分析测试新成果(068~079)

固相萃取-气相色谱-质谱法测定 3 种中药材中 18 种多环芳烃

李文斌,池艳艳,程　菲
(天津迪科马实验设备有限公司,天津　300499)

摘要: 建立了固相萃取-气相色谱-质谱法测定 3 种中药材中 18 种多环芳烃(PAHs)的检测方法. 选取丹参、平贝母、厚朴为样品基质,以正己烷提取,经 Fiorisil、ProElut PAH 专用固相萃取柱联合净化. 采用 DM-PAH 柱分离,选择离子监测(SIM)模式检测,基质匹配外标法定量. 结果表明:实际样品中,18 种 PAHs 在 5 ~200 μg/L 的质量浓度内线性关系良好,相关系数均大于 0.998. 检出限在 0.6~1.2 μg/kg 之间,定量限在 2.0~4.0 μg/kg 之间. 以 4.0、8.0、40.0 μg/kg添加水平进行方法学验证,丹参的回收率为 81.5%~106.3%,相对标准偏差在 1.5%~7.8%之间. 平贝母的回收率为 87.1%~108.3%,相对标准偏差在 2.1%~8.4%之间. 厚朴的回收率为 82.4%~107.9%,相对标准偏差在 1.8%~6.9%之间. 方法净化效率高,准确度、灵敏度良好,可用于丹参、平贝母和厚朴 3 种中药材样品中 18 种 PAHs 类化合物的检测.

关键词:多环芳烃;中药;固相萃取;气相色谱-质谱法
中图分类号: O657.63　　**文献标志码**:B　　**文章编号**:1006-3757(2022)01-0068-12
DOI:10.16495/j.1006-3757.2022.01.011

Determination of Eighteen Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Three Traditional Chinese Medicine Herbs by Solid Phase Extraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry

LI Wen-bin, CHI Yan-yan, CHENG Fei
(*Dikma Technologies Inc.*, *Tianjin* 300499, *China*)

Abstract: A simple and rapid method for the determination of 18 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in 3 traditional Chinese medicine (TCM) herbs has been established using the solid phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry (SPE-GC-MS). *Salvia miltiorrhiza*, *Fritillaria ussuriensis* and *Magnolia officinalis* were selected as the samples. The samples were extracted with *n*-hexane. The extracts were purified on Florisil cartridges and Proelut-PAH SPE columns. 18 PAHs were separated on DM-PAH columns (30 m×0.25 mm×0.25 μm). Selective ion monitoring (SIM) mode was used for the mass spectrometry, and matrix-matched external standard method was used for the quantification. The results showed that the 18 PAHs had a good linearity over the concentration range of 5~200 μg/L and the correlation coefficients (R^2) were all greater than 0.998. The limit of detections (LODs) were 0.6~1.2 μg/kg (S/N=3) and the limit of quantifications (LOQs) were 2.0~4.0 μg/kg(S/N=10). The recoveries (spiked at 4.0, 8.0, 40.0 μg/kg) were 81.5%~106.3% (*Salvia miltiorrhiza*), 87.1%~108.3% (*Fritillaria ussuriensis*) and 82.4%~107.9% (*Magnolia*

收稿日期:2022-01-07;　**修订日期**:2022-02-19.
基金项目:国家十二五科技支撑计划(No. 2012BAK25B02)[Key Projects in National Science & Technology Pillar Program During Twelfth Five-year Plan Period(No. 2012BAK25B02)]
作者简介:李文斌(1982-),男,工程师,研究方向:分离材料研发及检测方法开发与应用,E-mail:li_wenbin@ dikma.com.cn
通信作者:程菲(1989-),女,工程师,研究方向:检测方法开发与应用,E-mail:cheng_fei@ dikma.com.cn.

officinalis), respectively. The relative standard deviations (RSDs) were 1.5%~7.8% (*Salvia miltiorrhiza*), 2.1%~8.4% (*Fritillaria ussuriensis*) and 1.8%~6.9% (*Magnolia officinalis*), respectively. The method has a high purification efficiency, accuracy and sensitivity, and can be used for the detection of 18 PAHs in TCM herbs. Using this method, *Salvia miltiorrhiza*, *Fritillaria ussuriensis* and *Magnolia officinalis* samples were tested and found to have varied levels of PAHs. This method can provide theoretical and practical significance for the detection of PAHs in TCM herbs.

Key words: polycyclic aromatic hydrocarbons; traditional Chinese medicine herbs; solid phase extraction; GC-MS

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是指含有两个或多个苯环以线性、角状或簇状方式排列在一起的一类化合物[1]. PAHs 是一种在环境中普遍存在的持久性有机污染物,由于其高脂溶性,很容易通过胃肠道被吸收,长期接触会引起免疫系统功能下降,具有强烈的致癌、致畸、致突变作用[2-3]. 中药在其种植生长过程中,会吸收来自空气、土壤和水中的 PAHs 并在体内富集积累,另外在中药的加工过程中,通过炒、烘、焙、烤等工艺也会引入 PAHs 从而危害人体健康[2,4]. 早在 1979 年,美国环保署(US EPA)就已经将 16 种 PAHs 列为优先控制污染物[5],韩国在 2008 年发布的《草药中苯并芘的规格检验方法提案》(G/TBT /N/KOR/197)中规定了生地黄和熟地黄两种草药中苯并[a]芘的最大容许量为 5 μg/kg[2]. 欧盟 2015/1933 号法规规定了干草药中苯并[a]芘最大含量 10.0 μg/kg,并以苯并[a]芘、苯并[a]蒽、苯并[b]荧蒽和屈 4 种 PAHs 的总量规定了干草药中 PAHs 最大使用限量为 50.0 μg/kg[2]. 德国新的认证技术文件 ZEK01.4-08 将管控的 16 种 PAHs 提高到了 18 种[6]. 随着国际上对 PAHs 日益关注,为了规范中药的种植生产过程、保障人体健康、促进中药打开国际贸易市场,建立一种简便、快速测定中药材中 PAHs 的方法具有重要意义.

PAHs 的分析方法主要包括液相色谱法(LC)[7-8]、气相色谱质谱法(GC-MS)[6,9-10]、气相色谱串联质谱法(GC-MS/MS)[11-13]. 早期 PAHs 检测常用液相串联荧光或者紫外检测器,具有较高的灵敏度,由于液相色谱主要通过保留时间定性,针对复杂的样品基质容易出现假阳性的问题. 相比之下 GC-MS/MS 定性能力强,检出限低,适合复杂基质 PAHs 的分析,但同时也存在价格高昂不易推广的问题,与前两者相比 GC-MS 法在具备高的灵敏度和抗干扰能力的同时,价格适宜,是目前应用比较广泛的检测 PAHs 手段也是本文使用的检测方法.

中药材中 PAHs 的检测属于痕量分析,其基质复杂,含有色素、糖类化合物、萜内脂、有机酸、甾类、挥发油等多种成分. 国内目前通用的食品中 PAHs 检测方案 GB 5009.265—2016 对于中药类复杂基质的检测并不完全适合. 已有文献报道的针对中药 PAHs 前处理方法主要有固相萃取法[4,14-15]、液液萃取法[16]、凝胶渗透色谱(GPC)结合 SPE 法[13]、固相微萃取法[17]、浊点萃取法[18]. 其中固相萃取法样品用量少,净化结果明显、回收率高,集样品纯化和富集于一身、填料可选择性强,特别适合痕量成分分析,具有明显的技术优势[19],目前已广泛应用于环境、制药、食品等领域. 本研究考察了鸡血藤、牡蛎、琥珀、百合、丹参、陈皮、厚朴、金银花、银杏叶、鱼腥草、平贝母、白豆蔻、枸杞等多种基质,根据前处理的难易程度及样品的洁净情况,最终选择了难、中、易三种样品,即简单基质平贝母,稍复杂基质厚朴,复杂基质丹参作为论述对象. 本文采用正己烷振荡提取,通过 Florisil 柱和 Proelut-PAH 多环芳烃专用萃取柱联合使用对提取液进行净化,GC-MS 检测,建立了丹参、平贝母和厚朴 3 种中药材中 18 种 PAHs 的分析方法. 该方法操作简单、净化效率高、分析速度快,适用于类似基质中药材中 PAHs 的检测.

1　试验部分

1.1　仪器与试剂

GC-MS-QP2010 气相色谱-质谱仪(日本岛津公司);HSC-24B 氮吹仪(天津恒奥科技发展有限公司);DM-PAH 多环芳烃专用色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm,迪马科技);ProElut Florisil 弗罗里硅土柱(500 mg/6 mL,迪马科技);ProElut PAH 多环芳烃专用萃取柱(700 mg/6 mL,迪马科技).

18 种 PAHs 混合标准溶液,质量浓度 1 000 μg/mL,溶剂为甲苯,农残级,纯度大于 99.9%,迪马科技,包含萘(Naphthalene)、苊烯(Acenaphthylene)、苊(Acenaphthene)、芴(Fluorene)、菲(Phenanthrene)、蒽(Anthracene)、荧蒽(Fluoranthene)、芘(Pyrene)、屈(Chrysene)、苯并

[a]蒽(Benzo[a]anthracene)、苯并[b]荧蒽(Benzo[b]fluoranthene)、苯并[k]荧蒽(Benzo[k]fluoranthene)、苯并[j]荧蒽(Benzo[j]fluoranthene)、苯并[a]芘(Benzo[a]pyrene)、苯并[e]芘(Benzo[e]pyrene)、茚并[1,2,3-c,d]芘(Indeno[1,2,3-c,d]pyrene)、二苯蒽(Dibenzo[a,h]anthracene)、苯并[g,h,i]苝(Benzo[g,h,i]perylene). 正己烷、二氯甲烷、乙腈均为色谱纯(迪马科技),无水 Na_2SO_4(天津福晨化学试剂有限公司). 所使用溶剂需进行溶剂空白检测,所有玻璃器皿洗净后,用正己烷充分润洗,干燥备用. 丹参、平贝母、厚朴均购自天津市某药店.

1.2 样品前处理

取中药材粉碎成粉末,过三号筛(粒径:355 μm),取约 5 g,精密称定,置 50 mL 离心管中,加入 5 g 无水硫酸钠、20 mL 正己烷,涡旋混合 15 min,6 000 r/min 离心 2 min,吸取 5 mL 上清液待净化. 取 Florisil 柱,依次加入 6 mL 二氯甲烷、5 mL 正己烷活化,加入待净化液,控制流速 0.5 mL/min,收集流出液 1,以 6 mL 二氯甲烷-正己烷(体积比为 1∶9)洗脱,控制流速 0.5 mL/min,收集流出液 2,合并流出液 1、2,40 °C 水浴氮吹至近干,以 2 mL 正己烷复溶,过 PAH 多环芳烃专用萃取柱(6 mL 二氯甲烷、5 mL 正己烷活化),3 mL 正己烷淋洗,20 mL 二氯甲烷洗脱,收集洗脱液在 40 °C 水浴氮吹至近干,加入正己烷定容到 1 mL,混匀,供 GC-MS 分析.

1.3 标准溶液的配制

准确量取适量 18 种 PAHs 混合标准溶液,以正己烷配制成 50、2.5、0.5 μg/mL 的标准中间液,4 ℃冷藏保存. 称取 6 份实际样品,经过 1.2 样品前处理,作为样品基质溶液,加入适量标准中间液,配制成质量浓度为 5、10、20、50、100、200 μg/L 的基质混合标准工作溶液.

1.4 GC-MS 条件

1.4.1 色谱条件

DM-PAH 色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);载气为高纯氦气,流速 2.0 mL/min;不分流进样,进样量 1 μL;进样口温度:320 ℃;升温程序:初始温度 65 ℃,保持 0.5 min,以 15 °C/min 升温至 220 °C,保持 1 min,再以 4 °C/min 升温至 330 °C,保持 5 min.

1.4.2 质谱条件

离子源:EI 源,离子源温度:230 ℃,接口温度:280 ℃,溶剂延迟时间:5 min,扫描方式:选择离子模式(SIM). 18 种 PAHs 的质谱参数如表 1 所列.

表 1 18 种 PAHs 质谱参数

Table 1 MS parameters for 18 PAHs

化合物	保留时间/min	定量离子/(m/z)	定性离子/(m/z)
萘	5.851	128.00	127.00,129.00
苊烯	8.657	152.00	151.00,150.00
苊	8.862	153.00	154.00,152.00
芴	9.703	166.00	165.00,82.00
菲	11.591	178.00	176.00,179.00
蒽	11.657	178.00	176.00,179.00
荧蒽	14.739	202.00	200.00,203.00
芘	15.712	202.00	200.00,101.00
苯并[a]蒽	20.832	228.00	226.00,229.00
屈	21.231	228.00	226.00,229.00
苯并[b]荧蒽	26.404	252.00	226.00,229.90
苯并[k]荧蒽	26.530	252.00	250.00,126.00
苯并[j]荧蒽	26.673	252.00	250.00,126.00
苯并[a]芘	28.208	252.00	250.00,126.00
苯并[e]芘	28.464	252.00	250.00,126.00
茚苯[1,2,3-c,d]芘	33.627	276.00	277.00,274.00
二苯并[a,h]蒽	33.687	278.00	279.00,139.00
苯并[g,h,i]苝	35.096	276.00	277.00,138.00

2 结果与讨论

2.1 色谱柱的选择

根据相关文献,分析 PAHs 时通常使用 DM-5MS 柱[12] 或 PAH 柱[4,6]. 本文考察 DM-5MS (30 m×0.25 mm×0.35 μm) 和 DM-PAH (30 m×0.25 mm×0.25 μm)两种色谱柱的分离效果. 结果发现,两组同分异构体苯并芘和苯并[e]芘以及苯并[k]荧蒽和苯并[j]荧蒽在 DM-5MS 上无法基线分离,使用 DM-PAH 柱经过优化升温程序,除了茚并[1,2,3-c,d]芘和二苯蒽在色谱图中存在的部分峰重叠现象,可通过它们的定性、定量离子的不同来区分,其它 16 种 PAHs 在 40 min 内完全分离,标准谱图如图 1 所示,可见各组分具有良好的分析结果.

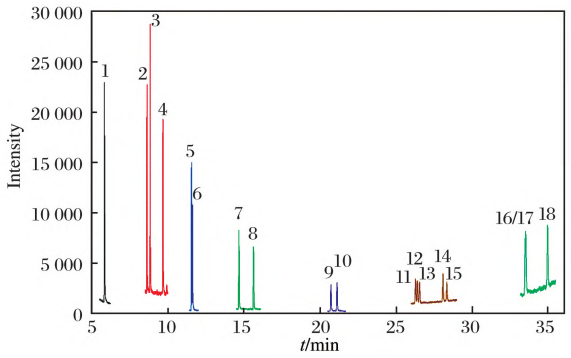

图 1　18 种 PAHs 混合标准溶液的色谱图(SIM)

Fig. 1　Chromatograms of 18 PAHs mixted standard solutions in SIM mode

Peak identification: 1-Naphthalene; 2-Acenaphthylene; 3-Acenaphthene; 4-Fluorene; 5-Phenanthrene; 6-Anthracene; 7-Fluoranthene; 8-Pyrene; 9-Benzo [a] anthracene; 10-Chrysene; 11-Benzo [b] fluoranthene; 12-Benzo [k] fluoranthene; 13-Benzo [j] fluoranthene; 14-Benzo [a] pyrene; 15-Benzo [e] pyrene; 16-Indeno [1,2,3-c,d] pyrene; 17-Dibenzo [a,h] anthracene; 18-Benzo [g,h,i] perylene

2.2　固相萃取条件的优化

2.2.1　提取溶剂的选择

样品的提取是样品前处理的重要环节,合适的提取溶剂及提取方法会直接影响后期的回收率及净化效果. 多环芳烃类化合物不易溶于水,易溶于多种有机溶剂,故而不选择水作为提取溶剂. 考虑到中药样品成分复杂的特点,选取强极性、弱极性的乙腈、正己烷两种溶剂对样品进行提取,并考察其提取效率. 当乙腈提取样品时,PAHs 类化合物回收率整体偏低,且谱图中部分化合物会有明显干扰. 另外,对于颜色较深的丹参样品,乙腈提取后,提取液颜色明显较深,进一步说明使用乙腈时,杂质更多的被提取出来. 采用正己烷进行提取,回收率提升比较显著,而且谱图比较干净,推断是正己烷对于非极性的 PAHs 溶解性更强,同时中药样品中极性干扰物质正己烷不易提取出来,基于提取更多的目标化合物且提取出更少杂质的提取原则,选用正己烷作为提取溶剂. 使用不同溶剂提取的回收率结果对比如图 2所示.

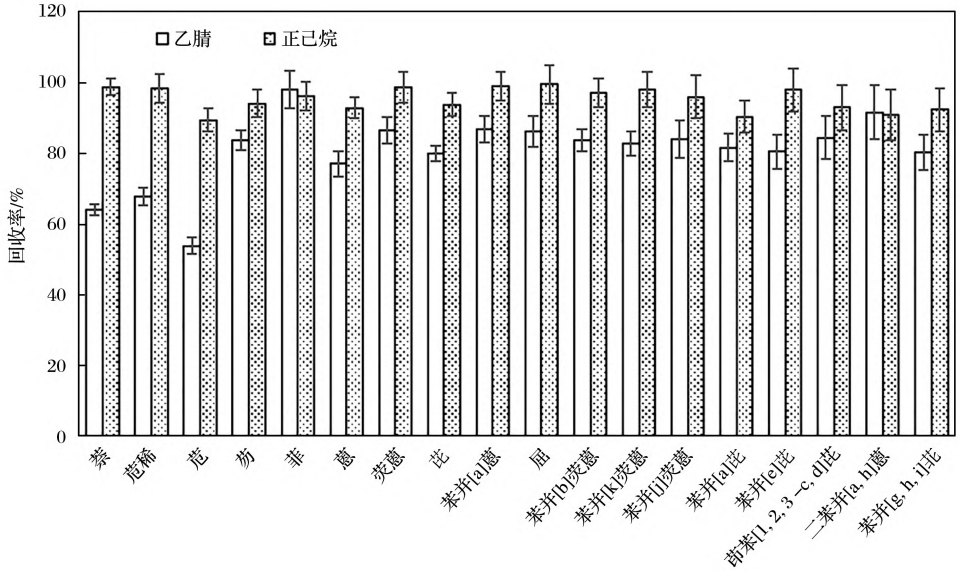

图 2　不同提取溶剂对 18 种 PAHs 回收率影响 ($n=3$)

Fig. 2　Effect of extraction solvents on recoveries of 18 PAHs ($n=3$)

2.2.2　固相萃取柱的选择

目前,常用的样品前处理净化方法有分散固相萃取(QueChERS)、固相萃取(SPE)等. QueChERS 是近年来发展起来的一种样品前处理技术,具有快速、便捷等特点. 但是该法存在一定的局限性,由于方法没有淋洗过程而是通过单一的吸附杂质机理进行净化,所以对于复杂化合物的前处理还存在净化效果不理想的问题. 而中药样品成分复杂,通常有糖类、氨基酸、蛋白质、油脂、蜡、酶、色素、维生素、有机酸、鞣质、无机盐、挥发油、生物碱、甙类等干扰检测成分,通过填料组合吸附杂质的净化模式(QueChERS)不易去除. SPE 作为经典样品前处理

技术,在净化复杂样品基质面具有独特优势.

本试验最初选用PAH多环芳烃专用萃取柱进行净化,PAH多环芳烃专用萃取柱为复合柱产品,内含弱阴离子填料及分子印迹材料,可通过离子交换作用力、氢键作用力吸附样品中有机酸、碳水化合物、色素、氨基酸等杂质,同时还具有分子印迹材料对目标化合物PAHs进行选择性吸附作用,采用正己烷上样、淋洗,二氯甲烷洗脱,对于简单基质平贝母,稍复杂基质厚朴样品可达到良好的回收率和净化效果. 但是对于复杂基质丹参,苯并[b]荧蒽、苯并[k]荧蒽、苯并[j]荧蒽、苯并[a]芘、苯并[e]芘几个化合物出峰位置有明显干扰,同时基线偏高. 考虑到样品基质特性,丹参中含有大量丹参酮、丹参酸等干扰物质,可与极性吸附材料表面羟基形成氢键相互作用力,故而采用Florisil柱预净化的方式,即样品提取液先进行Florisil柱通过保留干扰物模式初步净化,然后再使用PAH多环芳烃专用萃取柱通过保留目标化合物模式再净化,由图3可知,除杂效果明显,化合物可准确定量.

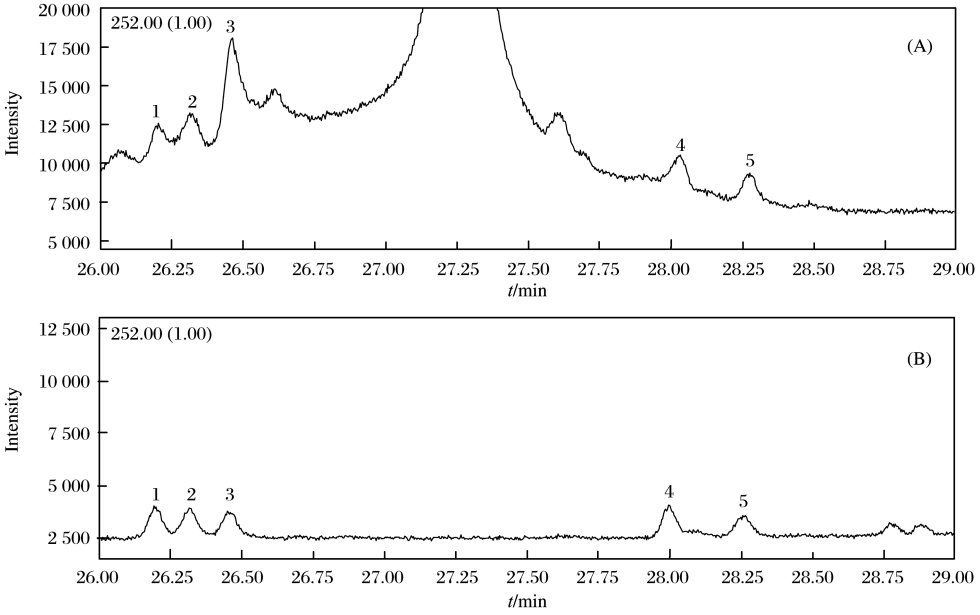

图3 不同萃取柱净化丹参样品谱图对比

(A) PAH萃取柱净化,(B) Florisil柱预净化后PAH萃取柱净化

Fig. 3 Chromatograms of different extraction columns

(A) Purified with Proelut-PAH SPE column, (B) pre-purified with Florisil cartridges following further purified with Proelut-PAH SPE column

Peak identification: 1-Benzo [b] fluoranthene; 2-Benzo [k] fluoranthene; 3-Benzo [j] fluoranthene; 4-Benzo [a] pyrene; 5- Benzo [e] pyrene

2.2.3 流速的选择

固相萃取净化过程中,流速是影响试验结果的重要因素之一. 通过试验发现,在进行Florisil柱预净化时,流速对回收率影响较大,常规流速约为1 mL/min,但回收结果偏低,多数化合物回收率低于80%,降低流速至约为0.5 mL/min时,回收率明显提升,均高于80%,不同流速结果如图4所示,最终选择0.5 mL/min为Florisil柱预净化时流速.

2.2.4 洗脱溶剂选择

选用丹参加标样品进行提取,提取液以Florisil柱预净化,分别选用正己烷、1%二氯甲烷正己烷、5%二氯甲烷正己烷、10%二氯甲烷正己烷、20%二氯甲烷正己烷进行洗脱,流程同1.2.结果如图5所示,当采用10%、20%二氯甲烷正己烷时,18种PAHs回收率符合要求,以洗脱结果回收率高、洗脱液极性尽可能低为原则,在达到回收率要求的同时尽可能的减少洗脱下来杂质,最终选择10%二氯甲烷作为洗脱溶剂.

2.3 基质效应

基质效应(matrix effect, ME)是指样品中的一

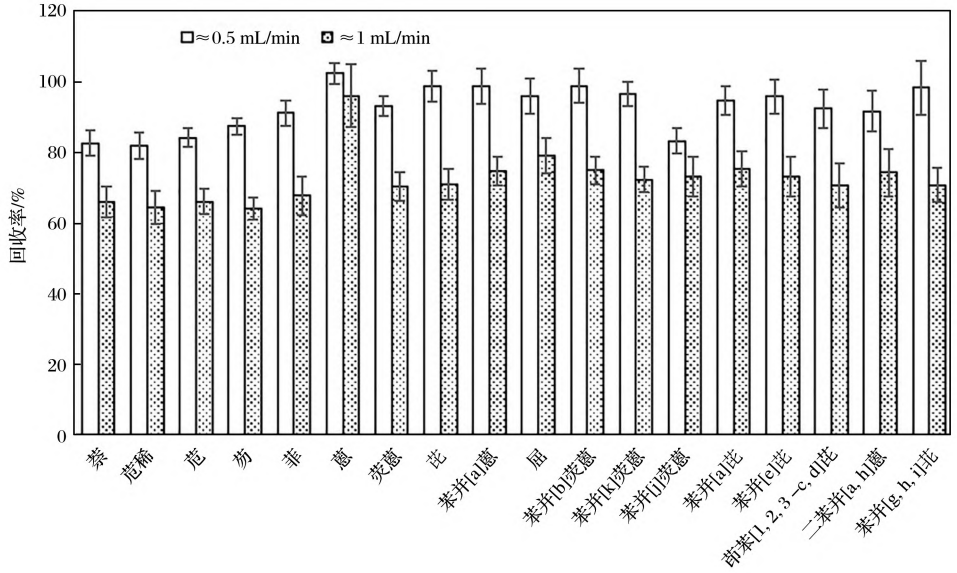

图 4　Florisil 柱流速对 18 种 PAHs 回收率影响（$n=3$）

Fig. 4　Effect of flow rates on Florisil column on recoveries of 18 PAHs($n=3$)

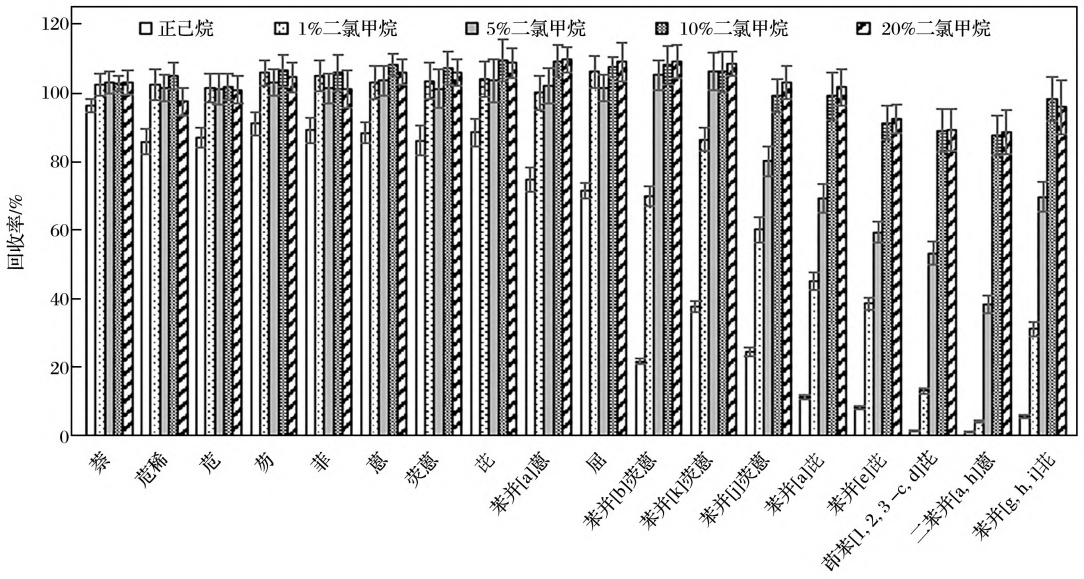

图 5　洗脱溶剂对 18 种 PAHs 回收率影响（$n=3$）

Fig. 5　Effect of elution solvents on recoveries of 18 PAHs（$n=3$）

种或几种非待测组分对待测物浓度或质量测定准确度的影响,包括基质抑制和基质增强两种效应. 中药样品基质复杂,进行样品分析时容易受到基质干扰从而影响分析结果. 本文采用中药实际样品,经过 1. 2 净化过程前处理得到基质溶液加入定量标准品与纯溶剂中加入相同浓度标准品的方式评价基质效应(ME)的影响,计算公式如下:ME=(扣除本底后基质溶液中目标物的峰面积/溶剂中相应目标物的峰面积-1)×100%,当 ME 大于 0 时为基质增强,ME 小于 0 时为基质抑制. ME 的绝对值低于 20%认为不存在明显的基质效应. 试验结果如图 6 所示,不同样品基质效应明显不同,多数化合物高于 20%,因此,本试验采用样品基质溶液配制标准曲线,以消除基质效应的影响,提高分析结果的准确性.

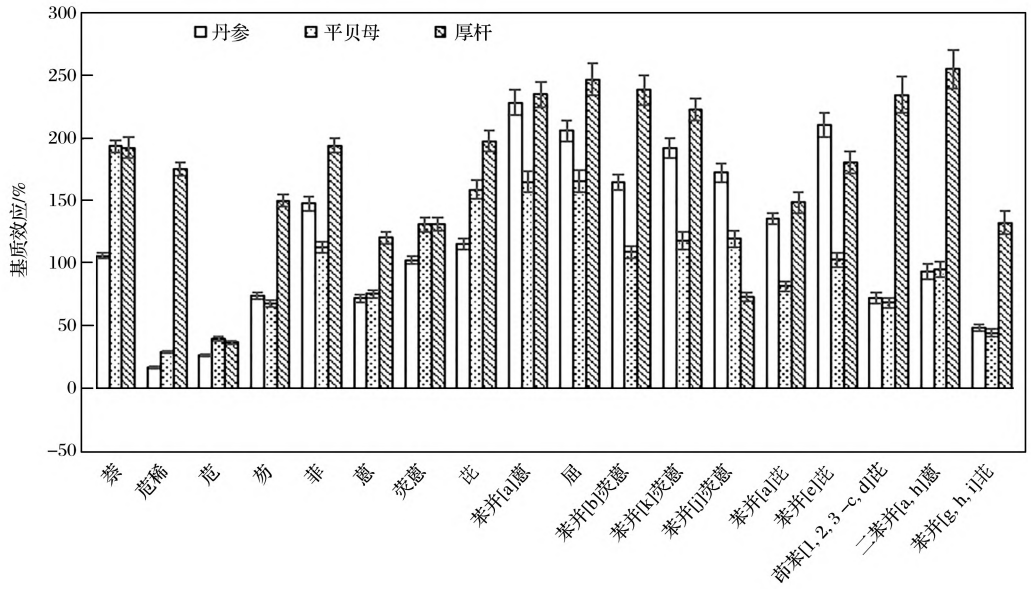

图 6 不同基质下 18 种 PAHs 基质效应（$n=3$）

Fig. 6 Matrix effects of 18 PAHs in different matrices ($n=3$)

2.4 检出限、定量限与线性范围

选取丹参、厚朴、平贝母样品基质，采用 1.3 方法配制不同浓度基质标准溶液，以目标物定量离子的峰面积为纵坐标（y），对应的质量浓度为横坐标（x）绘制标准曲线. 各样品中 18 种 PAHs 在 5～200 μg/L的质量浓度内线性关系良好，线性相关系数均大于 0.998. 以信噪比为 3 计算，检出限（LODs）为 0.6～1.2 μg/kg. 以信噪比为 10 计算，定量限（LOQs）为 2.0～4.0 μg/kg. 18 种 PAHs 在各样品中标准曲线、相关系数、检出限以及定量限如表 2 所列.

表 2 18 种 PAHs 标准曲线、相关系数、检出限以及定量限

Table 2 Calibration equations, correlation coefficients (R^2), LODs and LOQs of 18 PAHs

化合物	基质	标准曲线	R^2	检出限/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)
萘	丹参	$y=1\ 067.888\ 0x+8\ 579.182\ 0$	0.999 5	0.6	2.0
	平贝母	$y=454.468\ 7x-56.406\ 8$	0.998 4		
	厚朴	$y=832.799\ 3x+11\ 616.880\ 0$	0.998 7		
苊烯	丹参	$y=579.134\ 4x+605.379\ 0$	0.999 4	0.6	2.0
	平贝母	$y=376.275\ 2x+326.009\ 3$	0.999 5		
	厚朴	$y=687.925\ 1x-755.196\ 7$	0.999 2		
苊	丹参	$y=379.280\ 0x+888.868\ 2$	0.999 7	0.6	2.0
	平贝母	$y=229.258\ 8x+13.227\ 6$	0.999 8		
	厚朴	$y=458.760\ 6x-374.803\ 3$	0.998 1		
芴	丹参	$y=393.740\ 8x+3\ 038.301\ 0$	0.998 6	0.6	2.0
	平贝母	$y=235.919\ 8x+580.978\ 4$	0.998 6		
	厚朴	$y=523.604\ 3x+1\ 985.893\ 0$	0.998 6		
菲	丹参	$y=456.781\ 5x+8\ 153.519\ 0$	0.999 5	0.6	2.0
	平贝母	$y=313.205\ 2x-118.999\ 0$	0.998 2		
	厚朴	$y=604.615\ 2x+12\ 926.360\ 0$	0.999 1		

续表 2

化合物	基质	标准曲线	R^2	检出限/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)
蒽	丹参	$y=452.165\ 5x+1\ 130.715\ 0$	0.999 0	0.6	2.0
	平贝母	$y=327.119\ 7x+553.154\ 5$	0.999 2		
	厚朴	$y=645.020\ 9x+281.157\ 6$	0.999 2		
荧蒽	丹参	$y=456.245\ 9x+2\ 406.219\ 0$	0.998 9	0.6	2.0
	平贝母	$y=313.028\ 9x+556.812\ 6$	0.998 5		
	厚朴	$y=640.870\ 2x+3\ 817.326\ 0$	0.998 5		
芘	丹参	$y=425.500\ 8x+1\ 990.367\ 0$	0.999 8	0.6	2.0
	平贝母	$y=306.320\ 8x+655.251\ 3$	0.998 8		
	厚朴	$y=638.239\ 4x+3\ 275.803\ 0$	0.999 3		
苯并[a]蒽	丹参	$y=263.042\ 3x+1\ 057.116\ 0$	0.999 5	0.6	2.0
	平贝母	$y=161.056\ 5x+226.210\ 1$	0.999 4		
	厚朴	$y=446.400\ 5x+173.966\ 0$	0.998 7		
屈	丹参	$y=263.940\ 3x+882.664\ 3$	0.999 0	0.6	2.0
	平贝母	$y=180.159\ 8x+354.912\ 5$	0.998 3		
	厚朴	$y=506.696\ 2x-289.503\ 6$	0.998 7		
苯并[b]荧蒽	丹参	$y=283.951\ 0x+943.643\ 0$	0.999 2	0.6	2.0
	平贝母	$y=161.064\ 5x+243.194\ 6$	0.999 0		
	厚朴	$y=525.911\ 6x+1\ 207.170\ 0$	0.998 7		
苯并[k]荧蒽	丹参	$y=268.129\ 3x+836.872\ 3$	0.999 5	0.6	2.0
	平贝母	$y=140.952\ 4x+386.388\ 3$	0.999 3		
	厚朴	$y=508.541\ 6x+1\ 326.915\ 0$	0.998 1		
苯并[j]荧蒽	丹参	$y=228.695\ 6x+1\ 119.201\ 0$	0.998 1	0.6	2.0
	平贝母	$y=126.450\ 0x+38.794\ 0$	0.998 4		
	厚朴	$y=428.709\ 4x-96.518\ 0$	0.999 5		
苯并[a]芘	丹参	$y=310.395\ 0x+992.987\ 6$	0.998 3	0.6	2.0
	平贝母	$y=191.033\ 4x+227.858\ 9$	0.998 9		
	厚朴	$y=409.439\ 5x+9.462\ 4$	0.998 8		
苯并[e]芘	丹参	$y=237.695\ 8x+627.683\ 8$	0.999 6	1.2	4.0
	平贝母	$y=126.236\ 1x-249.981\ 5$	0.998 0		
	厚朴	$y=415.000\ 6x-151.869\ 2$	0.999 6		
茚苯[1,2,3-c,d]芘	丹参	$y=512.000\ 8x-40.551\ 0$	0.998 7	1.2	4.0
	平贝母	$y=203.850\ 0x-784.876\ 4$	0.998 2		
	厚朴	$y=651.371\ 8x-1\ 369.858\ 0$	0.999 6		
二苯并[a,h]蒽	丹参	$y=379.183\ 6x+833.383\ 1$	0.999 0	1.2	4.0
	平贝母	$y=150.543\ 7x-645.221\ 4$	0.998 6		
	厚朴	$y=481.213\ 6x-771.037\ 1$	0.999 5		
苯并[g,h,i]苝	丹参	$y=462.492\ 9x+1\ 393.371\ 0$	0.998 0	1.2	4.0
	平贝母	$y=241.979\ 6x-1\ 053.192\ 0$	0.998 6		
	厚朴	$y=669.207\ 1x-340.123\ 6$	0.999 9		

2.5 方法的回收率与精密度

取中药材粉碎成粉末,过三号筛(粒径:355 μm),取约 5 g,精密称定,分别以 4.0、8.0、40.0 μg/kg添加水平添加 18 种 PAHs 混合标准溶液,按照 1.2 方法进行处理,每个样品平行测定 6 次,计算加标回收率和相对标准偏差(RSD),结果如表 3 所列. 由表 3 可见,丹参的回收率在 81.5%~106.3%之间,相对标准偏差(RSD)为 1.5%~7.8%. 平贝母的加标回收率在 87.1%~108.3%之间,相对标准偏差(RSD)为2.1%~8.4%. 厚朴的加标回收率在 82.4%~107.9%之间,相对标准偏差(RSD)为 1.8%~6.9%.

表 3 18 种 PAHs 在丹参、平贝母和厚朴中加标回收率和相对标准偏差($n=6$)

Table 3 Spiked recoveries and RSDs of 18 PAHs in *Salvia miltiorrhiza*, *Fritillaria ussuriensis* and *Magnolia officinalis* ($n=6$)

化合物	加标量/(μg/kg)	丹参		平贝母		厚朴	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
萘	4.0	94.2	2.5	90.2	3.4	97.2	2.3
	8.0	106.3	2.6	108.0	3.3	104.4	2.1
	40.0	95.0	1.5	91.0	2.3	103.0	1.8
苊稀	4.0	92.4	3.7	89.3	4.1	92.4	4.0
	8.0	90.1	4.4	101.9	3.7	99.8	3.4
	40.0	86.8	4.7	87.1	3.3	84.7	2.9
苊	4.0	89.6	3.9	93.4	4.1	95.7	5.9
	8.0	91.7	2.1	100.2	5.6	97.6	4.5
	40.0	88.9	3.0	89.1	4.2	98.0	3.8
芴	4.0	92.4	4.1	95.8	5.7	104.6	6.2
	8.0	96.4	3.7	103.4	4.6	107.6	5.0
	40.0	90.4	3.3	93.1	4.0	106.6	4.1
菲	4.0	99.3	5.6	96.2	7.7	105.2	4.7
	8.0	105.2	4.1	106.3	6.3	108.0	4.0
	40.0	85.9	3.3	103.0	4.0	105.9	3.8
蒽	4.0	97.9	4.1	91.6	8.1	99.7	5.5
	8.0	104.4	3.5	99.4	6.0	103.0	4.9
	40.0	91.3	3.6	93.7	5.8	95.5	2.9
荧蒽	4.0	94.3	4.8	92.3	7.1	103.3	3.9
	8.0	100.3	3.0	102.0	6.5	107.1	2.9
	40.0	93.4	3.5	102.0	4.3	105.6	2.0
芘	4.0	101.2	7.2	91.9	5.5	95.2	4.2
	8.0	105.1	6.3	105.8	4.0	100.8	4.3
	40.0	95.2	4.9	102.0	3.3	100.7	3.8
苯并[a]蒽	4.0	93.2	5.5	93.2	7.5	92.1	2.9
	8.0	98.1	6.0	107.3	5.4	101.2	3.1
	40.0	95.7	4.1	105.7	3.2	90.1	2.0
屈	4.0	89.3	4.3	90.9	4.8	89.3	5.3
	8.0	85.4	3.1	102.7	3.3	99.1	4.6
	40.0	98.0	3.4	101.6	2.9	86.9	4.9
苯并[b]荧蒽	4.0	103.5	4.4	95.6	6.6	85.3	3.3
	8.0	105.1	5.0	101.4	6.0	97.8	3.8
	40.0	95.4	4.1	99.5	5.9	82.4	3.0
苯并[k]荧蒽	4.0	97.8	3.2	97.9	4.3	87.8	5.7
	8.0	94.6	2.8	103.1	2.1	95.3	4.3
	40.0	94.2	2.5	108.3	2.5	89.1	2.0

续表 3

化合物	加标量/(μg/kg)	丹参		平贝母		厚朴	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
苯并[j]荧蒽	4.0	93.0	4.1	96.3	3.9	84.3	4.1
	8.0	87.8	3.2	106.1	3.4	86.2	3.2
	40.0	90.7	2.8	107.5	2.8	87.4	2.7
苯并[a]芘	4.0	102.4	5.5	98.3	5.6	83.6	5.2
	8.0	98.0	5.2	105.6	5.0	89.1	4.4
	40.0	97.4	4.3	108.1	4.2	82.8	4.7
苯并[e]芘	4.0	88.9	4.1	89.1	6.1	88.9	4.8
	8.0	85.5	4.3	89.0	4.1	93.7	4.2
	40.0	90.8	3.5	90.8	3.8	85.2	3.6
茚苯[1,2,3-c,d]芘	4.0	86.4	5.8	91.2	5.8	94.3	4.7
	8.0	81.5	4.8	104.6	5.0	105.6	4.0
	40.0	88.9	5.0	91.7	4.2	93.2	3.3
二苯并[a,h]蒽	4.0	88.0	6.9	88.8	7.8	93.2	4.0
	8.0	83.1	4.4	89.6	6.0	107.9	4.1
	40.0	87.8	5.7	88.0	6.5	87.3	3.3
苯并[g,h,i]苝	4.0	86.4	7.8	92.6	8.4	90.0	6.9
	8.0	86.6	6.6	105.4	6.3	95.1	5.1
	40.0	86.0	5.2	96.3	5.5	82.4	6.0

2.6　实际样品测定

按照上述检测方法对市售的丹参、平贝母和厚朴样品进行测定,结果如表 4 所列. 由表 4 结果可见,三种药材中分别检出不同程度的 PAHs,其中丹参样品中有少量芴、荧蒽和芘检出,平贝母样品中只有少量苊检出. 厚朴样品中苊烯、芘、苯并[a]蒽、屈、二苯并[a, h]蒽均有检出,PAHs 总检出量为 293.38 μg/kg,远高于丹参和平贝母的 15.24 和 3.55 μg/kg.

表 4　丹参、平贝母和厚朴中 18 种 PAHs 残留量结果

Table 4　Detection results of 18 PAHs residues in *Salvia miltiorrhiza*, *Fritillaria ussuriensis* and *Magnolia officinalis*

化合物	检出质量分数/(μg/kg)		
	丹参	平贝母	厚朴
萘	–*	–	–
苊稀	–	–	27.76
苊	–	3.55	–
芴	5.88	–	–
菲	–	–	–
蒽	–	–	–
荧蒽	6.03	–	–
芘	3.33	–	24.24
苯并[a]蒽	–	–	43.40
屈	–	–	27.18
苯并[b]荧蒽	–	–	–
苯并[k]荧蒽	–	–	–
苯并[j]荧蒽	–	–	–
苯并[a]芘	–	–	–
苯并[e]芘	–	–	–
茚苯[1,2,3-c,d]芘	–	–	–
二苯并[a,h]蒽	–	–	170.8
苯并[g,h,i]苝	–	–	–
总 PAHs	15.24	3.55	293.38

* means the result below the LOD

3　结论

本研究建立了固相萃取-气相色谱质谱联用法同时测定丹参、平贝母和厚朴等 3 种中药材中18 种 PAHs 的检测方法,对提取溶剂、固相萃取柱、流速、洗脱溶剂等条件进行优化. 在丹参、平贝母、厚朴样品中,以不同浓度添加水平进行方法学验证,回收率及相对标准偏差符合方法学要求. 18 种 PAHs 在 5~200 μg/L的质量浓度内线性良好,检出限在 0.6~1.2 μg/kg之间,定量限在 2.0~4.0 μg/kg 之间.

该方法净化效率高,准确度、灵敏度良好,可为类似基质中药材中 PAHs 安全评价和质量控制提供参考. 通过实际样品检测,3 种药材中 PAHs 均有不同程度检出,应引起有关部门重视,采取相应措施,

以确保中药材的安全性. 重视中药材的质量管控，对于保障人体健康、促进中药现代化、走向国际贸易市场具有重要意义.

参考文献：

[1] 陈晓秋，张建华，俞是聃，付彦斌. 交通路口大气气溶胶的污染状况以及多环芳烃的污染特征研究[J]. 分析测试技术与仪器，2007，13(3)：194-198. [CHEN Xiao-qiu，ZHANG Jian-hua，YU Shi-dan，FU Yan-bin. The pollution state of atmospheric aerosol and pollution property of PAHs in atmospheric aerosol at the traffic crossing[J]. Analysis and Testing Technology and Instruments，2007，13(3)：194-198.]

[2] 杜晓娟，曾利娜，苏畅，王铁杰，金红宇，魏锋，马双成，王淑红. 中药中多环芳烃污染风险控制研究进展[J]. 中国现代中药，2021，23(4)：741-746. [DU Xiao-juan，ZENG Li-na，SU Chang，WANG Tie-jie，JIN Hong-yu，WEI Feng，MA Shuang-cheng，WANG Shu-hong. Research progress on risk control of polycyclic aromatic hydrocarbons in traditional Chinese medicine[J]. Modern Chinese Medicine，2021，23(4)：741-746.]

[3] Sun K L，Song Y，He F L，Jing M Y，Tang J C，Liu R T. A review of human and animals exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons：health risk and adverse effects，photo-induced toxicity and regulating effect of microplastics[J]. Science of the Total Environment，2021，773：145403.

[4] 孙细珍，杜佳炜，钱全全，吴平谷. 气相色谱-质谱法检测益智药材中16种多环芳烃[J]. 分析测试学报，2021，40(5)：732-739. [SUN Xi-zhen，DU Jia-wei，QIAN Quan-quan，WU Ping-gu. Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in alpinia oxyphylla miq by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis，2021，40(5)：732-739.]

[5] 王春蕾，刘华良，马永建，阮丽萍. 在线固相萃取-高效液相色谱法检测食用油中15+1种欧盟优控多环芳烃[J]. 分析化学，2015，43(11)：1743-1748. [WANG Chun-lei，LIU Hua-liang，MA Yong-jian，RUAN Li-ping. Determination of 15 + 1 European priority polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oil by online solid phase extraction and high performance liquid chromatography[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry，2015，43(11)：1743-1748.]

[6] 薄晓文，张敏，郭利娟，刘雪婷，沈永. 气相色谱-质谱法测定药用丁基橡胶塞中18种多环芳烃的含量[J]. 分析科学学报，2021，37(5)：680-685. [BO Xiao-wen，ZHANG Min，GUO Li-juan，LIU Xue-ting，SHEN Yong. Determination of eighteen polycyclic aromatic hydrocarbons in pharmaceutical butyl rubber closures by GC-MS[J]. Journal of Analytical Science，2021，37(5)：680-685.]

[7] 袁继委，王金成，徐威力，徐方曦，卢宪波. 凝固漂浮有机液滴-分散液液微萃取结合高效液相色谱法同时测定地表水中多环芳烃和酞酸酯[J]. 色谱，2020，38(11)：1308-1315. [YUAN Ji-wei，WANG Jin-cheng，XU Wei-li，XU Fang-xi，LU Xian-bo. Simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and phthalate esters in surface water by dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop followed by high performance liquid chromatography[J]. Chinese Journal of Chromatography，2020，38(11)：1308-1315.]

[8] 陶鑫，全洗强，俞建国，杜文越，秦愫妮. 加速溶剂萃取-旋蒸定容-高效液相色谱法检测土壤中16种多环芳烃[J]. 环境化学，2019，38(12)：2797-2807. [TAO Xin，QUAN Xi-qiang，YU Jian-guo，DU Wen-yue，QIN Su-ni. Analysis of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in soil with accelerated solvent extraction，rotary evaporation for obtain a constant volume and high performance liquid chromatography[J]. Environmental Chemistry，2019，38(12)：2797-2807.]

[9] 张润坤，陈建余，胡艺瀚. 超声提取-气相色谱/质谱法测定皮革及纺织品中18种多环芳烃[J]. 分析试验室，2021，40(2)：156-162. [ZHANG Run-kun，CHEN Jian-yu，HU Yi-han. Determination of eighteen polycyclic aromatic hydrocarbons in leather and textile products by ultrasonic extraction combined with GC-MS[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory，2021，40(2)：156-162.]

[10] 俞是聃. 圆盘膜萃取、色质联用仪及选择离子法(SIM)测定河水中多环芳烃，多氯联苯，酞酸酯等半挥发有机物[J]. 分析测试技术与仪器，2006，12(3)：161-165. [YU Shi-dan. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons，PCBs，and phthalats by SPE disk extraction-GC/MS with selected ion monitoring mode[J]. Analysis and Testing Technology and Instruments，2006，12(3)：161-165.]

[11] 魏丹，国明，吴慧珍，张菊. 加速溶剂萃取-磁固相萃取净化-气相色谱-质谱法测定土壤中16种多环芳烃和23种有机氯残留[J]. 色谱，2020，38(8)：945-952. [WEI Dan，GUO Ming，WU Hui-zhen，ZHANG Ju. Determination of 16 polycyclic aromatic

hydrocarbon and 23 organochlorine residues in soil by accelerated solvent extraction and magnetic solid phase purification- gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2020, 38(8):945-952.]

[12] 宋晓娟, 李海燕, 尹明明, 马玉琴. 快速溶剂萃取-气相色谱-串联质谱法分析海洋沉积物中 16 种多环芳烃[J]. 色谱, 2018, 36(1):51-58. [SONG Xiao-juan, LI Hai-yan, YIN Ming-ming, MA Yu-qin. Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments by gas chromatography-tandem mass spectrometry with accelerated solvent extraction[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2018, 36(1):51-58.]

[13] 崔宗岩, 葛娜, 曹彦忠, 张进杰, 刘永明, 周乐. 市售植物源中药材的多环芳烃污染现状与评价[J]. 环境化学, 2014, 33(5):844-849. [CUI Zong-yan, GE Na, CAO Yan-zhong, ZHANG Jin-jie, LIU Yong-ming, ZHOU Le. Investigation and assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons contamination in Chinese herbal medicines[J]. Environmental Chemistry, 2014, 33(5):844-849.]

[14] Yu B, Zhang D, Tan L H, Zhao S P, Wang J W, Yao L, Cao W G. Polycyclic aromatic hydrocarbons in traditional Chinese medicines: an analytical method based on different medicinal parts, levels, distribution, and sources[J]. RSC Advances, 2017, 7(8):4671-4680.

[15] Cui Z Y, Ge N, Zhang A, Liu Y M, Zhang J J, Cao Y Z. Comprehensive determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Chinese herbal medicines by solid phase extraction and gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2015, 407(7):1989-1997.

[16] 王宏伟, 方波, 张磊, 杨泽, 王曼曼, 王茜. HPLC 法同时测定 9 种中草药中 18 种多环芳烃残留量[J]. 中成药, 2020, 42(4):986-990. [WANG Hong-wei, FANG Bo, ZHANG Lei, YANG Ze, WANG Man-man, WANG Qian. Simultaneous determination of eighteen polycyclic aromatic hydrocarbon residues in nine Chinese herbal medicines by HPLC[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2020, 42(4):986-990.]

[17] 王月茹, 唐志书, 宋忠兴, 史亚军, 谢伟. 固相微萃取-气相串联质谱法测定葛根药材中多环芳烃残留量[J]. 中国现代中药, 2017, 19(2): 221-225. [WANG Yue-ru, TANG Zhi-shu, SONG Zhong-xing, SHI Ya-jun, XIE Wei. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in puerariae lobamle radix by space solid phase microextraction gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Modern Chinese Medicine, 2017, 19(2):221-225.]

[18] Shi Z H, Yan J J, Ma Y, Zhang H Y. Cloud point extraction-HPLC determination of polycyclic aromatic hydrocarbons residues in traditional Chinese medicinal herbs[J]. Procedia Environmental Sciences, 2011, 10:1216-1221.

[19] 荆文光, 程显隆, 郭晓晗, 马双成, 魏锋. 中药及天然药物质量分析样品前处理技术研究进展[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(9):1487-1504. [JING Wen-guang, CHENG Xian-long, GUO Xiao-han, MA Shuang-cheng, WEI Feng. Research progress of sample pretreatment technology for quality analysis of traditional Chinese medicine and natural products[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2021, 41(9):1487-1504.]