

安捷伦超临界流体色谱 (1260 SFC)-超高分辨质谱 (6550 QTOF) 联用技术在多农残筛查的应用

应用

超临界流体色谱 (SFC) 高分辨质谱 (HRMS) 食品安全 (Foodsafety)
多农残 (Multi-Pesticides) 筛查 (Screening)

作者

李建中 孟颖 薄涛 安蓉

摘要

本应用报告采用 Agilent 1260 Infinity SFC 超临界色谱和结合 iFunnel 技术的 Agilent 6550 QTOF 超高分辨质谱系统建立对植物性食品中多种农药残留快速筛查的检测技术。本研究基于 Agilent 高分辨数据库 (PCDL) 的数据分析功能, 利用精确质量及超临界色谱分离技术快速实现了植物性食品中潜在多极性农药的筛查分析, 其中精确高分辨质谱全扫描技术可以有效满足处理多组分的数据的同时提取和鉴定的需求, 超临界色谱则可从分离上兼顾农药从极性强到非极性强的广泛极性范围分布特点, 同时 SFC 作为一种环保绿色分离技术也将成为经典色谱分析的有益补充。

前言

植物源性食品中农药残留分析技术一直以来是世界各国尤其是欧盟, 美国, 日本等发达国家高度关注项目。对于全球范围内普遍使用的近千种农药品种来说, 由于药物极性特点不同, 目前传统经典技术主要采用 GCMS 和 LCMS 技术相结合进行分析。如何在单次分析过程中尽可能多的提高筛查监测农药品种, 提高农产品及食品的监督力度是目前多农药残留检测技术的需要突破的技术瓶颈和发展方向。四极杆串联飞行时间高分辨质谱技术 (6500 QTOF) 配合谱库检索功能 (PCDL) 通过化合物精确质量及同位素匹配方式可以实现多组分数据快速提取挖掘; 采用超临界流体色谱技术 (SFC) 配合 Zorbax Rx-SIL 亚二微米填料色谱柱, 可以有效的解决化合物极性差异较大而造成的分离问题, 可以兼顾极



Agilent Technologies

性强和非极性强的农药同时分离测试的需求，同时对于农药异构体或手性农药的分离提供可能；另外与经典反相色谱流动相相比，超临界流体先天具有一个巨大的优势，黏性极低，同时扩散性增大，因此具有更好的传质性能。如今，UHPLC 由于其更高的分离速度，以及在可接受的时间内能够提供以往难以实现的分度而得到广泛接受。相比而言，超临界流动相的低黏度允许应用小粒径的色谱柱或超长色谱柱，而不会产生过高的背压。Agilent 1260 Infinity 分析型 SFC 系统可以使用更长的和/或小粒径填料色谱柱在不超过 600 bar 系统压力下工作，结合了UHPLC 和 SFC 的各自优势，从而可获得更高的性能。

本应用报告有效的结合 Agilent 超高分辨率四极杆串联飞行时间质谱 6550 QTOF 和超临界流体色谱 1260 Infinity SFC 技术应用于植物性食品中多农药残留筛查检测。

实验部分

仪器

Agilent Infinity 1260 Analytical SFC 系统，其中包括 SFC 控制模块，二元泵，自动进样器、二极管阵列检测器、真空在线脱气机和安装有六柱切换阀的柱温箱。

Agilent 6550 QTOF 质谱系统，MassHunter B 6.0 采集软件和数据处理软件。

试剂

试剂	来源	备注
甲醇	DikmaPure	HPLC 级
CO ₂	北京市北温气体制造厂	99.999%
乙腈	DikmaPure	HPLC 级

试样标准品

混合农残标液



标样制备

取混合农药标准品适量，用异丙醇/甲醇 (1:1) 配制成标准品溶液。

实验条件

色谱柱	ZORBAX Rx-sil 3.0 × 100 mm 1.8 μm
流动相	A: CO ₂ B: 20 mM 甲酸铵甲醇
梯度	0-10 min B 2%-20%
流速	2 ml/min
BPR	130 bar
柱温	45 °C
进样量	2 μl
补偿泵	0.2 ml/min
补偿泵流动相	20 mM 甲酸铵甲醇

质谱条件:

极性:	正离子模式 (DualJetStream ESI)
干燥气温度:	150 °C
干燥气流量:	16 L/min
雾化器压力:	35 psi
毛细管电压:	3500 V
喷嘴电压:	300 V
鞘气温度:	300 °C
鞘气流量:	11 L/min
扫描范围:	100-1000 m/z
碎裂电压:	135 V
Skimmer:	65 V



农药化合物名称 Name	分子式 Formula	保留时间 RT	精确质量 Mass
Eprinomectin	C ₅₀ H ₇₅ N O ₁₄	6.41	913.5164
Doramectin	C ₅₀ H ₇₄ O ₁₄	5.02	898.505
Ivermectin B1a	C ₄₈ H ₇₄ O ₁₄	4.53	874.5054
Avermectin B1a	C ₄₈ H ₇₂ O ₁₄	4.78	872.4905
Flubendiamide	C ₂₃ H ₂₂ F ₇ I N ₂ O ₄ S	2.62	682.022
Moxidectin	C ₃₇ H ₅₃ N O ₈	1.59	639.3764
Chlorfluazurone	C ₂₀ H ₉ Cl ₃ F ₅ N ₃ O ₃	1.31	538.9621
Indoxacarb	C ₂₂ H ₁₇ Cl F ₃ N ₃ O ₇	0.74	527.0703
Lufenuron	C ₁₇ H ₈ Cl ₂ F ₈ N ₂ O ₃	1.13	509.9816
Triflurosulfuron-methyl	C ₁₇ H ₁₉ F ₃ N ₆ O ₆ S	2.42	492.1034
Flufenoxuron	C ₂₁ H ₁₁ Cl F ₆ N ₂ O ₃	1.25	488.0356
Chlorantraniliprole	C ₁₈ H ₁₄ Br Cl ₂ N ₅ O ₂	3.53	480.9704
Temephos	C ₁₆ H ₂₀ O ₆ P ₂ S ₃	0.77	465.9896
Fluoxastrobin	C ₂₁ H ₁₆ Cl F N ₄ O ₅	2.2	458.0792
Trifloxysulfuron	C ₁₄ H ₁₄ F ₃ N ₅ O ₆ S	4.65	437.0615
Fenpyroximate	C ₂₄ H ₂₇ N ₃ O ₄	1.06	421.2003
Mandipropamid	C ₂₃ H ₂₂ Cl N O ₄	1.95	411.1238
Carfentrazone-ethyl	C ₁₅ H ₁₄ Cl ₂ F ₃ N ₃ O ₃	0.37	411.0363
Trifloxystrobin	C ₂₀ H ₁₉ F ₃ N ₂ O ₄	0.6	408.1301
Metrafenone	C ₁₉ H ₂₁ Br O ₅	0.9	408.0581
Azoxystrobin	C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₅	2.17	403.1168
Fluthiacet-methyl	C ₁₅ H ₁₅ Cl F N ₃ O ₃ S ₂	1.31	403.0226
Alanycarb	C ₁₇ H ₂₅ N ₃ O ₄ S ₂	1.94	399.1286
Rotenone	C ₂₃ H ₂₂ O ₆	1.39	394.1419
Dimethomorph(E)	C ₂₁ H ₂₂ Cl N O ₄	1.98	387.1238
Sulfentrazone	C ₁₁ H ₁₀ Cl ₂ F ₂ N ₄ O ₃ S	1.02	385.9817
Diafenthiuron	C ₂₃ H ₃₂ N ₂ O S	0.63	384.2241
Furathiocarb	C ₁₈ H ₂₆ N ₂ O ₅ S	0.57	382.1563
Metsulfuron-methyl	C ₁₄ H ₁₅ N ₅ O ₆ S	2.75	381.0744
Prochloraz	C ₁₅ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₂	1.76	375.0309
Famoxadon	C ₂₂ H ₁₈ N ₂ O ₄	1.13	374.1266
Spirotetramat	C ₂₁ H ₂₇ N O ₅	2	373.19
Tetraconazole	C ₁₃ H ₁₁ Cl ₂ F ₄ N ₃ O	1.3	371.0214
Spiromesifen	C ₂₃ H ₃₀ O ₄	0.56	370.2143
Methoxyfenozide	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₃	2.62	368.2106
Picoxystrobin	C ₁₈ H ₁₆ F ₃ N O ₄	0.68	367.1034
Pyridaben	C ₁₉ H ₂₅ Cl N ₂ O S	0.7	364.1377
Coumaphos	C ₁₄ H ₁₆ Cl O ₅ P S	0.78	362.0145
Etoxazole	C ₂₁ H ₂₃ F ₂ N O ₂	0.73	359.1699
Clethodim	C ₁₇ H ₂₆ Cl N O ₃ S	0.55	359.1321
Triflumuron	C ₁₅ H ₁₀ Cl F ₃ N ₂ O ₃	0.9	358.0333
Chlorfenvinphos	C ₁₂ H ₁₄ Cl ₃ O ₄ P	0.7	357.9696
Thiodicarb	C ₁₀ H ₁₈ N ₄ O ₄ S ₃	3.74	354.0491

(续)

农药化合物名称 Name	分子式 Formula	保留时间 RT	精确质量 Mass
exythiazox	C ₁₇ H ₂₁ Cl N ₂ O ₂ S	0.68	352.1012
Propargite	C ₁₉ H ₂₆ O ₄ S	0.45	350.1549
Thiophanate-methyl	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S ₂	2.14	342.0459
Boscalid	C ₁₈ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O	1.53	342.0328
Etobenzanid	C ₁₆ H ₁₅ Cl ₂ N O ₃	0.61	339.043
Bitertanol	C ₂₀ H ₂₃ N ₃ O ₂	1.87	337.1792
Fenbuconazole	C ₁₉ H ₁₇ Cl N ₄	2.27	336.1142
Zoxamide	C ₁₄ H ₁₆ Cl ₃ N O ₂	1	335.0248
Tebuconazole	C ₁₈ H ₂₄ Cl N ₃ O	0.71	333.1608
Halofenozide	C ₁₈ H ₁₉ Cl N ₂ O ₂	2.36	330.1132
Fenarimol	C ₁₇ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O	1.46	330.0328
Pencycuron	C ₁₉ H ₂₁ Cl N ₂ O	1.31	328.1345
Dimoxystrobin	C ₁₉ H ₂₂ N ₂ O ₃	1.29	326.1643
Iprovalicarb	C ₁₈ H ₂₈ N ₂ O ₃	0.81	320.2102
Metconazole	C ₁₇ H ₂₂ Cl N ₃ O	1.94	319.1454
Triticonazole	C ₁₇ H ₂₀ Cl N ₃ O	2.43	317.13
Azinphos-methyl	C ₁₀ H ₁₂ N ₃ O ₃ P S ₂	0.88	317.0058
Flusilazole	C ₁₆ H ₁₅ F ₂ N ₃ Si	1.47	315.0998
Triazophos	C ₁₂ H ₁₆ N ₃ O ₃ P S	1.06	313.0651
Fenamidone	C ₁₇ H ₁₇ N ₃ O S	1.24	311.1084
Tebuconazole	C ₁₆ H ₂₂ Cl N ₃ O	1.86	307.1455
Fenazaquin	C ₂₀ H ₂₂ N ₂ O	0.97	306.1735
Buprofezin	C ₁₆ H ₂₃ N ₃ O S	0.61	305.1562
Norflurazon	C ₁₂ H ₉ Cl F ₃ N ₃ O	3.38	303.039
Cumyluron	C ₁₇ H ₁₉ Cl N ₂ O	1.96	302.1188
Furalaxyl	C ₁₇ H ₁₉ N O ₄	1.38	301.1318
Flutriafol	C ₁₆ H ₁₃ F ₂ N ₃ O	1.7	301.1029
Mefenacet	C ₁₆ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	1.2	298.0779
Spiroxamine	C ₁₈ H ₃₅ N O ₂	1.86	297.267
Imazalil	C ₁₄ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O	2.12	296.0487
Thiamethoxam	C ₈ H ₁₀ Cl N ₅ O ₃ S	6.58	291.0197
Chloroxuron	C ₁₅ H ₁₅ Cl N ₂ O ₂	3.15	290.0826
Isoprothiolane	C ₁₂ H ₁₈ O ₄ S ₂	0.95	290.065
Isocarbophos	C ₁₁ H ₁₆ N O ₄ P S	0.7	289.0539
Karbutilate	C ₁₄ H ₂₁ N ₃ O ₃	3.58	279.1588
Oxadixyl	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₄	1.93	278.1273
Nitenpyram	C ₁₁ H ₁₅ Cl N ₄ O ₂	6.05	270.089
Mepronil	C ₁₇ H ₁₉ N O ₂	0.98	269.1421
Daimuron	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O	1.88	268.158
Diethofencarb	C ₁₄ H ₂₁ N O ₄	0.66	267.1475
Ethidimuron	C ₇ H ₁₂ N ₄ O ₃ S ₂	4.43	264.0358
Trichlorfon	C ₄ H ₈ Cl ₃ O ₄ P	1.37	255.923
Imidacloprid	C ₉ H ₁₀ Cl N ₅ O ₂	6.72	255.0528

(续)

农药化合物名称 Name	分子式 Formula	保留时间 RT	精确质量 Mass
Thiacloprid	C ₁₀ H ₉ Cl N ₄ S	8.03	252.0243
Clothianidin	C ₆ H ₈ Cl N ₅ O ₂ S	6.35	249.0091
Fludioxonil	C ₁₂ H ₆ F ₂ N ₂ O ₂	2.43	248.0402
Forchlorfenuron	C ₁₂ H ₁₀ Cl N ₃ O	4.84	247.0519
Ethoprop	C ₈ H ₁₉ O ₂ P S ₂	1.66	242.0562
Amicarbazone	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ O ₂	1.4	241.1546
Ethiofencarb sulfoxide	C ₁₁ H ₁₅ N O ₃ S	3	241.0779
3-Hydroxycarbofuran	C ₁₂ H ₁₅ N O ₄	1.66	237.1008
Carbetamide	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O ₃	2.17	236.1167
Carboxin	C ₁₂ H ₁₃ N O ₂ S	1.02	235.0674
Siduron	C ₁₄ H ₂₀ N ₂ O	1.93	232.1583
Diuron	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O	2.88	232.0176
Fonicamid	C ₉ H ₆ F ₃ N ₃ O	2.63	229.0469
Dimethoate	C ₅ H ₁₂ N O ₃ P S ₂	1.61	229.0002
Tebuthiuron	C ₉ H ₁₆ N ₄ O S	2.04	228.1057
Metoxuron	C ₁₀ H ₁₃ Cl N ₂ O ₂	3.17	228.0673
Dodine	C ₁₃ H ₂₉ N ₃	7.57	227.237
Dioxacarb	C ₁₁ H ₁₃ N O ₄	1.39	223.085
Monocrotophos	C ₇ H ₁₄ N O ₅ P	2.27	223.0617
Acetamiprid	C ₁₀ H ₁₁ Cl N ₄	5.75	222.068
Aldicarb-sulfone	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	2.1	222.068
Formetanate	C ₁₁ H ₁₅ N ₃ O ₂	5.7	221.117
Carbofuran	C ₁₂ H ₁₅ N O ₃	0.92	221.1058
Thidiazuron	C ₉ H ₈ N ₄ O S	5.16	220.0424
Oxamyl	C ₇ H ₁₃ N ₃ O ₃ S	3	219.0684
Pymetrozine	C ₁₀ H ₁₁ N ₅ O	5.96	217.0971
Simetryn	C ₈ H ₁₅ N ₅ S	1.08	213.1055
Omethoate	C ₅ H ₁₂ N O ₄ P S	2.07	213.0232
Ethirimol	C ₁₁ H ₁₉ N ₃ O	2.28	209.1536
Isoproturon	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O	2.03	206.1426
Aldicarb-sulfoxide	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₃ S	3.61	206.073
Dinotefuran	C ₇ H ₁₄ N ₄ O ₃	5.32	202.1073
Carbaryl	C ₁₂ H ₁₁ N O ₂	1.93	201.0797
Thiabendazole	C ₁₀ H ₇ N ₃ S	2.74	201.0368
Tricyclazole	C ₉ H ₇ N ₃ S	2.84	189.0368
2,6-Dichlorobenzamide	C ₇ H ₅ Cl ₂ N O	1.96	188.9753
Isocarbamide	C ₈ H ₁₅ N ₃ O ₂	2.25	185.1169
Fuberidazole	C ₁₁ H ₈ N ₂ O	3.06	184.0638
Acephate	C ₄ H ₁₀ N O ₃ P S	1.84	183.0125
Methomyl	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₂ S	1.72	162.0469
Methamidophos	C ₂ H ₈ N O ₂ P S	2.11	141.0014
Maleic hydrazide	C ₄ H ₄ N ₂ O ₂	3.29	112.0272

结果与讨论

SFC-QTOF 方法可在 10 min 内完成 128 种农药快速高效分离；对于精确质量全扫描模式采集海量数据信息，如何针对海量数据信息能够快速自动化的选择提取研究关心的所有化合物信息及谱图是数据分析软件需要解决的难题。Agilent MassHunter 定性数据

处理软件 QualitativeAnalysis B.06 中的分子式查找功能 (Find Compound by Formula) 和数据库 (PCDL) 功能的完美结合为解决这一难题提供的方案，如图 1 和图 2，图 3 为采用此数据处理方式提取的 128 种多农药的提取离子 (EIC) 图谱。

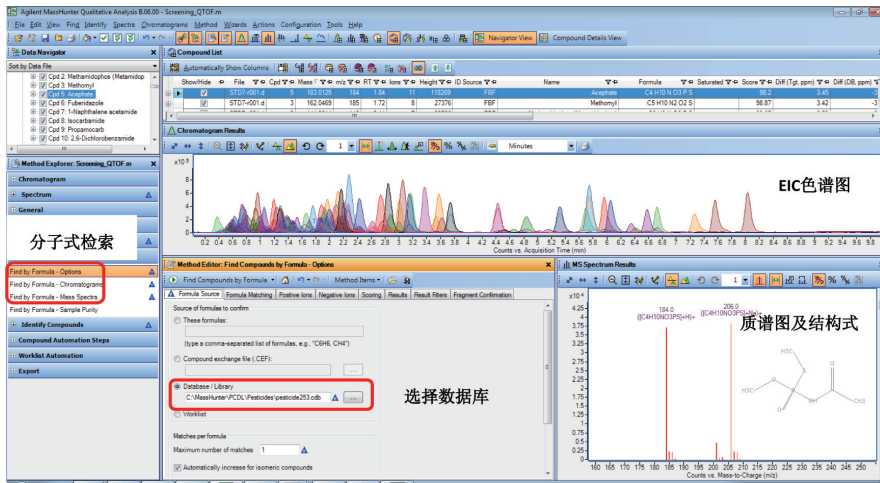


图 1. MassHunter Qualitative Analysis 软件中的分子式检索功能界面浏览图

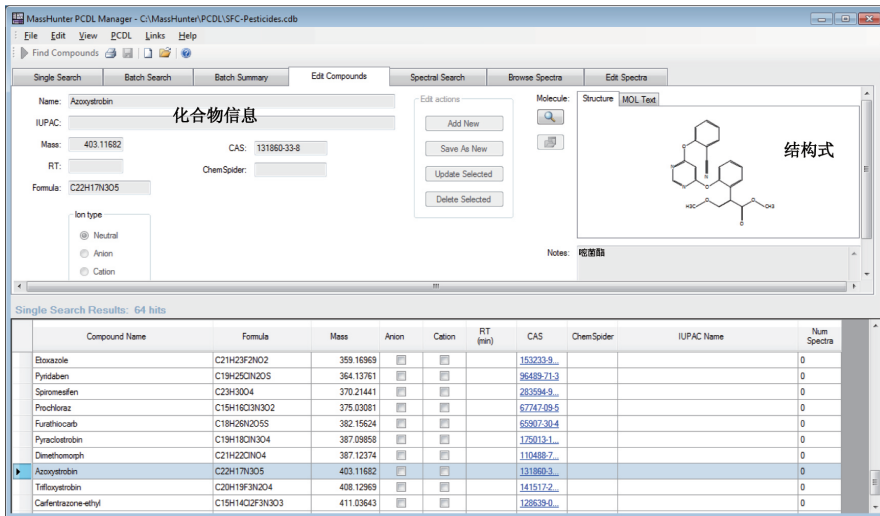


图 2. 数据库 PCDL 界面浏览图

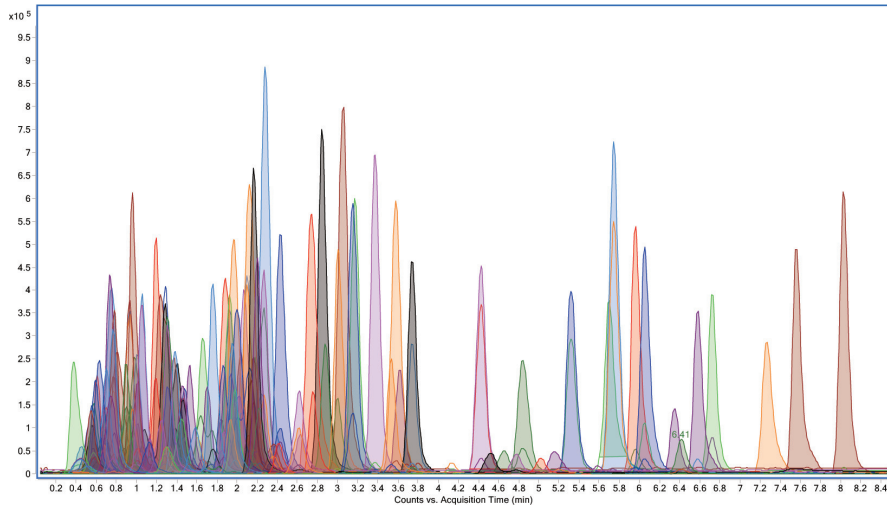


图 3. 128 种农药残留的 SFC-6550 QTOF EIC 叠加图谱

采用高分辨质谱不仅可以采集化合物精确质荷比，提高其离子选择的抗干扰能力，同时 QTOF 的全扫描模式 (FullScan) 其累加式信号模式有助于提高化合物响应灵敏度，这样可以实现采用 QTOF 技术在定性筛查基础上实现高灵敏度的定量测试要求，尤其是 iFunnel 6550 QTOF 其完美的结合了离子鞘流气专利技术 (Agilent Jet Stream)，六孔毛细管 (Hexabore Capillary) 及双级离子漏斗技术 (Dual Ion Funnel)，大大提高了离子化效率及离子

聚焦传输通量，从而使分析灵敏度得到了显著提升，提高了 QTOF 定量的限制，甚至可以达到串联四极杆质谱的高灵敏度，以啉菌酯农药为例，图 4，图 5 和图 6 分别显示了测定质量精度，定量能力和灵敏度。其中质量偏差精度可以达到小于 1 ppm，定量标准曲线相关系数 $r \geq 0.999$ ，灵敏度在 1 ppb 浓度下，信噪比 S/N 为 $37 \geq 10$ 倍定量要求。

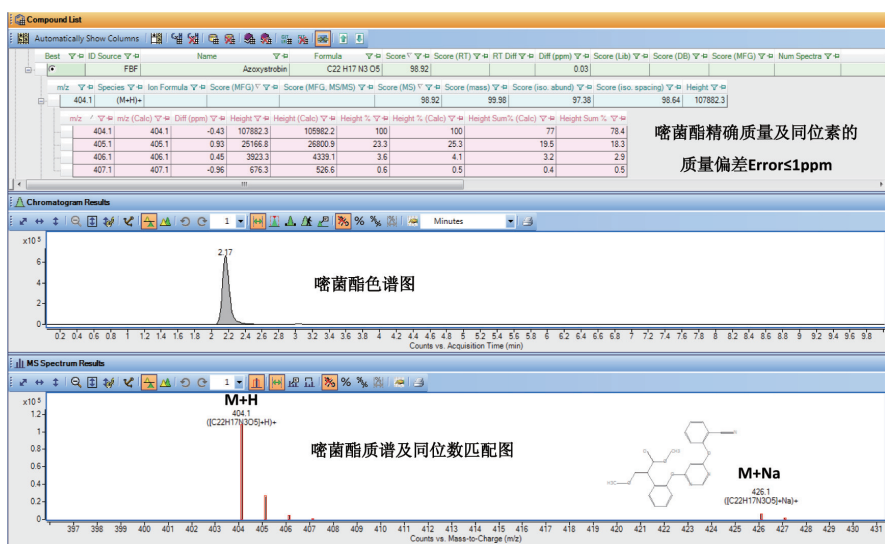


图 4. 啉菌酯定性分析结果

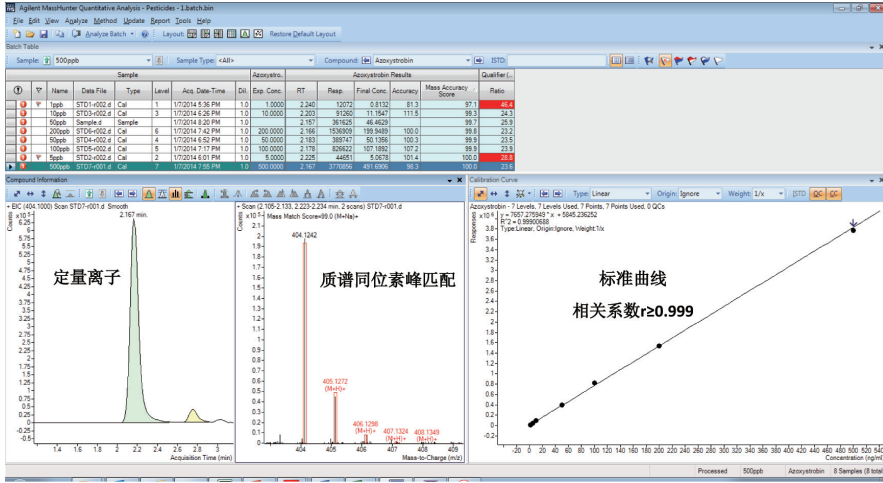


图 5. 啉菌酯定量分析结果 (标准系列浓度为 1.5, 10, 50, 100, 200, 500 ng/mL)

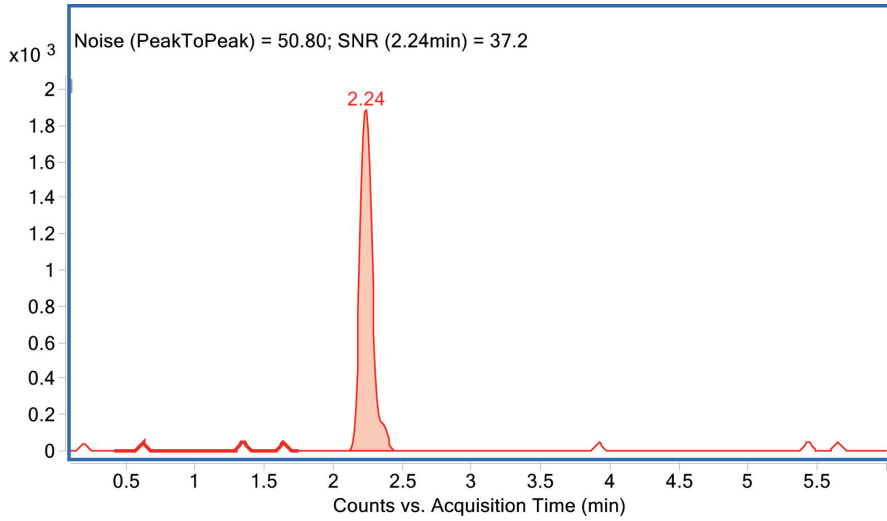


图 6. 啉菌酯灵敏度谱图 (1 ppb 浓度, 信噪比=37)

SFC 采用不同选择性的色谱柱和流动相，对极性和非极性化合物的选择性与反相 C18 色谱柱有显著的差别。以极性农药啉虫脒和非极性农药阿维菌素为例，啉虫脒在 C18 色谱柱保留较弱，但在 SFC 的 Rx-SIL 色谱柱上保留性显著增强；阿维菌素则在 C18 色谱柱上保留较强，在 Rx-SIL 色谱柱上保留适中，如图 7 所示比较图，啉虫脒和阿维菌素与反相 C18 相比，呈完全正交的分选选择性。

结论

采用超临界色谱技术 (1260 Infinity Analytical SFC) 和超高分辨质谱技术 (iFunnel 6550 QTOF) 建立了 128 种多农药残留筛查检测技术，高精度质量测定及软件数据处理系统为多农药同时快速分析提供了解决方案，同时 iFunnel 技术保障优异的测试灵敏度；超临界色谱 SFC 及 Rx-SIL 色谱柱为多组分分离提供的有效的方案，其分离选择性与传统 LC 具有极大的互补性，并且分析平衡速度快 (10 min)，节省溶剂，低碳环保，SFC 作为质谱入口技术，与强有机相溶剂完全兼容，样品前处理之后可直接上样。且梯度方法平衡快速，提高了分析通量。SFC-MS 联用技术为多农残分析及食品安全检测技术提供了有益的方向及选择。

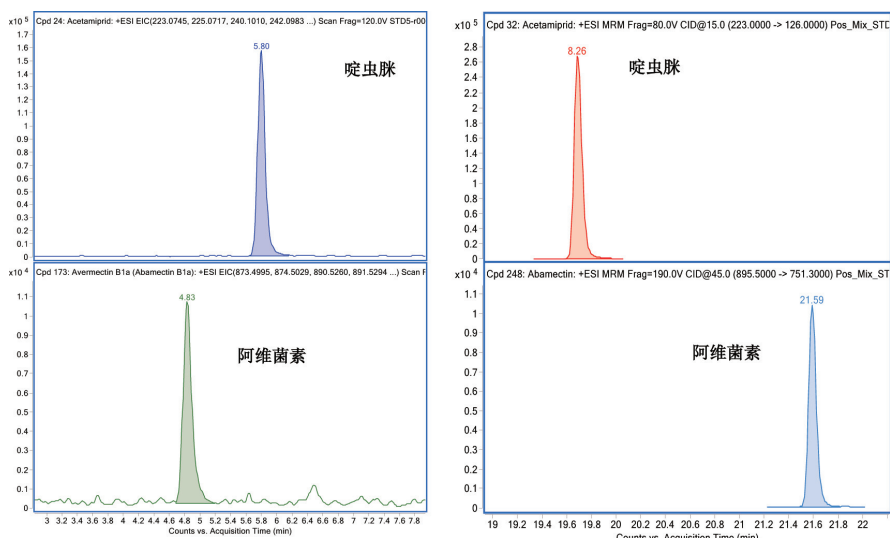


图 7. SFC 色谱选择性比较图

参考文献

1. Garca-Reyes, J.F.et al.“Comprehensive screening of target, non-target and unknow pesticides in food by LC-TOF-MS” Trends in Analytical Chemistry (2007) 26: 828-841.
2. Malato, O.et al.“Benefitsand pitfalls of the application of screening methods for the analysis of pesticides residues in fruits and vegetables”, J.Chromatogr A (2011)1218: 7615-7626
3. European Union. (2009), Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council of 23 February 2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and complying with regulation (EC) 1107/ 2009.Official Journal of the European Union.

更多信息

本文仅代表典型的结果。更多有关我们产品和服务，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，2014
2014年1月15日，中国印刷
5991-3881CHCN