

岛津 AOE 系统 - 三重四极杆质谱联用检测饮用水中 7 种农药残留

LCMSMS-365

摘要：本实验使用岛津 AOE 系统和 LCMS-8050 联用建立了饮用水中七种农药残留的检测方法。本文参考 EPA543 方法，采用 MRM 监测，建立了 7 种农药的检测方法。本方法进样体积为 2 mL，线性相关性良好，相关系数均大于 0.995。两个浓度上保留时间和峰面积的重复性良好，相对标准偏差（RSD%）分别在 0.03%-0.08% 和 2.13%-7.85% 之间。样品的加标回收率在 80%-130% 之间，可靠性良好。

关键词：在线 SPE 大体积进样 LCMSMS 农药 饮用水 EPA543

随着现代工业的发展，地表水体中有机物的污染日趋严重，已经引起各级政府的广泛重视。环境监测是取得环境污染各种数据的主要手段。环境中污染物种类繁多，而且含量极低，相互作用后的情况则更为复杂，因此要求采取灵敏度高、准确度高、重现性和选择性好的手段，对环境中的污染物做出准确快速的定性和定量的检测以满足各项法规要求。

随着现代农业的发展，农产品的生产过程中越来越多的应用到大量的农药。在我国，农产品生产过程中农

药的使用量也居高不下，这些农药的广泛使用，不仅造成环境的严重污染，同时对人体健康造成危害。

本文使用岛津 AOE 系统和 LCMS-8050 联用系统建立了饮用水中七种农药残留的检测方法。在线 SPE 的使用大幅提高液体样品进样量，减少了前处理步骤。该系统联用将样品富集、目标物分离和质谱检测一体化、自动化，减少人为误差，保证结果稳定性。同时缩短了样品前处理时间，提高了分析效率。

■ 实验部分

1.1 仪器

LC-30AD×2（流动相输液泵），LC-20AD（配有低压梯度单元，SPE 输液泵），SIL-30AC（UHPLC 自动进样器），SIL-16P（大体积进样自动进样器），CTO-20AC（柱温箱，配高压十通阀），CBM-20A（系统控制器）；LCMS-8050（三重四极杆质谱仪配 ESI 电离源）；LabSolutions Ver5.91（色谱工作站）。



图1 在线SPE大体积进样系统硬件示意图

1.2 样品信息

标准溶液：分别称取 3- 羟基呋喃丹、苯线磷亚砷、苯线磷砷、苯线磷、戊唑醇、虫酰肼粉末用乙腈配制成 1 mg/L 的母液备用，地散磷溶液储备液为 100 mg/L。取母液适量，用乙腈配制浓度在 0.4-1.0 µg/L 混标工作溶液备用。

样品制备：饮用水样品取水后，加入 2.0 g/L 抗坏血酸、7.75 g/L Trizma 缓冲溶液和 200 mg/L 氯乙酰胺（用于防止目标分析物生物降解），过玻璃纤维滤膜备用。

1.3 分析条件

色谱条件 (SPE)

流速：2 mL/min

清洗液：A-20 mM 乙酸铵水溶液；B- 乙腈

进样量：2mL

表1 SPE时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0	Pumps	Pump C Flow	2
0	Pumps	SV(Pump C)	A
4.00	Pumps	SV(Pump C)	B
4.00	Pumps	Pump C Flow	2
4.01	Pumps	Pump C Flow	4
6.00	Pumps	SV(Pump C)	A
11.00	Pumps	Pump C Flow	4

色谱条件 (UHPLC)

色谱柱：InertSustain AQ-C18 (2.10 mm I.D.
× 50 mm L., 1.9 µm)

柱温：40°C

流动相：A 相 -20 mM 乙酸铵水溶液；B 相 - 乙腈

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 10%，时间程序见表 2。

流速：0.4 mL/min

表2 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
4.00	Pumps	Pump B Conc.	10
4.10	Pumps	Pump B Conc.	10
9.00	Pumps	Pump B Conc.	95
9.10	Pumps	Pump B Conc.	95
9.11	Pumps	Pump B Conc.	10
11.00	Controller	Stop	

注：4.0 min 十通阀切换，分析开始

质谱条件：

离子源：ESI，正模式

离子源温度：300°C

雾化气流速：3.0 L/min

DL 温度：200°C

干燥气流速：10 L/min

喷雾针位置：+3 mm

加热气流速：10 L/min

MRM 参数：见表 3

接口温度：400°C

表3 MRM参数

No.	名称	英文名称	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	3-羟基咪喃丹	3-Hydroxycarbofuran	92-87-5	238.15	163.15*	-12.0	-15.0	-15.0
				238.15	181.20	-12.0	-12.0	-17.0
2	苯线磷亚砷	Fenamiphos sulfoxide	31972-43-7	320.15	233.05*	-16.0	-25.0	-22.0
				320.15	292.20	-16.0	-16.0	-29.0
3	苯胺磷砷	Fenamiphos sulfone	31972-44-8	336.15	266.10*	-10.0	-19.0	-29.0
				336.15	188.10	-10.0	-28.0	-21.0
4	苯线磷	Fenamiphos	22224-92-6	304.20	217.05*	-15.0	-23.0	-21.0
				304.20	202.10	-15.0	-35.0	-20.0
5	戊唑醇	Tebuconazole	107534-96-3	308.25	70.10*	-15.0	-23.0	-11.0
				308.25	125.05	-15.0	-33.0	-20.0
6	虫酰肼	Tebufenozide	112410-23-8	353.25	133.20*	-13.0	-21.0	-18.0
				353.25	297.25	-10.0	-8.0	-29.0
7	地散磷	Bensulide	741-58-2	398.15	314.00*	-20.0	-12.0	-20.0
				398.15	158.10	-20.0	-23.0	-29.0
8	咪喃丹-d3	Carbofuran-d3	-	225.10	165.10	-11.0	-13.0	-29.0
				225.10	123.05	-11.0	-22.0	-22.0
9	灭多威-d3	Methomyl-d3	-	166.00	88.10	-18.0	-10.0	-15.0
				166.00	106.10	-18.0	-12.0	-20.0
10	地散磷-d14	Bensulide-d14	-	412.20	315.90	-20.0	-13.0	-22.0
				412.20	141.00	-12.0	-35.0	-28.0

*表示定量离子

结果与讨论

2.1 岛津 AOE 系统原理介绍

岛津 AOE 系统由大体积进样专用进样器、带有溶剂选择阀的输液泵、切换阀和超高效液相系统构成。样品分析从样品取样开始，样品由进样器 SIL-16P 取样。带有低压梯度比例阀的输液泵（LC-20AD）设置为输送高水相，推送样品至固相萃取柱 SPE 1 上，目标分析物被 SPE1 吸附。十通阀位置切换，SPE 1 反接并且与 UHPLC 分析柱串联，Nexera X 采用梯度洗脱将目标分析物由 SPE 1 洗脱到 UHPLC 分析柱上，完成色谱峰的重聚焦和分离。在 SPE 1 洗脱的同时，带有低压梯度比例阀的输液泵（LC-20AD）先设置为输送有机溶剂完成固相萃取柱 SPE 2 进行再生，再设置为输送高水相将 SPE2 平衡至初始状态，准备进行下一个分析。通过十通阀的切换，两根 SPE 柱分别与超高效液相柱串联，交替使用，大大提高了样品的分析效率。

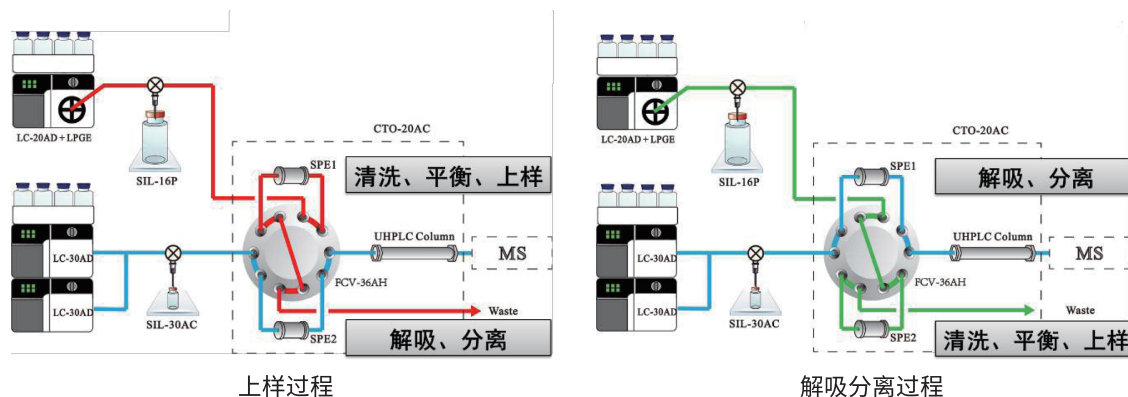


图2 在线SPE大体积进样系统工作原理图

2.2 色谱图

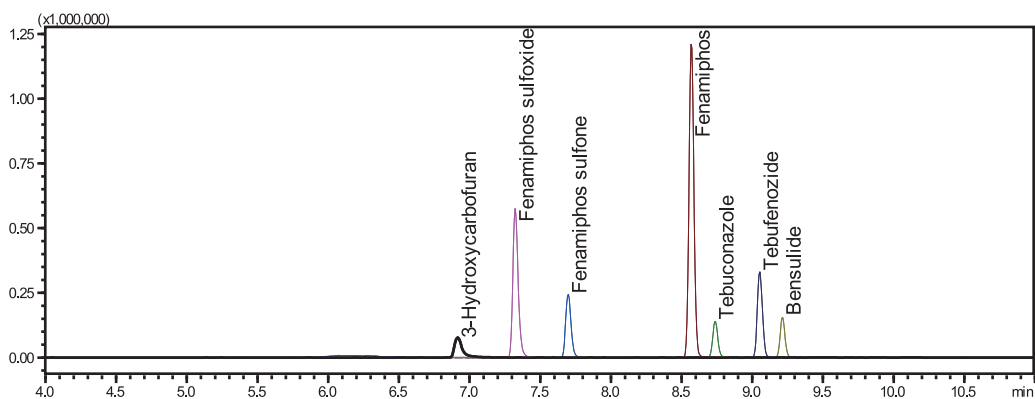


图3 7种农药在超纯水中色谱图 (3-羟基咪喃丹、苯线磷砒、地散磷、苯线磷亚砒100 ng/L; 苯线磷、戊唑醇、虫酰肼 40 ng/L)

2.3 重复性

取浓度为 2.0-5.0 ng/L 溶液和 20.0-50.0 ng/L 溶液，平行进样 6 针，计算目标化合物的峰面积和保留时间相对标准偏差 (RSD%) 如表 4 所示。分析结果表明，两个浓度下两种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差在 0.02 ~ 0.08% 和 2.80 ~ 5.94% 之间，仪器重复性良好。

表4 仪器重复性考察结果 (n=6)

Analyte	Conc. Level 1/%			Conc. Level 2/%		
	Conc.	R.T.	Area	Conc.	R.T.	Area
3-Hydroxycarbofuran	5	0.07	5.87	50	0.04	4.42
Fenamiphos sulfoxide	5	0.08	3.67	50	0.03	4.42
Fenamiphos sulfone	5	0.06	3.95	50	0.04	3.03
Fenamiphos	2	0.07	2.13	20	0.05	3.15
Tebuconazole	2	0.07	3.67	20	0.04	3.19
Tebufenozide	2	0.05	2.29	20	0.03	2.67
Bensulide	5	0.05	7.85	50	0.05	6.04

2.4 线性曲线

配制标准曲线，内标灭多威 -d3、地散磷 -d14 浓度为 80 ng/L，呋喃丹 -d3 浓度为 32 ng/L。3-羟基呋喃丹 (3-Hydroxycarbofuran)、苯线磷亚砷 (Fenamiphos sulfoxide)、苯胺磷砷 (Fenamiphos sulfone)、地散磷 (Bensulide) 浓度为 2.0 ng/L, 5.0 ng/L, 10 ng/L, 20 ng/L, 50 ng/L 和 100 ng/L, 苯线磷 (Fenamiphos)、戊唑醇 (Tebuconazole)、虫酰肼 (Tebufenozide) 浓度为 0.8 ng/L, 2 ng/L, 4 ng/L, 8 ng/L, 20 ng/L 和 40 ng/L, 双柱交替进样，测试标准曲线。

表5 线性曲线和检出限

Analyte	Linear range (ng/L)	Linear equation	Correlation coefficient (r)	Accuracy (%)
3-Hydroxycarbofuran	2.00-100	$Y = (0.00112044)X + (-0.000550424)$	0.9993	89.6-107.2
Fenamiphos sulfoxide	2.00-100	$Y = (0.00603660)X + (0.000549186)$	0.9992	90.7-105.5
Fenamiphos sulfone	2.00-100	$Y = (0.00259273)X + (-0.000644612)$	0.9986	88.2-115.9
Fenamiphos	0.80-40.0	$Y = (0.0280999)X + (-0.000451548)$	0.9999	89.6-111.9
Tebuconazole	0.80-40.0	$Y = (0.00347445)X + (0.000546394)$	0.9993	84.5-118.9
Tebufenozide	0.80-40.0	$Y = (0.0891728)X + (0.000239535)$	0.9964	84.0-114.4
Bensulide	2.00-100	$Y = (0.0169713)X + (-0.00345877)$	0.9994	94.8-105.4

2.5 检出限

参考 EPA543 检出限 (DL) 计算方法，将标准曲线最低点连续重复进样 7 次，计算 7 次进样的浓度偏差，按照下面公式计算检出限。标准曲线和检出限如表 6 所示，本方法的检出限满足 EPA543 要求。

$$DL = t_{(n-1,0.99)} * S$$

DL——方法检出限；

$t_{(n-1,0.99)}$ ——自由度为 n-1，置信度为 99% 是的 t 分布，n=7 时，该值为 3.143；

S——n 次平行测定的标准偏差。

表6 方法检出限

Analyte	DL(ng/L)	
	This article	EPA543
3-Hydroxycarbofuran	0.47	0.99
Fenamiphos sulfoxide	0.35	0.60
Fenamiphos sulfone	0.45	0.63
Fenamiphos	0.13	0.13
Tebuconazole	0.16	0.47
Tebufenozide	0.20	0.26
Bensulide	0.40	0.64

2.6 加标回收

取桶装饮用水和自来水样品，加入标准溶液使样品溶液浓度为 2.0-5.0 ng/L 和 20.0-50.0 ng/L，进样测试，并计算重复性和加标回收率。结果如表 7 和表 8 所示，7 种农药加标回收率均在 70%-130% 之间。

表7 桶装饮用水样品中加标回收率 (n=6)

Analyte	Added to sample (ng/L)	Mean measured concentration (ng/L)	Intra-assay RSD%	Extraction recovery%
3-Hydroxycarbofuran	5	5.490	9.06	109.8
	50	54.73	6.49	109.5
Fenamiphos sulfoxide	5	4.631	5.79	92.6
	50	48.20	3.93	96.4
Fenamiphos sulfone	5	5.105	5.49	102.1
	50	50.69	8.23	101.4
Fenamiphos	2	2.486	8.17	124.3
	20	24.82	8.33	124.1
Tebuconazole	2	2.136	6.87	106.8
	20	23.16	6.95	115.8
Tebuconazole	2	2.100	7.77	105.0
	20	19.10	8.21	95.4
Bensulide	5	4.514	7.93	90.3
	50	44.44	5.33	88.9

表8 自来水样品中加标回收率 (n=6)

Analyte	Added to sample (ng/L)	Mean measured concentration (ng/L)	Intra-assay RSD%	Extraction recovery%
3-Hydroxycarbofuran	5	5.550	5.24	111.0
	50	54.77	7.81	109.5
Fenamiphos sulfoxide	5	4.513	8.82	90.3
	50	46.64	7.49	93.3
Fenamiphos sulfone	5	5.666	9.24	113.3
	50	60.48	6.33	121.0
Fenamiphos	2	2.215	9.67	110.7
	20	22.01	8.39	110.1
Tebuconazole	2	2.273	6.02	113.7
	20	25.81	7.08	129.1
Tebuconazole	2	2.082	8.52	104.0
	20	22.11	8.77	110.6
Bensulide	5	4.683	4.52	93.7
	50	44.41	1.73	88.8

2.7 实际样品测试

使用该方法，测试饮用自来水样品和桶装饮用水。桶装饮用水样品未检出农药残留，自来水样品中检出虫酰肼，测试结果如表 9 和图 4 所示。

表9 实际水样检测结果 (n=4)

Analyte	Conc.(ng/L)
3-Hydroxycarbofuran	N.D.
Fenamiphos sulfoxide	N.D.
Fenamiphos sulfone	N.D.
Fenamiphos	N.D.
Tebuconazole	7.03
Tebufenozide	N.D.
Bensulide	N.D.

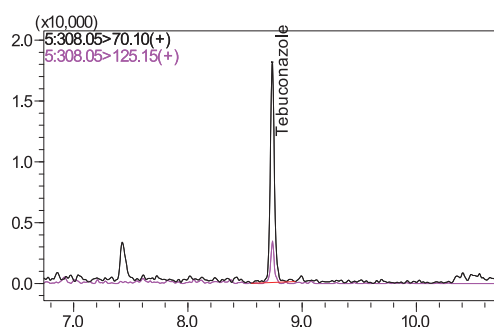


图4 自来水样品中检出虫酰肼色谱图

结论

本文使用岛津 AOE 系统和三重四极杆质谱 LCMS-8050 联用建立了饮用水中 7 种农药残留的定量检测方法。该系统采用在线 SPE 富集，将样品前处理、分离、定性定量分析结合在一起，配合串联质谱检测，可以大大简化样品前处理、保证检测结果的准确性。该方法在 11 min 内完成上样、解吸、分离和检测，有较好的重复性、回收率和较宽的线性范围，可用于饮用水中农药残留检测。