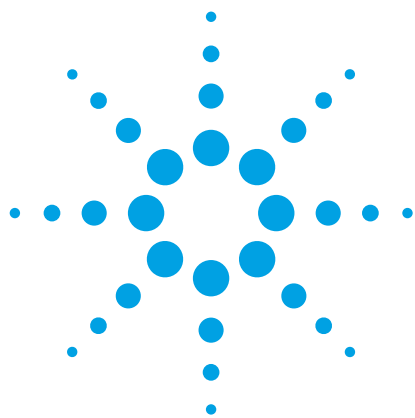




# 采用 QuEChERS 样品前处理技术和气相色谱串联质谱测定新鲜秋葵中的多农药残留

## 应用简报

食品安全

### 作者

Koushik Banerjee 和 Narayan Kamble  
国家葡萄研究中心  
印度农业研究委员会 (ICAR)  
国家葡萄研究中心国家参考实验室  
(NRL), Pune, Maharashtra

K Hari Chandra Prasad 和  
Prabakaran R  
必维国际检验集团  
Chennai, Tamilnadu

Chandrasekar Kandaswamy 和  
Thierry Faye  
安捷伦科技公司  
Block C, RMZ Centennial  
Mahadevapura, Bangalore

### 摘要

本应用简报描述了如何使用快速、简便、经济、高效、耐用和安全 (QuEChERS) 的 AOAC 样品前处理方法萃取和净化新鲜秋葵中的多农药残留。该 AOAC 方法包括：

- 在水/乙腈缓冲系统中进行初步萃取
- 加入盐进行萃取/分离步骤
- 使用分散固相萃取（分散式固相萃取）进行净化步骤



**Agilent Technologies**

待定量的农药是印度农产品和加工食品出口发展局 (APEDA) 根据其秋葵出口农用化学品控制流程选出 [1]。APEDA 是印度负责监测残留和出口促进活动的监管机构，对秋葵出口要监控的化合物及其 MRL 限值作出了规定。对适合气相色谱分析的化合物进行分离，以进行 GC-MS/MS 分析。回收率实验的加标浓度为 10、25 和 50 ng/g。

## 前言

秋葵 (*Abelmoschus esculentus*) 又名“美人指”，是一种锦葵科的开花植物。其价值在于可食用的绿色种荚。这种植物栽培于全球范围内的热带、亚热带和暖温带地区。秋葵是热带国家/地区的一种重要蔬菜，深受喀麦隆、加纳、印度、伊拉克、尼日利亚、巴基斯坦、瑞士、阿联酋和美国等地消费者的欢迎。有人认为秋葵起源于非洲，在世界上大多数亚热带和热带地区都有种植。印度、巴基斯坦、伊拉克等都是重要的秋葵种植国家。印度是秋葵产量排名第一的国家，占全球产量的 73%。在印度，秋葵主要用作辅食。西非许多地区经常使用粘稠食物为当地的汤类和炖菜增稠。

本应用简报介绍了通过设置样品前处理方法优化秋葵定量分析的农药回收率，同时最大限度减少衬管污染，从而简化常规分析，提高通量。

表 1. 100 g 秋葵中可食用部分的含量

| 项目    | 含量               |
|-------|------------------|
| 水     | 90.17 g          |
| 能量    | 31 kcal (129 kJ) |
| 蛋白质   | 2.00 g           |
| 总脂质   | 0.10 g           |
| 灰分    | 0.70 g           |
| 碳水化合物 | 7.03 g           |
| 总膳食纤维 | 3.2 g            |
| 总糖    | 1.2 g            |
| 蔗糖    | 0.40 g           |
| 葡萄糖   | 0.13 g           |

## 样品前处理

### 萃取

去除果柄（植物上附着的小部分）之后，在搅拌机中对新鲜秋葵进行均质化。称取 2 g 样品置于 50 mL 离心管中。加入一粒陶瓷均质子（部件号 5982-9313）以提高振荡效率。使用改良的 QuEChERS 技术进行样品前处理 [2]，加入 15 mL 蒸馏水，让样品静置 30 min 以便水合。加入 10 mL 含 1% 乙酸的乙腈，将试管剧烈振荡 1 分钟。加入硫酸镁 (6 g) 和乙酸钠 (1.5 g)，剧烈振荡 1 分钟。将管在 6000 rpm 下离心 5 分钟。

### 分散

将 1 mL 样品移至含有 50 mg N-丙基乙二胺 (PSA)、50 mg C18、7.5 mg 石墨化炭黑 (GCB) 和 150 mg 硫酸镁（部件号 5982-0028CH）的 2 mL 分散管中。将管剧烈振荡 1 分钟，然后以 9000 rpm 的速率离心 10 分钟。

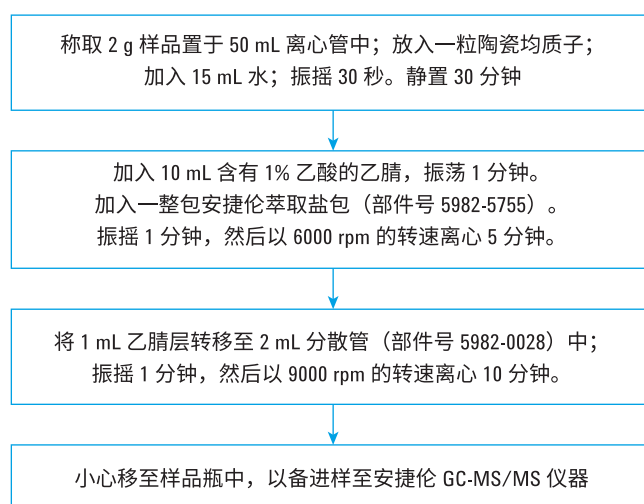


图 1. 样品前处理流程图

## 样品分析

在气相色谱方法中，将甲基毒死蜱的保留时间 (RT) 锁定至 9.14 分钟，预设后运行柱中反吹。

秋葵中的粘液和胶状物实际上是多糖。其可溶于水 [3]，因此加入 15 mL 水将其除去。秋葵含有的叶绿素、类胡萝卜素和叶黄素等色素不会挥发，进样时会粘附在高温衬管上。分散净化中的石墨化炭黑可吸附这些色素（萃取流程第 3 步）。

柱温箱升温程序、反吹、进样口温度和选择性反应监测 (SRM) 离子对等仪器参数来自安捷伦农药和环境污染数据库 [4]。

为了选择方法，对所有可用的离子对进行分析，并根据峰形、丰度和离子比选择两个无基质离子对。准确度实验的离子对方法中也使用无基质离子对。图示为 50 ppb 甲基毒死蜱基质匹配标样及其所有离子对。分别选择 Q4 和 Q5 作为定量离子和定性离子。

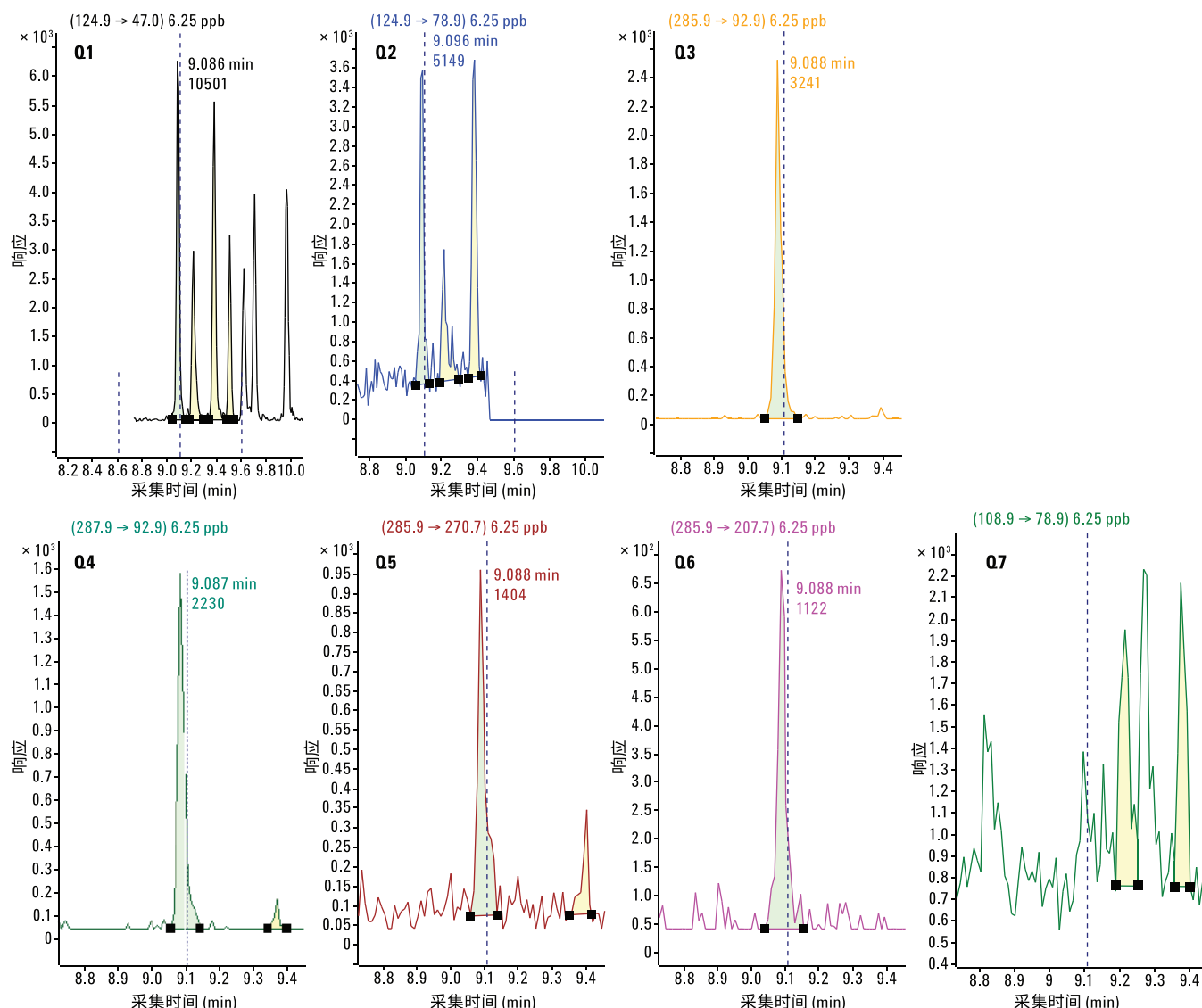


图 2. 数据库中甲基毒死蜱的所有可用 SRM

## 气相色谱仪器参数

|          |                                                                            |
|----------|----------------------------------------------------------------------------|
| 色谱柱 1    | Agilent HP-5MS, 15 m × 0.25 mm, 0.25 μm<br>(部件号 19091s-431)                |
| 色谱柱 2    | Agilent HP-5MS, 15 m × 0.25 mm, 0.25 μm<br>(部件号 19091s-431)                |
| 微板流路控制装置 | 采用电子气路控制 (EPC) 的<br>压力控制三通 (PCT)                                           |
| 自动进样器    | Agilent 7693A                                                              |
| 进样       | 2 μL 冷不分流, 多模式进样口 (MMI)                                                    |
| 衬管       | 4 mm 带玻璃毛的超高惰性单细径锥衬管<br>(部件号 5180-2293)                                    |
| 进样口温度    | 70 °C 保持 0.1 min, 以 450 °C/min 升至 325 °C                                   |
| 升温程序     |                                                                            |
| 进样口吹扫流速  | 1 min 时 50 mL/min                                                          |
| RTL 化合物  | 甲基毒死蜱锁定至 9.14 RT                                                           |
| 载气       | 氦气                                                                         |
| 柱温箱程序    | 60 °C 保持 1 min<br>以 40 °C/min 升至 170 °C<br>以 10 °C/min 升至 310 °C, 保持 3 min |
| 后运行时间    | 3.3 min                                                                    |
| 后运行温度    | 310 °C                                                                     |
| MS 传输线温度 | 310 °C                                                                     |

Agilent 7000 三重四极杆 GC/MS 系统以 MS/MS 电子电离 (EI) 模式运行, 在 SRM 模式下定量。

## MS 参数

|         |                                  |
|---------|----------------------------------|
| 离子化模式   | 电子电离                             |
| 电子轰击能量  | -70 eV                           |
| 调谐      | EI 自动调谐                          |
| EM 增益因子 | 50                               |
| 驻留时间    | 10 ms                            |
| 离子对     | 参考表 1                            |
| 碰撞池气体流速 | 氮气 1.5 mL/min, 氦气 2.25 mL/min    |
| MS 温度   | 离子源 300 °C, Q1 150 °C, Q2 150 °C |

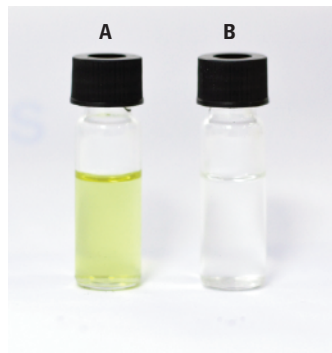


图 3. 净化前 (A) 和分散净化后 (B) 秋葵样品的乙腈萃取物

## 仪器校准

农药的秋葵基质匹配校准标样采用浓度分别为 0.09、0.19、0.39、0.78、1.56、3.13、6.25、12.5、25、50、100 和 200 ng/mL 的秋葵对照溶液配制。每个基质匹配标样还含有浓度为 25 ng/mL 的灭蚊灵内标 (IS)。

## 方法性能

本应用简报所述的样品前处理方法在一项验证研究进行了评估, 该研究对 10、25 和 50 ng/g 三种不同浓度进行了六次重复分析。

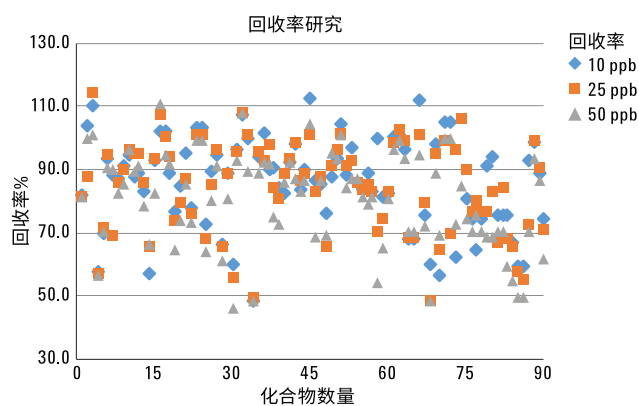


图 4. 10、25、50 ng/g 浓度下的回收率研究

表 2. 两个无基质 SRM 离子对以及碰撞能量

| TS    | 化合物           | Q1    |       | CE | Q2    |       | CE |
|-------|---------------|-------|-------|----|-------|-------|----|
| 4.5   | 4-溴-2-氯苯酚     | 207.8 | 172   | 20 | 207.8 | 142   | 20 |
|       | 敌敌畏           | 184.9 | 63    | 25 | 109   | 47    | 10 |
| 6.6   | 莠去津           | 214.9 | 58.1  | 10 | 200   | 122.1 | 5  |
|       | BHC- $\alpha$ | 218.9 | 183.1 | 5  | 181   | 145   | 15 |
|       | 六氯苯           | 283.8 | 213.9 | 30 | 281.8 | 211.9 | 30 |
|       | 甲拌磷           | 260   | 75    | 5  | 230.9 | 128.9 | 25 |
|       | 残杀威           | 110   | 64    | 15 | 110   | 63    | 15 |
|       | 氟乐灵           | 305.9 | 264   | 5  | 289.9 | 201.9 | 15 |
|       | 艾氏剂           | 262.9 | 227.7 | 30 | 262.9 | 192.3 | 30 |
|       | 莠去津           | 214.9 | 58.1  | 10 | 200   | 122.1 | 5  |
|       | BHC- $\beta$  | 181   | 145   | 15 | 181   | 109   | 30 |
|       | BHC- $\delta$ | 219   | 183.1 | 5  | 216.9 | 181.1 | 5  |
|       | BHC- $\gamma$ | 216.9 | 181   | 5  | 181   | 145   | 15 |
|       | 百菌清           | 265.8 | 133.1 | 40 | 263.8 | 168   | 25 |
|       | 甲基毒死蜱         | 287.9 | 92.9  | 20 | 285.9 | 92.9  | 20 |
|       | 二嗪农           | 137.1 | 84    | 10 | 137.1 | 54    | 20 |
|       | 三氯杀螨醇         | 138.9 | 111.1 | 25 | 138.9 | 75    | 30 |
|       | 异稻瘟净          | 203.9 | 121.1 | 35 | 203.9 | 91    | 5  |
|       | 敌稗            | 163   | 101   | 30 | 161   | 99    | 30 |
|       | 胺丙畏           | 138   | 110   | 10 | 138   | 64    | 15 |
| 9     | 甲草胺           | 237   | 188.2 | 5  | 237   | 160.1 | 5  |
|       | 艾氏剂           | 262.9 | 227.7 | 30 | 262.9 | 192.3 | 30 |
|       | 毒死蜱           | 198.9 | 171   | 15 | 196.9 | 169   | 15 |
|       | 甲基毒死蜱         | 287.9 | 92.9  | 20 | 285.9 | 92.9  | 20 |
|       | 三氯杀螨醇         | 138.9 | 111.1 | 25 | 138.9 | 75    | 30 |
|       | 杀螟硫磷          | 125.1 | 79    | 5  | 125.1 | 47    | 15 |
|       | 倍硫磷           | 278   | 125   | 15 | 278   | 109   | 15 |
|       | 氟虫腈           | 254.9 | 228   | 15 | 254.9 | 157   | 35 |
|       | 七氯            | 273.7 | 238.9 | 15 | 271.7 | 236.9 | 15 |
|       | 马拉硫磷          | 157.8 | 125   | 5  | 126.9 | 99    | 5  |
|       | 甲霜灵           | 234   | 174.1 | 10 | 220   | 192.1 | 5  |
|       | 甲霜灵 M         | 234   | 174.1 | 10 | 220   | 192.1 | 5  |
|       | 异丙甲草胺         | 240   | 162.2 | 10 | 238   | 162.2 | 10 |
|       | 对硫磷           | 290.9 | 109   | 10 | 290.9 | 80.9  | 25 |
|       | 甲基对硫磷         | 232.9 | 109.0 | 10 | 125   | 47    | 10 |
|       | 敌稗            | 163   | 101   | 30 | 161   | 99    | 30 |
|       | 氟醚唑           | 170.9 | 136   | 10 | 170.9 | 99    | 25 |
|       | 四氯苯菊酯         | 335   | 163   | 10 | 163.1 | 143.1 | 20 |
| 10.25 | 毒虫畏 I         | 268.9 | 161   | 15 | 266.9 | 159.1 | 15 |
|       | 毒虫畏 II        | 268.9 | 161   | 15 | 266.9 | 159.1 | 15 |
|       | 顺式氯丹          | 271.9 | 236.9 | 15 | 236.9 | 118.9 | 30 |
|       | 甲基毒死蜱         | 287.9 | 92.9  | 20 | 285.9 | 92.9  | 20 |
|       | 三氯杀螨醇         | 138.9 | 111.1 | 25 | 138.9 | 75    | 30 |

表 2. 两个无基质 SRM 离子对以及碰撞能量 (续)

| TS    | 化合物              | Q1    |       | CE | Q2    |       | CE |
|-------|------------------|-------|-------|----|-------|-------|----|
| 11    | 氟虫腈              | 368.8 | 214.8 | 25 | 366.8 | 212.8 | 25 |
|       | 内环氧七氯            | 352.7 | 288.7 | 10 | 352.7 | 252.7 | 20 |
|       | 环氧七氯             | 354.8 | 264.9 | 15 | 352.8 | 262.9 | 15 |
|       | 二甲戊乐灵            | 251.8 | 162.2 | 10 | 251.8 | 161.1 | 15 |
|       | 喹硫磷              | 298   | 155.9 | 10 | 192.9 | 101.9 | 30 |
|       | 氟醚唑              | 170.9 | 136   | 10 | 170.9 | 99    | 25 |
|       | 丁草胺              | 236.9 | 160.2 | 5  | 176.1 | 147.1 | 10 |
|       | 顺式氯丹             | 271.9 | 236.9 | 15 | 236.9 | 118.9 | 30 |
|       | 反式氯丹             | 271.7 | 236.9 | 15 | 236.8 | 118.9 | 25 |
|       | 溴虫腈              | 362.8 | 246.8 | 25 | 246.9 | 227   | 15 |
|       | <i>o,p'</i> -DDD | 237   | 165.2 | 20 | 235   | 165.2 | 20 |
|       | <i>p,p'</i> -DDD | 236.9 | 165.2 | 20 | 234.9 | 165.1 | 20 |
|       | <i>o,p'</i> -DDE | 248   | 176.2 | 30 | 246   | 176.2 | 30 |
|       | <i>p,p'</i> -DDE | 317.8 | 248   | 15 | 246.1 | 176.2 | 30 |
|       | <i>o,p'</i> -DDT | 237   | 165.2 | 20 | 235   | 165.2 | 20 |
|       | 三氯杀螨醇            | 138.9 | 111.1 | 25 | 138.9 | 75    | 30 |
|       | 狄氏剂              | 262.9 | 193   | 35 | 262.9 | 191   | 35 |
|       | 硫丹 I             | 262.8 | 192.9 | 30 | 236.8 | 142.9 | 30 |
|       | 硫丹 II            | 194.9 | 158.9 | 10 | 194.9 | 124.9 | 25 |
|       | 异狄氏剂             | 262.8 | 227.9 | 20 | 262.8 | 193   | 35 |
|       | 乙硫磷              | 230.9 | 129   | 20 | 124.9 | 96.9  | 0  |
|       | 己唑醇              | 256   | 159   | 15 | 231   | 175   | 10 |
|       | 异丙二酮             | 313.5 | 271.1 | 5  | 313.5 | 245.1 | 5  |
|       | 醚菌酯              | 116   | 89    | 15 | 116   | 63    | 30 |
|       | 乙氧氟草醚            | 252   | 196   | 20 | 252   | 146   | 30 |
| 12.9  | 丙溴磷              | 338.8 | 268.7 | 15 | 338.8 | 187.8 | 30 |
|       | <i>p,p'</i> -DDT | 237   | 165.2 | 20 | 235   | 165.2 | 20 |
|       | 硫丹硫酸酯            | 273.8 | 238.9 | 15 | 271.9 | 237   | 15 |
|       | 克螨特 I            | 135   | 107.1 | 10 | 135   | 77.1  | 30 |
|       | 克螨特 II           | 149.9 | 107.1 | 20 | 135   | 107.1 | 10 |
|       | 丙环唑 I            | 172.9 | 145   | 15 | 172.9 | 74    | 45 |
|       | 丙环唑 II           | 172.9 | 109   | 30 | 172.9 | 74    | 45 |
|       | 戊唑醇              | 125   | 99    | 20 | 125   | 89    | 15 |
|       | 磷酸三苯酯            | 232.9 | 215.1 | 10 | 232.9 | 168.1 | 25 |
|       | 联苯三唑醇 I          | 170.1 | 141.1 | 20 | 170.1 | 115   | 20 |
| 13.95 | 联苯三唑醇 II         | 170.1 | 141.1 | 20 | 170.1 | 115   | 20 |
|       | 氟氯氟菊酯 I          | 226.9 | 76.9  | 25 | 162.9 | 127   | 5  |
|       | 氟氯氟菊酯 II         | 162.9 | 127   | 5  | 162.9 | 90.9  | 15 |
|       | 氟氯氟菊酯 III        | 162.9 | 127   | 5  | 162.9 | 90.9  | 15 |
|       | 氟氯氟菊酯 IV         | 162.9 | 127   | 5  | 162.9 | 90.9  | 15 |
|       | <i>A</i> -氯氟氟菊酯  | 208   | 181   | 5  | 208   | 152   | 35 |
|       | 氯氟菊酯 I           | 163   | 127   | 5  | 163   | 91    | 10 |
|       | 氯氟菊酯 II          | 163.1 | 127.1 | 5  | 163.1 | 91    | 15 |

表 2. 两个无基质 SRM 离子对以及碰撞能量 (续)

| TS    | 化合物        | Q1    |       | CE | Q2    |       | CE |
|-------|------------|-------|-------|----|-------|-------|----|
| 16.8  | 氯氰菊酯 III   | 164.9 | 127   | 5  | 163   | 127   | 5  |
|       | 氯氰菊酯 IV    | 163.1 | 127.1 | 5  | 163.1 | 91    | 15 |
|       | 甲氰菊酯       | 264.9 | 210   | 10 | 181.1 | 152.1 | 25 |
|       | 灭蚁灵        | 273.8 | 238.8 | 15 | 273.8 | 236.8 | 15 |
|       | 氯菊酯 I      | 163   | 127   | 5  | 163   | 91    | 15 |
|       | 氯菊酯 II     | 162.9 | 127.1 | 5  | 162.9 | 91.1  | 15 |
|       | 伏杀磷        | 182   | 111   | 15 | 182   | 75.1  | 30 |
|       | 吡丙醚        | 136.1 | 96    | 15 | 136.1 | 78.1  | 20 |
|       | 氯氰菊酯 I     | 163   | 127   | 5  | 163   | 91    | 10 |
|       | 氯氰菊酯 II    | 163.1 | 127.1 | 5  | 163.1 | 91    | 15 |
|       | 氯氰菊酯 III   | 164.9 | 127   | 5  | 163   | 127   | 5  |
|       | 氯氰菊酯 IV    | 163.1 | 127.1 | 5  | 163.1 | 91    | 15 |
|       | 苯醚甲环唑 I    | 322.8 | 264.8 | 15 | 322.8 | 201.9 | 40 |
|       | 苯醚甲环唑 II   | 322.8 | 264.8 | 15 | 322.8 | 201.9 | 40 |
|       | 顺式氰戊菊酯     | 225   | 119.1 | 20 | 167   | 125.1 | 10 |
|       | 醚菊酯        | 163   | 135.1 | 10 | 163   | 107.1 | 20 |
|       | 氰戊菊酯 I     | 224.9 | 147.1 | 10 | 167   | 88.9  | 40 |
|       | 氰戊菊酯 II    | 224.9 | 119   | 15 | 167   | 88.9  | 40 |
|       | r-氟胺氰菊酯 I  | 250   | 200   | 40 | 250   | 55    | 40 |
|       | r-氟胺氰菊酯 II | 250   | 200   | 40 | 250   | 55    | 40 |
| 17.85 | 啉菌酯        | 344.1 | 182.9 | 25 | 344.1 | 171.9 | 40 |
|       | 溴氰菊酯       | 252.9 | 174   | 5  | 250.7 | 172   | 5  |
|       | 苯醚甲环唑 I    | 322.8 | 264.8 | 15 | 322.8 | 201.9 | 40 |
|       | 苯醚甲环唑 II   | 322.8 | 264.8 | 15 | 322.8 | 201.9 | 40 |
|       | 苯醚甲环唑 I    | 322.8 | 264.8 | 15 | 322.8 | 201.9 | 40 |
|       | 苯醚甲环唑 II   | 322.8 | 264.8 | 15 | 322.8 | 201.9 | 40 |

TS = 时间段; Q1 = 定量离子; Q2 = 定性离子; CE = 碰撞能量

方法开发和验证完成之后, 使用从泰米尔纳德邦和卡纳塔克邦收集的市场样品检验了该方法的性能、适用性和稳定性。

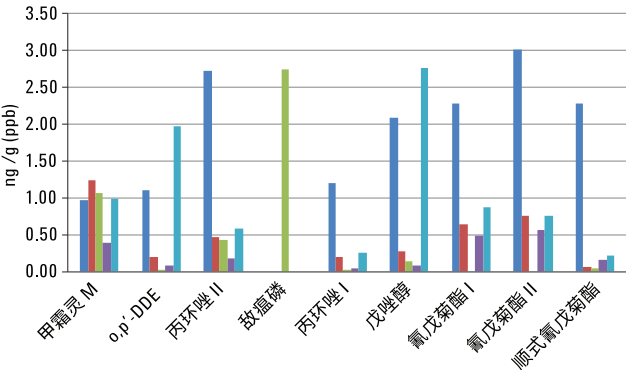


图 5. 卡纳塔克邦样品中的农药以及定量农药数量

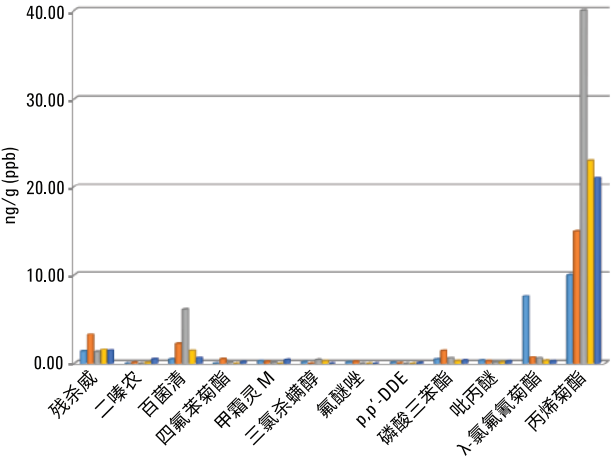


图 6. 泰米尔纳德邦市场样品中检出的农药

## 结论

由于秋葵基质较为复杂，很难在新鲜秋葵样品前处理和分析中对农药残留进行定量分析。

本研究设法去除色素和胶状物，以延长衬管和色谱柱的使用寿命，提高回收率。采用 QuEChERS 样品前处理技术进行净化，包括用乙腈萃取，然后进行分散步骤。净化步骤可减少色素和胶状物，从而提升目标化合物的灵敏度，同时也延长了色谱柱和衬管的使用寿命。

使用微板流路控制技术配置后运行柱中反吹，可去除进样间残留的高沸点组分，减轻对质谱仪离子源的污染。

大多数目标化合物回收率在可接受限度内，符合 DG SANCO 12495/2013 [5] 文件的规定。具体而言，回收率为 70%–120%，三个加标浓度（10、25 和 50 ng/g）的重现性均 < 20%。有几种化合物回收率较低 (< 70%)，但在三个准确性浓度下的 RSD 保持一致。由于这些农药的结果一致 (< 20% RSD)，在分析中可以根据已知回收率对结果进行校正。就灵敏度而言，大多数化合物可在 1–3 ng/g 浓度下定量。

## 参考文献

1. [http://apeda.gov.in/apedawebsite/menupages/Export\\_Regulations.htm](http://apeda.gov.in/apedawebsite/menupages/Export_Regulations.htm)
2. Agilent QuEChERS 样品前处理手册，安捷伦科技公司，出版号 5991-1057CHCN，90-99
3. M. L. Woolfe, M. F. Chaplid, Gifty Otchere, "Studies on the Mucilages Extracted from Okra Fruits (*Hibiscus esculentus* L.) and Baobab Leaves (*Adansonia digitata* L.)" Department of Nutrition and Food Science, University of Ghana, Legon, Ghana
4. 安捷伦农药和环境污染 SRM 数据库，部件号 G9250AA
5. Safety of the food chain chemicals, contaminants, pesticides; DG SANCO/12571/2013 19 November 2013 rev. 0

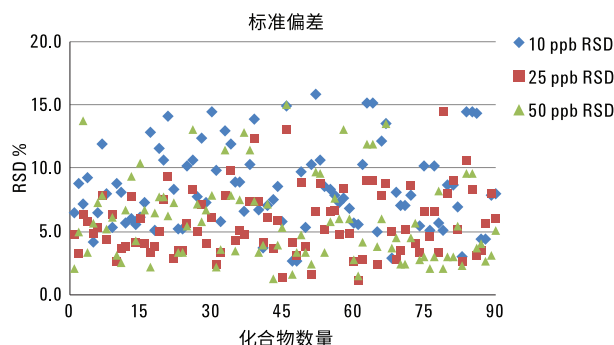


图 7. 三个浓度回收的相对标准偏差

## 更多信息

这些数据仅代表典型的结果。有关我们的产品与服务的详细信息，请访问我们的网站 [www.agilent.com](http://www.agilent.com)。

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)

免费专线：

**800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)**

联系我们：

**LSCA-China\_800@agilent.com**

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

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，2015  
2015 年 12 月 1 日，中国出版  
5991-6207CHCN



**Agilent Technologies**