

使用安捷伦高通量在线自动化样品净化系统与 GC/MS/MS 平台对复杂基质中的多农药残留进行分析

作者

孔晔、曹喆
安捷伦科技（中国）有限公司

摘要

本文采用 Agilent PAL RTC 自动化样品前处理平台与 Agilent 7890B GC/7000D GC/MS/MS 系统联用，对复杂基质中的多农药残留进行分析。样品前处理方法采用目前最新 mini-SPE（固相萃取）技术，结合 PAL3 系列产品中的 PAL RTC 在线样品前处理平台，实现了样品净化程序的自动化。利用软件直接通讯设计使 PAL RTC 与 GC/MS 操作软件实现联机。采用同一规格的 mini-SPE GC 净化小柱，在线实现不同复杂基质的样品净化，并完成实时进样。该平台适用于对待测样品中的农药残留进行大规模筛查分析，在实现自动净化样品的同时，还可自动配制基质标准溶液、自动添加内标和分析物保护剂，真正实现在线样品前处理与进样分析的无缝连接，且整个过程无需人工值守。实验结果表明，PAL RTC 自动化样品前处理平台运行稳定可靠，所有化合物的基质标准溶液的线性相关系数均高于 0.995；净化效果突出，样品净化后溶液的全扫描谱图比较结果显示，mini-SPE 净化效果优于传统 QuEChERS 方法；样品加标回收率出色，大部分化合物的回收率均处于 70%–130% 之间，满足农药残留检测的需求；系统稳定性优异，对 5 ng/g 加标样品重复测定六次，在三种基质中的 133 种目标化合物中，超过 86.5% 化合物的测定结果 RSD 值小于 10%。

前言

随着农业生产技术的不断提高，农药的使用频率和种类不断增加。目前法规中对农药的监测范围相比实际应用的农药还存在一定差距。为合理、全面地监测植物源性食品的用药安全，需要采用适用范围更广的监测手段。最近几年，由安捷伦和客户合作提倡并发展出“大方法”筛查内容。其中监测的目标化合物可达上千种，基本覆盖目前国内使用的所有农药种类。该方法一经推出即受到广大食品分析客户的关注。

目前国际上流行的 QuEChERS 前处理方法具有快速、简便、经济、高效、稳定和安全等特点，能够同时测定多种农药^[1]。其操作流程简便，是大批量样品前处理的优选方法。因此，QuEChERS 自 2003 年由 Anastassiades 等人推出之后^[2]，便在食品基质的多农药残留分析中得到广泛应用。但是不容忽视的是，QuEChERS 技术对于基质复杂的样品往往无法达到很好的净化效果。因此在实际使用过程中，往往需要由经验丰富的操作者根据实际样品的特点对吸附材料的成分和比例进行优化，以实现更好的净化效果。

有没有一种比 QuEChERS 更简单、有效且适应范围更广的样品前处理技术呢？答案是肯定的。近几年兴起的 mini-SPE 技术结合了传统色谱柱 SPE 技术的特点^[3,4]，采用色谱级填料实现可与液相色谱柱相媲美的分离净化效果。其突出特点在于：柱体积更小而柱效更高，从而在实现更优异的净化效果的同时，还减少了样品上样体积和淋洗溶剂体积；使用 mini-SPE 技术可将单一净化柱应用于所有基质，无需再因不同基质对净化方法进行优化，降低了应用的复杂程度和对分析人员操作经验的要求。该技术最重要的贡献还在于真正实现了自动化样品净化。

本方法采用 ITSP Solution 公司提供的 mini-SPE 样品净化小柱，使用 Agilent PAL RTC 作为样品自动化净化前处理和进样平台，自动配制基质标准溶液，并根据需要加入分析物保护剂^[5]。选用苹果、橙子和油麦菜三种样品进行实际样品测试，将净化后的液体样品直接引入 Agilent 7890B GC/7000D GC/MS/MS 分析系统，在 MRM（多反应监测）模式下对近千种农药残留化合物进行筛查和定量分析，真正实现了农药大筛查分析全流程的自动化。

实验部分

试剂和样品

乙腈：农药残留级，购自百灵威；

农药混合标准品：购自 AccuStandard；

内标标准品：磷酸三苯酯 (TPP)，购自 AccuStandard；

保护溶剂 (AP)：乙基甘油 (Ethylglycerol，购自 Sigma)，古洛糖酸内酯 (Gulonolactone，购自 Sigma)，山梨醇 (D-sorbitol，购自 Sigma)。采用含有 1.1% 甲酸的 3:2 (v/v) 乙腈:水混合溶液作为溶剂，配制包含这三种保护剂的混合溶液，使乙基甘油、古洛糖酸内酯和山梨醇的浓度分别为 25 mg/mL、2.5 mg/mL 和 2.5 mg/mL；

Agilent QuEChERS 萃取盐包：部件号 5982-5650，包含 4 g 硫酸镁、1 g 氯化钠、1 g 柠檬酸钠和 0.5 g 柠檬酸氢二钠；

mini-SPE 净化小柱（用于 GC/MS 分析）：内含 45 mg MgSO₄/N-丙基乙二胺 (PSA)/C18/CarbonX (20/12/12/1, w/w/w/w) 填料，购自 ITSP Solution 公司 (Hartwell, GA; USA)；

样品：苹果、橙子、油麦菜三种样品，分别代表不同的基质类型，购于超市。

仪器和设备

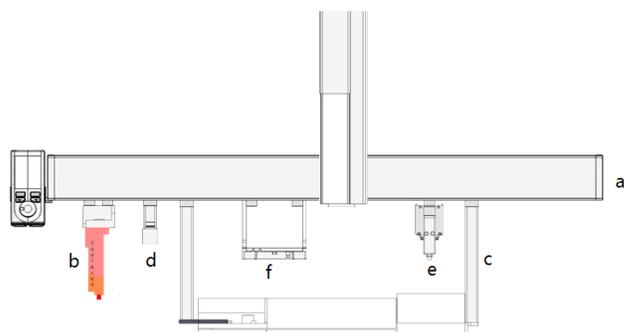
Agilent 7890B GC/7000D GC/MS，配备 EI 源；

Agilent PAL RTC 自动化样品前处理平台，如图 1 和图 2 所示；

进样针 10 μL 注射器以及对应自动进样针套件；

进样针 25 μL 注射器以及对应自动进样针套件；

进样针 1 mL 注射器以及对应自动进样针套件；



a. Agilent PAL RTC, b. 进样针套件停靠站, c. GC7890B 安装支架, d. 标准清洗模块, e. 快速清洗模块, f. 样品盘支架与 mini-SPE 套件

图 1. 用于 mini-SPE 净化的 Agilent PAL RTC 自动化样品前处理平台配置



图2. Agilent PAL RTC 自动化样品前处理平台

离心机：上海安亭科学仪器公司，TDL-5C 型；

分析天平：METTLER TOLEDO, AL104 型；

其它：Eppendorf 移液枪 2–20 μL ，10–100 μL ，100–1000 μL ；

色谱柱：HP-5MS UI 毛细管柱，30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm （部件号 19091S-433UI）。

样品前处理

选用苹果、橙子和油麦菜等三种样品进行分析，这三种样品分别代表水果和蔬菜，并分别代表高含糖量和高叶绿素含量的样品。按照 EN QuEChERS 方法进行样品萃取，分别配制样品溶液、基质溶液和质控样品溶液。

基质空白溶液和实际样品前处理：将样品切块后放入组织捣碎机中捣碎，形成匀浆。称取 10 g 样品（精确至 0.01 g）置于 50 mL 塑料离心管中，加入 10 mL 冷冻过的乙腈和 Agilent QuEChERS 萃取盐包和 1 颗陶瓷均质子，盖上离心管盖，剧烈振荡 1 min 后，在 4200 r/min 的转速下离心 5 min。对于每种基质，分别移取 6 份 1 mL 萃取液，加入 6 个 2 mL 进样小瓶中。其中 5 瓶用于后续自动配制基质加标校准标样，1 瓶用于制备实际分析样品。

基质加标样品前处理：将样品切块后放入组织捣碎机中捣碎，形成匀浆。称取 10 g 样品（精确至 0.01 g）置于 50 mL 塑料离心管中，分别向其添加目标分析物标准溶液，使其最终浓度分别达到 5 ng/mL、10 ng/mL 和 50 ng/mL。每种浓度制备 6 个平行样品。然后加入 10 mL 冷冻过的乙腈、Agilent QuEChERS 萃取盐包和 1 颗陶瓷均质子，盖上离心管盖，剧烈振荡 1 min 后，在 4200 r/min 的转速下离心 5 min。然后将萃取液分别移入 2 mL 进样瓶中，置于 PAL RTC 样品前处理平台中。

自动化样品前处理流程

在 Agilent PAL RTC 自动化样品前处理平台上采用 mini-SPE 净化小柱（见图 3）。将三种不同基质的 QuEChERS 萃取液分别移取 1 mL 加入 2 mL 进样瓶中，然后将其置于 PAL RTC 平台的样品模块盘上，启动样品前处理程序。



图3. mini-SPE 净化小柱

如图 4 所示，相比于传统的 QuEChERS 样品前处理方法，mini-SPE 能够节省一半以上的工作量。并且 PAL RTC 平台具有叠加进样功能，如图 5 所示。无论待分析的样品有多少个，全部样品前处理时间仅为第一个样品的样品前处理时间。因为从第二个样品开始，在前一个样品运行的同时，仪器可自动计算下一个样品前处理启动时间，实现第一个样品分析与第二个样品前处理同时进行，从而减少所需的时间，并提高工作效率。



图4. mini-SPE 净化工作流程



图 5. 样品叠加运行功能可节省时间并提高效率

本研究根据实验设计的需要，引入了目前国际上最先进的分析理念，如添加分析物保护剂（用于消除系统对活性物质的吸附）、内标（用于校正质谱系统的波动性）、配制校准标准样品（用于消除基质效应）等。并且，结合食品基质样品中农药残留分析的特点，利用 PAL RTC 能够自动更换进样针套件的优点，安捷伦专门开发出一整套集样品自动化前处理、样品基质加标工作曲线配制以及保护剂和内标添加于一体的自动化软件脚本程序，最终实现了一套高效、高通量、全自动化的样品分析流程。具体操作步骤见表 1。

表 1. mini-SPE 样品净化和进样步骤

操作步骤	动作描述	所需时间
1	使用乙腈作为洗针溶剂清洗 1 mL 自动进样针（清洗 2 次，每次 1 mL）	60 s
2	将 150 μ L 样品溶液在样品盘 1 的位置吸入 1 mL 自动进样针中	60 s
3	利用进样针将位于样品盘 4 的微柱放入样品盘 2 中带有玻璃内衬管的样品收集瓶上端	10 s
4	将样品萃取液以 2 μ L/s 的速度注入微柱中，进行样品净化	80 s
5	将完成净化程序的微柱放入原位	10 s
6	使用乙腈作为洗针溶剂，清洗 1 mL 进样针（清洗 2 次，每次 0.2 mL）	25 s
7	将 100 μ L 乙腈（添加 0.1% 乙酸）在标准清洗 3 的位置吸入 1 mL 自动进样针中	45 s
8	利用进样针将位于样品盘 4 的微柱放入到样品盘 2 中带有玻璃内衬管的样品收集瓶上端	10 s
9	将乙腈以 2 μ L/s 的速度注入微柱中，进行样品洗脱	85 s
10	使用自动换针功能将 1 mL 进样针换为 25 μ L 进样针，并使用乙腈进行清洗（清洗 2 次，每次 25 μ L）	75 s
11	将 20 μ L AP 溶液加入样品盘 2 中带有内衬管的样品收集瓶中	30 s
12	使用乙腈:甲醇:水比例为 1:1:1 的洗针溶液清洗 25 μ L 进样针（清洗 2 次，每次 25 μ L）	25 s
13	使用乙腈作为洗针溶剂清洗 25 μ L 进样针（清洗 2 次，每次 25 μ L）	25 s
14	将 5 μ L (1 μ g/mL) TPP 溶液加入样品盘中带有内衬管的样品收集瓶中	65 s
15	使用乙腈作为洗针溶剂清洗 25 μ L 进样针（清洗 2 次，每次 25 μ L）	20 s
16	将 20 μ L 乙腈加入样品盘中带有内衬管的样品收集瓶中	30 s
17	将 x μ L(1) 目标物标准品中间液加入样品盘 2 中带有内衬管的样品收集瓶中（对于样品测试，此步骤忽略）	35 s
18	使用乙腈作为洗针溶剂，清洗 25 μ L 进样针（清洗 2 次，每次 25 μ L）	25 s
19	使用自动换针功能将 25 μ L 进样针换为 1 mL 进样针，并使用乙腈进行清洗（清洗 2 次，每次 1 mL）	50 s
20	利用进样针对样品盘 2 位置的带有玻璃内衬管的样品收集瓶进行混匀	100 s
21	使用乙腈作为洗针溶剂，清洗 1 mL 进样针（清洗 2 次，每次 0.3 mL）	30 s
22	使用自动换针功能将 1 mL 进样针换为 10 μ L 进样针，并使用乙腈进行清洗（清洗 2 次，每次 10 μ L）	55 s
23	利用进样针将 1 μ L 的样品盘 2 中样品收集瓶中的样品溶液移至 GC 进样口，完成进样	35 s
24	使用乙腈作为洗针溶剂清洗 10 μ L 进样针（清洗 2 次，每次 10 μ L）	25 s
全部流程总时间		16.83 min

备注：当配制基质校准溶液时，需要在此步骤中按照表 2 加入适当体积的标准中间液，如果该程序用于样品测试，则添加体积为 0

通常情况下，由于存在样品基质效应，因此需要配制基质加标样品，绘制校准曲线，消除样品基质的影响。PAL RTC 样品前处理平台可以自动配制基质标准溶液，只需要在自动化软件脚本程序第 17 步中加入适当体积的目标化合物，该程序可以自动完成，也可以手动添加。具体添加的目标化合物标准品中间液和乙腈的体积与浓度如表 2 所示。该程序中，mini-SPE 上样体积仅需 150 μ L，洗脱体积仅需 100 μ L，相比于常规 SPE 净化方法通常需要几十毫升溶剂，mini-SPE 方法所需溶剂的量减少了三个数量级，因此可以说该方法是一个绿色无污染的样品净化方法。

表 2. 配制基质加标样品时加入的目标化合物标准品中间液和乙腈的体积与浓度

目标物浓度 (ng/mL)	乙腈体积 (μL)	目标物标准品中间液体积 (μL)	目标物标准品中间液浓度 (ng/mL)
0	20	0	--
5	14.5	5.5	200
10	9	11	200
20	15.6	4.4	1
50	9	11	1
100	9	11	2

气相色谱条件

程序升温：初始温度 60 °C，保持 1 min，然后以 40 °C/min 的速率升至 120 °C，再以 5 °C/min 的速率升至 310 °C

载气：氦气，恒流模式，1.0 mL/min

进样口：多模式进样口 (MMI)，配备带玻璃毛的超高惰性衬管 (部件号 5190-2293)

进样口温度：280 °C

进样方式：不分流进样

进样量：1.0 μL

传输线温度：280 °C

质谱条件

离子源：电子轰击源，70 eV

离子源温度：280 °C

四极杆温度：150 °C

溶剂延迟：4.5 min

EM 电压：增益因子 10

检测方式：MRM (使用 Agilent G9250 农药与污染物数据库创建 667 种农药分析 MRM 筛查方法)

碰撞气：N₂，1.5 mL/min

淬灭气：He，2.25 mL/min

结果与讨论

mini-SPE 样品前处理与传统 QuEChERS 方法结果比较

为验证 mini-SPE 的净化效果与传统 QuEChERS 净化效果的区别，特设计了一组对照试验。按照“样品前处理”部分所述方法进行样品的提取。在传统 QuEChERS 样品净化中，吸取 6 mL 乙腈层上清液加入至包含 QuEChERS 分散式固相萃取试剂盒 (部件号 5982-5056) 的 15 mL 塑料离心管中，涡旋混匀 1 min；在 4200 r/min 的转速下离心 5 min；然后将全部上清液移至 2 mL 进样瓶中，等待上机分析。而采用 PAL RTC 自动化样品前处理平台进行处理时，吸取 2 mL 乙腈层上清液加入 2 mL 进样瓶中，置于样品盘中，使用 PAL RTC 样品前处理平台通过 mini-SPE GC 净化小柱进行自动化样品净化。

利用 GC/MS 全扫描模式对这两种净化方案的效果进行监测，苹果、橙子和油麦菜萃取液经 QuEChERS 和 mini-SPE 净化后采集的总离子流色谱图，分别如图 6-8 所示。从图中可以看出，采用 mini-SPE 净化后的实际样品萃取液，在色谱峰数量以及色谱峰响应方面均明显优于传统 QuEChERS 的结果。并且根据后续目标化合物的加标回收率结果可以看出，减少的色谱峰都是来自于杂质干扰，而非目标物。由此可见，虽然 mini-SPE 净化填料体积小且产品单一，但是该方案反而具有更强大的净化能力。mini-SPE 的净化效果更好，因此采用该方案进行复杂基质中的多农药残留测定时，仪器需要维护的频率大大降低，提高了实验室的工作效率。

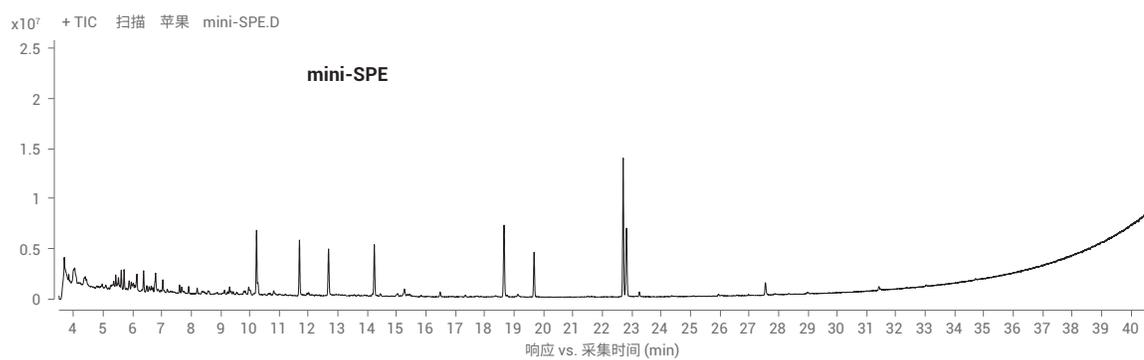
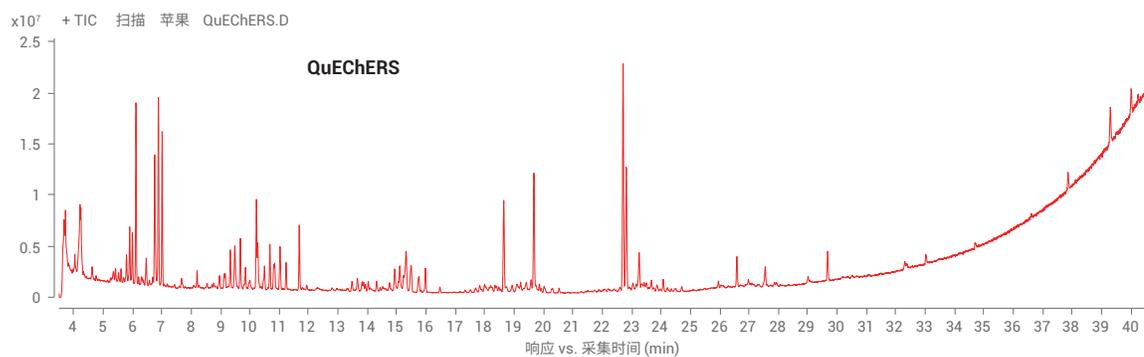


图 6. 苹果萃取液经 QuEChERS 和 mini-SPE 净化后采集的总离子流色谱图

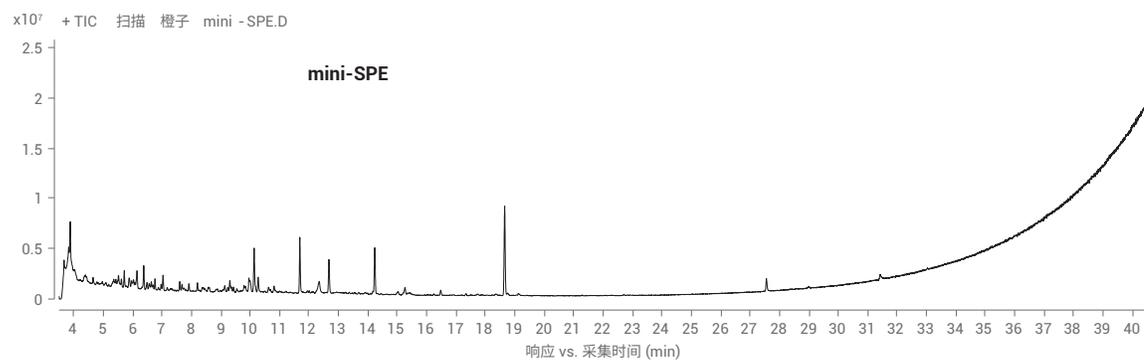
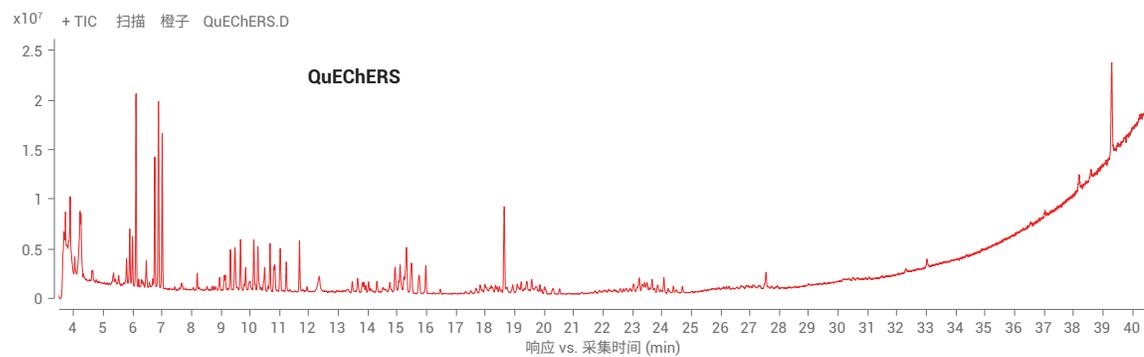


图 7. 橙子萃取液经 QuEChERS 和 mini-SPE 净化后采集的总离子流色谱图

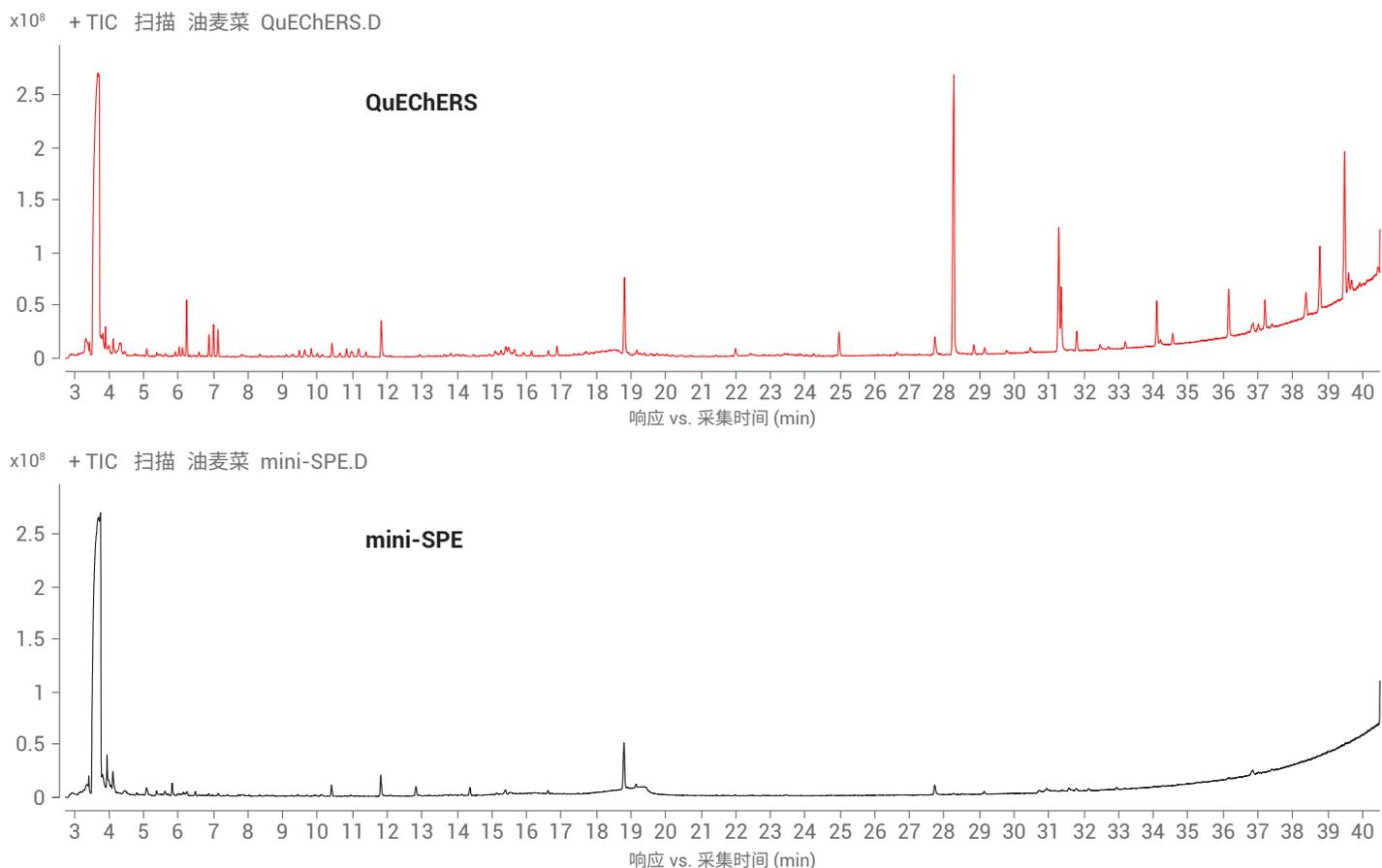


图 8. 油麦菜萃取液经 QuEChERS 和 mini-SPE 净化后采集的总离子流色谱图

自动化分析平台筛查阳性化合物结果

本研究采用的 GC/MS/MS 筛查方案基于安捷伦农药与污染物数据库中的 1100 多种化合物方法信息，从中选出 667 种农药化合物采集方法，直接创建采集方法文件和定量方法文件，对三种空白基质样品和基质加标样品进行筛查和定量分析。

采用 GC/MS/MS 的“大方法”对 133 种阳性化合物进行筛查。为更好地评估 mini-SPE 的净化能力，在苹果、橙子和油麦菜等三种基质样品中分别添加浓度为 5 ng/mL、10 ng/mL 和 50 ng/mL 的 133 种目标化合物（化合物清单见表 3），利用 GC/MS/MS 对样品进行定量分析，对加标回收率和数据稳定性进行评估。

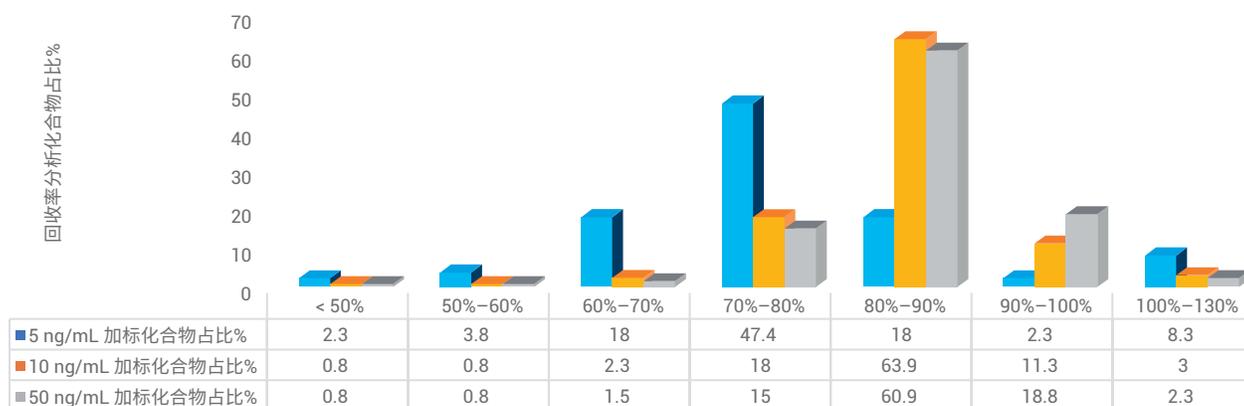
表 3. 基质加标化合物清单

编号	名称	英文名称	CAS	编号	名称	英文名称	CAS
1	甲氟磷	Dimefox	115-26-4	68	二甲戊灵	Pendimethalin (Penoxaline)	40487-42-1
2	甲胺磷	Methamidophos	10265-92-6	69	特丁硫磷砒	Terbufos sulfone	56070-16-7
3	敌敌畏	Dichlorvos	62-73-7	70	克菌丹	Captan	133-06-2
4	乙酰甲胺磷	Acephate	30560-19-1	71	顺-环氧七氯	Heptachlor endo-epoxide (isomer A)	1024-57-3
5	庚烯磷	Heptenophos	23560-59-0	72	毒虫畏	Chlorfenvinphos	470-90-6
6	氧乐果	Omethoate	1113-02-6	73	喹硫磷	Quinalphos	13593-03-8
7	虫线磷	Thionazin	297-97-2	74	灭菌丹	Folpet	133-07-3
8	残杀威	Propoxur	114-26-1	75	三唑醇	Triadimenol	55219-65-3
9	甲基内吸磷	Demeton-S-methyl	919-86-8	76	反-氯丹	Chlordane-trans (gamma)	5103-74-2
10	灭线磷	Ethoprophos (Ethoprop)	13194-48-4	77	烯虫酯	Methoprene	40596-69-8
11	杀虫脒	Chlordimeform	6164-98-3	78	杀扑磷	Methidathion	950-37-8

编号	名称	英文名称	CAS	编号	名称	英文名称	CAS
12	二溴磷	Naled	300-76-5	79	DDE-o,p'	DDE-o,p'	3424-82-6
13	氟乐灵	Trifluralin	1582-09-8	80	硫丹-alpha	Endosulfan I (alpha isomer)	959-98-8
14	乙丁氟灵	Benfluralin	1861-40-1	81	蚜灭磷	Vamidothion	2275-23-2
15	硫线磷	Cadusafos	95465-99-9	82	顺-氯丹	Chlordane-cis (alpha)	5103-71-9
16	甲拌磷	Phorate	298-02-2	83	杀虫畏	Tetrachlorvinphos	961-11-5
17	六六六-alpha	BHC-alpha	319-84-6	84	氟节胺	Flumetralin	62924-70-3
18	久效磷	Monocrotophos	6923-22-4	85	苯线磷	Fenamiphos (Phenamiphos)	22224-92-6
19	六氯苯	Hexachlorobenzene	118-74-1	86	敌草胺	Napropamide	15299-99-7
20	氯硝胺	Dicloran (Dichloran)	99-30-9	87	丙硫磷	Prothiofos	34643-46-4
21	乐果	Dimethoate	60-51-5	88	稻瘟灵	Isoprothiolane	50512-35-1
22	克百威	Carbofuran	1563-66-2	89	丙溴磷	Profenofos	41198-08-7
23	六六六-beta	BHC-beta	319-85-7	90	DDE-p,p'	DDE-p,p'	72-55-9
24	异恶草酮	Clomazone	81777-89-1	91	狄氏剂	Dieldrin	60-57-1
25	八甲磷	Schradan	152-16-9	92	烯效唑	Uniconazole	83657-22-1
26	六六六-gamma	BHC-gamma	58-89-9	93	DDD-o,p'	DDD-o,p'	53-19-0
27	特丁硫磷	Terbufos	13071-79-9	94	腈菌唑	Myclobutanil	88671-89-0
28	地虫硫磷	Fonofos	944-22-9	95	异狄氏剂	Endrin	72-20-8
29	六六六-delta	BHC-delta	319-86-8	96	除草醚	Nitrofen	1836-75-5
30	二嗪磷	Diazinon	333-41-5	97	硫丹-beta	Endosulfan II (beta isomer)	33213-65-9
31	乙拌磷	Disulfoton	298-04-4	98	乙酯杀螨醇	Chlorobenzilate	510-15-6
32	磷胺	Phosphamidon	13171-21-6	99	丰索磷	Fensulfothion	115-90-2
33	百菌清	Chlorothalonil	1897-45-6	100	倍硫磷亚砷	Fenthion sulfoxide	3761-41-9
34	兹克威	Mexacarbate	315-18-4	101	DDD-p,p'	DDD-p,p'	72-54-8
35	氯唑磷	Isazofos (Miral, Isazophos)	42509-80-8	102	DDT-o,p'	DDT-o,p'	789-02-6
36	七氟菊酯	Tefluthrin, cis-	79538-32-2	103	倍硫磷砷	Fenthion sulfone	3761-42-0
37	异稻瘟净	Iprobenfos	26087-47-8	104	恶霜灵	Oxadixyl	77732-09-3
38	胺硫磷	Formothion	2540-82-1	105	乙硫磷	Ethion	563-12-2
39	抗蚜威	Pirimicarb	23103-98-2	106	三唑磷	Triazophos	24017-47-8
40	甲基毒死蜱	Chlorpyrifos-methyl	5598-13-0	107	草枯醚	Chlornitrofen	1836-77-7
41	甲基对硫磷	Parathion-methyl	298-00-0	108	苯霜灵	Benalaxyl	71626-11-4
42	阿拉酸式苯-S-甲基	Acibenzolar-S-methyl	135158-54-2	109	硫丹硫酸酯	Endosulfan sulfate	1031-07-8
43	甲萘威	Carbaryl	63-25-2	110	DDT-p,p'	DDT-p,p'	50-29-3
44	七氯	Heptachlor	76-44-8	111	苯线磷砷	Fenamiphos sulfone	31972-44-8
45	甲草胺	Alachlor	15972-60-8	112	苯硫磷	EPN	2104-64-5
46	甲霜灵	Metalaxyl	57837-19-1	113	联苯菊酯	Bifenthrin	82657-04-3
47	皮蝇磷	Ronnel (Fenchlorphos)	299-84-3	114	甲氧滴滴涕	Methoxychlor, p,p'-	72-43-5
48	甲硫威砷	Methiocarb sulfone	2179-25-1	115	三氯杀螨砷	Tetradifon	116-29-0
49	甲基内吸磷砷	Demeton-S-methyl sulfon	17040-19-6	116	保棉磷	Azinphos-methyl	86-50-0
50	杀螟硫磷	Fenitrothion	122-14-5	117	伏杀硫磷	Phosalone	2310-17-0
51	甲硫威	Methiocarb	2032-65-7	118	溴苯磷	Leptophos	21609-90-5
52	除草定	Bromacil	314-40-9	119	灭蚊灵	Mirex	2385-85-5
53	甲基嘧啶磷	Pirimiphos-methyl	29232-93-7	120	功夫菊酯	Cyhalothrin (lambda)	91465-08-6
54	艾氏剂	Aldrin	309-00-2	121	益棉磷	Azinphos-ethyl	2642-71-9
55	马拉硫磷	Malathion	121-75-5	122	吡菌磷	Pyrazophos	13457-18-6
56	异丙甲草胺	Metolachlor	51218-45-2	123	丙硫克百威	Benfuracarb	82560-54-1
57	倍硫磷	Fenthion	55-38-9	124	顺-氯菊酯	Permethrin (cis-)	61949-76-6
58	对硫磷	Parathion	56-38-2	125	氟氯氰菊酯	Cyfluthrin	68359-37-5
59	毒死蜱	Chlorpyrifos	2921-88-2	126	氯氰菊酯	Cypermethrin	52315-07-8
60	三唑酮	Triadimefon	43121-43-3	127	氟氰戊菊酯	Flucythrinate	70124-77-5
61	氯酞酸二甲酯	DCPA (Dacthal, Chlorthal-dimethyl)	1861-32-1	128	氟戊菊酯	Fenvalerate	51630-58-1
62	溴硫磷	Bromophos	2104-96-3	129	苯醚甲环唑	Difenoconazole	119446-68-3
63	仲丁灵	Butralin	33629-47-9	130	溴氰菊酯	Deltamethrin	52918-63-5
64	双苯酰草胺	Diphenamid	957-51-7	131	啉菌酯	Azoxystrobin	131860-33-8
65	异丙乐灵	Isopropalin	33820-53-0	132	恶唑菌酮	Famoxadone	131807-57-3
66	反-环氧七氯	Heptachlor exo-epoxide (isomer B)	28044-83-9	133	烯酰吗啉	Dimethomorph	110488-70-5
67	戊菌唑	Penconazole	66246-88-6				

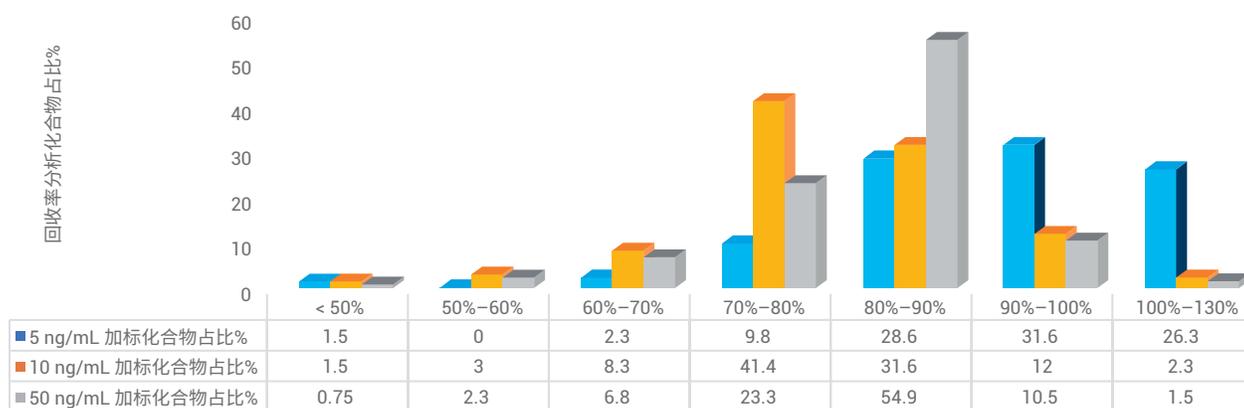
PAL RTC 自动化分析方法回收率结果

苹果样品 5 ng/mL、10 ng/mL 和 50 ng/mL 的样品加标回收率结果



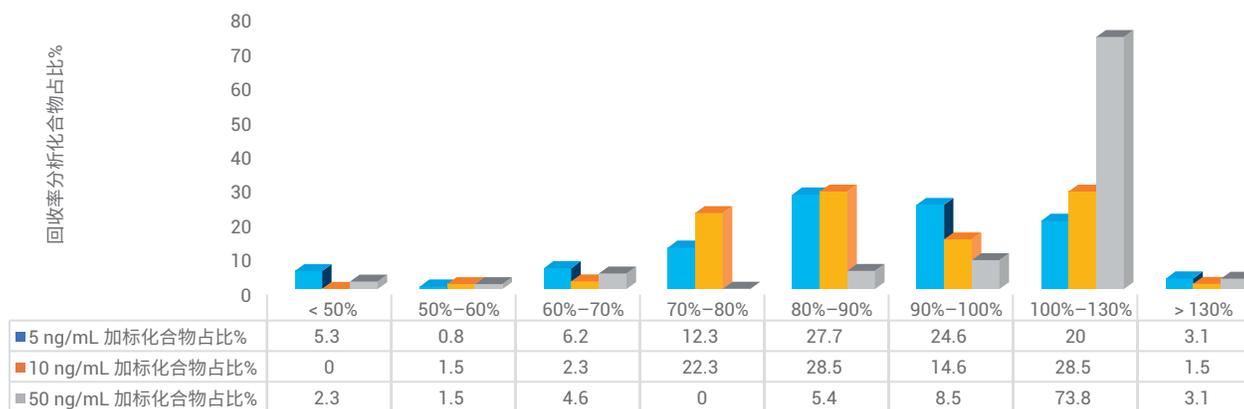
苹果样品加标回收率百分比分布

橙子样品 5 ng/mL、10 ng/mL 和 50 ng/mL 的样品加标回收率结果



橙子样品加标回收率百分比分布

油麦菜样品 5 ng/mL、10 ng/mL 和 50 ng/mL 的样品加标回收率结果



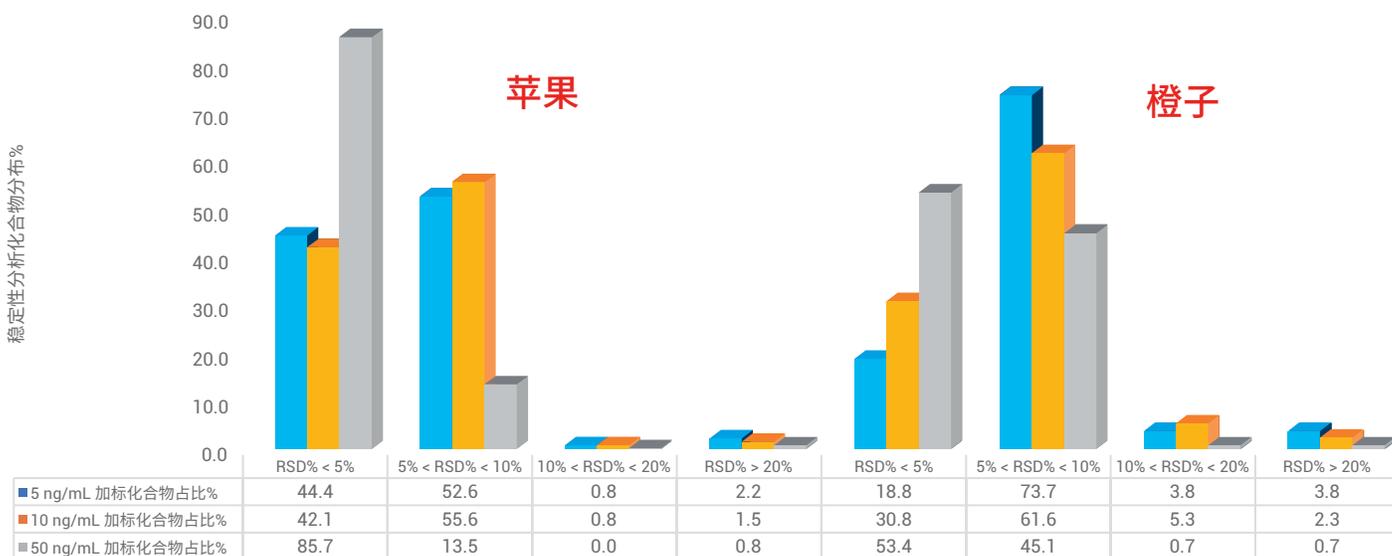
油麦菜样品加标回收率百分比分布

图 9. 三种基质加标样品（苹果、橙子和油麦菜）的加标回收率结果（加标浓度分别为 5 ng/mL、10 ng/mL 和 50 ng/mL）

三种基质样品（苹果、橙子和油麦菜）的加标回收率实验结果如图 9 所示。从图中可以看出，对于苹果基质加标样品，在加标浓度为 5 ng/mL、10 ng/mL 和 50 ng/mL 浓度的情况下，回收率在 70%–130% 之间的化合物的比例分别为 76%、96.2% 和 97%；对于橙子基质加标样品，在加标浓度为 5 ng/mL、10 ng/mL 和 50 ng/mL 浓度的情况下，回收率在 70%–130% 之间的化合物的比例分别为 97.3%、87.3% 和 90.2%；对于油麦菜基质样品，在加标浓度为 5 ng/mL、10 ng/mL 和 50 ng/mL 浓度的情况下，回收率在 70%–130% 之间的化合物的比例分别为 87.7%、95.4% 和 90.8%。

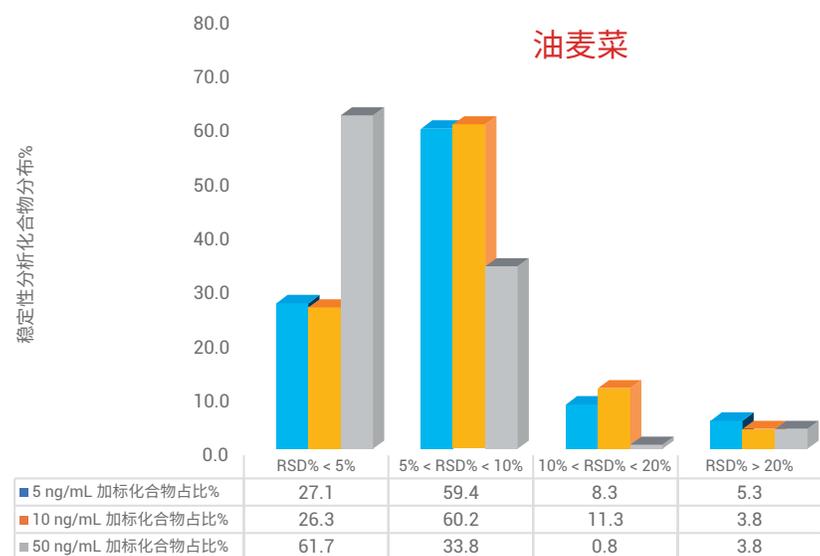
PAL RTC 样品前处理平台定量稳定性

自动化 CTC 样品处理平台对平行样品稳定性测试结果 (n = 6)



苹果和橙子样品中 5 ng/mL、10 ng/mL 和 50 ng/mL 加标浓度平行样品稳定性分析分布图

自动化 CTC 样品处理平台对平行样品稳定性测试结果 (n = 6)



油麦菜样品中 5 ng/mL、10 ng/mL 和 50 ng/mL 加标浓度平行样品稳定性分析分布图

图 10. 三种基质加标样品（苹果、橙子和油麦菜）重复测定的稳定性（加标浓度为 5 ng/mL、10 ng/mL 和 50 ng/mL，每个浓度重复测定 6 次）

三种基质加标样品（苹果、橙子和油麦菜）重复测定的稳定性结果如图 10 所示。从图中可以看出，对于苹果基质加标样品，在加标浓度为 5 ng/mL、10 ng/mL 和 50 ng/mL 浓度的情况下，RSD 值小于 10% 的化合物比例分别为 97.0%、97.7% 和 99.2%；对于橙子基质加标样品，在加标浓度为 5 ng/mL、10 ng/mL 和 50 ng/mL 浓度的情况下，RSD 值小于 10% 的化合物比例分别为 92.5%、92.4% 和 98.5%；对于油麦菜基质加标样品，在加标浓度为 5 ng/mL、10 ng/mL 和 50 ng/mL 浓度的情况下，RSD 值小于 10% 的化合物比例分别为 86.5%、86.5% 和 95.5%。

PAL RTC 样品前处理方法的适用性

在验证方法所用的 133 种农药化合物中，包括丙硫克百威 (Benfuracarb)，该化合物的结构如图 11 所示。本研究发现，采用 mini-SPE 小柱进行净化的过程中，该化合物会发生特异性吸附，导致其回收率在三种不同基质和三种不同加标浓度（5 ng/mL、10 ng/mL 和 50 ng/mL）中均为 0，而采用 QuEChERS 样品前处理方案时，该化合物的回收率则不受影响。其发生吸附的原因目前尚不明确。鉴于此，在应用 mini-SPE 技术分析目标农药残留时，需要首先对该技术的适用性进行测试，以保证方案的有效性。

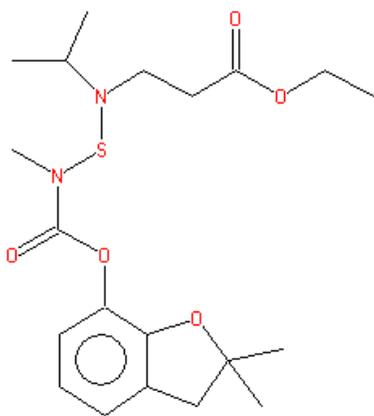


图 11. 丙硫克百威 (Benfuracarb) 的化学结构

结论

本应用采用 mini-SPE 净化小柱，结合 Agilent PAL RTC 自动化样品前处理平台和经典的 7000D GC/MS/MS 分析系统，并借助自动化进样针切换技术，提供了一套从样品前处理净化到自动进样分析的完整解决方案，真正实现了农药筛查和定量分析全流程的自动化。从实验结果可以看出：

- **方法更加简单：**一种净化柱适用于所有基质，mini-SPE 方法无需针对不同基质进行再优化
- **对环境更加友好：**每个样品所需的溶剂量大大减少，仅需上样 150 μ L，且洗脱溶剂仅需 100 μ L

- **mini-SPE 净化效果更好：**从全扫描谱图可以看出 mini-SPE 净化效果明显优于传统 QuEChERS 方法
- **工作效率高：**从而减少了仪器的维护频率，减少了停机时间，该方案的重叠进样功能能够在序列运行时，将样品前处理时间与 GC 运行时间叠加，在实现完全自动化分析的同时节省了分析时间，提高了样品通量
- **方法成熟：**绝大部分化合物回收率在 70%–130% 之间，RSD 值小于 10%，满足农药残留检测需求；PAL RTC 自动化样品前处理平台与 Agilent 7000D GC/MS/MS 分析系统联机工作，系统运行稳定可靠，能够实现 7 \times 24 h 不间断运行
- **仪器智能化水平更高：**通过编制自定义前处理平台软件脚本，操作者可以轻松执行国际上最先进的分析理念，并全自动完成分析，在解放人力的同时，提供高质量的分析结果

参考文献

1. Rejczak T., Tuzimski T., A review of recent developments and trends in the QuEChERS sample preparation approach, *Open Chem.*, 2015, 13 (1): 980–1010
2. Anastassiades M., Lehotay S.J., 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. AOAC Int.*, 2003, 86 (2): 412-431
3. Lehotay S.J., Han L., Sapozhnikova Y., Automated Mini-Column Solid-Phase Extraction Cleanup for High-Throughput Analysis of Chemical Contaminants in Foods by Low-Pressure Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Chromatographia*, 2016, 79 (17–18): 1113–1130
4. Morris B.D., Shriner R.B., Development of an Automated Column Solid-Phase Extraction Cleanup of QuEChERS Extracts, Using a Zirconia-Based Sorbent, for Pesticide Residue Analyses by LC-MS/MS, *J. Agric. Food Chem.*, 2015, 63 (21): 5107–5119
5. Anastassiades M., Maštovská K., Lehotay, S.J., Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides, *J. Chromatogr. A*, 2003, 1015 (1–2): 163–184

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

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2018
2018年11月25日，中国出版
5994-0462ZHCN

