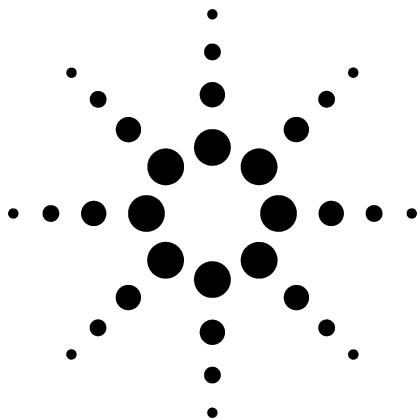


# 用 LC/MS/MS 测定食品中 44 种农药的含量 应用



食品安全

## 作者

Masahiko Takino  
Agilent Technologies, Inc.  
Hachioji, Tokyo  
Japan

Toshitsugu Tanaka  
Kobe Institute of Health  
Department of Food Chemistry  
Chuo-ku, Kobe  
Japan

## 摘要

本文采用 Agilent G6410AA 型三重串联四极杆质谱(QQQ)建立了十多种食物中的 44 种农药残留量的测定方法，方法的灵敏度高、选择性好。食物样品以两种不同的方法进行预处理。再进行 LC/MS/MS 分析，所有待测农药的检出限都低于 10 ng/mL。对这些待测农药，QQQ 系统的灵敏度能够很容易地达到日本食品卫生法规定的要求。

## 引言

农药在农业活动中应用广泛，主要用于两个方面，即生产和为方便运输进行的农产品处理。而被限制使用的农药是主要用于农业生产的农药。因此，农药最

大残留限量(MRLs)与食品的安全评价有着紧密的联系。近年来建立的 MRLs 相关法规日趋严格。日本在 2006 年出台了肯定列表制度(Positive list system)，对食品中 500 余种农药的 MRLs 作了规定。这一制度针对不同农药，按不同食品规定了不同的 MRLs。通常，根据商品和农药种类的不同，MRLs 在 0.01 到 3  $\mu\text{g/g}$  不等。MRLs 标准的降低对仪器的灵敏度提出了更高的要求，促使仪器不断发展以满足复杂样品的要求。迄今，带有多反应监测模式(MRM) QQQ 的高效液相色谱/串联质谱系统(LC/MS/MS)是食品中极性农药定量分析最常用的工具。MRM 模式能够对食品这样的复杂基质进行更专一的检测。本文在所用样品分析条件下分两次分析了 44 种农药（见表 1 和表 2），其灵敏度能够很轻易地达到肯定列表制度的相应要求。

## 实验部分

### 化学试剂

乙腈 (LC/MS 级) 购自 Wako Pure Chemical Ind. (日本)。甲苯，丙酮，正己烷，甲酸，氯化钠和无水硫酸钠均为分析纯，购自 Wako Pure Chemical Ind. (日本)。SPE 柱购自 Spelco Japan (日本)。各农药标准品购自 Hayashi Pure Chemical (日本)。



Agilent Technologies

## 样品制备 提取

蔬菜和水果样品均来自本地市场。用食品加工机将10-500 g不等的样品切碎，获得完全混合的匀浆液。称量20 g的样品匀浆液倒入200 mL的PTFE离心管中，加入50 mL乙腈在Polytoron混合器中混匀。将乙腈提取物抽真空过滤，收集滤液。滤渣再以20 mL乙腈提取。重复上述操作后合并滤液，倒入100 mL容量瓶中，加入乙腈定容。取出20 mL提取物倒入PTFE离心管中，加入10 g NaCl和20 mL磷酸盐缓冲液(pH 7.0)，振荡5分钟。盐析后得乙腈层，向其中加入5克无水硫酸钠。去除无水硫酸钠后，使用旋转蒸发仪在40 °C下将乙腈提取物蒸干。残渣以2 mL乙腈-甲苯(3:1)溶解。

## 纯化

**第一组** - 将提取物上样到经10 mL乙腈-甲苯(3:1)平衡过的GCB/氨丙基SPE柱(500 ng/500 mg)上。以20 mL的乙腈-甲苯(3:1)冲洗。收集洗脱液，以旋转蒸发仪蒸干溶剂。残渣以4 mL甲醇溶解。

**第二组** - 将提取物上样到经甲醇、丙酮、正己烷各10 mL依次平衡过的硅胶SPE柱(500 mg)上。以10 mL的丙酮-三乙胺-正己烷(20:0.5:80)洗脱。弃去洗脱液。再以20 mL丙酮-甲醇(1:1)冲洗，收集洗脱液，旋转蒸发仪蒸干溶剂。残渣以4 mL甲醇溶解。

## 标准溶液配制

配制1 µg/mL的各农药标准品的甲醇溶液，以甲醇逐级稀释得0.001-1 µg/mL的标准混合液。

空白基质残渣中加入混合农药，浓度为10 ng/g。

## LC/MS/MS 仪器

LC/MS/MS系统包括Agilent 1100系列的真空脱气机，二元泵，自动进样器，柱温箱和Agilent G6410型三重串联四极杆质谱，离子源是ESI源。本研究的目的是建立一种快速灵敏测定水果和蔬菜中农药残留量的分析方法。为了获得良好的色谱分辨率和灵敏度，需要首先优化流动相组成和选择合适的色谱柱。优化结果为：流动相采用水-乙腈-甲酸-甲酸铵体系，色谱柱采用1.8 µm粒径填料的C18柱。

## LC 条件

仪器:	Agilent 1100 HPLC
色谱柱:	ZORBAX Extend C18, 100 mm x 2.1 mm, 1.8 µm (部件号 728700-902)
柱温:	40 °C
流动相:	A = 0.1% 甲酸 +5 mM 甲酸铵水溶液 B = 乙腈
洗脱梯度:	起始 10% B, at 30 min 80% B
流速:	0.2 mL/min
进样量:	5 µL

## MS 条件设置

仪器:	Agilent 6410 QQQ (三重串联四极杆系统)
离子源:	ESI 正离子模式
干燥气流速:	10 L/min
雾化器:	50 psig
干燥气温度:	350 °C
V <sub>cap</sub> :	4000 V
离子扫描范围:	m/z 100-550
碰撞电压:	100 V 可调
MRM 离子:	见表 1 和表 2
碰撞能量:	见表 1 和表 2

## LC/MS/MS 方法

以MRM模式按时间程序(time programming)进行定量分析。MRM transition参数见表1和表2。

表 1. 第一组中各农药的 MRM Transition 实验参数

序号	农药	保留时间 (min)	分子量	母离子 ( <i>m/z</i> )	子离子 ( <i>m/z</i> )	碰撞能量 (V)
1	噻菌灵	5.018	201	202	175	20
2	噻虫嗪	6.16	291	292	211	5
3	可尼丁	7.83	249	250	169	10
4	氯草敏	8.19	221	222	104	10
5	吡虫啉	8.39	255	256	209	20
6	二甲噻酚	8.8	209	210	171	20
7	氧化萎锈灵	11.02	267	268	175	10
8	噻虫啉	11.03	252	253	126	20
9	甲基吡恶磷	12.87	324	325	183	10
10	噻菌胺 E	13.21	254	255	124	20
11	噻菌胺 Z	13.7	254	255	132	20
12	苯敌草	17.77	317	318	136	20
13	谷硫磷	17.9	318	132	77	15
14	硅氟唑	18.5	293	294	70	15
15	异唑草酮	18.7	359	360	251	15
16	环酯草醚	18.7	318	319	139	20
17	十三吗啉	19.21	297	298	130	15
18	甲氧虫酰肼	20.06	312	313	149	20
19	环虫酰肼	20.57	394	175	141	20
20	苯氧威	20.63	301	302	88	15
21	萘丙胺	21.27	291	292	171	10
22	氟丙噻草酯	21.55	491	492	331	20
23	氰唑磷菌胺	21.7	324	325	108	10
24	莎稗磷	22.5	367	368	199	10
25	吡啶特	23.5	438	439	173	15
26	吡草酮	24	430	431	105	20
27	环氟菌胺	24.3	412	413	241	20
28	茚虫威	24.37	527	528	150	15
29	氯甲酰草胺	24.78	372	373	299	5
30	Cloquincet-mexyl	24.8	335	336	238	15
31	吡啶威	25.7	365	383	195	15
32	乳氟禾草灵	26.3	478	479	344	15
33	三甲苯草酮	26.7	329	330	284	10

表 2. 第二组中各农药的 MRM Transition 实验参数

序号	农药	保留时间 (min)	分子量	母离子 ( <i>m/z</i> )	子离子 ( <i>m/z</i> )	碰撞能量 (V)
1	唑啶磷草胺	9.96	325	326	129	20
2	噻苯隆	11.95	220	221	102	10
3	灭草啶	12.25	311	312	267	20
4	噻吩磺隆	12.89	387	388	167	10
5	双氟磺草胺	13.75	359	360	129	20
6	甲基氯吡啶	14.63	247	248	129	10
7	氯酯磺草胺	16.41	429	430	398	10
8	双氯磺草胺	16.83	405	406	161	20
9	氟磺胺草醚	18.27	438	456	344	10
10	氟胺磺隆	19.29	492	493	264	15
11	氟吡甲禾灵	19.67	361	362	316	15

## 结果与讨论

### MRM transition 条件的优化

对含 1  $\mu\text{g/mL}$  的两个农药的混合物标准溶液依次进行全扫描模式和子离子扫描模式的检测, 获得各个农药的最佳 MRM transition 参数。两种模式的总离子流图 (TIC) 见图 1 和图 2。在全扫描模式的质谱图中, 除了 azinphos-methyl, furatiocarb 和 fomesafen 的基峰离子是  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$  之外, 其余农药的基峰离子都是  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。选择这些基峰离子作为母离子进行 MRM 模式监测。采用多重采集 (multiple acquisition) 和时间程序模式, 可以得到不同农药的个体子离子 MS/MS 图谱。从表 1 和表 2 中可以看出, 第一组的 33 种农药和第二组的 11 种农药分别以 10 个和 7 个时间段进行 MRM 模式监测。

图 3 是最小 MRL 浓度水平 (10  $\text{ng/mL}$ ) 的农药标准混合液的 TIC 谱图。图中所有的农药都显示了卓越的信噪比 (S/N)。以 MRM 模式分析 1  $\text{ng/mL}$  各农药溶液 (结果见表 3), 按照信噪比  $\text{S/N}=3$  确定各农药的检出限 (LOD)。同时, 分析 0.001-1  $\text{ng/mL}$  的各农药标准溶液, 绘制定量标准曲线, 评价其线性。表 3 数据显示, 所有农药的线性相关系数  $r^2$  都大于 0.998。

为了考察基质对方法的影响, 本文选取柑桔、苹果、马铃薯和卷心菜为基质。向各自的提取物中分别加入 10  $\text{ng/mL}$  的农药标准品后进行分析。图 4 和图 5 是柑桔提取物的 MRM 图谱, 其他提取物的分析结果见图 6。通过与农药标准混合液的图谱比较, 可以看出, 基质的成分对农药的检测没有干扰。这表明, MRM 模式具有很高的选择性。

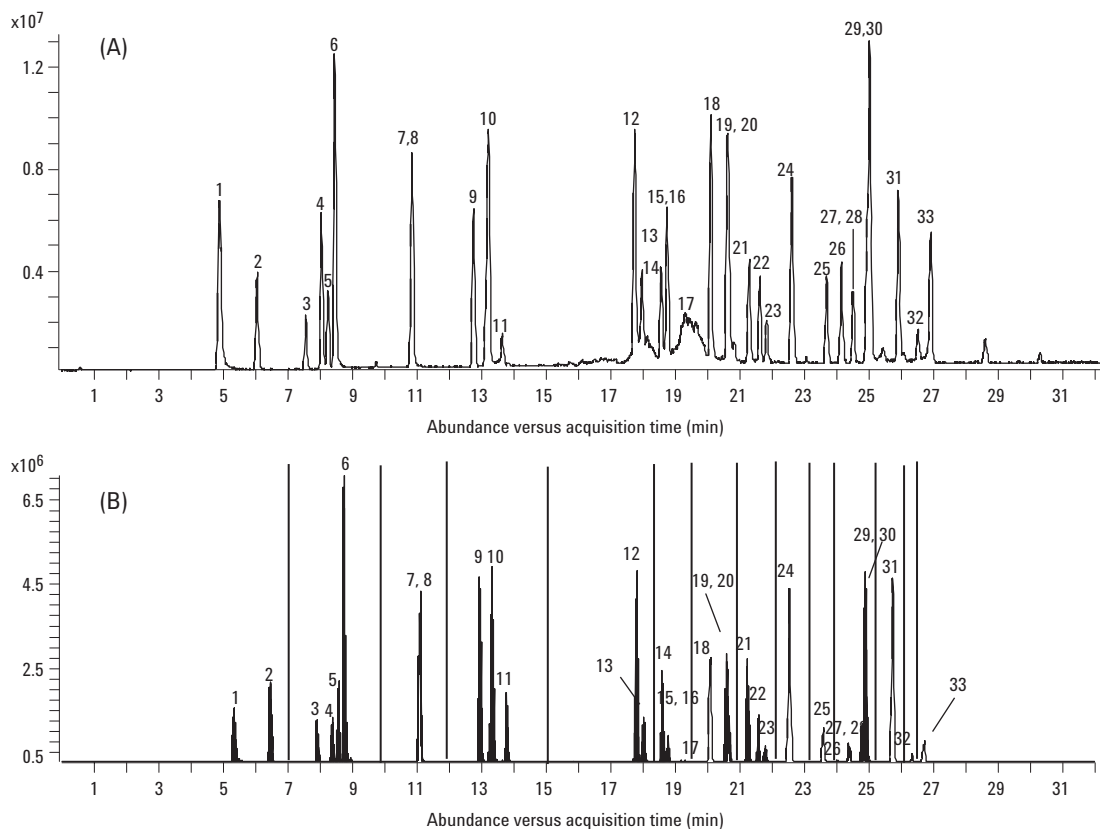


图 1. 33 种农药标准溶液 (1  $\text{ng/mL}$ ) 的全扫描模式 (A) 和子离子扫描模式 (B) 的 TIC 谱图

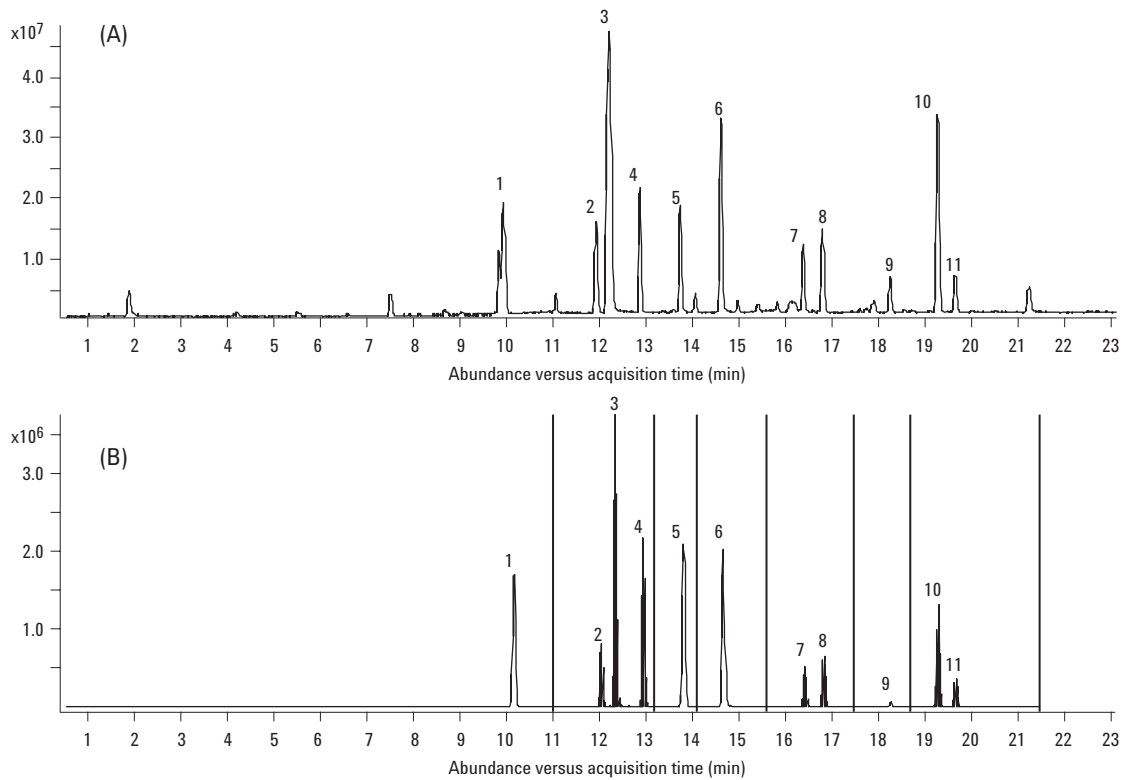


图2. 11种农药标准溶液（1 ng/mL）的全扫描模式（A）和离子扫描模式（B）的TIC谱图

此外，本文考察了基质对各农药谱峰强度的影响。通过对比基质样品和标准品的谱图发现，各农药的相对强度在91% - 116%范围内变动（见表4）。可以说，基质对农药谱峰强度存在的影响，如离子抑制等，并不大。因此，可直接采用外标法进行定量，不必以基质为空白。表4还列出了柑桔提取物中各农药分析的重复性，RSD为1.7-5.9%。

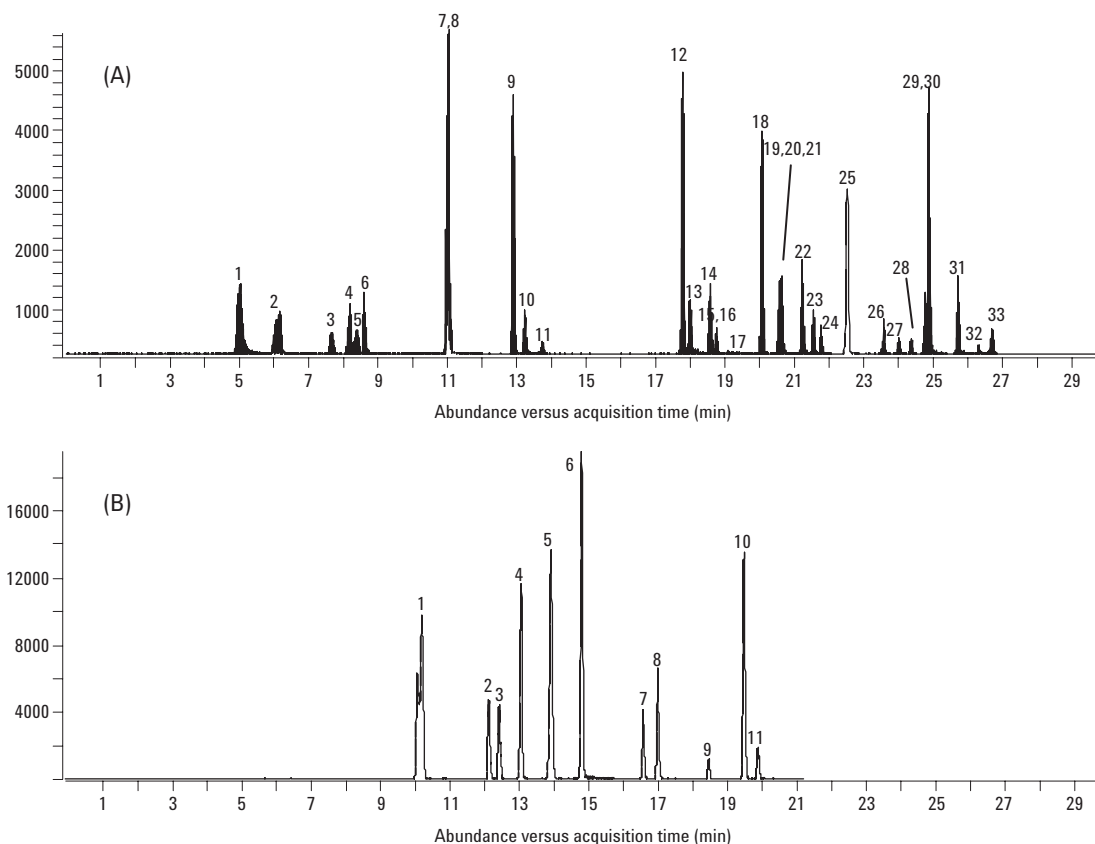


图3. 10 ng/mL的33种农药标准溶液 (A) 和11种农药标准溶液 (B) MRM模式的TIC谱图

表3. 44种农药标准溶液的线性和检出限

序号	农药	r <sup>2</sup>	检出限(ng/mL)	序号	农药	r <sup>2</sup>	检出限(ng/mL)
<b>第一组</b>							
1	噻菌灵	0.9999	<0.1	18	甲氧虫酰胺	0.9993	0.55
2	噻虫嗪	0.9992	<0.1	19	环虫酰胺	0.9992	0.49
3	可尼丁	0.9999	<0.1	20	苯氧威	0.9988	<0.1
4	氯草敏	0.9993	<0.1	21	萘丙胺	0.9993	<0.1
5	吡虫啉	0.9995	<0.1	22	氟丙嘧草酯	0.9994	<0.1
6	二甲嘧酚	0.9989	<0.1	23	氟唑磺菌胺	0.9987	0.43
7	氧化萎锈灵	0.9993	<0.1	24	莎稗磷	0.9991	<0.1
8	噻虫啉	0.9991	<0.1	25	吡啶特	0.9990	0.51
9	甲基吡恶磷	0.9988	<0.1	26	吡草酮	0.9982	0.49
10	啉菌胺E	0.9993	0.34	27	环氟菌胺	0.9993	0.43
11	啉菌胺Z	0.9995	0.53	28	茚虫威	0.9993	0.61
12	苯敌草	0.9993	<0.1	29	氯甲酰胺	0.9991	1.04
13	谷硫磷	0.9997	<0.1	30	Quinclorac-methyl	0.9988	0.63
14	硅氟唑	0.9992	<0.1	31	咪唑啉	0.9987	<0.1
15	异唑草酮	0.9991	<0.1	32	乳氟禾草灵	0.9987	1.10
16	环酯草醚	0.9988	<0.1	33	三甲苯草酮	0.9992	0.52
17	十三吗啉	0.9991	1.21				
<b>第二组</b>							
1	唑啉磺草胺	0.9996	<0.1	7	氯酯磺草胺	0.9987	<0.1
2	噻苯隆	0.9994	<0.1	8	双氯磺草胺	0.9989	<0.1
3	灭草啶	0.9992	<0.1	9	氟磺胺草醚	0.9989	0.32
4	噻吩磺隆	0.9989	<0.1	10	氟磺胺草醚	0.9992	<0.1
5	双氟磺草胺	0.9969	<0.1	11	氟吡甲禾灵	0.9995	0.19
6	甲基氯吡啶	0.9977	<0.1				

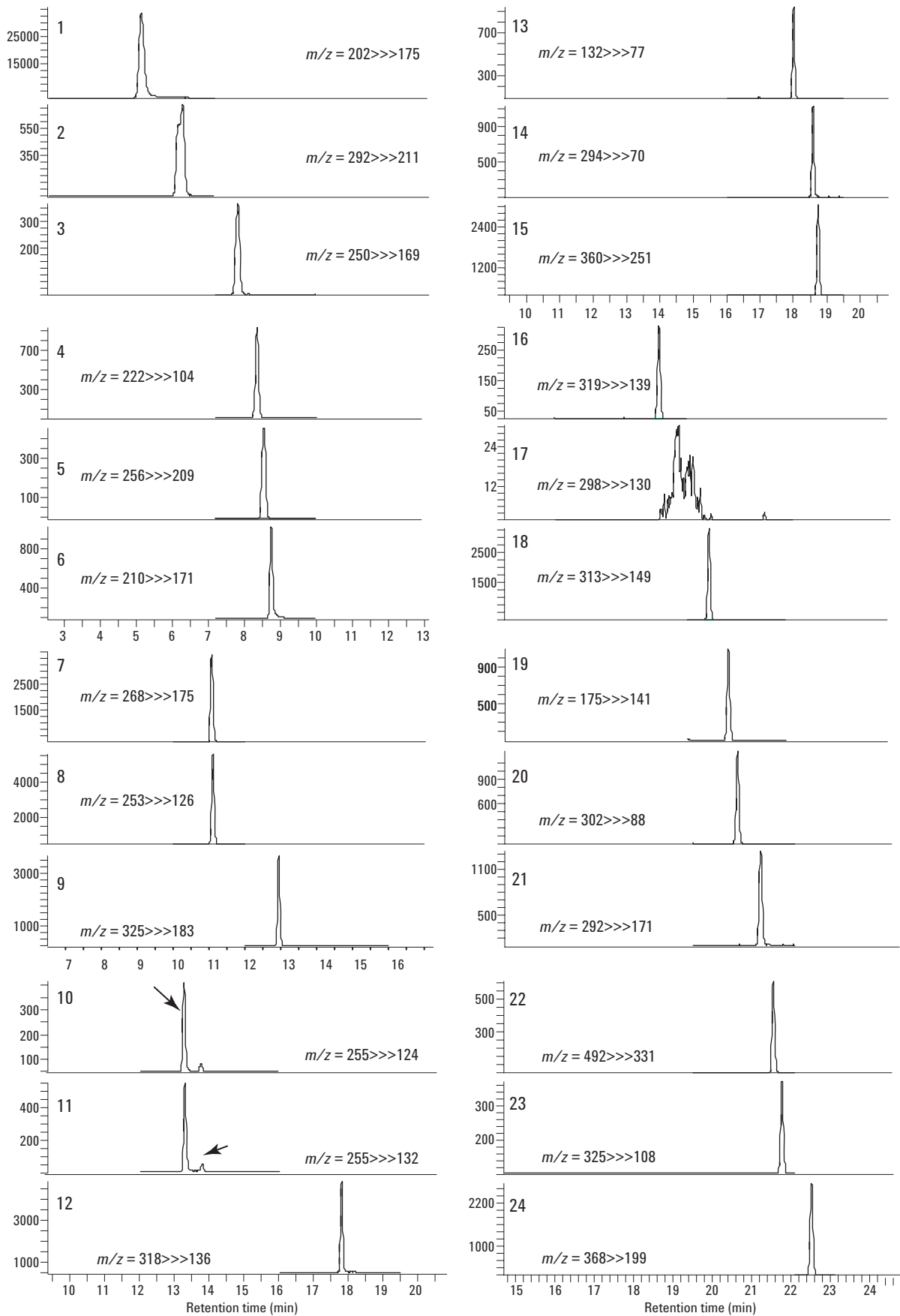


图4. 33种农药（10 ng/mL）在柑桔提取物基质的MRM模式的TIC谱图

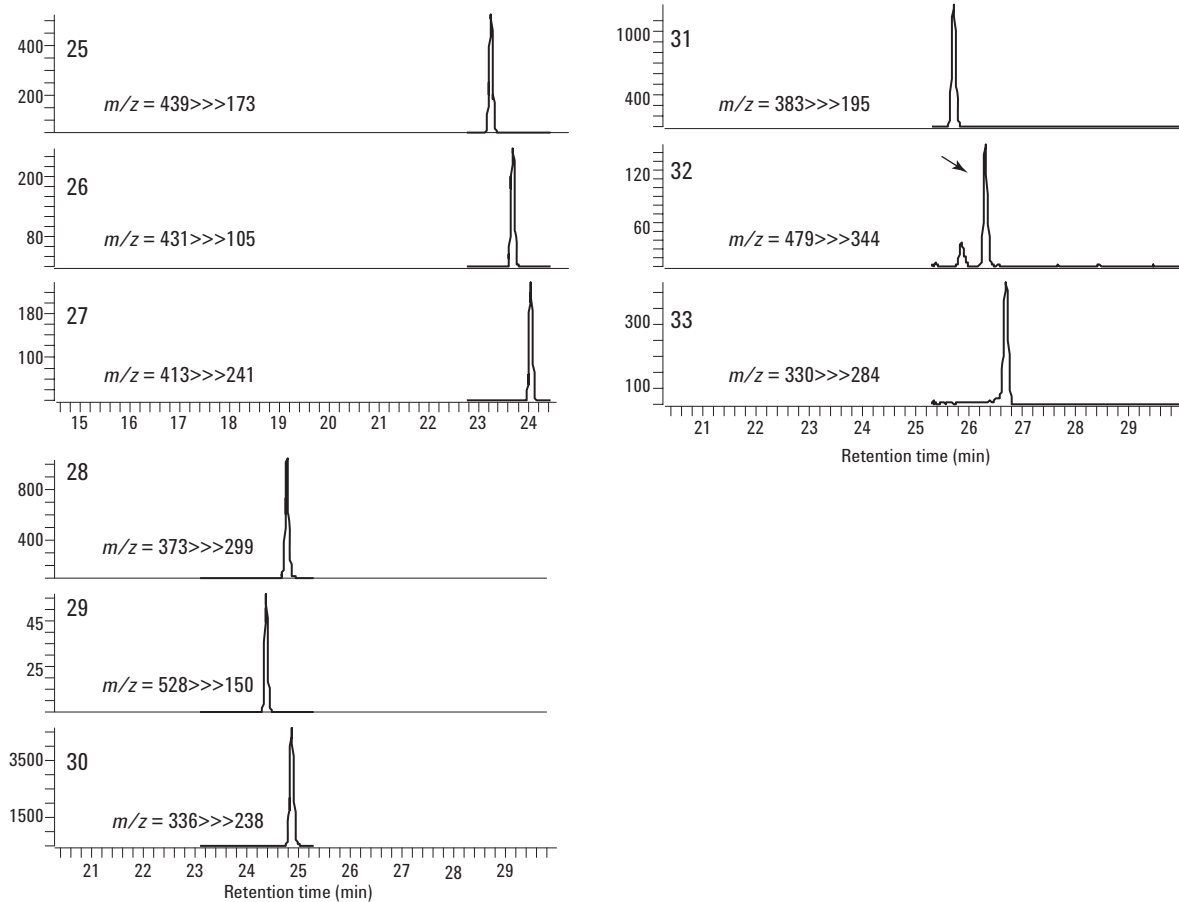


图4. 33种农药 (10 ng/mL) 在柑桔提取物基质的MRM模式的TIC谱图

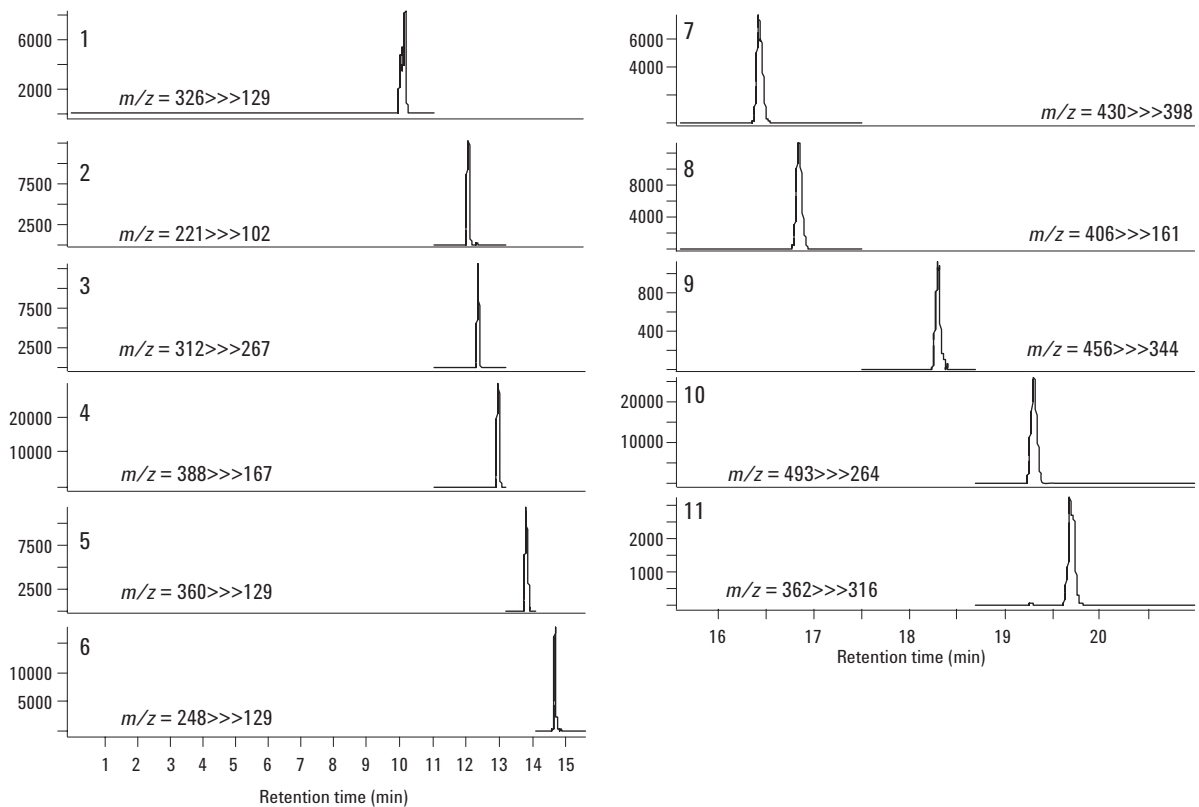


图5. 11种农药 (10 ng/mL) 在柑桔提取物基质的MRM模式的TIC谱图

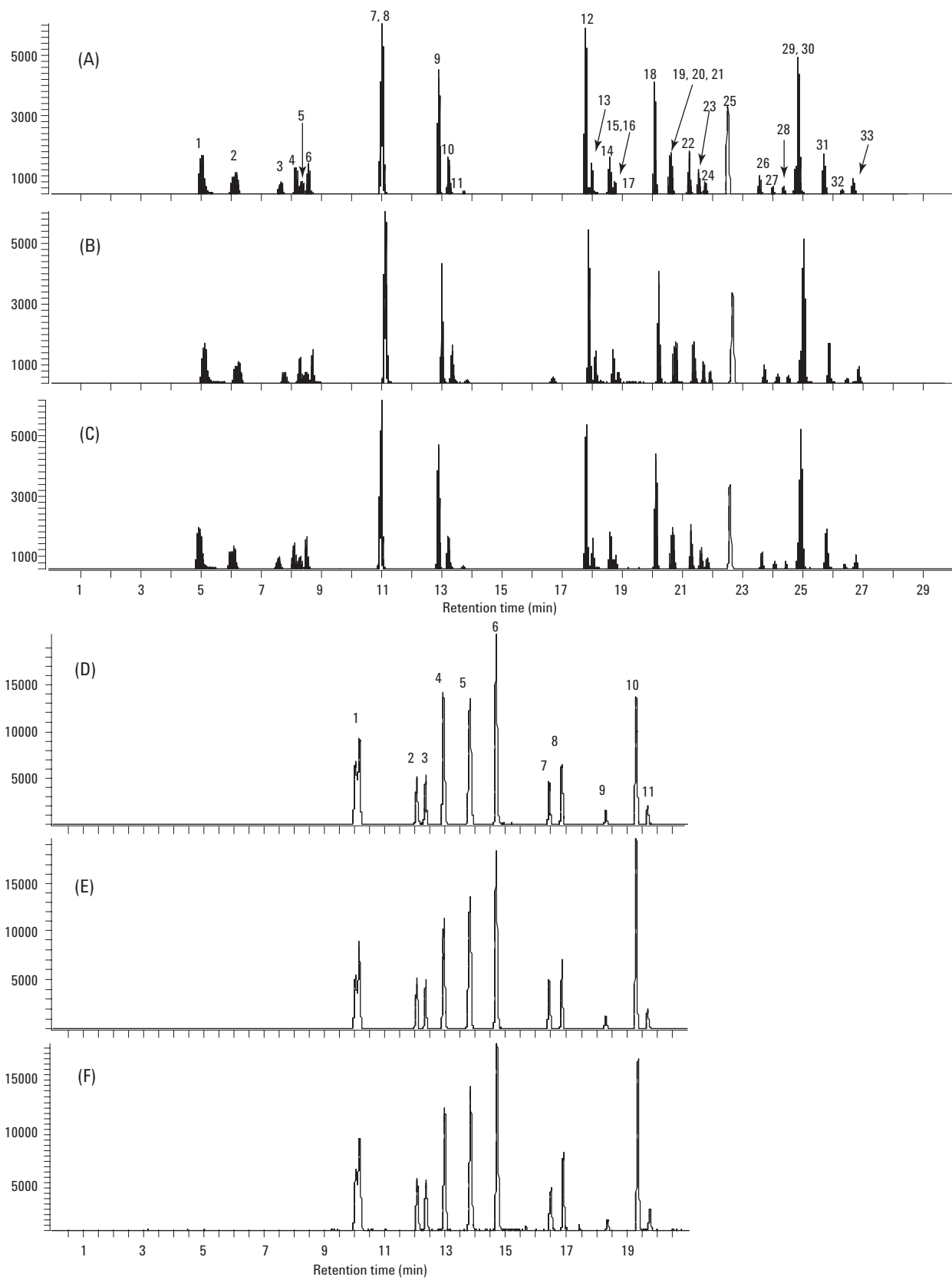


图6. 分别以苹果、马铃薯和卷心菜提取物为基质的33种农药 (A, B, C) 和另外11种农药 (D, E, F) MRM模式的TIC谱图

表4. 食品提取物中各农药的相对强度

序号	农药	相对强度(%)				
		柑桔*	卷心菜	苹果	马铃薯	
<b>第一组</b>						
1	噻菌灵	105	(3.2)	101	116	107
2	噻虫嗪	103	(2.1)	98	104	105
3	可尼丁	106	(2.9)	101	109	112
4	氯草敏	105	(3.3)	106	101	109
5	吡虫啉	102	(1.7)	97	102	104
6	二甲噻酚	103	(4.6)	107	103	108
7	氧化萎锈灵	106	(3.7)	102	104	106
8	噻虫啉	104	(3.1)	104	106	108
9	甲基吡恶磷	93	(4.6)	90	94	84
10, 11	噻菌胺(E,Z)	116	(4.1)	109	102	112
12	苯敌草	96	(5.3)	99	100	104
13	谷硫磷	90	(2.1)	103	104	110
14	硅氟唑	104	(4.4)	102	106	110
15	异唑草酮	102	(2.7)	104	108	103
16	环酯草醚	97	(4.1)	103	104	93
17	十三吗啉	92	(3.1)	99	104	97
18	甲氧虫酰肼	96	(2.8)	102	103	101
19	环虫酰肼	97	(3.4)	96	100	111
20	苯氧威	99	(2.1)	105	102	101
21	萘丙胺	91	(4.3)	97	98	103
22	氟丙噻草酯	102	(2.6)	114	104	114
23	氟唑磺菌胺	93	(3.5)	92	87	95
24	莎稗磷	102	(2.7)	105	103	107
25	吡啶特	103	(4.7)	101	103	97
26	吡草酮	108	(5.2)	111	98	108
27	环氟菌胺	108	(3.4)	110	105	101
29	茚虫威	109	(2.6)	105	100	111
28	氯甲酰草胺	105	(4.2)	107	106	104
30	Cuinclorac-methyl	105	(4.1)	104	104	105
31	咪线威	102	(1.8)	104	105	101
32	乳氟禾草灵	100	(3.7)	109	105	112
33	三甲苯草酮	101	(3.3)	111	102	117
<b>第二组</b>						
1	唑啶磺草胺	97	(2.6)	110	156	104
2	噻苯隆	104	(4.8)	101	102	113
3	灭草嗪	105	(3.1)	100	100	101
4	噻吩磺隆	106	(2.9)	112	116	113
5	双氟磺草胺	99	(3.1)	106	103	109
6	甲基氯吡啶	101	(4.4)	103	100	108
7	氯酯磺草胺	94	(3.9)	104	97	142
8	双氯磺草胺	95	(3.3)	102	96	107
9	氟磺胺草醚	99	(5.9)	101	95	109
10	氟胺磺隆	97	(4.1)	111	104	108
11	氟吡甲禾灵	108	(4.8)	114	110	124

\*( ): RSD, % 同一天内5次重复实验的计算值。

## 结论

本文所建立的基于 LC/MS/MS 的多残留物分析方法具有很高的灵敏度和选择性，可用于不同食物样品中 44 种农药残留的检测。本方法的另一个优点在于，本文所研究的食品均未观察到对待测农药的离子抑制作用。因此，本方法不必配制以基质为本底的标准溶液。大大简化了分析不同产地食品时的样品准备过程。

如需了解本应用的更多细节，请联系  
[masahiko\\_takino@agilent.com](mailto:masahiko_takino@agilent.com)

## 更多信息

如需本公司产品和服务的更多信息，请访问本公司网站：  
[www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)

安捷伦对本材料中的错误与设备、性能或本品的使用有关的意外伤害或由此造成的损坏不负任何责任。

本文中的信息，说明和指标，如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技有限公司。2006

2007年7月中国印刷  
5989-5459CHCN