



使用 Agilent Intuvo 9000 气相色谱仪和 Agilent 7000 系列质谱仪进行多残留农药分析

应用简报

作者

Rebecca Veeneman 博士和
Joan Stevens 博士
安捷伦科技公司

摘要

本应用简报展示了使用 Agilent Intuvo 9000 气相色谱仪和 Agilent 7000 系列质谱仪对七种不同基质中农药的评估。21 种农药的校准曲线在 1 ng/mL 至 1000 ng/mL 的浓度范围内表现出优异的线性。Agilent Intuvo 芯片式保护柱的应用获得了优异的响应和峰形一致性，该芯片式保护柱保护了下游组件且无需在基质评估后对色谱柱进行切割。在 60 次食品提取物进样中，50 ng/mL 样品的平均回收率高于 80%，且 RSD 小于 10%。通过定期维护，包括更换衬管和 Intuvo 芯片式保护柱，发现峰形和回收率在 500 多次进样中保持不变。



Agilent Technologies

前言

随着农药用量的增加，环境学家、监管者和消费者越来越担忧食品中的农药残留问题。北美（美国和加拿大）、欧洲（欧盟）、亚洲（日本）和澳洲已制定了有关食品中或食品表面农药最大残留限量 (MRL) 的法规。在美国，根据所讨论的基质和农药的不同，MRL 在 0.02 ppm 至 100 ppm 的范围内变动¹，而欧盟的默认值为 0.01 ppm²。

要分析食品中的农药残留，必须进行一定程度的样品前处理。至少必须将样品进行均质化处理并将其萃取到适合色谱分析的溶剂中。QuEChERS 萃

取法常用于农药萃取，因为其包括单次乙腈萃取并同时采用硫酸镁进行盐析。在一些情况下，采用分散式固相萃取 (dSPE) 进行进一步净化³。所得的样品仍然相对较“脏”，由于背景信号较高，可能会给准确鉴定和定量分析带来问题。

农药分析的复杂性使其非常适合采用气相色谱/质谱联用技术 (GC/MS)。然而，定量限和 MRL 范围使得需要采用具有合理线性范围和较低检测限的多残留分析方法。因此，串联质谱仪 (MS/MS) 可用于筛查、确认和定量分析低浓度农药。它不仅提供了较低的定量限，而且最大程度减小了基质干扰⁴。

虽然使用 MS/MS 的多反应监测 (MRM) 功能可减小色谱图中的基质干扰，但是该技术无法从样品中去除基质。引入基质可能导致信号损失和拖尾。使用反吹可在一定程度上缓解这一问题，但是要全面维护整个系统还需进行包括衬管更换和色谱柱切割在内的仔细和频繁的维护。Agilent Intuvo 9000 气相色谱仪使用 Intuvo 芯片式保护柱作为 Intuvo 惰性流路的组成部分，无需对色谱柱进行切割。通过在维护程序中省去色谱柱切割，可使保留时间保持不变，同时使色谱柱的使用时间变长。

在本应用简报中，将 Agilent 7000 系列三重四极杆 GC/MS 与配备 Agilent Intuvo HP5-MS UI 色谱柱的 Intuvo 9000 气相色谱仪联用。采用夹层进样，对七种不同食品基质的校准曲线线性和分析物回收率随时间的变化进行了评估。

实验部分

浓度为 100 µg/mL 的两种定制农药混标购自 Ultra Scientific (美国罗得岛州北金斯敦)。在其各自的溶剂中制备两种混标的浓度为 10 µg/mL 的储备液。将储备液用丙酮溶液稀释, 得到浓度为 1 µg/mL 的工作标样。浓度为 1、5、10、50、100、200 和 500 ng/mL 的校准标样由工作标样的丙酮溶液稀释得到。单独的氘化多环芳烃 (PAH) 标准品购自 AccuStandard (美国康涅狄格州纽黑文), 并在丙酮中制备其 8 µg/mL 的工作储备液。将此工作储备液以 40 ng/mL 加入到农药校准标样中, 用作内标。标样在 3 °C 下储存。表 1 列出了农药和内标。

表 1. 列出了目标农药和内标名称

编号	化合物
1	1,4-二氯苯-d4
2	萘-d8
3	虫螨畏
4	蒎-d10
5	乙丁烯氟灵
6	治螟磷
7	内吸磷-S
8	西玛津
9	林丹
10	菲-d10
11	甲基毒死蜱
12	杀螟硫磷
13	艾氏剂
14	二甲戊乐灵
15	对甲抑菌灵
16	狄氏剂
17	乙噻酚磺酸酯
18	三唑磷
19	蒎-d12
20	异丙二酮
21	EPN
22	伏杀磷
23	灭蚁灵
24	蝇毒磷
25	蒎-d12
26	唑菌胺酯
27	溴氰菊酯

要制备 L-古洛糖酸内酯的储备液, 首先称取 500 mg L-古洛糖酸内酯, 加入到 10 mL 容量瓶中。加入 4 mL 水, 然后用乙腈稀释至刻度线。将 500 mg D-山梨醇单独加入到 10 mL 容量瓶中, 再加入 5 mL 水, 然后用乙腈稀释至刻度线。通过将两种储备液在 10 mL 容量瓶中混合, 并用乙腈稀释至刻度线, 制得分析物保护剂溶液 (20 mg/mL L-古洛糖酸内酯和 10 mg/mL D-山梨醇)。

配制用于该分析的七种不同基质。使用 QuEChERS 方法进行萃取, 其中采用多次 dSPE 进行基质净化。

使用两个陶瓷均质子将 3 g 橄榄油和 7 mL 水涡旋混合 2 分钟。加入 10 mL 乙腈 (ACN), 并将样品涡旋混合 2 分钟。加入 QuEChERS EN 盐 (部件号 5982-5650), 并将萃取管置于 GenoGrinder 垂直振荡器上振荡 2 分钟, 然后在 5000 rpm 下离心 5 分钟。将 5 mL 水加入到包含 1 g EMR-Lipid 吸附剂的 EMR-Lipid 管 (部件号 5982-1010) 中, 并涡旋混合 30 秒。将 5 mL ACN 萃取液加入到活化的 EMR-Lipid 中, 涡旋混合 2 分钟, 并在 5000 rpm 下离心 5 分钟。将全部萃取液倒入 50 mL 离心管中, 并加入 Polish 除脂萃取盐包 (部件号 5982-0102) 的全部内容。将管加盖, 剧烈地涡旋混合, 并在 5000 rpm 下离心 5 分钟。将 4 mL 萃取液与来自 Polish 除脂萃取盐包的 300 mg/mL 萃取液一起转移到 15 mL 离心管中。将管内溶液涡旋混合, 并在 5000 rpm 下离心 5 分钟。

使用陶瓷均质子将 10 g 均质化的黄瓜或 5 g 蜂蜜与 5 mL 水涡旋混合 2 分钟。加入 10 mL ACN, 并将混合物涡旋混合 2 分钟。加入 QuEChERS EN 盐, 并将加盖的萃取管置于 GenoGrinder 垂直振荡器上振荡 2 分钟, 然后在 5000 rpm 下离心 5 分钟。将 6 mL 萃取液转移至适用于一般水果和蔬菜的 QuEChERS dSPE (部件号 5982-5056) 管中, 涡旋混合 2 分钟, 并在 5000 rpm 下离心 5 分钟。

使用两个陶瓷均质子将 10 g 均质化的洋葱或橙子或者 3 g 均质化的大米与 7 mL 水进行涡旋混合。加入 10 mL ACN, 并将样品涡旋混合 2 分钟。加入 QuEChERS EN 盐, 并将加盖的萃取管置于 GenoGrinder 垂直振荡器上振荡 2 分钟, 然后在 5000 rpm 下离心 5 分钟。将 6 mL 萃取液转移至适用于脂肪基质的 QuEChERS dSPE (部件号 5982-5256) 管中, 然后涡旋混合 2 分钟, 并在 5000 rpm 下离心 5 分钟。

利用陶瓷均质子对 3 g 均质化茶叶和 7 mL 水进行涡旋混合。加入 10 mL ACN, 并将样品涡旋混合 2 分钟。加入 QuEChERS EN 盐, 并将萃取管置于 GenoGrinder 垂直振荡器上振荡 2 分钟, 然后在 5000 rpm 下离心 5 分钟。将 6 mL 萃取液转移至适用于含色素基质的 QuEChERS dSPE (部件号 5982-5256) 管中, 涡旋混合 2 分钟, 并在 5000 rpm 下离心 5 分钟。

经最终离心后, 将萃取液转移至 4 mL 样品瓶中并在分析前储存于 -20 °C 下。

仪器

所有检测均在配备 Agilent 7693B 自动进样器的 Agilent Intuvo 9000 气相色谱仪与 Agilent 7000 系列三重四极杆 MS 上进行。Intuvo 9000 惰性流路被配置为带有 Agilent Intuvo 15-m HP5-MS UI 色谱柱的简单 MS 系统。通过从 P&E MRM 数据库（部件号 G9250AA, A.1.01 版）中获得的离子对数据使用 MRM 模式。采用标样、基质和分析物保护剂溶液进行三层夹层进样，以实现基质匹配校准。使用夹层进样，仅用一组校准标样即可测试多种基质⁵。表 2 列出了详细的仪器条件。

结果与讨论

本研究证明了使用 Intuvo 9000 气相色谱仪和 7000 系列三重四极杆质谱系统可实现校准线性和色谱一致性。针对各种基质生成的校准曲线中，均包含每种标样的平行三组 3 层夹层进样。经校准后，在完成 60 次基质萃取物进样之前，将 50 ng/mL 标样作为校准检验化合物重复评估三次。将 60 次基质萃取物进样与 50 ng/mL 标样进行夹层式进样，以监测峰形和回收率随时间的变化。在校准、校准检验和基质进样后进行系统维护，其中包括更换隔垫、衬管和芯片式保护柱。对另一种基质重复该过程之前，无需进行额外维护。

表 2. Agilent 9000 Intuvo GC 和 Agilent 7000C MS/MS 仪器条件

参数	值
Agilent 9000 Intuvo 气相色谱仪	
惰性流路配置	简单 MS
进样针	10 μ L（部件号 G4513-80204）
溶剂清洗	进样前 3x 溶剂 A, 丙酮 (3 μ L) 3x 溶剂 B, 丙酮 (3 μ L) 进样后 3x 溶剂 A, 丙酮 (3 μ L) 3x 溶剂 B, 丙酮 (3 μ L)
样品清洗	1 \times 1 μ L
样品抽吸次数	6
夹层式进样	3 层夹层 L1（基质）1 μ L L2（分析物保护剂溶液）0.5 μ L L3（标样或样品）1 μ L
载气	氦气
进样口	脉冲不分流模式下的分流/不分流, 280 $^{\circ}$ C
进样脉冲压力	30 psi, 持续至 0.5 min
分流出口吹扫流速	15 mL/min (0.5 min 时)
隔垫吹扫流速	3 mL/min
载气节省模式	20 mL/min (3 min 后)
Intuvo 芯片式保护柱	再以 50 $^{\circ}$ C/min 的速率从 60 $^{\circ}$ C 升至 310 $^{\circ}$ C
色谱柱	Agilent Intuvo HP5-MS UI (19091S-431UI-INT)
色谱柱流速	1.4 mL/min
柱温程序	60 $^{\circ}$ C（保持 1.5 min）， 再以 50 $^{\circ}$ C/min 的速率升至 160 $^{\circ}$ C， 再以 8 $^{\circ}$ C/min 的速率升至 240 $^{\circ}$ C， 再以 50 $^{\circ}$ C/min 的速率升至 280 $^{\circ}$ C（保持 2.5 min）， 再以 100 $^{\circ}$ C/min 的速率升至 290 $^{\circ}$ C（保持 1.1 min）
Agilent 7000 系列三重四极杆 MS/MS	
传输线	280 $^{\circ}$ C
离子源温度	280 $^{\circ}$ C
四极杆温度	150 $^{\circ}$ C
溶剂延迟	3.1 min
调谐文件	atunes.eiex.tune

表 3 显示了七种基质中的一系列农药分析物的校准曲线系数 (R^2)。选择所列出的农药能够代表广泛的保留时间、功能和分析难度。根据基质不同, 21 种农药的平均 R^2 值从 0.972 到 0.997 不等。蜂蜜和大米获得最佳 R^2 值, 平均值为 0.997, 而红茶表现出略低的 R^2 值, 特别是对于较早洗脱化合物, 这是由于受到了轻微的基质干扰。剩余基质的校准曲线相关系数约为 0.994。

使用给定基质校准系统之后, 采用萃取物与 50 ng/mL 标样和分析物保护剂溶液夹层进样的方式进行 60 次萃取物进样。图 1 显示了在七种基质 60 次萃取物进样过程中 50 ng/mL 标样所获得的平均回收率。

表 3. 所评估的七种基质获得了非常出色的线性。根据保留时间和分析难度选出十种目标农药制成表格

	蜂蜜	大米	橙子	红茶	橄榄油	洋葱	黄瓜
虫螨畏	0.998	0.998	0.992	0.921	0.994	0.994	0.999
治螟磷	0.998	0.996	0.991	0.917	0.994	0.993	0.996
西玛津	0.994	0.996	0.989	0.907	0.995	0.992	0.997
艾氏剂	0.996	0.994	0.997	0.986	0.991	0.996	0.995
杀螟硫磷	0.996	0.999	0.999	0.999	0.998	0.999	0.998
狄氏剂	0.997	0.997	0.997	0.998	0.998	0.997	0.998
EPN	0.998	0.998	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999
灭蚁灵	0.999	0.998	0.999	0.998	0.997	0.997	0.997
唑菌胺酯	0.998	0.998	0.998	0.999	0.983	0.993	0.991
溴氰菊酯	0.995	0.996	0.996	0.995	0.998	0.982	0.968

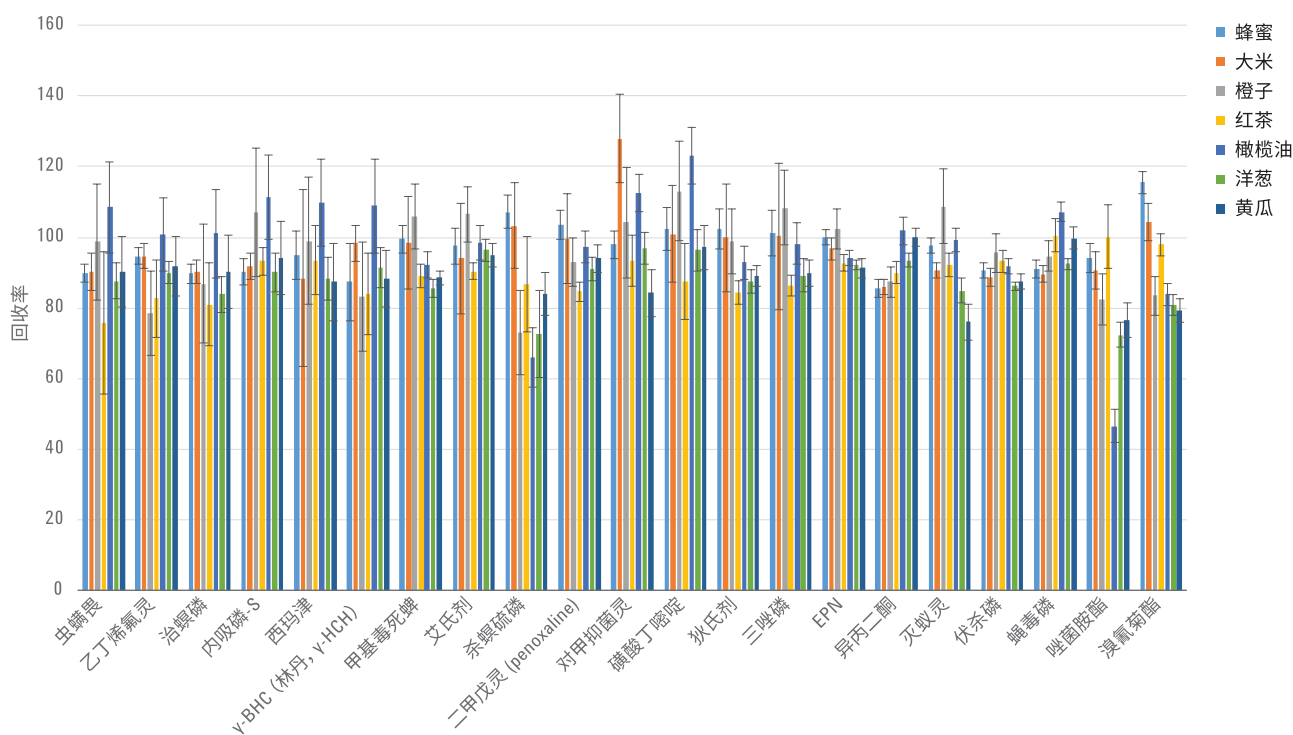


图 1. 对于大部分目标分析物, 七种不同类型的基质进样 60 次得到的平均回收率接近 100%。误差线指示测量中得到的标准偏差

虽然某些分析物表现出较高等度的差异性 or 较低的回收率，但是大部分数据趋于近似 100% 的回收率。考虑到 60 次基质进样过程中的标准偏差，大多数农药在所有七种基质中表现出介

于 80% 至 120% 的回收率。所评估的七种萃取物中，目标农药的平均回收率为 82%。60 次进样的 RSD 非常低，显示出结果的高度一致性。60 次进样和七种基质的平均 RSD 为 6.3%。图 2 中

将多基质曲线分开以突出某种特定的基质：蜂蜜（一种经常掺假的商品）、红茶（一种常见投诉且难以分析的商品）、橄榄油（一种常见商品）和黄瓜（一种广泛要求的基质）。

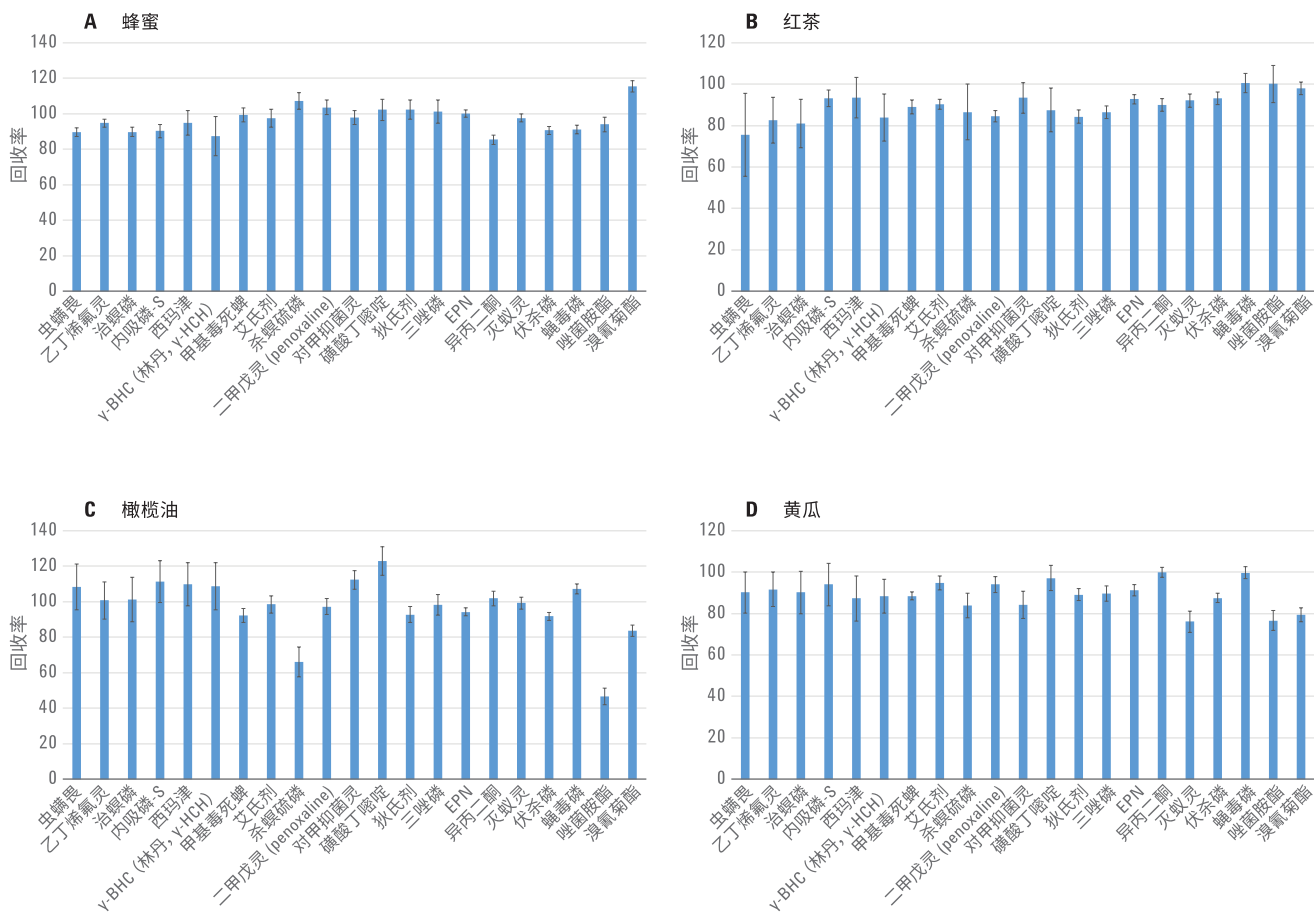


图 2. 对蜂蜜、红茶、橄榄油和黄瓜单独作图以证明性能的一致性。除几种复杂分析物以外，发现 60 次萃取物进样得到的回收率近似为 100%

蜂蜜、红茶和黄瓜中的 21 种农药表现出相对较窄的回收率范围，其回收率为 70% 或更高。尽管红茶是一种难以分析的商品并在校准过程中表现出略低的 R^2 值，但是在基质评估中，各种农药均表现出优异的回收率。在此次评估中，橄榄油是最具挑战性的基质，其中几种化合物（杀螟硫磷和唑菌胺酯）的回收率低于 70%，但是其余化合物表现出非常出色的回收率。

如图 1 和 2 所示的峰面积回收率的一致性得益于色谱的一致性。图 3 至 9 显示了 50 ng/mL 校准检验化合物的色谱图（在初始校准后获得）、在 60 次基质进样完成后得到的色谱图以及在维护后（更换隔垫、进样口衬管和 Intuvo 芯片式保护柱）得到的色谱图的叠加。表 1 列出了色谱峰化合物名称。由于出错，未采集维护后的色谱图（图 4）。在整个评估中，所有目标分析物的峰形均不存在差别，并且任何响应差异都可通过相对响应比进行

解释。峰形一般是尖锐而对称的。在整个评估过程中，保留时间也保持一致。即使在维护后峰仍能够很好地叠加，MRM 离子对时间未进行调整。色谱图显示不同基质在保留时间和峰形方面具有高度的一致性。由于 Intuvo 芯片式保护柱可保护下游组件不受基质的影响，从而消除了切割色谱柱的需要，因此无需保留时间锁定。此外，即使不采用反吹技术，Intuvo 芯片式保护柱也能够获得一致的回收率和峰形。

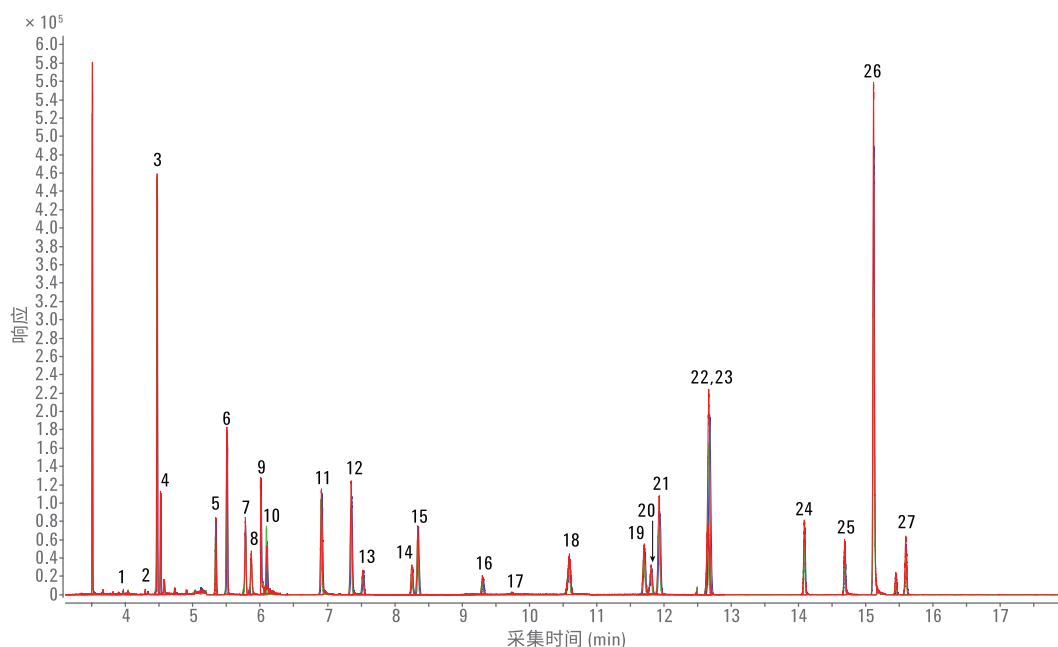


图 3. 50 ng/mL 校准检验化合物的色谱图（蓝色）、60 次蜂蜜萃取物进样后的色谱图（红色）与更换衬管和 Agilent Intuvo 芯片式保护柱后的色谱图（绿色）的叠加，表现出非常出色的一致性

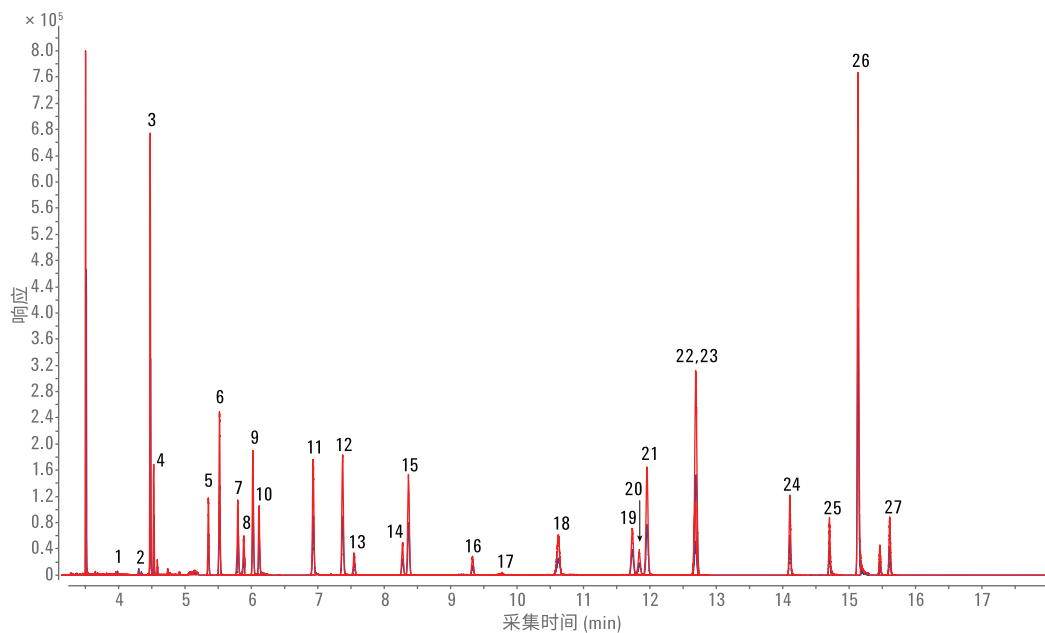


图 4. 50 ng/mL 校准检验化合物的色谱图（蓝色）与 60 次大米萃取物进样后的色谱图（红色）的叠加，在峰形方面表现出非常出色的一致性。在基质进样后，由于样品瓶中化合物的蒸发，响应略有提高

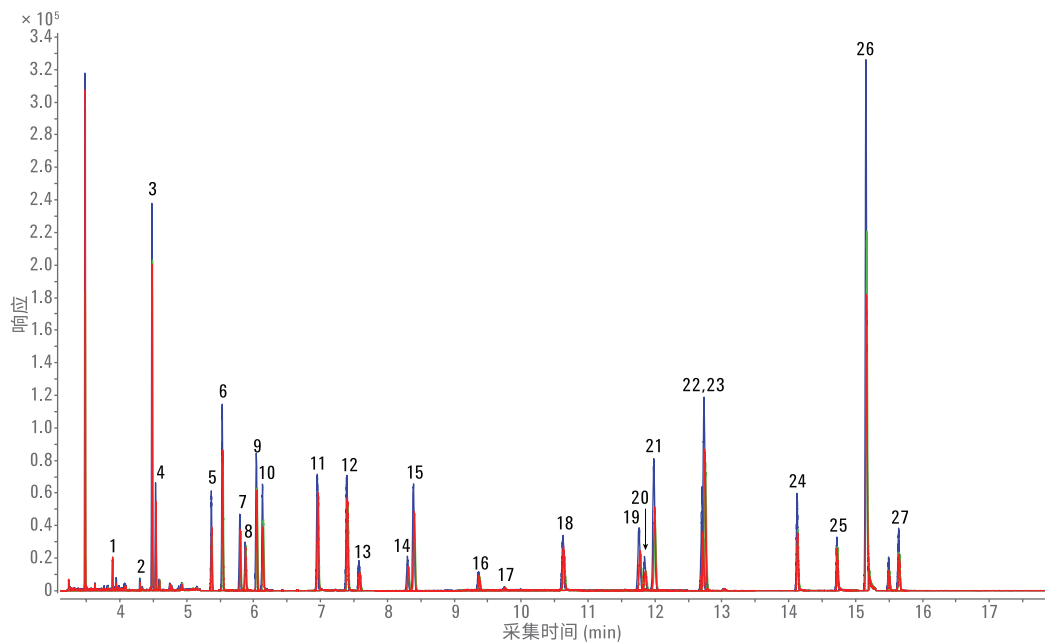


图 5. 50 ng/mL 校准检验化合物的色谱图（蓝色）、60 次橙子萃取物进样后的色谱图（红色）与更换衬管和 Intuvo 芯片式保护柱后的色谱图（绿色）的叠加，表现出非常出色的一致性。响应略有不同，这很容易通过响应比进行解释

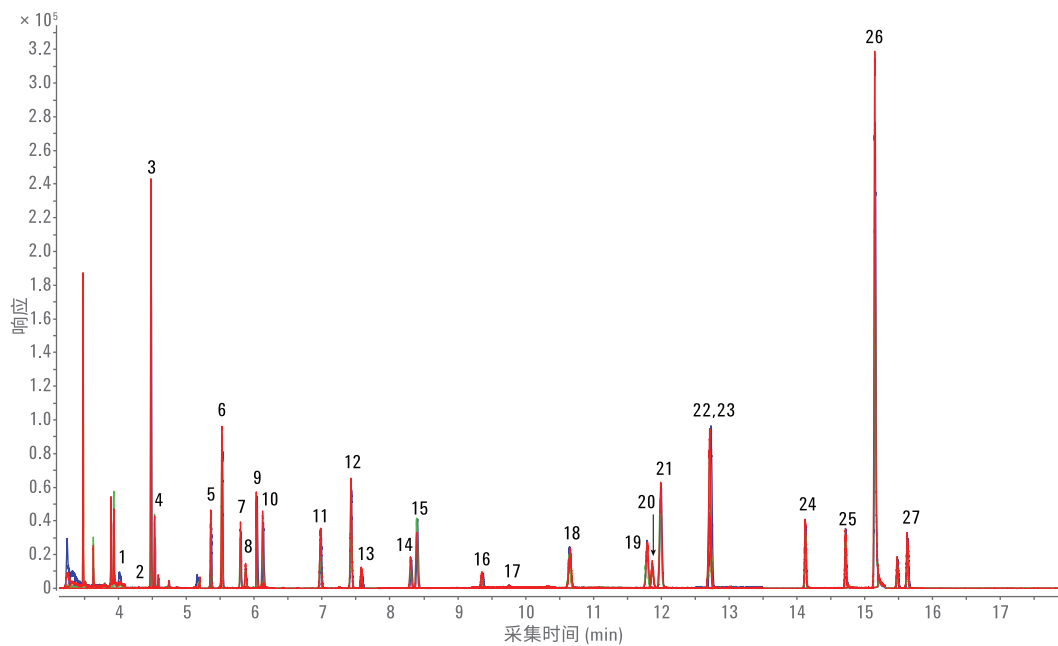


图 6. 50 ng/mL 校准检验化合物的色谱图（蓝色）、60 次红茶萃取物进样后的色谱图（红色）与更换衬管和 Intuvo 芯片式保护柱后的色谱图（绿色）的叠加，在峰形和响应方面均表现出非常出色的一致性

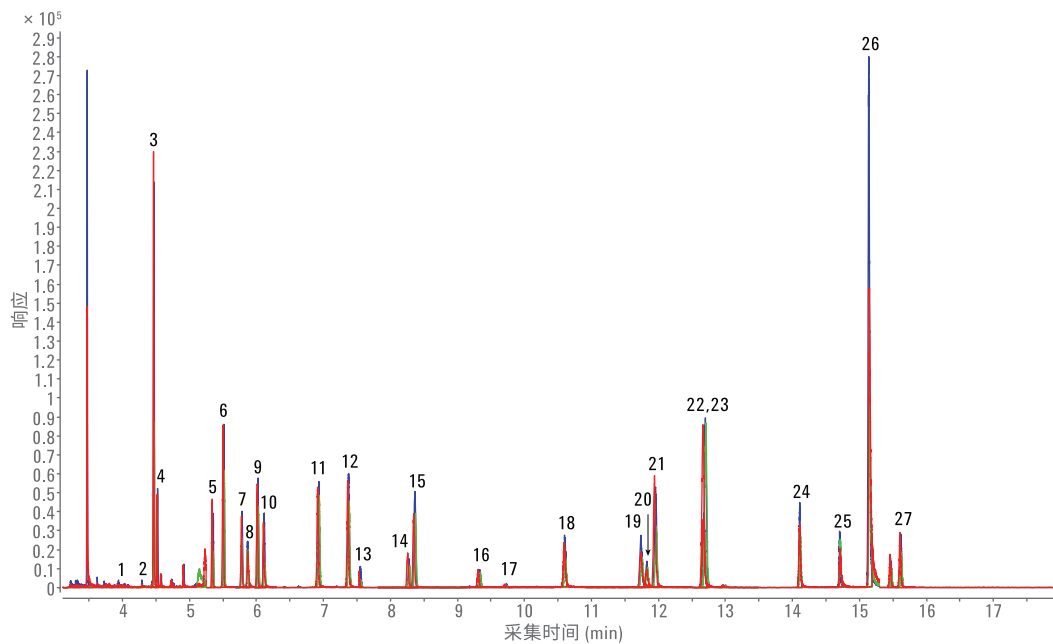


图 7. 50 ng/mL 校准检验化合物的色谱图（蓝色）、60 次橄榄油萃取物进样后的色谱图（红色）与更换进样口和 Intuvo 芯片式保护柱后的色谱图（绿色）的叠加，仅在保留时间或响应方面表现出细微的差别

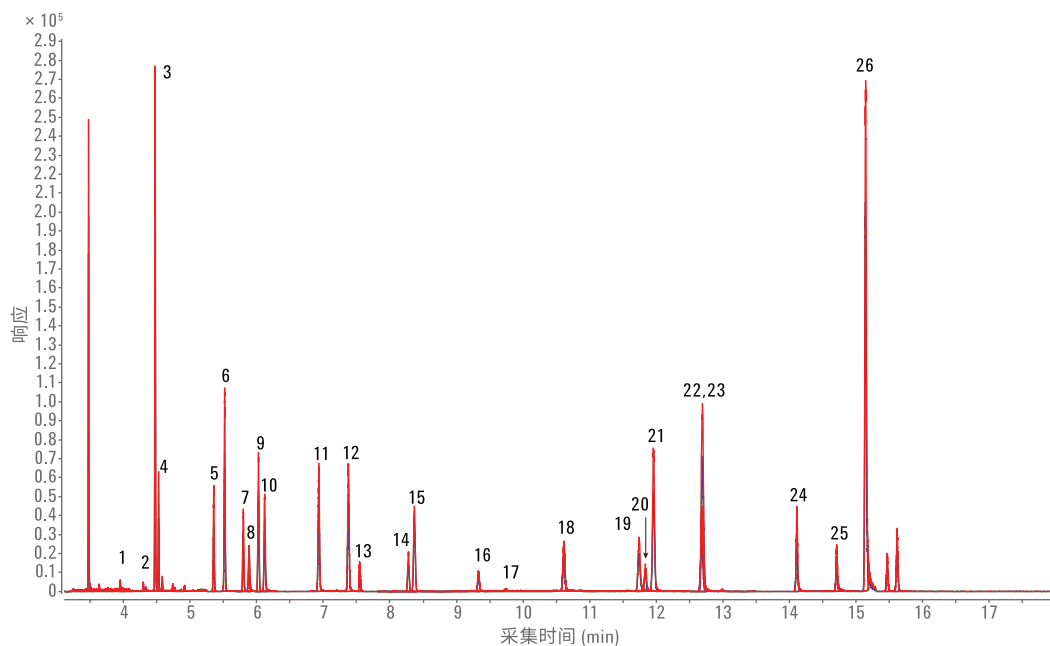


图 8. 50 ng/mL 校准检验化合物的色谱图（蓝色）、60 次洋葱萃取物进样后的色谱图（红色）与更换衬管和 Intuvo 芯片式保护柱后的色谱图（绿色）的叠加，在峰形和响应方面均表现出优异的一致性

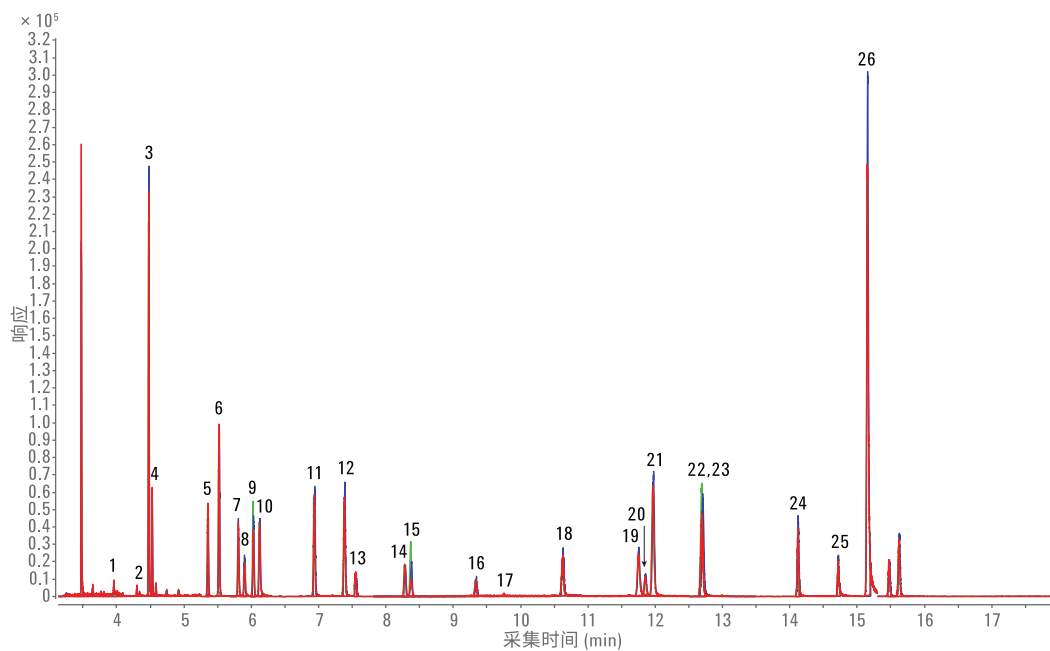


图 9. 50 ng/mL 校准检验化合物的色谱图（蓝色）、60 次黄瓜萃取物进样后的色谱图（红色）与更换衬管和 Intuvo 芯片式保护柱后的色谱图（绿色）的叠加，在峰形和响应方面均表现出非常出色的一致性

结论

针对在配备 Intuvo HP5-MS UI 色谱柱的 Agilent Intuvo 9000 气相色谱仪与 Agilent 7000 系列三重四极杆 GC/MS 联用系统上进行校准和基质评估。评估了七种基质中的二十一种农药，其代表了各种不同的商品和不同的分析难度。仪器表现出优异的校准线性和回收率。采用 Agilent Intuvo 芯片式保护柱，能够：

- 无需通过切割色谱柱使峰形和回收率保持一致
- 无需采用保留时间锁定
- 在整个评估过程中，无需清洁离子源
- 即使不采用反吹也可保持优异的峰形和回收率
- 更换 Intuvo 芯片式保护柱不影响保留时间

在此次评估中，各种基质的校准曲线相关系数普遍为 0.995 或更高。对于所有七种基质而言，在 60 次食品基质萃取物进样中，50 ng/mL 样品的平均回收率近似为 100%。这表明批量分析过程中获得了一致的响应。在基质之前、基质暴露之后和维护之后，峰形和保留时间均非常一致。在大约 100 次进样后预防性更换 Intuvo 芯片式保护柱，可使系统在 500 多次进样中保持良好的性能，所需干预降至最低。

参考文献

1. Maximum Residue Limits Database. (2016, July 7). Retrieved from United States Department of Agriculture Foreign Agriculture Service: <http://www.fas.usda.gov/maximum-residue-limits-mrl-database>
2. EU legislation on MRLs. (2016, July 7). Retrieved from http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/max_residue_levels/docs/maximum_residue_levels_factsheet_en.pdf
3. M. Churley, J. Stevens, Reduce Cost of Pesticide Residue Analysis (减少农药残留的分析成本)，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5991-6069EN，**2015**
4. M. Churley，使用 Agilent 7000C 三重四极杆气质联用系统降低食品中常规农药残留分析的检测限，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5991-4131CHCN，**2015**
5. L. Zhao，通过采用安捷伦惰性流路的 GC/MS/MS 系统分析水果和蔬菜中的农药，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5991-3234CHCN，**2013**

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com/chem/intuvo

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2016
2016年9月1日，中国出版
5991-7216CHCN



Agilent Technologies