

使用 Agilent Intuvo 9000 气相色谱系统提高 GC/MS/MS 农药多残留分析方法稳定性

作者

袁智泉、冯爽、吴霞
安捷伦科技（中国）有限公司

摘要

本文介绍了配有柱中反吹的 Agilent Intuvo 9000 气相色谱系统在提升 GC/MS/MS 分析方法耐用性和稳定性方面的作用。对于未经净化处理的高色素菠菜样品，p,p'-DDD 的拖尾因子在 300 针分析中保持稳定，并且能在更换保护芯片之后恢复至初始值。同时，进一步结合 QuEChERS 和反吹功能提高系统及方法稳定性，50 种农药残留的重复性在前 50 针分析中保持在 5.6% 以内，400 针分析的数据 RSD 也低于 20%。

前言

基质干扰影响大、目标物种类多和标准限量值低一直是农药多残留分析中的关键点和难点。色谱-质谱联用技术因具有高效的分离能力、准确的定性及定量能力，成为国际上普遍采用的分析方法。从样品前处理的角度来看，农药多残留分析往往需要采用通量大、适用范围广的通用型样品前处理方法。这些样品前处理方法的固有问题是样品提取物只能在一定程度上得到纯化。在用于处理食品、中药、香料、烟草等复杂基质时，提取物中包含的低挥发性杂质等可能引起进样口、分析柱乃至质谱离子源的污染，从而导致仪器性能下降，出现峰形较差或是活性化合物响应强度下降的情况，影响分析结果的稳定性和准确性。

2003 年，QuEChERS 样品前处理方法被引入食品中的农药分析，其具有快速、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前处理方法^[1]。尽管如此，当使用 GC/MS 进行分析时，QuEChERS 处理后的样品有时仍然比较复杂。为了满足分析需求，往往采用串联质谱进行复杂样品的定性定量分析。例如，在单四极杆质谱中，经常采用选择离子监测模式 (SIM) 来改善检测限及定量重现性。在 SIM 模式下，仅监测在保留时间范围内流经色谱柱的每种目标物的少数几个离子。当分析基质中的痕量物质时，如果杂质的特征离子与目标物质的定量离子相同，则 SIM 模式下将存在与全扫描模式相同的杂质干扰。而采用多反应监测模式 (MRM) 的串联质谱能够最大限度地减小干扰，因此非常适用于农药残留分析或筛查、确认和定量分析其它复杂基质中的痕量目标化合物^[2]。

另一方面，样品提取物中可能包含的高沸点化合物会导致分析柱使用寿命缩短，并需要操作人员频繁地对色谱柱进行切割维护操作。这样不仅降低了色谱柱分离效率，还会不可避免地引起目标物质保留时间偏移，从而需要对分析条件或是定量方法进行调整，无形之中降低了方法的通量、增大了运行方法的成本。因此，如果需要获得可靠、稳定的结果并最大限度地保护分析柱和离子源，使用合适的方法和技术至关重要。

2016年面世的创新性 Agilent Intuvo 9000 气相色谱系统通过引入芯片式保护柱 (Guard Chip)，革命性地改变了气相色谱仪器的维护模式，其无需切割色谱柱的设计既缩短了维护时间，又避免了保留时间的偏移；模块式的流路芯片 (Flow Chip) 可轻松配置使用高沸点基质反吹技术，从而最大限度地减少仪器维护并提升结果稳定性。

本文介绍了一种稳定可靠的农药残留分析方法。该方法采用 QuEChERS 方法对蔬菜样品进行样品前处理，并利用结合安捷伦保留时间锁定技术和高沸点基质反吹技术的 Agilent Intuvo 9000 气相色谱/7000D 三重四极杆气质联用系统在 MRM 模式下对农药多残留进行分析。

实验部分

试剂和样品

农药标准品购自 AccuStandard 公司（具体化合物信息请见表2）；正己烷、乙腈：农药残留级，购自百灵威

仪器和耗材

所用分析仪器为 Agilent Intuvo 9000 气相色谱系统与 Agilent 7000D 三重四极杆气质联用系统。

样品前处理采用 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 5982-5058CH）。

色谱柱采用 Agilent HP-5MS UI 毛细管柱，5 m × 0.25 mm × 0.25 μm（部件号 19091S-430UI-INT）和 Agilent HP-5MS UI 毛细管柱，15 m × 0.25 mm × 0.25 μm（部件号 19091S-431UI-INT）。

样品前处理

提取

称取 15 g (±0.1 g) 均质化冬瓜样品，置于 50 mL 离心管中。在离心管中放入两颗适用于 50 mL 离心管的陶瓷均质子（部件号

5982-9313）。用移液器向离心管中加入 15 mL 酸化乙腈（含 1% 乙酸）。盖上离心管，用手振摇 1 min。向离心管中直接加入 Bond Elut QuEChERS AOAC 萃取盐包 1 包，其中包含 6 g 无水硫酸镁和 1.5 g 醋酸钠。将离心管盖紧，用手剧烈振摇 1 min，确保溶剂与样品相互作用完全，同时块状结晶充分散开。离心管以 4000 rpm 的转速于 4 °C 进行低温离心 5 min。

分散 SPE 净化

移取离心所得的上清液 8 mL 加入 Bond Elut QuEChERS AOAC 分散型 SPE 净化管中（部件号 5982-5058CH）。盖紧离心管，涡旋混合 1 min，并以 4000 rpm 的转速于 4 °C 进行低温离心 5 min。取上清液，经 0.2 μm PTFE 滤膜（部件号 5190-5084）过滤后待测。

气相色谱条件

色谱柱： HP-5MS UI 毛细管柱，5 m × 0.25 mm × 0.25 μm
HP-5MS UI 毛细管柱，15 m × 0.25 mm × 0.25 μm

柱温箱： 初始温度 60 °C，保持 1.5 min；以 50 °C/min 升至 160 °C；再以 8 °C/min 升至 240 °C；然后以 50 °C/min 升至 280 °C，保持 2.5 min；最后以 100 °C/min 升至 290 °C，保持 1.1 min；总运行时间 18 min

载气： 氦气，恒流模式

保留时间锁定： 甲基毒死蜱锁定于 8.516 min

进样口： 280 °C，不分流进样

进样量： 1.0 μL

气相色谱反吹

反吹装置： 柱中反吹流路芯片（Flow Chip，部件号 G4588-60721）

反吹运行条件： 反吹开启时间 18 min，色谱柱 1 流速 10 mL/min，色谱柱 2 流速 4 mL/min，在 290 °C 下保持 3 min

质谱条件

离子源： 电子轰击源，70 eV

传输线温度： 280 °C

离子源温度： 280 °C

四极杆温度： 150 °C

溶剂延迟： 3.0 min

检测方式： MRM（具体信息请见表 2）

EM 电压： 1105 V

增益因子： 1

结果与讨论

保留时间锁定

保留时间 (RT) 作为重要的定性依据, 其准确性至关重要。使用保留时间锁定功能, 可快速、准确地将保留时间锁定至数据库里的保留时间。另外, 也可根据实际需要, 锁定到先前某个状态下的保留时间。表 1 列出部分保留时间锁定结果示例。按照安捷伦农药和环境污染数据库 (部件号 G9250AA) 建立方法之后进行保留时间锁定^[3], 实际测定的保留时间与数据库中的值相差不到 0.1 min。值得一提的是, 该数据库是基于 7890B 气相色谱系统记录的保留时间数据, 此结果说明化合物在 Intuvo 9000 气相色谱和 7890B 气相色谱上具有近乎等效的色谱行为^[4]。

表 1. 保留时间锁定结果示例

化合物英文名	化合物中文名	数据库 RT (min)	锁定后 RT (min)	RT 偏差 (min)
Phorate	甲拌磷	6.703	6.794	0.091
Dimethoate	乐果	7.074	7.088	0.014
Chlorpyrifos-methyl	甲基毒死蜱	8.516	8.518	0.002
Malathion	马拉硫磷	9.285	9.279	0.006
DDE-o,p'	DDE-o,p'	10.767	10.702	0.065
Profenofos	丙溴磷	11.368	11.305	0.063
Triazophos	三唑磷	12.697	12.696	0.001
Pyridaphenthion	吡啶硫磷	13.988	14.031	0.043
Fenpropathrin	甲氰菊酯	14.216	14.272	0.056
trans-Permethrin	反式氯菊酯	15.531	15.490	0.041
Deltamethrin	溴氰菊酯	17.589	17.520	0.069

表 2. 目标化合物及其定量及定性离子对

化合物英文名	化合物中文名	定量离子对	定性离子对 1	定性离子对 2
Aldrin	艾氏剂	262.9 -> 192.9 CE 35	254.9 -> 220.0 CE 20	262.9 -> 190.9 CE 35
BHC-alpha	α-六六六	216.9 -> 181.0 CE 5	218.9 -> 183.0 CE 5	180.9 -> 145.0 CE 15
BHC-beta	β--六六六	181.0 -> 145.0 CE 15	216.9 -> 181.1 CE 5	218.9 -> 183.1 CE 5
BHC-delta	δ--六六六	217.0 -> 181.1 CE 5	181.1 -> 145.1 CE 15	219.0 -> 183.1 CE 5
BHC-gamma	林丹	216.9 -> 181.0 CE 5	181.0 -> 145.0 CE 15	218.9 -> 183.1 CE 5
Bifenthrin	联苯菊酯	181.2 -> 166.2 CE 10	181.2 -> 165.2 CE 25	166.2 -> 165.2 CE 20
Chlorpyrifos	毒死蜱	196.9 -> 169.0 CE 15	198.9 -> 171 CE 15	313.8 -> 257.8 CE 15
Chlorpyrifos-methyl	甲基毒死蜱	124.9 -> 47.0 CE 15	78.9 -> 47.0 CE 10	285.9 -> 93.0 CE 25
Cyfluthrin	氟氯氰菊酯	162.9 -> 90.9 CE 15	162.9 -> 127.0 CE 5	198.9 -> 170.1 CE 25
Cyhalothrin	高效氯氟氰菊酯	208.1 -> 181.1 CE 10	181.1 -> 152.1 CE 30	181.1 -> 127.1 CE 30
Cypermethrin	氯氰菊酯	163.0 -> 91.0 CE 10	163.0 -> 127.0 CE 5	164.9 -> 91.0 CE 10
DDD-o,p'	DDD-o,p'	235.0 -> 165.1 CE 25	235.0 -> 200.1 CE 10	199.1 -> 164.1 CE 20
DDD-p,p'	DDD-p,p'	237.0 -> 165.1 CE 25	165.1 -> 115.0 CE 35	237.0 -> 200.1 CE 15

分析方法建立

安捷伦农药和环境污染数据库中包含 1161 种农药及环境污染物的 CAS 编号、MRM 离子对、碰撞能量和保留时间等一系列信息, 有助于在此基础上开发新的分析方法。在方法开发过程中, 直接由采集软件调用数据库信息 (见图 1), 无需制备标准样品即可快速建立筛查条件; 完成简单的保留时间锁定之后, 即可启动定性筛查或定量分析。为验证仪器方法的重复性和稳定性, 本应用选取有机氯、有机磷和菊酯三类常规农药 (共 50 种化合物) 建立分析方法, 详细化合物列表及 MRM 采集参数见表 2。

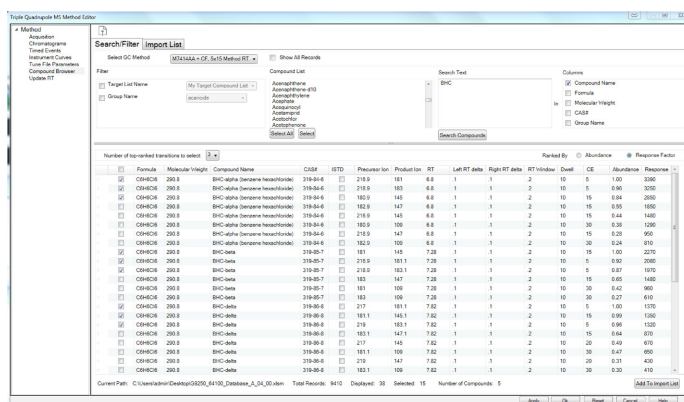


图 1. 采集软件直接调用数据库信息建立方法示例

化合物英文名	化合物中文名	定量离子对	定性离子对 1	定性离子对 2
DDE-o,p'	DDE-o,p'	246.0 -> 176.2 CE 30	248.0 -> 176.2 CE 30	317.8 -> 248.0 CE 15
DDE-p,p'	DDE-p,p'	246.1 -> 176.2 CE 30	315.8 -> 246.0 CE 15	317.8 -> 246.0 CE 15
DDT-o,p'	DDT-o,p'	235 -> 165.2 CE 20	237.0 -> 165.2 CE 20	235.0 -> 199.1 CE 15
DDT-p,p'	DDT-p,p'	235.0 -> 165.2 CE 20	237.0 -> 165.2 CE 20	235.0 -> 199.2 CE 15
Deltamethrin	溴氰菊酯	252.9 -> 93.0 CE 15	181.0 -> 152.1 CE 25	250.7 -> 172.0 CE 5
Dichlorvos	敌敌畏	109.0 -> 79.0 CE 5	184.9 -> 93.0 CE 10	144.9 -> 109.0 CE 10
Dieldrin	狄氏剂	277.0 -> 241.0 CE 5	262.9 -> 193.0 CE 35	262.9 -> 191.0 CE 35
Dimethoate	乐果	87.0 -> 46.0 CE 20	125.0 -> 47.0 CE 15	125.0 -> 79.0 CE 10
Disulfoton	乙拌磷	88.0 -> 60.0 CE 5	142.0 -> 109.0 CE 5	142.0 -> 80.9 CE 15
Endosulfan	硫丹	194.9 -> 159.0 CE 5	194.9 -> 160.0 CE 5	194.9 -> 125.0 CE 20
Endrin	异狄氏剂	262.8 -> 193.0 CE 35	244.8 -> 173.0 CE 30	316.7 -> 280.8 CE 5
Ethion	乙硫磷	152.9 -> 96.9 CE 10	124.9 -> 96.9 CE 10	230.9 -> 175.0 CE 10
Ethoprophos	灭线磷	157.9 -> 97.0 CE 15	157.9 -> 114.0 CE 5	138.9 -> 97.0 CE 5
Fenitrothion	杀螟硫磷	125.1 -> 47.0 CE 15	125.1 -> 79.0 CE 5	277.0 -> 260.1 CE 5
Fenpropathrin	甲氰菊酯	181.1 -> 152.1 CE 25	207.9 -> 181.0 CE 5	125.0 -> 55.1 CE 10
Fenvalerate	氰戊菊酯	167.0 -> 125.1 CE 5	208.9 -> 141.1 CE 15	181.0 -> 152.1 CE 20
Heptachlor	七氯	271.7 -> 236.9 CE 15	273.7 -> 238.9 CE 15	273.7 -> 236.9 CE 15
Heptachlor endo-epoxide	环氧七氯 A	135.0 -> 99.0 CE 15	183.0 -> 119.0 CE 30	216.9 -> 182.0 CE 20
Heptachlor exo-epoxide	环氧七氯 B	352.8 -> 262.9 CE 15	354.8 -> 264.9 CE 15	262.9 -> 193.0 CE 35
Isazofos	氯唑磷	161.0 -> 119.1 CE 5	161.0 -> 146.0 CE 5	256.9 -> 162.0 CE 5
Isocarbophos	水胺硫磷	120 -> 92.0 CE 10	135.9 -> 108.0 CE 15	121.0 -> 65.1 CE 15
Malathion	马拉硫磷	126.9 -> 99.0 CE 5	172.9 -> 99.0 CE 15	157.8 -> 125.0 CE 5
Methidathion	杀扑磷	144.9 -> 85.0 CE 5	144.9 -> 58.1 CE 15	85.0 -> 58.0 CE 5
Methoxychlor	甲氧滴滴涕	227.0 -> 169.1 CE 25	227.0 -> 141.1 CE 40	227.0 -> 212.1 CE 15
Parathion	对硫磷	109.0 -> 81.0 CE 15	139.0 -> 109.0 CE 5	291.0 -> 109.0 CE 15
Parathion-methyl	甲基对硫磷	262.9 -> 109.0 CE 10	125.0 -> 47.0 CE 10	125.0 -> 79.0 CE 5
Permethrin	氯菊酯	183.1 -> 168.1 CE 10	183.1 -> 153.1 CE 15	182.9 -> 155.1 CE 10
Phorate	甲拌磷	121 -> 65.0 CE 10	121 -> 47.0 CE 30	128.9 -> 65.0 CE 15
Phosalone	伏杀硫磷	182.0 -> 111.0 CE 15	121.1 -> 65.0 CE 10	182.0 -> 75.0 CE 35
Phosphamidon	磷胺	127.0 -> 109.0 CE 10	127.0 -> 95.0 CE 15	192.9 -> 127.0 CE 5
Pirimiphos-ethyl	噁啉磷	318.1 -> 166.1 CE 10	318.1 -> 182.0 CE 10	152.1 -> 84.0 CE 10
Pirimiphos-methyl	甲基噁啉磷	290.0 -> 125.0 CE 20	232.9 -> 151.0 CE 5	232.9 -> 125.0 CE 5
Profenofos	丙溴磷	207.9 -> 63.0 CE 30	338.8 -> 268.7 CE 15	296.8 -> 268.7 CE 5
Pyridaphenthion	哒嗪硫磷	340.0 -> 199.0 CE 5	204.0 -> 203.1 CE 5	188.0 -> 82.0 CE 10
Ronnel	皮蝇磷	285.0 -> 269.9 CE 15	286.9 -> 272.0 CE 15	125.0 -> 47.1 CE 15
Tolclofos-methyl	甲基立枯磷	267.0 -> 252.0 CE 15	125.0 -> 79.0 CE 5	267.0 -> 93.0 CE 30
Triazophos	三唑磷	161.2 -> 134.2 CE 5	161.2 -> 106.1 CE 10	161.2 -> 91.0 CE 15

保护芯片作用

Intuvo 9000 气相色谱独有的保护芯片能够使色谱柱免受基质污染，从而实现免切割色谱柱的轻松维护。菠菜萃取液中含有大量色素和复杂基质会对衬管造成污染，从而影响测定结果^[5]，为考察和验证保护芯片的作用，本实验中先不开启反吹对未经过净化的菠菜萃取液进行分析。菠菜萃取液由某食品检测实验室提供，加标浓度为 50 $\mu\text{g/L}$ 。图 3 显示了本方法所用的菠菜萃取液以及 50 次基质进样后的进样口衬管。从图 3 中可以看出，经 50 次重复进样分析后，复杂基质萃取物在进样口衬管中留下了明显的残留物，这些残留物可能会对检测结果造成一定的影响，并且部分基质可能已经穿透衬管。



图 2. 更换保护芯片示意图

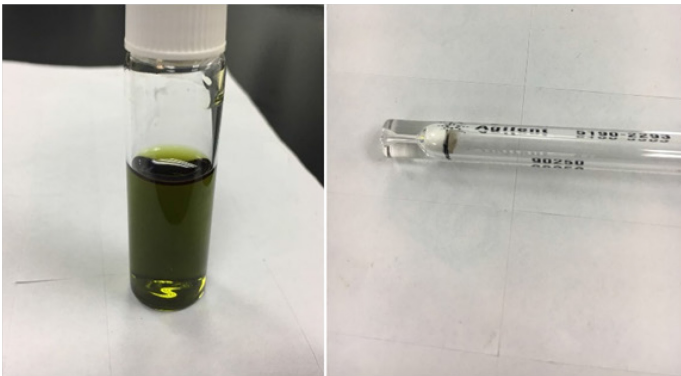


图 3. 菠菜萃取液和 50 次进样后的衬管残留物

在总共 350 次进样分析中，每 10 次基质进样后测量一次 p,p'-DDD 的拖尾因子，每 50 针进样后更换一次受污染的衬管。所得到的拖尾因子变化趋势如图 4 所示。在图中可以看出，在 200 次进样后得到的 p,p'-DDD 拖尾因子为 1.1，该拖尾因子在 290 次进样后增加至 2.1。拖尾因子的持续增加表明系统内存在活性位点，而不能完全归因于衬管受到基质污染。在进样 300 次时更换 Intuvo 保护芯片，拖尾因子从 2.1 降至 1.3，表明部分基质穿透了衬管，而 Intuvo 保护芯片可避免重复进样的基质萃取液对系统带来的不可逆污染。在更换保护芯片后，系统性能得以恢复，表明 Intuvo 保护芯片所起到的保护功能与去活熔融石英预柱相似，有助于防止下游色谱柱受到污染，且更易于安装和维护。在对土壤基质的分析中也可获得类似的结果^[6]。

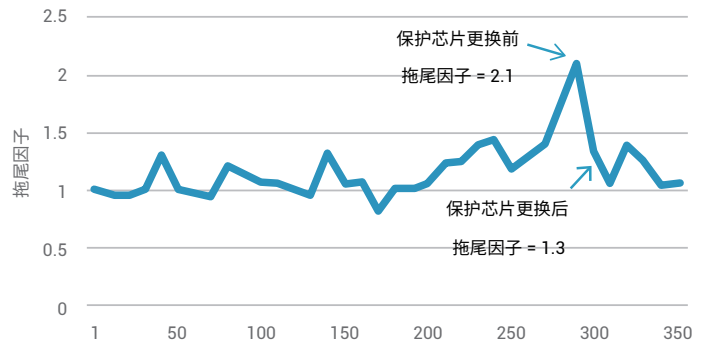


图 4. 菠菜加标样品重复进样 350 次过程中，样品中 p,p'-DDD 拖尾因子变化趋势图

结合反吹的优势

选取冬瓜作为基质样品，使用 QuEChERS 处理后添加浓度为 50 $\mu\text{g/L}$ 的农药混合标准品后，重复进样以考察仪器方法的稳定性，图 5 为第 10、20 和 50 针基质加标样品的总离子流色谱图。每 50 针进样后更换一次衬管，重复进样 400 次，所得到的重复性数据如图 6 中所示。其中菊酯类化合物的 RSD 按同分异构体的峰面积总和来计算。前 50 针数据的 RSD 在 5.6% 以内（黄色谱线），而 400 针数据的 RSD 低于 20%（蓝色谱线）。在整个重复进样分析中，p,p'-DDD 拖尾因子基本保持稳定，如图 7 所示。

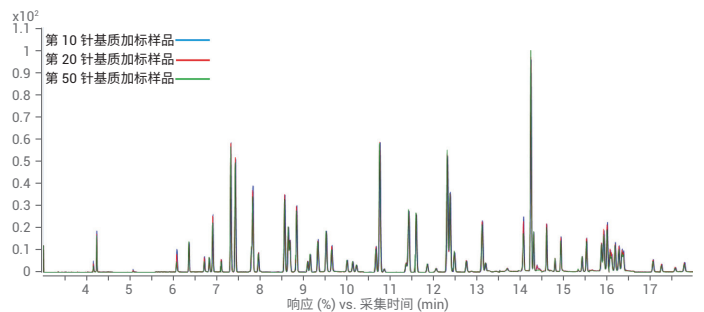


图 5. 第 10、20、50 针基质加标样品的总离子流色谱图

结论

本文采用 QuEChERS 方法对蔬菜样品进行前处理，在 Agilent Intuvo 9000 气相色谱/7000D 三重四极杆气质联用系统上结合安捷伦农药和环境污染数据库 (部件号 G9250AA) 建立了农药多残留分析方法。配有柱中反吹的 Intuvo 9000 气相色谱系统与保留时间锁定技术和高沸点基质反吹技术相结合，能够最大限度地简化和减少系统维护，并提高分析结果的重复性和稳定性。Intuvo 9000 气相色谱系统作为最佳的质谱前端，与 7000 系列三重四极杆气质联用系统联用时能够充分发挥其智能性与便捷性，在食品农药残留定性定量应用中具有出色的稳定性。

参考文献

1. M. Anastassiades, S.J. Lehotay, et.al, Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and "Dispersive Solid-Phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce, J. AOAC Int., 2003, 86, 412-431
2. M. Churley, 使用 Agilent 7000C 三重四极杆气质联用系统降低食品中常规农药残留分析的检测限, 安捷伦科技公司, 出版号 5991-4131CHCN
3. C.K. Meng, GC/MS/MS 分析仪和农残与环境污染 MRM 数据库, 安捷伦科技公司, 出版号 5990-9453CHCN
4. Agilent Intuvo 9000 气相色谱仪与 Agilent 5977 MSD 联用的技术优势, 安捷伦科技公司, 出版号 5991-7181CHCN
5. O. Shimelis, Y.H. Yang, et.al, Evaluation of a solid-phase extraction dual-layer carbon/primary secondary amine for clean-up of fatty acid matrix components from food extracts in multiresidue pesticide analysis, J. Chromatogr. A, 2007, 1165,18-25
6. 半挥发性化合物的分析 INTUVO 芯片式保护柱的保护性能, 安捷伦科技公司, 出版号 5991-7182CHCN

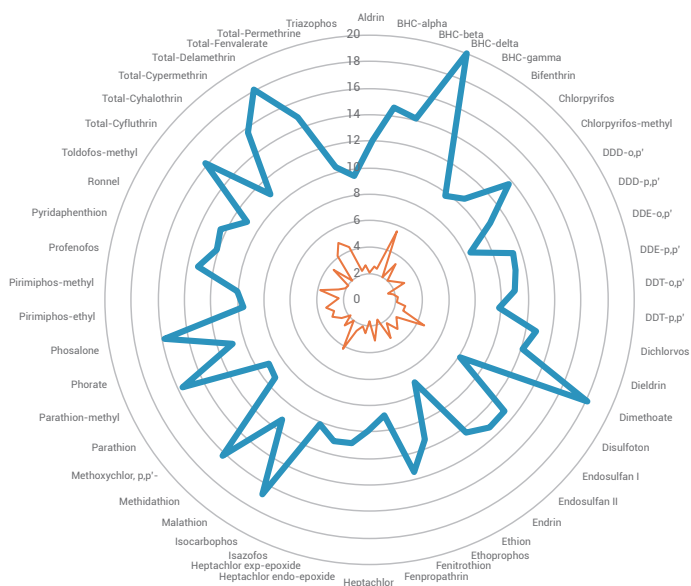


图 6. 基质加标样品的前 50 针 (黄色) 以及 400 针 (蓝色) 的 RSD 结果

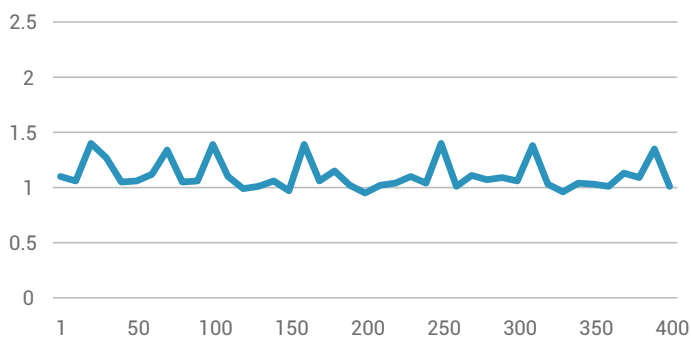


图 7. 冬瓜加标样品重复进样 400 次过程中, 样品中 p,p'-DDD 的拖尾因子变化趋势图

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。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2018
2018年3月20日，中国印刷
5991-9112ZHCN

