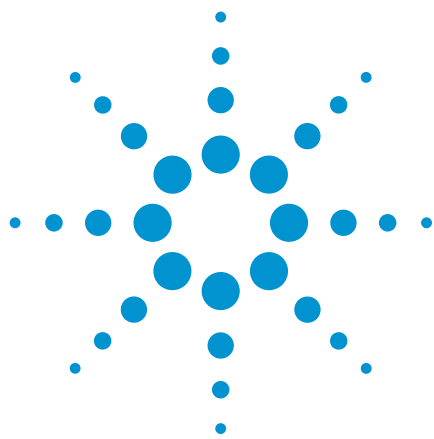




使用 GC/Q-TOF 筛查食品中的农药

使用 Agilent MassHunter GC/Q-TOF 农药个人化合物数据库与谱库进行搜索和验证

应用简报

食品安全

作者

Kai Chen、Joan Stevens 和 Sofia Nieto
安捷伦科技有限公司

摘要

高分辨率精确质量数 GC/Q-TOF 质谱在农残筛查方法开发方面得到了越来越多的关注。Agilent 7200 系列高分辨率精确质量数 GC/Q-TOF 系统的电子电离 (EI) 全谱采集模式可以为分析物的碎片离子提供丰富的精确质量数信息。结合 Agilent MassHunter 软件工具以及最新的 Agilent MassHunter GC/Q-TOF 农药个人化合物数据库与谱库 (PCDL) 使用, 可以对复杂食品基质中的农药进行疑似筛查。利用提取离子的共流出、碎片离子的相对丰度比和每种合格离子的质量数误差, 可以最大程度提高化合物鉴定结果的验证可信度。此外, 还可以从 Agilent MassHunter 定性分析软件将新目标农药的精确质谱图直接添加到自定义 PCDL 中, 从而不断扩展监测方案。



Agilent Technologies

前言

食品中多种农药的筛查是现代食品安全实验室要求最为苛刻的应用之一。高分辨率四极杆飞行时间 (Q-TOF) 仪器可以测量痕量污染物的精确质量数，同时获得较低的筛查检测限和更出色的谱图确认结果。使用 Agilent 7200 系列 GC/Q-TOF 系统，可以在全采集模式下采集谱图。这种非靶向方法的优势在于可以捕获所有气相色谱分析适用组分的谱图信息，以便进行更全面的数据分析，在出现意外污染物或新污染物的情况下更是如此。因此，人们对于使用高分辨率 GC/Q-TOF 仪器开发高度可靠的多农残筛查方法投注了越来越多的目光 [1]。

之前已有文献讨论过使用 7200 系列 GC/Q-TOF 系统筛查各类食品中农药的分析方法和工作流程 [2,3]。这项研究显示，通过 Agilent MassHunter 软件，PCDL 可用于对多种农药进行疑似筛查。安捷伦工作流程通过 PCDL 中的谱图选出每种化合物中特异性最高的离子，然后从总离子谱图中将其提取出来。根据共流出得分确定参比保留时间 (RT) 窗口中提取离子的协方差，从而进行匹配结果认证。这些研究表明，多种食品基质中以多种浓度加标的各种农药有 95% 以上可得到鉴定。

本应用简报重点介绍使用精确质谱图信息对食品基质中的农药筛查结果进行审核和验证。利用改进的目标物/疑似物筛查工作流程和最新的 Agilent MassHunter GC/Q-TOF 农药个人化合物数据库与谱库 (PCDL) (部件号 G3892AA)，对混合食品基质中一组代表性农药进行疑似筛查。利用保留时间差异、电子电离 (EI) 产生的特征碎片离子的相对丰度比以及这些离子的质量数误差提高鉴定可靠性。GC/Q-TOF 农药 PCDL 可以进行定制。通过定制，用户可以向 PCDL 加入新的化合物，然后从 Agilent MassHunter 定性分析软件直接添加自行优化的精确质谱图。

实验部分

仪器

采用 Agilent 7890B 气相色谱系统与 Agilent 7200B Q-TOF 系统联用开展研究。图 1 所示为仪器配置，仪器条件如表 1 所示。气相色谱分析中启用了保留时间锁定 (RTL) 和恒流柱中反吹的全筛查方法。

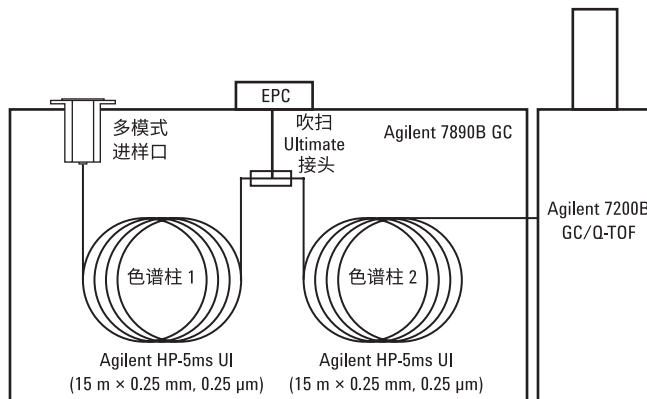


图 1. 显示柱中反吹的 Agilent 7200 GC/Q-TOF 系统配置。将 Agilent 7890B GC 与 Agilent 7200B Q-TOF 质谱仪联用

表 1. Agilent 7890B 气相色谱与 Agilent 7200B GC/Q-TOF 质谱的仪器条件

气相色谱	
色谱柱	Agilent HP-5ms UI, 15 m × 0.25 mm, 0.25 µm (各两根)
载气	氦气
色谱柱 1 流速	1.0 mL/min
色谱柱 2 流速	1.2 mL/min
进样量	2 µL 冷柱头不分流
进样口衬管	2 mm 内径超高惰性浅凹坑衬管 (部件号 5190-2296)
MMI 升温程序	60 °C 保持 0.2 min 以 600 °C/min 升温至 300 °C, 在 330 °C 下保持, 后运行
柱温箱升温程序	60 °C 保持 1 min 以 40 °C/min 升至 170 °C, 保持 0 min 以 10 °C/min 升至 310 °C, 保持 3 min
运行时间	20.75 min
反吹	5 min (后运行)
保留时间锁定	甲基毒死蜱, 锁定在 9.143 min 处
传输线温度	280 °C
Q-TOF MS	
电离模式	EI
离子源温度	300 °C
四极杆温度	180 °C
质量数范围	45-550 <i>m/z</i>
谱图采集速率	5 Hz, 以棒状图和轮廓图两种模式采集
采集模式	4 GHz 高分辨率

样品前处理

本研究使用一种混合食品基质萃取物进行评估。食品样品购自当地市场。按照快速、简便、经济、高效、耐用和安全 (QuEChERS) 的欧洲标准 (EN) 方法, 使用安捷伦萃取盐和分散试剂盒以之前描述 [2] 的萃取和净化步骤进行萃取物前处理。向萃取物中添加浓度为 10 ng/mL 的安捷伦农药校验混标 (部件号 5190-0494), 然后使用 GC/Q-TOF 系统进行分析。

结果与讨论

使用碎片离子查找工具鉴定化合物

使用最新 Agilent MassHunter GC/Q-TOF 农药 PCDL (部件号 G3892AA) 进行疑似物筛查。PCDL 中包含 850 多种化合物, 每种化合物均收录有高分辨率精确质谱图和本研究保留时间锁定色谱法所用的参比保留时间。使用 MassHunter 定性分析软件 (B.08.00) 的碎片离子查找算法进行疑似物筛查的数据分析。软件从 PCDL EI 质谱图中选取每种化合物的精确质量数离子, 以提取每个分析物在参比保留时间附近的离子色谱图。选择一种离子作为参比离子。随后, 软件会根据参比离子流出时间范围内碎片离子和参比离子之间的强度比计算共流出得分 (数值为 0-100), 从而评估每个碎片离子的协方差。保

留时间偏移、不同峰宽或峰对称性 (前沿、拖尾) 均会对共流出得分产生不良影响。为了鉴定每种化合物 (在软件中显示为 “合格离子”), 需要有用用户定义数量的其他碎片离子符合参比离子的共流出标准 (例如共流出得分 ≥ 70)。用户还可以在 PCDL 中设置参比保留时间两侧的最大允许保留时间偏差 (例如 ≤ 0.1 min)。表 2 显示, 在全部六次重复进样中, 农药校验混标中浓度为 10 ng/mL 的全部 17 种农药均可在食品基质混合物中成功得到鉴定。RTL 采集方法获得的这些农药的保留时间在 ± 0.03 min 的窗口内与参比值匹配良好。由此可证, 使用 RTL 方法进行采集时, PCDL 中的参比保留时间可用作有价值的分析物标志, 对可得到色谱分离的同质异位化合物更是如此。17 种农药中的每一种至少有两个合格离子的质量数误差不超过 5 ppm, 如表 2 所示。

表 2. 混合食品萃取物中的化合物鉴定结果汇总*

名称	分子式	参比 RT (min)	Δ RT (min)	定性离子	定性离子 (I)		定性离子 (II)	
					m/z	质量数误差	m/z	质量数误差
敌敌畏	C ₄ H ₇ Cl ₂ O ₄ P	4.679	0.013	6	219.9464	3.6	184.9744	2.2
速灭磷	C ₇ H ₁₃ O ₆ P	5.610	0.005	4	192.0198	2.8	164.0233	2.8
乙丁烯氟灵	C ₁₃ H ₁₄ F ₃ N ₃ O ₄	7.139	0.005	5	316.0911	1.8	292.0548	2.7
氟乐灵	C ₁₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₄	7.247	0.003	6	306.0709	2.3	290.0755	3.3
莠去津	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	7.887	0.000	6	215.0932	3.7	202.068	3.2
甲基毒死蜱	C ₇ H ₇ Cl ₃ NO ₃ P ₅	9.143	0.002	6	287.9236	3.8	285.9267	2.3
七氯	C ₁₀ H ₅ Cl ₇	9.339	0.000	6	336.8496	2.8	271.8106	2.9
马拉硫磷	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	9.729	0.003	5	124.9824	3.0	99.0077	3.6
p,p'-DDE	C ₁₄ H ₆ Cl ₄	11.612	0.006	6	317.9349	3.9	315.9375	1.9
狄氏剂	C ₁₂ H ₆ Cl ₆ O	11.717	0.005	6	276.8722	1.3	260.8595	1.1
环嗪酮	C ₁₂ H ₂₀ N ₄ O ₂	13.195	0.012	5	172.0896	5.0	171.0877	1.7
克螨特	C ₁₉ H ₂₆ O ₄ S	13.318	-0.001	4	173.0955	3.9	136.0835	2.9
灭蚁灵	C ₁₀ Cl ₁₂	14.874	0.005	6	269.8127	2.1	236.8409	2.1
氯苯嘧啶醇	C ₁₇ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O	15.084	0.009	5	219.0317	2.9	138.9941	2.6
蝇毒磷	C ₁₄ H ₁₆ ClO ₅ PS	15.853	0.012	5	362.0139	2.6	333.9822	2.4
醚菊酯	C ₂₅ H ₂₈ O ₃	16.777	0.019	3	164.1155	3.0	163.1124	2.0
溴氰菊酯	C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃	18.117	0.023	3	252.9053	3.8	171.9882	4.2

* Δ RT 和质量数误差反映重复进样的平均值 (n = 6)

化合物验证有助于提高可靠性

EI 全谱采集高分辨率精确质量数测量可为每个分析物提供丰富的碎片离子信息。为了充分利用这些丰富的信息进行农药鉴定，Agilent MassHunter 碎片离子查找算法将每种待鉴定分析物合格离子的相对丰度比与数据库中的参比谱图匹配，据此生成碎片离子比得分。通过验证碎片离子比得分、合格离子的质量数误差以及与 PCDL 中预期保留时间的差异，可以进一步提高每种化合物的鉴定可靠性。图 2 是验证农药莠去津鉴定结果的一个示例。这种农药的保留时间测定值为 7.887 min，与 PCDL

中的参比保留时间完全相同。碎片离子的 EIC 图显示出良好的共流出（得分 98.64），所有合格离子（包括分子和碎片离子）的质量数误差均小于 5 ppm。即使原始谱图中存在食品基质混合物的复杂背景，也可以在其中明确辨别出莠去津的特征离子。碎片离子比得分超过 99.62（满分 100），表明所有六种鉴定离子的丰度比均与质谱图谱库中的丰度比相近。通过比较重建离子图（作为食品样品筛查结果的一部分）和谱库中的莠去津谱图，可以对高分进行确认。

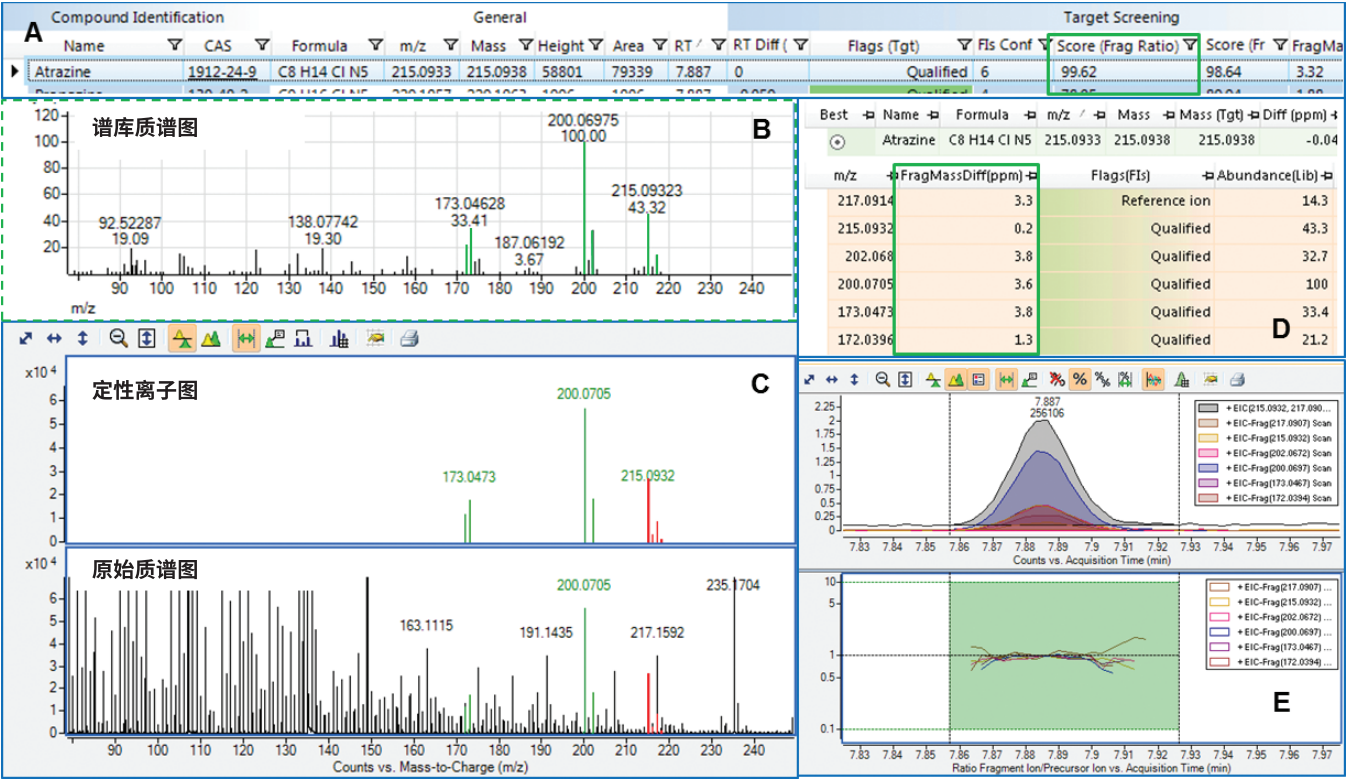


图 2. 验证莠去津的鉴定结果以提高可靠性。超过 99 的碎片离子比得分 (A) 反映出谱库谱图* (B) 和测得谱图 (C) 之间合格离子的相对丰度比相近。所有合格离子的质量数误差均 < 5 ppm (D)，这些离子的 EIC 一致性良好 (E)
* 谱库谱图可在 Agilent MassHunter PCDL Manager 软件中查看

检测意外化合物

GC/Q-TOF 全谱采集模式的另一个优点是非靶向采集可以检测到意外化合物。通过验证碎片离子比得分、质量数误差以及保留时间差异，可以对意外化合物鉴定结果进行全面的评估。图 3 显示食品样品中所鉴定农药 *o,p'*-DDE 的痕量信号，而这种物质并不在农药校验混标的化合物列表中。碎片离子比得分 > 80，与 EIC 的一致性良好，且每个合格离子的质量数误差都比较小 (< 5 ppm)，由此可确认存在农药 *o,p'*-DDE。为了查明该化合物的来源，对添加两种不同浓度农药校验混标的空白基质的

EIC 结果 (*m/z* 离子 245.9998) 进行比较。结合每种异构体的参比保留时间，*m/z* 245.9998 处的离子是 *o,p'*-DDE 和 *p,p'*-DDE 同时存在的唯一标志。该特征离子在 EIC 的 11.1 和 11.6 min 保留时间处没有峰，表明空白基质中不存在 *o,p'*-DDE 和 *p,p'*-DDE 这两种化合物。保留时间 11.6 min 处的 EIC 信号证实农药混标中存在 *p,p'*-DDE，与预期相同。此外还可看到，异构体 *o,p'*-DDE (保留时间 11.1 min) 的浓度同样非常低。此外，两种农药校验混标浓度的 *o,p'*-DDE 与 *p,p'*-DDE 响应比相似 (约 1.5%)。这证实 *o,p'*-DDE 是标准品中的痕量杂质。

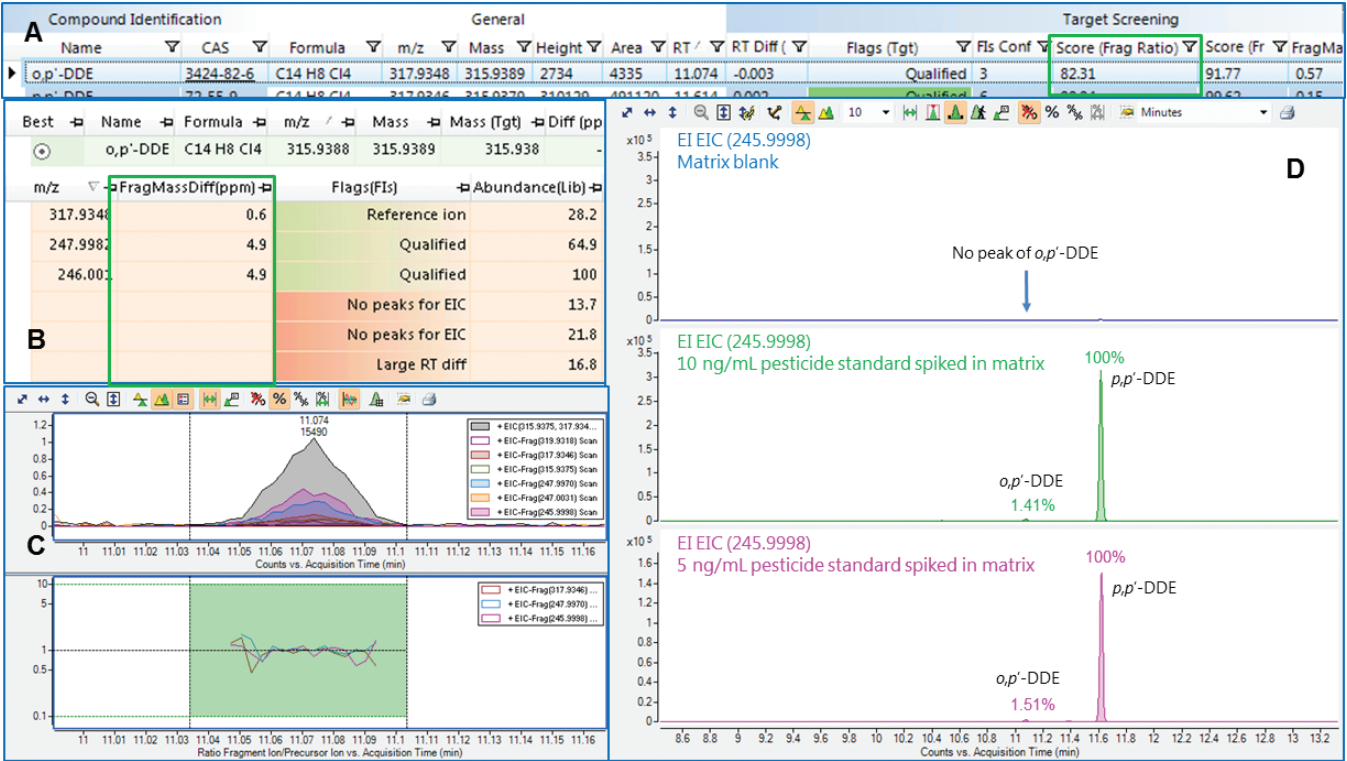


图 3. *o,p'*-DDE 的意外质谱峰可通过碎片离子比得分 (A)、合格碎片离子质量数误差 (B) 和 EIC 一致性对比 (C) 加以验证。空白基质中未检出 *o,p'*-DDE 信号 (D 图上)。添加两种浓度农药校验混标的样品 (D 图中和下) 显示 *o,p'*-DDE 与 *p,p'*-DDE 参比峰的响应比相似，这证实了意外质谱峰是加标标准品中的痕量杂质

可扩展的 PCDL

在全谱采集模式下，GC/Q-TOF 系统会记录每个样品中所有气相色谱分析适用化合物的质谱。所得数据可以保存以供将来重新分析其中的新目标分析物。全球各地每年都会施用大量农药，种类极其繁多。因此，一些农药可能尚未加入现有的监测方案或市售数据库中。MassHunter 软件提供了一种工作流程，允许用户将新化合物的优化 EI GC/Q-TOF 精确质谱图添加到定制 PCDL 中。这些新的 PCDL 条目也可用于对历史数据进行回顾

性分析。在优化过程中，软件会确定碎片离子质量数的分子式，验证其是否为任何给定化合物中性分子式的有效子式。然后，软件会将测得的精确质量数值修正为相应的理论值。将无法确定有效子式的离子视作化合物之外的物质，并将其排除。然后可以使用“将谱图发送至 PCDL”功能，将优化后的谱图发送至指定 PCDL，作为鉴定化合物的新谱图条目。图 4 所示为使用采集得到的环丙津 ($C_9H_{14}ClN_5$) 精确质谱图对农药 EI GC/Q-TOF 谱图的优化流程。软件会自动标注测得质谱中的碎片离子质谱峰。

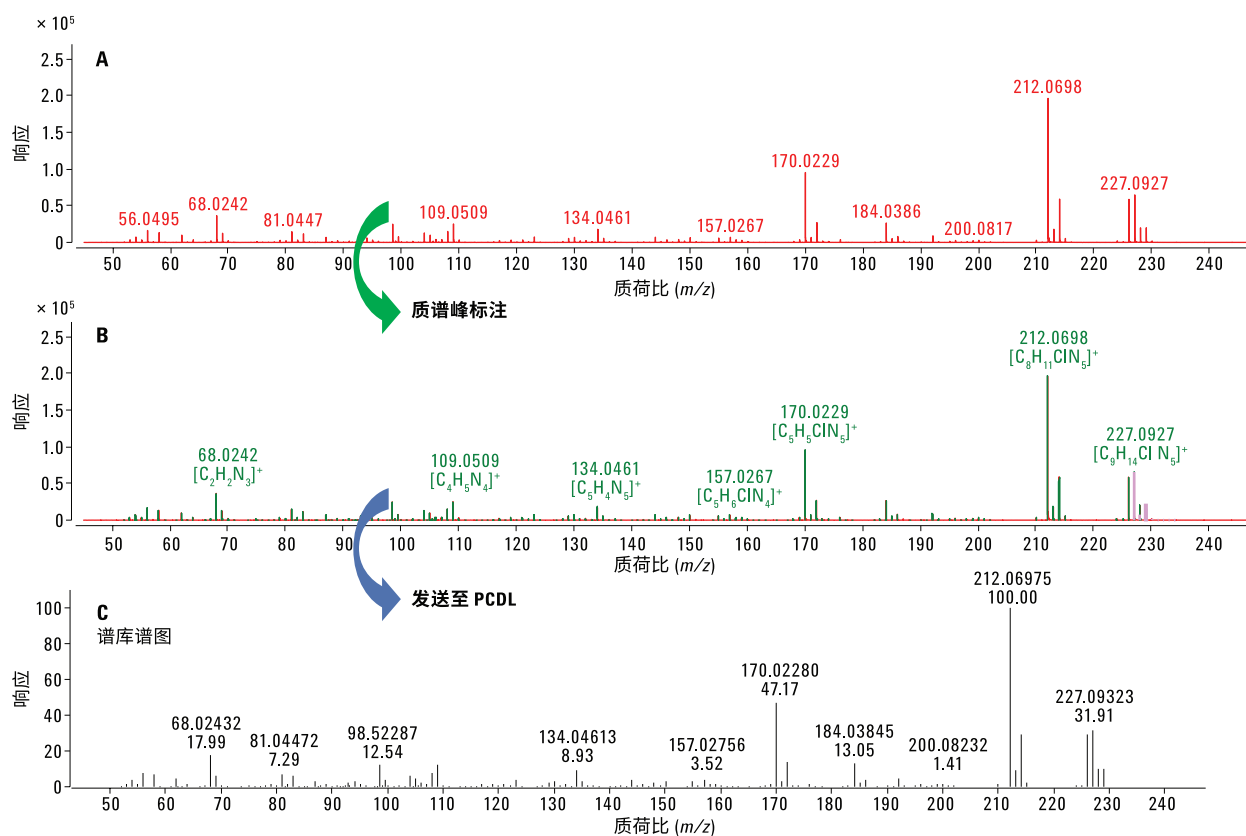


图 4. 使用 Agilent MassHunter 定性分析软件的“将谱图发送至 PCDL”功能，对农药环丙津的质谱图进行优化并添加至 PCDL 中。图中显示了扣除背景后的测得质谱 (A)，基于分子式 $C_9H_{15}ClN_5$ 的碎片离子峰标注 (B) 和 PCDL 中的优化谱图 (C)

结论

使用 Agilent 7200 系列 GC/Q-TOF 系统可以对食品基质萃取物中通常根据监管机构规定的浓度低至 10 ng/mL 的农药残留进行筛查。由此表明，该系统与 EI 全谱采集精确质量数 Agilent MassHunter GC/Q-TOF 农药 PCDL 和 Agilent MassHunter 定性分析软件结合使用，可作为切合目的的筛查解决方案。通过评估碎片离子比得分、质量数误差以及保留时间差异，可以大大提高农药鉴定的可靠性。这些数据显示在碎片离子查找算法的化合物结果中。PCDL 可实现定制，新目标化合物的谱图可以直接在 MassHunter 定性分析软件中优化并添加至 PCDL。这些新的 PCDL 条目可用于扩展监测方案。可以使用 MassHunter 定性分析软件建立方法并进行定性筛查，也可以将化合物信息轻松转移到定量分析软件中同时进行校准定量和确认。

参考文献

1. N. Belmonte-Valles, *et al.* "Analysis of pesticide residues in fruits and vegetables using gas chromatography-high resolution time-of-flight mass spectrometry" *Anal. Methods* **7**, 2162–2171 (2015)
2. P. L. Wylie, “使用安捷伦 GC/Q-TOF 和精确质量农药谱库对食品中的 740 多种农药残留进行筛查”。*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5991-5633CHCN，(2015)
3. A. R. Fernández-Alba, S. Uclés, J. Riener, 利用包括精确质量数农药数据库的 GC/Q-TOF 筛查食品中的数百种农药残留，*安捷伦科技应用简报*，出版号 5991-5894CHCN (2015)

更多信息

这些数据仅代表典型的结果。有关我们的产品与服务的信息，请访问我们的网站 www.agilent.com。

查找当地的安捷伦客户中心：

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

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

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，2017
2017 年 2 月 10 日，中国出版
5991-6884CHCN



Agilent Technologies