一种全新的极性农药残留和污染物在食品分析中的解决方案 - 高灵敏度、高效、高耐受性的 IC-MS/MS 系统

Fausto Pigozzo[1], Richard Fussell[2], 郭启雷 [3], 李盈辰 [3] 薄涛 [3],
Thermo Fisher Scientific, 1Milan - Italy, 2Hemel Hempstead - UK, 3Beijing - China

摘要

目的：本文针对食品中常见的 16 种极性农药残留和污染物，开发了一套高灵敏度，高耐受性的 IC-MS/MS 系统为食品安全提供一整套解决方案。

方法：本方案以优化后的 QuPPe 方法进行样品前处理，利用高容量阴离子交换柱在离子色谱串联三种四级杆系统（IC-MS/MS）中对这 16 种极性农药残留和污染物进行分离和检测。

结果：该解决方案适用于多种类食品分析，并能解决之前极性农药残留分析方法遇到的很多问题。 灵敏度高，选择性好，系统耐受性高，所得结果符合 SANTE/11813/2017 标准。通过选择一系列复杂基质的食品来验证校正曲线的制备方式。

引言

由于环境污染和农药使用的残留和转移，很多种类的极性农药残留物出现在日常食用的食品中。例如备受关注的草甘膦、草铵膦、乙烯利、乙磷铝等，以及常见污染物氯酸盐和高氯酸盐等。但是，由于这些污染物测定困难以及测定带来的高成本使得目前缺少一种好的解决方案进行监测和分析。又由于这些物质的高极性使得传统的乙腈提取，液液分配反相色谱无法满足多残留物同时分析。相反，它们需要不同的色谱柱和仪器条件结合衍生化反应或直接测定的方法来分析。

仪器和方法

样品制备

面粉和葱采购于中国区零售商店，面粉直接进行取样分析，葱需要进行粉碎匀浆后称取。

测定方法

样品提取方法是基于 QuPPe 方法进行了优化（1），面粉样品用水分散均匀后，用甲醇进行提取。提取的样品溶液置于冰箱中 15 分钟后离心（8000 rpm，8 分钟），上清液稀释 10 倍后过滤上机测定。IC-MS/MS 系统配置见图 1.

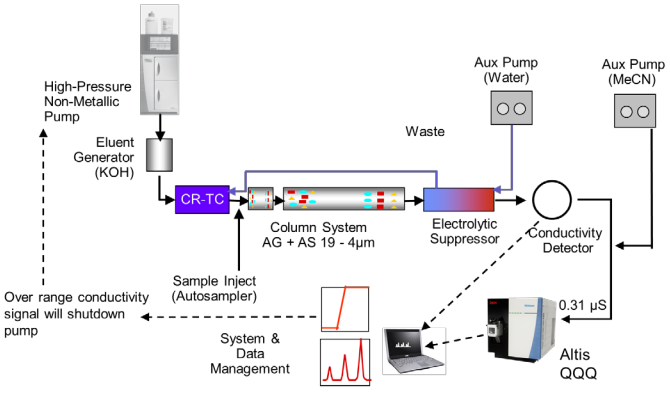

图 1. IC-MS/MS 系统配置

ThermoFisher SCIENTIFIC

系统配置包括：带有淋洗液发生器和电导检测池的 Dionex™ Integrion™ HPIC™ 系统，并配有 Thermo Scientific™ Dionex™ AS-AP 自动进样器和 Thermo Scientific™ TSQ Altis™ 三重四级杆质谱仪 . 分析色谱柱为 Thermo Scientific™ Dionex™ IonPac™ AG19-4 µm 保护柱（2 × 50 mm）和 Thermo Scientific™ Dionex™ IonPac™ AS19-4 µm 分析柱（2 × 250 mm），以氢氧根梯度淋洗 . A Thermo Scientific™ Dionex™ ADRS 600（2 mm）阴离子抑制器安装于色谱柱与电导检测器之间用于将氢氧根转换成水，质谱系统顺序连接在电导检测器后面。辅助泵把乙腈溶剂输送到 T 型连接管来混合电导检测器出口的溶液进入质谱系统，用于有效的去溶剂并可显著提高大多数被测物的响应值约 3-4 倍。数据采集是在负模式下，SRM 模式。仪器参数通过标准溶液分别进行母离子和子离子的优化。进样体积为 25 µL。

结果

极性阴离子农药残留的色谱分离和质谱响应

面粉（见图 2 和图 3）和葱（未展示）中的 16 种阴离子待测物（农药、相关代谢物和高氯酸）可以在本方法下得到很好的色谱保留时间，分辨率和峰形。图 2 显示不同的待测物响应不同，面粉又是公认的一种复杂基质。但结果显示，在面粉基质中，除 Maleic hydrazide 以外的 15 种待测物灵敏度都足够在 4 ng/g 甚至更低的浓度下被测定，Maleic hydrazide 最低标准曲线浓度点为 50 ng/g。

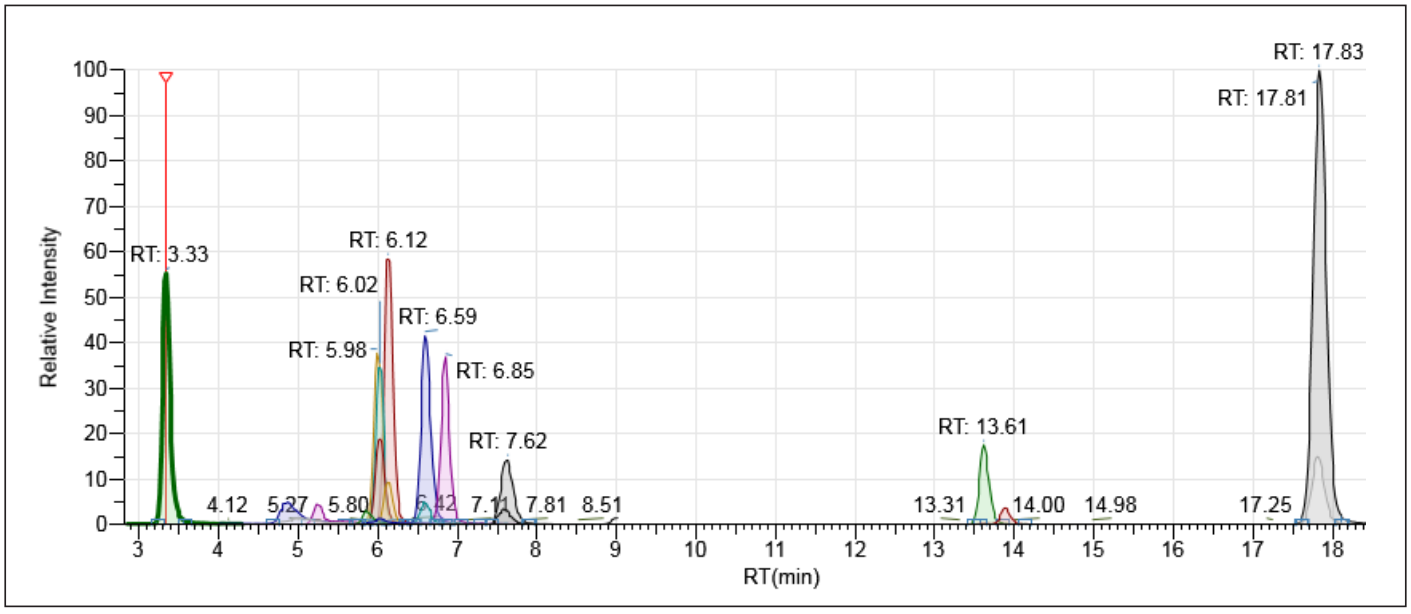

图 2. 16 种阴离子农药和代谢物的总离子图：bialphos, chlorate, cyanuric acid, ethephon（HEPA）, fosetyl-aluminium（phosphonic acid）, glyphosate（N-acetyl glyphosate, AMPA, N-acetyl AMPA）, glufosinate,（N-acetyl glufosinate , MPPA）, and perchlorate（污染物）. 以上 15 种离子浓度均为校正曲线最低点浓度（相当于固体中含量 4 ng/g），maleic hydrazide 校正曲线最低点浓度（相当于固体中含量 50 ng/g），本图为面粉基质。

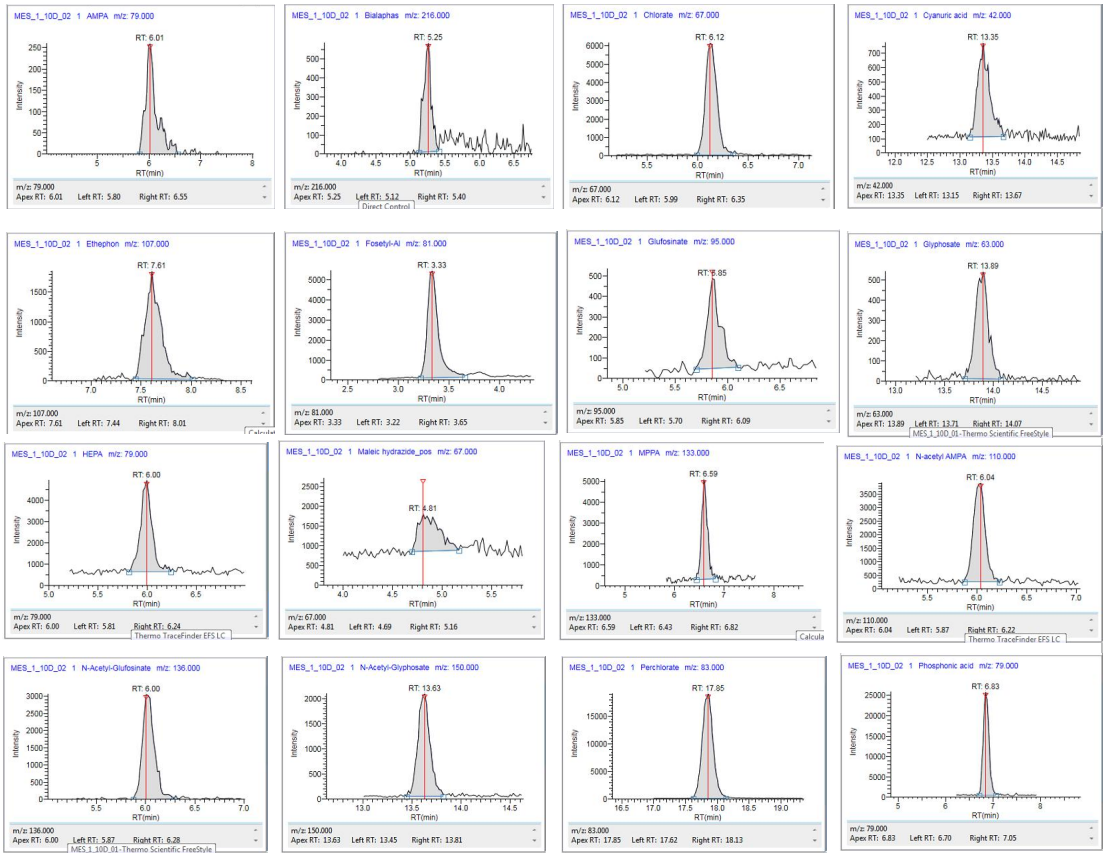

图 3. 面粉基质中 16 种待测物的校正曲线最低浓度峰形图（15 种待测物浓度相当于固体中含量 4 ng/g，maleic hydrazide 浓度相当于固体中含量 50 ng/g）。

典型的干燥样品 - 面粉中极性阴离子农药分析的校正方法评估

极性农残分析中最具挑战的难点是在 QuPPe 提取方法下大量共提取的基体带来的基质效应影响，部分原因是缺少提取步骤中的分离操作。冷藏和反相前处理柱的净化可以在一定程度上减少基质效应。但在谷物这种复杂基质分析中依然广泛存在着基质效应影响。很多实验室通过加入同位素标记内标物来校正基质效应，包括提取过程中加标待测物与基质结合在一起导致的回收率低的情况。内标物的加入是有效的，但往往内标物的成本比较高，并且全球很多地区并不能方便的购买到合适的内标物。因此，我们来评估基体匹配标准曲线方法（MMS- 基体提取后加入已知量的农药标准物质），基体提取标准曲线的方法（MES- 样品基体在提取前按照曲线浓度范围分别加入已知含量的农药标准物质），以及以上两种方式分别加入或不加入标记内标物的定量方法。面粉中 10 ng/g 含量的待测物（maleic hydrazide 浓度 100 ng/g）测定结果见表 1 所示。

表 1. 面粉中 10 ng/g 含量的待测物（maleic hydrazide 浓度 100 ng/g）用不同校正方法的结果

Analyte	MMS (No ILIS) (n=5)		MES (+ ILIS) (n=5)		MES (No ILIS) (n=5)	
	% Recovery	% RSD	% Recovery	% RSD	% Recovery	% RSD
Fosetyl-Al	93	2.7	-	-	96	2.7
Bialphos	96	6.4	-	-	95	5.7
Glufosinate	85	12	92	8.6	87	12
AMPA	65	6.6	115	6.1	104	6.5
HEPA	86	2.4	-	-	96	2.6
N-acetyl AMPA	85	1.0	-	-	98	1.1
N-acetyl Glufosinate	79	2.4	-	-	87	2.8
Chlorate	77	2.2	96	1.7	100	2.3
MPPA	71	1.0	96	1.4	95	1.1
Phosphonic acid	36	25	-	-	84	14
Ethephon	79	1.4	97	2.1	100	1.4
Cyanauric Acide	87	12	-	-	95	12
N-acetyl -glyphosate	60	2.9	-	-	100	3.0
Glyphosate	40	4.5	111	2.2	104	5.4
Perchlorate	66	4.2	100	0.9	90	5.2
Maleic hydrazide	84	4.4	-	-	102	4.1

面粉中 50 ng/g 的加标量（maleic hydrazide 加标量 400 ng/g）也得到了相似的结果。也正如所料想的，具有对应标记内标物的待测物，绝大多数的测定回收率都要更高，尤其是草甘膦，回收率从 40% 提高到 111%，结果精密度的提高不是特别显著。使用 MES（加标并提取后的校正曲线）的结果所有的待测物都能得到很好的精密度，保留时间的可重复性在 0.1min 内，校正曲线的反算浓度偏差在 20% 以内（线性良好）。所有的结果显示均符合 EU SANTE 中农残检测验证方法的指导标准（2）。

然而，当 MES 的校正方法应用到其他来源的面粉样品中时，面粉基质的变化带来了测定结果的变化。因此，对于干燥样品（包括小麦）的进一步验证，最有效、可靠的校正方法是加入内标物的提取校正曲线，或者是不需要加入内标物的标准加入法。

典型的高含水量、高叶绿素蔬菜 – 葱中极性阴离子农药的分析方法评估

葱被作为一种验证样品是因为其中含有高浓度的植物色素。谷物类样品中所使用的校正方法也同样应用在葱的分析中，所得结果见表 2.

表 2. 葱中 10 ng/g 含量的待测物（maleic hydrazide 浓度 100 ng/g）用不同校正方法的结果

Analyte	MMS (No ILIS) (n=5)		MES (+ ILIS) (n=5)		MES (No ILIS) (n=5)	
	% Recovery	% RSD	% Recovery	% RSD	% Recovery	% RSD
Fosetyl-Al	102	0.9			97	0,9
Bialphos	151	9.7			101	5.7
Glufosinate	100	5.7	108	8.4	106	6.5
AMPA	106	4.5	118	2.0	100	5.2
HEPA	113	11			97	8.9
N-acetyl AMPA	80	1.6			73	1.6
N-acetyl Glufosinate	115	1.9			98	1.7
Chlorate	75	2.0	70	1.5	68	2.1
MPPA	100	1.6	94	2.8	103	1.6
Phosphonic acid	61	1.3			79	1.3
Ethephon	110	1.6	104	2.7	109	1.7
Cyanauric Acide	114	6.2			101	5.8
N-acetyl -glyphosate	95	0.7			104	0.7
Glyphosate	93	1.8	95	1.4	97	1.8
Perchlorate	80	1.3	85	0.6	81	1.3
Maleic hydrazide	88	5.4			88	5.0

通过对比面粉的测定结果，葱基质下的 MMS 校正结果与 MES 和添加了内标物的校正结果相近，这就意味着葱的基质效应比面粉基质效应要弱。在葱基质中，MES 和添加了标记的内标物的定量结果也同样使精密度有所提高。事实上，不同来源的葱样品以同一种葱的校正结果相对一致，这表明 MES 校正对葱来说是可以接受的（图 4）。

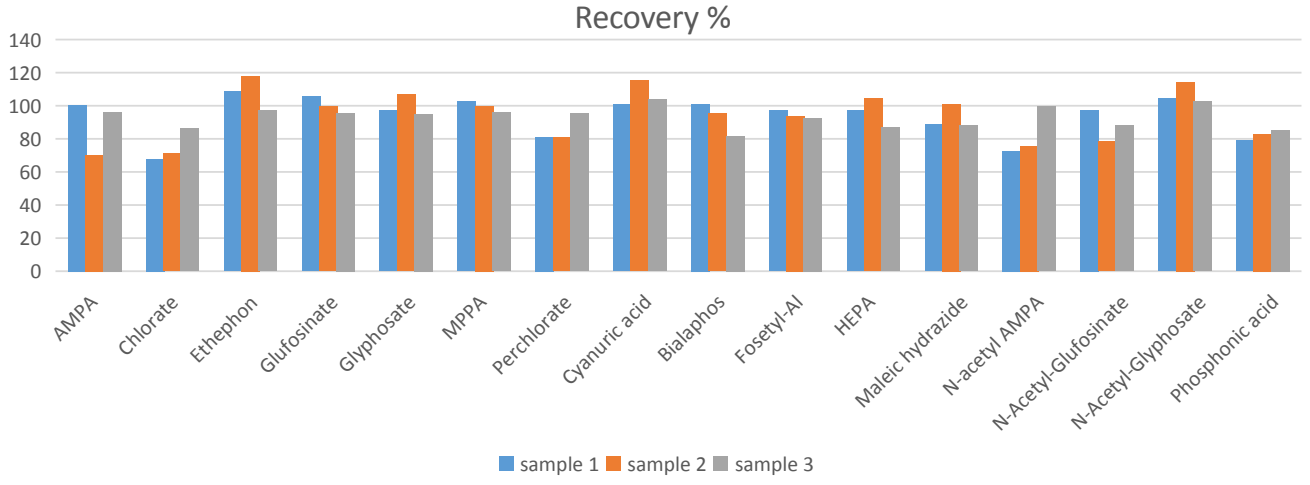

图 4. 不同来源的葱样品在 10 ng/g 含量的待测物加标量（100 ng/g maleic hydrazide）以 MES 校正的回收率结果（每种样品平行处理 5 份，RSD% < 9%），完全符合 EU SANTE 的指导标准。

系统耐用性 - 同一批次

经过一个序列 89 针次的面粉提取样品进样，所有化合物的保留时间和峰形均未发生明显改变。例如图 5 种所示的 Fosetyl-Al 和 Chlorate。同样，待测物的响应值保持稳定，离子源也可以保持清洁，展示出了同一批次测定内的系统稳定和耐用性。

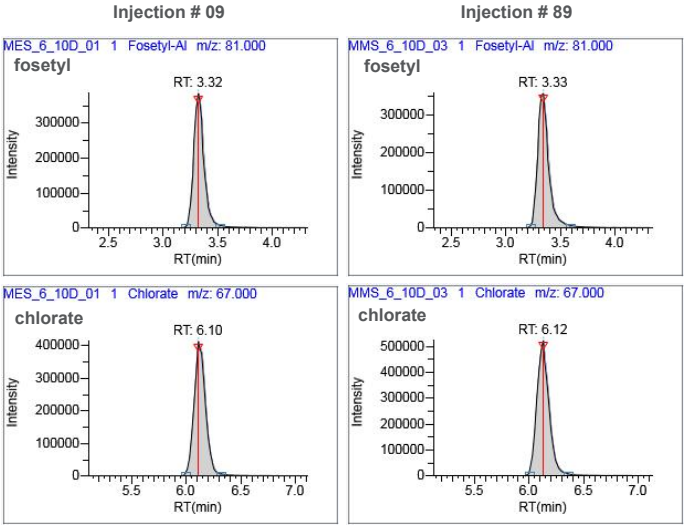

图 5. 面粉提取样品连续进样 89 针次后，响应值、峰形和保留时间仍然保持稳定。

结论

本文的 IC-MS/MS 系统解决方案提供了一套耐用、有效和可靠的多种极性阴离子农药残留的定性和定量方法，它可以一次进样同时分析多种待测物，并符合 EU SANTE 指导标准的要求。我们还将对复杂样品的前处理净化过程进一步优化，并确定一种更合适的校正方法来克服基质效应带来的影响。

参考文献

Reference 1.

Anastassiades, M.; Kolberg, D. I.; Benkenstein, A.; Eichhorn, E.; Zechmann, S.; Mack D.; Wildgrube, C.; Sigalov, I.; Dork, D.; Barth, A. Quick method for the analysis of numerous highly polar pesticides in foods of plant origin via LC-MS/MS involving simultaneous extraction with methanol (QuPPe-method), version 10.1; http://www eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlSRM/meth_QuPPe-PO_EurlSRM.pdf (accessed Mar 12, 2019).

Reference 2.

SANTE/11813/2017, Guidance document on analytical quality control and

method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed,

https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_

wrkdoc_2017-11813.pdf (accessed Mar 12, 2019).

TRADEMARKS/LICENSING

© 2019 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries. This information is not intended to encourage use of these products in any manner that might infringe the intellectual property rights of others.