Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

干燥辣椒粉中的农药多残留分析：优化的QuEChERS萃取净化方案用于UPLC-MS/MS和GC-MS/MS分析

Michael S. Young, Kim Van Tran和Jeremy C. Shia
沃特世公司(美国马萨诸塞州米尔福德)

应用优势

- QuEChERS快速萃取辣椒粉
- 在UPLC-MS/MS分析之前进行简单、快速的dSPE净化；萃取物越洁净，日常仪器维护所需的时间则越少
- 适用于GC-MS/MS分析的简便直观的SPE纯化，可延长色谱柱寿命并减少进样口的维护
- 适用于GC-MS/MS的大气压电离(APGC)
- 使用Xevo® TQ-S质谱仪可为UPLC-MS和APGC-MS提供出色的性能，从LC转换到GC操作只需30 min

沃特世解决方案

ACQUITY UPLC® I-Class系统

Xevo TQ-S质谱仪

APGC

ACQUITY UPLC BEH C_{18}色谱柱用于QuEChERS萃取和dSPE纯化的DisQuE™产品

用于GC-MS的Sep-Pak® Carbon/PSA小柱纯化产品

LCMS认证样品瓶

MassLynx® 4.1版数据系统，带Quanpedia™数据库

关键词

QuEChERS，农药，SPE，辣椒粉，UPLC-MS/MS，GC-MS/MS，APGC

简介

QuEChERS方法简化了农药分析的样品制备流程。尽管这一技术对水果、蔬菜以及许多其它类型的样品十分有效，但是在应用到干燥基质样品时却面临诸多挑战。本文为一系列应用纪要的第三篇，阐述了干燥基质样品的样品制备。第一篇应用纪要探讨了干燥茶叶(一种高树脂含量的叶状物质)的农药分析[1]。第二篇应用纪要探讨了西洋参粉(一种树脂含量极高的根状物质)的农药分析策略[2]。本应用纪要介绍了针对辣椒粉(一种树脂含量极高的油质物质，从干燥的辣椒果实中获得)多残留农药分析的QuEChERS萃取和SPE净化策略。为了分析辣椒粉，在采用专用于CEN QuEChERS的DisQuE试剂盒进行萃取之前，需用水平衡样品。取若干等分的样品进行纯化及色谱分析；其中一份进行dSPE净化，通过UPLC-MS/MS专门检测碱性/中性农药。另一份进行SPE小柱净化，经优化可通过GC-MS/MS分析检测碱性/中性农药。通过这些纯化方案可获得辣椒粉中萃取的目标农药的回收率数据。

实验

UPLC条件

系统:	ACQUITY UPLC I-Class
色谱柱:	ACQUITY UPLC BEH C_{18}, 2.1 x 100 mm, 1.7 µm
进样体积:	5 µL
温度:	45 °C
流动相A:	10 mM醋酸铵水溶液 (pH值为5.0)
流动相B:	10 mM醋酸铵甲醇溶液
流速:	0.45 mL/min
梯度:	初始条件为10%的流动相B保持至0.25 min，然后以线性梯度增加流动相B，到12.25 min时增加至99%，保持至13.0 min，在13.1 min时降回10%，保持并重新平衡系统直至17 min

UPLC的MS条件

仪器:	Waters Xevo TQ-S
模式:	电喷雾正离子和负离子 (ES+，ES-)
毛细管电压:	3.0 kV
提取电压:	3.0 V
离子源温度:	150 °C
锥孔气流速:	150 L/h
去溶剂气温度:	500 °C
去溶剂气流速:	1000 L/h
碰撞气流速 (氩气):	0.18 mL/min

GC条件

仪器:	Agilent 7890
色谱柱:	J&W DB5 MS 30 mm x 0.25 mm x 0.25 µm
进样体积:	2 µL，不分流
流速:	2.0 mL/min氦气 (恒定气流)
升温程序:	初始为80 °C，保持0.5 min，然后以12 °C/min的速度升至300 °C，并保持10 min

APGC的MS条件

仪器:	Waters Xevo TQS
模式:	API正离子
电晕电流:	2.2 µA
源温度:	150 °C
探头温度:	450 °C
锥孔气流速:	170 L/h
辅助气流速:	250 L/h
喷雾器气体:	4.0 Bar
碰撞气流速 (氩气):	0.18 mL/min

表1列出了用于此研究的UPLC-MS/MS锥孔和碰撞参数以及MRM通道。表2列出了用于此研究的APGC-MS/MS锥孔和碰撞参数以及MRM通道。

样品制备

QuEChERS萃取

将2 g辣椒粉和10 mL水置于50 mL离心管中。振荡10 s，然后浸泡并平衡30 min。加入10 mL乙腈，盖上盖子并涡旋10 s，然后充分振荡1 min。加入用于CEN QuEChERS的DisQue试剂盒的填料，充分振荡1 min。将样品在4000 RPM (rcf 3250 g) 下离心5 min，然后收集上清液。取等分的上清液进行SPE净化。

针对UPLC-MS农药分析进行dSPE净化

将1 mL QuEChERS萃取物置于2 mL DisQuE dSPE试管中 (150 mg $MgSO_4$/25 mg PSA/25 mg C_{18}，部件号186004832)。加入7 mg石墨化炭黑 (GCB)，涡旋10 s，再振荡1 min。将样品在12000 RPM (rcf 13400 g) 下离心4 min，然后收集上清液。取200 µL上清液转移至LC/MS认证样品瓶 (部件号600000671CV)，用UPLC-MS/MS分析的流动相A稀释至1.0 mL。

针对APGC/MS农药分析进行SPE净化

使用10 mL 3:1丙酮/甲苯稀释1 mL的QuEChERS萃取物。在真空装置 (带收集容器) 上安装Sep-Pak Carbon/PSA小柱 (部件号186004590)。在小柱滤头上放200 mg无水$MgSO_4$。让所有稀释的萃取物通过小柱并收集滤液。用2 mL 3:1丙酮/甲苯冲洗小柱并收集滤液 (与上述步骤通过小柱所得的馏分合并)。蒸发至恰好低于0.5 mL，加入2 mL甲苯，再蒸发至0.5 mL，然后用甲苯将最终体积调整至0.5 mL。转移至经认证样品瓶 (部件号186000272C) 并用于APGC-MS/MS分析。

结果与讨论

图1展示了10 ppb辣椒粉加标样品的典型APGC-MS/MS色谱图；所选择的化合物为二甲戊乐灵。

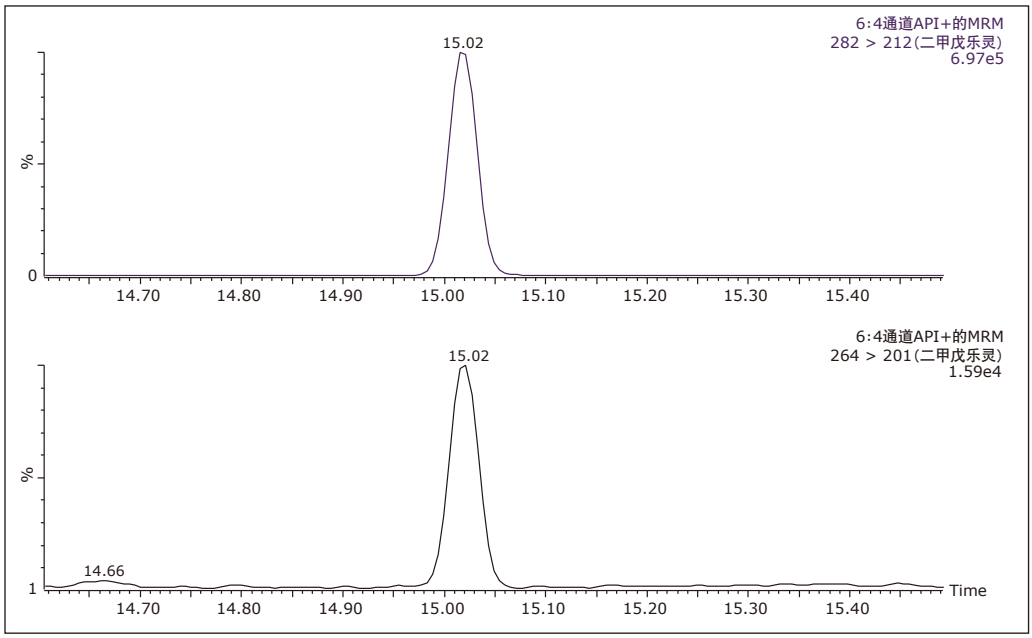

图1. 加标10 ppb二甲戊乐灵的辣椒粉样品的APGC-MS/MS分析结果 (上图为定量分析的通道)。

本研究通过比较进行样品制备之前加标到样品基质中的样品峰面积与完成所有样品制备之后加标的样品峰面积得到回收率数据，结果见表1和表2。

农药	MRL ppb(EU)	RT min	MRM *m/z*	(锥孔电压V，碰撞能量eV)	回收率% (n = 6) @10，100 ppb(% RSD)	
阿维菌素	50	11.76	890.6>305.2(30,25)	890.6>567.4(30,13)	65(22)	70(16)
啶虫脒	100	4.11	223.0>126.0(30,20)	223.0>56.1(30, 15)	90(4)	85(4)
嘧菌酯	50	8.08	404.1>372.0(30,15)	404.1>329.0(30,35)	91(9)	88(10)
噻嗪酮	2000	10.65	306.1>201.0(30,12)	306.1>57.4(30,20)	85(5)	80(4)
胺甲萘	50	6.48	202.0>145.0(30,10)	202.0>127.0(30,26)	89(11)	102(4)
唑酮草酯	20	9.34	412.0>346.0(30,24)	412.0>266.0(30,18)	82(9)	86(9)
溴虫腈	10	10.06	406.2>251.0(34,22)	406.2>152.0(34,60)	81(11)	83(9)
甲基毒死蜱	50	9.96	321.8>125.0(30,20)	321.8>289.9(30,16)	89(12)	79(9)
噻虫胺	70	3.57	250.0>169.0(30,12)	250.0>132.0(30,17)	82(16)	82(6)
嘧菌环胺	1000	9.42	226.0>93.0(40,33)	226.0>108.0(40,30)	89(11)	74(10)
霜脲氰	50	4.32	199.0>128.0(30,8)	199.0>111.0(30,18)	92(10)	97(6)
二嗪磷	50	9.56	305.1>169.0(30,22)	305.1>96.9(30,35)	92(16)	82(6)
苯醚甲环唑	500	10.06	406.0>251.1(37,25)	406.1>111.1(37,60)	85(9)	84(6)
伏虫脲	1000	9.18	311.1>158.1(30,18)	311.1>141.0(30,35)	86(18)	78(4)
乐果	20	3.92	230.1>125.0(30,20)	230.1>199.0(30,10)	92(4)	89(2)
埃玛菌素	20	11.11	886.6>158.0(50,35)	886.6>126.0(50,38)	61(6)	65(10)
咯菌腈	2000	8.33	247.0>180.0(42,28)	247.0>126(42,35)	113(4)	88(7)
咪唑菌酮	50	8.23	312.1>92.0(30,25)	312.1>236.1(30,16)	81(7)	84(3)
唑螨酯	300	11.22	422.2>366.1(30,18)	422.2>138.1(30,32)	82(5)	72(6)
噻螨酮	500	10.89	353.0>228.1(30,14)	35.0 >168.1(30,26)	79(8)	80(6)
吡虫啉	50	3.56	256.1>209.1(30,16)	256.1>175.1(30,19)	85(7)	85(3)
茚虫威	300	10.18	528.0>203.0(30,40)	528.0>150.0(30,30)	82(10)	89(7)
氯氟氰菊酯	100	11.33	467.2>225.0(30,20)	467.2>141.1(30,46)	87(31)	79(17)
马拉硫磷	20	8.42	331.0>127.0(30,12)	331.0>99.0(30,24)	86(4)	87(4)
双炔酰菌胺	1000	8.41	412.3>328.2(30,16)	412.3>356(30,10)	91(13)	92(6)
甲霜灵	100	7.36	280.1>220.1(30,13)	280.1>192.1(30,17)	90(3)	88(5)
甲胺磷	10	0.71	142.0>93.9(30,13)	142.0>124.90(30,13)	73(6)	73(2)
灭多威	20	2.57	163.0>88.0(30,10)	163.0>106.0(30,30)	84(17)	86(7)
甲氧虫酰肼	1000	8.52	369.1>149.1(30,20)	369.1>313.20(30,10)	112(13)	86(5)
双苯氟脲	10	10.34	493.0>158.0(30,19)	493.0>141.0(30,40)	91(3)	86(9)
草氨酰	20	2.33	237.0>72.0(30,12)	237.0>90.0(30,10)	92(5)	86.3
亚砜磷	10	2.62	247.0>168.8(30,14)	247.0>108.9(30,25)	88(8)	95(2)
胺丙畏	100(US)	8.62	282.0>138.0(30,20)	282.0>156(30,12)	113(15)	82(6)
二甲戊乐灵	50	10.88	282.2>212.2(30,10)	28.2>194.1(30,17)	81(11)	74(8)
吡丙醚	50	10.74	322.1>96.0(30,14)	322.1>227.1(30,14)	84(9)	78(7)
吡菌胺酯	50	9.74	388.1>163.0(30,25)	388.1>193.9(30,12)	79(8)	89(6)
多杀菌素A	50	11.04	732.6>142.0(40,35)	732.6>98.1(40,50)	67(12)	69(12)
多杀菌素D	50	11.43	746.5>142.0(40,38)	746.5>98.1(40,48)	62(14)	66(16)
螺甲螨酯	500	11.03	371.1>273.1(30,10)	371.1>255.1(30,24)	94(20)	81(6)
戊唑醇	500	9.50	308.0>70.1(31,22)	308.1>125.0(31,40)	87(5)	82(3)
噻虫啉	1000	4.67	253.0>126.0(30,20)	253.0>90.1(30,37)	90(3)	84(2)
噻虫嗪	20000(20US)	2.78	292.0>211.0(30,13)	292.0>132(30,23)	93(5)	86(3)
肟菌酯	50	10.17	409.0>145.0(30,40)	409.0>186.0(30,16)	89(7)	86(5)

表1. UPLC-MS/MS回收率数据及调谐参数。缩写：MRL = 最大残留量，RT = 保留时间，MRM = 多重反应监测时通过锥孔电压(V)和碰撞室能量(eV = 电子伏特)选择的通道。

农药	MRL ppb(EU)	RT min	MRM *m/z*(锥孔电压V，碰撞能量eV)		回收率% (n = 6) @10, 100 ppb(% RSD)	
高灭磷	50	8.82	143>95(10,20)	143>125(10,10)	66(6)	62(5)
联苯菊酯	100	15.97	242.8>122.9(20,10)	242.8>154.9(20,10)	86(20)	122(15)
唑酮草酯	20	14.85	411.7>276.8(20,30)	411.7>301.8(20,30)	85(8)	74(7)
甲基毒死蜱	100	10.90	321.6>124.7(35,20)	321.6>289.6(35,10)	73(4)	77(7)
溴虫腈	50000	14.03	408.7>270.8(20,20)	408.7>378.7(20,10)	74(6)	82(5)
二嗪磷	50	9.98	304.9>168.9(20,20)	304.9>276.9(20,10)	88(6)	81(5)
溴氰菊酯	5000	20.40	505.6>252.7(20,20)	505.6>280.7(20,10)	LOQ	72(9)
氰戊菊酯	50	19.54	419.8>124.8(10,40)	419.8>166.8(10,10)	61(4)	75(9)
高效氯氟氰菊酯	1000	16.95	449.8>196.8(15,20)	449.8>224.8(15,10)	77(8)	77(16)
胺丙畏	100(US)	9.76	281.9>137.8(10,20)	281.9>194.8(10,10)	83(13)	79(9)
吡丙醚	50	16.67	321.9>95.8(10,20)	321.9>184.8(10,20)	79(11)	76(8)
苯醚菊酯	50	16.45	350.9>182.8(20,40)	350.9>248.8(20,20)	77(8)	88(9)
苄蚨菊酯	200	15.46	338.9>170.9(25,10)	338.9>292.9(25,10)	52(9)	56(10)
氟乐灵	50	8.76	335.9>235.8(30,10)	335.9>251.8(30,20)	81(6)	79(7)

表2. APGC-MS/MS回收率数据及调谐参数(缩写见表1)。

本研究使用了优化的QuEChERS方法。在加入乙腈和QuEChERS盐之前，首先将辣椒粉末与水混合，达到平衡。这一步骤可从辣椒粉中有效萃取多种农药残留。在LC-MS分析前取一份QuEChERS萃取物，采用dSPE进行净化。通过该步骤清除了脂肪酸、糖类、多酚树脂和其它潜在的干扰物质(见图2)。在APGC-MS分析前使用Carbon/PSA小柱对另一份QuEChERS萃取物进行净化。图3显示了使用Carbon/PSA小柱得到的结果，大部分带颜色的基质化合物已被去除。辣椒中含有深色基质化合物，不适合使用GC分析，如果不通过SPE将这些物质去除，它们会在进样口和色谱柱的柱头处沉积。因此，若不进行SPE净化，使用APGC-MS分析较少的样品后就需要对进样口和色谱柱进行维护；而经过SPE净化后，无需任何日常维护即可分析数百种样品。

图2. LC-MS的SPE净化；左侧样品瓶为未经dSPE净化的辣椒粉样品，右侧样品瓶为使用dSPE净化的辣椒粉样品。

图3. GC-MS的SPE净化；左侧样品瓶为未经净化的辣椒粉样品，右侧样品瓶为使用Carbon/PSA小柱净化后的辣椒粉样品。

结论

- 优化的QuEChERS方法可有效提取辣椒粉中的多种农药残留
- dSPE为UPLC-MS/MS分析提供了适用的净化操作
- 基于Carbon/PSA柱的SPE纯化对于使用APGC-MS的GC-MS/MS分析极其有效
- Xevo TQ-S质谱仪可提供优异的UPLC-MS和APGC-MS性能
  - 从LC转换到GC接口只需几分钟
  - 转换时无需放空质谱仪

参考文献

1. Multi-Residue Pesticide Analysis in Tea: Optimized Cleanup After QuEChERS Extraction for UPLC-MS/MS and GC-MS/MS Analysis, Waters Application Note 720004819EN.
2. Multi-Residue Pesticide Analysis in Ginseng Powder: Optimized Cleanup After QuEChERS Extraction for UPLC-MS/MS and GC-MS/MS Analysis.

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters, The Science of What's Possible, UPLC, UltraPerformance LC和ACQUITY UPLC是沃特世公司的商标。
其它所有商标均归各自的拥有者所有。

©2014年 沃特世公司。印制于中国 2014年10月 720005142ZH 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 5999
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