

高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定浓缩果汁中的二十三种农药残留

LCMSMS-105

摘要：本文建立了一种使用岛津高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定浓缩果汁中 23 种农药残留的方法。该方法在 9 min 内完成多菌灵、噻菌灵等二十三种农药的分离。在浓缩果汁基质中 23 种农药在 0.5~50 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性良好；23 种农药在不同浓度下精密度实验得到的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.05~0.38% 和 0.76~4.98% 之间，结果表明仪器精密度良好；基质加标校准曲线相关系数均大于 0.9948，方法检出限和方法定量限分别介于 0.003~0.205 mg/L 和 0.009~0.622 mg/L 之间。

关键词：超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪 浓缩果汁 农药残留

目前果汁已经成为一种大众饮品，但是由于水果生产过程中不同种类农药的使用，间接导致浓缩果汁中含有多种农药残留，从而给人们的身体健康带来危害。近年来，各国政府对进出口浓缩果汁中的农药残留检测项目不断增加，最大残留限量大幅度降低，限量标准日趋严格。以美国为例，美国食品药品监督管理局对果汁中的农药残留指标的限制标准由过去的 50 $\mu\text{g/kg}$ 降至 10 $\mu\text{g/kg}$ ，从而提高了我国浓缩果汁进入国际市场的技术门槛。因此，建立快速、灵敏度高的浓缩果汁中农药多残留检测技术十分必要。本文参考《GBT 23206-2008 果蔬汁、果酒中 512 种农药及相关化学品残留量的测定液相色谱-串联质谱法》的方法，使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱 LCMS-8040 联用，建立了浓缩果汁中多菌灵、噻菌灵等二十三种常用农药残留的超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱联用的分析方法，供相关人员参考。

流动相：A 相 -0.02% 甲酸水溶液；B 相 - 甲醇
 流速：0.4 mL/min
 进样体积：5 μL
 柱温：40 $^{\circ}\text{C}$
 洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 5%，时间程序见表 1。

表1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1	Pumps	Pump B Conc	5
2.0	Pumps	Pump B Conc	50
6.0	Pumps	Pump B Conc	65
6.1	Pumps	Pump B Conc	95
7.0	Pumps	Pump B Conc	95
7.1	Pumps	Pump B Conc	5
9.0	Controller	Stop	

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为：LC-30AD \times 2 输液泵，DGU-20A5 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.50 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统

色谱柱：Shim-pack XR-ODS III, 2.0 mm \times 75 mm L, 1.6 μm 粒径

质谱条件

分析仪器：LCMS-8040

离子源：ESI，正离子扫描

离子源接口电压：4.5 kV

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 20 L/min

碰撞气：氩气

脱溶剂管温度：250 $^{\circ}\text{C}$

加热模块温度：450 $^{\circ}\text{C}$

扫描模式：多反应监测 (MRM)

驻留时间：10 ms

延迟时间：3 ms

MRM 参数：见表 2

表2 MRM参数

编号	中文名称	英文名称	CAS	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	多菌灵	Carbendazim	10605-21-7	192.1	160.1*	-30	-17	-30
					132.1	-30	-30	-24
2	噻菌灵	Thiabendazole	148-79-8	202.0	175.1*	-30	-24	-30
					131.1	-30	-33	-24
3	噻虫嗪	Thiamethoxam	153719-23-4	292.0	211.1*	-30	-11	-22
					181.1	-30	-23	-19
4	抗蚜威	Pirimicarb	23103-98-2	239.2	72.1*	-30	-25	-30
					182.2	-30	-19	-30
5	丁苯吗啉	Fenpropimorph	67564-91-4	304.2	147.2*	-30	-30	-27
					119.1	-30	-39	-22
6	3-羟基克百威	Carbofuran-3-hydroxy	16655-82-6	220.0	163.0*	-11	-10	-16
					107.0	-11	-30	-23
7	吡虫啉	Imidacloprid	105827-78-9	256.1	175.1*	-16	-17	-30
					209.1	-16	-15	-20
8	啶虫脒	Acetamiprid	135410-20-7	223.1	126.1*	-30	-22	-30
					56.1	-30	-15	-23
9	环嗪酮	Hexazinone	51235-04-2	253.1	171.1*	-30	-15	-18
					71.0	-30	-31	-28
10	克百威	Carbofuran	1563-66-2	222.1	123.1*	-25	-21	-25
					165.1	-25	-11	-22
11	氯吡啶	Forchlorfenuron	68157-60-8	248.1	129.0*	-30	-17	-23
					93.0	-30	-34	-17
12	扑草净	Prometryne	7287-19-6	242.2	158.1*	-30	-23	-29
					200.2	-30	-17	-22
13	氯虫苯甲酰胺	Chlorantraniliprole	500008-45-7	484.0	452.9*	-24	-19	-30
					285.8	-24	-16	-30
14	烯酰吗啉	Dimethomorph	110488-70-5	388.1	301.0*	-19	-20	-21
					165.1	-19	-34	-30
15	乙霉威	Diethofencarb	87130-20-9	268.1	226.1*	-12	-8	-23
					180.1	-18	-17	-18
16	苯线磷	Fenamiphos	22224-92-6	304.1	217.1*	-15	-22	-23
					202.0	-15	-36	-21
17	腈菌唑	Myclobutanil	88671-89-0	289.1	70.1*	-19	-16	-29
					125.1	-10	-27	-22
18	腈苯唑	Fenbuconazole	114369-43-6	337.2	125.1*	-16	-25	-20
					70.1	-16	-21	-29
19	稻温灵	Isoprothiolane	50512-35-1	291.1	231.1*	-14	-11	-25
					189.1	-14	-21	-20

20	氟菌唑	Triflumizole	99387-89-0	346.1	278.1*	-17	-13	-30
					73.2	-17	-17	-30
21	苯霜灵	Benalaxyl	71626-11-4	326.2	148.2*	-16	-21	-15
					294.1	-16	-11	-20
22	噻嗪酮	Buprofezin	69327-76-0	306.1	201.1*	-30	-11	-22
					116.1	-30	-16	-12
23	仲丁灵	Butralin	33629-47-9	296.2	240.1*	-14	-12	-25
					222.1	-14	-21	-24

* 表示定量离子

1.3 样品制备

样品前处理方法：参照《GBT 23206-2008 果蔬汁、果酒中 512 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》中样品前处理方法。

标准溶液配制：用甲醇配制 500 mg/L 23 种混合标准溶液。再用上述前处理方法处理的基质溶液稀释成 0.5 μg/L、1.0 μg/L、5.0 μg/L、10 μg/L 和 50 μg/L 的不同浓度的基质加标样品。

结果与讨论

2.1 标准样品的 TIC 和 MRM 色谱图

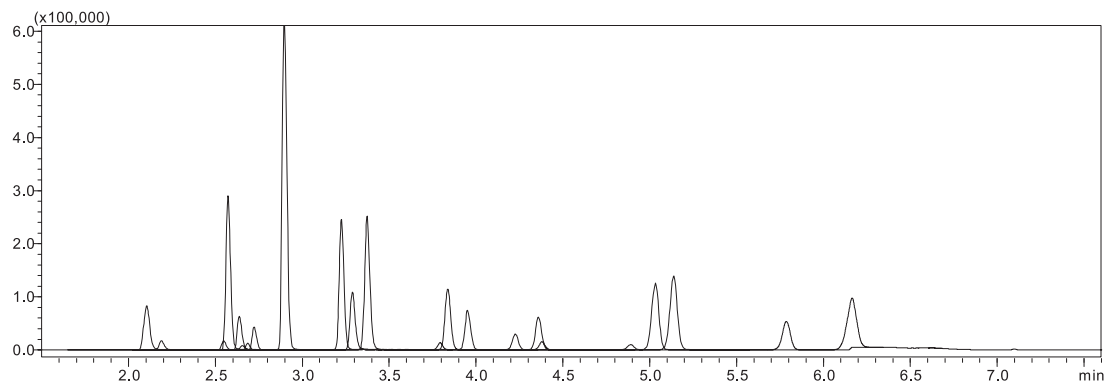
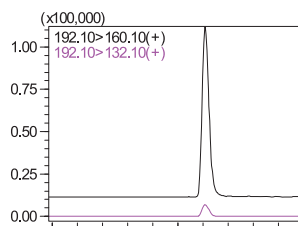
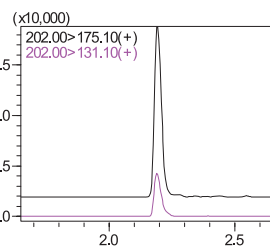


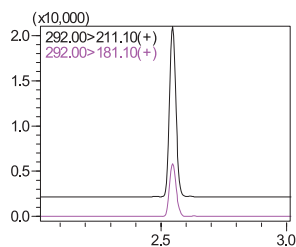
图1 二十三种农药标准样品的TIC色谱图 (5.0 μg/L)



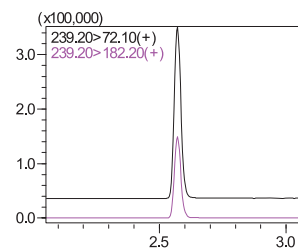
1 多菌灵



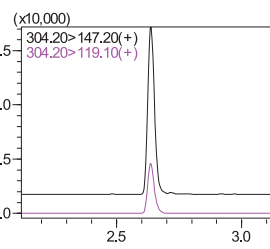
2 噻菌灵



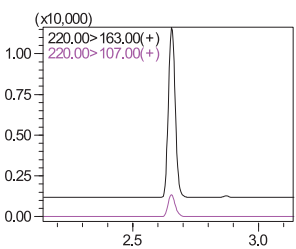
3 噻虫嗪



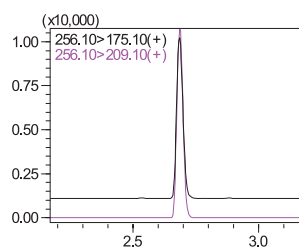
4 抗蚜威



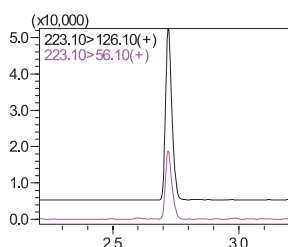
5 丁苯吗啉



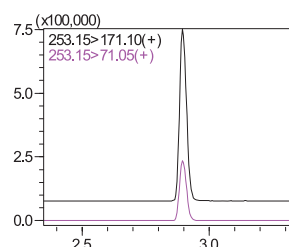
6 3-羟基克百威



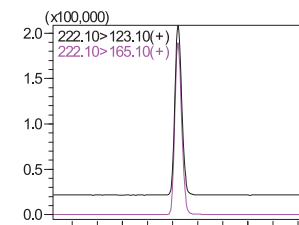
7 吡虫啉



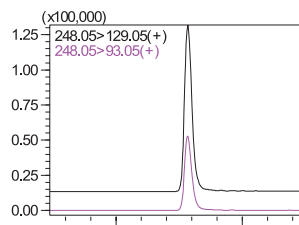
8 啶虫脒



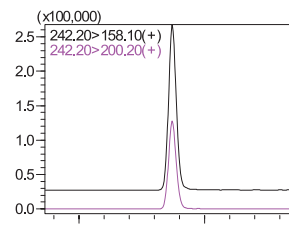
9 环嗪酮



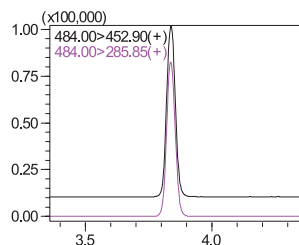
10 克百威



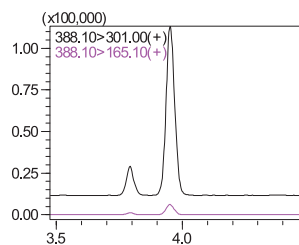
11 氯吡脞



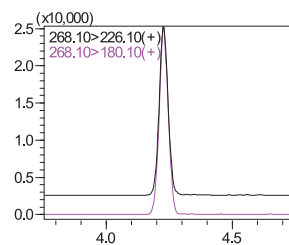
12 扑草净



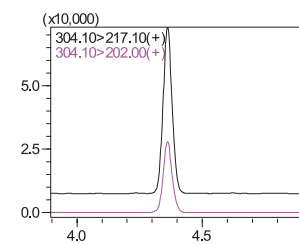
13 氯虫苯甲酰胺



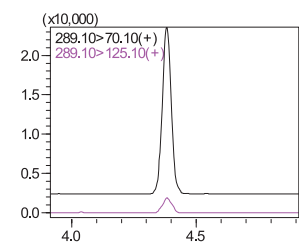
14 烯酰吗啉



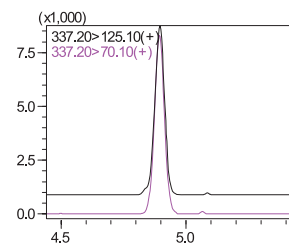
15 乙霉威



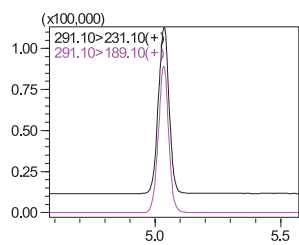
16 苯线磷



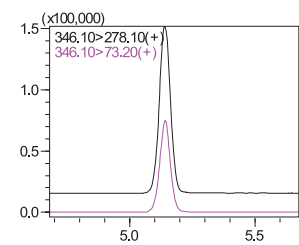
17 腈菌唑



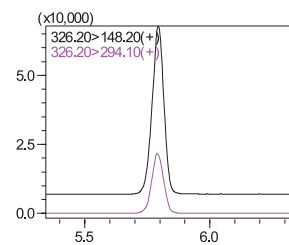
18 腈苯唑



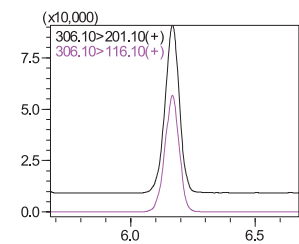
19 稻温灵



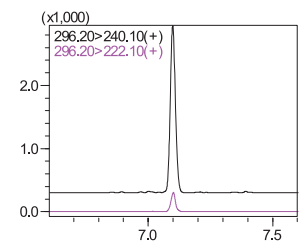
20 氟菌唑



21 苯霜灵

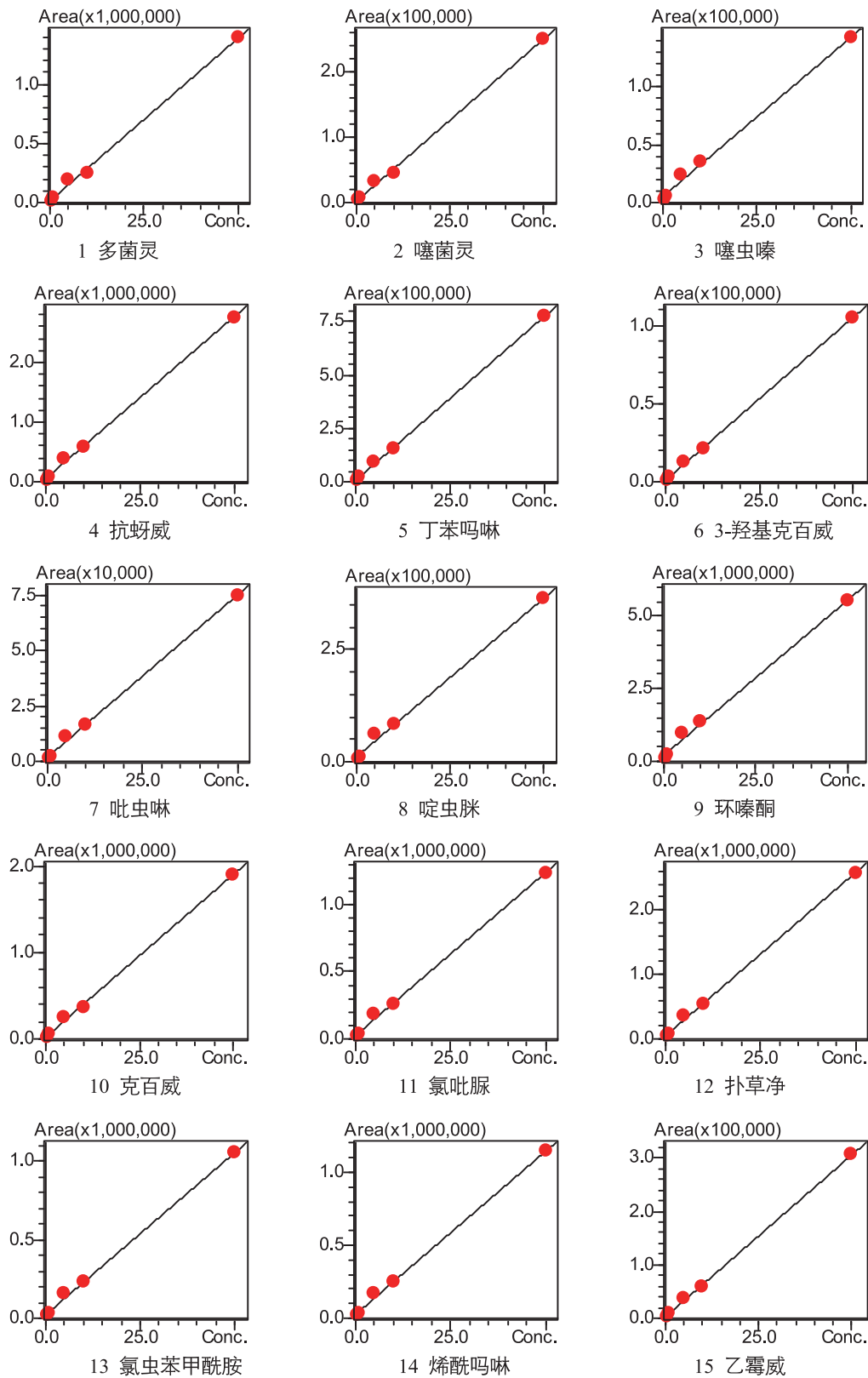


22 噻嗪酮



23 仲丁灵

图2 二十三种农药标准样品的MRM色谱图 (5.0 μg/L)



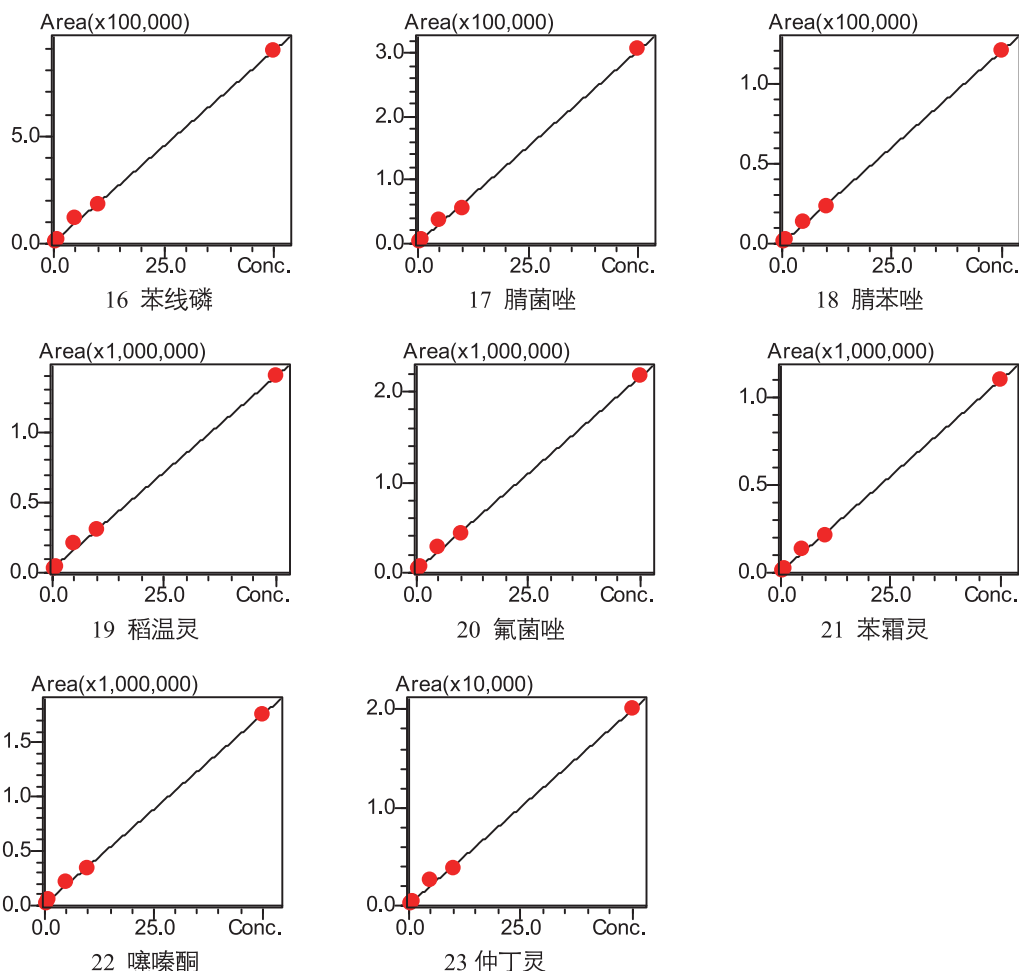


图3 二十三种农药标准工作曲线

表3 二十三种物质的校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	相关系数R	线性范围 (μg/L)
1	多菌灵	$Y = (27506.0)X + (14155.4)$	0.9986	0.5~50.0
2	噻菌灵	$Y = (4910.76)X + (1989.19)$	0.9989	0.5~50.0
3	噻虫嗪	$Y = (2759.39)X + (5236.24)$	0.9980	0.5~50.0
4	抗蚜威	$Y = (54245.3)X + (53035.1)$	0.9993	0.5~50.0
5	丁苯吗啉	$Y = (15408.6)X + (6267.39)$	0.9997	0.5~50.0
6	3-羟基克百威	$Y = (2086.16)X + (914.959)$	0.9997	0.5~50.0
7	吡虫啉	$Y = (1466.71)X + (1825.63)$	0.9998	0.5~50.0
8	啶虫脒	$Y = (7063.61)X + (11454.7)$	0.9981	0.5~50.0
9	环嗪酮	$Y = (106870)X + (206362)$	0.9977	0.5~50.0
10	克百威	$Y = (42080.3)X + (7534.17)$	0.9994	0.5~50.0
11	氯吡脒	$Y = (24226.6)X + (26234.5)$	0.9991	0.5~50.0
12	扑草净	$Y = (50717.4)X + (46214.3)$	0.9993	0.5~50.0
13	氯虫苯甲酰胺	$Y = (20636.2)X + (23296.5)$	0.9991	0.5~50.0
14	烯酰吗啉	$Y = (22405.7)X + (26725.2)$	0.9991	0.5~50.0
15	乙霉威	$Y = (6063.33)X + (2496.86)$	0.9997	0.5~50.0
16	苯线磷	$Y = (17766.0)X + (9072.45)$	0.9995	0.5~50.0
17	腈菌唑	$Y = (6071.99)X + (1517.88)$	0.9994	0.5~50.0

18	腈苯唑	$Y = (2401.22)X + (212.460)$	0.9998	0.5~50.0
19	稻温灵	$Y = (27364.9)X + (32311.8)$	0.9992	0.5~50.0
20	氟菌唑	$Y = (42766.7)X + (28802.5)$	0.9996	0.5~50.0
21	苯霜灵	$Y = (21828.2)X + (6050.42)$	0.9996	0.5~50.0
22	噻嗪酮	$Y = (34735.4)X + (14979.0)$	0.9996	0.5~50.0
23	仲丁灵	$Y = (398.502)X + (96.0718)$	0.9994	0.5~50.0

2.3 精密度实验

对 1 μg/L 和 10 μg/L 混合标准溶液连续 6 次进样, 考察仪器的精密度, 保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。2 个浓度标准品的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05~0.38% 和 0.76~4.98% 之间, 仪器精密度良好。

表4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

编号	样品名称	RSD% (1 μg/L)		RSD% (10 μg/L)	
		R.T	Area	R.T	Area
1	多菌灵	0.45	3.90	0.19	3.00
2	噻菌灵	0.45	4.93	0.13	3.17
3	噻虫嗪	0.11	4.85	0.08	3.49
4	抗蚜威	0.13	2.12	0.08	2.80
5	丁苯吗啉	0.08	2.84	0.08	2.18
6	3-羟基克百威	0.07	4.74	0.08	4.44
7	吡虫啉	0.13	4.80	0.09	4.27
8	啉虫脒	0.11	3.03	0.08	4.91
9	环嗪酮	0.11	2.10	0.07	2.13
10	克百威	0.16	2.87	0.05	2.85
11	氯吡啶	0.17	2.52	0.06	1.40
12	扑草净	0.15	3.27	0.05	0.76
13	氯虫苯甲酰胺	0.17	3.75	0.09	1.06
14	烯酰吗啉	0.19	2.73	0.12	3.71
15	乙霉威	0.20	2.78	0.07	1.47
16	苯线磷	0.22	3.12	0.08	3.11
17	腈菌唑	0.17	3.83	0.09	2.03
18	腈苯唑	0.23	4.98	0.16	4.66
19	稻温灵	0.20	2.82	0.09	1.15
20	氟菌唑	0.19	3.09	0.07	3.24
21	苯霜灵	0.17	2.69	0.10	1.66
22	噻嗪酮	0.14	3.69	0.11	3.57
23	仲丁灵	0.03	3.46	0.04	4.63

2.4 灵敏度分析

用 1.3 中配制的浓度为 0.5 μg/L 的基质加标溶液进样分析, 二十三种农药的最低检出限 (S/N=3, LOD 表示)、最低定量限 (S/N=10, LOQ 表示) 结果如表 5 所示。

表5 二十三种物质的检出限和定量限

编号	名称	信噪比	检出限 (µg/L)	定量限 (µg/L)
1	多菌灵	320.54	0.004	0.011
2	噻菌灵	61.71	0.027	0.082
3	噻虫嗪	185.79	0.009	0.027
4	抗蚜威	234.05	0.007	0.022
5	丁苯吗啉	212.02	0.008	0.025
6	3-羟基克百威	8.57	0.174	0.574
7	吡虫啉	9.35	0.193	0.584
8	啉虫脒	88.52	0.019	0.057
9	环嗪酮	298.90	0.005	0.016
10	克百威	61.06	0.026	0.077
11	氯吡啶	578.03	0.003	0.009
12	扑草净	158.74	0.011	0.033
13	氯虫苯甲酰胺	287.27	0.006	0.019
14	烯酰吗啉	65.22	0.023	0.070
15	乙霉威	143.92	0.010	0.031
16	苯线磷	16.67	0.090	0.270
17	腈菌唑	100.61	0.017	0.052
18	腈苯唑	253.45	0.006	0.020
19	稻瘟灵	198.10	0.008	0.025
20	氟菌唑	579.32	0.003	0.008
21	苯霜灵	341.23	0.005	0.014
22	噻嗪酮	143.33	0.012	0.035
23	仲丁灵	6.73	0.205	0.622

2.6 基质加标实验

用完全空白浓缩果汁基质按照 1.3 进行处理后加混标至浓度为 5 µg/L，平行 3 份样品测定回收率和 RSD。具体结果如表 6，样品加标回收率在 93.1 ~ 114.4% 之间。

表6 加标样的回收率结果 (n=3)

No.	样品名称	实测平均值 (µg/L)	回收率 (%)	RSD%
1	多菌灵	5.56	111.1	4.00
2	噻菌灵	5.43	108.7	2.49
3	噻虫嗪	5.66	113.2	2.02
4	抗蚜威	5.50	109.9	6.02
5	丁苯吗啉	5.62	112.3	3.94
6	3-羟基克百威	5.63	112.5	4.47
7	吡虫啉	5.12	102.4	4.61

8	啉虫脒	5.54	110.7	4.52
9	环嗪酮	5.72	114.4	3.30
10	克百威	5.51	110.2	5.07
11	氯吡脞	5.38	107.6	4.66
12	扑草净	5.51	110.2	5.18
13	氯虫苯甲酰胺	5.41	108.3	4.87
14	烯酰吗啉	5.60	112.0	3.57
15	乙霉威	5.19	103.8	3.40
16	苯线磷	5.45	109.0	4.88
17	腈菌唑	5.14	102.7	3.03
18	腈苯唑	5.34	106.9	3.17
19	稻温灵	5.49	109.8	2.90
20	氟菌唑	5.59	111.8	2.43
21	苯霜灵	5.59	111.7	5.42
22	噻嗪酮	5.73	114.5	3.53
23	仲丁灵	4.65	93.1	4.88

2.7 实际样品分析

在某浓缩果汁样品中检出吡虫啉、啉虫脒和克百威，浓度分别为 3.8 $\mu\text{g/L}$ 、1.9 $\mu\text{g/L}$ 和 0.46 $\mu\text{g/L}$ 。TIC 色谱图和 MRM 色谱图见图 4。

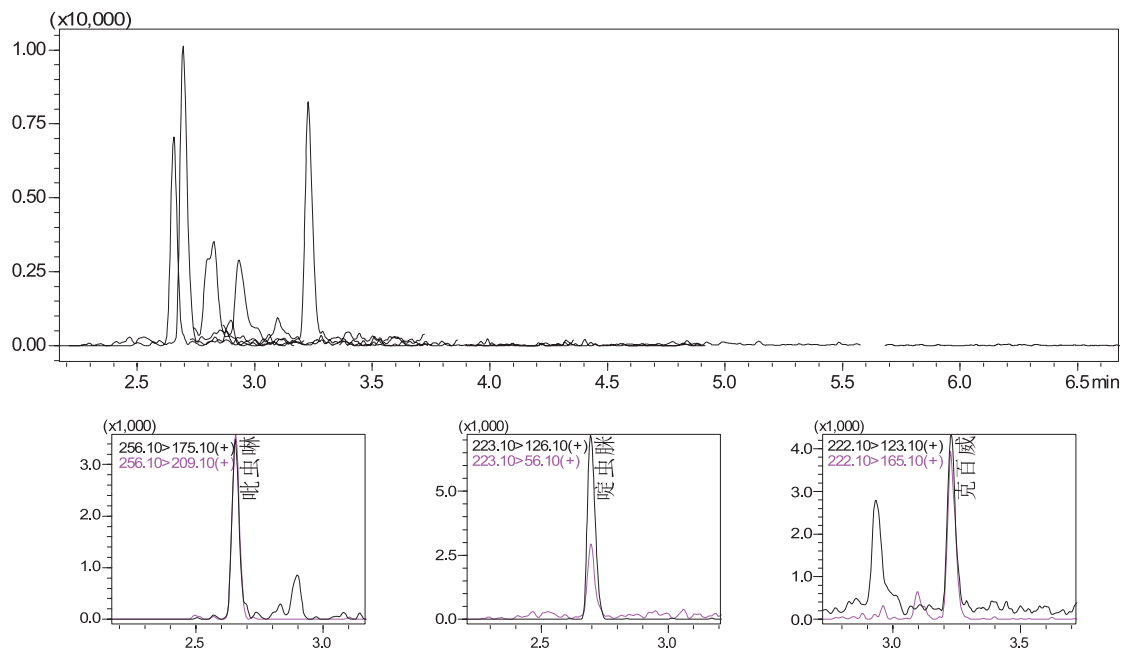


图4 某浓缩果汁样品的色谱图

■ 结论

建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定浓缩果汁样品中二十三种农药的方法。该方法在 9 min 内完成多菌灵、噻菌灵等二十三种农药的分离。不同浓度的精密度实验结果表明：保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05~0.38% 和 0.76~4.98% 之间，仪器精密度良好；基质加标校准曲线相关系数均大于 0.9948，方法检出限和方法定量限分别介于 0.003~0.205 $\mu\text{g/L}$ 和 0.009~0.622 $\mu\text{g/L}$ 之间。该方法分析速度快、重复性好、灵敏高，适合浓缩果汁中常用农药的高灵敏度检测。