

解决方案

枸杞中33种禁用农药及其单体残留量的测定

关键字

中国药典；高效液相色谱-串联质谱；气相色谱-串联质谱；农药残留；QuEChERS

介绍

枸杞，又称枸杞子、红耳坠，是茄科小灌木枸杞的成熟子实。枸杞子药食同源的历史悠久，是驰名中外的名贵中药材，早在《神农本草经》中就被列为上品，称其为“久服轻身不老、耐寒暑”；有延衰抗老的功效，又名“却老子”。枸杞子中含有多种氨基酸，并含有甜菜碱、玉蜀黍黄素、酸浆果红素等特殊营养成分，使其具有非常好的保健功效。随着大家对枸杞营养价值的认识，养生群体越来越大，对枸杞的需求日渐增多，枸杞中的农药残留也越来越收到大家的关注。本文依据2020版《中国药典》2341通则农药残留量测定法新增第五法《药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法》中的快速样品处理法（QuEChERS），建立了枸杞中33种禁用农药及其单体残留量的测定方法，保证了枸杞食用的安全性。

枸杞试样用1%的冰醋酸水溶液进行浸泡使其充分浸湿，再用乙腈进行提取，以无水硫酸镁、N-丙基乙二胺、十八烷基硅烷键合硅胶、硅胶、石墨化碳黑的混合粉末进行分散式固相萃取净化，最后用EVA-20Plus全自动氮吹仪对提取液进行浓缩。实验结果表明，33种禁用农药在20-200ppb内线性关系良好，相关系数（ $R^2 > 0.990$ ）。除了杀虫脒和氟虫腈砷之外，其他化合物的回收率均在70-120%之间，RSD在15%以内。该方法简单、快速、高效，且准确度和精密度均符合农药多残留的检测要求，可用于枸杞中多农残的快速筛查和测定。

1. 仪器与试剂

仪器

Raykol EVA-20Plus 睿科全自动平行浓缩仪	涡旋仪
Agilent 1290+6470 高效液相色谱/质谱联用仪	离心机
Agilent 8890+7000D 气相色谱/质谱联用仪	

试剂

乙腈 (HPLC)、冰醋酸 (AR)、超纯水	GC-MS/MS 法 33 种农药混合标准储备液：
睿科 RayCure QuEChERS 提取盐包 (6g 无水硫酸镁+1.5g 无水醋酸钠, RC-50070)	0.2/0.4/1.0 $\mu\text{g/mL}$
睿科 RayCure QuEChERS 分散式固相萃取净化管 (RC-15030)	LC-MS/MS 法 30 种农药混合标准储备液：
RayCure 陶瓷均质子 (RC-5003C)	0.2/0.4/1.0 $\mu\text{g/mL}$
	GC-MS/MS 法内标使用液：磷酸三苯酯 0.1 $\mu\text{g/mL}$

2. 样品前处理

精密称取枸杞试样 3 g，加入 15mL 1%冰醋酸溶液，涡旋混匀并震荡 2 min，静置 30 min，精密加入乙腈 15 mL，涡旋混匀并震荡 5 min，加入睿科 RayCure 系列提取盐包和一颗陶瓷均质子，立即摇散，震荡 1 min 后置于冰水浴中 10 min。4000 r/min 离心 5 min，取上清液 9 mL 置于净化管中，涡旋使充分混匀，并震荡 5 min 使净化完全，将净

化管 4000 r/min 离心 5 min，精密吸取上清液 5 mL 转移至 20 mL 玻璃试管中，使用睿科 Raykol EVA-20Plus 全自动平行浓缩仪氮吹至约 0.4mL 后取出，加乙腈稀释定容至 1 mL，LC-MS/MS 加 0.3 mL 水，GC-MS/MS 加 0.3 mL 磷酸三苯酯，涡旋混匀，过滤膜上机。



图 1 AutoEVA-20Plus 全自动平行浓缩仪氮吹浓缩条件

3. 检测条件

气相色谱质谱联用条件

采用 SCAN 全扫描模式进行定性分析，MRM 多反应检测模式进行定量分析。

GC-MS/MS 检测条件：进样口温度 280 °C，不分流进样，隔垫吹扫流量为 3 mL/min，进样量 1.0

μL ；载气为高纯 He 气，恒流模式，流速为 1.0 mL/min；电子轰击电离源(EI)，离子源温度 280 °C，传输线温度 280 °C。色谱柱为 Agilent CP9151 VF-1701MS (30 m x 250 μm x 0.25 μm)。

GC 程序升温程序: 初始温度 40℃, 保持 1 min; 温至 240 ℃, 以 12 ℃/min 升温至 300℃, 保持 4 以 40 ℃/min 速度升温至 120 ℃; 以 5 ℃/min 升 min。

MRM 参数

表-1 各农药的保留时间、监测离子对及碰撞电压

编号	名称	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	CE (V)
1	灭线磷	15.99	199.7	157.8	5.0
			199.7	114.0	5.0
			157.8	96.7	20.0
			157.8	113.8	15.0
2	杀虫脒	16.51	152.0	117.0	15.0
			196.0	181.0	5.0
			260.0	75.0	5.0
3	甲拌磷	17.01	230.8	175.0	10.0
			230.8	128.6	25.0
4	α-BHC	17.64	181.0	145.0	15.0
	γ-BHC	19.29	218.7	182.9	5.0
	β-BHC	22.34	218.9	147.0	10.0
	δ-BHC	23.21	218.9	111.0	10.0
5	氟虫腈	29.29	367.0	213.0	35
			367.0	255.0	25
			367.0	332.0	15
			351.0	255.0	20
6	氟甲腈	27.13	388.0	333.0	20
			388.0	281.0	35
7	氟虫腈亚砷	29.02	420.0	351.0	12
			420.0	255.0	20
8	氟虫腈砷	31.92	383.0	255.0	20
			383.0	213.0	32
			452.0	383.0	8
9	艾氏剂	21.15	262.7	192.7	30
			255.0	220.0	20
			262.7	202.7	20
10	狄氏剂	26.19	276.8	240.7	10
			276.8	169.7	35
			276.8	172.0	35
			263.0	193.0	35
11	α-硫丹	24.81	240.8	205.6	15
			240.8	170.0	25
			194.8	159.0	10
12	β-硫丹	28.53	194.8	159.0	10
			194.8	124.7	30
			206.8	171.8	15
13	硫丹硫酸酯	30.38	271.8	236.7	15
			273.8	238.9	15

			271.8	141.0	40
			271.8	117.0	40
14	4, 4'-滴滴伊	25.71	246.0	176.0	30
			246.0	220.0	15
			246.0	210.0	28
			316.0	246.0	25
15	2, 4'-滴滴涕	27.31	235.0	165.0	25
			237.0	165.0	25
			235.0	199.0	15
			246.0	176.0	15
16	4, 4'-滴滴滴	28.43	235.0	165.0	25
			237.0	165.0	25
			235.0	199.0	18
17	4, 4'-滴滴涕	28.89	235.0	165.0	25
			237.0	165.0	25
			235.0	199.0	18
18	内吸磷	15.39	88.0	60.0	4
			88.0	59.0	20
			88.0	45.0	25
19	久效磷	20.86	127.0	109.0	12
			127.0	95.0	16
			127.0	79.0	20
20	特丁硫磷	18.56	230.8	129.0	25
			230.8	203.0	5
			230.8	175.0	13
21	甲基对硫磷	22.95	263.1	109.0	13
			263.1	79.0	35
			263.1	136.0	5
22	对硫磷	24.44	291.0	109.0	25
			291.0	81.0	30
			139.0	109.0	10
23	三氯杀螨醇	23.31	250.0	139.0	15
			250.0	215.0	5
			139.0	111.0	15
24	甲基异硫磷	24.51	241.0	199.0	5
			241.0	166.7	10
			241.0	120.8	20
25	水胺硫磷	25.05	135.7	108.0	15
			120.7	65.0	20
			229.7	211.7	10
			121.0	93.0	15
26	甲基硫环磷	26.62	227.0	92.0	10
			227.0	60.0	30
			227.0	167.8	10
			168.0	109.0	15
27	除草醚	28.20	201.8	138.7	28

			282.8	201.8	15
			282.8	253.0	10
28	蝇毒磷	33.92	361.8	109.0	16
			361.8	225.8	14
29	苯线磷	27.32	326.0	233	10
			326.0	215	25
			326.0	169	30
30	治螟磷	17.14	322.0	202.0	20
			322.0	294.0	10
			322.0	174.0	15

气质联用色谱图

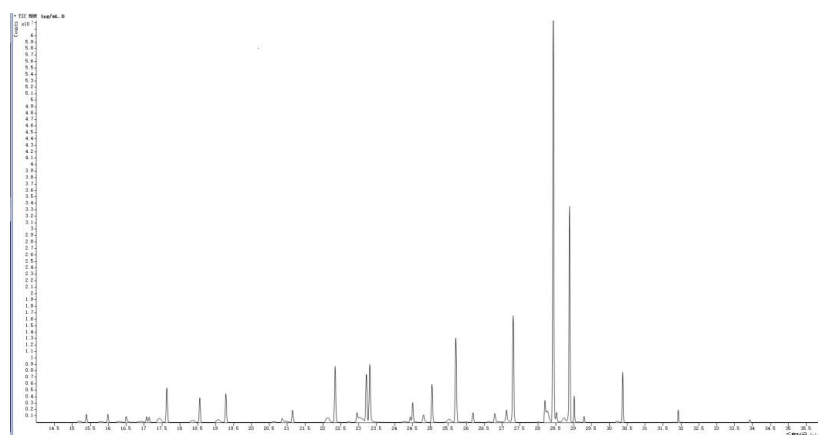


图-2 33 种禁用农药标准品的总离子流图 (1 µg/mL)

高效液相色谱质谱联用条件

柱子	ACQUITY UPLC BEH C ₁₈ (100 mm×2.1 mm×1.7 µm)
流速	0.30 mL/min
流动相	A: 5 mmol/L 乙酸铵溶液 (含 0.1% 甲酸), B: 乙腈
柱温	35° C
进样量	2 µL
检测器	Agilent 6470
离子模式	ESI ⁺
吹扫气	8 L/min
氮气温度	330 °C
簇电压	3500
雾化压力	45 psi
梯度洗脱	0.0-4.0 min, 5-15%流动相 B; 4.0-14.0 min, 15-100%流动相 B; 14.0-15.0 min, 100-5%流动相 B; 15.0-17.0 min, 5-5%流动相 B。

MRM 参数

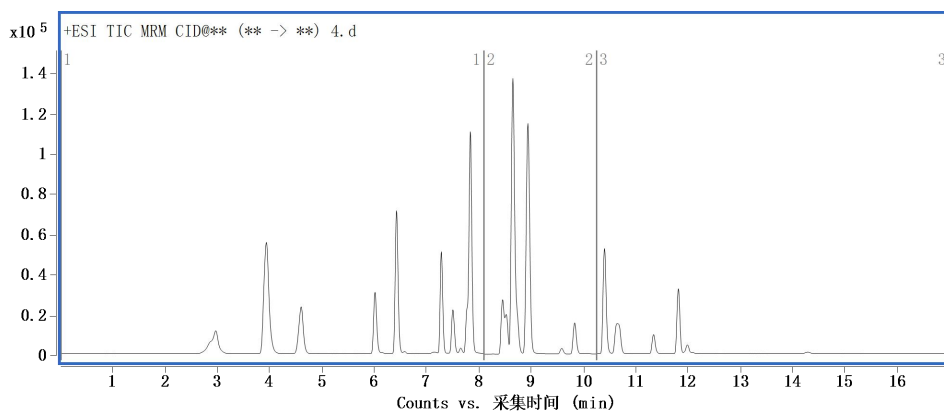
表-2 各农药的保留时间、监测离子对及碰撞电压

编号	名称	保留时间(min)	母离子(m/z)	子离子(m/z)	CE(V)
----	----	-----------	----------	----------	-------

1	涕灭威亚砷	2.93	207.1	132.4	5
			207.1	89.2	13
2	涕灭威砷	3.90	240.0	223.0	5
			240.0	86.0	21
3	久效磷	4.58	224.1	193.1	5
			224.1	127.1	13
4	杀虫脒	6.01	197.2	152.1	21
			197.2	117.2	33
			197.2	46.2	25
5	3-羟基克百威	6.42	238.1	220.2	5
			238.1	181.1	9
			238.1	163.2	13
6	硫环磷	7.28	256.0	168.1	17
			256.0	140.1	25
7	涕灭威	7.65	208.1	116.2	5
			208.1	89.2	13
8	苯线磷亚砷	7.77	320.0	292.1	13
			320.0	233.2	25
			320.0	171.3	25
9	甲拌磷砷	7.78	293.0	247.1	13
			293.0	171.0	25
			293.0	115.1	53
10	磷胺	7.83	300.0	174.1	13
			300.0	127.1	21
11	甲磺隆	8.45	382.0	199.2	21
			382.0	167.3	17
12	苯线磷砷	8.52	336.0	266.2	21
			336.0	188.3	29
13	克百威	8.65	222.0	165.2	9
			222.0	123.2	25
14	氯磺隆	8.72	358.0	167.3	17
			358.0	141.3	17
15	胺苯磺隆	8.92	411.1	196.3	17
			411.1	168.3	33
16	甲拌磷亚砷	8.94	277.0	199.0	5
			277.0	171.1	13
			277.0	143.0	21
			277.0	97.1	41
17	内吸磷	9.58	259.1	89.2	5
			259.1	61.1	41
18	特丁硫磷亚砷	9.83	305.1	187.2	9
			305.1	97.0	49
19	水胺硫磷	9.98	312.0	270.2	13
			312.0	236.2	13

20	苯线磷	10.40	304.0	234.3	17
			304.0	217.2	25
			304.0	202.0	41
21	灭线磷	10.63	243.2	131.1	21
			243.2	97.0	37
22	特丁硫磷	10.68	321.1	171.2	9
			321.1	97.0	53
23	氯唑磷	11.34	314.0	162.3	17
			314.0	120.2	29
24	硫线磷	11.81	271.1	159.2	13
			271.1	131.1	25
			271.1	97.1	45
25	蝇毒磷	11.81	363.0	307.1	17
			363.0	227.2	29
26	甲基异柳磷	11.85	332.2	273.1	5
			332.2	231.2	21
27	地虫硫磷	11.95	247.0	137.1	9
			247.0	109.1	17
28	治螟磷	11.99	323.0	171.2	13
			323.0	115.0	33
			323.0	97.1	53
29	甲拌磷	12.08	260.9	75.1	5
			260.9	47.0	45
30	甲胺磷	14.25	142.1	125.1	9
			142.1	94.1	37

液质联用色谱图

图-3.30 种禁用农药标准品的总离子流图 (1 $\mu\text{g/mL}$)

4. 样品测试

提取液净化

枸杞基质较为复杂，含有大量的糖类、蛋白质和色素，所以共萃取物较多。一方面基质残留会使

得目标化合物的响应被抑制或者增强，而农药是容易受到基质影响的分析物；另一方面杂质会在色谱

柱中积聚，也会缩短色谱柱的寿命。本实验采用睿科的RayCure分散式固相萃取净化管对提取液进行净化，提高色谱柱的寿命。该净化柱的填料为复合填料，由无水硫酸镁、N-丙基乙二胺、十八烷基硅烷键合硅胶、硅胶、石墨化碳黑混合。其中，无水MgSO₄起到吸收水分的作用，以保证上气质前样品不

含水分；C₁₈可以去除样品基质中的脂肪和脂类等非极性干扰物；PSA可以去除糖类、脂肪酸、有机酸和酚类等干扰物质；GCB可以去除色素和甾醇。如图-4所示，提取液为黄色，经过化后提取液几乎为无色透明的溶液，说明该枸杞提取液被充分净化。



图-4 RayCure™ QuEChERS 分散式固相萃取净化管净化效果

基质加标回收实验

在枸杞样品中添加浓度为 40 μg/kg 的 33 种农药（GC-MS/MS）和 20 μg/kg 的 30 种农药（LC-MS/MS）进行加标回收验证，使用上述样品前处理方法，平均回收率和 RSD 结果如下所示。

表-3 GC-MS/MS 法 33 种化合物的平均回收率和相对标准偏差 (n=3)

化合物名称	回收率 (%)			平均回收率 (%)	RSD 值 (%)
	加标 1	加标 2	加标 3		
BHC-alpha	95.90	90.41	86.92	91.08	4.97
甲拌磷	91.41	94.32	90.74	92.16	2.07
灭线磷	92.95	89.13	82.13	88.07	6.23
内吸磷	96.91	107.74	97.45	100.70	6.06
杀虫脒	60.35	50.38	55.15	55.29	9.02
治螟磷	108.47	113.42	105.54	109.14	3.65
BHC-gamma	93.99	90.71	86.75	90.48	4.01
特丁硫磷	79.66	75.31	76.97	77.31	2.84
艾氏剂	83.53	82.72	81.61	82.62	1.17
久效磷	100.24	97.76	99.79	99.26	1.33
BHC-beta	86.75	93.29	90.71	90.25	3.65
BHC-delta	99.14	95.20	93.73	96.02	2.91
甲基对硫磷	100.21	93.34	86.01	93.19	7.62
三氯杀螨醇	91.14	89.13	81.58	87.28	5.77
alpha-硫丹	92.28	91.35	85.12	89.58	4.34
对硫磷	96.84	89.85	98.94	95.21	5.00
甲基异柳磷	102.22	99.02	87.51	96.25	8.04
水胺硫磷	103.63	103.00	92.53	99.72	6.25

4,4'-滴滴伊	80.83	79.84	74.93	78.53	4.02
狄氏剂	89.56	81.99	84.50	85.35	4.52
甲基硫环磷	101.13	96.27	80.54	92.65	11.61
2,4'-滴滴涕	86.40	86.75	80.50	84.55	4.15
苯线磷	93.58	94.84	82.29	90.24	7.66
氟甲腈	101.21	98.69	96.35	98.75	2.46
4,4'-滴滴滴	80.09	82.07	76.32	79.49	3.68
4,4'-滴滴涕	93.31	92.08	89.03	91.47	2.41
beta-硫丹	99.78	93.90	100.86	98.18	3.82
除草醚	89.27	87.64	79.57	85.49	6.08
氟虫腈	104.32	104.62	99.87	102.94	2.58
氟虫腈亚砷	101.16	96.20	99.44	98.93	2.55
硫丹硫酸酯	101.31	99.61	100.58	100.50	0.85
氟虫腈砷	63.08	63.52	51.21	59.27	11.79
蝇毒磷	95.90	90.41	86.92	91.08	4.97

表-4 LC-MS/MS 法 30 种化合物的平均回收率和相对标准偏差 (n=3)

化合物名称	回收率 (%)			平均回收率 (%)	RSD 值 (%)
	加标 1	加标 2	加标 3		
3-羟基克百威	106.05	109.12	113.99	109.72	3.65
苯线磷亚砷	98.22	99.23	111.52	102.99	7.19
甲胺磷	82.52	79.51	76.36	79.46	3.88
甲拌磷砷	95.91	82.92	97.99	92.27	8.85
久效磷	97.11	99.33	106.23	100.89	4.71
磷胺	105.14	107.21	111.19	107.85	2.85
硫环磷	102.84	106.27	111.48	106.86	4.07
杀虫脒	53.06	53.05	54.38	53.50	1.44
涕灭威-2	105.06	108.71	119.47	111.08	6.75
涕灭威砷-2	105.14	105.87	111.58	107.53	3.28
涕灭威亚砷	92.51	94.76	107.93	98.40	8.46
胺苯磺隆	83.52	85.73	91.24	86.83	4.58
苯线磷砷	103.81	104.99	112.75	107.18	4.53
甲拌磷亚砷	106.51	109.86	118.13	111.50	5.37
甲磺隆	84.26	85.66	94.24	88.05	6.13
克百威	104.74	107.95	111.78	108.16	3.26
氯磺隆	70.78	72.28	77.00	73.35	4.42
内吸磷	101.28	101.15	85.96	96.13	9.16
水胺硫磷	96.18	110.81	101.21	102.73	7.24
特丁硫磷亚砷	105.13	106.14	111.83	107.70	3.36

苯线磷	102.40	103.15	109.51	105.02	3.72
地虫硫磷	94.75	102.60	102.60	99.98	4.53
甲拌磷	88.13	98.58	92.92	93.21	5.61
甲基异柳磷	94.97	90.20	104.93	96.70	6.23
硫线磷	99.00	103.66	107.07	103.24	3.93
氯唑磷	96.63	101.37	102.69	100.23	3.18
灭线磷	80.23	103.68	91.04	91.65	12.81
特丁硫磷砒	97.56	107.46	116.98	107.33	9.05
蝇毒磷	69.55	74.89	76.01	73.48	4.70
治螟磷	96.52	100.73	101.11	99.45	2.57

5. 总结

样品在加入提取盐包后要立即摇散，否则容易结块。使用陶瓷均质子可以防止萃取盐结块，并能够均匀地分散样品，提高萃取效率，降低人力成本。

加入提取盐包后会放出大量的热，所以振荡后需尽快放入冰水浴中冷却，或者用预冷的乙腈，防

止对热不稳定化合物造成影响。

在氮吹浓缩过程中，温度不能超过 40° C，氮气压力不能过大，浓缩时注意不能吹干，否则将导致部分化合物损失。

6. 解决方案优势

睿科 EVA-20Plus 全自动平行浓缩仪可以实现 30 个样品同时浓缩，极大的提高了浓缩效率，并且仪器可实现针随液面的高度下降，加快浓缩速度，节约氮气成本；人性化的可视化窗口设计可以看到样品浓缩剩余体积，避免吹干。

睿科 RayCure™ QuEChERS 提取盐包和净化管采用进口高品质填料，严格按照药典标准进行等量封装，即拿即用，提取和净化效果优异，可以节约宝贵的人力资源和时间成本。



全自动平行浓缩仪
浓缩



睿科集团股份有限公司
RayKol Group Corp., Ltd.

自动化样品前处理解决方案领先供应商

网址: www.raykol.com

电话: 400-885-1816

邮箱: info@raykol.com



本文中的信息、说明和技术指标如有变更, 恕不另行通知

© 睿科集团股份有限公司

2020 年 7 月版