
基于QuEChERS法与GC/MS/MS、LC/MS/MS的食品农残同时分析

Analysis of Pesticides in Food Matrix using QuEChERS by Triple Quadrupole
GC/MS/MS and LC/MS/MS

北野 理基¹、川名 修一¹、藤戸 由佳²、猪鼻 祐介¹、荒川 清美¹、平野 一郎¹、宮川 治彦¹

Abstract:

EURL (European Union Reference Laboratory) 报告了138种成分农药基于GC/MS/MS及LC/MS/MS的验证结果, 并推荐138种成分中的66种成分使用三重四极杆型GC/MS/MS、72种成分使用三重四极杆型LC/MS/MS进行分析测定。为此, 本方案使用岛津公司生产的GCMS-TQ8030与LCMS-8040分析了各推荐农药。同时使用GC/MS/MS与LC/MS/MS, 实现了全面、高灵敏度的食品农残分析。

Keywords: 肯定列表制、农残、QuEChERS法、GC/MS/MS、LC/MS/MS

1. 前言

随着人们对食品安全关注的持续高涨, 日本于2006年5月29日起实施了肯定列表制度, 在日本国内对约800种农药·兽药设置了残留标准以及分析法。但每个国家限制对象成分、残留标准值都不相同, 因此, 在食品进口不断增加的形势下, 需要进行快速、全球性的应对。EU已提示了以所谓Qu (Quick; 快速) E (Easy; 简单) Ch (Cheap; 廉价) E (Effective; 有效) R (Ruggedness; 耐用) S (Safe; 安全) 的QuEChERS法作为前处理法的、基于GC/MS/MS和LC/MS/MS的农残简易分析法。

使用GC/MS/MS与LC/MS/MS评价在欧洲主要使用的138种农药成分的结果已由EURL (European Union Reference Laboratory) 做出报告^{*1}。这些农药广泛覆盖了在欧洲各国作为测定对象的农药, 成为各国制作测定方法的指标之一。报告推荐此138种成分中的66种成分使用三重四极杆型GC/MS/MS法、72种成分使用三重四极杆型LC/MS/MS法进行分析。本方案中使用岛津GCMS-TQ8030和LCMS-8040分别对各推荐成分进行了分析。

2. 方法

QuEChERS法¹是于2003年由Anastassiades等发表的农残分析前处理方法。在聚丙烯管内进行乙腈提取·盐析·脱水后, 将用于固相提取的填充剂直接混合在经离心分离的提取溶液之中(分散固相提取: dispersive SPE), 然后进行净化, 这一快速简易的方法已在世界范围内得到广泛应用, 在日本国内也日趋普及。此次样品基质使用了韭菜·辣椒。对这些蔬菜样品进行了QuEChERS法前处理 (Fig. 1), 用于测定。

¹ 分析计测事业部

² 株式会社岛津科学

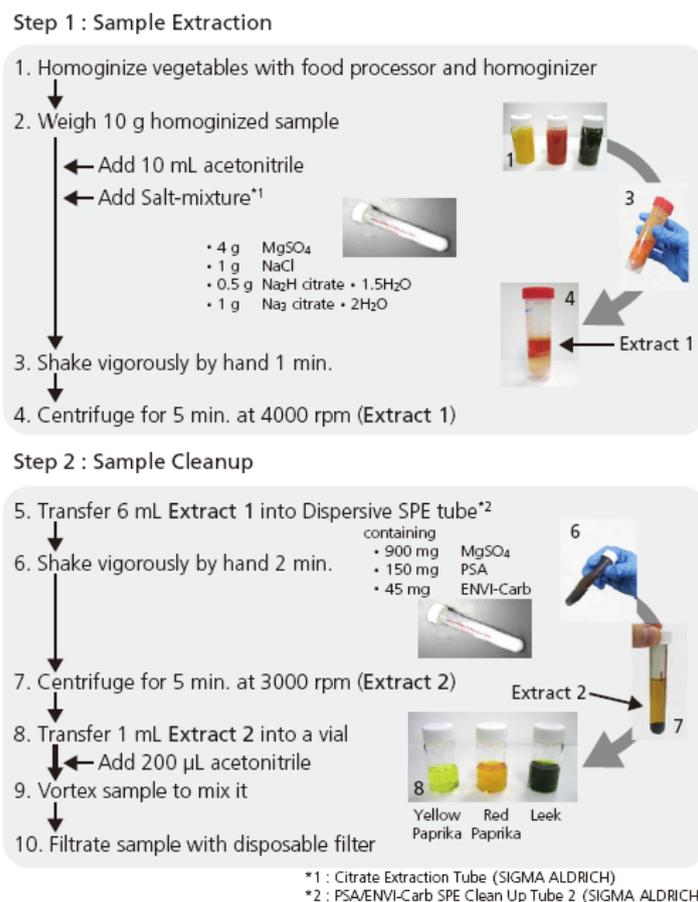


Fig. 1 实际样品的前处理 (QuEChERS 法 EU 方法)

※1 EURL [Multiresidue Method using QuEChERS following by GC-QqQ/MS/MS and LC-QqQ/MS/MS for Fruits and Vegetables]

3. 基于GC/MS/MS的MRM测定

EURL推荐使用GC/MS/MS进行测定的农药的清单如Fig. 2所示。使用GCMS-TQ8030, 按照 Table 1所示的测定条件分析了这66种成分。根据EURL报告制定了这些条件及监测m/z, Fig. 3表示66种成分中6种成分的MRM质谱图。可知即使<10 ppb时, 也实现了高灵敏度分析, 并且, 1ppb的微量样品也能够以高S/N检出。并采用GCMS-TQ8030的SIM模式以及MRM模式分析了在辣椒提取溶液中添加10ppb农药所制作的样品。SIM模式时, 在无CID气体Ar气的状态下, 其他条件使用了与Table 1相同的条件。各自分析结果的比较如Fig. 4所示。采用SIM模式时, 有时即使选择了选择性离子也因基质的影响而难以检测出目标成分。但采用MRM模式时, 由于质量分离部的高选择性, 可以大幅度地去除基质的影响, 实现了目标成分的高灵敏度分析。

使用GC/MS/MS实现了微量成分的高灵敏度分析, 但同时还要求高分析精度。同样在辣椒提取液中添加农药至10 ppb, 对此样品分析, 计算各成分面积重现性 (n=6), 所有成分获得了良好结果。

使用GCMS-TQ8030完成了对推荐使用GC/MS/MS法的所有66种成分的高灵敏度与高可靠性分析。

GC/MS/MS 推荐化合物 (66 成分)

Acrinathrin	Endosulfan	Myclobutanil	Tebufenpyrad
Bifenthrin	Ethion	Oxadixyl	Tefluthrin
Bromopropylate	Etofenprox	Parathion	Tetraconazole
Bupirimate	Etoprofos	Parathion-methyl	Tetradifon
Buprofezin	Fenarimol	Pencimethalin	Tolclofos-methyl
Captan	Fenazaquin	Permethrin	Tolyfluamid
Chlorfenvinphos	Fenitrothion	Phenthoate	Triazophos
Chlorotalonil	Fenpropathrin	Phosalone	Trifluralin
Chlorpropham	Fenthion	Pirimicarb	Vinclozolin
Chlorpyrifos	Fenvalerate	Pirimiphos-methyl	
Clorpyrifos methyl	Fipronil	Procymidone	
Cyfluthrin	Flusilazole	Profenofos	
Cypermethrin	Folpet	Propiconazole	
Cyprodinil	Iprodione	Propyzamide	
Deltamethrin	λ-Cyhalothrin	Pyricaben	
Diazinon	Malathion	Pyrimethanyl	
Dichlofluanid	Mepanipyrim	Pyriproxyfen	
Dichloran	Metalaxyl	Taufluvallinate	
Diphenylamine	Methidathion	Tebuconazole	

Fig. 2 GC/MS/MS 推荐化合物

Table 1 GC/MS/MS分析条件

GC/MS/MS	: GCMS-TQ8030
Column	: Rxi-5Sil MS (30 m x 0.25 mmI.D., df = 0.25 μm, Restek)
GC condition	
Column Temp.	: 70 °C (2 min) – (25 °C/min) – 150 °C - (3 °C/min) – 200 °C - (8 °C/min) – 280 °C (10 min)
Carrier Gas	: He (Constant Linear Velocity Mode)
Carrier Gas Velocity	: 58 cm/sec
Injection Mode	: Splitless
Sample Injection	
Volume	: 1 μL
MS condition	
Interface Temp.	: 250 °C
Ion Source Temp.	: 230 °C
Data Acq. Mode	: SIM, MRM

(对于 MRM, 使用 EURL 推荐的 Transition)

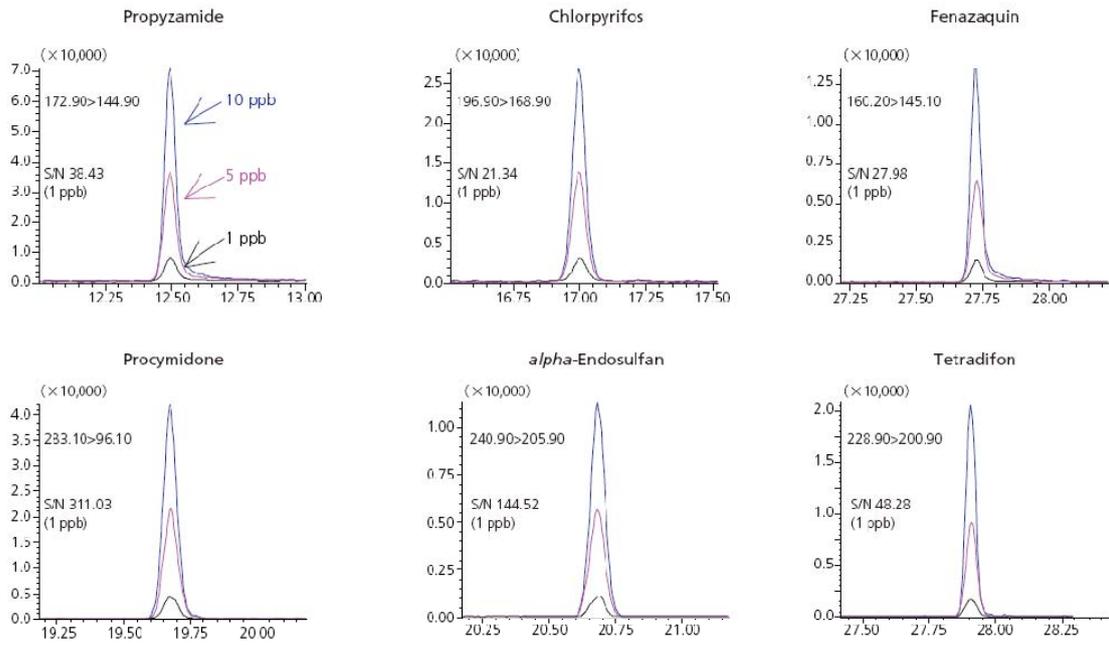


Fig. 3 具有代表性的6种农药成分的MRM质色图

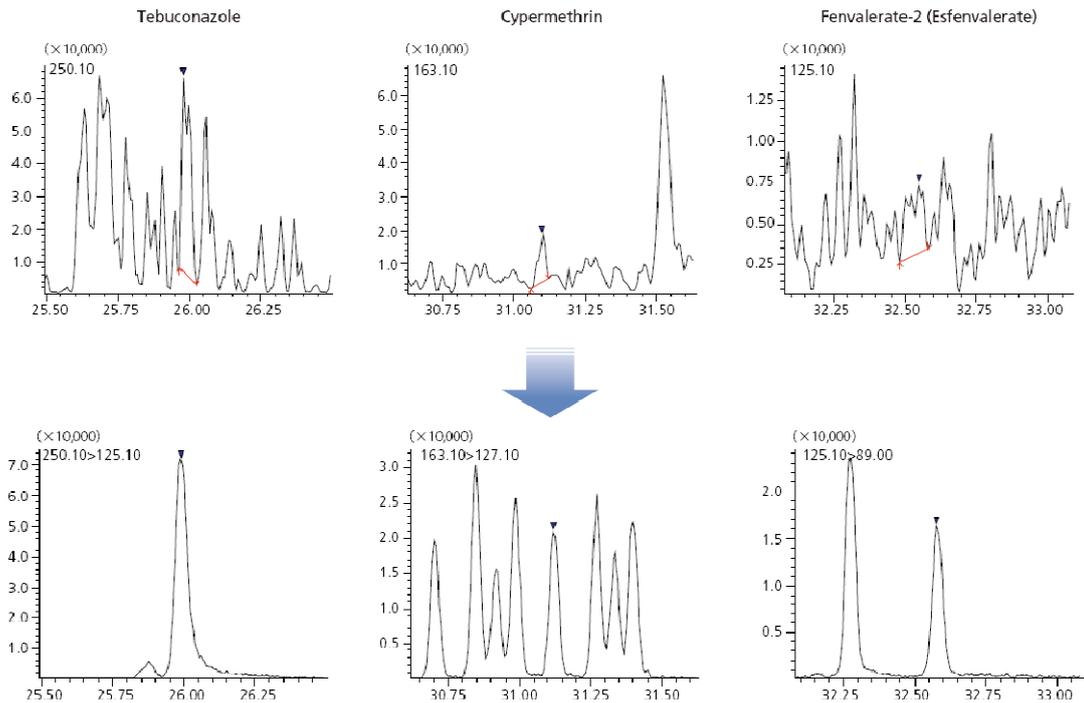


Fig. 4 SIM与MRM质色图比较

Table 2 添加在辣椒提取液中的各农药 (10 ppb) 的面积重现性 (n=6)

Compound Name	%RSD	Compound Name	%RSD	Compound Name	%RSD	Compound Name	%RSD
Diphenylamine	4.99	Chlorpyrifos	5.23	Buprofezin	4.92	Fenarimol	5.16
Ethoprophos	4.95	Fenthion	5.75	Bupirimate	5.47	Acrinathrin	2.03
Chlorpropham	6.26	Parathion	6.93	beta-Endosulfan	6.29	Permethrin-1	6.34
Trifluralin	5.33	Tetraconazole	6.96	Oxadixyl	5.74	Pyridaben	7.11
Dicloran	6.49	Pendimethalin	6.29	Ethion	6.18	Permethrin-2	6.24
Propyzamide	5.52	Cyprodinil	5.21	Triazophos	3.45	Cyfluthrin-1	4.44
Chlorothalonil	4.46	(E)-Chlorfenvinphos	5.35	Endosulfansulfate	4.26	Cyfluthrin-2	3.77
Diazinon	5.45	Tolyfluanid	4.81	Propiconazole-1	6.02	Cyfluthrin-3	7.35
Pyrimethanil	3.18	Fioronil	6.76	Propiconazole-2	5.56	Cyfluthrin-4	8.19
Tefluthrin	5.13	Captan	5.74	Tebuconazole	7.59	Cypermethrin-1	8.58
Pirimicarb	5.00	(Z)-Chlorfenvinphos	5.52	Iprodione	1.72	Cypermethrin-2	3.71
Chlorpyrifos-methyl	5.27	Phenthoate	6.40	Bromopropylate	5.71	Cypermethrin-3	8.08
Vindozolin	6.33	Folpet	6.56	Bifenthrin	5.29	Cypermethrin-4	2.48
Parathion-methyl	5.81	Procyimdone	6.40	Ferproprathrin	4.00	Ethionprox	5.03
Tolclofos-methyl	4.89	Methidathion	6.17	Fenazaquin	4.84	Fenvalerate-1	4.20
Metalaxyl (Mefenoxam)	5.43	alpha-Endosulfan	6.27	Tebufenpyrad	5.62	tau-Fluvalinate-1	2.16
Fenitrothion	5.10	Mepanipyrim	6.41	Tetradifon	6.09	Fenvalerate-2	5.65
Pirimiphos-methyl	5.35	Profenofos	5.92	Phosalone	5.90	tau-Fluvalinate-2	2.14
Dichlfluaniid	4.04	Myclobutanil	5.46	Pyrproxyfen	5.16	Deltamethrin-1	7.58
Malathion	6.31	Flusilazole	5.63	lamda-Cyhalothrin	5.38	Deltamethrin 2	7.32

4. 基于LC/MS/MS的MRM测定

同样,使用LC/MS/MS对推荐的72种成分进行了MRM同时分析。LC/MS/MS推荐化合物如图5所示,分析条件如Table 3所示。离子化法采用ESI法,实施了正负离子化同时测定。

Fig. 6表示具有代表性的2种农药成分的工作曲线和MRM质谱图。在1-1000 ppb的范围内,获得了充分的线性。并且,在经QuEChERS法前处理的韭菜、辣椒提取液中添加推荐LC/MS/MS法检测的72种农药成分,制成分析样品(添加浓度5 ppb),然后进行了分析,并计算出回收率。Fig. 7表示各溶液中农药重现性以及回收率。

由于QuEChERS法是简易的前处理方法,在基质中多含杂质成分,但无论哪种基质都获得约80-90%的良好回收率。在添加到基质中的农药之中,有若干化合物的回收率超过120%,在基质空白中也检测出这些化合物。但它们在基质空白中被检出农药的定量值如Table 4所示都没有超过最大残留标准值(Maximum Residue Levels=MRLs)。

可知,使用LCMS-8040可以对推荐使用LC/MS/MS法的成分,进行基于正负离子同时测定的高灵敏度与高回收率的分析。

并且,使用LCMS-8040对于包括推荐使用GC/MS/MS法的化合物在内的所有138种成分进行了分析。详情请参照本公司的Technical Report^{※2}。

LC/MS/MS 推荐化合物 (72 成分)

Acephate	Epoxiconazole	Linuron	Spinosad
Acetamiprid	Fenbutatin oxide	Lufenuron	Spiroxamine
Aldicarb	Fenbuconazole	Metconazole	Tebufenozide
Amitraz	Fenhexamid	Methamidophos	Teflubenzuron
DMF, DMPF	Fenoxycarb	Methiocarb	Thiabendazole
Azinphos-methyl	Fenpropimorph	Methomyl	Thamethoxam
Azoxystrobin	Fenthion sulfoxide	Methoxyfenozide	Thiacloprid
Bitertanol	Fludoxonyl	Monocrotophos	Thiophanate-methyl
Boscarid	Flufenoxuron	Oxamyl	Triadimenol
Cadusafos	Fluquinconazole	Oxydemeton-methyl	Trichlorfon
Carbaryl	Flutriafol	Paclbutrazole	Trifloxystrobin
Carbendazim	Formetanate	Pencycuron	Triflumuron
Carbofuran	Fosthiazate	Penconazole	Triticonazole
Clorfentezin	Hexaconazole	Phosmet	Zoxamide
Clothianidin	Hexythiazox	Pyraclostrobin	
Cyproconazole	Imazalil	Prochloraz	
Dichlorvos	Imidacloprid	Propamocarb	
Difenoconazole	Indoxacarb	Propargite	
Dimethoate	Iprovalicarb	Prothioconazole	
Dimethomorph	Kresoxim-methyl	Quinoxifen	

Fig. 5 LC/MS/MS 推荐化合物

Table 3 LC/MS/MS分析条件

HPLC: Nexera UHPLC system	
Column	: Shimpack-XR ODS II (75 mm × 2 mm.I.D., 2.2 μm)
Mobile phase A	: 2 mM ammonium formate containing 0.1% formic acid - water
Mobile phase B	: Methanol
Gradient program	: 5% B (0-2.5 min.) → 55% B (2.51-6 min.) → 80% B (6.01-12 min.) → 100% B (12-15 min.) → 5% B (15.01-20 min.)
Flow rate	: 0.2 mL / min.
Oven temperature	: 40 °C
LC/MS/MS: LCMS-8040	
Ionization	: ESI (Positive / Negative)
Ion spray voltage	: +4.5 kV / -3.5 kV
MRM	: 276 MRM transitions (2 MRMs / compound) Dwell time 5 msec. / Pause time 1 msec.

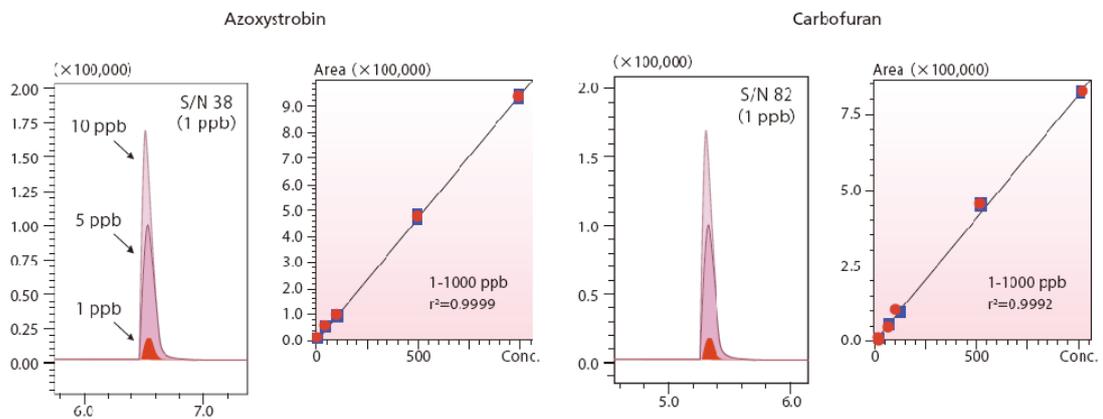


Fig. 6 具有代表性的2种农药的MRM质色图与工作曲线

Compounds	Leek		Paprika		Compounds	Leek		Paprika	
	%RSD	Recovery (%)	%RSD	Recovery (%)		%RSD	Recovery (%)	%RSD	Recovery (%)
Acephate	7.00	87	10.89	81	Indoxacarb	6.45	98	4.93	84
Acetamidrid	2.87	83	2.29	88	Iprovalicarb	2.20	95	3.15	90
Aldicarb	4.63	76	3.59	90	Kresoxim-methyl	5.97	171	8.83	95
Amitraz	1.62	80	2.10	74	Linuron	7.66	59	4.87	91
Azinphos-methyl	1.62	73	2.89	94	Lufenuron	13.51	103	11.99	87
Azoxystrobin	2.90	162	2.21	106	Methamidophos	5.55	102	3.17	104
Bitertanol	16.03	104	6.59	108	Methiocarb	3.92	71	3.30	87
Boscalid	13.79	77	10.08	111	Methomyl	3.30	97	2.05	90
Cadusafos	2.29	92	1.75	87	Methoxyfenozide	2.75	98	3.41	91
Carbaryl (NAC)	2.20	83	3.93	79	Monocrotophos	4.96	91	5.69	93
Carbendazim	1.13	90	1.05	87	Oxamyl	1.20	95	2.30	90
Carbofuran	1.85	92	1.12	91	Oxydemeton methyl	1.93	100	18.96	82
Clorfentezin	4.07	80	2.95	83	Pacrobutrazole	3.92	83	8.29	87
Clothianidin	3.47	622	6.12	116	Penconazole	3.66	89	3.97	88
Cyproconazole	7.98	98	5.41	105	Pencycuron	3.77	92	2.66	89
Dichlorvos	16.13	37	5.16	42	Prochloraz	4.90	78	3.23	87
Difenoconazole	9.23	99	7.45	98	Propamocarb	2.74	86	2.62	83
Dimethoate	3.79	83	2.94	90	Propargite	1.59	85	1.62	91
Dimetomorph	4.81	94	3.22	92	Pyraclostrobin	6.46	101	4.90	118
Epoxiconazole	2.27	88	0.70	88	Quinoxifen	11.08	73	11.21	90
Fenbutatin oxide	10.76	77	6.31	100	Spinosad A	1.89	104	3.56	93
Fenhexamid	7.71	88	6.99	100	Spiroxamine	1.86	82	1.74	86
Fenoxycarb	2.20	87	2.57	84	Tebufenozide	1.41	100	1.39	97
Fenpropimorph	4.27	92	3.16	94	Teflubenzuron	8.02	110	5.85	89
Fenthion sulfoxide	2.90	82	1.87	91	Thiabendazole	7.85	80	5.24	81
Fludioxonil	1.33	11439	10.27	82	Thiacloprid	3.35	50	2.00	90
Flufenoxuron	4.34	64	5.55	76	Thiamethoxam	7.89	88	4.36	121
Fluquinconazole	8.28	71	6.13	85	Thiophanate-methyl	5.80	103	2.37	123
Flutriafol	5.00	38	2.25	80	Triadimenol	4.13	118	9.26	99
Formetanate	2.55	92	0.71	93	Trichlorfon	11.22	72	9.69	110
Fosthiazate	1.85	91	2.50	95	Trifloxystrobin	3.49	98	3.47	91
Hexaconazole	5.83	81	4.02	91	Triflumuron	6.31	72	5.89	77
Hexythiazox	1.33	72	2.44	79	Triticonazole	10.01	85	15.46	92
Imazalil	4.65	94	5.40	92	Zoxamide	4.77	88	1.63	80
Imidacloprid	7.69	76	5.44	105					

Fig. 7 添加在蔬菜提取溶液（韭菜·辣椒）中的各农药（5 ppb）的面积重现性（n=6）以及回收率

Table 4 农药4成分的定量结果（样品：韭菜）

	Azoxystrobin	Clothianidin	Fludioxonil	Kresoxim-methyl
5ppb standards spiked	8.19 ppb	25.78 ppb	556.58 ppb	9.63 ppb
Matrix blank	3.77 ppb	21.39 ppb	550.92 ppb	2.94 ppb
MRL (Japan)	5 ppm	15 ppm	10 ppm	30 ppm

5. 结论

使用岛津GCMS-TQ8030与LCMS-8040可以高灵敏度地分析EURL报告中的138中农药成分。QuEChERS法是GC/MS/MS以及LC/MS/MS通用的前处理方法，可提取的农药范围广，同时使用两种质谱装置可以非常有效地完成分析。

三重四极杆气相色谱质谱联用仪 GCMS-TQ8030

UPLMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY

影响环境、生物体的化学物质种类不断增加。需要更迅速、更准确地测定这些化学物质。样品前处理、与干扰成分的分选是急需解决的重大课题。实现「更迅速」、「更准确」、「更顺畅」的分析的三重四极杆型气相色谱质谱联用仪就是“GCMS-TQ8030”。



速度无可比拟

卓越的质量分析技术

前开门式离子源LVI/CI/NCI专有设计提高灵敏度

传统岛津先进的专利碰撞室UFSweeper™技术，实现快速MRM性能，解决交叉污染问题

在电子倍增器前应用专利的OD Lens技术强制离子聚焦，减少离子传输时的噪声

独特的O3离轴设计，有效降低中性分子引起的背景噪声

Example

33种高物5min快速分析

采用离轴设计后（粉色），噪声得到显著抑制

统一的操作平台

GCMSolution for GCMSMS

- 与GCMSolution相同的操作界面，轻松掌握。
- 支持AART（保留时间自动调整）功能。
- 轻松将MRM方法拷贝或者粘贴至Excel。

MRM表格与Excel兼容

高扩展性

- 支持Scan/MRM同时扫描，获得高灵敏度定量数据的同时不丢失化合物的质谱信息（配备专利ASSP功能）。
- 支持Twin Line双柱GCMSMS系统，可实现自动在两根色谱柱之间切换。
- 可扩展至GPC-GCMSMS，在线净化三重四极杆气相色谱质谱联用仪。
- 可扩展至GCxGC-MSMS全二维气相色谱-三重四极杆质谱系统，全面应对复杂化合物的分离分析。

生态环境友好



环境污染/人类健康相关的痕量化合物监测、高性能新材料/化学品的研究和开发重要性越来越高。分析仪器如何通过提高常规分析效率、减少载气和电量消耗，从而降低运行成本；并减少对环境不利的排放，从而保护地球环境，这已成为世界性课题。在这种背景下，岛津最新GCMS-TQ8030同样具备全线气相色谱质谱产品的绿色环保性能，引领时代潮流，同时耗材与GCMS-OP2010系列兼容。



Speed beyond Comparison
—Enhanced Sensitivity

三重四极杆液相色谱质谱联用仪

LCMS-8040

Triple Quadrupole Mass Spectrometer

UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY

LCMS-8040, 灵敏度全面提升

更高灵敏度

- 增强离子聚焦和离子传输效率
- 提高碰撞诱导解离效率, 获得更高灵敏度
- 1pg利血平S/N>1000; 1 (ESI+)

可靠的数据

- 保持长期测定的可靠性
- UFsweeper® 技术实现串扰最小化
- 宽动态量程、出色的线性

超快速分析

- 融合超快速MRM测定和超快速极性切换技术
- 15000u/sec高速扫描提供前所未有的丰富信息
- UFsweeper® 实现500通道/秒超快速MRM测定

操作简便

- 维护简单, 减少停机时间
- 如同操作LC检测器, 轻松操作
- 定量浏览器帮助高效率地进行多组分定量分析

全面提升灵敏度, 分析工作更加轻松

岛津公司作为专业质谱厂商, 凭借其卓越的综合实力, 融合各个领域的先进经验, 打造性能更为出色的LCMS-8040, 为不同领域的用户提供更多选择。

LCMS-8040具有卓越的灵敏度, 无与伦比的超快速分析性能, 超快速MRM测定、超快速正负离子切换和独特的UFsweeper® 技术, 完美兼容超高效液相色谱与常规液相色谱分析。

技术规格

型号:	LCMS-8040
质量范围:	m/z 10 ~ 2000
灵敏度:	ESI正离子模式: 1 pg利血平, S/N>1000 (RMS)
交叉污染:	<0.003%
最小延迟时间:	1 msec
最小驻留时间:	1 msec
扫描速度:	最大15,000 u/sec
正负极性切换时间:	15 msec

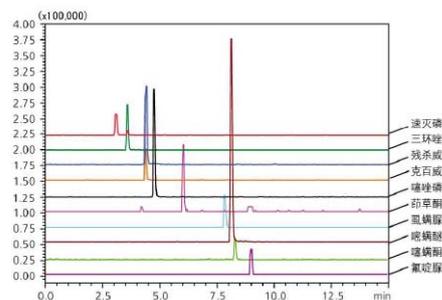
[质量分析器和检测器]

质量分析器:	带预四极杆的金属钼双曲面四极杆
碰撞室:	专利超快速碰撞室 (UFsweeper® 碰撞室)

结合方法包实现准确快速检测

岛津公司提供丰富的方法包, 涵盖农药残留、兽药残留、水质分析和禁用药物检测等各个方面。方法包使得用户从分离条件选择、各目标化合物质谱参数优化等繁琐的工作中解脱出来, 迅速开展LC/MS/MS分析, 从而大大提高了多组分同时分析时的效率。

右图是结合农药残留分析方法包进行检测的实例。



利用农药残留分析方法包检测10种农药残留
(韭菜提取物中添加10ppb)