

采用 LC/TOF MS 系统分子特征数据库检索 进行食品中 600 种农药的自动筛选

应用

食品安全

作者

E. Michael Thurman and Imma Ferrer
Pesticide Residue Research Group
University of Almería
04120 Almería,
Spain

Jerry A. Zweigenbaum
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808-1610
USA

摘要

通过液相色谱/飞行时间质谱在正离子模式下全扫描精确质谱测定，建立了分子特征(MF)算法进行数据库检索的方法用于筛选食品提取物中 600 种农药及其降解产物。数据库检索工作包括收集的未经离子提取的以真实化合物的色谱峰检测和鉴定的离子精确质量数，并且将它们与数据库中化合物的单一同位素的准确质量数进行比较。筛选标准包括： ± 5 ppm 精确质量窗口； ± 0.2 分钟保留时间窗口；最小峰面积计数 1000（信噪比约为 10:1）。检出限和保留时间是由 600 种化合物中的 100 种来确定，其中 34% 的化合物的检出限小于 0.01 mg/kg，95% 的化合物的检出限小于 0.5 mg/kg。与需要几小时到几天的手工方法相比，分子特征算法的优势在于它可以在几分钟内灵敏快速地筛选几百种化合物。

引言

农药污染的食品有可能威胁消费者的健康。现在欧盟立法保护胎儿、婴儿、儿童这些敏感的人群，将婴儿食品中农药含量限定在 0.01 mg/kg [1]。最大残留限量(MRLS)应该设定在尽可能最低的水平，其目的是使投放市场上的产品没有任何可检测到的残留物。然而，由于在水果和蔬菜的运输和储存中杀虫剂的使用，还有保护农作物时农药的使用，这个目标常常难以达到。

婴儿食品中农药含量的分析方法包括 GC/MS 和 LC/MS 法。在传统方法中，GC/MS 一直用于检测挥发性农药，尤其是含氯的杀虫剂和除草剂；而 LC/MS 一直用于检测极性较大的杀虫剂、除草剂和杀菌剂。GC/MS 方法依赖于全扫描和选择离子检测模式。最近，对 GC/MS 采用反向检索方法，使其在几分钟内检索庞大的 NIST 农药谱库成为可能，并且使 GC/MS 方法很容易地进行农药筛分。

遗憾的是，有两个原因使类似的反向检索的方法还不能用于 LC/MS。首先，单四极杆和三重串联四极杆的方法在全扫描模式下灵敏度较低，因此不能用于农药的筛选。第二，可以广泛采用的碰撞诱导解离裂解能量的标准化和保证重现性是困难的，不能得到通用的谱库。近来，LC/TOF MS 的使用表明，这种方法有足够的灵敏度和能力获得 < 1 ppm 精确质量的全扫描谱图并适用于数据库检索。



Agilent Technologies

实验部分

蔬菜和水果的提取(QuEChERS)

QuEChERS 是提取方法的首字母缩写，它代表着快速、简便、廉价、高效、耐用和安全。这种方法广泛地用于食品中农药的快速提取 [5,6]。

- 称取已预先混匀的样品 15 g 置于 40 ml 聚四氟乙烯离心管中，加入 15 ml 乙腈（含 1% 乙酸），加入 6 g 无水 MgSO_4 和 2.5 g $\text{NaAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ （三水合乙酸钠），涡漩混合器以最高速度或用手剧烈振摇 1 分钟，以 3700 rpm 离心 3 分钟
- 取 5 ml 上清液于 15 ml 试管中，加入 250 mg PSA 吸附剂和 750 mg MgSO_4 ，涡漩混合振摇 20 秒，然后在 3900 rpm 下离心 3 分钟。将 1.0 ml 上清液转移至 LC/MS 样品瓶中，然后将其蒸干，溶于 8/92 % 的甲醇/水中用于 LC/MSD TOF 和离子阱分析
- 水果和蔬菜提取物的直接分析通过进样 50 μL 完成
- 未污染的样品以同样的量直接用 LC/MS TOF 分析

LC/MS TOF 方法

- 液相色谱泵：Agilent 1100 二元泵，采用标准的安捷伦 1100 自动进样器（ALS），进样体积为 50 μL
- 色谱柱：ZORBAX Eclipse® XDB 4.6 x 150 mm C-8, 5 μm （部件号 993967-906）
- 流动相：A = 0.1% 甲酸水溶液，B = 乙腈，以 10% B 等度洗脱 5 分钟后开始梯度洗脱，在 30 分钟内线性洗脱至 100% B，流速：0.6 ml/min
- 安捷伦 6210 LC/MS TOF 双喷雾电喷雾源
- ESI 正离子模式，Vcap: 4000V
- 雾化器：40psig，干燥气 9 L/min，干燥气温度 300 °C
- 碰撞电压 190V，锥孔电压 60 V，Oct DC1 电压 37.5 V，OCT RF 电压 250 V

- 参比质量：质量范围(m/z) 121.0509 和 922.0098，分辨率：在 m/z 922.0098 下为 9500 ± 500 ， m/z 50-1000。参比喷雾器 2 以恒速运行

结果与讨论

分子特征数据库检索

使用 Excel 电子表格依据化合物分子式来计算化合物的理论单一同位素精确质量，并将其转为安捷伦 LC/ TOF MS 系统的 TOF 软件使用的 csv（逗号分割数值，comma separated values）格式，用于已知由正离子电喷雾离子化的 600 种农药的检索。csv 文件由被称为“公式数据库生成器”（Formula DB Generator）的 Excel 电子表格工具创建在 TOF 软件中。

当样品测定完成后，LC/ TOF MS 仪器自动检索 csv 文件，然后生成一个报告，列出在数据库中含有的化合物。检索标准包括 ppm 级的质量限度（5 ppm）、能得到的保留时间窗口（0.2 分钟）、最小峰高计数，也称作化合物阈（计数为 1000 或信噪比约为 10:1，或 0.06 % 相对量）、加合物的形成和中性碎片丢失。

检索程序被称作分子特征提取器，是安捷伦 LC/ TOF MS 仪器最近提供的软件（2005 年 11 月）。分子特征提取器从 LC/ MS TOF 数据文件中找出代表被测样品中实际存在的化合物的离子。噪音和其他无关的离子信号被排除。然后采用选定的标准在 csv 数据库中检索这些离子，将找到的来自全扫描谱图的离子进行列表后，逐一与数据库核对其准确度和保留时间。因为操作简单、检索迅速、分子特征提取方法更适用于大数据库。这样，对数据库中感兴趣的离子就不能象反向检索那样从样品文件中提取。这种处理过程对于以轮廓图模式采集的 LC/ TOF MS 数据文件需要更多的时间。

从这点来看，需要人工核对正向筛选中的匹配保留时间和碎片离子（如果存在）实现确认。样品可以在较高的碰撞电压下再分析以检验碎片离子并采用可靠的标准分析方法进行确认。

检出限

测定了几种基质中检出限（检出限），包括添加标准样品的食品样品和 100 种化合物的溶剂提取物（表 1）。这些化合物包括了在美国和欧洲常用来处理水果和蔬菜作物的主要的农药种类。检出限建立在误差小于 3 ppm 的精确质量和 A+1 和 A+2 同位素信号的校正精确质量的外观基础之上。在不同水平制订农药的检出限，包括欧洲控制婴儿食品时的 0.01 mg/kg，和对不同含量水平食品限制在 0.05，0.1 和 0.5 mg/kg，这都取决于农药和作物的种类。

33 种化合物的检出限等于或小于 0.01 ppm，60 种化合物（60 %）的检出限等于或小于 0.05 ppm。0.05 mg/kg 的检出限对于监测食品中被禁物质或被控化合物也是一个临界值。食品中 95 % 的化合物，其检出限等于或小于 0.2 mg/kg。对于食物中的检出限为 0.5 mg/kg，只发现 6 种化合物是不灵敏的。不灵敏的化合物有猛杀威（promecarb）和涕天威（aldicarb）。它们是两种氨基甲酸酯类农药，在电喷雾离子源中很容易裂解成碎片，使 MH⁺ 丰度变低。同样，马拉硫磷氧化产物（malathion oxon）和乐果（dimethoate）是两种容易裂解成碎片的有机磷农药。所以，这些化合物采用丰度更大的碎片离子而不是 MH⁺ 进行检测可以获得更高的灵敏度。例如，图 1 给

出了乐果的质谱图。MH⁺ 并不是谱图中的主要碎片离子，事实上其强度比 m/z 124.9819 的离子小 3~4 倍。

此外，必须考虑基质对检出限的两种影响。一为离子化抑制作用，二是来自质量数几乎相同的离子的干扰。

我们前期对食物中的一些农药进行的研究中已经发现了离子化抑制作用，食品包括胡椒，花椰菜，番茄，甜瓜，柑桔和柠檬，所以我们积累了那些基质是最难分析基质的经验。例如，图 2 给出无农药胡椒基质的色谱图，此为复杂的色谱图。经 MF 数据库检索从中鉴定出约 3000 种化合物，没有一个是农药。这些峰的信噪比是 10:1 或更高，而且存在极难从中搜寻离子的基质，尤其是在痕量水平。

向这些难分析基质的食品提取物中加入标准品，测定表 1 中所示化合物的检出限。图 3 给出了一个具体实例的打印报告。报告包括分子式、化合物名称、中性分子的精确分子量、以 mDa 和 ppm 为单位表示的误差、以分钟为单位的保留时间表示的误差和作用说明（明确地说明，如杀真菌剂）。化合物的 MH⁺ 质谱图和同位素信号也表示出来，这对于分子式的快速核对和部分确认非常有用，尤其是大部分农药会显示来自卤素和硫原子的 A+2 特征离子。

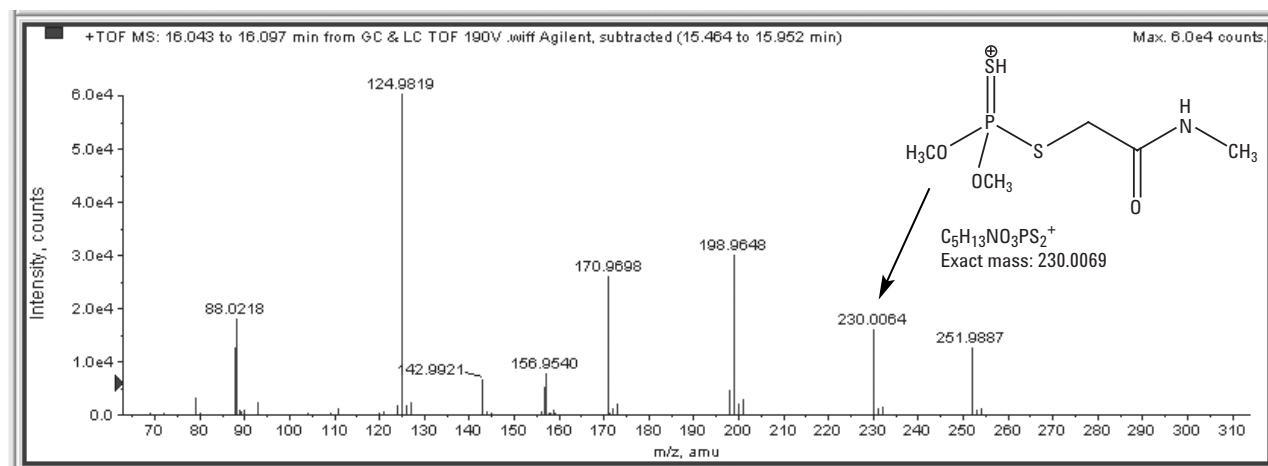


图 1 乐果质谱图，表明低强度的 MH⁺ 离子信号及使用特征碎片离子来降低某些低强度化合物检出限的重要性，本例为 m/z 124.9819 离子

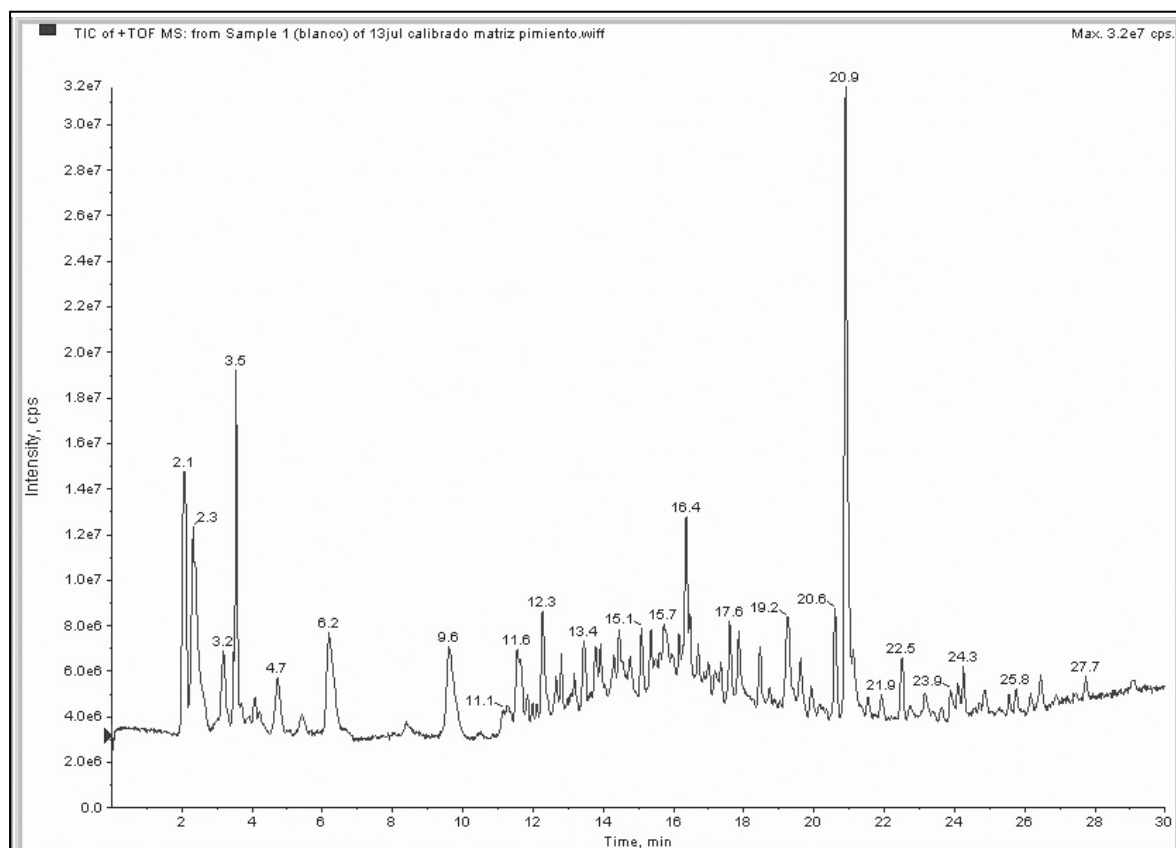


图2 空白胡椒样品表明了样品的复杂性，在信噪比大于或等于 10: 1 下，样品中检测出约 3000 个精确质量数的色谱峰

A+2 离子和经验式确认

由于 MF 数据库检索是一个筛选程序，所以在质量准确度窗口为 5 ppm 时，其分子式的确认是不准确的。分子式（不是分子鉴定）可以用化合物的 A+2 同位素信号来确认。例如，数据库中 600 个化合物的 70% 含有硫、氯或溴，会给出 A+2 离子的同位素峰。同位素的准确质量及其强度分布可以作为经验式的直接证据。这样，就大大提高了精确分子量筛选数据的可靠性，当然这还不能满足分子鉴定标准的要求，后面将进行讨论。

例如，梨提取物中抑霉唑（imazalil）的同位素信号（图 4）。MH⁺ 的质量数是 297.0564，换成同位素 ³⁷Cl 的质量数是 299.0533。质量数之差是 1.997 个质量单位。这是 ³⁷Cl 原子相对于被取代的 ³⁵Cl 之间的质量缺

失。而且，A+2 峰的强度约是 A 峰的 2/3，这与分子中含有两个氯原子相一致。这一点又被在 301.0503 处的 A+4 峰进一步证实。于是，这些数据对于抑霉唑分子式的确认是相当充分的（然而这不是为了鉴定抑霉唑）。质量准确度超过 0.8 mDa 或 2.7 ppm 的误差。这就是一个通过数据库筛选来确认农药分子式的实例。数据库报告打印出同位素信号和精确分子量帮助进行数据库检索的手动筛选。

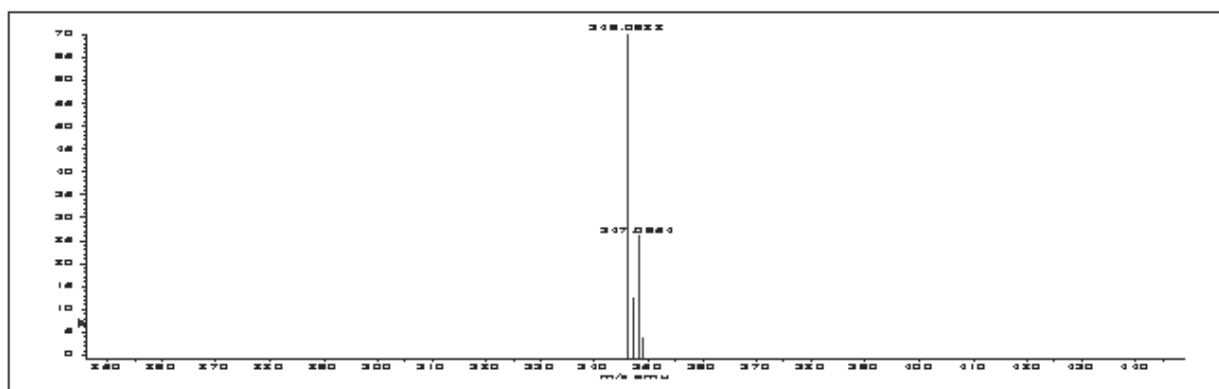
当分子式不含 A+2 原子（也就是仅含 C、H、N、O），用这种方法来确认分子式就不可能了。其原因是只有 A+1 峰存在，而且此峰是由分子中 ¹³C 信号主导产生，它不足以确认分子式。因此，对于这些农药（占数据库中约 30%）的确认需要更多的数据（具体来讲，保留时间或碎片离子）。

表1 食品中农药的检出限及其保留时间和精确质量数

化合物	保留时间	分子式	精确分子量	检出限 mg/kg
阿特拉津	21.1	C ₈ H ₁₄ N ₅ Cl	215.0938	0.005
亚托敏	24.0	C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₅	403.1168	0.005
苯霜灵	26.8	C ₂₀ H ₂₃ NO ₃	325.1678	0.005
噻嗪酮	27.2	C ₁₆ H ₂₃ N ₃ OS	305.1562	0.005
氟草津	22.0	C ₉ H ₁₃ N ₆ Cl	240.0890	0.005
二嗪磷	27.6	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	304.1010	0.005
苯醚甲环唑	26.4	C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₃	405.0647	0.005
苯醚甲环唑异构体	26.6	C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₃	405.0647	0.005
枯莠隆	21.3	C ₁₆ H ₁₈ N ₂ O ₃	286.1317	0.005
烯酰吗啉	22.2	C ₂₁ H ₂₂ NO ₄ Cl	387.1237	0.005
苯线磷	23.9	C ₁₃ H ₂₂ NO ₃ PS	303.1058	0.005
抑霉唑	18.0	C ₁₄ H ₁₄ N ₂ OCl ₂	296.0483	0.005
咪唑烟酸	20.0	C ₁₃ H ₁₅ N ₃ O ₃	261.1113	0.005
灭草隆	20.0	C ₁₇ H ₁₇ N ₃ O ₃	311.1270	0.005
氨基三嗪	21.2	C ₁₁ H ₁₉ N ₅ S	253.1361	0.005
氨基三嗪代谢物	17.0	C ₈ H ₁₅ N ₅ S	213.1048	0.005
异丙隆	21.3	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O	206.1419	0.005
甲苯达唑	18.2	C ₁₆ H ₁₃ N ₃ O ₃	295.0957	0.005
异丙甲草胺	25.6	C ₁₅ H ₂₂ NO ₂ Cl	283.1339	0.005
噻草酮	15.0	C ₈ H ₁₄ N ₄ OS	214.0888	0.005
烟嘧磺隆	17.0	C ₁₅ H ₁₈ N ₆ O ₆ S	410.1009	0.005
丙氯灵	23.0	C ₁₅ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₂	375.0308	0.005
扑草通	16.6	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ O	225.1590	0.005
扑草净	19.0	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ S	241.1361	0.005
扑灭津	23.0	C ₉ H ₁₆ N ₅ Cl	229.1094	0.005
丙环唑	25.9	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₂	341.0698	0.005
丙环唑异构体	26.1	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₂	341.0698	0.005
西玛津	18.8	C ₇ H ₁₂ N ₅ Cl	201.0781	0.005
多杀菌素 A	20.9	C ₄₁ H ₆₅ NO ₁₀	731.4608	0.005
多杀菌素 D	21.9	C ₄₂ H ₆₇ NO ₁₀	745.4765	0.005
螺环菌胺	19.6	C ₁₈ H ₃₅ NO ₂	297.2668	0.005
螺环菌胺异构体	19.7	C ₁₈ H ₃₅ NO ₂	297.2668	0.005
特丁津	23.4	C ₉ H ₁₆ N ₅ Cl	229.1094	0.005
特丁净	20.4	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ S	241.1361	0.005
特富灵	25.9	C ₁₅ H ₁₅ ClF ₃ N ₃ O	345.0856	0.005
啶虫脒	16.3	C ₁₀ H ₁₁ N ₄ Cl	222.0672	0.01
乙草胺	23.0	C ₁₄ H ₂₀ NO ₂ Cl	269.1183	0.01
甲草胺	23.0	C ₁₄ H ₂₀ NO ₂ Cl	269.1183	0.01
杀虫磺	21.4	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄ S ₄	431.0353	0.01
糠菌唑	23.8	C ₁₃ H ₁₂ N ₃ OCl ₂ Br	374.9541	0.01
甲萘威	21.3	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	201.0790	0.01
多菌灵	6.2	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂	191.0695	0.01
克百威	20.4	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	221.1052	0.01
杀螟丹	3.1	C ₇ H ₁₅ N ₃ O ₂ S ₂	237.0606	0.01
毒虫畏	26.5	C ₁₂ H ₁₄ Cl ₃ O ₄ P	357.9695	0.01
环唑醇	23.4	C ₁₅ H ₁₈ N ₃ OCl	291.1138	0.01
噻诺吗啉	2.9	C ₆ H ₁₀ N ₆	166.0967	0.01
去乙基阿特拉津	15.3	C ₆ H ₁₀ N ₅ Cl	187.0625	0.01
去异丙基阿特拉津	12.1	C ₅ H ₈ N ₅ Cl	173.0468	0.01
敌敌畏	20.0	C ₄ H ₇ Cl ₂ O ₄ P	219.9459	0.01
二甲吩草胺	24.0	C ₁₂ H ₁₈ NO ₂ SCl	275.0747	0.01
乐果	16.3	C ₅ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	228.9996	0.01
敌草隆	21.0	C ₉ H ₁₀ N ₂ OCl ₂	232.0170	0.01

表1 食品中农药的检出限及其保留时间和精确质量数 (续)

化合物	保留时间	分子式	精确分子量	检出限 mg/kg
乙硫苯威	21.8	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ S	225.0823	0.01
非草隆	15.7	C ₉ H ₁₂ N ₂ O	164.0950	0.01
吡虫啉	15.7	C ₉ H ₁₀ N ₅ O ₂ Cl	255.0523	0.01
环草定	19.2	C ₁₃ H ₁₈ N ₂ O ₂	234.1368	0.01
马拉硫磷 1	22.5	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	330.0361	0.01
马拉硫磷 2	16.9	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	330.0361	0.01
甲霜灵	21.2	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	279.1471	0.01
灭梭威	23.5	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ S	225.0823	0.01
灭多威	12.1	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₂ S	162.0463	0.01
灭草隆	18.7	C ₉ H ₁₁ ClN ₂ O	198.0560	0.01
烯啶虫胺	11.9	C ₁₁ H ₁₅ ClN ₄ O ₂	270.0884	0.01
恶霜灵	19.1	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₄	278.1267	0.01
丙溴磷	28.6	C ₁₁ H ₁₅ BrClO ₃ PS	371.9351	0.01
猛杀威	24.0	C ₁₂ H ₁₇ NO ₂	205.1341	0.01
毒草胺	25.6	C ₁₁ H ₁₄ NOCl	211.0764	0.01
苄草丹	29.0	C ₁₄ H ₂₁ NOS	251.1344	0.01
噻菌灵	3.7	C ₁₀ H ₇ N ₃ S	201.0361	0.01
噻虫啉	17.7	C ₁₀ H ₉ N ₄ SCl	252.0236	0.01
杀虫环	4.5	C ₅ H ₁₁ NS ₃	181.0054	0.01
涕灭威	18.5	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	190.0776	0.05
涕灭威亚砷	6.0	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₃ S	206.0725	0.05
恶虫威	20.6	C ₁₁ H ₁₃ NO ₄	223.0845	0.05
绿麦隆	20.4	C ₁₀ H ₁₃ N ₂ OCl	212.0716	0.05
氟噻草胺	25.0	C ₁₄ H ₁₃ N ₃ O ₂ SF ₄	363.0665	0.05
羟基阿特拉津	11.5	C ₈ H ₁₅ N ₅ O	197.1277	0.05
虱螨脲	28.6	C ₁₇ H ₈ N ₂ O ₃ Cl ₂ F ₈	509.9784	0.05
苯噻草酮	14.0	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O	202.0855	0.05
杀扑磷	24.1	C ₆ H ₁₁ N ₂ O ₄ PS ₃	301.9619	0.05
甲硫威砷	17.4	C ₁₁ H ₁₅ NO ₄ S	257.0722	0.05
禾草敌	24.8	C ₉ H ₁₇ NOS	187.1031	0.05
甲基对硫磷	27.3	C ₁₀ H ₁₄ NO ₅ PS	291.0330	0.05
敌稗	17.0	C ₉ H ₉ NOCl ₂	217.0061	0.05
三氯卡班	27.5	C ₁₃ H ₉ Cl ₃ N ₂ O	313.9780	0.05
涕灭威砷	11.4	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	222.0674	0.1
除草定	18.5	C ₉ H ₁₃ N ₂ O ₂ Br	260.0160	0.1
糠菌唑	23.8	C ₁₃ H ₁₂ N ₃ OCl ₂ Br	374.9541	0.1
丁草特	15.0	C ₁₁ H ₂₃ NOS	217.1500	0.1
除虫脲	25.0	C ₁₄ H ₉ N ₂ O ₂ ClF ₂	310.0321	0.1
氟虫脲	29.2	C ₂₁ H ₁₁ N ₂ O ₃ ClF ₆	488.0362	0.1
氟草烟	18.8	C ₇ H ₅ N ₂ O ₃ Cl ₂ F	253.9661	0.1
氟铃脲	27.2	C ₁₆ H ₈ N ₂ O ₃ Cl ₂ F ₆	459.9816	0.1
抑霉唑降解物	14.6	C ₁₁ H ₁₀ N ₂ OCl ₂	256.0170	0.1
异菌脲	25.4	C ₁₃ H ₁₃ N ₃ O ₃ Cl ₂	329.0334	0.1
二甲戊乐灵	25.0	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₄	281.1376	0.1
伏虫隆	27.6	C ₁₄ H ₆ N ₂ O ₂ Cl ₂ F ₄	379.9742	0.1
克菌丹	24.4	C ₉ H ₈ Cl ₃ NO ₂ S	298.9341	0.5
甲基陶斯松	28.2	C ₇ H ₇ Cl ₃ NO ₃ PS	320.8950	0.5
螺甲螨酯	23.0	C ₂₃ H ₃₀ O ₄	370.2144	0.5
杀虫单	3.2	C ₅ H ₁₃ NO ₆ S ₄	310.9626	0.5



Experiment#: 1 Compound#: 327 Mass : 345.08553

Mass Value = 345.08553							
#	Formula	Compound	Mass	Error (mDa)	* Error (ppm)	Ret. Time Error	Description
1	C ₁₅ H ₁₅ N ₃ OClF ₃	Triflumizol	345.08557	-0.04	-0.1	-0.02	

图3 分子特征数据库检索报告实例

水果和蔬菜的筛选

表2列出了6种水果和蔬菜及一种市售橄榄油样品经MF数据库检索600种农药得出的筛选结果。水果和蔬菜样品包括苹果、梨、番茄、土豆、胡椒和黄瓜均来自附近的菜店。经MF数据库检索从各样品色谱图中分别找出了617到2681个精确质量峰。样品基质复杂程度最低的是番茄，找到617个峰；而苹果是最复杂的样品，找到2681个峰。MF数据库检索的灵敏度设定为信噪比10:1。当信噪比由20:1降至10:1时，检索得到的峰个数几乎增加了一倍。选择10:1是为了得到化合物较强的同位素信号，即最大仪器灵敏度下得到的A+1和A+2同位素信号。

MF数据库检索的准确窗口设为5 ppm，以适应LC/TOF MS系统的质量准确度，LC/TOF MS一般< 3ppm，经常在1-2 ppm或小于0.3 mDa[3]。这些样品中，在5 ppm质量窗口下发现的农药数目在8-41之间变化。要包括在这种匹配中的唯一标准就是MH⁺离子数据库值在5 ppm以内。以一个例子说明，胡椒样品有2402个峰，但只有41个峰满足5 ppm准确窗口的要求（表2）。

这41个峰中仅有三个分子式通过正确地同位素信号和保留时间（对于不含A+2同位素的化合物）匹配得

到确认，这不仅得到数据库自动匹配的检验，而且还经数据文件手动确认。得到确认的农药结果在不同基质中各不相同：土豆样品中没有检测到，橄榄油中有一种，胡椒和番茄中有三种，黄瓜和苹果中有五种。水果和蔬菜样品中最常见的化合物是抑霉唑，它是一种收后杀菌剂。其他化合物包括有机磷农药，如二嗪磷、亚胺硫磷和马拉硫磷以及马拉硫磷氧化产物。在番茄样品中发现了控制害虫生长的稻虱净，以及甲基硫菌灵和多菌灵，两者都是杀菌剂。

最初用于此工作的软件不能处理饱和峰和高浓度的化合物，如梨样品中的抑霉唑和番茄样品中的稻虱净均不能正确鉴定。最新的软件能够处理饱和峰并对这些化合物进行正确的鉴定。

所有被证实样品的准确度，其平均绝对值为0.3 mDa或1.2 ppm，标准偏差分别为0.25 mDa或1.0 ppm（表2）。保留时间匹配的平均绝对值为0.07分钟，标准偏差为0.09分钟。这样，为数据库选择的窗口在满足质量准确度和保留时间准确度两个平均标准偏差值的基础上有足够的误差变化范围，以找到99%的化合物。

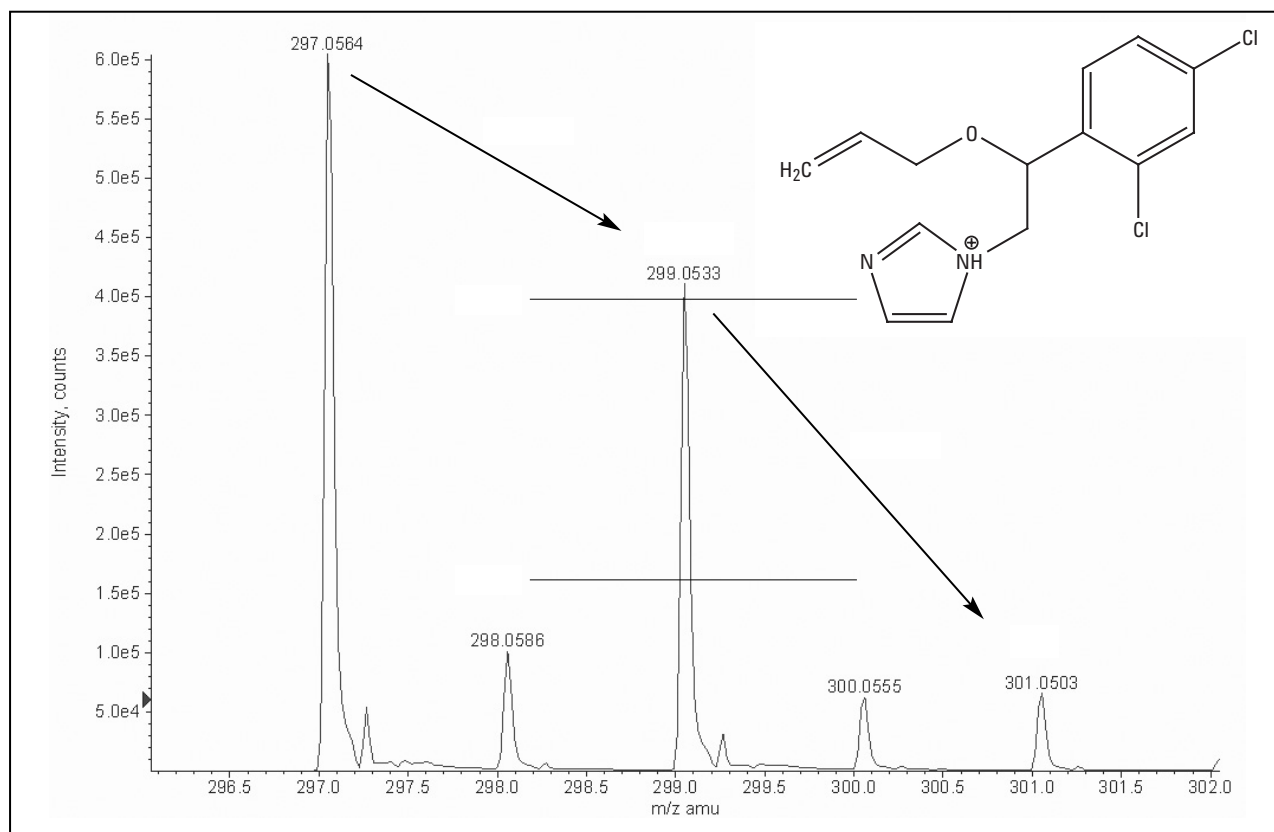


图4 梨提取物中 m/z 为 297 的离子的同位素峰和抑霉唑的结构

婴儿食物样品的筛选

在 100 种被检测的样品中，有 33 种符合婴儿食品的筛选限 0.01 mg/kg。由数据库检索发现的唯一化合物是梨、香蕉和柑桔浓汁中的痕量抑霉唑。而且，检查标签发现婴儿食品中还用了柠檬汁，这可能是抑霉唑的来源。然而，其浓度大约为 0.0005 mg/kg，远远低于婴儿食品安全限 0.01 mg/kg。抑霉唑很容易被筛选出来，因为它有两个氯原子的特征性 $A+2$ 同位素信号。鉴定误差是 0.3 mDa 或 1 ppm。数据库中的其他化合物没有检测到。由于碎片离子信号低且可能抑霉唑的浓度太低 (0.0005 mg/kg)，不可能对此样品进行确认。然而，依据婴儿食品健康限量 0.01 mg/kg 进行样品筛选是安全的。对大约 10 种不同的婴儿食品样品进行了筛选，包括各种品牌的蔬菜和水果。幸运的是，除了上面提到的抑霉唑外，在 MF 数据库检索中没有发现农药的阳性检测结果。婴儿食品样品是最难筛选的样品，因为其需要很低的检出限。

MF 数据库检索的不足与优势

数据库检索的唯一缺点是由于基质中的相互干扰或由于一些农药浓度过高造成的质量准确度的降低。这个问题可以通过加入第二种离子（碎片离子）或钠或氨加合离子很容易得到解决，从而排除基质的干扰，增强可信度。

LC/TOF MS 的精确质量数测定与数据库检索的结合应用是一个将新潮的检测技术用于食品和水中的农药鉴定的强有力的实例。在 LC/TOF MS 中不需要将经典的碎片裂解谱库与碎片裂解方式进行比较，而是使用分子式和计算的精确质量，尤其是当其与一个或两个有精确质量的碎片离子相结合时，可以鉴定化合物，不必担心碎片离子的强度和可能由仪器之间和基质之间差异造成的不同。

例如，分子捕获软件与分子特征数据库联合使用，根据离子准确的保留时间（在 0.005 分钟内匹配）使

表2 使用 MF 数据库从食物样品中筛选出的农药

样品	筛选出的峰	匹配的农药 < 5 ppm	LC/TOF MS 确认的农药	误差 mDa	误差 ppm	保留时间误差 (min.)	假阳性结果 负	假阳性结果 正
苹果	2681	12	抑霉唑				0	0
			抑霉唑降解物	-1	-3.9	-0.08		
			异菌脲	0.22	0.7	-0.12		
			氟唑唑	0.05	0.1			
			苯醚甲环唑	-0.74	-1.8			
橄榄油	1678	10	特丁津 (脱异丙基莠去津)	0.06	0.2	0.09	0	0 1
胡椒	2402	41	抑霉唑	0.3	1	0.07	0	
			二嗪磷	0.11	0.3	0.12		
			稻虱净	1	3.3	0.1		
番茄	617	8	稻虱净 (噻嗪酮)				0	
			多菌灵					1
			甲基硫菌灵					
黄瓜	1619	17	噻苯咪唑	0.2	1	0.01	0	0
			马拉硫磷异构体 1	0.04	0.1	0.05		
			马拉硫磷异构体 2	0.22	0.7	-0.03		
			马拉硫磷氧化物	0.25	0.8	0.08		
			抑霉唑	-0.1	0.3	0.05		
梨	1209	14	抑霉唑				0	0
			多菌灵	-0.21	-1.1	0.05		
			抑霉唑降解物	0.51	2	0.03		
			亚胺硫磷	0.31	1	0.04		
土豆	1150	11	无				0	0
			平均值	0.30	1.20			
			标准偏差	0.25	1.00			

用.mdh 文件将各组离子联系起来。因此，可能从基质的背景离子中找到并分辨出农药的碎片离子，如抑霉唑。因此，作者认为 LC/MS 数据库中存在的一个大问题即将通过采用准确质量数据库的方法来解决，这种方法使用 MH^+ 和主要碎片离子的分子特征算法来进行食品中农药的筛选。

参考文献

1. PAN Europe position on the European Commission Proposal for a Regulation of the European Parliament and of the Council on maximum residue levels of pesticides in products of plant and animal origin COM(2003) 117 final, 2003/0052 (COD).
2. Phillip L. Wylie, Michael J. Szelewski, Chin-Kai Meng, and Christopher P. Sandy, Comprehensive Pesticide Screening by GC/MSD using Deconvolution Reporting Software, Agilent Technologies, publication 5989-1157EN.
3. Imma Ferrer, E. M. Thurman, 2005, Measuring the mass of an electron by LC/TOF MS: A study of twin ions, *Analytical Chemistry*, 77, 3394-3400.
4. E. Michael Thurman, Imma Ferrer, 2005, Identification of unknown pesticides in food using both LC/MSD TOF and ion trap MSⁿ, Agilent Technologies, publication 5989-1924EN.

5. M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajnbaher, and F. J. Schenck, Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce, (2003) *Journal of AOAC International*, 86:412–431.
6. S.J. Lehotay, K. Mattošská, A.R. Lightfield, Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables, (2005) *Journal of AOAC International*, 88:615–629.
7. Imma Ferrer, Juan F. Garcia-Reyes, M. Mezcua, E. M. Thurman, A. R. Fernandez-Alba, 2005, Multiresidue pesticide analysis in fruits and vegetables by liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry, *J. Chromatography A*, 1082, 81–90.

致谢：

特别感谢 Dr.Aamdeo R.Fernandez 博士在数据库设计时给予的思路和讨论。

如需详细信息

如需本公司产品和服务的更多信息，请访问本公司网站：www.agilent.com/chem/cn。

安捷伦对本材料中的错误与设备、性能或本品的使用有关的意外伤害或由此造成的损失不负任何责任。

本文中的信息，说明和指标，如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技有限公司。2006

2007 年 7 月中国印刷
5989-5496CHCN



Agilent Technologies