

应用 Bond Elut QuEChERS 提取试剂盒和 Agilent J&W HP - 5ms 超高惰性 GC 色谱柱分析大米中的农药残留

应用报告

食品安全

作者

Andy Zhai, Yun Zou
中国上海外高桥保税区英伦路 412
安捷伦科技有限公司 200131

摘要

本应用报告说明了一种快速、简便、有效、耐用并且安全 (QuEChERS) 的样品处理方法，欧盟委员会已经使用该样品处理 (QuEChERS) 方法对大米中 57 种农药残留物进行了提取、净化并用 GC 进行了分析。方法包括了以下步骤：在水/乙腈溶液系统中进行初步提取，然后加盐进行萃取/分层，最后使用分散固相萃取 (分散 SPE) 对样品进行净化。经上述步骤从大米中提取得到的目标农药采用 Agilent J&W HP - 5ms 超高惰性 GC 毛细管色谱柱进行分离，并用气相色谱/质谱 (GC/MS) 技术在选择离子监测 (SIM) 模式下其进行分析。采用 Agilent RTL 农药库作为辅助对农药残留的 GC/MS 分析结果进行了快速筛选和定性鉴定。通过回收率和重现性对该方法进行了验证，回收率试验的浓度加入水平分别为 50、100 和 200 ng/g，大多数加标物的回收率在 80% 和 110% 之间，其平均 RSD 为 5.53%。



Agilent Technologies

前言

用于农药分析的 QuEChERS 方法在 2003 年首次被 USDA 的科学家使用 [1]。随后该方法引入了缓冲提取液用以对一些复杂农药进行提取 [2]。EN 方法 15662:2007 是 QuEChERS 方法的另一种形式 [3,4]。该方法采用乙腈提取,用无水硫酸镁 ($MgSO_4$), NaCl 和具有缓冲性能的柠檬酸盐促进液-液分层,将样品从水中通过盐析的方式分离出来。分散 SPE 法用于样品净化,其中使用伯胺和仲胺 (PSA) 一起清除其它组分中的脂肪酸,用无水 $MgSO_4$ 干燥去除提取物中剩余的水。经过混合和离心处理后,取上层清液用来分析。

GC/MS 是一种农药检测和分离的可靠分析工具。GC 和 GC/MS 使用的保留时间锁定 (RTL) 是一种简单的技术,使用这一技术可以在任何一台安捷伦气相色谱仪上获得重现的色谱保留时间 [5]。Agilent 开发的 GC 和 GC/MS RTL 的数据库 (部件号 G1672AA),包括了九百六十二种农药,农药代谢物和可疑的内分泌干扰物 [6]。通过将数据库与方法锁定的方式很容易识别复杂食品提取物中的农药残留。

GC 条件

色谱柱	Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert, 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm (部件号 190915-433UI)
进样口温度	250 °C
载气	氮气, 恒压模式
保留时间锁定	甲基毒死蜱锁定于 16.596 min
进样模式	不分流进样模式, 在 0.75 min 开启吹扫, 流量 50 mL/min
进样量	1 μL
柱箱温度	70 °C (保持 2 min), 以 25 °C/min 的速度升温至 150 °C (0 min), 再以 3 °C/min 的速度升温至 200 °C, 接着以 8 °C/min 的速度升温至 280 °C (保持 10 min), 后运行: 320 °C (5 min)

MS 条件

溶剂延迟	4 min
MS 温度	230 °C (离子源); 150 °C (四极杆)
传输管线	280 °C
MS 库	Agilent RTL 农药库 (G1672AA) 和 NIST08 质谱库
MS	EI, SIM/Scan
扫描模式	质量范围 (50–550 amu)

其它参数, 见表 1

表 1. 农药, CAS 号, 分子式和目标离子

化合物	CAS 号	分子式	目标离子
菲-D10* (氘代十氢菲)	1517-22-2	C14D10	188
磷酸三苯酯*	115-86-6	C18H15O4P	326
甲胺磷	10265-9-26	C2H8NO2PS	94
敌敌畏	62-73-7	C4H7Cl2O4P	109
氧化乐果	1113-02-6	C5H12NO4PS	156
久效磷	6923-22-4	C7H14NO5P	127
六六六 α 异构体	319-84-6	C6H6Cl6	181
六氯苯	118-74-1	C6Cl6	284
乐果	60-51-5	C5H12NO3PS2	87
六六六 β 异构体	319-85-7	C6H6Cl6	219
林丹	58-89-9	C6H6Cl6	181
五氯硝基苯	82-68-8	C6Cl5NO2	237
二嗪农	333-41-5	C12H21N2O3PS	179
六六六 δ 异构体	319-86-8	C6H6Cl6	181
敌稗	709-98-8	C9H9Cl2NO	161
甲基对硫磷	298-00-0	C8H10NO5PS	263
甲基毒死蜱	5598-13-0	C7H7Cl3NO3PS	286
烯菌酮	50471-44-8	C12H9Cl2NO3	212
七氯	76-44-8	C10H5Cl7	272
甲霜灵	57837-19-1	C15H21NO4	206
杀螟硫磷	122-14-5	C9H12NO5PS	277
甲基嘧啶磷	29232-93-7	C11H20N3O3PS	290
阿尔德林	309-00-2	C12H8Cl6	263
马拉硫磷	121-75-5	C10H19O6PS2	173
倍硫磷	55-38-9	C10H15O3PS2	278
毒死蜱	2921-88-2	C9H11Cl3NO3PS	197
对硫磷	56-38-2	C10H14NO5PS	291
粉锈宁	43121-43-3	C14H16ClN3O2	57
七氯环氧化物	1024-57-3	C10H5Cl7O	353
二甲戊乐灵	40487-42-1	C13H19N3O4	252
异柳磷	25311-71-1	C15H24NO4PS	213
啶硫磷	13593-03-8	C12H15N2O3PS	146
三唑	55219-65-3	C14H18ClN3O2	112
杀扑磷	950-37-8	C6H11N2O4PS3	145
丁草胺	23184-66-9	C17H26ClNO2	176
狄氏剂	60-57-1	C12H8Cl6O	79
稻瘟灵	50512-35-1	C12H18O4S2	118
p,p'-DDE	72-55-9	C14H8Cl4	246
安特灵	72-20-8	C12H8Cl6O	263
腈菌唑	88671-89-0	C15H17ClN4	179
p,p'-DDD	72-54-8	C14H10Cl4	235
o,p'-DDT	789-02-6	C14H9Cl5	235
乙硫磷	563-12-2	C9H22O4P2S4	231
p,p'-DDT	50-29-3	C14H9Cl5	235

扑海因	36734-19-7	C13H13Cl2N3O3	187
亚胺硫磷	732-11-6	C11H12NO4PS2	160
联苯菊酯	82657-04-3	C23H22ClF3O2	181
甲氰菊酯	64257-84-7	C22H23NO3	97
四氯杀螨砒	116-29-0	C12H6Cl4O2S	159
伏杀磷	2310-17-0	C12H15ClNO4PS2	182
氯氟菊酯 (λ)	68085-85-8	C23H19ClF3NO3	181
氯菊酯 I	52645-53-1	C21H20Cl2O3	183
氯菊酯 II	999046-03-6	C21H20Cl2O3	183
氯氟菊酯 I	52315-07-8	C22H19Cl2NO3	181
氯氟菊酯 II	65731-84-2	C22H19Cl2NO3	181
氰戊菊酯	51630-58-1	C25H22ClNO3	167
溴氰菊酯	52918-63-5	C22H19Br2NO3	181

*内标

实验部分

实验使用配备了 5975C 惰性 MSD 以及 Agilent 7683 自动液体进样器 (ALS) 的 Agilent 7890 气相色谱仪进行。分流/不分流进样口配备长寿命隔垫 (部件号 5183-4761) 和不分流脱活衬管 (部件号 5181-3316)。使用 Agilent J&W HP - 5ms 超高惰性 GC 柱 (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm) 进行化合物分离。使用 Agilent Bond Elut QuEChERS 提取试剂盒 (部件号 5982-5650) 和 Bond Elut QuEChERS 分散固相萃取试剂盒 (部件号 5982-5156) 进行萃取和净化。进样使用 5 μL 进样器 (部件号 5181-1273)。下面列出了仪器条件。

化学药品和标准品

所有农药标准品均购自 Sigma – Aldrich 公司 (St. Louis, MO, USA)。所有试剂和溶剂均为 HPLC 级或分析级。

样品制备

有机种植、无农药大米购自当地超市。大米放入干净的塑料袋然后在 -20 °C 下冷冻过夜。次日, 取出需要量的冷冻大米彻底粉碎。可能的话, 在粉碎的过程中逐渐加入干燥大米; 将样品彻底粉碎, 以获得最均匀的样品。最终样品中应该没有可见的大米颗粒。

将 5 g (± 0.1g) 均匀样品加入 50 mL 离心管中。将 100 μL 适当的 QC 加标溶液加入样品制得 QC 样品。空白以外的所有样品都加 100 μL 内标溶液。试管加盖, 振荡 1 min 用分液器向每个试管中

加水 5 mL, 静置 30 min。试管加盖, 涡旋 1 min。用分液器向每个试管中加 10 mL 乙腈。试管加盖, 手动振摇 1 min。向每个试管中直接加入含有 4 g 无水硫酸镁, 1 g 氯化钠, 1 g 柠檬酸三钠, 0.5 g 倍半结晶水柠檬酸二钠的 Agilent Bond Elut QuEChERS 提取盐包。在倒入之前要将盐包里面的盐块揉散。尽量做到无粉末留在试管壁或试管的边缘。封紧试管, 用手剧烈振摇 1 min, 以确保溶剂与整个样品能够充分作用, 晶体聚集快被充分打散。样品试管以 4000 rpm 离心 5 min。

取上层乙腈溶液 6 mL 转移到 15 mL Bond Elut QuEChERS EN 分散固相萃取管中 (部件号 5982-5156)。封紧试管, 涡旋 1 min。后以 4000 rpm 离心 5 min。取 500 μL 提取液转移到自动进样器样品瓶, 用 GC/MS 分析。

表 2 中显示了 QuEChERS EN 的样品制备过程。

表 2. Agilent Bond Elut QuEChERS EN 提取过程

- 1) 称取 5 g 粉碎大米加入 50 mL 离心管, 加水 5 mL。
- 2) 添加 IS 溶液, 如果必要的话加入 GC 分析加标溶液, 涡旋 1 min。
- 3) 加入 10 mL 乙腈, 涡旋 1 min。
- 4) 加入 Bond Elut EN QuEChERS 提取盐包。
- 5) 密封, 剧烈振荡 1 min。
- 6) 4000 rpm 离心 5 min。
- 7) 移取上层的乙腈溶液 6 mL 至 15 mL Bond Elut EN 分散 SPE 试管中。
- 8) 涡旋 1 min, 然后以 4000 rpm 离心 5 min。
- 9) 移取 0.5 mL 提取液到自动进样器样品瓶中。
- 10) 用 GC-MS 分析样品。

结果与讨论

图 1 所示是浓度为 200 ng/mL 的 57 种农药的总离子流色谱图 (TIC)。这些农药包括有机氯, 有机磷和菊酯类农药。图 2 显示, 使用 Agilent J & W HP - 5ms 超高惰性毛细管 GC 色谱柱, 所有目标农药都可以获得很好的分离。

GC/MS 系统采用甲基毒死蜱的保留时间锁定 (RTL)。每种化合物的保留时间列于表 3。应使用 Agilent 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm HP-5ms 色谱柱以及 G1672AA GC 和 GC/MS RTL 农药以及干扰物数据库进行分析, 但同样尺寸的 HP - 5ms 超高惰性毛细管 GC 柱与 HP-5ms 色谱柱具有相同的选择性 (见表 3)。

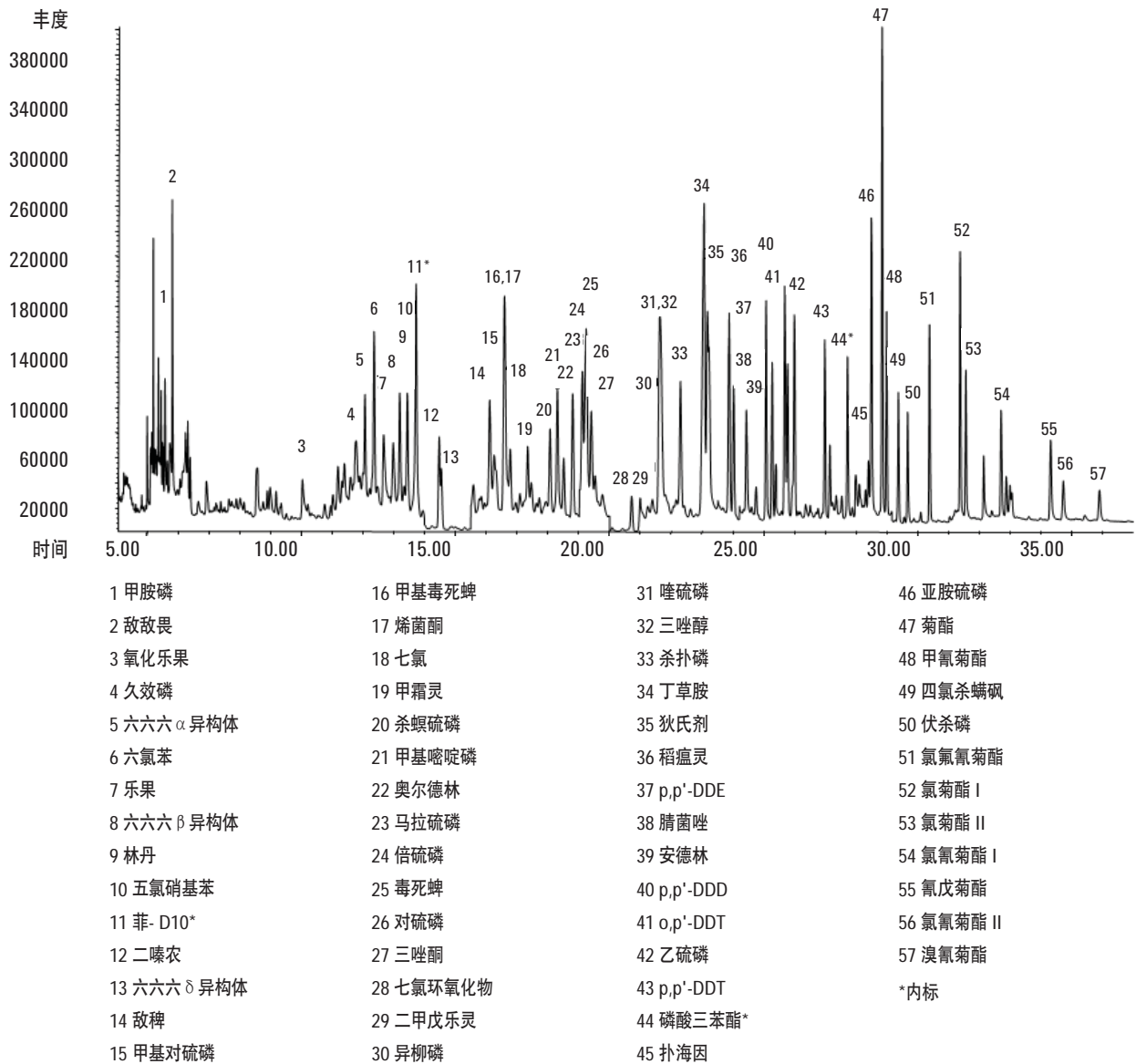


图 1. 200 ng/mL 农药的总离子流色谱图 (TIC)

大米中目标农药的线性和回收率测试

测试结果的线性情况由添加到大米基质中的标准品校正曲线确定。校正曲线根据进样 1 μL 浓度分别为 50、100、200、300、400 ng/mL 的标准溶液数据绘制。每个浓度水平的标准溶液中都含有 200 ng/mL 的内标物 (ISTDs)。所有目标农药都有出色的线性范围，校正相关系数 (R^2) 大于 0.991，57 种农药的平均 R^2 为 0.9990。

制备样品前在大米基质中加入不同浓度水平的目标农药来评估 Bond Elut QuEChERS 提取试剂盒的净化效果。大米提取物和大米基质加标提取物的 GC/MS 分析 TIC 图见 2 所示。加标样品按照样品制备过程描述的步骤进行处理。加标样品的回收率数据列于表 3。所有数据均基于每个浓度水平大米基质加标样品的五次重复试验结果。浓度水平分别为 0.05、0.1、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 。大部分化合物取得了良好的回收率，其回收率范围在 80%~110%，平均相对标准偏差 (RSD) 为 5.35%。

结论

Agilent Bond Elut QuEChERS EN 提取和分散 SPE 试剂盒为大米中有代表性的挥发、半挥发农药残留的纯化和浓缩富集提供了一个简单、快速和有效的方法。J&W HP-5MS 超高惰性色谱柱以及 GC/MS 为这些农药残留的分析提供了一个良好的分离和检测方法。使用 Agilent DRS 软件和 RTL 农药库，可快速、准确地鉴别和分析五十五种农药。大米中的杂质和基质效应没有干扰到目标化合物的定量分析。由于所选农药代表了广泛的种类和属性，因此对类似食品基质中的其他农药残留，Agilent Bond Elut QuEChERS 试剂盒也是一种优异的选择。

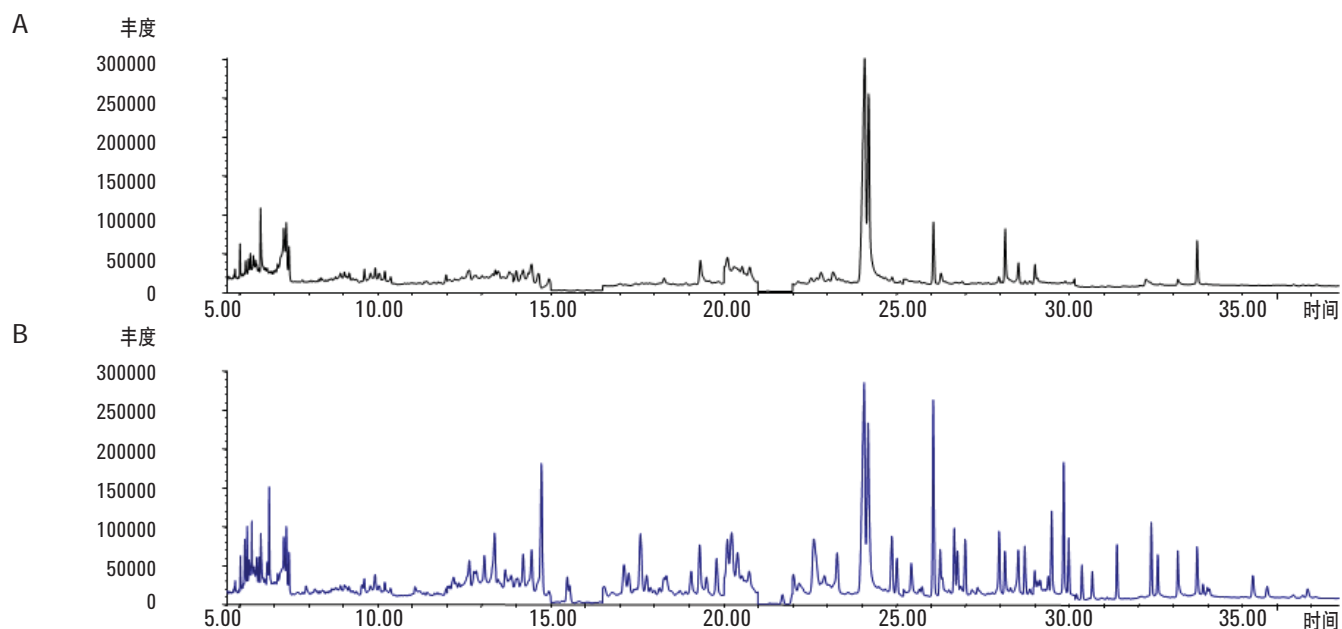


图 2. 使用 Agilent GC/MS 系统和 Agilent J & W HP - 5ms 超高惰性 30 $\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$ 色谱柱分析大米提取物 (A) 和基质加标 (100 ng/mL) 提取物的 TIC 图

表 3. 实际样品中 57 种农药的回收率

化合物	保留时间 (min)	0.05 µg/mL (n = 5)		0.10 µg/mL (n = 5)		0.20 µg/mL (n = 5)	
		回收率%	RSD%	回收率%	RSD%	回收率%	RSD%
甲胺磷	5.70	70.8	7.6	76.3	5.3	78.9	7.9
敌敌畏	5.83	112.3	5.1	103.3	7.9	109.8	5.2
氧化乐果	10.04	78.4	3.5	97.6	4.5	97.1	6.6
久效磷	11.75	81.6	5.9	96.8	4.5	105.5	3.9
六六六 α 异构体	12.08	103.4	6.5	94.7	9.3	112.0	3.3
六氯苯	12.37	100.5	2.1	99.3	3.4	92.3	2.0
乐果	12.68	83.4	6.1	92.7	5.0	101.9	3.2
六六六 β 异构体	13.21	95.0	6.0	100.9	7.2	87.5	6.2
林丹	13.45	102.4	7.3	110.8	7.1	93.5	7.0
五氯硝基苯	13.68	86.5	3.1	93.1	2.9	101.9	2.4
二嗪农	14.48	92.4	3.3	96.0	3.4	104.9	2.3
六六六 δ 异构体	14.55	89.6	4.0	105.5	4.3	99.4	3.8
敌稗	16.12	102.9	4.5	103.8	4.9	103.6	5.3
甲基对硫磷	16.59	87.5	7.7	102.8	7.4	103.2	3.2
甲基毒死蜱	16.60	105.3	3.0	103.9	3.3	104.8	2.4
烯菌酮	16.63	116.4	4.8	115.5	4.2	115.1	4.4
七氯	16.79	102.8	1.6	96.6	3.9	96.9	3.2
甲霜灵	17.35	105.8	3.6	104.5	5.4	108.7	5.0
杀螟硫磷	18.08	81.9	2.7	92.7	6.7	106.9	4.2
甲基嘧啶磷	18.31	108.9	2.7	107.3	3.2	107.8	3.4
奥尔德林	18.51	106.0	2.3	105.0	3.5	99.9	1.4
马拉硫磷	18.81	97.6	5.0	95.1	7.4	111.8	3.3
倍硫磷	19.12	105.2	2.5	102.8	4.1	104.4	2.2
毒死蜱	19.24	105.3	2.5	104.7	3.1	102.4	4.0
对硫磷	19.27	72.8	4.6	77.6	7.3	112.9	3.3
三唑酮	19.40	99.9	6.2	93.3	7.0	102.5	4.0
七氯环氧化物	20.71	106.6	4.7	97.7	4.0	100.3	2.1
二甲戊乐灵	20.99	117.8	4.6	92.0	4.6	102.5	2.6
异柳磷	21.60	109.2	5.8	102.2	8.2	106.9	3.9
啶硫磷	21.64	111.0	6.0	110.3	7.8	105.7	4.1
三唑醇	21.71	96.6	6.2	107.3	6.4	92.0	9.4
杀扑磷	22.29	94.9	8.9	95.3	9.5	111.9	4.2
丁草胺	23.23	117.6	5.8	110.2	8.5	102.9	3.6
狄氏剂	23.85	112.3	5.0	112.4	6.7	105.5	4.7
稻瘟灵	23.88	123.7	3.9	100.5	6.6	108.5	2.4
p,p'-DDE	24.02	100.7	4.4	100.8	5.3	104.5	2.8
腈菌唑	24.44	100.5	5.1	89.8	7.9	106.2	3.7
安德林	24.74	108.6	5.2	97.2	5.9	107.4	5.6
p,p'-DDD	25.67	98.2	5.9	99.6	6.6	102.1	5.9

o,p'-DDT	25.76	90.9	5.2	90.6	6.3	108.9	3.0
乙硫磷	25.99	89.9	5.4	86.9	8.3	111.6	5.5
p,p'-DDT	26.98	87.0	5.8	88.6	7.4	106.0	3.4
扑海	28.39	99.6	5.5	108.6	5.3	98.9	6.2
亚胺硫磷	28.49	91.7	6.0	96.0	8.8	99.6	5.5
菊酯	28.84	104.8	5.0	104.2	7.9	108.5	7.1
甲氰菊酯	28.98	106.2	6.0	109.0	8.1	104.7	4.6
四氯杀螨虱	29.36	114.3	5.1	107.5	7.1	109.2	6.7
伏杀磷	29.66	97.2	6.7	91.4	8.7	105.2	4.0
氯氟菊酯	30.37	84.0	6.5	91.0	8.1	105.9	5.3
氯菊酯 I	31.37	98.2	8.1	97.6	7.6	103.3	4.3
氯菊酯 II	31.55	100.1	5.7	96.7	8.1	101.0	5.2
氯氟菊酯 I	32.70	89.3	7.7	102.9	9.3	104.4	5.2
氰戊菊酯	34.30	75.0	9.1	93.3	9.0	107.5	5.3
氯氟菊酯 II	34.71	86.4	8.5	97.2	8.6	100.1	7.7
溴氰菊酯	35.88	67.3	8.4	87.6	8.6	95.4	4.9

参考文献

1. M. Anastassiades, S. J. Lehotay, Fast and Easy Multiresidue Method Employment Acetonitrile Extraction/Partitioning and "Dispersive Solid-Phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce, J. AOAC Int., 2003, 86, 412-431.
2. S. J. Lehotay, Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables, J. AOAC. Int., 2005, 88, 615-629.
3. European Committee for Standardization/Technical committee CEN/TC 275 (2007), Foods of plant origin: Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and cleanup by dispersive SPE-QuEChERS method. European Committee for Standardization, Brussels.
4. P. Payá, M. Anastassiades, Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection, Anal Bioanal Chem., 2007, 389, 1697-1714.
5. V.Giarocco, B. Quimby, and M. Klee, "Retention Time Locking: Concepts and Applications," 安捷伦科技出版号 5966-2469EN, www.agilent.com/chem.
6. Philip L. Wylie, "使用具有解卷积报告软件和新农药数据库的 GC/MS 筛选 926 种农药和内分泌干扰物", 安捷伦科技, 出版号 5989-5076CHCN, www.agilent.com/chem/cn.

如需了解更多信息

上述数据仅代表典型的分析结果。如需了解我们产品和服务的更多信息, 请访问我们的网站:

www.agilent.com.cn

www.agilent.com.cn

安捷伦对本材料可能出现的错误, 以及由于提供或使用本材料所造成的直接或间接的损失概不负责。

本出材料中的信息, 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5月16日中国印刷

5990-8108CHCN



Agilent Technologies