

磁性亲水亲脂平衡萃取材料辅助基质固相分散萃取- 高效液相色谱-串联质谱法同时测定中药材中76种农药残留

魏丹^{1*}, 国明²

(1. 河北经贸大学生物科学与工程学院, 河北 石家庄 050061;

2. 浙江省化工产品质量检验站有限公司, 浙江 杭州 310023)

摘要:建立灵敏、可靠的中药材中农药多残留的检测方法对保证中药材的质量和安​​全十分重要。制备了磁性亲水亲脂平衡萃取材料 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$, 将其应用于农药多残留的磁性基质固相分散萃取中, 并结合高效液相色谱-串联质谱法 (HPLC-MS/MS) 检测了金银花、菊花和三七块根(干) 3 种中药材中 76 种农药残留量。研究通过扫描电子显微镜 (SEM)、傅里叶变换红外光谱 (FT-IR) 和 X-射线衍射仪 (XRD) 对磁性萃取材料 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$ 进行表面形貌和结构的表征。同时考察了影响磁性基质固相分散萃取效率的主要因素, 结果表明, 磁性萃取材料 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$ 的用量为 10 mg、研磨分散吸附时间为 5 min、淋洗液为 10 mL 20% (v/v) 甲醇水溶液、涡旋振荡清洗 1 min、以 0.5 mL 0.1% (v/v) 甲酸乙腈为洗脱剂、涡旋振荡洗脱 1 min, 76 种农药的萃取效果最佳。在实际应用中, 76 种农药在金银花、菊花、三七块根(干) 3 种中药材中的萃取回收率别为 69.1%~112.2%、67.1%~102.8% 和 70.1%~105.1%, 相对标准偏差分别为 2.0%~12.4%、2.1%~13.2% 和 2.0%~13.5%。该方法利用 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$ 良好的磁响应性和亲水亲脂通用吸附特性, 可以同时萃取极性农药(如多菌灵等) 和非极性农药(如敌瘟磷等), 建立了测定中药材中 76 种农药残留的磁性基质固相分散萃取-高效液相色谱-串联质谱联用的分析方法, 具有低消耗、操作简便、灵敏度高等优点, 适用于非液态中药材基质中多种类农药残留的检测。

关键词: 高效液相色谱-串联质谱; 磁性基质固相分散萃取; 磁性亲水亲脂平衡萃取材料; 多农药残留; 中药材
中图分类号: O658 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8713(2022)04-0313-10

Simultaneous determination of 76 pesticide residues in the traditional Chinese medicine by magnetic hydrophilic-lipophilic-balanced materials assisted matrix solid phase dispersion extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

WEI Dan^{1*}, GUO Ming²

(1. College of Bioscience and Engineering, Hebei University of Economics and Business, Shijiazhuang 050061, China; 2. Zhejiang Chemical Production Quality Inspection Co., Ltd, Hangzhou 310023, China)

Abstract: Traditional Chinese medicine (TCM) is gaining popularity worldwide, but its quality is often affected by excessive pesticide residues during cultivation and production. A sensitive and reliable method for the simultaneous determination of multi-residue pesticides in TCMs is the key to guarantee the quality and safety of TCMs. In this study, broad-spectrum hydrophilic-lipophilic balanced magnetic adsorbents were prepared for the magnetic matrix solid phase dispersion (MMSPD) extraction of 76 pesticides from three different TCMs before their detection by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). Unlike

收稿日期: 2021-08-16

* 通讯联系人. Tel: (0311) 87655680, E-mail: 1422547228@qq.com.

基金项目: 国家自然科学基金(3210161286); 河北省自然科学基金(B2021207002).

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 3210161286); Natural Science Foundation of Hebei Province of China (No. B2021207002).

the traditional matrix solid phase dispersion (MSPD), which required tedious SPE column packing, an external magnetic field was employed in our method for magnetic isolation and extraction from TCM samples, followed by grounding adsorption. First, broad-spectrum hydrophilic-lipophilic balanced magnetic adsorbents, $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$, were successfully fabricated by the swelling polymerization of divinyl benzene (DVB) and *N*-vinyl pyrrolidone (NVP) on the surface of Fe_3O_4 magnetic particles. The prepared materials were systematically characterized by scanning electron microscopy (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), and X-ray diffractometry (XRD) for their morphologies, chemical structure, and crystalline structure. Then, the obtained magnetic particles ($\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$) were applied to MMSPD for the simultaneous extraction and analysis of the 76 pesticides in honeysuckle, chrysanthemum, and pseudo-ginseng root (dry) prior to detection by HPLC-MS/MS. In order to establish the optimal extraction conditions, the key parameters affecting the MMSPD extraction efficiency were optimized, including the amount of magnetic materials $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$ (5, 10, 12, 15, 20 mg), volume fractions of methanol in water for matrix purification (0%, 5%, 10%, 20%, 25%), grinding adsorption time for dispersion (2, 3, 4, 5, 6 min), type (methanol, methanol containing 0.1% (v/v) formic acid, acetonitrile, acetonitrile containing 0.1% (v/v) formic acid) and volume (0.5, 1, 2, 2.5, 5 mL) of elution solvent, and vortex time for desorption (1, 2, 3, 4, 5 min). Finally, the optimal conditions were set as follows: 10 mg of the magnetic adsorbent $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$, 10 mL 20% (v/v) of methanol in water with a vortex time of 1 min for matrix purification, grinding time of 5 min for dispersion and adsorption, 0.5 mL acetonitrile containing 0.1% (v/v) formic acid as the elution solvent, and vortex time of 1 min for desorption. Then, the 76 pesticides were separated on an Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 column (100 mm×3.0 mm, 1.8 μm) with gradient elution and analyzed in multiple reaction monitoring (MRM) mode by positive electrospray ionization (ESI^+). Under the optimal conditions, good linearities were obtained for the 76 pesticides in the concentration ranges of 10 to 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, with correlation coefficients (r^2) ≥ 0.9965 . The limits of detection (LODs, $S/N=3$) were in the range of 0.6–3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the limits of quantification (LOQs, $S/N=10$) ranged from 2.0 to 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The proposed method was successfully applied to 76 pesticide residue analysis in honeysuckle, chrysanthemum, and pseudo-ginseng root (dry). At three spiked levels, the recoveries were 69.1%–112.2%, 67.1%–102.8% and 70.1%–105.1%, with RSDs of 2.0%–12.4%, 2.1%–13.2% and 2.0%–13.5% for honeysuckle, chrysanthemum, and pseudo-ginseng root (dry), respectively. The prepared magnetic material $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$ has the characteristics of both strong magnetic responsibility and high broad-spectrum adsorption property for hydrophilic (e. g., carben-dazim) and lipophilic (e. g., edifenphos) pesticides. The implementation of the MMSPD method before the analysis of the 76 pesticides by HPLC-MS/MS has the following advantages: less consumption of the magnetic materials, sample, and organic solvent; simple operation; high sensitivity; and satisfactory accuracy and precision. Hence, this is a potential method for the simultaneous determination of multiple pesticide residues in complex non-liquid TCM samples.

引用本文:魏丹,国明. 磁性亲水亲脂平衡萃取材料辅助基质固相分散萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时测定中药材中76种农药残留. 色谱, 2022, 40(4): 313–322.

WEI Dan, GUO Ming. Simultaneous determination of 76 pesticide residues in the traditional Chinese medicine by magnetic hydrophilic-lipophilic-balanced materials assisted matrix solid phase dispersion extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Chinese Journal of Chromatography, 2022, 40(4): 313–322.

Key words: high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS); magnetic matrix solid phase dispersion (MMSPD) extraction; magnetic balanced hydrophilic-lipophilic adsorbents; multi-pesticide residues; traditional Chinese medicine (TCM)

中草药主要来源于天然药及其加工品,其中以植物药居多,是中华文化的传统用药,至今在我国预防治疗、养生与保健中发挥着不可替代的作用^[1]。随着中草药市场规模的不断扩大,其生产量与消费量不断增加^[2,3],大部分野生药材资源已无法满足药用需求,栽培药材已成为目前中药材市场的主流药品。在中药材的栽培过程中不可避免地会发生病虫害,需要使用农药进行防治,然而农药的频繁使用和滥用会导致中药材中农药残留超标,直接影响我国中药材的质量与安全^[4,5]。

为了有效控制中药种植中违规使用高安全风险、高残留、高毒农药,从源头把控中草药质量和安全,保障人民用药安全,我国不断改善中草药中农药残留标准。2020年版《中国药典》全面制定植物类中药材和饮片禁用农药的限量标准,不仅有效保障了人民用药的安全性,同时引导中药材种植过程中农药的合理使用,有效控制了大量使用禁用农药和滥用农药等行业共性问题,有助于推进中医药国际化^[6]。建立可操作性强、准确度高、灵敏度高的中药材中多种农药残留同时筛查和检测的方法显得越来越重要。目前,色谱-质谱联用技术具有高灵敏度、专属性强、高通量检测等优点,能够满足当前快速、准确、高效的检测要求,已广泛用于农药多残留的检测中^[7-9]。中药基质复杂,含有有机酸、糖分、色素等基质干扰物质,需要有效的样品前处理方法实现对样品的萃取富集。目前,应用于农药残留的前处理方法有固相萃取^[10,11]、液液萃取^[12,13]和磁性固相萃取^[14]等。这些方法通常适用于液体样品。对于固体或粉末状中药材样品,需要使用一定量的有机溶剂预提取后再进行净化或吸附萃取。

基质固相分散萃取(MSPD)通过将样品和萃取材料混匀后研磨分散,可以均质并将待测目标物很好地分散至萃取材料表面,以达到良好的分散萃取效果,具有样品使用量少、有机试剂消耗少等优点,适用于固体样品前处理^[15]。目前,QuEChERS常用于中药材中农药多残留的样品前处理^[16,17]。但是,QuEChERS步骤通常包括提取、盐析和离心等,而传统的基质固相分散萃取通常需要采用固相萃取柱进行装柱,操作较为繁琐。同时大多数的吸附剂

无法满足农药多残留同时萃取的要求。因此,本实验通过制备具有广谱吸附特性的磁性亲水亲脂平衡萃取材料($\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$),可以同时萃取非极性农药和极性农药($\log P < 4.5$)^[18],将其与粉末状中药材样品一起研磨,在外部磁场的作用下,利用磁性基质固相分散萃取法(MMSPD),实现了中药材中多种类农药的分离和萃取,然后与高效液相色谱-串联质谱法联用,建立了同时测定中药材中76种农药残留的分析方法。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

Agilent 1290 infinity 高效液相色谱-6460 TripleQuad 质谱仪、ZORBAX EclipsePlus C18 色谱柱(100 mm × 3.0 mm, 1.8 μm) (美国 Agilent 公司); Milli-Q 超纯水器(美国 Millipore 公司); 傅里叶变换红外光谱分析仪(FT-IR) (德国 Bruker 公司); Gemini SEM 500 型场发射扫描电子显微镜(SEM) (德国 Carl Zeiss 公司); D8 Advance 型 X 射线粉末衍射(XRD) (德国 Bruker 公司)。

甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯;三氯化铁($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、正硅酸乙酯(TEOS)、二乙烯基苯(DVB)、*N*-乙烯基吡咯烷酮(NVP)、偶氮二异丁腈(AIBN)、甲基丙烯酸 3-(三甲氧基硅基)丙酯(MPS),以及76种农药标准品(10 mg/L)均购自上海安谱实验科技股份有限公司。76种农药标准品(10 mg/L)于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内避光保存,使用前将混合标准储备液恢复至室温,并用甲醇稀释至所需浓度,于4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内避光保存。中药材样品金银花、菊花、三七块根(干)来源于杭州当地中药材市场、药房。

1.2 磁性吸附剂的制备

1.2.1 Fe_3O_4 纳米颗粒

采用溶剂热法制备^[19],准确称取 1.950 0 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 分散于 22.5 mL 乙二醇中,搅拌均匀,加入 2.600 0 g 醋酸钠,搅拌均匀后通入氮气 30 min,隔绝空气转移至 50 mL 反应釜中,于 185 $^{\circ}\text{C}$ 条件下反应 12 h,静置冷却至室温,使用磁铁从反应溶液中分离得到黑色沉淀,用水、乙醇交替冲洗至近

中性,真空烘箱干燥,得到 Fe_3O_4 纳米颗粒。

1.2.2 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2@ \text{MPS}$

参考文献^[20]方法,称取 1.0 g Fe_3O_4 ,置于 500 mL 三口烧瓶中,加入 300.0 mL 水,超声分散均匀,加入 100 mL 乙醇超声分散均匀后,加入 1.2 mL 纯氨水溶液,涡旋振荡均匀。然后通入氮气,在氮气保护下依次逐滴滴加 2.5 mL TEOS 和 5.5 mL 乙醇至上述溶液中,于 60 °C 条件下反应 12 h,冷却至室温后,利用磁性分离得到黑色沉淀,依次用丙酮和乙醇洗去未反应的 TEOS,于 50 °C 真空干燥,得到 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ 纳米颗粒。

称取 0.2 g $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$,置于 500 mL 三口烧瓶中,加入 30 mL 乙醇,超声分散均匀后,用移液枪逐滴滴加 3 mL MPS,于 25 °C 搅拌 24 h,反应完成后,利用磁性分离得到黑色沉淀,用乙醇洗去未反应的 MPS,于 50 °C 真空干燥,得到 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2@ \text{MPS}$ 。

1.2.3 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$ 磁性材料

称取 3.0 g $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2@ \text{MPS}$,置于 1 000 mL 三口烧瓶中,加入 500.0 mL 乙腈,超声 10 min,依次加入 6.3 mL DVB、7.5 mL NVP 和 0.180 g AIBN,超声分散均匀,将烧瓶中的溶液转移至蒸馏装置中,收集乙腈层,于 75 °C 预聚合反应 20 min,于 115 °C 聚合反应 1 h。反应完成后静置冷却至室温,加入收集得到的乙腈溶液(约 150.0 ~ 200.0 mL),超声分散,然后在外加磁场作用下收集沉淀物,依次用乙腈和乙醇清洗,于 50 °C 真空干燥后得到核壳结构的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$ 。

1.3 中药材样品前处理

研磨分散吸附:取 50 g 中药材,充分粉碎,过 3 号筛(50 目)后,放入聚乙烯袋中备用。准确称取 10 mg 已粉碎的中药材样品,置于研钵中,加入 10 mg 磁性吸附剂 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$,研磨分散吸附 5 min。

淋洗:将研磨均匀的混合物转移至 25 mL 烧杯中,加入 10 mL 20% (v/v) 甲醇水溶液,涡旋振荡 1 min,利用磁铁磁性分离淋洗液和混合物,收集混合物,弃去淋洗液。

洗脱:在上述收集后的混合物中加入 0.5 mL 0.1% (v/v) 甲酸乙腈,涡旋振荡 1 min 进行洗脱,待洗脱完全后,使用磁铁磁性分离,收集洗脱液,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后进行 HPLC-MS/MS 定量分析。

1.4 HPLC-MS/MS 条件

色谱分离采用 ZORBAX Eclipse Plus C18 色谱柱(100 mm×3.0 mm, 1.8 μm);柱温:40 °C;流速:0.2 mL/min;流动相:0.05% (v/v) 甲酸水溶液(A)和乙腈(B)。梯度洗脱程序:0~4 min, 90% A~50% A; 4~15 min, 50% A~40% A; 15~18 min, 40% A~20% A; 18~19 min, 20% A~90% A; 19~25 min, 90% A。进样量:10 μL 。

离子源为电喷雾电离(ESI)源,采用正离子检测模式;多反应监测(MRM)模式进行定量分析。干燥气温度为 300 °C,干燥气流速为 5 L/min;雾化气压力为 0.3 MPa;鞘气温度:250 °C,鞘气流速:10 L/min;毛细管电压为 4 000 V。76 种农药的其他质谱参数见表 1。

2 结果与讨论

2.1 磁性萃取材料的表征

$\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$ 和 Fe_3O_4 纳米颗粒的粒径大小和表面形态如图 1a 所示, Fe_3O_4 纳米颗粒表面较为光滑,呈规则的球形,颗粒形状大小较为均匀,粒径约为 50 nm。通过硅烷化、双键以及有机共聚物修饰后得到的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$ 粒径约为 500~600 nm,呈较规则的球形,粒径远大于 Fe_3O_4 纳米颗粒,且其表面有大量褶皱,增大了比表面积,提高了对目标物的吸附效率。如图 1b 所示,30.12°、35.47°、43.11°、53.49°、57.06° 和 62.62° 的 2θ 值的特征峰对应于 Fe_3O_4 的(222)、(331)、(400)和(422)、(511)和(440),PLS 无定形结构的特征尖峰、 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$ 的特征峰与 Fe_3O_4 特征峰一致。

此外采用傅里叶变换红外光谱(FT-IR)对 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$ 进行表征,如图 1c 所示,560 cm^{-1} 处为 Fe_3O_4 中 Fe-O-Fe 的伸缩振动特征峰,1 068 cm^{-1} 处为 Si-O-Si 基团的面内伸缩振动的特征吸收峰,1 636 cm^{-1} 、3 436 cm^{-1} 处分别为 Si-OH 的弯曲振动峰和伸缩振动峰,说明 Fe_3O_4 表面形成 SiO_2 涂层,而得到 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$,在 1 500~1 600 cm^{-1} 处为 DVB 中芳环的 C=C 弯曲振动特征吸收峰,1 250~1 300 cm^{-1} 和 1 400~1 500 cm^{-1} 处分别为 NVP 中 C-C 伸缩振动特征峰和 C-N 伸缩振动特征峰^[21],综上所述,表明 DVB 和 NVP 单体成功负载于 Fe_3O_4 表面。

表1 76种农药的质谱参数
Table 1 MS parameters for the 76 pesticides

| No. | Analyte | CAS No. | t_R /min | Precursor ion (m/z) | Product ion (m/z) | Fragment voltage/V | Collision energy/V |
|-----|---|-------------|------------|-------------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| 1 | cyromazine (灭蝇胺) | 66215-27-8 | 1.364 | 167.0 | 85.0 | 120 | 25 |
| 2 | carbendazol (多菌灵) | 10605-21-7 | 2.218 | 192.1 | 160.1 | 80 | 15 |
| 3 | atraton (莠去通) | 1610-17-9 | 3.498 | 212.2 | 170.2 | 120 | 15 |
| 4 | desmetryn (敌草净) | 1014-69-3 | 4.027 | 214.1 | 172.1 | 120 | 15 |
| 5 | prometon (扑灭通) | 1610-18-0 | 4.067 | 226.2 | 142.0 | 120 | 20 |
| 6 | terbuthylon (特丁通) | 33693-04-8 | 4.152 | 226.2 | 170.1 | 120 | 15 |
| 7 | imazalil (抑霉唑) | 35554-44-0 | 4.785 | 297.0 | 159.0 | 120 | 20 |
| 8 | flumazenil (除草定) | 314-40-9 | 4.804 | 261.0 | 205.0 | 80 | 10 |
| 9 | cyprazine (环丙津) | 22936-86-3 | 4.915 | 228.2 | 186.1 | 120 | 15 |
| 10 | ametryn (莠灭净) | 834-12-8 | 4.915 | 228.2 | 186.0 | 120 | 20 |
| 11 | monuron (灭草隆) | 150-68-5 | 4.933 | 199.0 | 72.0 | 120 | 15 |
| 12 | dichlorovos (敌敌畏) | 62-73-7 | 5.166 | 221.0 | 109.0 | 120 | 15 |
| 13 | carbofuran (克百威) | 1563-66-2 | 5.795 | 222.3 | 165.1 | 120 | 5 |
| 14 | chlorotoluron (绿麦隆) | 15545-48-9 | 6.064 | 213.1 | 72.0 | 80 | 25 |
| 15 | diuron (敌草隆) | 330-54-1 | 6.256 | 233.1 | 72.0 | 120 | 20 |
| 16 | fluometuron (伏草隆) | 2164-17-2 | 6.256 | 233.1 | 72.0 | 120 | 20 |
| 17 | terbutryn (特丁净) | 886-50-0 | 6.263 | 242.2 | 186.1 | 120 | 15 |
| 18 | phorate-sulfoxide (甲拌磷亚砷) | 3-6-2588 | 6.289 | 277.0 | 143.0 | 100 | 15 |
| 19 | rabenzazol (吡咪唑) | 40341-04-6 | 6.316 | 213.2 | 172.0 | 120 | 25 |
| 20 | atrazine (莠去津) | 1912-24-9 | 6.333 | 216.0 | 174.2 | 120 | 15 |
| 21 | flutriafol (粉唑醇) | 76674-21-0 | 6.362 | 302.1 | 70.0 | 120 | 15 |
| 22 | colophonate (噻唑硫磷) | 98886-44-3 | 6.380 | 284.1 | 228.1 | 80 | 5 |
| 23 | <i>N,N</i> -diethyl-3-methylbenzamide (避蚊胺) | 134-62-3 | 6.637 | 192.2 | 119.0 | 100 | 15 |
| 24 | fenfuram (甲呋酰胺) | 58810-48-3 | 6.640 | 282.1 | 160.2 | 120 | 20 |
| 25 | metalaxyl-M (精甲霜灵) | 70630-17-0 | 6.683 | 280.1 | 192.1 | 100 | 15 |
| 26 | metalaxyl (甲霜灵) | 57837-19-1 | 6.683 | 280.1 | 192.2 | 120 | 15 |
| 27 | azaconazole (戊环唑) | 60207-31-0 | 6.723 | 300.1 | 231.1 | 100 | 15 |
| 28 | metobromuron (溴谷隆) | 3060-89-7 | 7.036 | 259.0 | 170.1 | 80 | 15 |
| 29 | methyl paraoxon (甲基对氧磷) | 311-45-5 | 7.061 | 276.2 | 220.1 | 100 | 10 |
| 30 | dimethametryn (阔草净) | 22936-75-0 | 7.337 | 256.2 | 186.1 | 140 | 20 |
| 31 | fensulphothion (丰索磷) | 115-90-2 | 7.357 | 309.0 | 157.1 | 120 | 25 |
| 32 | metazachlor (吡唑草胺) | 67129-08-2 | 7.475 | 278.1 | 134.1 | 80 | 20 |
| 33 | cotofor (杀草净) | 4147-51-7 | 7.479 | 256.1 | 144.1 | 140 | 30 |
| 34 | diphenamid (双苯酰草胺) | 957-51-7 | 7.871 | 240.1 | 134.1 | 120 | 20 |
| 35 | propanil (敌稗) | 709-98-8 | 8.042 | 218.0 | 162.1 | 120 | 15 |
| 36 | dichlofenthion (虫线磷) | 297-97-2 | 8.045 | 249.1 | 97.0 | 80 | 30 |
| 37 | propazine (扑灭津) | 139-40-2 | 8.099 | 229.9 | 146.1 | 120 | 20 |
| 38 | triadimenol (三唑醇) | 55219-65-3 | 8.471 | 296.1 | 70.0 | 80 | 10 |
| 39 | paclobutrazol (多效唑) | 76738-62-0 | 8.623 | 294.2 | 70.0 | 100 | 15 |
| 40 | terbuthylazine (特丁津) | 5915-41-3 | 8.761 | 230.1 | 174.1 | 120 | 15 |
| 41 | fenobucarb (仲丁威) | 3766-81-2 | 8.812 | 208.2 | 95.0 | 80 | 10 |
| 42 | lorox (利谷隆) | 330-55-2 | 9.127 | 249.0 | 160.1 | 100 | 15 |
| 43 | phenmedipham (甜菜宁) | 13684-63-4 | 9.242 | 301.1 | 168.1 | 80 | 5 |
| 44 | tiancaian (甜菜胺) | 13684-56-5 | 9.276 | 301.2 | 182.1 | 80 | 5 |
| 45 | flusilazole (氟硅唑) | 85509-19-9 | 10.462 | 321.1 | 119.0 | 100 | 25 |
| 46 | pyrifthalid (环酯草醚) | 135186-78-6 | 10.521 | 319.0 | 139.1 | 140 | 35 |
| 47 | cyproconazole (环丙唑醇) | 94361-06-5 | 10.541 | 292.1 | 70.0 | 120 | 15 |
| 48 | uniconazole (烯效唑) | 83657-22-1 | 10.541 | 292.1 | 70.1 | 120 | 30 |
| 49 | myclobutanil (腈菌唑) | 88671-89-0 | 10.542 | 289.1 | 125.0 | 120 | 20 |
| 50 | ruelene (育畜磷) | 299-86-5 | 10.717 | 292.1 | 236.0 | 120 | 20 |
| 51 | ethoprophos (灭线磷) | 13194-48-4 | 10.861 | 243.1 | 173.0 | 120 | 10 |
| 52 | pyridaphenthione (哒嗪硫磷) | 119-12-0 | 11.608 | 341.1 | 189.2 | 120 | 20 |

表 1 (续)
Table 1 (Continued)

| No. | Analyte | CAS No. | t_R /min | Precursor ion (m/z) | Product ion (m/z) | Fragment voltage/V | Collision energy/V |
|-----|---------------------------|-------------|------------|-------------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| 53 | terbufos sulfone (特丁磷砒) | 56070-16-7 | 11.612 | 321.2 | 171.1 | 80 | 5 |
| 54 | pretilachlor (丙草胺) | 51218-49-6 | 12.289 | 316.1 | 247.1 | 120 | 15 |
| 55 | penconazole (戊菌唑) | 66246-88-6 | 12.334 | 284.1 | 70.0 | 120 | 15 |
| 56 | iprobenfos (异稻瘟净) | 26087-47-8 | 12.342 | 289.1 | 91.0 | 80 | 25 |
| 57 | alachlor (甲草胺) | 15972-60-8 | 12.494 | 270.2 | 238.2 | 80 | 10 |
| 58 | isazofos (氯唑磷) | 42509-80-8 | 12.752 | 314.1 | 162.1 | 100 | 10 |
| 59 | flutolanil (氟酰胺) | 66332-96-5 | 12.903 | 324.2 | 262.1 | 30 | 25 |
| 60 | diniconazole (烯啶唑) | 83657-24-3 | 12.968 | 326.1 | 70.0 | 120 | 25 |
| 61 | azinphos (啉硫磷) | 5221-49-8 | 13.147 | 306.1 | 170.2 | 120 | 20 |
| 62 | buprofezin (噁嗪酮) | 69327-76-0 | 13.347 | 306.2 | 201.0 | 120 | 15 |
| 63 | diazinon (二嗪磷) | 333-41-5 | 13.470 | 311.1 | 283.0 | 100 | 10 |
| 64 | mecarbam (灭蚜磷) | 2595-54-2 | 13.727 | 330.0 | 227.0 | 80 | 5 |
| 65 | tebufenozide (虫酰肼) | 112410-23-8 | 13.942 | 297.0 | 133.0 | 80 | 15 |
| 66 | pirimiphos-ethyl (乙啉硫磷) | 38260-54-7 | 14.569 | 293.1 | 125.0 | 80 | 20 |
| 67 | pirimiphos-methyl (甲基啉硫磷) | 29232-93-7 | 14.592 | 306.2 | 164.0 | 120 | 20 |
| 68 | cadusafos (硫线磷) | 95465-99-9 | 14.621 | 271.1 | 159.1 | 80 | 10 |
| 69 | triallate (野麦畏) | 2303-17-5 | 14.860 | 305.0 | 169.1 | 160 | 20 |
| 70 | fonofos (地虫硫磷) | 944-22-9 | 15.240 | 247.1 | 109.0 | 80 | 15 |
| 71 | vermolate (灭草敌) | 1929-77-7 | 15.291 | 204.2 | 128.2 | 100 | 10 |
| 72 | dehydro bamidipine (治螟磷) | 3689-24-5 | 15.765 | 323.0 | 171.1 | 120 | 10 |
| 73 | ediphenphos (敌瘟磷) | 17109-49-8 | 16.185 | 312.1 | 252.1 | 100 | 15 |
| 74 | pyrimitate (啉啉磷) | 23505-41-1 | 17.139 | 334.2 | 198.2 | 120 | 20 |
| 75 | S-bioallethrin (烯丙菊酯) | 584-79-2 | 17.284 | 303.2 | 135.1 | 60 | 10 |
| 76 | tebupirimfos (丁基啉硫磷) | 96182-53-5 | 17.425 | 319.1 | 277.1 | 120 | 10 |

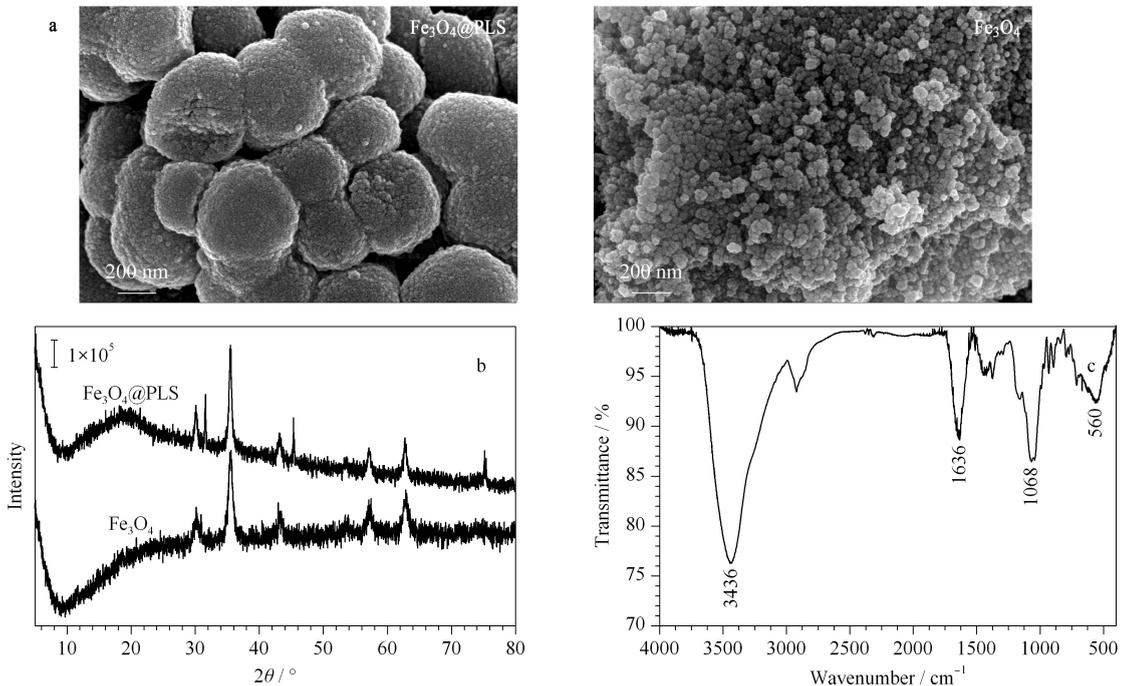


图 1 $\text{Fe}_3\text{O}_4@PLS$ 和 Fe_3O_4 的表征结果

Fig. 1 Characterization results for $\text{Fe}_3\text{O}_4@PLS$ and Fe_3O_4

a. SEM micrographs; b. X-rays diffraction patterns; c. Fourier transform-infrared spectra.
PLS: macroporous copolymer of divinyl benzene (DVB) and *N*-vinyl pyrrolidone (NVP).

2.2 MMSPD 萃取条件的优化

2.2.1 磁性萃取剂用量

磁性萃取剂用量是影响萃取效率的重要因素之一。实验考察了 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$ 的用量(5、10、12、15、20 mg)对 76 种农药萃取回收率的影响。如图 2a 所示, $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$ 用量为 5~10 mg 时,多数目标物的回收率随着磁性吸附剂用量的增加而增加,当 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$ 用量为 10 mg 时,75 种农药萃取回收率 $\geq 70\%$,其中,62 种农药的萃取回收率为 $80\% \sim 120\%$,继续增加 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$ 用量,回收率 $< 70\%$ 的

目标物个数呈增加趋势。因此选择 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLS}$ 的用量为 10 mg。

2.2.2 研磨分散吸附时间

磁性吸附剂在样品中的分散程度是影响 MMSPD 萃取回收率的关键因素之一,充足的研磨分散时间可以使样品基质中的目标物充分吸附于磁性吸附剂表面,进而提高萃取回收率。实验对比了不同研磨分散时间(2、3、4、5、6 min)的萃取回收率。如图 2b 所示,当研磨时间从 2 min 增加至 5 min 时,回收率 $\geq 70\%$ 的目标物个数明显增加,研磨

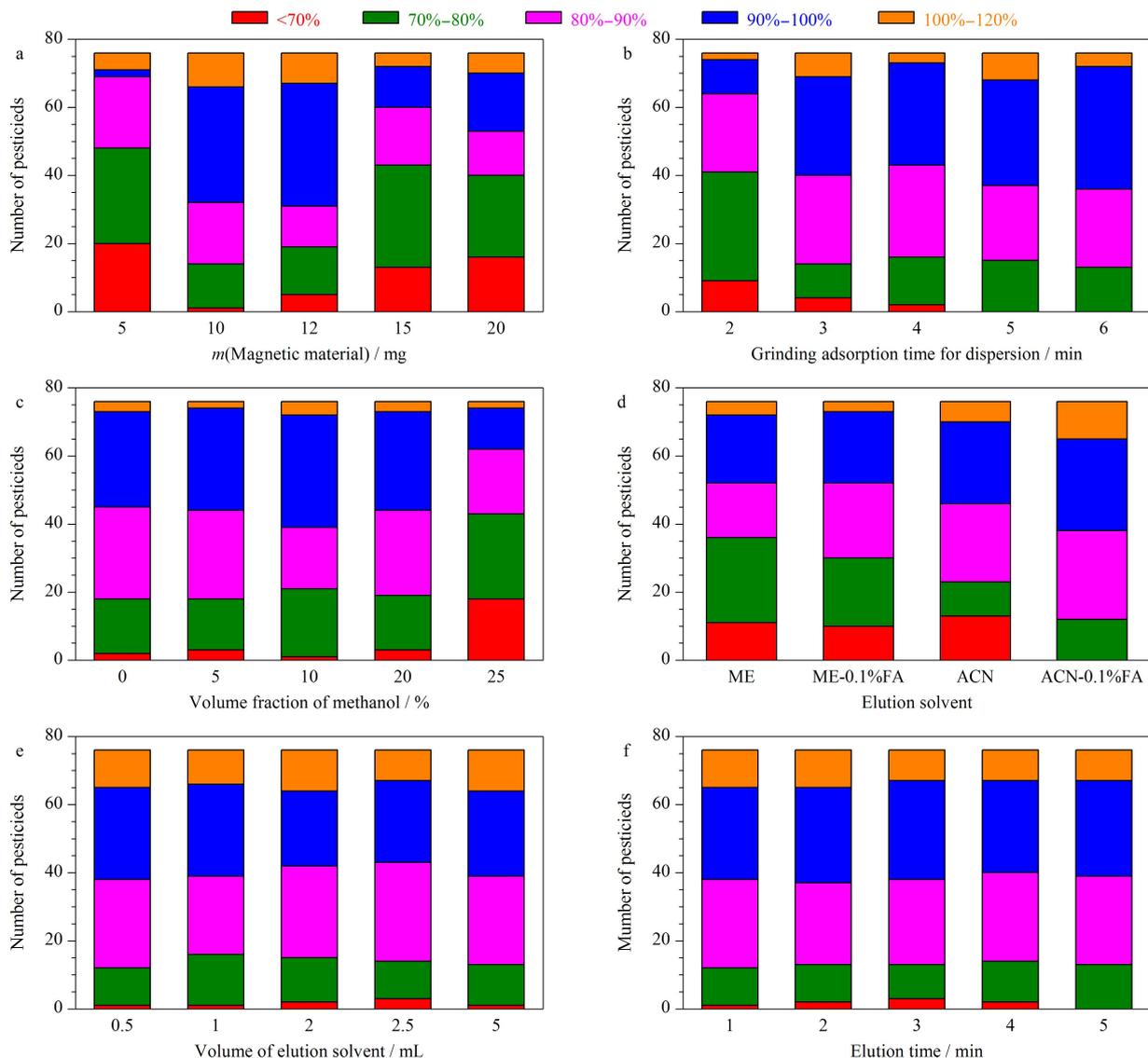


图 2 不同萃取条件对 76 种农药回收率的影响

Fig. 2 Effect of different extraction parameters on the recoveries of the 76 pesticides

a. amount of magnetic material; b. grinding adsorption time; c. volume fraction of methanol in rinsing agent; d. type of eluent solvent; e. volume of eluent solvent; f. elution time.

ME: methanol; ME-0.1% FA: methanol containing 0.1% formic acid; ACN: acetonitrile; ACN-0.1% FA: acetonitrile containing 0.1% formic acid.

时间为 5 min 时,76 种农药萃取回收率 $\geq 70\%$,继续增加研磨分散时间,回收率 $\geq 70\%$ 和回收率在 80%~100%的目标物个数变化均不显著。因此最终确定研磨分散时间为 5 min。

2.2.3 淋洗液中甲醇的体积分数

磁性萃取剂和样品混合物研磨分散后使用甲醇水溶液作为淋洗液。甲醇水溶液通常可以作为金银花、菊花和三七有效成分的提取剂^[22-24],适当增加淋洗液中甲醇的体积分数有利于去除金银花、菊花和三七中的基质干扰,同时淋洗液中甲醇的体积分数也会影响磁性萃取剂对目标物的萃取效率。实验对比了甲醇以及体积分数为 5%、10%、20%、25% 的甲醇水溶液对 76 种农药回收率的影响。如图 2c 所示,当甲醇体积分数 $< 20\%$ 时,约 73~75 种目标物萃取回收率大于 70%,继续增加有机相的体积分数,回收率 $< 70\%$ 的目标物个数明显增加。因此,为了获得更好的回收率且能去除更多的杂质,选择 20% 甲醇水溶液作为淋洗液。

2.2.4 洗脱剂种类

采用涡旋振荡对目标物进行洗脱,以甲醇、0.1% 甲酸甲醇、乙腈、0.1% 甲酸乙腈作为洗脱剂进行考察。以乙腈作为洗脱剂时,3 种样品的洗脱液较为澄清,说明有机杂质共萃取物较少。如图 2d 所示,使用乙腈、甲醇作为洗脱剂时,萃取回收率为 80%~120% 的目标物个数分别为 43 和 40,说明乙腈的萃取回收率相对优于甲醇。乙腈中加入 0.1% 甲酸后,76 种农药的萃取回收率均 $\geq 70\%$,其中,64 种农药的萃取回收率达到 80%~120%。因此最终选择 0.1% 甲酸乙腈溶液作为洗脱剂。

2.2.5 洗脱剂体积

实验对比了洗脱剂体积分别为 0.5、1、2、2.5 和 5 mL 时 76 种农药的萃取回收率。如图 2e 所示,洗脱剂体积为 0.5 mL 时,除地虫硫磷的萃取回收率为 68.56% 外,其他 75 种农药的回收率 $\geq 70\%$ 。因此选择 0.5 mL 作为洗脱剂体积。

2.2.6 洗脱时间

实验同时考察了涡旋振荡洗脱时间为 1、2、3、4 和 5 min 时 76 种农药萃取回收率的变化。如图 2f 所示,当涡旋洗脱时间为 1 min 时,除敌敌畏的回收率为 65.12% 外,75 种目标物的萃取回收率均大于 70%,继续增加涡旋时间,目标物的萃取回收率未有显著变化,为了保证检测效率,选择涡旋振荡洗脱时间为 1 min。

2.3 方法验证

2.3.1 基质效应

基质效应是由于样品中基质与待测目标物共存而导致待测目标物在仪器中响应信号有不同程度增强或抑制的现象,从而影响测定的精确度。为了考察基质效应,选择 3 种空白基质萃取液,配制系列空白基质匹配标准溶液(0.5、1.0、10、50 和 100 $\mu\text{g/L}$),同时用甲醇逐级稀释配制相同浓度的溶剂混合标准溶液。通过计算基质匹配标准曲线与溶剂混合标准曲线斜率的比值来考察基质效应。若等于 1,表明无基质效应;若比值范围为 0.8~1.2,表明无明显基质效应或基质效应可以忽略。结果表明,金银花、菊花、三七块根(干)3 种中药材的基质效应值分别为 0.58~1.30、0.81~1.45 和 0.73~1.36,均超出上述无明显基质效应范围,3 种中药材的基质效应主要表现为基质增强效应。因此本实验采用空白基质匹配标准补偿基质效应。

2.3.2 线性范围、检出限和定量限

用 1.3 节方法处理后的空白中药材萃取液稀释混合农药标准储备液,配制成 2、10、20、100 和 200 $\mu\text{g/kg}$ 的系列基质匹配标准溶液,在优化实验条件下进行测定,得到线性方程和线性相关系数(r^2),76 种农药在 10~200 $\mu\text{g/kg}$ 范围内,呈良好的线性关系,相关系数均大于 0.996 5。以 $S/N \geq 3$ 和 $S/N \geq 10$ 分别计算检出限(LOD)、定量限(LOQ),结果见表 S1 所示(详见 <http://www.chrom-China.com>)。

2.3.3 回收率和精密度

采用 1.3 节样品处理方法,对金银花、菊花、三七块根(干)3 种中药材进行 76 种农药 3 个水平(20、80 和 150 $\mu\text{g/kg}$)的加标回收率试验,每个水平重复 3 次,采用外标法定量。如表 S2 所示,3 个水平下,金银花、菊花、三七块根(干)3 种中药材的萃取回收率分别为 69.1%~112.2%、67.1%~102.8% 和 70.1%~105.1%,RSD 分别为 2.0%~12.4%、2.1%~13.2% 和 2.0%~13.5%,满足药用植物检测要求^[25],说明所建立方法整体准确度和精密度良好。

2.4 方法比较

本文所建立方法与其他文献中报道方法比较如表 2 所示,本文所使用方法具有低消耗(样品、磁性萃取材料用量)、操作简便、灵敏度较高等优点,适用于非液态中药材基质中多种类农药残留的检测。

表2 本方法与其他方法的比较
Table 2 Comparison of the proposed method with some other methods

| Sample | Method | Adsorbent | Analytes | Amount of sample | Amount of adsorbent | LOQ | Ref. |
|-----------------------|-----------------------------|--------------------------------------|---------------|------------------|---------------------|-----------------|-----------|
| Water | SPE-HPLC-MS/MS | Cleanrt®-PEP SPE column | 18 pesticides | 300 mL | 500 mg | 10 ng/L | [10] |
| Bayberry | Pass-through SPE-UPLC-MS/MS | PRiME HLB SPE column | 29 pesticides | 5 g | 200 mg | 6.0 µg/kg | [11] |
| Commercial herbal tea | DLLME-UPLC-MS/MS | PSA | 6 pesticides | 4 g | 1.5 g | 0.06-0.10 µg/kg | [13] |
| Herb tea | QuECHERS-HPLC-MS/MS | C ₁₈ +PSA+GCB | 77 pesticides | 2 g | 1.05 g | 3.3-33.3 µg/kg | [14] |
| TCMs | MMSPD-HPLC-MS/MS | Fe ₃ O ₄ @ PLS | 76 pesticides | 10 mg | 10 mg | 1.7-20.7 µg/kg | this work |

TCMs; traditional Chinese medicine; DLLME; dispersive liquid-liquid microextraction; MMSPD; magnetic matrix solid phase dispersion; PEP; polar enhanced polymer; HLB; hydrophile-lipophile balance.

2.5 实际样品测定

将建立的 MMSPD-HPLC-MS/MS 分析方法应用于3种中药材,包含市售金银花5个、菊花3个、三七块根(干)2个共计10个样品,除1个金银花检出多菌灵外,其余样品均未检出农药残留或低于定量限,并且检出阳性金银花样品中多菌灵的残留量未超出2020年版中《中国药典》的限度规定^[26]。金银花阳性样品的多反应监测色谱图见图3。

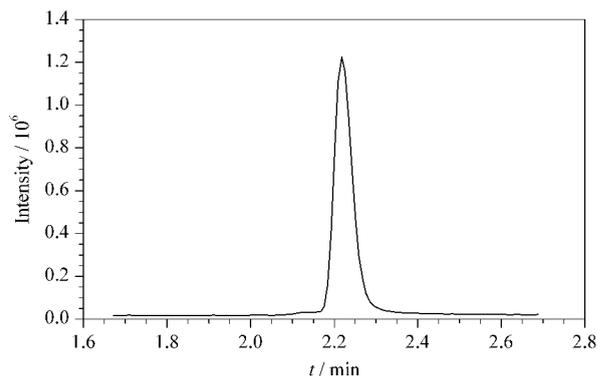


图3 金银花阳性样品的多反应监测色谱图

Fig. 3 Multiple reaction monitoring chromatogram of the positive honeysuckle sample

同时,采用 GB 23200.11-2016 和本文所建立方法对金银花阳性样品进行定量分析,平行测定5次,以 GB 23200.11-2016 方法所测得多菌灵的平均含量(11.9 µg/kg)为已知值,本文所建立方法多菌灵的5次检出含量依次为11.6、12.7、12.9、12.1和13.2 µg/kg,采用 t 检验法比较本方法测定值和已知值, $t_{\text{测定}} = 2.20 < t_{(0.95, n=5)} = 2.57$,说明本文所建立方法与 GB 23200.11-2016 相比,检测结果基本一致,无显著差异,具有一定的准确性和可靠性。

3 结论

本研究针对中药材农药多残留检测中前处理步

骤复杂、吸附剂萃取目标物种类少等问题,制备了磁性亲水亲脂平衡材料 Fe₃O₄@ PLS,采用磁性萃取剂与样品直接研磨分散,无需有机溶剂预提取,同时借助施加外部磁场进行磁性基质固相分散萃取,有效简化了传统基质分散固相萃取的装柱步骤,结合高效液相色谱-串联质谱法进行检测,建立了一种有效测定固体或粉末状中药材样品中农药多残留的方法。本方法在非液体中药材中痕量农药多残留的检测方面具有较高的应用价值,将为中药材中农药残留的筛查和质量控制的研究提供可靠依据。

参考文献:

- [1] Yuan W P, Wang J, Ma S C, et al. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2017, 48(20): 4361
原文鹏,王洁,马双成,等.中草药,2017,48(20):4361
- [2] Yu W K, Dong L, Pei W X, et al. China Journal of Chinese Materia Medica, 2017, 42(23): 4488
余文康,董玲,裴文轩,等.中国中药杂志,2017,42(23):4488
- [3] Li M, Hou X C, Zhang L L, et al. World Chinese Medicine, 2020, 15(18): 2675
李梦,侯旭繁,张丽丽,等.世界中医药,2020,15(18):2675
- [4] Tu P F, Huang L Q, Chen W S, et al. Modern Chinese Medicine, 2018, 20(12): 1459
屠鹏飞,黄璐琦,陈万生,等.中国现代中药,2018,20(12):1459
- [5] Huang C L. China Pharmaceuticals, 2019, 28(12): 96
黄成禄.中国药业,2019,28(12):96
- [6] Shen M R, Zhai W M, He Y, et al. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2020, 40(11): 2075
申明睿,翟为民,何轶,等.药物分析杂志,2020,40(11):2075
- [7] Fan G Y, Tang X, Zhang Y Q, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2019, 37(6): 612
范广宇,唐秀,张青,等.色谱,2019,37(6):612
- [8] Geng Z, Li X H, Gou Y, et al. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2020, 51(20): 5337
耿昭,李小红,苟琰,等.中草药,2020,51(20):5337

- [9] Zhu Z T, Liu H, Ning Q Q, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2019, 37(1): 8
朱之炯, 柳菡, 宁倩倩, 等. 色谱, 2019, 37(1): 8
- [10] Yang S, Zou N, Gao Y, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2020, 38(7): 826
杨松, 邹楠, 高云, 等. 色谱, 2020, 38(7): 826
- [11] Pan S D, Guo Y B, Wang L, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2021, 39(6): 614
潘胜东, 郭延波, 王立, 等. 色谱, 2021, 39(6): 614
- [12] Liu J X. *China Food*, 2021(3): 112
刘锦绣. 中国食品, 2021(3): 112
- [13] Xiao Z M, Liao W Y, Mo Y Q, et al. *Journal of Food Safety & Quality*, 2020, 11(14): 4788
肖之敏, 廖雯意, 莫益倩, 等. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(14): 4788
- [14] Mahdi G, Parisa M, Majid K, et al. *Anal Chim Acta*, 2021, 1178: 338802
- [15] Peng L Q, Zhang Y, Yan T C, et al. *Food Chem*, 2021, 365: 130545
- [16] Lan M Z, Lin X, Liu Y Q, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2018, 36(9): 938
蓝梦哲, 林绪, 刘雅琼, 等. 色谱, 2018, 36(9): 938
- [17] Sun T T, Xu Y H, Zhang X M, et al. *Physical Testing and Chemical Analysis, Part B: Chemical Analysis*, 2021, 57(5): 463
孙婷婷, 徐彦红, 张雪梅, 等. 理化检验(化学分册), 2021, 57(5): 463
- [18] Taylor A C, Fones G R, Mills G A. *Trends Environ Anal Chem*, 2020, 27: e0096
- [19] Zheng J, Lin Z, Lin G, et al. *J Mater Chem B*, 2015, 3(10): 2185
- [20] Chen L X, Liu Y X, He X W, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2015, 33(5): 481
陈朗星, 刘雨星, 何锡文, 等. 色谱, 2015, 33(5): 481
- [21] Liu Z Z, Qi P P, Wang J, et al. *Sci Total Environ*, 2020, 708: 135221
- [22] Duan H F, Wu Q N, Zhu Y Y, et al. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2019, 50(23): 5858
段慧芳, 吴啟南, 朱亚莹, 等. 中草药, 2019, 50(23): 5858
- [23] Huang Y M, Shi Y, Hu Y F, et al. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2016, 36(11): 1941
黄艳梅, 石岩, 胡云飞, 等. 药物分析杂志, 2016, 36(11): 1941
- [24] You J J, Peng Z H, Han F M, et al. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2017, 48(2): 294
尤娇娇, 彭志红, 韩凤梅. 中草药, 2017, 48(2): 294
- [25] GB 23200.11-2016
- [26] Chinese Pharmacopoeia Commission. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China, Part 1*. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 65
国家药典委员会. 中华人民共和国药典, 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 65