

# 样品基质对 GC/MS/MS 多残留农药分析的影响

## 作者

Jessica Westland  
安捷伦科技有限公司

## 摘要

农药分析的复杂性使其非常适合采用气相色谱/质谱联用技术 (GC/MS)。然而定量限和最大残留限 (MRL) 需要采用具有合理线性范围和较低检测限 (LOD) 的多残留分析方法。因此串联质谱仪 (MS/MS) 可用于筛查、确认和定量分析低浓度农药。它不仅提供了较低的定量限 (LOQ)，而且最大程度减小了基质干扰。当进行低浓度检测时，GC/MS 系统的清洁度是关键因素。根据所进样的样品性质（以及其他因素）不同，系统需要进行维护（即更换衬管和隔垫、切割色谱柱头、清洁离子源等）的频率也各不相同。进样后，样品会经过 GC/MS 的整个流路（从进样口经过色谱柱到检测器）。在重复进样和多序列的分析过程中，气相色谱进样口和色谱柱不断降解，质谱被污染。本应用简报表明，在经过适当的样品前处理步骤、采用反吹和使用基质优化的多反应监测 (MRM) 后，基质仍会被引入 GC/MS/MS 系统中。

## 前言

### GC/MS 维护<sup>1-3</sup>

GC/MS 维护是在样品分析过程中保留目标分析物的普遍要求。当消耗品磨损（隔垫、进样针、螺帽、密封垫圈、O 形圈等）或变脏（衬管、色谱柱、气体管线、捕集阱等）时，需对气相色谱进样口进行维护。样品引入的关键组件之一是进样口隔垫。所有色谱柱必须有载气柱头压力以使样品流经色谱柱。隔垫确保密封无泄漏并将空气隔离在进样口外。通常根据建议的温度上限使用隔垫。低温隔垫一般较软，密封性能更好，与高温隔垫相比，耐穿刺性更好（即进样次数多）。在重复进样后，隔垫降解，无法维持进样口柱头压和无泄漏密封性。当观察到降解迹象（孔间隙、进样口衬管破裂、色谱图质量变差、柱压低等）时，更换隔垫。安捷伦的不粘连高级绿色隔垫（部件号 5183-4759）是一种优级不粘连隔垫，适用于各种应用。

在气相色谱中，进样口是样品可以接触到仪器的第一部分。进样口的主要目的是将样品转移到气相色谱柱上进行分析。这使衬管成为被污染的主要部位。随着使用衬管被污染，并积累非挥发性物质、挥发性物质、盐和过量的试剂等。使用安捷伦的 4 mm 超高惰性、带玻璃毛的细径单锥不分流衬管（部件号 5190-2293），可实现

对脏样品的痕量分析。玻璃毛（位于衬管底部附近）有助于高分子量组分的挥发，增加样品的混合程度，并保护色谱柱柱头。当衬管被污染或色谱图出现降解迹象时，应更换衬管。

为您的分析选择最合适的毛细管柱可能是一件困难的事情。有四个主要的色谱柱参数需要考虑：

- 固定相
- 直径
- 长度
- 膜厚度

最关键的是选择固定相，这主要基于选择性、极性和苯基含量等因素。为了满足全球范围内更低检测限的要求，Agilent J&W HP-5ms 超高惰性色谱柱（如 19091S-431UI）针对活性化合物进行了惰性测试，且具有更高的信噪比，可获得更好的灵敏度和质谱信息完整性。色谱柱比进样口隔垫和衬管的使用时间更长，但在更换隔垫和衬管时需要对比色谱柱进行维护。当色谱图问题（峰拖尾、响应变化、保留时间变化等）变得明显时表明需要切割色谱柱柱头。通常，应从色谱柱前端割掉 0.5–1 m，以恢复最佳色谱性能。

Agilent 7010B 三重四极杆 GC/MS 具有高效率电离 (EI) 离子源，该离子源生成的离子数量至少是上一代产品的 20 倍，提

高了分析效率。使用灵敏度更高的检测器时，应考虑采取更多预防措施。在系统运行期间，需对 GC/MS 离子源进行清洁。气相色谱仪进样口和色谱柱维护无法改善分析物响应损失时（或进行离子源调谐时校准离子峰形较差或排斥极或电子倍增器电压升高），表明离子源需要清洁。适当的清洁（氧化铝粉末和甲醇的匀浆液）、组装和安装对于稳定可靠的运行至关重要。目的是使气相色谱系统性能恢复至既定标准，标准通常是目标化合物在校准标样中的响应强度。下降的指标可能并非仅仅是响应强度，还可能会出现峰形变差（色谱指标）、几种敏感目标化合物的选择性丢失或质谱信号与色谱指标的同时降低。

### 样品前处理<sup>6</sup>

样品前处理是成功实现色谱分析的一个重要步骤。它可延长色谱柱寿命，减少重复进样次数，并且将影响分离、检测和定量的干扰降至最低。许多关注食品中农药残留分析的实验室通常使用快速、简便、经济、高效、耐用和安全的方法 (QuEChERS)<sup>4,5</sup>。这种简便的样品前处理方法通过单次萃取即可实现对数百种低浓度农药的分析。然而，随着样品前处理快捷方式在实验室中的使用越来越普遍。不仅会影响数据质量，还会增加 GC/MS 系统的维护频率。

本研究选择三种不同的基质来证明基质差异。这些商品包括有机蜂蜜、香米和散叶红茶。每种基质采用特定的 QuEChERS 方法进行萃取（图 1），不同基质使用不同的分散式固相萃取 (dSPE) 进行基质净化。尽管 QuEChERS 技术是一种快速的脏样品前处理程序，可提供出色的结果，但快捷方式仍然被采用。在 QuEChERS 程序中，使用以下步骤获取萃取物：

- 10 mL 乙腈 (ACN) 萃取后（数据文件中以 LLE 标注）
- 在第一次离心之后（在数据文件中以盐标记）
- 在最终 dSPE 之后（在数据文件中以 dSPE 标记）

### 基质优化的 MRM<sup>6</sup>

在农药分析过程中进行 MRM 数据采集时，基质影响是一个常见问题。化合物某个给定 MRM 离子对的可用性受所测定样品基质的影响。我们可以从多个 MRM 离子对中进行适当选择，帮助提高实验室工作效率，完善定量分析方法的开发，实现最佳的分析。Agilent G9250AA (A.04.02 版) 农药和环境污染 (P&EP) 标准 MRM 数据库是目前最全面的 GC MRM 数据库。该数据库拥有超过 1100 种化合物，每种化合物有多达 10 种 MRM，可用于获得每种目标化合物的基质优化的 MRM。

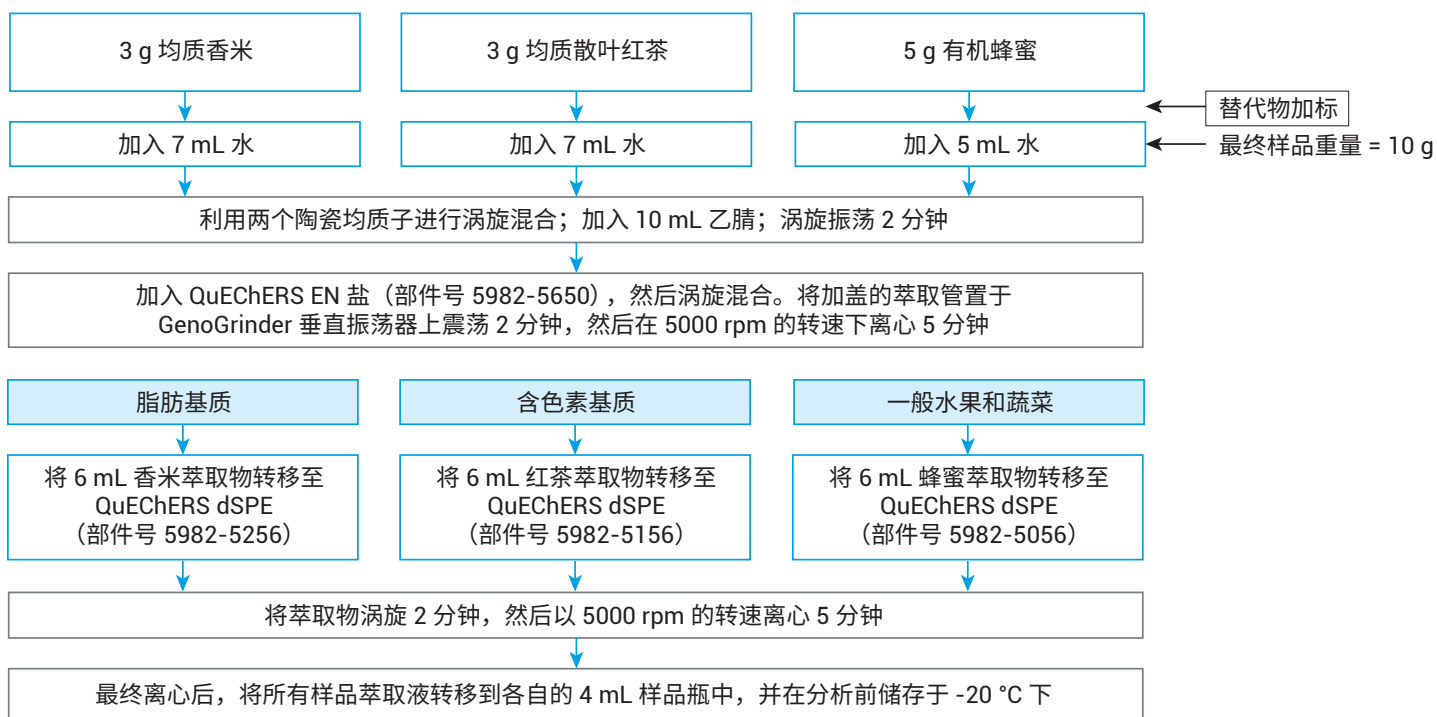


图 1. 应用采取的 QuEChERS 方法

## 实验部分

### 仪器

所有分析均在配备 Agilent 7693B 自动进样器的 Agilent 7890B 气相色谱仪和 Agilent 7010A 三重四极杆气质联用系统上完成。表 1 列出了气相色谱和反吹参数，表 2 和表 3 分别列出了扫描和 dMRM 方法参数。气相色谱仪配备了多模式进样口 (MMI)，带有一个 4 mm 超高惰性、预装玻璃毛的细径单锥不分流衬管 (部件号 5190-2293)。从进样口处通过一个吹扫 Ultimate 接头 (PUU) 串联两根 Agilent J&W HP-5ms 超高惰性色谱柱 (15 m × 0.25 mm, 0.25 μm; 部件号 19091S-431 UI)，用于柱中/后运行的反吹 (图 2)。

表 1. 7890B GC 方法条件

参数	值
MMI 进样模式	热-不分流
进样量	1 μL
进样口温度	280 °C
载气	He, 恒流 1.00 mL/min (色谱柱 2 = 1.20 mL/min)
MS 传输线温度	280 °C
柱温箱升温程序 (20 分钟方法)	60 °C — 1 min 以 40 °C/min 升至 170 °C — 0 min 以 10 °C/min 升至 310 °C — 3 min
<b>PUU 反吹设置*</b>	
时间	后运行期间持续 1.5 分钟
柱温箱温度	310 °C
辅助 EPC 压力	约 50 psi
进样口压力	约 2 psi

\* 在安捷伦实验室针对此应用方法优化的反吹条件。对于其他应用，1.5 分钟的反吹时间可能过短，推荐使用 5 分钟的反吹持续时间

表 2. 7010A 扫描参数

参数	值
扫描类型	MS1 扫描
电子能量	70 eV
调谐	atunes.eihs.tune.xml
EM 增益因子	10*
MS1 开始质量数-结束质量数	40-600
碰撞池	1.5 mL/min N <sub>2</sub> 和 2.25 mL/min He
离子源温度	280 °C
四极杆温度	150 °C
扫描时间	200 ms
步长	0.1 amu
阈值	100

\* 请注意，7010A 采用的增益因子 10 较高。7010 的建议增益因子为 0.2-1

表 3. 7010A dMRM 参数

参数	值
扫描类型	dMRM
电子能量	70 eV
调谐	atunes.eihs.tune.xml
EM 增益因子	10*
MS1 和 MS2 分辨率	Unit
碰撞池气体流速	1.5 mL/min N <sub>2</sub> 和 2.25 mL/min He
离子源温度	280 °C
四极杆温度	150 °C
定量/定性离子对	基质优化
左侧和右侧 Δ RT	0.1 分钟
驻留时间	按 dMRM 优化
最短驻留时间 (ms)	10
次循环/秒	3.07

\* 请注意，7010A 采用的增益因子 10 较高。7010 的建议增益因子为 0.2-1

## 反吹

可以使用不同操作来维持分析性能并降低系统的维护频率。安捷伦在 GC/MS 维护过程中引入的一项改进是柱内反吹，能够改善离子源并延长 GC 使用寿命，并在不放真空的情况下快速完成 GC/MS 色谱柱和进样口维护（图 3）。在最后一个目标化合物洗脱后，反吹使气相系统中的色谱柱气流反向，以除去高沸点组分。反吹可延长色谱柱使用寿命，加快色谱柱维护，减少质谱仪维护。在本应用中使用了柱中反吹。

## 结果与讨论

使用适当的样品前处理程序，采用反吹和基质优化的 MRM 都可以帮助获得最佳 GC/MS 条件。然而，随着样品前处理快捷方式在实验室中的使用越来越普遍。这不但会影响数据质量，还会增加 GC/MS 系统的维护频率。图 4 至图 11 展示了三种基质（有机蜂蜜、香米、散叶红茶）在样品前处理程序中（参见实验部分），分别经历不同处理步骤后的谱图。还包括 MRM 采集与其扫描色谱图的对比图。

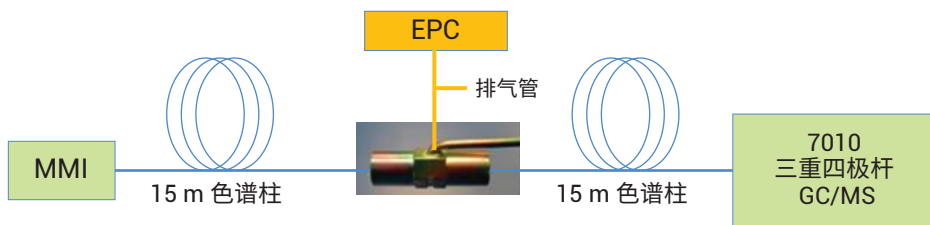
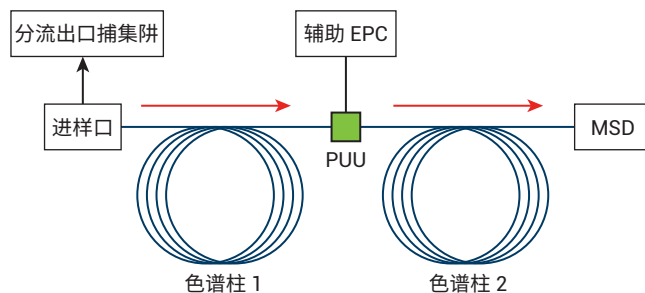


图 2. 用于优化 MRM 应用的色谱柱配置

### 气相色谱运行



### 反吹循环

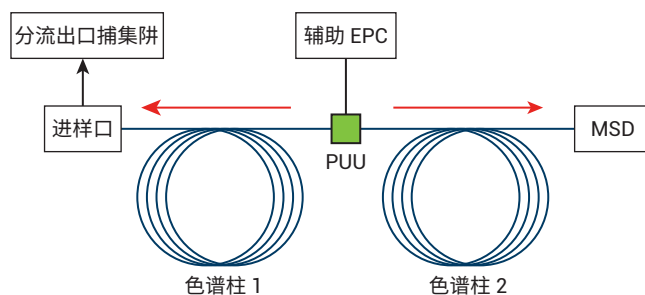


图 3. 在分析运行和反吹循环期间，柱中反吹流动的示例

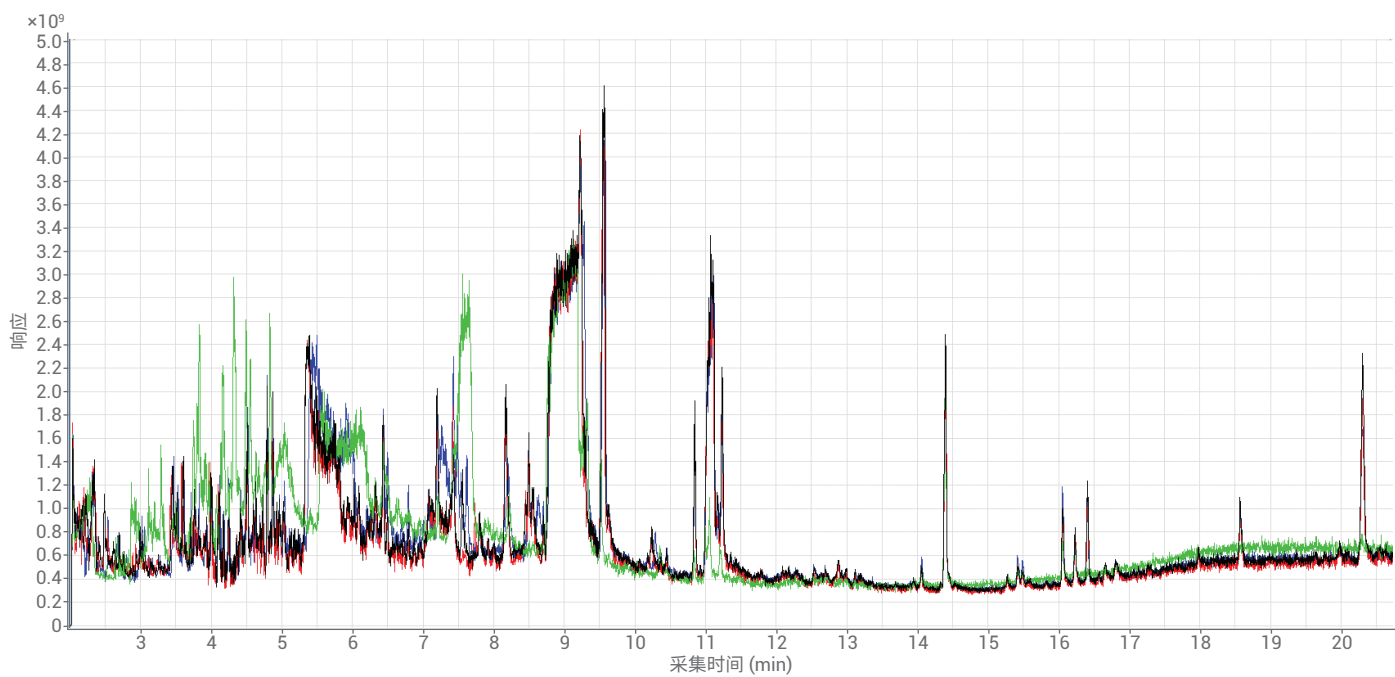


图 4. 经历不同基质萃取步骤的散叶红茶样品扫描谱图：dSPE 红茶空白扫描（黑色）；dSPE 红茶加标样扫描（红色）；LLE 红茶空白扫描（绿色）；盐-红茶空白扫描（蓝色）

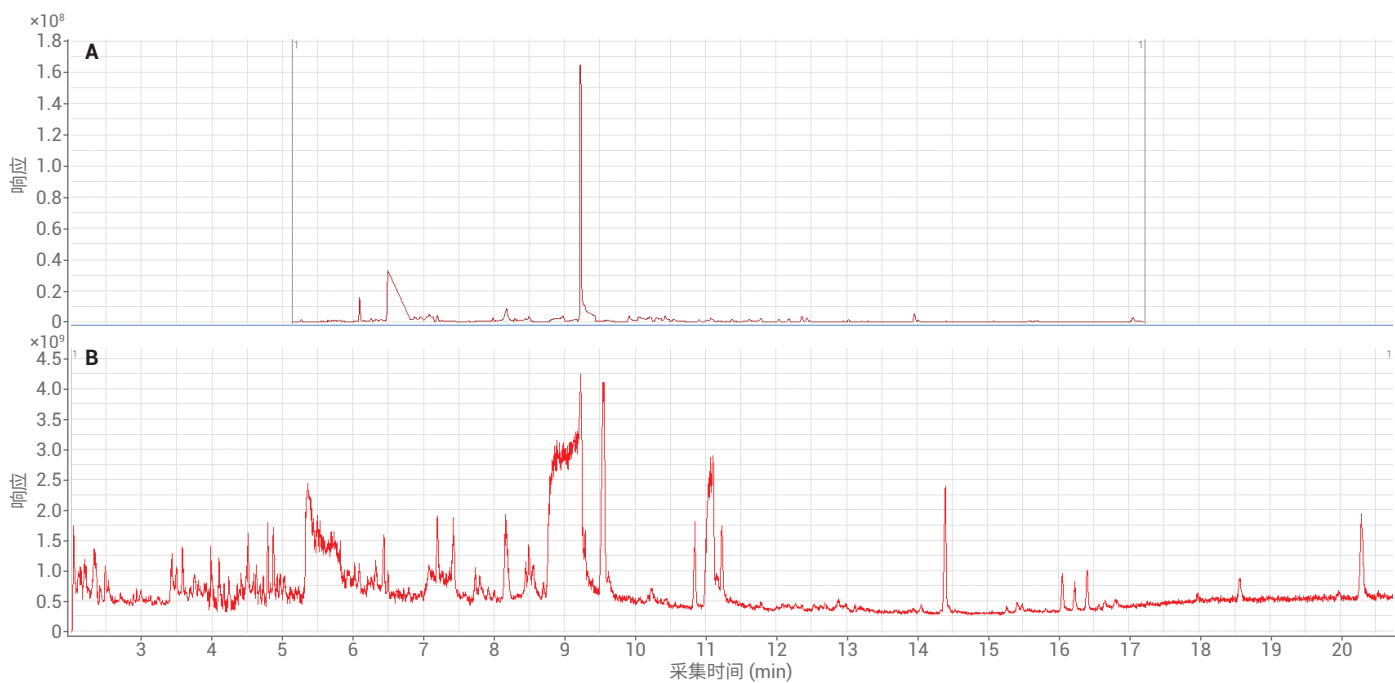


图 5. 最终 dSPE 红茶萃取物的 MRM 采集图 (A) 及扫描采集图 (B)

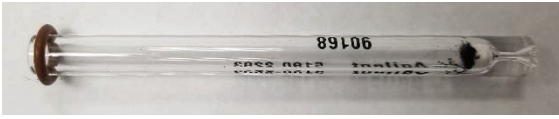


图 6. 进行红茶分析后的衬管

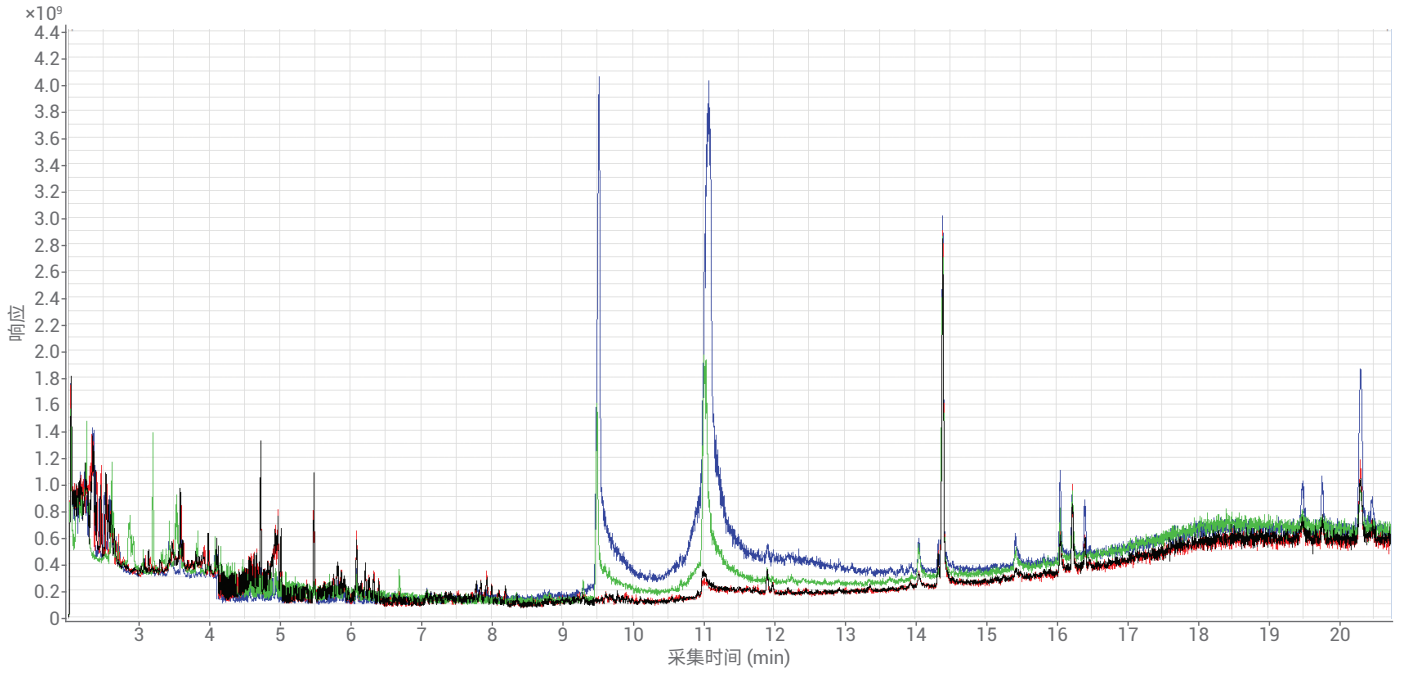


图 7. 经历不同基质萃取步骤的香米样品扫描谱图: dSPE 香米空白扫描 (黑色); dSPE 香米加标样扫描 (红色); LLE 香米空白扫描 (绿色); 盐-香米空白扫描 (蓝色)

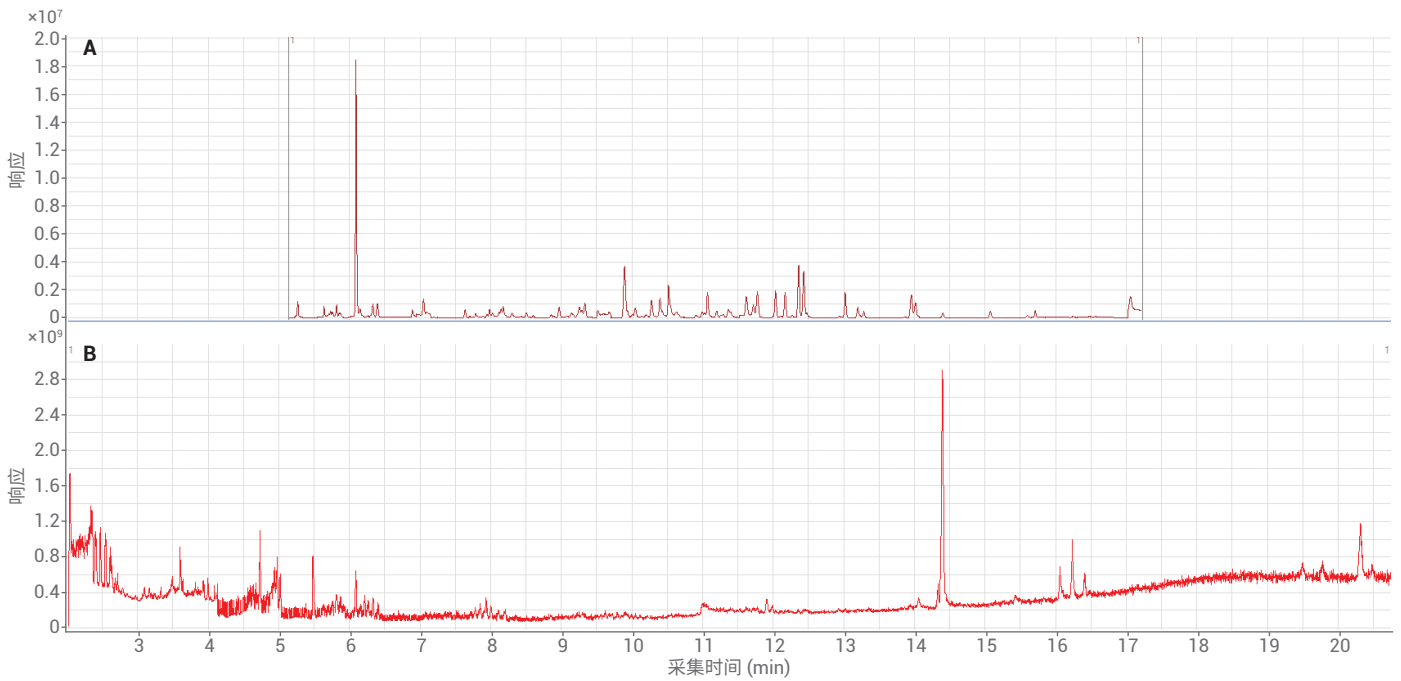


图 8. 最终 dSPE 香米萃取物的 MRM 采集图 (A) 及扫描采集图 (B)

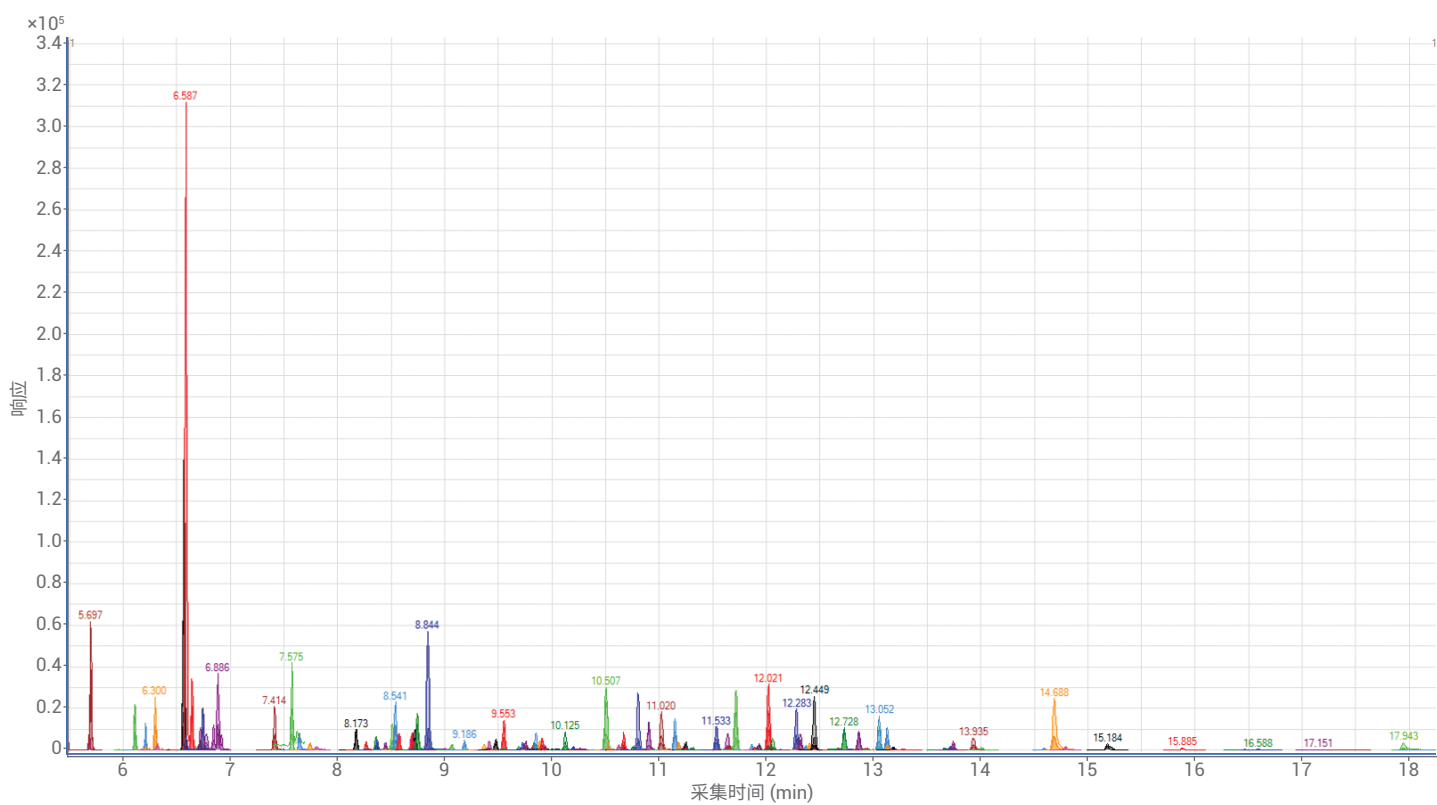


图 9. 最终 dSPE 香米萃取物的提取 MRM 色谱图

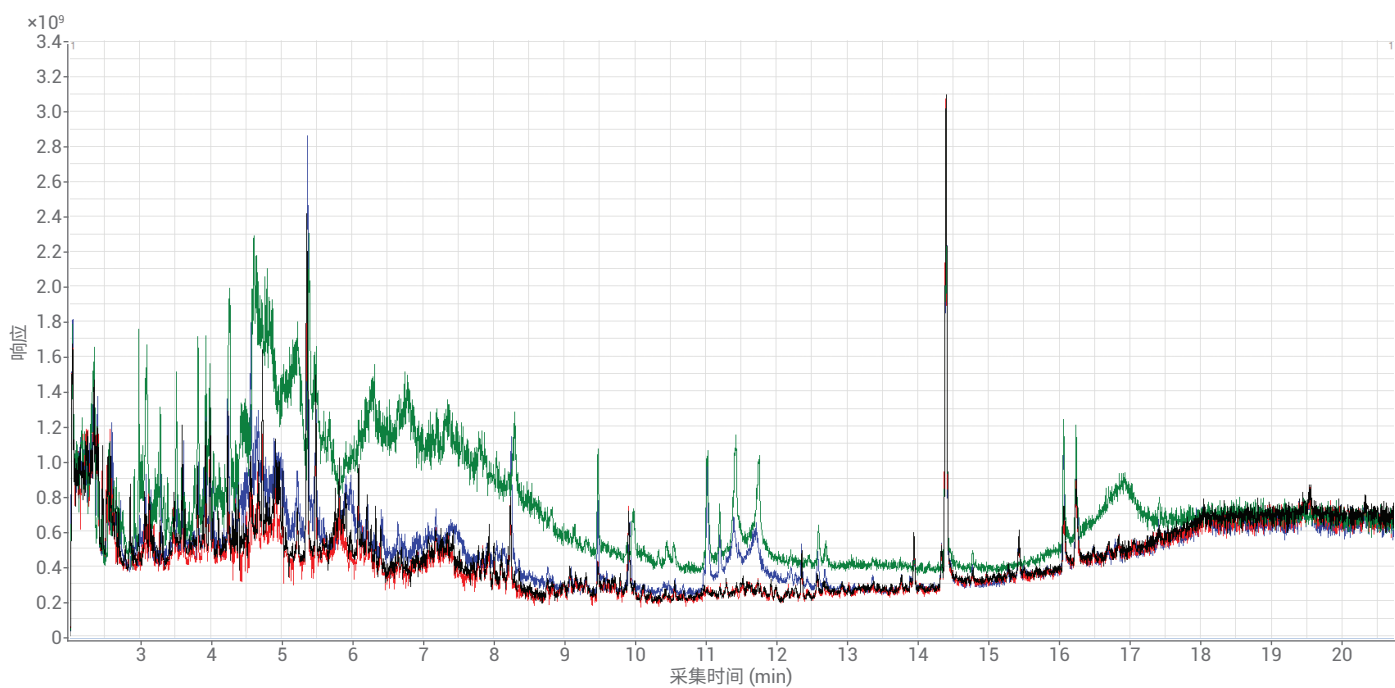


图 10. 经历不同基质萃取步骤的有机蜂蜜样品扫描谱图: dSPE 蜂蜜空白扫描 (黑色); dSPE 蜂蜜加标样扫描 (红色); LLE 蜂蜜空白扫描 (绿色); 盐-蜂蜜空白扫描 (蓝色)

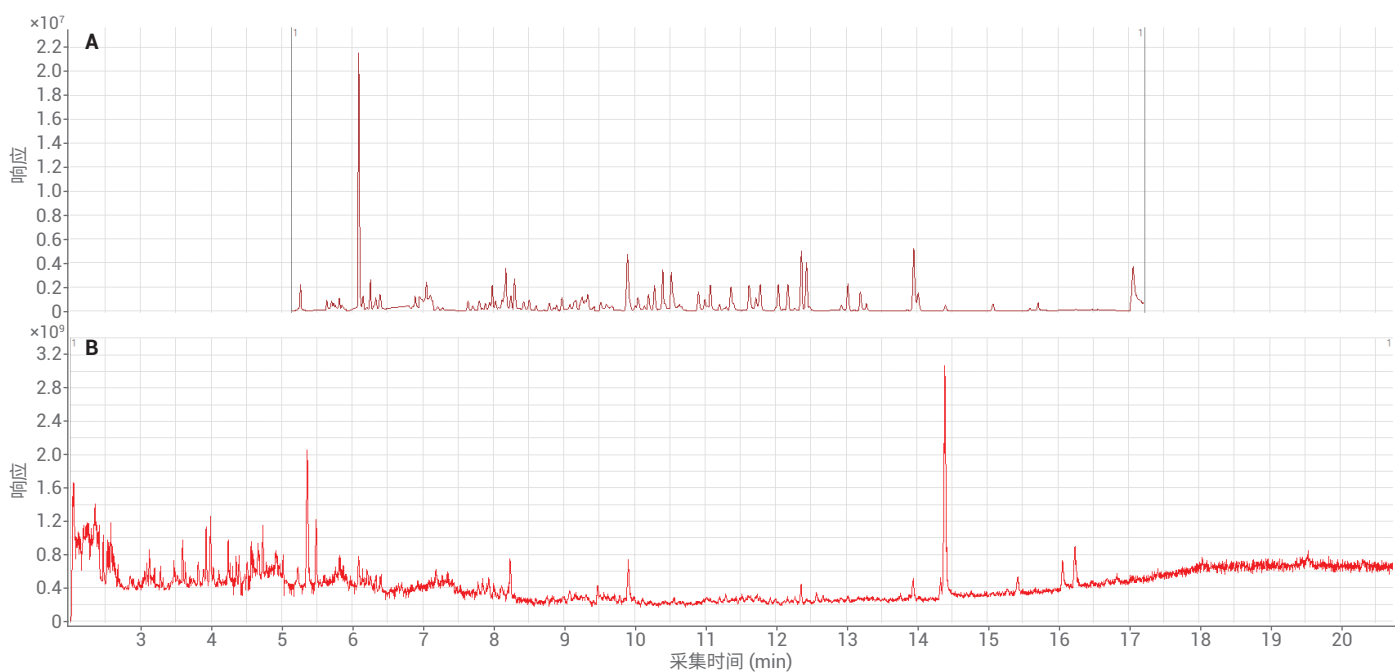


图 11. 最终 dSPE 蜂蜜萃取物的 MRM 采集图 (A) 及扫描采集图 (B)

表 4. 有机蜂蜜分析的数据结果

化合物	有机蜂蜜数据			
	%RSD	MDL (pg/μL)	iLOQ (pg/μL)	误差 (%)
2,4-D 丁酯	8.09	0.26	0.94	7.08
灭害威	8.4	0.285	1.032	2.09
乙基谷硫磷	13.77	0.436	1.579	8.53
苯噻菌胺	14.22	0.437	1.583	10.49
α-BHC	7.83	0.261	0.943	4.01
β-BHC	17.19	0.541	1.959	9.1
顺式氯丹	13.08	0.411	1.486	9.42
甲基毒死蜱	7.76	0.252	0.91	6.42
棉隆	4.38	0.152	0.552	0.45
o,p'-DDT	8.78	0.27	0.977	11.35
二嗪农	7.33	0.238	0.862	6.15
苯醚甲环唑 II	19.99	0.663	2.399	4.12
醚菊酯	16.5	0.539	1.951	6.88
灭线磷	8.72	0.293	1.061	3.11
9-羟基苄-9-羧酸丁酯	6.85	0.219	0.793	6.32
氟吡甲禾灵	6.74	0.217	0.786	7.2
内环氧七氯	7.75	0.493	1.783	8.13
环嗪酮	4.91	0.157	0.569	7.85
异稻瘟净	4.69	0.157	0.569	2.94
(1R)-反式氯菊酯	10.25	0.335	1.211	5.57
菲-D10	6.59	0.217	0.786	4.92
甲拌磷	29.01	1.023	3.699	2.01
特丁硫磷砷	3.46	0.112	0.404	6.54
三唑酮	4.26	0.137	0.497	6.97

## 结论

采用 MS/MS 的多残留农药分析可用于筛查、确认和定量分析低浓度农药。此方法具有低定量限，并可最大限度减少干扰。当进行低浓度检测时，GC/MS 系统的清洁度是关键。在重复进样和多序列的分析过程中，气相色谱进样口和色谱柱不断降解，质谱被污染。本应用简报表明，在经过适当的样品前处理步骤、采用反吹和使用基质优化的 MRM 后，基质仍会引入 GC/MS/MS 系统中。

7010 系列三重四极杆气质联用系统即使对最复杂的基质萃取液，也可以检测出低至 ppb 级的农药残留。校准标样的浓度范围为 0.12 pg/ $\mu$ L 至 50 pg/ $\mu$ L；对于 90% 的化合物，所生成的校准曲线  $R^2 \geq 0.990$ 。所有被分析农药重复测定的 %RSD  $\leq$  30%，其中 90% 的农药 LOQ  $\leq$  1.5 pg/ $\mu$ L。

## 参考文献

1. GC/MS 系统的维护与保养 — 以最高的效率运行安捷伦 GC/MS 系统，安捷伦科技公司，出版号 5988-3960CHCN，**2001**
2. GC System Recommended Maintenance Schedule (气相色谱系统的推荐维护计划)，安捷伦科技公司，出版号 5988-6630EN，**2002**
3. Prest, H, Agilent JetClean 智氢洁离子源：原位 GC/MS 离子源清洁和调节，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5991-7254CHCN，**2016**
4. Westland, J, An Optimal Method for the Analysis of Pesticides in a Variety of Matrices (用于分析各种基质中农药的最佳方法)，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5991-7303EN，**2016**
5. Anastassiades, M.; et al. *J. AOAC Int.* **2003**, 86, 412–431
6. Lehotay, S. J.; Mastovská, K.; Lightfield, A. R. *J. AOAC Int.* **2005**, 88, 615–629

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](mailto: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)

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。