

植物性样品中农药残留多色谱质谱 筛选和确证体系的研究

卢大胜, 徐 骞, 陈 冲, 冯 超, 林元杰, 金玉娥, 熊丽蓓, 汪国权*

(上海疾病预防控制中心, 上海 200336)

摘要: **目的** 针对植物样品中存在的多种未知农药残留, 研究建立基于 GPC-GC-MS、LC-QToF 和 GC-MS/MS 技术为主的筛选和确证方法, 满足相关的定量分析需求。 **方法** 以 FAPAS 国际实验室能力比对的玉米粉为典型样品, 采用水浸泡、乙腈缓冲体系提取、分散性固相萃取净化(d-SPE)、浓缩后, 分别依托 GPC-GC-MS 和 LC-QToF 的全扫描图谱, 采用自动数据库匹配和手工匹配的方法, 进行协同筛选可疑目标物, 并对筛选的可疑目标分析物采用 GC-MS/MS 确证和测定。 **结果** GPC-GC-MS 和 LC-QToF 两种筛选方法成功筛选了 4 种可疑目标分析物, 经 GC-MS/MS 确证并测定, 与 FAPAS 盲样比对的阳性结果一致, 统计 Z 分数的绝对值 0.5。 **结论** 该方法确证了本实验室的 3 种质谱系统联合使用在农药残留筛选和确证中的可行性和可靠性。 **关键词:** 农药残留物筛选; 农药残留物确证; GPC-GCMS; LC-QToF; GC-MS/MS

Screening and confirmation of non-target pesticide residues in plant samples using a combined system of GPC-GC-MS, LC-ToF and GC-MS/MS

LU Da-Sheng, XU Qian, CHEN Chong, FENG Chao, LIN Yuan-Jie, JIN Yu-E,
XIONG Li-Bei, WANG Guo-Quan*

(Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the screening and confirmation of non-target pesticides in plant samples based on the techniques of gel permeation chromatography-gas chromatography-mass spectrometry (GPC-GC-MS) and liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry (LC-QToF). **Methods** After a sample pretreatment including extraction with acetic acid/acetonitrile buffer system following water immersion, cleaning up with dispersive solid-phase extraction and concentration, the sample was separately analysed with GPC-GC-MS and LC-QToF in full scan mode and subsequently selected. Based on the suspicious target analytes of the screening, gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (GC-MS/MS) was used to confirm the analytes and determine them. **Results** Four suspicious target analytes were successfully screened by the combined techniques based on GPC-GC-MS and LC-QToF, and subsequently confirmed and determined by GC-MS/MS. The results were in accord with FAPAS test. **Conclusion** The method based on a combined system with GPC-GC-MS, LC-QToF and GC-MS/MS is feasible and accurate for screening and confirmation of non-target pesticides in plant samples.

基金项目: 卫生部农药残留参比实验室平台建设项目

Fund: Supported by Platform Establishment of Laboratory Net for Monitoring Pesticide Residues of Ministry of Health

*通讯作者: 汪国权, 主任技师, 主要研究方向为色谱-质谱在公共卫生领域的分析。E-mail: gqwang@scdc.sh.cn

*Corresponding author: WANG Guo-Quan, Senior Technologist, Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, No.1380, Zhongshan West Road, Changling District, Shanghai 200336, China. E-mail: gqwang@scdc.sh.cn

KEY WORDS: pesticides residue screening; pesticides residue confirmation; GPC-GC-MS; LC-QToF; GC-MS/MS

1 引言

农药残留分析从分析的过程方面可分为筛选、鉴定、测定和确证等,根据有无确切目标物可分为靶点农药(target pesticides)分析和未知农药(non-target or unknown pesticides)分析^[1]。

目前,随着国家和各级政府对食品安全的重视,食品中农药残留检测技术的日趋完善,国外标准方法如美国加州食品与农业部(CDFA)分析化学中心的农药多残留快速扫描方法(multiresidue screen method, MRSM)、DFG S19 和 QuEChERS 等的引进消化,以及各类先进分析设备的配置,使我国在靶点农药的测定方面取得了重大进展,基本达到了国际先进国家同步的技术水平,但对于未知农药(non-target or unknown pesticides)的鉴定分析,由于常规实验室一方面受农药标准对照品配备数量的限制,另一方面在分析技术上也难以实现对极性范围跨度广和物化性质差异大的农药同时进行分析,因此采用常规定量分析方法是很难进行未知农药残留的筛选、鉴定和确证的。目前未知农药的筛选体系建设,已成为农药分析领域的一个富有挑战性的技术热点^[1-3]。

针对未知农药筛选体系的建设,以色谱、质谱结合相关软件技术为主,尤其是串联/杂合质谱(QqQ、QToF、IT-ToF 和 LTQ-Orbitrap 等)、高分辨质谱(ToF 和 Orbitrap 等)、多种色谱(如 LC、GC、GC*GC、MDGC 和 GPC-GC 等)和信息智能化处理软件(如质谱解卷积技术和基于 ToF 准确分子量和同位素分布自动生成分子式等)^[4-6],已成为该领域最佳的组合方式,其中 GPC-GC-MS 基于分子量的大小分离机理,通过在线 GPC 去除植物样品中常见的干扰目标化合物,如油脂、色素(叶绿素、叶黄素)、生物碱、聚合物等,较大地减小了样品基质的共流离子,提高了与谱库的匹配率,是农药残留筛选中针对挥发和半挥发性农药的比较有效的鉴定技术手段^[7-8];高分辨质谱通过在高灵敏度下精确测定(准)分子和碎片离子质量,进行挥发性和不挥发性农药的筛选,是后目标农药化合物(Post-target pesticides)分析的重要技术,所以在回顾性筛选研究上具有三重四极杆质谱不可

比拟的优势^[9-10],当然三重四极杆质谱的 MRM 检测模式无疑也是可疑农药确证和测定中必不可少的重要技术之一^[2,11]。

本研究基于未知农药筛选确认的工作需要,采用 FAPAS 国际实验室能力比对的盲样玉米粉样品(样品编号 0971, 本实验室编号 17)作为筛选研究的对象,该样品很具有代表性,共有 118 种可疑分析物(包括异构体),这些农药按作用功能分类涵盖了除草剂、杀虫剂和防腐剂,按化学结构分类,除了不包括极少数几类(如苯甲酸、苯甲氧酸和磺脲类等)农药外,几乎涵盖了所有类农药。样品采用 GPC-GC-MS 和 LC-QToF 协同进行筛选、确定可疑农药残留物(见图 1),并结合标准品,在 MRM 检测模式下,进行 GC-MS/MS 的确证和测定,最后根据结果确定该筛选体系的可行性和准确性。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

GPC-GC-MS 系统包括 LC-10A LC 和 QP-2010 GC-MS(日本岛津); GPC 色谱柱为 Shodex CLNpak EV-200AC(150 mm × 2 mm(i.d.)); GC 色谱柱为:前置柱(脱活 DB 柱, 0.53 mm(i.d.) × 5 m)+预柱(DB-5ms, 0.25 mm(i.d.) × 5 m, 膜厚 0.25 μm)+分析柱(DB-5ms, 0.25 mm(i.d.) × 30 m, 膜厚 0.25 μm)。

GC-MS 控制和数据分析软件为 GC-MS solution (2.50 SU3 版本),另外配备 NIST(14.7 万个化合物)、Wiley(13.9 万个化合物)、岛津农药库(Pest_EI, 318 个化合物)和自建库(包括腈苯唑等农药化合物)等质谱数据库。

LC-QToF MS 为 Agilent 6530, 配有 1290 inifilite LC (包括自动进样器和双泵系统等)和色谱柱(Agilent SB-C₁₈, 2.1 mm × 100 mm, 粒径 1.8 μm)。MassHunter 仪器控制和数据定性分析的软件版本分别为 B.02.01 (patches: 1, 2) 和 B.03.01。

GC-MS/MS 为 Agilent 7000B, 配备 7890 GC(包括 7693A 自动进样器和分流/不分流进样口等)和 DB-5MS 色谱柱(0.25 mm(i.d.) × 30 m, 膜厚 0.25 μm), MassHunter 仪器控制、数据定性分析和定量分

析的软件版本分别为 B.05.00.412、B.03.01(Service Pack 3)和 B.04.00。

2.2 实验方法

2.2.1 仪器分析条件

2.2.1.1 GPC-GC-MS

GPC: 泵流速为 0.1 mL/min; 柱温为 40 °C; 农药残留留分截取时间段为 4~6 min; 载气吹扫为 0.1 min; 流动相为丙酮/环己烷(3 : 7, v/v)。

GC: PTV 进样口程序升温为 120 °C(5.3 min) $\xrightarrow{80\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 250 °C(38 min); 进样模式为不分流进样; 进样时间为 7.2 min; 柱温箱程序升温为 82 °C(4.8 min) $\xrightarrow{80\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 280 °C(18 min); 柱流速控制为恒压(17.4 psi); 初始柱流速为 1.75 mL/min。

MS: 离子源和接口温度分别为 220 °C和 280 °C; 溶剂延迟时间为 8 min; 检测电压为 1.05 kV, 质谱检测模式为全扫描(45~650 m/z); 进样量为 10 μL 。

2.2.1.2 LC-QToF

LC 采用梯度洗脱, 流动相 A 和 B 分别为 0.2% 甲酸水溶液和乙腈, 流动相 B 的梯度洗脱比例分别为 20% (0 min)、20% (2 min)、50% (5 min)、99% (12 min)、20% (18 min)、99% (14.8 min)和 20% (15 min), 流速为 0.25 mL/min; QToF 采用 ESI(+)和 ESI(-)电离模式, 干燥气的温度和流速分别为 300 °C和 8 L/min, 雾化器的压力为 35 psi, 鞘气的温度和流速分别为 350 °C和 11 L/min, 进行 ToF 全扫描(100~1000 m/z), 扫描速度为 1.03 spectra/s, 毛细管电压(VCap)为 3500 V, 喷嘴电压(Nozzle Voltage)为 1000 V, 源内碰撞电压(Fragmentor)为 175 V, 截取锥(Skimmer)电压为 65 V, 八极杆射频峰间电压(Oct 1 RF Vpp)为 750 V, 参考离子为: ESI(+)的参考离子为 121.050873 和 922.009798, ESI(-)的参考离子为 122.985587 和 966.000725; 进样量为 10 μL 。

2.2.1.3 GC-MS/MS

GC 采用不分流进样模式, 进样口温度为 280 °C, 压力为 14.794 psi, 隔垫吹扫流量为 3 mL/min, 吹扫流量为 60 mL/min(0.75 min 后分流口打开), 柱温箱程序升温为 80 °C (2 min) $\xrightarrow{10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 280 °C(7 min), 柱为恒流(1.5 mL/min); MS 的传输线、离子源和四级杆温度分别为 280 °C、320 °C和 150 °C, 碰撞室的 He 和 N₂ 流速分别为 2.25 mL/min 和 1.5 mL/min, MS 采用 MRM 监测模式, 具体参数见表 1; 进样量为 1 μL 。

2.2.2 样品前处理方法

称取 1.006 g FAPAS 国际实验室能力比对玉米粉样品(样品编号 0971)于 15 mL 具塞塑料离心管中, 加入 2 g 重蒸水, 混匀后 40 °C 放置 30 min, 然后加入 2 mL 1% 的醋酸乙腈溶液和 0.2 g 醋酸钠, 震荡混匀后, 加入 0.8 g 无水硫酸镁, 趁热剧烈震荡 1 min, 然后在 4000 r/min 条件下离心 1 min, 取上清液并分为两个部分, 取 0.5 mL 样品提取溶液转移到含有 60 mg 无水硫酸镁、25 mg PSA、25 mg C₁₈ 和 10 mg 石墨化碳(Carb)的离心管中, 剧烈震荡 1 min, 然后在 4000 r/min 条件下离心 2 min, 过膜得到净化试样; 另外一部分直接过膜为未净化试样。当采用 GPC-GC-MS 分析时, 两种试样要浓缩 4 倍, LC-QToF 和 GC-MS/MS 直接进样。制备好的试样置于冰箱(-20 °C)保存。

2.2.3 样品的仪器分析

将上述制备的两种试样先进行 GPC-GC-MS 全扫描分析和 LC-QToF 高分辨全扫描分析, 通过筛选确定可疑目标分析物(见表 1)后, 配制标准溶液进行 GC-MS/MS 分析。

2.2.4 筛选条件

按照本实验室的筛选流程图(见图 1), 在 GPC-GC-MS 进样分析获得全扫描数据后, 向 GC-MS-solution 软件中导入化合物列表(compound list)方法,

表 1 可疑目标分析物 GC-MS/MS 分析的 MRM 参数

Table 1 MRM parameters of GC-MS/MS for the analysis of suspicious target pesticides

可疑分析物	保留时间(min)	母离子(m/z)	子离子 (m/z) 和对应碰撞电压 (eV)	子离子 (m/z) 和对应碰撞电压 (eV)
氯苯胺灵	13.106	213	154(10)	127(10)
已唑醇	18.28	214	187(10)	172(10)
环唑醇	18.843	222	125.1(10)	82.1(10)
叶菌唑	23.518	125	99(15)	89(15)
腈苯唑	23.3	198	129.1(10)	102.1(10)
啞菌酯	27.069	344	329(10)	300.6(10)
氰戊菊酯	28.176/28.593	181/167	125.1(15)	125.1(15)

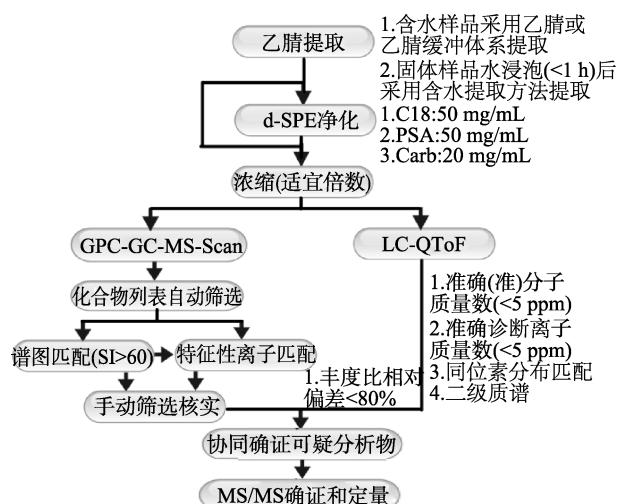


图1 农药残留筛选、鉴定、测定和确证流程图

Fig. 1 Flow chart of screening, identification, determination and confirmation of pesticides residues

在筛选的色谱峰积分处理参数相同条件下,即斜率为10/min,最小半宽峰为3 s,斜率和半宽度随着程序升温自动调整(即T.DBL=0 min),基线漂移为100/min,最小峰面积为5000,采用Savitzky-Golay进行平滑峰宽为25点的色谱峰平滑处理(峰处理的相对保留时间为 ± 0.5 min),保留时间鉴定窗口为5%等,用图谱匹配和特征离子匹配等两种方法进行自动筛选。图谱匹配的最小相似度(SI)设定为60;相对于化合物列表方法中的相对离子丰度比,特征离子匹配方法中对应样品离子丰度比的偏差为80%。其中匹配为阳性结果时,应进一步采用手动筛选方法提取质谱图(包括扣除共流离子),并与商业和自建标准质谱库匹配,匹配的SI一般不小于40。

LC-QToF筛选所采用的EIC峰过滤参数除绝对面积 ≥ 20000 外,其他为“Screening-Default”布局的默认参数,依据全扫描测定的精确质量和自建的农药化合物数据库(包括化合物名称、分子式和准确质量数)自动按分子式查找化合物方式(包括准确(准)分子质量数(<5 ppm)和同位素分布)筛选可疑的目标化合物。

3 结果与讨论

3.1 样品的提取、净化和浓缩

针对样品可能存在的多农药残留,乙腈由于具有农药提取的非歧视性(满足极性范围跨度广以及酸、中和碱性等物化性质差异大的农药同时提取),

样品基质(如脂肪等)去除的有效性、易与水分离以及GC与LC分析的兼容性(即进样分析时不需要进行溶解转换)等优点而被认为是未知农药筛选时的首选提取溶剂;酸碱不稳定的分析物如克菌丹等N-三卤代乙基硫农药,应采用QuEChERS方法的缓冲体系^[7];针对样品玉米粉含水量低的特点,本研究采用DFG method S19 E2方法即加水浸泡以提高溶剂的浸润性和待测物从样品内部向外扩散的效率。样品净化采用QuEChERS方法的分散性固相萃取(d-SPE)技术,所选取的净化吸附填料C₁₈、PSA和Carb分别去除非极性、酸性(如脂肪酸)和极性(如色素、类胡萝卜素、固醇等)基质干扰,由于样品中存在的可疑农药分析物不包括PSA可能吸附的带羧基或磺酸基的酸性农药,同时Carb的使用量不足以对平面结构的农药产生影响^[7-8],因此该净化体系不会影响可疑目标分析物的筛选,有关净化的影响在下面会根据不同的筛选分析方法具体讨论。样品的浓缩水平要根据筛选可疑分析物浓度水平的底线要求(本次筛选为20 ng/g)和仪器的灵敏度确定,针对大多数农药,GPC-GC-MS和LC-QToF的全扫描灵敏度分别可以达到50 ng/g^[7]和10 ng/g^[11-12],所以GPC-GC-MS和LC-QToF分析的试样分别浓缩4倍和不浓缩。

3.2 GPC-GC-MS 筛选

有效的GPC-GC-MS筛选取决于采集的全扫描数据的质量^[1]、建立的化合物列表方法的质量以及自动筛选参数的优化设置。通过GPC方式可实现农药的无歧视富集,以及基质干扰的有效去除^[7,8],确保了较好的数据采集信息。目前实验室采用GPC-GC-MS全扫描分析条件所建立的农药数据库,以保留时间、质谱谱图和特征性离子等参数能实现约300种农药的筛选分析。

为了防止可疑目标分析物的漏选,本研究的质谱筛选参数尽量宽松。首先采用SI 60条件进行图谱匹配筛选,获得15个可疑目标分析物,再采用离子相对丰度比偏差80%进行特征离子匹配,其中有4种化合物啞菌酯、氯苯胺灵、环唑醇和腈苯唑被筛选出(表2),该结果和FAPAS统计公布结果一致。再进一步对细微图谱SI差异分析,发现经特征离子匹配所筛选出的4种化合物与图谱匹配对应的SI关系不大,但它们的保留时间均与化合物列表方法的设定很接近(最大保留时间窗口为0.22%),另外峰面

积最低达到 19595, 高于谱图匹配所筛选的部分可疑目标分析物, 这些特征是否有助于阳性结果的判断有待于进一步研究。

自动筛选过程中, 采用图谱匹配可能出现假阳性, 特征离子匹配可能漏选而出现假阴性结果, 所以需要对手动筛选结果进行手动筛选核实。以氯苯胺灵为例

表 2 GPC-GC-MS 化合物列表方法参数和筛选结果

Table 2 Screening parameters and results of compounds using the method of GPC-GC-MS

可疑分析物	GPC-GCMS 化合物列表定性参数		化合物列表方法样品自动筛选				手动筛选核实 SI
	保留时间 (min)	特征离子(m/z)(相对离子丰度)	保留时间窗口(%)	峰面积	图谱 SI	特征离子	
噁菌酯	40.257	344(100),372(15.7),388(35.4),345(32.5)	0.10	23088	85	P	67(A), 71(M)
克菌丹	25.268	79(100),80(21.6),77(21.6),151(4.1)	-0.34	9244	74	/	N
氯苯胺灵	19.388	127(100),213(25.9),154(18.0),153(4.2)	0.06	38767	66	P	58(A), 73(M)
氟氯菊酯-3	33.858	163(100),227(9.8),165(90.1),206(63.4)	-0.42	39357	61	/	N
环唑醇	27.032	222(100),139(106.5),224(37.0),125(70.4)	0.22	19595	79	P	59(M)
腈苯唑	33.625	198(100),125(111.5),129(390.5)	0.15	233028	64	P	74(M)
环酰菌胺	28.55	97(100),301(5.9),179(5.6),177(13.6)	-0.30	325684	64	/	N
倍硫磷砷	27.388	278(100),125(519.4),109(388.9),279(402.8)	-1.07	13640	69	/	N
氰戊菊酯-1	32.497	167(100),125(275.1),181(54.7),152(71.3)	-0.47	5344	67	/	S
粉唑醇	26.082	123(100),83(55.3),164(29.5),219(26.8)	-1.00	1126585	68	/	N
已唑醇	26.266	83(100),214(22.8),216(18.2),82(37.5)	-0.52	38807	68	/	S
叶菌唑-2	30.265	125(100)70(74.6),83(56.9),153(12.1)	-1.25	6662	74	/	S
戊唑醇	28.847	125(100),70(85.5),83(69.6),250(51.9)	-0.09	5406	70	/	N
三唑醇	25.445	112(100),128(50.2),168(46.4),70(31.5)	1.69	94267	62	/	N
肟菌酯	28.138	116(100)131(7.9),59(48.5),222(14.3)	-1.57	5874	60	/	N

注: P 表示通过; /表示未通过; A 为自动质谱库检索; M 为手动质谱库检索; N 为排除; S 为无法确证

进行手动筛选核实, 对提取离子图(EIC)分析发现(见图 2-), 图谱中除了特征离子(m/z 127, 213 和 154)外还有强度更高的离子 m/z 91, 但保留时间有细微的差异, 所以确定 m/z 91 为共流离子, 利用他们时间的差异进行质谱图的提取(在 a 处)和共流离子的扣除(在 b 处而不是 c 处), 最后得到较高纯度的质谱图(见图 2-), 通过质谱库检索(标准图谱为图 2-), 氯苯胺灵的 SI 由自动质谱匹配时的 58 提高到了 73; 若在 TIC 图谱的峰尾(c 处)扣除背景, 所获得的质谱图(见图 2-)在质谱匹配中的最佳匹配化合物为 2-环己基哌啶(图谱见图 2- , SI 为 80), 这样很容易看出手动筛选对自动筛选结果的确证中起了至关重要的作用。通过上述筛选进行质谱图提取和共流离子扣除来提高质谱图纯度的方法, 确证了另外 3 个可疑目标分析物——噁菌酯、环唑醇和腈苯唑, 排除了 8 个可疑目标分析物, 但由于氰戊菊酯-1、已唑醇和叶菌唑-2 的特征离子峰和共流离子峰没有时间差异而无法确证(见表 2)。

3.3 LC-QToF 筛选

LC-QToF 筛选主要取决于采集数据信息的质量, 如基质干扰、可疑目标分析物的浓度水平以及仪器的分辨率和稳定性, 和软件数据处理功能^[1,10,13]。在净化试样 ESI(+)自动筛选的可疑目标分析物中, 有 3 个可疑物(腈苯唑、噁菌酯和环唑醇)和 GPC-GC-MS 确证结果一致(见表 3), 而在非净化试样分析中只有 2 个(腈苯唑和噁菌酯), 通过手动处理在非净化样品中也证实了环唑醇可疑物(见表 4)的存在, 该结果说明净化样品好于非净化样品, 样品净化有助于 LC-QToF 的筛选。但对非净化的样品中统计发现, 腈苯唑和噁菌酯的筛选评价(或分数)均高于净化试样(见表 3 和表 4), 这也可能与文献所报道的软件自动化有待改善有关^[10]。

样品中可疑目标分析物的浓度可对筛选产生直接的影响, 浓度太高会导致离子过饱和而降低质量的准确度, 在本研究 ESI(+)分析中, 未出现离子饱和现象, 但通过对样品进行稀释分析(见表 4)发现, 浓度

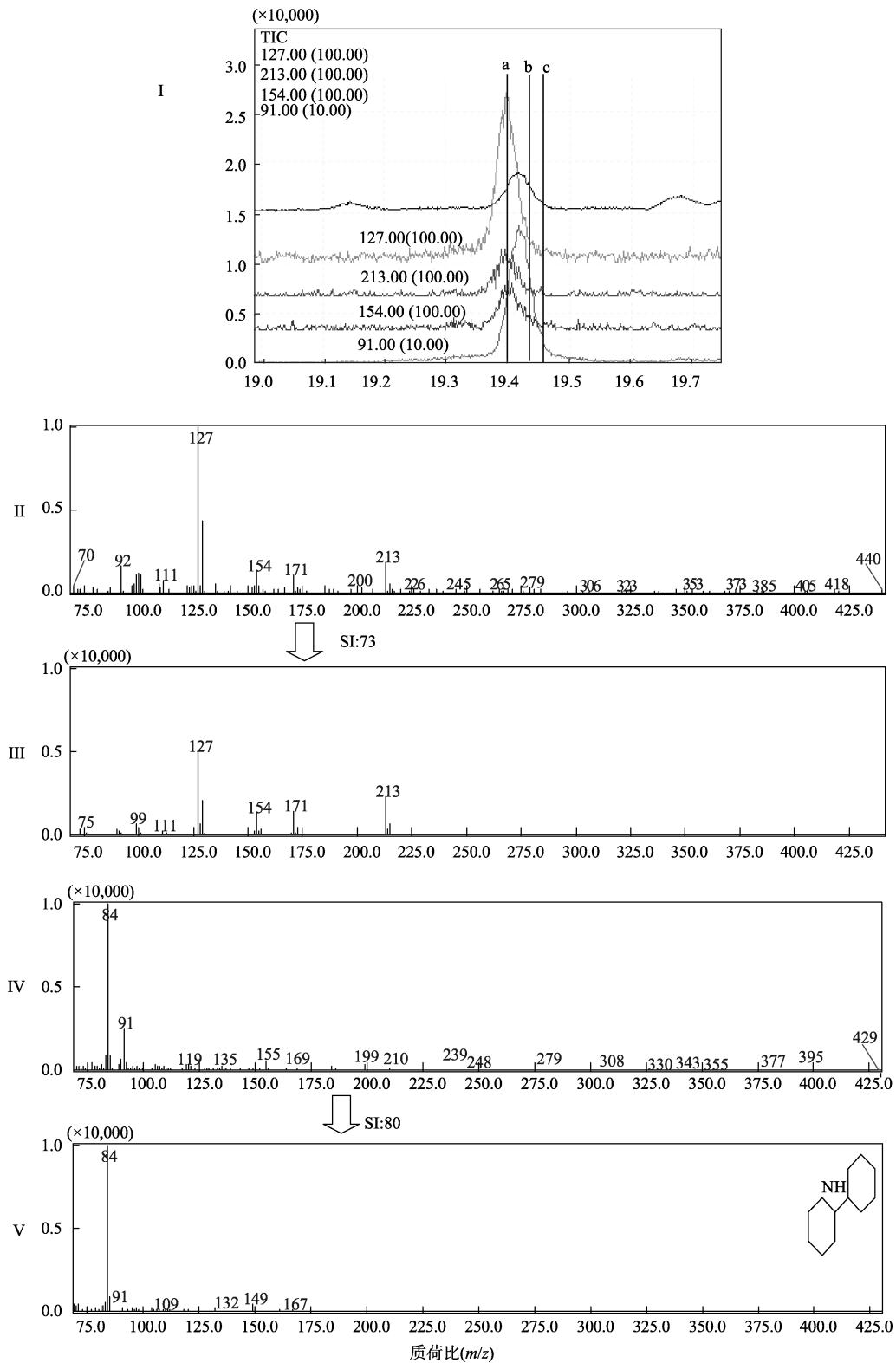


图 2 手动进行氯苯胺灵质谱库检索确证, I 为 TIC 和 EIC 图谱, II 为在 I 图 a 处提取 b 处扣除背景的质谱图, 为质谱库中氯苯胺灵的标准图谱, IV 为在 I 图 a 处提取 c 处扣除背景的质谱图, V 为 IV 在质谱库中匹配率最高的标准图谱(2-环己基哌啶)

Fig. 2 Manual searching and confirmation of chlorpropham using mass spectrometry library

太低不仅会影响筛选结果和准确质量数的准确度, 也对同位素的分布产生影响, 这和文献报道一致^[10]。

与 GPC-GC-MS 筛选相比, LC-QToF-ESI(+)通过

同位素分布配合准确(准)分子质量数筛选获得了除 3 个经 GPC-GC-MS 筛选证实的可疑分析物外, 还有其他 3 个可疑目标分析物(见表 3), 该 3 个可疑分析物

表 3 净化试样的 LC-QToF-ESI(+)全扫描分析后的筛选结果

Table 3 Screening results of the cleaned up samples after the analysis of LC-QToF-ESI(+) with accurate mass full scan

可疑分析物	测定质量 (Da)	准确质量 (Da)	准确度 (ppm)	筛选评价 (或分数)	离子数	面积	GPC-GCMS 辅助筛选
抗蚜威	238.1441	238.143	4.87	80.8	10	1737367	N
环唑醇	291.114	291.1138	0.6	87.38	4	258144	P
嘧菌酯	403.1171	403.1168	0.66	74.29	6	15155794	P
腈苯唑	336.1143	336.1142	0.44	76.97	5	1070705	P
螺环菌胺	297.2671	297.2668	0.97	92.73	5	361685	N
二甲戊灵	281.1378	281.1376	0.76	47.45	1	55528	N

注: P 表示通过; N 为排除

表 4 不同浓度未净化试样的 LC-QToF-ESI(+)全扫描分析后的筛选结果

Table 4 Comparison of non-cleaned up samples with different dilution ratios after the analysis of LC-QToF-ESI(+) with accurate mass full scan

可疑分析物	样品浓度 (g/mL)	测定质量 (Da)	准确质量 (Da)	筛选评价 (或分数)	准确度 (ppm)	同位素比率
腈苯唑	0.5	336.1142	336.1142	99.67(A)	0	2.83
	0.25	336.1145	336.1142	98.78(A)	0.9	2.85
	0.1	336.1146	336.1142	98.09(A)	1.12	2.60
	0.05	336.1145	336.1142	97.5(A)	1.08	2.47
嘧菌酯	0.5	403.1172	403.1168	98.34(A)	0.91	/
	0.25	403.118	403.1168	M	2.98	/
	0.1	403.1175	403.1168	M	1.74	/
	0.05	403.1172	403.1168	M	0.99	/
环唑醇	0.5	291.1143	291.11384	M	1.14	3.33
	0.25	291.1142	291.11384	M	0.89	3.08
	0.1	291.1141	291.11384	M	0.65	2.72
	0.05	291.1141	291.11384	M	0.65	2.39

注: /表示不存在同位素分布; A 为自动筛选; M 为手动筛选

最好采用其他 QToF 筛选方法如准确诊断离子扫描和二级质谱进行确证^[12], 然而这些筛选方法是建立在有标准对照品或专业质谱解析的基础上, 而且需要大量的时间进行方法建立和优化以及结构解析; 但这里采用 GPC-GC-MS 筛选分析方法——图谱匹配、特征离子匹配和手动筛选等, 很容易地排除该 3 个可疑物(见表 3), 同样的方法也排除了所有 ESI(-)筛选结果, 这也与该样品中不存在 ESI(-)易电离的酸性可疑分析物一致。

3.4 MS/MS 确证和测定

对筛选出的可疑农药采用 MS/MS 的 MRM 模式

进行更为准确的定性和定量分析, 由于目前该样品中所有可疑目标分析物均适合 GC 分析, 所以选择 GC-MS/MS 进行分析物的确证。GC-MS/MS 的 MRM 确证分析采用欧盟 2002/657/EC 指令的定性指标, 即一个母离子和对应两个子离子(IP: 4)或两个母离子和对应子离子(IP: 5)(见表 1), 分析结果(见图 3)表明 GPC-GC-MS 和 LC-QToF 确证的四个可疑目标分析物得到证实, 另外 GPC-GC-MS 中 3 个无法确证的分析物(氰戊菊酯-1、已唑醇和叶菌唑-2)在对应的保留时间里没用相应的峰, 所以排除了该 3 个可疑分析物, 这和 FAPAS 最终公布的比对结果一致。另外通过

GC-MS/MS 定量测定, 相关的 4 个残留农药啉菌酯、氯苯胺灵、环唑醇和腈苯唑的测定值(对应 FAPAS 统计 Z 分数)分别为: 195 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (0.1)、177 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (0.5)、99.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (0.4)和 207 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (-0.4), 测定结果的 Z 值均小

于规定值 2, 这说明 GPC-GC-MS 和 LC-QToF 筛选的可靠性, 但有关 GPC-GC-MS 方法中 3 个无法确证的分析物是否能直接作为排除对象有待于在以后的应用中进行进一步的验证。

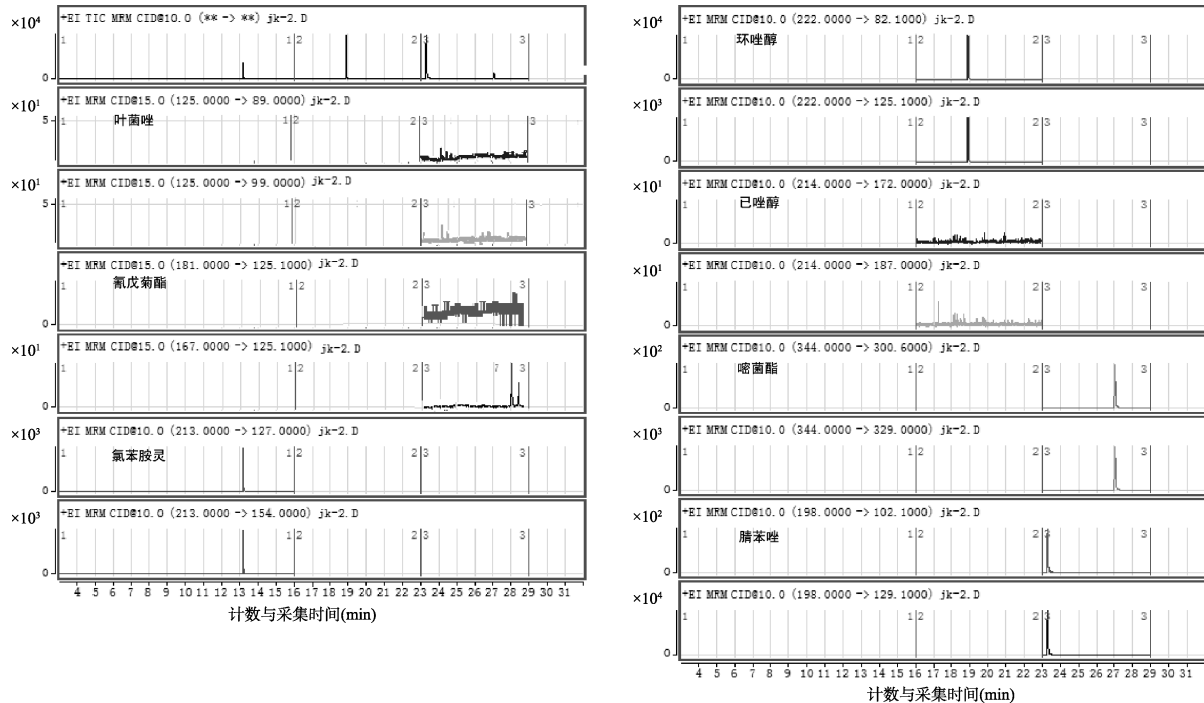


图 3 7 个可疑目标分析物 GC-MS/MS 测定的 MRM 图谱

Fig. 3 MRM spectrum of 7 suspicious target pesticides using GC-MS/MS

4 结论

本研究以 FAPAS 国际实验室能力比对盲样玉米粉(样品编号 0971)为典型未知样品, 采用改进的 QuEChERS 方法对样品进行样品前处理、经 GPC-GC-MS 全扫描分析和化合物列表方法筛选、以及 LC-QToF 高分辨全扫描分析和同位素分布配合准确(准)分子量筛选, 分别从样品中可能含有的 118 种农药中筛选出了 4 和 15 种可疑农药, 然后采用 GPC-GC-MS 和 LC-QToF 协同筛选和筛选条件优化确认 4 个可疑和 3 个无法确定的农药, 最后采用 GC-MS/MS 对该筛选结果进行了确证, 并对 4 个确证农药进行了准确的定量。这说明现实实验室所采用的 3 种不同色谱/质谱系统以及相关农药数据库、筛选软件、保留时间锁定等技术, 能准确可靠地实现农药残留筛选和确证。

参考文献

[1] Lehotay SJ, Mastovska K, Amirav A, *et al.* Identification and

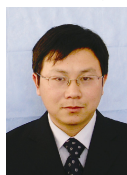
confirmation of chemical residues in food by chromatography-mass spectrometry and other techniques [J]. *Trends Anal Chem*, 2008, 27(11): 1070–1090.

- [2] Hernáñez F, Pozo O'J, Sancho JV, *et al.* Strategies for quantification and confirmation of multi-class polar pesticides and transformation products in water by LC-MS2 using triple quadrupole and hybrid quadrupole time-of-flight analyzers [J]. *Trends Anal Chem*, 2005, 24(7): 596–612.
- [3] Grimalt S, Sancho JV, Pozo O'J, *et al.* Quantification, confirmation and screening capability of UHPLC coupled to triple quadrupole and hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry in pesticide residue analysis [J]. *J Mass Spectrom*, 2010, 45: 421–436.
- [4] Hernández F, Sancho JV, Ibáñez M, *et al.* Current use of high-resolution mass spectrometry in the environmental sciences [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 403: 1251–1264.
- [5] Čajka T, Hajslova J. Gas chromatography-high-resolution time-of-flight mass spectrometry in pesticide residue analysis: advantages and limitations [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1058: 251–261.

- [6] Lacorte S, Fernandez-Alba AR. Time of flight mass spectrometry applied to the liquid chromatographic analysis of pesticides in water and food [J]. *Mass Spectrom Rev*, 2006, 25: 866–880.
- [7] Lu DS, Qiu XL, Feng C, *et al.* Simultaneous determination of 45 pesticides in fruit and vegetable using an improved QuEChERS method and on-line gel permeation chromatography gas chromatography/mass spectrometer [J]. *J Chromatogr B*, 2012, 895–896: 17–24.
- [8] 卢大胜, 邱欣磊, 林元杰, 等. QuEnChERS 方法联合 GPC-GCMS 测定蔬菜水果中农药残留中的应用[J]. *质谱学报*, 2011, 32(4): 229–235.
- Lu DS, Qiu XL, Lin YJ, *et al.* Application of QuEChERS method coupled with on-line GPC-GC/MS for determination pesticide residues in vegetables and fruits [J]. *J Chin Mass Spectr Soc*, 2011, 32(4): 229–235.
- [9] Ferrer I, Garcí'a-Reyes JF, Fernandez-Alba A. Identification and quantitation of pesticides in vegetables by liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry [J]. *Trends Anal Chem*, 2005, 24(7): 671–682.
- [10] Malato O, Lozano A, Mezcuca M, *et al.* Benefits and pitfalls of the application of screening methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables [J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218: 7615–7626.
- [11] Wang J, Chow W, Leung D. Applications of LC/ESI-MS/MS and UHPLC QqTOF MS for the determination of 148 pesticides in fruits and vegetables [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 396: 1513–1538.
- [12] Lacina O, Urbanova J, Poustka J, *et al.* Identification/quantification of multiple pesticide residues in food plants by ultra-high-performance liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217: 648–659.
- [13] Croley TR, White KD, Callahan JH, *et al.* The Chromatographic Role in High Resolution Mass Spectrometry for Non-Targeted Analysis [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2012, 23: 1569–1578.

(责任编辑: 赵静)

作者简介



卢大胜, 硕士, 主管技师, 主要研究方向为环境污染物分析。

E-mail: dslu@scdc.sh.cn



汪国权, 主任技师, 主要研究方向为色谱-质谱在公共卫生领域的分析。

E-mail: gqwang@scdc.sh.cn