

使用三重串联四极杆液质联用仪和动态多反应监测功能(DMRM)进行复杂样品中农药多残留的快速定性定量分析

采用安捷伦分析方法包和农药化合物参数数据库的快速而高效的方法开发

应用报告

食品安全和环境

作者

Jerry Zweigenbaum, Michael Flanagan,
Peter Stone, Thomas Glauner,
Limian Zhao
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
USA

摘要

由于需要监测和定量的农药组分种类繁多而且浓度低，因此食品和环境样品中农药残留的分析一直是个挑战。另外，由于不同化合物需要不同的优化质谱参数，因此三重串联四极杆液质的分析方法的开发是一个繁复耗时的工作。本文就是针对这种情况，介绍了一种利用安捷伦农药残留分析方法包快速而高效地建立使用 LC/MS/MS 进行农药多残留检测的方法。该分析包中包括了农残测试标样、含 600 种农药组分的多反应监测数据库(MRM)、快速起始应用指南以及几种用于农残检测的动态多反应监测(DMRM)的分析方法，该分析包可以轻松应用于特定农残分析方法。动态反应监测数据库包括了世界上最普遍被监测的农药，可以提供快速及定制式的农药分析物列表方法开发。在 Agilent 1200 高分离度快速液相色谱和带喷射流离子聚集技术的 6460 三重串联四极杆串联质谱仪上演示了 100 和 300 种农药残留分析的结果。另外还利用安捷伦最高性能的 1290 Infinity 超高压液相色谱与 6460LC/MS 分析了以上 300 种农药组分。与 1200 高分离度快速液相色谱 (RRLC) 相比，Agilent 1290 Infinity 超高效液相色谱具有更高的耐压能力、更快的分析速度、更高的峰容量和更少的重叠峰。以菠菜为基质添加了 16 种农药，采用了安捷伦的 SampliQ 萃取、分散 SPE 试剂盒和安捷伦的三重串联四极杆液质联用仪进行了食品中农药残留的高灵敏度快速分析。



Agilent Technologies

前言

目标农药残留的传统检测方法一般是气质联用或液质联用的方法。由于被使用的农药的种类繁多和一次进样实现复杂样品中几百种农药的高灵敏度检测的要求，所以两种技术都是必须的。气质联用法用于弱极性同时具有一定挥发性的农药的分析，而液质联用法则适合于极性或者热不稳定的农药分析，有不少农药是属于既适合气质分析又适合液质联用技术分析的化合物。但是，在近20年来开发的农药，大多数适合液质分析。对于复杂样品中痕量组分的检测使用三重串联四极杆液质(QQQ)及多反应监测功能。在进行多反应监测(MRM)采集时，QQQ监测母离子在经过中间的四极杆(碰撞反应池)时碰撞产生的子离子，见图1。多反应监测(MRM)对于目标化合物分析具有最高的灵敏度和选择性。

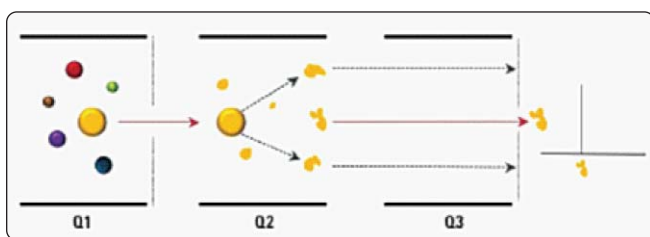


图1. 三重串联四极杆质谱上多反应监测(MRM)的工作原理示意图。母离子在第一个四极杆(Q1)中选择，在碰撞反应池中(Q2)产生碰撞解离碎片，在第三个四极杆上进行子离子的选择。因为使用了两个阶段的质量选择性，所以来自样品基质的背景干扰极低，产生优异的灵敏度

长久以来，监管机构不断地要求增加检测农药的数量以及农药残留种类。现在通常要求一次进样实现对上百种农残的分析。为了应对这一挑战，需要将监测的MRM transitions转换为使用进行时间编程的多反应监测。这就是所谓的时间编程MRM。它通过将QQQ编程，在不同的LC/MS分析时间段来监测特定的子离子。然而这样的方法需要良好定义的保留时间窗口以避免在组分流出时进行时间段的切换。如果时间编程的多反应监测(MRM)用于包含几百种农药残留的样品，那么时间编程MRM分析将受到循环时间限和离子驻留时间限的影响，该时间限会影响分析灵敏度和

选择性。动态多反应监测(MRM)，一种新的技术，大大消除这个限制，使得更容易地进行方法的建立和修正，例如增加新的需要分析的农药组分。当组分子离子从液相色谱洗脱时，动态多反应监测只监测组分子离子。在这一点上，与时间编程多反应监测(MRM)相比较，动态多反应监测(MRM)显著改善了复杂样品的负载循环时间[1]，并提高了灵敏度和选择性。

无论是时间编程MRM还是动态MRM，建立多反应监测方法的挑战之一是创建MS/MS事件的时间序列和灵敏度及专一性最大化的质谱参数。获得每个分析化合物的两个或更多MRM transitions列表以及化合物组分的特定参数、碰撞电压和碰撞能量非常必要。安捷伦已经开发出包含600种农药的MRM数据库，可以与安捷伦的所有三重串联四极杆液质联用配合使用，不再需要繁复而耗时的手动程序来获得此信息。数据库可以将选择的组分直接导入用户的分析方法。数据库的一部分见图2。除了建立定制方法之外，只读式数据库允许用户拷贝用户定制的数据库以满足特殊的分析要求。关于数据库更细的信息请参见相关的技术报告[2]。安捷伦农药分析方法包还包括了相关的农药测试混合物标样，它们被用于系统性能的测试和预设方法的校验，允许快速方法开发。无论是分析方法包还是测试标样都没有减少对定义合适QC/QA程序的实验室的需求。每个实验室必须具有适合各种目的的质量控制程序并且分析相应的测试标准品来校验分析结果。

本应用报告详细地介绍了安捷伦农药分析方法包和600种农药的数据库，以及动态MRM进行复杂农药混合物的分析。液相色谱系统采用1200 SL系列RRLC或者1290 Infinity UHPLC，串联Agilent 6460型喷射流离子聚焦的三重串联四极杆质谱仪[3]。本文介绍的这些方法都可以采用Agilent MassHunter数据分析软件和动态多反应监测农药数据库方便的建立。采用Agilent 6460系列QQQ LC/MS系统，一些农药的检测限(LOD)达到了100 fg甚至更低。这些方法适用于所有的Agilent 6400系列LC/MS系统。

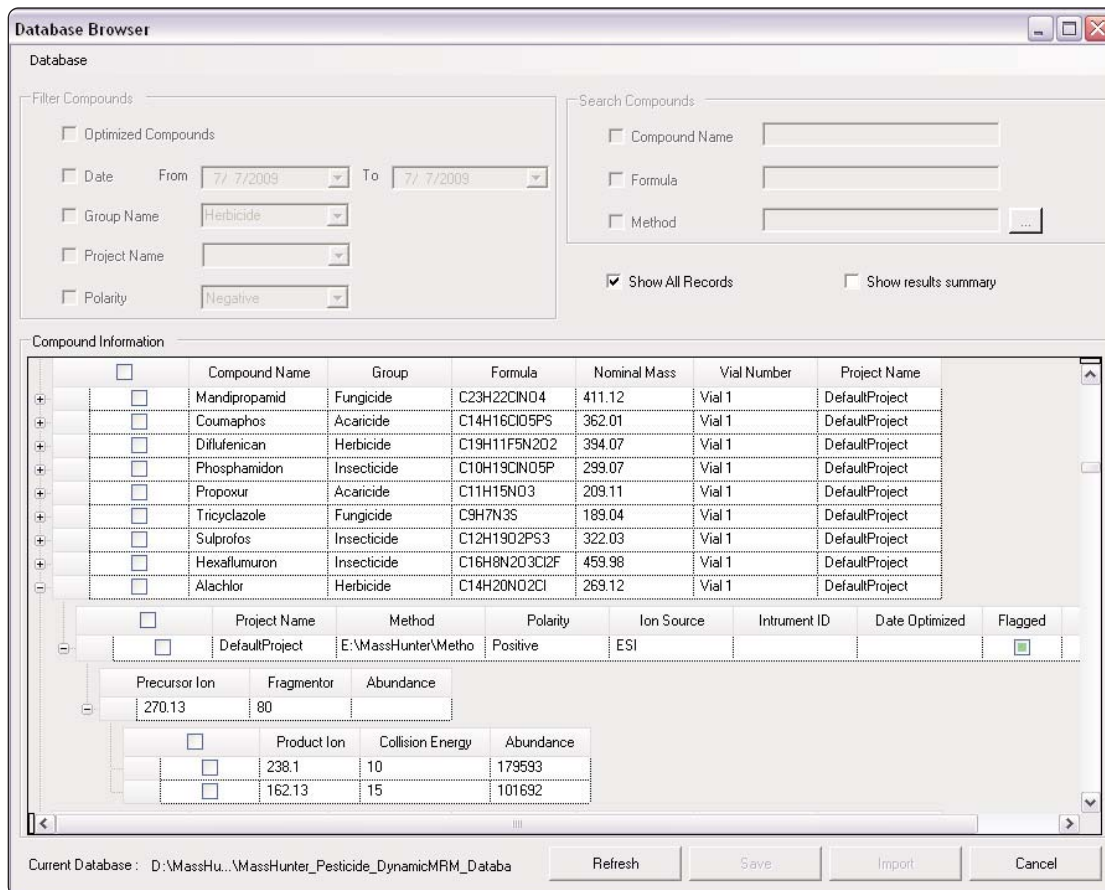


图 2. 600 多种农药化合物的质谱参数数据库

实验部分

试剂和化学品

- 安捷伦农药测试标样混合物，部件号 5190-0469，酸性和碱性化合物在 10%的乙腈/90%水溶液中分别稀释到 10 ppb
- Agilent SampliQ QuEChERS AOAC 提取试剂盒，部件号 5982-5755。Agilent SampliQ QuEChERS AOAC 分散固相萃取试剂盒用于色素含量高的水果和蔬菜样品，部件号 5982-5321 (2 mL) 和部件号 5982-5356 (15 mL)
- 农药多残留标样购自 Sigma, Chemservice 和 Erhenstofer 博士

仪器参数设置

- *附录 I: 测试混合物正离子和负离子样品分析的 LC/MS/MS 条件
- 附录 II: 100 种农药同时检测的 LC/MS/MS 条件

- *附录 III: 使用 Agilent 1200 系列 SL 型 LC/MS/MS 分析 300 种农药的液质条件
- 附录 IV: 采用 Agilent 1290 Infinity LC/MS/MS 分析 300 种农药的液质条件
- 附录 V: QuEChERS 提取试剂盒用于菠菜样品中农药分析的 LC/MS/MS 条件
- *附录 VI: 采用 Agilent 1200 系列 InfinitySL 分析 165 种农药残留组分的 LC/MS/MS 条件
- *附录 VII: 采用 Agilent 1200 系列 SL 分析 224 种农残的 LC/MS/MS 分析条件
- 附录 VIII: 采用 Agilent 1290 Infinity LC 分析 224 种农药的 LC/MS/MS 条件

*上述所有的方法都已经包括在分析方法包中

菠菜样品的前处理步骤

- 称取 15 g (± 0.1 g) 已经均质好的菠菜样品
- 添加标准品或者如果需要, 添加内标
- 涡旋震荡 30 秒
- 加 15 mL 含 1% 乙酸的乙腈溶液
- 将预装的 1 包提取试剂盒中的缓冲液 (部件号 5982-5982-5755) 加入专用的 QuEChERS 萃取管, AOAC Method 2007.01, 6 g $MgSO_4$ 和 1.5 g NaAc
- 旋紧盖并手持震荡 1 分钟
- 4000 rpm 下离心 5 分钟
- 1 mL 或 8 mL 上清液转移至分散固相萃取试剂盒中 (部件号 5982-5321 或部件号 5982-5356), 用于高色素的水果和蔬菜样品
- 涡旋震荡 1 分钟
- 2 mL 的离心管在 13000 rpm 下离心 2 分钟, 或者 15 mL 离心管在 4000 rpm 下离心 5 分钟

- 200 μ L 上清液转移至自动进样器的样品瓶中
- 加 800 μ L 水或者标准添加液
- 涡旋震荡 1 min, 以备 LC/MS/MS 分析

结果和讨论

正离子和负离子模式测试标样混合物

除了 600 个化合物库之外, 安捷伦农药分析方法包还包括了正负离子模式的测试标样, 以及分析方法, 参见附录 I。方法包含化合物名称、MRM transitions、碰撞电压、碰撞能量和动态 MRM 的保留时间。测试混标和提供的方法可以帮助用户验证系统一经安装就可以进行农药分析。动态 MRM 的正离子和负离子模式下, 测试标样的 LC/MS/MS 提取离子流图见图 3 和图 4。

分析方法包快速使用指南[4]指导用户如何分析测试混标和创建动态 MRM 方法。为了建立新的方法, 首先在 MRM 下分析高浓度的标样。用安捷伦的 MassHunter 质谱工作站软件生成包含保留时间的报告。通过从定制报告导入结果和指定保留时间增量窗口来生成动态 MRM 方法。该步骤在不久的将来即可实现自动化。

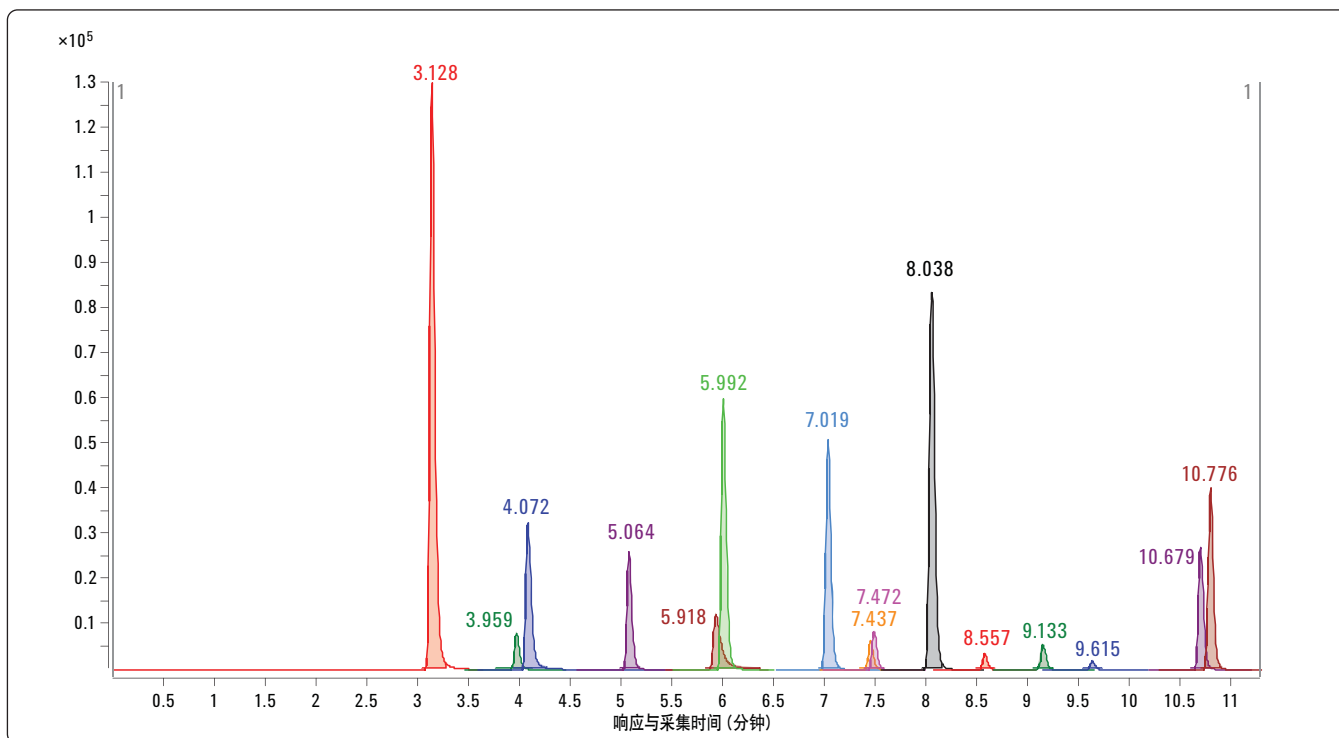


图 3. 正离子模式下测试混标的提取离子流图 (参见附录 I 的化合物和对应的保留时间的数据)

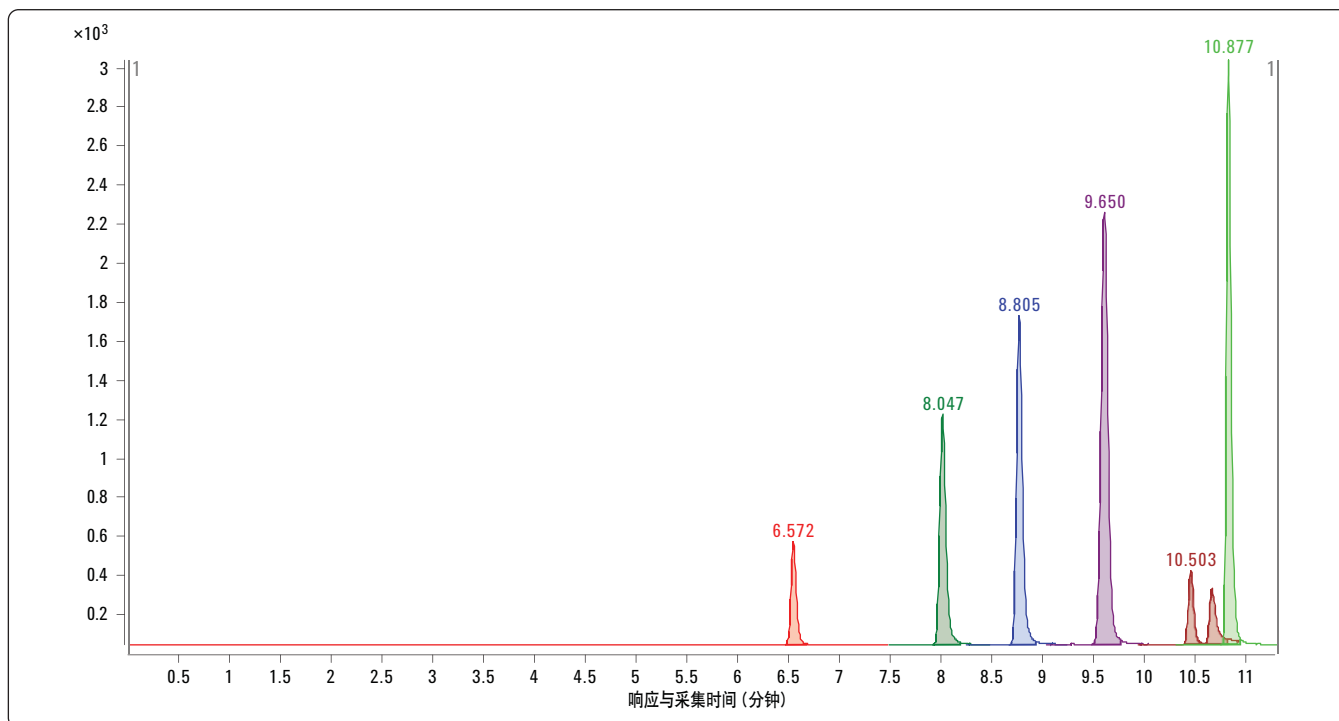


图 4. 负离子模式下测试样品的提取离子流图 (参见附录 I 的化合物和对应的保留时间的数据)

表 1 是动态 MRM 方法采集参数的部分信息。注意：在这篇应用举例中，保留时间窗口 (Delta RT) 是 2 分钟，这对于窄峰太宽了。宽的时间窗口适用于当保留时间发生偏移并且需要在用户定制分析方法中更新的时候运行标样。

表 1. 动态多反应监测 (DMRM) 采集参数的屏幕截图

| Acquisition | | | | | | | | | |
|---------------------|--------------------------|---------------|---------|-------------|---------|-------------|------------------|----------------|----------------|
| Source | | Chromatogram | | Instrument | | Diagnostics | | | |
| Scan segments | | | | | | | | | |
| Compound Name | ISTD? | Precursor Ion | MS1 Res | Product Ion | MS2 Res | Fragmentor | Collision Energy | Ret Time (min) | Delta Ret Time |
| ▶ Acephate | <input type="checkbox"/> | 184 | Unit | 125 | Unit | 80 | 10 | 1.212 | 2 |
| Aminocarb | <input type="checkbox"/> | 209 | Unit | 137 | Unit | 120 | 20 | 1.251 | 2 |
| Atrazine | <input type="checkbox"/> | 216 | Unit | 132 | Unit | 120 | 20 | 7.602 | 2 |
| Azinphos-methyl | <input type="checkbox"/> | 318 | Unit | 132 | Unit | 80 | 10 | 9.346 | 2 |
| Carbofuran | <input type="checkbox"/> | 222 | Unit | 123 | Unit | 120 | 15 | 7.13 | 2 |
| Chlorpyrifos methyl | <input type="checkbox"/> | 322 | Unit | 125 | Unit | 80 | 15 | 12.168 | 2 |
| Diazinon | <input type="checkbox"/> | 305 | Unit | 153 | Unit | 160 | 20 | 11.822 | 2 |
| Dimethoate | <input type="checkbox"/> | 230 | Unit | 171 | Unit | 80 | 10 | 4.645 | 2 |
| Imazalil | <input type="checkbox"/> | 297 | Unit | 159 | Unit | 160 | 20 | 6.498 | 2 |

Dynamic MRM Parameters

Cycle Time ms

利用动态多反应监测(DMRM)对 100 种农药进行快速而高效的筛查

利用 100 种农药混合物来演示动态多反应监测 (DMRM) 的有效性。附录 II 包括了每个组分的含量为 100 μg 的 100 种农药的 LC/MS/MS 条件和部分动态多反应监测方法列表。值得注意的是采用的色谱柱只有 50 mm, 所以分析速度更快但是分离度会相应降低。图 5 所示的 LC/MS/MS 提取离子流图证明了系统的性能。整个的液相色谱分析用时少于 15 分钟。图 6 所示, 在 1 分钟的时间窗口内包含了 11 个组分 (即 22 个 MRM)。图 7 是对于每一个动态多反应监测 transition 的 1 分钟增量保留时间窗口。注意

到有很多的共流出峰。在定量分析中, 为了获得所需的循环时间, 保证每个峰都能获得足够的的数据点, 动态 transition 代替时间段 transition 更有优势和必要性。而且当监测物峰在时间段附近或两个时间段之间流出时, 时间段 MRM 会发生固有的“死时间”而致的数据丢失。对于在时间段切换边缘洗脱的组分, 时间编程 MRM 需要重复进样分析。另外动态多反应监测 (DMRM) 对于重叠组分峰最大地利用了离子驻留时间, 在保持恒定循环时间的同时增强了分析物的信噪比。值得注意的是所选的循环时间最好在一个色谱峰上有 20 个数据点, 在一个保留时间窗口(保留时间增量窗口)最少能有 64 个数据点。

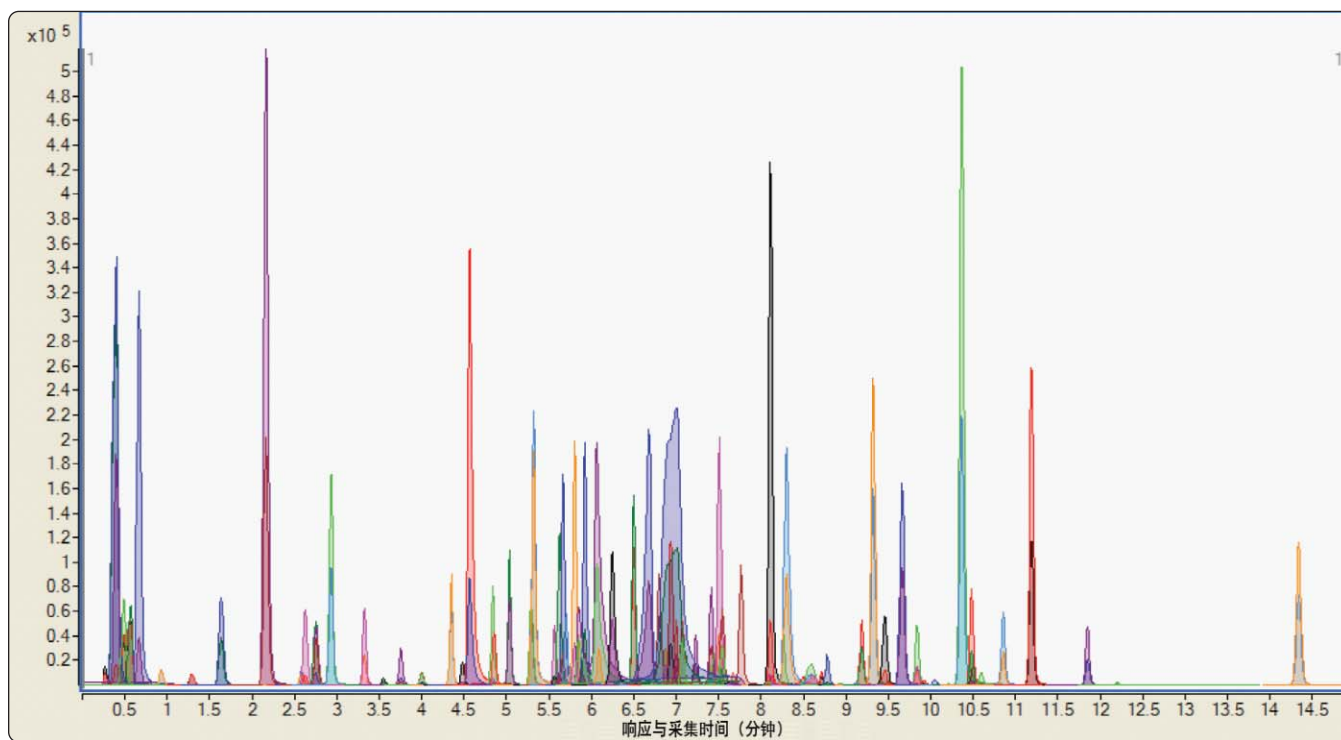


图 5. 100 种农药的提取离子流图 (每个组分 100 μg)

| 化合物名称 | 母离子 | 子离子 | 保留时间 |
|----------|-------|-----|-------|
| 醚磺隆 | 414.1 | 183 | 5.579 |
| 醚磺隆 (Q) | 414.1 | 157 | 5.579 |
| 绿磺隆 | 213.1 | 72 | 5.642 |
| 绿磺隆 (Q) | 213.1 | 140 | 5.642 |
| 阿特拉津 | 216.1 | 174 | 5.682 |
| 阿特拉津 (Q) | 216.1 | 132 | 5.682 |
| 西维因 | 202.1 | 145 | 5.736 |
| 西维因 (Q) | 202.1 | 117 | 5.734 |
| 萎锈灵 | 236.1 | 143 | 5.836 |
| 萎锈灵 (Q) | 236.1 | 87 | 5.836 |
| 氯磺隆 | 358.0 | 167 | 5.896 |
| 氯磺隆 (Q) | 358.0 | 141 | 5.896 |
| 乙硫苯威 | 226.1 | 107 | 5.937 |
| 乙硫苯威 (Q) | 226.1 | 164 | 5.936 |
| 吗菌灵 | 283.3 | 116 | 6.073 |
| 吗菌灵 (Q) | 283.3 | 98 | 6.074 |
| 敌草隆 (Q) | 233.0 | 160 | 6.101 |
| 啶菌环胺 | 226.1 | 108 | 6.245 |
| 啶菌环胺 (Q) | 226.1 | 93 | 6.246 |
| 枯莠隆 | 287.1 | 123 | 6.509 |
| 枯莠隆 (Q) | 287.1 | 72 | 6.509 |

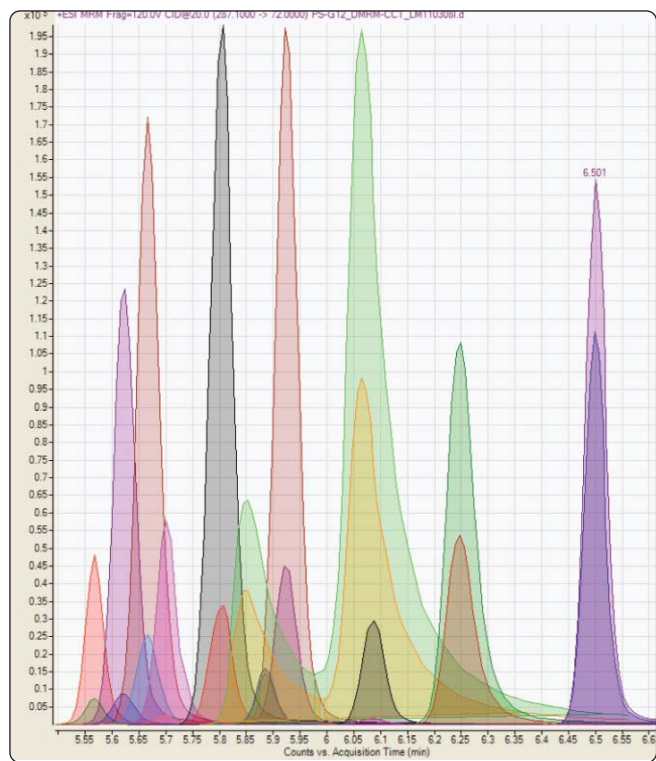


图 6. 左图：表中是 1 分钟的时间窗口中被检测的 11 个组分；右图：被检测组分的动态 MRM 结果

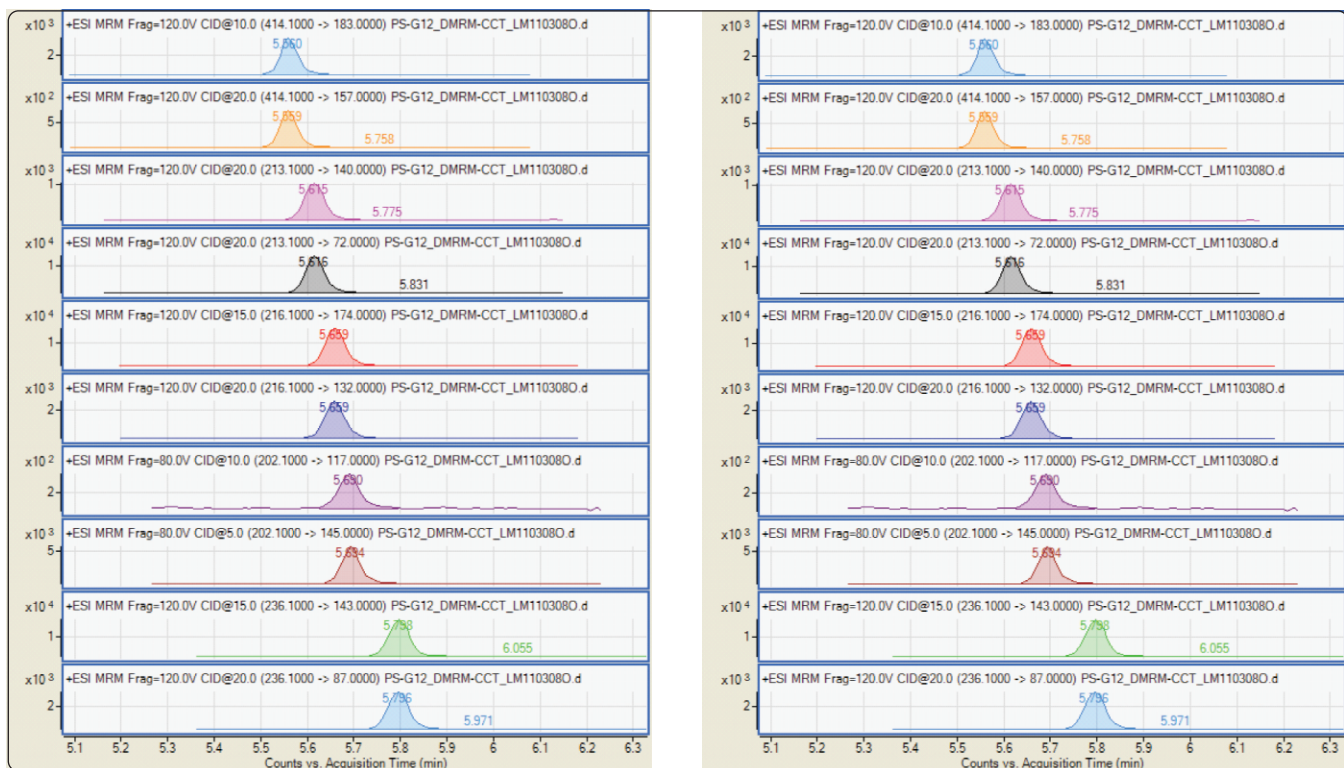


图 7. 对于每个 MRM transition 的动态多反应监测窗口

图 8 是本方法的一个典型分析结果。它显示了 100 种农药中的一个组分，阿特拉津的分析结果。可以看出阿特拉津色谱峰有 20 个数据点。这表明有足够多的数据点来保证定量分析的准确度。分析结果证明了动态多反应监测（DMRM）的效果和优点。

平均信号高度: 15,650
平均信号面积: 50,966
相对标准偏差(RSD): 3.2%
估计的最低定量限(LOQ): 100 fg 或更低

半峰宽以上具有 6 至 7 个数据点
半峰宽为 3 秒, 6 秒在 10%峰谷处
基线到基线有 20 个数据点

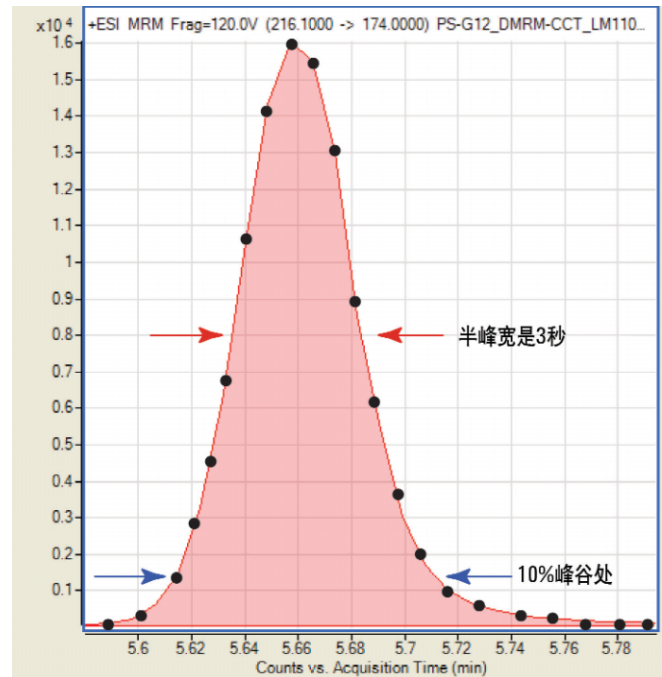


图 8. 10 μg 阿特拉津的典型分析结果, 充分证明了动态多反应监测 (DMRM) 的成效

图 9 是四种农药组分的校正曲线。每种农药的线性相关系数 (R^2) 是 0.998。在恒定的循环时间条件下, 动态多反应监测 (DMRM) 的定量结果极好。

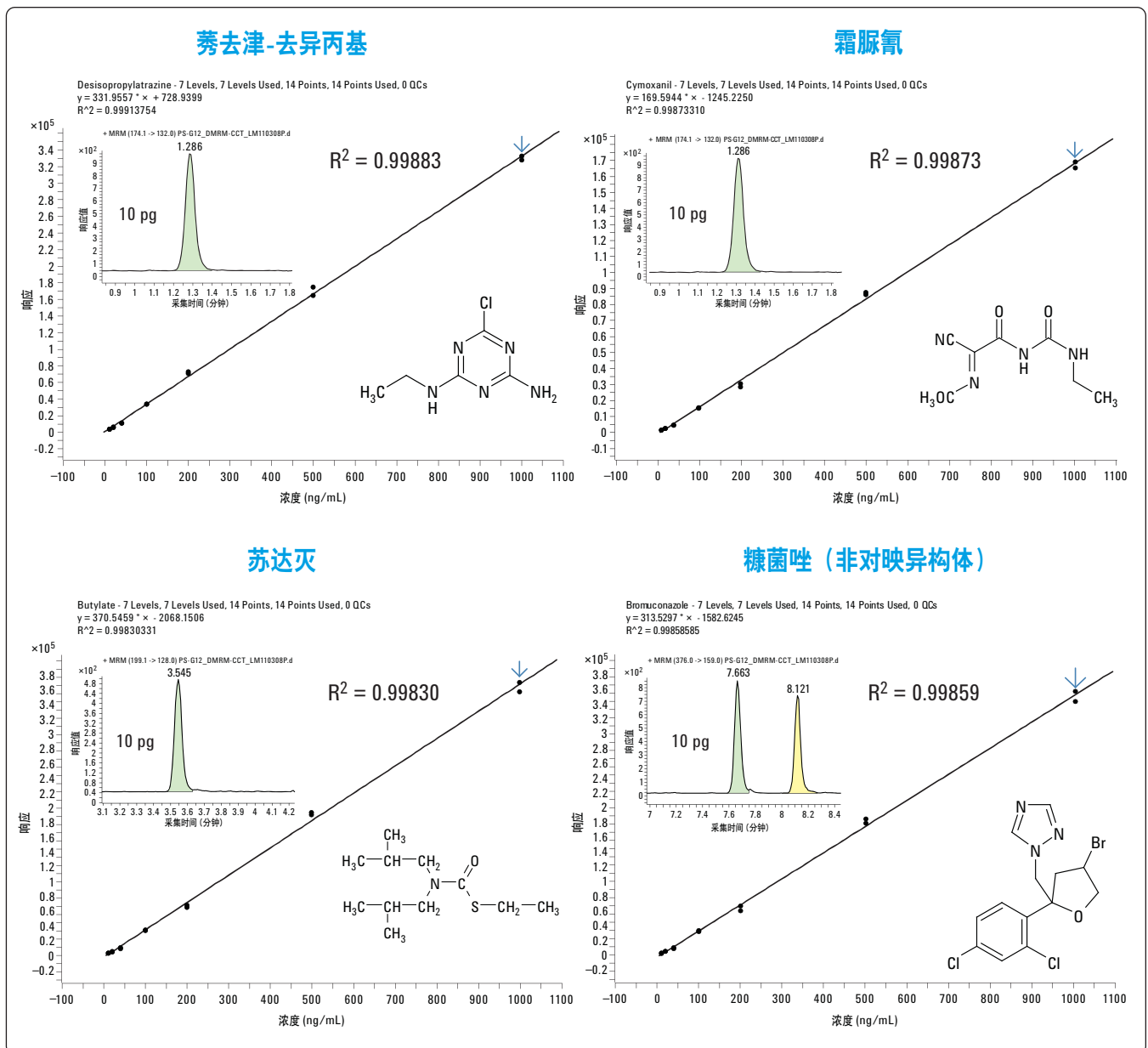


图 9. 动态多反应监测 (DMRM) 的定量校正曲线, 10pg-1ng (7 个浓度水平)

使用全新的 Agilent 1290 Infinity LC 分析 300 种农药，得到更加尖锐的色谱峰

附录 III 包含了动态多反应监测分析 300 种农药（浓度为每个组分 100 pg）的部分分析结果列表。提取离子流图见图 10。该分析采用 Agilent 1200 系列 SL 型 RRLC，色谱柱为 Plus C18 2.1 mm × 100 mm，1.8 μm，流速为 0.5 mL/min，分析总时间小于 20 分钟。采用 Agilent 1290 Infinity UHPLC，Eclipse-Plus C18，2.1 mm × 150 mm，1.8 μm 色谱柱对相同组分进行了分析。图 11 为相应的

提取离子流图，图 12 为该提取离子流图的部分扩展，可以看出 Agilent 1290 Infinity LC 的分析时间是 15 分钟，比 1200 系列 SL 型 RRLC 快了 25%。Agilent 1290 Infinity LC 比 1200 SL RRLC 具有更高的峰容量，重叠峰更少。以阿特拉津为例，在 Agilent 1290 Infinity UHPLC 上，它的半峰宽是 1.8 秒。这是因为长色谱柱能使分离效率更高，而 Agilent 1290 Infinity LC 能在满足此条件的柱压下工作（约 900 bar）。

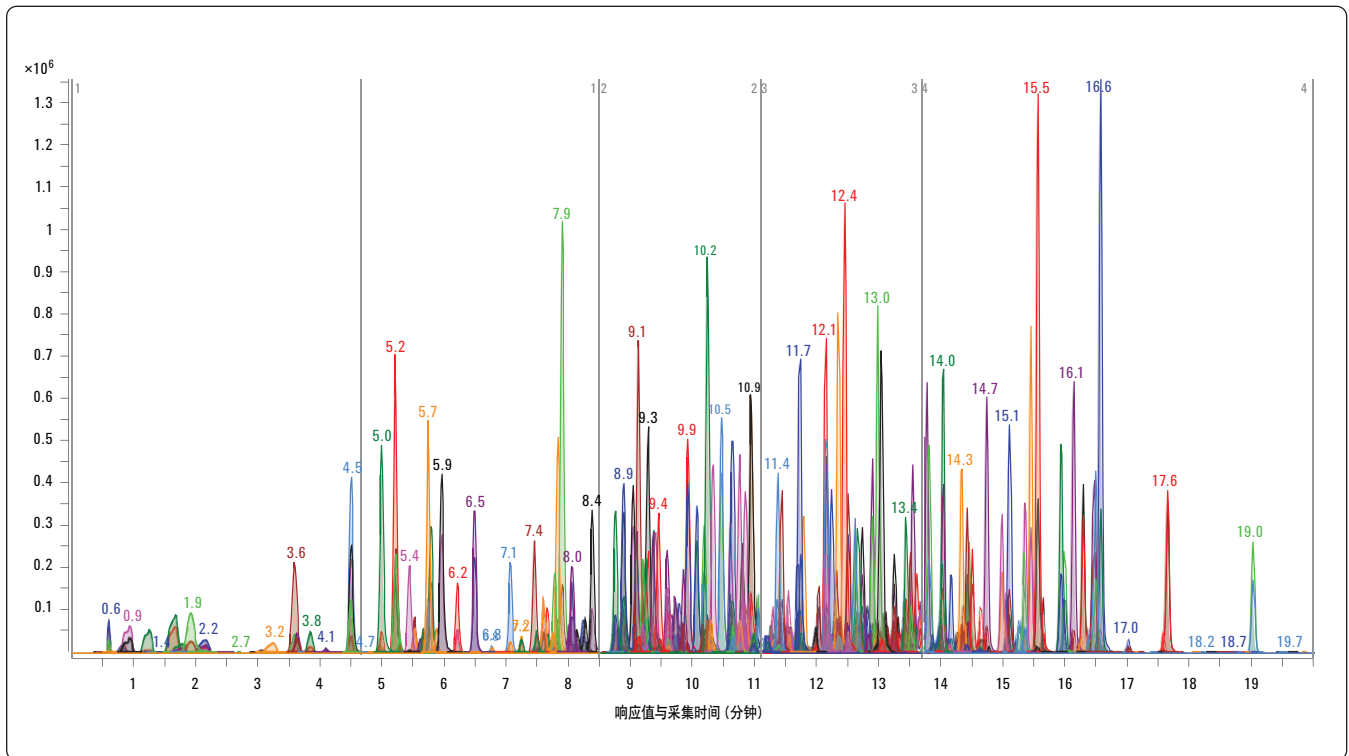


图 10. 在 Agilent 1200 系列 SL 型 RRLC 上，300 种农药组分的提取离子流图

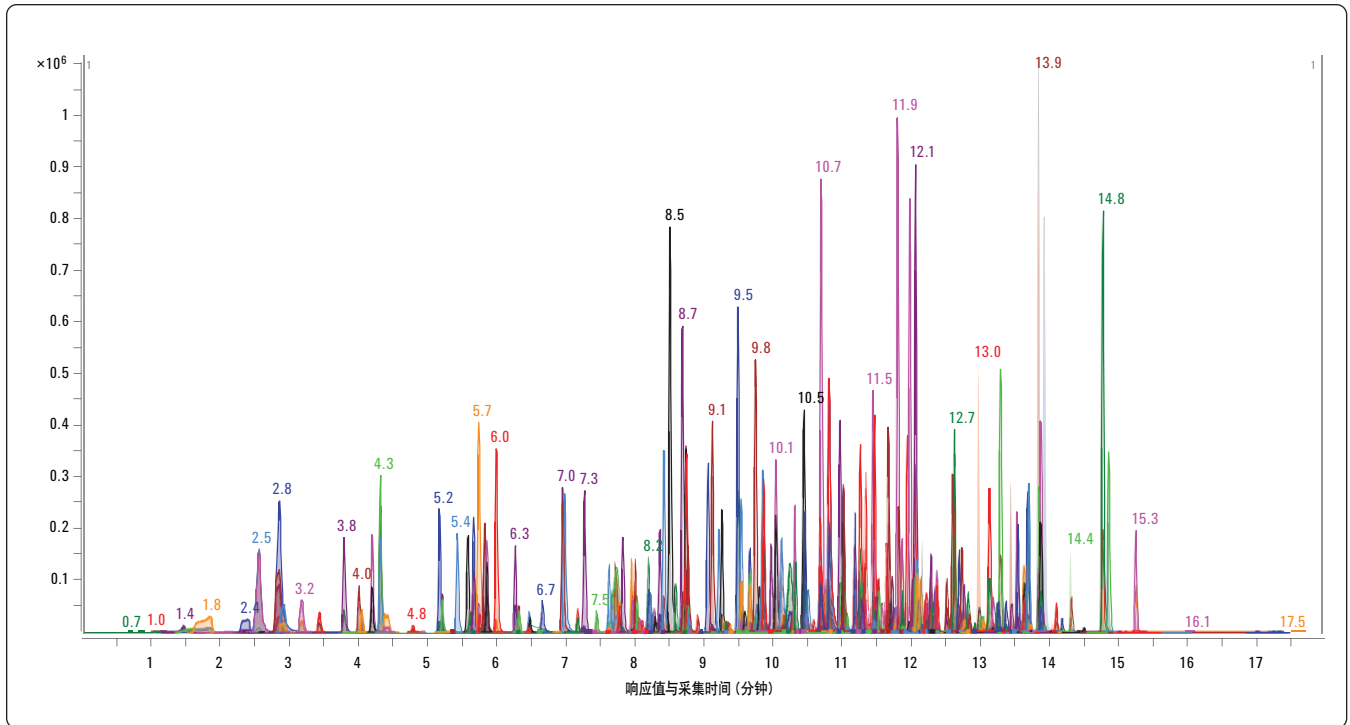


图 11. 在 Agilent 1290 Infinity UHPLC 上, 300 种农药组分的提取离子流图

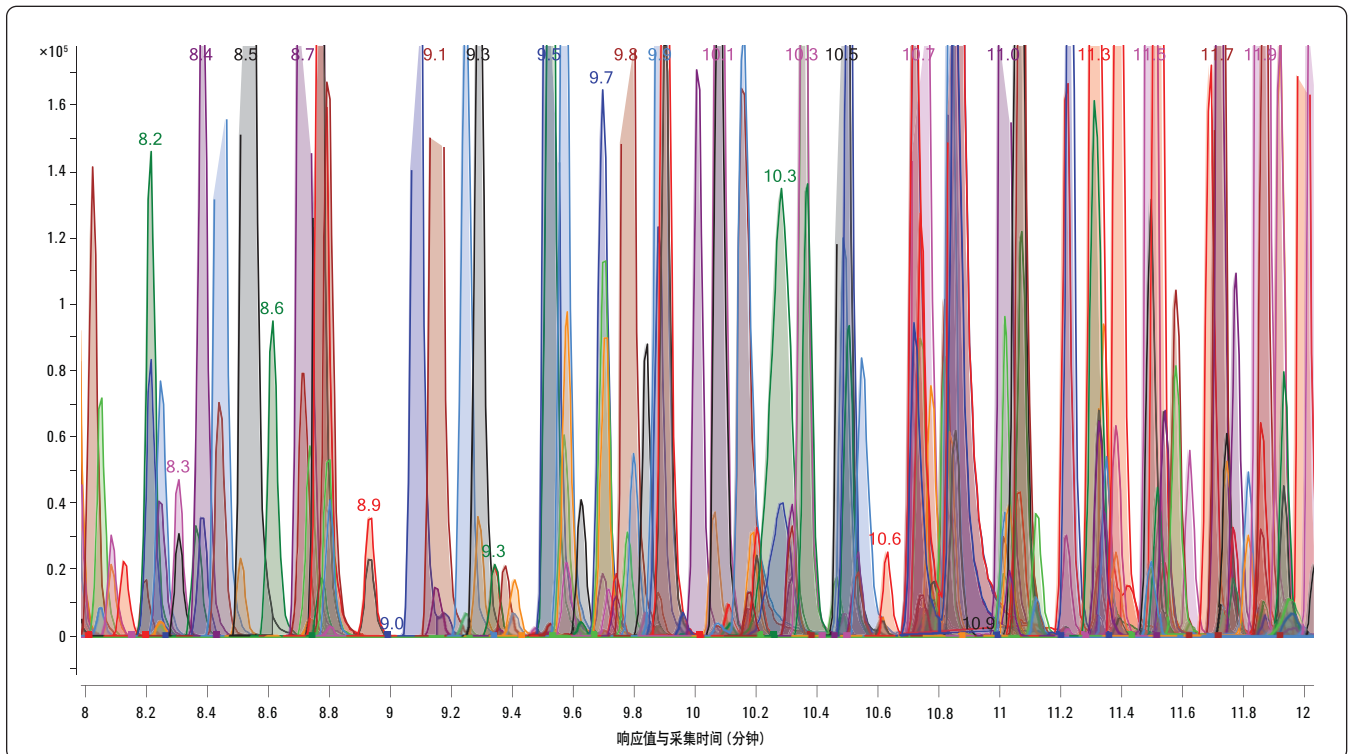


图 12. 在 1290 Infinity UHPLC 上, 300 种农药组分的提取离子流图, 充分证明了 Agilent 1290 Infinity UHPLC 具有更高的峰容量

在 Agilent 1290 Infinity UHPLC 上, 224 种农药的快速分析

Agilent 1290 Infinity LC/6460 系列 QQQ LC/MS 的另一个优点是它具有采用大流速, 从而减少分析时间的能力。采用 1200 系列 SL 型 RRLC 检测 225 种农药用时 15 分钟, 其结果见图 13, 其分析方法见附录 IV。采用 Agilent 1290 Infinity LC/MS/MS, 流速可以

增加一倍, 梯度时间减少一半。这样总的分析时间少于 7 分钟, 分析结果见图 14。其分析方法可以参见附录 V。要想一次进样就可以检测几百种农药, 就需要系统具有更高的组分峰容量, 参见 300 种农药的一次检测。但是如果必须满足分析速度的话, 那么 Agilent 1290 Infinity LC 同时配备更高耐压能力的色谱柱是您最佳的选择。

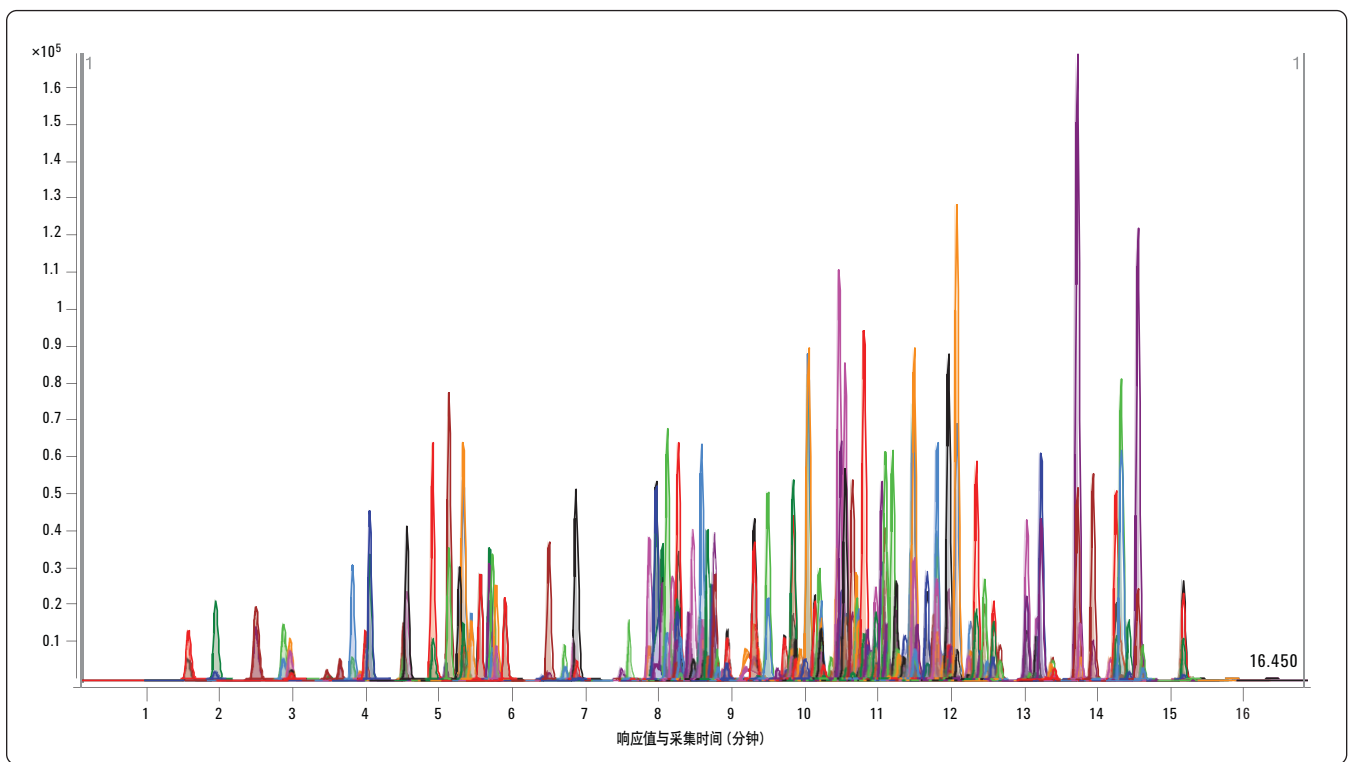


图 13. 在 Agilent 1200 系列 SL 型 LC/6460 QQQ LC/MS 上分析 224 种农药的提取离子流图

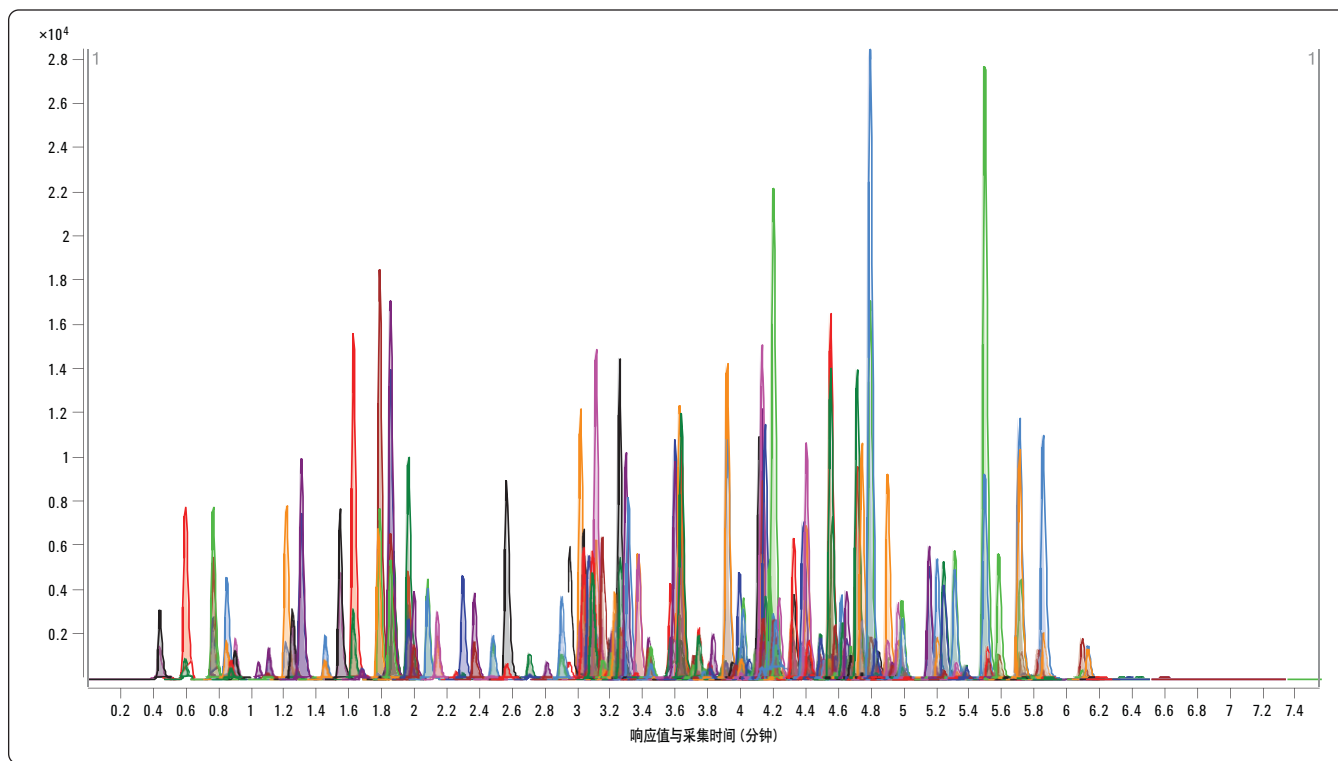


图 14. Agilent 1290 Infinity LC/6460QQQ LC/MS 分析 224 种农药的提取离子流图

用于食品分析的农药分析方法包——使用 SampliQ 提取和分散固相萃取分析菠菜样品

为了演示使用安捷伦易于使用的 SampliQ 提取和分散固相萃取试剂盒及安捷伦分析方法包在食品分析的应用，用菠菜样品添加 10 ppb 的 16 种农药（见表 2）进行说明，磷酸三苯（TPP）为内标。

表 2. 16 种农药和仪器参数列表，样品是添加了 10ppb 农药的菠菜样品

| 待测组分 | MRM 通道 (m/z) | | 碰撞电压 (V) | 碰撞能量 (V) | | 保留时间 (分钟) |
|-----------|------------------|---------------|----------|----------|------|-----------|
| | 定量离子 | 定性离子 | | 定量离子 | 定性离子 | |
| 乙酰甲胺磷 | 184.0 > 94.9 | 184.0 > 110.0 | 60 | 3 | 15 | 2.55 |
| 甲胺磷 | 142.0 > 94.0 | 142.0 > 124.9 | 60 | 8 | 8 | 2.54 |
| 吡蚜酮 | 218.1 > 105.0 | 218.1 > 78.0 | 115 | 20 | 50 | 2.97 |
| 多菌灵 | 192.1 > 160.0 | 192.1 > 105.0 | 95 | 18 | 40 | 5.07 |
| 吡虫啉 | 256.1 > 209.1 | 256.1 > 175.0 | 60 | 12 | 18 | 5.53 |
| 噻苯咪唑 | 202.1 > 175.0 | 202.1 > 131.0 | 110 | 27 | 38 | 5.65 |
| 残杀威 | 210.1 > 111.0 | 210.1 > 92.9 | 50 | 12 | 15 | 6.89 |
| 甲基托布津 | 343.1 > 151.0 | 343.1 > 117.9 | 105 | 17 | 65 | 7.08 |
| 西维因 | 202.0 > 145.0 | 202.0 > 115.0 | 50 | 3 | 40 | 7.30 |
| 灭线磷 | 243.1 > 130.9 | 243.1 > 172.9 | 80 | 15 | 15 | 8.50 |
| 抑霉唑 | 297.1 > 158.9 | 297.1 > 200.9 | 80 | 22 | 15 | 8.52 |
| 戊菌唑 | 284.1 > 158.9 | 284.1 > 172.9 | 80 | 32 | 32 | 8.95 |
| 啉菌环胺 | 226.1 > 93.0 | 226.1 > 108.0 | 120 | 35 | 35 | 9.23 |
| 苯氟磺胺 | 333.0 > 123.0 | 333.0 > 223.9 | 85 | 28 | 5 | 9.40 |
| 醚菌酯 | 314.0 > 222.1 | 314.0 > 235.0 | 70 | 10 | 10 | 9.44 |
| 甲苯氟磺胺 | 347.0 > 136.9 | 347.0 > 238.0 | 60 | 25 | 3 | 9.73 |
| 磷酸三苯 (内标) | 327.1 > 77.0 | 327.1 > 151.9 | 70 | 45 | 45 | 9.49 |

图 15. 添加 10ppb 农药的菠菜样品的提取离子流图。结果表明在 10ppb 的水平上，所有的农药都可以被检测到，整个分析时间少于 10 分钟。

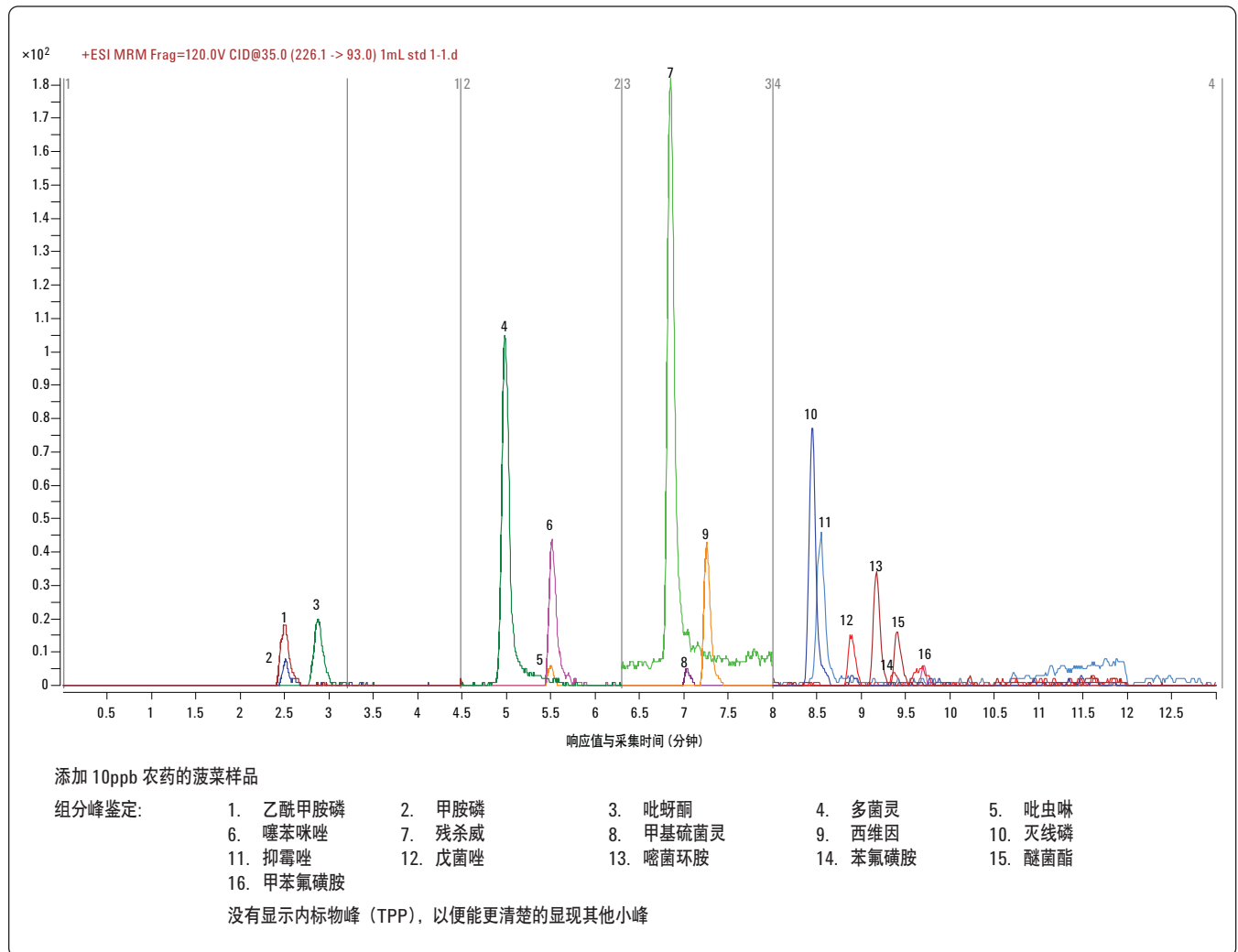


图 15. 添加 10ppb 农药的菠菜样品的提取离子流图

添加农药的菠菜样品的组分的线性校正曲线见图 16。校正范围是 5-250 ng/g, 7 个浓度水平, 5 ng/g、10 ng/g、25 ng/g、100 ng/g 和 250 ng/g。通过西维因的峰面积/内标物峰面积的比值与西维因的浓度/内标物浓度的比值建立校正曲线, $R^2 = 0.998$ 。

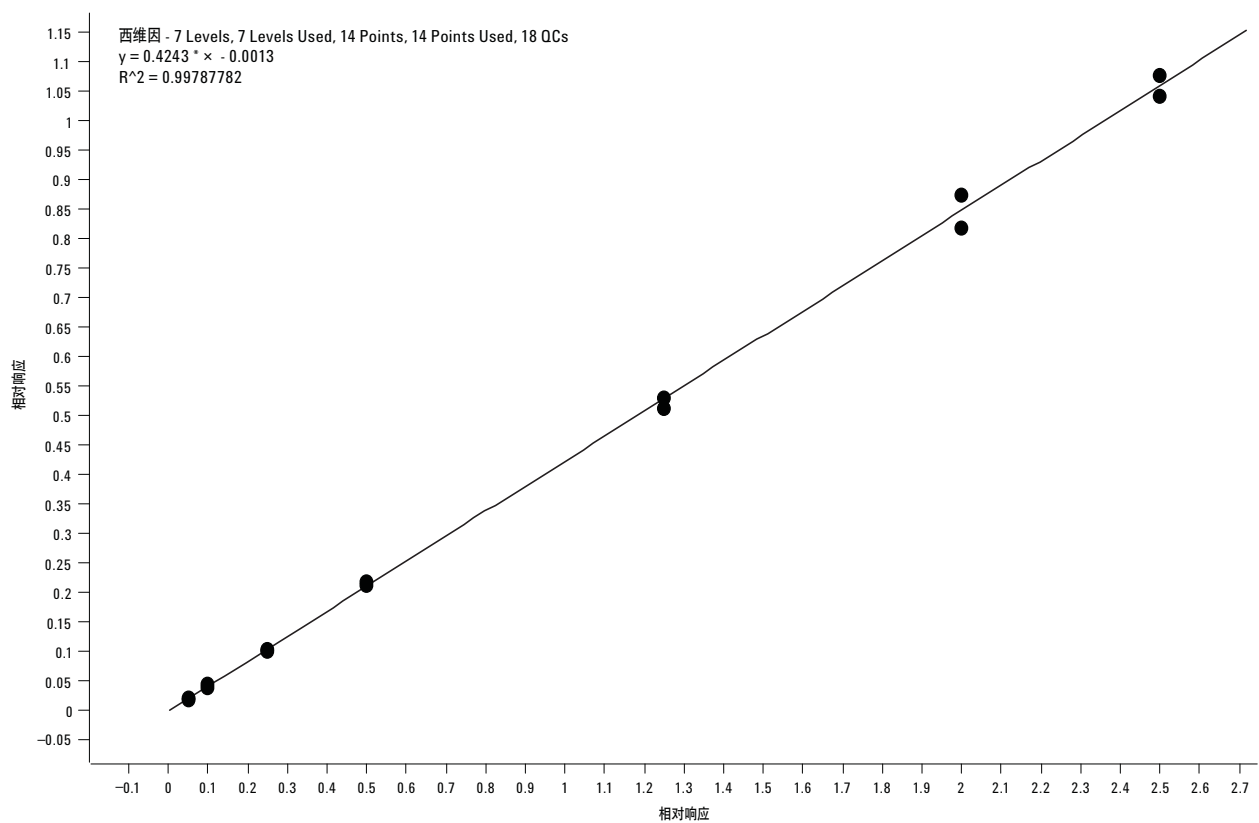


图 16. 西维因的校正曲线

结论

安捷伦用于 LC/QQQ 的农药应用方法包为用户提供了几百种农药的快速检测方法，具有多重 transitions 并可以将该定制方法应用于用户特定的分析需求。

本应用介绍了安捷伦利用几种技术以及分析方法包进行农药多残留的筛查和定量分析。主要技术包括：

- **600 种农药的 MRM 数据库和 Agilent MassHunter 数据采集和分析软件。**该组合可以帮助用户快速地进行数据采集和分析。分析方法可以根据用户要求定制，快速调整以满足未来不同的分析要求
- 当要分析几百种农药组分时，**动态多反应监测 (DMRM)** 可以最大程度地提高检测能力
- **Agilent 1200 系列 SL 型 RRLC/6400 系列三重串联四极杆质谱仪**进行快速高分离的 LC/MS/MS 检测。配备喷射流离子聚焦电喷雾离子源的重重串联四极杆液质联用仪可以获得最低的检测限。当然任何一款 6400 系列 LC/QQQ 都能获得优异的分析结果
- 简单易用的 **SampliQ QuEChERS 样品制备试剂盒**可以使用户快速而重现地进行样品的净化，特别是复杂样品的处理，只需几个步骤
- **易于使用的方法**采用 Agilent 1200 系列 SL 型 LC 系统和含有保留时间的动态多反应监测。*详细的信息请参见附录[14]。

这些技术手段可以帮助用户快速地建立分析方法以及进行复杂样品中几百种残留化合物的扫描和定量分析，其灵敏度在 fmol 水平。

此分析方法包与 Agilent 1200 系列 LC/6400 系列三重串联四极杆液质联用系统完全兼容，它可以帮助用户快速地进行农药多残留的检测。对于更高的分析要求，可以考虑 Agilent 1290 Infinity LC/6460 三重串联四极杆液质联用系统。还有更多的分析方法将陆续推出。

参考文献

1. 应用报告 5990-3595EN，全新的动态多反应监测提高数据质量和三重串联四极杆在复杂样品定量分析中的能力
2. 技术报告 5990-3595EN，农药的动态多反应监测数据库
3. 技术报告 5990-3494EN，安捷伦喷射流离子聚焦技术
4. 安捷伦出版物 5990-4262EN，农药动态多反应监测数据库快速入门指南

更多信息

欲了解有关产品和服务更多的信息，请浏览 www.agilent.com/chem/cn。

附录 I

测试混合物正离子和负离子样品分析的 LC/MS/MS 条件

Agilent 1200 系列 SL 型 LC 仪器设置参数

| | |
|----------|--|
| 色谱柱: | Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 mm × 100 mm 1.8 μm, 安捷伦部件号 959764-902 |
| 色谱柱温度: | 35 |
| 进样量: | 5 |
| 自动进样器温度: | 室温 |
| 洗针: | 甲醇洗针 5 秒钟 |
| 流动相: | A = 5 mM 乙酸水溶液 B = 100% 乙腈 |
| 流速: | 0.3 mL/min |
| 梯度: | 0 分钟时 5% B, 12 分钟时 95% B |
| 停止时间: | 12 分钟 |
| 后运行时间: | 3 分钟 |

喷射流离子源条件

| | |
|---------------|---------|
| 气体温度: | 250 °C |
| 气体流速: | 7 L/min |
| 雾化器压力: | 40 psi |
| 鞘流气温度: | 325 °C |
| 鞘流气流速: | 1 L/min |
| 毛细管电压, 正离子模式: | 3500 V |
| 喷嘴电压: | 0 V |
| 毛细管电压, 负离子模式: | 2500 V |
| 喷嘴电压: | 1500 V |

正离子模式下, MS/MS 扫描

| 化合物名称 | 内标定量? | 母离子 | MS1 分辨率 | 子离子 | MS2 分辨率 | 碰撞电压 (V) | 碰撞能量 (V) | 保留时间 | 保留时间窗口 | 极性 |
|-------|--------------------------|-------|---------|-------|---------|----------|----------|--------|--------|-------|
| 灭害威 | <input type="checkbox"/> | 209 | 单位 | 137 | 单位 | 120 | 20 | 3.128 | 1 | 正离子模式 |
| 灭草烟 | <input type="checkbox"/> | 262 | 单位 | 217 | 单位 | 160 | 15 | 3.959 | 1 | 正离子模式 |
| 噻苯咪唑 | <input type="checkbox"/> | 202 | 单位 | 131 | 单位 | 120 | 30 | 4.072 | 1 | 正离子模式 |
| 乐果 | <input type="checkbox"/> | 230 | 单位 | 171 | 单位 | 80 | 10 | 5.064 | 1 | 正离子模式 |
| 抑霉唑 | <input type="checkbox"/> | 297 | 单位 | 159 | 单位 | 160 | 20 | 5.918 | 1 | 正离子模式 |
| 甲氧隆 | <input type="checkbox"/> | 229.1 | 单位 | 72.1 | 单位 | 93 | 14 | 5.992 | 1 | 正离子模式 |
| 呋喃丹 | <input type="checkbox"/> | 222 | 单位 | 123 | 单位 | 120 | 15 | 7.019 | 1 | 正离子模式 |
| 阿特拉津 | <input type="checkbox"/> | 216 | 单位 | 132 | 单位 | 120 | 20 | 7.437 | 1 | 正离子模式 |
| 磺草唑胺 | <input type="checkbox"/> | 418 | 单位 | 175 | 单位 | 144 | 26 | 7.472 | 1 | 正离子模式 |
| 吡唑草胺 | <input type="checkbox"/> | 278.1 | 单位 | 134.1 | 单位 | 75 | 18 | 8.038 | 1 | 正离子模式 |
| 环草丹 | <input type="checkbox"/> | 188.1 | 单位 | 55.1 | 单位 | 78 | 22 | 9.113 | 1 | 正离子模式 |
| 马拉硫磷 | <input type="checkbox"/> | 331 | 单位 | 99 | 单位 | 80 | 10 | 9.615 | 1 | 正离子模式 |
| 唑菌胺酯 | <input type="checkbox"/> | 388 | 单位 | 163 | 单位 | 120 | 20 | 10.679 | 1 | 正离子模式 |
| 二嗪农 | <input type="checkbox"/> | 305 | 单位 | 153 | 单位 | 160 | 20 | 10.776 | 1 | 正离子模式 |

负离子模式下, MS/MS 扫描

| 化合物名称 | 内标定量? | 母离子 | MS1 分辨率 | 子离子 | MS2 分辨率 | 碰撞电压 (V) | 碰撞能量 (V) | 保留时间 | 保留时间窗口 | 极性 |
|--------------|--------------------------|-------|---------|-------|---------|----------|----------|--------|--------|-------|
| 灭草松 | <input type="checkbox"/> | 239.1 | 单位 | 132 | 单位 | 80 | 32 | 6.572 | 1 | 负离子模式 |
| 2,4,5-三氯苯氧乙酸 | <input type="checkbox"/> | 252.9 | 单位 | 194.8 | 单位 | 76 | 9 | 8.047 | 1 | 负离子模式 |
| 三氯苯氧丙酸 | <input type="checkbox"/> | 266.9 | 单位 | 194.9 | 单位 | 90 | 5 | 8.805 | 1 | 负离子模式 |
| 三氟羧草醚 | <input type="checkbox"/> | 360 | 单位 | 315.9 | 单位 | 78 | 5 | 9.650 | 1 | 负离子模式 |
| 地乐酚 | <input type="checkbox"/> | 239.1 | 单位 | 207 | 单位 | 154 | 21 | 10.503 | 1 | 负离子模式 |
| 六伏隆(氟铃脲) | <input type="checkbox"/> | 459 | 单位 | 438.9 | 单位 | 102 | 5 | 10.877 | 1 | 负离子模式 |

附录 II

100 种农药同时检测的 LC/MS/MS 条件

Agilent 1200 系列液相色谱条件

| | |
|----------|---|
| 色谱柱: | Agilent ZORBAX Eclipse Plus-C18, 2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm 安捷伦部件号 959741-902 |
| 色谱柱温度: | 35 °C |
| 进样量: | 1.0 μL |
| 自动进样器温度: | 6 °C |
| 洗针: | 针座洗针, 甲醇: 水 75:25, 5 s |
| 流动相: | A = 0.1% 甲酸溶液 B = 0.1% 甲酸的 95:5 乙腈: 水溶液 |
| 流速: | 0.6 mL/min |
| 梯度 | 时间 %B |
| | 0 10 |
| | 10 70B |
| | 15 90B |
| 停止时间 | 20 10B |
| 后运行时间 | 5 |

喷射流离子聚焦的条件

| | |
|-------------|----------|
| 干燥气温度: | 325 °C |
| 干燥气流速 (氮气): | 6 L/min |
| 雾化器压力 (氮气): | 35 psig |
| 毛细管电压: | 4000 V |
| 鞘流气温度: | 400 °C |
| 鞘流气流速: | 12 L/min |
| 喷嘴电压: | 关闭 |

Agilent 6460 串联四极杆质谱设定参数

| | |
|-----------------------|------------|
| MS1 和 MS2 分辨率: | 单位 |
| 时间过滤: | 峰宽=0.03 分钟 |
| 动态多反应监测 transitions: | 200 |
| 恒定循环时间: | 373 ms |
| 电子倍增器电压增量(Delta EMV): | 400 V |

图 7 是方法中某个组分的 MRM transitions、碰撞电压和碰撞能量

附录 III

使用 Agilent 1200 系列 SL 型 LC/MS/MS 分析 300 种农药的液质条件

Agilent 1200 系列液相色谱条件

| | | | |
|----------|--|------|--------|
| 色谱柱: | Agilent ZORBAX Eclipse Plus-C18, 2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm 安捷伦部件号 959764-902 | | |
| 柱温: | 35 °C | | |
| 进样量: | 1.0 μL | | |
| 自动进样器温度: | 6 °C | | |
| 洗针: | 针座洗针, 甲醇: 水 75:25, 5 s | | |
| 流动相: | A = 0.01% 甲酸溶液 B = 0.1% 甲酸的 95:5 乙腈: 水溶液 | | |
| 流速: | 0.5 mL/min | | |
| 梯度泵时间表 | | | |
| 时间 | 流速 | 柱压 | 溶剂比例 B |
| 0.5 | 不变 | 600 | 6 |
| 18 | 不变 | 600 | 95 |
| 20 | 不变 | 600 | 95 |
| 20.01 | 不变 | 600 | 6 |
| 停止时间 | 20 min | 10%B | |
| 后运行时间 | 5 min | | |

喷射流离子聚焦参数

| | |
|-------------|----------|
| 干燥气温度: | 325 °C |
| 干燥气流速 (氮气): | 6 L/min |
| 雾化器压力 (氮气): | 35 psig |
| 毛细管电压: | 4000 V |
| 鞘流气温度: | 400 °C |
| 鞘流气流速: | 12 L/min |
| 喷嘴电压: | 关闭 |

300 种农药分析中 10 个代表性组分的 MS/MS Transitions

| 化合物名称 | 内标定量? | 母离子 | MS1 分辨率 | 子离子 | MS2 分辨率 | 碰撞电压 (V) | 碰撞能量 (V) | 保留时间 |
|---------|--------------------------|-------|---------|-------|---------|----------|----------|--------|
| 猛杀威 | <input type="checkbox"/> | 208.1 | 单位 | 151 | 单位 | 80 | 5 | 11.635 |
| 猛杀威 | <input type="checkbox"/> | 208.1 | 单位 | 109 | 单位 | 80 | 10 | 11.635 |
| 呋草酮 | <input type="checkbox"/> | 334.1 | 单位 | 303 | 单位 | 120 | 20 | 11.644 |
| 呋草酮 | <input type="checkbox"/> | 334.1 | 单位 | 247 | 单位 | 120 | 30 | 11.644 |
| 异噁氟草 | <input type="checkbox"/> | 377.1 | 单位 | 360.1 | 单位 | 100 | 5 | 11.669 |
| 异噁氟草 | <input type="checkbox"/> | 360.1 | 单位 | 251 | 单位 | 120 | 10 | 11.669 |
| 高效二甲吩草胺 | <input type="checkbox"/> | 276.1 | 单位 | 244 | 单位 | 120 | 10 | 11.683 |
| 高效二甲吩草胺 | <input type="checkbox"/> | 276.1 | 单位 | 168 | 单位 | 120 | 15 | 11.683 |
| 乙霉威 | <input type="checkbox"/> | 268.2 | 单位 | 226 | 单位 | 80 | 5 | 11.706 |
| 乙霉威 | <input type="checkbox"/> | 268.2 | 单位 | 152 | 单位 | 80 | 20 | 11.706 |

附录 IV

采用 Agilent 1290 Infinity LC/MS/MS 分析 300 种农药的液质条件

Agilent 1290 LC 设置参数

| | |
|----------|---|
| 色谱柱: | Agilent ZORBAX Eclipse Plus-C18, 2.1 mm × 150 mm, 1.8 μm RRHD 1200 压力色谱柱, 安捷伦部件号 959759-902 Agilent p/n 959759-902 |
| 柱温: | 60 °C |
| 进样量: | 35 μL (堆叠式进样, 5 μL 样品 + 30 μL 水) |
| 自动进样器温度: | 6 °C |
| 洗针: | 针座洗针, 甲醇: 水 75:25 + 0.01% 甲酸, 10 s |
| 流动相: | A = 5 mM 甲酸胺+ 0.01% 甲酸的水溶液 B = 5 mM 甲酸胺+ 0.01% 甲酸的甲醇溶液 |
| 流速: | 0.5 mL/min |
| 梯度条件: | 0 分钟时, 6% B, 15 分钟时 98% B, 保持 3 分钟 |

质谱条件

| | |
|--------|---------------|
| 鞘气流速: | 11 L/min |
| 鞘流气温度: | 375 °C |
| 充电电极: | 300 V (正离子模式) |
| 毛细管电压: | -4 kV (正离子模式) |
| 雾化器压力: | 35 psig |
| 干燥气温度: | 325 °C |
| 干燥气流速: | 8 L/min |

300 种农药中 10 个代表性组分的 MS/MS 扫描

| 化合物名称 | 内标定量? | 母离子 | MS1 分辨率 | 子离子 | MS2 分辨率 | 碰撞电压 (V) | 碰撞能量 (V) | 保留时间 |
|-------|--------------------------|-------|---------|-------|---------|-------------|-------------|-------|
| 杀草敏 | <input type="checkbox"/> | 222 | 单位 | 104 | 单位 | 120 | 25 | 5.841 |
| 杀草敏 | <input type="checkbox"/> | 222 | 单位 | 92 | 单位 | 120 | 30 | 5.841 |
| 灭害威 | <input type="checkbox"/> | 209.1 | 单位 | 152.1 | 单位 | 120 | 10 | 5.841 |
| 灭害威 | <input type="checkbox"/> | 209.1 | 单位 | 137 | 单位 | 120 | 20 | 5.841 |
| 氟草烟 | <input type="checkbox"/> | 255 | 单位 | 209 | 单位 | 80 | 10 | 5.845 |
| 氟草烟 | <input type="checkbox"/> | 255 | 单位 | 181 | 单位 | 80 | 15 | 5.845 |
| 啶虫脒 | <input type="checkbox"/> | 223.1 | 单位 | 126 | 单位 | 80 | 15 | 5.858 |
| 啶虫脒 | <input type="checkbox"/> | 223.1 | 单位 | 56 | 单位 | 80 | 15 | 5.858 |
| 完灭硫磷 | <input type="checkbox"/> | 288 | 单位 | 146 | 单位 | 80 | 10 | 5.996 |
| 完灭硫磷 | <input type="checkbox"/> | 288 | 单位 | 118 | 单位 | 80 | 20 | 5.996 |

附录 V

QuEChERS 提取试剂盒用于菠菜样品中农药分析的 LC/MS/MS 条件

Agilent 1200 系列 HPLC 条件

| | | | |
|--------|--|-----|----------------|
| 色谱柱: | Agilent ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-hexyl, 150 mm × 3 mm, 3.5 μm 安捷伦部件号 959963-312 | | |
| 柱温: | 30 °C | | |
| 进样量: | 10 μL | | |
| 流动相: | A = 5 mM 醋酸铵, pH 5.0 的 20:80 甲醇/水的溶液 B = 5 mM 醋酸铵, pH 5.0 的乙腈溶液 | | |
| 洗针: | 1:1:1:1 乙腈/甲醇/异丙醇/水, 及/0.2% 的甲酸 | | |
| 梯度: | 时间 (min) | % B | 流速 (mL/min) |
| | 0 | 20 | 0.3 |
| | 0.5 | 20 | 0.3 |
| | 8.0 | 100 | 0.3 |
| | 10.0 | 100 | 0.3 |
| | 10.1 | 20 | 0.5 |
| | 12.0 | 100 | 0.5 |
| 停止时间: | 13.0 min | | |
| 后运行时间: | 4 min | | |
| 总分析时间: | 17 min | | |

Agilent 6410 质谱条件

| | |
|--------|----------|
| 正离子模式 | |
| 干燥气温度: | 350 °C |
| 干燥气流速: | 10 L/min |
| 雾化器压力: | 40 psi |
| 毛细管电压: | 4000 V |

附录 VI

采用 Agilent 1200 系列 InfinitySL 型分析 165 种农药残留组分的 LC/MS/MS 条件

Agilent 1200 系列 Infinity SL 型 LC 的条件

| | |
|----------|---|
| 色谱柱: | Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 mm × 100 mm 1.8 μm 安捷伦部件号 959764-902 |
| 柱温: | 35 °C |
| 进样量: | 5.0 μL |
| 自动进样器温度: | 6 °C |
| 洗针: | 针座洗针, 甲醇: 水 75:25, 5 s |
| 流动相: | A = 5mM 甲酸铵+ 0.01% 甲酸的水溶液 B = 5 mM 甲酸铵+ 0.01% 甲酸的甲醇溶液 |

喷射流离子聚焦的参数

| | |
|---------------|----------|
| 喷雾室条件 | |
| 干燥气温度: | 200 °C |
| 干燥气流速: | 6 L/min |
| 雾化器压力: | 35 psi |
| 鞘流气温度: | 250 °C |
| 鞘流气流速: | 12 L/min |
| 毛细管电压, 正离子模式: | 4000 V |
| 喷嘴电压: | 300 V |

| | | |
|----|---------|-----------|
| 梯度 | 泵时间表 | |
| | 时间 (分钟) | 溶剂比例 B(%) |
| | 0.00 | 10 |
| | 1.00 | 10 |
| | 18.00 | 100 |
| | 20.00 | 100 |
| | 20.10 | 10 |
| | 25.00 | 10 |

167 种农残中 10 个代表性组分的 MS/MS Transitions

| 化合物名称 | 内标定量? | 母离子 | MS1 分辨率 | 子离子 | MS2 分辨率 | 碰撞电压 (V) | 碰撞能量 (V) | 保留时间 | 保留窗口 |
|--------|--------------------------|-------|---------|-------|---------|----------|----------|-------|------|
| 乙硫苯威砒 | <input type="checkbox"/> | 275 | 单位 | 201 | 单位 | 80 | 0 | 6.89 | 1 |
| 乙硫苯威砒 | <input type="checkbox"/> | 275 | 单位 | 107 | 单位 | 80 | 10 | 6.89 | 1 |
| 噻虫胺 | <input type="checkbox"/> | 250 | 单位 | 169 | 单位 | 90 | 5 | 7.064 | 1 |
| 噻虫胺 | <input type="checkbox"/> | 250 | 单位 | 132 | 单位 | 90 | 15 | 7.064 | 1 |
| 吡虫啉 | <input type="checkbox"/> | 256.1 | 单位 | 209 | 单位 | 80 | 15 | 7.071 | 1 |
| 吡虫啉 | <input type="checkbox"/> | 256.1 | 单位 | 175.1 | 单位 | 80 | 20 | 7.071 | 1 |
| 乙硫甲威亚砒 | <input type="checkbox"/> | 242 | 单位 | 185 | 单位 | 80 | 15 | 7.153 | 1 |
| 乙硫甲威亚砒 | <input type="checkbox"/> | 242 | 单位 | 107 | 单位 | 80 | 5 | 7.153 | 1 |
| 庚酰草胺 | <input type="checkbox"/> | 257.1 | 单位 | 200.1 | 单位 | 105 | 4 | 7.165 | 1 |
| 庚酰草胺 | <input type="checkbox"/> | 257.1 | 单位 | 137.1 | 单位 | 105 | 8 | 7.165 | 1 |

附录 VII

采用 Agilent 1200 系列 SL 型 分析 224 种农残的 LC/MS/MS 分析条件

Agilent 1200 系列液相色谱条件

| | |
|----------|--|
| 色谱柱: | Agilent ZORBAX Eclipse Plus-C18, 2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm 安捷伦部件号 959764-902 |
| 柱温: | 55 °C |
| 进样量: | 5.0 μL |
| 自动进样器温度: | 6 °C |
| 洗针: | 针座洗针, 甲醇: 水 75:25, 5 s |
| 流动相: | A = 5mM 甲酸铵+ 0.01% 甲酸水溶液 B = 5 mM 甲酸铵+ 0.01% 甲酸水溶液 95:5 乙腈: 水 |
| 流速: | 0.3 mL/min |
| 梯度泵时间表 | |
| 时间 | 流速 压力 溶剂比例 B |
| 0.5 | 不变 600 6 |
| 14 | 不变 600 95 |
| 17 | 不变 600 95 |
| 停止时间 | 17 min |
| 后运行时间 | 3 min |

喷射流离子聚焦参数

| | |
|-------------|----------|
| 干燥气温度: | 225 °C |
| 干燥气流速 (氮气): | 10 L/min |
| 雾化器压力 (氮气): | 25 psig |
| 毛细管电压: | 4500 V |
| 鞘流气温度: | 350 °C |
| 鞘流气流速: | 11 L/min |
| 喷嘴电压: | 500 V |

224 种农残中 10 个代表性组分的 MS/MS Transitions

| 化合物名称 | 内标定量? | 母离子 | MS1 分辨率 | 子离子 | MS2 分辨率 | 碰撞电压 (V) | 碰撞能量 (V) | 保留时间 | 保留窗口 |
|----------|--------------------------|-------|---------|-------|---------|----------|----------|--------|------|
| 噻嗪酮 | <input type="checkbox"/> | 306.2 | 单位 | 201.1 | 单位 | 115 | 4 | 14.321 | 1 |
| 噻嗪酮 | <input type="checkbox"/> | 306.2 | 单位 | 57.2 | 单位 | 115 | 16 | 14.321 | 1 |
| 甲丙硫磷 | <input type="checkbox"/> | 323 | 单位 | 247.1 | 单位 | 130 | 5 | 14.327 | 1 |
| 甲丙硫磷 | <input type="checkbox"/> | 323 | 单位 | 219 | 单位 | 130 | 12 | 14.327 | 1 |
| 乙酰氨基阿维菌素 | <input type="checkbox"/> | 914.6 | 单位 | 468.3 | 单位 | 150 | 5 | 14.372 | 1 |
| 乙酰氨基阿维菌素 | <input type="checkbox"/> | 914.6 | 单位 | 330.3 | 单位 | 150 | 10 | 14.372 | 1 |
| 氟伏虫脒 | <input type="checkbox"/> | 540 | 单位 | 383 | 单位 | 115 | 16 | 14.402 | 1 |
| 氟伏虫脒 | <input type="checkbox"/> | 540 | 单位 | 158 | 单位 | 115 | 16 | 14.402 | 1 |
| 氰氟草酯 | <input type="checkbox"/> | 422.2 | 单位 | 366.2 | 单位 | 130 | 15 | 14.428 | 1 |
| 氰氟草酯 | <input type="checkbox"/> | 422.2 | 单位 | 135 | 单位 | 130 | 40 | 14.428 | 1 |

附录 VIII

采用 Agilent 1290 Infinity LC 分析 224 种农药的 LC/MS/MS 条件

Agilent1200 液相色谱条件

| | |
|-------|--|
| 色谱柱: | Agilent ZORBAX Eclipse Plus-C18, 2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm 安捷伦部件号 959764-902 |
| 柱温: | 55 °C |
| 进样量: | 5.0 μL |
| 样品温度: | 6 °C |
| 洗针: | 针座洗针, 甲醇: 水 75:25, 5 s |
| 流动相: | A = 5mM 甲酸铵+ 0.01% 甲酸水溶液 B = 5 mM 甲酸铵+ 0.01% 甲酸水溶液 95:5 乙腈: 水 |
| 流速: | 0.6 mL/min |

梯度泵时间表

| 时间 | 流速 | 压力 | 溶剂比例 B |
|------|--------|-----|--------|
| 0.5 | 不变 | 600 | 6 |
| 7 | 不变 | 600 | 95 |
| 10 | 不变 | 600 | 95 |
| 停止时间 | 10 min | | |
| 后运行 | 3 min | | |

喷射流离子聚焦参数

| | |
|-------------|----------|
| 干燥气温度: | 225 °C |
| 干燥气流速 (氮气): | 10 L/min |
| 雾化器压力 (氮气): | 25 psig |
| 毛细管电压: | 4500 V |
| 鞘气流速: | 11 L/min |
| 鞘气温度: | 350 °C |
| 喷嘴电压: | 500 V |

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦公司对本材料中可能存在的错误或使用这一材料而带来的意外伤害和问题不负任何责任。

本文中的信息、说明和指标，如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2009 年
2009 年 8 月 3 日中国印刷
5990-4253 CHCN



Agilent Technologies