

通过采用安捷伦惰性流路的 GC/MS/MS 系统分析水果和蔬菜中的农药

应用简报

食品检测和农业

作者

Limian Zhao 和 Mike Szelewski
安捷伦科技公司

摘要

通过 GC/MS/MS 分析多种水果和蔬菜中的痕量农药，全面评估和验证了安捷伦惰性流路 (IFP) 解决方案。结果显示惰性流路使整个气相色谱流路具备出色的表面惰性，从而减少了表明活性位点对目标分析物的不利影响。此外，通过与配备相应去活组件的非安捷伦流路对比，表明安捷伦惰性流路对某些基质中的重要农药具有更多优势。

前言

流路惰性对复杂样品基质中农药分析的准确度、精度、稳定性和一致性方面起着重要的作用。安捷伦惰性流路解决方案包括超高惰性色谱柱、超高惰性进样口衬管和分流平板，以及 UltiMetal Plus 惰性进样口、微板流路控制技术 (CFT) 装置和可塑金属密封圈，使整个气相色谱流路具备出色的表面惰性，降低表面活性位点对目标分析物的不利影响。

对于 GC 和 GC/MS 检测而言，农药的多残留分析一直极具挑战性。许多农药分析要求获得低 ppb 级的定量限，使分析过程变得愈加复杂。与广泛使用的 GC/MS 相比，GC/MS/MS 技术具有更好的选择性，因而显著降低了系统检测限。



Agilent Technologies

农药化合物通常含有羟基 (-OH) 和氨基 (R-NH-) 官能团、咪唑类和苯并咪唑类化合物 (-N=)、氨基甲酸酯 (-O-CO-NH-)、尿素衍生物 (-NH-CO-NH-) 和有机磷 (-P=O) 基团。这类分子易与流路表面的活性位点发生相互作用, 发生化合物吸附或降解。因此, 保持流路惰性对于痕量农药分析至关重要。

2003 年, QuEChERS 样品前处理方法被 USDA 科学家引入食品中的农药分析 [1]。由于这种方法具有快速、简便、经济、高效、稳定和安全的优点, 迅速成为全世界范围内农药多残留分析的重要方法。通过 LC/MS 和 GC/MS 同时对 QuEChERS 萃取物中多种农药残留进行测定。然而, 对于 QuEChERS 处理方法而言, 这类食品萃取物仍然显得十分复杂, 并且包含如高沸点天然化合物之类的杂质。当使用 GC/MS 或 GC/MS/MS 作为仪器检测器时, QuEChERS 萃取物会导致分析柱和质谱离子源污染以及性能下降, 出现峰形较差以及活性化合物强度下降的情况, 使结果的准确性不佳。QuEChERS 萃取物也会导致分析柱使用寿命缩短并且需要频繁地对质谱系统进行维护。因此, 如果需要获得可靠的结果并最大限度地保护分析柱和离子源, 使用适当的技术和备件是非常必要的。

安捷伦的超高惰性组件已经被证明可为痕量农药分析提供出色的表面惰性 [2-6]。在本研究中, 通过分析不同水果和蔬菜基质中的多种农药, 对整个安捷伦惰性流路进行评估。同时用相应的去活组件构建了一套非安捷伦流路, 并与安捷伦惰性流路进行对比。此外还研究了在安捷伦惰性流路中, 使用分析物保护剂对敏感化合物的影响。评估和比较了基质的校准曲线线性、用于计算准确度和精度的加标 QC 定量结果以及一段时间内多次进样的稳定性。通过双层或三层进样装置, 以“三明治”进样进行在线基质加标。通过进样一组校准标样和“三明治”进样基质空白, 获得了不同基质的校准曲线。该“三明治”进样技术不仅提高了分析的一致性, 降低了错误的制备过程带来了潜在误差, 而且显著减少了制备基质匹配标样的工作量。本研究使用了六种不同的基质, 包括草莓、橘子、李子、洋葱、红辣椒和菠菜, 用于对系统性能进行评估。

实验

所有试剂和溶剂均为 HPLC 级或分析纯。乙腈 (ACN) 购自 Honeywell (美国密歇根州马斯基根)。超低残留分析级丙酮购自 Baker 公司 (美国新泽西州菲利普斯堡)。乙酸购自西格玛奥德里奇公司 (美国密苏里州圣路易斯)。农药标样和内标 (磷酸三苯酯, TPP) 购自西格玛奥德里奇公司 (美国密苏里州圣路易斯)、Chem Service 公司 (美国宾夕法尼亚州西切斯特) 或 Ultra Scientific 公司 (美国罗德岛州北金斯敦)。L-古洛糖酸- γ -内酯和山梨醇购自西格玛奥德里奇公司。

样品制备

向 100 mL 乙腈中加入 1 mL 冰醋酸制成含 1% 乙酸的乙腈溶液, 作为试剂空白。上述溶液也用作 QuEChERS 方法的萃取溶剂以及制备纯农药标样的空白溶剂。使用丙酮分别制备标样和内标 (IS) 储备液 (2 mg/mL), 并储存在 -20°C 的环境中。从储备液中取出适量标样用丙酮稀释制备成 20 $\mu\text{g/mL}$ 混合标样 (含 33 种农药)。适当稀释单独的农药储备溶液, 并以 20 $\mu\text{g/mL}$ 磷酸三苯酯的乙腈溶液作为内标加标溶液。在试剂空白中加入适量 20 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标样溶液制备成浓度为 2、4、10、20、40、100、150 和 200 ng/mL 的八种标准溶液。向基质空白中加入适量 20 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标样溶液制备成 20、100、200 ng/mL 三个浓度水平的 QC 溶液。然后在样品中加入一定量的内标溶液使样品浓度变为 200 ng/mL。

用水制备 L-古洛糖酸内酯储备液 (50 mg/mL) 和山梨醇储备液 (50 mg/mL)。然后使用乙腈适当稀释储备液制备分析物保护溶液 (20 mg/mL L-古洛糖酸内酯和 10 mg/mL 山梨醇)。将 40 μL 储备液加入到 500 μL 基质空白或试剂空白中, 用于“三明治”进样标样或样品。

使用六种蔬菜和水果制备基质空白样品, 包括草莓、橘子、李子、洋葱、红辣椒和菠菜。使用 Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 萃取试剂盒和用于常规水果和蔬菜分析的分散 SPE 试剂盒, 按照标准 AOAC QuEChERS 萃取流程制备基质空白。

仪器

所有测试均使用配置 7693B 自动进样器的 Agilent 7890A 气相色谱与 7000 系列 GC/MS/MS 系统。32 种目标分析物的多反应监测 (MRM) 条件列于之前发表的出版物中 [3,5]，在本研究中也同样采用此条件，因而在此不再重复。如前所述，MRM 方法优化流程可以通过使用安捷伦农药与环境污染 MRM 数据库 (G9250AA) 实现，该数据库包含 1070 种化合物的 MS/MS 条件和保留时间信息 [7]。

强烈建议将反吹用于复杂基质的分析中 [8,9]。采用保留时间锁定 (RTL) 可以避免重新校正单一样品的保留时间和时间事件，如 MRM 离子对 [10]。加标样品的总分析时间为 23 min，其中反吹 2 min。对于序列中段执行的基质空白，使用 8 min 的快速柱箱梯度和 2 min 的反吹可节省总分析时间。

色谱柱与样品前处理

色谱柱

Agilent J&W HP-5ms UI, 15 m × 0.25 mm, 0.25 μm (部件号 19091-431UI)

样品前处理

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 萃取试剂盒 (部件号 5982-5755) 和用于常规水果和蔬菜分析的分散 SPE 试剂盒 (部件号 5982-5022)

气相色谱条件

气相色谱仪:	Agilent 7890A 气相色谱仪
自动进样器:	Agilent 7693 自动进样器和样品盘 5 μL 进样针 (部件号 5181-5246), 1 μL 进样量 进样前溶剂 A (丙酮) 清洗次数: 3 3 台样品泵 进样后溶剂 B (乙腈) 清洗次数: 3
“三明治”进样:	总体积 1.1 μL 对于不含洁净标样的基质, 执行三层“三明治”进样, 由 0.5 μL 洁净标样 + 0.5 μL 基质空白 + 0.1 μL 试剂空白组成。 对于已经包含样品的基质, 执行两层“三明治”进样, 由 0.5 μL 基质样品 + 0.6 μL 溶剂空白组成
载气:	氮气, 恒定压力
气体过滤器:	用于气质联用系统的气体净化套装, 1/8 英寸 (部件号 CP17974)
进样口:	UltiMetal 分流/不分流进样口 (部件号 G3970A), 脉冲不分流模式, 280 °C
进样脉冲压力:	36 psi 保持 1 min
分流出口的吹扫流量:	在 1 min 时, 流量 50 mL/min
进样口压力:	运行期间 18.35 psi (保留时间锁定), 反吹期间 1.0 psi
保留时间锁定:	甲基毒死蜱, 8.298 min
柱温箱:	对于样品分析, 100 °C 保持 2 min, 然后以 50 °C/min 速度升温至 150 °C, 以 6 °C/min 速度升温至 200 °C, 以 16 °C/min 速度升温至 300 °C 并保持 2 min 对于基质空白分析, 100 °C 保持 1 min, 然后以 50 °C/min 速度升温至 300 °C 并保持 1 min
后运行:	300 °C 保持 2 min (样品分析), 300 °C 保持 4 min (基质空白分析)
微板流路控制技术:	UltiMetal Plus Ultimate 吹扫接头 (部件号 G3182-61581), 用于反吹分析柱和进样口
辅助 EPC 气体:	氮气通入 Ultimate 吹扫接头
排气管:	0.0625 英寸外径 × 0.010 英寸内径 × 100 cm, 316 不锈钢管, 柱温箱顶部
辅助气压力:	运行过程 4 psi, 反吹过程 75 psi
接头:	连接进样口与 Ultimate 吹扫接头
限流器:	惰性熔融石英管, 0.65 m × 0.15 mm (部件号 160-7625-5)
接头:	连接 Ultimate 吹扫接头与 MSD

MSD 条件

MSD:	Agilent 7000 三重四极杆气质联用系统, 惰性, 配备高性能电子元件
真空泵:	高性能涡轮泵
模式:	MRM
调谐文件:	Atune.u
传输线温度:	280 °C
四极杆温度:	300 °C
四极杆温度:	Q1 和 Q2 均为 150 °C
溶剂延迟:	2.3 min
碰撞气体流量:	氮气淬灭气流量 2.35 mL/min, 氮气碰撞气流量 1.5 mL/min
质谱分辨率:	MS1 和 MS2 = 1.2 u

流路备件

样品瓶:	棕色螺口盖 (部件号 5182-0716)
样品瓶盖:	蓝色螺口盖 (部件号 5182-0717)
样品瓶内插管:	150 μ L 玻璃内插管, 带聚合物支脚 (部件号 5183-2088)
隔垫:	高级绿色不粘连隔垫, 11 mm (部件号 5183-4759)
密封圈:	内径 0.4 mm, 85/15 Vespel/石墨进样口密封圈 (部件号 5181-3323), 内径 0.4 mm, 85/15 Vespel/石墨质谱接口密封圈 (部件号 5062-9526), UltiMetal Plus 可塑金属密封圈 (部件号 G3188-27501)
微板流路控制技术:	Ultimate 吹扫接头 (部件号 G3182-61581)
内螺母:	部件号 G2855-20530
排气管:	0.0625 英寸外径 \times 0.010 英寸内径 \times 100 cm, 316 不锈钢管 (部件号 0100-2354)
三通:	1/16 英寸黄铜 Swagelok 接头 (部件号 0100-0680)
三通低流失密封圈:	1/16 英寸 Vespel 密封圈, 10/包 (部件号 0100-1329)
进样口密封垫:	超高惰性分流平板进样口密封垫, 带垫圈 (部件号 5190-6144)
进样口衬管:	带玻璃毛的安捷伦超高惰性脱活单细径锥衬管, 带预装的不粘连 O 形圈 (部件号 5190-2293)

表 1 中列出了安捷伦惰性流路与其他非安捷伦厂商惰性流路的配置比较, 后者也同样使用了类似的脱活组件。

本研究在热不分流模式下使用分流/不分流进样口。虽然强烈推荐在农药分析中使用多模式进样口 (MMI) [11], 但是分流/不分流进样口同样也是此类应用中最常用的进样口。因为 MMI 可以在冷不分流或大体积进样模式下操作, 并且活性分析物在低温条件下表现更好, 使得 MMI 在分析许多活性分析物时表现出良好的性能。

表 1. 气相色谱流路去活组件对比

流路	分流/不分流进样口	进样口密封垫	衬管	色谱柱	微板流路控制技术装置和密封圈
安捷伦惰性流路	UltiMetal Plus	超高惰性分流平板	超高惰性单锥不分流衬管, 带玻璃毛	HP-5ms UI	UltiMetal Ultimate 吹扫接头 UltiMetal 可塑金属密封圈
配置去活组件的对比流路	Siltek 钝化处理	Siltek 钝化处理的不锈钢密封件	Sky 单细径锥不分流衬管, 带玻璃毛	Rxi-5ms	Siltek ultimate 吹扫接头 Siltite 金属密封圈

进样顺序

常规样品批次一共包括 72 次进样, 包括试剂空白、基质空白、六组三个不同浓度的基质加标 QC、一组八个不同浓度的校准标样。在大约 10 次进样后注射一组 QC, 但是第十次进样到第二十次进样除外, 此间进样校准标样。必要时在 QC 和标样之间进样基质空白。在分析大多数基质空白时采用快速升温程序, 以缩短整个序列的仪器运行时间。

结果与讨论

本测试评估了采用 GC/MS/MS 法分析水果和蔬菜基质中农药的安捷伦惰性流路。评估和比较结果根据 2 到 200 ng/mL 范围内的校准曲线线性 (R^2) 得出。基质加标 QC 的准确度根据回收率得出, 精度根据 %RSD 和 95% 置信区间 (CI) 得出。对于每个序列, 基于 $n = 18$ 计算每种农药的平均 QC 回收率和 %RSD 或 95% CI。由于包含 3 种不同浓度的 QC, 在 70 次进样中运行了六组 QC, 平均 QC 准确度和精度数据不仅可反映多次基质样品进样的方法重复性, 同时揭示了低浓度到高浓度的响应线性。

“三明治”进样

“三明治”进样是一个简单的概念，但是对于各种样品基质分析而言非常有用。在农药分析中，广泛采用基质匹配的校准标样以降低基质效应，并获得准确而可靠的定量结果。然而，基质匹配标样的制备流程繁琐而费时，尤其是要分析大量样品基质时。该流程在制备过程中也会引入人为误差，从而直接导致分析失败。“三明治”进样的概念利用 7693 自动进样器的双层和三层进样功能，在进样过程中实现在线基质加标。因此，只需采用一组纯溶剂校准标样，并且可以将这些标样用于多种样品基质的分析。例如在本研究中，采用试剂空白制备了一组校准标样（8 种），然后在分析序列运行过程中，通过“三明治”进样基质空白对六种不同基质样品进行分析。这样显著减少了在样品制备工作上投入的时间和人力，使不同基质样品的定量结果更加一致，同时降低了校准标样制备中不可预知的人为误差和不必要的失败序列。

双层进样模式允许自动进样器的进样针在一次进样中从两个不同的样品瓶中抽取等量的样品，而三层进样模式则允许进样针在一次进样中从三个不同样品瓶中抽取等量的样品。当从另一个样品瓶中抽取样品时，进样针包含一个空气间隙用于防止交叉污染。然后将整个样品进样到进样口衬管进行汽化、混合并进样到气相色谱柱。由于使用了带玻璃毛的超高惰性衬管，这些高度去活的玻璃毛具有大表面积，使液体样品加速汽化，在样品进入色谱柱之前在衬管中均匀混合。对于采用试剂空白制备的校准标样，可以加入等量的基质空白。而对于基质样品，可以加入等量的试剂空白。对于不同样品的“三明治”进样，保持最终进样体积中溶剂与基质的比率至关重要，否则，基质的稀释倍数将会不同，从而导致基质效应出现差异，或者目标分析物的稀释倍数不同。上述两种情况都会使定量结果出现偏差。

由于在进样过程中加入了基质空白或溶剂空白，因此实际样品进样量变少，从而提高了方法的定量限。幸运的是，由于 GC/MS/MS 具有高灵敏度和高选择性，仪器检出限和定量限通常远低于水果和蔬菜中农药的最高残留限量 (MRL)。因此，由减少进样量引起的灵敏度损失不会影响农药分析的结果。由于“三明治”进样的优势非常明显，值得考虑将该方法用于多种样品基质中的农药分析。

为了验证“三明治”进样方法，在草莓基质空白中制备了一系列校准标样（1 到 100 ng/mL），方法采用常规 1 μ L 进样量。在试剂空白中制备了另一组校准标样（2 到 200 ng/mL），另一种方法采用“三明治”进样 0.5 μ L 标样和 0.5 μ L 草莓基质空白。将两组校正曲线用于定量 20 ng/mL 和 100 ng/mL 相同的草莓 QC 加

标样品。结果证明“三明治”进样方法能够获得相似的色谱图（图 1）、出色的线性（图 2）和准确而精准的定量结果（图 3）。因此将该方法用于多种样品基质中农药分析的可行性已得到充分验证。

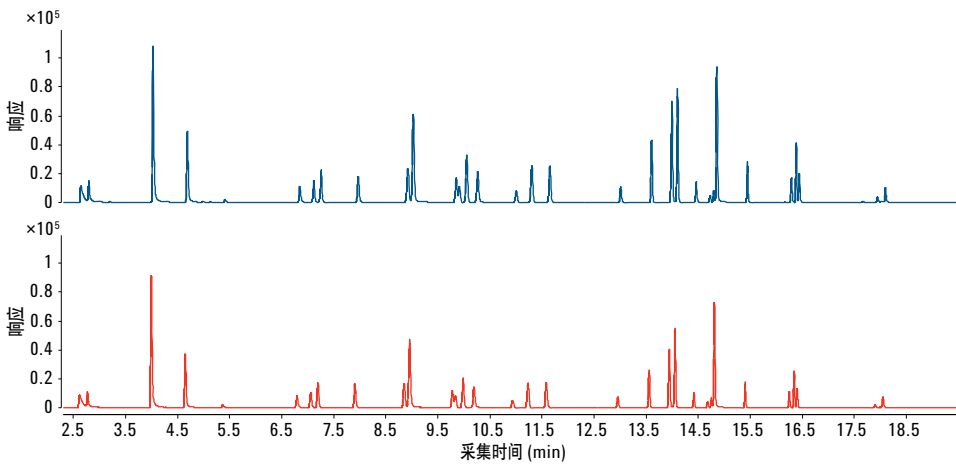


图 1. 分别采用常规进样（蓝色）和“三明治”进样（红色），分析草莓基质空白中 100 ng/mL 标样所得到的色谱图

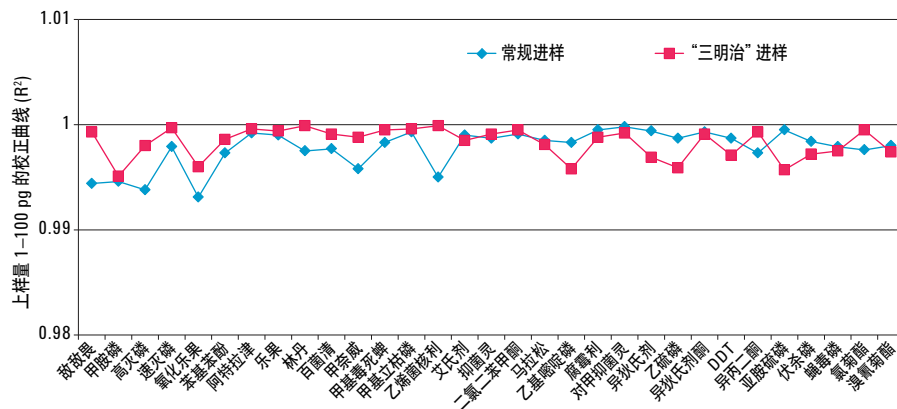


图 2. 常规进样和“三明治”进样方法的校正曲线相关系数 (R^2) 比较。所有农药的校正范围：1 到 100 μ g 上样量

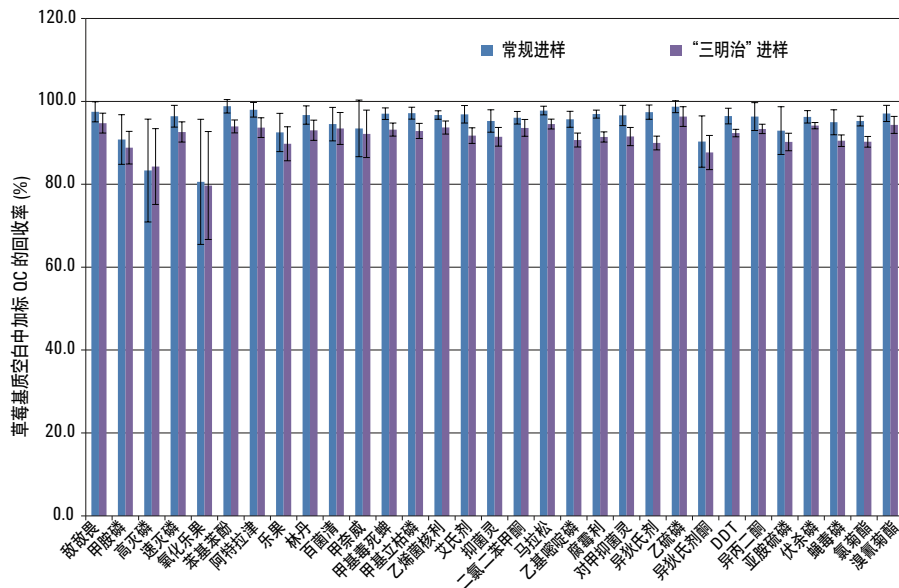


图 3. 草莓基质加标 QC, 20 到 100 ng/mL, 常规进样和“三明治”进样的回收率比较, n = 12, 误差线 = 95% CI

六种样品基质的方法验证

在六种不同样品基质(草莓、橘子、李子、洋葱、红辣椒和菠菜)中,对采用安捷伦惰性流路(IFP)的现行GC/MS/MS方法进行了验证。全部六种基质中所有农药的定量限(LOQ)均为2 ng/mL。图4中所示为红辣椒LOQ的MRM谱图,作为峰识别的示例。三种对碱性物质敏感的农药,分别是百菌清、抑菌灵和甲苯氟磺

胺,其稳定性值得一提。这三种农药在碱性基质中非常不稳定,加入基质中后会很快分解。由于“三明治”进样使化合物和洋葱基质仅有很短的反应时间,从而阻止了这三种农药的分解,因而对于洋葱样品,这三种化合物的校正曲线仍然是可以接受的。然而,即使是在分析样品前制备QC样品,回收率和精度结果都很差,这是因为后进样的样品信号显著下降。如果没有迅速加入QC

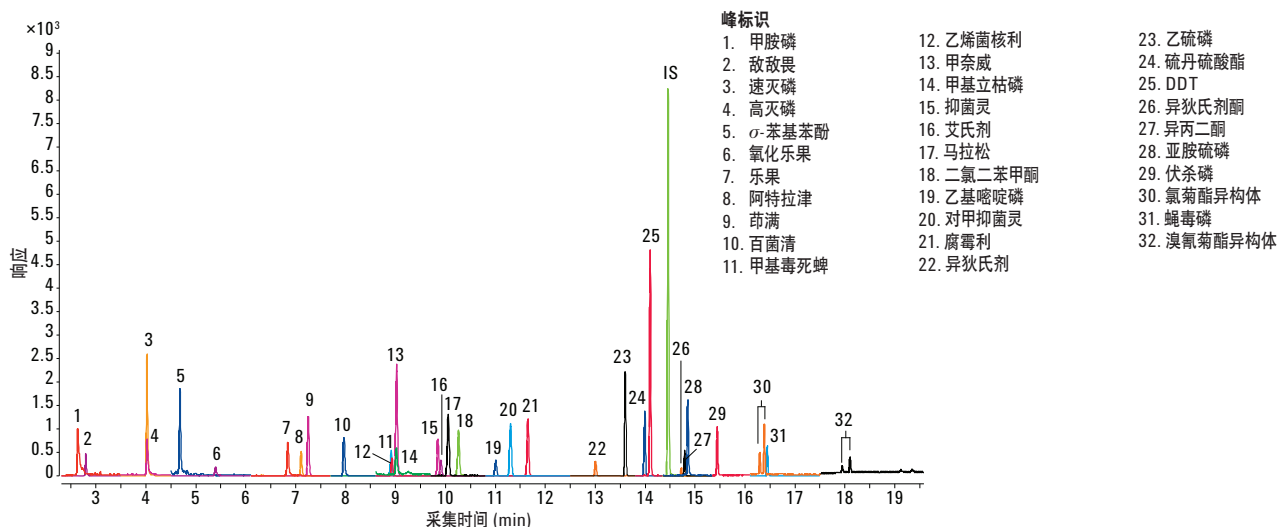


图 4. 使用安捷伦惰性流路获得的 20 ng/mL 加标橘子样品的 GC/MS/MS 谱图 (MRM)

样品，这些化合物会在色谱图中完全丢失，无法观察到。这一观察结果表明，我们需要进一步改进样品前处理过程，更好地在洋葱基质中保留这些碱性物质敏感农药。

图 5 中所示为六种基质中所有农药的校正曲线相关系数 (R^2)。所有结果的线性皆极为优秀 ($R^2 > 0.99$)，即使对于难分析的农药如高灭磷和氧化乐果亦是如此。图 6 中所示为加标 QC 溶液定量的平均回收率和 95% CI 精度。总之，对于六种基质中大多数农药均获得了满意的回收率和精度。洋葱中三种碱性物质敏感农药的定量结果相对较差，这是由于这三种农药在洋葱基质中的稳定性差。草莓空白样品中含有硫丹硫酸盐，因而无法采用现在的方法对草莓萃取物中的该化合物进行定量。在一些基质中，我们可以

观察到高灭磷和氧化乐果具有较低的平均回收率 ($< 80\%$) 和较高的 95% CI，这是由于多次进样后信号强度有所降低。高灭磷和氧化乐果是气相色谱和气质联用分析中比较难检测的化合物。现已证明与传统非惰性气相色谱流路相比，使用惰性流路可以实现更高的响应和更好的峰形 [4,6]。然而，在进行多次进样后，如 40-50 次进样后，两种化合物的信号会有所丢失，导致回收率不令人满意，尤其在某些基质（如橘子、洋葱、菠菜等）中。分析物保护剂可以在一些基质中使信号更加一致，但是并不是在所有在测基质中都这样。许多进行农药分析的实验室实际上已将这类难于分析的农药从气质联用分析转移至 LC/MS/MS 分析中，从而获得更可靠和更稳定的结果。

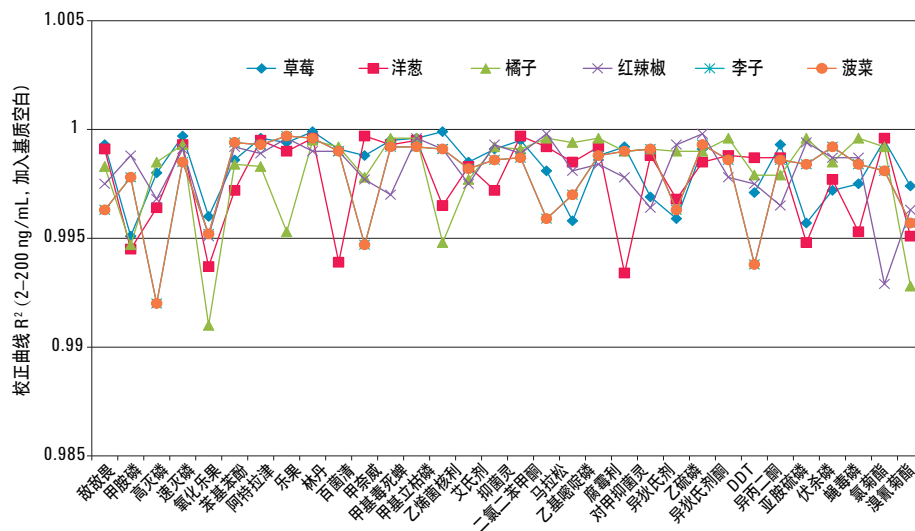


图 5. 采用配置安捷伦惰性流路的 GC/MS/MS 系统分析六种不同基质中 32 种农药时的校正曲线相关系数 (R^2) 所有农药的校正范围：2 到 200 ng/mL

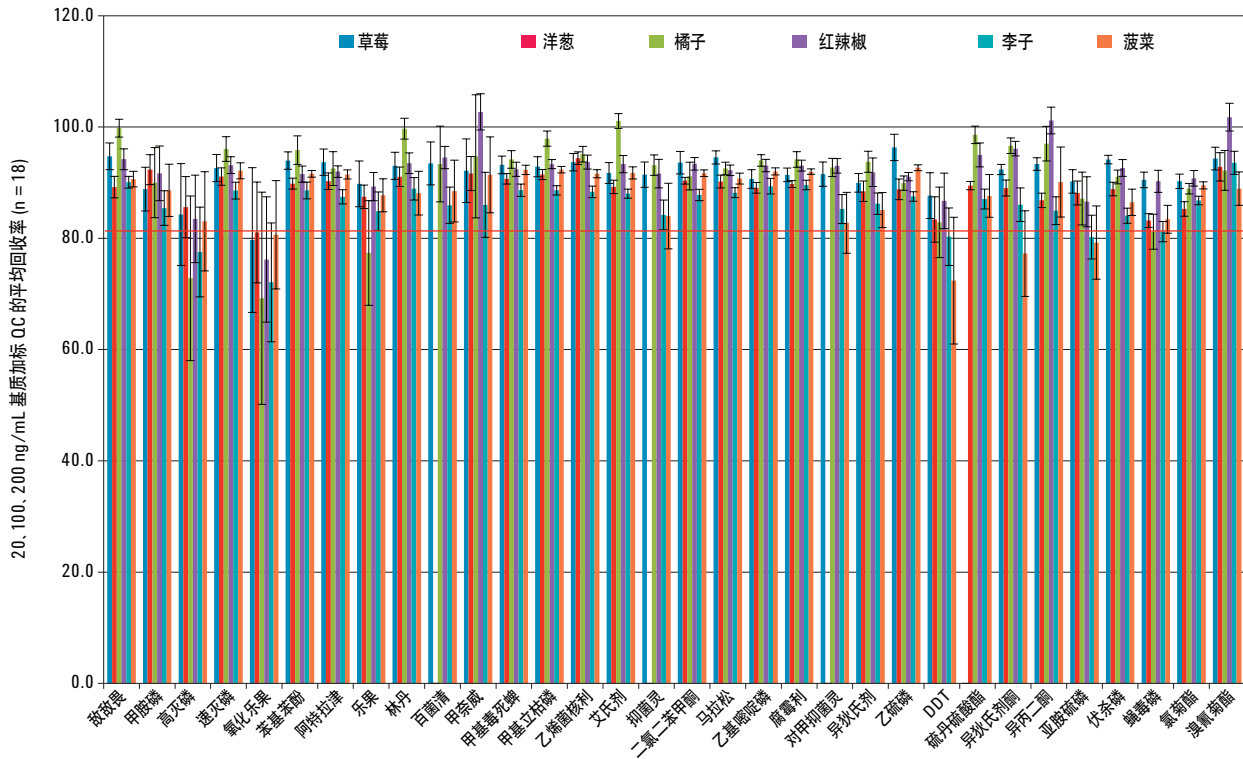


图 6. 使用安捷伦惰性流路的 GC/MS/MS 系统分析六种加标 QC 的定量结果。向基质空白萃取物中加入 20、100 和 200 ng/mL 三个浓度级别的 QC 溶液，n = 18，误差线 = 95% CI

安捷伦惰性流路与非安捷伦去活组件的比较结果

将安捷伦惰性流路与另一厂商的对应去活组件进行了对比。表 1 中列出了去活组件。两个气相色谱流路都安装在相同的 GC/MS/MS 系统上。安捷伦惰性流路采用前进样口与质谱仪连接，并首先进行测试。然后安装非安捷伦去活组件，使用后进样口与质谱仪连接并进行测试。两个流路均采用相同的样品进行对比测试。当气相色谱通道（进样口和色谱柱）切换至质谱仪时，都会对质谱仪进行调谐。

整体而言，与非安捷伦去活组件流路相比，安捷伦惰性流路可提供更高的响应。图 7 中所示为使用安捷伦惰性流路和非安捷伦去活组件，分析向六种基质中加入 20 ng/mL QC 溶液所得到的色谱图。不同样品基质显示出特定的差异。在红辣椒、橘子和洋葱基质中，差异更加明显。而在其他基质如李子和菠菜中，整体响应更具可比性。之前曾经报道过使用安捷伦惰性流路使整体响应增强 [12]。然而，整体响应增强并不能完全归因于表面惰性的改进，因为对于活性分析物和许多稳定分析物，这些增强都是显而易见的。采用这两种惰性流路，大部分分析物的分析物/内标的峰-面积比皆具可比性。

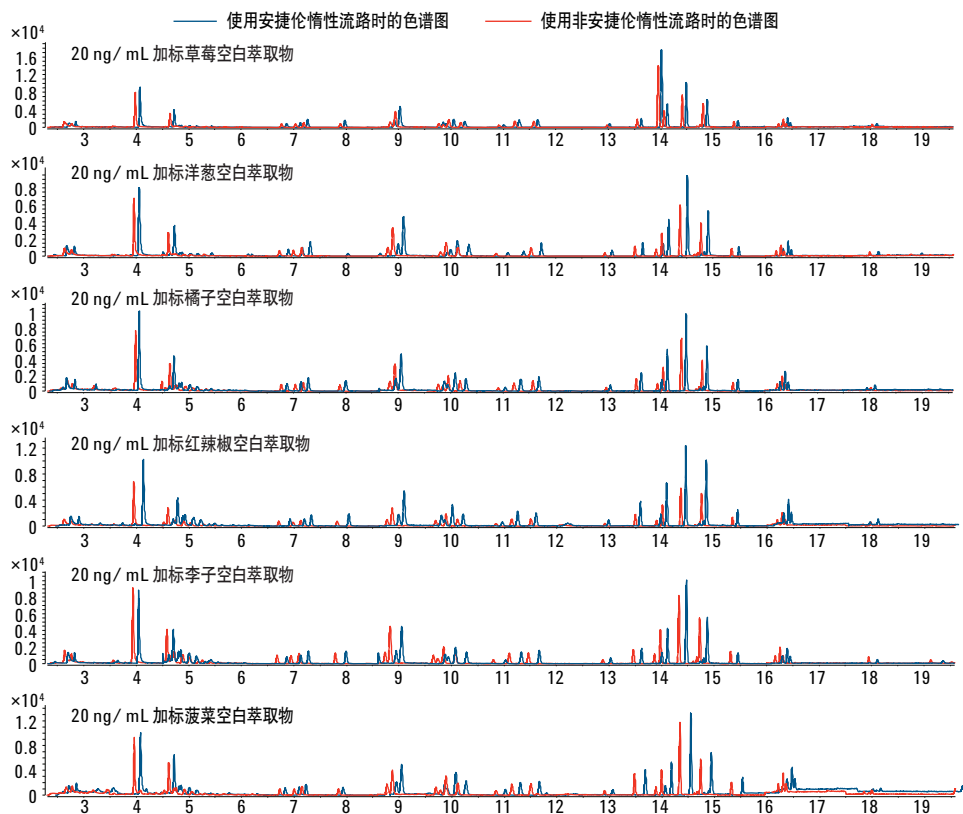


图 7. 使用安捷伦惰性流路（蓝色）和非安捷伦去活组件（红色）在六种基质中加入 20 ng/mL 标样的色谱图

更好的校准曲线线性和更长的稳定性，有力地证明安捷伦惰性流路较之非安捷伦去活组件具有更好的表面惰性，同时，对于重要的活性农药，经过多次进样后，信号丢失速度变缓。如图 8 中所示，在六种在测样品基质中，重要农药氧化乐果获得了更好的校准曲线线性 ($R^2 > 0.99$)。然而，在使用非安捷伦去活组件时，不

同基质中六种氧化乐果校正曲线中的五种都获得了令人不满意的线性结果 ($R^2 < 0.99$)。图 9 中所示为对于敏感农药的系统稳定性对比结果。如图中所示，使用安捷伦惰性流路使活性农药的分析响应更一致，因而可支持更多样品分析，并获得令人满意的结果。

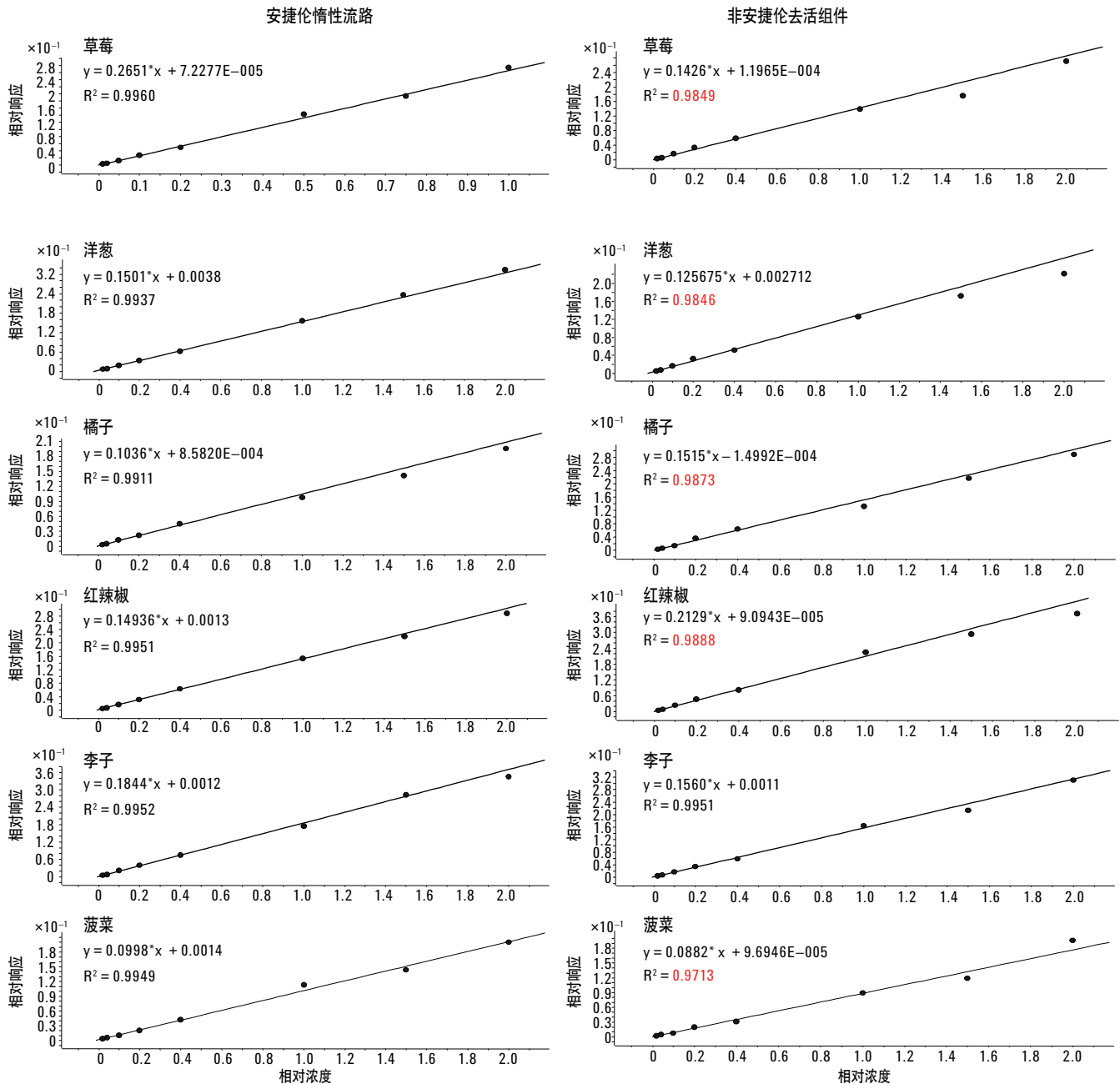


图 8. 使用安捷伦惰性流路（左侧图）和非安捷伦去活组件（右侧图）分析多种基质中氧化乐果的校正曲线。校正范围：2-200 ng/mL，基质空白中

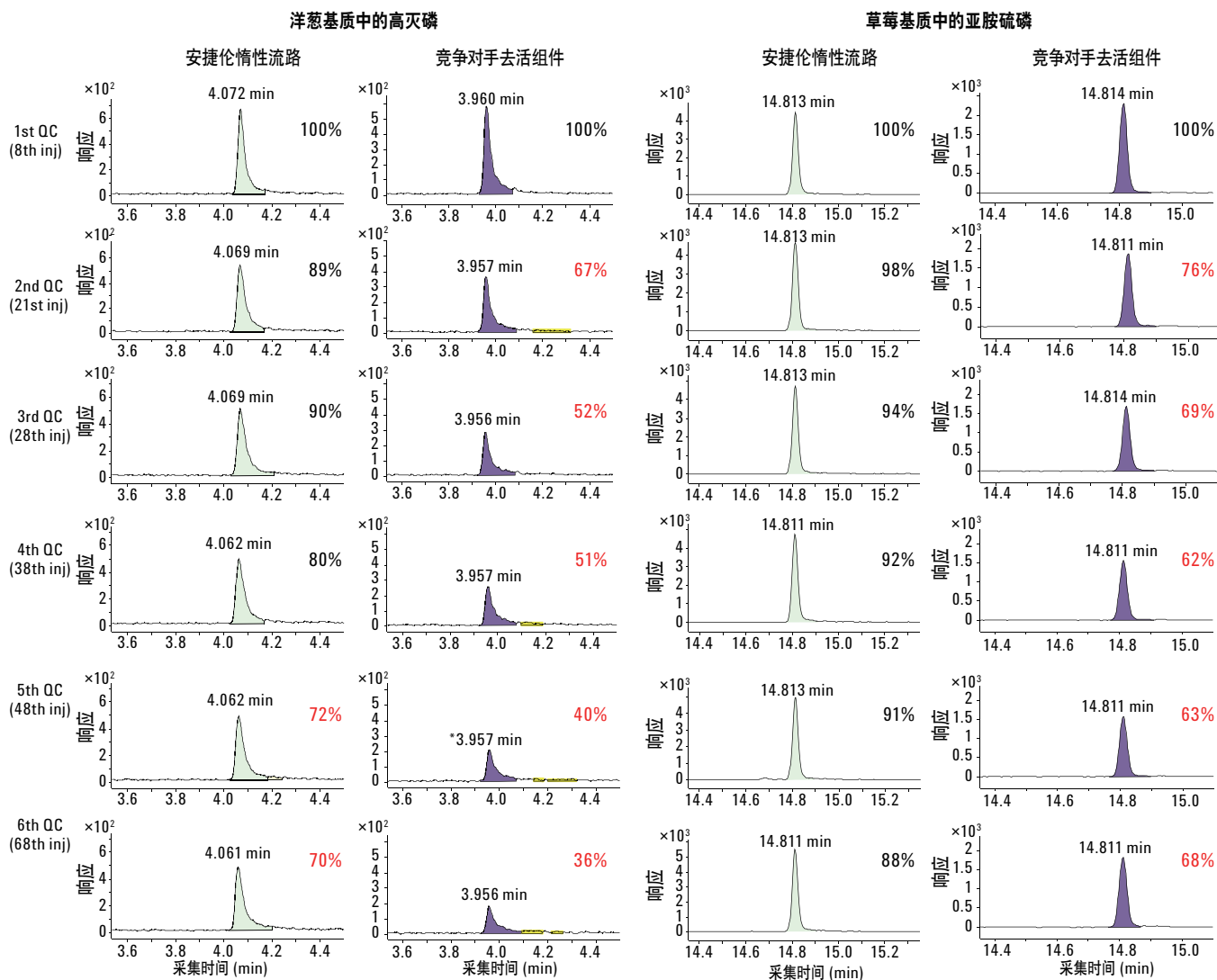


图 9. 举例对比使用安捷伦惰性流路和非安捷伦去活组件分析基质中重要农药时的系统稳定性。向基质空白中加入 20 ng/mL QC 溶液

分析物保护剂

分析物保护剂 (AP) 是指在每次进样时同时加入到分析物中, 与气相色谱系统中的活性位点发生强烈反应的化合物, 从而可以降低敏感目标化合物的分解和/或吸附 [11,13]。该方法是利用基质诱导增强效应来防止分析物在气相色谱系统中发生损失。使用分析物保护剂可以在每次进样时为整个系统提供在线去活。已证明保护剂可以有效改善灵敏农药的响应、峰形以及整个方法稳定性, 因此强烈推荐在气质联用系统和 GC/MS/MS 系统中分析农药化合物时使用。

早期的研究是采用传统的非惰性或部分惰性流路组件, 因此本文研究了在安捷伦惰性流路中使用分析物保护剂的影响。对安捷伦惰性流路中草莓 (较弱基质) 和菠菜 (强基质) 样品使用和不使用分析物保护剂的结果进行了比较。按照分析物保护剂的使用说明 [11], 制备了古洛糖酸内酯和山梨醇的混合溶液。然后将该分析物保护剂混合物加入基质对照空白或试剂空白中。通过采用“三明治”进样, 能够在向仪器进样时自动加入分析物保护剂。这也是使用“三明治”进样的又一优势。自动进样器作为工作台的一部分, 在每次进样时添加分析物保护剂溶液, 而不必在制备每

个样品时手动加入分析物保护剂溶液。同样，在序列中分析了相同的样品，并且没有添加分析物保护剂。通过色谱图比较和总体定量结果对分析结果进行评估。

图 10 中所示为使用安捷伦惰性流路在使用和不使用分析物保护剂时得到的叠加色谱图。采集了 70 次进样后各个序列的样品色

谱图。使用文献 [11] 中提到的三种代表性化合物来证明使用分析物保护剂后所获得的提升，林丹通常不太敏感，伏杀磷为中度敏感度，邻苯基苯酚非常敏感。在图 10 中突出显示了这些化合物。定量结果列于表 2 中，包括校正曲线 R^2 、平均基质加标 QC 回收率和 %RSD (3 个浓度，每个浓度 $n = 6$)。

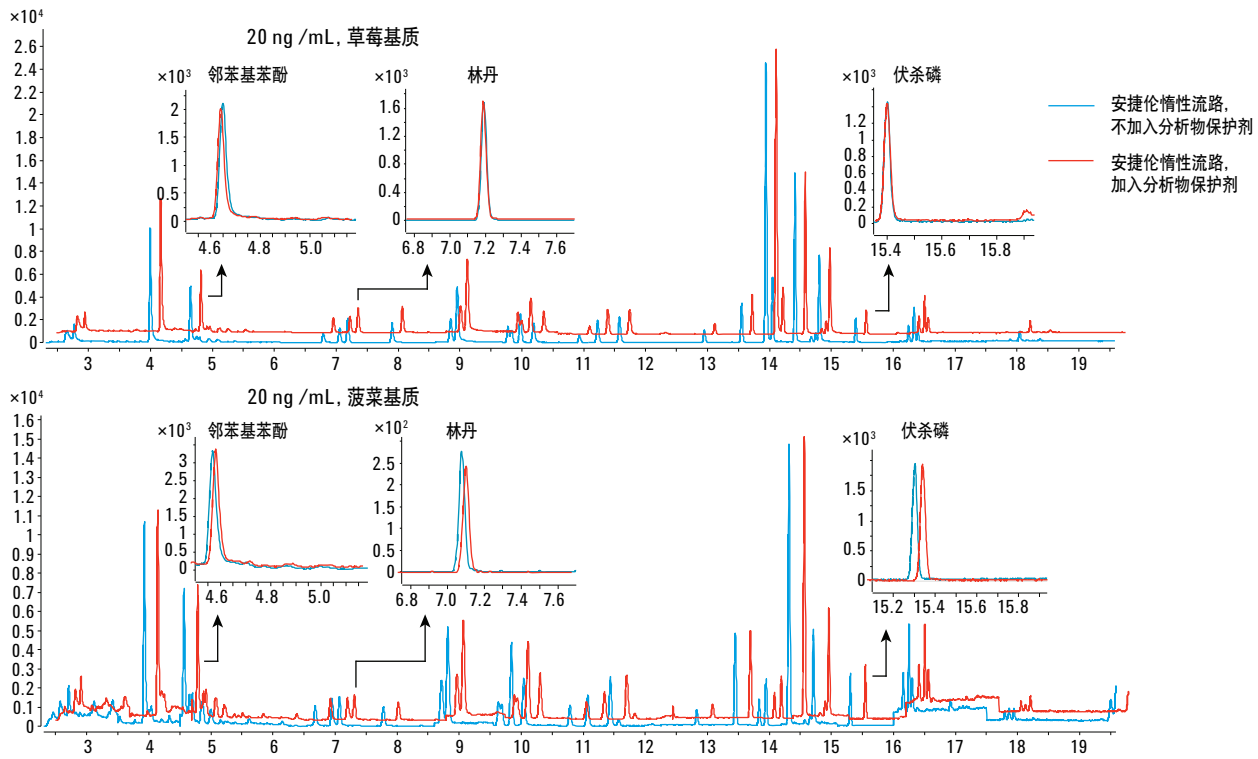


图 10. 使用安捷伦惰性流路在草莓（上图）和菠菜（下图）中加入 20 ng/mL QC 溶液，不添加（蓝色）和添加分析物保护剂（红色）的对比色谱图。色谱图分别通过 70 次进样序列中的基质样品获得。放大谱峰的三个化合物根据参考文献 11 选择

表 2. 使用安捷伦惰性流路对添加和未添加分析物保护剂 (AP) 的草莓和菠菜加标样品定量结果比较

农药	草莓						菠菜					
	安捷伦惰性流路			安捷伦惰性流路, 加入分析物保护剂			安捷伦惰性流路			安捷伦惰性流路, 加入分析物保护剂		
	R ²	平均回收率 (%)	%RSD n = 18	R ²	平均回收率 (%)	%RSD n = 18	R ²	平均回收率 (%)	%RSD n = 18	R ²	平均回收率 (%)	%RSD n = 18
敌敌畏	0.9993	95.6	5.4	0.9996	96.3	2.8	0.9963	90.6	3.4	0.9971	91.2	2.4
甲胺磷	0.9951	88.8	9.6	0.9992	94.2	3.9	0.9978	88.6	11.5	0.9969	86.1	9.4
高灭磷	0.9980	84.3	23.5	0.9997	94.9	8.8	0.9920	83.0	23.2	0.9976	84.7	22.6
速灭磷	0.9997	92.6	5.7	0.9988	95.7	2.5	0.9985	92.1	3.3	0.9996	93.0	2.5
氧化乐果	0.9960	79.7	35.3	0.9974	96.1	13.0	0.9952	80.6	26.2	0.9925	79.9	28.1
邻苯基苯酚	0.9986	94.0	3.6	0.9913	93.1	1.7	0.9994	91.6	1.4	0.9993	91.5	3.1
阿特拉津	0.9996	93.7	5.5	0.9990	94.1	2.7	0.9993	91.5	1.9	0.9993	94.6	1.7
乐果	0.9994	89.8	9.9	0.9991	96.2	2.1	0.9997	87.7	7.3	0.9985	87.6	10.1
林丹	0.9999	93.0	5.7	0.9990	93.9	1.9	0.9996	88.1	9.7	0.9986	86.3	8.8
百菌清	0.9991	93.5	8.9	0.9989	95.5	4.2	0.9990	88.5	13.6	0.9984	85.2	20.1
甲奈威	0.9988	92.2	13.4	0.9964	96.4	6.2	0.9947	91.4	16.2	0.9944	91.4	24.3
甲基毒死蜱	0.9995	93.2	3.7	0.9944	94.9	2.0	0.9992	92.3	1.9	0.9992	92.6	2.5
甲基立枯磷	0.9996	92.9	4.2	0.9993	95.4	1.5	0.9992	92.3	1.4	0.9994	93.9	0.7
乙烯菌核利	0.9999	93.7	3.6	0.9987	95.7	2.0	0.9991	91.6	1.7	0.9992	95.7	2.3
艾氏剂	0.9985	91.7	4.4	0.9988	93.5	2.6	0.9982	91.8	2.6	0.9974	96.0	2.3
抑菌灵	0.9991	91.4	5.4	0.9987	92.3	2.6	0.9986	84.0	15.2	0.9985	80.9	16.5
二氯二苯甲酮	0.9995	93.6	4.7	0.9976	95.5	2.0	0.9987	91.7	1.4	0.9997	93.7	1.2
马拉松	0.9981	94.5	2.7	0.9988	95.6	1.3	0.9959	90.7	2.4	0.9995	92.0	3.4
乙基噻啉磷	0.9958	90.7	4.0	0.9985	94.7	1.6	0.9970	92.0	1.5	0.9973	93.4	3.5
腐霉利	0.9988	91.4	2.9	0.9993	94.3	1.5	0.9988	92.0	1.1	0.9996	93.6	3.5
对甲抑菌灵	0.9992	91.5	5.2	0.9991	93.9	2.9	0.9990	82.8	14.3	0.9994	80.9	1.7
异狄氏剂	0.9969	90.0	4.0	0.9961	93.3	4.1	0.9991	85.1	8.0	0.9965	87.8	8.4
乙硫磷	0.9959	96.3	5.4	0.9967	95.1	1.6	0.9963	92.7	1.3	0.9991	92.4	1.0
DDT	0.9991	87.7	10.2	0.9954	92.3	13.9	0.9993	72.4	34.1	0.9983	72.5	33.1
硫丹硫酸酯*	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	0.9986	87.6	9.5	0.9989	87.7	10.2
异狄氏剂酮	0.9971	92.4	2.1	0.9886	92.0	3.1	0.9938	77.3	21.6	0.9883	73.5	23.7
异丙二酮	0.9993	93.4	2.6	0.9975	94.3	2.8	0.9986	90.1	15.0	0.9981	89.4	17.0
亚胺硫磷	0.9957	90.2	5.1	0.9956	92.5	3.8	0.9984	79.2	18.0	0.9977	80.2	23.2
伏杀磷	0.9972	94.2	1.8	0.9969	93.7	1.9	0.9992	86.5	5.9	0.9972	87.3	9.7
蝇毒磷	0.9905	90.5	3.4	0.9980	88.4	3.7	0.9984	83.4	6.5	0.9993	85.3	10.6
氯菊酯	0.9995	90.2	3.1	0.9980	90.5	1.9	0.9981	89.5	1.5	0.9948	94.3	1.9
溴氰菊酯	0.9974	94.3	4.7	0.9986	97.9	4.2	0.9957	88.9	7.3	0.9960	89.6	15.0

* 在草莓基质空白中检出硫丹硫酸酯, 因此在此不做为定量依据

结果证明在分析食品中农药时使用安捷伦惰性流路可以实现多重优势：多次基质进样中表现出优异的峰响应、峰形和一致的分析物响应。使用安捷伦惰性流路获得的定量结果完全可以与添加分析物保护剂的结果相媲美。即使对于非常敏感的化合物邻苯基苯酚，在使用惰性流路而不添加保护剂的条件下，在 70 次进样后仍能保持一致的峰形和响应。两种样品基质中的林丹和伏杀磷获得了相似的结果。然而，值得关注的是对于非常重要的化合物（如高灭磷和氧化乐果），也观察到信号下降的情况。这些极性和挥发性相对较高的分析物需要转移到液质联用系统进行分析。在草莓基质中，使用分析物保护剂后显著提高了这两种农药响应的一致性。然而在菠菜基质中，虽然使用了分析物保护剂，但对这两种农药的分析效果不佳，结果不令人满意。菠菜是非常复杂的基质，无论是否使用分析物保护剂，对其他某些农药的分析也会失败。

重要化合物响应降低可能与基质诱导响应减弱效应有关，这是由于气相色谱系统中，尤其是进样口衬管、密封垫和色谱柱头处逐渐积聚的低挥发或不挥发性基质干扰物造成的。这些积聚的组分会形成新的活性位点，从而逐渐使信号强度降低。通过使用带玻璃毛的衬管和反吹技术，基质残留的引入和积聚会有所减少，但是不能完全避免。因此，即使是完全惰性的流路，新形成的活性位点仍然会带来问题。在本研究中，通过在每次进样时使用分析物保护剂实现“在线”去活，能够显著提高敏感性化合物在许多基质中的回收性能。然而，分析物保护剂并不是万能的解决方案。在菠菜基质中，使用分析物保护剂对提高重要分析物的响应并无帮助。即使添加了分析物保护剂，这类难以分析农药的结果仍然不令人满意。对于气质联用系统难以分析的化合物，建议采用液质联用系统进行分析 [11,13]，或使用其它样品制备方法降低基质效应。

结论

本研究对采用 QuEChERS 技术萃取的六种样品基质中的农药残留进行分析，全面评估了安捷伦惰性流路的性能。采用“三明治”进样方法在进样过程中添加基质空白，以便将溶剂空白制备的标样用于多种基质样品的校正。在使用安捷伦惰性流路的 GC/MS/MS 系统上，对六种基质的分析方法进行验证，结果显示该方法可以实现卓越的灵敏度 (2 ng/mL of LOQ)、优异的校正曲线线性 ($R^2 > 0.99$) (2 到 200 ng/mL 范围内) 和令人满意的准确度和精度。结果表明安捷伦惰性流路为整个气相色谱系统提供了出色的表面惰性，从而显著降低了表面活性位点对目标化合物的不利影响。与非安捷伦的去活组件相比，安捷伦惰性流路可以实现更高的整体响应、对于重要农药的线性更好，并且对于水果和蔬菜基质中的敏感农药可以实现更高的稳定性。

致谢

作者诚挚感谢 Adam Milecki 在仪器故障排除方面所提供的帮助。

参考文献

1. M. Anastassiades, S.J. Lehotay *J. AOAC Int.*, 86, 412 (2003)
2. L. Zhao, D. Mao “使用带玻璃毛超惰性衬管的 GC/MS/MS 进行食品中农药的分析”, 应用简报, 安捷伦科技公司, 出版号 5990-7706CHCN (2011)
3. L. Zhao, C-K. Meng “通过 GC/MS/MS 对种植食物中痕量农药进行定量和重现性分析” 应用简报, 安捷伦科技公司, 出版号 5990-9317CHCN (2011)
4. K. Lynam, D. Smith “使用安捷伦 J&W DB-35ms 超高惰性色谱柱和超高惰性玻璃毛衬管在使用/不使用分析保护剂两种情况下测定有机磷农药 (OP)” , 应用简报, 安捷伦科技公司, 出版号 5990-8235CHCN (2012)
5. L. Zhao, C-K. Meng “Optimized Method Development of Large Volume Injection for GC/MS/MS of Food Pesticides” (优化大体积进样 GC/MS/MS 分析食品中农药的方法开发) 应用简报, 安捷伦科技公司, 出版号 5991-1196 EN (2012)
6. L. Zhao “Evaluating Inert Flow Path Components and Entire Flow Path for GC/MS/MS Pesticide Analysis” (评估惰性流路组件和整个流路在 GC/MS/MS 农药分析中的性能) 应用简报, 安捷伦科技公司, 出版号 5991-1860 EN (2013)
7. C-K Meng “The GC/MS/MS Analyzer and the Pesticides and Environmental Pollutants MRM Database” (GC/MS/MS 分析仪器和农药以及环境污染物 MRM 数据库) 应用简报, 安捷伦科技公司, 出版号 5990-9453EN
8. M. J. Szelewski, B. Quimby “New Tools for Rapid Pesticide Analysis in High Matrix Samples” (高基质效应样品中快速农药分析的新工具) 应用简报, 安捷伦科技公司, 出版号 5989-1716EN
9. C-K. Meng “用反吹技术提高柱效和延长柱寿命”, 应用简报, 安捷伦科技公司, 出版号 5989-6018CHCN
10. V. Giarocco, B. Quimby “Retention Time Locking: Concepts and Applications” (保留时间锁定: 概念和应用) 应用简报, 安捷伦科技公司, 出版号 5966-2469EN
11. K. Mastovska “GC/MS/MS 农药残留分析” 参考指南, 安捷伦科技公司, 出版号 5991-2389CHCN (2013)
12. K. Lynam “Agilent Inert Flow Path Enhancements: Impact on Semivolatile Analysis” (强大的安捷伦惰性流路性能: 对半挥发物分析的影响) 应用简报, 安捷伦科技公司, 出版号 5991-2745EN (2013)
13. K. Mastovska, S. J. Lehotay, M. Anastassiades *Anal. Chem.* 77, 8129 (2005)

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

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更, 恕不另行通知。

© 安捷伦科技(中国)有限公司, 2013

中国印刷

2013年9月19日

5991-3234CHCN



Agilent Technologies