

# 采用液相色谱/三重串联四级杆质谱技术进行食品中 100 种农药的多残留分析

应用

食品安全

## 作者

Imma Ferrer and E. Michael Thurman  
Pesticide Residue Research Group  
University of Almeria  
Almeria, Spain

Yanyan Fang, Paul Zavitsanos, and Jerry A. Zweigenbaum  
Agilent Technologies, Inc.  
USA

## 摘要

本文使用 Agilent G6410AA 三重串联四级杆质谱仪(QQQ)进行了证实 100 种农药在蔬菜和水果样品中是否存在的分析化学研究。在包含两个时间段的一次色谱操作中, 每种母体化合物监测一种转变。方法的灵敏度满足欧盟委员会食品监测计划提出的最大残留限量(MRLs)的要求。将本方法应用于不同种类的蔬菜和水果的分析, 包括柑桔、西红柿和青椒, 以考察方法的分析性能, 结果表明基质没有干扰或影响很小。线性范围超过两个数量级( $r > 0.99$ )。本研究揭示了将QQQ应用于蔬菜和水果中农药多种残留物的日常定量分析的潜在价值。

## 引言

近年来, 对商品中最大残留限量(MRLs)的规定越来越严格。为了满足对健康的要求, 欧盟委员会(EU)对蔬菜中低含量的农药作出了新的指示。对于准备用作生产婴儿食品的水果和蔬菜, 要求其所含所有农药的MRL为 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 没有提出规定的化合物同样也要求达到 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的最低MRLs。低的MRLs促进了更灵敏分析方法的开发以满足复杂样品分析的需要。从这种意义上讲, 具有三重串联四级杆的液相色谱串联质谱(LC-MS-MS)采用多反应监测(MRM)模式已经成为目前应用最广泛的技术用于食品中农药的监测和定量, 文献已有详尽的报道。另一方面, 高解析能力的质谱技术, 如飞行时间质谱(TOF-MS)近来也已用于筛选。然而, 使用三重串联四级杆作为检测技术, 方法学简单且具有检出限低和MS/MS功能, 这些优势使该技术成为一种有价值的手段可以在指定的官方实验室用于常规监测计划。对于这些类型的管理机构, 缺少能掌握更精密复杂技术, 如TOF-MS的高技术人员, 因此, 易于使用有时是必须的。三重串联四级杆技术不是一种有待验证才能用于检测目的的新技术, 用于常规分析的基础已经很好地建立起来。



Agilent Technologies

本文研究首次考察了新的安捷伦三重串联四级杆质谱仪用于水果和蔬菜中农药的分析。选择此研究课题是由于这些化合物与其在食品中的大量使用具有相关性。QQQ的检测灵敏度很容易满足检测食物中农药含量的法规要求。

## 实验内容

### 样品制备

农药分析标准品购自 Ehrenstorfer 博士(德国, Ausburg)。各种农药的储备液(约 1000 µg/ml), 根据每种化合物的溶解度分别采用纯乙腈或甲醇配制并在-18 °C 下储存。取上述储备液, 通过用乙腈和水稀释配制标准工作液。

蔬菜样品从当地的市场获得, “空白” 蔬菜和水果提取物用于制备基质匹配的标准品用于方法学验证。在已报道的研究中, 已有用 QuEChERS 方法提取了蔬菜和一种水果(青椒、西红柿和柑桔) 两种不同类型基质的报道[1]。向蔬菜提取物中加入标准品并混合均匀制备成不同浓度的样品(范围为 2 到 100 µg/kg) 并依次进行 LC/MS/MS 分析。

## 结果与讨论

### LC/MS/MS 条件的优化

目前, 已经完成了每一种化合物最佳 MRM transition 的研究, 进行条件优化时将待分析物分组进样(每次进样约 10 种待测成分), 样品浓度约为 10 µg/mL。改变碰撞能量(5, 10, 15, 20 和 25 V), 考察了碰撞能量的影响。选择在谱图中能给出主要碎片离子最佳灵敏度且依照通用规则保留 10% 母体化合物的能量为最佳能量。对于每一种目标化合物, 仅有一种碎片离子被选作最大丰度子离子。研究结果示于表 1。

## LC/MS/MS 仪器操作

### LC 条件

色谱柱: Agilent ZORBAX Eclipse® XDB C-8, 4.6 mm x 150 mm, 5 µm, (p/n 993967-906).

柱温: 25 °C

流动相: A = 0.1% 甲酸水溶液  
B = 乙腈

流速: 0.6 mL/min

洗脱梯度:

时间	%B
0 min	10% B
5 min	10% B
30 min	100% B

进样体积: 1-5 µL

### MS 条件

模式: ESI 正离子模式, 采用 Agilent G6410AA 三重串联四级杆质谱仪

喷雾压力: 40 psig

干燥气流速: 9 L/min

毛细管电压: 4000 V

干燥气温度: 350 °C

Q1 分辨率: Unit

Q2 分辨率: Unit

碰撞电压: 70 V

碰撞能量: 5-25 V

MRM: 每个化合物的 transition 条件如表 1 所示

驻留时间: 15 msec

方法中包括 MRM transition, 驻留时间为 15 msec, 并在一次色谱操作中分成两个不同的时间段进行记录(每个时间段大约包括一半样品)。图 1 为所有被研究的化合物进样量为 100 pg 时色谱图。根据每种成分各自的质子化分子和子离子的 MRM transition, 将每一种目标成分的提取离子色谱图叠加在图中。

表1 每种被测物的分析条件和检测限(LOD)

化合物名称	保留时间 (min)	准分子离子 [M+H] <sup>+</sup>	子离子 (m/z)	碰撞能量	LOD (pg)
<b>时间段 1</b>					
噻诺吗啉	2.7	167	125	20	10
杀虫单	2.7	312	232	10	90
杀螟丹	3	150	105	15	10
杀虫环	4.5	182	137	10	8
涕灭威亚砷	6.4	207	89	5	9
多菌灵	6.6	192	160	15	5
噻菌灵	7.9	202	175	25	10
涕灭威砷	10.8	223	148	5	50
烯啶虫胺	11	271	225	10	7
羟基阿特拉津	11.2	198	156	15	3
灭多威	11.5	163	88	5	4
去异丙基阿特拉津	11.9	174	132	15	18
咪唑烟酸	12.5	262	234	15	8
苯噻草酮	13.9	203	175	15	8
非草隆	14.5	165	72	15	2
去乙基阿特拉津	14.8	188	146	15	4
吡虫啉	14.8	256	209	10	7
乐果	15.4	230	199	5	7
啶虫脒	15.5	223	126	15	6
扑草通	15.7	226	184	20	4
氨基三嗪代谢物	16	214	158	15	0.8
甲硫威砷	16.4	258	122	5	6
烟嘧磺隆	16.9	411	182	15	6
噻虫啉	17	253	126	15	3
抑霉唑	17.2	297	159	15	7
甲苯达唑	17.2	296	264	20	2
涕灭威	17.5	213	89	10	10
灭草隆	17.8	312	284	20	15
恶霜灵	17.9	279	219	10	10
氟草烟	17.9	255	209	10	120
西玛津	18	202	132	15	5
灭草隆	18	199	72	10	2
环草定	18.4	235	153	10	20
氰草津	18.5	241	214	10	70
威灭威	18.5	166	109	5	2
螺环菌胺	18.6	298	144	15	10
敌敌畏	18.7	221	109	15	10
噻草酮	18.9	215	187	15	5
绿麦隆	19.4	213	72	15	3
扑草净	19.5	242	200	20	2
特丁净	19.5	242	186	15	1
克百威	19.6	222	165	10	2
恶虫威	19.7	224	167	5	2
<b>时间段 2</b>					
多杀菌素 A	20	732	142	5	12
甲奈威	20.1	202	145	5	2
氨基三嗪 1051	20.3	254	198	15	0.1
莠去津	20.3	216	174	15	0.3
甲霜灵	20.4	280	248	10	5
枯莠隆	20.4	287	123	15	5
异丙隆	20.4	207	72	15	1

表1 每种被测物的分析条件和检测限(LOD) (续上)

化合物名称	保留时间 (min)	准分子离子 [M+H] <sup>+</sup>	子离子 (m/z)	碰撞能量	LOD (pg)
杀虫磺	20.5	432	290	15	6
敌草隆	20.5	233	72	15	5
多杀菌素 D	20.7	746	558	5	100
乙硫苯威	20.7	226	107	5	5
达灭芬异构体 1	21.3	388	301	20	11
毒草胺	21.6	212	170	10	1
达灭芬异构体 2	21.7	388	301	20	8
丙氯灵	21.9	376	308	10	6
敌稗	22.2	218	162	15	10
环唑醇	22.5	292	70	10	6
灭梭威	22.6	226	169	5	15
特丁津	22.7	230	174	15	0.3
糠菌唑异构体 1	22.8	376	159	20	6
苯线磷	23	304	217	15	0.7
杀扑磷	23	303	145	5	5
亚托敏	23.2	404	372	10	0.4
亚胺硫磷	23.2	318	160	5	2
克菌丹	23.2	300	264	10	50
二甲吩草胺	23.3	276	244	10	1
猛杀威	23.3	208	151	10	5
糠菌唑异构体 2	23.7	376	159	20	6
禾草敌	23.7	188	126	10	5
除虫脲	24.1	311	158	10	9
异菌脲	24.6	330	245	10	8
丙环唑异构体 1	24.7	342	159	20	5
马拉硫磷	24.8	331	127	5	5
丙环唑异构体 2	24.9	342	159	20	5
异丙甲草胺	24.9	284	252	10	2
特富灵	24.9	346	278	10	7
甲草胺	25	270	238	10	8
乙草胺	25.1	270	224	10	8
氟噻草胺	25.2	364	194	5	5
苯醚甲环唑异构体 1	25.3	406	251	20	4
苯醚甲环唑异构体 2	25.4	406	251	20	4
毒虫畏	25.5	359	155	10	8
苯霜灵	25.8	326	294	5	5
甲基对硫磷	26.2	292	236	10	9
三氯卡班	26.4	315	162	15	8
氟铃脲	26.5	461	158	10	7
噻嗪酮	26.7	306	201	10	1
二嗪磷	26.8	305	169	15	1
伏虫隆	26.9	381	158	15	22
甲基毒死蜱	27.1	322	212	15	15
丙溴磷	27.6	373	303	10	7
虱螨脲	27.9	511	158	10	10
苄草丹	28	252	91	15	2
氟虫脲	28.5	489	158	10	6
丁草特	28.7	218	57	10	2
二甲戊乐灵	29.2	282	212	5	5
三氟草灵	29.7	336	236	15	30

## 线性和检出限

线性是通过分析5个不同浓度的标准溶液而获得，浓度范围相应于进样量2-100 pg。例如，莠去津(atrazine)的标准曲线示于图2。从图中可以看出，线性范围跨越很宽的浓度范围，相关系数为0.998。其它被测成分也得到了相似的研究结果。

检出限通过测定浓度相应于信噪比为3的标准溶液来估计。实验结果也列于表1。最低检出限由测定三嗪类(triazines)农药获得（柱上为100 fg到2 pg），而氟草烟(fluoroxypyr)和多杀菌素D (spinosad D)的检出限最高（大于100 pg）。

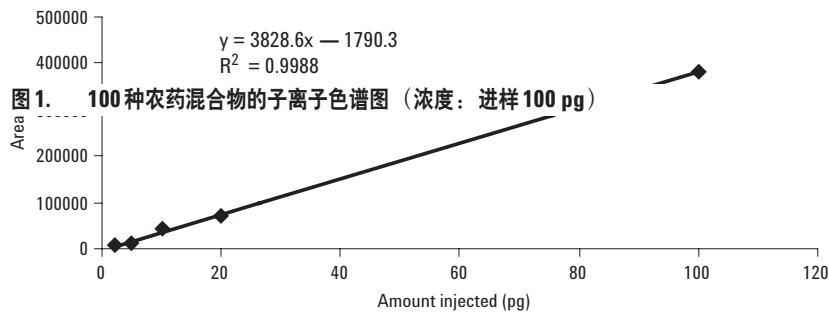
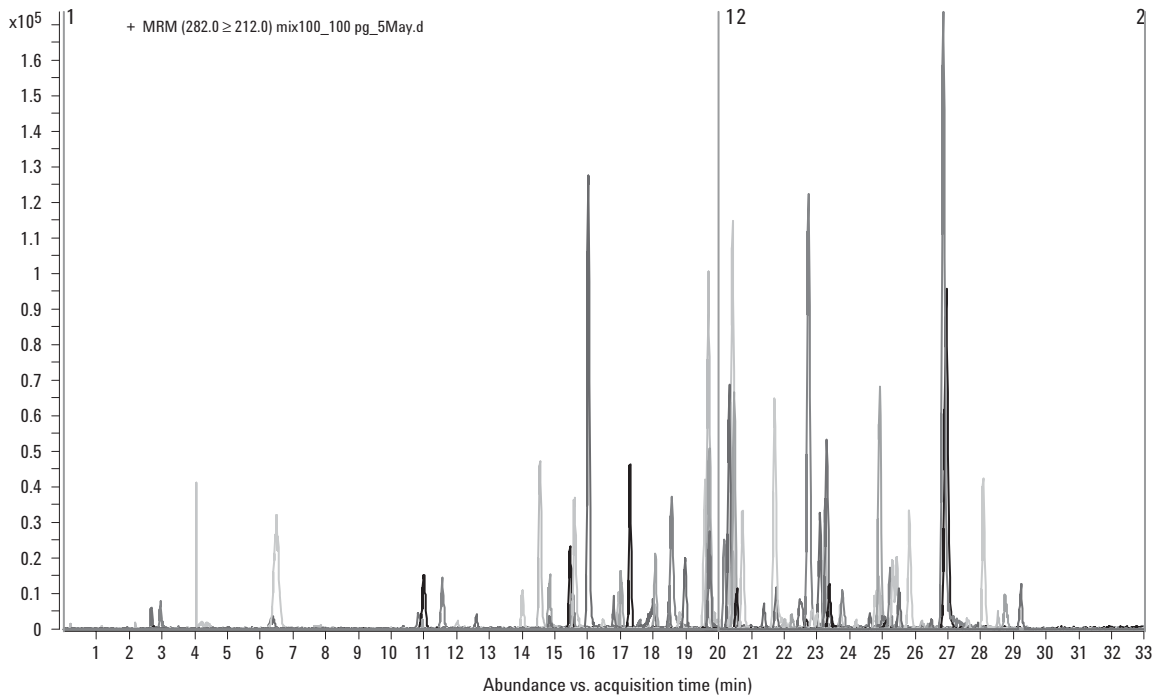


图1. 100种农药混合物的子离子色谱图（浓度：进样100 pg）

图2. 莠去津的标准曲线，采用不加权和不过原点校正的线性拟合

## 蔬菜基质的应用

为了验证本法用于真实样品分析的适用性，分析了三种不同基质，即青椒、西红柿和柑桔，两种浓度水平（10 和 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）下的基质匹配标准品。在青椒基质中加入混合农药至 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ （即进样 10 pg）所进行的分析示于图 3。正如从乐果(dimethoate)和亚托敏(azoxystrobin)这两种农药的 MS/MS 提取子离子色谱图看到的那样，依据 MRM transition 的选择性可以很容易地从这些复杂基质中鉴定该类化合物，这样就可以满足欧盟指令强制实行的规定限量的要求。总之，本法获得的 LOD 能够满足现行欧盟条例强制执行的相关 MRLs 的要求。

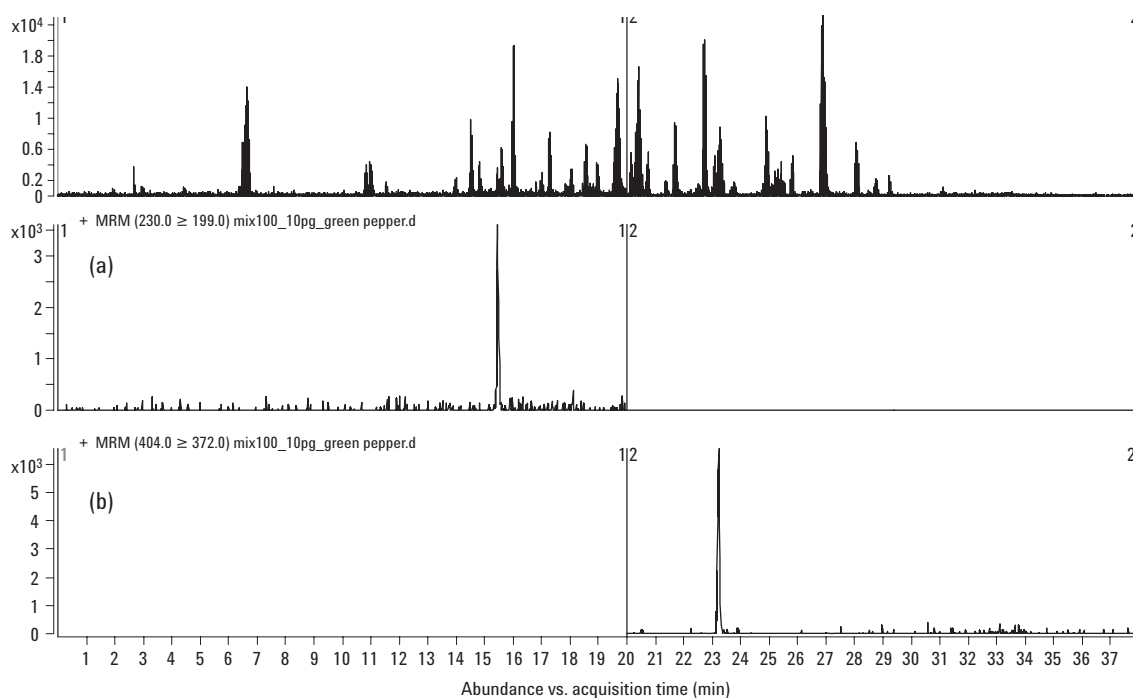


图 3. 加入农药浓度为 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的青椒基质样品的 MRM 色谱图。子离子色谱图分别为 (a) 乐果和 (b) 亚托敏

## 参考文献

1. Imma Ferrer and E. Michael Thurman, "Determination of Fungicides in Fruits and Vegetables by Time-of-Flight and Ion Trap LC/MS" (2005) Agilent Technologies, publication 5989-2209EN  
www.agilent.com/chem.

## 如需详细信息

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

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失不负任何责任。

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  
5989-5469CHCN