

# 加速溶剂萃取 - 固相萃取 - 气质联用法 (ASE-SPE-GC-MS) 分析中药中的农药多残留

车金水 邓桂凤 梁立娜  
赛默飞世尔科技(中国)有限公司

## 引言

中药为我国的传统中医特有药物, 为我国的民族文化瑰宝。据统计, 我国用于饮片和中成药的药材有 1000-1200 余种, 其中约有 20% 的中药材来自人工栽培<sup>[1]</sup>。随着人工栽培过程中农药的使用, 使得中药材极可能受到农药的污染, 中药材中农药残留的存在直接危害着人类的健康。《中国药典(2010 版)》中提供了有机氯、有机磷和拟除虫菊酯三类农药残留的检测方法。但《中国药典(2010 版)》中提供的方法前处理繁琐, 三类农药残留分别采用了不同的前处理方式, 不同的检测方法, 且该方法非常耗时<sup>[2]</sup>。随着人们安全意识的提高, 对农药残留分析检测项目日益增多, 且限量要求日益严格, 需要检测方法灵敏度高, 进行多组分同时检测, 且方法需简单快速。

加速溶剂萃取技术 (Accelerated Solvent Extraction, ASE) 是在较高的温度 (40°C - 200°C) 和高压 (1500 psi) 下用溶剂萃取固体或半固体样品的样品前处理方法。ASE 具有萃取效率高, 速度快、溶剂用量少等优点。目前, ASE 广泛应用于环境、食品、药物、天然产物和中药中的活性成分等领域<sup>[3]</sup>。本文建立了加速溶剂萃取 - 固相萃取 - 气质联用法对中药中 49 种有机氯、有机磷及拟除虫菊酯农药残留同时检测, 结果表明该方法灵敏度高, 回收率高, 线性范围好。

## 测试条件

### 仪器

TRACE 1310 GC-MS 气质联用仪, 配 EI 源; TriPlus RSH 自动进样器; ASE 350。

### ASE 条件

中药材样品采用粉碎机粉碎, 过 30 目筛。精确称取样品 2g, 加入硅藻土适量, 混合均匀, 转至底层垫有纤维素膜的萃取池 (10mL) 中, 按表 1 加速溶剂萃取条件萃取。萃取

完成后萃取液氮吹浓缩至近干, 加 3 mL 乙腈 / 乙酸乙酯 (3/1) 复溶, 待净化。

表 1. ASE 萃取条件

条件	参数
溶剂	丙酮: 正己烷 =1:1
温度	80°C
加热时间	5min
静态萃取时间	5min
循环次数	2
吹扫体积	60%
吹扫时间	60s
总萃取时间	20 min
总萃取液体积	20 mL

于 Carb/NH<sub>2</sub> SPE 小柱上层添加 1cm 高无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 先用 8 mL 乙腈 / 乙酸乙酯 (3/1) 淋洗层析柱, 再将萃取浓缩液转移至 SPE 柱内, 取适量乙腈 / 乙酸乙酯 (3/1) 清洗浓缩瓶, 转入 SPE 柱内, 然后用 20mL 乙腈 / 乙酸乙酯 (3/1) 洗脱, 洗脱液氮吹浓缩近干, 精确量取 1mL 丙酮复溶, 供 GC/MS 分析。

### 色谱条件

色谱柱: TG-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)

柱温: 80°C (1 min), 20°C /min 到 180°C (0 min),

5°C /min 到 300°C (0 min), 最后 20°C /min 至

320°C (5 min)

进样方式: 不分流进样, 分流时间为 1min

进样口温度: 250°C

载气: 氦气 (99.999%), 恒流模式, 1 mL/min

进样量: 1 μL

### 质谱条件

EI 离子源, 离子源温度: 250°C

传输线温度: 280°C; 选择离子扫描 (SIM) 模式 (见表 2)。

表 2. 49 种农药残留保留时间及特征离子

序号	化合物	保留时间 /min	定量离子	定性离子
1	甲胺磷	5.22	94	95、142
2	敌敌畏	5.34	109	185、220
3	乙酰甲胺磷	6.64	136	42、94
4	氧乐果	8.18	156	79、110
5	久效磷	9.00	127	67、97
6	甲拌磷	9.21	260	121、231
7	α- 六六六	9.38	183	219、254
8	六氯苯	9.46	284	282、286
9	乐果	9.62	87	93、125
10	β- 六六六	9.93	183	219、254
11	五氯硝基苯	10.00	237	142、214
12	γ- 六六六	10.13	183	219、254
13	二嗪磷	10.26	304	137、179
14	地虫硫磷	10.30	246	137、174
15	δ- 六六六	10.83	183	219、254
16	五氯苯氨	11.24	265	230、263
17	磷胺	11.28	127	72、264
18	甲基毒死蜱	11.54	286	125、288
19	甲基对硫磷	11.73	263	233、246
20	七氯	12.02	272	237、337
21	甲基嘧啶磷	12.30	290	276、305
22	杀螟硫磷	12.41	277	109、125
23	五氯硫代苯甲醚	12.58	296	294、298
24	马拉硫磷	12.65	173	143、158
25	毒死蜱	12.85	97	197、199
26	倍硫磷	12.99	278	109、125
27	艾氏剂	13.02	263	265、293
28	对硫磷	13.10	291	186、235
29	水胺硫磷	13.22	136	230、289
30	毒虫威	14.16	323	267、269
31	喹硫磷	14.37	146	156、157
32	杀扑磷	14.83	145	157、302
33	氯丹	14.90	375	373、377
34	p,p'-DDE	16.01	318	246、316
35	狄氏剂	16.19	263	277、380
36	异狄氏剂	16.86	263	317、345
37	乙硫磷	17.41	231	199、384
38	p,p'-DDD	17.40	235	165、237
39	o,p'-DDT	17.46	235	165、237
40	三唑磷	17.93	161	172、257
41	三硫磷	18.30	157	199、342
42	p,p'-DDT	18.66	235	165、237
43	溴螨酯	20.37	341	183、185
44	伏杀磷	21.51	182	154、367
45	谷硫磷	21.64	160	77、132
46	氯菊酯	23.76、24.03	183	163、165
47	氯氰菊酯	25.46、25.65、 25.75、25.83	181	152、180
48	氰戊菊酯	27.16、27.56	125	167、225
49	溴氰菊酯	28.60	181	77、253

结果与讨论

ASE 条件优化

本实验参考 NY/T 761-2008 和 GB/T 23376-2009，分别比较了乙腈、乙腈 / 二氯甲烷 (1:1) 和丙酮 / 正己烷 (1:1) 三种溶剂作为 ASE 的萃取溶剂<sup>[4,5]</sup>。实验结果表明，采用乙腈、乙腈 / 二氯甲烷 (1:1) 和丙酮 / 正己烷 (1:1) 对农残萃取率

没有明显差异，但乙腈、乙腈 / 二氯甲烷 (1:1) 对色素提取较多，对后续净化要求更高，且乙腈在浓缩过程耗时较丙酮 / 正己烷 (1:1) 长。所以本实验选择丙酮 / 正己烷 (1:1) 作为后续的萃取溶剂。其他 ASE 条件为：萃取温度 80℃，静态萃取时间 5min，循环 2 次，冲洗体积 60%，吹扫时间 90s。

### 样品净化优化

本实验采用固相萃取的方法对样品进行净化，分别比较了 Carb 柱、Florsil 柱和 Carb/NH<sub>2</sub> 柱三种 SPE 小柱。实验结果表明，Carb/NH<sub>2</sub> 柱净化最佳，且各农药组分的回收率均在 70-120% 之间。Carb 柱、Florsil 柱均不同程度干扰农药残留组分的测定，且回收率低于 Carb/NH<sub>2</sub> 柱。所以本实验选择 Carb/NH<sub>2</sub> 柱为最终的净化 SPE 柱。

### 标准品色谱图及样品加标色谱图

49 种有机氯、有机磷和拟除虫菊酯类农药标准品选择离子扫描色谱图见图 1。为减小基质效应带来的误差，本实验采用空白样品加标法定量，甘草样品加标农药标准品选择离子扫描色谱图见图 2。

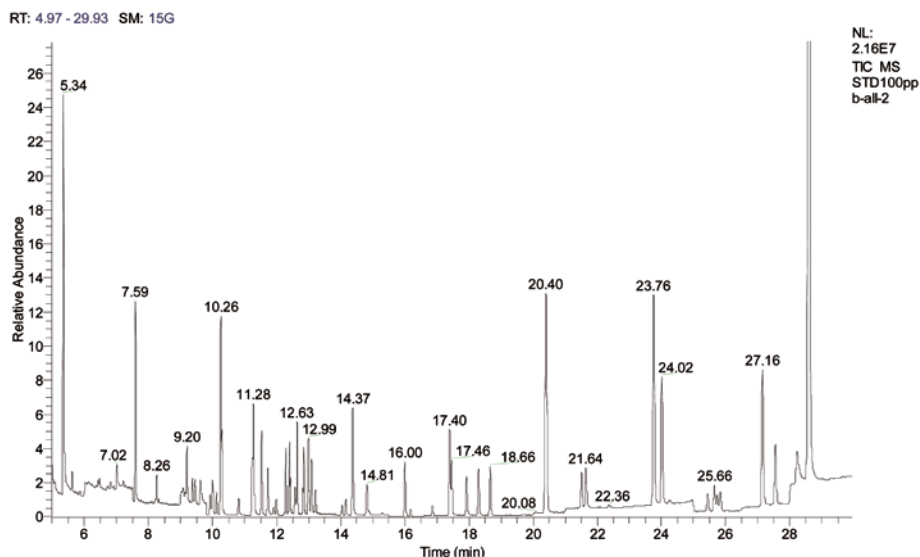


图 1. 100 µg/L 混合标准溶液总离子流图

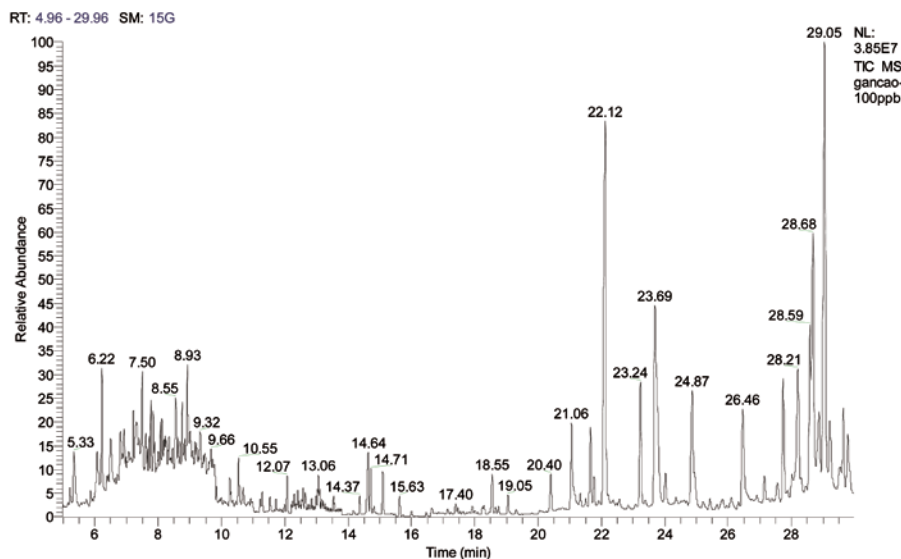


图 2. 加标样品总离子流图 (加标量 100 µg/L)

### 线性、检出限及 RSD

采用空白基质配制 49 种农药组份的混合标准溶液，各浓度分别为：10.0、20.0、50.0、100.0、200.0、400.0 µg/L，采用上述方法分别进样分析，考察各组分在 10.0-400 µg/L 浓度范围内的线性。实验结果表明 49 种组分在 10-400 µg/L 线性关系良好，线性相关系数均大于 0.99 (见表 3)。

对甘草样品添加混合标准溶液 (加标浓度为 50、100、200

µg/L)，考察 49 种农残的加标回收情况。实验结果表明各组分的加标回收率均在 70-120% 之间 (其中甲胺磷、乙酰甲胺磷和氧乐果除外，可能由于萃取过程热降解导致)，符合日常分析检测的要求。对 100 µg/L 加标水平平行测定 3 次，RSD 值在 0.7-8.1%，符合稳定性要求。同时以三倍信噪比计算各组分检出限，各组分检出限在 0.3-2.0 µg/L 之间 (见表 3)。

表 3. 线性、检出限及 RSD 数据 (n=3)

序号	化合物	线性方程	R <sup>2</sup> /%	加标 50 µg/L 回收率 /%	加标 100 µg/L 回收率 /%	加标 200 µg/L 回收率 /%	检出限	RSD/%
1	甲胺磷	Y=376153+17113.8*X	0.9921	43.9	52.4	53.6	2.0	8.1
2	敌敌畏	Y=716186+109320*X	0.9999	110.5	108.3	101.1	0.5	4.7
3	乙酰甲胺磷	Y=547204+1243.3*X	0.9963	63.7	61.5	69.1	2.0	7.3
4	氧乐果	Y=169222+8328.9*X	0.9941	50.6	59.8	65.7	2.0	7.7
5	久效磷	Y=-360522+58880*X	0.9984	108.6	118.3	99.8	1.0	3.4
6	甲拌磷	Y=-2208.4+3300.3*X	0.9981	94.0	98.9	89.3	0.5	3.8
7	α - 六六六	Y=133017+9790.6*X	0.9969	74.5	78.8	80.1	0.5	1.4
8	六氯苯	Y=61814.7+8093*X	0.9987	83.2	85.7	86.4	0.5	3.8
9	乐果	Y=301896+23818.1*X	0.9995	115.3	104.5	97.5	1.0	4.6
10	β - 六六六	Y=138639+7335.1*X	0.9992	103.0	99.4	83.1	0.5	3.2
11	五氯硝基苯	Y=24671+6507.7*X	0.9999	107.2	103.4	93.9	0.5	4.2
12	γ - 六六六	Y=328059+7505.9*X	0.9997	70.7	77.8	80.5	0.5	1.2
13	二嗪磷	Y=-13819+6439.3*X	0.9981	99.2	101.7	91.3	0.5	1.6
14	地虫硫磷	Y=-18474.3+8979.5*X	0.9989	94.6	98.2	82.9	0.5	3.9
15	δ - 六六六	Y=28157.4+10430.4*X	0.9987	104.3	82.6	91.4	0.5	4.3
16	五氯苯氨	Y=89290+22265.5*X	0.9989	98.2	103.1	91.1	0.5	4.1
17	磷胺	Y=-1788.9+70988*X	0.9987	116.8	111.1	90.4	0.5	4.9
18	甲基毒死蜱	Y=59559.2+21934.2*X	0.9998	100.1	104.0	92.9	0.3	5.9
19	甲基对硫磷	Y=-62323.1+10419.3*X	0.9973	101.8	108.9	103.4	0.5	5.6
20	七氯	Y=259769+4857.5*X	0.9962	87.0	82.3	85.1	0.5	4.6
21	甲基嘧啶磷	Y=4385.8+14085.4*X	0.9993	102.0	103.6	93.1	0.3	5.1
22	杀螟硫磷	Y=-98389+8814.1*X	0.9980	71.2	91.6	95.2	0.5	5.6
23	五氯硫代苯甲醚	Y=45928.9+10303.6*X	0.9997	83.0	92.4	85.5	0.3	3.1
24	马拉硫磷	Y=-75504+32231.9*X	0.9978	106.1	107.6	97.2	0.5	4.2
25	毒死蜱	Y=203007+28449.8*X	0.9997	86.4	113.0	84.5	0.5	4.1
26	倍硫磷	Y=52879.9+20094.2*X	0.9999	104.5	101.7	92.2	0.5	2.6
27	艾氏剂	Y=28786.6+4718.6*X	0.9995	94.1	96.7	84.2	0.5	0.7
28	对硫磷	Y=-51463.7+5987*X	0.9947	98.1	103.1	105.5	1.0	4.5
29	水胺硫磷	Y=126536+30966.8X	0.9993	118.2	112.8	106.5	0.5	4.0
30	毒虫威	Y=7613.7+2354.6*X	0.9998	110.0	118.0	105.2	0.5	1.4
31	啶硫磷	Y=14129+32405.9*X	0.9998	101.1	101.2	93.2	0.5	4.2
32	杀扑磷	Y=105674+31673*X	0.9998	79.6	86.0	82.1	0.5	4.5
33	氯丹	Y=1850.4+826.7*X	0.9999	99.2	97.2	90.5	0.5	4.7
34	p,p'-DDE	Y=66327+4867.2*X	0.9966	76.6	73.0	76.7	1.0	5.2
35	狄氏剂	Y=30072.5+1342.86*X	0.9986	76.1	80.3	82.7	0.3	3.3
36	异狄氏剂	Y=21152.4+3239.2*X	0.9989	101.0	103.2	93.8	1.0	2.5
37	乙硫磷	Y=-87039.5+14761.6*X	0.9961	108.4	111.6	101.7	0.5	3.8
38	p,p'-DDD	Y=195811+21020.9*X	0.9979	73.2	78.3	81.7	0.5	4.9
39	o,p'-DDT	Y=88330.7+14780.7*X	0.9980	78.1	72.3	80.3	0.5	5.1
40	三唑磷	Y=-34429+32702.7*X	0.9993	114.0	104.2	82.1	0.5	2.1
41	三硫磷	Y=92757+19142.6*X	0.9988	88.8	108.0	92.3	0.5	5.3
42	p,p'-DDT	Y=45129.6+13476.4*X	0.9990	71.2	74.1	79.6	0.5	5.6
43	溴螨酯	Y=112151+16617.3*X	0.9998	73.8	77.1	80.5	0.5	2.8
44	伏杀磷	Y=136841+16745.4*X	0.9986	108.0	108.6	102.8	0.5	5.4
45	谷硫磷	Y=248784+11934.7*X	0.9924	116.4	109.3	103.1	0.5	0.4
46	氯菊酯	Y=566051+59719*X	0.9971	97.0	107.7	107.3	0.3	2.7
47	氯氰菊酯	Y=434255+17461.5*X	0.9933	79.5	82.0	87.4	1.0	6.3
48	氰戊菊酯	Y=415176+23617.4*X	0.9951	102.7	89.4	95.1	0.5	2.7
49	溴氰菊酯	Y=13796.2+263999*X	0.9999	83.1	79.5	85.7	0.3	1.9

## 与药典方法比较

参照《中国药典(2010年版)》一部附录IX Q 农药残留量测定方法的中前处理方式对甘草样品进行加标实验。采用浸泡-超声波提取法对有机氯进行提取,加浓硫酸磺化法对有机氯进行净化。采用超声波提取法对有机磷和拟除虫菊酯进行提取,有机磷采用 Carb 柱进行净化,拟除虫菊酯采用中性氧化铝/Florsil 柱进行净化<sup>[2]</sup>。实验结果表明,各组分加标回收率处于 40-140% 之间。与该方法相比,参照药典方法回收率略低,且只能单独检测一类农药残留。药典方法中有机氯、有机磷和拟除虫菊酯提取耗分别 13 小时、1 小时和 1 小时,而该方法中采用加速溶剂萃取,每个样品的萃取时间仅为 20min,且方法简单,无需人员全程操作。

## 实际样品测试

利用建立的分析方法,对甘草,黄芪,人参和金银花样品进行农药残留分析。实验结果表明:4 个样品中均不同程度的检测出了农药残留。其中敌敌畏、六氯苯、五氯硝基苯、三唑磷含量偏高,含量为 5-40 µg/kg。

## 总结

采用赛默飞世尔加速溶剂萃取和全新一代单四级杆气相色谱质谱联用仪,样品前处理时间极大缩短了,每个样品的提取时间在 20min 左右;35min 内能够分析检测 49 种农药残留,使得实验室能够应付大批量样品的分析检测。

## 参考文献

- [1] 万益群, 鄢爱平, 谢明勇等. 中草药中有机氯农药和拟除虫菊酯农药残留的测定. 分析化学, 2005, 33(5): 614-618.
- [2] ChP (中国药典). 2010.Vol I (一部): 附录 57.
- [3] 牟世芬. 加速溶剂萃取的原理及应用 [J]. 环境化学, 2001, 20(3): 299-300.
- [4] NYT 761-2008, 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定 [S].
- [5] GB 23376-2009, 茶叶中农药多残留测定 气相色谱/质谱法 [S].

[www.thermoScientific.com](http://www.thermoScientific.com)

©2013 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. ISO is a trademark of the International Standards Organization. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries. This information is presented as an example of the capabilities of Thermo Fisher Scientific Inc. products. It is not intended to encourage use of these products in any manners that might infringe the intellectual property rights of others. Specifications, terms and pricing are subject to change. Not all products are available in all countries. Please consult your local sales representative for details.



Thermo Fisher  
Scientific, Austin, TX  
USA is ISO 9001:2008 Certified.

**上海**  
上海浦东  
新金桥路 27 号 6 号楼

**成都**  
成都市武侯区临江西路 1 号  
锦江国际大厦 1406

**北京**  
北京东城区安定门东大街 28 号  
雍和大厦西楼 F 楼 7 层

**沈阳**  
沈阳市沈河区惠工街 10 号  
卓越大厦 3109 室

**广州**  
广州市东风中路 410-412 号  
时代地产中心 3001-04 室

**西安**  
西安市高新区科技路 38 号  
林凯国际大厦 1006-08 单元

**服务热线**  
800 810 5118  
400 650 5118

AN\_C\_ASE-7

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC