

中药红花的 33 种农残测定分析

背景

红花别名红蓝花、刺红花，为菊科植物红花的干燥花，含有较多色素和挥发油类成分，这些成分极易污染 GC-MS/MS 色谱柱与衬管，从而导致分析时农残目标物峰拖尾、回收率变差、丢峰、保留时间漂移等问题。纳谱分析推出的 HLB-C 中药农残专用柱，特别适用于重色素和重油脂的中药材农残测定。

今天，我们来看看红花项目的前处理效果吧。



红花

适用范围

本方法参考中国药典 2020 版 2341 第五法中的固相萃取法二，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 $^{\circ}\text{C}$ 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 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 min，离心后分取上清液，残渣再加 50 mL 乙腈，匀浆处理 1 min，离心后，合并两次提取上清液，减压浓缩至 3~5 mL 左右，加乙腈定容至 10 mL，摇匀，待净化。

3 净化

GC/MS/MS 样品净化：

SPE 柱：SelectCore HLB-C 中药农残专用柱 500mg/6mL

净化：取 SelectCore HLB-C 固相萃取柱 500mg/6mL，加乙腈 5 mL 活化，再取红花提取液 2 mL 置已活化的 SelectCore HLB-C 固相萃取柱中，收集样品液，待所有样品液进入柱体填料后，取 5 mL 乙腈洗脱，合并样品液与洗脱液，氮吹至 2 mL 即得。

GC/MS/MS 测定：

基质加标配制：精密量取上述氮吹后的样品溶液 1 mL，氮吹至 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：精密量取上述氮吹后的样品溶液 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：

SPE 柱：SelectCore HLB 固相萃取柱 200mg/6mL

净化：量取上述红花提取液 3 mL，过 SelectCore HLB 固相萃取柱 200mg/6mL，收集全部净化液，混匀，即得。

LC/MS/MS 测定：

基质加标配制：精密量取过固相萃取柱后的溶液 1 mL 氮吹至 0.6 mL 加入混合对照品液，乙腈定容至 1 mL，再加入 0.3 mL 水，混匀，过 0.22 μm 尼龙针式过滤器，上机分析。

样品溶液配制：精密量取过固相萃取柱后的溶液 1 mL 加入 0.3 mL 水，混匀，过 0.22 μm 尼龙针式过滤器，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 0.25 μm , 30m \times 0.25mm;

进样口温度：250 $^{\circ}\text{C}$;

升温程序：初始温度为 60 $^{\circ}\text{C}$ ，保持 1min；以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 160 $^{\circ}\text{C}$ ；再以 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 230 $^{\circ}\text{C}$ ，最后以 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 300 $^{\circ}\text{C}$ ，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：146kPa；

进样量: 1 μ L。

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 $^{\circ}$ C;

离子源温度: 250 $^{\circ}$ 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: ChromCore C18-MS Pesticides 中药农残专用柱 2.6 μ m, 2.1 \times 100 mm

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 $^{\circ}$ C

进样量: 2 μ L

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 $^{\circ}$ C

加热模块温度: 400 $^{\circ}$ C

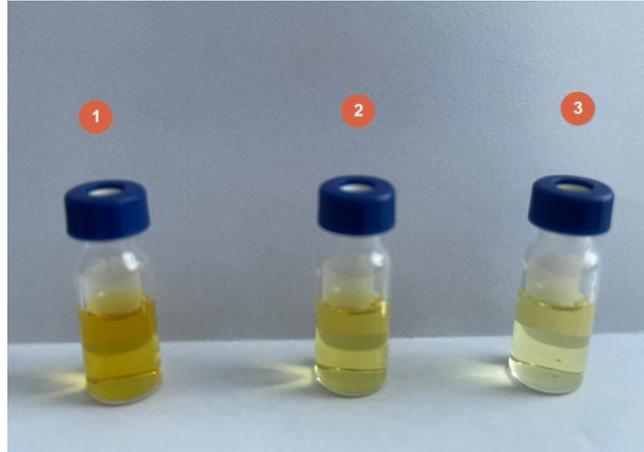
接口温度: 300 $^{\circ}$ C

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, 内吸磷参考 LC-MS/MS 分析结果, 水胺硫磷参考 LC-MS/MS 分析结果。

7 实验结果

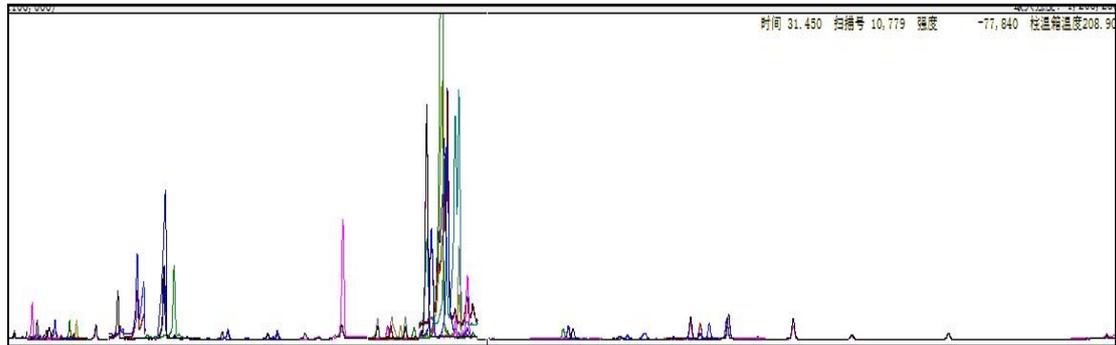


1: 为红花提取液原液

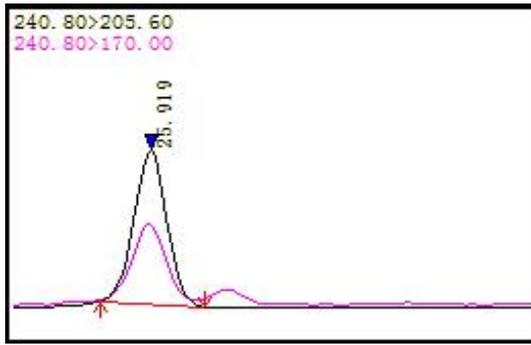
2: 为 SelectCore HLB 200mg/6mL 净化后的红花提取液

3: 为 SelectCore HLB-C 500mg/6mL 净化后的红花提取液

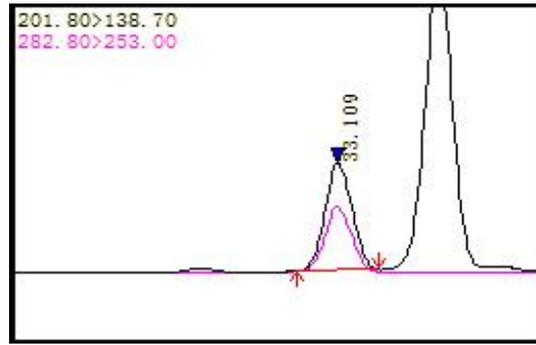
红花基质加标 GC-MS/MS 部分化合物分析结果谱图



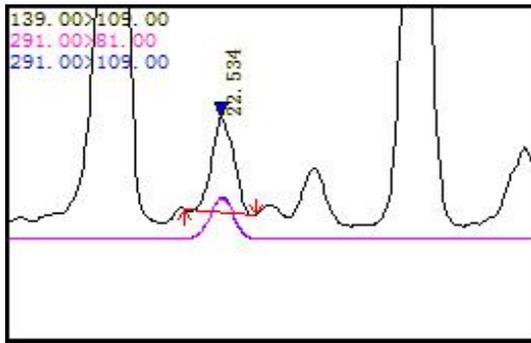
固相萃取法二处理红花基质 LOQ 浓度点加标谱图 (GC-MS/MS 方法)



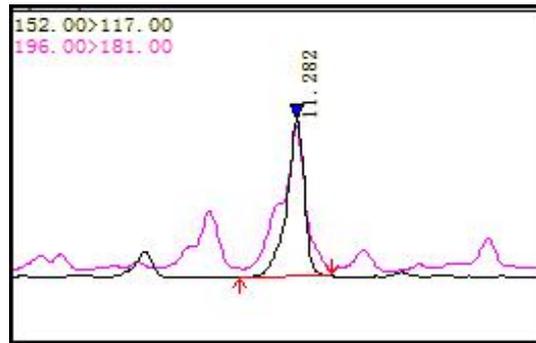
α-硫丹



除草醚

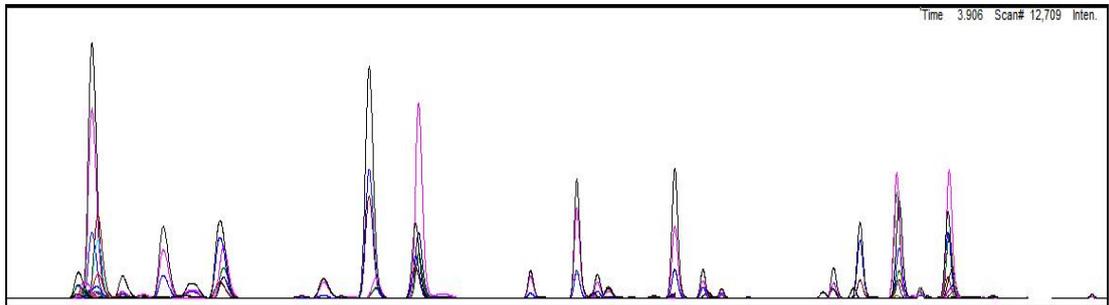


对硫磷

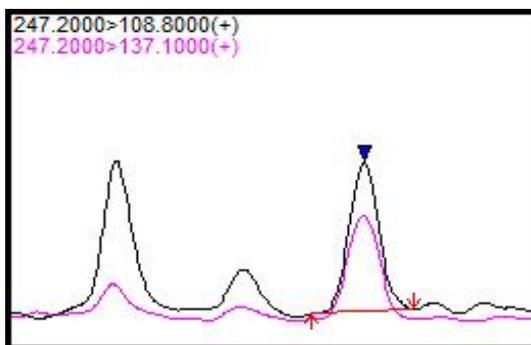


杀虫脒

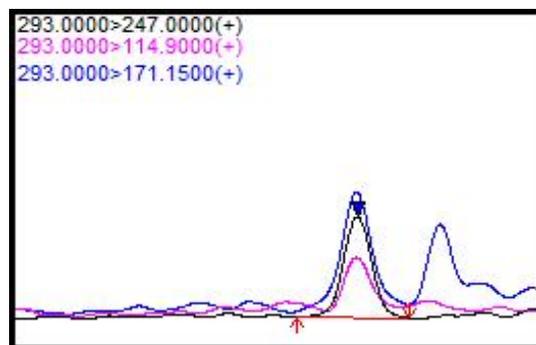
红花基质加标 LC-MS/MS 部分化合物分析结果谱图



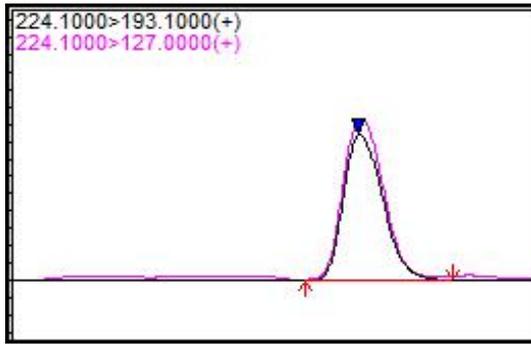
固相萃取法二处理红花基质 LOQ 浓度点加标谱图 (LC-MS/MS 方法)



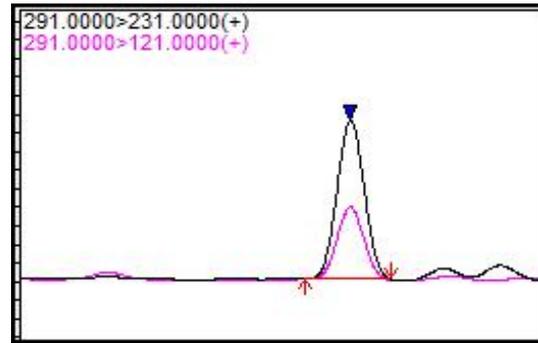
地虫硫磷



甲拌磷砒



久效磷



水胺硫磷

表 1 红花中 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 | 78.4% | 苯线磷亚砷 | 92.0% | 3-羟基克百威 | 80.9% |
| 甲基对硫磷 | 91.5% | 地虫硫磷 | 76.1% | 涕灭威 | 91.0% |
| 对硫磷 | 86.1% | 硫线磷 | 88.0% | 涕灭威砷 | 91.7% |
| 久效磷 | 87.7% | 蝇毒磷 | 98.4% | 涕灭威亚砷 | 85.9% |
| 磷胺 | 92.3% | 治螟磷 | 90.0% | 灭线磷 | 90.1% |
| α -六六六 | 92.7% | 特丁硫磷 | 90.4% | 氯唑磷 | 92.0% |
| β -六六六 | 91.6% | 特丁硫磷砷 | 91.4% | 水胺硫磷 | 83.4% |
| γ -六六六 | 91.3% | 特丁硫磷亚砷 | 99.6% | α -硫丹 | 90.1% |
| δ -六六六 | 90.4% | 甲基硫环磷 | 94.7% | β -硫丹 | 93.2% |
| 2,4'-滴滴涕 | 87.9% | 甲磺隆 | 87.6% | 硫丹硫酸酯 | 96.7% |
| 4,4'-滴滴涕 | 89.8% | 氯磺隆 | 81.7% | 氟虫腈 | 85.7% |
| 4,4'-滴滴涕 | 87.8% | 胺苯磺隆 | 76.6% | 氟虫腈砷 | 79.9% |
| 4,4'-滴滴伊 | 86.3% | 甲拌磷 | 90.3% | 氟虫腈亚砷 | 83.4% |
| 杀虫脒 | 87.8% | 甲拌磷砷 | 90.3% | 氟甲腈 | 87.7% |
| 除草醚 | 91.4% | 甲拌磷亚砷 | 91.4% | <i>o,p'</i> -三氯杀螨醇 | 85.1% |
| 艾氏剂 | 88.6% | 甲基异柳磷 | 91.2% | <i>p,p'</i> -三氯杀螨醇 | 89.3% |
| 狄氏剂 | 89.0% | 内吸磷 | 83.5% | 硫环磷 | 89.3% |
| 苯线磷 | 84.3% | 克百威 | 91.9% | | |
| 苯线磷砷 | 91.9% | | | | |

8 实验讨论

通过以上实验数据可以看出，红花使用 SelectCore HLB-C 固相萃取柱处理对其色素类成分、挥发油吸附良好，有效地减轻了样品中色素和挥发油成分对 GC-MS/MS 柱前端的污染和基质中干扰物对目标物的影响；使用 SelectCore HLB 固相萃取柱处理的红花 LC-MS/MS 基质加标液中化合物出峰良好，搭配上述解决办法有效地解决了红花中农残分析中存在的问题，提高了实验效率，为红花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。