

中药花椒的 33 种农残测定分析

背景

自 2020 版中国药典四部 2341 农药残留量测定法中新增第五法，药材及饮片(植物类)中禁用农药多残留测定法，很多中药检测企业反馈含有挥发油成分较多品种基质效应较为严重，药典规定的四种前处理方法都难以解决。纳谱分析根据挥发油成分特点，调整亲水亲脂聚乙烯吡咯烷酮填料技术参数，特别推出 SelectCore HLB-A 中药农残专用固相萃取柱（200mg/6mL）产品。相比市面上常规 HLB 产品，HLB-A 可以吸附更多挥发油类成分，并且在除色效果上也较好，从而降低了基质效应。



花椒

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方式二，适用于含挥发油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 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 °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

称取 5 g 花椒样品，加氯化钠 1 g，加入 50 mL 乙腈，匀浆处理 2 分钟，离心后分取上清液，残渣再加

50 mL 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 3~5 mL，加乙腈定容至 10 mL，摇匀，待净化。

3 净化

SPE 柱：SelectCore HLB-A 中药农残专用固相萃取柱（200mg/6mL）/ SelectCore HLB 固相萃取柱（200mg/6mL）

净化：量取直接提取法制备的供试品溶液 3 mL，过 SelectCore HLB-A 中药农残专用固相萃取柱，收集全部净化液，混匀，即得；（同法用 SelectCore HLB 固相萃取柱进行平行试验）

GC/MS/MS 测定：取过固相萃取柱后溶液 1 mL，加入 0.3 mL 内标溶液，混匀，过 PTFE 膜，上机分析。

LC/MS/MS 测定：取过固相萃取柱后溶液 1 mL，加入 0.3 mL 水，混匀，过 PTFE 膜，上机分析。

4 高效液相色谱-串联质谱法（岛津 LC-MS 8050）

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)

Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18(2.1×100 mm, 2.7 μm)

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

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

流速: 0.3 mL/min

柱温: 40 °C

进样量: 1 μL

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 °C

加热模块温度：400 °C

接口温度：300 °C

干燥气：N₂ 10 L/min

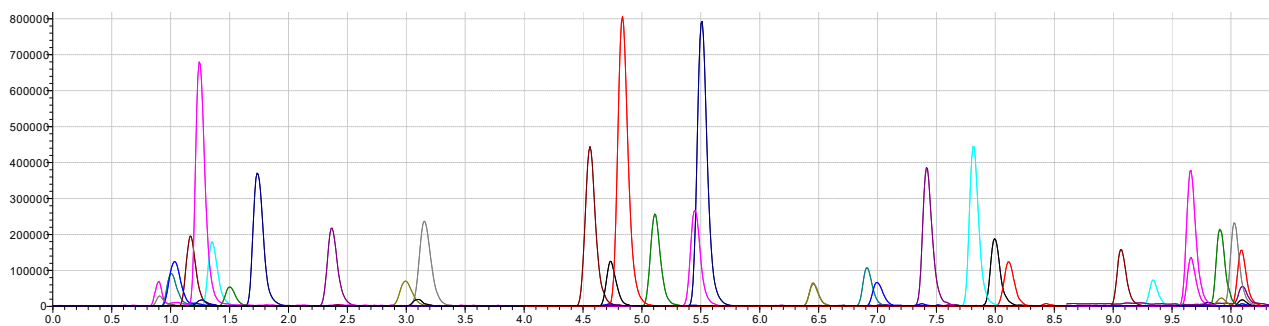


图 1: ChromCore C18-MS Pesticides 分析 30 种农药标准品（以甲胺磷计 0.025 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）的典型谱图

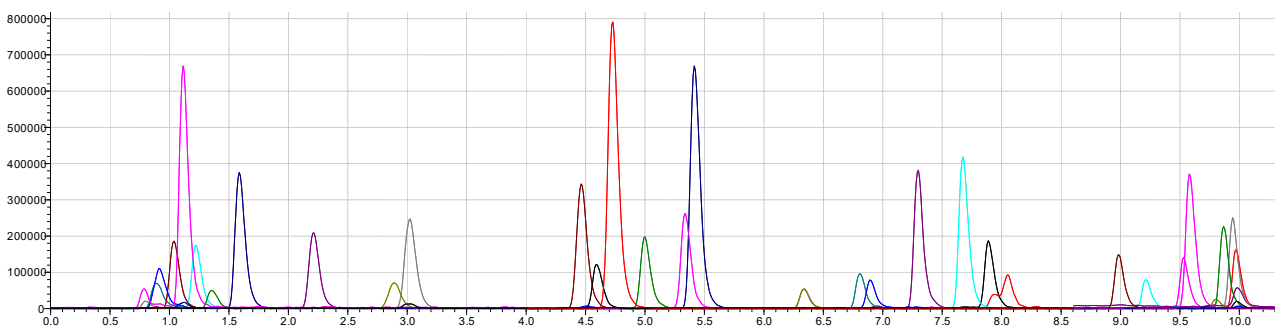


图 2: Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18 分析 30 种农药标准品（以甲胺磷计 0.025 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）的典型谱图

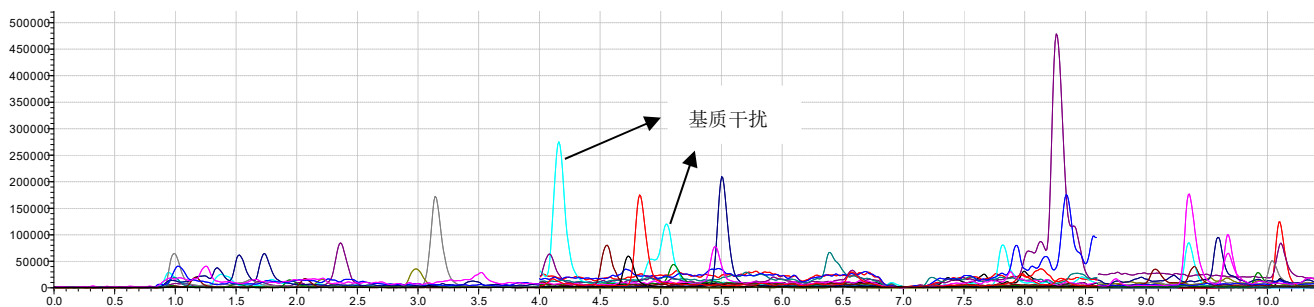


图 3: 花椒空白基质加标的典型谱图（SelectCore HLB 净化）

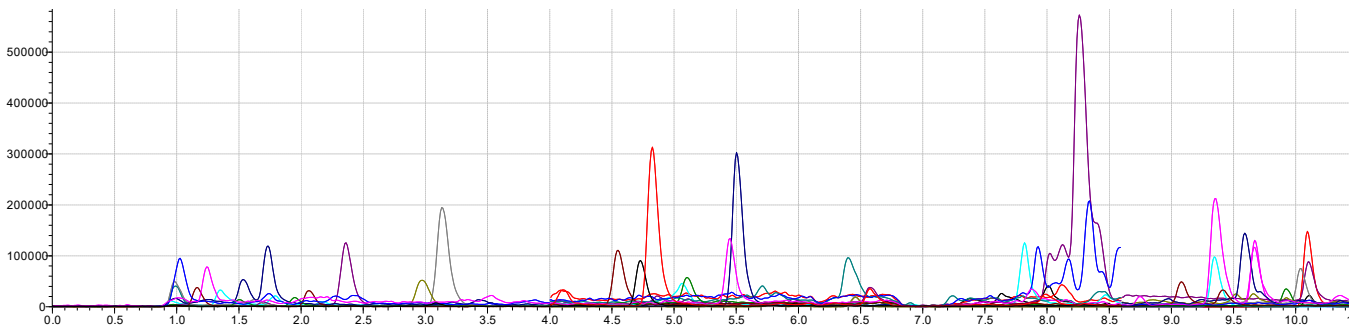


图 4：花椒空白基质加标的典型谱图（SelectCore HLB-A 净化）

从以上花椒空白基质加标 LC/MS/MS 图对比来看，HLB-A 可以有效减弱花椒样品的基质干扰，提高农残成分的灵敏度，让分析检测更为准确。

5 气相色谱-串联质谱法（岛津 GC-MS 8030）

色谱条件

色谱柱：DB-17MS，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 1 min；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 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：146 kPa；

进样量：1 μL。

质谱条件

电离方式：电子轰击电离源（EI）；

电离能量：70 eV；

传输线温度：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：10.0 min。

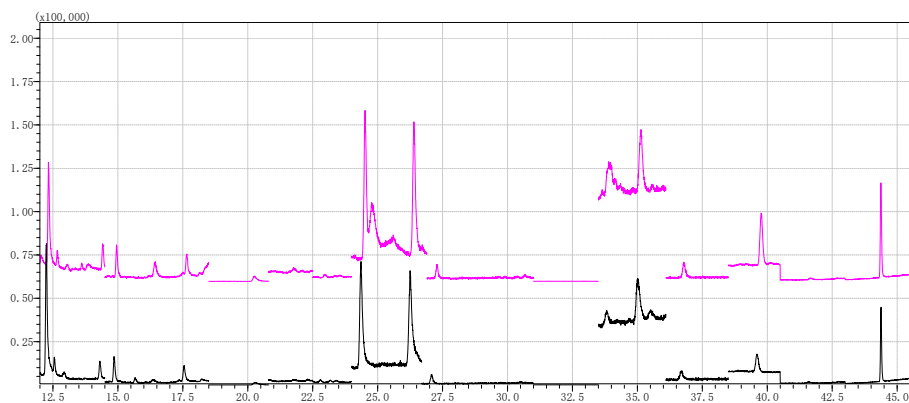


图 5：花椒空白基质加标的典型谱图（SelectCore HLB 净化和 SelectCore HLB-A 净化对比）

从以上花椒基质加标 GC/MS/MS 图对比来看, HLB-A 可以有效减弱花椒样品的基质干扰, 提高农残成分的灵敏度, 让分析检测更为准确。

表 1 花椒中 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	90.6%	地虫硫磷	90.3%	涕灭威砒	97.3%
甲基对硫磷	77.3%	硫线磷	91.5%	涕灭威亚砒	98.5%
对硫磷	101.8%	蝇毒磷	90.5%	灭线磷	90.3%
久效磷	96.4%	治螟磷	97.4%	氯唑磷	88.2%
磷胺	92.0%	特丁硫磷	92.8%	水胺硫磷	77.3%
α -六六六	88.4%	特丁硫磷砒	102.9%	α -硫丹	69.8%
β -六六六	90.1%	特丁硫磷亚砒	106.7%	β -硫丹	86.4%
γ -六六六	87.1%	甲基硫环磷	91.3%	硫丹硫酸酯	84.6%
δ -六六六	72.6%	甲磺隆	88.0%	氟虫腈	92.6%
2,4'-滴滴涕	61.8%	氯磺隆	81.8%	氟虫腈砒	89.0%
4,4'-滴滴涕	69.6%	胺苯磺隆	85.0%	氟虫腈亚砒	86.0%
4,4'-滴滴涕	61.1%	甲拌磷	95.2%	氟甲腈	104.8%
4,4'-滴滴伊	77.2%	甲拌磷砒	118.9%	o,p'-三氯杀螨醇	72.7%
杀虫脒	88.0%	甲拌磷亚砒	103.1%	p,p'-三氯杀螨醇	65.4%
除草醚	84.2%	甲基异柳磷	95.9%	硫环磷	94.3%
艾氏剂	72.8%	内吸磷-O	84.5%	注: 磺隆类、三氯杀螨醇农残用 3mL 供试品溶液净化时, 回收率偏低, 可以另取 5mL 供试品溶液净化, 回收率可以满足药典要求。	
狄氏剂	66.2%	内吸磷-S	92.1%		
苯线磷	100.0%	克百威	98.3%		
苯线磷砒	77.4%	3-羟基克百威	104.8%		
苯线磷亚砒	96.3%	涕灭威	76.7%		

6 处理后溶液的颜色比对



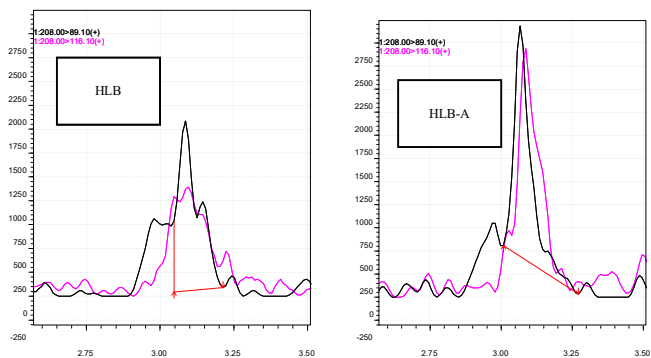
花椒提取液过 HLB-A 柱

花椒提取液过 HLB 柱

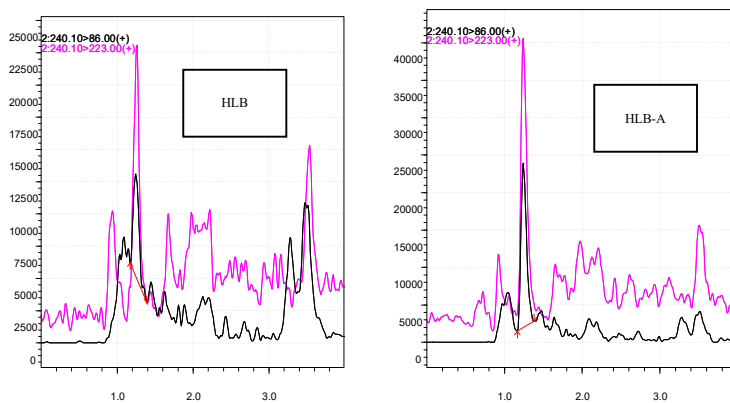
由上图可以看出, 花椒提取液经过 SelectCore HLB-A 中药农残专用柱净化后样品颜色澄清透明, 而常规 HLB 柱净化后样品颜色较深。

7 花椒过 HLB 与 HLB-A SPE 柱的部分农残基质响应的区别

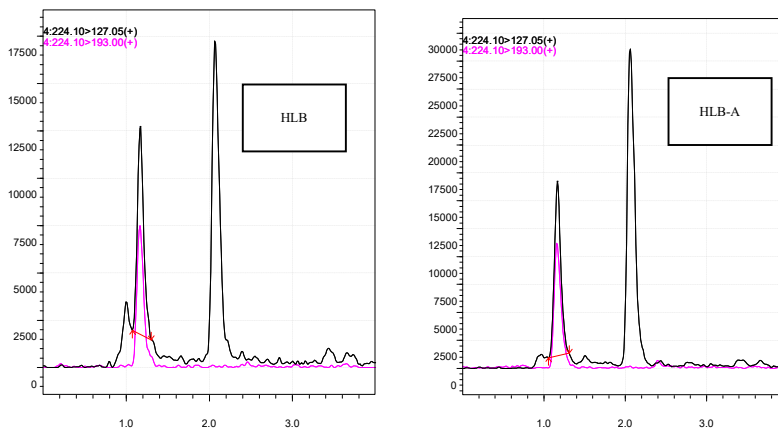
涕灭威



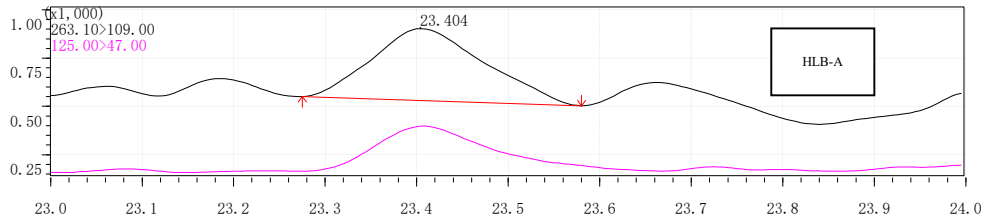
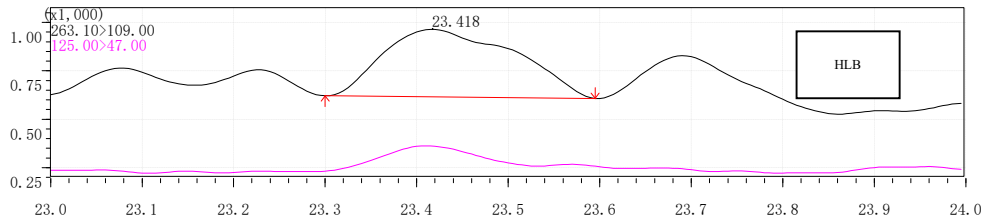
涕灭威砒



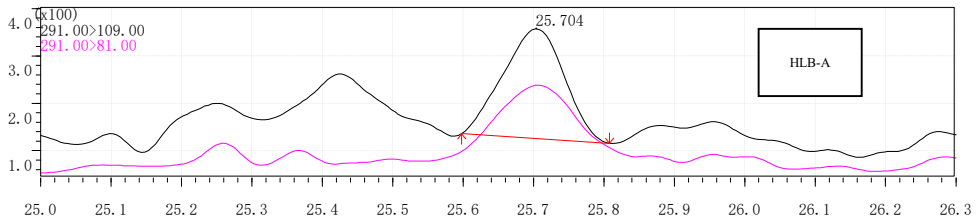
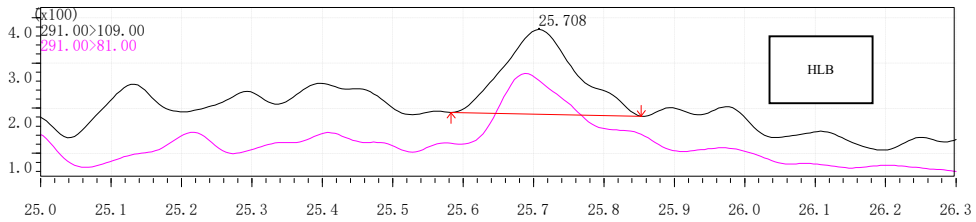
久效磷



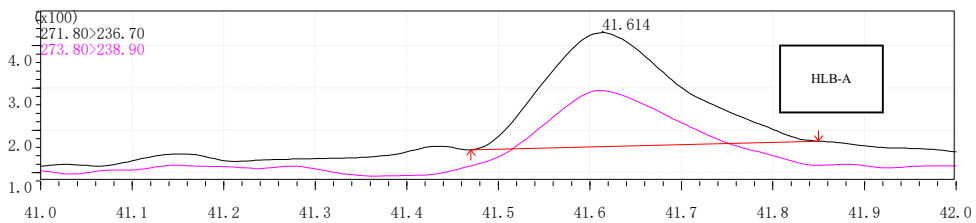
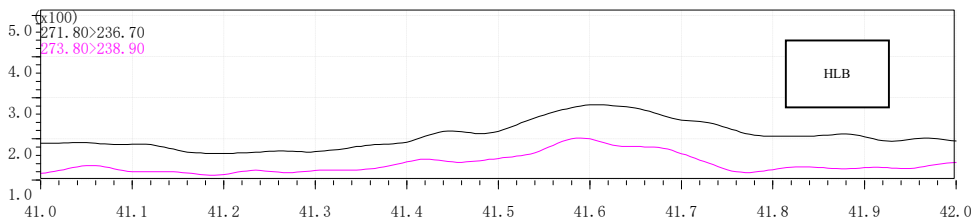
甲基对硫磷



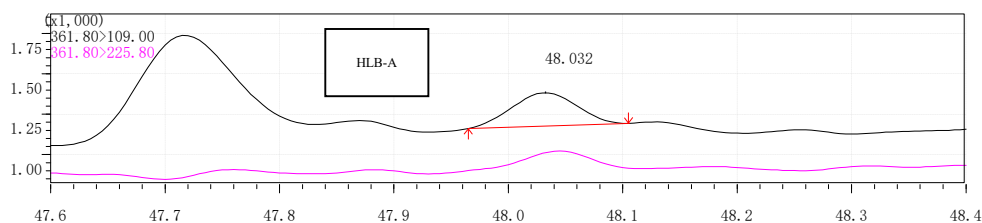
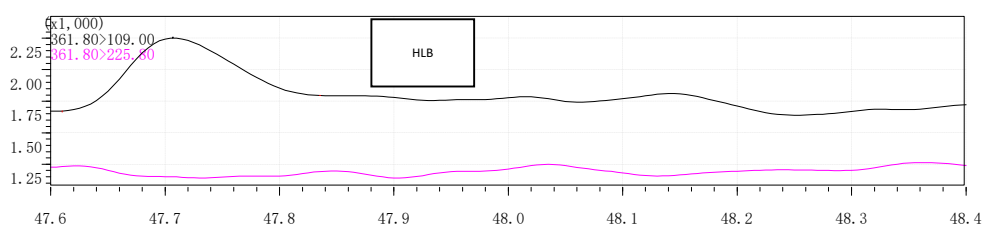
对硫磷



硫丹硫酸酯



蝇毒磷



8 实验讨论

通过以上实验数据比对，可以看出，SelectCore HLB-A 中药农残专用固相萃取柱，针对花椒的挥发性成分和色素成分去除效果良好，这样，不仅保护了分析柱和离子源，还极大的消除了由于基质效应带来的检测灵敏度下降等问题。该方法不需要固相萃取柱活化步骤，提取液直接过柱就可以测定，其中普遍反映存在较大基质抑制效应的甲基对硫磷、对硫磷、硫丹硫酸酯、蝇毒磷等农残，回收率都得以保证，而针对磺隆类、三氯杀螨醇类农残用 3 mL 花椒供试品溶液净化时，回收率偏低，可以另取 5 mL 供试品溶液净化，回收率可以满足药典要求。并且，ChromCore C18-MS Pesticides 中药农残专用柱(2.1 ×100 mm, 2.6 μm)针对中药农残各组分的峰型对称，灵敏度、柱效与其他知名品牌分析柱一样，保证了检测结果的准确性。