

中药莪术的 33 种农残测定分析

背景

莪术为姜科植物蓬莪术、广西莪术、温郁金的干燥根茎，含有大量挥发油和色素类成分，这些成分极易造成 GC-MS/MS 分析中六六六类目标物和特丁硫磷干扰大、对硫磷类目标物丢峰，同时也会造成 LC-MS/MS 分析中地虫硫磷和甲拌磷砷丢峰、3-羟基克百威响应变低等问题，导致分析结果不准确。纳谱分析推出的 HLB-C 中药农残专用柱，特别适用于重色素和重油脂的中药材农残测定。今天，我们来看看莪术项目的前处理效果吧。



莪术

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二，适用于含色素、挥发油类成分的中药材的农残检测。

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 1 mL，置 20 mL 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 1 mL 含 1.0 mg 的溶液，即得。精密量取适量，加乙腈制成每 1 mL 含 0.1 μg 的溶液。

1.3 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。

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 1.0 mL(6 份)，置氮吹仪上，40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴浓缩至约 0.6 mL，分别加入混合对照品溶液 10 μL 、20 μL 、50 μL 、100 μL 、150 μL 、200 μL ，加乙腈稀释至 1 mL，涡旋混匀，即得。

2 供试品溶液的制备

2.1 提取（直接提取法）

精密称取 5 g 样品（3 号筛），加氯化钠 1 g，加入 50 mL 乙腈，匀浆处理 2 min，离心

后分取上清液，残渣再加 50 mL 乙腈，匀浆处理 1 min，离心后，合并两次提取上清液，减压浓缩至 3~5 mL 左右，加乙腈定容至 10 mL，摇匀，置冰箱冷藏 2 小时，取出离心 1 min，取上清液至新的离心管内，放置至室温待净化。

3 净化

GC-MS/MS 样品净化：

SPE 柱：SelectCore HLB-C 中药农残专用柱 500mg/6mL

净化：取 SelectCore HLB-C 固相萃取柱，加乙腈 5 mL 活化，再取莪术提取液 2 mL 置已活化的 SelectCore HLB-C 固相萃取柱中，收集样品液，待所有样品液进入柱体填料后，取 5 mL 乙腈洗脱，合并样品液与洗脱液，置 40 °C 水浴氮吹至 2 mL 即得。

GC-MS/MS 测定：

基质加标配制：精密量取上述氮吹后的样品溶液 1 mL，氮吹至 0.6 mL 加入混合对照溶液，乙腈定容至 1 mL，再加入 0.3 mL 磷酸三苯酯溶液，混匀，过 0.22 μm 尼龙针式过滤器，上机分析。

样品溶液配制：精密量取上述氮吹后的样品溶液 1 mL 加入 0.3 mL 磷酸三苯酯溶液，混匀，过 0.22 μm 尼龙针式过滤器，上机分析。

LC-MS/MS 样品净化：

SPE 柱：SelectCore HLB 固相萃取柱 500mg/6mL

净化：量取上述莪术提取液 4 mL，过 SelectCore HLB 固相萃取柱，收集全部净化液，混匀，即得。

LC-MS/MS 测定：

基质加标配制：精密量取过固相萃取柱后的溶液 1 mL 氮吹至 0.6 mL 加入混合对照品液，乙腈定容至 1 mL，再加入 0.3 mL 水，混匀，过 0.22 μm 尼龙针式过滤器，上机分析。

样品溶液配制：精密量取过固相萃取柱后的溶液 1 mL 加入 0.3 mL 水，混匀，过 0.22 μm 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：NanoChrom BP-50+MS 气相柱 0.25μm, 30m×0.25mm;

进样口温度：250 °C;

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

载气：高纯氦气（纯度>99.999%）；

进样方式：不分流进样；

恒压模式：146 kPa；

进样量：1 μ L。

质谱条件

电离方式：电子轰击电离源（EI）；

电离能量：70 eV；

接口温度：250 $^{\circ}$ C；

离子源温度：250 $^{\circ}$ C；

监测方式：多反应检测模式（MRM）；

溶剂延迟：10.0 min。

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 2.6 μ m, 2.1 \times 100 mm

流动相：

A：0.1%甲酸水溶液（含有 5 mmol/L 甲酸铵）

B：乙腈-0.1%甲酸水溶液（含有 5 mmol/L 甲酸铵）=95:5

流速：0.3 mL/min

柱温：40 $^{\circ}$ C

进样量：2 μ L

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：4.5 kV

雾化气：氮气 3.0 L/min

加热气：干燥空气 10.0 L/min

DL 温度：250 $^{\circ}$ C

加热模块温度：400 $^{\circ}$ C

接口温度：300 °C

干燥气：N₂ 10 L/min

6 注意事项

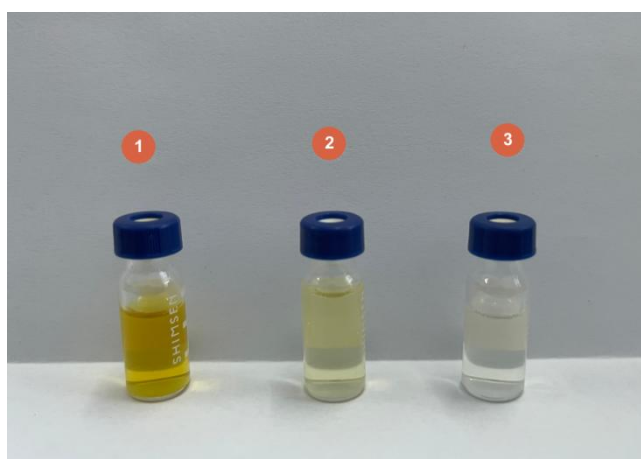
GC-MS/MS：久效磷参考 LC-MS/MS 分析结果；内吸磷参考 LC-MS/MS 分析结果；特丁硫磷参考 LC-MS/MS 分析结果，采集条件参考下表；甲拌磷参考 LC-MS/MS 分析结果。

LC-MS/MS：地虫硫磷参考 GC-MS/MS 分析结果，采集条件参考下表；水胺硫磷参考 GC-MS/MS 分析结果；如遇个别目标物回收率低于 60%可将上柱净化量增加到 5 mL。

目标物	监测模式	监测离子对	电压 (CE)
特丁硫磷 (LC-MS/MS)	(+)	289.10>57.00	31
		289.10>103.00	13
备注：离子对条件参照 2341 第四法中的离子对信息			

目标物	监测离子对	电压 (CE)
地虫硫磷 (GC-MS/MS)	245.9>109.0	15
	136.9>109.0	5
	108.9>80.9	5
	245.9>137.0	5
备注：离子对条件参照 2341 第四法中的离子对信息		

7 实验结果

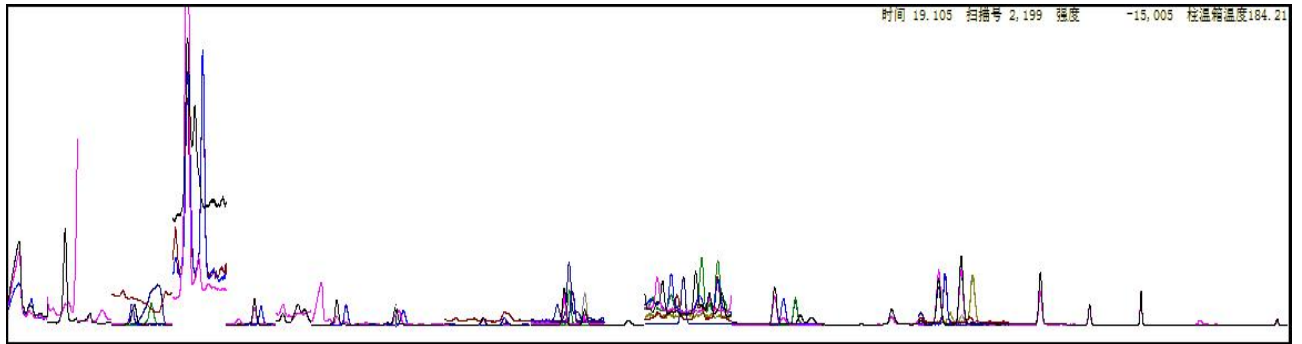


1: 为莠术提取液原液

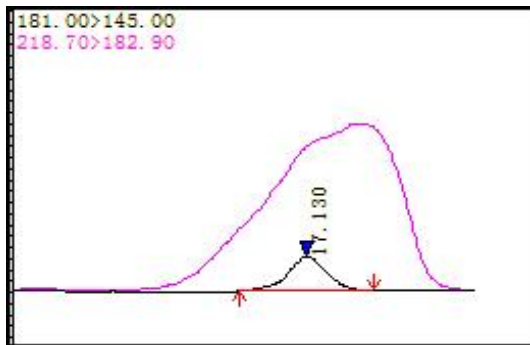
2: 为 SelectCore HLB 500mg/6mL 净化后的莠术提取液

3: 为 SelectCore HLB-C 500mg/6mL 净化后的莠术提取液

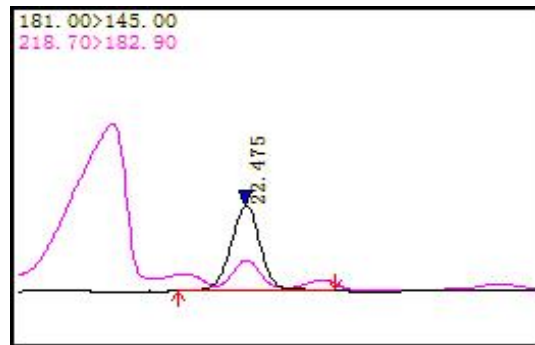
莠术基质加标 GC-MS/MS 部分化合物分析结果谱图



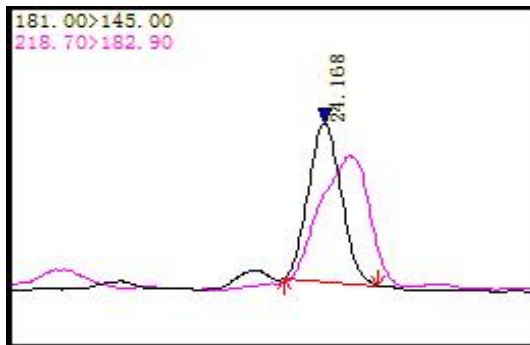
固相萃取法二处理莪术基质 LOQ 浓度点加标谱图 (GC-MS/MS 方法)



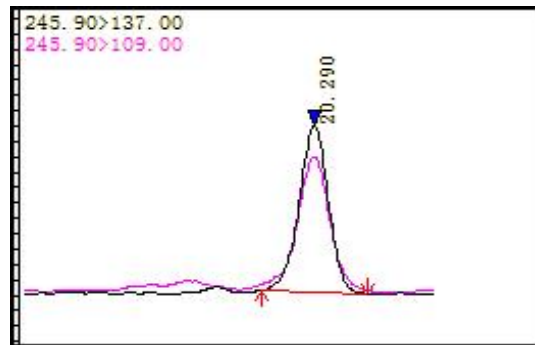
α-六六六



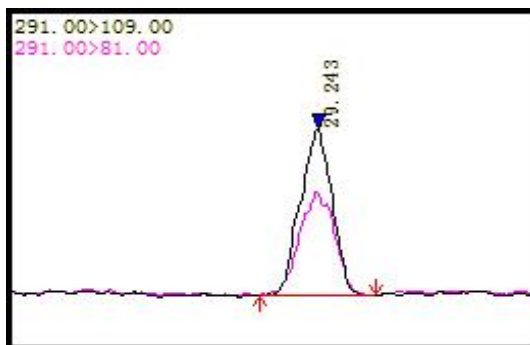
β-六六六



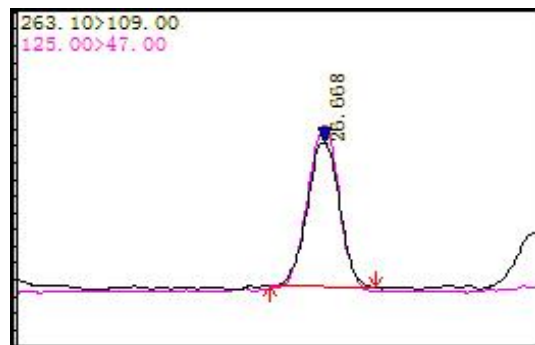
δ-六六六



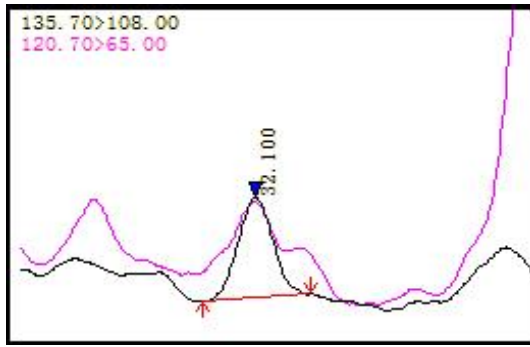
地虫硫磷



对硫磷

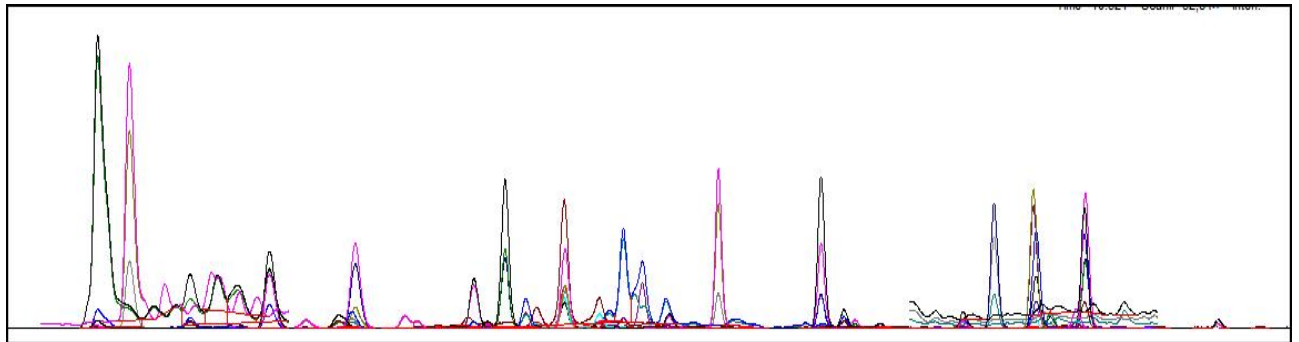


甲基对硫磷

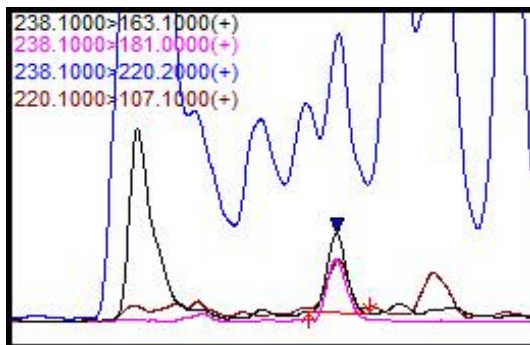


水胺硫磷

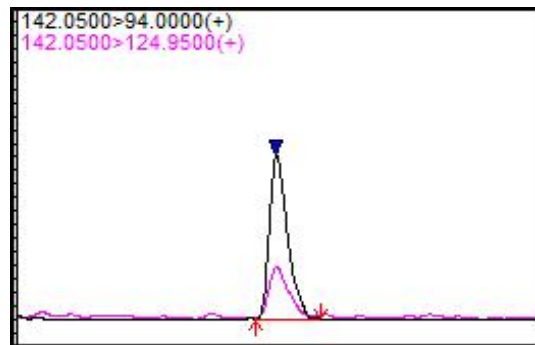
莠术基质加标 LC-MS/MS 部分化合物分析结果谱图



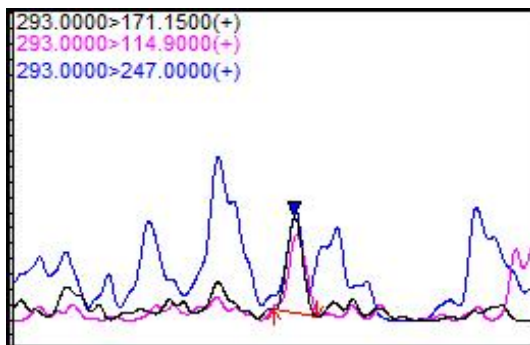
固相萃取法二处理莠术基质 LOQ 浓度点加标谱图 (LC-MS/MS 方法)



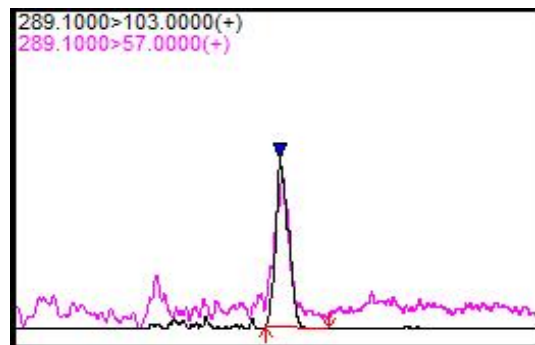
3-羟基克百威



甲胺磷



甲拌磷



特丁硫磷

表 1 莠术中 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	86.5%	苯线磷亚砷	92.1%	3-羟基克百威	80.1%
甲基对硫磷	61.5%	地虫硫磷	94.0%	涕灭威	93.4%
对硫磷	69.1%	硫线磷	85.5%	涕灭威砷	92.0%
久效磷	97.1%	蝇毒磷	90.2%	涕灭威亚砷	89.8%
磷胺	96.9%	治螟磷	96.6%	灭线磷	87.8%
α -六六六	86.9%	特丁硫磷	83.1%	氯唑磷	89.9%
β -六六六	101.6%	特丁硫磷砷	91.4%	水胺硫磷	79.9%
γ -六六六	93.3%	特丁硫磷亚砷	99.6%	α -硫丹	92.4%
δ -六六六	86.9%	甲基硫环磷	98.2%	β -硫丹	95.5%
2,4'-滴滴涕	83.1%	甲磺隆	84.8%	硫丹硫酸酯	88.6%
4,4'-滴滴涕	87.6%	氯磺隆	75.7%	氟虫腈	86.9%
4,4'-滴滴涕	81.4%	胺苯磺隆	75.1%	氟虫腈砷	91.4%
4,4'-滴滴伊	88.8%	甲拌磷	94.1%	氟虫腈亚砷	94.1%
杀虫脒	73.9%	甲拌磷砷	98.4%	氟甲腈	91.3%
除草醚	81.2%	甲拌磷亚砷	90.6%	<i>o,p'</i> -三氯杀螨醇	92.9%
艾氏剂	86.4%	甲基异柳磷	92.1%	<i>p,p'</i> -三氯杀螨醇	96.1%
狄氏剂	82.1%	内吸磷	80.9%	硫环磷	89.0%
苯线磷	90.1%	克百威	89.5%		
苯线磷砷	86.9%				

8 实验结论

通过以上实验数据可以看出，莠术使用 SelectCore HLB-C 500mg/6mL 中药农残专用柱处理对其色素类成分、挥发油吸附良好，有效地减轻了样品中色素和挥发油成分对 GC-MS/MS 柱前端的污染和基质中干扰物对目标物的影响；使用 SelectCore HLB 500mg/6mL 固相萃取柱处理的莠术 LC-MS/MS 基质加标液中化合物出峰良好，搭配上述解决办法有效地解决了莠术中农残分析中存在的问题，提高了实验效率，为莠术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。