

中药薄荷的 33 种农残测定分析

背景

薄荷为唇形科植物薄荷的干燥地上部分，含有挥发油和色素类成分，这些成分易污染 GC-MS/MS 色谱柱、衬管等问题，从而导致实验结果不准确，另外常规固相萃取处理后的溶液易造成 LC-MS/MS 分析中目标物响应变低。纳谱分析推出的 GCB/NH₂-A 固相萃取柱和 Q-15A06 净化管都可以对含挥发油和色素中药处理较为干净。今天，我们来看看薄荷项目的前处理效果吧。



薄荷

适用范围

本方法参考中国药典 2020 版 2341 第五法中的 QuEChERS 法和固相萃取法三，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 GC-MS/MS 样品提取（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。

2.2 LC-MS/MS 样品提取 (QuEChERS 法)

取供试品粉末(过三号筛)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 分钟, 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(500 次/分)3 分钟, 于冰浴中冷却 10 分钟, 离心(每分钟 4000 转)5 分钟, 待净化。

3 净化

GC/ MS/MS 样品净化:

SPE 柱: SelectCore GCB/NH₂-A 固相萃取柱;

净化: 取 SelectCore GCB/NH₂-A 固相萃取柱用乙腈: 甲苯 (3: 1) 10 mL 活化, 量取上述 GC- mS/ mS 样品提取项下的薄荷提取液 2 mL, 置已活化的 SelectCore GCB/NH₂-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, 氮吹至约 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:

Q 法净化管: SelectCore QuEChERS 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: 量取上述 LC- mS/ mS 样品提取项下的薄荷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(每分钟 4000 转)5 分钟, 即得。

LC/ MS/MS 测定:

基质加标配制: 精密吸取上清液 2.5 mL,置氮吹仪上于 40 °C 水浴浓缩至约 0.6 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 针式尼龙滤头, 上机分析。

样品溶液配制: 精密吸取上清液 2.5 mL,置氮吹仪上于 40 °C 水浴浓缩至 1.0 mL,加入 0.3 mL 水, 混匀, 过 0.22 μm 针式尼龙滤头, 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：Chro mCore C18- MS Pesticides 中药农残专用柱(2.1 ×100mm, 2.6μm)

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 °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：N₂ 10 L/min

6 注意事项

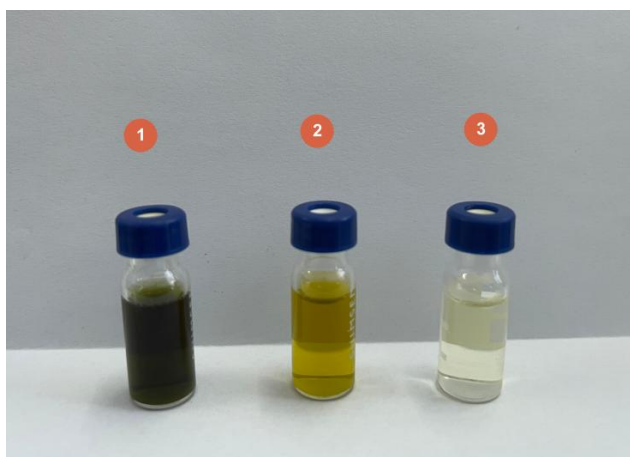
GC- MS/MS：久效磷参考 LC- MS/MS 分析结果。

LC- MS/MS：由于样品中挥发油类成分和色素类成分较多，这些成分容易造成目标物响应变低，故对样品浓度进行减半处理，减半后的样品与基质液浓度为 0.5 g/mL（与直接提取法样品浓度一致）；甲拌磷参考 GC- MS/MS 分析结果；甲拌磷砒参考 GC- MS/MS 分析结果（检测条件见下表）由于使用 33 种农残混标定位甲拌磷砒在 GC- MS/MS 上出峰时间时使用以下 4 组离子对在甲拌磷砒相邻时间段内有多个化合物均有响应，为避免定位不准确务必使用甲拌磷砒单标对照品来定位；水胺硫磷参考 GC-MS/MS 分析结果；杀虫脒参考 GC- MS/MS 结果。

目标物	监测离子对	电压 (CE)
甲拌磷砒 (GC- mS/ mS)	153.00>97.0	10
	124.9>96.9	5
	199.00>143.00	10
	199.00>96.90	15

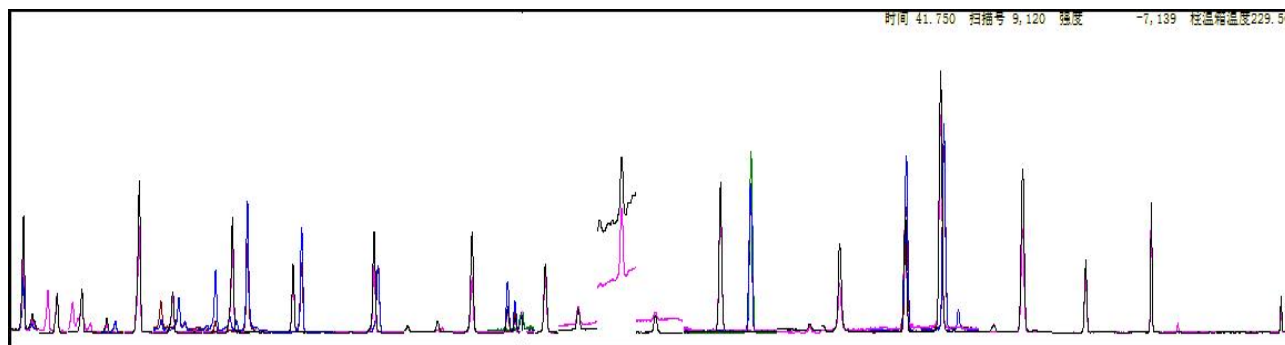
备注：离子对条件参照 2341 第四法中的离子对信息

7 实验结果

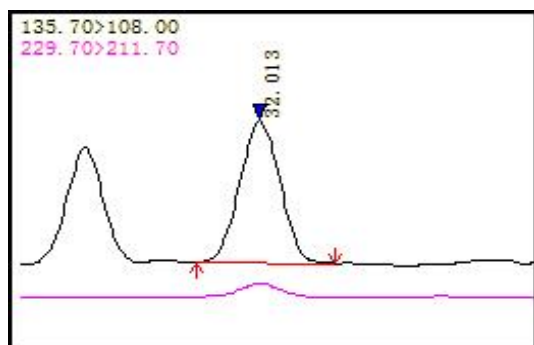


- ①: 为薄荷提取液原液（直接提取法）
- ②: 为 SelectCore QuEChERS Q-15A06 净化后的薄荷提取液（QuEChERS 法）
- ③: 为 SelectCore GCB/NH₂-A 500mg/500mg/6mL 净化后的薄荷提取液

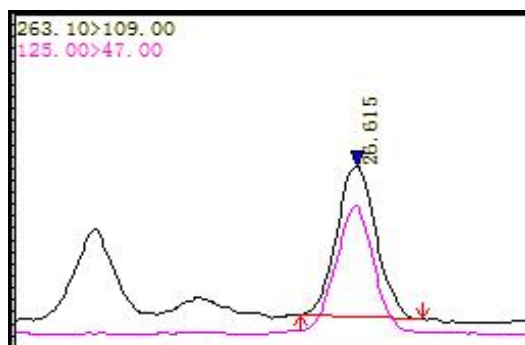
薄荷基质加标 GC-MS/MS 部分化合物分析结果谱图



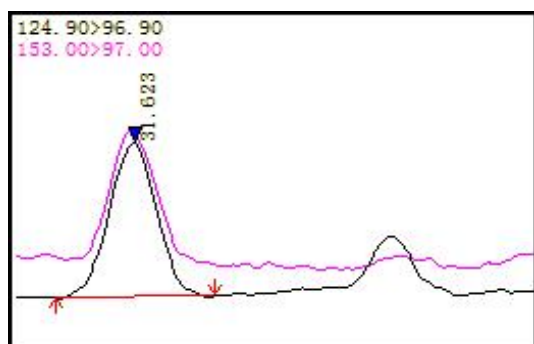
固相萃取法三处理薄荷基质 LOQ 浓度点加标谱图（GC-MS/MS 方法）



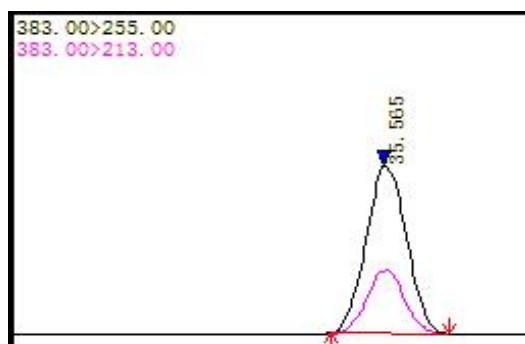
水胺硫磷



甲基对硫磷

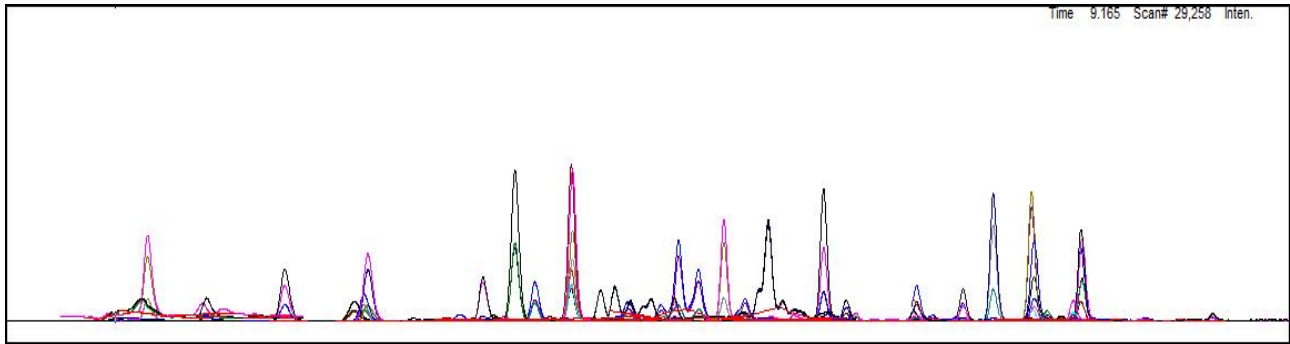


甲拌磷

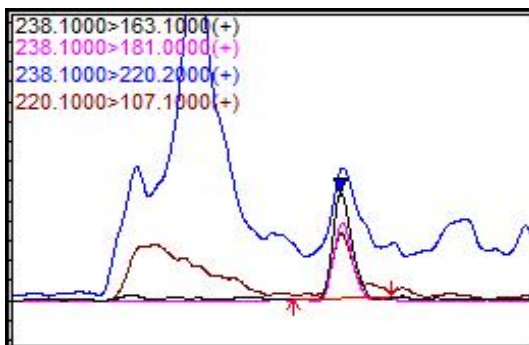


氟虫腈

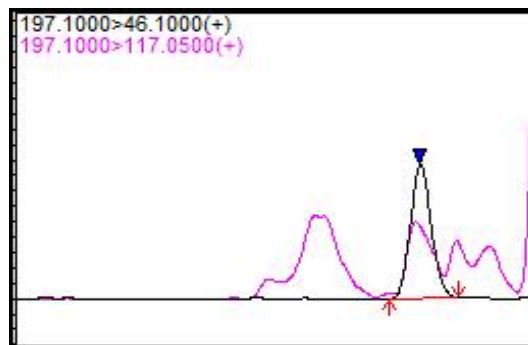
薄荷基质加标 LC-MS/MS 部分化合物分析结果谱图



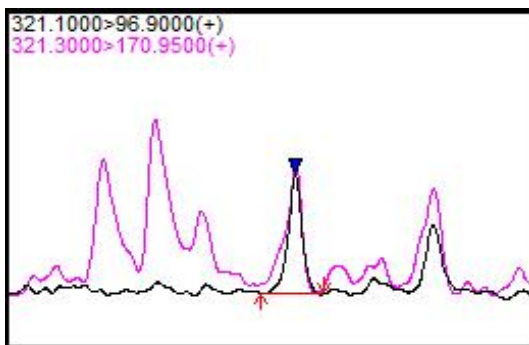
QuEChERS 法处理薄荷基质 LOQ 浓度点加标谱图 (LC- MS/MS 方法)



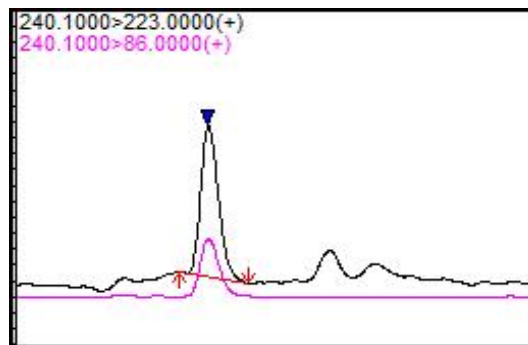
3-羟基克百威



杀虫脒



特丁硫磷砒



涕灭威砒

表 1 薄荷中 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	69.8%	苯线磷亚砒	86.1%	3-羟基克百威	71.3%
甲基对硫磷	82.8%	地虫硫磷	91.2%	涕灭威	80.7%
对硫磷	80.2%	硫线磷	101.2%	涕灭威砒	89.0%
久效磷	83.5%	蝇毒磷	94.3%	涕灭威亚砒	90.1%
磷胺	83.3%	治螟磷	88.7%	灭线磷	75.1%
α -六六六	79.1%	特丁硫磷	94.1%	氯唑磷	88.3%
β -六六六	82.3%	特丁硫磷砒	84.3%	水胺硫磷	88.4%
γ -六六六	82.2%	特丁硫磷亚砒	82.6%	α -硫丹	78.0%
δ -六六六	79.9%	甲基硫环磷	76.4%	β -硫丹	81.4%
2,4'-滴滴涕	82.6%	甲磺隆	72.6%	硫丹硫酸酯	76.9%

4,4'-滴滴滴	80.2%	氯磺隆	69.8%	氟虫腈	66.5%
4,4'-滴滴涕	82.6%	胺苯磺隆	85.0%	氟虫腈砒	80.1%
4,4'-滴滴伊	79.3%	甲拌磷	89.6%	氟虫腈亚砒	86.1%
杀虫脒	74.5%	甲拌磷砒	82.9%	氟甲腈	78.7%
除草醚	85.4%	甲拌磷亚砒	85.2%	o,p'-三氯杀螨醇	79.2%
艾氏剂	77.7%	甲基异柳磷	95.9%	p,p'-三氯杀螨醇	79.3%
狄氏剂	73.8%	内吸磷-O	79.2%	硫环磷	77.2%
苯线磷	74.8%	内吸磷-S	81.8%		
苯线磷砒	120.8%	克百威	83.8%		

8 实验讨论

通过以上实验数据可以看出，薄荷使用 SelectCore GCB/NH₂-A 固相萃取柱处理对其色素类和挥发油类成分吸附良好，有效地减轻了样品中色素成分对 GC-MS/MS 柱前端的污染，基质加标中各目标物保留时间稳定；使用 SelectCore QuEChERS Q-15A06 净化管处理的薄荷 LC-MS/MS 基质加标液中化合物出峰良好，有效地减轻了由于样品中挥发油导致的目标物响应低的问题；搭配上上述解决办法有效地解决了薄荷农残检测中存在的问题，提高了实验效率，为薄荷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。