

SCIEX Triple Quad™ 7500 LC-MS/MS系统 – QTRAP® Ready用于婴儿食品中高灵敏度的农药分析

KC Hyland¹ and Ian Moore²

¹ SCIEX, USA, ² SCIEX, Canada

Key Words : LC-MS/MS, pesticide residues, baby food, SCIEX OS, SCIEX Triple Quad™ 7500 - QTRAP® Ready

食品中农药残留的定性和定量检测是一项具有挑战性的工作，不仅因为检测基质的复杂性和多样性，还因为往往需要检测超低水平的农药。虽然分析技术在不断发展，但相应法规越来越严以及大众对食品中农药的认识逐渐提高，因此对分析方法的检测定量下限提出了更高要求。

SCIEX Triple Quad™ 7500 LC-MS/MS系统- QTRAP® Ready取得技术创新，在离子的生成、捕获和传输功能方面均取得了显著提升。²本文通过对食品基质中农药残留的测定，来评估上述功能的提升对仪器灵敏度及其它定量性能的影响。婴儿食品中的农药含量是由地区食品安全法专门规定的，例如2006年欧盟委员会指令明确规定了婴儿食品中农药的最大残留限量（Maximum Residue Limit，缩写MRL）的含量。除此之外，市面上可买到的婴儿食品也是一个很好的测试基质，因为其都是均质的水果和蔬菜混合物，包括绿叶蔬菜如羽衣甘蓝、高含水量水果如苹果和高淀粉水



果如香蕉，该基质覆盖了各种不同类型的干扰和背景，可以在一个基质中对方法进行多维度性能评估。通过本文的工作，证明了SCIEX Triple Quad™7500 LC-MS/MS系统- QTRAP® Ready灵敏度高，能够在很小的进样体积下实现超低水平检测极限。

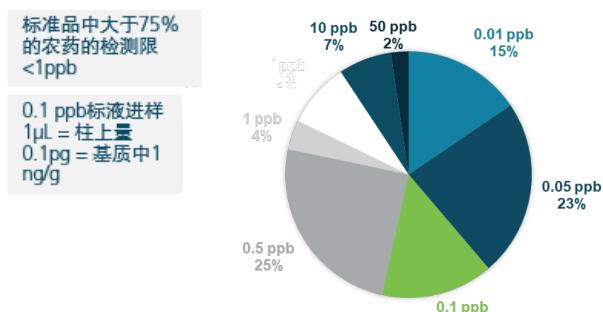


图1. 农药检测浓度示意图

饼状图显示了不同最低定量值（LLOQ）下，检测到的农药化合物的百分比，SCIEX 7500系统灵敏度高，因此能够检测到非常低水平的常用农药残留，且进样量小只需要1 μL。在原始食品样品中检测限度的转变对实验室检测各种食品基质以检测受管制残留物具有重要意义。

SCIEX 7500系统用于农药残留分析的主要优势：

- 1. 灵敏度高：**大部分农药在标准溶液中的检测限低于1 ng/mL，为实现大体积稀释从而获得低水平检测限提供了很大的空间
- 2. 定量性能优：**包括原始灵敏度，线性动态范围，重现性，和仪器的稳健性均被证明
- 3. 复杂基质中低水平定量能力佳：**采集数据快、色谱峰型好、采用分段采集方式（Scheduled MRM™, sMRM）10分钟内可采集400个离子对
- 4. OptiFlow™ Pro离子源的模块化设计，灵活易操作：**可以在ESI源和APCI源之间及LC不同流速之间轻松切换，同时保持高度的稳定性

样品前处理

标准品来自iDQuant™农药分析标准试剂盒(SCIEX)⁴，包含了209种具有不同化学性质、涵盖不同化学类别的农药。

本文选择了三种不同的婴儿食品，分别称为A、B和C。每种品牌分别以空白基质、添加1 ng/mL (ppb) 的农药混合标准溶液和添加10 ng/mL (ppb) 的农药混合标准溶液进行分析。每个样品和处理组合制备3个样本(表1)。

表1. 基质测试的样品制备

| 婴儿食品 | | 每种样品进行3样本分析 | |
|------|----|-------------|------------|
| A | 空白 | 添加1 ng/mL | 添加10 ng/mL |
| B | 空白 | 添加1 ng/mL | 添加10 ng/mL |
| C | 空白 | 添加1 ng/mL | 添加10 ng/mL |

称取15 g婴儿食品，旋转于试管中，加入15 mL乙腈（含1%乙酸），用力摇晃1分钟，离心，取上清液用流动相进行1:10稀释后进行LC-MS/MS分析。该样品前处理方法是一种“稀释-进样”方法，改编自美国分析协会(AOAC) QuEChERS方法，其目的是减少基质处理的步骤来评估方法在具有挑战性的基质条件下的性能。

液相方法

色谱柱：Phenomenex Luna Omega Polar C18

2.6 μm x 100mm

流动相：A：水 (0.1% 甲酸)；

B：乙腈 (0.1% 甲酸)

流速：0.4 mL/min；

进样量：1 μL

表2. 梯度洗脱程序

| Time (min) | B% |
|------------|-----|
| 0.75 | 5 |
| 8 | 100 |
| 8.5 | 100 |
| 9 | 5 |
| 10 | End |

质谱方法

用SCIEX Triple Quad 7500 LC-MS/MS系统 - QTRAP Ready进行样品分析，来评估该LC-MS/MS系统对于标准品和婴儿食品中痕量分析物的定量能力。。

多反应监测(MRM)模式是痕量农药定量重要的分析技术，每个化合物选择两个母离子/子离子通道进行分析检测。每个离子通道都有经过优化的碰撞能量(CE)电压，还有适合所有化合物的离子源参数。由于OptiFlow™ Pro离子源与早期Turbo V™离子源在设计上存在一些关键差异，因此对其参数进行了重新调整。例如，离子源温度可以设置比以前的方法更低，这样更有利热敏性化合物的分析测定。源参数如表3。

表3. OptiFlow™ Pro离子源参数

| 参数 | 数值 |
|---------|--------|
| 碰撞气CAD | 10 |
| 气帘气CUR | 32 psi |
| 雾化气 GS1 | 40 psi |
| 雾化气 GS2 | 70 psi |
| 电压IS | 1500 V |
| 温度TEM | 350 °C |

数据分析

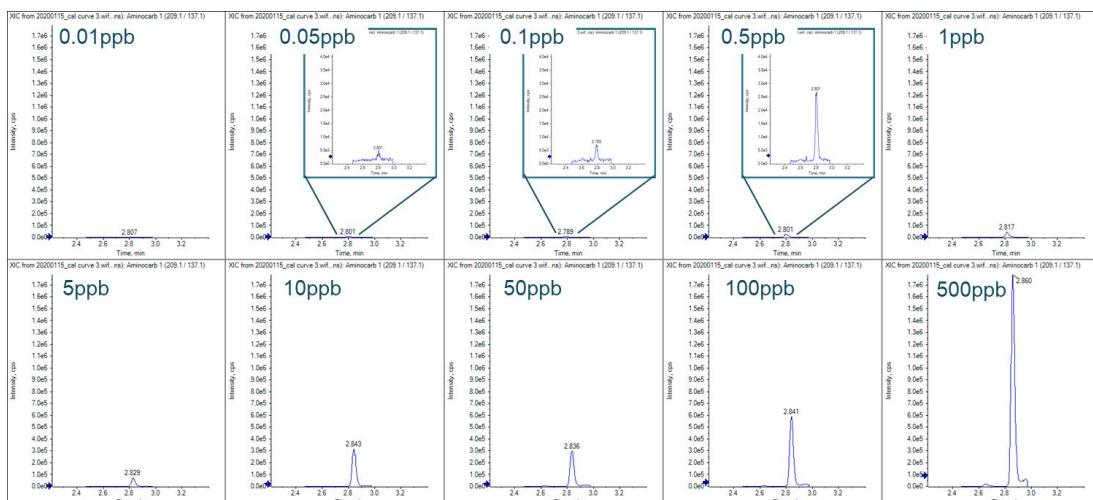
所有数据均使用SCIEX OS软件进行处理。目前SCIEX OS软件可以在SCIEX的三重四极杆平台上使用，它是集数据采集、数据处理于一体的软件平台，可实现从样本分析到出结果报告的所有功能。

结果

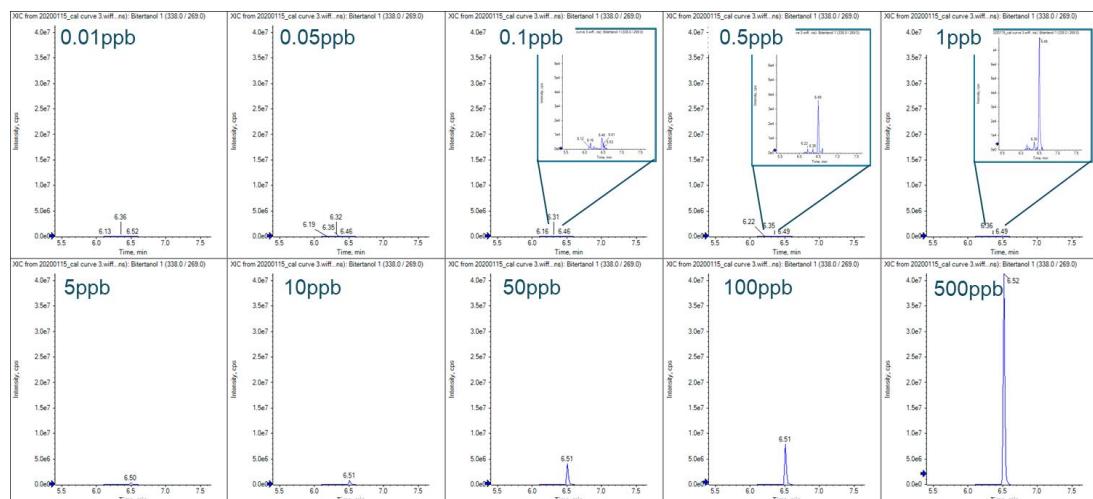
低浓度水平定量：209种农残中大部分化合物检测限低于1 ng/mL (标准溶液中)，其中约一半的化合物的检测下限低于0.1 ng/mL或者更低 (如图1所示)，特别值得注意的是，所有这些结果均是通过“稀释-进样”的样品前处理方法和小体积进样 (进样1 μL) 获得。

图2 和图3说明了该方法在SCIEX Triple Quad 7500 LC-MS/MS系统 - QTRAP Ready上的灵敏度和性能。色谱图显示的是标准溶液曲线中，不同浓度的色谱图。

灾害威



联苯三唑醇



联苯胺

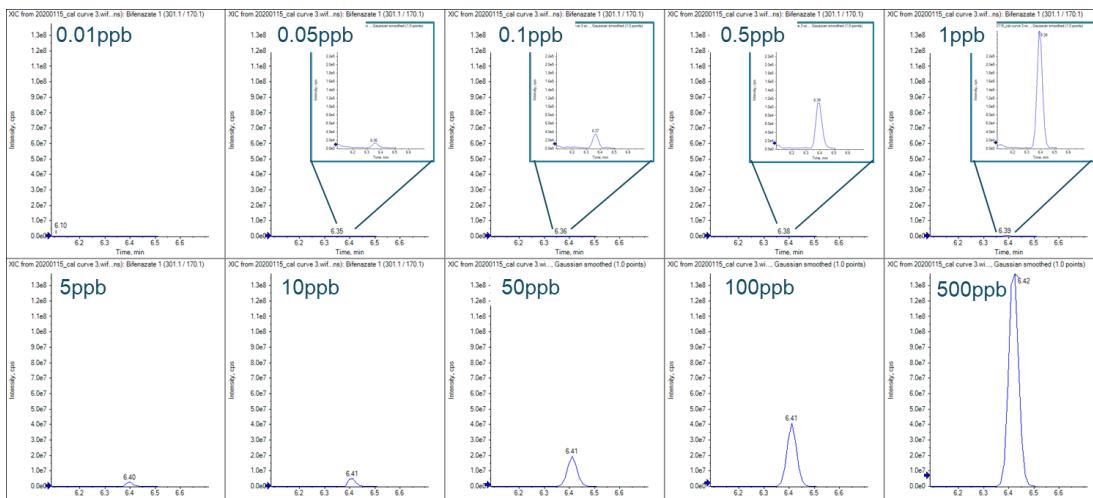
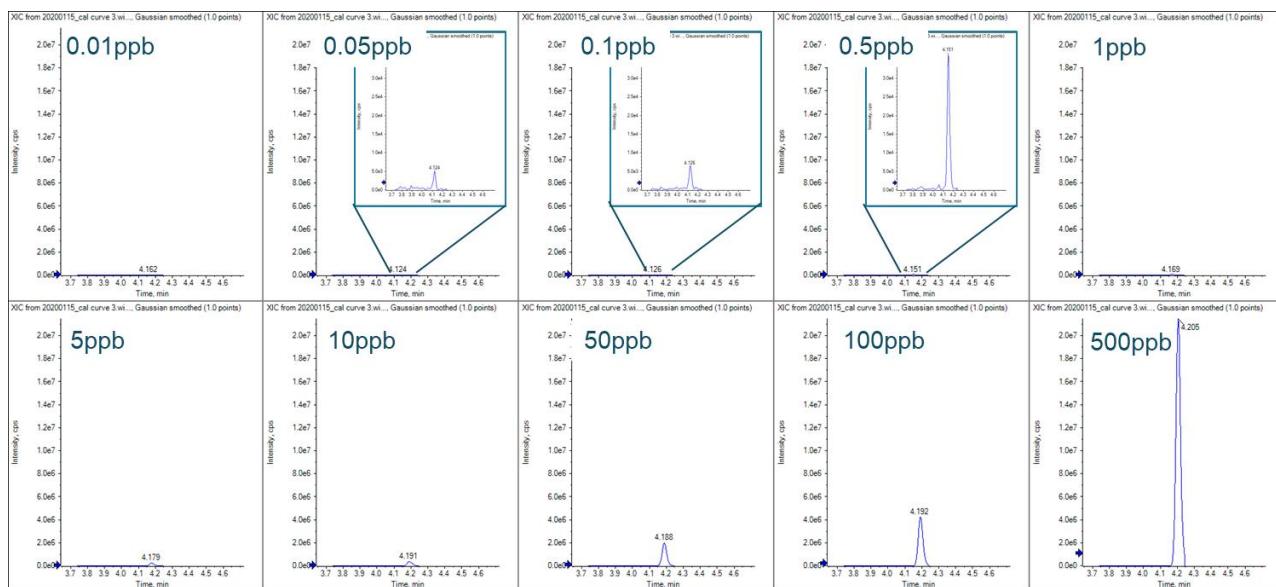


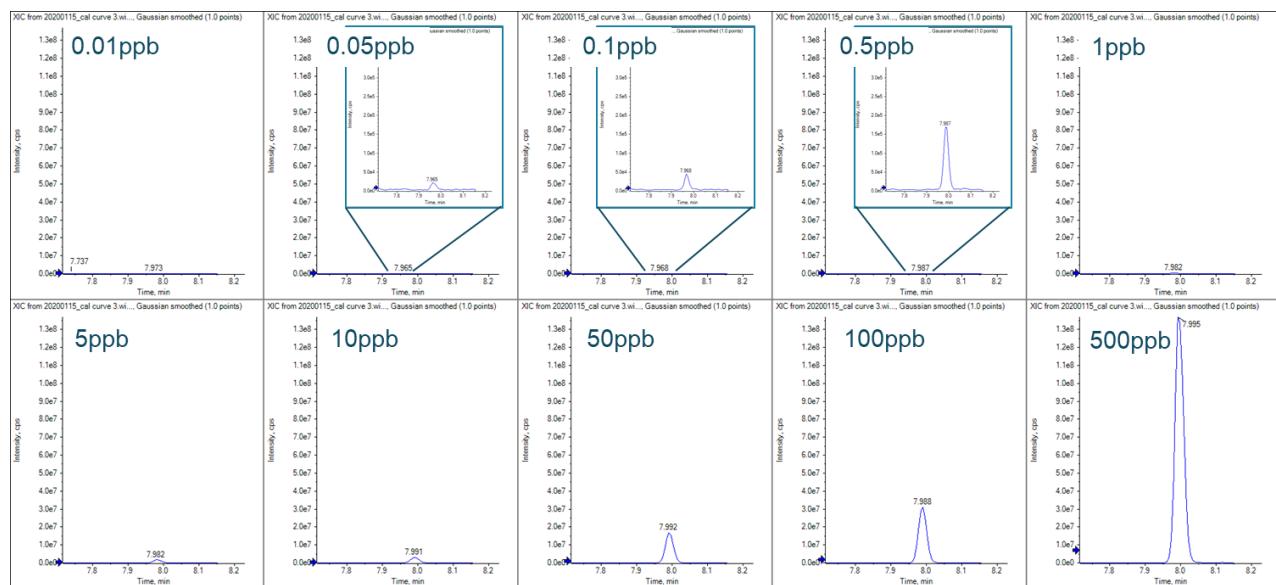
图2. 低水平农药检测举例

所展示的数据为标准溶液中随着浓度增加，不同浓度下各个化合物的色谱图：上，灾害威，中联苯三唑醇，下，联苯胺

灭螨灵



特虫酮酯

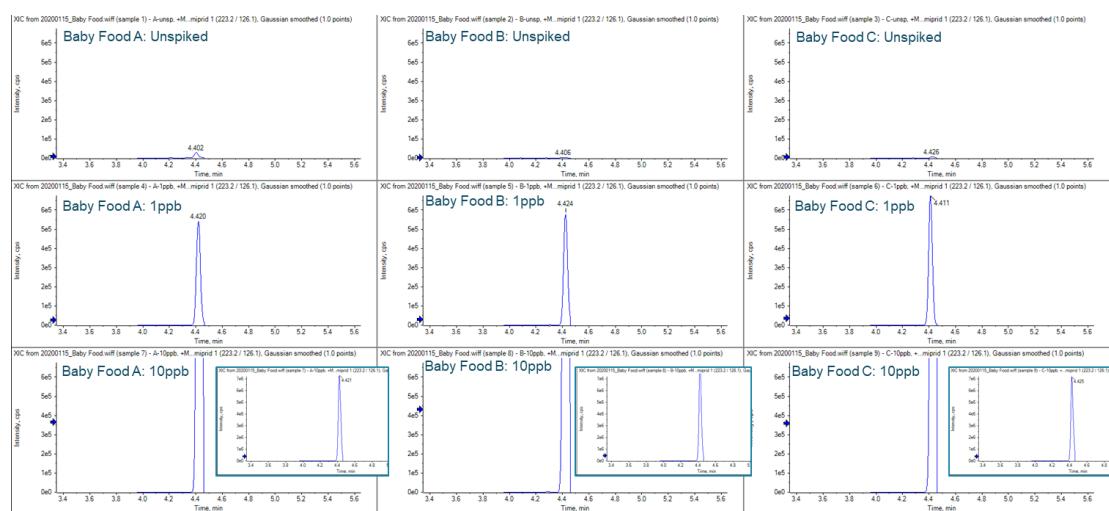
**图3. 低水平农药检测举例²**

所展示的数据为标准溶液中随着浓度增加，不同浓度下各个化合物的色谱图：上，灭螨灵，下，特虫酮酯

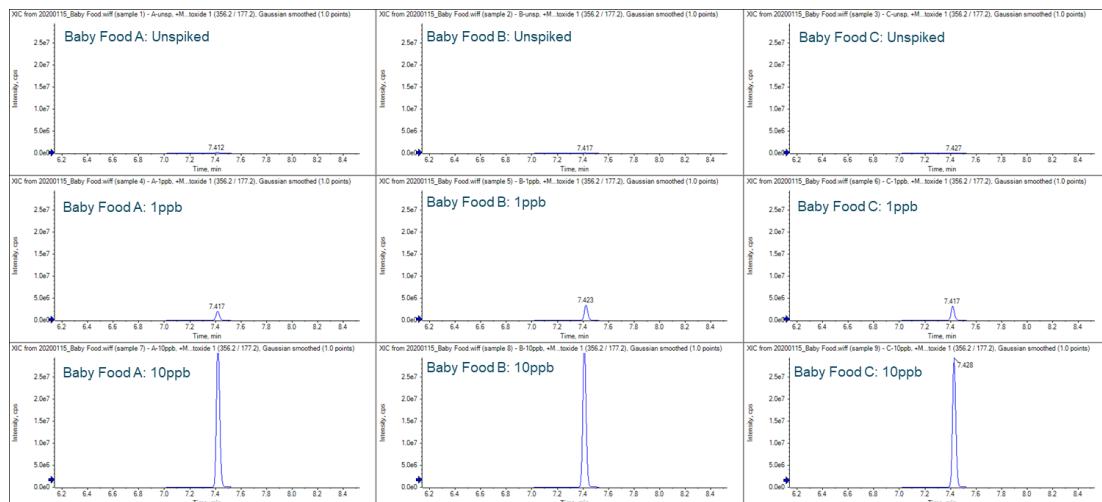
婴儿食品分析：每一种婴儿混合食品都进行了测量：空白基质（没有添加标品），添加低浓度标品和添加高浓度标品。图4显示了三种基质添加后的三种农药示例。欧盟委员会的指令明确规定了对婴儿食品中杀虫剂的限制。这些措施旨在保护婴儿等弱势群体，将食品样本的通用耐受性限制在0.01 mg/kg。表4显示了用

该方法标准溶液定量限（LOQ）与柱上样量和样品中的定量限之间的直接关系。柱上的进样量与采集方法的LOQ、进样体积方法息息相关，样品中的定量限是大多数管制限制所依据的值，它与进针浓度的关系取决于样品的提取和制备以及进样体积。

醋酰除虫



胡椒基丁醇



噻螨酮

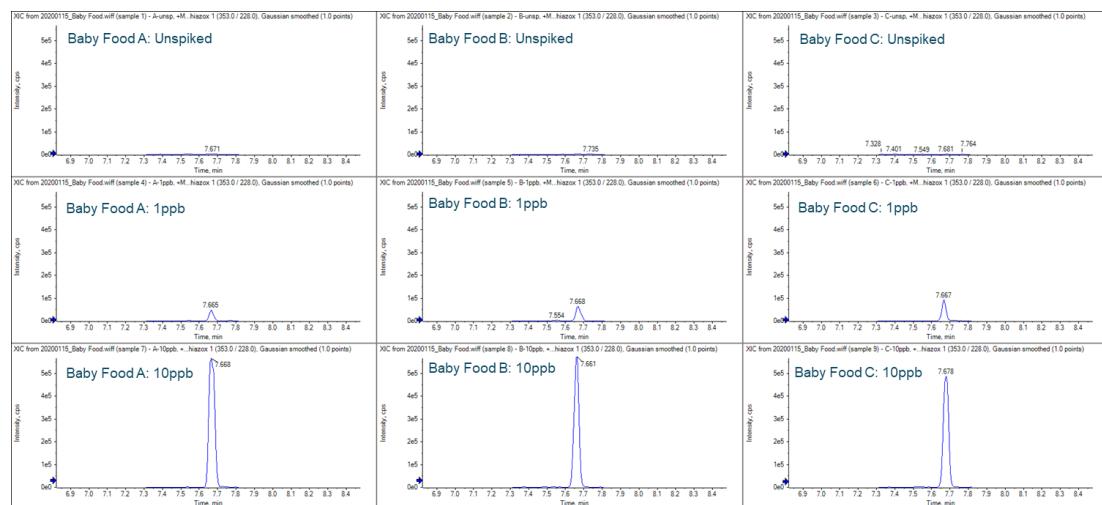


图4. 三种婴儿食品中农药举例

每种婴儿食品中分别测定了空白基质、基质加低浓度标品、基质加高浓度标品。上：醋酰除虫，中：胡椒基丁醇，下：噻螨酮

婴儿食品中的EU MRL为10 ng/g, 用本文方法计算出的达到此目标所需的LOQ为:

$$(10 \text{ ng/g}) \times (\text{样品重量} 15 \text{ g}) = 150 \text{ ng}$$

$$150 \text{ ng}/(\text{提取溶剂体积} 15 \text{ mL}) = 10 \text{ ng/mL (ppb)} \text{ (提取的样品中)}$$

本文提取的样品经过1:10稀释, 所以

$$(10 \text{ ng/mL})/10 = 1 \text{ ng/mL (ppb) LOQ}$$

因此, 本方法的MRL为溶液浓度1 ng/mL或者说是柱上浓度为0.001 ng 通过1:10稀释、1 μL进样及简单的基质前处理步骤, 展现了SCIEX 7500系统在复杂基质中的卓越性能, LOQ为0.01 ng/g, 且柱上样浓度达到0.001 ng, 完全满足欧盟对婴儿食品检测法规要求。

表4. 标准溶液浓度、柱上浓度和基质中浓度换算表

| 标准溶液LOQ (ppb) | 柱上浓度 (进样1 μL, pg) | 基质中LOQ (ng/g) |
|--------------------|------------------------|--------------------|
| 0.01 | 0.01 | 0.1 |
| 0.05 | 0.05 | 0.5 |
| 0.1 | 0.1 | 1 |

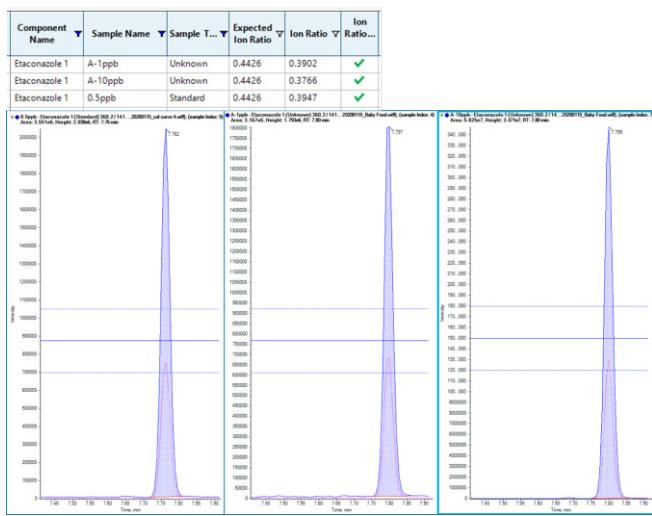


图5. 离子比率确认结果展示

左侧为标准溶液中的离子比率, 基质加标的离子比率分别为中间(加标1ppb)和右侧图谱(加标10ppb), 符合要求的离子比率偏差±20%用上下两条线显示在色谱图上。且结果表中会有绿色对勾进行显示, 方便快速分析数据结果

本文将基质中每个化合物的两个MRM离子对比率与标准溶液中两个离子通道的比率进行比较, 从而来对复杂基质中化合物的准确定性。该定性结果可在SCIEX OS软件中自动呈现, 且可以进行标记和过滤, 如图5所示。

线性: 对于某些化合物, 仪器灵敏度的提高提供了较低的检限, 然而, 这种增加的灵敏度可能导致校准曲线的上部范围受到检测器饱和的限制。图6展示了校准曲线的两个示例, 对于氯氟脲, 整个浓度范围的响应保持线性; 对于[3-[(苯基氨基)甲酰基]氧]苯基]氨基甲酸乙酯, 可以发现本方法可达到一个非常好的检出限(0.05 ppb), 然而, 在最高浓度下信号饱和度很明显, 在校准曲线上可以看到一个平台, 线性范围为0.05 ppb~100 ppb。

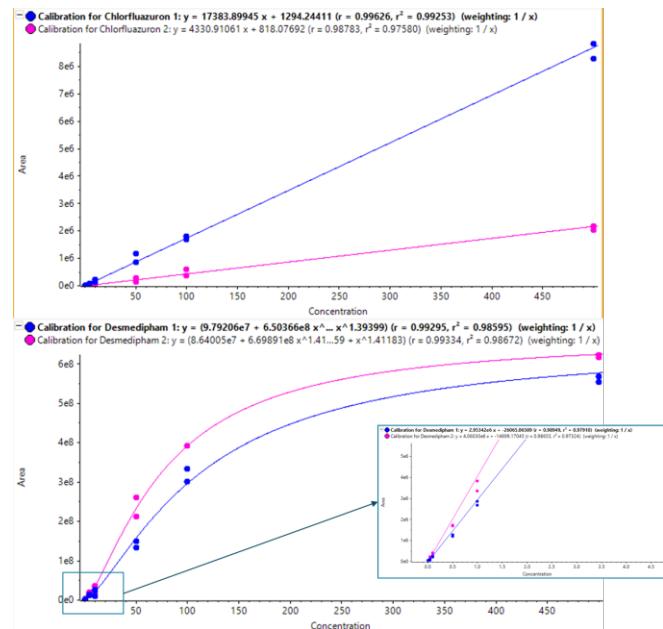
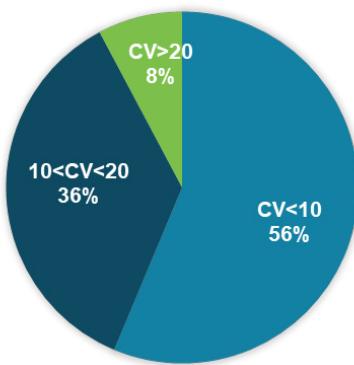


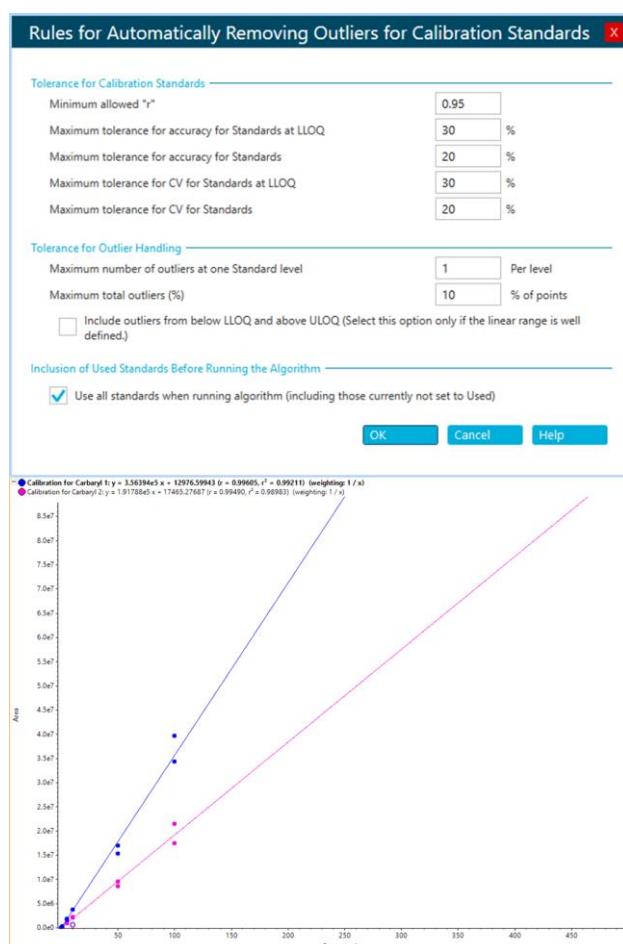
图6. 灵敏度增加对不同化合物线性范围的影响

上: 本方法浓度范围内, 氯氟脲在SCIEX 7500系统上线性关系良好; 下: 由于检测器饱和, [3-[(苯基氨基)甲酰基]氧]苯基]氨基甲酸乙酯校准曲线在高浓度范围趋于平缓, 而在低浓度范围仍呈线性

因为不同化合物的响应值会有不同, 因此会有多个最低定量下限(LLOQ)和定量上限(ULOQ), 这就需要花费大量的时间来准确确定多农残化合物动态线性范围。SCIEX OS软件可以帮助用户轻松化解这个难题, 软件中有“自动去除标曲离群值”的功能, 软件会自动去除不符合设定标准的浓度点, 保证定量的准确性且可提高工作效率。图8展示了SCIEX OS软件中“自动去除标曲离群值”的功能的截图以及一条高浓度点被自动去除后重新拟合的标准曲线。

**图7. 农药残留在婴儿食品中的重现性**

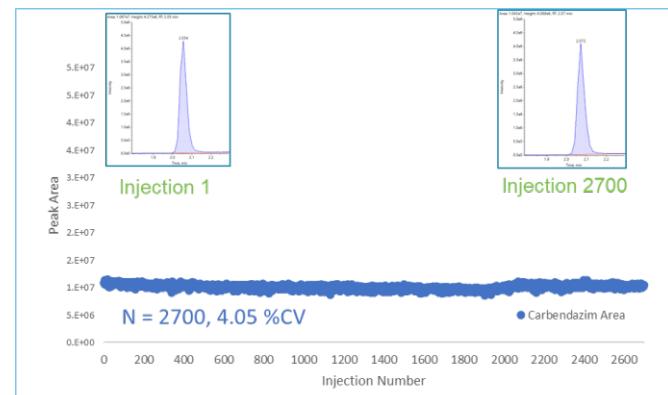
以峰面积计算，绝大多数农药在婴儿食品基质中的CV值< 20%，超过一半的农药CV值<10%

**图8. 用户自定义去除标曲离群值规则**

上图：定义了该数据处理方法每个校准曲线必须通过线性回归得到的最小r值、限制了多少个点允许被去除以及准确度和%CV的允许偏差。这些设定标准适用所有化合物，且可被认为唯一。

重现性和稳定性：方法重现性和硬件稳定性对食品中低水平残留物的常规分析至关重要。为了证明重复性和稳健性，本文进行了两次评估。首先，在婴儿食品基质中对10 ppb浓度的农药组进行了三次重复分析，以评估和报告整个组别化合物的%CV值。图7显示了这些%CV值的百分比。

其次，还进行了一项测试，来证明SCIEX 7500系统在复杂基质中大体积进样分析的极端稳定性和重现性。该试验选择了复杂的红茶作为基质，连续进样2000多针样品分析。图9显示了从第一次到最后一次进样的一致性且在测试过程中没有进行仪器的清洗或维护。

**图9. 基质中良好的重现性和稳定性**

针对此项测试，本方法设置了4分钟的梯度，流速0.4 μ L/min。第1针和最后1针的色谱峰面积一致，信噪比S/N保持不变

结论

本文在SCIEX Triple Quad 7500 LC-MS/MS系统 - QTRAP Ready上建立了溶液和婴儿食品中209种农药的分析方法。通过本方法来评估SCIEX 7500系统的灵敏度以及考察其在测定复杂基质（由水果蔬菜组成的婴儿食品）中农残的优势。结果表明，SCIEX Triple Quad 7500 LC-MS/MS系统 - QTRAP Ready即使在简单的样品前处理（直接稀释）和小体积进样的情况下，也能实现小于ppb浓度的灵敏度，且具有良好的重现性、稳定性、线性和色谱行为，可实现高质量的准确定量。

参考文献

1. EU Commission Directives 2006/125/EC and 2006/141/EC.
2. Enabling new levels of quantification. SCIEX technical note RUO-MKT-02-11886-A.
3. Nougadère, et al., Dietary exposure to pesticide residues and associated health risks in infants and young children – Results of the French infant total diet study, Environment Int.137.
4. Using the iDQuant™ Standards Kit for Pesticide Analysis to analyze residues in fruits and vegetable samples. SCIEX technical note 3370211-01.
5. M. Anastassiades, et al. (2003) Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce. J. AOAC Int. 86(2) 412-431.

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。© 2020 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.

RUO-MKT-02-11958-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话：010-5808-1388
传真：010-5808-1390
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419-7200
传真：021-2419-7333
官网：sciex.com.cn

广州分公司
广州市天河区珠江西路15号
珠江城1907室
电话：020-8510-0200
传真：020-3876-0835
官方微信：ABSciex-China