

使用 Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统对复杂食品基质进行多残留农药筛查和定量分析

作者

Dan-Hui Dorothy Yang,
Mark Sartain,
Theresa Sosienski,
Patrick Batoon
安捷伦科技有限公司
Santa Clara, CA

摘要

本应用简报介绍了一种基于 UHPLC/MS/MS 的多残留分析方法，用于测定食品样品中 250 多种农药及其代谢物。该方法得益于：

- Agilent 1290 Infinity II UHPLC 系统更高的色谱分离度
- 安捷伦喷射流离子源的通用电离功能
- Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统的创新技术，在减小仪器体积的同时保持了高分析灵敏度

将该方法用于分析牛油果和红茶等复杂基质中的农药残留。

我们得到的结果表明，该方法能够对基质中浓度低于最大残留限量 (MRL) 的多数化合物进行高精度的准确定量。Ultivo LC/TQ 体积小巧、易于维护，是能够满足农药残留常规测试需求的理想选择。

前言

食品中农药残留的筛查和定量分析是食品安全领域最重要且最棘手的应用之一。监管机构规定了食品中数百种农药及其代谢物的最大残留限量 (MRL)^[1]。多数 MRL 均规定为低 ppb (ng/g) 级, 为同时筛查和定量分析复杂基质中的数百种分析物带来了巨大挑战。因此, 需要使用可靠的分析仪器和方法对农药残留进行可靠定量。通常使用基于 LC/MS/MS 或 GC/MS/MS 的多残留方法。SANTE/11813/2017^[2] 等指导文件中规定了农药残留的鉴定标准以及在定量分析时方法验证和质量控制流程的要求。

Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统专门设计用于解决以环境和食品安全领域为代表的常规生产实验室所面临的诸多挑战。Ultivo LC/TQ 采用的创新技术有助于减小其整体体积, 同时保持与大型质谱系统相媲美的性能。Cyclone Ion Guide 气旋离子导轨、Vortex Collision Cell 涡流碰撞室和双曲面四极杆等创新技术不仅最大程度提高了小体积仪器的定量分析性能, 而且改善了仪器的可靠性和稳定性, 延长了正常运行时间。通过 VacShield 真空盾, Ultivo 减少了用户对系统维护的干预, 使非专业用户也能顺利完成系统运行和维护。Agilent MassHunter 软件简化了

数据采集、方法设置、数据分析和报告, 获得了从采集到报告的最短时间, 提高了实验室分析效率。

本应用简报展示了对食品样品中 251 种农药的筛查和定量分析。将 Agilent 1290 Infinity II UHPLC 系统与快速极性切换的动态 MRM 模式下运行的 Ultivo LC/TQ 系统联用。

实验部分

试剂与化学品

所有试剂和溶剂均为 HPLC 或 LC/MS 级。乙腈和甲醇购自 Honeywell (Morristown, NJ, USA)。超纯水产自采用 LC-Pak Polisher 和 0.22 μm 膜式终端过滤器滤芯的 Milli-Q Integral 系统 (EMD Millipore, Billerica, MA, USA)。甲酸购自 Fluka (Sigma-Aldrich 公司, St. Louis, MO, USA), 甲酸铵溶液 (5 mol/L) 来自安捷伦公司 (部件号 G1946-85021)。农药包含在安捷伦农药全套测试混标 (部件号 5190-0551) 中。将农药全套测试混标的八种子混合物混合, 然后用乙腈稀释得到最终农药工作溶液, 该溶液中含有 251 种浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的农药。该溶液用于 QuEChERS 提取物加标。配制 6 个校准样品, 浓度范围为 1–100 ng/g (1、5、10、20、50 和 100 ng/g)。

样品前处理

有机红茶、牛油果、西兰花和橙子购自当地杂货店。根据柠檬酸盐缓冲 QuEChERS 方案, 使用 Agilent BondElut QuEChERS 试剂盒 (部件号 5982-5650) 萃取样品。称取 10 g 均质水果和蔬菜或 2 g 红茶至 50 mL 聚丙烯管中, 然后加入 10 mL 乙腈, 剧烈振摇进行萃取。在萃取前, 用 8 mL 超纯水将红茶样品润湿。通过含 N-丙基乙二胺的分散式 SPE (dSPE) (部件号 5982-5058) 对橙子的粗提取物进行净化。使用通过石墨化炭黑去除色素的 dSPE 试剂盒 (部件号 5982-5256) 对西兰花提取物进行净化。使用含石墨化炭黑、用于高色素样品的分散式试剂盒 (部件号 5982-5356CH) 对红茶提取物进行净化。使用 Agilent EMR-Lipid (部件号 5982-1010) 对牛油果提取物进行净化, 然后进行 Polish 净化盐析萃取 (部件号 5982-0101)。非有机西兰花、橙子和牛油果提取物的前处理方法与其对应的有机样品相同。

仪器

采用 Agilent 1290 Infinity II UHPLC 系统进行分离, 该系统包括:

- Agilent 1290 Infinity 高速泵 (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II Multisampler, 配备样品冷却装置 (G7167B)
- Agilent 1290 Infinity II 大容量柱温箱 (G7116B)

该 UHPLC 系统与配备安捷伦喷射流电喷雾离子源的 Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统联用。

方法

表 1 汇总了 1290 Infinity II UHPLC 条件。

表 2 列出了 Ultivo 三重四极杆参数和安捷伦喷射流 (AJS) ESI 离子源参数。采用正离子和负离子电喷雾电离在动态多反应监测 (dMRM) 模式下进行分析。

采用具有 Quant-My-Way 功能的 Agilent MassHunter 定量分析软件 B.09 对数据进行评估。使用 1/x 加权生成线性校准曲线。

表 1. Agilent 1290 Infinity II UHPLC 参数

参数	值																
色谱柱	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 3.0 × 150 mm, 1.8 μm (部件号 959759-302)																
柱温	45 °C																
进样量	2 μL																
自动进样器温度	6 °C																
流动相	A) 4.5 mmol/L 甲酸铵 + 0.5 mmol/L 氯化铵 + 0.1% 甲酸的水溶液 B) 4.5 mmol/L 甲酸铵 + 0.5 mmol/L 氯化铵 + 0.1% 甲酸的甲醇溶液																
流速	0.45 mL/min																
梯度程序	<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>0.5</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>50</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>65</td> </tr> <tr> <td>16</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>18</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>18</td> <td>12</td> </tr> </tbody> </table>	时间 (min)	B%	0	2	0.5	2	1	50	4	65	16	100	18	100	18	12
时间 (min)	B%																
0	2																
0.5	2																
1	50																
4	65																
16	100																
18	100																
18	12																
停止时间	20																
后运行时间	1.5																

表 2. Agilent Ultivo 三重四极杆和安捷伦喷射流离子源参数

参数	值
离子模式	采用安捷伦喷射流技术的正离子和负离子 ESI
扫描类型	动态 MRM
干燥气温度	250 °C
干燥气流速	11 L/min
鞘气温度	350 °C
鞘气流速	12 L/min
雾化器压力	40 psi
毛细管电压	3500 (正离子/负离子)
喷嘴电压	300 V (正离子) ; 1000 V (负离子)
循环时间	650 ms
MRM 总数	883
最短驻留时间	5.45 ms
最长驻留时间	215.84 ms
MS1 和 MS2 分辨率	单位

结果与讨论

方法灵敏度

利用 Agilent MassHunter Source Optimizer 软件对 AJS 离子源参数进行优化, 以获得大多数目标化合物的最高丰度。在本研究中, 碎裂电压和碰撞能量等化合物相关的参数直接从 Agilent 6460 LC/TQ 的现有方法中转移到 Ultivo LC/TQ, 不进行进一步优化。

图 1 显示红茶提取物中 251 种浓度为 5 ng/g 的农药信号响应良好。在此浓度 (相当于 1/2 MRL 或 1 ng/mL) 下可检测到大多数化合物。Ultivo 中的创新技术对于获得高灵敏度检测至关重要。

由于信号响应良好, 基质中的大多数化合物可在 1 ng/g (相当于 1/10 MRL) 浓度下得到检测, 并且至少四次重复测定的准确度为 80%–120%。其余分析物可在更高的浓度下检测到 (图 2)。其中一种化合物可在正离子和负离子两种模式下得到检测, 并作为两次单独的测量进行计数。

方法精度

Cyclone Ion Guide 气旋离子导轨、Vortex Collision Cell 涡流碰撞室和双曲面四极杆能够使离子在宽 m/z 范围内的传输保持一致。这种一致性成就了出色的分析精度。在每个浓度下进行六次重复采样。计算每一种化合物在可定量的最低浓度下的 %RSD, 在该浓度下, 六次重复测定中至少四次测定结果的准确度为 80%–120%。多数化合物的 %RSD < 10% (图 3)。

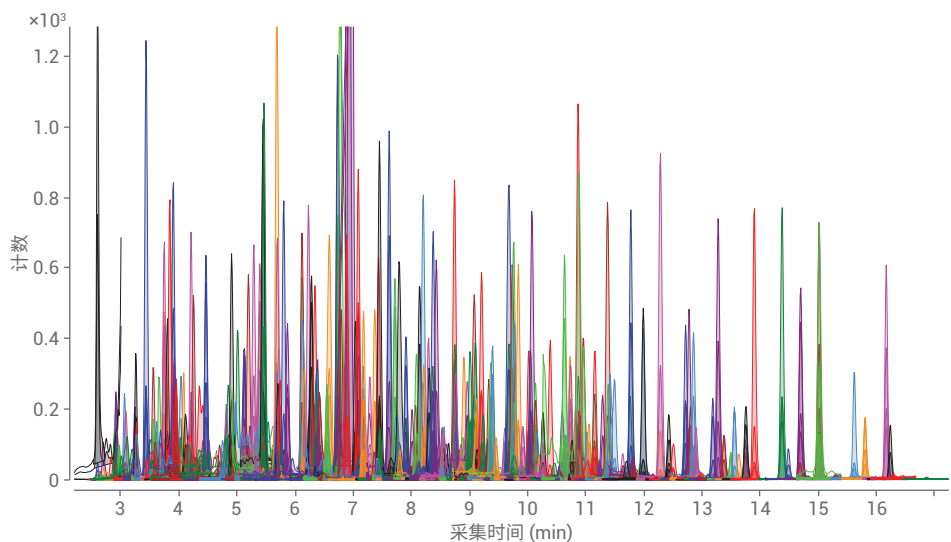


图 1. 以 5 ng/g (相当于 1 ng/mL) 的浓度加标到红茶中的 251 种农药的色谱图

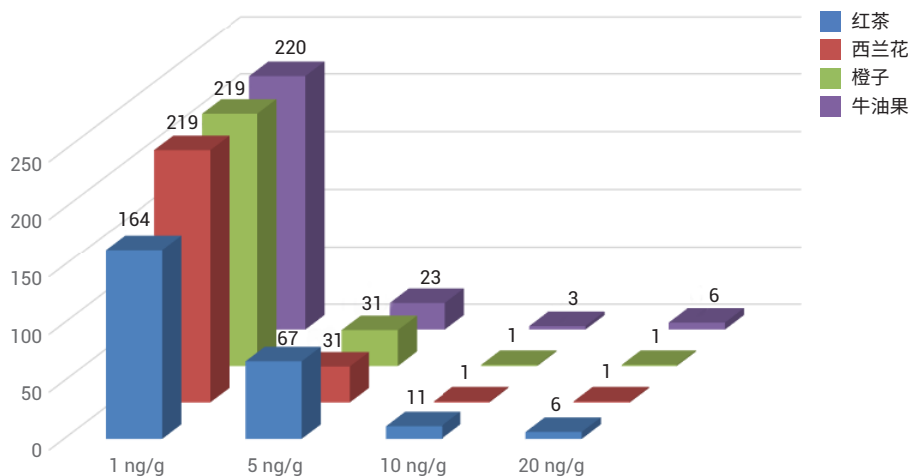


图 2. 在浓度为 1 ng/g 时可准确定量的化合物数量。其余化合物可在更高的浓度下定量

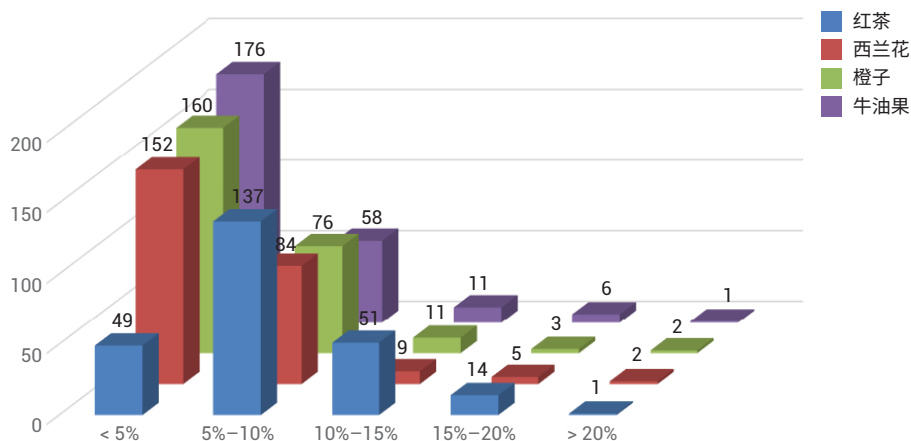


图 3. 不同基质的 %RSD 分布。在能准确定量分析物的最低浓度下计算 %RSD

实际样品

非有机牛油果、西兰花和橙子样品的前处理方式与其对应的有机样品相同。多数校准曲线的 $R^2 > 0.99$ ，足以实现样品的准确定量分析。在牛油果中未检出农药，而在橙子和西兰花中分别检测到 3 种和 7 种农药，浓度等于或高于 MRL（图 4 和图 5）。西兰花中检测到的烯酰吗啉、啉菌酯和双炔酰菌胺浓度分别为 592 ng/g、

493 ng/g 和 154 ng/g，超出了校准曲线范围。虚线表示根据图 4 和图 5 中的校准标样所确定的预期定性离子响应范围。样品中的所有农药均得到了可靠检测。很明显，一些受污染的食品已经到达消费者手中。对于食品行业和食品检测实验室来说，通过技术创新来共同确保食品安全是一项艰巨的任务。

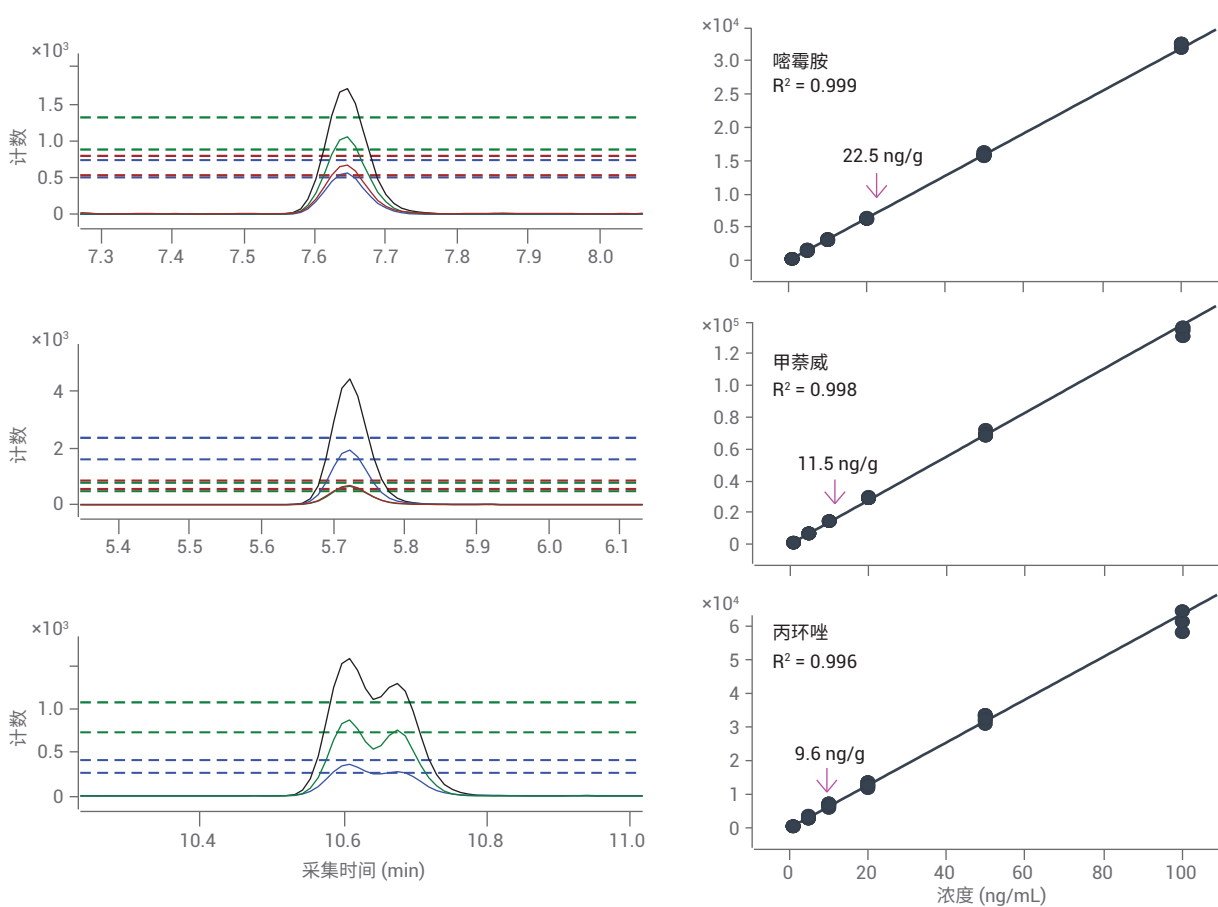


图 4. 非有机橙子中检出的浓度等于或高于 MRL 的农药

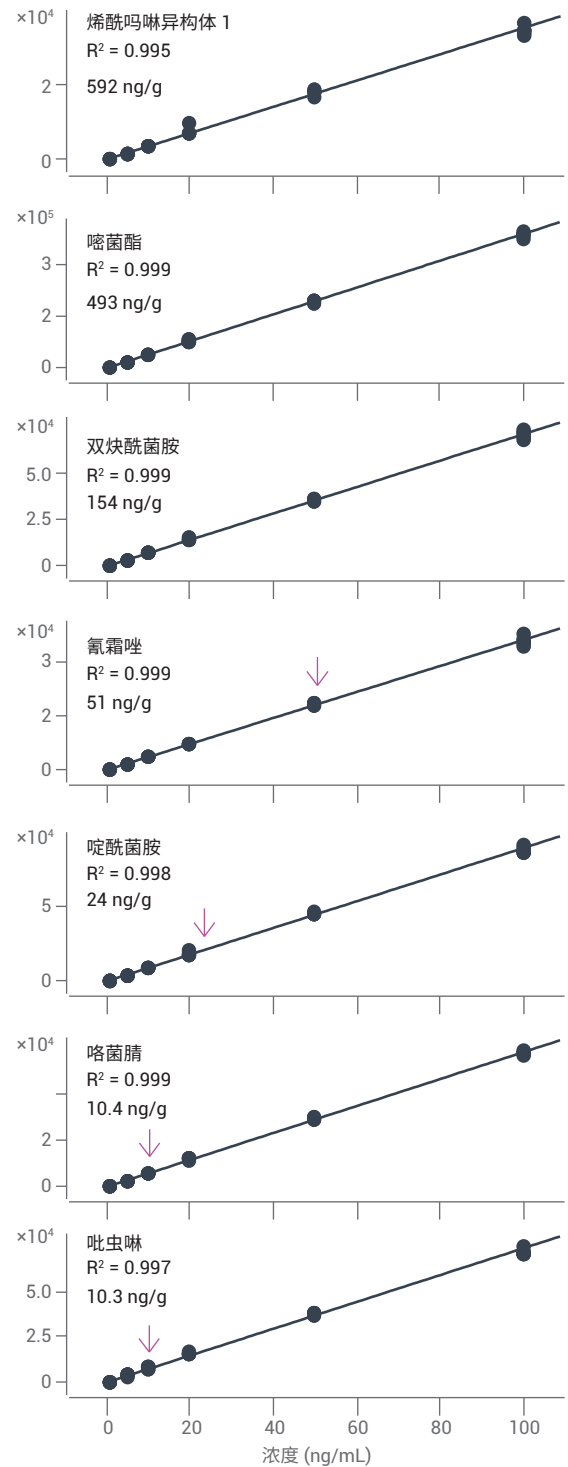
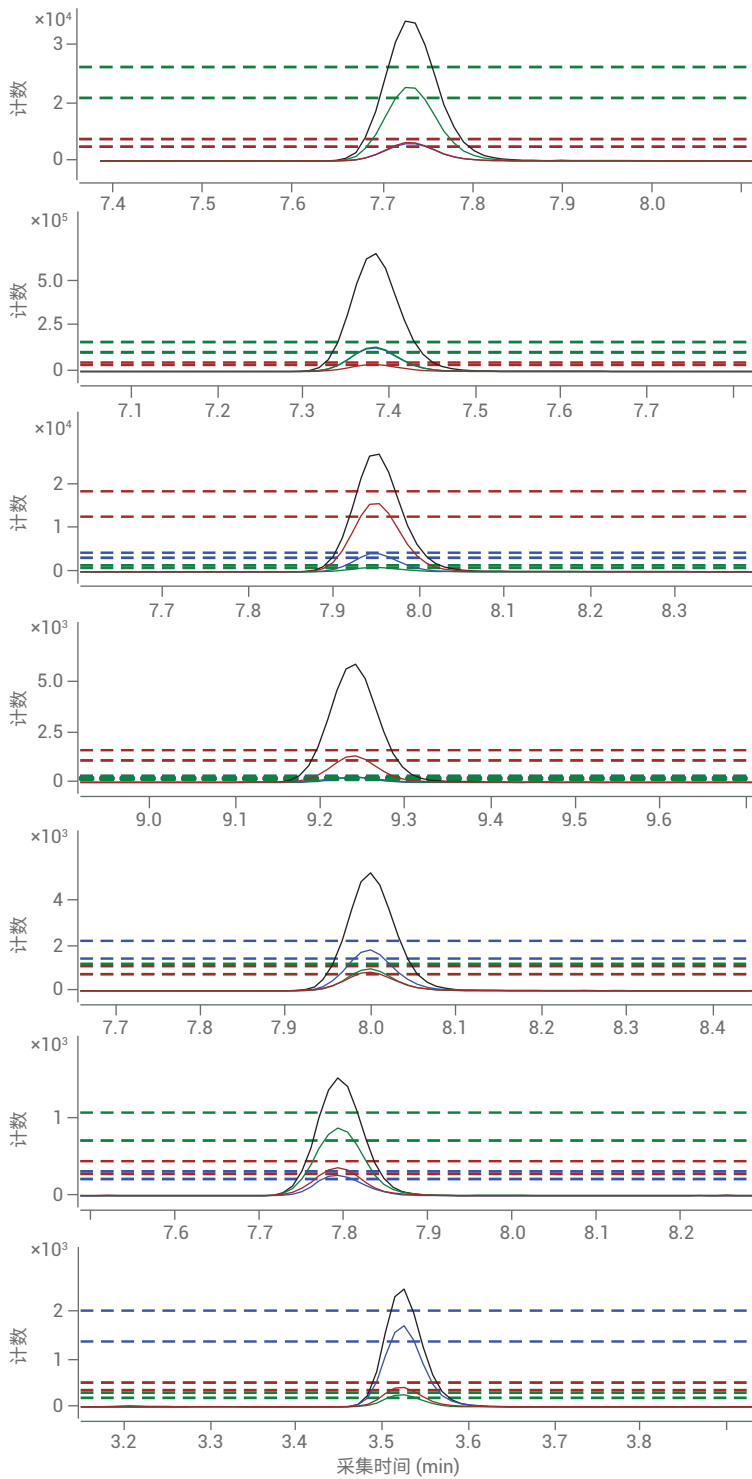


图 5. 非有机西兰花中检出的浓度等于或高于 MRL 的农药

结论

Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统适用于复杂食品基质中的农药多残留分析。Ultivo 三重四极杆液质联用系统的技术创新可实现稳定的检测且易于维护，非常适合常规生产实验室，以提高非专业 LC/MS 用户的分析能力。Quant-My-Way 可根据用户需求简化数据分析，大幅缩短从样品到报告的时间。此外，安捷伦全套工作流程解决方案包括样品前处理、数据库和报告，有利于在食品安全分析中实现快速方法开发和验证。

参考文献

1. Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council of 23 February 2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin (including amendments as of 18 March 2008) and complying with regulation (EC) 1107/2009
2. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues and analysis in food and feed, SANTE/11813/2017, 21–22 November 2017. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2017-11813.pdf

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

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，2017
2017年12月19日，中国出版
5991-8820ZHCN

