

# 使用高分辨率 GC/Q-TOF 和农药与环境污染物的扩展精确质量谱库进行污染物筛查

## 作者

Sofia Nieto,  
Anastasia Andrianova,  
Jessica Westland,  
Kai Chen 和 Bruce Quimby  
安捷伦科技有限公司

## 摘要

过去几年，高分辨率精确质量 GC/Q-TOF 在大范围筛查复杂食品基质中的农药及其他污染物方面的应用不断增加。GC/Q-TOF 提供的复杂的高分辨率数据能够提高筛查和定量工作流程的可靠性，但迄今为止，要充分利用其价值仍然非常耗时。本应用简报中介绍的软件简化了对此类数据的审查，最大程度提高了其价值，从而使实验室能够定量优先目标物，并可靠地筛查更多疑似物，所有这些都可以在一种环境下同时实现。此外，该工作流程还利用了最新的农药与环境污染物的 GC/Q-TOF 精确质量谱库。

## 前言

食品中农药残留的检测对于确保食品安全至关重要。筛查食品基质中的污染物需要高灵敏度，以满足有关最大残留限量 (MRL) 的严格的法规要求，并实现广泛的适用性。高分辨率 GC/Q-TOF 系统的一项优势是能够在一次运行中筛查几乎无限多的化合物，且灵敏度不受影响。但是，传统上，此方法最繁琐耗时的部分是对复杂的高分辨率数据进行处理。理想情况下，用于此目的的数据处理软件应当能够自动对此类数据进行多方面评估，从而发现之前采用其他技术时遗漏的化合物（即，减少假阴性结果）。然后，应当向用户提供可靠且易于审查的阳性样品鉴定结果，并在需要审查潜在的假阳性结果时可靠地标记数据的各个方面。对于批次中经过校准的优先化合物以及纯粹从个人化合物数据库与谱库 (PCDL) 中筛选出的疑似物，此类功能均应具备可靠性。最后，此类软件还应最大程度缩短这些功能的数据处理时间，并且至关重要，应具有足够高的可靠性，几乎不需要用户干预。

本应用简报介绍了一种简化的农药筛查工作流程，该工作流程旨在遵循 SANTE/11945/2015 指导原则<sup>[1]</sup>，同时为数据审查过程提供高灵活性。

美国农业部 (USDA) 认为草莓是最常见的污染食品之一，因此使用草莓提取物来展示该工作流程<sup>[2]</sup>。

## 实验部分

使用 EN QuEChERS 方法对草莓样品进行萃取，其中采用了一般水果和蔬菜 dSPE 净化管（部件号 5982-6650 和 5982-5056）。如需了解更多信息，请参见安捷伦应用简报 *使用谱库搜索解卷积谱图在容许浓度下对草莓样品进行 GC/MSD 农药筛查*<sup>[3]</sup>。

使用 Agilent 8890 气相色谱系统通过 40 分钟保留时间锁定 (RTL) 方法分离样品，

该方法采用 15 m × 15 m 柱中反吹配置 (图 1)，并将甲基毒死蜱的 RT 锁定至 18.111 分钟。利用 Agilent 7250 GC/Q-TOF 和 Agilent 5977B GC/MSD 在全谱采集模式下分析样品。GC/Q-TOF 条件如表 1 所示。该方法所用的反吹功能有助于保持一致的 RT，避免交叉污染，延长色谱柱寿命，并减少离子源污染。5977 GC/MSD 的实验条件如其他文献所述<sup>[3]</sup>。

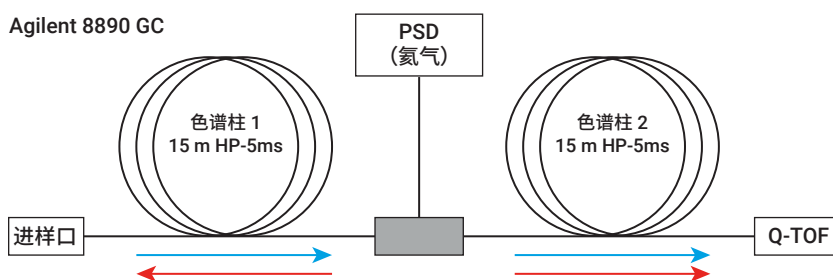


图 1. 柱中反吹配置。运行结束时反吹过程中的氦气流路以红色箭头指示。吹扫两三通接头处的压力升高，而进样口的压力降低。这导致第一根色谱柱中的载气逆流，并通过分流出口除去高沸点化合物。气路反吹模块 (PSD) 为 Agilent 8890 GC 气路控制模块。PSD 提供了反吹功能，并采用固定的吹扫流速，大大减少了载气消耗量

表 1. GC/Q-TOF 采集参数

参数	值
GC/Q-TOF	Agilent 7250 Q-TOF
GC	Agilent 8890 GC
色谱柱	2 根 Agilent J&W HP-5ms 超高惰性色谱柱，15 m, 0.25 mm, 0.25 μm
进样口	MMI, 4 mm UI 单锥衬管，带玻璃毛
进样量	1 μL
进样模式	脉冲不分流
进样口温度	280 °C
柱温箱升温程序	60 °C 保持 1 分钟；以 40 °C/min 升至 120 °C；以 5 °C/min 升至 310 °C
载气	氦气
色谱柱 1 流速	约 1.2 mL/min
色谱柱 2 流速	约 1.4 mL/min
反吹条件	5 min (后运行)，310 °C (柱温箱温度)，50 psi (辅助 EPC 压力)，2 psi (进样口压力)
传输线温度	280 °C
四极杆温度	150 °C
离子源温度	280 °C
电子能量	70 eV
谱图采集速率	5 Hz
质量数范围	m/z 45–650

使用 Agilent MassHunter 定量分析软件 10.1 中提供的 GC/Q-TOF 筛查工作流程以及农药与环境污染物的精确质量农药个人化合物数据库与谱库 (PCDL) 对 GC/Q-TOF 数据进行处理, 该 PCDL 中包含 1000 多种特有的化合物 (图 2A)。简而言之, 将 GC/Q-TOF 数据导入 MassHunter 定量分析软件中, 并转换为 SureMass 格式, 以提高下游数据分析的速度和质量。利用 GC/Q-TOF 精确质量谱库 (图 3) 自动创建了一种组合式筛查和定量分析方法。现在, 最新的 GC/Q-TOF PCDL 中包含了更多以下类别的化合物: 多环芳烃 (PAH)、胺类、有机磷酸酯、邻苯二甲酸酯、硝基苯胺和硝基氯苯 (图 3)。

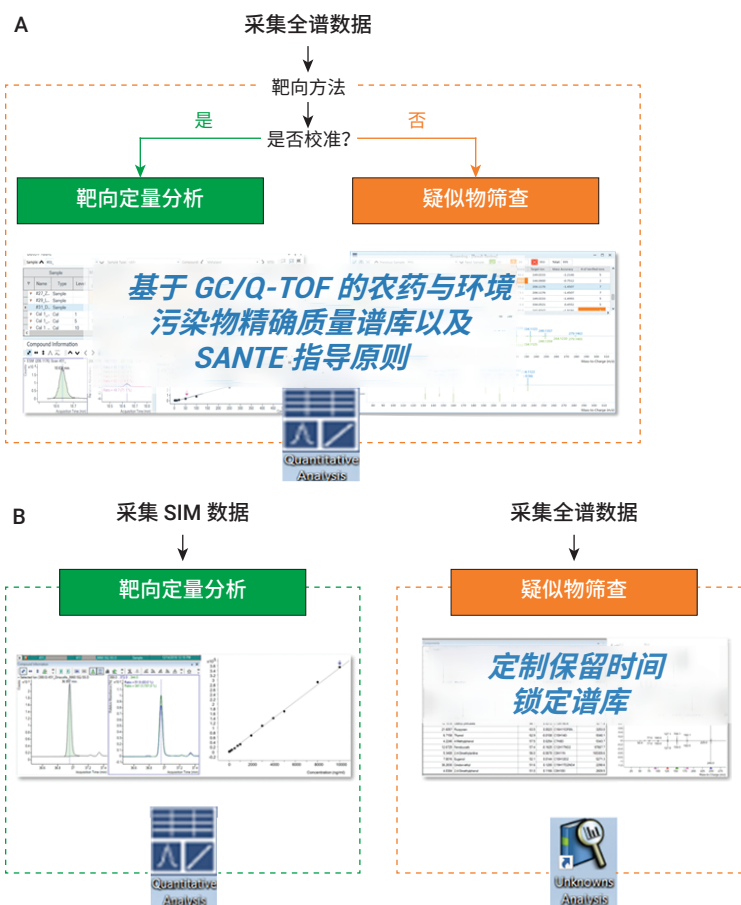


图 2. A) 污染物筛查和靶向定量分析组合工作流程, 基于 GC/Q-TOF 的农药与环境污染物 PCDL。B) 筛查和靶向定量分析工作流程, 使用 GC/MSD 的定制保留时间锁定单位质量谱库

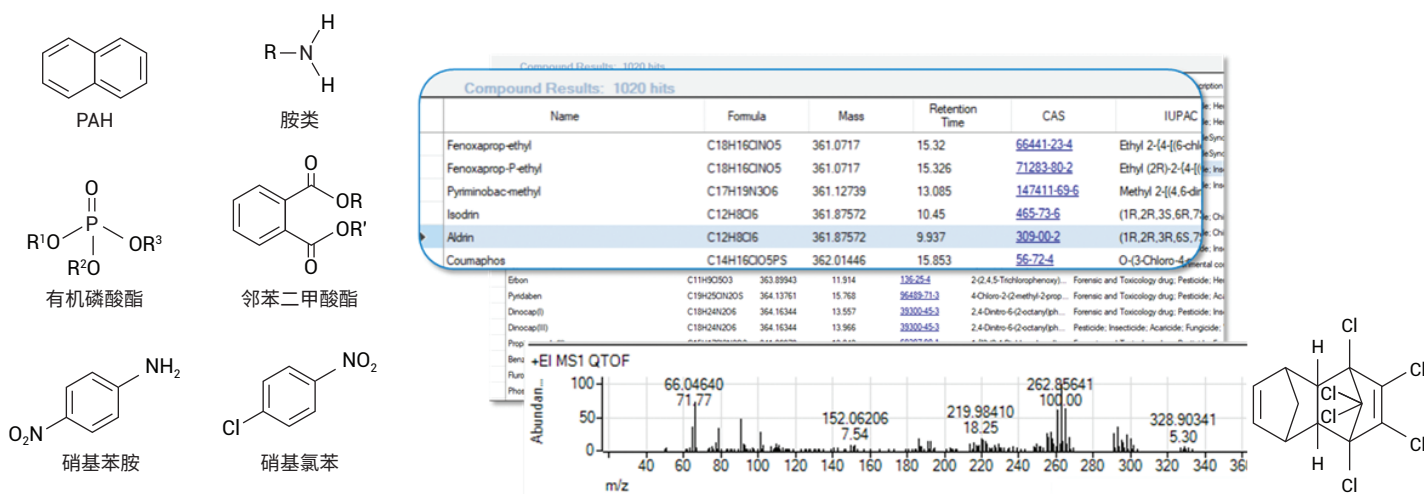


图 3. 最新的农药与环境污染物 GC/Q-TOF 精确质量谱库, 其中包含 1000 多种化合物的精确质量谱图

筛查方法参数根据 SANTE 指导原则进行设置，并经过进一步优化以减少假阳性和假阴性结果的数量。这些参数包括 RT 窗口、质量数准确度、共流出得分和谱库匹配得分等。例如，将质量数准确度设定为 5 ppm（与 SANTE 指导原则一致），将 RT 窗口设定为 0.05 分钟。RT 锁定与反吹可提供优异的 RT 精密度和重现性，此设置有助于减少假阳性结果。谱库匹配得分设定为 75。后一项设置已针对此应用进行了优化，并且是消除假阳性结果的关键参数之一。对于大多数已确认的化合物，谱库匹配得分均高于 90。应用组合筛查方法后，只有少数边缘情况需要手动审查，以确定该化合物是否为真实匹配。这些化合物会在筛查器窗口中自动以橙色突出显示。

此外，还使用 MassHunter 定量分析软件 10.1 和 MassHunter 未知物分析软件以及定制的单位质量农药谱库对 GC/MSD 数据进行了处理（图 2B）<sup>[3]</sup>。

## 结果与讨论

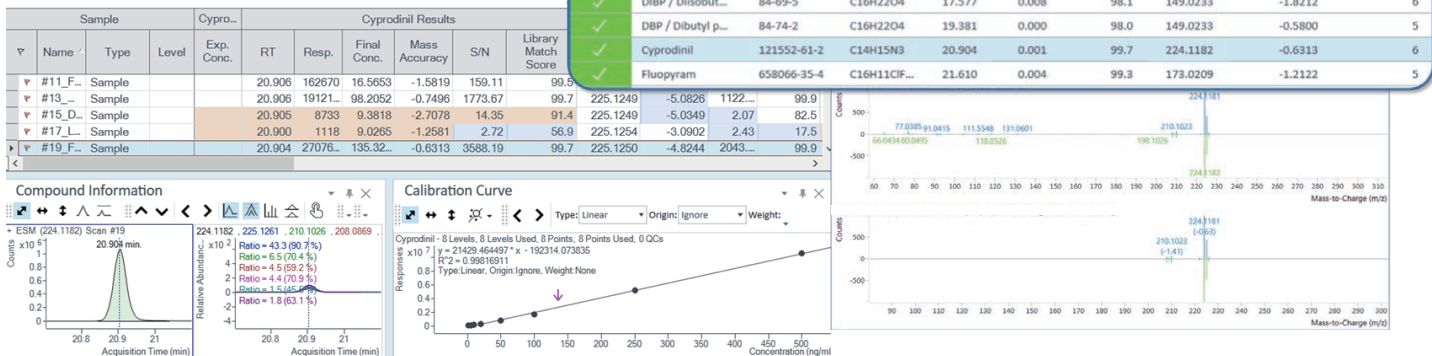
### 使用 GC/Q-TOF 进行疑似物筛查

为了测试 GC/Q-TOF 精确质量筛查工作流程，从北加州的不同零售商店和农贸市场购得 14 种有机和非有机草莓样品，并按上述方法制得提取物。在有机草莓提取物混合样品（利用 GC 单四极杆仪器未检出任何农药）中，以 1–500 ppb 的浓度加入非有机草莓生长时通常使用的 40 种优先农药<sup>[4]</sup>。利用该工作流程（图 2A）对选定的优先农药进行定量分析，同时对安捷伦 PCDL 中的许多其他农药和环境污染物进行快速疑似物筛查。

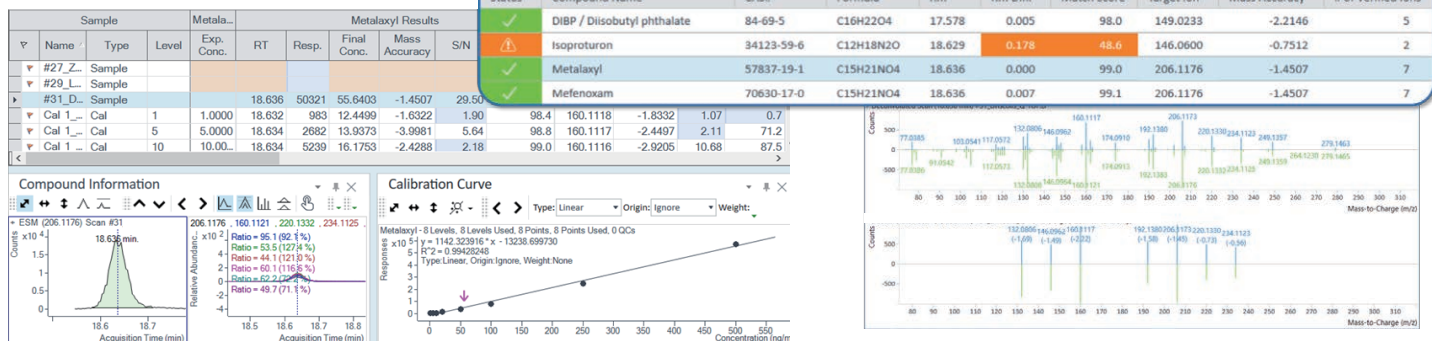
利用该疑似物筛查方法对用于创建数据分析方法的 PCDL 中的所有化合物进行筛查。当鉴定出的化合物存在校准标样时，将报告其浓度。与之前的工作流程<sup>[5]</sup>相比，此污染物筛查工作流程显著提高了分析效率，并大大简化了流程。它将各种功能结合到单一工具中，能够实现靶向定量分析和疑似物筛查。

图 4A 至 4C 展示了使用疑似物筛查工作流程通过 GC/Q-TOF 在草莓提取物中鉴定出的几种污染物。提取物中具有丰富的 EI 谱图且高于痕量水平的化合物通常易于鉴定，其中超过 70% 的选择性离子得到验证，质量数误差约在 2 ppm 以内，谱库匹配得分高于 90，且 RT 差异可以忽略不计（图 4A）。将谱库匹配得分不佳且 RT 差异较大的化合物提交给审查者，以考虑是否为给定的谱库农药的异构体。但是，通常经过人工检查后会发现，这种情况极有可能是假阳性结果（图 4B 和 4C）。实际上，较低的谱库匹配得分（此得分的阈值是一项可由用户调整的参数）通常是假阳性结果的一种良好指标。即使未运行可供比较的标样，也能区分鉴定结果好坏的能力反映出了 7250 的高分辨率和精确质量性能，因此，即使对于复杂基质，其也能保持准确的碎片离子比。

### A 样品 SNB 中的噻菌环胺



### B 样品 CDB 中的甲霜灵



### C 样品 HSD 中的噻霉胺

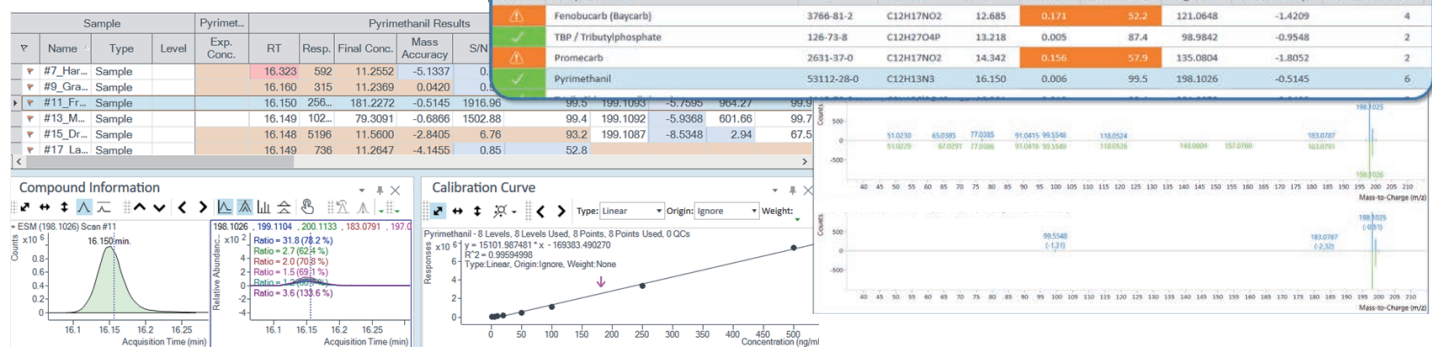


图 4. 筛查结果审查

通常，在各种非有机提取物中可鉴定出 10-20 种农药（表 2）。氟啶虫酰胺、啉霉胺、啉菌环胺、氟吡菌酰胺、咯菌腈、克菌丹和联苯菊酯是最常检测到的农药。

大多数有机提取物仅含少数痕量农药，其中包括一些遗留污染物。草莓提取物中检测到的浓度最低的农药为啉霉胺和啉菌环胺，浓度分别为 1 ppb 和 1.2 ppb。

表 2. 靶向定量分析和疑似物筛查结果汇总。在有可用的标样时，草莓提取物中污染物的浓度将显示在表中，否则，将单元格标记为 N/A。前六个样品为有机样品

化合物	RT	样品/提取物中的浓度, ppb													
		CVQ	ZTV	BRV	RST	RCH	NMT	CDB	NMP	DPR	NMJ	RSN	HSD	RTP	SNB
异佛尔酮	4.83	N/A		N/A				N/A							
双苯氟脲	8.28					117.8		119	122.8	101	159.8	182	17.2		
二苯醚(二苯基氧)	8.61									N/A	N/A				
顺式-1,2,3,6-四氢邻苯二甲酰亚胺	9.90			55.3		197.9		615*	893*	37.8	520*	54.9	715*	347.8	
氟啶虫酰胺	12.42			48.8		18		62.8	519.7	157	70.8	83.2		50.2	40.7
啉霉胺	16.16			1.2	11.4			< LOQ	79.3		233.5	1	181.2		
二嗪农(敌匹硫磷)	16.42					14.71									
五氯苯胺	17.33				N/A										
甲基毒死蜱	18.11				N/A									N/A	
甲萘威	18.23					34.8									
甲霜灵	18.64							55.6					28.9	< LOQ	
噁唑	19.56										N/A				
马拉硫磷	19.64					36.2				44	< LOQ	39.7	3.5		
氟醚唑	20.37							68.1	36.2		27.9				
四氯苯酞(稻瘟酞)	20.45							N/A							
啉菌环胺	20.91			1.6	1.2				111.8		179.6	1.2	11.2	20.6	153.7
克菌丹	21.43					151		3294*	16598*	58.7	5188*	92.9	105.3	3600*	
氟吡菌酰胺	21.62								N/A	N/A	N/A		N/A	N/A	N/A
灭菌丹	21.67								N/A						
噻螨酮	21.98										46				
粉唑醇	22.75									17.3		18.2	21.6		
咯菌腈	23.41			28.2					101.5		200.2		28.7	36.2	147.9
p,p'-DDE	23.44		< LOQ	< LOQ				< LOQ	< LOQ					< LOQ	< LOQ
腈菌唑	23.73							2	1.6		18.2	18		1.6	127.6
唑氧灵	26.05							30.6				14.3	< LOQ		
环酰菌胺	26.20								90.2		242.5				41.8
肟菌酯	26.50										20.1		21.2		52
增效醚	27.22					273.9	19.7								
啶虫脒	27.99								< LOQ						
氟唑菌酰胺	28.32														N/A
联苯菊酯	28.34								229.2	220		96.5	36.8	40.7	230.7
联苯肼酯	28.35								52		44				
乙螨唑	28.62														45.7
啶酰菌胺	33.36			N/A											
啉菌酯	37.00							< LOQ							

■ 自动验证

■ 审查后验证

\* 超出校准范围的浓度计算值

## 减少假阴性结果

使用精确质量筛查方法时，与 GC/MSD 相比，GC/Q-TOF 通常能够在每个样品中鉴定出更多农药（图 5）。紫色代表通过 GC/MSD 在每个样品中检测到的农药数量；绿色和橙色是在 GC/Q-TOF 筛查中确认的农药数量。请注意，在有机草莓提取物（其中检出的农药浓度明显低于非有机提取物中的浓度）中，GC/MSD 和 GC/Q-TOF 报告的农药数量之间的差异尤为明显。

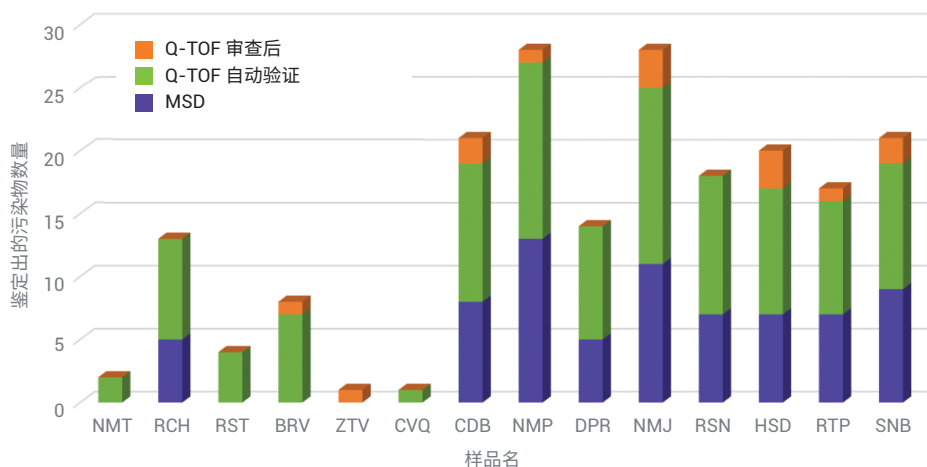
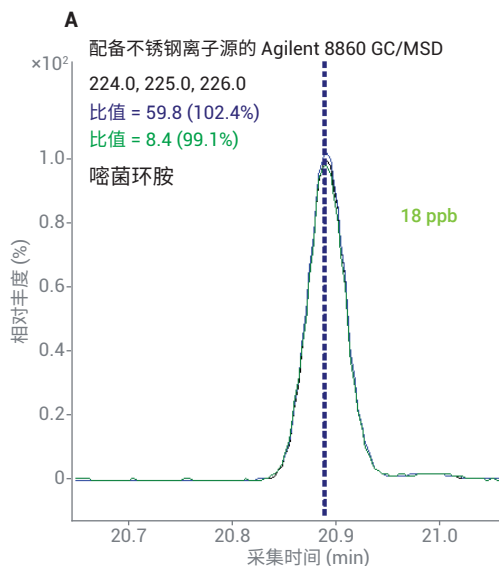


图 5. 利用 Agilent 7250 GC/Q-TOF 和 Agilent 5977B GC/MSD 在草莓提取物中鉴定出的污染物数量对比

## 消除假阳性结果

GC/Q-TOF 筛查工作流程报告假阳性结果的可能性极低，这是由于该仪器具有高分辨率和精确质量分析能力，并且筛查软件采用了多个参数和易于审查的验证功能。

通常，GC/MSD 和 GC/Q-TOF 可提供一致的鉴定结果以及接近的浓度值。图 6 为此类情况的一个典型示例，其中利用 GC/MSD 定量分析得到的啞菌环胺的浓度为 18 ppb（采用不锈钢离子源）和 23 ppb（采用 Extractor 离子源），而 GC/Q-TOF 报告的该化合物的浓度为 21 ppb。



### B 样品：RTP

技术	实测浓度 (ppb)
配备不锈钢离子源的 Agilent 8860 GC/MSD	18
配备 Extractor 离子源的 Agilent 8890 GC/MSD	23
Agilent 8890 GC/Q-TOF	21

图 6. A) 啞菌环胺的定量和定性离子的叠加图 (GC/MSD)，以及 B) 利用 GC/MSD 和 GC/Q-TOF 计算出的样品 RTP 中的啞菌环胺浓度

但是，并非所有由低分辨率 GC/MSD 仪器报告的化合物都得到了 GC/Q-TOF 的确认。图 7 和图 8 展示了这样一个例子。乙硫苯威由 GC/MSD 报告为匹配结果，但是通过 GC/Q-TOF 筛查工作流程未检出该化合物（图 7A）。从 GC/Q-TOF 数据中提取出精确质量 EIC（168.0603 ±20 ppm，图 7B）后，同样未检测到峰。当从预计会洗脱出乙硫苯威的色谱区域中提取 Q-TOF 谱图时，观察到与  $m/z$  168 单位相匹配的两种精确质量离子（图 7C），但是任何一种离子的精确  $m/z$  与乙硫苯威碎片的理论  $m/z$  168.0603 均不相符。

如筛查器窗口中所示（图 8），该化合物精确质量谱图的离子比与乙硫苯威的精确质量谱库谱图的离子比明显不同。这种差异也反映在谱库匹配得分仅为 20。这一

示例清楚地证明了 GC/Q-TOF 如何减少其他单位质量分辨率技术可能报告的假阳性结果。

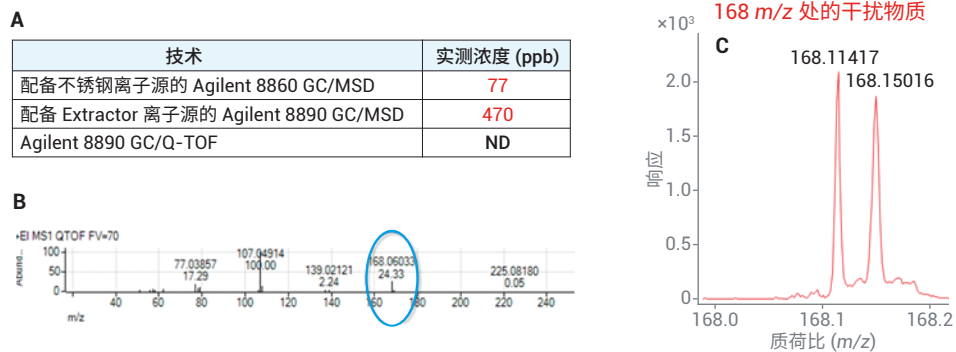


图 7. 与 GC/MSD 不同，GC/Q-TOF 并未报告假阳性乙硫苯威结果。A) 乙硫苯威的实测浓度。B) GC/Q-TOF PCDL 中的乙硫苯威精确质量谱图。C) 从对应于乙硫苯威 RT 的色谱图区域得到的 GC/Q-TOF 谱图的片段

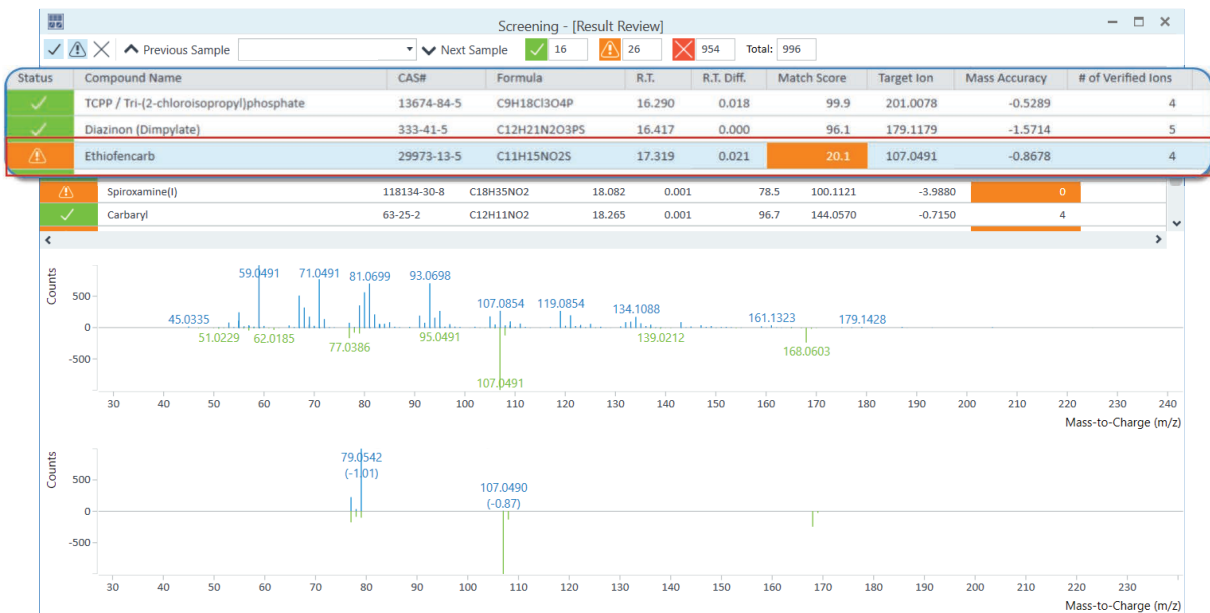


图 8. 使用疑似物筛查工作流程，GC/Q-TOF 准确识别出乙硫苯威的结果为假阳性，这从较低的谱库匹配得分和不理想的谱图匹配中可以明显看出



## 结论

本文使用有机和非有机草莓提取物展示了一种简化的农药和环境污染物的筛查与定量分析工作流程，该工作流程使用高分辨率 GC/Q-TOF 和精确质量谱库。定量分析和筛查均采用同一种软件，即 Agilent MassHunter 定量分析软件 10.1。这意味着，评估的化合物远远多于实际要校准的化合物。

对 GC/Q-TOF 与 GC/MSD 筛查结果的比较表明，与单位质量分辨率仪器 GC/MSD 相比，GC/Q-TOF 筛查工作流程产生假阴性和假阳性结果的可能性极低。

## 参考文献

1. SANTE/11945/2015.Guidance Document on Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed **(2015)**
2. United States Department of Agriculture (USDA).Pesticide Data Program (PDP) Annual Summary Reports **(2016)**
3. Andrianova, A. A.; Quimby, B. D.; Westland, J. L. GC/MSD Pesticide Screening in Strawberries at Tolerance Levels Using Library Searching of Deconvoluted Spectra (使用谱库搜索解卷积谱图在容许浓度下对草莓样品进行 GC/MSD 农药筛查)，*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5994-0915EN
4. US Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs.Index to Pesticide Chemical Names, Part 180 Tolerance Information, and Food and Feed Commodities (by Commodity) **(2012)**
5. Chen, K.; Nieto, S.; Stevens, J. 使用 GC/Q-TOF MS 监测食品中的农药，利用 Agilent MassHunter GC/Q-TOF 农药个人化合物数据库与谱库对农药进行定量和定性筛查的组合工作流程，*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5991-7691CHCN

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

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，2019  
2019年9月18日，中国出版  
5994-1346ZHCN

