

# 中药何首乌的 33 种农残测定分析

## 背景

何首乌为蓼科植物何首乌的干燥块根，含有大量蒽醌类成分。这些成分对 GC/MS/MS 色谱柱污染较为严重，易造成目标物线性不好、回收率低和重现性差，常规的固相萃取法一、固相萃取法二、固相萃取法三都不能很好的净化。因此纳谱分析根据植物色素成分特点，优化了固相三对于色素的吸附能力。相比常规固相萃取三，优化后的固相萃取三的 SPE 柱可以吸附更多色素类成分，从而降低了样品中色素对色谱柱的污染和基质效应。今天，我们来看看何首乌项目的前处理效果吧。



何首乌

## 适用范围

本方法参考中国药典 2020 版 2341 第五法中的固相萃取法方式二和三，适用于现有气质质分析固相三无法很好净化的基质干扰大和色素较多的中药材农残检测。

## 实验步骤

### 1 对照品溶液的制备

#### 1.1 混合对照品配制

精密量取禁用农药混合 1mL，置 20mL 量瓶中，加乙腈稀释至刻度，摇匀，备用；

#### 1.2 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 $\mu$ g 的溶液。

#### 1.3 空白基质溶液的制备

取空白基质何首乌样品，同供试品溶液的制备方法处理制成空白基质溶液。

#### 1.4 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 $^{\circ}$ C 水浴浓缩至约 0.6mL，分别加入混合对照品溶液 10 $\mu$ L、20  $\mu$ L、50  $\mu$ L、100 $\mu$ L、150 $\mu$ L、200 $\mu$ L，加乙腈稀释至 1mL，涡旋混匀，即得。

## 2 供试品溶液的制备

### 2.1 提取

精密称取 5g 样品（3 号筛），加氯化钠 1g，加入 50mL 乙腈，匀浆处理 2 分钟，离心后分取上清液，残渣再加 50mL 乙腈，匀浆处理 1 分钟，离心后，合并两次提取上清液，减压浓缩至 3~5mL，加乙腈定容至 10mL，摇匀，待净化。

### 3 净化

#### GC/MS/MS 样品：

SPE 柱：SelectCore GCB/NH<sub>2</sub>-A 固相萃取柱 500mg/500mg/6mL

净化：取 SelectCore GCB/NH<sub>2</sub>-A 固相萃取小柱用乙腈：甲苯（3：1）10mL 活化，量取上述何首乌提取液 2mL，置已活化的 SelectCore GCB/NH<sub>2</sub>-A 固相萃取小柱中，用乙腈：甲苯（3：1）15mL 洗脱，收集全部样品液与洗脱液，减压回收至 2mL，即得。

GC/MS/MS 测定：精密量取上述减压回收后的样品溶液 1mL，氮吹至 0.4mL 加入混合对照溶液，乙腈定容至 1mL，再加入 0.3 mL 磷酸三苯酯溶液，混匀，过 0.22 $\mu$ m 尼龙针式过滤器，上机分析。

#### LC/MS/MS 样品

SPE 柱：SelectCore HLB 固相萃取柱 200mg/6mL

净化：量取上述何首乌提取液 3mL，过 SelectCore HLB 固相萃取柱，收集全部净化液，混匀，即得。

LC/MS/MS 测定：精密量取过固相萃取柱后溶液 1mL 氮吹至 0.4mL 加入混合对照品液，乙腈定容至 1mL，再加入 0.3 mL 水，混匀，过 0.22 $\mu$ m 尼龙针式过滤器，上机分析。

## 4 气相色谱-串联质谱法（岛津 GC-MS -TQ8040 NX）

### 色谱条件

色谱柱：SHIMADZU SH-Rxi-17Sil MS，30m $\times$ 0.25mm，0.25 $\mu$ m；

进样口温度：250 $^{\circ}$ C；

升温程序：初始温度为 60 $^{\circ}$ C，保持 1min；以 10 $^{\circ}$ C/min 升温至 160 $^{\circ}$ C；再以 2 $^{\circ}$ C/min 升温至 230 $^{\circ}$ C，最后以 15 $^{\circ}$ C/min 升温至 300 $^{\circ}$ C，保持 6min；

载气：高纯氦气（纯度>99.999%）；

进样方式：不分流进样；

恒压模式：146kPa；

进样量：1 $\mu$ L。

### 质谱条件

电离方式：电子轰击电离源（EI）；

电离能量：70eV；

接口温度：250 $^{\circ}$ C；

离子源温度：250 $^{\circ}$ C；

监测方式：多反应监测模式（MRM）；

溶剂延迟：10.0min。

**GCMSMS 监测目标物注意事项：**久效磷参考 LC/MS/MS 测定结果。

## 5 高效液相色谱-串联质谱法 (岛津 LC-MS 8045)

### 色谱条件

色谱柱: ChromCore C18-MS Pesticides 中药农残专用柱(2.1×100 mm, 2.6 μm)

流动相:

A: 0.1%甲酸水溶液 (含有 5mmol/L 甲酸铵)

B: 乙腈-0.1%甲酸水溶液 (含有 5mmol/L 甲酸铵) =95:5

流速: 0.3 mL/min

柱温: 40 °C

进样量: 2 μL

梯度:

时间 (min)	流速 (mL/min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	0.3	70	30
1	0.3	70	30
12	0.3	0	100
14	0.3	0	100
14.1	0.3	70	30
16	0.3	70	30

### 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源 (Electrospray ionization, ESI) 正离子扫描

监测方式: 多反应监测 (Multiple Reaction Monitoring, MRM)

离子源接口电压: 4.5kV

雾化气: 氮气 3.0L/min

加热气: 干燥空气 10.0L/min

DL 温度: 250°C

加热模块温度: 400°C

接口温度: 300°C

干燥气: N<sub>2</sub> 10 L/min

表1 何首乌中 33 种农药残留的测定添加回收结果 (%)

农残成分	回收率	农残成分	回收率	农残成分	回收率
甲胺磷	77.4%	地虫硫磷	73.1%	涕灭威砒	81.2%
甲基对硫磷	86.5%	硫线磷	82.7%	涕灭威亚砒	80.0%
对硫磷	90.3%	蝇毒磷	89.0%	灭线磷	90.4%
久效磷	77.2%	治螟磷	90.8%	氯唑磷	69.3%
磷胺	72.8%	特丁硫磷	92.3%	水胺硫磷	79.3%
$\alpha$ -六六六	83.5%	特丁硫磷砒	88.6%	$\alpha$ -硫丹	80.8%
$\beta$ -六六六	80.9%	特丁硫磷亚砒	87.1%	$\beta$ -硫丹	79.9%
$\gamma$ -六六六	80.2%	甲基硫环磷	85.9%	硫丹硫酸酯	82.5%
$\delta$ -六六六	82.4%	甲磺隆	80.4%	氟虫腈	88.4%
2,4'-滴滴涕	89.7%	氯磺隆	76.2%	氟虫腈砒	85.7%
4,4'-滴滴滴	83.1%	胺苯磺隆	75.8%	氟虫腈亚砒	89.1%
4,4'-滴滴涕	82.3%	甲拌磷	89.3%	氟甲腈	84.4%
4,4'-滴滴伊	82.8%	甲拌磷砒	72.5%	<i>o,p'</i> -三氯杀螨醇	79.2%
杀虫脒	79.6%	甲拌磷亚砒	78.6%	<i>p,p'</i> -三氯杀螨醇	81.9%
除草醚	92.3%	甲基异柳磷	88.4%	硫环磷	85.6%
艾氏剂	82.0%	内吸磷-O	83.4%		
狄氏剂	85.3%	内吸磷-S	80.7%		
苯线磷	90.9%	克百威	79.0%		
苯线磷砒	72.4%	3-羟基克百威	72.8%		
苯线磷亚砒	79.6%	涕灭威	83.5%		

## 6 处理后溶液的颜色比对



从左至右分别是何首乌提取液原液、何首乌提取液 SelectCore GCB/NH<sub>2</sub>-A 固相萃取柱净化

## 7 实验讨论

通过以上实验对比数据可以看出，SelectCore GCB/NH<sub>2</sub>-A 固相萃取柱针对何首乌中蒽醌类成分去除效果良好，净化后的何首乌样品溶液颜色较浅，减少了污染 GC/MS/MS 柱前端的污染风险。另外搭配 SelectCore HLB 固相萃取柱用于 LC/MS/MS 分析，为何首乌的农药残留实验数据的稳定性和可靠性提供了良好的帮助。