

一种减少同分异构干扰物的智能纯化方法： 基于LC-MS/MS的复杂基质 - 红茶和可可豆 的多残留农药分析

Simon Hird, Claudia Rathmann, Hazel Dickson, Frank Schreiber, Stefan Bammann

Waters Corporation, GALAB Laboratories

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

复杂的食品类商品含有丰富的内源性成分（例如脂肪、磷脂、色素和其他植物化学物质），因此在分析时，要在不经纯化的情况下应用通用的QuEChERS方案难度较大。众所周知，这些组分会引起基质效应和同分异构干扰物，对农药残留的检测和定量产生不利影响。在萃取之后增加纯化步骤有助于去除基质组分，获得更可靠的结果，从而提高灵敏度和选择性，并保持仪器稳定性。采用固相萃取(SPE)和直通式方案，让农药通过固定相，而基质组分则保留在SPE吸附剂材料上。

本研究旨在建立一种基于QuEChERS的方法，但在使用ACQUITY™ I-Class UPLC系统结合Xevo™ TQ-XS质谱仪进行UPLC-MS/MS之前，采用Oasis™ PRiME HLB小柱进行简易的直通式SPE纯化。我们优化出了一个两步方案，将QuEChERS萃取物推入小柱，然后弃去前几毫升洗脱液，收集剩余的洗脱液用于LC-MS/MS分析。在茶和可可（0.01 mg/kg和0.1 mg/kg）中成功评估了该方法的性能，395种分析物中大多数的回收率和重复性均在SANTE指南中设定的偏差范围内：回收率70%~120%，重现性≤20% RSD。结果证明，使用Oasis PRiME HLB小柱的简单直通式SPE方案是“稀释-上样”或分散型SPE的快速有效替代方法，适用于检测茶叶和可可中农药残留的MRL合规性。

优势

- 采用Oasis PRiME HLB小柱的直通式纯化法是一种有效且快速的方法，可以从QuEChERS萃取物中去除脂肪、磷脂和色素，同时对目标农药保持出色的回收率
- 方法性能已使用SANTE可接受标准成功评估
- 该方法已被证明适用于茶叶和可可的分析，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

简介

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。国家主管部门负责执行农产品链的相关法规，包括对农产品和食品进行采样和分析，检查是否存在农药最大残留量(MRL)。所有食品业务经营者也必须确保符合相同的要求，但同时还必须考虑品牌保护。茶和可可这种复杂基质中含有丰富的内源性组分（例如脂肪、色素和其他植物化学物质），因此分析充满了挑战^{1,2}。众所周知，这些组分会引起基质效应和同分异构干扰物，对农药残留的检测和定量产生不利影响。采用高效纯化方法（例如固相萃取(SPE)），配合简单的直通式方案可降低共萃取物水平，有助于获得可靠结果，保持仪器稳定性，并尽可能减少清洗系统的需求。

本研究与汉堡Galab Laboratories GmbH合作进行，旨在建立一种基于QuEChERS的方法，但在使用ACQUITY UPLC系统结合Xevo TQ-XS进行UPLC-MS/MS之前，采用Oasis PRiME HLB进行简易的直通式SPE纯化。

实验

样品在GALAB进行均质化、萃取和分析，使用的是改良版QuEChERS CEN方法¹⁵⁶⁶²⁴³。在使用ACQUITY UPLC与Xevo TQ-XS联用进行UPLC-MS/MS之前，使用为本次分析优化的Oasis PRiME HLB Short Plus，用简单的直通式SPE方案取代了可选的分散型SPE步骤（参见图1）。虽然LC-MS/MS方法的详细信息归GALAB所有，但它与沃特世之前发布的方法类似⁴。采用SANTE指南，对两种商品中的395种分析物进行了方法验证，样品浓度为0.01 mg/kg和0.1 mg/kg⁵。

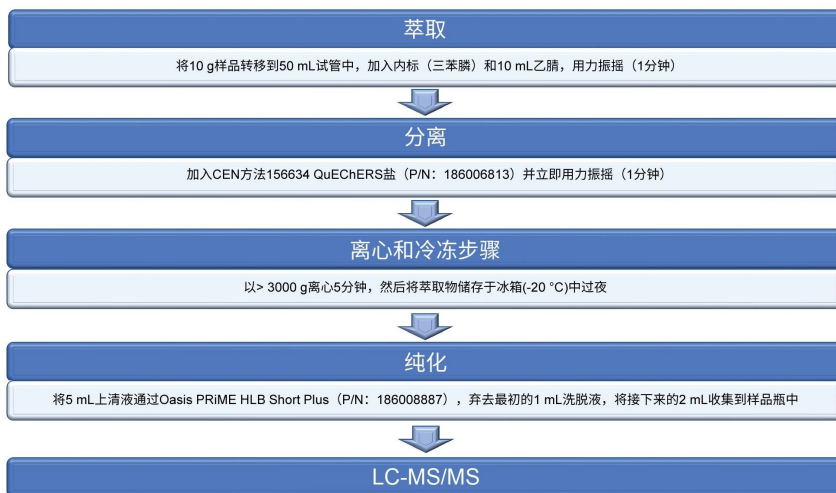


图1.分析茶和可可时样品萃取和纯化的详细流程图

结果与讨论

色谱分析结果稳定，所分析批次的保留时间无显著变化。ACQUITY UPLC BEH苯基柱能够为强极性分析物以外的所有分析物提供充分的保留性，并在43分钟的运行时间内实现了395种分析物的良好分离和分布。尽管化合物数量众多，但就每个峰所覆盖的数据点数量而言，数据质量并未受损。

由茶和可可萃取物制备的基质匹配标准品分析表现出优异的灵敏度。图2展示了分析茶叶中基质匹配标准品(0.01 mg/kg)所获得的一系列农药的典型色谱图。之前的研究表明，响应在评估所需的范围内呈线性⁴。为确定加标样品中分析物的浓度，研究使用线性拟合，以磷酸三苯酯作为内标，通过分析两种基质匹配标准品创建标准曲线图。通过分析空白的茶和可可萃取物来确定分析方法的选择性。在相同的分析物保留时间处未检出明显干扰物，但检出了杀菌剂BAC 12和14、DDAC 10以及西曲氯铵中的残留，但这并未影响测定回收率和重现性(RSD_r)，因为用于加标的是相同的空白样。

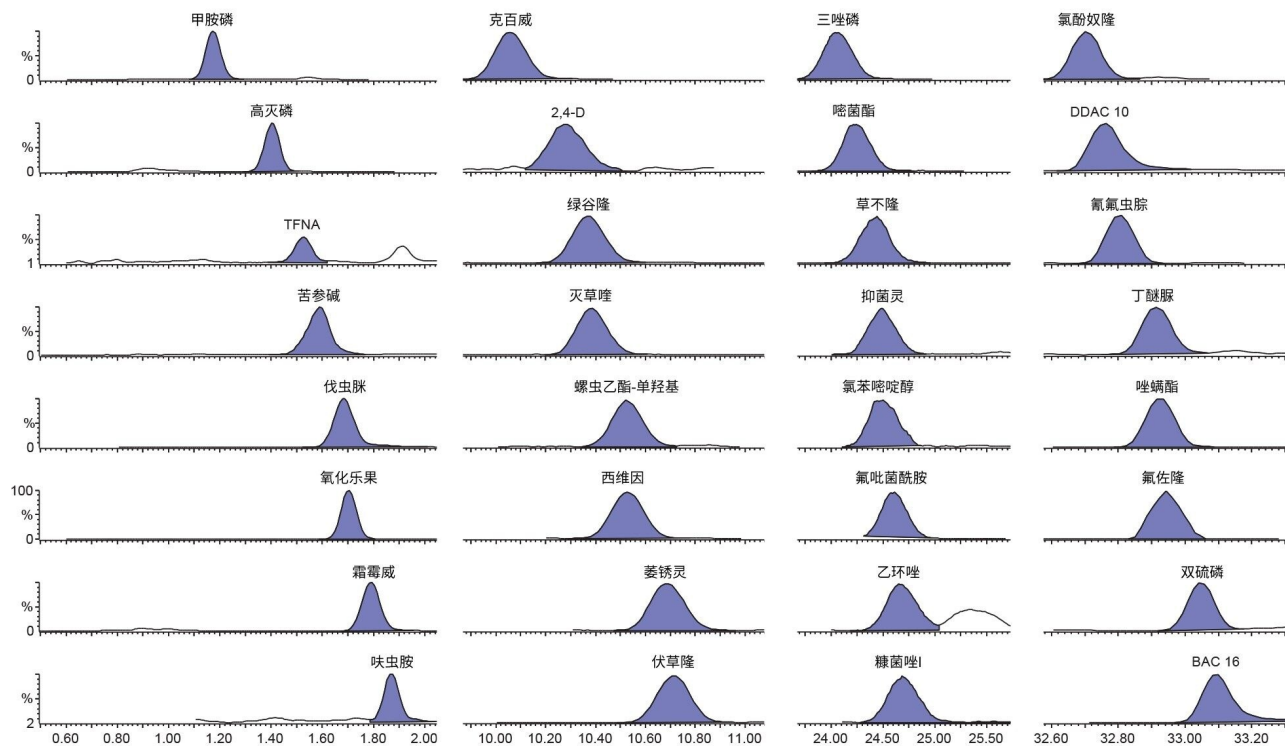


图2.分析茶叶中浓度为0.01 mg/kg的基质匹配标准品所得到的一系列分析物的色谱图。

在QuEChERS过程中，可使用含有多种吸附剂的分散型SPE去除基质共萃取物，但这样会导致某些农药损失。直通式SPE方案颠覆了传统SPE的方法，让目标分析物直接通过，同时将共萃取的脂肪、磷脂和色素保留在吸附剂上。使用Oasis PRiME HLB Short Plus小柱，用户可以使用注射器手动将萃取物注入小柱，几分钟即可获得洗脱液，以备LC进样⁵。

Oasis PriME Short Plus小柱的作用相当于一根短色谱柱。通过评估分析物穿过小柱的阶段优化萃取样品的纯化。本研究弃去最初洗脱的1 mL样品，然后收集大部分具有良好回收率的分析物，同时有效去除了基质共萃取物（见图3）。

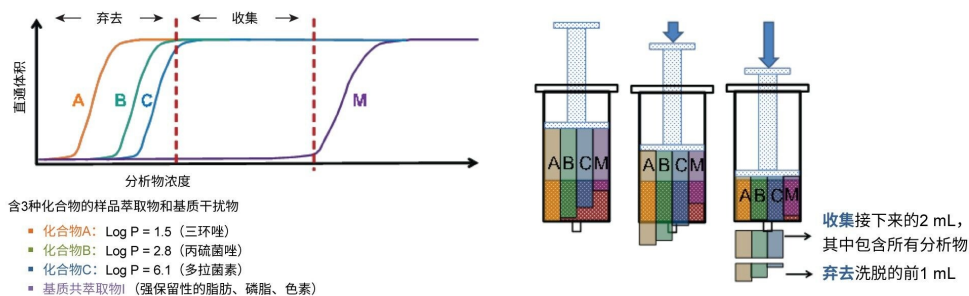


图3.利用含3种化合物的萃取物和基质共萃取物展示Oasis PRiME HLB直通式SPE方案的基本原理。

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⁵。茶叶和可可中0.01 mg/kg加标浓度的分析结果如图4所示。在两种商品(0.01 mg/kg)中，395种分析物中的大多数都在偏差范围内：茶叶中为79%，可可中为90%。从茶中获得的实际回收率略低于可可。某些分析物（395种化合物中的5%）在0.01 mg/kg加标浓度下未检出。图中标注了一些异常值。在较高浓度(0.1 mg/kg)下，茶和可可中分别有84%和90%的分析物在偏差范围内。图5显示了两种商品在两种浓度下所有实测回收率的分布。图6展示了RSD_r的分布情况（移除了一个异常值）。SANTE指导原则建议，测试的每个加标浓度的RSD_r应≤20%。剔除浓度为0.01 mg/kg的未检出样品后，所有测试批次中有99%的分析物都在规定的偏差范围内。几乎所有回收率在30%~140%之间的化合物均表现出一致的结果(RSD_r ≤ 20%)。

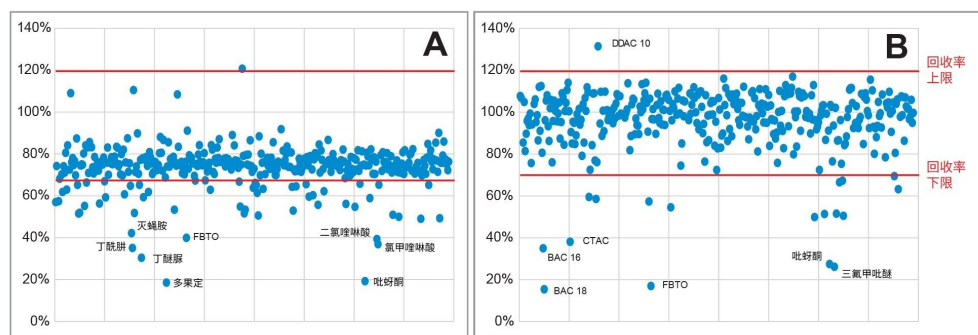


图4.茶(A)和可可(B)中加标0.01 mg/kg的农药残留回收率。

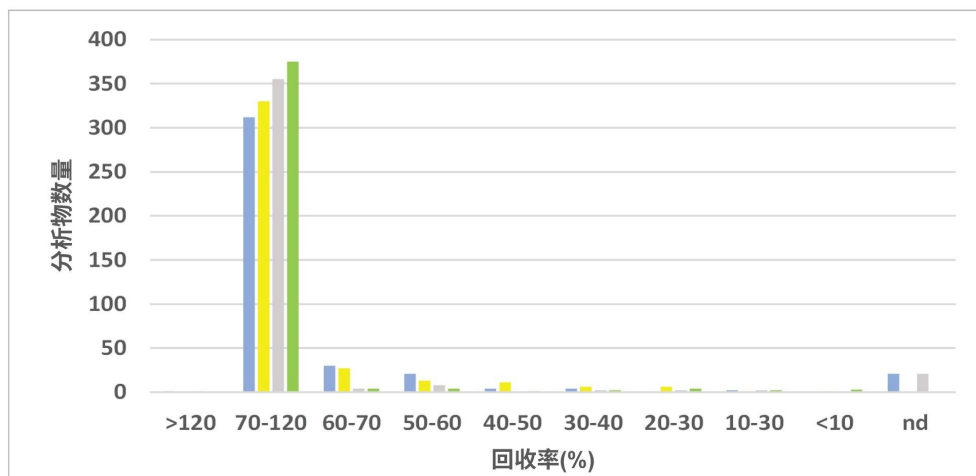


图5.根据验证数据得到的茶和可可可在两种浓度下的回收率分布。

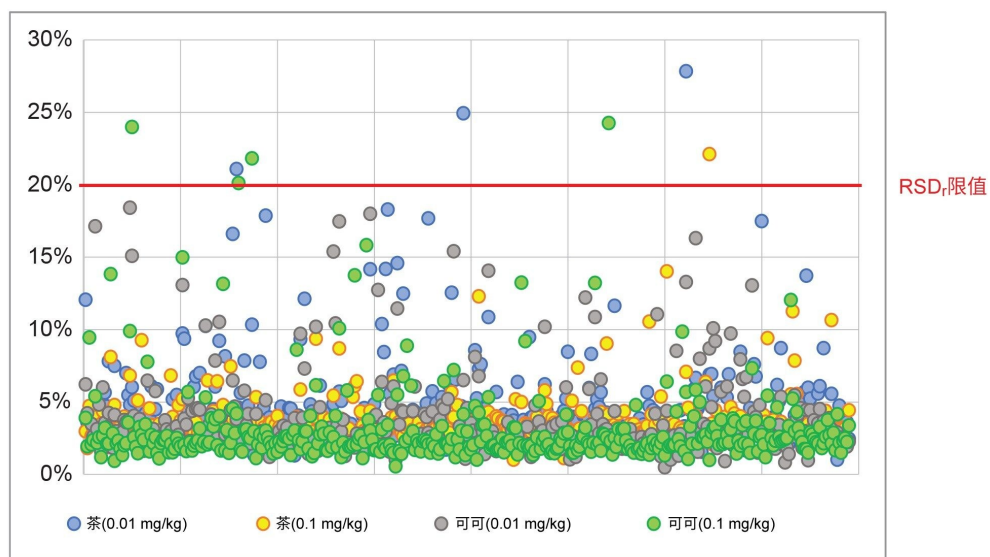


图6.根据验证数据得到的茶和可可可在两种浓度下的重复性分布

结论

本应用纪要介绍了一种高灵敏度多残留分析方法，采用UPLC-MS/MS (Xevo TQ-XS)测定两种复杂食品类商品（茶叶和可可）中的农药残留。结果表明，使用Oasis PRiME HLB的简单直通式SPE方案是“稀释-上样”或dSPE快速而有效的替代方案。该方法性能已使用SANTE可接受标准成功评估，大多数分析物的回收率和RSD_r均在设定的偏差范围（回收率在70%~120%范围内，RSD_r ≤ 20%）内。该方法已被证明适用于测定茶叶和可可中的农药残留，可用于检查欧盟MRL合规性，并且具有在更低浓度下测定的潜力。

参考资料

1. Ly T-K *et al.* Quantification of 397 Pesticide Residues in Different Types of Commercial Teas: Validation of High Accuracy Methods and Quality Assessment. *Food Chem.* (2022) 370:130986.
2. Comprehensive Strategy for Pesticide Residue Analysis in Cocoa Beans Through Qualitative and Quantitative Approach. *Food Chem.* (2022) 368:130778.
3. 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.
4. Shah D., Wood J., Fujimoto G., McCall E., Hird S., Hancock P. 使用UPLC-MS/MS定量测定水果、蔬菜、谷类和红茶中农药的多残留分析方法. 沃特世应用纪要. [720006886ZH](#). 2020.
5. Young M., Shia J. Oasis PRiME HLB Cartridges Now Available in Syringe Compatible Plus Format. Waters Application Note. [720006017](#). 2017.
6. Document No. SANTE/11312/2021. [Guidance Document on Analytical Quality, Control, and Method Validation Procedures for Pesticides Residues Analysis in Food and Feed. 2021](#) <https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/SANTE_11312_2021.pdf> .

特色产品

[ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <https://www.waters.com/134613317>](https://www.waters.com/134613317)

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

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

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

720008039ZH, 2023年9月



© 2024 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [招聘](#) [危险化学品生产经营许可证](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)
[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)