

# 贝母类药材中农药残留检测方法及其限量标准研究

何成军<sup>1</sup>, 耿昭<sup>1</sup>, 钟恋<sup>1</sup>, 辜冬琳<sup>1</sup>, 金红宇<sup>2</sup>, 王莹<sup>2\*</sup>, 魏锋<sup>2</sup>, 马双成<sup>3</sup>, 杨蕾<sup>1</sup>, 苟琰<sup>1\*</sup> (1. 四川省药品检验研究院, 国家药品监督管理局中成药品质量评价重点实验室, 工业和信息化部产业技术基础公共服务平台, 成都 611731; 2. 中国食品药品检定研究院, 北京 102629; 3. 国家药典委员会, 北京 100061)

**摘要:** **目的** 建立同时测定贝母类药材中登记农药、禁用农药和拟新增禁用农药残留检测方法并提出参考限量值。**方法** 采用乙腈提取、分散固相萃取净化, 结合气相色谱串联质谱联用 (GC-MS/MS) 和液相色谱串联质谱联用 (LC-MS/MS) 技术建立了贝母中 95 种农药残留检测方法, 并对 70 批样品进行测定。**结果** 按照 GB 2763 转化指导原则将贝母中吡虫啉和阿维菌素进行最大残留限量药品标准转化, 同时提出 18 种拟新增禁用农药的参考限量值。**结论** 通过对贝母的研究, 以期对中药标准的转化和禁用农药的增加提供方向和思路, 同时为贝母类药材乃至其他中药的农药残留监管政策和技术发展提供参考。

**关键词:** 贝母; 中药; 串联质谱法; 登记农药; 禁用农药; 限值

**doi:** 10.11669/cpj.2024.16.004 **中图分类号:** R917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-2494(2024)16-1470-08

## Research on Pesticide Residue Detection Methods and Limit Standards in Fritillaria Medicinal Herbs

HE Chengjun<sup>1</sup>, GENG Zhao<sup>1</sup>, ZHONG Lian<sup>1</sup>, GU Donglin<sup>1</sup>, JIN Hongyu<sup>2</sup>, WANG Ying<sup>2\*</sup>, WEI Feng<sup>2</sup>, MA Shuangcheng<sup>3</sup>, YANG Lei<sup>1</sup>, GOU Yan<sup>1\*</sup> (1. NMPA Key Laboratory for Quality Evaluation of Traditional Chinese Medicine (Traditional Chinese Patent Medicine), MIIT Public Service Platforms for Industrial Technological Base, Sichuan Institute for Drug Control, Chengdu 611731, China; 2. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China; 3. Chinese Pharmacopoeia Commission, Beijing 100061, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a method for simultaneous determination of registered pesticides, prohibited pesticides, and proposed new prohibited pesticide residues in Fritillaria Medicinal Herbs, and propose reference limits. **METHODS** The detection method for 95 pesticide residues in Fritillaria Medicinal Herbs was established using GC-MS/MS and LC-MS/MS. The prepared samples were extracted with acetonitrile and then purified with the QuEChERS method. A total of 70 batches of samples were detected by the established method. **RESULTS** According to the GB 2763 conversion guidelines, imidacloprid and avermectin in Fritillaria Medicinal Herbs should be converted to the maximum residue limit (MRL) standards. Additionally, reference limit values are proposed for the 18 prohibited pesticides that were previously suggested for addition. **CONCLUSION** The study of Fritillaria Medicinal Herbs aims to offer guidance and inspiration for the transformation of traditional Chinese medicine standards and the expansion of the list of banned pesticides. It also provides a reference for the regulatory policies and technological advancements related to pesticide residue management in Fritillaria Medicinal Herbs and other traditional Chinese medicines.

**KEY WORDS:** Fritillaria Medicinal Herbs; traditional Chinese medicine; MS/MS; registered pesticide; prohibited pesticide; limit value

贝母类药材主要来源于百合科贝母属 (*Fritillaria* L.) 植物的干燥鳞茎, 为常用中药, 具有悠久的药用历史, 最早记载于《神农本草经》, 列为中品<sup>[1-2]</sup>。现行的《中国药典》2020 年版中收录了川贝母、平贝母、伊贝母、浙贝母和湖北贝母 5 个品种, 广泛用于治疗咳嗽、痰多等呼吸系统疾病<sup>[3-5]</sup>。

近年来, 随着中药市场需求的增加和农业现代化进程的推进, 川贝等贝母类药材的种植面积亦逐渐扩大。为确保提高产量, 贝母类药材生产中农药的使用变得越发普遍<sup>[6-7]</sup>。然而, 不恰当地使用农药可能会导致残留问题, 对人体健康造成威胁, 并带来潜在的安全风险, 因此, 需要严格监管农药的使用。

**基金项目:** 国家药品监督管理局药品监管科学体系建设重点项目资助 (RS2024Z006-110); 四川省中医药管理局科学技术研究专项课题资助 (2023MS415); 四川省药品监督管理局科技计划项目资助 (2022008); 2024 年度国家药品标准制定研究课题资助 (2024Z01, 2024Z02); 药品监管科学全国重点实验室课题资助 (2023SKLDRS0103)

**作者简介:** 何成军, 男, 硕士, 工程师 研究方向: 中药质量及安全研究  
控制及有害残留检测 Tel: (010)53852484; 苟琰, 女, 硕士, 主任中药师

**\* 通讯作者:** 王莹, 女, 博士, 副研究员 研究方向: 中药质量控  
研究方向: 中药质量与标准研究 Tel: (028)87877195

贝母类药材具有较长的生长周期,并且通常生长在特定的生态环境中,因而对农药的选择有较为严格的要求。当前市场上针对贝母类药材注册的农药产品仅包括 10 个品种,共 15 个有效成分,这限制了农药选择的范围,一些药农可能会不规范地使用未登记农药。目前,除了《中国药典》2020 年版四部通则“0212 药材和饮片检定”下对植物类药材及饮片中的禁用农药统一规定外,并没有专门针对贝母类药材种植过程中常用农药残留量制定检查项目,尤其是 15 个已经注册的农药成分。禁用农药原则上不得检出,而常用农药残留限量的设定一般需要遵循农业农村部发布的《食品中农药最大残留限量制定指南》,其制定过程复杂,且难以在短时间内完成。

《GB 2763 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》(以下简称《GB 2763》)是我国卫生健康委员会、农业农村部、国家市场监督管理总局共同发布的强制性国家标准,涉及食品中的农药最大残留量(maximum residue limit, MRL)<sup>[8]</sup>。该标准仍在不断发展和完善中,其中关于贝母类药材的农药指标包括了吡虫啉和阿维菌素。依据课题组前期提出的“《GB 2763》中药品种限量标准转化原则”<sup>[9]</sup>和《中国药典》2020 年版通则“9302 中药有害残留物限量制定指导原则”,结合当前实际情况和科学合理的原则,开展《GB 2763》中贝母类药材的农药 MRL 标准的转化工作显得尤为必要。此外,我国的禁用农药名录也在不断更新和调整,随着研究的深入,某些当前允许使用的农药可能因对生态系统或公共健康的潜在负面影响而需重新分类或禁用。课题组梳理了国内外最新的相关规定和国际公约<sup>[10-11]</sup>,初步确定了可能新增的 18 种禁用农药,共 25 个指标。基于已有的数据,本研究建立了气相色谱串联质谱联用(GC-MS/MS)和液相色谱串联质谱联用(LC-MS/MS)技术的检测方法,并对包含《中国药典》2020 年版 5 个品种的 70 批次贝母类药材样品进行了筛查。通过研究,初步拟定针对贝母类药材中禁用农药和常用农药的限量标准及配套检测方法,为 GB 2763 标准和中药标准的转化提供思路,同时为贝母类药材及其他中药的农药残留监管政策和技术发展提供参考。

## 1 农药指标的确定

### 1.1 贝母登记农药及转化指标的确定

登记农药的检测指标的选择主要根据中国农药

信息网农药登记数据中心查询结果:截至 2024 年 3 月,我国登记为贝母使用且在有效期内的农药涉及 10 个产品,包括二嗪磷等 15 个农药有效成分。其中,杀虫剂 5 个有效成分,主要防治蛴螬虫等地下虫;杀菌剂 10 个有效成分,主要防治黑斑病等。按照 GB 2763-2021 附录 A 分类,贝母属于药用植物类,包括干品和鲜品。《中国药典》2020 年版中收录的贝母药材均为干品。贝母登记农药有效成分中,吡虫啉和阿维菌素在 GB 2763-2021 中贝母(干)的 MRLs 值均为  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。按照课题组前期制定的标准转化原则,对贝母中的吡虫啉和阿维菌素限量值进行转化。

### 1.2 禁用农药和拟新增禁用农药指标的确定

《中国药典》2020 年版在通则 0212 中对植物类药材及饮片中的 33 种禁用农药作出了一致性限度规定。结合国内外最新的相关规定和国际公约<sup>[10-11]</sup>,初步确认了可能新增的 18 种 25 个禁用农药指标,见表 1。

### 1.3 农药化合物测定仪器的选择

《中国药典》2020 年版在通则 2341 中第五法对 33 种禁用农药(55 个农药化合物)给出了通用性检测方法,31 个化合物采用 GC-MS/MS 检测,30 个化合物采用 LC-MS/MS 检测。由于中药品种繁多并且每种中药的基质复杂性,这些因素都可能在检测过程中导致基质干扰,从而影响结果的准确性。为减少基质干扰并提高结果的准确性,建立方法时会尽量多的化合物能通过 GC-MS/MS 和 LC-MS/MS 同时进行检测。以利用两种不同技术的互补性,增强方法对不同中药基质中特定化合物的抗干扰能力,并实现相互验证,确保检测结果的可靠性。因此,本方法根据农药化合物的性质、响应、峰形等因素综合考虑,确定了方法中 19 个化合物同时通过 GC-MS/MS 和 LC-MS/MS 进行检测,具体化合物见表 2。

## 2 材料与试剂

赛默飞 TSQ Altis Plus 型超高效液相色谱-串联三重串联四极杆质谱仪(美国赛默飞公司);TQ 8040 型气相色谱串联三重串联四极杆质谱仪(日本岛津公司);MS3 digital 型涡旋振荡器(德国 IKA 公司);3-30k 型离心机(德国 Sigma 公司);Millipore Q 纯水系统(美国 Millipore 公司)。

55 个禁用农药对照品溶液(中国食品药品检定研究院);25 个拟新增禁用农药和 15 个登记农药对照品溶液(阿尔塔科技有限公司);WondaPak

表 1 《中国药典》2025 年版拟新增禁用农药

Tab. 1 Proposed addition of prohibited pesticide in the 2025 edition of the Chinese Pharmacopoeia

No.	Pesticide	Residues	Forbidden date
1	Methidathion	Methidathion	2019-11-29
2	2,4-D-Butyl ester	2,4-D-butyl ester	2023-01-23
3	Methomyl	Methomyl	2019-11-29
4	Omethoate	Omethoate	2019-11-29
5	Dimethoate	Dimethoate	2019-08-01
6	Acephate	Acephate	
7	Carbosulfan	Carbosulfan	
8	Octachlorodipropyl ether	Octachlorodipropyl ether	2008-01-01
9	Sulfuramid	Sulfuramid	2020-01-01
10	Chlordane	The sum of <i>cis</i> -chlordane, <i>trans</i> -chlordane, and oxy-chlordane, expressed as chlordane	2009-05-17
11	Mirex	Mirex	
12	Hexachlorobenzene	Hexachlorobenzene	
13	Chlorobenzilate	Chlorobenzilate	2005-06-20
14	Heptachlor	The sum of heptachlor, <i>cis</i> -heptachlor epoxide, and <i>trans</i> -heptachlor epoxide, expressed as heptachlorine	2004-11-11
15	Endrin	The sum of endrin, endrin aldehyde, and endrin ketone, expressed as endrin	
16	Chlorpyrifos	Chlorpyrifos	2016-12-31
17	Triazophos	Triazophos	
18	Fenvalerate	The sum of fenvalerate and <i>S</i> -fenvalerate, expressed as fenvalerate	2002-05-24

QuEChERS 醋酸钠提取管和 WondaPak QuEChERS 15 mL C<sub>18</sub>/PSA/GC-e/硅胶净化包(日本岛津公司);甲醇、乙腈为色谱级;甲酸、甲酸铵为质谱级;水为超纯水;冰乙酸为分析纯。

### 3 方法

#### 3.1 GC-MS/MS 分析条件

弹性石英毛细管柱(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm) Agilent DB-17MS;进样口温度:240 °C,不分流进样;

载气为高纯氦气;进样口为恒流模式,流速为 1.2 mL · min<sup>-1</sup>。程序升温:初始温度 60 °C,保持 0.75 min,以 30 °C · min<sup>-1</sup> 升至 170 °C,再以 2 °C · min<sup>-1</sup> 升至 230 °C,再以 15 °C · min<sup>-1</sup> 升至 300 °C,保持 6 min。三重四极杆检测器;离子源为电子轰击源(EI),70 eV;离子源温度 200 °C;碰撞气为氩气;质谱传输接口温度 250 °C;质谱监测模式:多反应监测(MRM),优化后的各农药化合物的参考保留时间、监测离子对、碰撞电压(CE)见表 2。

表 2 GC-MS/MS 农药信息、保留时间、监测离子对、线性范围、相关系数、检测限和基质效应

Tab. 2 Information, retention time, monitoring ion pairs, linear ranges, correlation coefficients, limits of detection and matrix effects by GC-MS/MS

No.	Pesticides	t <sub>R</sub> /min	m/z (Quantitative ion)	m/z (Quantitative ion)	Linear range /ng · mL <sup>-1</sup>	r	LOD /mg · kg <sup>-1</sup>	Matrix effect
1	Ethoprophos <sup>1)4)</sup>	10.22	199.7 > 157.8	157.8 > 96.7	2.015 – 100.75	0.999 7	0.005	1.14
2	Sulfotep <sup>1)4)</sup>	11.26	322.0 > 174.0	322.0 > 294.0	1.995 – 99.75	0.999 7	0.001	1.12
3	Hexachlorobenzene <sup>2)</sup>	11.37	283.8 > 248.8	283.8 > 213.8	1 – 50	0.998 9	0.000 4	1.08
4	α-BHC <sup>1)</sup>	12.17	181.0 > 145.0	218.7 > 182.9	5.025 – 251.25	0.999 8	0.001	1.05
5	Terbufos <sup>1)4)</sup>	12.82	230.8 > 129.0	230.8 > 175.0	1.99 – 99.5	0.999 6	0.001	1.29
6	Diazinon <sup>3)4)</sup>	13.41	304.1 > 179.1	304.1 > 162.1	1 – 50	0.999 7	0.001	1.24
7	γ-BHC <sup>1)</sup>	14.32	181.0 > 145.0	218.7 > 182.9	5.02 – 251	0.999 2	0.002	1.12
8	Fonofos <sup>1)4)</sup>	14.46	246.0 > 109.1	246.0 > 137.1	2 – 100	0.999 1	0.000 6	1.35
9	Monocrotophos <sup>1)4)</sup>	14.46	127.0 > 109.0	127.0 > 95.0	2.99 – 149.5	0.999 7	0.008	0.78
10	Fipronil <sup>1)4)</sup>	15.38	388.0 > 333.0	388.0 > 281.0	2.01 – 100.5	0.999 7	0.003	1.25
11	β-BHC <sup>1)</sup>	15.74	181.0 > 145.0	218.7 > 182.9	5.045 – 252.25	0.999 8	0.001	1.15
12	Heptachlor <sup>2)</sup>	16.01	271.8 > 236.9	271.8 > 141.0	1 – 50	0.999 7	0.001	1.30
13	Isazofos <sup>1)4)</sup>	16.13	257.0 > 162.0	257.0 > 119.0	1.01 – 50.5	0.999 7	0.003	1.39
14	2,4-D-Butyl ester <sup>2)</sup>	16.18	276.0 > 185.0	276.0 > 57.0	1 – 50	0.999 3	0.01	1.11
15	Octachlorodipropyl ether <sup>2)</sup>	16.48	129.9 > 94.9	108.9 > 83.0	1 – 50	0.998 1	0.01	1.30
16	δ-BHC <sup>1)</sup>	17.60	181.0 > 145.0	218.7 > 182.9	5.02 – 251	0.999 5	0.005	1.04

续表 2 (continued)

No.	Pesticides	$t_R$ /min	$m/z$ (Quantitative ion)	$m/z$ (Qualitative ion)	Linear range /ng · mL <sup>-1</sup>	$r$	LOD /mg · kg <sup>-1</sup>	Matrix effect
17	Aldrin <sup>1)</sup>	17.96	262.7 > 192.7	255.0 > 220.0	4.995 – 249.75	0.999 8	0.006	1.07
18	Parathion-methyl <sup>1)4)</sup>	19.18	263.1 > 109.0	263.1 > 79.0	1.995 – 99.75	0.999 6	0.003	1.11
19	<i>o,p'</i> -Dicofol <sup>1)</sup>	20.12	139.0 > 111.0	250.0 > 139.0	0.995 – 49.75	0.997 2	0.003	1.48
20	Chlorpyrifos <sup>2)4)</sup>	20.28	313.8 > 257.8	313.8 > 285.8	1 – 50	0.999 5	0.01	0.93
21	Fipronil-sulfide <sup>1)4)</sup>	20.69	420.0 > 351.0	420.0 > 255	2.015 – 100.75	0.999 6	0.02	1.51
22	Fipronil <sup>1)4)</sup>	20.85	351.0 > 255.0	367.0 > 213.0	1.99 – 99.5	0.999 3	0.001	1.14
23	Oxy-chlordane <sup>2)</sup>	21.11	185.0 > 149.0	185.0 > 121.0	1 – 50	0.998 6	0.02	1.43
24	Parathion <sup>1)</sup>	21.23	291.0 > 109.0	291.0 > 81.0	2.03 – 101.5	0.995 6	0.01	1.81
25	<i>p,p'</i> -Dicofol <sup>1)</sup>	21.89	139.0 > 111.0	250.0 > 139.0	4 – 200	0.995 3	0.003	1.52
26	<i>cis</i> -Heptachlor epoxide <sup>2)</sup>	22.22	352.8 > 262.9	352.8 > 281.9	1 – 50	0.999 8	0.002	1.49
27	Isofenphos-methyl <sup>1)4)</sup>	22.75	241.0 > 120.8	241.0 > 199.0	2.01 – 100.5	0.999 7	0.003	1.16
28	<i>trans</i> -Heptachlor epoxide <sup>2)</sup>	22.94	252.9 > 182.9	252.9 > 218.0	1 – 50	0.998 1	0.02	1.10
29	<i>trans</i> -Chlordane <sup>2)</sup>	23.7	372.8 > 336.8	372.8 > 263.9	1 – 50	0.999 5	0.003	0.93
30	Isocarbophos <sup>1)4)</sup>	23.92	135.7 > 108.0	120.7 > 65.0	5.02 – 251	0.999 3	0.01	1.21
31	<i>cis</i> -Chlordane <sup>2)</sup>	24.71	372.8 > 336.8	372.8 > 263.9	1 – 50	0.999 4	0.002	1.23
32	$\alpha$ -Endosulfan <sup>1)</sup>	24.92	240.8 > 205.6	240.8 > 170.0	4.985 – 249.25	0.999 3	0.008	1.20
33	Fipronil-sulfone <sup>1)4)</sup>	26.20	383.0 > 255.0	383.0 > 213.0	2.02 – 101	0.999 1	0.001	1.11
34	<i>p,p'</i> -DDE <sup>1)</sup>	27.26	246.0 > 176.0	316.0 > 246.0	5.01 – 250.5	0.999 9	0.001	1.50
35	Dieldrin <sup>1)</sup>	27.40	263.0 > 193.0	276.8 > 240.7	5.01 – 250.5	0.999 7	0.003	1.22
36	Fenamiphos <sup>1)4)</sup>	28.79	303.1 > 122.0	303.1 > 154.0	2 – 100	0.999 1	0.007	1.24
37	Phosfolanmethyl <sup>1)4)</sup>	29.84	227.0 > 92.0	227.0 > 167.8	3 – 150	0.999 7	0.01	1.91
38	Chlorobenzilate <sup>2)</sup>	30.03	251.0 > 139.0	251.0 > 111.0	1 – 50	0.995 2	0.005	1.49
39	Endrin <sup>2)</sup>	30.92	262.8 > 193.0	244.8 > 173.0	5.01 – 250.5	0.999 5	0.004	1.75
40	Nitrofen <sup>1)</sup>	31.32	201.8 > 138.7	282.8 > 253.0	4.98 – 249	0.999 0	0.006	1.49
41	<i>o,p'</i> -DDT <sup>1)</sup>	31.50	235.0 > 165.0	237.0 > 165.0	5.02 – 251	0.998 5	0.002	1.44
42	<i>p,p'</i> -DDD <sup>1)</sup>	32.29	235.0 > 165.0	237.0 > 165.0	4.995 – 249.75	0.998 9	0.002	1.30
43	$\beta$ -Endosulfan <sup>1)</sup>	32.48	194.8 > 159.0	194.8 > 124.7	5.01 – 250.5	0.999 6	0.003	1.67
44	<i>p,p'</i> -DDT <sup>1)</sup>	34.56	235.0 > 165.0	237.0 > 165.0	5.005 – 250.25	0.996 7	0.004	1.22
45	Endrin aldehyde <sup>2)</sup>	34.96	249.8 > 214.9	344.9 > 244.9	1 – 50	0.999 8	0.02	1.18
46	Endosulfan sulfate <sup>1)</sup>	35.91	271.8 > 236.7	273.8 > 238.9	1 – 50	0.999 6	0.001	1.21
47	Triazophos <sup>2)4)</sup>	36.77	257.0 > 162.0	257.0 > 134.0	1 – 50	0.998 8	0.008	1.71
48	Iprodione <sup>3)</sup>	37.24	314.0 > 245.0	314.0 > 56.0	1 – 50	0.999 5	0.02	1.37
49	Cyfluthrin <sup>3)</sup>	37.72/38.01	197.0 > 161.0	197.0 > 141.0	1 – 50	0.997 1	0.04	2.01
50	Mirex <sup>2)</sup>	38.18	273.8 > 238.8	271.8 > 236.8	1 – 50	0.999 7	0.001	1.08
51	Endrin ketone <sup>2)</sup>	38.36	316.9 > 244.9	316.9 > 242.9	1 – 50	0.997 2	0.03	1.51
52	Coumaphos <sup>1)4)</sup>	40.85	361.8 > 109.0	361.8 > 225.8	5.01 – 250.5	0.997 3	0.001	1.38
53	Fenvalerate <sup>2)</sup>	42.73/43.16	167.0 > 125.1	225.0 > 119.0	1 – 50	0.999 1	0.001	1.12
54	Azoxystrobin <sup>3)</sup>	48.34	344.1 > 183.1	344.1 > 329.1	1 – 50	0.998 9	0.06	1.58
55	Triphenyl phosphate	37.47	326.0 > 233.0	326.0 > 215.0				

注: <sup>1)</sup> – 禁用农药; <sup>2)</sup> – 拟新增禁用农药; <sup>3)</sup> – 登记农药; <sup>4)</sup> – 采用 GC-MS/MS 法和 LC-MS/MS 法均可进行检测。

Note: <sup>1)</sup> – forbidden pesticides; <sup>2)</sup> – add forbidden pesticides; <sup>3)</sup> – registering pesticides; <sup>4)</sup> – could be detected by both GC-MS/MS and LC-MS/MS methods.

### 3.2 LC-MS/MS 分析条件

Aglient SB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm); 以体积分数 0.1% 甲酸溶液 (含 5 mmol · L<sup>-1</sup> 甲酸铵) 为流动相 A, 以体积分数 95% 甲醇溶液 (含 5 mmol · L<sup>-1</sup> 甲酸铵和体积分数 0.1% 甲酸) 为流动相 B, 梯度洗脱 (0 ~ 1 min, 70% A; 1 ~ 12 min, 70% → 0% A; 12 ~ 14 min, 0% A); 流速为 0.3 mL · min<sup>-1</sup>, 柱温为 40 °C。进样量为 1 μL。三重串联四极杆检测器; 离子源为电喷雾 (ESI); 监测模式: 选择反应监测

(SRM), 质谱条件: 电喷雾离子源 (ESI), 正负模式同时采集; 正模式电压: 3 500 V; 负模式电压: 2 500 V; 离子传输管温度: 280 °C; 汽化温度: 280 °C; 鞘气压: 7 875 kPa; 辅助气压: 1 750 kPa; 吹扫气压: 175 kPa, 优化后的各农药化合物参数见表 3。

### 3.3 溶液的制备

**3.3.1 基质匹配混合对照品溶液的制备** 根据各农药限度要求、仪器灵敏度等确定其在混合对照品溶液中的浓度, 分别取农药对照品溶液, 置于同一

表3 LC-MS/MS 测定农药信息、保留时间、监测离子对、线性范围、相关系数、检测限和基质效应

Tab. 3 Information, retention time, monitoring ion pairs, linear ranges, correlation coefficients, limits of detection and matrix effects by LC-MS/MS

No.	Pesticides	$t_R$	$m/z$	$m/z$	Linear range	$r$	LOD	Matrix effect
		/min	(Quantitative ion)	(Quantitative ion)				
1	Methamidophos <sup>1)</sup>	1.04	141.93 > 93.88	141.93 > 78.88	5.02 – 251	0.998 9	0.000 1	1.03
2	Acephate <sup>2)</sup>	1.10	183.73 > 142.88	183.73 > 94.88	1 – 50	0.999 8	0.000 3	1.01
3	Omethoate <sup>2)</sup>	1.18	214.21 > 182.97	214.21 > 108.88	1 – 50	0.999 7	0.000 1	0.98
4	Aldicarb-sulfoxide <sup>1)</sup>	1.25	224.01 > 207.00	224.01 > 88.97	10.005 – 500.25	0.999 9	0.002	1.05
5	Propamocarb <sup>3)</sup>	1.29	189.08 > 102.07	189.08 > 74.00	1 – 50	0.999 9	0.000 2	0.97
6	Aldicarb-sulfone <sup>1)</sup>	1.40	240.01 > 223.05	240.01 > 85.97	10.015 – 500.75	0.999 9	0.000 6	0.87
7	Monocrotophos <sup>1)</sup>	2.21	224.04 > 126.97	224.04 > 98.00	2.99 – 149.5	1.000 0	0.000 6	0.94
8	Phosfolan methyl <sup>1)</sup>	2.41	227.87 > 167.90	227.87 > 108.92	3 – 150	0.999 8	0.002	1.02
9	Dimethoate <sup>2)</sup>	2.42	230.27 > 169.88	230.27 > 108.80	1 – 50	0.999 3	0.000 1	0.99
10	Chlordimeform <sup>1)</sup>	2.76	196.98 > 45.97	196.98 > 116.97	2 – 100	1.000 0	0.000 7	1.03
11	Imidacloprid <sup>3)</sup>	3.00	256.00 > 209.05	256.00 > 175.13	1 – 50	0.999 9	0.000 2	1.07
12	Clothianidin <sup>3)</sup>	3.10	250.01 > 169.00	250.01 > 132.00	1 – 50	0.999 9	0.000 4	1.10
13	Methomyl <sup>2)</sup>	3.70	163.21 > 106.97	163.21 > 76.88	5 – 250	0.999 9	0.000 8	0.65
14	Carbofuran-3-hydroxy <sup>1)</sup>	3.70	238.07 > 181.05	238.07 > 163.05	5.01 – 250.5	0.999 8	0.000 1	0.63
15	Cymoxanil <sup>3)</sup>	4.24	198.90 > 128.00	198.90 > 111.00	1 – 50	0.999 8	0.000 5	1.04
16	Phosfolan <sup>1)</sup>	5.21	255.98 > 139.88	255.98 > 195.97	3.005 – 150.25	0.999 4	0.000 1	0.86
17	Aldicarb <sup>1)</sup>	5.21	208.14 > 116.00	208.14 > 89.00	10.015 – 500.75	0.998 4	0.000 3	0.97
18	Phosphamidon <sup>1)</sup>	6.05	300.01 > 173.97	300.01 > 126.97	5.01 – 250.5	0.999 5	0.000 2	0.89
19	Carbofuran <sup>1)</sup>	6.47	222.01 > 165.05	222.01 > 122.97	5 – 250	0.999 4	0.000 1	0.87
20	Metsulfuron-methyl <sup>1)</sup>	6.52	382.07 > 167.05	382.07 > 141.05	2 – 250	0.999 9	0.000 1	0.86
21	Fenamiphos sulfoxide <sup>1)</sup>	6.80	320.11 > 232.97	320.11 > 171.00	2.01 – 100.5	0.999 9	0.000 1	0.95
22	Fenamiphos sulfone <sup>1)</sup>	6.94	336.07 > 266.05	336.07 > 187.97	2 – 100	1.000 0	0.000 1	0.70
23	Chlorsulfuron <sup>1)</sup>	6.98	357.98 > 141.05	357.98 > 111.00	2 – 100	0.999 7	0.000 1	0.98
24	Ethametsulfuron-methyl <sup>1)</sup>	7.31	411.07 > 167.97	411.07 > 170.05	5 – 250	0.999 9	0.000 1	0.95
25	Phorate sulfoxide <sup>1)</sup>	7.49	276.97 > 198.97	276.97 > 142.88	2.005 – 100.25	0.999 9	0.000 1	0.93
26	Phorate sulfone <sup>1)</sup>	7.60	293.10 > 170.97	293.10 > 142.88	2.02 – 101	0.999 1	0.000 1	0.91
27	Imazalil <sup>3)</sup>	7.81	297.06 > 158.96	297.06 > 200.86	1 – 50	1.000 0	0.000 7	0.94
28	Isocarbophos <sup>1)</sup>	7.96	312.05 > 270.00	312.05 > 203.00	5.02 – 251	0.999 4	0.009	0.60
29	Methidathion <sup>2)</sup>	8.18	303.00 > 145.00	303.00 > 85.00	1 – 50	0.999 9	0.000 1	0.90
30	Demeton <sup>1)</sup>	8.61	258.97 > 88.97	258.97 > 60.88	1 – 50	0.999 5	0.000 1	0.91
31	Terbufos sulfone <sup>1)</sup>	8.68	321.04 > 170.97	321.04 > 142.88	2.005 – 100.25	0.999 9	0.000 1	0.96
32	Terbufos sulfoxide <sup>1)</sup>	8.76	305.06 > 186.97	305.06 > 131.00	2.01 – 100.5	0.999 3	0.000 1	1.01
33	Azoxystrobin <sup>3)</sup>	8.83	404.12 > 371.93	404.12 > 343.93	1 – 50	0.999 5	0.000 2	0.97
34	Cyazofamid metabolite CCIM <sup>3) 4)</sup>	9.33	216.05 > 216.00	218.00 > 218.00	1 – 50	0.999 8	0.000 1	0.85
35	Triazophos <sup>2)</sup>	9.51	314.05 > 178.00	314.05 > 119.10	1 – 50	1.000 0	0.000 1	0.95
36	Isazafos <sup>1)</sup>	9.54	314.06 > 272.00	314.06 > 119.88	1.01 – 50.5	0.999 9	0.000 1	0.99
37	Fipronil-desulfinyl <sup>1) 4)</sup>	9.78	387.00 > 351.05	387.00 > 281.97	2.01 – 100.5	0.999 1	0.000 2	0.93
38	Cyazofamid <sup>3)</sup>	9.83	325.00 > 107.99	327.00 > 108.00	1 – 50	0.999 7	0.001	1.25
39	Ethoprophos <sup>1)</sup>	9.94	242.98 > 130.88	242.98 > 172.97	2.015 – 100.75	0.999 6	0.000 1	0.95
40	Fipronil <sup>1) 4)</sup>	10.01	435.00 > 329.97	435.00 > 249.97	1.99 – 99.5	0.997 1	0.000 1	1.00
41	Fenamiphos <sup>1)</sup>	10.13	304.08 > 216.97	304.08 > 201.97	2 – 100	1.000 0	0.000 1	1.03
42	Fipronil-sulfide <sup>1) 4)</sup>	10.17	419.00 > 261.97	419.00 > 313.97	2.015 – 100.75	0.999 6	0.000 1	0.94
43	Difenoconazole <sup>3)</sup>	10.25	406.00 > 251.00	406.00 > 337.00	1.004 – 100.4	0.999 6	0.000 1	0.96
44	Sulfotep <sup>1)</sup>	10.36	323.03 > 96.88	323.03 > 114.88	1.995 – 99.75	0.999 6	0.000 1	1.02
45	Isofenphos-methyl <sup>1)</sup>	10.37	332.06 > 230.97	332.06 > 121.00	2.01 – 100.5	0.999 9	0.000 1	0.98
46	Fipronil-sulfone <sup>1) 4)</sup>	10.41	451.00 > 415.05	451.00 > 243.88	2.02 – 101	0.999 8	0.000 2	0.93
47	Tebuconazole <sup>3)</sup>	10.44	308.05 > 70.07	308.05 > 124.99	1 – 50	0.999 8	0.000 1	1.06
48	Fonofos <sup>1)</sup>	10.57	247.02 > 109.00	247.02 > 137.00	2 – 100	0.999 8	0.000 2	1.00
49	Diazinon <sup>3)</sup>	10.65	305.05 > 169.05	305.05 > 153.08	1 – 50	1.000 0	0.000 1	0.91
50	Coumaphos <sup>1)</sup>	10.67	363.08 > 226.97	363.08 > 306.97	5.01 – 250.5	0.999 7	0.000 1	1.06
51	Pyraclostrobin <sup>3)</sup>	10.79	388.10 > 194.13	388.10 > 296.05	1 – 50	0.999 9	0.000 1	0.85
52	Phorate <sup>1)</sup>	10.84	261.05 > 75.00	261.05 > 47.00	2 – 100	0.999 7	0.000 5	0.90
53	Cadusafos <sup>1)</sup>	11.25	271.06 > 158.88	271.06 > 130.88	0.401 – 20.05	1.000 0	0.000 1	0.97

No.	Pesticides	$t_R$ /min	$m/z$ (Quantitative ion)	$m/z$ (Quantitative ion)	Linear range /ng · mL <sup>-1</sup>	$r$	LOD /mg · kg <sup>-1</sup>	Matrix effect
54	Fluazinam <sup>3)4)</sup>	11.78	462.83 > 415.91	462.83 > 397.89	1-50	1.000 0	0.000 1	0.92
55	Terbufos <sup>1)</sup>	11.80	289.05 > 102.97	289.05 > 232.92	1.99-99.5	0.999 8	0.006	0.87
56	Chlorpyrifos <sup>2)</sup>	12.16	349.90 > 198.00	349.90 > 97.00	1-50	0.999 9	0.000 1	0.98
57	Sulfluramid <sup>2)4)</sup>	12.20	526.05 > 168.97	526.05 > 218.97	1-50	1.000 0	0.000 2	0.81
58	Abamectin <sup>3)</sup>	13.39	890.74 > 305.22	890.74 > 307.22	1-50	0.999 3	0.02	1.49
59	Carbosulfan <sup>2)</sup>	13.52	381.20 > 160.05	381.20 > 75.88	1-50	0.999 7	0.000 2	0.82

注: <sup>1)</sup> - 禁用农药; <sup>2)</sup> - 拟新增禁用农药; <sup>3)</sup> - 登记农药; <sup>4)</sup> - 负离子模式

Note: <sup>1)</sup> - forbidden pesticides; <sup>2)</sup> - add forbidden pesticides; <sup>3)</sup> - registering pesticides; <sup>4)</sup> - ESI<sup>-</sup>

10 mL 量瓶中,用乙腈稀释并定容至刻度。制成相应浓度的混合农药对照品储备溶液,置于 -18 °C 冰箱避光储存。取空白贝母样品,同样品溶液制备方法处理,得空白贝母基质溶液。用空白贝母基质溶液将混合对照储备液稀释成相应浓度各 1 mL 的梯度标准曲线工作液,现配现用。LC-MS/MS 测定前加入 1 mL 水、GC-MS/MS 测定前加入 0.3 mL 内标溶液,混匀,即得。

**3.3.2 内标溶液的制备** 精密称取磷酸三苯酯对照品适量,用乙腈稀释成 0.2 μg · mL<sup>-1</sup>,摇匀,即得。

**3.3.3 供试品溶液的制备** 取供试品,粉碎成粉末(过三号筛),取约 3 g,精密称定,置 50 mL 聚苯乙烯具塞离心管中,加入 1% 冰醋酸溶液 15 mL,涡旋使药粉充分浸润,放置 30 min,精密加入乙腈 15 mL,涡旋使混匀,置振荡器上剧烈振荡(每分钟 1 000 次) 5 min,加入无水硫酸镁与无水乙酸钠的混合粉末(4:1)7.5 g,立即摇散,再置振荡器上剧烈振荡(每分钟 1 000 次) 3 min,于冰浴中冷却 10 min,离心(4 000 r · min<sup>-1</sup>) 5 min,取上清液 9 mL,置已预先装有净化材料的分散固相萃取净化管[无水硫酸镁 900 mg, N-丙基乙二胺(PSA) 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,涡旋使充分混匀,再置振荡器上剧烈振荡(每分钟 1 000 次) 5 min 使净化完全,离心(4 000 r · min<sup>-1</sup>) 5 min,分别精密吸取上清液 1 mL,LC-MS/MS 测定前加入 1 mL 水、GC-MS/MS 测定前加入 0.3 mL 内标溶液,混匀,分别过 0.22 μm 滤膜,取续滤液,即得。

## 4 方法学考察

### 4.1 基质效应

基质效应(matrix effect, ME)是指样品中共提物在质谱分析中对目标物离子化产生的抑制或增强作用,是质谱定量检测中必须要考虑的影响因素。

本方法采用空白基质溶液中对照品峰面积(A)与纯溶剂中对照品峰面积(B)的比值(即,ME = A/B)来评价贝母中农药化合物的基质效应,结果见表 2~3。从结果可以看出,GC-MS/MS 中大部分农药化合物呈明显的基质增强效应,LC-MS/MS 中以基质抑制为主。部分农药的定量准确性可能会受到基质效应的影响。为了降低基质效应对定量结果的影响,本方法均采用空白基质匹配标准曲线定量。

### 4.2 线性范围、相关系数及检测限

各农药化合物在各自的线性范围内具有良好的线性,各农药相关系数均大于 0.995。以 3 倍信噪比(S/N)表示方法的检测限。从表 2~3 可以看出,各化合物检测限均在 0.000 1 ~ 0.02 mg · kg<sup>-1</sup>,均能满足农药残留分析要求。

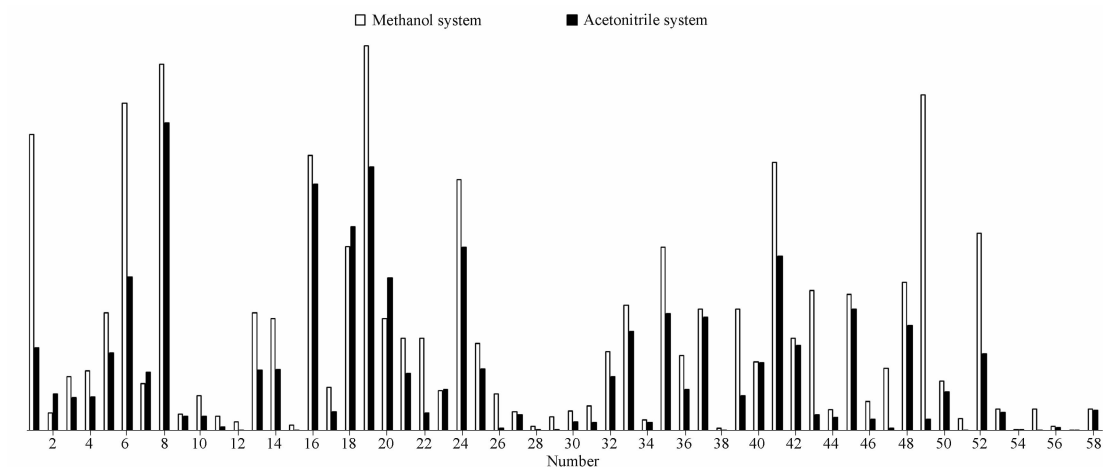
### 4.3 回收率及重复性实验

在空白贝母样品中分别外加低、中、高(分别加入混合对照品工作液 0.3、0.75、1.5 mL) 3 个水平的加标回收样品,每个水平 3 个平行实验,95 个农药化合物的加标回收率范围为 50.5% ~ 121.5%,相对标准偏差为 0.2% ~ 10.5%。

## 5 结果与讨论

### 5.1 液相流动相的选择

在 LC-MS/MS 检测时,考察了体积分数 95% 乙腈溶液(含 5 mmol · L<sup>-1</sup> 甲酸铵和体积分数 0.1% 甲酸)和体积分数 95% 甲醇溶液(含 5 mmol · L<sup>-1</sup> 甲酸铵和体积分数 0.1% 甲酸)作为流动相 B 对农药化合物响应和分离度的影响,响应比较结果见图 1。结果显示,甲醇体系中大部分化合物的响应明显高于乙腈体系,且甲醇体系在采集时间范围内各化合物分布较为分散,化合物之间的分离度较好。故选择以体积分数 0.1% 甲酸溶液(含 5 mmol · L<sup>-1</sup> 甲酸铵)为流动相 A,体积分数 95% 甲醇溶液(含 5 mmol · L<sup>-1</sup> 甲酸铵和体积分数 0.1% 甲酸)为流动相 B。



1~58 - 化合物序号与表3一致。

1-58 - the numbers are consistent with Tab. 3.

图1 甲醇和乙腈体系对农药化合物响应的影响

Fig. 1 The effect of methanol and acetonitrile systems on the response of pesticide compounds

### 5.2 供试品溶液加水比例的优化

现行的禁用农药残留检测方法在LC-MS/MS检测时,取基质混合对照品溶液和供试品溶液各1 mL,精密加入0.3 mL水。以此法制备的供试品溶液在测定时,由于甲胺磷、乙酰甲胺磷和氧乐果3

种农药化合物出峰太快,溶剂效应较为明显,色谱峰出现分叉峰,影响定量及结果判定。考察了不同加水比例对化合物峰形的影响,结果显示,当供试品溶液与加入水的量为1:1时,这3个化合物的色谱峰分叉现象得到有效改善,见图2。

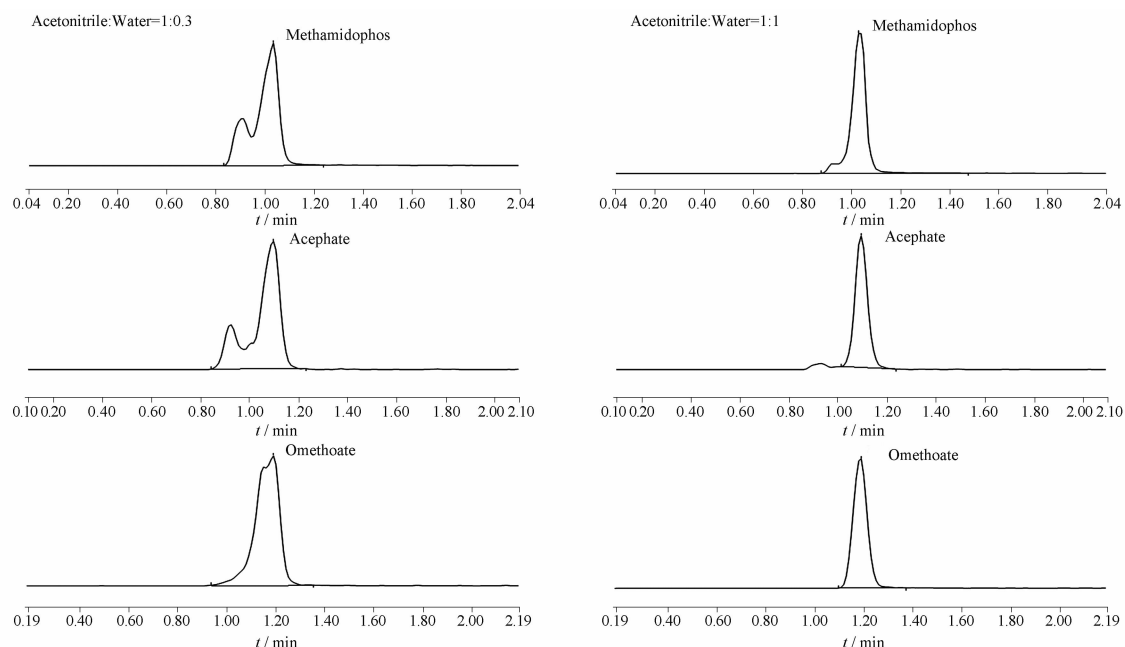


图2 不同比例的乙腈和水在样品溶液中对农药化合物峰形的影响

Fig. 2 The effect of different ratios of acetonitrile and water in the sample solution on the peak shapes of pesticide compounds

### 5.3 实际样品的测定及结果

按照已拟定的标准转化原则,需结合贝母药材的市场监测数据,对拟转化标准和拟新增禁用农药的科学性和适用性进行评价。应用所建立的

GC-MS/MS和LC-MS/MS分析方法对收集于四川成都、安徽亳州、河北安国及河南禹州等药材市场的70批贝母药材进行农药残留量的测定,结果见表4。

表4 70批贝母样品农药测定结果

Tab. 4 Pesticide determination results of 70 batches of Fritillaria samples

No.	Pesticides (in Chinese)	Detected batches	Detected rate/%	Maximum value/mg · kg <sup>-1</sup>	Minimum value/mg · kg <sup>-1</sup>
1	Azoxystrobin (啉菌酯)	16	22.9	0.079	0.011
2	Hexachlorobenzene (六氯苯)	7	10.0	0.030	0.0053
3	Pyraclostrobin (吡唑醚菌酯)	7	10.0	0.050	0.050
4	Chlorpyrifos (毒死蜱)	2	2.9	0.013	0.013
5	Propamocarb (霜霉威)	2	2.9	0.020	0.0057
6	Clothianidin (噻虫胺)	1	1.4	0.048	0.048
7	Iprodione (异菌脲)	1	1.4	0.044	0.044

从结果可以看出,贝母中的禁用农药均为未检出,检出5种登记农药,2种拟新增的禁用农药,其中一批贝母中六氯苯超过拟定参考限值,不合格率为1.4%。

### 6 转化农药及拟新增禁用农药的限值确定

用课题组前期建立的中药中农药残留风险评估方法对贝母中拟转化的吡虫啉和阿维菌素限量标准的慢性风险进行评价<sup>[12]</sup>,并按照拟定的农药转化原则,最终建议将GB 2763贝母中农药残留限量标准转化为贝母药品标准,分别为:吡虫啉0.2 mg · kg<sup>-1</sup>、阿维菌素0.2 mg · kg<sup>-1</sup>。

禁用农药限值的制定需要考虑多方面的因素。本研究主要参考了《GB 2763-2021》中“药用植物”项下包含本次拟新增禁用农药化合物的限值,以及美国、欧盟等植物药应用较为广泛的国家和地区药典标准中关于拟新增禁用农药化合物的相关规定<sup>[13-15]</sup>。由于拟新增的禁用农药化合物均属于剧毒、高毒或高残留的农药,所以本方法在制定参考限值时遵循以下原则:当各标准中限值存在差异时,取较小值;当各相关标准中均无限值时,结合仪器定量限水平来确定限值。最终提出的拟新增禁用农药参考限值为:杀扑磷0.05 mg · kg<sup>-1</sup>;2,4-滴丁酯0.05 mg · kg<sup>-1</sup>;灭多威0.1 mg · kg<sup>-1</sup>;氧乐果0.05 mg · kg<sup>-1</sup>;乐果0.05 mg · kg<sup>-1</sup>;乙酰甲胺磷0.05 mg · kg<sup>-1</sup>;丁硫克百威0.02 mg · kg<sup>-1</sup>;八氯二丙醚0.02 mg · kg<sup>-1</sup>;氟虫胺0.02 mg · kg<sup>-1</sup>;氯丹0.1 mg · kg<sup>-1</sup>;灭蚁灵0.01 mg · kg<sup>-1</sup>;六氯苯0.02 mg · kg<sup>-1</sup>;乙酯杀螨醇0.05 mg · kg<sup>-1</sup>;七氯0.05 mg · kg<sup>-1</sup>;异狄氏剂0.05 mg · kg<sup>-1</sup>;毒死蜱0.2 mg · kg<sup>-1</sup>;三唑磷0.05 mg · kg<sup>-1</sup>;氰戊菊酯1.5 mg · kg<sup>-1</sup>。

### REFERENCES

- [1] XIAO P G, JIANG Y, LI P, *et al.* The botanical origin and pharmacophylogenetic treatment of Chinese materia medica Beimu [J]. *J Syst Evol* (植物分类学报), 2007, 45(4): 473-487.
- [2] SHI Y, WANG X W, LIU W, *et al.* Review on the research progress of Fritillariae Cirrhosae Bulbus [J]. *Chin Pharm Aff* (中国药事), 2023, 37(3): 304-311.
- [3] *Ch. P*(2020) Vol I(中国药典2020年版.一部) [S]. 2020;38, 101,148,304,363.
- [4] ZHAO Q, LI B, GUAN Y, *et al.* Chemical constituents, pharmacology and clinical application of *Fritillaria* [J]. *China Pharm* (中国药业), 2020, 29(5): 57-60.
- [5] LI R Q, WU C, XU L, *et al.* Quality evaluation of Fritillariae Cirrhosae Bulbus based on traditional character analysis [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2020, 55(1): 14-18.
- [6] RIZIWANGULI S P, WANG L L, DILIZILA, *et al.* Occurrences status of pest and diseases on siberian fritillary bulb and integrative control [J]. *Xinjiang Agric Sci* (新疆农业科学), 2011, 48(2): 257-260.
- [7] NING R B, SUN H F. Progress of researches on the management of diseases of medical Fritillaria [J]. *J Northeast Agric Sci* (东北农业科学), 2018, 43(5): 34-37.
- [8] GB 2763-2021. National food safety standard: maximum residue limits for pesticides in food [S]. 2021.
- [9] WANG Y, LIU Y X, ZHENG Z T, *et al.* A preliminary study on the principle of conversion of limit standards of traditional Chinese medicine in “GB2763 national food safety standard-maximum residue limits for pesticides in food” [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2023, 58(15): 1416-1421.
- [10] SHEN J Z. An overview on international pesticide management [J]. *Mod Agrochem* (现代农药), 2023, 22(4): 36-43.
- [11] ZHANG C C, CHENG M, LI X Y, *et al.* Review and prospects of pesticide use and residues in cultivation of herbs with both medicinal and edible values [J/OL]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2023, 1-11 [2024-03-20]. <https://DOI.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20231130.101>.
- [12] WANG Y, ZHANG L, ZUO T T, *et al.* Formulation and research of guidelines for risk assessment of pesticide residues in traditional Chinese medicine [J]. *Chin J Pharmacovigil* (中国药物警戒), 2021, 18(7): 645-648, 662.
- [13] USP 41561 [S]. 2018;6279-6292.
- [14] EP 11.02.8.13 [S]. 2022; 324-325.
- [15] XIAO O L, LI M M, LI R X, *et al.* The status quo of pesticide residues in Chinese medicinal materials and the construction of a standard system [J]. *Plant Prot* (植物保护), 2022, 48(5): 1-14.

(收稿日期:2024-03-25)