

· 中药农业 ·

# 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定 不同石斛中8种农药残留量<sup>△</sup>

肖苏萍<sup>1\*</sup>, 钟荣荣<sup>1</sup>, 高慧<sup>2</sup>, 周朗<sup>3</sup>, 王继永<sup>1</sup>, 李春<sup>4</sup>, 刘慧峰<sup>5</sup>

1. 中国中药有限公司, 北京 100195; 2. 岛津企业管理(中国)有限公司北京分公司, 北京 100020;
3. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004; 4. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;
5. 再鼎医药(苏州)有限公司, 江苏 苏州 215123

**[摘要]** **目的:** 建立一种采用超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱对不同石斛中的常见8种农药残留进行快速检测的方法。**方法:** 不同石斛样品采用1%甲酸乙腈提取, 无水硫酸镁、氯化钠盐析后无需净化, 采用正离子多反应监测(MRM)模式对不同石斛中的8种农药残留进行测定分析, 8种农药在给定的范围内线性关系良好( $r > 0.999$ ), 检出限为 $0.01 \sim 0.12 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 定量限为 $0.03 \sim 0.41 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 在3个添加水平下的平均回收率为 $97.3\% \sim 111.6\%$ , RSD为 $4.22\% \sim 8.44\%$ 。**结果:** 本方法检测灵敏度高、基质干扰小、稳定性好, 能获得较高的回收率, 可在较短时间内完成1个样品的定性和定量分析, 适用于石斛农药残留安全检测与质量控制。**结论:** 利用本方法检测的39批不同石斛样品中, 有2批石斛的多菌灵和戊唑醇超出了石斛的农药最大限量理论值, 石斛样品总体农药残留安全控制相对较好, 但还需加强各种农药的使用。

**[关键词]** 超高效液相色谱-串联质谱; 农药残留; 石斛

**[中图分类号]** R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2020)04-0603-07

**doi:**10.13313/j.issn.1673-4890.20190610001

## Rapid Detection of 8 Pesticide Residues in Different Dendrobii Caulis by Ultra High Performance Liquid Chromatography -Tandem Mass Spectrometry

XIAO Su-ping<sup>1\*</sup>, ZHONG Rong-rong<sup>1</sup>, GAO Hui<sup>2</sup>, ZHOU Lang<sup>3</sup>, WANG Ji-yong<sup>1</sup>, LI Chun<sup>4</sup>, Liu Hui-feng<sup>5</sup>

1. China National of Traditional Chinese Medicine Co., Ltd., Beijing 100195, China;
2. Beijing Analysis Center, Shimadzu (China) Co., Ltd., Beijing 100020, China;
3. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;
4. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
5. Zai Lab (Suzhou) Co., Ltd., Suzhou 215123, China

**[Abstract]** **Objective:** The 8 pesticide residues in different Dendrobii Caulis were quickly detected by ultra-high performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry. **Methods:** The Dendrobii Caulis samples were extracted with acetonitrile solution containing 1% formic acid, and the extract was salted out with anhydrous magnesium sulfate and sodium chloride salting. The positive and negative ion multi-reaction monitoring (MRM) model was used to determine and analyze 8 pesticide residues in different Dendrobii Caulis, and 8 pesticides had good linear relationship ( $r > 0.999$ ) in a given range, and the detection limit was  $0.01 \sim 0.12 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , quantitative limit of  $0.03 \sim 0.41 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , the average recovery rate shown in the 3 additional samples of different volumes and same concentration level was between  $97.3\% \sim 111.6\%$ , while RSD value is between  $4.22\% \sim 8.44\%$ . **Results:** Among the

<sup>△</sup> [基金项目] 北京市科技计划项目(Z171100001717028)

\* [通信作者] 肖苏萍, 副研究员, 研究方向: 中药产品研发和质量控制; Tel: (010)89259530, E-mail: xiaoladdy99@163.com

39 different *Dendrobii Caulis* sample groups detected by this method, 2 groups had a higher carbendazium and pentazolid content than the theoretical maximum pesticide limit, and the overall result of the pesticide residue safety control of the samples was relatively good, but the use direction is still to be strengthened. **Conclusion:** This method is of high detection sensitivity, small matrix interference, good stability, and it can obtain high recovery rate, complete the qualitative and quantitative analysis of a sample in a short time, and it is suitable for safety detection and quality control of pesticide residues in *Dendrobii Caulis*.

[**Keywords**] UPLC-MS; pesticide residues; *Dendrobii Caulis*

石斛属隶属于兰科兰亚科树兰族石斛亚族, 约1000种, 是兰科比较大的属之一, 我国有74种和2变种<sup>[1]</sup>。石斛始载于《神农本草经》, 列为九大仙草之首, 具有益胃生津、滋阴清热功效。《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)中石斛品种收载有金钗石斛、鼓槌石斛、流苏石斛的栽培品及其同属植物近似种的新鲜或干燥茎<sup>[2]</sup>。铁皮石斛单独收载为干燥茎的2个品规: 铁皮枫斗(耳环石斛)和铁皮石斛<sup>[2]</sup>。霍山石斛被誉为石斛中的极品, 因资源分布范围狭窄, 野生资源非常濒危。目前, 国内大多石斛都来自于栽培品种, 因其特殊的栽培环境要求, 在种植过程中经常发生病虫害, 尤其在夏秋季病虫害繁殖较快, 很容易发生各种病菌, 为了石斛植株免遭其害, 种植户极易施打农药保护石斛, 这对提高石斛产业经济效益起着很重要作用。但农药施用到农作物上之后, 绝大部分因多种原因而转化, 同时农作物内往往会有少量的残留, 长时间摄食残留农药将会影响人体的健康<sup>[3]</sup>。作为即将成为药食两用的常用保健原料, 对其农药残留的安全控制则显得极为重要。

近年来, 霍山石斛多糖药理活性及系统发育研究较多, 种质鉴定及质量标准和安全控制研究较少, 笔者目前只检索到1篇有关霍山石斛农药残留的文献报道<sup>[4]</sup>。铁皮石斛农药残留研究大多采用气质联用、液质联用、气相色谱法对其农药残留进行研究评价。农药残留分析中样品前处理是整个农药残留分析关键步骤, 选择性能较好、分离效果好、灵敏度高的仪器检测也尤为重要。本研究在比较了不同前处理方法的基础上, 筛选出一种简易快捷的样品前处理方法, 采用超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱对不同石斛中的常见8种农药残留进行快速检测, 此方法操作简单, 经济省时, 并可获得较高的回收率, 可用于不同石斛样品农药残留安全检测与质量控制。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC-30A 超高效液相色谱仪和 LC-MS/MS-8045 三重四极杆质谱仪(日本岛津公司), XS205DU 型电子天平(美国 METTLER-TOLEDO 公司), XB620M 型电子天平(瑞士 Precisa 公司), REFERENCE 型实验室超纯水机(默克密理博公司), SC-3612 型低速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司), Votex-5 型涡旋混合仪(江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司), Eppendorf 移液器[艾本德(上海)国际贸易有限公司]。

### 1.2 试剂

多菌灵(上海源叶生物科技有限公司, 批号: KJ0719YC13, 纯度: HPLC  $\geq 98\%$ ), 吡虫啉(上海源叶生物科技有限公司, 批号: L11M6H1, 纯度: HPLC  $\geq 98\%$ ), 甲霜灵(上海源叶生物科技有限公司, 批号: G791644, 纯度: 98.4%), 腈菌唑(上海源叶生物科技有限公司, 批号: B17J10D80150, 纯度: 99%), 丙环唑(上海源叶生物科技有限公司, 批号: N11J10Y79699, 纯度: GC  $\geq 98\%$ ), 戊唑醇(上海源叶生物科技有限公司, 批号: S13J7N8896, 纯度: HPLC  $\geq 98\%$ ), 三唑酮(上海源叶生物科技有限公司, 批号: G129954, 纯度: 98.7%), 毒死蜱(上海源叶生物科技有限公司, 批号: G130559, 纯度: 99.8%), 乙腈为色谱纯(赛默飞世尔科技有限公司), 甲醇为色谱纯(赛默飞世尔科技有限公司), 甲酸为 HPLC 级(迪马公司), 乙酸铵、无水硫酸镁、氯化钠为分析纯(北京化工试剂厂), 水为超纯水。

### 1.3 样品

课题组收集了覆盖全国7个不同省份产地的22批铁皮石斛样品, 霍山产的不同生长年限的霍山石斛12批, 铜皮石斛3批, 霍山产的霍山石斛叶和花各1批。样品由中国中药有限公司王继永研究员和

中国中药霍山石斛科技有限公司副总经理孙大学鉴定确认品种, 样品信息见表1。

表1 样品信息

序号	样品类别	产地	样品编号	生长年限/年
1	铁皮石斛	江西	JX02	
2	铁皮石斛	云南	YN02	
3	铁皮石斛	江西	JX03	
4	铁皮石斛	湖南	HN01	
5	铁皮石斛	浙江	ZJ01	
6	铁皮石斛	广东	GD01	
7	铁皮石斛	浙江	ZJ04	
8	铁皮石斛	江西	JX01	
9	铁皮石斛	广西	GX01	
10	铁皮石斛	浙江	ZJ03	
11	铁皮石斛	云南	YN01	
12	铁皮石斛	云南	YN03	
13	铁皮石斛	安徽	AH03	
14	铁皮石斛	安徽	AH04	
15	铁皮石斛	浙江	ZJ02	
16	铁皮石斛	云南	YN04	
17	铁皮石斛	浙江	ZJ05	
18	铁皮石斛	云南	YN05	
19	铁皮石斛(枫斗)	安徽	AHFD	
20	铁皮石斛	浙江	ZJZZ	
21	铁皮石斛(寸金)	安徽	XHSJCJ	
22	铁皮石斛(枫斗)	安徽	XHSJFD	
23	霍山石斛	安徽霍山	MH1S	1
24	霍山石斛	安徽霍山	MH2S	2
25	霍山石斛	安徽霍山	MH3S	3
26	霍山石斛	安徽霍山	WFS1S	1
27	霍山石斛	安徽霍山	WFS3S	3
28	霍山石斛	安徽霍山	WFS2S	2
29	霍山石斛	安徽霍山	QTG1S	1
30	霍山石斛	安徽霍山	QTG2S	2
31	霍山石斛	安徽霍山	MHYS3S	3
32	霍山石斛	安徽霍山	MHSQ1S	1
33	霍山石斛(枫斗)	安徽霍山	MHFD	
34	霍山石斛	安徽霍山	MHYSSS	
35	霍山石斛叶	安徽霍山	HSSHYZ	
36	霍山石斛花	安徽霍山	HSSHGH	
37	铜皮石斛(五峰山)	安徽霍山	TPWFS	
38	铜皮石斛(霍山)	安徽霍山	TPHS	
39	铜皮石斛(统货)	安徽霍山	TPTH	

## 2 方法与结果

### 2.1 混合对照品储备液的制备

分别精密称取多菌灵、吡虫啉、甲霜灵、腈菌唑、丙环唑、戊唑醇、三唑酮、毒死蜱各约12 mg, 分别置不同50 mL容量瓶中, 各加甲醇溶液溶解并定容至刻度, 摇匀后即得各农药的 $240 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品储备液, 置 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存, 备用。

精密量取上述各对照品储备液溶液各5 mL置同一50 mL容量瓶中, 用甲醇溶液定容至刻度, 摇匀后得 $24 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 作为混合对照品储备液, 置 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内保存备用。

### 2.2 样品前处理

取石斛样品粉末1 g, 精密称定, 置50 mL具塞离心管中, 加水1 mL、0.1%甲酸乙腈6 mL, 振荡5 min后, 加入0.8 g无水硫酸镁, 1 g氯化钠, 再次涡旋5 min, 静置片刻, 以 $5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ (离心半径为12.96 cm)离心10 min, 取离心后上清液用 $0.45 \text{ } \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

### 2.3 基质混合对照品溶液的制备

取1批不含农药的石斛, 按2.2项下处理, 加入上述系列混合对照品溶液适量, 摇匀, 即得。

### 2.4 色谱条件

色谱柱: Shim-pack GIST  $\text{C}_{18}$  (100 mm  $\times$  2.1 mm, 2  $\mu\text{m}$ ); 柱温:  $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ; 进样量: 1  $\mu\text{L}$ ; 流动相A相为水(含0.1%甲酸和10 mmol  $\cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸铵), 流动相B相为甲醇, 梯度洗脱(0~1.0 min, 70% A; 1.0~5.0 min, 70%~5% A; 5.0~7.0 min, 5% A; 7.0~7.1 min, 5%~70% A; 7.1~9.0 min, 70% A); 流速:  $0.4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

### 2.5 质谱条件

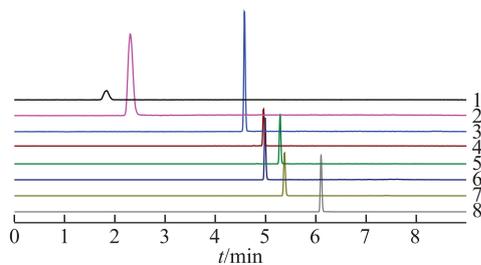
ESI源; 接口电压4000 V; 正离子和负离子扫描方式同时扫描; 扫描模式: 多反应监测(MRM); 雾化气: 氮气 $3.0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 干燥气: 氮气 $10 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 加热气: 空气 $10 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 碰撞气: 氩气, 压力 $2.3 \times 10^5 \text{ Pa}$ ; 脱溶剂管温度:  $200 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ; 加热模块温度:  $400 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ; 接口温度:  $300 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ; 驻留时间: 15 ms; 延迟时间: 1 ms。

将各农药分别配制成 $100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液, 进行一级质谱分析, 得到每种农药的分子离子峰, 利用仪器自动优化功能, 筛选二级碎片离子信息, 获得碎片离子及质谱参数和碰撞能量(CE), 8种农药响应强度最佳时的质谱条件见表2。混合对照品的总离子流图见图1。

表2 农药品种及MRM参数

序号	农药	$t_R/\text{min}$	母离子 $m/z$	产物离子 1 $m/z$	产物离子 2 $m/z$	碰撞能量 CE
1	多菌灵	2.338	192.10	160.10	132.10	-17: -30
2	吡虫啉	1.893	256.10	175.10	209.10	-17: -14
3	甲霜灵	4.62	279.90	220.10	248.00	-13: -18
4	腈菌唑	4.995	289.10	70.00	125.00	-21: -30
5	丙环唑	5.435	341.90	159.00	69.00	-30: -18
6	戊唑醇	5.322	308.00	70.00	125.00	-22: -38
7	三唑酮	5.032	294.10	69.20	197.10	-10: -6
8	毒死蜱	6.134	351.90	97.00	199.90	-34: -10

注: 产物离子1为定量离子。



注: 1. 吡虫啉; 2. 甲霜灵; 3. 腈菌唑; 4. 三唑酮;  
5. 戊唑醇; 6. 丙环唑; 7. 毒死蜱; 8. 三唑酮。

图1 8种农药对照离子流图

## 2.6 方法学验证

**2.6.1 线性关系考察、检出限及定量限** 用铁皮石斛空白基质将8种农药以混合对照品储备液配制质量浓度分别为1、5、10、20、50、100、200  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的系列混合标准溶液。将各溶液注入超高效液相色谱-串联质谱仪内,按1.4、1.5项下进行测定,以各色谱峰峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标进行线性回归分析。以3倍信噪比作为检出限,10倍信噪比作为定量限。实验结果表明,各种农药对照品

在1~200  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 线性关系良好,结果见表3。

**2.6.2 精密度试验** 使用10  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 基质混合对照品溶液按照2.4和2.5项下方法,连续进样6次,8种农药的RSD分别为吡虫啉2.77%,多菌灵2.16%,甲霜灵4.48%,腈菌唑3.02%,戊唑醇3.17%,三唑酮1.03%,丙环唑4.55%,毒死蜱3.76%。RSD均在5%以内,说明精密度良好。

**2.6.3 重复性试验** 取含有8种农药的铁皮石斛样品,按2.2项下制备6份样品并测定,计算RSD,8种农药的重复性试验RSD分别为吡虫啉1.86%,多菌灵4.70%,甲霜灵4.34%,腈菌唑2.96%,戊唑醇2.55%,三唑酮3.74%,丙环唑4.62%,毒死蜱2.59%。RSD都在5%以内,说明重复性良好。

**2.6.4 回收率试验** 对石斛样品的8种农药进行10、20、50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 3个浓度水平下的加标回收率试验( $n=3$ )。8种农药回收率和相对标准偏差结果见表3,回收率为97.3%~111.6%,RSD为4.22%~8.44%,符合回收率为70%~120%,RSD $\leq$ 20%的农药残留分析质量控制要求。

表3 8种农药线性回归方程、检出限、定量限和回收率( $n=9$ )

农药	回归方程	$r$	检出限/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	定量限/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	平均回收率/%	RSD/%
吡虫啉	$Y = 17\ 897X + 15\ 628$	0.999 8	0.12	0.41	106.4	4.22
多菌灵	$Y = 135\ 559X + 71\ 262$	0.999 8	0.03	0.10	97.3	4.66
甲霜灵	$Y = 49\ 215X + 36\ 497$	0.999 5	0.08	0.26	107.7	4.90
腈菌唑	$Y = 20\ 885X + 6\ 471.2$	0.999 9	0.06	0.20	108.6	4.57
戊唑醇	$Y = 34\ 740X + 49\ 629$	0.999 6	0.03	0.10	111.6	5.07
三唑酮	$Y = 24\ 426X + 36\ 657$	0.999 7	0.05	0.16	105.2	5.13
丙环唑	$Y = 23\ 370X + 29\ 677$	0.999 7	0.04	0.13	110.7	5.15
毒死蜱	$Y = 18\ 890X + 18\ 036$	0.999 4	0.01	0.03	103.1	8.44

## 2.7 样品测定与分析

按样品前处理方法对表1的样品进行处理后上机,结果见表4、图2。目前,《中国药典》未对石斛的农药残留进行限量要求,本研究以《中国药典》石

斛和铁皮石斛项下规定的12g为石斛每日人均可服用的最大剂量,按60kg计人体体质量,参考GB 2763—2016食品中农药最大残留限量规定的8种农药每日允许摄入量,按照《中国药典》中药有害

表4 39批样品测定结果

序号	样品编号	农药质量分数							
		吡虫啉	多菌灵	甲霜灵	腈菌唑	戊唑醇	三唑酮	丙环唑	毒死蜱
1	JX02	—	0.030	—	—	—	0.012	0.007	—
2	YN02	—	0.011	0.022	—	—	—	—	—
3	JX03	—	—	—	0.006	0.011	0.007	0.006	—
4	HN01	—	0.006	—	0.023	—	0.006	0.006	—
5	ZJ01	—	—	—	0.019	—	—	—	—
6	GD01	—	0.200	0.037	—	0.142	0.057	0.029	0.015
7	ZJ04	—	0.010	—	—	—	—	—	—
8	JX01	—	0.008	—	—	0.025	0.009	0.006	0.008
9	GX01	—	—	—	—	—	—	—	—
10	ZJ03	—	0.085	—	—	0.051	0.006	—	0.011
11	YN01	—	—	—	—	—	—	—	—
12	YN03	—	—	0.025	—	—	—	—	—
13	AH03	—	—	—	—	—	—	—	—
14	AH04	—	0.012	—	—	0.043	0.008	0.008	—
15	ZJ02	—	—	—	—	—	0.006	0.009	0.008
16	YN04	—	3.044*	0.038	0.011	0.021	—	—	—
17	ZJ05	—	0.100	0.013	0.018	0.122	0.017	0.009	0.008
18	YN05	—	0.029	0.007	0.055	0.449	0.029	0.011	—
19	AHFD	—	—	—	—	—	—	—	—
20	ZJZZ	—	0.169	—	—	0.215	—	—	0.016
21	XHSJCJ	0.080	0.030	0.241	0.054	0.025	—	—	0.105
22	XHSJFD	—	0.010	—	0.007	2.172*	—	—	—
23	MH1S	0.007	—	—	0.028	—	—	—	—
24	MH2S	0.028	—	—	0.023	—	—	—	0.011
25	MH3S	0.067	—	—	—	—	—	—	0.051
26	WFS1S	0.006	—	0.008	—	—	—	—	—
27	WFS3S	0.014	—	—	—	—	—	—	0.010
28	WFS2S	0.007	—	—	0.048	—	—	—	—
29	QTG1S	—	0.111	—	—	—	0.014	—	—
30	QTG2S	—	0.145	—	0.013	—	0.024	—	0.008
31	MHYS3S	0.050	—	0.040	—	—	—	—	0.025
32	MHSQ1S	—	0.113	0.006	—	—	0.014	—	—
33	MHFD	0.017	—	—	—	—	0.006	—	—
34	MHYSSS	—	0.079	0.740	—	0.354	—	—	—
35	HSSHYZ	—	—	—	—	—	0.009	0.006	0.014
36	HSSHGH	—	—	—	—	—	—	—	0.007
37	TPWFS	0.027	—	—	—	—	—	—	—
38	TPHS	—	—	—	0.007	—	—	—	—
39	TPTH	—	—	—	—	—	—	—	—

注:\*表示农药超出限量标准;—表示未检出。

残留物限量制定指导原则规定计算农药残留量最大限量理论值, 得出8种农药的残留量最大限量理论值分别为吡虫啉  $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、多菌灵  $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、甲霜灵  $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、腈菌唑  $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、戊唑醇  $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、三唑酮  $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、丙环唑  $3.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、毒死蜱  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

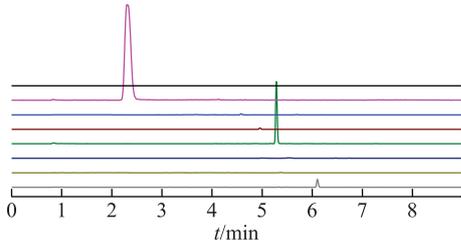


图2 样品色谱图

由表4可知, 这8种农药中, 39批不同石斛中有2批石斛的多菌灵和戊唑醇超出了石斛的农药最大限量理论值, 8种农药检出率为25.6%~46.2%, 说明石斛总体农药残留安全控制相对较好, 但还需加强各农药的使用。

### 3 讨论

#### 3.1 石斛农药品种的选择

本课题组查阅了维普、万方和中国知网数据库资料, 发现目前总共有22篇专题报道石斛中农药残留检测方法的文献, 其中报道石斛农药残留检出的有多菌灵、甲基硫菌灵、吡虫啉、甲霜灵、腈菌唑、丙环唑、戊唑醇、三唑酮、毒死蜱、杀螟硫磷、七氯、三氯杀螨醇、*o*, *p'*-DDT、百菌清、五氯硝基苯、腐霉利、氯氰菊酯、苯醚甲环唑<sup>[5-9]</sup>。本研究在总结现有文献报道基础上, 选择石斛中农药残留检出率较高的甲霜灵、多菌灵、戊唑醇、三唑酮、腈菌唑、吡虫啉、丙环唑、毒死蜱和甲基硫菌灵9种农药建立操作简单、快速的一测多评方法。但采用本方法对甲基硫菌灵检测时的回收率仅有19.6%, 不适合甲基硫菌灵检测; 《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》(GB 2763—2016)也规定甲基硫菌灵残留物为甲基硫菌灵和多菌灵之和以多菌灵表示, 可能与甲基硫菌灵的转化有关。因此, 本方法仅对以上8种石斛中常见的农药残留进行检测。

#### 3.2 样品前处理方法的对比分析

分别选择了不同QuEChERS净化管和不用净化管进行盐析后净化比较分析, 发现不同净化管内含物和不用净化管的加样回收率差异较大。采用QuEChERS净化管和不用净化管进行样品前处理均

能达到符合要求的回收率试验结果。从其RSD结果、节约实验成本和节约实验时间的角度上考虑, 本研究选择不用净化管的前处理方法。

#### 3.3 基质效应的影响分析

本研究分别以纯溶剂和空白基质溶剂分别制备混合对照品溶液考察石斛中农药的基质效应, 采取2种不同方法进行基质效应分析, 方法1以空白基质溶剂作为对照品溶液的稀释液, 以各组分的峰面积(*Y*)对质量浓度(*X*)绘制基质加标标准曲线, 将其斜率与纯溶剂配制的标准曲线斜率相比<sup>[7,10]</sup>, 结果标准曲线斜率比值为1.06~1.21。方法2采用相对响应值法评价基质效应。

$$\text{基质效应} = B/A \times 100\% \quad (1)$$

*A*为纯溶剂中农药的响应值; *B*为样品基质中添加相同浓度农药的响应值<sup>[11]</sup>。比较10、100  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 质量浓度下的农药响应值, 结果10、100  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 2种高、低不同浓度下的农药响应值差异不大, RSD在4%以内。其中吡虫啉、甲霜灵、毒死蜱的基质效应相对大一些, 但8种农药的基质效应都相对稳定, 本方法可以用于对石斛进行8种农药的检测。本研究共检测了39批不同石斛, 其中有2批分别是石斛花和石斛叶, 仅从这2批样品来看, 石斛花和叶均有部分农药残留, 石斛叶比花的残留更高。不同产地之间的农药残留差异性不大, 安徽霍山产的不同石斛总体比其他产地的铁皮石斛所含农药残留较少, 不同生长年限石斛农药残留差异性不大, 3种不同石斛所含农药残留排序为铜皮石斛 < 霍山石斛 < 铁皮石斛。

本研究采用一种无需净化、简易快捷的样品前处理方法, 利用超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱对不同石斛中的常见8种农药残留进行快速检测, 该方法检测灵敏度高、基质干扰小、稳定性好, 能获得较高的回收率, 适用于石斛农药残留安全检测与质量控制。

#### 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第十九卷[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 68.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 92, 282.
- [3] 崔伟伟, 张强斌, 朱先磊. 农药残留的危害及其暴露研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(2): 883-884, 889.
- [4] 郝经文, 徐文冬, 石敏珠, 等. GC-MS同时测定霍山石斛及霍山产铁皮石斛中拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类16种农药残留的检测方法[J]. 食品工业科技, 2019, 40(9): 230-234.

(下转第621页)

H<sub>2</sub>O 产生碎片离子  $m/z$  250(表明母核结构中存在羟基)。结合对照品比对,将 M1 准确鉴定为腺苷。

#### 4 结论

基于 UPLC-HRMS 技术,本研究对发酵前后黄精覆盆子饮品中的化学成分进行了分析检测。通过分析精确分子量、多级碎片信息,结合对照品和相关文献,本实验共鉴定了 60 个化学成分,包括 42 个甾体皂苷,3 个三萜,9 个黄酮和 6 个生物碱。这些化学成分有 53 个来源于黄精,12 个来源于覆盆子,2 个来源于山药。其中,从发酵前黄精覆盆子饮品中分析鉴定了 49 个成分,从发酵后黄精覆盆子饮品中分析鉴定了 22 个成分。结果表明,该饮品中的大多数黄酮类成分和三萜类成分在发酵之后消失;部分甾体皂苷类成分,如化合物康定玉竹苷 D<sub>1</sub>(pratoside D<sub>1</sub>),滇黄精皂苷 K(kingianoside K)以及黄精皂苷(huangjinoside)D、E、P,新西伯利亚蓼苷 D(neosibiricoside D)和它们的同分异构体在发酵后几乎消失;而腺苷、山柰酚、菝葜皂苷元和薯蓣皂苷元等成分在发酵前后均存在。本实验基本阐明了发酵前后黄精覆盆子饮品中的化学成分,可为其化学成分的进一步研究和质量评价提供参考。

#### 参考文献

- [1] 王耀新,陈丽娜,韩国庆,等. 中药发酵技术研究概况[J]. 中医药信息,2018,35(6):120-124.
- [2] 孟凡涛,刘冬菊. 研究中药发酵炮制法[J]. 世界最新医学信息文摘,2018,18(10):8-9.
- [3] 曾庆文,曹军. 中药发酵的研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2005,26(5):545-547.
- [4] 胥敏,吴纯洁,严丹,等. 中药发酵技术传承与创新的探索[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(23):230-234.
- [5] 王婷,苗明三. 黄精的化学、药理及临床应用特点分析[J]. 中医学报,2015,30(5):714-715,718.
- [6] 姚荣林. 黄精的化学成分及药理研究[J]. 医疗装备,2014,27(9):20-21.
- [7] 苗菊茹,谢一辉,刘红宁. 覆盆子的研究进展[J]. 江西中医药,2004,35(1):54-55.
- [8] 程丹,李洁,周斌,等. 覆盆子化学成分与药理作用研究进展[J]. 中药材,2012,35(11):1873-1876.
- [9] 张洁,马百平,杨云,等. 黄精属植物甾体皂苷类成分及药理活性研究进展[J]. 中国药学杂志,2006,41(5):330-332.
- [10] 刘晓谦,易红,姚丽,等. 黄精属植物的研究进展及其开发前景[J]. 中国药学杂志,2017,52(7):530-534.
- [11] 姜程曦,张铁军,陈常青,等. 黄精的研究进展及其质量标志物的预测分析[J]. 中草药,2017,48(1):1-16.
- [12] 匡海学. 中药化学[M]. 北京:中国中医药出版社,2003:274-277.
- [13] 肖洪明. 掌叶覆盆子果实化学成分的研究[D]. 合肥:安徽大学,2011.
- [14] 李自红,魏悦,范毅,等. 芦丁的电喷雾离子阱质谱分析[J]. 分析试验室,2015,34(2):186-189.
- [15] 高颖,戚楚露,张磊,等. 黄精新鲜药材的化学成分[J]. 药学与临床研究,2015,23(4):365-367.

(收稿日期:2019-08-01 编辑:王笑辉)

(上接第 608 页)

- [5] 陈思颖,吴耽,巩仔鹏,等. QuEChERS-高效液相色谱法测定铁皮石斛中多菌灵和甲基硫菌灵的残留量[J]. 贵州医科大学学报,2018,43(8):913-917.
- [6] 方翠芬,谭春梅,马临科,等. HPLC/MS/MS 测定铁皮石斛制剂中 12 种农药残留量[J]. 医药导报,2012,31(11):1481-1484.
- [7] 周敏,朱萌萌,何晓明,等. 分散固相萃取-气相色谱-串联质谱法测定铁皮石斛中 41 种农药的残留量[J]. 理化检验(化学分册),2019,55(2):162-170.
- [8] 刘超,梅丽宝,张绍龙,等. 全自动凝胶净化-浓缩-固相萃取/气相色谱-质谱法测定紫皮石斛中有机磷农药残留[J]. 中国无机分析化学,2015,5(4):8-12.
- [9] 钟冬莲. 铁皮石斛中农药多残留检测技术及应用研究[D]. 杭州:浙江工业大学,2017.
- [10] 钟冬莲,汤富彬,莫润宏,等. 分散固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法测定铁皮石斛中 8 种有机磷农药残留[J]. 分析试验室,2017,36(5):571-575.
- [11] 陈韵贤,吴春梅,梁志刚. 30 种有机磷农药残留在 5 种蔬菜中的基质效应比较[J]. 现代农业科技,2015(13):146-148,150.

(收稿日期:2019-06-10 编辑:戴玮)