



# 应用触发式 MRM 数据库和谱库对食品萃取液中的农药进行定量和定性分析

## 应用简报

食品

### 作者

Thomas Glauner  
安捷伦科技有限公司  
Waldbronn, 德国

Bettina Schuhn,  
吉森尤斯图斯-李比希大学  
吉森, 德国

Günther Kempe  
萨克森州卫生与兽医事务实验室  
德累斯顿, 德国

### 摘要

本文介绍了包含 300 多种农药的触发式 MRM 数据库和谱库的开发，并应用于采用 120 种特定农药残留开发的 LC/MS 方法分析多种食品。我们使用了 Agilent 1290 Infinity LC 和 6460 三重四极杆 LC/MS 联用系统，并在采用安捷伦喷射流技术的正离子电喷雾模式下运行。采用触发式 MRM 采集模式进行定量和确认，以消除潜在的假阳性检测结果。针对 3 类商品的 5 个代表性基质进行简单的室内验证，证明了开发的触发式 MRM 方法满足定量限 (LOQ)、线性和重现性等方面的要求，适用于食品提取物中农药的分析。一些实例表明，干扰基质峰被错认为是农药的高风险可以通过触发式 MRM 消除。定量结果同时显示的自动化参考谱库匹配可以高效地审查数据并对可疑数据进行自动标记。



**Agilent Technologies**

## 前言

食品，作为人类的一大消费品，需要进行农药残留的分析。欧盟委员会法规 (EC) 396/2005 及其在 2008 年 9 月生效的附录中对欧盟生产或进口到欧盟的食品和饲料产品的 170000 多种不同基质中的多种农药规定了最大残留限量 (MRL) [1]。SANCO/12495/2011 指南 [2] 中规定了食品和饲料中农药残留分析方法验证和质量控制步骤的准则。

使用多残留 LC/MS 分析方法监测和定量数量与日俱增的农药。基于它们出色的选择性和灵敏度，分析者普遍认为三重四极杆质谱仪是定量多种食品中数百种低浓度农药的最佳仪器。然而，对于复杂基质，一些案例已发现因基质成分的保留时间与农药相近或相同而干扰农药的 MRM 谱图，从而造成假阳性的结果 [3]。某些时候，SANCO/12495/2011 规定的鉴定标准要求要有 2 个具有恒定离子比的 MRM transition，而保留时间并没有足够的选择性来进行对于明确的鉴定。因此，我们需要采集更多的 transition 或化合物的全谱。通常，这会影响方法可以涵盖的化合物数量。

触发式 MRM 可以使二者同时实现，快速的循环时间实现几百种化合物的分析方法和全谱采集。根据一个或更多主要 transition 的响应，可以最多被“触发”9 个附加 transition，从而获得与谱库进行比对的化合物全谱。所以，化合物的确认不仅依据两个主

要 MRM transition 峰面积的比值，而且依据与参考谱库的匹配得分。因为每个碎片都是在最优化的碰撞能量下生成的，还因为在触发式 MRM 下每个碎片的驻留时间明显长于全扫描下的驻留时间，因此，触发式 MRM 的谱图质量要显著优于数据依赖的离子扫描 [4]。此外，触发式 MRM 通过安捷伦动态 MRM 算法进行管理，确保了主要（定量）transition 循环时间的一致性。因此，触发式 MRM 谱图的采集不会影响数据采集速率和定量色谱峰的峰面积。

本文根据针对农药残留分析的欧盟参考实验室 (EURL) “Check-your-Scope” 目录，展示了包含适用于 LC/MS 分析的 300 多种最重要农药的触发式 MRM 数据库和谱库的开发过程，并将该触发式 MRM 采集模式应用到不同食品（柠檬、西红柿、绿茶、春黄菊和生姜）中 120 种农药残留的分析中。对选定基质的 QuEChERS 萃取液进行加标，浓度范围从 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  到 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。以西红柿、柠檬和绿茶 3 种食品为代表，根据 SANCO/12495/2011 进行了室内验证。同时对触发式 MRM 方法以及相应的动态 MRM 方法的性能进行了鉴定，包括根据信号的抑制或增强 (SSE) 对基质效应进行的评估、线性测定、根据信噪比测定定量限 (LOQ)，以及通过不同加标浓度的 5 个平行样测定计算的重现性等。一些复杂基质的实例表明，在一个或者两个主要 MRM 谱图上有干扰，但触发式 MRM 提供的更多有价值的信息可以避免假阳性结果的出现。

## 实验

### 试剂与化学品

所有试剂和溶剂均为 HPLC 或 LCMS 级。乙腈和甲醇购于 Baker 公司 (Mallinckrodt Baker, Deventer, 荷兰)；超纯水用配有 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤终端的 Milli-Q 集成系统制备 (EMD Millipore, Billerica, MA, 美国)；甲酸购自 Fluka 公司 (Fluka AG, Buchs, 瑞士)；甲酸铵溶液 (5M) 来自安捷伦公司 (部件号 G1946-85021)；绝大多数农药分析标准品购自 Dr. Ehrenstorfer 公司 (Augsburg, 德国)。

### 溶液与标准液

根据其理化性质的相似性，将单个农药标准溶液混合，用乙腈配成 8 个混标，每个分别含有 30 到 40 种化合物，浓度均为 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ， $-20\text{ }^\circ\text{C}$  下保存。临用前，将 8 个混标进一步混合，用乙腈配成浓度为 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，含有 300 多种化合物的农药混标溶液。该溶液用于向 QuEChERS 萃取液中标和制备校准样品。用纯乙腈制备范围从 0.1 到 100  $\text{ng}/\text{mL}$  共 8 个浓度的校准样品。

### 样品前处理

水果和蔬菜、干燥的菊花茶和绿茶均购于当地的蔬菜水果店。根据法定的柠檬酸盐缓冲液的 QuEChERS 方法 [5]，采用安捷伦 BondElut QuEChERS 试剂盒 (部件号 5982-5650) 进行样品前处理。称取 10 g 均浆的水果和蔬菜，或者 2 g 菊花茶或绿茶，置于 50 mL 塑料试管中。用 10 mL 超纯水将菊花茶或绿茶浸湿。所有样品均使用 10 mL 乙腈用力振荡萃取 1 min。只有柠檬的匀浆液

后来又加入 600  $\mu\text{L}$  5 M 的氢氧化钠溶液进行中和。将含有 4 g 无水  $\text{MgSO}_4$ 、1 g  $\text{NaCl}$  和 1.5 g 缓冲柠檬酸盐的萃取盐包加入每个试管中使分层，将试管再振摇 1 min，并在 3000 rpm 的速度下离心 5 min。

将 6 mL 上层乙腈液转移至安捷伦 BondElut QuEChERS EN 分散型 SPE 萃取管中 (部件号 5982-5256)，该萃取管中含有用于净化的 150 mg N-丙基乙二胺 (PSA) 和 15 mg 石墨化碳黑 (GCB)，以及用于去除水分的 900 mg  $\text{MgSO}_4$ 。将萃取管封闭，涡旋 1 min。然后在 3000 rpm 的速度下离心 5 min。将澄清的萃取液转移至玻璃样品瓶中，向每毫升萃取液中加入 10  $\mu\text{L}$  5% 的甲酸乙腈溶液，以提高目标农药的稳定性。

为了评估重复性和基质效应，提取了空白西红柿、生姜、柠檬、绿茶和菊花茶的样品，并且通过向样品的 QuEChERS 空白萃取液中加入适量的最终农药混标溶液，配制成 3 个浓度的基质匹配标准品。基质匹配的标准品配制完成后要立即进样分析，并平行测定 5 次。

### 仪器设备

样品分离使用 Agilent 1290 Infinity UHPLC 系统，包括 Agilent 1290 Infinity 二元泵 (G4220A)、Agilent 1290 Infinity 高性能自动进样器 (G4226A)，以及 Agilent 1290 Infinity 柱温箱 (G1316C)。UHPLC 系统与配备了安捷伦喷射流电喷雾离子源的 Agilent G6460A 三重四极杆质谱联用。使用 MassHunter 工作站软件进行数据采集和分析。

## 方法

1290 Infinity UHPLC 的条件汇总于表 1, G6460A 三重四极杆的参数列于表 2 和表 3。分析采用正离子电喷雾离子化模式, 在动态 MRM 模式下, 每个化合物使用两个主要 transition, 在触发式 MRM 模式下, 每个化合物使用两个主要 transition 和总计 8 个确证离子。一旦作为触发器的主要 transition 集 (主要为定量离子) 超过了给定的阈值, 就会对确证离子进行 5 次以上的采集。阈值是根据不同化合物设定的, 一般为最低校准标准品的 50%。无需设定触发接入延迟或者触发延迟, 并且将触发窗口设

表 1. UHPLC 参数

UHPLC 色谱柱	安捷伦 ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1×150 mm, 1.8 μm (部件号 959758-902), 30 °C	
流动相	A: 0.1% 甲酸 + 5 mM 甲酸铵水溶液 B: 0.1% 甲酸 + 5mM 甲酸铵甲醇溶液	
梯度程序	Min	%B
	0	5
	0.5	5
	3	40
	17	100
	19	100
	19.1	5
	后运行时间 2 min	
流速	0.4 mL/min	
进样量	3 μL	

定成 MRM 的全窗口, 以允许在有基质干扰的情况下实现多个触发。使用农药 MRM 数据库工具包 (部件号 G1733AA) 和两个主要的 (初级) transition 和条件进行方法开发 [6]。使用 Mass Hunter 优化器软件对在触发式 MRM 方法中作为化合物确证离子的更多 transition 进行优化。然后会从主要 transition 自动生成一个动态 MRM 方法, 并在触发式和非触发式 MRM 方法中运行。表 5 汇总了所有目标化合物的主要 transition 和附加确证离子的数量。

表 2. Agilent G6460A 三重四极杆在动态 MRM 模式下的操作参数

离子化模式	配备安捷伦喷射流技术的正离子 ESI
扫描类型	动态 MRM
干燥气温度	300 °C
干燥气流量	9 L/min
雾化器压力	35 psi
鞘气温度	350 °C
鞘气流量	12 L/min
毛细管电压	+4,000 V
喷嘴电压	0 V
循环时间	800 ms
MRM 总数	240
并行 MRM 最大数	36
最短驻留时间	18.72 ms
最长驻留时间	396.5 ms

表 3. Agilent G6460A 三重四极杆在触发式 MRM 模式下的操作参数

离子化模式	配备安捷伦喷射流技术的正离子 ESI
扫描类型	触发式 MRM, 重复 5 次
干燥气温度	300 °C
干燥气流量	9 L/min
雾化器压力	35 psi
鞘气温度	350 °C
鞘气流量	12 L/min
毛细管电压	+4,000 V
喷嘴电压	0 V
循环时间	800 ms
MRM 总数	818
并行 MRM 最大数	117
最短驻留时间	3.34 ms
最长驻留时间	196.5 ms

## 结果与讨论

### 触发式 MRM 数据库和谱库的开发

大多数商业化的 MRM 数据库和公共领域收藏的农药 MRM transition 通常都只包括两个主要的 transition。触发式 MRM 的价值在于每个化合物可以使用多个 transition，并且将这些在优化条件下采集到的 transition 形成谱库。本研究的主要工作就是开发一个包含 300 多种农药的触发式 MRM 数据库和谱库。对于每个化合物，具有合理响应的所有 MRM transition 都通过 MassHunter Optimizer 软件进行优化。通过向 UHPLC-MS/MS 系统中流动注射单个分析物溶液对母离子、子离子以及碎裂电压和碰撞能量进行优化。在默认配置中，Optimizer 软件自动对每

个化合物丰度最高的 4 个碎片离子进行优化。如果在子离子谱图中观察到丰度高于最高丰度离子 5% 的碎片离子，系统会进一步在优化器实验中对这个额外的碎片离子进行优化。图 1 为敌草胺在不同能量下经过碰撞诱导裂解 (CID) 后形成的谱图汇总，碰撞能量分别为 0、15、30、45 和 60 eV。标记圆圈的碎片离子是优化器算法自动选取的；标记三角形的碎片离子为二次优化器实验优化的离子。

经过优化的 transition 储存于优化器数据库中，最后形成了 300 多种农药的 2000 多个 transition 和分析条件的数据库。根据每个化合物的碎裂行为不同，触发式 MRM 数据库中每个农药包含了 2-10 个碎片的 transition 和条件。

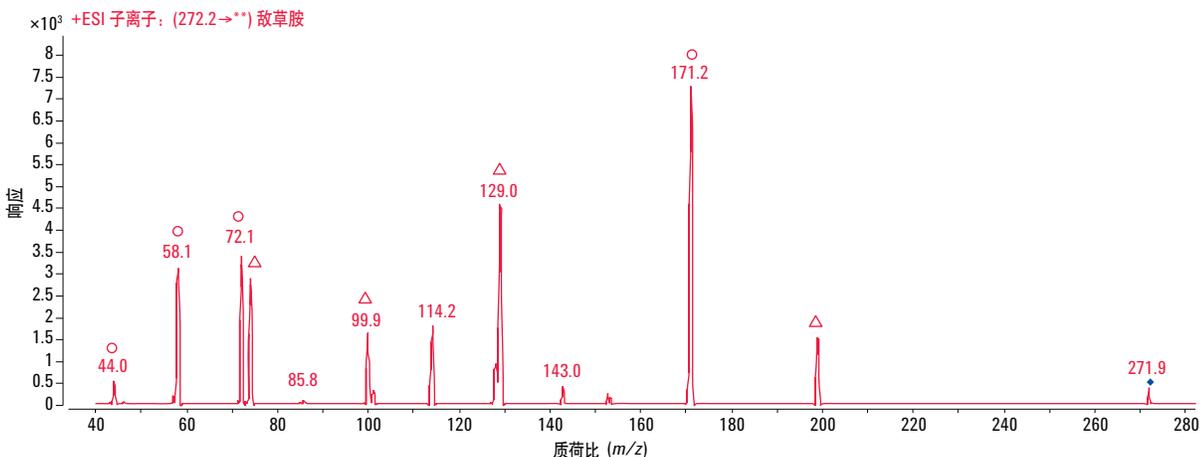


图 1. 敌草胺在不同碰撞能量 0、15、30、45 和 60 eV 下经过碰撞诱导裂解 (CID) 后形成的谱图汇总。标记圆圈的碎片离子是在初次优化实验中优化的，标记三角形的碎片离子是在二次优化实验中优化的

随后这些优化的条件被用于建立触发式 MRM 谱库。将 8 个农药混标溶液稀释到 100 ng/mL，根据表 1 和表 3 所列的 UHPLC 和喷射流条件参数采集质谱图。使用 MassHunter 定量分析软件可以很轻松地将谱图添加到触发式 MRM 谱库中。该谱库可以通过使用谱库编辑器进行浏览，除质谱图外，它还可以显示化合物名称、CAS 号、分子式、分子量和结构式（如图 2 中的一个实例所示）。

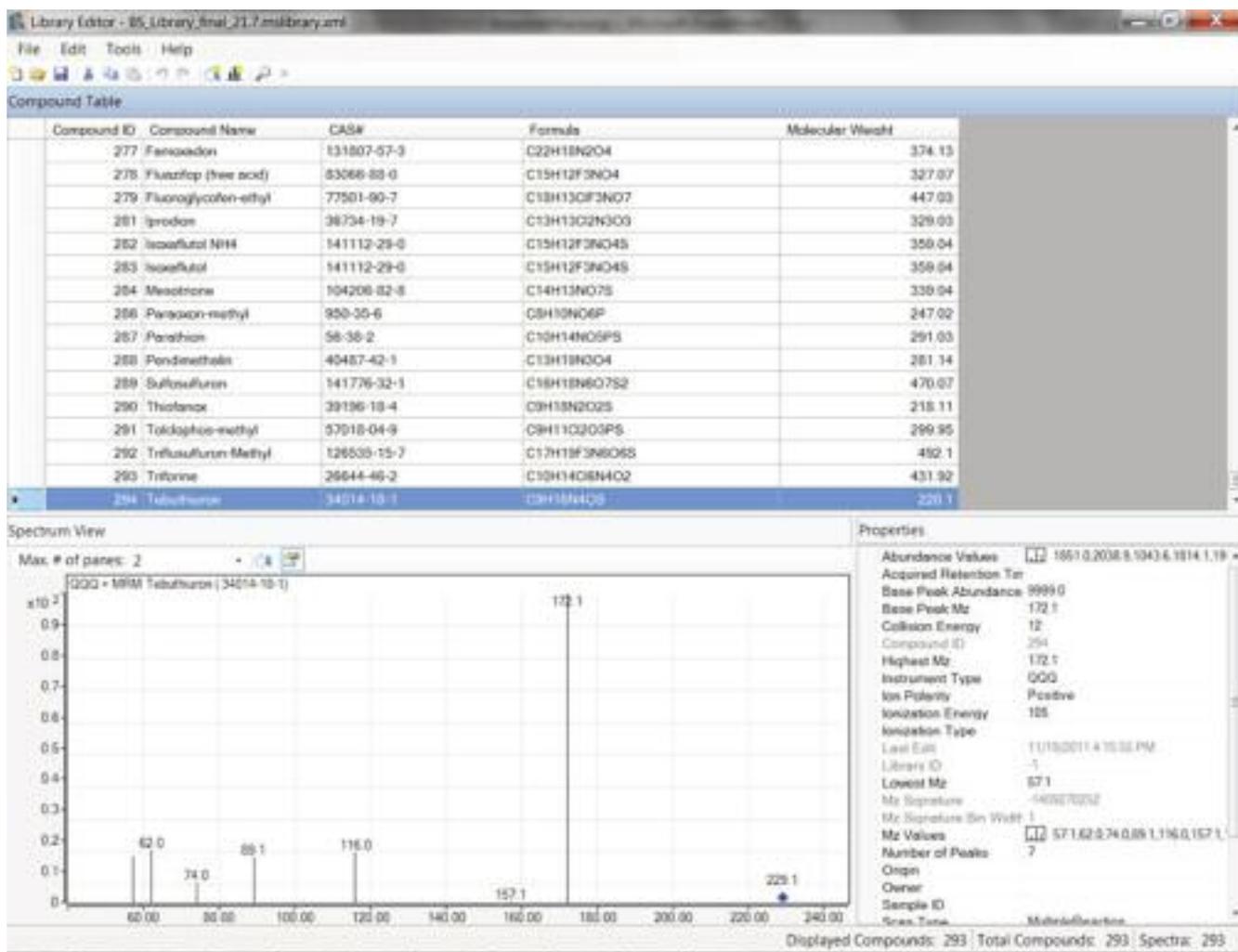


图 2. 通过 MassHunter 定量分析谱库编辑器显示的触发式 MRM 谱库的部分截图以及正离子 ESI 模式下采集到的特丁噻草隆的触发式 MRM 质谱图

## 触发式 MRM 采集方法的建立和优化

使用 UHPLC 和触发式 MRM 采集模式建立了一种覆盖了全极性范围和最重要化合物类别的 120 种相关农药的分析方法。优化色谱条件可以完全分离具有同质 transition 的农药组分，同时对安捷伦喷射流参数进行优化使目标化合物获得最高的丰度。依据化合物的不同，分别选择  $[M+H]^+$  或  $[M+NH_4]^+$  作为母离子。定义全保留时间窗口下采集到的丰度最高的两个碎片离子为主要 transition，分别作为定量离子和定性离子。通常将定量 transition 作为触发 transition，附加的 4 到 8 个碎片离子的数据依赖型触发阈值对应于最低校准样品响应值的 50%，依化合物不同响应值为 100 到 5000 不等。采用该方法，即使在最低的加标浓度下，仍能在所有基质中采集到大多数化合物的子离子谱图。

图 3 为柠檬萃取液加标 120 多种农药至浓度为  $10 \mu\text{g}/\text{kg}$  后，采用触发式 MRM 模式，设置 2 个主要 transition 和多达 8 个附加确证 transition（未显示）得到的谱图。

虽然主要 transition 是在整个观察窗内采集并用于定量的，但只有触发 transition 强度超过给定阈值时，附加 transition 才会有定数量的重复测定。触发式 MRM 作为动态 MRM 算法的一部分，可以在整个过程中保持主要 transition 循环时间的恒定。因此，附加 transition 的采集并不影响定量或者定性的色谱峰形和信号强度。

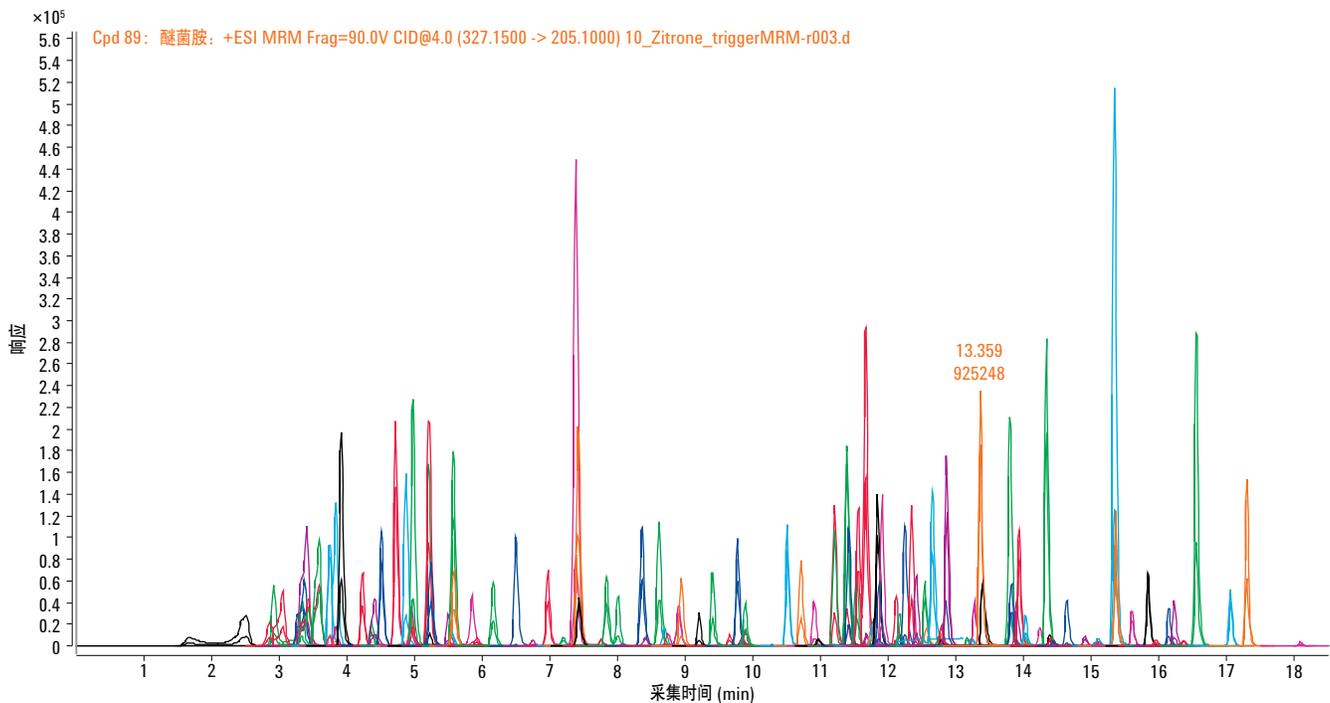


图 3. 采用触发式 MRM 采集的 120 种农药加标至  $10 \mu\text{g}/\text{kg}$  的柠檬萃取液主要 transition 的谱图

图 4A 为加标敌草胺浓度为  $1\mu\text{g}/\text{kg}$  的柠檬萃取液在触发式 MRM 模式下采集到的未平滑 MRM 谱图。虽然敌草胺在谱图中最拥挤的区域出峰，该区域峰顶部有 34 个主要 transition 和 86 个附加确证 transition，但敌草胺的定量离子峰和第一个定性离子峰的峰形并未受到影响。即使敌草胺在柠檬中的浓度低至最大残留限量 (MRL) 50 倍时，观察到的两个主要 transition 的峰面积比值仍与预期值基本一致。加标敌草胺浓度分别为  $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $10\mu\text{g}/\text{kg}$  和  $100\mu\text{g}/\text{kg}$  的柠檬提取物的触发式 MRM 谱图见图 4B。在不同的浓度水平下，谱图中不同质荷比碎片离子的丰度比重复性非常好，5 次重复进样的 RSD 小于 5%。因此，即使对于

最低的加标浓度，参考谱库匹配得分仍大于 90。此结果通过测试其它几种农药同样得到了验证。由于使用每个 transition 优化的碰撞能量和合理的长驻留时间改善了离子统计，即使在很低的浓度下，通过触发式 MRM 也可采集到高质量谱图。

对于标准动态 MRM，不同样品 transition 的平均驻留时间是一致的。当数据依赖型触发加入方法后，确证离子触发时会降低主要 transition 的驻留时间。这对于不同的样品或者校准标准液可能不同。但最重要的是，这种平均驻留时间上的差异不会反映到峰面积上，也不会对定量结果和重现性产生影响。

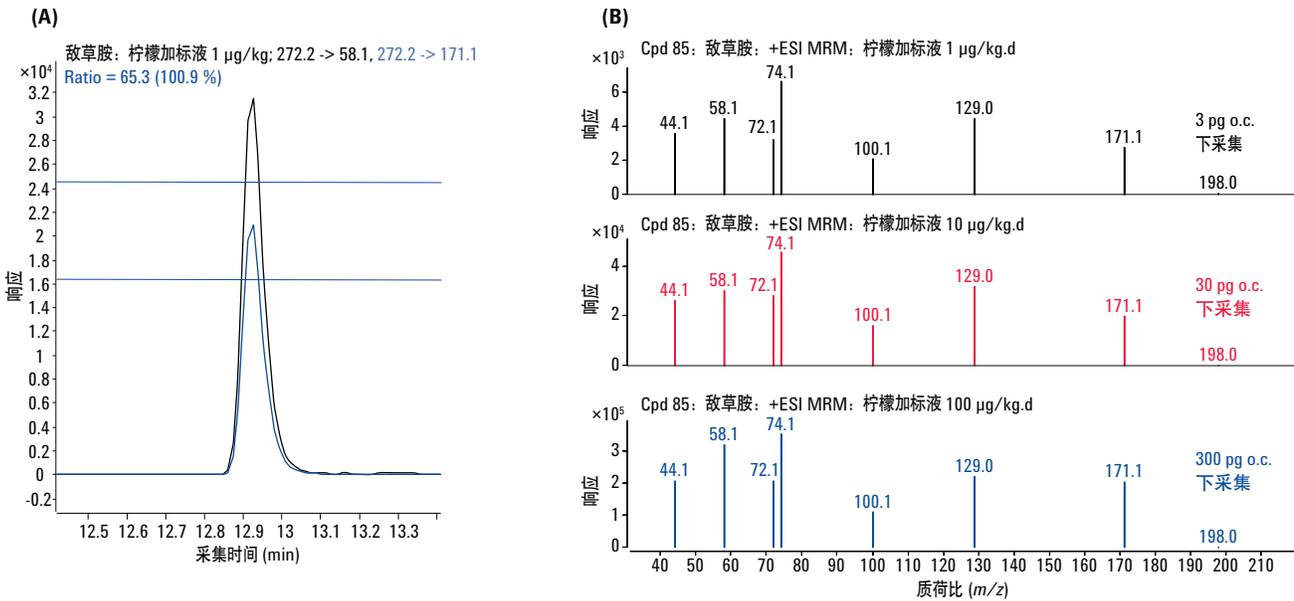


图 4. 加标敌草胺浓度为  $1\mu\text{g}/\text{kg}$  柠檬萃取液的主要 transition 的 MRM 谱图 (A) 和柠檬敌草胺加标萃取液的触发式 MRM 谱图 (B), 加标浓度分别为  $1\mu\text{g}/\text{kg}$  (黑)、 $10\mu\text{g}/\text{kg}$  (红) 和  $100\mu\text{g}/\text{kg}$  (蓝)

为了验证这个观点，将动态 MRM 方法和触发式 MRM 方法进行对比，同时分析一个复杂的标准（几乎代表了各种最坏的情况）。图 5 为涕灭威在动态 MRM 模式 (A) 和触发式 MRM 模式 (B) 下的校准曲线，涕灭威是一种在 EURL “Check-your-scope” 排名非常高的农药。涕灭威的 transition 在动态 MRM 方法中的平均驻留时间为 44 ms。相比较而言，因为此峰处所有共流出农药的子离子均被触发，涕灭威在触发式 MRM 方法中主要 transition 的驻留时间仅为 12 ms。不过，两种方法的校准性能和相关系数几乎一致。

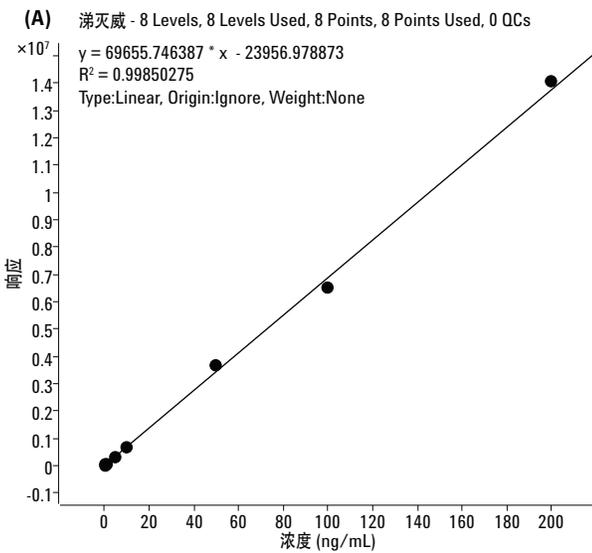


图 6 对所有目标农药在动态 MRM 和触发 MRM 下采集曲线的斜率进行了比较。两种模式下的斜率密切相关，曲线斜率为 0.9987，相关系数  $R^2=0.9975$ 。这表明，在所有浓度水平下，不同响应的化合物在两种采集模式下得到的峰面积具有很好的一致性。97% 目标化合物的斜率偏差小于 20%，这样就允许用动态 MRM 下的校准曲线对触发式 MRM 采集的样品进行定量分析。

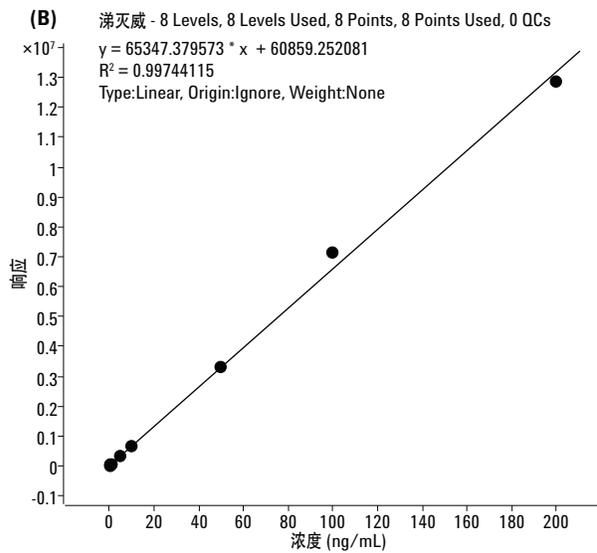


图 5. 农药涕灭威在动态 MRM (A) 和触发式 MRM (B) 两种模式下的校准曲线

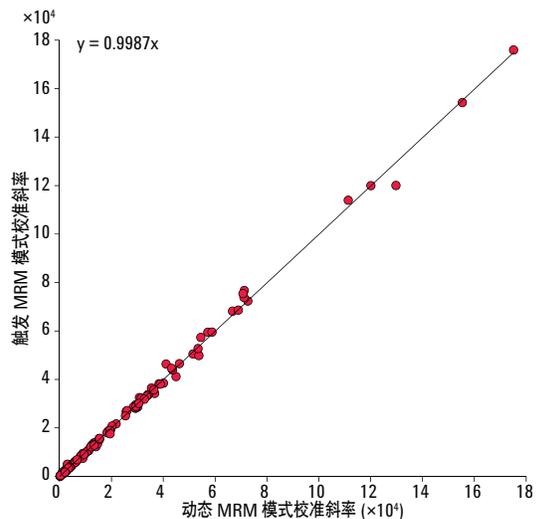


图 6. 方法涉及所有化合物的触发式 MRM 校准曲线斜率和动态 MRM 校准曲线斜率的比较。根据化合物不同确定 7 点校准曲线的线性范围，在两种采集模式下对相应校准点进行比较

## 不同基质中农药定量分析的触发式 MRM 方法室内验证

方法性能指标包括线性工作范围、定量限和重复性。针对西红柿、生姜、黄春菊、绿茶和柠檬的加标 QuEChERS 萃取液评估其基质效应。验证实验遵循 SANCO/12495/2011 的指南进行。

触发式 MRM 方法的 LOQ 规定为定量 transition 的信噪比为 10:1 (峰峰噪音算法, 基于信号高度), 所有目标物的 LOQ 均低于 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。超过 100 种浓度低于 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的化合物可以在所有测试的基质中定量。图 7 中的直方图为溶剂标准溶液和柠檬萃取液的 LOQ 对比图。正如预计的那样, 由于基质效应的影响, 柠檬萃取液的 LOQ 略高。生姜、绿茶和黄春菊基质中的 LOQ 分布类似。

对所有基质 3 个不同的加标浓度 ( $n = 5$ ) 进行重复性测试, 当加标浓度为 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  时, 超过 80% 的化合物在任何基质中的相对标准偏差均低于 5%。在此加标浓度下, 即使是柠檬基质, 仍有 95% 的化合物的 RSD 低于 20%, 顺利通过 SANCO 的验证规定。

通过对比目标化合物在溶剂标准液和加标基质中的不同响应, 对基质的抑制和增强效应进行评估。根据不同的样品, 有 90% 的目标物会受到基质效应的影响。虽然观察到主要以信号抑制为主, 但对于生姜基质, 超过 10% 的目标化合物出现信号增强, 响应比溶剂标准液响应的 120% 还高。使用基质匹配的校准, 每个基质中的目标化合物都能得到准确定量。

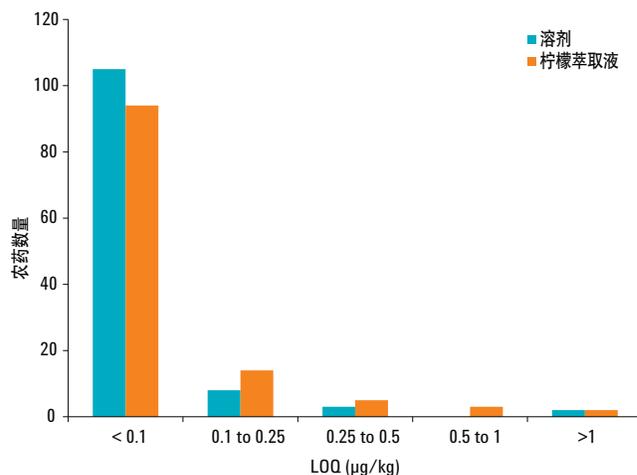


图 7. 120 种农药在溶剂标准液和在加标柠檬萃取液中的 LOQ 对比。结果按 5 个浓度范围划分, 分别以直方图的形式表示

## 实际样品分析

在验证实验过程中，还观察到几种基质 - 农药组合里的天然成分和目标农药具有高度的相似性，比如有相同的母离子和碎片离子，以及相似的保留时间。如果只根据定性离子和定量离子的比值判断，很可能会出现假阳性结果，这个问题对于高通量分析尤其严重。使用触发式 MRM 的关键优势在于可以采集额外的信息，并将该化合物的谱图与参考谱库里保存的谱图进行对比，实现明确的验证。

图 8 分别为菊花茶 QuEChERS 萃取液中的天然成分 (A) 和除草剂特丁噻草隆 (B) 溶剂标准液 (10 ng/mL) 的色谱图和触发式 MRM 采集到的质谱图，两者具有相似的保留时间和定性/定量离子比值。图中还将触发式 MRM 质谱图与参考谱库的标准谱图进行对比。当溶剂标准液 (B) 的谱图与标准谱图完美匹配，匹配得分达到 100.0 时，与定量 transition 相比，菊花茶萃取液中的天然成分 (A) 在低质量碎片 57.1、62.0、74.0 和 89.1 (红色箭头) 处的丰度较低，而在 116.0 和 157.1 (绿色箭头) 处的丰度又较高。

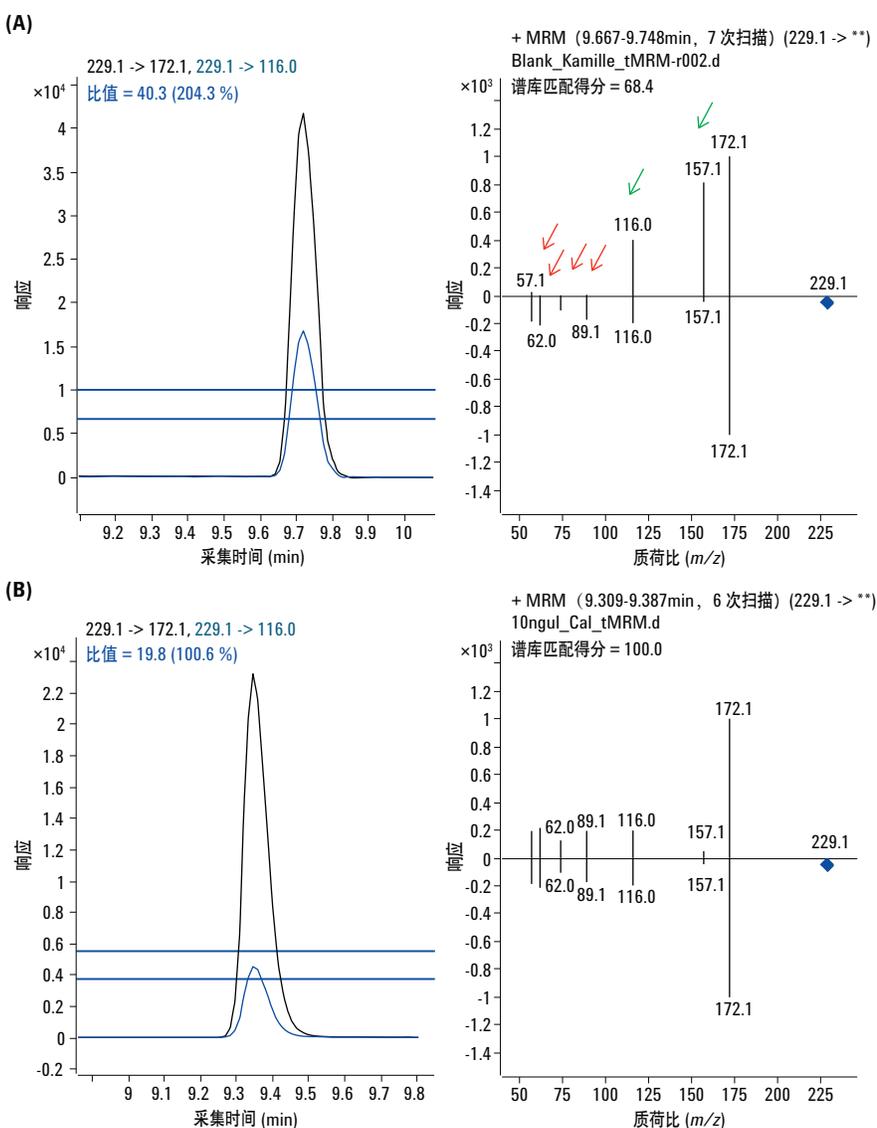


图 8. 菊花茶中的天然成分 (A) 和除草剂特丁噻草隆 (B) 的色谱图和触发式 MRM 质谱图。质谱图与特丁噻草隆的参考谱图对比显示

结果的匹配得分仅为 68.4。从验证结果来看，阳性鉴定的匹配得分至少要在 75.0 以上。

如果没有这些附加定性过滤信息就会存在风险，即菊萃茶取液中的该天然成分迟早会被当做特丁噻草隆。在本例中，结果可能就是 0.67 mg/kg，远远高于 MRL 规定的 0.01 mg/kg 的限量。

在多个被测试的基质 - 农药组合中，菊花茶萃取液中的特丁噻草隆仅是基质成分容易混淆为农药的实例之一。表 4 汇总了不同样品和相应的可疑目标物，以及与谱库的匹配得分。在高通量分析中，这些干扰可能会造成假阳性结果。通过附加定性信息如离子谱图和需要的最小参考谱库匹配得分，都可以帮助避免报告错误的结果。

表 4. 基质中化合物的参考谱库匹配得分表现出与目标农药高度类似

农药	基质	参考谱库匹配得分	
		目标化合物	基质干扰
敌敌畏	柠檬	94.5%	78.1%
甲基噻吩磺隆	绿茶	96.6%	71.5%
吡蚜胺	生姜	99.8%	55.9%
特丁噻草隆	春黄菊	97.8%	58.0%
抑霉唑	春黄菊	99.8%	58.1%
特丁津	春黄菊	99.6%	82.1%

表 5. 触发式 MRM 方法中包括的各化合物的主要 transition 和附加确证离子的数量

化合物名称	CAS 号	母离子种类	主要 transition	附加确证离子
乙酰甲胺磷	30560-19-1	[M+H] <sup>+</sup>	184.0 → 143.0; 184.0 → 49.1	6
啶虫脒	135410-20-7	[M+H] <sup>+</sup>	223.0 → 126.0; 223.0 → 90.1	4
苯草醚	74070-46-5	[M+H] <sup>+</sup>	265.0 → 182.1; 265.0 → 218.0	5
涕灭威	116-06-3	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	208.1 → 116.2; 208.1 → 89.1	7
涕灭威砒	1646-88-4	[M+H] <sup>+</sup>	223.0 → 86.1; 223.0 → 76.1	7
涕灭威亚砒	1646-87-3	[M+H] <sup>+</sup>	207.1 → 131.9; 207.1 → 89.1	7
禾草灭	55634-91-8	[M+H] <sup>+</sup>	324.2 → 178.1; 324.2 → 234.1	6
啶嘧磺隆	120923-37-7	[M+H] <sup>+</sup>	370.0 → 261.1; 370.0 → 218.1	4
双甲脒	33089-61-1	[M+H] <sup>+</sup>	294.2 → 163.1; 294.2 → 122.1	5
谷硫磷乙酯	2642-71-9	[M+H] <sup>+</sup>	346.0 → 77.0; 346.0 → 132.2	6
联苯胍酯	149877-41-8	[M+H] <sup>+</sup>	301.1 → 198.2; 301.1 → 170.1	6
双草醚	125401-75-4	[M+H] <sup>+</sup>	431.1 → 275.1; 431.1 → 413.1	6
联苯三唑醇	55179-31-2	[M+H] <sup>+</sup>	338.2 → 99.1; 338.2 → 269.1	5
除草定	314-40-9	[M+H] <sup>+</sup>	261.0 → 205.0; 261.0 → 187.9	4
丁酮威	34681-10-2	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	208.1 → 116.1; 208.1 → 75.0	7
丁酮威亚砒	34681-24-8	[M+H] <sup>+</sup>	207.1 → 132.0; 207.1 → 75.0	4
丁酮砒威	34681-23-7	[M+H] <sup>+</sup>	223.0 → 106.1; 223.0 → 166.1	6
丁酮砒威	3766-60-7	[M+H] <sup>+</sup>	237.1 → 84.1; 237.1 → 53.1	6
硫线磷	95465-99-9	[M+H] <sup>+</sup>	271.1 → 159.0; 271.1 → 97.0	5
甲萘威	63-25-2	[M+H] <sup>+</sup>	202.1 → 145.1; 202.1 → 127.1	6
多菌灵	10605-21-7	[M+H] <sup>+</sup>	192.1 → 160.1; 192.1 → 105.0	5
丁硫克百威	55285-14-8	[M+H] <sup>+</sup>	381.2 → 118.1; 381.2 → 76.0	5
氟啶脲	71422-67-8	[M+H] <sup>+</sup>	539.9 → 158.0; 539.9 → 383.0	4
氯草敏	1698-60-8	[M+H] <sup>+</sup>	222.0 → 77.0; 222.0 → 87.9	6
氯磺隆	64902-72-3	[M+H] <sup>+</sup>	358.0 → 141.1; 358.0 → 167.0	5
异恶草酮	81777-89-1	[M+H] <sup>+</sup>	240.1 → 223.1; 240.1 → 44.1	6
三环锡	13121-70-5	[M+H-H <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	369.2 → 205.0; 369.2 → 287.0	2
霜脲氰	57966-95-7	[M+H] <sup>+</sup>	199.1 → 128.0; 199.1 → 110.9	2
DEET	134-62-3	[M+H] <sup>+</sup>	192.1 → 91.1; 192.1 → 119.0	4
甜菜安	13684-56-5	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	318.1 → 182.1; 318.1 → 108.0	8
敌敌畏	62-73-7	[M+H] <sup>+</sup>	221.0 → 109.0; 221.0 → 127.0	3
禾草灵	51338-27-3	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	358.1 → 281.0; 358.1 → 120.0	6
百治磷	3735-78-3	[M+H] <sup>+</sup>	238.1 → 72.1; 238.1 → 112.1	6
除虫脲	35367-38-5	[M+H] <sup>+</sup>	311.0 → 158.0; 311.0 → 141.0	2
乐果	60-51-5	[M+H] <sup>+</sup>	230.0 → 125.0; 230.0 → 198.8	4
醚菌胺	149961-52-4	[M+H] <sup>+</sup>	327.2 → 205.1; 327.2 → 116.0	4
烯啶醇	83657-24-3	[M+H] <sup>+</sup>	326.1 → 70.0; 326.1 → 159.0	7
2,3-二巯基丁二酸 (DMSA)	4710-17-2	[M+H] <sup>+</sup>	201.0 → 92.1; 201.0 → 65.1	5
苯硫磷酯 (EPN)	2104-64-5	[M+H] <sup>+</sup>	324.0 → 156.9; 324.0 → 296.1	5
乙硫苯威	29973-13-5	[M+H] <sup>+</sup>	226.1 → 107.0; 226.1 → 77.0	5
乙硫苯威砒	53380-23-7	[M+H] <sup>+</sup>	258.0 → 201.0; 258.0 → 106.9	6
乙硫苯威亚砒	53380-22-6	[M+H] <sup>+</sup>	242.1 → 185.0; 242.1 → 107.0	6
乙硫磷	563-12-2	[M+H] <sup>+</sup>	385.0 → 199.1; 385.0 → 142.8	6
乙啶酚	23947-60-6	[M+H] <sup>+</sup>	210.2 → 140.1; 210.2 → 43.1	6

表 5. 触发式 MRM 方法中包括的各化合物的主要 transition 和附加确证离子的数量 (续表)

化合物名称	CAS 号	母离子种类	主要 transition	附加确证离子
乙氧咪草黄	26225-79-6	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	304.1 → 121.1; 304.1 → 161.2	5
醚菊酯	80844-07-1	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	394.2 → 177.3; 394.2 → 107.1	2
啞蟊醚	120928-09-8	[M+H] <sup>+</sup>	307.2 → 57.1; 307.2 → 161.1	5
苯丁锡	13356-08-6	[M+H-C <sub>30</sub> H <sub>40</sub> SnO] <sup>+</sup>	519.2 → 91.1; 519.2 → 196.9	6
环酰菌胺	126833-17-8	[M+H] <sup>+</sup>	302.1 → 97.1; 302.1 → 55.1	4
仲丁威	3766-81-2	[M+H] <sup>+</sup>	208.1 → 95.0; 208.1 → 77.1	3
啞蟊酯	111812-58-9	[M+H] <sup>+</sup>	422.2 → 366.2; 422.2 → 107.0	6
啞蟊酯	239110-15-7	[M+H] <sup>+</sup>	382.9 → 172.9; 382.9 → 144.9	6
氯氟吡氧乙酸	69377-81-7	[M+H] <sup>+</sup>	255.0 → 209.1; 255.0 → 181.1	7
弗勒泰蒙	96525-23-4	[M+H] <sup>+</sup>	334.1 → 178.1; 334.1 → 247.1	6
安硫磷	2540-82-1	[M+H] <sup>+</sup>	258.0 → 199.0; 258.0 → 125.0	5
安硫磷	3878-19-1	[M+H] <sup>+</sup>	185.1 → 157.1; 185.1 → 156.0	6
己啞醇	79983-71-4	[M+H] <sup>+</sup>	314.1 → 70.1; 314.1 → 159.0	7
啞蟊酮	78587-05-0	[M+H] <sup>+</sup>	353.1 → 168.1; 353.1 → 227.9	4
抑霉啞	35554-44-0	[M+H] <sup>+</sup>	297.1 → 159.0; 297.1 → 201.0	6
茛虫威	144171-61-9	[M+H] <sup>+</sup>	528.1 → 150.0; 528.1 → 203.0	6
种菌啞	125225-28-7	[M+H] <sup>+</sup>	334.1 → 70.0; 334.1 → 125.0	4
异菌脲	36734-19-7	[M+H] <sup>+</sup>	330.0 → 245.0; 330.0 → 56.1	4
啞菌胺	110235-47-7	[M+H] <sup>+</sup>	224.1 → 77.0; 224.1 → 42.1	5
甲基磷草酮	104206-82-8	[M+H] <sup>+</sup>	340.0 → 228.0; 340.0 → 104.0	3
苯噻草酮	41394-05-2	[M+H] <sup>+</sup>	203.1 → 77.0; 203.1 → 175.1	4
甲胺磷	10265-92-6	[M+H] <sup>+</sup>	142.0 → 94.0; 142.0 → 125.0	5
甲硫威	2032-65-7	[M+H] <sup>+</sup>	226.1 → 121.1; 226.1 → 169.0	6
甲硫威砒	2179-25-1	[M+H] <sup>+</sup>	258.0 → 122.0; 258.0 → 201.1	7
甲硫威亚砒	2635-10-1	[M+H] <sup>+</sup>	242.1 → 185.1; 242.1 → 122.1	7
灭多威	16752-77-5	[M+H] <sup>+</sup>	163.1 → 88.0; 163.1 → 106.0	3
甲氧虫酰肼	161050-58-4	[M+H] <sup>+</sup>	369.2 → 149.0; 369.2 → 313.1	6
灭草隆	19937-59-8	[M+H] <sup>+</sup>	229.0 → 72.1; 229.0 → 46.1	5
久效磷	6923-22-4	[M+H] <sup>+</sup>	224.1 → 127.0; 224.1 → 193.0	6
灭草隆	150-68-5	[M+H] <sup>+</sup>	199.1 → 72.0; 199.1 → 46.1	2
腈菌啞	88671-89-0	[M+H] <sup>+</sup>	289.1 → 70.1; 289.1 → 125.1	2
敌草胺	15299-99-7	[M+H] <sup>+</sup>	272.2 → 58.1; 272.2 → 171.1	5
草不隆	555-37-3	[M+H] <sup>+</sup>	275.1 → 88.1; 275.1 → 57.1	5
呋酰胺	58810-48-3	[M+H] <sup>+</sup>	282.0 → 160.1; 282.0 → 148.1	6
氧乐果	1113-02-6	[M+H] <sup>+</sup>	214.0 → 125.0; 214.0 → 109.0	5
杀线威	23135-22-0	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	237.1 → 72.0; 237.1 → 90.0	4
甜菜宁	13684-63-4	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	318.1 → 136.0; 318.1 → 168.0	8
甲拌磷	298-02-2	[M+H] <sup>+</sup>	261.0 → 75.1; 261.0 → 199.0	3
裕必松	2310-17-0	[M+H] <sup>+</sup>	368.0 → 182.0; 368.0 → 110.9	3
亚胺硫磷	732-11-6	[M+H] <sup>+</sup>	318.0 → 160.0; 318.0 → 133.0	8
磷胺	13171-21-6	[M+H] <sup>+</sup>	300.0 → 127.1; 300.0 → 174.1	6
胡椒基丁醚	51-03-6	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	356.2 → 177.1; 356.2 → 119.1	2
抗蚜威	23103-98-2	[M+H] <sup>+</sup>	239.2 → 72.1; 239.2 → 182.1	4
脱甲基抗蚜威	30614-22-3	[M+H] <sup>+</sup>	225.1 → 72.1; 225.1 → 168.1	5

表 5. 触发式 MRM 方法中包括的各化合物的主要 transition 和附加确证离子的数量 (续表)

化合物名称	CAS 号	母离子种类	主要 transition	附加确证离子
甲基嘧啶磷	29232-93-7	[M+H] <sup>+</sup>	306.2 → 108.1; 306.2 → 164.1	4
霜霉威	24579-73-5	[M+H] <sup>+</sup>	189.2 → 102.0; 189.2 → 144.0	2
克螨特	2312-35-8	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	368.1 → 231.2; 368.1 → 175.2	3
残杀威	114-26-1	[M+H] <sup>+</sup>	210.1 → 168.1; 210.1 → 153.1	5
丙氧喹啉	189278-12-4	[M+H] <sup>+</sup>	373.0 → 331.0; 373.0 → 289.0	6
吡蚜酮	123312-89-0	[M+H] <sup>+</sup>	218.1 → 105.0; 218.1 → 51.0	2
啶斑肟	88283-41-4	[M+H] <sup>+</sup>	295.0 → 93.0; 295.0 → 66.1	4
噁霉胺	53112-28-0	[M+H] <sup>+</sup>	200.1 → 82.0; 200.1 → 106.9	8
甲氧磺草胺	422556-08-9	[M+H] <sup>+</sup>	435.1 → 195.1; 435.1 → 124.1	4
精噻禾灵乙酯	76578-14-8	[M+H] <sup>+</sup>	373.1 → 271.2; 373.1 → 255.1	6
玉噁黄隆	122931-48-0	[M+H] <sup>+</sup>	432.1 → 182.0; 432.1 → 324.9	6
鱼藤酮	83-79-4	[M+H] <sup>+</sup>	395.0 → 213.1; 395.0 → 192.1	6
多杀菌素 (多杀菌素 A)	131929-60-7	[M+H] <sup>+</sup>	732.5 → 142.1; 732.5 → 98.1	4
螺乙酯	203313-25-1	[M+H] <sup>+</sup>	374.2 → 216.1; 374.2 → 302.2	6
螺噁茂胺	118134-30-8	[M+H] <sup>+</sup>	298.3 → 144.1; 298.3 → 100.1	3
磺隆	141776-32-1	[M+H] <sup>+</sup>	471.0 → 211.0; 471.0 → 261.0	5
吡蚜胺	119168-77-3	[M+H] <sup>+</sup>	334.2 → 117.0; 334.2 → 145.0	7
特丁噁草隆	34014-18-1	[M+H] <sup>+</sup>	229.1 → 172.1; 229.1 → 116.0	5
特丁津	5915-41-3	[M+H] <sup>+</sup>	230.1 → 174.1; 230.1 → 104.0	4
氟醚唑	112281-77-3	[M+H] <sup>+</sup>	372.0 → 70.0; 372.0 → 159.0	5
噻菌灵	148-79-8	[M+H] <sup>+</sup>	202.0 → 175.0; 202.0 → 131.0	6
噻虫啉	111988-49-9	[M+H] <sup>+</sup>	253.0 → 126.0; 253.0 → 186.0	3
噻虫嗪	153719-23-4	[M+H] <sup>+</sup>	292.0 → 211.1; 292.0 → 181.1	4
噻吩磺隆	79277-27-3	[M+H] <sup>+</sup>	388.0 → 167.0; 388.0 → 205.0	5
久效威砒	39184-59-3	[M+H] <sup>+</sup>	251.1 → 57.0; 251.1 → 75.9	5
久效威亚砒	39184-27-5	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	252.1 → 104.0; 252.1 → 57.2	6
苯唑草酮	210631-68-8	[M+H] <sup>+</sup>	364.1 → 334.1; 364.1 → 125.1	4
三甲苯草酮	87820-88-0	[M+H] <sup>+</sup>	330.2 → 216.1; 330.2 → 244.1	7
敌百虫	52-68-6	[M+H] <sup>+</sup>	256.9 → 109.0; 256.9 → 221.0	2
抗倒酯	95266-40-3	[M+H] <sup>+</sup>	253.1 → 69.1; 253.1 → 207.1	3
灭菌唑	131983-72-7	[M+H] <sup>+</sup>	318.1 → 70.2; 318.1 → 125.2	2
苯酰菌胺	156052-68-5	[M+H] <sup>+</sup>	336.0 → 187.0; 336.0 → 159.0	4

## 结论

食品中农药的假阳性鉴定是官方质控实验室关注的重点问题。在基质 - 农药组合存在的情况下，如果只采集 2 个 MRM transition，就会出现假阳性的结果。在本文中，我们将触发式 MRM 与谱库参考谱图检索相结合，有效地消除了潜在的假阳性结果。因为每个 MRM transition 都使用了优化的碰撞能量和合理的驻留时间，即使在非常低的浓度下和复杂的基质中，触发式 MRM 仍可以生成最可靠的化合物谱图。良好的线性校准曲线和重复测定优异的精密度表明，在触发了附加 transition 进行定性的情况下，定量结果未受到丝毫影响。触发式 MRM 只需通过一次分析运行，即可实现对大量农药准确的定性和定量。仅通过使用一个主要 transition，触发式 MRM 能将多残留方法分析化合物的范围扩大为目前以定量和定性 transition 为鉴定依据方法的 2 倍。

该开发的数据库和谱库作为安捷伦触发式 MRM 谱库和数据库的一部分可供使用。其中包括了 600 多种农药的 transition、分析条件和谱图，安捷伦产品部件号为 G1733CA，或者部件号 G1733BA 产品，其中还包括了色谱柱、综合农药混合标准品和相关的应用支持。

## 参考文献

1. Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council of 23 February 2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin (including amendments as of 18 March 2008) and complying with regulation (EC) 1107/2009.
2. European Guideline SANCO/12495/2011: Method validation and quality control procedures for pesticides residue analysis in food and feed.
3. 使用安捷伦 6460 三重四极杆液质联用仪对春黄菊和生姜提取物中的农药残留进行定性和定量分析，安捷伦应用简报，出版号：5990-8460CHCN
4. 触发多反应监测 (tMRM)：使用安捷伦三重串联四极杆液质联用系统同时进行定量和确认分析，安捷伦技术综述，2011 年，出版号：5990-8461CHCN
5. European Committee for Standardization, EN 15662:2008.
6. 使用安捷伦三重四极杆液质联用系统和农药动态多反应监测 (MRM) 数据库软件进行农药多残留的筛选和鉴别，技术报告，出版号：5990-4255CHCN

## 更多信息

这些数据代表了典型的结果。有关我们产品和服务的更多信息，请访问 [www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)

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

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、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，2012

中国印刷

2012 年 11 月 16 日

5991-1183CHCN



**Agilent Technologies**