

使用安捷伦 5975T LTM GC/MSD 和 TSP 系统现场快速分析蔬菜中的农药残留

应用报告

食品检测

作者

SuLi Zhao, Andy Zhai
安捷伦科技（上海）有限公司
英伦路 412 号
上海 200131
中国

摘要

热分离探针 (TSP) 是在使用气相色谱 (GC) 和气相色谱质谱联用 (GCMS) 进行半挥发性物质诸如农药分析时, 采用的一种快速、耐用、经济的样品导入方法。使用 TSP 以后, 在进行快速、现场农药检测时, 无需样品净化即可获得准确的定性定量结果。本应用建立了使用车载式 5975T LTM GC/MSD 的速测法, 辅以 DRS 软件, 现场快速农残分析取得了较好的结果。



Agilent Technologies

前言

目前采用的分析蔬菜中农药残留的方法要么耗时、耗力、成本高，要么所能分析的化合物数量有限。使用丙酮、乙腈或乙酸乙酯对水果和蔬菜后进行提取后，通常要通过样品净化在气相色谱分析前去除共萃取的化合物。净化是传统方法中防止非挥发性基质组份在进样口衬管和毛细管色谱柱中聚集、延缓气相色谱系统性能退化必不可少的步骤。例如，对于负责美国蔬菜监测的美国食品药品监督管理局 (FDA) 而言，尽管其方法能够分析的化合物范围极广，但依旧需要在使用色谱检测器检测前对样品进行净化和溶剂蒸发的处理。QuEChERS 虽然是一种可以快速从蔬菜中萃取农残，节约时间的预处理方法，但并不适用于现场检测，这是因为现场检测需要分析循环更快，溶剂消耗更少。常用的净化技术如固相萃取 (SPE)，液-液分层和凝胶渗透色谱等会增加样品处理时间，提高方法的成本，还会造成农药回收率的损失。

GC 进样的 TSP 技术将样品前处理减至最少，但仍然是分析复杂基质的耐用方法。TSP 是将少量样品原料或萃取液加入到一个 40 μ L 的一次性微量样品瓶中，然后将样品瓶手动放入 GC/GCMS 进样口，迅速加热解吸样品中的农药等半挥发性组分。TSP 方法的一个主要优点是将不挥发基质组份保留在微量样品瓶中，每次进样后样品瓶即可丢弃，而在传统进样方式中，上述组份通常会污染 GC 衬管和色谱柱。使用 TSP 和热萃取技术，样品瓶中只有挥发性组份可以进入色谱柱。很多之前的应用实例都使用了相似探针和程序升温进样器。[1]

本应用对使用安捷伦 5975T LTM GC/MSD 配备 TSP 及等温进样口检测未经净化的蔬菜预处理物中的农药残留方法进行了评价。对未经净化的复杂萃取液，TSP 要求使用选择性检测器对复杂半挥发基质中的分析物进行测定。安捷伦的 DRS 软件和 RTL 功能可快速从半挥发基质中提取目标物。5975T LTM GC/MSD 的快速升温和快速降温循环为本应用提供了超快的分析周期。

方法重点如下：

- TSP (热分离探针)
- 安捷伦 RTL 农残谱库和 DRS 软件
- 样品运行后 2~3 分钟内确认农药多残留的盲样添加
- 车载 5975T LTM GC/MSD

实验部分

所需软件

- G1701EA GC/MS 化学工作站软件 (最新版本)
- G1716 MSD 解卷积报告软件 (A.04.00 或更高版本)
- G1033A NIST08 质谱数据库 + AMDIS + NIST 谱库检索
- G1675AA 日本肯定列表

试剂和化学品

所有试剂均为分析纯或 HPLC 级。农药购自 Sigma-Aldrich 公司 (St.Louis, MO, USA)，水来自 MilliQ 系统 (Milford, Mass, USA)。

设备及材料

分析使用安捷伦 5975T LTM GC/MSD。样品萃取使用安捷伦 SampliQ QuEChERS AOAC 萃取试剂包 (部件号 5982-5755, Agilent Technologies Inc., Wilmington, DE, USA)。

仪器条件

表 1. 仪器和分析条件

仪器

GCMS 系统	安捷伦 5975T LTM GC/MSD
进样口	分流/不分流 (衬管: 5062-3587)
色谱柱	HP-5 ms LTM 10 m × 0.18 mm × 0.18 μm
保护柱	1 m 长, 与分析柱具有相同固定相, 与进样口连接

实验条件

进样口温度	260 °C
进样体积	1 μL
进样模式	不分流; 1 min 后开启吹扫, 流量: 100 mL/min
载气	氦气
柱头压	1.6 mL/min, 恒流
LTM 柱温	50 °C (保持 0.2 min), 以 125 °C/min 的速度升温至 125 °C (0 min), 再以 50 °C/min 的速度升温至 300 °C (保持 2 min)
方法	甲基毒死蜱保留时间锁定为 2.70 min
传输管线温度	260 °C

MSD 接口	270 °C
离子源	230 °C
四级杆温度	150 °C
离子化模式	EI
扫描模式	全扫描, 50–550 m/z
EMV 模式	增益系数
增益系数	5.00
EM	1129 V
溶剂延迟	0.5 min

样品制备

样品

样品为无农残有机蔬菜黄瓜, 西红柿和青椒, 购自当地超市。对样品进行了一定数量不同浓度水平的农残加标处理。

样品制备

萃取/分层

将大约 1 磅左右的黄瓜或西红柿切成豆粒大小的方块。向一个 50 mL 离心管 (取自 SampliQ QuEChERS 萃取试剂包) 中加入两支陶瓷搅拌子 (部件号 5982-9313) 和 15g (\pm 0.1g) 已经混匀的样品。加入 100 μL QC 稀释液作为 QC 样品。向除对照空白外的所有样品中

加入 100 μL 内标。将离心管盖严, 涡旋 1 min。然后向每管中加入 15 mL 1% 的醋酸乙腈溶液。再向离心管中加入安捷伦 SampliQ QuEChERS 萃取试剂包 (部件号 5982-5755) 中的萃取盐包, 包括 6 g 无水 MgSO₄ 和 1.5 g 无水 NaOAc。萃取盐包在加入前先进行仔细研磨防止结块。经过检查离心管螺纹接口处, 确保无粉末残留。将离心管加盖密封手工用力振摇 1 min, 确保溶剂与样品充分接触以及固体粉末全部溶解。再在离心机上以 4000 rpm 离心 5 min。取上清液进行 GCMS 分析。

结果和讨论

目前, 在不牺牲分析效果的前提下, 对降低农残测定成本、提高效率的要求越来越高。TSP 已被证明是缩短样品处理时间的有效手段。我们通过西红柿、黄瓜和青椒的萃取液测试 TSP 在农残检测中的性能, 如峰歧视, 重现性等。LTM 色谱柱可迅速升温和降温, 进一步节约了样品运行和循环的时间。

使用 TSP 建立现场农残检测的快速方法

使用安捷伦 GC MXLATOR 软件工具检索确定快速方法的操作条件。使用安捷伦方法转移 MTL 和 RTL 软件依照预测按比例建立快速方法。由于比例精确, 快速方法可使用农残谱库进行精确检索, 从而使扫描功能更强大, 满足不同测定需求 [2]。通过该软件, 我们将使用 30 m, 0.25 mm, 0.25 μm 色谱柱的方法转化为使用 10 m, 0.18 mm, 0.18 μm 色谱柱的方法, 节约了 5 倍的运行时间。原始方法基于日本肯定列表方法 [3]。我们同样将谱库中其它相应化合物的保留指数缩小 5 倍。该应用中所有结果均按相应要求进行保留时间锁定。

我们使用快速方法和有机磷、有机氯以及除虫菊酯素等农残对 TSP 的性能进行了测试。加入的标准浓度为 5.0 μg/μL, 进样体积为 1 μL。图 1 显示, TSP 进样对所有不同类型的农残都取得了很好的峰形, 且没有峰歧视的存在。

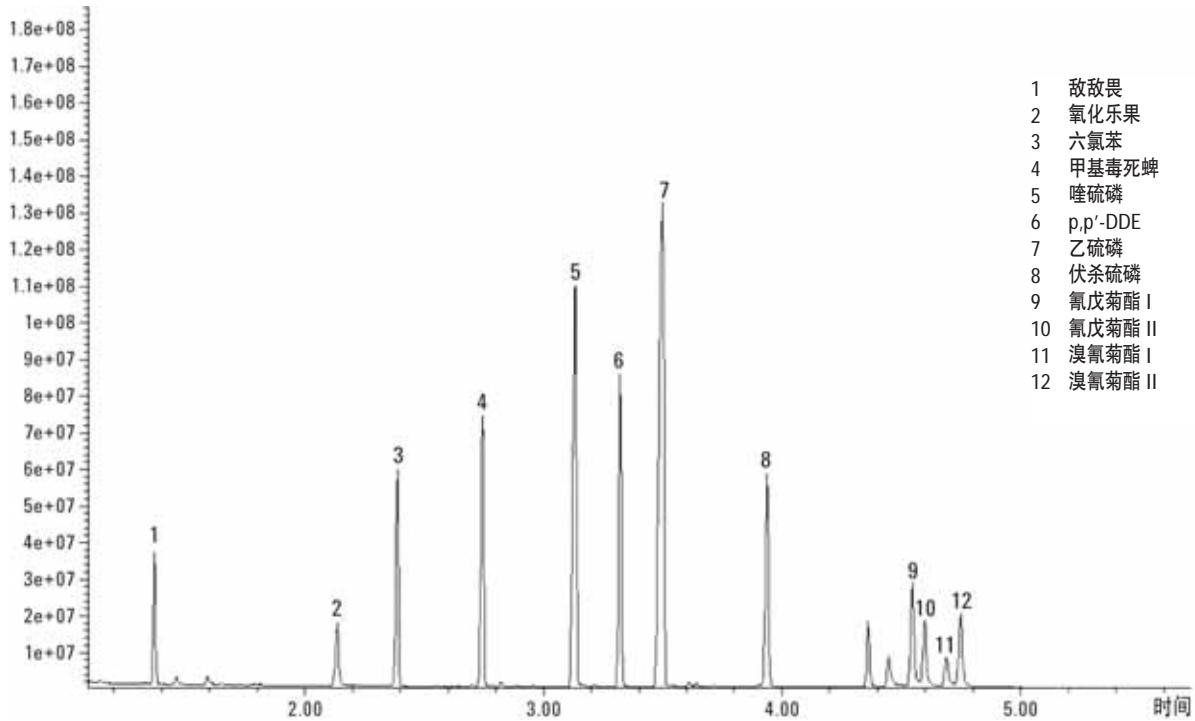


图 1. 黄瓜萃取液中 12 种农残的总离子流图

TSP 的重复性测试

为了评估系统的稳定性，我们采用 17 种 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的有机氯农药的丙酮溶液进行了测试。对所有 17 种农残连续进样 8 次，进样体积 1 μL ，得到的 RSD% 在 2.3 ~ 7.8% 之间。RSD% 结果可能还受到手动进样的影响，但结果完全可以满足现场分析的要求。

使用 TSP 保持系统清洁的测试

我们测试了未经净化的西红柿萃取液连续进样 50 次的色谱柱基线。萃取液的主要组成部份是糖类、维生素和色素。其中大多数都存留在样品瓶中，只有挥发性组份才可以进入色谱系统。20 次

进样后，样品瓶中液体颜色变暗，但进样口衬管依旧保持清洁；这说明 TSP 具备捕集净化步骤才能去除的复杂基质的能力。该测试延长了色谱运行时间以便分析沸点更高的化合物。每隔 10 次进样进行一次基线测试。图 2 对 5 次基线进行了比较。结果表明，即使连续进样含有大量干扰组份的基质，系统仍能保持良好的清洁度。样品萃取无需净化处理，表明 TSP 可用于进行无净化过程的样品测定，从而节约了更多的样品制备时间。

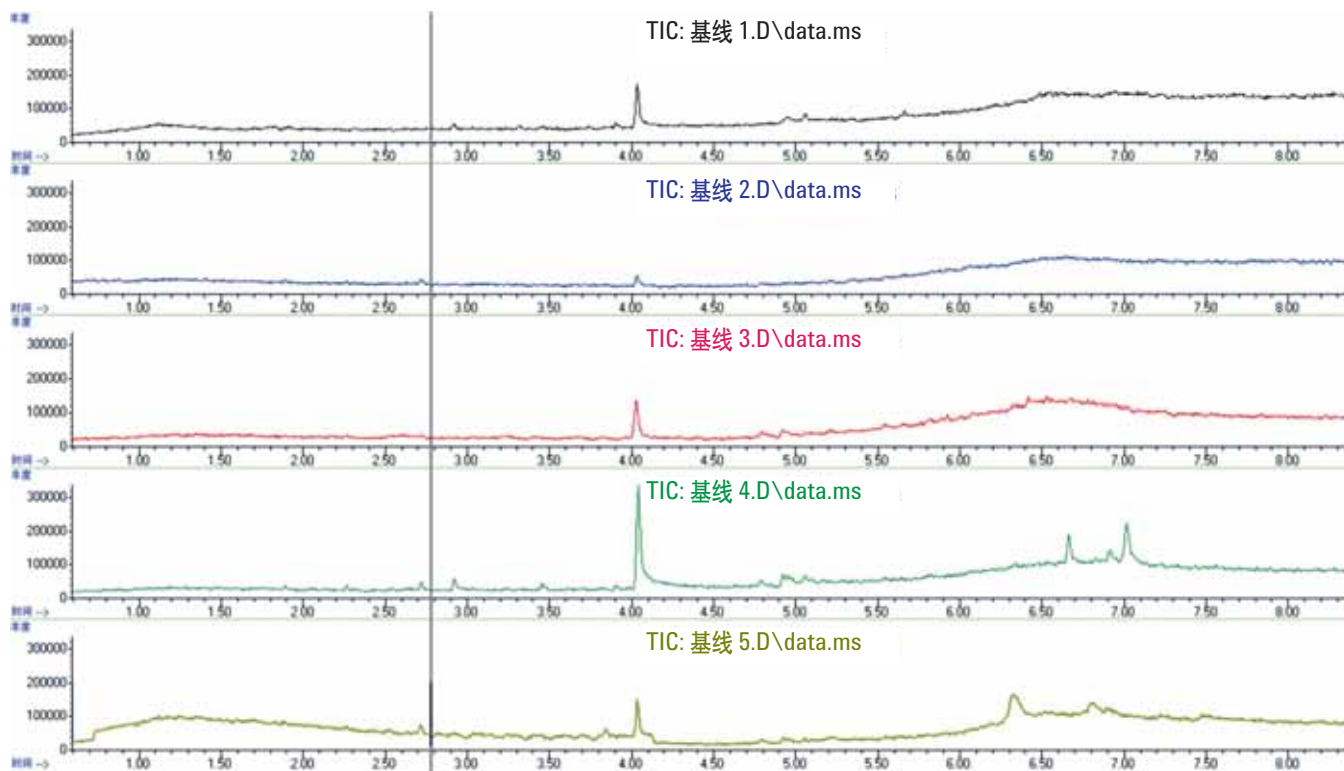


图 2. 50 次进样的基线 (每 10 次进样进行一次基线测试)

使用 TSP 进行加标盲样和实际样品的测定

向三种蔬菜样品的萃取液中分别加入不同浓度的不同种类农药。三种样品中共检测出 80 种农药残留。使用 TSP 进样和安捷伦 DRS 软件，当浓度高于 100 ppb 时，除乙酰甲胺磷和甲胺磷外的大多数结果可以得到确认。当浓度提高到 500 ppb 时，所有结果均可通过 DRS 得到确认。图 3 为三种样品的萃取混合液，加入 9 种 100 ng/mL 的有机磷农药标准的色谱图。表 2 为结果的 DRS 报告。

西红柿萃取液中通过 DRS 鉴别并确认了三种非添加农残，分别是噁霉胺、腐霉利和烯酰吗啉。图 4 为 AMDIS 软件得到的腐霉利质谱报告。报告表明未经解卷积仅通过谱库搜索无法对化合物进行识别。所有结果表明，通过 DRS 谱库，快速方法和 TSP 可对未知化合物进行鉴别。

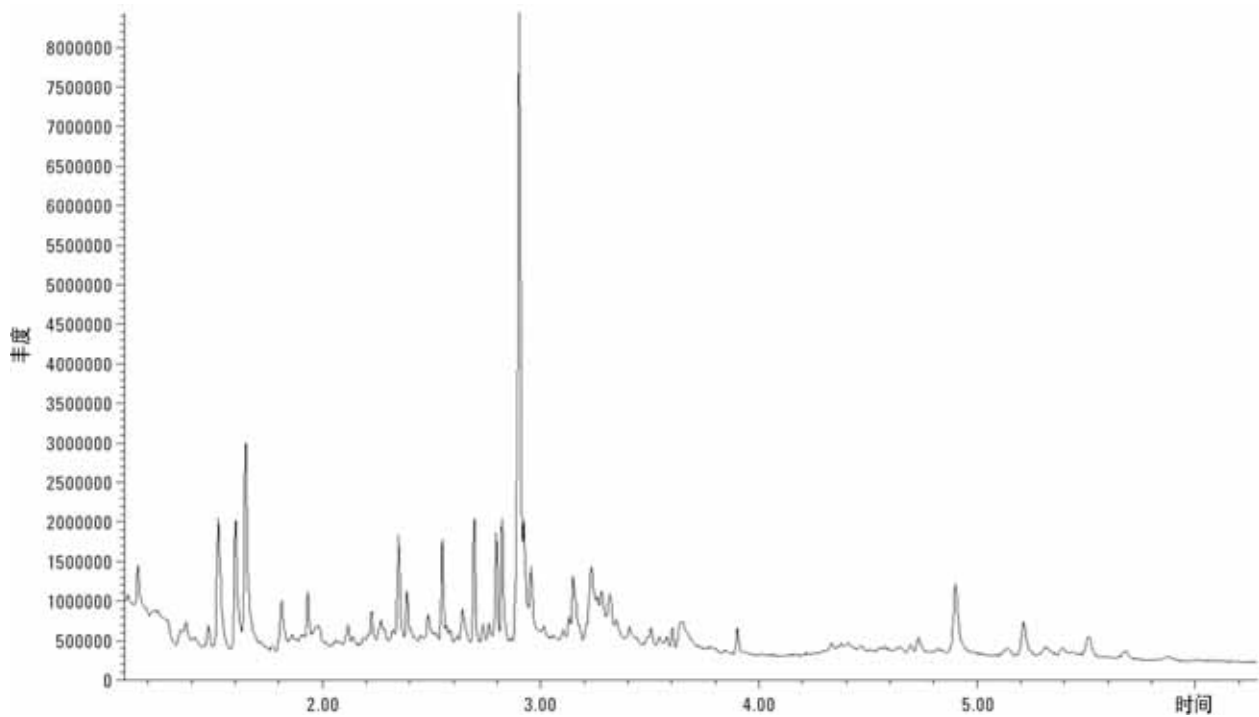


图 3. 三种样品萃取混合液中加入 100 ppb 农药混标后的总离子流图

表 2. 三种样品萃取混合液的 DRS 分析结果，其谱图已示于图 3

保留时间	Cas 号	化合物名称	含量 (ppb)		AMDIS		NIST	
			Chemstation	AMDIS	匹配度	保留时间偏差	逆向匹配度	命中数
1.3748	62737	敌敌畏	98		79	-0.1	74	1
2.2261	13194484	灭线磷	98		96	-0.2	89	1
2.3503	298022	甲拌磷	100		97	-0.6	92	1
2.5501	333415	二嗪农	100		78	-0.2	74	1
2.7639	298000	甲基对硫磷	100		92	-0.4	81	1
2.8992	121755	马拉硫磷	100		77	-0.1	81	1
2.9245	2921882	毒死蜱	98		93	-0.3	87	1
2.9565	56382	对硫磷	100		79	-0.3	77	1
3.1993	961115	杀虫畏	98		83	-0.1	82	1

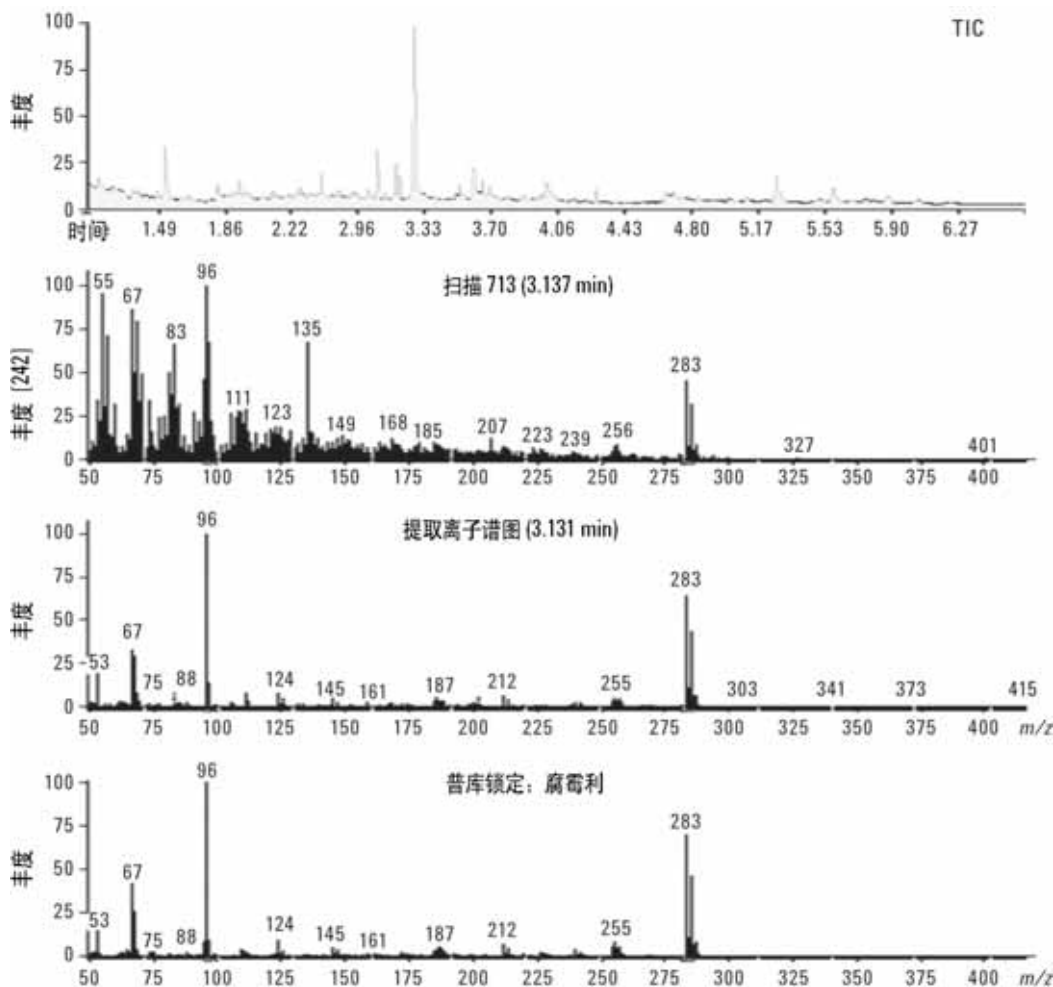


图 4. 未加标西红柿萃取液中腐霉利的解卷积质谱图

结论

安捷伦 5975T LTM GC/MSD 配备 TSP 的解决方案满足现场应用的要求，如快速响应和快速鉴定，可为现场测定提供令人满意的数据结果。TSP 可以节约样品制备时间，保持系统清洁。安捷伦 DRS 软件可辅助从基质干扰中提取目标物的质谱图并创建快速测定的方法。此三方面一起为加速农药分析，尤其是现场农残检测提供了优异的解决方案。

参考文献

1. Hongwu Jing and Aviv Amirav*, "Pesticide Analysis with the Pulsed-Flame Photometer Detector and a Direct Sample,"
*Introduction Device; Anal. Chem. 1997, 69, 1426-1435

2. C. Kai Meng; "使用安捷伦 6890/5973N GC/MSD 系统快速筛查农残和内分泌干扰物 II" 安捷伦科技出版号: 5980-1057EN
3. Philip L. Wylie; "采用日本肯定列表方法筛查食品中的农残: 使用具有解卷积报告软件和保留时间锁定的质谱数据库的 GC/MS 的优势" 安捷伦科技出版号: 5989-7436CHCN

更多信息

如需了解有关我们产品和服务的更多信息，请访问 www.agilent.com/chem/cn。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦科技公司对本资料可能出现的错误，以及由于提供或使用本资料所引起的相关损失不承担任何责任。

本书中的信息、说明和性能指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2011

2011年6月8日中国印刷

5990-8067CHCN



Agilent Technologies