

中药菊花的 33 种农残测定分析（Q 法和 HLB 法二选一）

背景

菊花为菊科植物菊的干燥头状花序，药材按产地和加工方法不同，分为“亳菊”、“滁菊”、“贡菊”、“杭菊”、“怀菊”，含有挥发油类、色素类成分。近年来，菊花的主要问题体现在农药残留方面，33 种农残合格率较低，正因如此，最近国抽 2022 年特意要求加强菊花农残的监管。今天，我们来用 QuEChERS 法和固相萃取法分别来看菊花项目的前处理效果吧（以下实验样品为贡菊）。



贡菊

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 2 和 QuEChERS 法。

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 1mL，置 20mL 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 1mL 含 1.0mg 的溶液，即得。精密量取适量，加乙腈制成每 1mL 含 0.1 μ g 的溶液。

1.3 空白基质溶液的制备

取菊花空白基质样品，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 1.0mL(6 份)，置氮吹仪上，40°C 水浴浓缩至约 0.6mL，分别加入混合对照品溶液 10 μ L、20 μ L、50 μ L、100 μ L、150 μ L、200 μ L，加乙腈稀释至 1mL，涡旋混匀，即得。

2 供试品溶液的制备

2.1 固相萃取法

2.1.1 提取:

精密称取 5g 样品（3 号筛），加氯化钠 1g，加入 50mL 乙腈，匀浆处理 2 分钟，离心后分取上清液，残渣再加 50mL 乙腈，匀浆处理 1 分钟，离心后，合并两次提取上清液，减压浓缩至 3~5mL，加乙腈定容至 10mL，摇匀，待净化。

2.1.2 净化

GC-MS/MS 样品:

SPE 柱: SelectCore HLB-A 中药农残专用柱 200mg/6mL

净化: 量取上述菊花提取液 5mL（直接提取法），过 SelectCore HLB-A 中药农残专用柱，收集全部净化液，混匀，即得。

GC/MS/MS 测定: 精密量取过固相萃取柱后的溶液 1mL，氮吹至 0.4mL 加入混合对照溶液，乙腈定容至 1mL，再加入 0.3 mL 磷酸三苯酯溶液，混匀，过 0.22 μ m 尼龙针式过滤器，上机分析。

LC-MS/MS 样品:

SPE 柱: SelectCore HLB 固相萃取柱 200mg/6mL

净化: 量取上述菊花提取液 3mL（直接提取法），过 SelectCore HLB 固相萃取柱，收集全部净化液，混匀，即得。

LC/MS/MS 测定: 精密量取过固相萃取柱后溶液 1mL 氮吹至 0.4mL 加入混合对照品液，乙腈定容至 1mL，再加入 0.3 mL 水，混匀，过 0.22 μ m 尼龙针式过滤器，上机分析。

2.2 QuEChERS 法

2.2.1 提取

取供试品粉末(过三号筛)1.5g，精密称定，置 50mL 聚苯乙烯具塞离心管中，加入 1%冰醋酸溶液 15mL，涡旋使药粉充分浸润，放置 30 分钟，精密加入乙腈 15mL，涡旋使混匀，置振荡器上剧烈振荡(500 次/分)5 分钟，加入 QS-002 盐包，立即摇散，再置振荡器上剧烈振荡(500 次/分)3 分钟，于冰浴中冷却 10 分钟，离心(每分钟 4000 转)5 分钟，待净化。

2.2.2 净化

Q 法净化管: Q-15PCSG01 SelectCore QuEChERS 净化管 15mL, 900mg MgSO₄, 300mg PSA, 300mg C18, 300mg Silica, 90 mg GCB

净化: 取上述提取液上清液 9mL 置 Q-15PCSG01 净化管中涡旋使充分混匀，置振荡器上剧烈振荡(500

次/分)5 分钟使净化完全，离心(每分钟 4000 转)5 分钟，即得。

GC-MS/MS 测定：精密吸取上清液 5mL，置氮吹仪上于 35°C 水浴浓缩至约 0.4mL，加入混合对照品液再加乙腈稀释至 1.0L，涡旋混匀，再加入 0.3 mL 磷酸三苯酯溶液，混匀，过 0.22um 滤头，上机分析。

LC-MS/MS 测定：精密吸取上清液 5mL，置氮吹仪上于 35°C 水浴浓缩至约 0.4mL，加入混合对照品液再加乙腈稀释至 1.0L，涡旋混匀，再加入 0.3 mL 水，混匀，过 0.22um 滤头，上机分析。

3 气相色谱-串联质谱法（岛津 GC-MS -TQ8040 NX）

色谱条件

色谱柱：SHIMADZU SH-Rxi-17Sil MS，30m×0.25mm，0.25μm；

进样口温度：250°C；

升温程序：初始温度为 60°C，保持 1min；以 10°C/min 升温至 160°C；再以 2°C/min 升温至 230°C，最后以 15°C/min 升温至 300°C，保持 6min；

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：1μL。

质谱条件

电离方式：电子轰击电离源（EI）；

电离能量：70Ev；

接口温度：250°C；

离子源温度：250°C；

监测方式：多反应检测模式（MRM）；

溶剂延迟：10.0min。

GC-MS/MS 监测目标物注意事项：

氟虫腈砒保留时间往后漂移 1min 左右（参考）；

水胺硫磷参考 LC-MS/MS 结果。

4 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(2.1×100 mm，2.6 μm)

流动相：

A：0.1%甲酸水溶液（含有 5mmol/L 甲酸铵）

B：乙腈-0.1%甲酸水溶液（含有 5mmol/L 甲酸铵）=95:5

流速：0.3 mL/min

柱温：40 °C

进样量：2 μL

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: 4.5kV

雾化气: 氮气 3.0L/min

加热气: 干燥空气 10.0L/min

DL 温度: 250°C

加热模块温度: 400°C

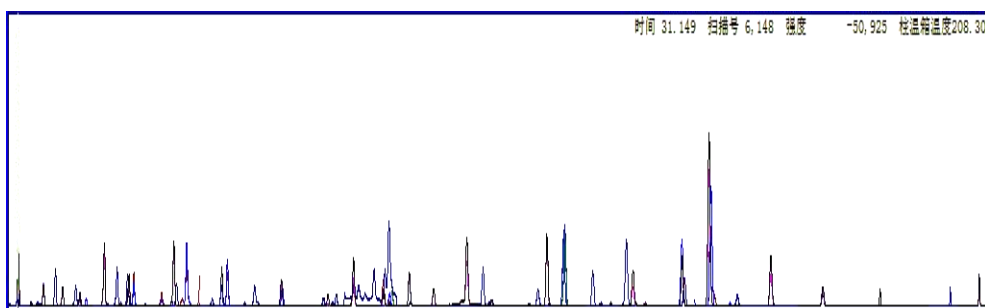
接口温度: 300°C

干燥气: N₂ 10 L/min

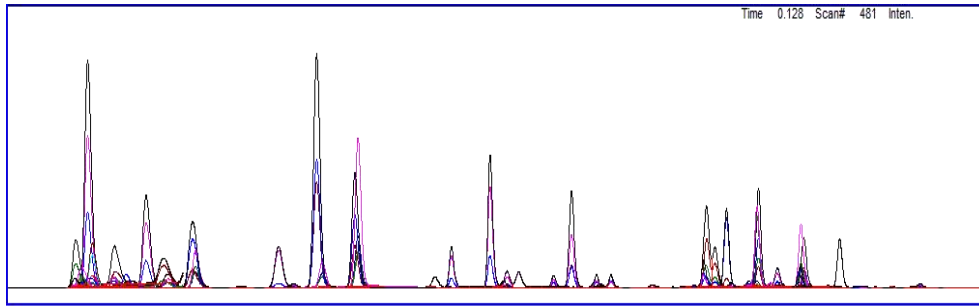
LC-MS/MS 监测目标物注意事项:

自动进样器温度设置不宜过低, 否则可能出现沉淀, 导致分析结果不准确, 回收率低, 且有堵塞进样针的风险, 建议 20°C 以上为宜。

5 实验结果



QuEChERS 法处理菊花基质 LOQ 浓度点加标谱图 (GC-MS/MS 方法)



QuEChERS 法处理菊花基质 LOQ 浓度点加标谱图 (LC-MS/MS 方法)

表 1 (固相萃取法) 菊花中 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 | 75.3% | 地虫硫磷 | 96.1% | 涕灭威砒 | 76.4% |
| 甲基对硫磷 | 82.0% | 硫线磷 | 72.0% | 涕灭威亚砒 | 72.9% |
| 对硫磷 | 77.9% | 蝇毒磷 | 79.8% | 灭线磷 | 90.5% |
| 久效磷 | 83.2% | 治螟磷 | 88.5% | 氯唑磷 | 69.3% |
| 磷胺 | 79.5% | 特丁硫磷 | 73.4% | 水胺硫磷 | 88.8% |
| α -六六六 | 74.2% | 特丁硫磷砒 | 80.5% | α -硫丹 | 85.6% |
| β -六六六 | 76.9% | 特丁硫磷亚砒 | 78.9% | β -硫丹 | 80.2% |
| γ -六六六 | 70.3% | 甲基硫环磷 | 89.6% | 硫丹硫酸酯 | 88.9% |
| δ -六六六 | 75.4% | 甲磺隆 | 72.7% | 氟虫腈 | 90.5% |
| 2,4'-滴滴涕 | 62.3% | 氯磺隆 | 70.9% | 氟虫腈砒 | 88.2% |
| 4,4'-滴滴涕 | 68.7% | 胺苯磺隆 | 74.0% | 氟虫腈亚砒 | 85.7% |
| 4,4'-滴滴涕 | 68.1% | 甲拌磷 | 106.7% | 氟甲腈 | 88.5% |
| 4,4'-滴滴伊 | 64.6% | 甲拌磷砒 | 95.3% | o,p'-三氯杀螨醇 | 72.9% |
| 杀虫脒 | 72.6% | 甲拌磷亚砒 | 101.2% | p,p'-三氯杀螨醇 | 74.5% |
| 除草醚 | 89.5% | 甲基异柳磷 | 86.5% | 硫环磷 | 80.7% |
| 艾氏剂 | 80.3% | 内吸磷-O | 93.4% | | |
| 狄氏剂 | 77.5% | 内吸磷-S | 91.1% | | |
| 苯线磷 | 89.4% | 克百威 | 77.3% | | |
| 苯线磷砒 | 85.8% | 3-羟基克百威 | 80.0% | | |
| 苯线磷亚砒 | 81.0% | 涕灭威 | 85.8% | | |

表 2 (QuEChERS 法) 菊花中 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 | 87.4% | 地虫硫磷 | 78.5% | 涕灭威砒 | 75.6% |
| 甲基对硫磷 | 84.6% | 硫线磷 | 77.6% | 涕灭威亚砒 | 80.2% |
| 对硫磷 | 85.3% | 蝇毒磷 | 85.9% | 灭线磷 | 92.8% |
| 久效磷 | 90.1% | 治螟磷 | 93.9% | 氯唑磷 | 82.6% |
| 磷胺 | 85.5% | 特丁硫磷 | 95.6% | 水胺硫磷 | 93.7% |
| α -六六六 | 100.9% | 特丁硫磷砒 | 88.1% | α -硫丹 | 90.9% |
| β -六六六 | 102.1% | 特丁硫磷亚砒 | 85.7% | β -硫丹 | 88.4% |
| γ -六六六 | 101.0% | 甲基硫环磷 | 96.0% | 硫丹硫酸酯 | 77.2% |
| δ -六六六 | 82.7% | 甲磺隆 | 72.8% | 氟虫腈 | 87.6% |

| | | | | | |
|----------|--------|---------|--------|------------|-------|
| 2,4'-滴滴涕 | 91.2% | 氯磺隆 | 75.9% | 氟虫腈砒 | 90.9% |
| 4,4'-滴滴涕 | 100.7% | 胺苯磺隆 | 71.1% | 氟虫腈亚砒 | 93.7% |
| 4,4'-滴滴涕 | 81.0% | 甲拌磷 | 89.6% | 氟甲腈 | 92.9% |
| 4,4'-滴滴伊 | 88.5% | 甲拌磷砒 | 85.6% | o,p'-三氯杀螨醇 | 97.7% |
| 杀虫脒 | 88.9% | 甲拌磷亚砒 | 106.4% | p,p'-三氯杀螨醇 | 96.1% |
| 除草醚 | 91.4% | 甲基异柳磷 | 93.5% | 硫环磷 | 91.5% |
| 艾氏剂 | 90.6% | 内吸磷-O | 94.8% | | |
| 狄氏剂 | 91.8% | 内吸磷-S | 97.3% | | |
| 苯线磷 | 94.6% | 克百威 | 89.5% | | |
| 苯线磷砒 | 84.1% | 3-羟基克百威 | 82.9% | | |
| 苯线磷亚砒 | 83.3% | 涕灭威 | 79.5% | | |

6 实验讨论

通过以上实验数据可以看出，固相萃取法使用 SelectCore HLB-A 200mg/6mL 固相萃取柱和 SelectCore HLB 200mg/6mL 固相萃取柱，QuEChERS 法使用 Q-15PCSG01 SelectCore QuEChERS 净化管 15mL 净化后的菊花样品回收率都比较良好，为菊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。