314.0>56.0	22	$Y=511.17X+205.14$	0.995 5	0.020	85.7	11.40
96	胺菊酯	46.344	164.1>107.1	14	164.1>135.1	8	$Y=3\ 005.42X+1\ 270.92$	0.997 0	0.020	74.1	10.62
97	三氟氯氰菊酯	46.683	197.0>161.0	8	197.0>141.0	12	$Y=1\ 047.93X+150.21$	0.998 3	0.010	96.4	8.72
98	灭蚊灵	46.980	271.8>236.8	18	271.8>141.0	30	$Y=4\ 581.84X+1\ 585.19$	0.998 7	0.010	92.9	7.56
99	环嗪酮	47.026	171.1>71.0	16	171.1>85.0	16	$Y=3\ 310.49X+1\ 858.67$	0.996 6	0.010	90.5	6.02
100	氰氟草酯	48.139	357.1>256.1	10	357.1>229.1	14	$Y=3\ 282.74X+1\ 155.82$	0.997 8	0.010	89.0	6.71
101	乙羧氟草醚	49.153	447.0>345.0	7	447.0>223.1	17	$Y=65.80X-32.68$	0.998 4	0.010	92.2	5.06
102	氯菊酯	50.839	183.1>168.1	14	183.1>165.1	14	$Y=2\ 565.86X+1\ 123.58$	0.997 9	0.020	94.2	3.06
103	精噁唑禾草灵	50.891	361.1>288.1	12	361.1>261.1	12	$Y=1\ 613.44X+690.97$	0.996 4	0.010	75.4	7.96
104	氟氯氰菊酯	52.544	226.1>206.1	14	226.1>199.1	6	$Y=441.05X+84.911$	0.994 8	0.030	91.4	5.39
105	蝇毒磷*	53.583	361.8>108.9	16	361.8>225.8	14	$Y=1\ 173.71X+618.15$	0.995 2	0.010	74.6	9.87
106	氯氰菊酯	53.964	163.1>127.1	8	163.1>128.1	8	$Y=6\ 058.21X+924.44$	0.998 4	0.020	88.6	4.35
107	醚菊酯	55.376	163.1>135.1	10	163.1>107.1	18	$Y=17\ 175.19X+13\ 461.95$	0.997 2	0.010	94.7	5.36
108	精噻禾灵	55.640	372.1>299.1	14	372.1>272.1	10	$Y=3\ 187.54X+1\ 709.95$	0.995 8	0.010	90.7	5.50
109	氰戊菊酯	56.964	419.1>225.1	6	419.1>167.1	12	$Y=532.15X-12.96$	0.998 1	0.005	93.2	1.51
110	啶酰菌胺	57.224	342.1>140.1	14	342.1>112.1	28	$Y=1\ 154.83X+993.76$	0.995 5	0.020	82.2	7.24
111	溴氰菊酯	59.164	252.9>93.0	20	252.9>171.9	8	$Y=643.43X-86.80$	0.995 8	0.030	90.7	10.03
112	苯醚甲环唑	59.515	323.0>265.0	14	323.0>202.0	28	$Y=2\ 828.09X-1\ 231.42$	0.998 1	0.002	83.3	5.89
113	啉菌酯	62.964	344.1>183.1	24	344.1>329.1	16	$Y=608.83X+166.97$	0.996 9	0.030	86.0	3.05

注：\*表示禁用农药。

## 2.2 溶液的制备

**2.2.1 混合对照品溶液的制备** 根据对照品质谱上的响应丰度值确定混合对照品溶液中该指标的质量浓度，乙腈定容，贮藏在 $-20\ ^\circ\text{C}$ 冰箱中备用。100种农药中包括19种禁用农药，其中禁用农药在混合对照品溶液中质量浓度为 $100\sim 1000\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，其余农药在混合对照品溶液中质量浓度为 $500\sim 1000\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

**2.2.2 分析保护剂的配制** 取核糖酸内酯 $0.5\ \text{g}$ ，加乙腈 $25\ \text{mL}$ 使溶解（A液， $20\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ）；另取山梨醇 $0.25\ \text{g}$ ，加水 $12.5\ \text{mL}$ 溶解，加乙腈至 $25\ \text{mL}$ （B液， $10\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ）。A、B溶液合并，摇匀，即得。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 精密称取供试品粉末 $5\ \text{g}$ ，置 $100\ \text{mL}$ 试管中，加氯化钠 $1\ \text{g}$ ，精密加入乙腈 $50\ \text{mL}$ ， $12\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 匀浆处理 $3\ \text{min}$ ， $3500\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 $10\ \text{min}$ （离心半径为 $93\ \text{mm}$ ），分取上清液，沉淀加乙腈 $40\ \text{mL}$ ，匀浆 $2\ \text{min}$ ， $3500\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 $10\ \text{min}$ （离心半径为 $93\ \text{mm}$ ），合并2次提取的上清液， $50\ ^\circ\text{C}$ 减压浓缩至 $3\sim 5\ \text{mL}$ ，用乙腈转移并定容至 $25\ \text{mL}$ 量

瓶中，摇匀，即得。

**2.2.4 空白基质溶液的制备** 取空白样品粉末约 $5\ \text{g}$ ，精密称定，置 $100\ \text{mL}$ 试管中，按2.2.3项下方法制备空白基质溶液。

**2.2.5 基质混合对照品溶液的制备** 分别精密量取混合对照品溶液适量，加空白基质溶液制成含各对照品为不同浓度系列的基质匹配混合对照品溶液（以甲基对硫磷记，质量浓度梯度为 $2$ 、 $4$ 、 $10$ 、 $30$ 、 $40\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ）。

## 2.3 样品测定

分别精密量取各质量浓度基质混合对照品溶液及供试品溶液各 $1.0\ \text{mL}$ ，精密加入分析保护剂溶液 $0.3\ \text{mL}$ ，混匀， $0.22\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤。精密吸取上述溶液各 $1\ \mu\text{L}$ 注入GC-MS/MS测定。按标准曲线法计算供试品中100种农药残留量，基质匹配混合对照品的GC-MS/MS测定总离子流图见图1。

## 2.4 方法学验证

**2.4.1 标准曲线与定量限** 取不同质量浓度的基质

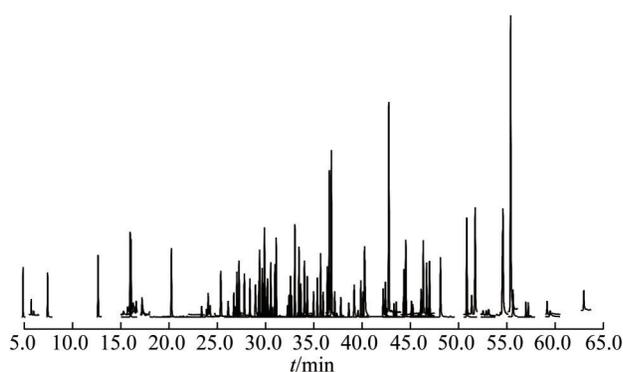


图1 GC-MS/MS测定何首乌空白基质匹配的  
100种农药总离子流图

混合对照品溶液，注入仪器，以各成分的质量浓度为横坐标 ( $X$ )、各成分峰面积为纵坐标 ( $Y$ )，绘制标准曲线。结果表明，各农药对照品线性  $r$  均大于 0.991。表明线性关系良好。取混合对照品溶液，梯度稀释后按 2.3 项下方法进样测定，以相关定量离子信噪比 ( $S/N$ ) 为 10:1 时的质量浓度为仪器定量限，根据供试品溶液质量浓度计算方法定量限，结果见表 2。

**2.4.2 回收率和重现性试验** 取何首乌空白样品粉末 5 g，加入适量的混合对照品溶液，按 2.2、2.3 项下方法制备供试品溶液并测定。如表 2 所示，平均加样回收率为 70.4%~107.4% (以甲基对硫磷为例，添加水平为  $0.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )，RSD 均小于 11.40%，符合农药残留测定要求。

## 2.5 测定结果

对 53 批何首乌中的 100 种农药进行了筛查，上述 100 种农药均未检出。

## 3 讨论

### 3.1 农药参数的选择

自《中国药典》2020 年版执行以来，在“0212 药材和饮片检定通则”中增加了植物源性药材及饮片中 33 种禁用农药的限度规定<sup>[9]</sup>，在“2341 农药残留量测定法”中主要采用 GC-MS/MS 和 LC-MS/MS 对这些参数进行测定。本研究在进行参数选择时，首先选择了大部分可用 GC-MS/MS 测定的禁用农药，对何首乌中是否存在高风险农药进行筛查；其次，通过查阅文献拟定了中药中常用的农药，尤其是针对何首乌栽培过程中可能存在的农药残留 (如检测参数中包括 20 余种有机氯类农药，主要是因为

何首乌多在 3~4 年后收获块根，若土壤中存在不易降解的有机氯类农药，可能会对药材造成污染)。前期已有报道发现，在人参<sup>[10]</sup>、三七<sup>[11]</sup>中多存在六六六、滴滴涕等农药，而在 20 世纪 90 年代，此类农药在我国已明令禁止使用，药材中检出主要源于土壤污染。在何首乌中农药残留研究的初期报道中，亦在多批次何首乌中检出六六六、滴滴涕及五氯硝基苯等农药<sup>[6-7]</sup>。此外，通过查阅相关书籍，总结出何首乌病虫害主要包括叶斑病、轮纹病、异色柱萤叶甲、茶黄蓟马等，防治病害时多用甲基托布津、多菌灵、百菌清及代森锰锌等喷射植株；防治虫害多用氯氰菊酯、溴氰菊酯、吡虫啉等农药<sup>[12-13]</sup>。在本方法检测参数中亦包括了百菌清、氯氰菊酯、溴氰菊酯等 GC-MS/MS 可测定的参数。

### 3.2 前处理的选择

对何首乌生品及制品的前处理条进行了考察和优化，包括乙腈高速匀浆直接提取及提取后采用 HLB 柱进行净化。从回收率结果来看，3 种净化方法回收率均为 60%~120%，符合实验要求。何首乌为块根，基质较为简单，本研究采用直接提取法基本可满足分析要求。此法操作简便、成本低、提高了农药分析的效率。但值得注意的是，采用此法进行多批次样品检测时，仪器端流入成分增加，可能会对仪器造成一定污染，故在实验过程中应注意仪器的维护保养。建议根据观察基质标液的响应值变化推测进样口端及仪器的状态，从而进行有效维护。

### 3.3 分析保护剂的使用

基质效应 (matrix effect) 广泛存在于农药残留测定中，是指样品中目标分析物以外的组分对目标分析物分析过程的离子化产生的抑制与增强作用<sup>[14]</sup>，极大地影响了实验结果的准确性。采用 GC-MS/MS 进行农药残留检测时基质效应会增强。目前，改善基质效应的主要方法有空白基质匹配标准溶液、样品净化、同位素内标、分析保护剂、标准加入法等<sup>[15]</sup>。《中国药典》2020 年版“2341 农药残留量测定法”中主要采用空白基质匹配法校正基质效应<sup>[9]</sup>，本研究亦采用此方法对农药残留量进行定量分析。但在进行基质匹配时发现，部分农药色谱峰仍存在峰拖尾、响应值不高的问题，故本方法测定时在样品和对照品中同时加入了分析保护剂以改善峰形、提高农药的灵敏度。

分析保护剂为Erney等<sup>[16]</sup>于1993年首次提出,是一种模仿基质保护作用的单一化合物或简单混合物。其原理是在溶剂标准溶液和样品溶液中加入保护剂后,可以同等程度地补偿两者的基质效应,进而提高定量的准确性。本课题组于2010年通过对多种潜力化合物的考察,最终选择以核糖酸内酯和山梨醇组合作为农药GC-MS-MS测定的分析保护剂,并首次将其应用于中药农药残留测定中<sup>[17]</sup>。近年来,此分析保护剂组合也在其他品种中药的农药残留测定中得到广泛应用,验证了其有效性。例如,在陈皮<sup>[18]</sup>、白茅根<sup>[19]</sup>、当归<sup>[20]</sup>、麦冬<sup>[21]</sup>中的农药多残留GC-MS/MS测定中,均采用分析保护剂以提高定量准确性。本研究结果亦证明,在加入分析保护剂后,特丁硫磷、水胺硫磷、甲草胺和丁草胺等峰形得到明显改善。

#### 4 小结

本研究建立的方法适用于何首乌(生品和制品)中100种农药残留的GC-MS/MS检测,对何首乌中农药监测有一定参考价值。同时,采用此方法完成了53批何首乌中农药残留筛查,样品代表性较好,反映了不同产地、生制品何首乌中农药污染真实情况。通过测定发现,53批样品中均未检出此100种农药,初步表明何首乌中农药残留带来的药用风险性较小,对进一步了解何首乌药用安全提供了充分数据。

#### 参考文献

- [1] 吴成胜,孙蓉.何首乌临床研究进展与安全应用思考[J].中国中药杂志,2017,42(2):259-263.
- [2] 郭延丽,唐瑜,刘巧,等.何首乌及其主要成分肝毒性机制的研究进展[J].药物评价研究,2021,44(10):2252-2261.
- [3] 朱云,刘树红,王伽伯,等.何首乌及其制剂导致药物性肝损伤的临床分析[J].中国中西医结合杂志,2015,35(12):1442-1447.
- [4] 汪祺,戴忠,张玉杰,等.何首乌中二萜酮类成分肝毒性研究[J].药物分析杂志,2018,38(2):268-274.
- [5] 王卓,钟凌云,解杨,等.基于“生熟异用”何首乌的研究进展及其质量标志物(Q-Marker)的预测分析[J].中草药,2022,53(3):882-897.
- [6] 梁秋平,梁燕云,郭结晓,等.GC-ECD测定中药何首乌、栀子有机氯农药残留量[J].北方药学,2013,10(8):8-9.
- [7] 周洪波,房志坚,杨立伟,等.固相萃取-GC-MS联用法测定何首乌中有机氯农药残留量[J].中国药房,2010,21(19):1777-1778.
- [8] 张莉,李静,王玉,等.GC-FPD同时测定制何首乌中26种有机磷农药残留量的研究[J].北方药学,2012,9(12):2-3.
- [9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[M].北京:中国医药科技出版社,2020:30.
- [10] 王莹,王赵,岳志华,等.国产人参中农药残留风险评估[J].中国中药杂志,2019,44(7):1327-1333.
- [11] 郑凯,郭兰萍,张小波,等.三七农药残留研究进展[J].中国中药杂志,2022,47(6):1438-1444.
- [12] 陈君,丁万隆,程慧珍.药用植物保护学[M].北京:电子工业出版社,2019.
- [13] 杨琳,李娟,曾令祥.何首乌主要病虫害防治技术[J].农技服务,2014,31(8):98-101.
- [14] 熊颖,李纯,任晋,等.SPE-LC-MS/MS和SPE-GC-MS/MS测定绞股蓝中109种农药残留[J].中南药学,2020,18(12):2044-2049.
- [15] 徐炎炎,李森,张芹,等.气质联用和液质联用中基质效应的分析和总结[J].农药,2017,56(3):162-167.
- [16] ERNEY D R, POOLE C F. A study of single compound additives to minimize the matrix induced chromatographic response enhancement observed in the gas chromatography of pesticide residues [J]. J High Resolut Chromatogr, 1993, 16(8), 501-503.
- [17] WANG Y, JIN H Y, MA S C, et al. Determination of 195 pesticide residues in Chinese herbs by gas chromatography-mass spectrometry using analyte protectants [J]. J Chromatogr A, 2010, 1218(2): 334-342.
- [18] 吕盼,张飞,侯俊杰,等.GC-MS/MS检测陈皮药材中179种农药残留[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(16):34-42.
- [19] 陈晶,王京辉,李纯,等.GC-MS/MS法和LC-MS/MS法对玉竹根茎和白茅根茎中224种农药多残留的测定[J].药物分析杂志,2018,38(11):1960-1973.
- [20] 李安平,贺军权,杨平荣,等.GC-MS/MS法测定当归中禁用农药残留量[J].药物分析杂志,2019,39(8):1463-1482.
- [21] 苟琰,耿昭,吴强,等.气相色谱-串联质谱法检测麦冬中农药残留[J].中国药理学杂志,2018,53(7):555-560.

(收稿日期:2022-01-29 编辑:戴玮)