

# 基于 Q Exactive-GC 精确质量数据库筛查及确证食品中 435 种农药多残留

彭兴<sup>1</sup>, 朱曼洁<sup>1</sup>, 李春丽<sup>1</sup>, 芦荟<sup>2</sup>

1. 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; 2. Thermo Fisher Scientific, Liverpool, UK

## 摘要

本研究利用气相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱(Thermo Scientific™ Q Exactive-GC)建立了 435 种农药化合物精确质量数据库,并结合相应的数据处理软件,在此基础上建立了农药多残留快速筛查流程。实验对检索中所需的各项参数进行了优化,用以提高筛查准确度,避免假阳性和假阴性结果的产生。实验结果表明,在实际样品检测中,分辨率 60,000 FWHM (200  $m/z$ )及以上,质量准确度 < 2.0 ppm,筛查准确度会有大大改善。同时仍然可以保持高灵敏度,完全满足食品中农药残留检测要求。筛查方法同时使用了精确质量数和偏差,保留时间窗口,同位素分布与同位素丰度信息等参数,进而获得快速、准确的结果。

## 关键词

Q Exactive-GC; 精确质量数据库; 农药多残留

## 1. 引言

农产品作为人们日常生活中必不可少的食品,其日常消费量和市场需求量巨大,目前,全球有超过 1100 种农药应用于农业生产中<sup>[1]</sup>。为提高农产品的产量,改善其品质,施用农药不可避免,加之农药的滥用及乱用现象,这不仅使得果蔬中农药残留超标,并且加重了农药对环境的污染,同时对国际贸易及消费者的健康造成不良影响。为了应对这次问题,许多国家和国际组织都发布了农药的最大残留限量(MRLs),对不同基质中的不同农药残留进行了严格的规定<sup>[2]</sup>。我国 GB2763-2014《食品中农药最大残留限量》也规定了 387 种农药的 3650 项 MRLs (GB 2763-2014)<sup>[3]</sup>。果蔬中农药残留问题,不仅成为食品安全领域面临的严峻挑战,而且也制约了我国果蔬产品的进出口贸易。



农药的痕量多残留检测,一直是农药残留分析的研究重点和发展趋势,是分析化学工作者追求的目标。目前,全世界在用农药加之其代谢物、同分异构体和降解产物可达几千种,这就决定了农药分析的复杂性和多样性。快速、准确的农药多残留检测方法已成为国内及国际上的重点研究方向。

目前,常用的农残筛查多用串接气质或者串接液质检测来实现。串接质谱由于其灵敏度高、特异性强,因而被广泛得应用在食品及农产品中的多残留分析检测中。但是,随着样品基质越来越复杂,农药检测数目的增加以及痕量分析的要求,三重四极杆质谱一般采用多反应监测(MRM)的扫描模式,由于

其固定目标化合物，带有一定的局限性。四极杆-飞行时间质谱 (Q-TOF) 和静电场轨道阱高分辨质谱 (Orbitrap) 采用高分辨全扫描的方式 (无限制目标化合物) 在很大程度上弥补了这个缺陷，被广泛应用于农药残留的快速筛查。

对于高分辨选择性上，只有当分辨率高于 50,000 时，高分辨全扫描方式的选择性才会体现出好于三重四极杆质谱MRM 的扫描模式，即交叉点<sup>[4]</sup>。因此在样品筛查分析过程中，Q Exactive-GC 高分辨质谱参数选择了 60,000 ( $m/z$  200) 以上的分辨率，大大提高了农药残留定性筛查的速度和结果的可靠性，同时获得更准确的定量结果。

Q Exactive - GC，作为一款气质高分辨产品，基于 Orbitrap 静电场轨道阱技术独特的高分辨率和高质量精度测定原理以及优良的稳定性和操作性，分辨率高达 120,000 FWHM ( $200 m/z$ )，同时保持良好的灵敏度。去掉其全扫描和高扫描速度，使得无需考虑化合物数量上的限制，从而达到大量农药同时筛查的目的，并满足在复杂基质中检测低浓度农药残留和提供 (对样品中其它成分) 回顾性研究。不仅如此，Orbitrap 可将化合物的精确质量数与保留时间、同位素强度、同位素分布等信息结合，从而实现农药的快速、准确筛查。

本研究基于 Thermo Fisher Scientific 最新气质高分辨产品，建立了 435 种农药化合物精确质量数据库，可在 35 分钟内完成样品数据采集以及农药未知物筛查的工作，具有灵敏度高、分辨率好，特异性强、重现性好等特点。在常见水果蔬菜农药多残留检测中获得良好的效果。

## 2. 实验部分

### 2.1 仪器和方法

#### 2.1.1 气相条件

仪器型号：Thermo Scientific™ TRACE 1310 GC

进样体积：1.0  $\mu$ L

衬管：PTV 不分流进样

不分流时间：1 min

载气：氦气，1.2 mL/min

柱温箱温度程序：初始温度 40  $^{\circ}$ C，保持 1.5 min；以 25  $^{\circ}$ C/min 升至 90  $^{\circ}$ C，保持 1.5 min；以 25  $^{\circ}$ C/min 升至 180  $^{\circ}$ C，保持 0 min；5  $^{\circ}$ C/min 升至 280  $^{\circ}$ C，保持 0 min；10  $^{\circ}$ C/min 升至 300  $^{\circ}$ C，保持 3 min。

#### 2.1.2 质谱条件

仪器型号：Thermo Scientific™ Q Exactive-GC 质谱仪

传输线：250  $^{\circ}$ C

离子化类型：EI

离子源：280  $^{\circ}$ C

电子能量：70 eV

采集模式：高分辨全扫描 (FullScan)

质量分辨率：60,000 FWHM ( $200 m/z$ )

扫描范围：50-700  $m/z$

### 2.2 样品前处理方法：

#### 1. 水果蔬菜样品

基于《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》，以正己烷为定容液<sup>[5]</sup>。

## 3. 实验与结果

### 3.1 高分辨质谱的定性能力

按照欧盟方法学标准，质谱方法必须达到 4 个定性点的确证要求<sup>[6]</sup>，对于三重四极杆串接，通常只检测 2 对母离子和子离子，因此其定性点往往只有 4-5 个；而对于高分辨质谱，由于其对精确质量数进行全扫描测定，因此其每个离子被定义为 2 个定性点，相对丰度在基峰 10% 以上的离子可以作为定性离子使用。因此，按照以上规则，Q Exactive-GC 所采集数据的定性点均在 4 个以上，并可以实现全扫描图谱的库检索工作。在化合物的准确定性上具有强大优势。

### 3.2 仪器性能

#### 3.2.1 扫描速度

通常情况下农药的峰宽在 3-10 s (与色谱峰的位置及浓度有关) 之间，每一个色谱峰至少要满足 8-10 扫描点数以保证数据采集的准确性。

Q Exactive-GC 在 60,000 分辨率下，仍能达到 7.0 spectrum/s 以上的采集速率，使数据获得足够多的扫描点数。同时更重要的是每个扫描点数上质量准确度可以保持在 1.0 ppm 以内，保证了数据的稳定性和可靠性。如图 1 所示。

### 3.2.2 质量准确度和稳定性

超高分辨率使仪器精确质量数测定上的优势得到了完美发挥，有利于对未知化合物进行定性定量测定。但精确质量数的测定会受到基质干扰、化合物浓度、仪器状态、外部环境等因素的影响，保证较低的精确质量数偏差，才能使定性的确证度更高。实验中测定了 1345 个碎片离子，其实测值与理论值的质量偏差均在 1 ppm 范围内，如图 2 所示。结果表明，Q Exactive-GC 在大量的数据采集过程中能保持良好的质量偏差，结果可靠性更高。

实验同样对于化合物每个采集点的质量精度进行了探究，化合物毒死蜱 (Chlorpyrifos) 每个采集点中，碎片离子 (196.91964) 的质量偏差均能保持在 0.5 ppm 内，如图 3 所示。Q Exactive-GC 在每个扫描过程中，均可保持良好的质量精度。

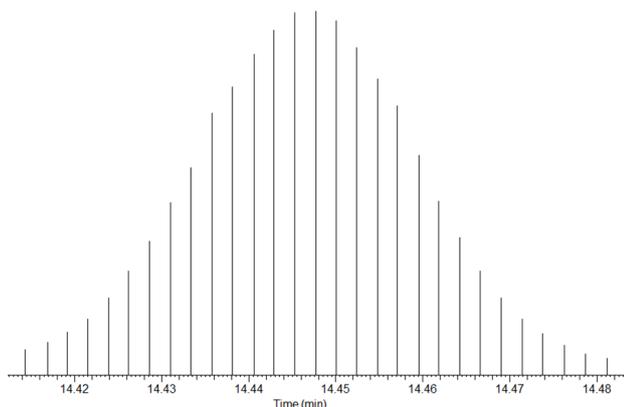


图 1 毒死蜱 (Chlorpyrifos) 在 60,000 FWHM 下显示的采集点数

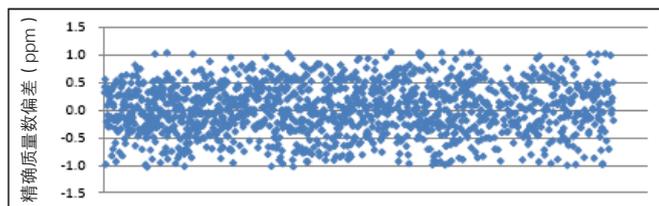


图 2 1,345 个碎片离子精确质量数偏差

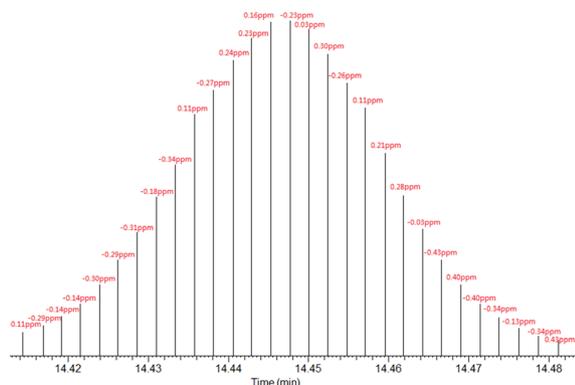


图 3 毒死蜱 (Chlorpyrifos) 中碎片离子 (196.91964) 扫描点的质量偏差 (< 0.5 ppm)

### 3.2.3 超高分辨性能

在有基质干扰时，分辨率的高低会影响到精确质量的测定。超高分辨率会提高仪器精确质量数测定的准确性，可以对精确质量极为接近的化合物进行有效鉴别。实验中，分别在四种不同分辨率 (15,000; 30,000; 60,000; 120,000) 下对化合物 10  $\mu\text{g/L}$  氯苯胺灵 (Chlorpropham) 碎片离子 ( $m/z$  127.01833) 在大葱样品的测定结果，当分辨率低于 60,000 时，离子与同重元素的干扰离子无法分开。因而在判断上会发生假阴性或假阳性结果。只有当分辨率在 60,000 及以上时，两个同重元素离子可以明显区分，并对氯苯胺灵快速判断和准确定量，如图 4 所示。

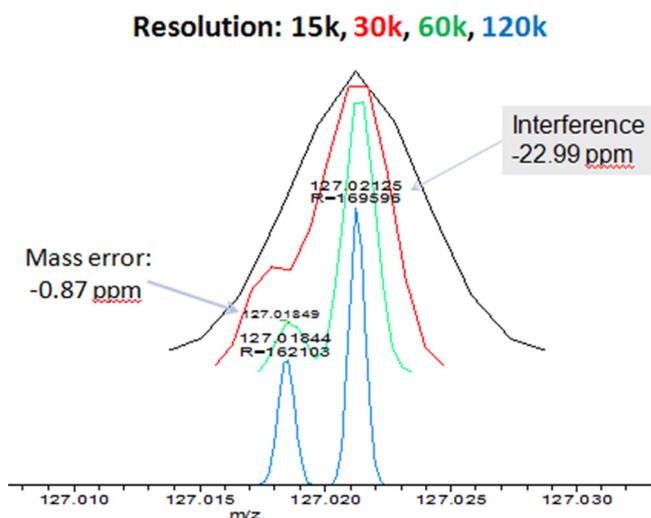


图 4 氯苯胺灵 (Chlorpropham) 不同分辨率下的测定结果

### 3.2.4 超强的抗干扰能力

实验同样考察了对于相对复杂的基质，Q Exactive-GC 基于高分辨率及高质量精度，可通过精确质量数达到完美的色谱分离。如图 5 所示，烟草基质中，低浓度下 (10.0  $\mu\text{g/L}$ ) 仍能得到高质量的色谱峰。

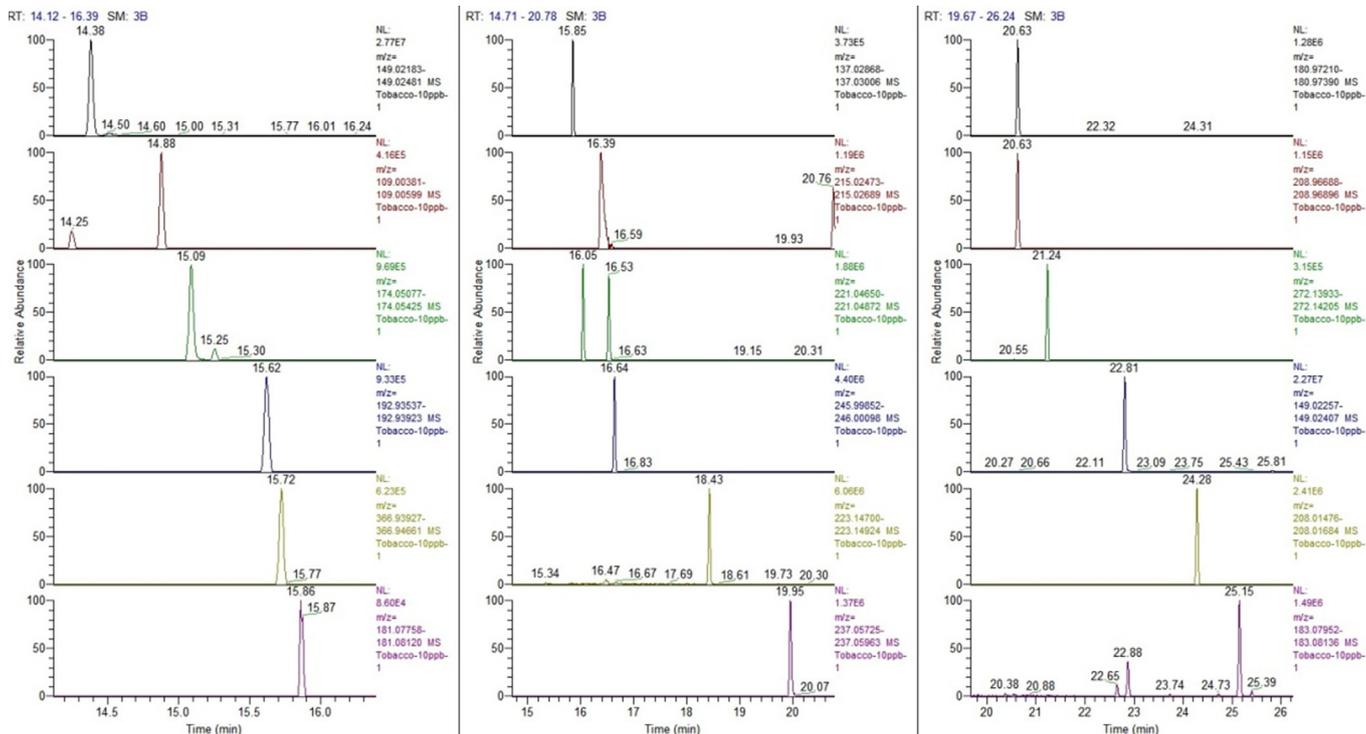


图 5 烟草基质中 10.0 µg/L 浓度下 18 种农药色谱图

### 3.3 筛查数据库 (Database) 的建立

本实验选取了 435 种农药化合物，配制成 2.0 mg/L 的混合标准溶液，由仪器测定，在全扫描模式 (FullScan) 下获得相应化合物的保留时间，碎片离子的精确分子量、化学式等信息。每种化合物选取 2-5 个碎片离子，获得离子信息 (精确质量、化学式)。数据导入 TraceFinder 中，建立相关数据库 (Database)。如图 6 所示。TraceFinder 不仅可以实现数据快速、批量、自动化处理，而且集成定性、定量及方法建立等功能，根据建立的 Database 可实现目标物筛查 (Targeted Screening)，对检测样品中的农药残留进行快速筛查。Database 中主要包含化合物名称、CAS 登记号、碎片离子信息 (精确质量、化学式)，保留时间等信息。

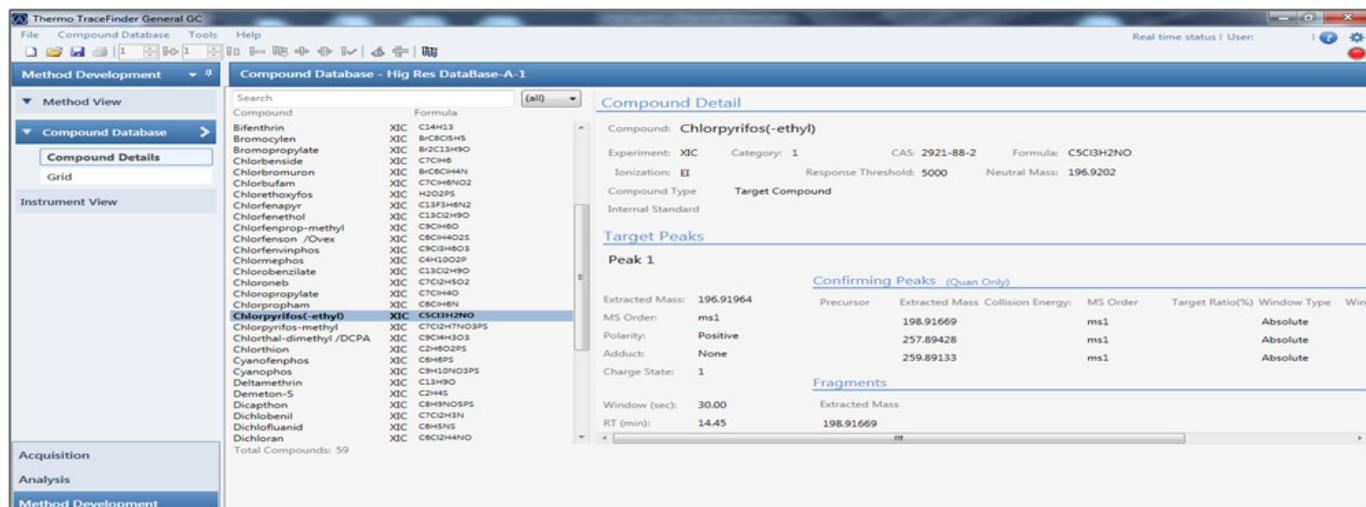


图 6 TraceFinder 建立 Database

### 3.4 筛查参数的优化

保留时间是化合物在色谱条件下的特征参数。对于本实验而言，定性主要依赖于精确质量数，但同时保留时间的限定可有效降低假阳性结果的检出，提高筛查的准确性以及速度。

Trace1310 气相色谱具有高度的稳定性，保证了化合物保留时间的稳定性。多次测定，同一化合物的保留时间偏差均在  $\pm 0.1$  min 范围内，考虑到基质干扰对保留时间造成的偏移，实验将保留时间偏差设定在  $\pm 0.2$  min 范围内。

化合物具备的同位素簇信息对于定性具有重要意义，对于本次研究的农药化合物其元素组成主要以 C, H, O, N, P, S, F, Cl, Br, I 为主，其中 C, S, Cl, Br 同位素的贡献均超过了 1.0%，特别是 Cl 和 Br 的同位素贡献占到了 32.0% 和 97.3%，并且随着化合物中元素个数的增加，同位素贡献呈现上升的趋势。本实验中，化合物的同位素分布与同位素丰度信息在检索得分中具有重要贡献，其作为筛查的一项重要参数和判断

依据。TraceFinder 可根据离子的化学式自动生成相应的同位素峰理论信息，自动与测定值相比较。以农药除草醚 (Nitrofen) 为例，其基峰离子化学式为  $C_{12}Cl_2H_7NO_3$ ，实际测得同位素峰簇的每个精确质量数和其丰度比都与理论值相匹配。如图 7 所示。

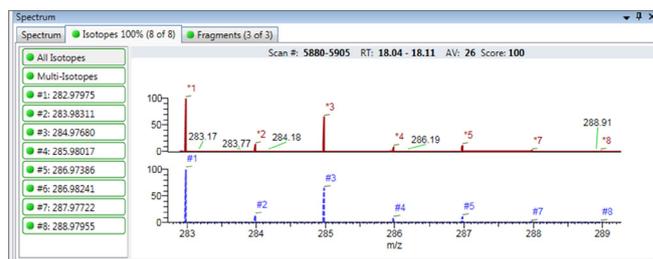


图 7 除草醚 (Nitrofen) 基峰同位素峰模型比较 (下图为除草醚 (Nitrofen) 基峰理论同位素峰图, 上图为样品中除草醚 (Nitrofen) 基峰同位素峰图)

### 3.5 筛查结果

本实验配置了溶剂标准与基质标准对农药化合物数据库进行了验证，选取了 2 种常见的水果蔬菜样品 (苹果及黄瓜)。结果显示，10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  浓度下，435 种化合物均能检测到。

实际样品中，10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  浓度下，所有化合物峰形良好，碎片离子均能检出且离子比率高度匹配。如图 8 所示。

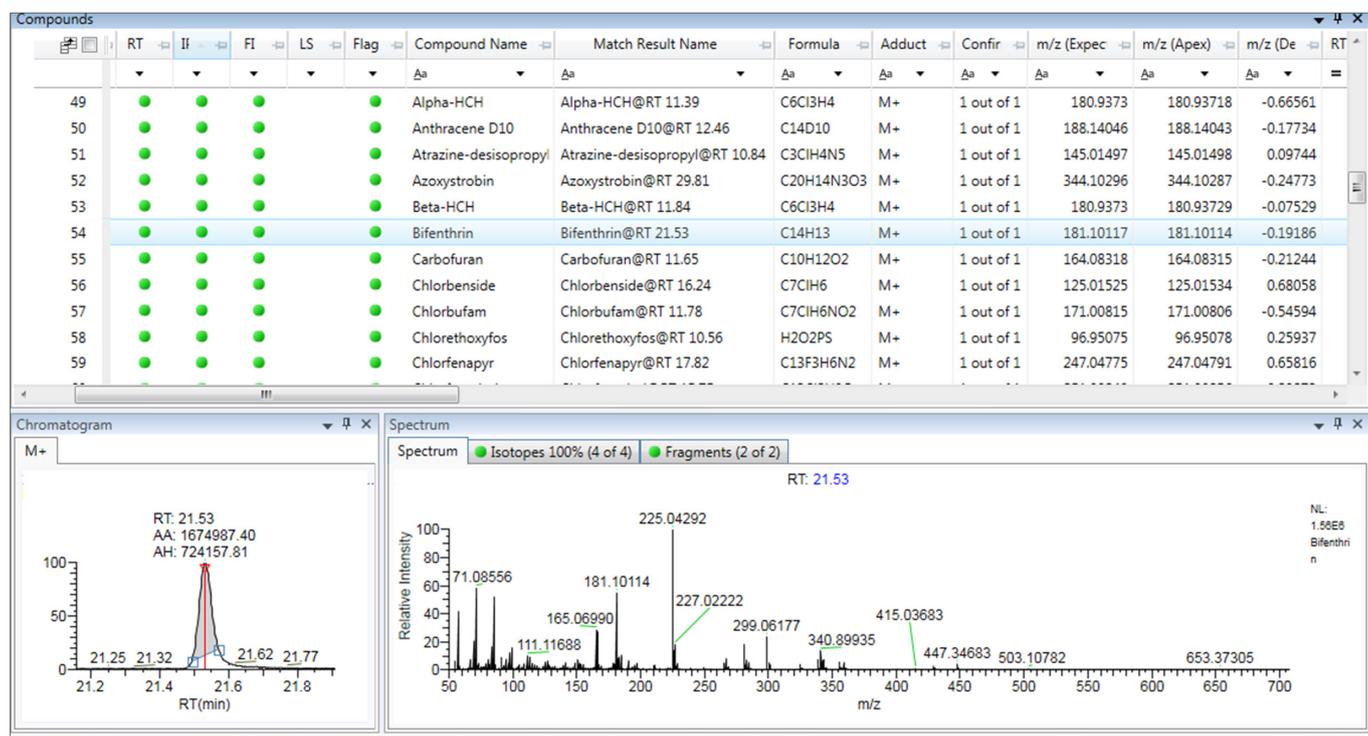


图 8 10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  部分农药检出情况

所有农药能够在 10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  下定性检出，方法的灵敏度完全能够满足农残日常检测的需要。实验同时考察了 10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  以下，农药检出情况。对于部分农药，即使在 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  极低浓度下，仍能得到满意的检测效果。如图 9 所示。

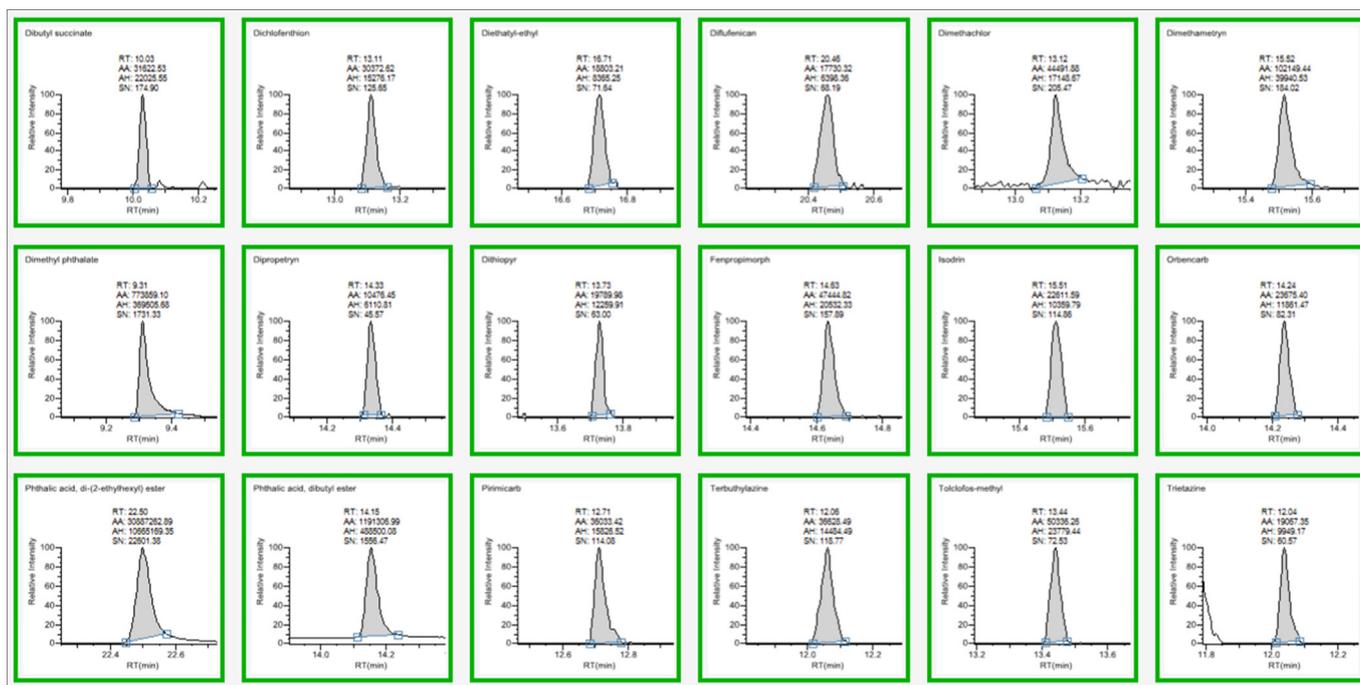


图 9 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  下部分农药色谱图

本实验主要是基于农药化合物精确质量信息，来进行农药残留筛查。因此，需要对 Database 为基本的筛查限进行研究。以苹果、黄瓜空白样品制备浓度为 0.1, 0.5, 1.0, 10.0, 20.0, 50.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (435 种农药) 的基质标准，进行测定。采用筛查数据库对测定结果进行 Targeted Screening，对于苹果、黄瓜 2 种基质中农药检出情况进行统计。结果发现，在 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  及以下浓度，检出农药占比分别为 92.4%、93.6% (见图 10)。由此可知，100% 以上的农药能够在 10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  下定性检出，方法的灵敏度完全能够满足农残日常检测的需要，绝大部分农药在较低浓度下仍能检出。

#### 4. 结论

本实验利用 Q Exactive-GC 超高分辨率、稳定的质量精度以及高灵敏度与 TraceFinder 软件结合，建立了 435 种农药化合物精确质量数据库，利用化合物的精确质量数与保留时间，同位素强度，同位素分布等信息结合，对不同基质的农产品样品进行快速筛查。实验中仪器分辨率选择了最少 60,000 FWHM (200  $m/z$ ) 来提高检测结果的可靠性，同时可以减少过多假阳性带来判断上的繁琐，因此加快了筛查的速度和方便性。而在此分辨率下，筛查灵敏度可达到 10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  或更低，完全能够满足农残日常检测的需要。

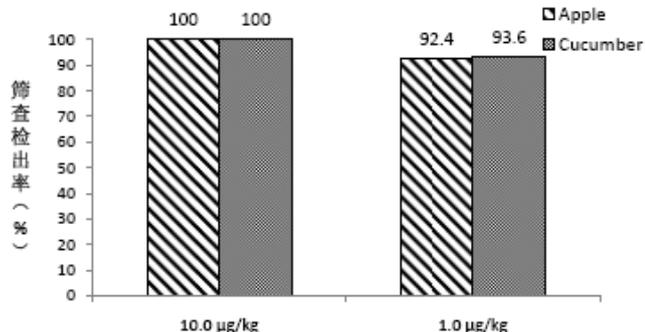


图 10 2 种基质中筛查检出限

## 参考文献

- [1]. <http://www.chinapesticide.gov.cn/>
- [2]. <http://www.mrlatabase.com/results.cfm>
- [3]. GB2763-2014 《食品中农药最大残留限量》
- [4]. Comprehensive comparison of liquid chromatography selectivity as provided by two types of liquid chromatography detectors (high resolution mass spectrometry and tandem mass spectrometry): "Where is the crossover point?"  
A. Kaufmann et al. / Analytica Chimica Acta 673 (2010) 60–72
- [5]. 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》
- [6]. 《EC 657-2002》



Orbitrap 组  
学俱乐部



赛默飞小分子质  
谱应用技术群

赛默飞世尔科技(中国)有限公司

[www.thermoscientific.cn](http://www.thermoscientific.cn)

**全国服务热线: 800 810 5118**  
**400 650 5118 (支持手机用户)**

**Thermo**  
SCIENTIFIC  
A Thermo Fisher Scientific Brand