

# 中药益母草的 33 种农残测定分析

## 背景

益母草为唇形科植物益母草的新鲜或干燥地上部分，含有较多色素类、生物碱类成分，这些成分会对 GC-MS/MS 和 LC-MS/MS 分析中个别目标物造成较大干扰，同时污染 GC-MS/MS 柱前端，从而导致个别化合物响应变低、无法准确定性。纳谱分析推出的 GCB/NH<sub>2</sub>-A 固相萃取柱可以对含生物碱和色素中药处理较为干净。今天，我们来看看益母草项目的前处理效果吧（以下实验样品为“干益母草”）。



干益母草

## 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和固相萃取法三，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 °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 分钟，离心后分取上清液，残渣再加 50 mL 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 3~5 mL，加乙腈定容至 10 mL，摇匀，待净化。

### 3 净化

GC/MS/MS 样品净化：

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 固相萃取柱用乙腈：甲苯（3：1）10 mL 活化，量取上述益母草提取液 2mL，置已活化的 SelectCore GCB/NH<sub>2</sub>-A 固相萃取柱中，用乙腈：甲苯（3：1）20 mL 洗脱，收集全部样品液与洗脱液，40 °C 水浴减压回收至 2 mL，即得。

GC/MS/MS 测定：

基质加标配制：精密量取上述减压回收后的样品溶液 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：精密量取上述减压回收后的样品溶液 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 200mg/6mL；

净化：量取上述益母草提取液 3mL，过 SelectCore HLB 固相萃取柱 200mg/6mL，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，30m×0.25mm，0.25μm；

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 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：10.0 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(2.1 ×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：4.5 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 °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

## 6 注意事项

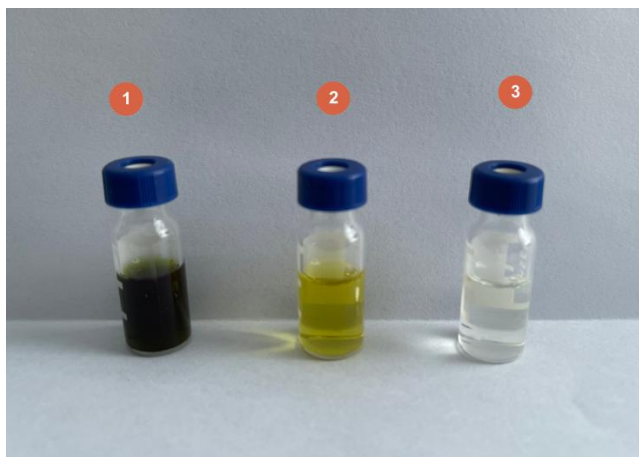
GC-MS/MS: 水胺硫磷定量离子选用 229.9>212.0 无干扰, 久效磷参考 LC-MS/MS 分析结果, 甲基硫环磷定量离子选用 168.0>109.0 或使用 LC-MS/MS 来检测此目标物 (监测条件见下表)。

LC-MS/MS: 水胺硫磷参考 GC-MS/MS 分析结果, 内吸磷参考 GC-MS/MS 分析结果。

目标物	监测离子对	电压 (CE)
甲基硫环磷 (LC-MS/MS)	228.0>168.0	19
	228.0>109.0	33

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

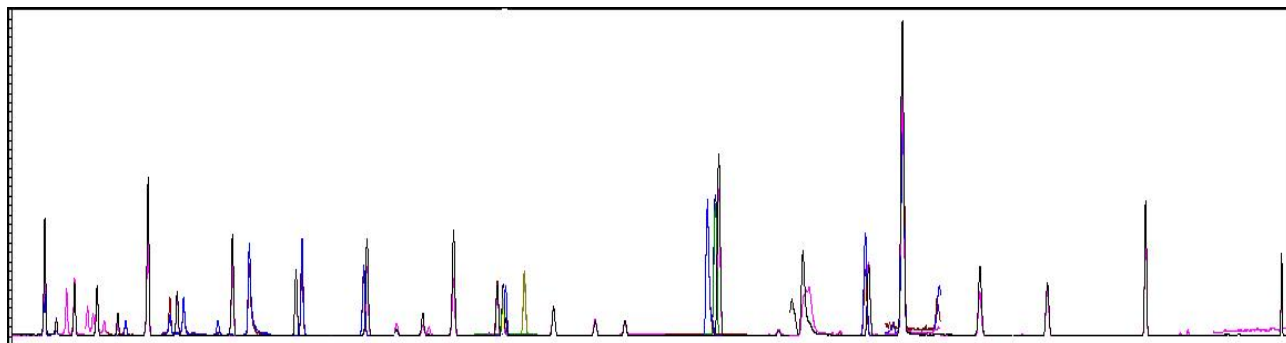


1: 为益母草提取液原液

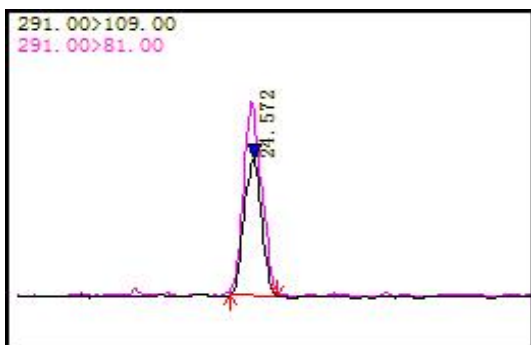
2: 为 SelectCore HLB 200mg/6mL 净化后的益母草提取液

3: 为 SelectCore GCB/NH<sub>2</sub>-A 500mg/500mg/6mL 净化后的益母草提取液

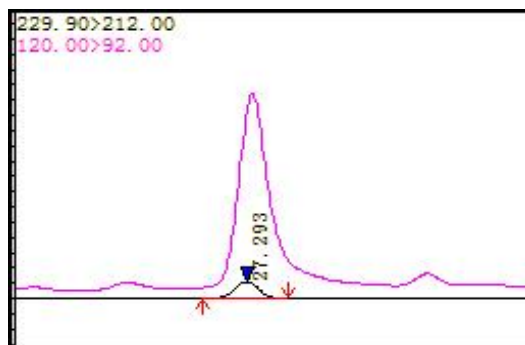
### 益母草基质加标 GC-MS/MS 部分化合物分析结果谱图



固相萃取法三处理益母草基质 LOQ 浓度点加标谱图 (GC-MS/MS 方法)

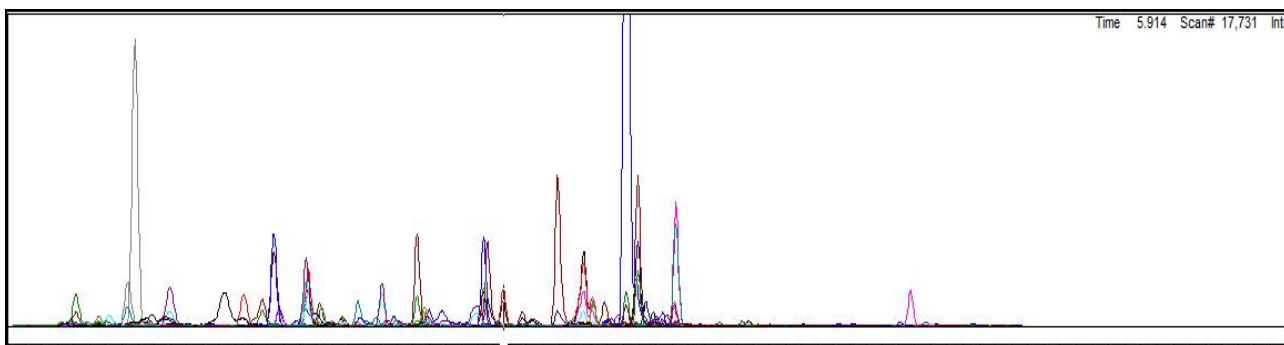


对硫磷

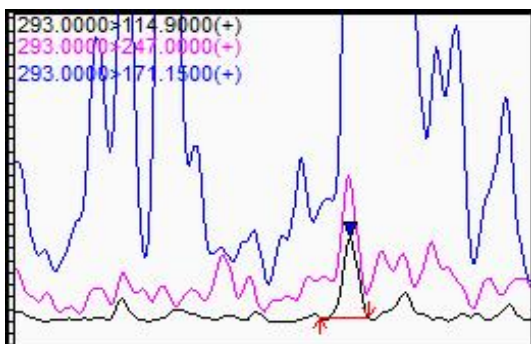


水胺硫磷

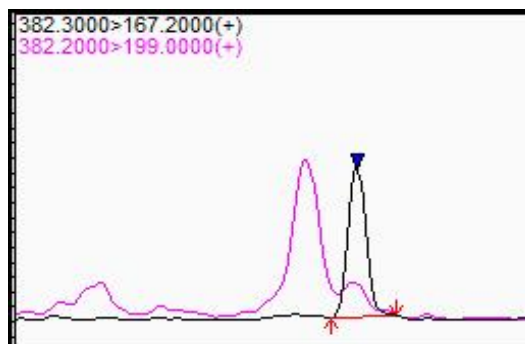
益母草基质加标 LC-MS/MS 部分化合物分析结果谱图



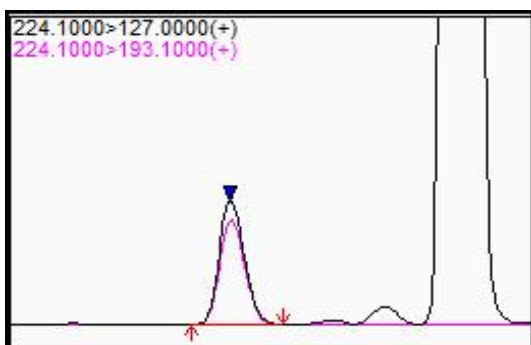
固相萃取法二处理益母草基质 LOQ 浓度点加标谱图 (LC-MS/MS 方法)



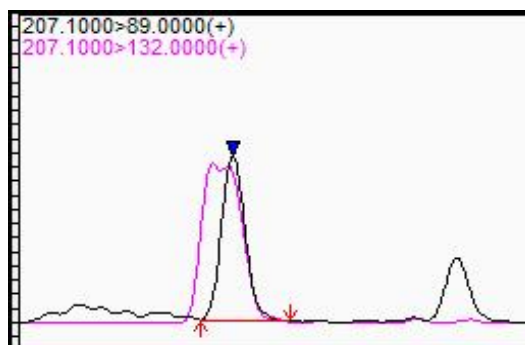
甲拌磷



甲磺隆



久效磷



涕灭威亚砷

表 1 益母草中 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	95.5%	苯线磷亚砷	82.1%	3-羟基克百威	73.8%
甲基对硫磷	93.9%	地虫硫磷	62.5%	涕灭威	63.3%
对硫磷	95.1%	硫线磷	62.3%	涕灭威砷	70.9%
久效磷	76.4%	蝇毒磷	79.4%	涕灭威亚砷	81.5%
磷胺	76.3%	治螟磷	70.2%	灭线磷	89.3%
$\alpha$ -六六六	88.8%	特丁硫磷	86.1%	氯唑磷	75.0%
$\beta$ -六六六	90.1%	特丁硫磷砷	74.6%	水胺硫磷	81.3%
$\gamma$ -六六六	87.9%	特丁硫磷亚砷	73.2%	$\alpha$ -硫丹	87.9%
$\delta$ -六六六	89.6%	甲基硫环磷	99.9%	$\beta$ -硫丹	90.4%
2,4'-滴滴涕	74.2%	甲磺隆	72.9%	硫丹硫酸酯	84.3%
4,4'-滴滴涕	86.6%	氯磺隆	76.1%	氟虫腈	80.3%
4,4'-滴滴涕	70.1%	胺苯磺隆	75.9%	氟虫腈砷	75.7%
4,4'-滴滴伊	90.1%	甲拌磷	81.2%	氟虫腈亚砷	94.3%
杀虫脒	89.2%	甲拌磷砷	76.3%	氟甲腈	94.5%
除草醚	88.8%	甲拌磷亚砷	68.0%	<i>o,p'</i> -三氯杀螨醇	91.2%
艾氏剂	86.7%	甲基异柳磷	90.4%	<i>p,p'</i> -三氯杀螨醇	92.8%
狄氏剂	83.3%	内吸磷-O	84.6%	硫环磷	78.2%
苯线磷	81.2%	内吸磷-S	99.8%		
苯线磷砷	78.1%	克百威	72.6%		

## 8 实验讨论

通过以上实验数据可以看出,益母草使用 SelectCore GCB/NH<sub>2</sub>-A 固相萃取柱处理对其色素类和生物碱类成分吸附良好,有效地减轻了样品中色素成分对 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 固相萃取柱处理的益母草 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益母草农残检测中存在的问题,提高了实验效率,为益母草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。