

实验技术与方法

DOI:10.14188/j.ajsh.2021.04.012

QuEChERS-液相色谱-串联质谱法测定南药高良姜中 31 种农药残留

刘 丹^{1,2}, 舒晓燕¹, 侯倩煜², 朱 虹², 杨美华^{2,3}, 赵祥升^{2*}

(1. 西南科技大学生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621010; 2. 中国医学科学院药用植物研究所海南分所, 海南 海口 570311; 3. 中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100193)

摘要: 高良姜是药食两用资源, 但有关其农药残留的研究较少。通过优化 QuEChERS 前处理方法并结合超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱(UPLC-MS/MS)技术建立了高良姜中 31 种农药残留的测定方法。目标化合物由乙腈提取后在电喷雾电离(ESI)源多反应监测(MRM)正离子模式下检测, 基质匹配外标法进行定量分析。31 种农药在各自的线性范围内呈现良好的线性关系($R^2 > 0.99$), 检出限(LODs)和定量限(LOQs)分别为 0.015~0.08 mg/kg 和 0.05~0.25 mg/kg。在三个添加水平下, 31 种农药的平均加标回收率在 71.52%~116.38%, 相对标准偏差(RSD)为 0.07%~12.87%。24 批高良姜样品共检出了甲基硫菌灵、水胺硫磷、杀虫丹等 5 种农药残留。该方法快速简便、净化效果好, 可应用于高良姜中多农药残留的检测。本研究为高良姜在药食两用方面应用的安全性奠定了数据基础。

关键词: 高良姜; QuEChERS; 超高效液相色谱-串联质谱; 农药残留

中图分类号: R282

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2021)04-0400-08

Determination of 31 pesticide residues in Rhizoma Alpiniae Officinarum by QuEChERS-liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LIU Dan^{1,2}, SHU Xiaoyan¹, HOU Qianyu², ZHU Hong², YANG Meihua^{2,3}, ZHAO Xiangsheng^{2*}

(1. School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, Sichuan, China; 2. Hainan Branch of the Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Haikou 570311, Hainan, China; 3. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: Rhizoma Alpiniae Officinarum is an edible and medicinal plant resource, but there are few studies on its pesticide residues. The aim of this paper is to establish a method for the determination of its 31 pesticide residues by optimized QuEChERS pretreatment combined with ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). The target compounds were extracted with acetonitrile and detected by electrospray ionization (ESI) source in a multiple reaction monitoring (MRM) positive ion mode detection, matrix matching external standard method was used for quantitative analysis. The 31 pesticides showed good linear relationships within their respective linear ranges, with correlation coefficients (R^2) greater than 0.99. The limits of detection and limits of quantifi-

收稿日期: 2021-03-15 修回日期: 2021-07-05 接受日期: 2021-08-07

作者简介: 刘丹(1995-), 女, 硕士生, 研究方向: 食品加工与安全方向。E-mail: 15280986611@163.com

* 通讯联系人: 赵祥升(1982-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 中药质量控制和安全性研究。E-mail: xszhao@imiplad.ac.cn

基金项目: 国家自然科学基金(81603398); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2017-I2M-1-013)

引用格式: 刘丹, 舒晓燕, 侯倩煜, 等. QuEChERS-液相色谱-串联质谱法测定南药高良姜中 31 种农药残留[J]. 生物资源, 2021, 43(4): 400-407.

Liu D, Shu X Y, Hou Q Y, et al. Determination of 31 pesticide residues in Rhizoma Alpiniae Officinarum by QuEChERS-liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Biotic Resources, 2021, 43(4): 400-407.

cation were 0.015~0.08 mg/kg and 0.05~0.25 mg/kg, respectively. The average recoveries of 31 pesticides were 71.52%~116.38% with relative standard deviations (RSDs) of 0.07%~12.87%. A total of 5 pesticide residues were detected in 24 batches of the samples, such as thiophanate-methyl, isocarbophos and ethiofencarb. The method is rapid, simple and effective, and can be used for the determination of multiple pesticide residues in *Rhizoma Alpiniae Officinarum*.

Key words: *Rhizoma Alpiniae Officinarum*; QuEChERS; ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry; pesticide residue

0 引言

高良姜(*Rhizoma Alpiniae Officinarum*)药材是多年生草本植物高良姜(*Alpinia officinarum* Hance)的干燥根茎,主产于海南、广东、广西等地,云南和台湾也有少量栽培和分布。高良姜是一种药食两用资源,在食品中用作香料和抗氧化剂,保持食品新鲜;临床上作为传统中药用于治疗消化不良、胃酸反流、胃溃疡等消化道疾病^[1~5]。现代药理研究表明,高良姜还具有抗癌、抗炎、镇痛、抗氧化等药理作用^[5~8]。目前,从高良姜中分离出的药效成分主要有挥发油、黄酮类及二苯基庚烷类。有学者研究了高良姜油抗胃溃疡的作用和机制,结果表明高良姜油能抑制利血平致胃溃疡小鼠模型胃液量,总酸度及胃蛋白酶活性,其作用机制可能与其抑酸,抗氧化,增强保护因子有关^[9]。研究了不同剂量的高良姜总黄酮对铅中毒小鼠脑、肾脏氧化应激的保护作用,结果表明高良姜总黄酮可通过提高铅中毒小鼠组织中抗氧化酶的活性,改善脂质过氧化,从而发挥其对铅诱导的脑、肾氧化应激的保护效应^[10]。通过研究高良姜不同活性部位对兔离体肠管运动的影响和作用机制,结果发现高良姜提取物中的黄酮类、二苯基庚烷类抑制乙酰胆碱诱导肠管痉挛的效果较好^[11]。

中药材有害残留物的安全性已成为国内外关注的焦点问题。高良姜为多年生植物,其生长的土壤、环境和气候等条件在一定程度上增加了农药残留的风险,但目前关于高良姜中农药残留检测的研究尚未见报道。QuEChERS(quick, easy, cheap, effective, rugged and safe)法是由 Anastassiades、Lehotay、Stajnbaher 和 Schenck^[12]开发的集快速、简单、廉价、有效、坚固和安全为一体的样品前处理方法,该方法采用乙腈对目标物进行纯化,用于分析食品、中药材等基质中的各种残留物。该技术扩大了痕量物质(如:农药)的回收范围,成为了食品、药品中痕量物质分析的样品前处理主流方法。因此,本研究针对使用广泛及常检出的涕灭威、甲胺磷、氧化乐果、涕灭威砒、

乐果、烯酰吗啉等31种农药^[13],通过优化 QuEChERS 前处理方法,建立高良姜中31种农药多残留检测的 UPLC-MS/MS 检测方法,并对该方法的精密度、准确性、定量限、基质效应和回收率进行验证。该方法简单快速,灵敏度高,可以用于高良姜中多农药残留的筛查与确证,以期为保障高良姜资源在药食两用方面的应用安全性提供科学的数据基础。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与材料

① Waters超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪(美国waters公司);VORTE-6涡旋混匀仪(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);TGL-16B高速离心机、TGL-21B低温高速离心机(上海安亭科学仪器厂);LE203E电子天平、XS105DU型1/10万电子天平(梅特勒-托利多(上海)有限公司);Milli-Q纯水仪(美国Milford公司);0.22 μm PTFE微孔滤膜(天津博纳艾杰尔生物科技有限公司)。

② 色谱纯甲醇、乙腈、丙酮、乙酸铵购自赛默飞世尔科学公司;无水硫酸镁(MgSO₄)和氯化钠(NaCl)购自西陇科学股份有限公司;超纯水由 Milli-Q 纯水仪制备;石墨化炭黑(GCB,120~400 mesh)、N-丙基乙二胺(PSA,40~63 nm)和十八烷基硅烷键合硅胶(C₁₈,40~63 nm)购自天津艾杰尔科技有限公司。

③ 31种农药对照品:乙酰甲胺磷,西维因,百治磷,乐果,烯酰吗啉Ⅰ,烯酰吗啉Ⅱ,甲胺磷,速灭磷Ⅰ,速灭磷Ⅱ,氧化乐果,双硫磷,敌百虫,蚜减多,棉铃威,涕灭威,涕灭威砒,涕灭威亚砒,丙硫克百威,丁酮威,丁酮砒威,杀虫丹,呋线威,噻唑隆,灭虫威,灭多虫,草酰胺,丁噻隆,噻苯隆,甲基硫菌灵购自农业部环保所,纯度均高于99%。根据标准品的溶解度选用甲醇、乙腈或丙酮等溶液配制成浓度为10 mg/L的单个农药标准储备液,再移取适量单标溶液,用甲醇配制成浓度为2 mg/L混合标准品溶液(-20℃避光保存)。

④ 高良姜样品购自海南、广东、广西、云南等省

的药店或市场,所有样品均经中国医学科学院药用植物研究所赵祥升副研究员鉴定为高良姜的干燥根茎。所有样品粉碎,过100目充分混匀,装入聚乙烯塑料袋放于-20℃的冰箱中保存。

1.2 标准溶液的配制

精密吸取农药混合标准品溶液,用空白基质溶液将混合标准品稀释成系列标准品溶液,0.22 μm微孔滤膜过滤,于4℃保存备用。

1.3 样品前处理

精密称取2 g高良姜粉末于50 mL离心管中,加入10 mL水,浸泡20 min,再加入10 mL乙腈,涡旋2 min,然后加入4.0 g无水MgSO₄,1.0 g NaCl,涡旋振荡1 min,10 000 r/min离心10 min,取1 mL上清液置于装有50 mg C₁₈,50 mg PSA,100 mg MgSO₄的离心管中,涡旋混匀1 min,13 000 r/min离心10 min,上清液过0.22 μm滤膜,供UPLC-MS/MS检测。

1.4 UPLC-MS/MS条件

① 色谱条件。色谱柱:ACQUITY BEH C₁₈(100 mm×2.1 mm,1.7 μm,Waters公司);柱温:45℃;流动相A:10 mmol/L乙酸铵甲醇溶液(pH=5),流动相B:10 mmol/L乙酸铵溶液(pH=5),梯度洗脱程序:0 min:2%A;0.25 min:2%A;12.25 min:99%A;13 min:99%A;13.01 min:2%A;17 min:2%A;流速:0.3 mL/min,进样量:5 μL。

② 质谱条件。离子源为电喷雾电离(ESI)源,多反应监测(MRM)正离子模式;毛细管电压:3.5 kV,离子源温度:150℃,脱溶剂气体温度:500℃,脱溶剂气体流速1 000 L/h。31种农药的保留时间、监测离子、锥孔电压、碰撞电压见表1。使用MassLynx 4.1软件进行数据采集和处理。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件优化

目标化合物属于有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂,化学结构差异较大,且存在同分异构体,对色谱分离条件要求较高。本实验通过色谱柱的优化,目标化合物在ACQUITY BEH C₁₈(100 mm×2.1 mm,1.7 μm)色谱柱上有较好的分离,故选择该色谱柱。实验中比较了甲醇-5 mmol/L乙酸铵水溶液(pH=5)、甲醇-10 mmol/L乙酸铵水溶液(pH=5)、5 mmol/L乙酸铵甲醇溶液(pH=5)-5 mmol/L乙酸铵水溶液(pH=5)、10 mmol/L乙酸铵甲醇溶液(pH=5)-10 mmol/L乙酸铵水溶液(pH=5)等不同流动相的洗脱效果,发现乙酸铵浓度和pH值对目标物的

分离度和响应都有显著的影响,当10 mmol/L乙酸铵甲醇溶液(pH=5)-10 mmol/L乙酸铵溶液(pH=5)作为流动相时,目标化合物的分离度高,峰型好,响应好,见图1。因此,本实验选择10 mmol/L乙酸铵甲醇溶液(pH=5)-10 mmol/L乙酸铵溶液(pH=5)作为流动相进行梯度洗脱。

2.2 质谱条件优化

在电喷雾离子源正负离子模式下,先对各个目标农药的单标溶液(1 mg/L)进行全扫描,获得稳定的母离子,并优化锥孔电压,然后单离子检测扫描(single ion monitoring, SIM)模式优化碰撞电压,再进行子离子扫描,每个化合物选用2对响应值高的特征离子对作为定量、定性离子对,进一步优化碰撞能,优化结果见表1。

2.3 QuEChERS方法优化

QuEChERS法在农、兽药残留及真菌毒素等外源污染物的痕量分析检测中得到了广泛的应用^[14~16]。高良姜成分复杂,在实际样品检测中,共提取物会污染系统的色谱柱和离子源等,并降低仪器的检测分析灵敏度和使用寿命。因此,本实验对QuEChERS法进行了优化。

甲醇和乙腈是QuEChERS样品前处理时常用的提取溶剂,与甲醇相比,乙腈具有较宽的溶解度与极性分布范围,以及良好的色谱兼容性,在农药残留分析中常被作为提取溶剂。提取过程中,随着乙腈用量的增大,提取效率逐渐增加,然而,当乙腈的用量超过10 mL时,提取效率的增加并不明显^[17]。因此,本实验选择乙腈用量为10 mL。

高良姜所含化学成分复杂,主要有挥发油类、黄酮类、二苯基庚烷类和糖苷类^[4,18],为了有效去除这些杂质,本实验考察了四种不同的净化剂组合的净化效果,结果见图2。由图2可看出,单独使用PSA(100 mg)作为净化剂时,棉铃威和甲基硫菌灵的回收率分别为44.51%和38.22%;而单独使用C₁₈(100 mg)作为净化剂时,甲基硫菌灵的回收率为45.95%,甲胺磷,速灭磷Ⅰ,速灭磷Ⅱ,久效磷,氧化乐果等的回收率均高于120%;单独使用GCB(100 mg)作为净化剂时,仅有一半目标农药的回收率在60%~120%范围间,说明GCB对部分目标农药有较强的吸附性;而当PSA(50 mg)和C₁₈(50 mg)组合作为净化剂时,31种农药的回收率在80%~120%范围之内,满足农残检测的要求。因此,本实验选择50 mg PSA和50 mg C₁₈作为净化剂。

2.4 基质效应

基质效应是由于共萃取化合物在LC-MS/MS

表 1 31 种农药的保留时间和质谱参数
Table 1 Retention time and mass spectrum parameters of 31 pesticides

化合物名称	分子式	离子模式	保留时间/min	母离子(m/z)	锥孔电 压/V	定量离子 (m/z)	碰撞能/ eV	定性离子 (m/z)	碰撞能/ eV
乙酰甲胺磷	C ₄ H ₁₀ NO ₃ PS	ESI ⁺	3.87	184.1	20	49	20	143	10
西维因	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	ESI ⁺	8.52	202	20	145	10	117	25
百治磷	C ₈ H ₁₆ NO ₅ P	ESI ⁺	5.8	238	25	112	10	193	10
乐果	C ₅ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	ESI ⁺	6.28	230.1	20	125	10	199	20
烯酰吗啉 I	C ₂₁ H ₂₂ ClNO ₄	ESI ⁺	10.06	388.11	45	300.9	20	165	30
烯酰吗啉 II	C ₂₁ H ₂₂ ClNO ₄	ESI ⁺	10.35	388.1	45	300.9	20	165	30
水胺硫磷	C ₁₁ H ₁₆ NO ₄ PS	ESI ⁺	9.38	291.1	20	121.1	30	231.1	15
甲胺磷	C ₂ H ₈ NO ₂ PS	ESI ⁺	3.09	142	30	93.9	15	124.9	15
速灭磷 I	C ₇ H ₁₃ O ₆ P	ESI ⁺	7.03	225.1	20	127.1	15	193.1	10
速灭磷 II	C ₇ H ₁₃ O ₆ P	ESI ⁺	7.04	225.11	25	127.1	15	193.1	5
久效磷	C ₇ H ₁₄ NO ₅ P	ESI ⁺	5.43	224.1	25	127.1	15	98.1	10
氧化乐果	C ₅ H ₁₂ NO ₄ PS	ESI ⁺	4.24	214.1	25	125.1	20	183.1	10
双硫磷	C ₁₆ H ₂₀ O ₆ P ₂ S ₃	ESI ⁺	12.24	466.8	40	125	30	418.9	20
敌百虫	C ₄ H ₈ Cl ₃ O ₄ P	ESI ⁺	6.28	257	35	109	15	79	30
蚜减多	C ₈ H ₁₈ NO ₄ PS ₂	ESI ⁺	6.36	288	20	146	10	118	25
棉铃威	C ₁₇ H ₂₅ N ₃ O ₄ S ₂	ESI ⁺	11.17	400.1	15	238.1	14	90.9	4
涕灭威	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	ESI ⁺	7.3	213.1	30	89.1	20	116.1	10
涕灭威砒	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	ESI ⁺	4.56	223	30	86	15	148	10
涕灭威亚砒	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₃ S	ESI ⁺	4.32	207	20	89	15	132	5
丙硫克百威	C ₂₀ H ₃₀ N ₂ O ₅ S	ESI ⁺	12.05	411.2	15	252.1	13	190	23
丁酮威	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	ESI ⁺	7.16	213	25	75	15	116	10
丁酮砒威	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	ESI ⁺	4.49	223	25	106	10	166	5
杀虫丹	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ S	ESI ⁺	8.72	226.1	20	107	15	164	10
呋线威	C ₁₈ H ₂₆ N ₂ O ₅ S	ESI ⁺	12.18	383.2	25	194.9	15	252	10
噻唑隆	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ OS	ESI ⁺	9.05	222	30	165	15	150	30
灭虫威	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ S	ESI ⁺	10.01	226	25	169	10	121	20
灭多虫	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₂ S	ESI ⁺	4.91	163	15	88	10	106	10
草酰胺	C ₂ H ₄ N ₄ O ₄	ESI ⁺	4.69	237	15	72	10	90	10
丁噻隆	C ₉ H ₁₆ N ₄ OS	ESI ⁺	8.3	229	35	172	15	116	25
噻苯隆	C ₉ H ₈ N ₄ OS	ESI ⁺	8.04	221	30	101.9	15	93.9	15
甲基硫菌灵	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S ₂	ESI ⁺	8.06	343	25	151	20	93	35

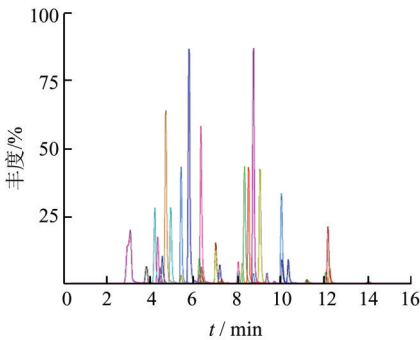


图 1 31 种农药在空白基质中的总离子流色谱图
Fig. 1 The MRM chromatogram of 31 pesticides in blank matrix

分析中对电喷雾界面的电离效率产生的影响,这种影响表现为离子增强或抑制,影响结果的准确性。本研究以各目标化合物在空白基质和纯溶剂中平均峰面积的比值对每个目标化合物进行了基质效应评价。基质效应的可接受范围为 80%~120%,在此范围内,基质效应可以忽略。低于 80% 的值为明显的离子抑制效应,高于 120% 的值为明显的离子增强效应。31 种农药的平均基质效应在 78.77%~115.84%(见表 2),除烯酰吗啉 I 具有弱基质抑制效应外,其余 30 种农药的基质效应均在 80%~120% 的可接受范围内,无明显的基质效应,但为了

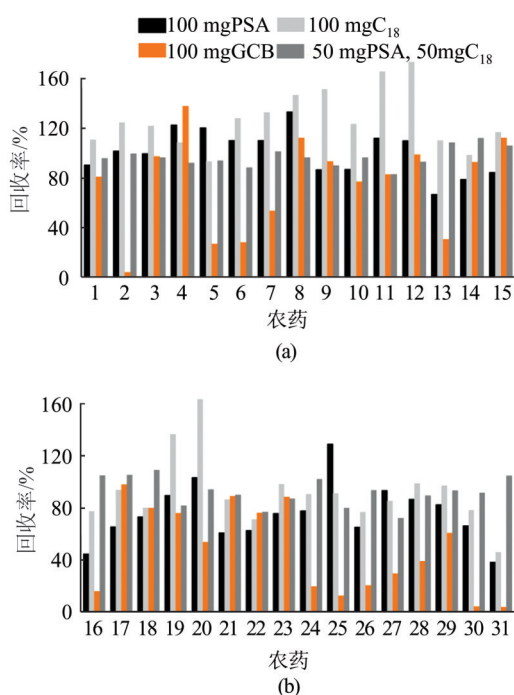


图2 不同净化剂对31种农药回收率的影响

Fig. 2 Effects of different purifiers on the recoveries of 31 pesticides

注:1, 乙酰甲胺磷;2, 西维因;3, 百治磷;4, 乐果;5, 烯酰吗啉 I;6, 烯酰吗啉 II;7, 水胺硫磷;8, 甲胺磷;9, 速灭磷 I;10, 速灭磷 II;11, 久效磷;12, 氧化乐果;13, 双硫磷;14, 敌百虫;15, 蚜减多;16, 棉铃威;17, 涕灭威;18, 涕灭威砒;19, 涕灭威亚砒;20, 丙硫克百威;21, 丁酮威;22, 丁酮砒威;23, 杀虫丹;24, 呋线威;25, 噻唑隆;26, 灭虫威;27, 灭多虫;28, 草氨酰;29, 丁噻隆;30, 噻苯隆;31, 甲基硫菌灵

Note: 1, acephate; 2, carbaryl; 3, dicotophos; 4, dimethoate; 5, dimethomorph I; 6, dimethomorph II; 7, isocarbophos; 8, methamidophos; 9, mevinphos I; 10, mevinphos II; 11, monocotophos; 12, omethoate; 13, temephos; 14, trichlorfon; 15, vamidothion; 16, alanycarb; 17, aldicarb; 18, aldicarb sulfone; 19, aldicarb sulf-oxide; 20, benfuracarb; 21, butocarb; 22, butoxycarb; 23, ethiofencarb; 24, furathiocarb; 25, methabenzthiazuron; 26, mesurol; 27, methomyl; 28, oxamide; 29, tebuthiuron; 30, thidiazuron; 31, thiophanate-methyl

保障结果的准确性,样品采用基质匹配外标法检测。

2.5 方法学验证

本研究采用基质匹配外标法进行定量分析,取一定量的混合标准工作液,用空白基质溶液进行梯度稀释,配制成八个不同浓度水平的标准工作溶液,在1.4条件下进样分析,以绘制各农药的基质匹配标准曲线;以信噪比 $S/N=3$ 确定检测限(LOD),以信噪比 $S/N=10$ 时确定定量限(LOQ);在一天内连续进样6次来评估日内精度,在1.4分析条件下测定

每个目标农药的峰面积,计算峰面积的相对标准偏差(RSD);通过连续3天同时进样,计算目标农药峰面积的RSD来确定日间精度。

31种农药的线性范围、相关系数、定量限、检出限见表2。31种农药化合物的标准曲线浓度范围为0.05~2.5 mg/kg,线性相关系数(R^2)均大于0.990 6,31种农药化合物的LOQs和LODs分别为0.05~0.25 mg/kg和0.015~0.08 mg/kg,日内精密度和日间精度分别为0.22%~4.75%和0.34%~3.96%。

在高良姜空白基质中加入低(2 LOQ)、中(5 LOQ)、高(10 LOQ)三个不同浓度水平的混合标准品,按照1.3进行样品前处理,测定回收率,计算相对标准偏差(RSDs),结果见表3。三个不同浓度水平下的加标回收率分别为72.67%~116.38%、71.52%~115.39%、77.49%~115.44%,RSDs分别为0.43%~12.87%、0.01%~12.45%、0.07%~9.72%。

2.6 样品检测

运用所建立的方法对收集不同地区的24批高良姜中的农药残留进行了检测,结果见表4,阳性样品MRM色谱图见图3。由表4可知,烯酰吗啉 II、速灭磷 I 和杀虫丹的检出率均为4.2%,检出量分别为0.05 mg/kg、0.05 mg/kg、0.065 mg/kg;水胺硫磷检出率为12.5%,检出量的范围为0.16~0.34 mg/kg;甲基硫菌灵在13批样品中检测出,其中10批样品中甲基硫菌灵的检出量均高于线性范围(2.5 mg/kg),其余3批样品中甲基硫菌灵的检出量分别为0.36 mg/kg、1.15 mg/kg、1.78 mg/kg。中国药典^[19]已将水胺硫磷列为禁用农药,不得检出,样品中的水胺硫磷推测可能是由于未充分降解残留于土壤、空气、水中而蓄积进入高良姜;规定烯酰吗啉和速灭磷的检出限量均为0.005 mg/kg,而实际样品中检测出的烯酰吗啉和速灭磷均超过了该限量,可能是由于种植过程中施用过量而未充分降解;目前,对杀虫丹和甲基硫菌灵未做限量规定,然而在多批样品中均检出甲基硫菌灵,一批样品中检出杀虫丹,且两种农药的含量均较高。因此,在进行高良姜药食两用资源方面的研究时,应当对高良姜中农药残留的限量标准及检测分析引起重视。

3 结论

本研究通过优化QuEChERS样品前处理方法并结合UPLC-MS/MS技术建立了高良姜中31种农药残留的检测方法,并将其应用于24批高良姜中

表 2 线性关系、定量限、检测限和基质效应
Table 2 Linear equation, LOQs, LODs and matrix effects

化合物	线性方程	R^2	线性范围(mg·kg ⁻¹)	LOQ/mg·kg ⁻¹	LOD/mg·kg ⁻¹	精密度的RSD/%		基质效应/%
						日内	日间	
乙酰甲胺磷	Y=12.269X+26.69	0.990 7	0.05~2.5	0.05	0.015	1.83	0.51	98.14
西维因	Y=26.211X-141.76	0.999 0	0.05~2.5	0.05	0.015	1.66	0.64	92.31
百治磷	Y=163.5X-542.39	0.999 7	0.05~2.5	0.05	0.015	2.04	0.34	104.54
乐果	Y=3.678 5X-34.693	0.991 9	0.05~2.5	0.05	0.015	1.13	1.47	115.3
烯酰吗啉 I	Y=26.5X-62.382	0.998 8	0.05~2.5	0.05	0.015	2.34	2.6	78.77
烯酰吗啉 II	Y=11.348X-40.813	0.999 5	0.05~2.5	0.05	0.015	0.22	3.02	84.06
水胺硫磷	Y=0.862 8X+34.561	0.995 6	0.05~2.5	0.05	0.015	2.38	2.8	113.23
甲胺磷	Y=19.358X-298.61	0.998 0	0.05~2.5	0.05	0.015	1.7	1.23	100.76
速灭磷 I	Y=29.104X-268.53	0.999 7	0.05~2.5	0.05	0.015	4.14	3.96	96.98
速灭磷 II	Y=23.319X-54.84	0.999 6	0.05~2.5	0.05	0.015	4.43	3.17	95.62
久效磷	Y=25.908X-216.51	0.999	0.05~2.5	0.05	0.015	4.75	2.43	80.80
氧化乐果	Y=16.601X-39.252	0.999 4	0.05~2.5	0.05	0.015	2.33	2.65	107.14
双硫磷	Y=9.0229X+459.23	0.994 3	0.05~2.5	0.05	0.015	1.3	0.89	94.49
敌百虫	Y=15.693X+6.5375	0.999 1	0.05~2.5	0.05	0.015	0.89	3.55	107.63
蚜减多	Y=64.896X+153.9	0.996 4	0.05~2.5	0.05	0.015	2.87	3.42	97.84
棉铃威	Y=1.6201X-53.363	0.995 1	0.25~2.5	0.25	0.08	0.47	3.5	103.82
涕灭威	Y=6.2265X+54.131	0.997 1	0.05~2.5	0.05	0.015	3.65	1.74	89.17
涕灭威砒	Y=13.351X-94.671	0.999 4	0.05~2.5	0.05	0.015	3.25	2.95	100.55
涕灭威亚砒	Y=14.656X-164.02	0.999	0.05~2.5	0.05	0.015	1.43	1.21	107.52
丙硫克百威	Y=10.436X-65.898	0.999 4	0.05~2.5	0.05	0.015	1.17	2.88	97.44
丁酮威	Y=28.613X+34.373	0.997 3	0.05~2.5	0.05	0.015	1.17	3.92	113.24
丁酮砒威	Y=7.093X-52.317	0.995 1	0.05~2.5	0.05	0.015	3.16	3.7	95.87
杀虫丹	Y=30.383X-251.61	0.996 9	0.05~2.5	0.05	0.015	2.11	2.3	104.51
呋线威	Y=185.39X-1935.6	0.999 1	0.05~2.5	0.05	0.015	3.23	3.18	98.86
噻唑隆	Y=50.252X+119.69	0.997 6	0.05~2.5	0.05	0.015	1.67	1.3	115.84
灭虫威	Y=30.893X+16.099	0.994 8	0.05~2.5	0.05	0.015	2.75	3.71	108.16
灭多虫	Y=19.674X+470.72	0.990 6	0.05~2.5	0.05	0.015	0.54	2.59	111.71
草酰胺	Y=43.55X+81.534	0.998 4	0.05~2.5	0.05	0.015	1.4	0.97	110.34
丁噻隆	Y=72.173X-316.2	0.998 3	0.05~2.5	0.05	0.015	1.05	1.84	105.72
噻苯隆	Y=1.4312X+59.724	0.992 8	0.25~2.5	0.25	0.08	2.66	1.37	106.83
甲基硫菌灵	Y=2.988 8X+47.391	0.992 1	0.05~2.5	0.05	0.015	1.81	3.66	101.27

31种农药残留的检测,结果表明该方法简便快速、准确可靠,有机试剂用量少,可用于高良姜中多农药残留的定量、定性分析,同时也为药食两用资源高良姜的质量保障和安全用药提供了一种可靠的检测技术,奠定了科学的数据基础。

参考文献

[1] 梁万年,江涛,唐春萍,等.高良姜总黄酮对脾胃虚寒型肠易激综合征的影响[J].中成药,2013,35(9):1863-1868.
Liang W N, Jiang T, Tang C P, et al. Effect of total flavonoids from *Alpinia officinarum* Hance on irritable

bowel syndrome with spleen-stomach deficiency [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2013, 35(9): 1863-1868.
[2] 陈佃,何瑞,李彩君.高良姜镇痛止呕有效成分的研究[J].广州中医药大学学报,2001,18(3):240-242.
Chen D, He R, Li C J. Study of active constituents with analgesic and antiemetic actions from *Rhizoma Alpiniae Officinarum* [J]. Journal of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, 2001, 18(3): 240-242.
[3] 魏娜,谭银丰,魏晴,等.高良姜不同提取部位对实验性胃溃疡的影响及作用机理研究[J].海南医学院学报,2015,21(2):158-160.

表3 31种农药在不同加标水平下的回收率 (n=3)
Table 3 Recoveries of 31 pesticides at different spiked levels
%

化合物	低加标量		中加标量		高加标量	
	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD
乙酰甲胺磷	97.00	5.15	99.68	6.35	99.54	2.12
西维因	95.84	6.72	97.45	1.59	99.50	2.94
百治磷	104.96	4.76	102.67	7.20	99.09	5.59
乐果	96.27	2.65	106.12	0.57	105.51	4.62
烯酰吗啉 I	97.33	3.11	91.36	3.79	105.57	2.42
烯酰吗啉 II	101.78	1.83	99.28	4.85	95.14	3.47
水胺硫磷	100.42	6.47	101.04	0.28	98.91	5.74
甲胺磷	96.06	2.76	90.01	10.04	92.63	0.60
速灭磷 I	87.24	5.73	88.84	2.63	87.88	0.73
速灭磷 II	111.63	1.99	102.88	4.14	103.37	3.54
久效磷	109.51	5.48	115.39	8.67	111.96	4.31
氧化乐果	106.12	0.79	109.77	8.7	100.63	0.07
双硫磷	106.54	0.68	112.13	0.96	109.8	1.71
敌百虫	106.87	2.99	93.83	10.37	101.96	4.25
蚜减多	116.38	0.76	111.16	4.19	115.44	3.24
棉铃威	72.67	12.87	71.52	12.45	81.74	1.00
涕灭威	85.06	6.59	80.04	1.32	99.69	2.13
涕灭威砒	113.35	0.43	87.83	0.51	101.92	1.78
涕灭威亚砒	85.12	3.85	78.34	0.01	86.73	3.44
丙硫克百威	85.66	3.01	86.19	2.48	90.80	3.65
丁酮威	87.57	7.26	89.16	1.22	94.29	1.84
丁酮砒威	108.93	11.01	77.16	5.71	82.58	9.72
杀虫丹	107.47	3.07	78.57	8.11	92.55	3.29
呋线威	108.56	3.33	97.63	3.46	94.78	0.89
噻唑隆	83.18	4.76	110.46	3.37	77.49	0.84
灭虫威	78.13	4.51	73.07	0.6	97.85	0.40
灭多虫	85.27	5.13	91.95	0.46	98.24	0.88
草酰胺	87.87	3.83	72.60	0.98	105.67	1.98
丁噻隆	94.74	3.29	76.96	2.12	113.81	2.19
噻苯隆	87.70	4.29	79.85	4.82	100.01	3.39
甲基硫菌灵	89.03	9.56	81.73	1.62	106.08	2.69

Wei N, Tan Y F, Wei Q, *et al.* Effect of different ex-
traction parts of galangal on experimental gastric ulcer,
[J]. Journal of Hainan Medical University, 2015, 21(2):
158-160.

[4] 高振虎, 陈艳芬, 杨全, 等. 南药高良姜的研究进展
[J]. 广东药学院学报, 2016, 32(6): 817-821.

Gao Z H, Chen Y F, Yang Q, *et al.* Research progress
of Rhizoma Alpiniae Officinarum [J]. Journal of Guang-
dong Pharmaceutical University, 2016, 32(6): 817-821.

[5] 熊远果, 沈瑶, 张洪. 高良姜药理活性研究新进展[J].
中南药学, 2017, 15(10): 1418-1421.

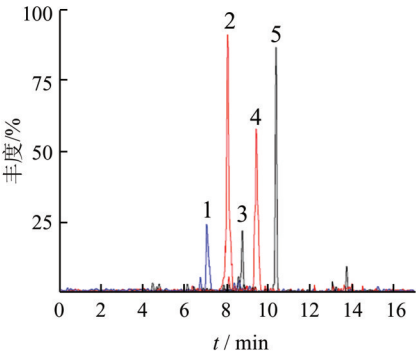


图3 31阳性样品的MRM图
Fig. 3 The MRM chromatogram of positive samples
注: 1, 速灭磷 I; 2, 甲基硫菌灵; 3, 杀虫丹; 4, 水胺硫
磷; 5, 烯酰吗啉 II
Note: 1, mevinphos I; 2, thiophanate-methyl; 3, ethiofen-
carb; 4, isocarbophos; 5, dimethomorph II

表4 24批高良姜中农药残留的检测结果 (n=3)
Table 4 Detection results of pesticide residues in 24 batch-
es of Alpinia officinarum

					mg/kg
编号	烯酰吗啉 II	水胺硫磷	速灭磷 I	杀虫丹	甲基硫 菌灵
1	0.05				
4		0.34			
6			0.05		
7					
9				0.065	
12					1.15
13					2.78*
14					3.67*
15					2.76*
16					0.36
17					4.96*
18		0.24			9.30*
19					2.62*
20					2.58*
21					2.68*
22					3.17*
23		0.15			9.45*
24		1.78			

注: 空白表示未检测到; *为含量高于线性上限(2.5 mg/kg)
Note: blank indicates no detection, * indicates higher than the
upper linear limit (2.5 mg/kg)

Xiong Y G, Shen Y, Zhang H. Advances in pharmaco-
logical activity of Alpinia officinarum Hance [J]. Cen-
tral South Pharmacy, 2017, 15(10): 1418-1421.

[6] 张旭光, 尹航, 陈峰, 等. 高良姜素药理活性的研究进
展[J]. 中国现代中药, 2016, 18(11): 1532-1536.

- Zhang X G, Yin H, Chen F, *et al.* Advances in study of pharmacological activities of galangin [J]. Modern Chinese Medicine, 2016, 18(11): 1532-1536.
- [7] 夏道宗, 励建荣, 刘杰尔, 等. 高良姜总黄酮的超声萃取及其体外抗氧化作用研究[J]. 中国食品学报, 2009, 9(3): 63-69.
- Xia D Z, Li J R, Liu J E, *et al.* The ultrasonic extraction and antioxidant effects of total flavonoids from *Alpinia officinarum* Hance *in vitro* [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2009, 9(3): 63-69.
- [8] 黄赛金, 尹爱武, 罗紫英, 等. 高良姜挥发油抑菌及抗氧化作用研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(19): 112-115.
- Huang S J, Yin A W, Luo Z Y, *et al.* Study on the bacteriostasis and antioxidation of *Alpinia officinarum* Hance volatile oil [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(19): 112-115.
- [9] 王海燕, 刘亚明, 牛欣, 等. 高良姜油抗实验性胃溃疡作用及其机制研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2011, 27(2): 71-74.
- Wang H Y, Liu Y M, Niu X, *et al.* Research on *Alpinia officinarum* Hance oil against experimental gastrectomy and action mechanism [J]. Chinese Journal of Digestion of Integrated Traditional and Western Medicine, 2011, 27(2): 71-74.
- [10] 夏道宗, 金相国, 陆超, 等. 高良姜总黄酮对铅中毒致小鼠脑、肾氧化应激的保护作用研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2013, 8(8): 1018.
- Xia D Z, Jin X G, Lu C, *et al.* Protective effect of total flavonoids from *Alpinia officinarum* Hance on brain and kidney oxidative stress in mice exposed to lead acetate [J]. Journal of Zhejiang Chinese Medicine University, 2013, 8(8): 1018.
- [11] 程远, 李近, 廖小丹, 等. 高良姜不同活性部位对兔离体肠管平滑肌的影响[J]. 广东医学院学报, 2015, 162(6): 34-37.
- Cheng Y, Li J, Liao X D, *et al.* Effect of active components of galangal extract on smooth muscle of isolated intestine in rabbits [J]. Journal of Guangdong Medical College, 2015, 162(6): 34-37.
- [12] Anastassiades M, Lehotay S J, Stajnbaher D, *et al.* Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce [J]. Journal of Aoac International, 2003, 86(2): 412-431.
- [13] 袁青青. 菊花中多种农药残留测定方法研究[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2018.
- Yuan Q Q. Study on analysis methods of pesticide residues in herbal medicine *Chrysanthemum morifolium* [D]. Hefei: Anhui University of Chinese Medicine, 2018.
- [14] 林涛, 邵金良, 刘兴勇, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中41种农药残留[J]. 色谱, 2015, 33(3): 235-241.
- Lin T, Shao J L, Liu X Y, *et al.* Determination of 41 pesticide residues in vegetables by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2015, 33(3): 235-241.
- [15] 王连珠, 周昱, 陈泳, 等. QuEChERS样品前处理-液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中66种有机磷农药残留量方法评估[J]. 色谱, 2012, 30(2): 146-153.
- Wang L Z, Zhou Y, Chen Y, *et al.* Evaluation of QuEChERS methods for the analysis of 66 organophosphorus pesticide residues in vegetables by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2012, 30(2): 146-153.
- [16] 方从容, 高洁, 王雨昕, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中125种兽药残留[J]. 色谱, 2018, 36(11): 1119-1131.
- Fang C R, Gao J, Wang Y X, *et al.* Determination of 125 veterinary drugs residues in eggs by QuEChERS-ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2018, 36(11): 1119-1131.
- [17] 刘志荣, 张明童, 谢楠, 等. 改进 QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定甘草中86种农药残留[J]. 质谱学报, 2020, 41(6): 624-636.
- Liu Z R, Zhang M T, Xie N, *et al.* Simultaneous determination of 86 pesticide residues in *Glycyrrhiza uralensis* by improved QuEChERS-UPLC-MS/MS [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2020, 41(6): 624-636.
- [18] 周改莲, 辛宁, 黄陆良. 高良姜的化学成分研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(6): 1376-1378.
- Zhou G L, Xin N, Huang L L. Study on the chemical constituents of *Alpinia officinarum* Hance [J]. Lishizhen Med Ica and Materia Med Ica Research, 2008, 19(6): 1376-1378.
- [19] 国家药典委员会. 中国药典, IV部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2020.
- State Pharmacopoeia Commission. Chinese Pharmacopoeia, Volume IV [S]. Beijing: Chemical Industry Press, 2020.

□

(编辑: 杨晓翠)