Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

使用大气压气相色谱结合串联四极杆质谱仪分析142种农药残留的认证方法

L. Cherta[1]，T. Portolés[1]，J. Beltran[1]，E. Pitarch[1]，J.G.J. Mol[2]，F. Hernández[1]，D. Roberts[3]和R. Rao[3]
[1]海梅一世大学农药和水研究所（西班牙卡斯特利翁）
[2]瓦格宁根大学研究中心RIKILT食品安全研究所（荷兰瓦格宁根）
[3]沃特世公司（英国曼彻斯特）

应用优势

- 使用一种可以提升灵敏度的电离模式对水果和蔬菜的QuEChERS提取物中142种农药残留进行常规定量分析
- 在单一MS平台上进行LC和GC化合物分析
- 使用TargetLynx™应用软件快速简便地处理数据

沃特世解决方案

DisQuE™ QuEChERS，AOAC方法样品制备套装，试剂袋

大气压气相色谱（APGC）

Xevo® TQ-S

TargetLynx应用软件

关键词

农药，QuEChERS提取物，大气压气相色谱，MS/MS

简介

在全球范围内，农药被广泛应用于农业活动，它们在食品中的残留可能对人类造成重大的食品安全隐患。农药残留问题受到了消费者的高度关注，因此实验室需要一种能在适当的时间内通过单次分析从样品中筛选出较多农药的分析方法。大多数国家都对农药残留做出了明确规定。立法规定，食品类商品中农药的最大残留量（MRLs）的确定需使用灵敏、准确而可靠的分析技术。多残留分析极具挑战的原因是各种食品类商品中多种农药MRLs的检测需要达到较低的检测限。目前已知投入使用的农药超过1000种，为了扩大常规监测方法的检测范围，实验室所承受的压力日益增长。

为应对这一挑战，多项技术应运而生，其中最常用的是与串联四极杆质谱仪联用的液相色谱（LC）和气相色谱（GC）。这些技术的应用，让实验室可以根据法规要求对多种具有不同化学成分的化合物进行分析。GC/MS/MS使用电子轰击（EI）的传统电离模式。这是一种相对较“硬”的电离技术，可产生较多的分析物碎片，因此会对MS/MS检测的选择性和灵敏度造成不良影响。而大气压气相色谱电离源（APGC）是一种“软”电离技术，它产生的碎片较少，从而提高了MS/MS方法的灵敏度和选择性[1]。APGC源可与电喷雾（ESI）源轻松互换，形成适用于GC和LC农药分析的单一MS平台。

在本应用纪要中，我们介绍了一种多类别方法的开发和验证，该方法可对多种水果和蔬菜基质中的142种农药残留进行常规检测。相关方法及结果的详细介绍可参见参考文献[2]。

实验

GC条件

GC系统：	7890A GC
色谱柱：	DB5-MS 30 m×0.25 mm×0.25 μm膜
载气：	He，2 mL/min
温度梯度：	初始为70 ℃，保持1 min 然后以15 ℃/min升至150 ℃ 再以10 ℃/min升至300 ℃ 保持3 min
总运行时间：	30 min
进样器温度：	280 ℃
进样类型：	脉冲不分流
脉冲时间：	1 min
脉冲压力：	240 kPa
进样体积：	1 μL
尾吹气体：	N_2，300 mL/min
传输线温度：	310 ℃

质谱条件

MS系统：	Xevo TQ-S
模式：	API +
电晕针电流：	1.8 μA
锥孔气流速：	170 L/h
辅助气流速：	250 L/h
源温度：	150 ℃

在源中放入一小瓶水，促进质子化。采用TargetLynx应用软件处理数据。TargetLynx是Waters MassLynx®软件的一个选件，它可以根据采集到的LC/MS和GC/MS数据快速生成结果从而实现准确定量和结果审查，包括数据质量评估和分析物确认。

样品制备

使用强化的桔子、胡萝卜和西红柿样品对线性、回收率、精度、选择性、检测限（LOD）和定量限（LOQ）进行评估。此外，还对本地购买的苹果、莴苣和小胡瓜（西葫芦）样品进行进一步分析以测试方法的适用性。样品制备使用AOAC官方方法2007.01中描述的专为QuEChERS设计的DisQuE QuEChERS AOAC样品制备套装试剂袋（部件号176002922）[2]。QuEChERS是一种简单的样品制备技术，适合对多种食品和农产品进行多残留农药分析。提取完成后，将50 μL提取物（乙腈）转移至2 mL样品瓶中，然后用300 μL己烷和150 μL丙酮进行稀释。为了进行准确定量，共制备了八种基质匹配标准品[2]，涵盖0.1至100 ng/mL的范围（在样品中相当于1至1000 μg/kg）。按照以下步骤为每种样品基质制备标准品：完成纯化步骤后，将从空白样品中取得的50 μL乙腈提取物以适当浓度与250 μL己烷、150 μL丙酮和50 μL农药标准品的己烷溶液混合，得到0.1至100 ng/mL的校准范围（对应于样品中的1至1000 μg/kg）。所有样品均使用配有APGC源和7890A GC的Waters® Xevo TQ-S进行分析。

结果与讨论

方法开发过程的第一步是对每种目标农药的三个MRM通道进行优化。由于APGC是一种软电离技术，在大多数情况下可以选择质子化的分子或分子离子（质谱基峰）作为母离子。APGC质谱与EI的对比示例如图1所示。目的是为每种化合物选择三个灵敏的MRM通道，从而实现142种分析物的可靠鉴别和定量。APGC-MS/MS的高灵敏度能使用稀释10倍的QuEChERS提取物进样，大大减少了加载到色谱柱上的基质。

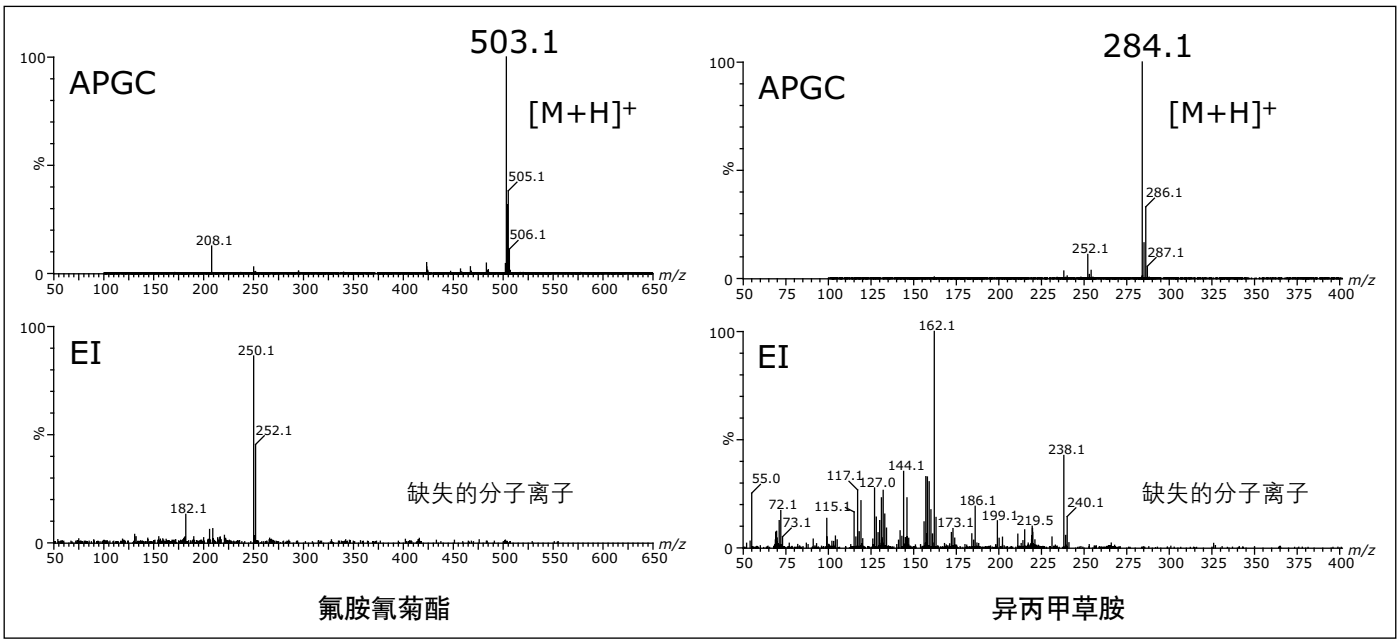

图1. APGC（上图）和EI（下图）生成的对比谱图显示APGC谱图中的分子离子强度更高。EI谱图显示出大量的碎片。

使用纯溶剂标准品溶液重复进样三次，研究0.1至100 ng/mL范围内的线性。检测范围内所有化合物的回归系数（R^2）均高于0.99。为了确保准确定量，同时考虑到基质效应引起的任何增强/抑制作用，使用了基质匹配校准标准品。所有化合物的LOD都很低，结果汇总于图2中。其中大多数在三种研究基质中的含量都在0.01至1 µg/kg的范围内，仅少数高于1 µg/kg。图3显示了四个不同基质中最低浓度基质匹配标准品的信噪比（S/N）计算结果示例

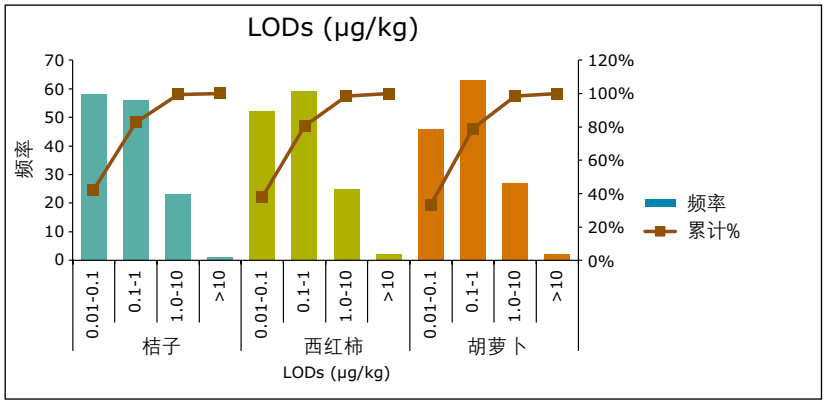

图2. 三种基质中所有142种农药的检测限（LOD）。柱状图（左侧坐标轴）显示了LOD在特定浓度范围内的农药数量。线形图（右侧坐标轴）显示了浓度范围内的农药累计百分比。

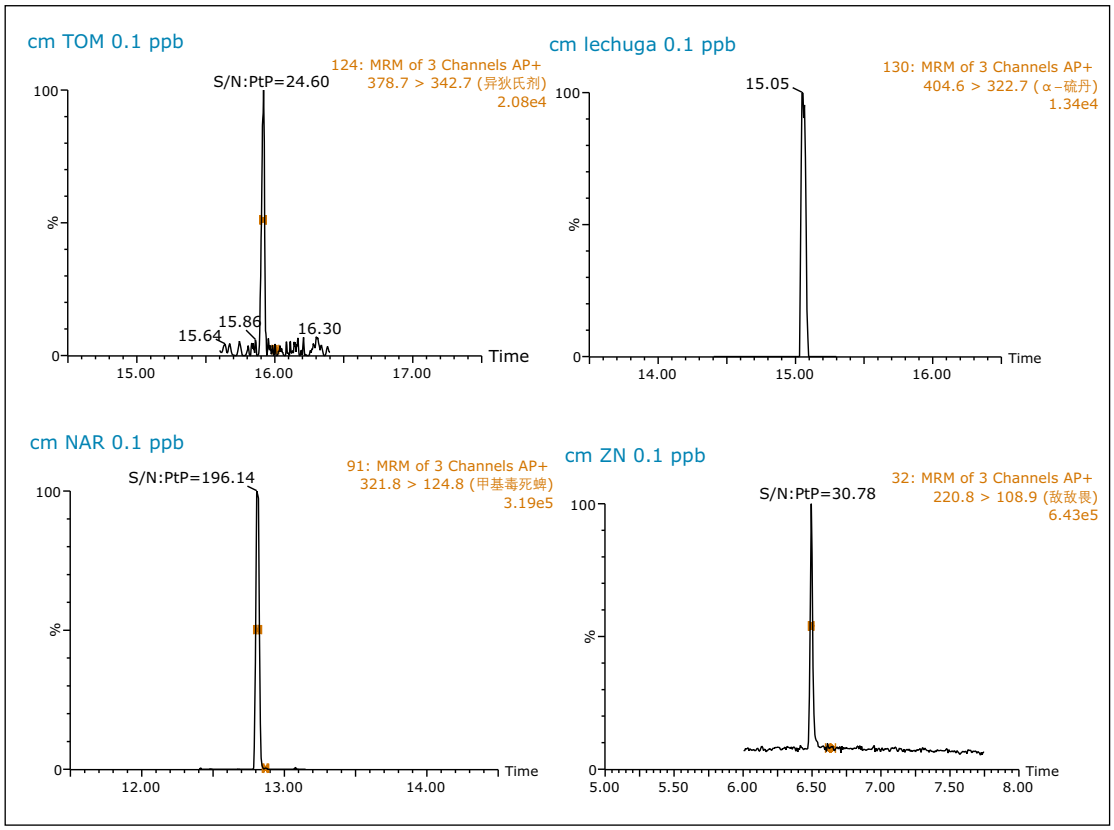

图3. 基质中四种农药的灵敏度示例：0.1 ppb的异狄氏剂、α-硫丹、甲基毒死蜱和敌敌畏。

根据观察，从APGC谱图中选择的MRM通道的选择性很好，因为GC/MS/MS谱图未显示出本文研究的任何一种农药的干扰。该方法的一个重要考虑因素是需要满足离子比率方面的法规标准。目前，欧盟对农药的指导原则（SANCO/12571/2013）指出样品中的离子比率应在参考值的30%之内。研究发现，即便在定性离子的丰度比定量离子低得多的时候，不同标准品浓度的离子比率通常非常一致，大多数情况下的RSD<10%。

使用本研究开发的方法对本地购买的桔子、西红柿和胡萝卜三类样品进行真实样品分析，并扩大到包括苹果、莴苣和西葫芦在内的样品。在所有样品中共鉴别出43种不同农药，大多数浓度远低于0.01 mg/kg和欧盟最大残留量浓度。图4显示了采用确认MRM通道得到的不同基质中的阳性结果示例。

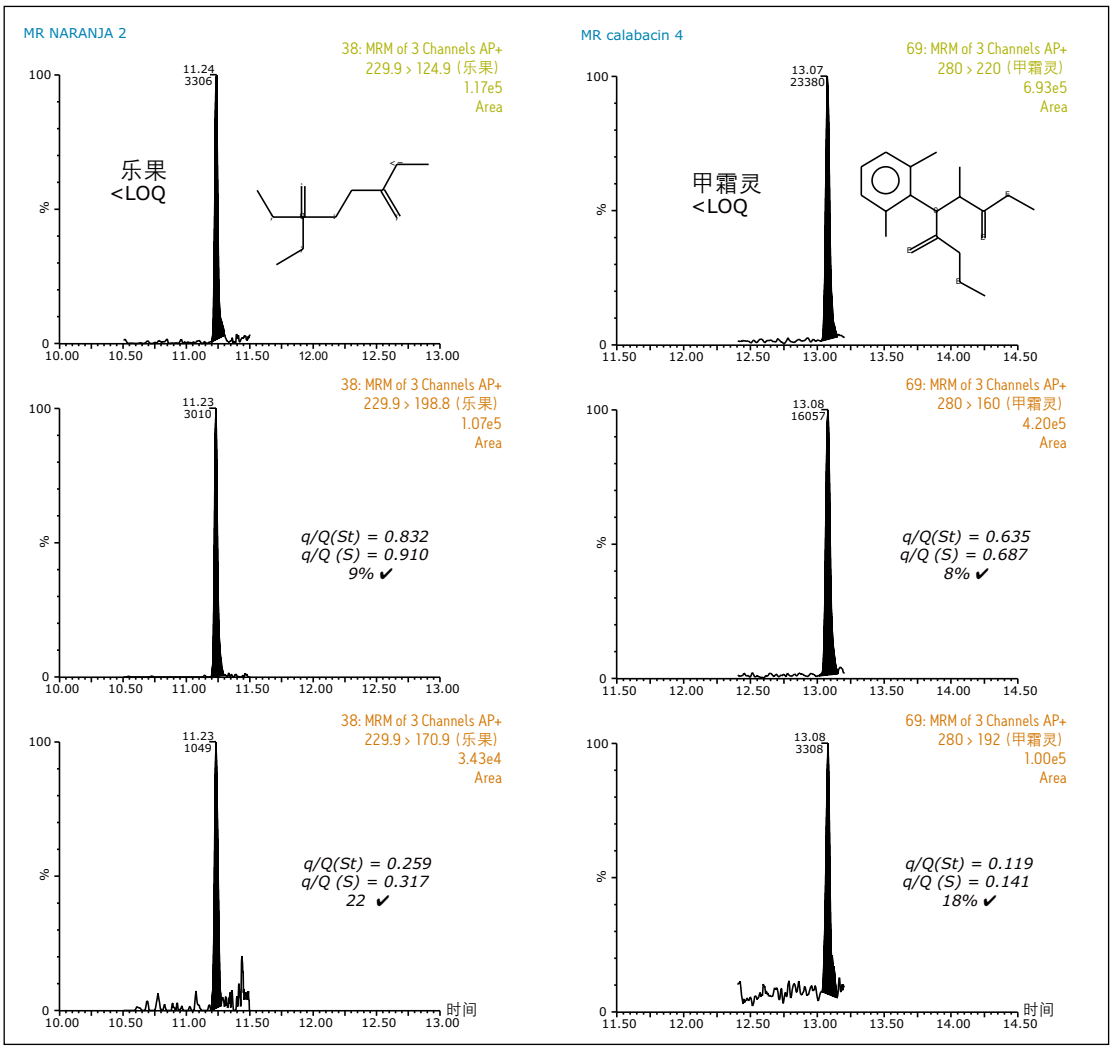

图4. 低于LOQ浓度的乐果（左）和甲霜灵（右）确认MRM通道的离子比率示例。这些化合物采用传统EI方法很难检测。

Xevo TQ-S和APGC的灵敏度和性能已超过现有的农药残留法规分析方法。超出的灵敏度空间允许对样品进行稀释，从而降低基质干扰并最大程度减少柱上进样量。换言之，此方法是对减少系统清洗最为有益的方法，可降低仪器的维护需求。

结论

- 本文介绍了一种基于QuEChERS提取/净化的APGC-MS/MS分析方法，可测定142种农药。
- 通过APGC源和软电离技术实现了超高灵敏度和选择性，可以使用准分子离子作为母离子。
- 桔子、西红柿和胡萝卜基质中的LOD通常在0.01至1 µg/kg之间。提高的灵敏度空间可对样品提取物进行稀释，从而降低了基质效应和GC维护需求。
- 验证结果表明，该方法适用于142种可采用GC分析的农残常规分析定量。
- 该方法已成功用于真实样品分析，共检测出43种不同农药并使用离子比率进行了确证。所有检出农药均未超过欧盟规定最大残留量。

参考文献

1. T Portolés, L Cherta, J Beltran, A Gledhill, F Hernández. Enhancing MRM Experiments in GC/MS/MS Using APGC. Waters Application Note No. 720004772en, August, 2013.
2. L Cherta, T Portolés, J Beltran, E Pitarch, J G J Mol, F Hernández. Application of Gas Chromatography (Triple Quarupole) Mass Spectrometry with Atmospheric Pressure Chemical Ionization for the Determination of Multi-Class Pesticides in Fruit and Vegetables. *J Chrom A*. Nov 1; 1314: 224-40 (2013).

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters，Xevo，MassLynx和The Science of What's Possible是沃特世公司的注册商标。TargetLynx和DisQuE是沃特世公司的商标。
其它所有商标均归各自拥有者所有。

©2014 年沃特世公司。印制于中国。2014年3月 720004952ZH AG-PDF

沃特斯中国有限公司
沃特世科技（上海）有限公司

北京：010 - 5209 3866
上海：021 - 6156 2666
广州：020 - 2829 6555
成都：028 - 6578 4990
香港：852 - 2964 1800

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676
www.waters.com