

GC-MS/MS法一针测定植物性食品中 208种农残及代谢物

作者

邓武剑 彭倩 金琦芸 王申
赛默飞世尔科技（中国）有限公司
色谱质谱部

关键词:

植物性食品, 农药及代谢物, TSQ
9000, 食品安全

前言

中国是农药生产和使用大国, 农药广泛用于农业生产中, 同时农药滥用和不规范使用现象比较普遍, 所以在食品中农药残留情况也是比较突出。日常检测中, 农残检测的任务也相当繁重, 当前我国对于农残检测的方法标准主要集中在GC、GCMS等, 随着气相色谱三重四极杆质谱的普及, GC-MS/MS的检测方法以其高选择性、高灵敏度、高通量特点越来越受检测工作者的欢迎, 为此农业部在2017年发布了《食品安全国家标准 植物源性食品中208种农药及其代谢物残留量的测定 气相色谱-质谱联用法》(征求意见稿)。赛默飞应用团队基于此国标方法, 开发了应对不同基质中农残前处理方式, 以及配套的仪器方法和数据处理方法, 以满足农残检测快速、准确、高通量的要求。

基于QuEChERS前处理技术, 我们开发了上海青、大米、花生油、茶叶四种具有代表性的样品基质的提取净化方法, 基于TSQ 9000的Time-SRM扫描方式建立了一针检测208种农药的仪器方法(Instrument Method), 依托TraceFinder软件开发了对应的数据处理方法(Master Method)。对样品基质进行了不同浓度的加标回收测算, 经过基质标准曲线定量计算, 大部分的化合物回收率在80-120%之间, 基质标准曲线浓度在0.01-0.2 mg/kg范围内, 所有化合物的线性相关系数均在0.99以上, 定量限都能做到0.01 mg/kg。

2. 仪器

气相色谱-三重四极杆质谱仪TSQ 9000 (赛默飞世尔科技, 美国), Pesticides II 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm with 5 m guard (PN: 26RD142F) 毛细管色谱柱。

3. 主要试剂和材料

3.1 乙腈 (色谱纯)

3.2 正己烷 (色谱纯)

3.3 冰醋酸 (分析纯)

3.4 酸化乙腈 (1:99): 取10 mL冰醋酸 (3.3) 加入到990 mL乙腈 (3.1) 中, 混匀

3.5 正己烷饱和的乙腈: 取500 mL乙腈 (3.1), 往里加入正己烷 (3.2), 直到有明显分层

3.6 QuEChERS盐包1 (PN: 60105-333-P): 含4 g硫酸镁、1 g氯化钠、1 g柠檬酸钠、0.5 g柠檬酸氢二钠

3.7 QuEChERS盐包2 (PN: 60105-335-P): 含6 g无水硫酸镁、1.5 g醋酸钠

3.8 QuEChERS净化管1 (PN: 60105-218-P): 内含900 mg硫酸镁、150 mg PSA及15 mg GCB的15 mL塑料离心管

3.9 QuEChERS净化管2 (PN: 60105-226): 内含1200 mg硫酸镁、400 mg PSA、400 mg C18及400 mg GCB的15 mL塑料离心管

3.10 QuEChERS净化管3 (PN: 60105-225-P): 内含1200 mg硫酸镁、400 mg PSA及400 mg C18的15 mL塑料离心管

4 实验部分

4.1 QuEChERS前处理方法

根据不同的样品基质类型, 前处理有如下四种基本流程:

4.1.1 上海青 (适用于蔬菜、水果和食用菌类)

称取10 g已均质好的试样 (精确至0.01 g) 于50 mL塑料离心管中, 加入10 mL乙腈 (3.1), 充分混匀后, 放入-20℃冰箱冷冻10 min, 再加入4 g硫酸镁、1 g

氯化钠、1 g柠檬酸钠、0.5 g柠檬酸氢二钠等盐包 (PN: 60105-333-P), 盖上离心管盖, 剧烈震荡1 min后, 9000 r/min离心6 min。吸取6 mL上清液到内含900 mg硫酸镁、150 mg PSA及15 mg GCB的15 mL塑料离心管中 (PN: 60105-218-P), 涡旋混匀1 min, 9000 r/min离心6 min, 吸取1 mL上清液于进样瓶中, 待上机测定。

4.1.2 大米 (适用于谷物、油料和坚果类)

称取5 g已粉碎的试样 (精确至0.01 g) 于50 mL塑料离心管中, 加10 mL水涡旋混匀, 静置30 min。加入10 mL 1%醋酸乙腈溶液 (3.4), 充分混匀后, 放入-20℃冰箱冷冻10 min, 再加入6 g无水硫酸镁、1.5 g醋酸钠等盐包 (PN: 60105-335-P), 盖上离心管盖, 剧烈震荡1 min后9000 r/min离心6 min。吸取6 mL上清液加到内含1200 mg硫酸镁、400 mg PSA及400 mg C18的15 mL塑料离心管中 (PN: 60105-225-P), 涡旋混匀1 min。9000 r/min离心6 min, 吸取1 mL上清液于进样瓶中, 待上机测定。

4.1.3 普洱茶 (适用于茶叶和香辛料类)

称取2 g已粉碎的试样 (精确至0.01 g) 于50 mL塑料离心管中, 加10 mL水涡旋混匀, 静置30 min。加入10 mL 1%醋酸乙腈溶液 (3.4), 充分混匀后, 放入-20℃冰箱冷冻10 min, 再加入6 g无水硫酸镁、1.5 g醋酸钠等盐包 (PN: 60105-335-P), 盖上离心管盖, 剧烈震荡1 min后9000 r/min离心6 min。吸取6 mL上清液加到内含1200 mg硫酸镁、400 mg PSA、400 mg C18及400 mg GCB的15 mL塑料离心管中 (PN: 60105-226), 涡旋混匀1 min。9000 r/min离心6 min, 吸取1 mL上清液于进样瓶中, 待上机测定。

4.1.4 花生油 (适用于食用油类)

称取2 g试样 (精确至0.01 g) 于50 mL塑料离心管中, 加入10 mL正己烷饱和的乙腈 (3.5), 剧烈震荡1 min后9000 r/min离心6 min。吸取乙腈层加到内含1200 mg硫酸镁、400 mg PSA及400 mg C18的15 mL塑料离心管中 (PN: 60105-225-P), 涡旋混匀1 min。9000 r/min离心6 min, 吸取1 mL上清液于进样瓶中, 待上机测定。

4.2. 样品基质溶液:

选取空白样品, 用 (4.1) 前处理方式得到的空白基质溶液。

4.3. 标准溶液的配置

7.1 标准储备液：在十万分之一分析天平上称取每种农药单标化合物 10 mg，加入 10 mL 相应的溶剂（根据不同的化合物加入丙酮、甲苯或者乙腈）溶解，配制成浓度为约 1000 mg/L 的溶液。每种单个标准储备液的浓度根据称样量和加入溶剂的体积计算得到。所有单标储备液在 -20 °C 冰箱中冷冻保存。单标储备液的有效期为 6 个月。

7.2 混合标准中间液：移取适量的单标储备液，用乙腈稀释。中间标准储备液的浓度为 10.0 mg/mL。中间标准储备液在 -20 °C 冰箱中冷冻保存。中间储备液的有效期为 3 个月。

7.3 工作标准溶液：取适量的混合标准中间液，以空白样品基质液（6）依次稀释成浓度为 0.010, 0.020, 0.050, 0.100, 0.200 mg/L 的工作标准溶液。

4.4 仪器方法

4.4.1 气相方法：

柱温箱：40 °C 保持 1.5 min，以 25 °C/min 升至 90 °C，保持 1.5 min，再以 25 °C/min 升至 180 °C，保持 1.5 min，以 5 °C/min 升至 280 °C，最后以 10 °C/min 升温到 300 °C，保持 5 min；SSL 进样口：温度 270 °C，进样模式：不分流进样，不分流时间：1 min；载气：恒流，1.2 mL/min。

4.4.2 质谱方法：

传输线温度：280 °C；离子源温度为 300 °C；离子源：EI；采集方式：Time-SRM；分辨率：FWHM 0.7 Da (Q1 和 Q3)；化合物离子对信息来源于 Thermo 农残数据库 CDBI 以及 AutoSRM。

4.5 数据处理

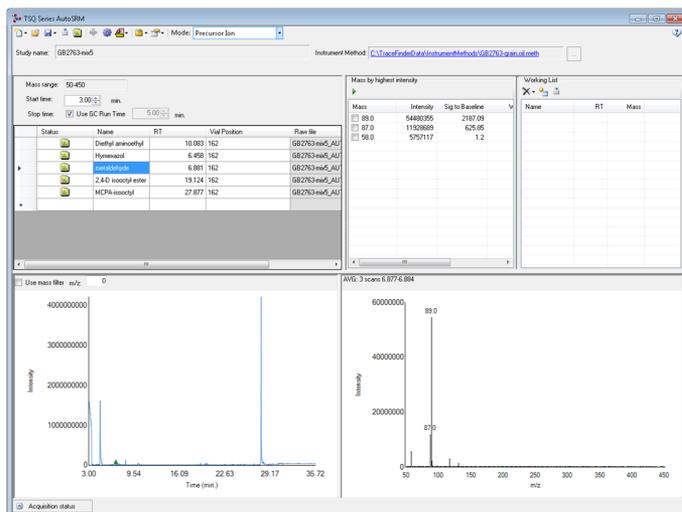
使用 Thermo Scientific™ TraceFinder 软件对数据进行采集、处理和报告分析，该软件可同时实现仪器控制、方法开发、定量/定性分析以及报告编辑。此外，TraceFinder 软件可以根据你所需要的信息自定义报告模板。

4.6 AutoSRM 自动优化化合物离子对信息及碰撞能量

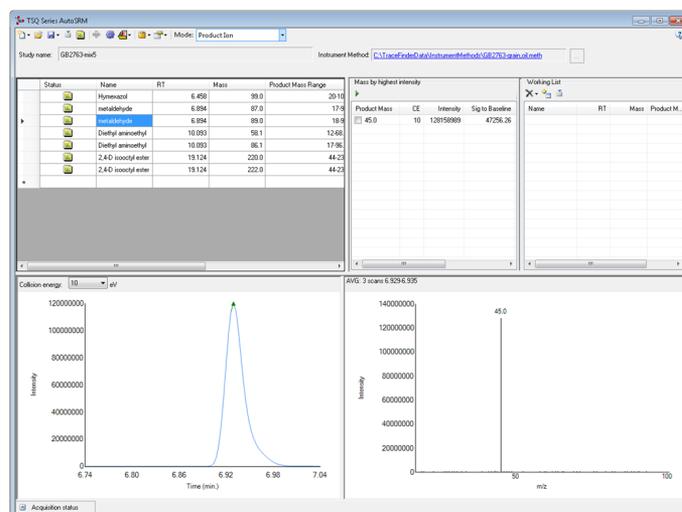
对于串接气质来说，方法优化及建立是非常重要的部分。

常规的方法开发需要对每个未知化合物挑选母离子，子离子以及优化碰撞能量，当未知化合物越多，花费的时间也就越多。赛默飞世尔科技全新一代三重四极杆气相色谱质谱联用仪 TSQ 9000 独有的 AutoSRM 功能，可以自动优化离子对信息及碰撞能量，并且当一次优化的化合物数目较多时，可以智能的调整进样的次数以期在最少的时间得到最优化的方法，使得整个方法建立部分更加简单方便。整个 AutoSRM 的步骤如下：

第一步：选择母离子，进行全扫描（full scan）进样，找到对应化合物的色谱峰，挑选质量数较大，离子丰度高的特征离子作为母离子。



第二步：选择子离子，进行子离子扫描（product ion）进样，挑选出丰度高的离子作为特征子离子。



第三步：优化碰撞能量，选择full range或者Target模式进行SRM碰撞能量优化，在出来的数据中，选择响应最高处的CE值为最优碰撞能量

5. 实验结果及讨论

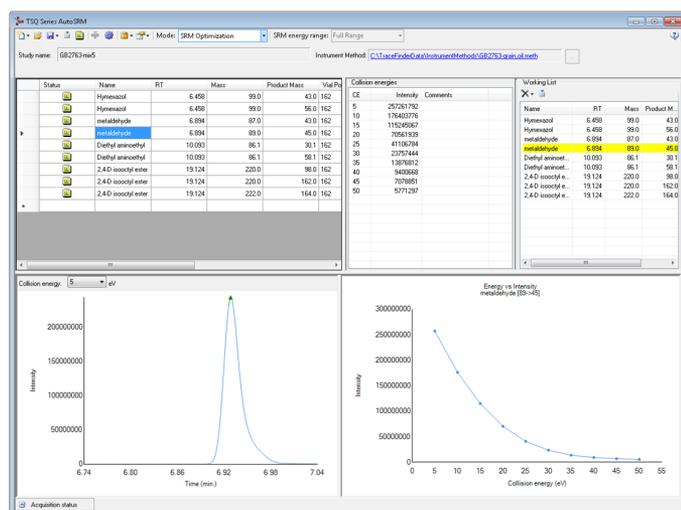
5.1 国标方法定量限要求

208种农药针对不同的样品基质，定量限有所不同，总体分布要求如下：

- a) 蔬菜、水果、食用菌(0.01mg/kg)
- b) 谷物、油料、坚果(0.01-0.02mg/kg)
- c) 茶叶和 香辛料(0.01-0.05mg/kg)
- d) 食用油(0.01-0.02mg/kg)

5.2 标准曲线及检出限

以4种样品空白基质配制0.010、0.020、0.050、0.100、0.200 mg/L的混标溶液，建立标准曲线，相关系数 R^2 均大于0.99。根据国标的要求，定量限最低的要求做到0.01 mg/kg，茶叶基质中混合农药的谱图如图1所示。在本实验方案中，所有化合物定量限能达到0.01 mg/kg，具体样品基质中检出限统计如图2所示。该实验方案的检出限水平远超国标方法的要求。



最终优化的离子对及CE结果可以导出成excel表格，直接导入到仪器方法中，无需手动输入离子对编辑方法，提高工作效率，减少手动输入的错误。

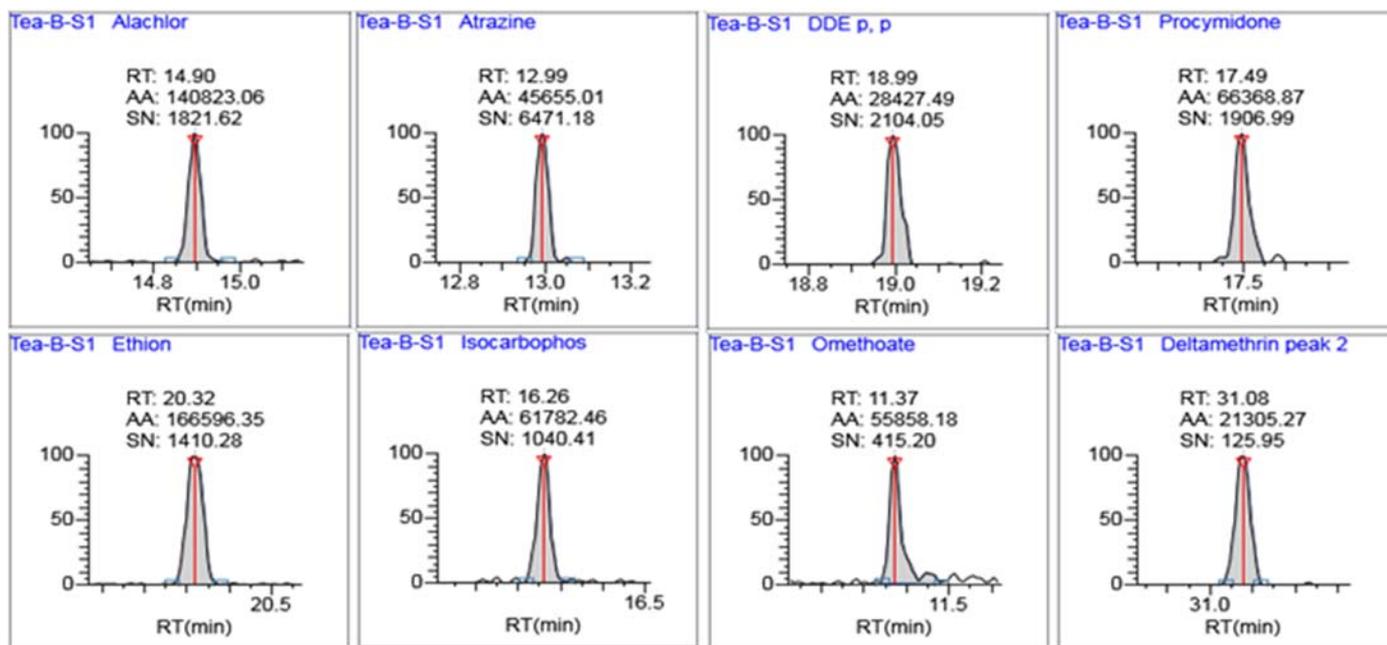
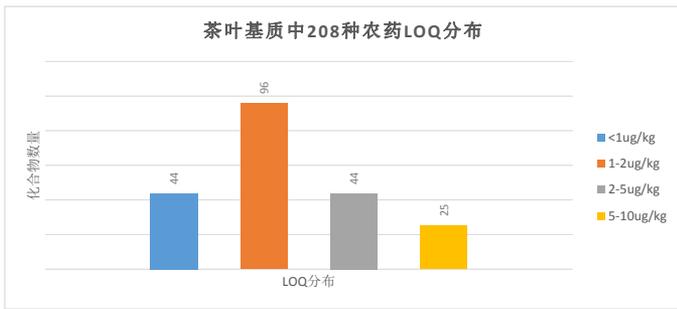
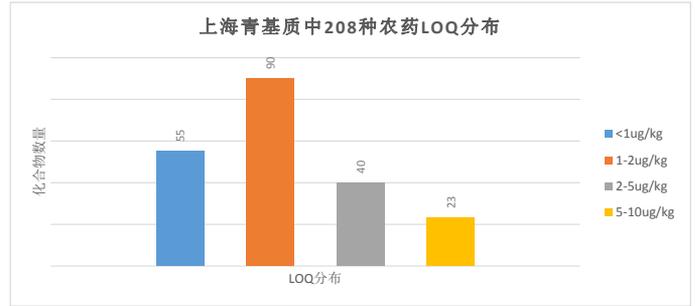


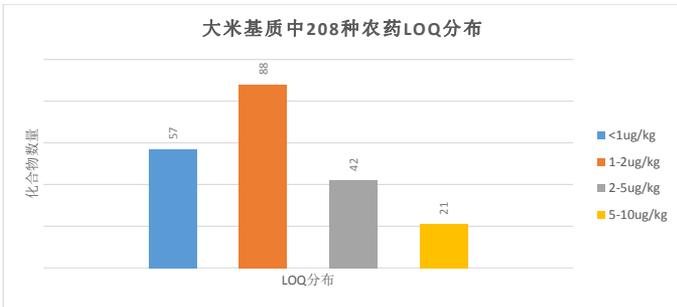
图1 茶叶基质中0.01ug/mL部分农药色谱图



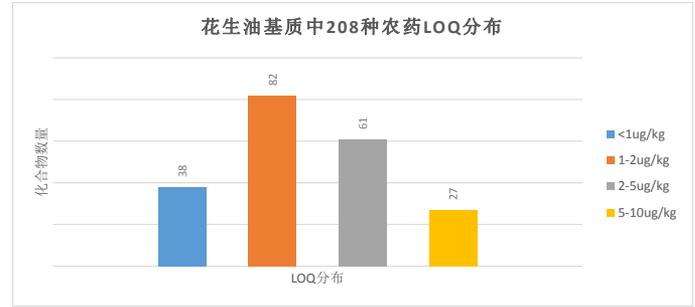
(a) 茶叶基质



(b) 上海青基质



(c) 大米基质



(d) 花生油基质

图2 不同样品中化合物检出限分布 (a-d)

5.2回收率及稳定性

根据4种样品基质，我们分别做了加标回收率实验，在特定的加标浓度下，大部分化合物回收率在80-120%之间，回收率统计见表2。茶叶基质中40ppb浓度的农残，连续进样10针，RSD统计情况如图3。

表2 4种样品基质加标回收情况统计

序号	样品基质	加标量	回收率80-120% 化合物数量	回收率80-120% 占比
1	上海青	50ppb	188	90.4%
2	大米	25ppb	187	89.9%
3	花生油	40ppb	190	91.4%
4	茶叶	40ppb	190	91.4%

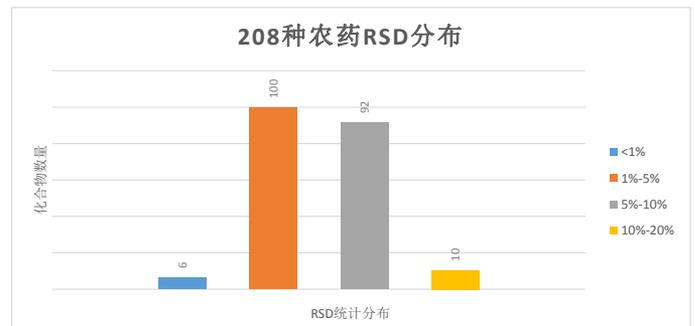


图3 40ppb茶叶基质中农残RSD统计分布 (n=10)

结论

本实验采用QuEChERS前处理方案，Thermo Fisher全新一代三重四极杆质谱TSQ 9000，同时配备Pesticide II色谱柱分离，在Time-SRM的扫描方式下，让仪器方法管理更加智能方便，使208种农药及代谢物在36min内一针完成分析，基于TraceFinder软件一站式的数据处理，一站式完成208种农残的全流程分析检测。该实验室方案具有前处理流程简单、快速、准确、有效，仪器操作简便，方法性能具有卓越的灵敏度和出色的稳定性的特点，完全满足新国标对于农残检测的要求。



赛默飞
官方微信



赛默飞色谱
与质谱中国

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com