

色谱-质谱联用技术的进步 与农药多残留分析方法的发展(之二)

——从低分辨质谱技术的选择性谈起

李重九

(中国农业大学, 北京 100091)

摘要: 本文从低分辨质谱的选择性入手, 回顾了色谱-质谱联用技术促进多类农药多残留分析技术的发展过程。质谱技术的进步改变了农药残留分析方法: 在明确样品干扰物分子结构的基础上建立了相应的样品前处理方法; 用采集分子结构信息的质谱检测器代替了色谱的选择性检测器; 选择离子检测技术和串联质谱技术提高了排除干扰物的能力。基于质谱技术, 已建立了可同时多类农药进行多残留分析的方法。

关键词: 色谱-质谱联用; 低分辨质谱; 农药残留

中图分类号: O657. 63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2021)05-0681-10

doi: 10. 7538/zpxb. 2021. 0143

Progress of Chromatography-Mass Spectrometry Technology and Development of Pesticide Multi-residue Analysis Methods (Part 2)

——On the Selectivity of Low Resolution Mass Spectrometry

LI Chong-jiu

(China Agricultural University, Beijing 100091, China)

Abstract: This paper reviewed the development of chromatography-mass spectrometry about promoting the analysis of multi-pesticide residues from the selectivity of low resolution mass spectrometry. The progress of mass spectrometry technology had changed the analytical method of pesticide residues. On the basis of clarifying the molecular structure of sample disruptors, the corresponding sample pretreatment method was established. The selective detector of chromatography was replaced by mass spectrometry detector which collected molecular structure information. Selective ion detection technology and tandem mass spectrometry technology improved the ability of eliminate interferences. Based on mass spectrometry, methods for simultaneous multi-residue analysis of multiple pesticides were established.

Key words: chromatography-mass spectrometry; low resolution mass spectrometry; pesticide residue

农药是现代农业不可替代的、重要的生产资料,也是保证现代社会公共安全、生产生活正常运行的必需品。农药不仅用于防治农业生产的病虫害害,杀灭蚊、蝇、蚤、鼠等传染病媒介动物,还用于家庭园艺、草坪、道路等杂草防除,在各类物资储存及家庭用品的防蛀、防霉、防菌方面也发挥着不可或缺的重要作用。由于农药的广泛施用,监测农产品、食品及生态环境中的农药残留,是保障食品安全、控制生态环境风险的重要环节^[1]。

二次世界大战后,有机农药快速发展。虽然我国登记的农药只有 600 余种,但各国应用或曾经应用可能依旧残留在环境中的农药合计上千种,种类繁多、理化性质各异。与有机氯、有机磷杀虫剂等传统农药相比,新型农药的生物活性更高,施用浓度大幅度降低,加之降解半衰期短,它们在农产品、食品和生态环境中的残留量很低,有些农药的代谢物具有生物活性,其代谢物含量往往更低。这就要求农药残留技术能从复杂的样品基质中,准确无误地检出性质和分子结构不同的痕量残留农药及部分有毒代谢物。高通量、高选择性、高灵敏度是对农药残留检测技术的基本要求,其中高选择性是检测技术的基础,不仅要求区分各种目标物(农药),还需要将目标物与样品基质的干扰成分区分开。农药残留分析方法的研究主要是对选择性的研究,很多文章或分析方法中的灵敏度大多来源于高选择性。农药残留分析的各个步骤,包括样品的前处理、色谱分离能力及其检测方法、数据处理方法等,都影响农药残留分析方法的选择性。当前需要检测的农药种类及数目逐渐增多,使得样品提取溶液的溶解范围越来越宽泛,净化方法不可太严苛,由此造成样品基质中的提取干扰物较多,加重了分析仪器的负担,对分析仪器及分析方法的选择性提出了更高的要求。

几十年来,农药残留分析工作经过了以下几个阶段。

1 以生物化学性质、理化性质为基础的传统分析方法

20 世纪 50 年代,人们开始研究农药残留的检测方法。早期根据某一类农药的化学性

质,利用显色反应区分样品基质干扰物和有机氯农药;或根据有机氯农药和氨基甲酸酯类农药抑制胆碱酯酶的特性,用光学仪器监测抑制酶解反应的结果,判断样品中是否含有这两类农药^[2]。以上方法无法区分一类农药中的单一品种,色谱技术的发展解决了这一问题。根据农药在色谱固定相及流动相中分配系数的不同,对样品目标物和基质进行分离,采用选择性检测器进一步解决与农药色谱峰重叠的基质干扰问题。在此基础上建立的多类农药残留检测体系包括三部分:用气相色谱-电子俘获检测器(GC-ECD)检测有机氯类和含卤素的拟除虫菊酯类农药,用气相色谱-火焰光度检测器(GC-FPD)或氮磷检测器(NPD)检测有机磷农药,用液相色谱-柱后衍生化-荧光检测器(LC-FLD)检测氨基甲酸酯类农药^[2-3]。

当待测目标物组分过多时,许多农药的理化性质相近,无法用 1 根色谱柱分离,由此产生了双柱双检测器方法。1 台气相色谱仪配置双塔进样器、2 根固定相不同的色谱柱,柱后各连接 1 个相同类型的检测器。用双塔进样器同时进样,分别用 2 根色谱柱分离,1 根色谱柱无法分离的组分用另 1 根色谱柱分离,2 根色谱柱的分离结果互补,可以解决受色谱分离效能所限而无法多组分农药检测的问题。如此,农药多残留分析至少需要 2 台双柱气相色谱仪(分别配置 ECD、FPD 或 NPD)和 1 台具有柱后衍生化功能的高效液相色谱仪。1 个样品要在 3 台仪器上进样 5 次,综合处理 5 次进样的分析数据才能得到测试结果。无论是仪器配置,还是分析工作,这都是沉重的负担^[4]。

该体系同样存在选择性不足的问题。食品中存在的大量含氧化合物会干扰 ECD 对卤族元素的检测;磷和硫元素的发射光谱部分重叠,富含硫的食品(如韭菜、圆葱等)会干扰 FPD 对有机磷农药的检测,用 NPD 检测有机磷农药时会受到样品中含氮组分的干扰。圆葱、大蒜、韭菜等富含有机硫化物的样品一直被认为是问题蔬菜。更重要的是,这一方法依据色谱保留时间定性,并不提供农药分子结构信息。在同一色谱条件下,分配系数相同的化合物保留时间相同,所以在“农药残留分析质量控制程序”中指出,即使 GC 或 LC 使用 2 根“不同极性的

色谱柱分离样品,用专化性强的选择性检测器检测,其分析结果对目标化合物的确认能力是有限的,这一点应在分析报告中注明”^[5]。Cook等^[6]根据农药中多含有杂原子,曾尝试用一种具有选择性的广谱检测器——原子发射检测器(AED)进行多残留分析,建立了多种农药的数据库,包括色谱保留时间、每种农药所含元素及质谱图。用 GC-AED 分析农药残留量为 1~5 mg/kg 的果蔬样品中各色谱峰所含的元素(硫、氮、磷和氯),通过数据库检索筛查农药,并与 GC-MS(全扫描)比较。由于 AED 的选择性和灵敏度不能满足农药残留分析的要求,该技术并不能在农药残留分析中发挥重要作用。另外,这一色谱系统分析方法的检测对象主要针对杀虫剂,不包括大量的除草剂、杀菌剂以及各种农药的有毒理学意义的代谢物。

2 色谱-质谱联用仪用于农药残留分析的基础研究

气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)结合了色谱的分离和质谱的分子结构鉴定能力,一问世便受到农药残留分析工作者的关注。在 1963 年的国际农药会议上就有专家预言:在整个农药残留领域的研究中,展望未来,质谱仪与气相色谱仪(原文为气液色谱仪)联用将得到发展,这种装置的高昂价格不会阻碍人们对这种吸引人的技术的钻研^[7]。1976 年,当美国环保局(U. S. EPA)针对各个工业类型的污染源和排放的有毒污染物及其处理技术和排放限量做出规定时,要求分析化学家们从 65 类上千种污染物中确定优先检测的污染物,其中包括各种有机氯农药。大量的分析工作包括有机样品的采集、保存、制订复杂废水的标准分析方法。面对这一极其困难的任务,经过讨论,环保局的化学家们发现,GC-MS 是当时唯一可利用的技术,能在 $\mu\text{g/L}$ 级水平上完成对污染物的鉴定和半定量。由此,色谱-质谱联用技术用于环境污染物和农药残留分析的方法学研究逐步发展起来^[8]。

2.1 样品前处理方法的改进——针对分子类型排除干扰物

传统的农药残留色谱分析方法的样品前处理过程主要根据农药和样品基质的理化性质不

同将二者分离。选择对农药溶解度大的有机溶剂提取样品后,经填充柱或固相萃取柱净化,其填料一般为活性炭、硅镁吸附剂、酸性氧化铝和硅胶。根据实验室以往的经验,充分利用吸附剂对农药和样品基质吸附能力的不同将二者分离。大量时间消耗于前处理方法的研究,如需要反复尝试提取溶剂的种类、探索不同吸附剂的配比和用量,以及各种农药在不同吸附剂上的流出体积等。当被测农药种类较多时,这种方法的效果不佳^[9]。

借助于前人建立的质谱数据库,分析者对样品基质干扰物进行研究,发现农药样品的基质干扰物主要有酚类和有机酸、弱极性或非极性的植物次生代谢产物(如甾类、色素),以及大分子的叶绿素、脂肪和蜡质等^[10]。针对这些干扰物,将提取溶剂由经典方法中的乙酸乙酯或丙酮改为乙腈,可以最大限度地排除非极性干扰物(如脂肪、蜡质);将净化柱的填料改为碱性有机胺类吸附剂(如 PSA)、烷基键合硅胶(C18)和呈平面结构的石墨化炭黑,分别吸附酸性物质、弱极性干扰物和叶绿素(分子结构是平面的铁卟啉环)等^[11-13]。这种根据农药及干扰物分子类型设计的提取/净化方案的针对性强、净化效果好,经过不断完善而广泛用于各种农作物及有关食品的样品处理。特别是 2003 年,在此基础上开发了一种新型的样品快速前处理方法——QuEChERS(quick, easy, cheap, effective, rugged and safe),将样品用乙腈提取,加入氯化钠使有机相与水相分层除去极性干扰物,在有机相中加入 PSA、C18 和石墨化炭黑等吸附基质中的干扰物,简单离心后,上清液即可用于仪器分析^[14]。QuEChERS 使用方便,被各国用于农药残留分析。根据应用中存在的问题,2018 年欧洲标准化委员会针对不同植物源食品(或食材)的特点,对 QuEChERS 方法做了详尽的修改,使其更加完善^[15]。

2.2 农药质谱数据库及数据处理方法的研究

色谱-质谱联用仪与色谱仪最大的区别是其检测结果(质谱图)可以提供分子结构信息。自 20 世纪 40 年代有机质谱仪面世以来,大量的质谱图编纂为数据集。当时受手工处理质谱数据能力的限制,每张图谱仅收集 8 个强峰。

计算机技术的发展使质谱仪采集的完整图谱数据可以全部数字化,并建立了方便检索的谱库,使农药残留定性分析的依据从仅依靠农药的理化性质(色谱保留时间)扩展到包括表示分子结构的质谱数据。更重要的是,计算机可对采集的质谱数据重建色谱图和质量色谱图,根据质量色谱图的保留时间和形状判断各个离子是否属于同一组分。这为如何从样品基质干扰中识别出目标物分子结构信息,或分辨部分重叠的农药色谱峰,解决农药残留检测的关键问题提供了技术支撑。

早期,一般用气相色谱-质谱联用仪全扫描方法进行农药残留分析,即使样品经过复杂的净化处理和色谱分离,也很难避免相邻组分之间重叠以及样品基质的干扰。在痕量分析中,最困难的是排除干扰得到纯净正确的质谱图。1974年,Biller等^[16]最早提出了以点为比较参数的算法处理重叠的化合物质谱图,通过提取每个离子质量色谱峰最高点相对应的扫描数,合并具有相同最高点扫描数的离子及其相对应的强度,建立此扫描点处的“提取”质谱图。Colby等^[17]曾对Biler的算法进行改进,除每个离子色谱峰的最大峰值外,又将最大峰值的左右2点也纳入到比较范围中,使结果更精确。这种以点为参数的算法简单,对计算机的配置要求低,但用于计算的确证数据过少,结果易受外界因素的干扰,无法满足痕量分析的要求。Dromey等^[18]提出以峰型为比较参数,对GC-MS数据文件中每个离子的质量色谱图进行分析,对不同的峰选取1~2个模型离子(model ions),比较其他离子与模型离子峰在保留时间和峰型上的相似度,决定该离子是否归属于此峰。整个文件扫描后,将所有具有相同保留值和峰形的离子组合成一张新的质谱图,从而完成质谱图的提取。在此基础上建立了自动质谱退卷积定性系统(automated mass spectral deconvolution and identification system, AMDIS)。当2个化合物的保留时间相差不小于2次扫描,浓度相差不大于5倍(浓度水平为mg/L)时,2个化合物的主要离子质量不相同,而且质量色谱图信号平滑,AMDIS可以区分这些部分重叠的化合物,并在一定程度上有效地去除柱流失物和基质共流出物的干扰离子,得到可

供鉴定的“较纯净的”质谱图。但是,如果相邻的目标物相差浓度过大,AMDIS只能提取出高浓度组分的离子。同样,干扰物与待测目标物的浓度相差过大时,痕量目标物也难以辨认^[19]。Dagan等^[20]采用AMDIS分析了土壤中6种残留农药,并与GC-PFPD、GC-MS/MS方法进行比较,由于图谱数据相对完整,AMDIS确证残留农药的能力强于另外2种方法,但灵敏度不如后者。Norli等^[21]在苹果、橙子和生菜中分别添加了177种农药,未净化的样品提取液经GC-MS全扫描分析、AMDIS处理,得到的质谱图与NIST谱库中标准图谱比对,根据相似度(FIT)、逆相似度(RFIT)计算AMDIS匹配度(AMF)。结果表明,添加浓度水平分别为0.02、0.1 mg/kg的177种农药中,平均AMF值 ≥ 70 (%)的比例分别为23%和80%。如果降低匹配度,农药检出率会增加,但在实际样品检测中,假阳性样品也会增加。在为期3个月的实际检测工作中,发现AMF ≥ 70 的样品未出现假阳性。但如以AMF大于20为阳性标准,假阳性率为4%。张伟国等^[19]采用GC-MS全扫描方式分析含水量多的蔬菜,当样品经过净化处理后,AMDIS鉴定率会提高,然而对于含水量少、基质复杂的糙米,其基质的干扰物含量远远高于目标待测物。虽然以上方法的选择性效果并不理想,但实验证明,通过AMDIS的辅助分析可以有效提升全扫描分析的选择性,使检测能力提高1个数量级。

为了提高退卷积技术处理重叠峰和干扰背景的能力,哥本哈根大学^[22]根据平行因子分析原理开发了PARAFAC2计算方法,它可以合并从同一样品获取的多个色谱图信息提取每个成分的质谱图:将总离子流色谱图分为若干小区间,每个区间含少量目标物;对于每个间隔都建立1个单独的PARAFAC2模型,在给定的保留时间区域内同时对所有被分析样品的组分、低信噪比(S/N)色谱峰进行解卷积。该方法需要5个平行分析样本,这在实际工作中很难实现。Dabrowski等^[23]提出了一种基于来自1个色谱图有限数据集的简化分析GC/MS数据的方法——Paradise,即对1次分析的总离子流色谱图通过数学修改(改变峰值保留时间,将信号乘以模拟样本的“独立变化”)生成几

张“平行分析”结果,用以满足 PARAFAC2 软件的要求。作者用该方法分析了土壤和水果(桔子)中的多环芳烃、多氯联苯和有机农药。目前,虽然 Paradise 尚未广泛应用,但是可以被视为 AMDIS 的补充软件。

由于全扫描方式的灵敏度达不到农药残留检测的要求,目前以上数据处理方面的应用还不够普遍。但是,质谱全扫描谱是提供痕量农药完整分子结构信息的基础数据。随着人们对食品安全、环境保护意识的增强,期待更好的质谱数据分析技术面世。

3 选择离子扫描及农药多类多残留检测方法的探讨

质谱全扫描技术相当于通用检测器,痕量的残留农药信息被掩盖于样品基质的汪洋大海中。20 世纪 60 年代开始,通过控制扫描参数使扫描型质谱仪(磁质谱、四极杆质谱、离子阱质谱)具备了选择性扫描特定离子的功能。针对农药残留的分析,人们不断将 GC-MS 的全扫描技术、选择离子技术与气相色谱选择性检测器相比,发现选择离子检测(SIM)的灵敏度接近选择性检测器,而鉴定结果的可靠性要优于选择性检测器,于是“寄希望于可根据保留时间编程的气相色谱-质谱选择离子技术”^[24]。20 世纪 90 年代以来,伴随着质谱技术的快速发展,同时对多类农药进行多残留分析,从设想变成了现实。

20 世纪 80 年代初,限于质谱扫描速度及仪器的自动控制水平,1 次分析过程中能选择的离子数目仅有 20~30 个,每个离子的驻留时间为 100~200 ms,而且中途不能更换离子,该技术被称为单离子检测(SID)或多离子检测(MID)^[25]。这一时期检测的农药品种很少,1 次实验所涉及的农药不超过 20 种。当时主要考虑所选用农药的特征离子不存在于样品基质中,以避免样品基质的干扰。为了用少量离子检测更多的农药品种,尽量选择一些农药的共有离子,如硫代有机磷酸酯类农药都含有 m/z 125 $[\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2\text{PS}]^+$ 或 m/z 153 $[(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{PS}]^+$ 离子,可用这些离子检测多种甲基或乙基取代的硫代磷酸酯类农药,如对硫磷、溴硫磷、乐果、马拉硫磷等农药,前提是它们的色谱峰不重叠^[26]。

20 世纪 90 年代后,各公司的质谱仪扫描速度普遍达到 1 000 u/s 以上,1 次色谱分析能够选择的离子数目大大增加,研究人员开始尝试应用 GC-MS 取代气相色谱-双柱双检测器法进行单类或多类农药的多残留检测。对于四极质谱仪,被称为选择离子检测技术(SIM);对于离子阱质谱仪,则被称为离子存储技术(SIS)。由于检测的农药品种增多,许多农药的保留时间相近,选择特征离子不仅要考虑避免基质干扰,而且要考虑重叠组分之间的干扰。

随着质谱仪扫描速度的继续提高及仪器自控技术的进步,可以按照待测组分的色谱流出时间用计算机编程,针对每个待测物和干扰物“精准”选择特征离子进行扫描,由此促进了色谱-质谱联用仪在农药多残留分析中的应用。

1995 年,Julie 等^[27]报道了 GC-MS(SIM)检测 199 种不同类型农药的方法,沿袭了色谱检测技术的样品前处理方法,根据各种农药的色谱保留时间,设置了 55 个时间段,色谱峰相互重叠或保留时间相近的组分归为同一时间段,检测此时间段内的农药特征离子。根据各时间段待测离子的多寡影响,其驻留时间为 20~200 ms 不等。每种农药用 2~3 个特征离子检测,其中丰度最高的离子为目标离子(target ion),其余离子为(辅助)定性离子。用色谱保留时间、特征离子质量数、以及 1 个定性离子与目标离子的相对丰度比进行定性,以目标离子的质量色谱峰面积进行定量。使用该方法,1992 年可检测 125 种农药,1994 年扩大到 199 种农药,为了避免过多的色谱峰重叠,将被测组分分为 2 次进样,实际测定了数千个蔬菜水果样品的农药残留。由于被测组分多、时间程序切换频繁,要求载气流量和压力必须稳定,否则被测组分会因保留时间波动溢出特定的检测时间段。为了避免此类现象发生,该方法在每个时间段不仅包括本段内的检测对象,还包括前后 2 个时间段的组分,如在 31.19~31.81 min 内仅包括 4 种农药,应该只检测 8 个特征离子,而该时间段却包括了前后相邻时间段的各 2 种农药,增加了 8 个特征离子,质谱数据采集的有效率只有 50%。大部分组分的保留时间集中在 25~40 min,平均采集有效率为 45%,最低

只有 15%。这样虽然避免了丢失检测目标,却降低了仪器的采集效率。90 年代后期,大部分气相色谱-质谱联用仪的电子流量压力控制性能得到改进,而后有些仪器增加了保留时间锁定功能,此问题才得以解决。

2000 年, Juile 等^[28]对此方法进行了改进,采用针对分子类型的提取净化法添加了新内标,规定所有定性离子与目标离子的相对丰度比作为定性鉴定的依据。将检测范围扩大至 251 种农药,其中 239 种农药及其代谢物用气相色谱-质量检测器(GC-MSD)检测,另外 12 种氨基甲酸酯类农药用液相色谱-荧光检测器检测,实现了用气相色谱-质谱联用仪代替 2 台气相色谱(各自为双柱双检测器)检测水果和蔬菜中农药残留。2009 年,庞国芳等^[29]改进了样品前处理方法,优化了仪器技术参数,其中最短的驻留时间缩减至 10 ms,建立的 GC-MS (SIM)方法可分析 383 种农药。

特征离子是 SIM 检测的依据,特征离子数目越多,包含农药的分子结构信息越全面。但是,离子数目过多,会增加扫描所需的时间,从而减少色谱峰的数据采样点;离子数目过少,会降低定性分析的可靠性。欧盟农药残留监测指南(1999/333/EC)提出的最低要求是:选择 2 个 $m/z > 200$ 的离子,或选择 3 个 $m/z > 100$ 的离子^[5]。2000 年, Zweigenbaum^[30]通过分析检测误差的概率,提出了色谱保留时间结合 4 个特征离子,可使鉴定误差小于 10^{-4} 。然而,大多数有机农药的分子质量不大于 500 u,很难选择 4 个特征离子。于是,根据实际情况,对于一般农药选择 3 个特征离子检测,对于禁用农药则需要 4 个离子。目前这一标准在我国已普遍采用。

至此,适用于质谱的样品前处理技术、仪器检测方法、质量控制方法都已具备,基于质谱技术的农药多类多残留分析方法初步完备。21 世纪以来,GC-MS 的性能指标迅速提升。2007 年,大部分仪器的扫描速度接近、甚至超过 10 000 u/s,扫描速度不再是制约农药残留检测的要素,采用上述系统检测的农药种类越来越多。我国建立了一系列百种以上基于 GC-MS(SIM)技术的农药多类多残留检测标准方法,样品基质包括中草药、粮谷、果蔬、茶

叶、饲料、牛奶和奶粉、蜂蜜及果酒等农产品和食品,也包括水和土壤等环境样品^[31-39]。

4 串联质谱技术的发展使农药多类多残留分析进入实际应用领域

随着检测目标化合物的增多,SIM 技术选择性欠佳的问题显现出来。如 GB 23200.8—2016 方法^[33]所涉及的 500 种农药,352 种农药(约 70.4%)的保留时间集中在 17.0~29.9 min,单位时间(min)内的农药密度甚至多达 31 个。为解决待测目标物密集的问题,将 500 种农药标准品分为 5 组,分 5 次进样,使待测目标物的保留时间分散,并且尽量使相邻组分选用质量数不相同的特征离子。此方法对标准品的检测效果较好,但是样品中待测目标物可能同时存在,会影响检测结果。同类农药往往具有相同的母体结构,如三嗪类除草剂莠灭净和扑草净,它们的气相色谱保留时间相差 0.02 min,都具有 m/z 184 离子 $[\text{C}_6\text{H}_{10}\text{N}_5\text{S}]^+$,丰度分别为 16.6% 和 72%,虽然前者并未用 m/z 184 为特征离子,但在检测扑草净时,如果样品中存在莠灭净,尤其是其浓度较高时,会增强 m/z 184 离子的丰度,从而影响扑草净的鉴定。另外,有机农药的分子质量一般较小,经电子轰击电离(EI)后,大多数农药的特征离子为 m/z 50~300。样品基质的干扰离子一般也位于这一区域,目标物的信号响应值很低时,容易被淹没。与全扫描技术相比,SIM 的选择性增强,可使灵敏度提高 1 个数量级,但是仍然不能满足越来越严苛的食品安全和生态环境的检测需求。2000 年前后,虽然 GC-MS 技术已经形成标准方法,但其灵敏度不如气相色谱选择性检测器,无法确认色谱法检出的痕量阳性样品。在检测复杂样品时,无法排除基质共萃物的干扰,如含大量硫醚的韭菜、葱、蒜等蔬菜,次生代谢产物丰富的茶叶、咖啡和中草药等,都是难以检测的样品。串联质谱增加了选择性,无论是被测目标物,还是基质共萃物中质量数相同的离子(如上文 m/z 184),只要来源于质荷比不同的母离子,或者具有质荷比不同的子离子,都可以通过串联质谱技术分开。

20 世纪 80、90 年代,三重四极杆质谱仪(TSQ)和离子阱质谱仪(IT)问世,90 年代开始

就有使用这 2 种仪器研究农药残留检测方法的报道。IT 仪器构造较 TSQ 简单,实验室购置成本低,内源离子阱可以在 1 次色谱分析过程中按照目标物的保留时间选择合适的电离方式(EI 或 CI)。离子阱串联质谱技术曾一度在研究农药残留分析领域比较活跃。但是,由于离子阱质谱仪在 1 个质量分析器中按照时间顺序选择母离子、对母离子进行诱导碰撞解离、继而分析子离子,1 次 MS/MS 扫描比 TSQ 需要的时间长。1 次色谱进样 TSQ 可检测数百个组分,而 IT 只可以分离并检测上百个组分。随着 TSQ 技术的发展及仪器普及率的提高,目前多使用 TSQ 分析农药多残留。

90 年代开始,人们不断对比色谱法和串联质谱法,研究结果表明,串联质谱法比气相色谱选择性检测器和 GC-MS(SIM)具有更高的选择性,因此其灵敏度有望满足农药残留检测的要求。早期的检测方法是选择 1 个母离子,其裂解后对子离子进行扫描,在子离子谱中选择 2 个或多个离子,用子离子及其相对丰度比进行定性分析,其中丰度高的子离子的质量色谱峰面积用于定量分析。Sheridan 等^[40]指出,色谱保留时间结合 1 个母离子及其 2 个子离子可使鉴定误差小于 10^{-5} ,通过检测蔬菜、水果、牛奶中 100 种农药及其代谢物,检出限可达 $\mu\text{g}/\text{kg}(\text{L})$ 水平。

MS/MS 方法的选择性虽然明显优于 SIM 方法,但是如果目标物和干扰物有相同质量数的母离子,仍会干扰子离子谱,进而干扰检测结果。2000 年左右开发的多反应监测(MRM)功能,对母离子、子离子都进行了选择离子扫描,该方法也称为选择反应监测(SIR),不仅选择性更强,而且扫描速度快。需要注意的是,MRM 技术不再出具子离子谱,而是 2 个子离子的质量色谱图。对目标物进行鉴定时,需要用 2 个子离子的峰面积(或峰高)之比代替离子强度之比。另外,串联质谱子离子的丰度受外界条件影响较大,必须以同一批次实验中相近的标准品作为参照,二者子离子的峰面积(或峰强度)比值在允许误差范围内时方能避免假阳性结果。Wong 等^[41]使用 MRM 方法研究了菠菜中 166 种有机氯、有机磷、拟除虫菊酯类农药及其代谢物、异构体在菠菜中的农药残留;

Okimashi 等^[42]检测了农产品中 260 种农药残留,列举了串联质谱法所用的 2 对特征离子和 CID 能量,每个离子的驻留时间仅为 10 ms,通道间切换时间为 10 ms,检测 1 个目标物需 40 ms,作者对 173 份来自当地市场的零售水果、蔬菜和大米样品进行了分析。

2010 年之前,GC-MS/MS 方法已经成熟,但并未广泛应用于实际工作中。除了仪器造价高,主要原因是 GC-MS 所用的硬电离技术——电子轰击电离(EI)使分子离子的绝对丰度小、碎片离子多,许多农药难以获取质量数大的离子作为母离子。20 世纪末,电喷雾电离技术(ESI)的产生使液相色谱-串联质谱技术得以普遍应用,扩大了农药多残留检测范围,使 GC-MS 无法分析的许多极性农药,如杀菌剂、除草剂、一些极性杀虫剂、以及农药的极性有毒代谢物都被纳入可检测范围。与 EI 相比,ESI 的碎片离子少,而分子离子、准分子离子(或加合离子)的绝对丰度高,适合作为母离子进行二级离子分析。从 21 世纪初以来,不断有使用 LC-MS/MS 进行农药残留分析的报道。由于大多数农药分子中含有杂原子,可以用 ESI 电离,一些原来用 GC-MS 分析的农药也开始用 LC-MS 分析。Alder 等^[43]于 2006 年总结了 500 种常用农药中仅有 49 种在 LC-MS 上无响应,这 49 种农药或是不宜用 ESI 电离(如有机氯类农药),或是极性弱无法用反相色谱分析(如弱极性的拟除虫菊酯类农药)。GC-MS/MS 与 LC-MS/MS 相比,后者覆盖的农药种类多、灵敏度高。Maestronia 等^[44]使用化学成分复杂的中草药大青叶作为试材,比较了 GC-MS/MS 和 LC-MS/MS 检测 84 个代表性农药残留的选择性和灵敏度,对于大多数农药,前者的最低定量限为 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$,后者则为 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

近十几年,色谱联用技术快速发展。粒径小于 $3 \mu\text{m}$ 的液相色谱填料及超高压输液泵使液相色谱仪的分离能力大为改善,减轻了重叠组分(包括目标物和干扰物)对检测结果的干扰,质谱扫描速度进一步提高,离子驻留时间缩短至 3~5 ms,单位时间可以检测(即分辨)更多组分。质谱电喷雾技术的改善,各种联用仪离子传输效率的提升,质量分析系统的改进,以及通过离轴式高压打拿极,或在质量分析器出

口增加透镜系统聚焦等措施提高仪器的信噪比,由此可减少进入仪器的基质含量,减轻了质谱检测器对选择性的压力,用更少的试样即可满足检测灵敏度的需求。农药在农作物中的最高允许残留限量(MRL)一般不低于 0.01 mg/kg (0.01 ng/mg),分析方法的选择性相当于从 10 mg 样品中筛查 0.1 ng 的痕量农药。当仪器的最低检出限为 0.1 mg/L 时,样品一般需要浓缩 10 倍或以上才能进行检测,即 10 g 样品提取净化后,浓缩为 1 mL,试样溶液中样品基质含量相当于 10 mg/ μ L。随着仪器信噪比的提高,样品浓缩倍数越来越小,Nguyen 等^[45]使用 QuEChERS 法处理圆白菜和胡萝卜,用 GC-MS(SIM)检测,样品浓缩了 3 倍。目前大多数串联检测方法无需样品浓缩^[46],有些甚至只需对样品进行简单提取即可检测^[47]。

无论是 GC-MS 还是 LC-MS,都不能单独检测全部需要检测的农药,于是产生了二者结合的多类多残留检测方法。Pang 等^[48]于 2009 年研究了 839 种农药和化学污染物在动物源食品(牛肉、羊肉、猪肉、鸡肉和兔肉)中的残留分析方法,对脂肪含量较高的样品,提取后经凝胶色谱净化,用 GC/MS(SIM)和 LC/MS/MS 分析。而后,我国结合 GC-MS/MS 与 LC-MS/MS 技术建立了农药多类多残留检测标准方法,用于粮谷、油料作物、糖料作物、香辛料以及新鲜或干制的食用菌、蔬菜、水果等^[49-50]。

5 目前的问题及展望

色谱-质谱联用技术改变了农药残留分析方法,经过 30 多年,该技术从研究室进入检测实验室,色质联用仪成为农药残留检测不可或缺的设备。但在色谱的同一保留时间,一旦样品干扰物中出现了与检测所用的母离子/子离子对质量数相同的离子,就可能产生误差。如 Wong 等^[41]发现,由于基质干扰,氟啶酮在菠菜中的回收率超过 300%;笔者也曾见到香菜中检出了不可能出现的除草剂。另外,农作物生产过程及环境复杂,农药残留既可能产生于有意施用农药,也可能来源于环境影响,因此难以预测残留农药的种类。近年来提出了非目标物农药残留检测的要求,这一切都在引导高分辨质谱进入农药残留分析领域。

参考文献:

- [1] 蔡盛林. 中国农业百科全书:农药卷[M]. 北京:农业出版社,1993.
- [2] ZWEIG G. Analytical methods for pesticides, plant growth regulators, and food additives[M]. Academic Press, 1963.
- [3] 唐英章. 现代食品安全检测技术[M]. 北京:科学出版社,2004.
- [4] NY/T 761—2008 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定[S]. 北京:农业出版社,2008.
- [5] 农药残留分析质量控制程序——欧盟农药残留监测指南[R]. 中国标准化, 2003: 46-56.
- [6] COOK J, ENGEL M, WYLIE P, QUIMBY B. Multiresidue screening of pesticides in foods using retention time locking, GC-AED, database search, and GC/MS identification[J]. Journal of AOAC International, 1999, 82(2): 313-326.
- [7] 农药残留影响及其测定方法[M]. 陈筱侠译. 上海:上海科学技术文献出版社,1980: 35-45.
- [8] 王维国,李重九,李玉兰,徐建忠. 有机质谱应用[J]. 北京:化学工业出版社,2006.
- [9] 樊德方. 农药残留量分析与检测[M]. 上海:上海科学技术出版社,1982.
- [10] 宋淑玲,李重九,马晓东. 蔬菜农药多残留分析中基质共提物净化方法的研究[J]. 分析测试学报,2008,27(8):795-799.
SONG Shuling, LI Chongjiu, MA Xiaodong. Study on clean-up method for co-extractions of multiple pesticide residues in vegetables[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2008, 27(8): 795-799(in Chinese).
- [11] 陈小华,汪群杰. 固相萃取技术与应用[M]. 北京:科学出版社,2010.
- [12] NY/T 1379—2007 蔬菜中 334 种农药多残留的测定 气相色谱质谱法和液相色谱质谱法[S]. 北京:农业出版社,2007.
- [13] GB 23200.8—2016 水果和蔬菜中 500 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2017.
- [14] ANASTASSIADES M, LEHOTAY S J, STAJNBAHER D, SCHENCK F J. Fast easy multi-residue method employing acetonitrile extraction partitioning and ‘dispersive solid phase extraction’ for determination of pesticide residues in produce[J]. J AOAC Int, 2003, 86: 412-431.
- [15] BS EN 15662-2016 Foods of plant origin-multim-

- ethod for the determination of pesticide residues using GC- and LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE-Modular QuEChERS-method[S]. BSI Standards Publication, 2016.
- [16] BILLER J E, BIEMANN K. A novel approach for the utilization of gas chromatograph-mass spectrometer data[J]. *Analytical Letters*, 1974, 7(7): 515-528.
- [17] COLBY B N. Spectral deconvolution for overlapping GC/MS components[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 1992(3): 558-562.
- [18] DROMEY R G, STEFIK M J, RINDFLEISCH T C, DUFFIELD A M. Extraction of mass spectra free of background and neighboring component contributions from gas chromatography/mass spectrometry data[J]. *Anal Chem*, 1976, 48(9): 1 368-1 375.
- [19] 张伟国. 复杂基质(大米)中农药多残留分析方法研究[D]. 北京:中国农业大学,2006.
- [20] DAGAN S. Comparison of gas chromatography-pulsed flame photometric detection-mass spectrometry, automated mass spectral deconvolution and identification system and gas chromatography-tandem mass spectrometry as tools for trace level detection and identification[J]. *Journal of Chromatography A*, 2000, 868(2): 229-247.
- [21] NORLI H R, CHRISTIANSEN A, HOLEN B. Independent evaluation of a commercial deconvolution reporting software for gas chromatography mass spectrometry analysis of pesticide residues in fruits and vegetables[J]. *Journal of Chromatography A*, 2010, 1 217(13): 2 056-2 064.
- [22] JOHNSEN L G, SKOU P B, KHAKIMOV B, BRO R. Gas chromatography mass spectrometry data processing made easy[J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1 503: 57-64.
- [23] DABROWSKI U. Evaluation of a simplified method for GC/MS qualitative analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons polychlorinated biphenyls and organic pesticides using PARADISE computer program[J]. *Molecules*, 2020, 25 (16): 3 727-3 736.
- [24] STAN H J. Application of capillary gas chromatography with mass selective detection to pesticide residue analysis[J]. *Journal of Chromatography*, 1989, 467(1): 85-98.
- [25] WEST S D, WESTON J H, DAY E W J. Gas chromatographic determination of residue levels of the herbicides trifluralin, benefin, ethalfluralin, and isopropalin in soil with confirmation by mass selective detection[J]. *Association of Official Analytical Chemists*, 1988, 71(6): 1 082-1 085.
- [26] 李重九,费菁,刘建波. 色质联机多离子检测法(MID)用于黄瓜农药多残留分析的探讨[J]. *中国农业大学学报*, 1998, 3(3): 77-81.
- LI Chongjiu, FEI Qing, LIU Jianbo. Study on pesticides multiresidue analyses in cucumber by GC/MS (MID)[J]. *Journal of China Agricultural University*, 1998, 3(3): 77-81(in Chinese).
- [27] JULIE F, RALPH H, MARIO L, JENNIFER S. Multiresidue determination of pesticides in fruit and vegetables by gas chromatography-mass-selective detection and liquid-chromatography with fluorescence detection[J]. *Journal of AOAC International*, 1995, 78(5): 1 252-1 266.
- [28] JULIE F, FRANCOIS S, JENNIFER S. Multiresidue method for the determination of residues of 251 pesticides in fruits and vegetables by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography with fluorescence detection[J]. *Journal of AOAC International*, 2000, 83(3): 698-713.
- [29] PANG G F, FAN C L, LIU Y M, CAO Y Z, ZHANG J J, LI X M, LI Z Y, WU Y P, GUO T T. Determination of residues of 446 pesticides in fruits and vegetables by three-cartridge solid-phase extraction-gas chromatograph-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of AOAC International*, 2006, 89(3): 740-771.
- [30] ZWEIGENBAUM J. Mass spectrometry in food safety: methods and protocols[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2011, 747: 199-201.
- [31] GB 23200.10—2016 桑枝、金银花、枸杞子和荷叶中 488 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国标准出版社, 2017.
- [32] GB/T GB 23200.9—2016 粮谷中 475 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国标准出版社, 2017.
- [33] GB/T 23376—2009 茶叶中农药多残留测定 气相色谱/质谱法[S]. 北京:中国标准出版社,

- 2010.
- [34] GB 23200.15—2016 食用菌中 503 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2017.
- [35] GB/T 23744—2009 饲料中 36 种农药多残留测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2009.
- [36] GB 23200.85—2016 乳及乳制品中多种拟除虫菊酯 农药残留量的测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2017.
- [37] GB 23200.7—2016 蜂蜜、果汁和果酒中 497 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2017.
- [38] HJ 699—2014 水质 有机氯农药和氯苯类化合物的测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国环境科学出版社,2014.
- [39] HJ 743—2015 土壤和沉积物 多氯联苯的测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国环境科学出版社,2015.
- [40] SHERIDAN R S, MEOLA J R. Analysis of pesticide residues in fruits, vegetables, and milk by gas chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Journal of AOAC International*, 1999, 82 (4): 982-990.
- [41] WONG J W, ZHANG K, HAYWARD D G, KAI-MENG C. Multiresidue pesticide analysis by capillary gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2011, 747: 131-172.
- [42] OKIHASHI M, TAKATORI S, KITAGAWA Y, TANAKA Y. Simultaneous analysis of 260 pesticide residues in agricultural products by gas chromatography/triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Journal of AOAC International*, 2007, 90(4): 1 165-1 179.
- [43] ALDER L, GREULICH K, KEMPE G, VIETH B. Residue analysis of 500 high priority pesticides: better by GC-MS or LC-MS/MS? [J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 2006, 25: 838-865.
- [44] MAESTRONIA B, BESILB N, BOJORGEC A, GÉREZC N, PÉREZ-PARADAC A, CANNAVANA A, HEINZENB H, CESIOB M W. Optimization and validation of a single method for the determination of pesticide residues in *Peumus boldus* Molina leaves using GC-MSD, GC-MS/MS and LC-MS/MS [J]. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2020, 18: 100 254.
- [45] NGUYEN T D, YU J E, LEE D M, LEE G H. A multiresidue method for the determination of 107 pesticides in cabbage and radish using QuEChERS sample preparation method and gas chromatography mass spectrometry [J]. *Food Chemistry*, 2008, 110(1): 207-213.
- [46] SINHA S N, VASUDEV K, RAO M V V. Quantification of organophosphate insecticides and herbicides in vegetable samples using the "Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe" (QuEChERS) method and a high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry (LC-MS/MS) technique [J]. *Food Chemistry*, 2012, 132: 1 574-1 584.
- [47] PIZZUTTI I R, KOK A D, ZANELLA R, ADAIMEA M B, HIEMSTRA M, WICKERT C, PRESTES O D. Method validation for the analysis of 169 pesticides in soya grain, without clean up, by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using positive and negative electrospray ionization [J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1 142(2): 123-136.
- [48] PANG G F, CAO Y Z, FAN C L, JIA G Q, ZHANG J J, LI X M, LIU Y M, SHI Y Q, LI Z Y. Analysis method study on 839 pesticide and chemical contaminant multiresidues in animal muscles by gel permeation chromatography cleanup, GC/MS, and LC/MS/MS [J]. *Journal of AOAC International*, 2009, 92(3): s1-s72.
- [49] GB 23200.113—2018 植物源性食品中 208 种农药及其代谢物残留量的测定 气相色谱-质谱联用法[S]. 北京:中国标准出版社,2018.
- [50] GB 23200.121—2021 植物源性食品中 331 种农药及其代谢物残留量的测定 液相色谱-质谱联用法[S]. 北京:中国标准出版社,2021.

(收稿日期:2021-08-21;修回日期:2021-08-26)