



应用 GC/MS/MS 对橄榄样品进行农药多残留分析

应用简报

食品检测和农业

作者

A. Moreno López, L. Moreno López 和
J.L. Pineda Lucas

Laboratorio Químico Microbiológico
S.A.

西班牙塞维利亚

Joan Stevens

安捷伦科技有限公司

摘要

本文将介绍一种测定橄榄中 27 种农残的分析方法。橄榄中脂类含量高达 80% 到 85%，这会对农残的回收率和色谱系统造成不利影响。因此，本研究采用一种改进的 QuEChERS 方法进行样品提取，并结合气相色谱/三重四极杆质谱 (GC/MS/MS) 的多反应监测方法进行分析。该方法在橄榄样品的回收率、重复性和重现性等方面已得到验证。结果表明，方法的定量回收率介于 70% - 120% 之间，符合 SANCO/12571 [1] 所推荐的可接受范围，RSD < 20%。方法的农残定量限与法规允许的最大残留限值相当甚至更低。

前言

农残分析对于人和动物健康、进出口贸易以及法规监管来说都是十分必要的。农业生产中使用了多种农药，而且大多数农药都有相应的法规监管，如 GC/MS 或 LC/MS/MS 分析测定的食品中的最大残留限值 (MRL) [2]。

气相色谱与质谱联用的分析方法以选择离子监测 (SIM) 为基础，具有相当高的灵敏度，但同时也降低潜在的认识能力和非目标物分析/回顾性分析的性能。使用 GC/MS/MS 测定食品中适用于 GC 分析的农药是近十年来兴起的一种有价值的方法，该方法具有更高的选择性和灵敏度，几乎将大部分的色谱干扰降至最低甚至完全消除 [3]。虽然 GC/MS/MS 的灵敏度和选择性有了很大的提高，但是共萃取的基质成分还是会产生基质效应，对分析结果造成负面影响。本研究使用一种优化的样品前处理方法，可将此不利影响降至最低。



Agilent Technologies

材料与方 法

使用一种改进的 EN 萃取方法，来提取橄榄中的 27 种农残。如 EN 15662 [4] 中所述，这种溶剂改进型的方法包含了非极性和极性非质子混合溶剂（乙酸乙酯：环己烷：丙酮）和极性非质子溶剂（乙腈），可用于萃取橄榄中高脂基质内的农残成分。与仅使用极性非质子溶剂 CAN 相比，使用非极性和极性非质子混合溶剂能够为可萃取化合物提供更广泛的极性范围。本文研究的农药包括有机氯、有机磷和拟除虫菊酯农药。

仪器与耗材

- Agilent Bond Elut QuEChERS EN 萃取试剂盒（部件号 5982-5650）
- Agilent Bond Elut QuEChERS 分散试剂盒，EN 方法，15 mL（部件号 5982-5156）
- Agilent SPE 散装吸附剂，C18 封端（部件号 5982-8082）
- Agilent J&W HP-5ms 超高惰性气相色谱柱，30 m × 0.25 mm（部件号 19091S-433UI）
- Agilent 7890A GC
- Agilent 7000A 三重四极杆 GC/MS 系统
- Agilent 7693 自动液体进样器

溶剂与农残标样

- 乙酸乙酯，农残分析纯度，购自 Baker 公司
- 环己烷，农残分析纯度，购自 Sharlau 公司
- 丙酮，农残分析纯度，购自 Baker 公司
- 混合溶剂：乙酸乙酯：环己烷：丙酮（1：1：4）
- 农残标样，购自 Dr. Ehrenstorfer

气相色谱条件

载气：恒压，22.0 psi
柱温：初始温度 70 °C (2 min)，25 °C/min 升至 150 °C (0 min)，3 °C/min 升至 200 °C (0 min)，8 °C/min 升至 280 °C (10 min)
进样器温度：250 °C

隔垫吹扫：开启，3 mL/min
分流出口吹扫流速：100 mL/min (0.75 min 时)
进样：不分流进样，1.0 µL
RTL 化合物：甲基毒死蜱

质谱条件

离子源：EPC
离子源温度：280 °C
碰撞气体：氦气淬灭气体，开启，2.35 mL/min
氦气碰撞气体，开启，1.5 mL/min
传输线温度：280 °C
MS 四极杆 1,2 温度：两者均为 150 °C
MS1/MS2 分辨率：宽/宽
MRM 设置：见表 1

表 1. 27 种农残分析的保留时间和 MRM 参数

农药	RT (保留时间锁定甲基毒死蜱)
氯苯胺灵	11.05
庚烯磷	9.737
甲基嘧啶磷	18.307
六氯苯	12.377
地虫磷	13.889
西玛津	12.909
特丁磷	13.796
特丁津	13.810
二嗪农	14.466
抗蚜威	15.677
甲基毒死蜱	16.59
丙酯杀螨醇	25.419
甲基对硫磷	16.594
联苯菊酯	28.839
杀螟松	18.072
对硫磷	19.275
二甲苯敌草索	19.433
毒虫畏	21.557
二甲戊乐灵	20.991
α-硫丹	22.637
腐霉利	21.962
β-硫丹	25.3158
硫丹硫酸酯	26.76
氟丙菊酯	30.724
艾试剂	18.528
毒死蜱	19.234
4,4'-二氯二苯甲酮 (开乐散)	19.201

表 2 列出了时间间隔。MS1 和 MS2 的分辨率全程均为宽/宽。驻留时间 10 ms。

表 2. 时间间隔

化合物	母离子	子离子	碰撞能量	化合物	母离子	子离子	碰撞能量
时间间隔 2				时间间隔 8			
氯苯胺灵	213	171	5	4,4'-二氯二苯甲酮	139	111	15
氯苯胺灵	213	127	5	4,4'-二氯二苯甲酮	139	75	35
庚烯磷	124	89	20	艾试剂	263	193	30
庚烯磷	124	63	35	艾试剂	263	191	30
时间间隔 3				时间间隔 9			
六氯苯	284	249	20	毒死蜱	197	169	15
六氯苯	284	214	35	毒死蜱	197	107	40
时间间隔 4				时间间隔 10			
地虫磷	246	109	15	杀螟松	277	125	15
地虫磷	246	81	30	杀螟松	277	109	20
西玛津	201	186	5	对硫磷	291	109	10
西玛津	201	173	5	对硫磷	291	81	25
特丁磷	231	175	10	甲基嘧啶磷	305	290	10
特丁磷	231	129	25	甲基嘧啶磷	305	180	5
特丁津	214	132	10	时间间隔 11			
特丁津	214	104	20	二甲基敌草索	301	223	25
时间间隔 5				时间间隔 13			
二嗪农	179	137	20	毒虫畏	267	159	15
二嗪农	179	121	40	毒虫畏	267	81	30
地虫磷	246	109	15	二甲戊乐灵	252	162	10
地虫磷	246	81	30	二甲戊乐灵	252	161	20
特丁磷	231	175	10	时间间隔 14			
特丁磷	231	129	25	硫丹 (α 异构体)	241	206	10
特丁津	214	132	10	硫丹 (α 异构体)	241	170	20
特丁津	214	104	20	腐霉利	283	255	10
时间间隔 6				时间间隔 15			
抗蚜威	238	166	10	腐霉利	283	96	10
抗蚜威	166	96	15	时间间隔 16			
特草定	161	144	10	硫丹 (β 异构体)	241	206	15
特草定	161	88	20	硫丹 (β 异构体)	195	159	5
时间间隔 7				时间间隔 17			
甲基毒死蜱	286	271	20	硫丹 (β 异构体)	241	206	15
甲基毒死蜱	286	93	25	硫丹 (β 异构体)	195	159	5
甲基对硫磷	263	109	15	丙酯杀螨醇	251	139	15
甲基对硫磷	263	79	30	丙酯杀螨醇	251	111	35
				时间间隔 15			
				硫丹硫酸酯	272	237	20
				硫丹硫酸酯	272	117	40
				时间间隔 16			
				联苯菊酯	181	166	20
				联苯菊酯	181	165	25
				时间间隔 17			
				氟丙菊酯	289	93	5
				氟丙菊酯	208	181	5

样品前处理

橄榄摘自当地橄榄树。将橄榄切成薄片，称量部分（约 1 g）用于分析，剩余的冷冻保存。如果有橄榄核，将其剔除，并计算最终样品中橄榄核的百分含量。这是一项关于 LMR 计算的法规要求。取有代表性的橄榄样品（2 或 3 整片）对橄榄核比重进行估算，方法如下：首先，称取含有橄榄核的代表性样品。然后，剔除橄榄核并称量。最后，根据公式 1 计算橄榄核的百分含量。

式中：

% H = 橄榄核的百分含量

$$\% H = \frac{\text{橄榄核重量}}{\text{样品重量}} \times 100 \quad \text{公式 1}$$

步骤

1. 称取 10.0 g ± 0.1 g 的切片样品放入 50 mL 离心管中
2. 加入 10 mL 乙酸乙酯:环己烷:丙酮 (1:1:4) 的混合溶剂，盖上离心管，振摇至少 1 min。
3. 向样品管中加入 Bond Elut QuEChERS 萃取盐包（部件号 5982-5650），振摇 1 min
4. 以 4000 rpm 的转速离心 5 min
5. 移取 6 mL 上层有机相到 15 mL Bond Elut 分散管（部件号 5982-5156）中，分散管中已事先加入 300 mg C18EC（部件号 5982-8082）
6. 振摇至少 1 min，然后以 4000 rpm 的转速离心 5 min
7. 移取 1 到 2 mL 上层有机相到色谱样品瓶中，加盖密封

结果与讨论

所有目标农残均在 HP-5ms 超高惰性气相色谱柱上实现了完美的分离和检测。由于 LC/MS/MS 具有强大的选择性，空白基质的 MRM 色谱图中未显示目标分析物的干扰峰。图 1 所示为经改进的 EN QuEChERS 方法制备的 20 µg/kg 加标橄榄提取液的 GC/MS/MS 谱图。图 2 表明橄榄和橄榄油分析中具有挑战性的农药（如特丁津和毒死蜱）的定量分析结果十分优异。

计算

一旦通过校准曲线得到了样品瓶中农残的浓度，则可以通过公式 2 计算出样品中的浓度 (mg/kg)。

$$C_{\text{农残}}(\text{mg/kg}) = C_{\text{农残}}(\mu\text{g/L}) \times \frac{10}{W} \times 1e-3 \times [1 - (\frac{\% H}{100})] \quad \text{Eqn.2}$$

式中：

$C_{\text{农残}}$ = 通过校准曲线得到的浓度 (µg/L)

W = 测试用样品的初始重量，单位为 g (10.0 g)

$\% H$ = 橄榄核的百分质量（如必需）

最终结果以国际单位 (µg/kg) 表示。

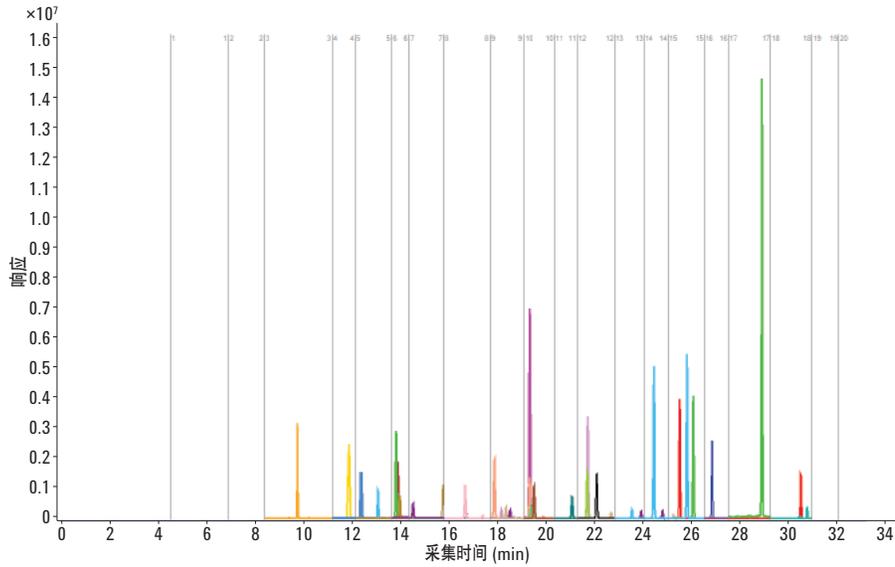


图 1 加标 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 橄榄样品中 27 种农残 MRM 离子对的 GC/MS/MS 谱图叠加

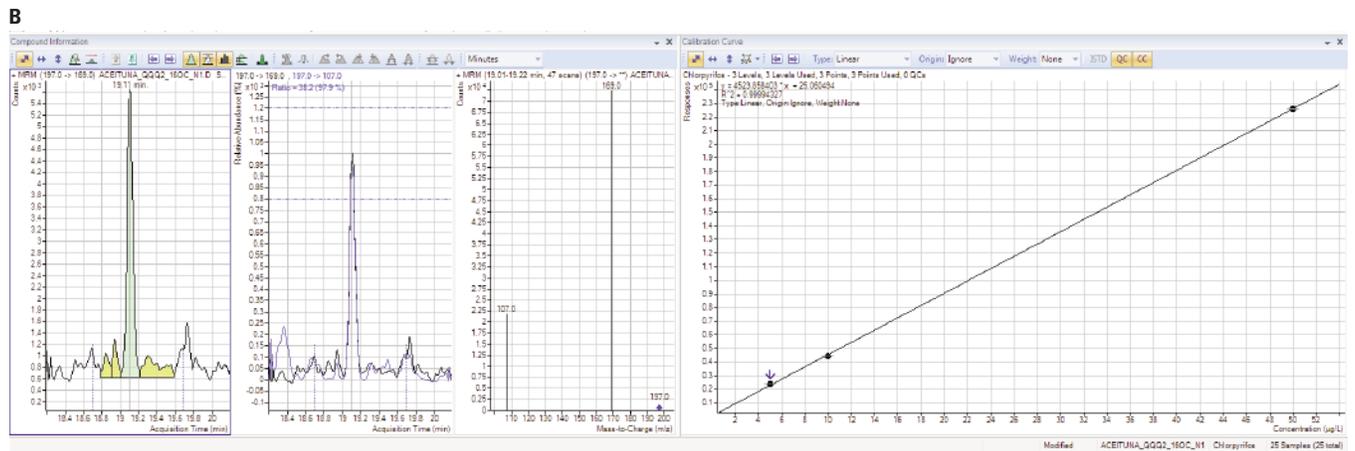
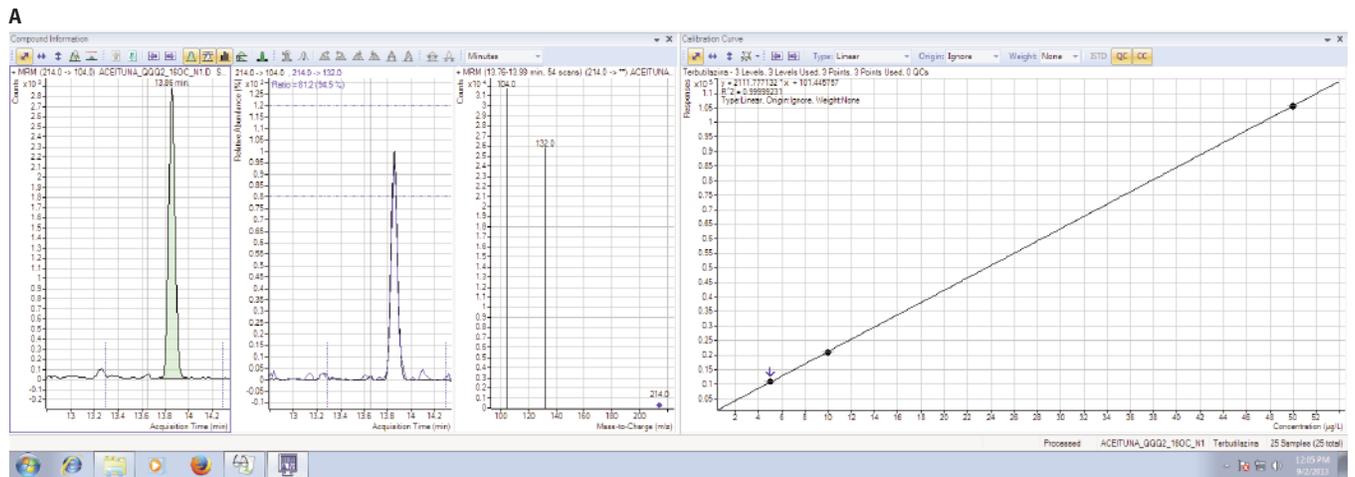


图 2 A) 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 特丁津, $R^2 = 0.9999$. B) 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 毒死蜱, $R^2 = 0.9999$

线性和定量限 (LOQ)

测试的所有农残的线性校准范围均为 5-60 µg/kg。通过向基质空白加标的方法制备校准曲线，浓度分别为 5、10、20 和 60 µg/kg，其中 60 µg/kg 至少为上限的 120%。利用分析物的相对响应和浓度之间的关系绘制校准曲线。所有农残的定量限均为 10 µg/kg，其小于或等于这些农残在水果和蔬菜中的 MRL 值。所有化合物的相关系数 (R^2) 均大于 0.9999。

回收率与重现性

向粉碎的橄榄样品中加入农残标样，加标浓度分别为 5、10 和 20 µg/kg，然后再通过 EN QuEChERS 萃取法和溶剂改进型净化方法制备样品，以便进行回收率与重现性实验。通过基质加标校准曲线对这些质控样品定量。各浓度水平重复分析 5 次回收率和重现性（以 RSD 表示）数据见表 3，由数据可知，27 种农药的回收率和精密度良好。

表 3 使用 Agilent Bond Elut QuEChERS EN 萃取方法和溶剂改进型分散 SPE 试剂盒（用于含脂肪和蜡质的水果与蔬菜）所得的橄榄中农药的回收率 %、(RSD%) 和重现性

化合物	L1	L2	L3
4,4'-二氯二苯甲酮	93.94 (7.32)	92.95 (7.62)	106.43 (6.28)
氟丙菊酯	101.92 (6.66)	95.13 (14.01)	105.25 (2.00)
艾试剂	90.46 (12.86)	90.36 (9.60)	100.00 (10.52)
联苯菊酯	96.50 (9.12)	95.88 (7.87)	104.29 (8.01)
毒死蜱	93.15 (4.43)	86.07 (14.21)	108.10 (5.53)
二甲基敌草索	98.78 (5.78)	96.05 (7.47)	99.96 (16.41)
毒虫畏	93.10 (6.04)	89.01 (11.80)	106.86 (6.38)
丙酯杀螨醇	91.24 (7.46)	86.68 (7.88)	108.70 (5.41)
甲基毒死蜱	100.40 (11.72)	92.70 (8.63)	110.22 (3.23)
氯苯胺灵	98.38 (7.30)	91.00 (15.89)	105.07 (6.86)
二嗪农	94.11 (10.24)	94.68 (14.24)	108.81 (5.98)
硫丹 (α 异构体)	89.13 (16.31)	93.97 (11.88)	105.55 (5.64)
β -硫丹	83.90 (21.05)	93.06 (10.03)	98.25 (4.41)
硫丹硫酸酯	94.67 (4.76)	93.48 (7.74)	109.58 (4.75)
杀螟松	91.48 (8.74)	86.33 (17.91)	109.38 (10.91)
地虫磷	89.55 (5.21)	91.06 (9.75)	104.63 (7.52)
庚烯磷	97.24 (4.02)	93.55 (17.02)	101.78 (12.40)
六氯苯	95.25 (3.52)	87.10 (8.51)	105.62 (7.34)
甲基对硫磷	94.00 (15.54)	85.27 (10.50)	104.57 (7.81)
对硫磷	86.26 (11.20)	81.57 (10.98)	94.98 (10.91)
二甲戊乐灵	90.25 (12.40)	81.78 (7.91)	96.00 (4.64)
抗蚜威	84.52 (5.09)	76.15 (5.43)	89.66 (10.16)
甲基嘧啶磷	93.02 (7.29)	85.34 (13.69)	106.92 (5.54)
腐霉利	90.75 (7.97)	85.04 (3.41)	98.88 (7.29)
西玛津	94.12 (4.59)	90.17 (11.80)	105.81 (8.75)
特丁磷	105.06 (8.45)	98.92 (9.06)	112.62 (6.92)
特丁津	97.31 (9.04)	91.66 (7.59)	105.34 (9.99)

浓度	校准浓度 (µg/L)	定量限 (µg/kg)
L1	5.0 (至少为 LQ 的 70%)	10.0
L2	10	
L3	20	
L4	60 (至少为上限的 120%)	

结论

将 Agilent Bond Elut QuEChERS EN 缓冲萃取试剂盒和分散 SPE 试剂盒用于含脂肪和蜡质的水果和蔬菜的农残分析，同时使用改进型的混合溶剂，为橄榄中的代表性农残分析提供了简单、快速、高效的纯化方法。根据加标基质的标准样品来看，所测得的橄榄中多种农药的回收率和重现性均在可接受的范围内。同时，橄榄中的基质效应对目标化合物的定量无干扰。农药的 LOQ 值均小于或等于食品中规定的 MRL 值。由于研究中所选择的农药代表了各种不同类别和性质的农药，因此，配有改进型混合溶剂的 Bond Elut QuEChERS EN 萃取和分散 SPE 试剂盒是用于类似食品基质中其他农药分析的极佳选择。

参考文献

1. Anon. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. SANCO/12571_2013. European Commission (2013)
2. L. Alder, *et al. Mass Spectrom. Rev.* **25**, 838 (2006)
3. F. Hernández, *et al. Anal. Methods* **5**, 5875 (2003)
4. Anon. Foods of plant origin. Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE. QuEChERS-method. EN 15662. European Standard

更多信息

这些数据代表典型结果。有关我们的产品和服务的详细信息，请访问我们的网站：www.agilent.com/chem/cn

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦不对本文可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失承担任何责任。

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, 2014
2014年6月18日, 中国印刷
5991-4800CHCN



Agilent Technologies