

测定浆果中的多类别多种农药残留

使用 Captiva EMR-GPF 直通式净化与 GC/MS/MS

作者

Limian Zhao 和 Ta-Chen Wei
安捷伦科技有限公司

摘要

本应用简报介绍了用于分析黑莓、蓝莓和覆盆子中农药残留的多残留方法的开发与验证。该方法使用 Agilent Bond Elut QuEChERS EN 萃取试剂盒进行萃取，随后使用 Agilent Captiva 增强型基质去除 — 普通色素新鲜基质 (EMR-GPF) 过滤柱进行直通式净化，最后进行 GC/MS/MS 分析。Captiva EMR-GPF 过滤柱使用了安捷伦先进的合成碳吸附剂 Carbon S。新设计的 Captiva EMR-GPF 过滤柱经过优化，可为含有普通色素的新鲜蔬菜和水果基质（如浆果、辣椒、葡萄、柑橘类水果等）提供便捷的直通式净化。结果表明，使用简单的直通式净化，无需额外洗脱步骤，96% 以上的农药回收率为 60%–120%，RSD < 20%。通过 LC/UV 进行的色素去除效果评估表明，EMR-GPF 净化去除了 > 99% 的色素干扰物。与使用含有 GCB 的 QuEChERS 分散式 SPE 试剂盒进行的传统净化相比，Captiva EMR-GPF 净化显著提高了敏感农药的回收率，具有等效的色素去除效率。

前言

新鲜水果和蔬菜中含有丰富的天然色素，例如绿色蔬菜中的叶绿素和叶黄素；红色、蓝色、紫色和黑色水果中的花青素和花青素苷类；以及橙色和黄色水果和蔬菜中的类胡萝卜素和叶黄素类。使用有机溶剂可以轻松萃取这些色素。如果不进一步去除色素共萃取物，在检测仪器（例如 LC/MS/MS 或 GC/MS/MS）上直接进样高色素含量的样品萃取物可能会导致多种基质效应，包括 LC/MS/MS 中的基质离子抑制，GC/MS/MS 中的基质干扰，以及检测流路和质谱离子源上的基质沉积物积聚等。因此，在进样分析之前通过增强型净化去除色素共萃取物非常重要。

石墨化炭黑 (GCB) 吸附剂广泛应用于样品前处理，以有效去除色素^[1,2]。尤其是在食品分析中常用的 QuEChERS 前处理方法中，GCB 已用于去除色素推荐使用的分散式固相萃取 (dSPE) 试剂盒。尽管 GCB 可有效去除色素，但它也会导致不必要的分析物损失，尤其对于具有平面结构的化合物，如六氯苯、噻菌灵等。因此，许多 QuEChERS dSPE 试剂盒配方都使用限量 GCB 吸附剂进行了精心调整，以实现可接受的目标物回收率。然而，提高敏感分析物的回收率会导致基质色素去除效果显著降低。

Agilent Carbon S 吸附剂是一种先进的混合碳材料，对碳含量和孔结构进行了优化。与 GCB 吸附剂相比，Carbon S 吸附剂可为植物源性样品基质提供相同或更出色的色素去除效果，并显著提高敏感分析物的回收率。因此，与传统的 GCB 吸附剂相比，Carbon S 吸附剂在分析物回收率和基质色素去除效率之间实现了更好的平衡。在各种 dSPE 试剂盒中，Carbon S 吸附剂已替代 GCB 使用，且已证明具有同等或更高的性能。Carbon S 扩充了 Captiva EMR 产品系列，它采用便捷的直通式净化进行高效、高选择性的基质去除，显著改善敏感农药回收率。

本研究评估使用 Captiva EMR-GPF 过滤柱直通式净化技术样品前处理，对三种典型浆果基质（黑莓、蓝莓和覆盆子）中的 108 种常见农药进行 GC/MS/MS 分析。

实验部分

化学品与试剂

农药标准品和内标 (IS) 以混标储备液的形式从安捷伦科技公司（部件号 5190-0551）获得或购自 AccuStandard (New Haven, CT, USA)，或以单标储备液或粉末的形式购自 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO)。HPLC 级乙腈 (ACN) 购自 Honeywell (Muskegon, MI)。试剂级乙酸、乙酸铵和氟化铵也购自 Sigma-Aldrich。

溶液与标准品

使用乙腈配制浓度为 10 µg/mL 的混合标样加标溶液（108 种农药）和混合内标（三种 IS 化合物）加标溶液，并储存于 -20 °C 的冰箱中。标准加标溶液使用前在室温下彻底解冻并超声处理，使用后重新放回原处储存。

在 990 mL 乙腈中加入 10 mL 冰乙酸，制备含 1% 乙酸的乙腈萃取溶剂，并于室温下储存。

仪器与材料

使用 Agilent 8890 GC 与 Agilent 7000D 三重四极杆 GC/MS 的联用系统进行研究。气相色谱系统配备电子气路控制 (EPC)、支持风冷的多模式进样口 (MMI) 以及基于吹扫 Ultimate 接头（由辅助电子压力控制 (Aux EPC) 模块控制）的反吹系统。采用 Agilent MassHunter 工作站软件进行数据采集和分析。

样品前处理还使用以下设备：Centra CL3R 离心机 (Thermo IEC, MA, USA)、Geno/Grinder (SPEX, NJ, USA)、Multi Reax 试管振荡器 (Heidolph, Schwabach, Germany)、移液管和重复用移液器 (Eppendorf, NY, USA)、安捷伦正压 48 孔处理装置 (PPM-48) (部件号 5191-4101)、Agilent Bond Elut QuEChERS EN 萃取试剂盒（部件号 5982-5650）、Agilent Captiva EMR-GPF 过滤柱，3 mL（部件号 5610-2090）、Agilent Bond Elut QuEChERS EMR-Lipid 除脂萃取盐包，3.5 g 无水 MgSO₄（部件号 5982-0102）。陶瓷均质子，50 mL 管，100/包（部件号 5982-9313）。

仪器条件

根据之前发布的方法使用同等仪器确定 GC/MS/MS 仪器条件。表 1 列出了 GC/MS/MS 操作条件，表 2 列出了目标物 MRM 参数。

表 1. Agilent 8890 气相色谱和 Agilent 7000D GC/MS/MS 条件

参数	值
色谱柱	Agilent HP-5ms UI, 15 m × 0.25 mm, 0.25 μm 膜厚度 (部件号 19091S-431UI)
载气	氮气
色谱柱 1 流速	1.0 mL/min
色谱柱 2 流速	1.4 mL/min
进样量	1 μL 冷柱头不分流
进样口衬管	4 mm 内径超高惰性细径单锥衬管, 带玻璃毛 (部件号 5190-2293)
MMI 升温程序	75 °C (0.02 min), 以 750 °C/min 升温至 350 °C, 然后保持
柱温箱升温程序	60 °C 下保持 1 min, 以 40 °C/min 的速率升至 170 °C, 以 10 °C/min 的速率升至 310 °C, 保持 3 min
运行时间	20.75 min
反吹条件	后运行 3 min 柱温箱温度 310 °C 辅助 EPC 压力 50 psi, 进样口压力 2 psi
传输线温度	280 °C
离子源温度	EI 离子源, 300 °C
四极杆温度	150 °C
数据监测	动态 MRM 模式 (dMRM)
增益因子	10
溶剂延迟	3 min

表 2. 目标农药的 dMRM 条件

农药	保留时间 (min)	第一 MRM 离子对 (m/z)	CE (V)	第二 MRM 离子对 (m/z)	CE (V)	Δ RT (min)	MS1 和 MS2 分辨率
敌敌畏	5.047	109 → 79	5	184 → 93	10	1.5	宽
敌草腈	5.686	171 → 100	25	171 → 136.1	15	1.5	宽
速灭磷	6.049	127 → 109	10	127 → 95	15	1.5	宽
苯胺灵	6.309	136.9 → 93	10	119 → 91	10	1.5	宽
虫螨畏	6.542	207.9 → 180.1	5	124.9 → 47.1	10	1.5	宽
2-苯基苯酚	6.853	169.1 → 115.1	25	170.1 → 141.1	25	1.5	宽
草达灭	7.017	126.2 → 55.1	10	126.2 → 83.1	5	1.5	宽
二苯胺	7.634	169 → 168.2	15	168 → 167.2	15	1.5	宽
乙丁烯氟灵	7.638	275.9 → 202.1	15	315.9 → 275.9	10	1.5	宽
治螟磷	7.896	201.8 → 145.9	10	237.8 → 145.9	10	1.5	宽
β-BHC	8.302	216.9 → 181	5	218.9 → 183	5	1.5	宽
六氯苯	8.387	283.8 → 213.9	30	283.8 → 248.8	15	1.5	宽
内吸磷-S	8.394	88 → 60	5	126 → 65	10	1.5	宽
西玛津	8.508	201.1 → 173.1	5	173 → 172.1	5	1.5	宽
莠去津-D ₅ (IS)	8.539	219.9 → 58.1	10	219.9 → 200.2	5	1.5	宽
莠去津	8.574	214.9 → 58.1	10	214.9 → 200.2	5	1.5	宽
胺丙畏	8.732	138 → 110	10	138 → 64	15	1.5	宽
草达津	8.783	229 → 200.2	5	214.2 → 186.2	10	1.5	宽
特丁津	8.810	228.9 → 173.1	5	172.9 → 172	5	1.5	宽
特丁磷	8.837	230.9 → 129	20	230.9 → 175	10	1.5	宽
林丹	8.852	216.9 → 181	5	181 → 145	15	1.5	宽
二嗪农	8.869	137.1 → 84	10	137.1 → 54	20	1.5	宽

农药	保留时间 (min)	第一 MRM 离子对 (m/z)	CE (V)	第二 MRM 离子对 (m/z)	CE (V)	Δ RT (min)	MS1 和 MS2 分辨率
嘧霉胺	9.024	198 → 118.1	35	198 → 183.1	15	1.5	宽
百菌清	9.088	263.8 → 168	25	263.8 → 229	20	1.5	宽
抗蚜威	9.307	238 → 166.2	10	166 → 55.1	20	1.5	宽
磷胺	9.577	127 → 95	10	127 → 109	10	1.5	宽
噻草酮	9.764	198 → 82	15	198 → 55	30	1.5	宽
甲基毒死蜱	9.774	124.9 → 47	15	142.9 → 78.9	5	1.5	宽
杀螟硫磷	9.916	125.1 → 47	15	125.1 → 79	5	1.5	宽
甲基立枯磷	9.917	265 → 250	15	265 → 93	25	1.5	宽
七氯	10.128	271.7 → 236.9	15	273.7 → 238.9	15	1.5	宽
甲基嘧啶磷	10.215	290 → 125	20	232.9 → 151	5	1.5	宽
克螨特	10.220	135 → 107.1	10	149.9 → 135.1	5	1.5	宽
马拉硫磷	10.422	172.9 → 99	15	126.9 → 99	5	1.5	宽
抑菌灵	10.472	223.9 → 123.1	20	123 → 77	20	1.5	宽
乙霉威	10.545	151 → 123	10	207 → 151	15	1.5	宽
异丙甲草胺	10.576	238 → 162.2	10	162.2 → 133.2	15	1.5	宽
氟醚唑	10.731	336 → 217.9	20	170.9 → 136	10	1.5	宽
艾氏剂	10.786	262.9 → 192.9	35	254.9 → 220	20	1.5	宽
三唑酮	10.788	208 → 181.1	5	208 → 111	20	1.5	宽
二甲戊乐灵	11.189	251.8 → 162.2	10	251.8 → 161.1	15	1.5	宽
吡唑草胺	11.261	133.1 → 132.1	10	132.1 → 117.1	15	1.5	宽
毒虫畏	11.358	266.9 → 159.1	15	322.8 → 266.8	10	1.5	宽
Marcarbam	11.382	158.9 → 131	5	130.9 → 74	5	1.5	宽
对甲抑菌灵	11.386	237.9 → 137	15	136.9 → 91.1	20	1.5	宽
啶硫磷	11.505	146 → 118	10	146 → 91	30	1.5	宽
氟菌唑	11.545	206 → 179	15	206 → 186	10	1.5	宽
三唑醇	11.559	168 → 70	10	128 → 65	25	1.5	宽
腐霉利	11.562	284.8 → 96	10	282.8 → 96	30	1.5	宽
克菌丹	11.607	149 → 79.1	10	151 → 79.1	15	1.5	宽
杀扑磷	11.786	144.9 → 85	5	144.9 → 58.1	15	1.5	宽
多效唑	11.941	236 → 125.1	10	125.1 → 89	20	1.5	宽
啶菌胺	12.044	223.2 → 222.2	10	222.2 → 207.2	15	1.5	宽
硫丹 I	12.162	194.9 → 159	5	194.9 → 160	5	1.5	宽
咯菌腈	12.227	248 → 154.1	20	248 → 182.1	10	1.5	宽
己唑醇	12.297	256 → 82	10	231 → 175	10	1.5	宽
丙溴磷	12.375	338.8 → 268.7	15	207.9 → 63	30	1.5	宽
恶草酮	12.394	174.9 → 112	15	174.9 → 76	35	1.5	宽
三环唑	12.455	189 → 162.1	10	189 → 161.1	15	1.5	宽
DDE	12.466	246.1 → 176.2	30	315.8 → 246	15	1.5	宽
烯效唑	12.473	234.1 → 164.9	10	234.1 → 136.9	15	1.5	宽
乙嘧酚磺酸酯	12.519	272.9 → 193.1	5	272.9 → 108	15	1.5	宽
氟硅唑	12.528	233 → 165.1	15	233 → 91	20	1.5	宽
狄氏剂	12.650	262.9 → 193	35	277 → 241	5	1.5	宽
异狄氏剂	13.052	262.8 → 193	35	244.8 → 173	30	1.5	宽
异菌脲	13.130	187 → 124	25	313.8 → 55.9	20	1.5	宽

农药	保留时间 (min)	第一 MRM 离子对 (m/z)	CE (V)	第二 MRM 离子对 (m/z)	CE (V)	Δ RT (min)	MS1 和 MS2 分辨率
烯唑醇	13.167	269.9 → 232	10	267 → 232.1	10	1.5	宽
恶霜灵	13.192	163 → 132.1	5	163 → 117.1	25	1.5	宽
乙硫磷	13.204	230.9 → 175	10	152.9 → 96.9	10	1.5	宽
硫丹 II	13.231	194.9 → 159	5	194.9 → 160	5	1.5	宽
DDD	13.244	234.9 → 165.1	20	236.9 → 165.1	20	1.5	宽
三唑磷	13.471	161.2 → 134.2	5	161.2 → 106.1	10	1.5	宽
丙环唑 I	13.769	172.9 → 109	15	172.9 → 145	15	1.5	宽
苯氧喹啉	13.827	271.9 → 237.1	10	NA	NA	1.5	宽
丙环唑 II	13.885	172.9 → 109	30	172.9 → 145	15	1.5	宽
DDT-D ₈ (IS)	13.903	243 → 173.1	20	245 → 173.1	20	1.5	宽
DDT	13.951	235 → 165.2	20	237 → 165.2	20	1.5	宽
环酰菌胺	13.967	177.1 → 78	25	177.1 → 113	15	1.5	宽
戊唑醇	14.195	250 → 125	20	125 → 89	15	1.5	宽
TPP (内标)	14.242	325.9 → 169	30	325.9 → 233	27	1.5	宽
苯酰菌胺	14.422	189 → 161.1	15	187 → 159.1	15	1.5	宽
氟环唑	14.435	192 → 138.1	10	192 → 111	25	1.5	宽
螺甲螨酯	14.475	272 → 254.2	5	272 → 209.2	10	1.5	宽
联苯菊酯	14.738	181.2 → 165.2	25	181.2 → 166.2	10	1.5	宽
糠菌唑 I	14.759	173 → 145	15	173 → 109	30	1.5	宽
亚胺硫磷	14.801	160 → 77.1	20	160 → 133.1	20	1.5	宽
EPN	14.828	169 → 77	25	169 → 141.1	5	1.5	宽
氟吡啶草胺	14.829	376 → 238.1	20	376 → 239.1	10	1.5	宽
苯氧威	14.844	255.2 → 186.2	10	186.2 → 158.2	5	1.5	宽
甲氧氯	14.927	227.1 → 169.1	25	227.1 → 121.1	10	1.5	宽
吡螨胺	15.041	275.9 → 171.1	10	332.9 → 171	15	1.5	宽
糠菌唑 II	15.167	173 → 109	30	173 → 145	15	1.5	宽
酮康唑	15.189	125 → 89	20	125 → 99	20	1.5	宽
甲基吡啶磷	15.451	183 → 112	15	215 → 171.1	10	1.5	宽
伏杀磷	15.451	182 → 111	15	182 → 102.1	15	1.5	宽
种菌唑	15.893	125 → 89	20	125 → 99	20	1.5	宽
灭蚁灵	16.016	271.8 → 236.8	15	273.8 → 238.8	15	1.5	宽
氯苯嘧啶醇	16.017	219 → 107.1	10	251 → 139.1	10	1.5	宽
联苯三唑醇	16.503	170.1 → 115	40	170.1 → 141.1	20	1.5	宽
氯菊酯	16.670	183.1 → 168.1	10	183.1 → 153.1	15	1.5	宽
蝇毒磷	16.693	361.9 → 109	15	210 → 182	10	1.5	宽
氟啶唑	16.707	340 → 107.8	40	340 → 298	15	1.5	宽
腈苯唑	17.097	197.9 → 129	5	128.9 → 102.1	15	1.5	宽
醚菊酯	17.742	163 → 135	10	163 → 107.1	20	1.5	宽
丙炔氟草胺	18.308	287 → 258.7	15	354 → 325.9	5	1.5	宽
唑菌胺酯	18.440	164 → 132.1	35	164 → 77.1	10	1.5	宽
苯醚甲环唑	18.870	322.8 → 264.8	15	264.9 → 202	20	1.5	宽
溴氰菊酯	19.208	252.9 → 93	25	181 → 152.1	25	1.5	宽

图 1 显示了使用上述 GC/MS/MS 条件分析 100 ng/g 浓度加标黑莓样品中目标农药的 MRM 色谱图。

样品前处理

新鲜有机黑莓、蓝莓和覆盆子购自当地食品市场。将样品置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中冷冻过夜，然后用研磨机进行均质化处理。然后称取 10 g 研磨后的基质样品，置于 50 mL 离心管中，在萃取之前储存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中。提前将称取的浆果样品 (10 g) 解冻，然后按照 QuEChERS EN 方法进行萃取。然后将粗提物上样至 3 mL Captiva EMR-GPF 过滤柱中进行直通式净化。用无水 MgSO_4 干燥净化的样品洗脱液，完全去除样品萃取物中残留的水分。干燥样品可直接进行 GC/MS/MS 分析。详细的样品前处理流程如图 2 所示。对于约 30 个样品的批次，整个流程通常需要大约 40–45 分钟。

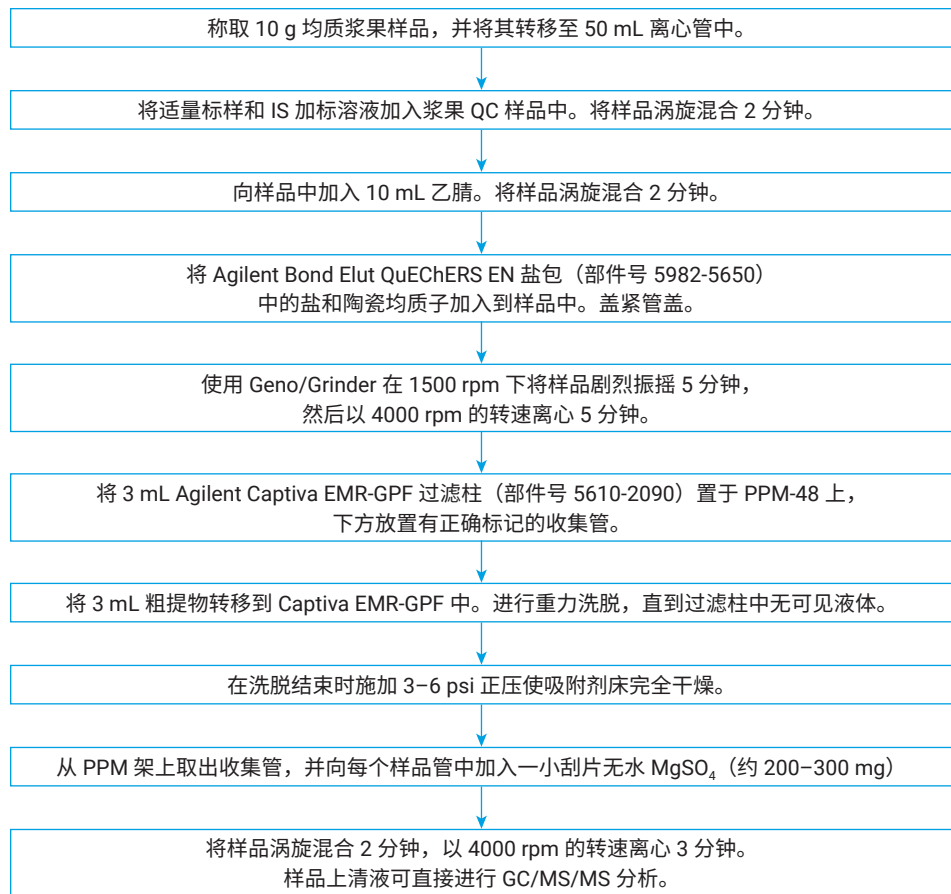


图 2. 使用 Agilent Bond Elut QuEChERS EN 萃取和 Agilent Captiva EMR-GPF 净化的浆果样品前处理流程

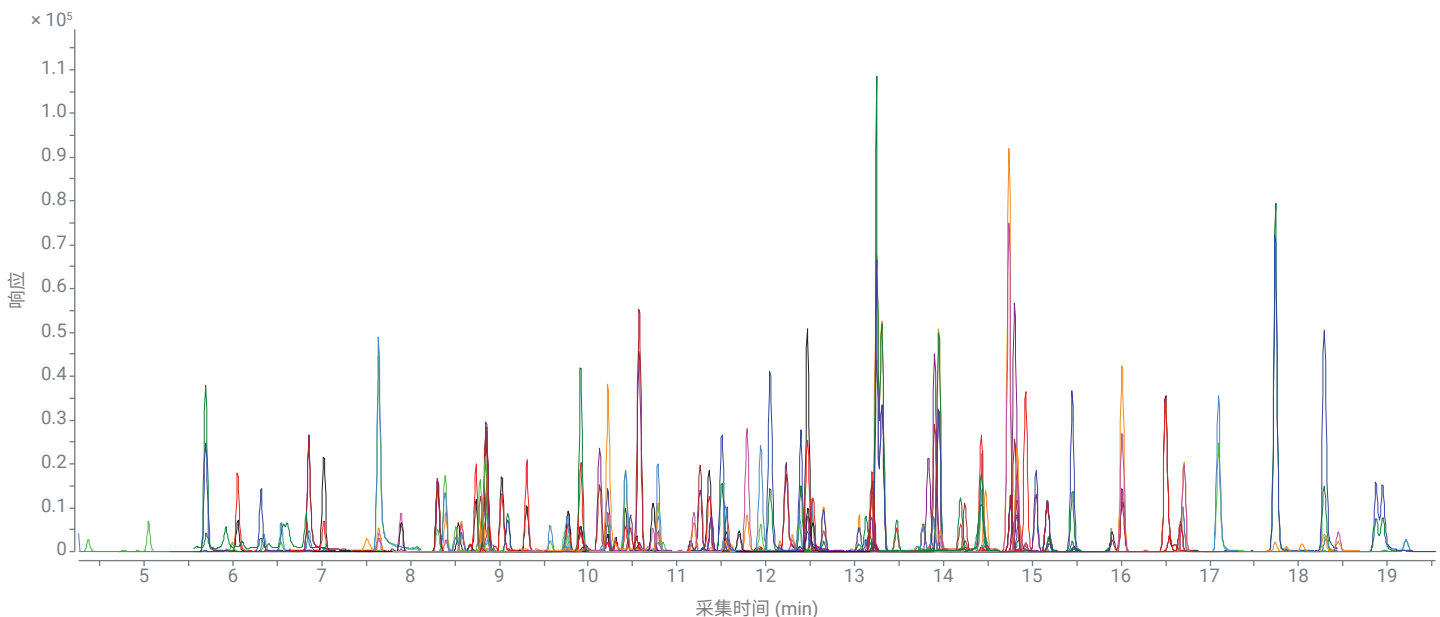


图 1. 提取的黑莓样品中加标浓度为 100 ng/g 的 108 种目标农药的 GC/MS/MS MRM 色谱图。使用 Agilent Bond Elut QuEChERS EN 萃取试剂盒以及 Agilent Captiva EMR-GPF 净化进行样品前处理

Captiva EMR-GPF 可实现便捷的直通式净化。可以进行重力洗脱。在进行样品的 LC/MS/MS 分析时，可以直接将样品洗脱液进样至 LC/TQ 仪器，也可以在进样前用水进一步稀释样品。而对于样品的 GC/MS/MS 分析，需要将样品洗脱液通过无水 $MgSO_4$ 粉末进一步干燥。添加 $MgSO_4$ 的操作非常简单，可以直接从 Agilent Bond Elut QuEChERS EMR-Lipid 除脂萃取盐包中取一小刮片（约 200-300 mg）无水 $MgSO_4$ 粉末。无需精确添加 $MgSO_4$ ，可以通过两个简单的迹象来确认是否完全去除残留水分。首先，涡旋混合过程中应可以看到乳白色的均匀样品混合物。其次，盐在沉淀后应以粉末的形式沉淀，而非以凝固的团块状沉淀在底部。图 3 显示了在 Captiva EMR-GPF 净化之后、GC/MS/MS 分析之前进行样品干燥的步骤图示。

方法性能评估

本研究分别评估了黑莓、蓝莓和覆盆子 3 种浆果基质的色素去除、目标物回收率和重现性、基质匹配校准曲线线性以

及定量限 (LOQs) 的性能。为评估回收率和重现性，在浆果样品匀浆中以 10 和 100 ng/g 预加标两个浓度的质量控制 (QC) 样品。然后按照流程制备加标样品和基质空白样品。将最终的基质空白提取物相应地后加标 10 和 100 ng/mL。在每个浓度水平制备六个平行的预加标 QCs。使用预加标与后加标 QC 样品中相应目标物的峰面积比，计算样品前处理过程中的目标物回收率。此外，使用含有 GCB 的 Bond Elut QuEChERS 通用型 dSPE（含有 GCB 的 U-dSPE）的传统 dSPE 净化，比较黑莓中目标物的回收率和重现性。通过以 1、2、5、10、50、100、250、400 和 500 ng/mL 对三种基质空白提取物进行后加标，来评估基质匹配校准曲线的线性和 LOQ。由保留时间和 MRM 离子对确定分析物鉴定、确认和定量结果。

结果与讨论

Carbon S 吸附剂和 Captiva EMR 直通式净化

Agilent Carbon S 吸附剂是一种先进的混合碳材料，对碳含量和孔结构进行了优化。与 GCB 吸附剂相比，这种改进的吸附剂可为植物源性样品基质提供相同或更出色的色素去除效果，并显著提高敏感的目标分析物的回收率。因此，Carbon S 吸附剂可在分析物回收率和基质色素去除效率之间实现出色的平衡。

Captiva EMR-Lipid 产品最先引入了 Captiva EMR 直通式净化方法。EMR-Lipid 直通式净化方法可为脂质去除提供高选择性和效率，使其成为一种方便、快速且可靠的样品基质净化技术。这种样品净化方法尤其适用于多类别、多残留分析，因为基质净化的原理是选择性保留不必要的基质干扰物，大大降低对目标物回收率的影响。与传统的 dSPE 净化相比，直通式净化提供了简化的工作流程步骤，例如无

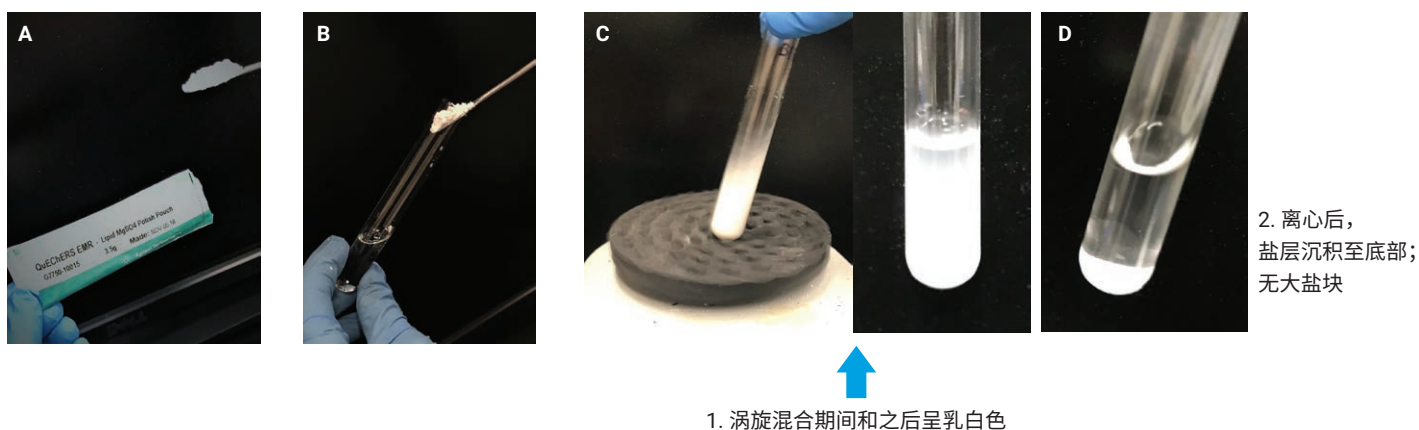


图 3. 样品经 Agilent Captiva EMR-GPF 净化后干燥，待 GC/MS/MS 分析。(A) 在 Agilent Bond Elut QuEChERS EMR-Lipid 除脂萃取盐包中用刮片取一份 $MgSO_4$ 无水粉末。(B) 将 $MgSO_4$ 粉末加入含净化后样品洗脱液的收集管中。(C) 将样品涡旋混合 2-3 分钟。(D) 将样品离心 3 分钟。(1) 和 (2) 是完全去除残留水分的关键指标

需进行 dSPE 管的开盖和加盖、涡旋和离心。使用 Captiva EMR-Lipid 产品进行直通式净化已广泛用于食品中脂肪基质的 GC/MS/MS 分析^[3-5]。

新型 Carbon S 吸附剂使安捷伦进一步扩充了 Captiva EMR 系列产品，从而为植物源性样品基质（包括新鲜和干性基质）提供高选择性且高效的基质直通式净化。针对各种复杂的植物样品基质开发了五款采用优化配方的新型 Captiva EMR 过滤柱。表 3 显示了所有 Captiva EMR 过滤柱的详细说明及相关建议。

针对多残留目标物回收率和基质净化效率，对吸附剂配方进行了精心和全面的优化。根据不同的基质，这些 EMR 过滤柱可提供高选择性、高效的基质净化，包

括有机酸、色素、脂质/脂肪和其他疏水性干扰物。所有 EMR 过滤柱中都不包含 dSPE 试剂盒中常用的无水 MgSO₄ 粉末，因为研究表明，在净化过程中同时使用 MgSO₄ 去除水会对缓冲效果造成显著影响并导致一些不稳定农药的损失。因此对于 GC 和 GC/MS 分析，需要在 EMR 净化后进一步干燥，完全去除残留水分。

对于本研究中的新鲜浆果基质（黑莓、蓝莓和覆盆子），在 QuEChERS 提取后使用 Captiva EMR-GPF 3 mL 过滤柱进行直通式净化。在所有三种浆果基质中均实现了有效的基质色素去除。图 4 显示了直通式净化之前和之后的视觉外观。还通过 450 nm 处的 LC/UV 检测分析了净化之前和之后的样品，证明色素去除 > 99%。

表 3. Agilent Captiva EMR 过滤柱及其关于不同植物源性基质的建议

产品名称	吸附剂	载样量	样品基质建议	适用的样品基质示例
Captiva EMR-Lipid	Captiva EMR-Lipid	3 mL 过滤柱为 2.5-3 mL； 6 mL 过滤柱为 5-6 mL	高脂油性基质	食用油
Captiva EMR-HCF1	Carbon S/NH ₂	3 mL	高叶绿素含量新鲜叶类蔬菜	菠菜、欧芹、苜蓿
Captiva EMR-HCF2	Carbon S/PSA	3 mL	高叶绿素含量新鲜叶类蔬菜	菠菜、欧芹、苜蓿
Captiva EMR-GPF	Carbon S/PSA/ EC-C18	3 mL	含普通色素的新鲜植物源性基质	浆果、辣椒、西兰花、葡萄
Captiva EMR-GPD	Captiva EMR-Lipid/ PSA/EC-C18/ Carbon S	2.5-3 mL	含普通色素的干性植物源性基质	香料、茶叶、咖啡
Captiva EMR-LPD	Captiva EMR-Lipid/ PSA/EC-C18/ Carbon S	2.5-3 mL	色素含量低/无色素的干性植物源性基质	坚果、低色素香料、烟草

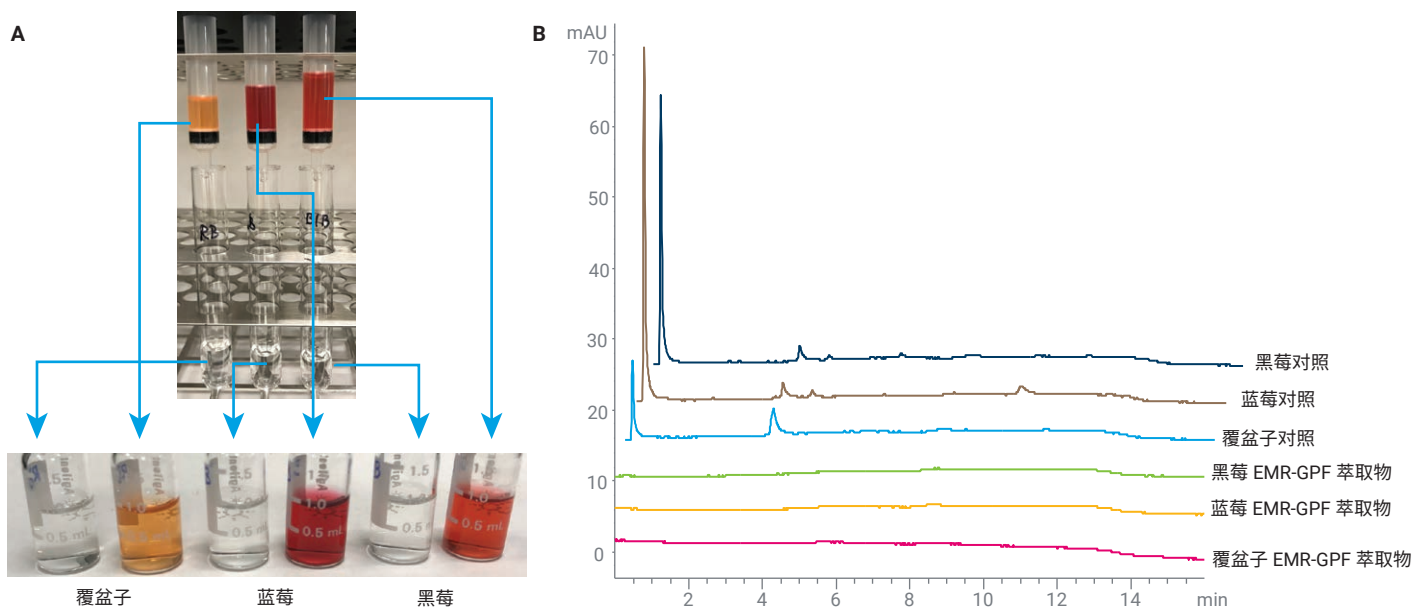


图 4. 浆果基质样品色素去除效率展示。(A) 萃取样品在 Captiva EMR-GPF 净化之前和之后的颜色对比。(B) 萃取浆果样品在 Captiva EMR-GPF 净化之前和之后的 LC-UV ($\lambda = 450 \text{ nm}$) 叠加色谱图

样品前处理过程

对于新鲜水果和蔬菜基质，QuEChERS 萃取被广泛用作标准样品萃取流程。在本研究中，使用 Bond Elut QuEChERS EN 萃取试剂盒实施标准 QuEChERS 萃取方法。萃取完成后，将 3 mL 粗提物上样至 3 mL Captiva EMR-GPF 过滤柱中进行直

通式净化。在重力作用下进行洗脱，对于 3 mL 浆果粗提物，整个洗脱过程需要 5-10 分钟。然后用无水 MgSO_4 粉末干燥样品洗脱液，以便进行 GC/MS/MS 分析。添加的无水 MgSO_4 量不必精确或准确。干燥流程和完全除水的指示如图 3 所示。

样品前处理方法性能评估

使用以下实验全面评估了使用 Captiva EMR-GPF 净化的样品前处理方法：

- Captiva EMR-GPF 净化与含有 GCB 的 U-dSPE 净化的分析物回收率对比
- 方法定量准确度和精度验证
- 在三种浆果基质（黑莓、蓝莓和覆盆子）中进行方法交叉验证，验证 10 ng/g 加标浓度 ($n = 6$) 下的分析物回收率和重现性，以及基质中 LOQ 最高 500 (或 400) ng/g 动态范围内的校准曲线线性

A. Captiva EMR-GPF 净化与含有 GCB 的 U-dSPE 净化的分析物回收率对比

比较新开发的 Captiva EMR-GPF 净化方法以及含有 GCB 的传统 U-dSPE 净化方法的分析物回收率和重现性。普遍接受的回收率范围标准为 70%–120%，使用 Captiva EMR-GPF 净化后所有 108 个目

标物均在回收率可接受范围内，失败率为 0%。相比之下，当使用含有 GCB 的 U-dSPE 净化时，有 5 个目标物超出了回收率可接受范围，失败率为 4.6%。在 5 个失败的目标物中，有 4 个目标物回收率显著偏低，在加标后样品中的响应值明显更低。这表明含有 GCB 的 U-dSPE 净

化会造成这些敏感农药的大量损失。不同基质对这些目标物的影响也使目标物在 GC/MS/MS 仪器上的响应较低。图 6 显示了使用 Captiva EMR-GPF 净化与含有 GCB 的 U-dSPE 净化对 10 ppb 预加标和后加标黑莓样品的色谱分析结果对比。

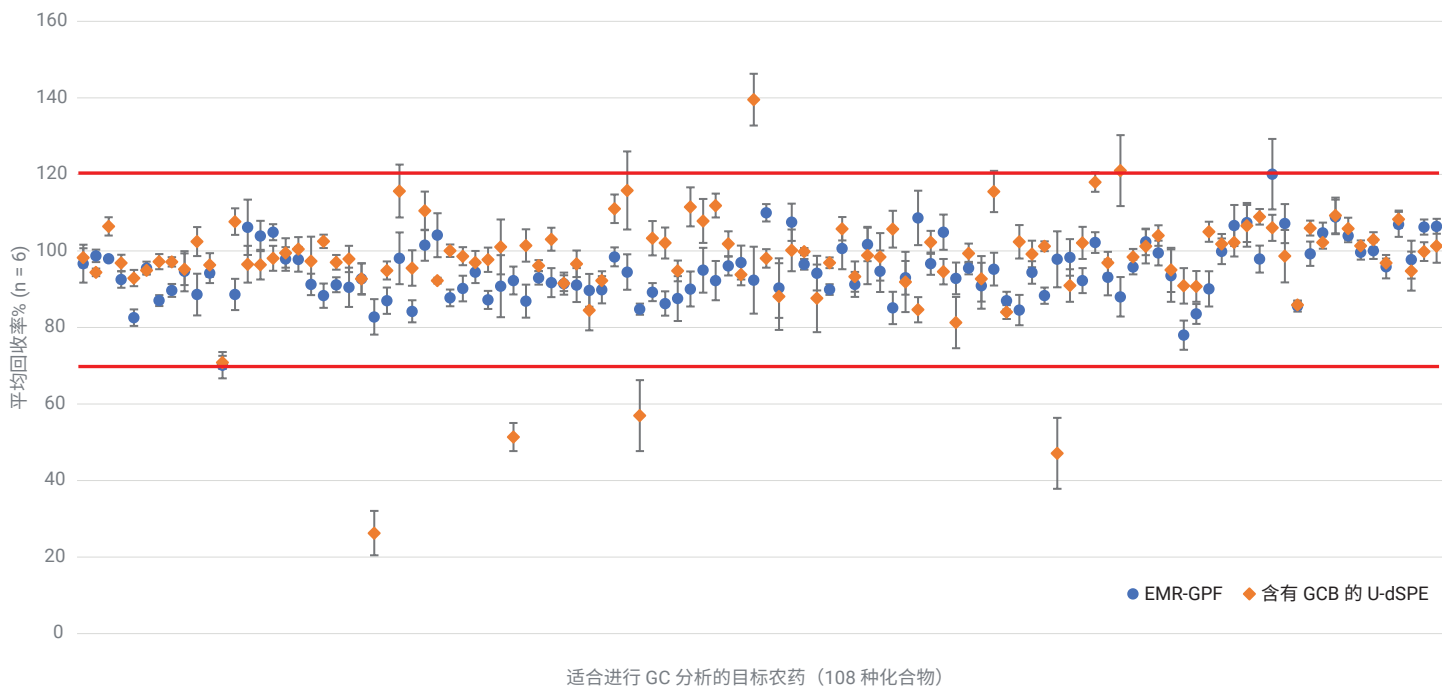


图 5. Captiva EMR-GPF 净化与含有 GCB 的 QuEChERS U-dSPE 净化的目标农药回收率对比。黑莓中的加标浓度为 10 ng/g。农药顺序为 GC/MS/MS 中洗脱的保留时间顺序。请参见表 2 了解目标农药标识

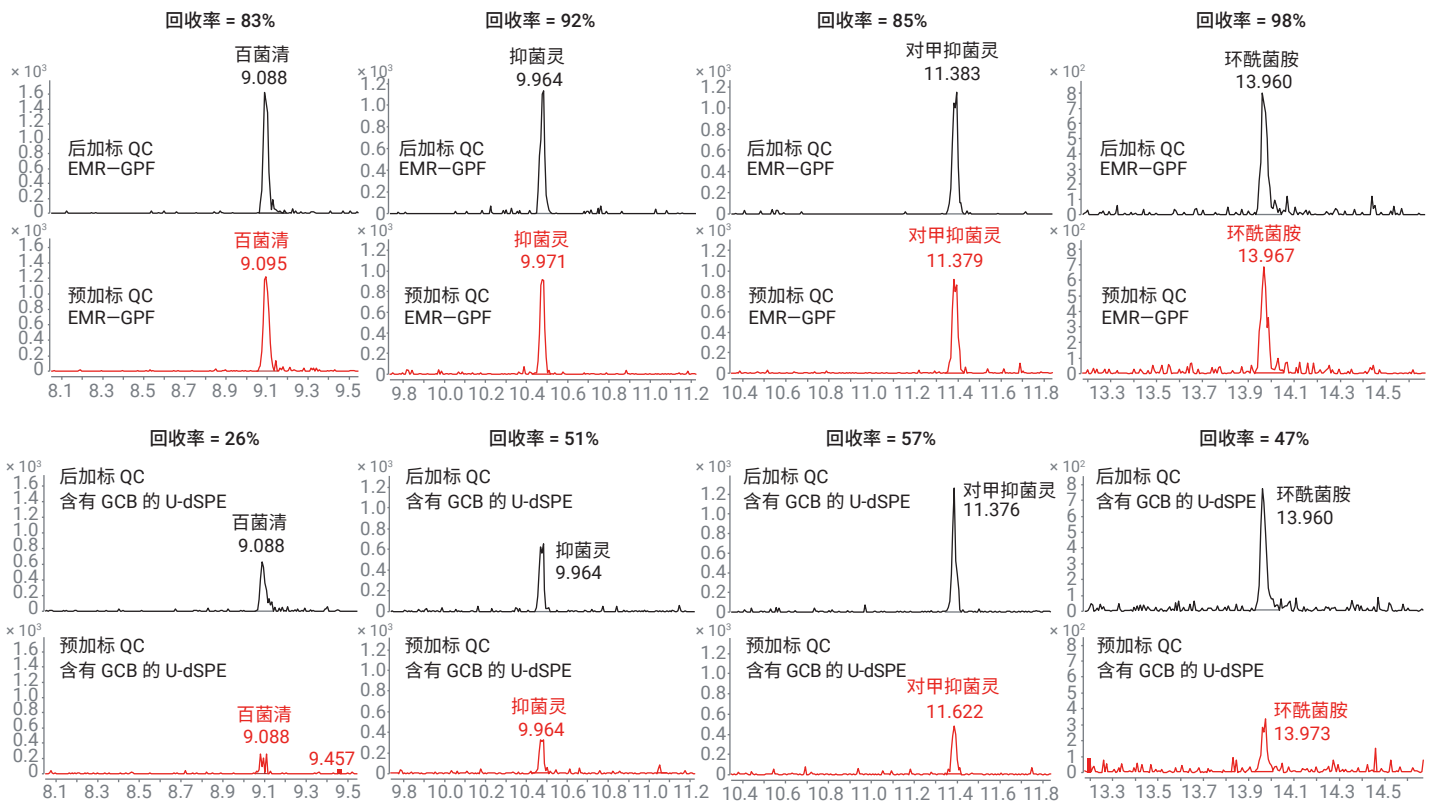


图 6. 使用不同净化方法处理的样品中敏感目标物的色谱分析结果比较

B. 方法定量准确度和精度验证

使用 10 和 100 ng/g 两个浓度的预加标黑莓 QCs 验证了方法定量的准确度和精度。配制了 9 个基质匹配校准标样，覆盖了黑莓中浓度为 1–500 ng/g 的动态范围。使用线性回归和 $1/x^2$ 加权生成校

准曲线。使用 100 ng/g 的三种内标（莠去津-D₅、DDT-D₈ 和 TPP）进行定量。定量结果汇总于表 4 中。在 108 个目标物中，84 个目标物在黑莓中的动态校准范围为 1–500 ng/g，满足可接受的准确度标准；由于缺乏基质中灵敏度或未能达到

可接受的准确度标准，23 个目标物的最低定量限 (LLOQ) 有所增加。由于样品基质空白阳性的影响，马拉硫磷的 LLOQ 显著升高。确认存在的马拉硫磷阳性也直接导致 10 ng/g 低浓度 QC 的计算浓度大大提高，因此不符合准确度可接受标准。

表 4. 黑莓结果汇总中的方法定量验证

农药	校准曲线			准确度和精度			
	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²	低浓度 QC (10 ng/g, n = 6)		高浓度 QC (100 ng/g)	
				平均准确度 (%)	RSD%	平均准确度 (%)	RSD%
敌敌畏	1	500	0.9968	107	3.7	103	4.2
敌草腈	1	500	0.9993	101	3.1	95	2.7
速灭磷	1	500	0.9965	98	4.9	102	4.4
苯胺灵	1	500	0.9936	108	5.8	100	1.7
虫螨畏	1	500	0.9957	94	3.5	97	2.2
2-苯基苯酚	1	500	0.9949	96	4.2	100	5.3
草达灭	1	500	0.9993	99	3.5	98	1.7
二苯胺	1	500	0.9985	92	4.1	95	4.7
乙丁烯氟灵	1	500	0.9881	94	5.6	105	3.5
治螟磷	1	500	0.9984	94	7.2	102	3.9
β-BHC	1	500	0.9972	98	6.4	100	5.4
六氯苯	1	500	0.9985	82	7.9	74	3.9
内吸磷-S ¹	2	500	0.9921	94	4.8	98	6.6
西玛津 ¹	2	500	0.9951	103	12.7	99	6.4
莠去津	1	500	0.9919	92	6.5	104	5.5
胺丙畏	1	500	0.9990	106	5.9	100	5.9
草达津	1	500	0.9989	93	3.0	99	1.1
特丁津	1	500	0.9980	86	9.3	98	4.1
特丁磷	1	500	0.9949	89	4.2	100	3.1
林丹	1	500	0.9928	99	9.1	101	2.0
二嗪农	1	500	0.9961	101	9.4	104	1.7
啞霉胺	1	500	0.9932	84	6.5	96	1.6
百菌清	1	500	0.9945	60	5.6	77	2.6
抗蚜威	1	500	0.9988	90	7.2	98	4.2
磷酸 ¹	2	500	0.9935	80	8.5	102	9.7
啞草酮 ¹	2	500	0.9928	105	9.8	99	3.4
甲基毒死蜱	1	500	0.9919	91	4.5	104	7.6
杀螟硫磷	1	500	0.9986	99	9.5	100	4.3
甲基立枯磷	1	500	0.9972	98	4.6	100	2.8
七氯	1	500	0.9970	101	7.5	100	4.0
甲基嘧啶磷	1	500	0.9966	94	4.2	99	2.9
克螨特 ¹	5	500	0.9964	96	5.0	101	4.7
马拉硫磷 ²	50	500	0.9961	147	11.1	103	0.8
抑菌灵	1	500	0.9911	61	8.4	78	7.3
乙霉威 ¹	10	500	0.9918	91	11.4	103	8.7
异丙甲草胺	1	500	0.9980	95	8.2	100	3.9
氟醚唑	1	500	0.9950	92	2.8	103	7.8
艾氏剂	1	500	0.9966	98	2.8	96	3.6
三唑酮	1	500	0.9932	92	6.87	103	6.0
二甲戊乐灵	1	500	0.9942	102	12.0	106	6.6
吡啶草胺	1	500	0.9981	96	3.7	102	3.3
毒虫畏	1	500	0.9925	99	2.9	102	4.1
Marcabam ¹	5	500	0.9909	103	5.5	97	5.3

农药	校准曲线			准确度和精度			
	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²	低浓度 QC (10 ng/g, n = 6)		高浓度 QC (100 ng/g)	
				平均准确度 (%)	RSD%	平均准确度 (%)	RSD%
对甲抑菌灵 ¹	2	500	0.9929	84	1.4	97	3.7
嗉硫磷	1	500	0.9950	83	8.1	97	3.0
氟菌唑	1	500	0.9952	104	3.2	105	5.6
三唑醇 ¹	5	500	0.9988	100	5.7	103	8.4
腐霉利	1	500	0.9918	94	7.5	104	2.1
克菌丹 ¹	5	500	0.9903	86	5.6	81	13.0
杀扑磷	1	500	0.9916	89	5.1	102	5.1
多效唑	1	500	0.9995	102	5.0	103	5.8
啉菌胺	1	500	0.9953	86	7.7	95	5.1
硫丹 I ¹	5	500	0.9980	94	15.6	103	5.1
咯菌腈 ¹	2	500	0.9980	89	8.3	102	4.8
己唑醇 ¹	2	500	0.9923	89	15.6	100	8.7
丙溴磷	1	500	0.9916	80	6.0	103	2.6
恶草酮	1	500	0.9973	96	7.8	102	4.4
三环唑 ¹	5	500	0.9952	94	8.2	92	6.4
DDE	1	500	0.9987	94	4.2	95	2.5
烯效唑	1	500	0.9934	88	4.0	100	4.9
乙啶磺酸酯	1	500	0.9956	100	5.9	101	2.8
氟硅唑	1	500	0.9919	104	5.9	103	3.3
狄氏剂 ¹	2	500	0.9907	95	6.6	102	2.0
异狄氏剂 ¹	2	500	0.9961	108	13.5	104	2.5
异菌脲	1	500	0.9948	99	7.0	97	3.0
烯唑醇	1	500	0.9988	95	5.9	105	1.6
恶霜灵	1	500	0.9949	103	5.1	105	0.9
乙硫磷	1	500	0.9942	82	7.2	100	2.1
硫丹 II ¹	5	500	0.9937	101	10.9	106	7.2
DDD	1	500	0.9967	92	6.5	103	1.7
三唑磷 ¹	2	500	0.9946	87	0.7	102	3.6
丙环唑 I ¹	2	500	0.9934	108	5.0	100	3.2
苯氧喹啉	1	500	0.9972	89	7.0	90	1.9
丙环唑 II	1	500	0.9926	96	8.1	100	2.1
DDT	1	500	0.9967	91	3.9	100	1.0
环酰菌胺 ¹	2	500	0.9911	76	12.5	87	7.8
戊唑醇	1	500	0.9960	97	9.4	104	1.7
苯酰菌胺	1	500	0.9914	77	5.9	105	9.1
氟环唑	1	500	0.9911	87	4.5	93	4.0
螺甲螨酯	1	500	0.9980	85	3.1	96	4.8
联苯菊酯	1	500	0.9988	91	8.8	97	4.5
糠菌唑 I	1	500	0.9942	101	9.0	101	4.7
亚胺硫磷	1	500	0.9939	85	9.4	102	2.6
EPN ¹	2	500	0.9983	87	3.9	89	3.6
氟吡酰草胺	1	500	0.9953	77	4.9	86	4.9
苯氧威	1	250	0.9906	101	4.7	87	1.7

农药	校准曲线			准确度和精度			
	LLOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²	低浓度 QC (10 ng/g, n = 6)		高浓度 QC (100 ng/g)	
				平均准确度 (%)	RSD%	平均准确度 (%)	RSD%
甲氧氯	1	500	0.9913	87	3.8	96	4.1
吡螨胺	1	500	0.9973	89	4.5	97	3.5
糠菌唑 II	1	500	0.9943	88	5.3	99	4.1
酮康唑	1	500	0.9971	89	7.5	96	6.3
甲基吡啶磷	1	500	0.9964	89	3.2	88	7.5
伏杀磷	1	500	0.9935	72	3.9	83	6.0
种菌唑	1	500	0.9935	86	5.6	100	8.1
灭蚁灵	1	500	0.9985	97	6.3	108	5.6
氯苯嘧啶醇	1	500	0.9973	86	6.3	100	5.9
联苯三唑醇	1	500	0.9969	95	7.4	105	6.7
氯菊酯	1	500	0.9939	91	6.5	99	5.4
蝇毒磷	1	500	0.9954	81	9.0	97	7.5
氟啶唑	1	500	0.9932	89	8.2	100	5.7
腈苯唑	1	500	0.9969	94	8.8	102	4.6
醚菊酯	1	500	0.9979	90	6.8	97	3.1
丙炔氟草胺 ¹	2	500	0.9929	96	9.6	96	4.6
唑菌胺酯	1	500	0.9902	100	7.3	108	5.6
苯醚甲环唑	1	500	0.9992	89	7.3	101	6.0
溴氰菊酯	1	500	0.9990	96	7.9	111	5.8

¹ 由于分析物在基质中的灵敏度或可接受标准失败，LLOQ 升高

² 由于基质影响导致 LLOQ 升高

C. 在其他浆果基质中进行方法交叉验证

将该方法扩展到另外两种浆果基质（蓝莓和覆盆子）进行交叉验证，包括验证基质中 10 ng/g 预加标浓度的回收率和重现性，以及 1-500 ng/g 的校准曲线线性。图 7 显示了所有三种浆果基质中定量结果的统计汇总。黑莓和覆盆子均获得了良好的定量结果，回收率、重现性和校准曲线线性可接受标准 < 1%。蓝莓的失败率略高，分别有 3.7%、6.5% 和 1.8% 的目标物未能满足回收率、RSD 和校准曲线线性的可接受标准。显然，样品基质的复杂度直接影响方法定量结果。然而，对于 100 多种农药残留分析，> 90% 的合格率可以接受。

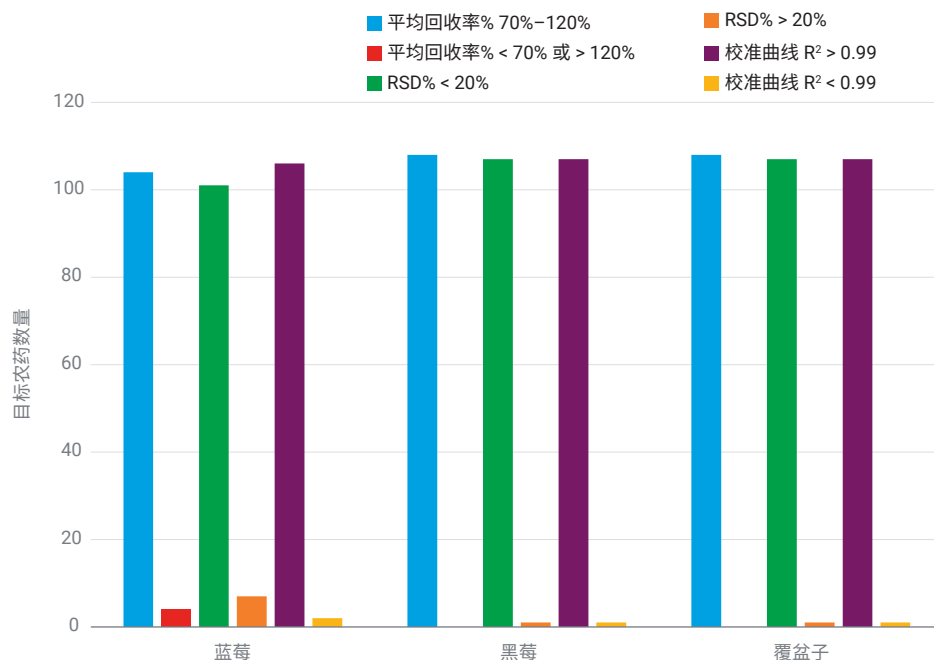


图 7. 蓝莓、黑莓和覆盆子定量结果统计汇总

结论

本研究开发了一种简单、快速且可靠的方法，并通过对浆果中 108 种适合进行 GC 分析的农药进行 GC/MS/MS 分析进行了验证，该方法使用 Agilent Bond Elut QuEChERS EN 萃取试剂盒进行萃取，然后使用 Agilent Captiva EMR-GPF 过滤柱进行直通式净化。与传统的 dSPE 净化相比，Captiva EMR-GPF 过滤柱可实现方便和简化的样品直通式净化，从浆果基质中高选择性、高效地去除色素，提高敏感目标物的回收率和重现性，让多类别多种农药残留分析实现了更高的通过率。在可接受标准方面，综合考虑目标物回收率、RSD 和校准线性结果，定量结果显示蓝莓的合格率 > 93%，黑莓和覆盆子的合格率 > 99%。此外，净化后的最终无色萃取物也表明实现了高效的色素去除，UV 吸光度降低了 99% 以上。

参考文献

1. González-Curbelo, M. Á. *et al. Trends In Anal. Chem.* **2015**, 71, 169–185
2. Varela-Martínez, D. A.; *et al. Liquid-Phase Extraction Handbooks in Separation Science*, **2020**, Chp 14, 399–437
3. Santos P. J. 等. 使用 Agilent Captiva EMR-Lipid 以及 GC/MS/MS 对三文鱼中的多残留农药进行分析，*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5994-1717ZHCN，**2020**
4. Zhao L, Determination of 14 Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Compounds in Edible Oil (测定食用油中的 14 种多环芳烃化合物)，*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5994-1483EN，**2019**
5. Zhao L. *et al. Multi-Class Multi-Residue Analysis of Pesticides in Edible Oil by Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Using Liquid-Liquid Extraction and Enhanced Matrix Removal Lipid Cartridge Cleanup*, *J. Chromatogr. A* **2019**, 1584, 1–12

查找当地的安捷伦客户中心：

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

www.agilent.com

本文中的信息、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，2022
2022 年 5 月 19 日，中国出版
5994-4764ZHCN