

# 树脂类高油高色素中药血竭的 33 种农残测定分析

## 背景

血竭为棕榈科植物麒麟竭果实渗出的树脂经加工制成，含红色树脂 90%以上，主要为血竭树脂鞣醇与苯甲酸及苯甲酰乙酸的化合物。GC/MS/MS 分析中农残化合物干扰大且色谱柱污染较为严重极易造成目标物丢峰，LC/MS/MS 分析中个别农残化合物干扰也较为明显且部分化合物丢峰，常规的 QuEChERS 方法和 SPE 前处理都不能很好的净化，曾有报道用 GPC 凝胶渗透柱结合固相萃取法 3 进行分离测定，但操作较为复杂，耗时耗溶剂较多，不易于检测机构广泛开展。纳谱分析针对树脂类样品分析存在的问题，优化了 HLB 产品对于挥发油和树脂的吸附能力。相比常规固相萃取方式，优化后的 SelectCore HLB-C 固相萃取柱可以吸附更多色素、挥发油、树脂类成分。今天，我们来看看血竭项目的前处理效果吧。



血竭

## 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，适用于含有挥发油类基质干扰大和色素较多的中药材农残检测。

## 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 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 $\mu$ g 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 1.0mL(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 $\mu$ L、20  $\mu$ L、50  $\mu$ L、100 $\mu$ L、150 $\mu$ L、200 $\mu$ 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 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，置冰箱冷藏 1 小时，取出趁冷离心 1min(4000 转/min)，分取所有上清液置离心管中，摇匀，待净化。

**附注：**第一次匀浆离心后，残渣加入 50mL 乙腈后应用洁净的玻璃棒将其充分搅散后再进行第二次匀浆提取。

## 3 净化

### GC/MS/MS 样品：

SPE 柱：SelectCore HLB-C 固相萃取柱 500mg/6mL

净化：取 SelectCore HLB-C 固相萃取柱 500mg/6mL 小柱，加乙腈 3mL 活化，再取上述血竭提取液 1mL 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 4mL 乙腈洗脱，收集合并样品液与洗脱液，即得。

GC/MS/MS 测定：取上述净化后的所有样品液与洗脱液，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 $\mu$ 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 500mg/6mL

净化：量取上述血竭提取液 3mL，过 SelectCore HLB 固相萃取柱 500mg/6mL，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 $\mu$ m 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：SHIMADZU SH-Rxi-17Sil MS，30m $\times$ 0.25mm，0.25 $\mu$ m；

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。

#### GCMSMS 监测目标物注意事项：

久效磷参考 LC/MS/MS 分析结果；

o, p'-三氯杀螨醇定量离子：139.00>111.00；

水胺硫磷定量离子：229.70>211.70；

如遇低浓度基质加标样品甲基硫环磷丢峰或难以判定，可采用 LC/MS/MS 来监测此化合物；

目标物	离子对 1	离子对 2	离子对 3	离子对 4	保留时间 (参考)
甲拌磷砒	153.0>97.0 CE: 10	124.9>96.9 CE: 5	199.0>143.0 CE: 10	199.0>96.9 CE: 5	26.5
地虫硫磷	136.9>109.0 CE: 5	108.9>80.9 CE: 5	245.9>109.0 CE: 15	245.9>137.0 CE: 5	16.5
甲基对硫磷	263.1>109.0 CE: 13	125.0>47.0 CE: 10			21.5

## 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(2.1×100 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: N<sub>2</sub> 10 L/min

## LCMSMS 监测目标物注意事项:

地虫硫磷参考 GC/MS/MS 分析结果:

甲拌磷和甲拌磷参考 GC/MS/MS 分析结果:

目标物	定量离子	CE 电压	参考离子	CE 电压	msec	保留时间 (参考)
甲基硫环磷	228.00>168.10	-19	228.00>108.90	-33	5	0.886

为提高仪器灵敏度可采用分段采集模式进行, 分段采集可设置测定时间为各目标物保留时间前后 0.5min。

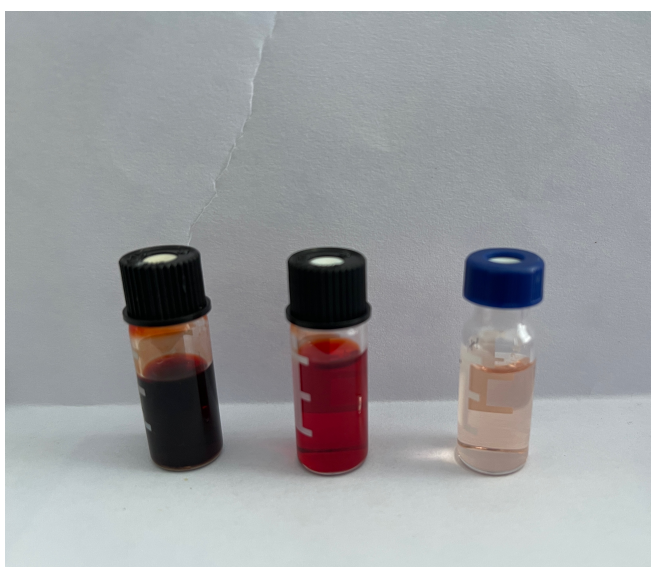
挥发油基质样品自动进样器托盘温度不宜过低, 否则个别样品会出现分层, 导致分析结果不准确, 建议 25°C 为宜。

表 1 血竭中 33 种农药残留的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	60.8%	地虫硫磷	93.6%	涕灭威砒	95.0%
甲基对硫磷	99.2%	硫线磷	60.9%	涕灭威亚砒	67.9%
对硫磷	102.5%	蝇毒磷	89.4%	灭线磷	83.3%
久效磷	69.4%	治螟磷	95.1%	氯唑磷	81.9%
磷胺	79.8%	特丁硫磷	100.4%	水胺硫磷	89.6%
α-六六六	91.3%	特丁硫磷砒	79.8%	α-硫丹	85.0%
β-六六六	94.5%	特丁硫磷亚砒	70.6%	β-硫丹	92.9%
γ-六六六	94.5%	甲基硫环磷	69.7%	硫丹硫酸酯	95.5%
δ-六六六	96.1%	甲磺隆	73.7%	氟虫腈	102.6%
2,4'-滴滴涕	63.3%	氯磺隆	63.3%	氟虫腈砒	109.1%
4,4'-滴滴涕	79.0%	胺苯磺隆	68.9%	氟虫腈亚砒	105.2%
4,4'-滴滴涕	64.8%	甲拌磷	91.4%	氟甲腈	95.2%

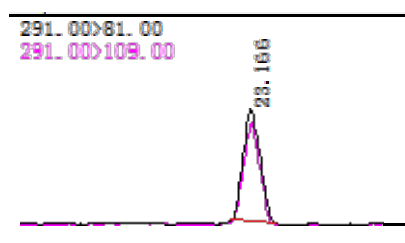
4,4'-滴滴伊	61.3%	甲拌磷砒	108.3%	o,p'-三氯杀螨醇	69.5%
杀虫脒	69.0%	甲拌磷亚砒	92.4%	p,p'-三氯杀螨醇	70.2%
除草醚	93.5%	甲基异柳磷	105.1%	硫环磷	61.9%
艾氏剂	85.7%	内吸磷-S	95.2%		
狄氏剂	87.1%	内吸磷-O	94.7%		
苯线磷	64.2%	克百威	64.6%		
苯线磷砒	63.8%	3-羟基克百威	88.4%		
苯线磷亚砒	64.4%	涕灭威	74.5%		

## 6 处理后溶液的颜色比对

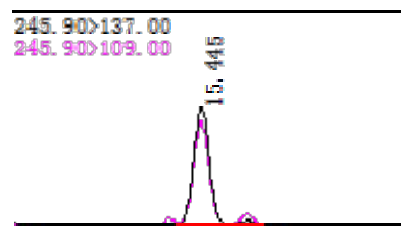


从左至右分别是血竭提取液、血竭提取液过 SelectCore HLB 500mg/6mL、血竭提取液过 SelectCore HLB-C 500mg/6mL 固相萃取柱

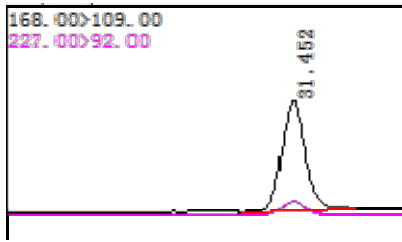
## 7 血竭基质加标 GC/MS/MS 部分化合物出峰情况



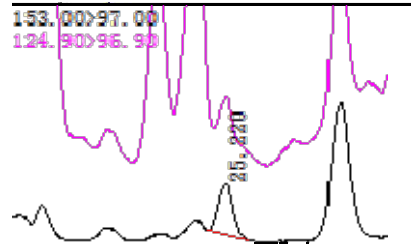
对硫磷



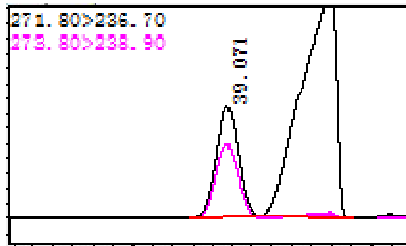
地虫硫磷



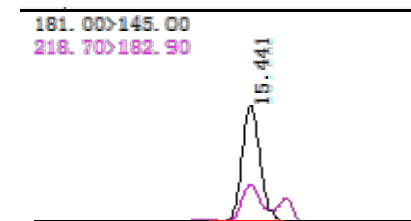
甲基硫环磷



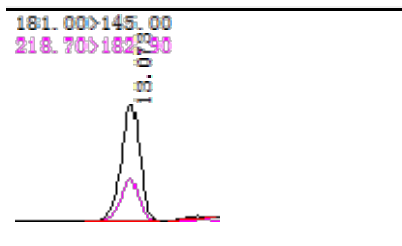
甲拌磷砷



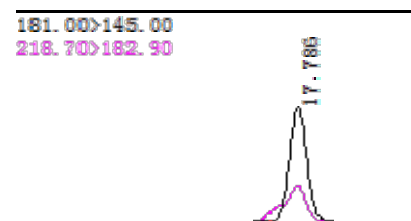
硫丹硫酸酯



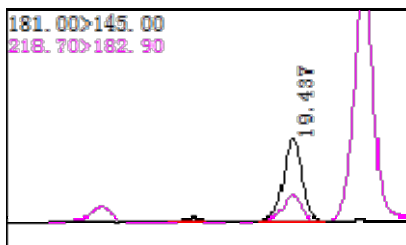
$\gamma$ -六六六



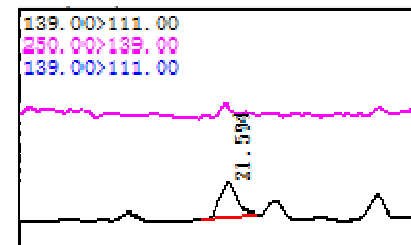
$\alpha$ -六六六



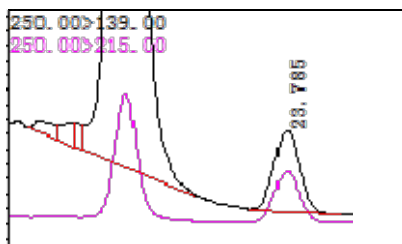
$\beta$ -六六六



$\delta$ -六六六

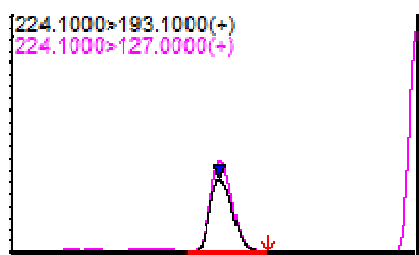


o, p'-三氯杀螨醇

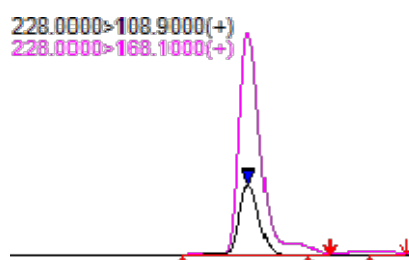


p, p'-三氯杀螨醇

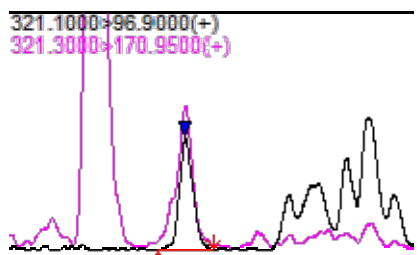
## 血竭基质加标 LC/MS/MS 部分化合物出峰情况



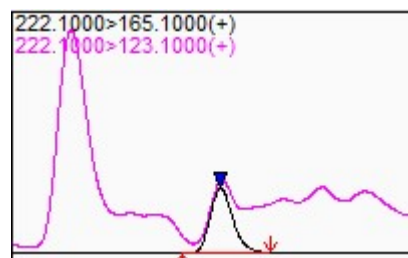
久效磷



甲基硫环磷



特丁硫磷



克百威

## 8 实验讨论

通过以上实验数据比对，可以看出，SelectCore HLB-C 500mg/6mL 中药农残专用固相萃取柱，针对血竭中大量色素和树脂类成分去除效果良好，处理后的溶液颜色明显变浅很多，减少了污染气相色谱柱、衬管和离子源的风险。SelectCore HLB 500mg/6mL 固相萃取柱，对血竭中树脂类成分去除效果良好，减轻了由于基质中干扰物导致的 LC/MS/MS 上样品中目标化合物响应低的问题。两款固相萃取柱结合使用为血竭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。