

可降低分散固相萃取净化管中石墨化炭黑的用量；测定极性较大的农药时，可降低分散固相萃取净化管中硅胶的用量），但须做加样回收试验等必要的方法学考察以确保结果准确。

(8)依据各品种项下规定的农药限量要求，在检测灵敏度满足的情况下，可对供试品溶液进行合理稀释。如省去本法氮吹浓缩步骤，取分散固相萃取净化管上清液直接测定。

(9)部分药材性质特殊，使用本法时，供试品取样量可适当调整，但一般不低于 0.5g。

(10)在进行气相色谱-串联质谱法测定时，为进一步优化方法效能，供试品溶液最终定容的溶剂可由乙腈经溶剂替换为甲苯(经氮吹至近干，加入甲苯 1ml 溶解即可)；在进行液相色谱-串联质谱法测定时，为进一步优化方法效能或部分农药色谱峰峰形，供试品溶液最终定容的溶剂可由乙腈替换为与初始流动相匹配的含水溶液。

(11)对于中成药农药残留量测定而言，可参照本法依样品的具体情况与检测要求经方法验证后取样测定。

第五法 药材及饮片(植物类)中禁用农药多残留测定法

1. 气相色谱-串联质谱法

色谱条件 用(50%苯基)-甲基聚硅氧烷为固定液的弹性石英毛细管柱(柱长为 30m, 柱内径为 0.25mm, 膜厚度为 0.25 μ m)。进样口温度 250℃, 不分流进样。载气为高纯氦气(He)。进样口为恒压模式, 柱前压力为 146kPa。程序升温: 初始温度 60℃, 保持 1 分钟, 以 30℃/min 升至 120℃, 再以每分钟 10℃的速率升温至 160℃, 再以每分钟 2℃的速率升温至 230℃, 最后以每分钟 15℃的速率升温至 300℃, 保持 6 分钟。

质谱条件 以三重四极杆串联质谱仪检测; 离子源为电子轰击源(EI), 离子源温度 250℃。碰撞气为氮气或氩气。质谱传输接口温度 250℃。质谱监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物参考保留时间、监测离子对、碰撞电压(CE)见表 6。为提高检测灵敏度, 可根据保留时间分段监测各农药。

2. 高效液相色谱-串联质谱法

色谱条件 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(柱长 10cm, 内径为 2.1mm, 粒径为 2.6 μ m); 以 0.1%甲酸溶液(含 5mmol/L 甲酸铵)为流动相 A, 以乙腈-0.1%甲酸溶液(含 5mmol/L 甲酸铵)(95:5)为流动相 B, 按下表 5 进行梯度洗脱; 流速为每分钟 0.3ml, 柱温为 40℃。

表 5 流动相梯度

时间(分钟)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0~1	70	30
1~12	70→0	30→100
12~14	0	100

质谱条件 以三重四极杆串联质谱仪检测; 离子源为电喷雾(ESI)离子源, 正离子扫描模式。监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物参考保留时间、监测离子对、碰撞电压(CE)见表 7。为提高检测灵敏度, 可根据保留时间分段监测各农药。

3. 对照溶液的制备

3.1 混合对照品溶液的制备 精密量取禁用农药混合

对照品溶液(已标示各相关农药品种的浓度)1ml, 置 20ml 量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀, 即得。

3.2 气相色谱-串联质谱法分析用内标溶液的制备 取磷酸三苯酯对照品适量, 精密称定, 加乙腈溶解并制成每 1ml 含 1.0mg 的溶液, 即得。精密量取适量, 加乙腈制成每 1ml 含 0.1 μ g 的溶液。

3.3 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。

3.4 基质混合对照溶液的制备 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 μ l、20 μ l、50 μ l、100 μ l、150 μ l、200 μ l, 加乙腈稀释至 1ml, 涡旋混匀, 即得。

4. 供试品溶液的制备

4.1 直接提取法

取供试品粉末(过三号筛)5g, 精密称定, 加氯化钠 1g, 立即摇散, 再加入乙腈 50ml, 匀浆处理 2 分钟(转速不低于每分钟 12000 转), 离心(每分钟 4000 转), 分取上清液, 沉淀再加乙腈 50ml, 匀浆处理 1 分钟, 离心, 合并两次提取的上清液, 减压浓缩至约 3~5ml, 放冷, 用乙腈稀释至 10.0ml, 摇匀, 即得。

4.2 快速样品处理法(QuEChERS)法

取供试品粉末(过三号筛)3g, 精密称定, 置 50ml 聚苯乙烯具塞离心管中, 加入 1%冰醋酸溶液 15ml, 涡旋使药粉充分浸润, 放置 30 分钟, 精密加入乙腈 15ml, 涡旋使混匀, 置振荡器上剧烈振荡(500 次/分)5 分钟, 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/分)3 分钟, 于冰浴中冷却 10 分钟, 离心(每分钟 4000 转)5 分钟, 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 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/分)5 分钟使净化完全, 离心(每分钟 4000 转)5 分钟, 精密吸取上清液 5ml, 置氮吹仪上于 40℃水浴浓缩至约 0.4ml, 加乙腈稀释至 1.0ml, 涡旋混匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

4.3 固相萃取法

固相萃取净化方式包括以下三种

方式一: 量取直接提取法制备的供试品溶液 3~5ml, 置于装有分散型净化材料的净化管[无水硫酸镁 1200mg, N-丙基乙二胺 300mg, 十八烷基硅烷键合硅胶 100mg]中, 涡旋使充分混匀, 再置振荡器上剧烈振荡(500 次/分)5 分钟使净化完全, 离心, 取上清液, 即得。

方式二: 量取直接提取法制备的供试品溶液 3~5ml, 通过亲水亲油平衡材料(HLB SPE)固相萃取柱(200mg, 6ml)净化, 收集全部净化液, 混匀, 即得。

方式三: 量取直接提取法制备的供试品溶液 2ml, 加在装有石墨化碳黑氨基复合固相萃取小柱(500mg/500mg, 6ml)[临用前用乙腈-甲苯混合溶液(3:1)10ml 预洗], 用乙腈-甲苯混合溶液(3:1)20ml 洗脱, 收集洗脱液, 减压浓

缩至近干,用乙腈转移并稀释至 2.0ml,混匀,即得。

5. 测定法

气相色谱-串联质谱法 分别精密吸取上述的基质混合对照溶液和供试品溶液各 1ml,精密加入内标溶液 0.3ml,混匀,滤过,取续滤液。分别精密吸取上述两种溶液各 1 μ l,注入气相色谱串联质谱仪,按内标标准曲线法计算,即得。

高效液相色谱-串联质谱法 分别精密吸取上述的基质混合对照溶液和供试品溶液各 1ml,精密加入水 0.3ml,混匀,滤过,取续滤液。分别精密吸取上述两种溶液各 1~5 μ l,注入液相色谱-串联质谱仪,按外标标准曲线法计算,即得。

【附注】

(1)根据待测样品基质特点和方法确认结果,选择一种最适宜的供试品溶液制备方法。

(2)本法使用基质匹配标准曲线法定量,空白基质样品为经检测不含待测农药残留的同品种样品。

(3)本法提供的监测离子对测定条件为推荐条件,各实验室可根据样品基质干扰情况和所配置仪器的具体情况对作适当调整,并确定定量离子对。每个监测指标选择不少于 2 个监测离子对。

(4)进行样品测定时,如果检出色谱峰的保留时间与对照品一致,并且在扣除背景后的质谱图中,所选择的 2 个监测离子对均出现,而且所选择的监测离子对峰面积比与对照品的监测离子对峰面积比一致(相对比例 $>50\%$,允许 $\pm 20\%$ 偏差;相对比例 $>20\% \sim 50\%$,允许 $\pm 25\%$ 偏差;相对比例 $>10\% \sim 20\%$,允许 $\pm 30\%$ 偏差;相对比例 $\leq 10\%$,允许 $\pm 50\%$ 偏差),则可判断样品中存在该农药。如果不能确证,选用其他监测离子对重新进样确证或选用其他检测方式的分析仪器来确证,如选用高分辨率质谱等确证手段。

(5)加样回收率应在 70%~120%之间。在满足重复性要求的情况下,部分农药回收率可放宽至 60%~130%。

表 6 各农药及相关化学品、内标化合物保留时间、监测离子对及碰撞电压(CE)参考值(GC-MS/MS 部分)

编号	中文名	英文名	保留时间(min)	母离子(m/z)	子离子(m/z)	CE(V)
1	灭线磷	Ethoprophos	12.4	199.7	157.8	5.0
				199.7	114.0	5.0
				157.8	96.7	20.0
				157.8	113.8	15.0
2	杀虫脍	Chlordimeform	13.0	152.0	117.0	15.0
				196.0	181.0	5.0
3	甲拌磷	Phorate	13.9	260.0	75.0	5.0
				230.8	175.0	10.0
				230.8	128.6	25.0
4	六六六	α -BHC	14.6	181.0	145.0	
		γ -BHC	17.1	218.7	182.9	
		β -BHC	18.9	218.9	147.0	
		δ -BHC	21.0	218.9	111.0	
5	氟虫腈	Fipronil	25.1	367.0	213.0	35
				367.0	255.0	25
				367.0	332.0	15
				351.0	255.0	20
6	氟甲腈	Fipronil-desulfinyl	18.9	388.0	333.0	20
				388.0	281.0	35
7	氟虫腈亚砷	Fipronil-sulfoxide	24.9	420.0	351.0	12
				420.0	255.0	20
8	氟虫腈砷	Fipronil-sulfone	30.9	383.0	255.0	20
				383.0	213.0	32
				452.0	383.0	8
9	艾氏剂	Aldrin	21.2	262.7	192.7	30
				255.0	220.0	20
				262.7	202.7	20
10	狄氏剂	Dieldrin	31.6	276.8	240.7	10
				276.8	169.7	35
				276.8	172.0	35
				263.0	193.0	35

续表

编号	中文名	英文名	保留时间(min)	母离子(m/z)	子离子(m/z)	CE(V)
11	α -硫丹	α -Endosulfan	28.9	240.8	205.6	15
				240.8	170.0	25
				194.8	159.0	10
12	β -硫丹	β -Endosulfan	37.1	194.8	159.0	10
				194.8	124.7	30
				206.8	171.8	15
13	硫丹硫酸酯	Endosulfan Sulfate	41.3	271.8	236.7	15
				273.8	238.9	15
				271.8	141.0	40
14	4,4'-滴滴伊	p,p' -DDE	31.7	271.8	117.0	40
				246.0	176.0	30
				246.0	220.0	15
15	2,4'-滴滴涕	o,p' -DDT	36.1	246.0	210.0	28
				316.0	246.0	25
				235.0	165.0	25
16	4,4'-滴滴滴	p,p' -DDD	37.0	237.0	165.0	25
				235.0	199.0	15
				246.0	176.0	15
17	4,4'-滴滴涕	p,p' -DDT	39.4	235.0	165.0	25
				237.0	165.0	25
				235.0	199.0	18
18	内吸磷	O -Demeton	11.7	88.0	60.0	4
		S -Demeton	15.7	88.0	59.0	20
				88.0	45.0	25
19	久效磷	Monocrotophos	17.6	127.0	109.0	12
				127.0	95.0	16
				127.0	79.0	20
20	特丁硫磷	Terbufos	15.5	230.8	129.0	25
				230.8	203.0	5
				230.8	175.0	13
21	甲基对硫磷	Parathion-methyl	22.8	263.1	109.0	13
				263.1	79.0	35
				263.1	136.0	5
22	对硫磷	Parathion	25.2	291.0	109.0	25
				291.0	81.0	30
				139.0	109.0	10
23	三氯杀螨醇	o,p' -Dicofol	24.2	250.0	139.0	15
		p,p' -Dicofol	25.8	250.0	215.0	5
				139.0	111.0	15
24	甲基异柳磷	Isfenphos-methyl	26.8	241.0	199.0	5
				241.0	166.7	10
				241.0	120.8	20
25	水胺硫磷	Isocarbophos	28.0	135.7	108.0	15
				120.7	65.0	20
				229.7	211.7	10
				121.0	93.0	15

续表

编号	中文名	英文名	保留时间(min)	母离子(m/z)	子离子(m/z)	CE(V)
26	甲基硫环磷	Phosfolan-methyl	34.4	227.0	92.0	10
				227.0	60.0	30
				227.0	167.8	10
				168.0	109.0	15
27	除草醚	Nitrofen	36.1	201.8	138.7	28
				282.8	201.8	15
				282.8	253.0	10
28	蝇毒磷	Coumaphos	47.9	361.8	109.0	16
				361.8	225.8	14
				361.8	81.0	32
29	磷酸三苯酯	Triphenyl phosphate	44.0	326.0	233.0	10
				326.0	215.0	25
				326.0	169.0	30
30	苯线磷	Fenamiphos	33.4	303.1	195.0	25
				303.1	154.0	30
				303.1	122.0	20
31	治螟磷	Sulfotep	13.7	322.0	202.0	20
				322.0	294.0	10
				322.0	174.0	15

表 7 各农药及相关化学品保留时间、监测离子对及碰撞电压(CE)参考值(LC-MS/MS 部分)

编号	中文名	英文名	保留时间(min)	母离子(m/z)	子离子(m/z)	CE(V)
1	甲胺磷	Methamidophos	0.8	142.1	94.1	17
				142.1	125.1	16
2	苯线磷	Fenamiphos	8.8	304.0	217.2	31
				304.0	234.3	28
				304.0	202.0	20
3	苯线磷砒	Fenamiphos-sulfone	5.5	336.0	266.2	27
				336.0	188.3	37
4	苯线磷亚砒	Fenamiphos-sulfoxide	3.2	320.0	233.2	31
				320.0	171.3	31
				320.0	292.1	15
5	地虫硫磷	Fonofos	11.0	247.0	109.1	26
				247.0	137.1	17
6	治螟磷	Sulfotep	11.2	323.0	97.1	51
				323.0	171.2	22
				323.0	115.0	30
7	克百威	Carbofuran	5.3	222.0	123.2	27
				222.0	165.2	14
8	3-羟基克百威	Carbofuran-3-hydroxy	1.6	238.1	163.2	21
				238.1	220.2	13
				238.1	181.1	18
9	胺苯磺隆	Ethametsulfuron-methyl	6.7	411.1	196.3	23
				411.1	168.3	41
10	甲磺隆	Metsulfuron-methyl	5.4	382.0	167.3	22
				382.0	199.2	29
11	氯磺隆	Chlorsulfuron	6.0	358.0	141.3	28
				358.0	167.3	28

续表

编号	中文名	英文名	保留时间(min)	母离子(m/z)	子离子(m/z)	CE(V)
12	硫线磷	Cadusafos	10.6	271.1	131.1	29
				271.1	159.2	21
				271.1	97.1	40
13	氯唑磷	Isazafos	10.3	314.0	162.3	25
				314.0	120.2	41
14	甲拌磷	Phorate	11.2	260.9	75.1	17
				260.9	47.0	53
15	甲拌磷亚砷	Phorate-sulfoxide	6.3	277.0	171.1	16
				277.0	97.1	44
				277.0	143.0	25
				277.0	199.0	15
16	甲拌磷砷	Phorate-sulfone	8.1	293.0	247.1	12
				293.0	115.1	33
				293.0	171.0	28
17	蝇毒磷	Coumaphos	11.1	363.0	227.2	37
				363.0	307.1	28
18	硫环磷	Phosfolan	2.3	256.0	140.1	30
				256.0	168.1	24
19	磷胺	Phosphamidon	3.1	300.0	174.1	25
				300.0	127.1	25
20	涕灭威	Aldicarb	2.9	213.2	89.2	24
				213.2	116.2	17
				208.1	89.2	24
				208.1	116.2	17
				223.1	86.2	18
21	涕灭威砷	Aldicarb-sulfone	1.1	223.1	76.1	15
				240.0	223.0	10
				240.0	86.0	20
				207.1	89.2	17
22	涕灭威亚砷	Aldicarb-sulfoxide	0.8	207.1	132.4	10
				224.1	193.1	15
23	久效磷	Monocrotophos	1.0	224.1	127.1	17
				259.1	89.2	18
24	内吸磷	Demeton	7.5	259.1	61.1	46
				243.2	97.0	25
25	灭线磷	Ethoprophos	9.0	243.2	131.1	30
				321.1	171.2	16
26	特丁硫磷砷	Terbufos-sulfone	9.2	321.1	97.0	55
				305.1	187.2	17
27	特丁硫磷亚砷	Terbufos-sulfoxide	8.0	305.1	97.0	56
				312.0	270.2	23
28	水胺硫磷	Isocarbophos	8.1	312.0	236.2	22
				197.2	46.2	41
29	杀虫脒	Chlordimeform	1.3	197.2	117.2	40
				197.2	152.1	26
				332.2	273.1	13
30	甲基异柳磷	Isofenphos-methyl	10.8	332.2	231.2	16