

使用配备APGC™的GC-MS/MS测定经过QuEChERS提取与净化后黄瓜中的农药残留

Janitha De-Alwis, Stuart Adams, Simon Hird

Waters Corporation

摘要

检测、定量和鉴定许多不同商品中的数百种农药残留需要使用可靠的分析方法。本应用纪要开发并验证了一种基于气相色谱-串联质谱法(GC-MS/MS)测定200多种农药的综合方法。使用一版QuEChERS (Quick (快速)、Easy (简便)、Cheap (经济)、Effective (有效)、Rugged (稳定)和Safe (安全))方法制备黄瓜提取物，该方法包括分散固相萃取(dSPE)步骤，随后使用GC-MS/MS进行测定。研究表明，GC-MS/MS使用大气压气相色谱(APGC)与使用电子电离(EI)相比，显著提升了农药残留分析在选择性和特异性方面的性能。APGC Xevo™ TQ-XS系统的灵敏度非常高，即使在1 μL的进样体积下，也能可靠检测浓度低至0.001 mg/kg的所有分析物。该方法使用SANTE指南文件在黄瓜中得到成功验证。加标分析结果表明，几乎所有分析物的回收率和重现性都在相应的偏差范围内。该方法的灵敏度、专属性、准确度已获认可，适用于测定农产品中各种适合GC分析的农药残留，检查农产品是否符合农药最大残留量(MRL)规定，并且可用于更低浓度的测定。

优势

- APGC系统的灵敏度非常高，有助于满足食品农药残留分析的相关需求
 - 通过不分流进样1 μL乙腈提取物实现了足够的灵敏度
 - APGC为实验室增加了灵活性，因为相同的串联质谱(MS/MS)系统也可以与UPLC™结合使用
-

简介

植物保护产品，通常称为农药，用于防治害虫、杂草和疾病。对食品或饲料生产中用作原料的农作物施用这类产品而导致的农药残留问题是威胁公众健康或阻碍贸易的一大风险因素，应确定这类产品在未加工农产品中的MRL或偏差。部分国家/地区（例如欧盟和日本）采用“默认MRL”体系，该体系相当于MRL执行法规所用分析方法可实现的定量限(LOQ)，适用于MRL立法中未明确提及的农药。默认MRL的值通常为0.01 mg/kg。通过监测产品中的残留物来检查是否符合MRL。政府通常会实施农药残留检测计划，食品行业及合同检测实验室也会进行检测，以检查农产品、配料和成品食品中的农药残留量。

检测、定量和鉴定许多不同商品中的数百种农药残留需要使用可靠的分析方法。对于所有参与食品中农药残留测定的实验室而言，他们希望达成的一个主要目标是，以更具成本效益的方式准确测定相关浓度的目标化合物。实验室必须持续解决能力和效率问题，满足样品通量要求并达到更低的报告限。多残留方法的实施依赖于净化量有限的通用提取方案（例如QuEChERS），以及使用气相和液相色谱与MS/MS联用进行的测定，不仅显著扩展了分析范围，还极大地提升了实施效率。

农药残留分析实验室始终需要气相色谱法(GC)来补充液相色谱法(LC)，以涵盖所需分析物的范围。GC是一项强大的技术，可用于测定更易挥发、非极性和弱极性的农药。使用MS/MS测定食品中适合GC的农药可实现较高的选择性和灵敏度，并尽可能降低色谱干扰。GC-MS/MS常用的电离技术是EI，因为它可以测定多种有机化合物。但是，由于离子流分布在许多强度较差的离子上，大量裂解会使灵敏度下降，并且形成的低特异性碎片离子会导致选择性较低。研究表明，GC-MS/MS使用APGC与使用EI相比，显著提升了农药残留分析在选择性和特异性方面的性能¹⁻⁴。如果选择分子/质子化离子或高质量碎片离子作为MS/MS中MRM离子对的母离子，则选择性和灵敏度会提高。

本研究的目的是展示经QuEChERS处理后在Xevo TQ-XS上使用配备APGC的GC-MS/MS测定农药残留的方法的性能。QuEChERS是一种通用的简化方法，在离心管中使用溶剂进行快速提取，随后使用dSPE进行净化，适合于GC-MS/MS法分析提取物结合使用。

实验

样品制备、提取和净化

从当地零售店购买黄瓜样品，立即用食品加工机均质化，冷冻储存备用。此外，从FAPAS购买黄瓜泥质控样品(T19290QC)。使用CEN QuEChERS方法提取样品⁵。图1显示了样品提取与净化程序的细节概述。

使用GC多残留农药套装(Restek pn 32562)制备工作溶液，创建基质匹配校准标准品并用于加标黄瓜供试品。配制浓度范围为0.0005~0.10 mg/kg的校准标样。

GC条件

GC系统:	Agilent 7890A
自动进样器:	CTC CombiPal
清洗溶剂:	清洗液1: 乙酸乙酯 清洗液2: 乙腈
GC色谱柱:	Restek Rxi-5Sil MS (30 m x 0.25 mm内径x 0.25 μm膜厚)
载气:	氦气
柱温箱程序:	90 °C保持1 min, 以8.5 °C/min升至330 °C, 保持5 min
气体流速:	2 mL/min (恒流模式)
进样类型:	脉冲不分流
进样口温度:	250 °C
脉冲时间:	1.2 min
脉冲压力:	32 psi

吹扫速度:	30 mL/min
隔垫吹扫流速:	3 mL/min
进样口衬管:	Restek Topaz 4.0 mm内径单细径锥衬管, 带玻璃毛
进样体积:	1 μ L
尾吹气体:	氮气, 350 mL/min
传输管路温度:	280 $^{\circ}$ C

质谱条件

质谱仪:	Xevo TQ-XS
离子源类型:	APGC 2.0, 以水为改性剂
离子源温度:	150 $^{\circ}$ C
传输管路温度:	280 $^{\circ}$ C
电晕电流:	2.0 μ A
辅助气体流速:	200 L/h
锥孔气流速:	265 L/h

数据管理

质谱采集软件:	MassLynx™ v4.2
---------	----------------

定量软件：

TargetLynx™ XS

我们使用Quanpedia™数据库创建了203种农药及其代谢物的GC-MS/MS方法，该数据库会根据化合物特定MS参数（例如通道和碰撞能量）合集自动创建MS采集方法和处理方法。方法中包含的化合物列表见附件。

方法验证

通过重复分析加标黄瓜进行方法验证，评估了以下因素：选择性、灵敏度、校准图特性、回收率和实验室内重复性(RSD_r)通过分析两种浓度的五个重复样确定回收率和重复性：欧盟默认MRL (0.01 mg/kg)和该值1/10的浓度 (0.001 mg/kg)。此外，还制备、分析了质控样品(T19290QC)的五个重复样，并将结果与FAPAS提供的指定值进行了比较。

结果与讨论

图2显示了选定分析物的色谱图，自动计算驻留时间，同时确保每个峰至少有12个数据点以供精确测量。

乙腈具有较大的膨胀体积，这会限制传统不分流进样的进样体积并影响灵敏度。虽然更换溶剂（例如甲苯）或切换到不同设计的进样器（带溶剂排放口的程序升温汽化装置）可避免此问题，但使用乙腈时进样1 μL即可获得足够灵敏度的性能，以及简便易用的常规不分流进样装置，更具吸引力。

通过评估基质匹配标准品在低浓度(0.0005 mg/kg)下的响应以及空白样品的响应，来评估方法的灵敏度。在该方法中的203种分析物中，有两种未检出（灭螨醌和艾氏酸酐），其余所有分析物均可在0.0005 mg/kg浓度下检出（但有一种除外），85%的分析物所表现出的响应表明，它们可以在更低浓度下检出。图3显示了黄瓜基质匹配标准品(0.001 mg/kg)中选定农药的分析色谱图。这表明APGC方法具有非常高的灵敏度，即使在1 μL的进样体积下，也能可靠检测极低浓度的所有分析物。

通过评估校准图特性确定每种分析物的最低校准含量(LCL)。由于校准图在整个浓度范围内的残差较高(>20%)且确定系数(r^2)仅0.96，因此苯醚菊酯的分析性能只能视为半定量。由于残差较高(>20%)，以下分析物的校准图中排除了低浓度数据点，并相应地调整了LCL值：敌菌丹(0.005 mg/kg)、百菌清(0.005 mg/kg)、op DDT (0.005

mg/kg)、灭菌丹(0.001 mg/kg)和异艾氏剂(0.001 mg/kg)。调整这些值之后，除苜蓿菊酯以外，其余所有分析物的残差都在±20% SANTE偏差范围内⁶。除敌菌丹($r^2=0.98$)外，其他所有分析物校准图的 r^2 均>0.99。分析黄瓜基质匹配标准品中选定农药的分段校准曲线见图4。

使用TargetLynx XS计算并标记鉴定标准、保留时间和离子丰度比。每种加标样品中检出的每种分析物的保留时间和离子丰度比应与校准标准品的保留时间和离子丰度比相符⁶。所有分析物的保留时间都在±0.1 min的偏差范围内。97%的分析物的0.001 mg/kg加标样品分析的离子丰度比在同一序列校准标准品平均值的±30%以内，地茂散、草灭特、二苯胺、2,3,5,6-四氯苯胺和胺菊酯除外。所有分析物的0.01 mg/kg加标分析数据的离子丰度比都在偏差范围内。

使用两个浓度的五个重复样加标分析的数据评估回收率。SANTE指导原则规定，测试的每个加标浓度的平均回收率应介于70%-120%之间⁶。0.001 mg/kg加标分析的结果表明，94%的分析物在该偏差范围内，以下分析物例外：甲基谷硫磷(58%)、敌菌丹(64%)、溴虫腈(69%)、百菌清(156%)、op DDT (10%)和苜蓿菊酯（由于定量不佳而没有结果）。在较高浓度0.01 mg/kg下，只有敌菌丹(69%)刚好超出偏差范围，苜蓿菊酯(74%)的结果因未充分校准而被认为仅具有指示性。回收率结果总结见图5。

该方法的重复性(RSD_r)也令人满意，SANTE指南规定，测试的每个加标浓度的 RSD_r 应≤20%⁶。在0.001 mg/kg加标浓度下，99%的分析物在此偏差范围内，op DDT (34%)和异艾氏剂(23%)除外。在较高浓度0.01 mg/kg下，所有分析物的 RSD_r 值均≤20%。重复性结果总结见图6。

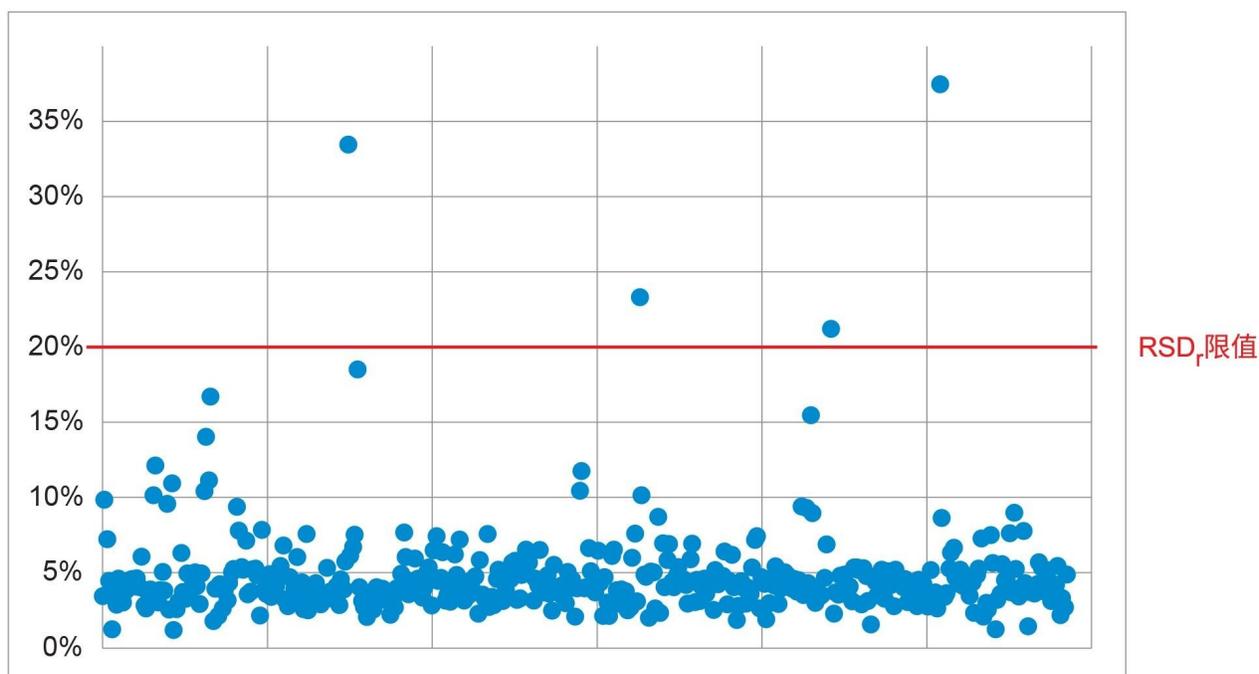


图6.0.001 mg/kg和0.01 mg/kg加标黄瓜分析的重复性(% RSD_r)总结

分析黄瓜泥标准品(T19290QC)以进一步评估方法性能。五种分析物的测定值与指定值一致，具有良好的重复性（表1）。对甲抑菌灵的平均值(0.049 mg/kg)远低于指定值(0.081 mg/kg)，但未超过 ± 2 z-分数(0.040–0.103 mg/kg)限制的浓度范围。这些测量结果显示出良好的重复性(RSD 5.8%)。对甲抑菌灵存在稳定性问题，有研究表明，它会在样品制备过程（如果样品被允许除霜处理）中以及在使用PSA吸附剂的dSPE净化过程中迅速降解^{7,8}。

分析物	平均测定值 (mg/kg)	RSD _r (%)	指定值 (mg/kg)	z ≤2的范围
λ-氯氟氰菊酯	0.200	4.6	0.153	0.088–0.218
氯硝胺	0.058	4.1	0.067	0.037–0.096
狄氏剂	0.042	1.9	0.042	0.023–0.060
恶草酮	0.060	3.1	0.057	0.032–0.082
亚胺硫磷	0.090	9.0	0.083	0.045–0.116
对甲抑菌灵	0.049	5.8	0.081	0.045–0.116

表1. 黄瓜泥标准品分析中农药的测定值和指定值比较

结论

本应用纪要介绍了一种使用GC-MS/MS（配备APGC的Xevo TQ-XS）测定农药残留的灵敏、准确的多残留方法。该方法能够可靠定量远低于典型MRL的浓度，并根据SANTE指导原则成功验证，黄瓜中200种农药的分析获得了令人满意的结果。该方法表现出非常高的灵敏度（LOD通常<0.0005 mg/kg），无需溶剂交换、PTV或大体积进样。加标分析结果表明，几乎所有分析物的回收率和重现性都在相应的偏差范围内。例如，在0.001 mg/kg加标水平下，94%的分析物的回收率在偏差范围内，99%的分析物的重复性在偏差范围内。经过适当验证后，该程序可应用于其他商品的分析。该方法已被证明适用于检查产品是否符合MRL规定，并且可用于更低浓度的测定。

参考资料

1. Niu Y *et al.* Atmospheric Pressure Chemical Ionization Source as an Advantageous Technique for Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Trends Anal.Chem.* (2020) 132:116053.
2. Cherta L *et al.* Application of Gas Chromatography-(Triple Quadrupole) Mass Spectrometry With Atmospheric Pressure Chemical Ionization for the Determination of Multiclass Pesticides in Fruits and

Vegetables.*J Chromatogr.A* (2013) 1314:224–240.

3. Saito-Shida S *et al.* Quantitative Analysis of Pesticide Residues in Tea by Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry With Atmospheric Pressure Chemical Ionization.*J Chromatogr.B* (2020a) 1143:122057.
4. Saito-Shida S *et al.* Multi-Residue Determination of Pesticides in Green Tea by Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry With Atmospheric Pressure Chemical Ionisation Using Nitrogen as the Carrier Gas.*Food Addit.Contam.Part A* (2020b) 38(1): 125–135.
5. European Committee for Standardisation (CEN) EN 15662:2018. Foods of Plant Origin - Multimethod for the Determination of Pesticide Residues Using Gc- And LC- Based Analysis Following Acetonitrile Extraction/Partitioning and Clean-up by Dispersive Spe - Modular Quechers-Method.
6. Document No.SANTE/12682/2019.Guidance Document on Analytical Quality, Control, and Method Validation Procedures for Pesticides Residues Analysis in Food and Feed.2019.
7. Fussell R *et al.* Assessment of the Stability of Pesticides during Cryogenic Sample Processing.1. Apples.*Agric.Food Chem.*(2002) 50(3):441–448.
8. Rutkowska E *et al.* Modification of Multiresidue QuEChERS Protocol to Minimize Matrix Effect and Improve Recoveries for Determination of Pesticide Residues in Dried Herbs Followed by GC-MS/MS.*Food Anal.Methods* (2018) 11:709–724.

特色产品

Xevo TQ-XS三重四极杆质谱仪 <<https://www.waters.com/134889751>>

沃特世大气压气相色谱(APGC) <<https://www.waters.com/10100362>>

MassLynx MS软件 <<https://www.waters.com/513662>>

TargetLynx <<https://www.waters.com/513791>>

720007654ZH, 2022年6月

© 2022 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie](#) [设置](#)

沪 ICP 备06003546号-2

京公网安备 31011502007476号