

高油脂中药木香的 33 种农残测定分析

背景

木香为菊科植物木香的干燥根，含大量油脂类成分。这些成分对 GC/MS/MS 色谱柱污染较为严重，易造成目标保留时间漂移和丢峰，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。因此纳谱分析根据木香油脂成分特点，在优化填料的同时优化了木香的提取方式。优化后的方案可以有效地减轻木香 GC/MS/MS 分析中存在的问题，降低了样品中油脂成分对色谱柱的污染和基质效应。今天，我们来看看木香项目的前处理效果吧。



木香

适用范围

本方法参考中国药典 2020 版 2341 第五法中的快速样品处理法（QuEChERS）法。

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 μ g 的溶液。

1.3 空白基质溶液的制备

取木香空白基质样品，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 $^{\circ}$ C 水浴浓缩至约 0.6 mL，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 1 mL，涡旋混匀，即得。

2. 供试品溶液的制备

2.1.1 GC/MS/MS 样品提取（QuEChERS 法）：

取木香粉末（过 3 号筛）3 g，精密称定，置 50 mL 聚苯乙烯具塞离心管中，加入水 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（500 次/分）5 min，加入 QS-002 盐包，立即摇散，再置振荡器上剧烈振荡（500 次/分）3 min，于冰浴中冷却 10 分钟，离心（4000 转/分）5 分钟，待净化。

2.1.2 净化

SPE 净化管： Q-15A06 SelectCore QuEChERS 净化管 15 mL, Pesticide Residue A06（含色素挥发油中药农残 Q 法）

净化： 取上述提取液上清液 9 mL 置 Q-15A06 净化管中涡旋使充分混匀，置振荡器上剧烈振荡（500 次/分）5 分钟使净化完全，离心（4000 转/分）5 分钟，即得。

2.1.3 分析

GC-MS/MS 测定：精密吸取上清液 1 mL，置氮吹仪上于 35 °C 水浴浓缩至约 0.4 mL，加入混合对照品液再加乙腈稀释至 1.0 mL，涡旋混匀，再加入 0.3 mL 磷酸三苯酯溶液，混匀，过 0.22 μm 滤头，上机分析。

2.2.1 LC/MS/MS 样品提取（QuEChERS 法）：

取木香粉末（过 3 号筛）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（500 次/分）5 分钟，加入 QS-002 盐包，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（4000 转/分）5 分钟，待净化。

2.2.2 净化

Q 法净化管：Q-15A06 SelectCore QuEChERS 净化管 15 mL, Pesticide Residue A06（含色素挥发油中药农残 Q 法）

净化：取上述提取液上清液 9 mL 置 Q-15A06 净化管中涡旋使充分混匀，置振荡器上剧烈振荡（500 次/分）5 分钟使净化完全，离心（4000 转/分）5 分钟，即得。

2.2.3 分析

LC-MS/MS 测定：精密吸取上清液 5 mL，置氮吹仪上于 35 °C 水浴浓缩至约 0.4 mL，加入混合对照品液再加乙腈稀释至 1.0 mL，涡旋混匀，再加入 0.3 mL 水，混匀，过 0.22 μm 滤头，上机分析。

3. 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, 30 m×0.25 mm×0.25 μm;

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：高纯氮气（纯度>99.999%）；

进样方式：不分流进样；

恒压模式：146 kPa；

进样量：1 μL。

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 °C；

离子源温度：250 °C；

监测方式：多反应监测模式（MRM）；

溶剂延迟：10 min。

GC/MS/MS 监测目标物 注意事项：样品浓度为 0.2 g/mL；前加标建议加 300 μL 混合对照品提取，浓度为标准曲线第二个浓度点浓度（20 μL/mL）。由于样品浓度较低，建议分析前重新调谐检查灯丝能量后再进行分析，仪器灵敏度过低可能导致对硫磷丢峰或分析结果不准确。

氟虫腈和氟虫腈亚砷 保留时间往后漂移 1.8 min 左右（参考）

目标物	定量离子	CE电压	参考离子	CE电压
地虫硫磷	245.90>137.00	5	245.90>109.00	15
甲基对硫磷	263.10>109.00	13	125.00>47.00	10

4 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, 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 $^{\circ}$ C

干燥气: N₂ 10 L/min

LC/MS/MS 监测目标物注意事项: 地虫硫磷、治螟磷 参考 GC/MS/MS 结果:

目标物	定量离子	CE 电压	参考离子	CE 电压	保留时间 (参考)
水胺硫磷	291.00>231.00	-15	291.00>121.00	-30	5.106

挥发油基质样品自动进样器托盘温度不宜过低, 否则个别样品会出现分层, 导致分析结果不准确, 建议 20 $^{\circ}$ C 为宜。

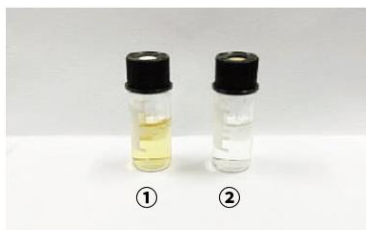
表 1 木香中 33 种农药残留的测定添加回收结果 (%)

农残成分	回收率	农残成分	回收率	农残成分	回收率
甲胺磷	84.1%	苯线磷亚砷	82.7%	3-羟基克百威	79.1%
甲基对硫磷	93.5%	地虫硫磷	89.4%	涕灭威	90.7%
对硫磷	89.4%	硫线磷	90.4%	涕灭威砷	91.2%
久效磷	86.7%	蝇毒磷	92.7%	涕灭威亚砷	88.5%
磷胺	88.2%	治螟磷	93.3%	灭线磷	91.7%
α -六六六	79.1%	特丁硫磷	89.0%	氯唑磷	77.4%

β -六六六	83.3%	特丁硫磷砒	86.7%	水胺硫磷	86.8%
γ -六六六	78.0%	特丁硫磷亚砒	85.5%	α -硫丹	89.3%
δ -六六六	79.5%	甲基硫环磷	90.4%	β -硫丹	88.1%
2,4'-滴滴涕	69.5%	甲磺隆	84.7%	硫丹硫酸酯	88.8%
4,4'-滴滴涕	65.3%	氯磺隆	79.0%	氟虫腈	91.5%
4,4'-滴滴涕	64.3%	胺苯磺隆	77.6%	氟虫腈砒	92.3%
4,4'-滴滴涕伊	61.3%	甲拌磷	83.6%	氟虫腈亚砒	90.7%
杀虫脒	88.9%	甲拌磷砒	80.9%	氟甲腈	92.2%
除草醚	84.7%	甲拌磷亚砒	79.6%	o,p'-三氯杀螨醇	75.1%
艾氏剂	79.2%	甲基异柳磷	92.8%	p,p'-三氯杀螨醇	77.6%
狄氏剂	77.4%	内吸磷-0	81.4%	硫环磷	81.5%
苯线磷	85.6%	内吸磷-S	83.3%		
苯线磷砒	80.4%	克百威	85.4%		

5. 处理后溶液的颜色比对

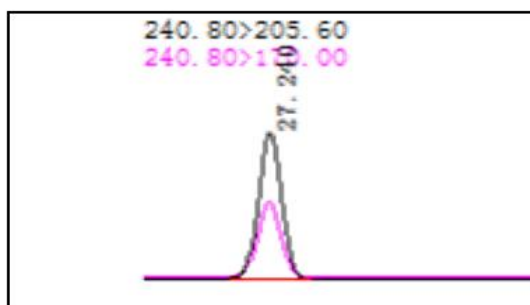
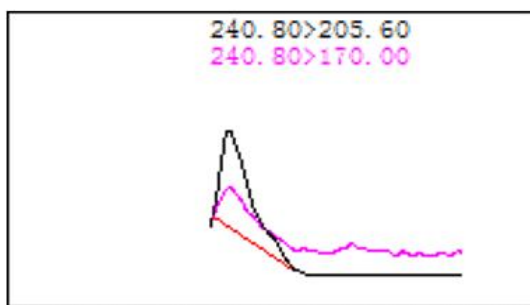
木香样品液净化后颜色对比



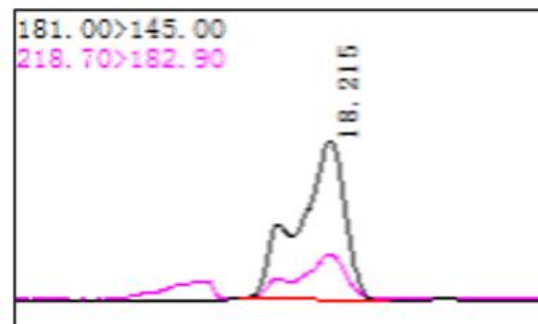
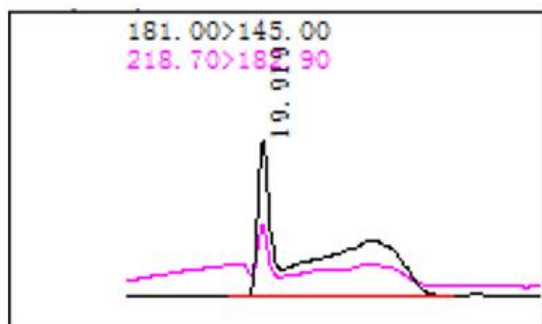
①→木香提取液原液

②→木香提取液Q-15A06净化管净化

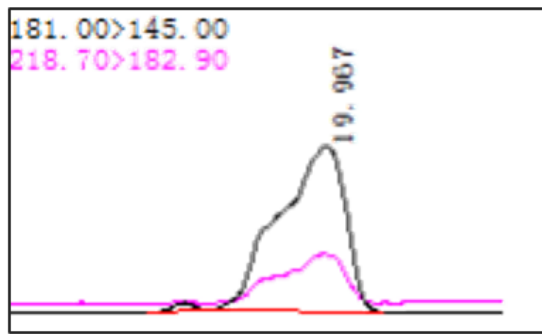
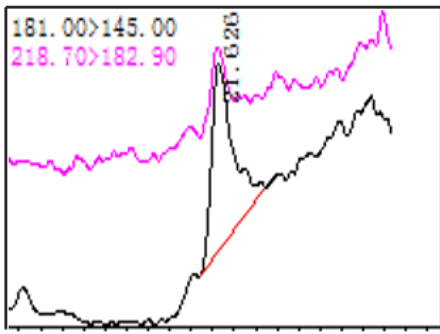
木香基质加标 GC/MS/MS 部分化合物分析结果对比



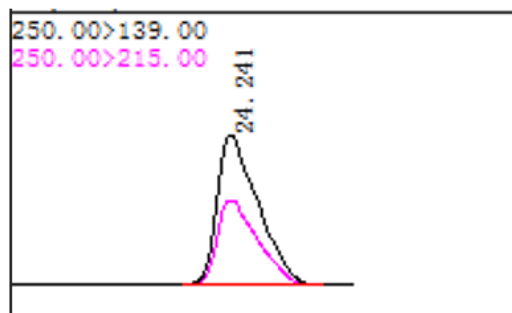
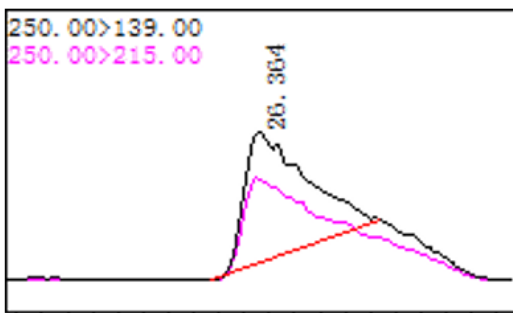
a-硫丹（左为直接提取法 HLB 净化，右为 QuEChERS 法 Q-15A06 净化）



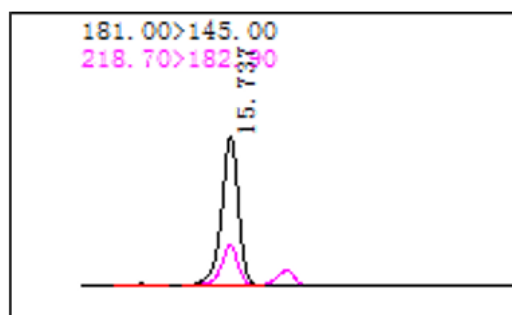
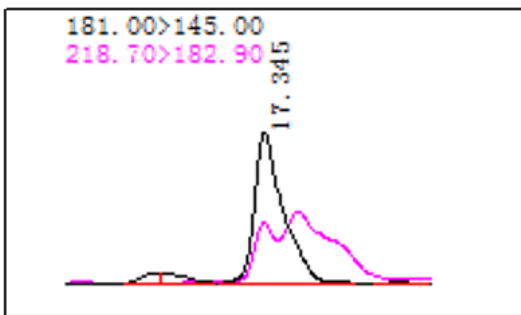
β -六六六（左为直接提取法 HLB 净化，右为 QuEChERS 法 Q-15A06 净化）



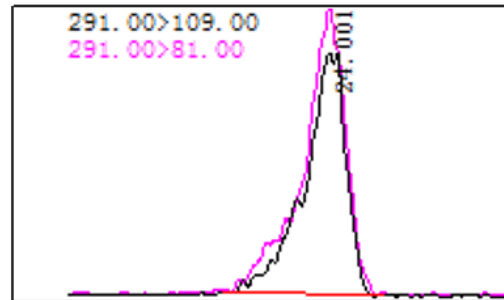
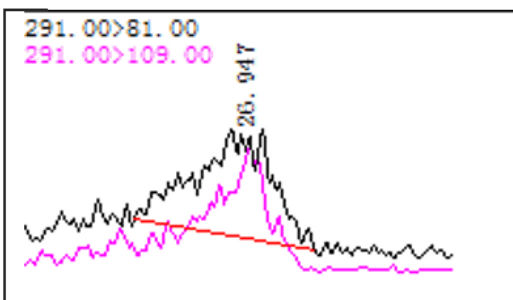
δ-六六六（左为直接提取法 HLB 净化，右为 QuEChERS 法 Q-15A06 净化）



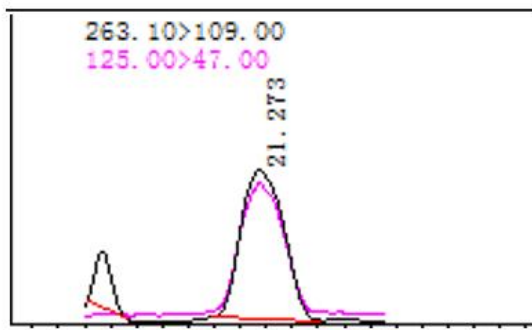
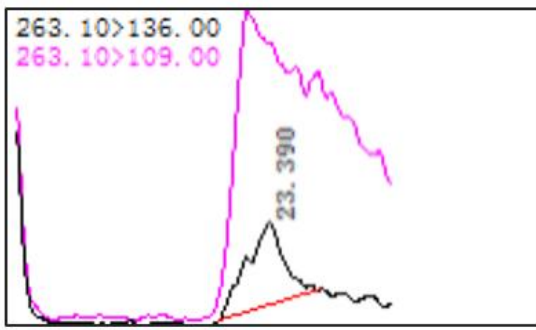
p,p'-三氯杀螨醇（左为直接提取法 HLB 净化，右为 QuEChERS 法 Q-15A06 净化）



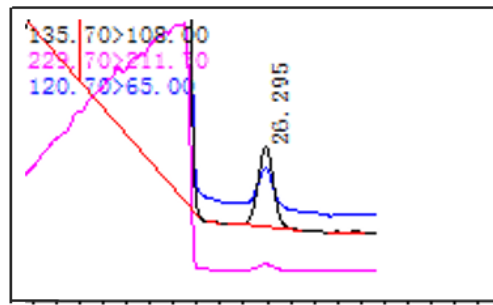
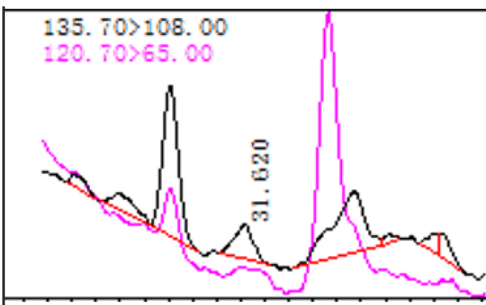
γ-六六六（左为直接提取法 HLB 净化，右为 QuEChERS 法 Q-15A06 净化）



对硫磷（左为直接提取法 HLB 净化，右为 QuEChERS 法 Q-15A06 净化）

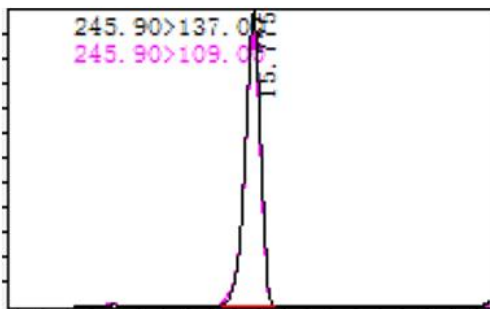


甲基对硫磷左为直接提取法 HLB 净化，右为 QuEChERS 法 Q-15A06 净化

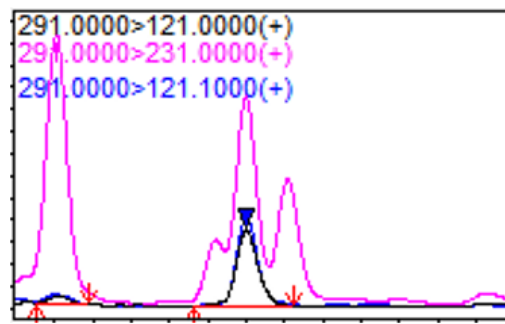
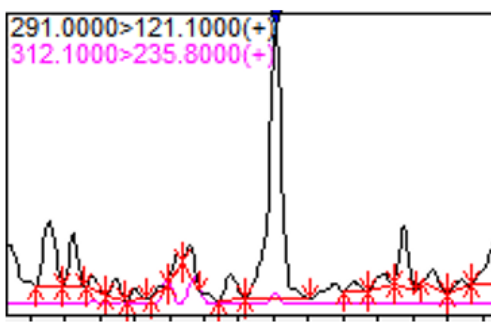


水胺硫磷左为直接提取法 HLB 净化，右为 QuEChERS 法 Q-15A06 净化

木香基质加标 GC/MS/MS 地虫硫磷出峰情况



木香基质加标 LC/MS/MS 部分化合物分析结果对比



水胺硫磷左为直接提取法 HLB 净化，右为 QuEChERS 法 Q-15A06 净化

6 实验讨论

通过以上实验对比数据可以看出，上述方案搭配 SelectCore QuEChERS Q-15A06 净化管净化后的木香样品溶液颜色较浅，且各化合物出峰较为良好，目标物保留时间漂移也得到了有效减弱，减少了污染 GC/MS/MS 柱前端的风险。SelectCore QuEChERS Q-15A06 净化管针对木香中油脂类成分去除效果良好，联合上述解决办法有效地提高了实验效率，也为木香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。