

# 离子阱飞行时间串联质谱快速 筛查农产品中农药残留

## No.LCMS-IT-TOF-006

**摘要：** 本文使用离子阱飞行时间串联质谱（LCMS-IT-TOF）定性检测出了大米和菠菜样品中的19种农药。并且对其中4种农药进行了3级质谱的分析，使用分子式预测软件对目标离子进行了分子式预测。与1级质谱的预测结果相比可以明显地减少候选分子式数量，提高了分子式预测结果的准确性。

**关键词：** 农药残留 离子阱飞行时间串联质谱 LCMS-IT-TOF 液质联用

我国食品安全问题近年来得到高度重视。其中，种植和养殖过程中引入的源头污染问题较严重，主要为农药、兽药（抗生素、激素）和违禁饲料添加剂的滥用和残留。而在源头可能添加进去的农药种类繁多，对于检验检疫来说是个极大的考验，迫切需要一种能同时进行农药多残留分析的方法。各种串联和杂交质谱近年来得到了广泛应用。其中，三重四级杆质谱的定量能力强，但是由于低分辨率和低质量数准确度的缺点，仅适合对已知化合物进行定性和定量分析。四级杆飞行时间串联质谱具备高分辨率和高质量数准确度的特点，但是只能进行2级质谱分析，因此化合物分子式预测结果不确定性大，对复杂裂解规律的推导比较困难。而离子阱飞行时间串联质谱由于既具备多级质谱功能（最多到10级），又具备高分辨率和高质量数准确度，因此特别适合于同时对多种微量成分进行准确的定性和定量分析。本文采用超快速液相色谱和离子阱飞行时间串联质谱联用，定性检测出了大米和菠菜阳性样品中的19种农药。

## ■ 实验部分

### 1、试剂与仪器

试剂：乙腈，HPLC级；纯水，Milli-Q超纯水仪制备得到；甲酸，LCMS级；乙酸铵，LCMS级；所有试剂和样品需用0.45 μm以下滤膜过滤。仪器：岛津超快速液相色谱仪（UFLC）和离子阱飞行时间串联质谱仪（LCMS-IT-TOF）。具体配置为：输液泵LC-20AD×2，在线脱气机DGU-20A<sub>3</sub>，自动进样器SIL-20A<sub>CHT</sub>，柱温箱CTO-20AC，控制器CBM-20A，离子阱飞行时间串联质谱仪LCMS-IT-TOF，工作站LCMSsolution V3.50。

### 样品前处理方法

准确称取2.5g粉碎好的样品（若为干样品称取1.0g加5mL水）于50mL离心管中，加入10mL乙腈混匀，加入4g无水MgSO<sub>4</sub>和1gNaCl，振荡提取10min，6000rpm离心10min，上清液取1mL加入1mL水，过0.45 μm滤膜后供LC-MS分析。

### 2、分析条件

#### 色谱条件

色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS，2.0 mm I.D. × 75 mm L.，2.2 μm；流动相：A相 - 含10mM乙酸铵和0.1%甲酸的水溶液，B相 - 含0.1%甲酸的乙腈；流速：0.3mL/min；柱温：40℃；进样量：2 μL；梯度洗脱程序：0到2分钟从20%B线性增加到100%B，2-7分钟维持100%B，7分钟到7.10分钟线性递减到20%B，7.10分钟到12分钟维持20%B。

#### 质谱条件

离子源：ESI，正负离子同时扫描；扫描范围：MS<sup>1</sup>m/z150-1000，MS<sup>2</sup>m/z50-500，MS<sup>3</sup>m/z50-500；加热模块温度：200℃；CDL温度：200℃；雾化气流速：1.5L/min；干燥气流速：10L/min；离子源电压：正离子模式+4.5 kV，负离子模式-3.5 kV；检测器电压：1.70 kV；质量数校准方法：自动调谐优化电压，外标法校准质量数。

## 结果与讨论

提取离子流色谱图(EIC):

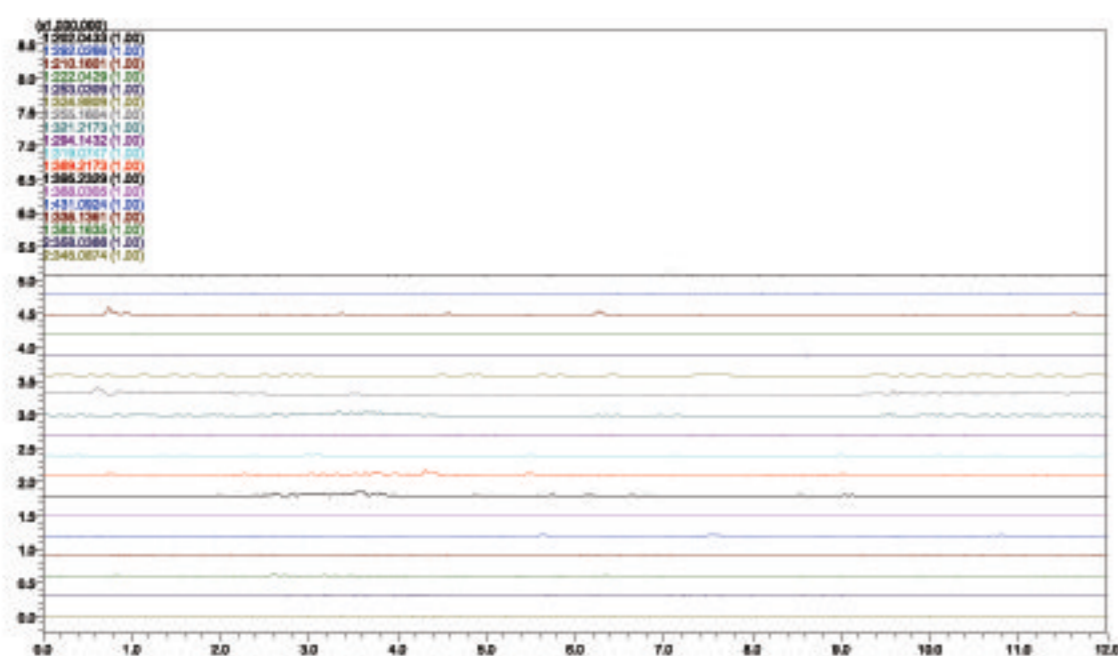


图1 大米空白样品提取离子流色谱图

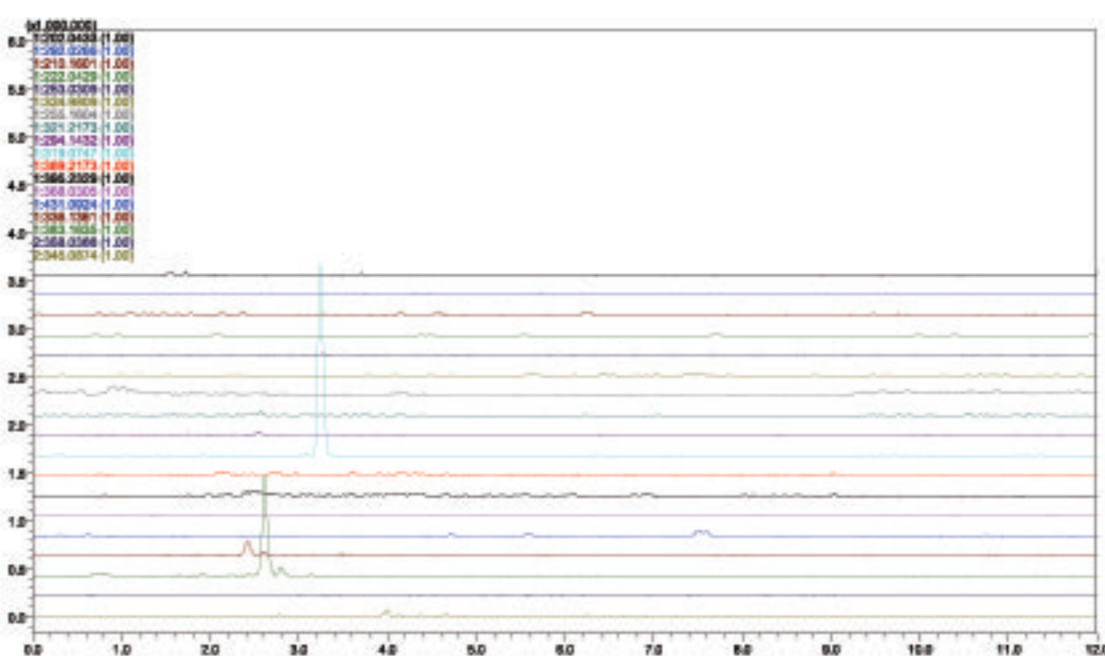


图2 菠菜空白样品提取离子流色谱图

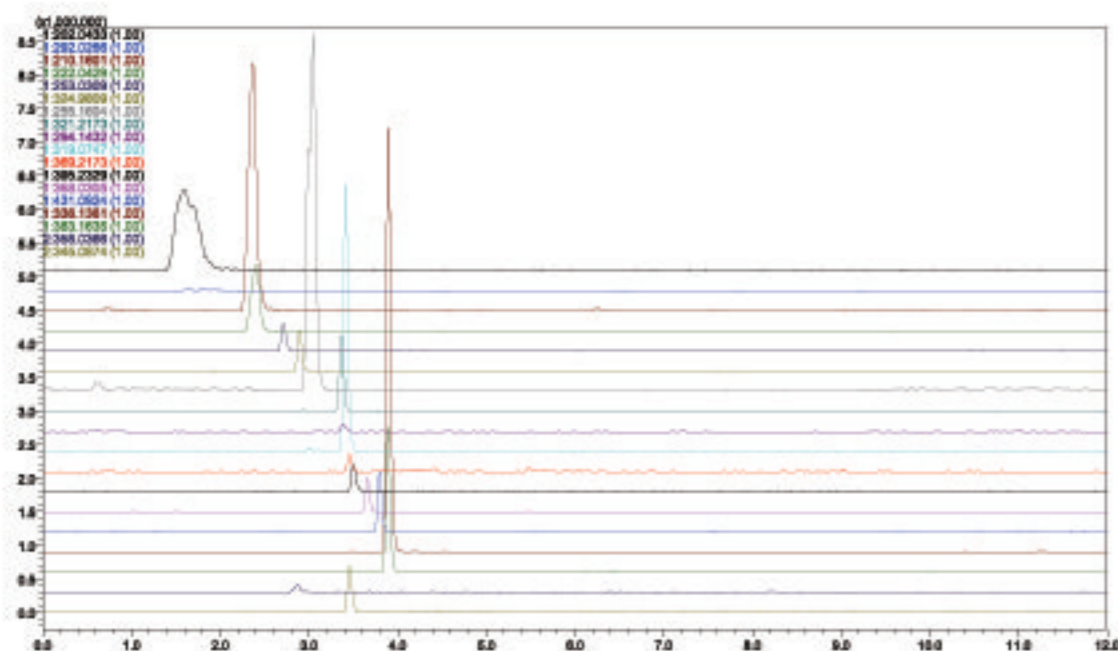


图3 大米阳性样品提取离子流色谱图

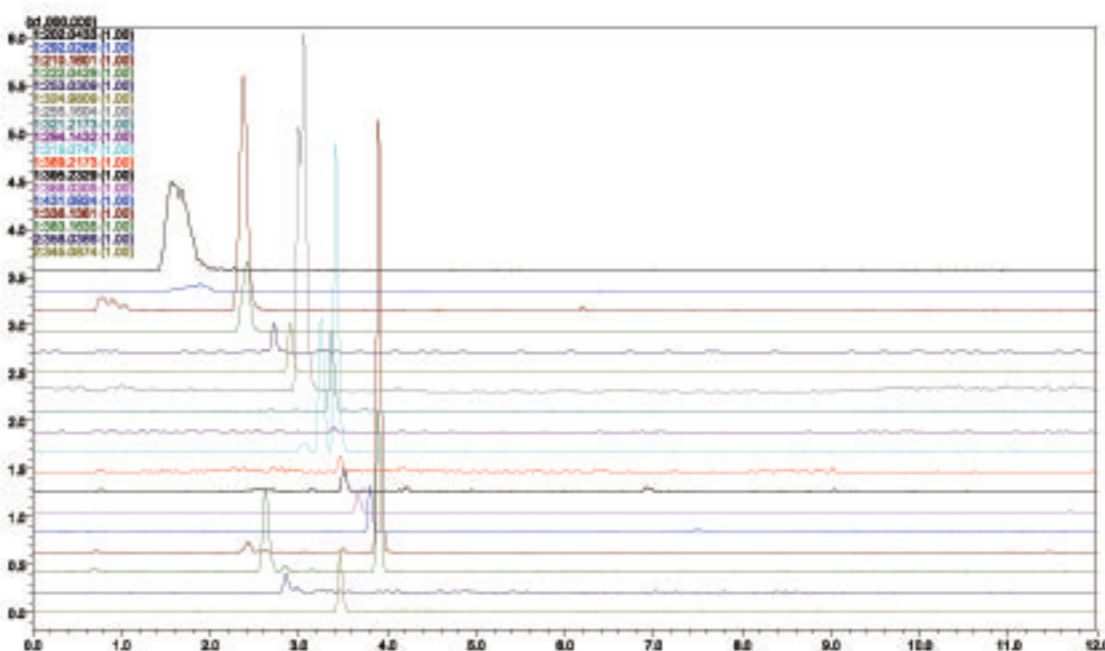


图4 菠菜阳性样品提取离子流色谱图

以上提取离子流色谱图中前16种为正离子, 后2种为负离子, 共18种不同质核比离子。由于m/z255.1604存在2种异构体, 故实际共测得19种农药。

通过软件的谱图对比功能, 从筛选数据库中快速检测到19种农药, 列表如下:

表1 检测到的19种离子列表

ID	分子式	中文名	英文名	RT(min)	m/z	Ion
1	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> S	噻菌灵	Thiabendazole	1.59	202.0433	[M+H] <sup>+</sup>
2	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub> SCl	噻虫嗪	Thiamethoxam	1.64	292.0266	[M+H] <sup>+</sup>
3	C <sub>11</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O	二甲嘧啶	Dimethirimol	2.37	210.1601	[M+H] <sup>+</sup>
4	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> N <sub>3</sub> OCl	杀草敏	Chloridazon	2.41	222.0429	[M+H] <sup>+</sup>
5	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> N <sub>4</sub> SCl	噻虫啉	Thiacloprid	2.71	253.0309	[M+H] <sup>+</sup>
6	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> PSCl	甲基吡啶磷	Azamethiphos	2.89	324.9809	[M+H] <sup>+</sup>
7	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub>	(E)-噻菌脲	(E)-Ferimzone	3.05	255.1604	[M+H] <sup>+</sup>
8	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub>	(Z)-噻菌脲	(Z)-Ferimzone	3.05	255.1604	[M+H] <sup>+</sup>
9	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	丙森锌	Iprovalicarb	3.37	321.2173	[M+H] <sup>+</sup>
10	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> OFSi	硅氟唑	Simeconazole	3.38	294.1432	[M+H] <sup>+</sup>
11	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S	环酯草醚	Pyrifthalid	3.41	319.0747	[M+H] <sup>+</sup>
12	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	甲氧虫酰肼	Methoxyphenozide	3.45	369.2173	[M+H] <sup>+</sup>
13	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	环虫酰肼	Chromafenozide	3.50	395.2329	[M+H] <sup>+</sup>
14	C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub> PS <sub>2</sub> Cl	莎稗磷	Anilofos	3.66	368.0305	[M+H] <sup>+</sup>
15	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Cl <sub>2</sub>	吡草酮	Benzofenap	3.79	431.0924	[M+H] <sup>+</sup>
16	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> NO <sub>3</sub> Cl	解毒啞	Cloquintocet-Mexyl	3.89	336.1361	[M+H] <sup>+</sup>
17	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S	呋线威	Furathiocarb	3.89	383.1635	[M+H] <sup>+</sup>
18	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>4</sub> SF <sub>3</sub>	异噁氟草	Isoxaflutole	2.87	358.0366	[M-H] <sup>-</sup>
19	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> S	氨磺乐灵	Oryzalin	3.45	345.0874	[M-H] <sup>-</sup>

根据多级质谱图的精确质量数信息可以推导出化合物的裂解规律。部分农药的MS<sup>3</sup>质谱图、分子式预测结果和裂解规律如下：

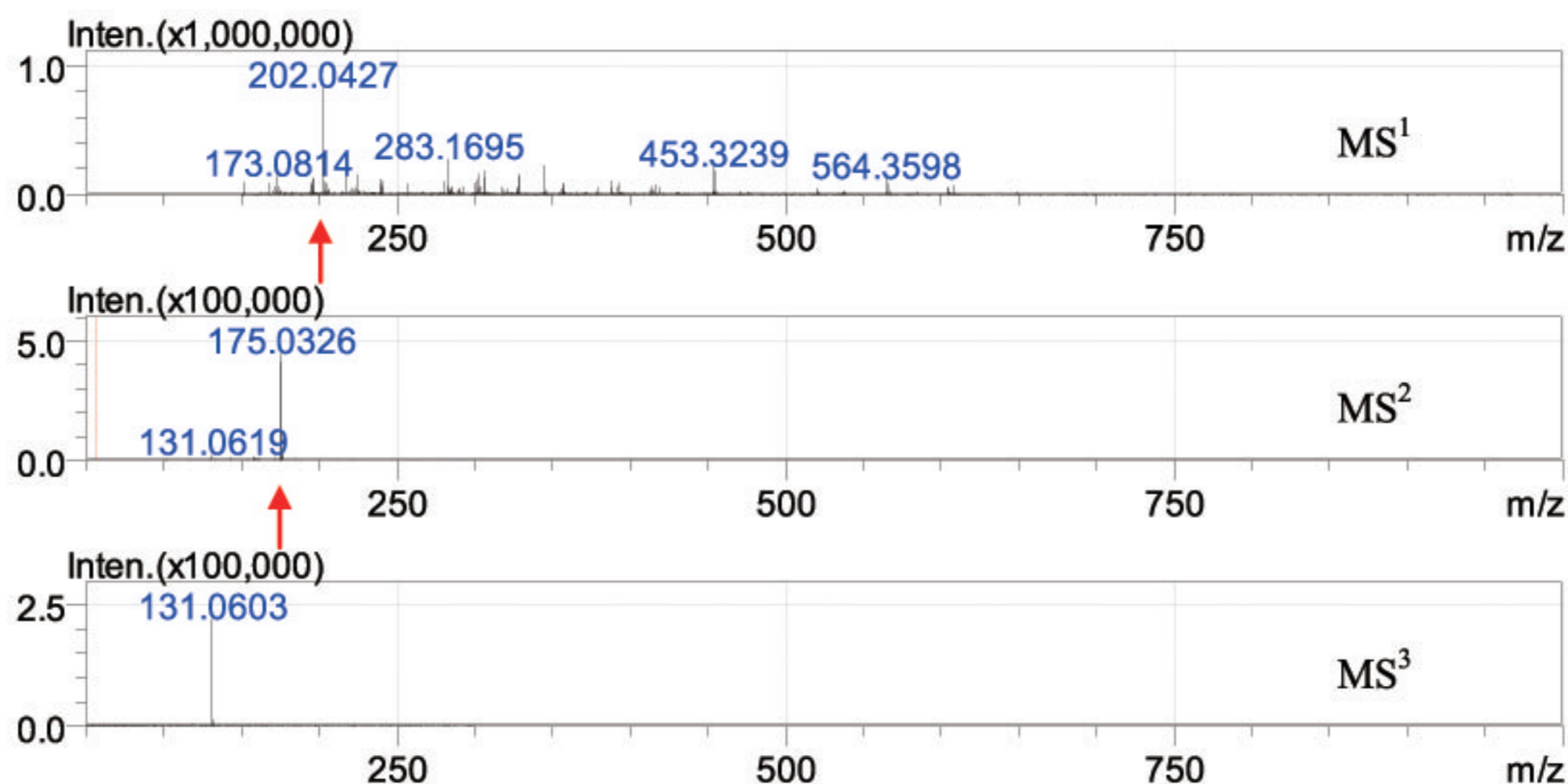


图5 噻菌灵 (m/z 202.0433) 的MS<sup>3</sup>质谱图 (红色箭头表示前体离子)

表2 噻菌灵 (m/z 202.0433) 的MS<sup>3</sup>分子式预测结果

Rank	Score	Formula	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Diff (mDa)	Diff (ppm)	Iso Score	DBE
1	63.91	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	202.0427	202.0433	-0.6	-2.97	67.22	9

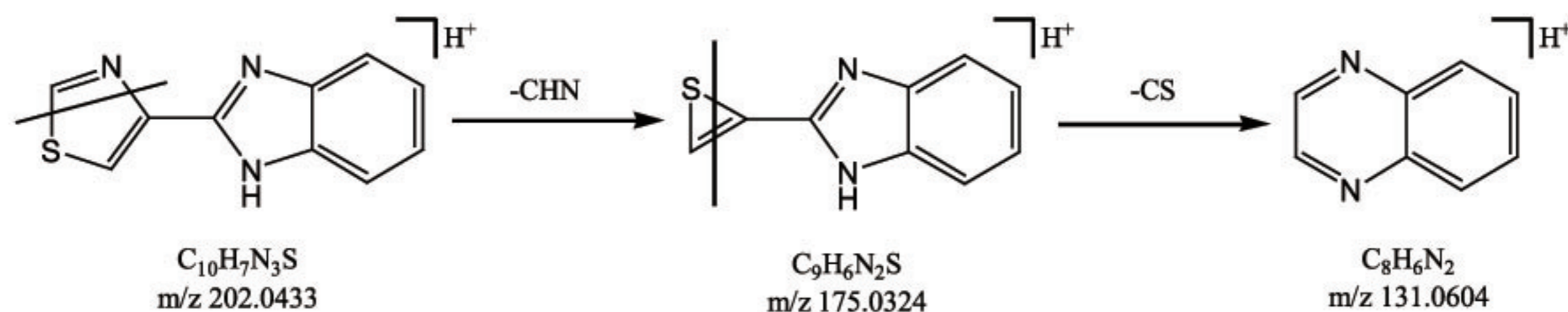


图6 噻菌灵 (m/z 202.0433) 的MS<sup>3</sup>裂解规律

预测分子式时选择使用碎片信息 (MS<sup>n</sup>)。对噻菌灵 (m/z 202.0433) 的MS<sup>3</sup>分子式预测结果 (分子式预测软件中设置的可能元素组成是C, H, N, O, P, S, F, Cl, Br) 表明仅有唯一正确的候选化合物, 相比MS<sup>1</sup>分子式预测结果有2个候选化合物, 增加了分子式预测准确性。目标离子质量数偏差为-2.97 ppm。

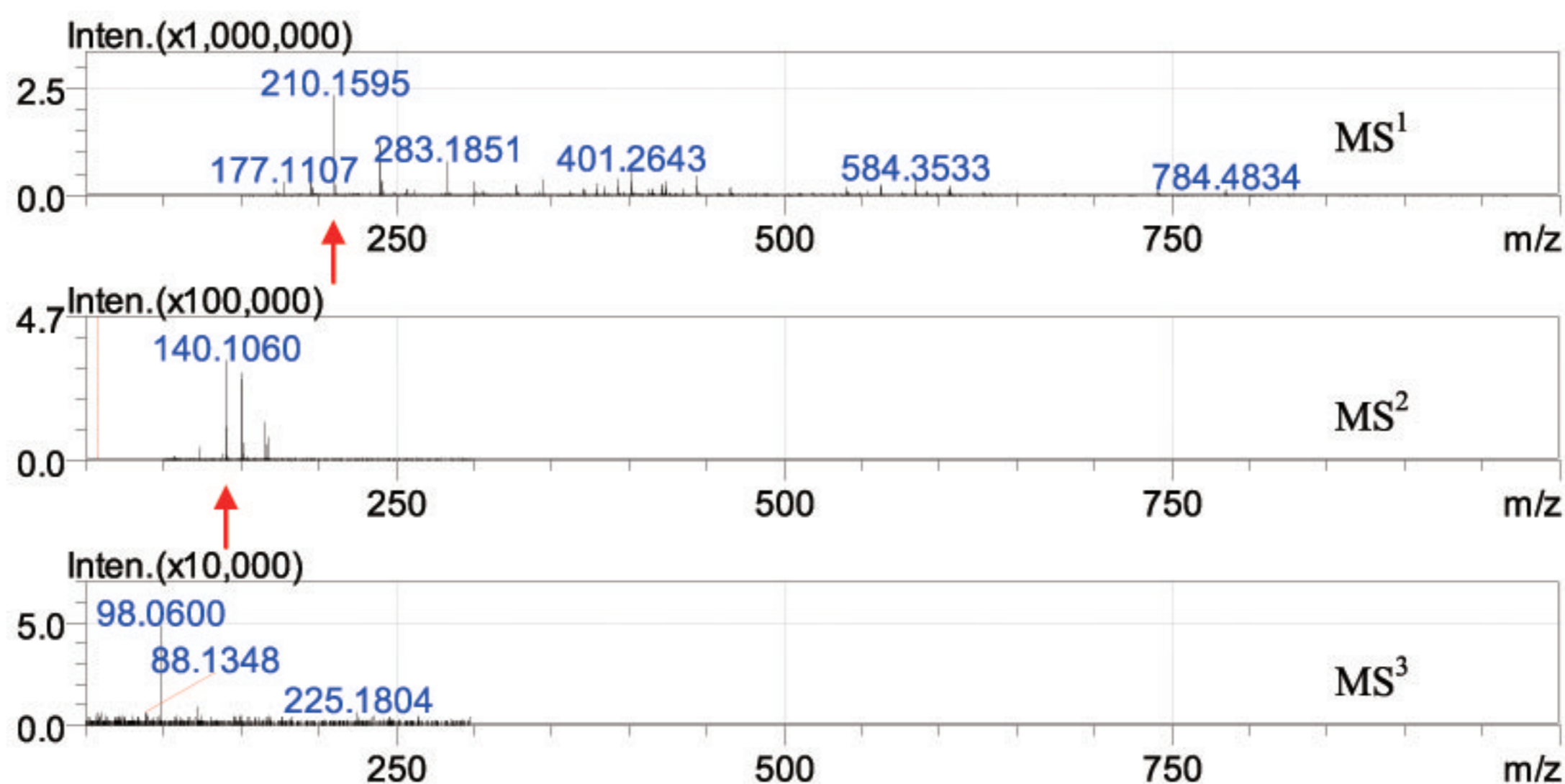
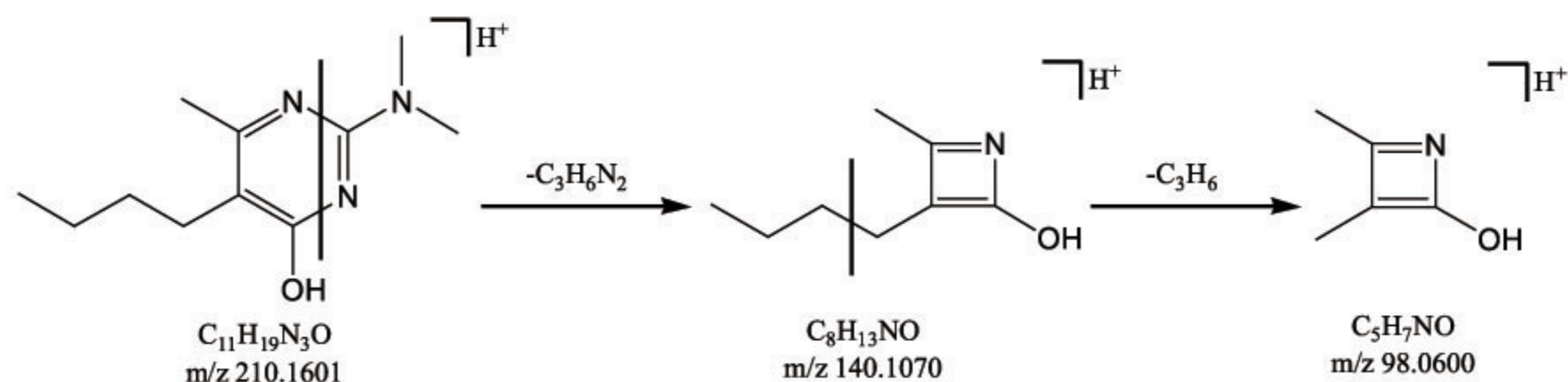


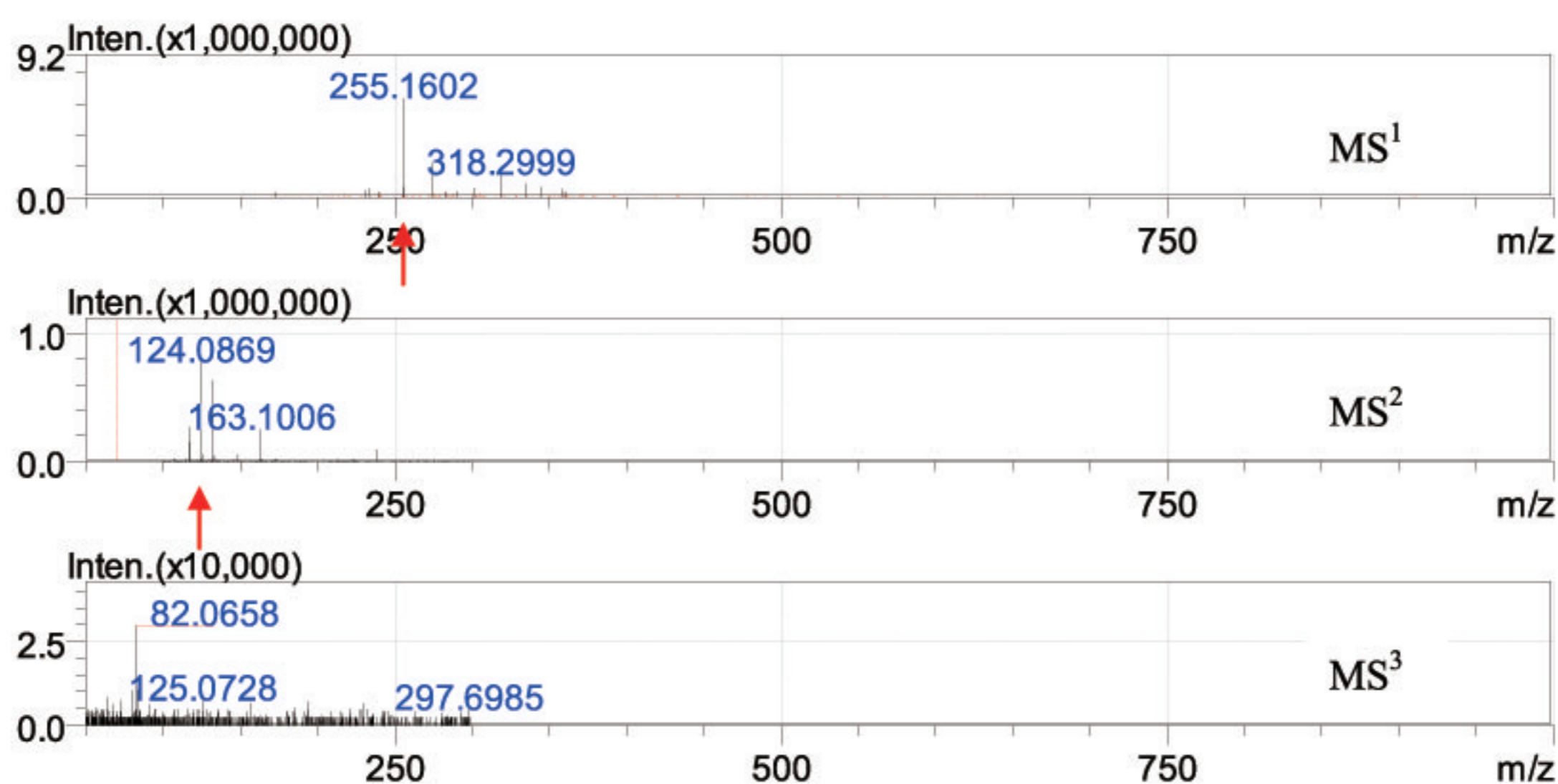
图7 二甲嘧吩 (m/z 210.1601) 的MS<sup>3</sup>质谱图

表3 二甲嘧啶 ( m/z210.1601 ) 的MS<sup>3</sup>分子式预测结果

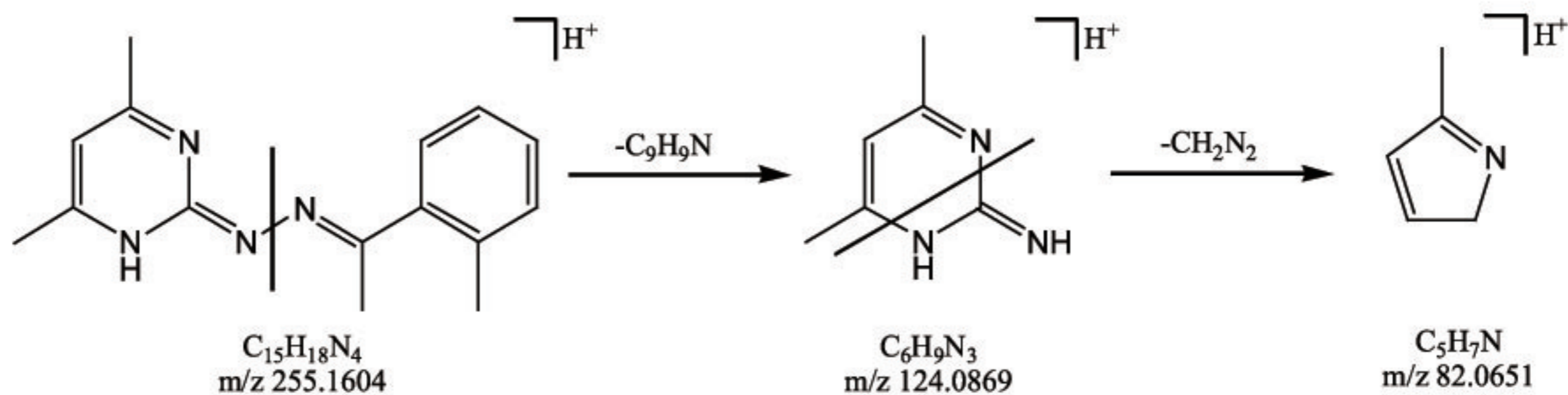
Rank	Score	Formula	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Diff (mDa)	Diff (ppm)	Iso Score	DBE
1	67.64	C <sub>11</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	210.1595	210.1601	-0.6	-2.85	70.92	4.0

图8 二甲嘧啶 ( m/z 210.1601 ) 的MS<sup>3</sup>裂解规律

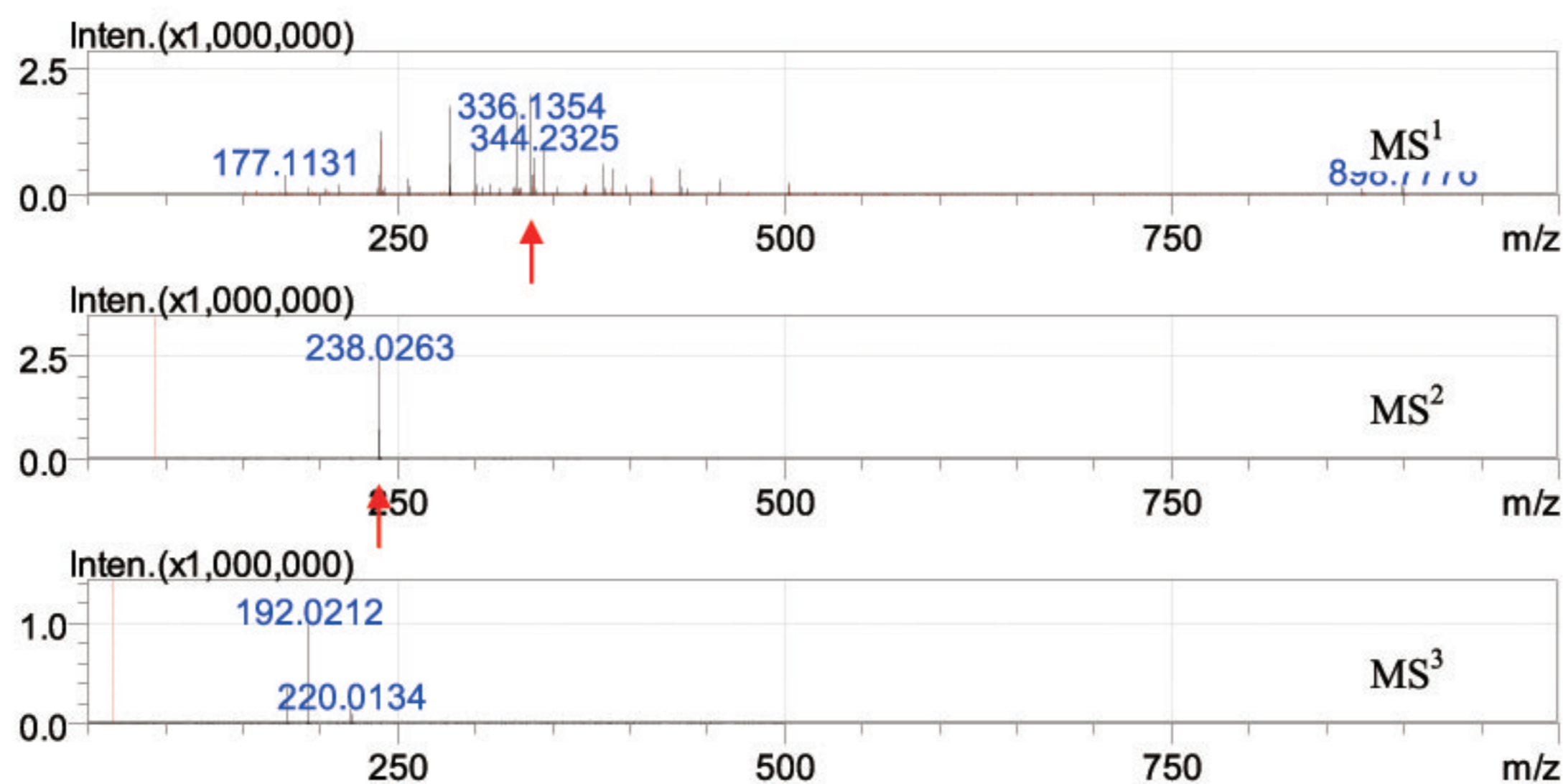
对二甲嘧啶 ( m/z210.1601 ) 的分子式预测结果表明MS<sup>3</sup>预测结果中仅有唯一正确的候选化合物, 相比MS<sup>1</sup>预测结果中有4个候选化合物, 增加了分子式预测准确性。目标离子质量数偏差为-2.85 ppm。

图9 (E)-嘧菌脞 ( m/z 255.1604 ) 的MS<sup>3</sup>质谱图表4 (E)-嘧菌脞 ( m/z 255.1604 ) 的MS<sup>3</sup>分子式预测结果

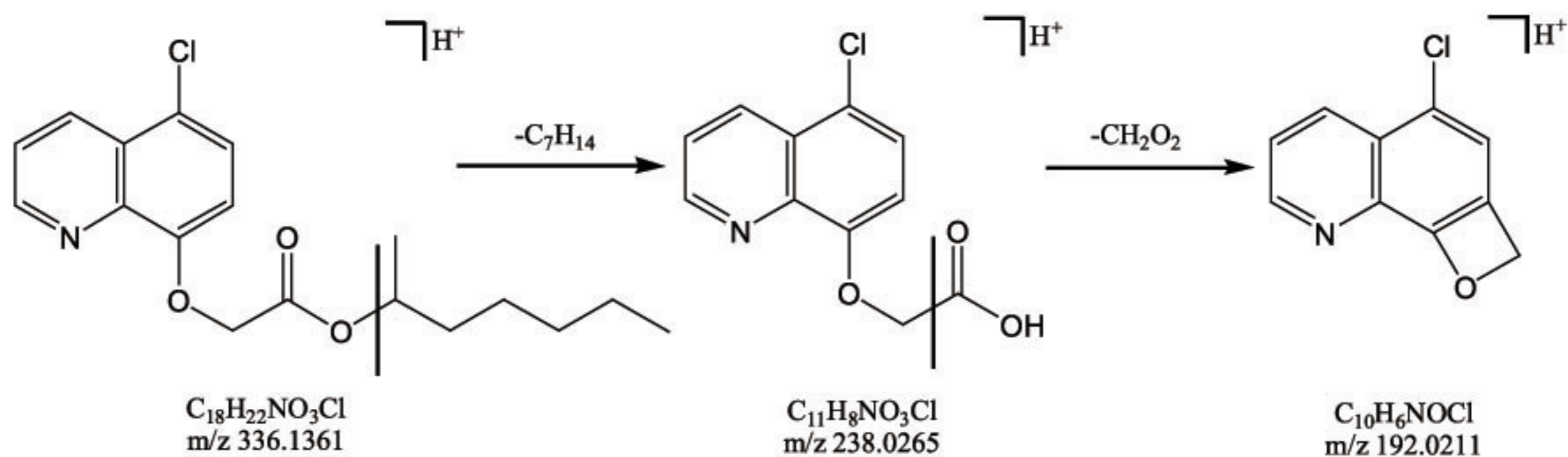
Rank	Score	Formula	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Diff (mDa)	Diff (ppm)	Iso Score	DBE
1	55.91	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	255.1602	255.1604	-0.2	-0.78	55.91	9.0

图10 (E)-嘧菌脞 ( m/z 255.1604 ) 的MS<sup>3</sup>裂解规律

对 (E)-嘧菌脞 ( m/z255.1604 ) 的分子式预测结果表明MS<sup>3</sup>预测结果中仅有唯一正确的候选化合物, 相比MS<sup>1</sup>预测结果中有4个候选化合物, 增加了分子式预测准确性。目标离子质量数偏差为-0.78 ppm。

图11 解毒啉 ( m/z336.1361 ) 的MS<sup>3</sup>质谱图表5 解毒啉 ( m/z336.1361 ) 的MS<sup>3</sup>分子式预测结果

Rank	Score	Formula	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Diff (mDa)	Diff (ppm)	Iso Score	DBE
1	87.13	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> NO <sub>3</sub> Cl	[M+H] <sup>+</sup>	336.1354	336.1361	-0.7	-2.08	89.55	8.0
2	82.07	C <sub>12</sub> H <sub>23</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub> PCl	[M+H] <sup>+</sup>	336.1354	336.1351	0.3	0.89	82.07	4.0
3	29.75	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> NO <sub>4</sub> P	[M+H] <sup>+</sup>	336.1354	336.1359	-0.5	-1.49	30.12	8.0

图12 解毒啉 ( m/z336.1361 ) 的MS<sup>3</sup>裂解规律

对解毒啉 ( m/z336.1361 ) 的分子式预测结果表明MS<sup>3</sup>预测结果中有3个候选化合物, 且目标离子排名第一, 相比MS<sup>1</sup>预测结果中有9个候选化合物, 提高了分子式预测准确性。目标离子质量数偏差为-2.08ppm。

## 结论

本文使用离子阱飞行时间串联质谱 ( LCMS-IT-TOF ) 定性检测出大米和菠菜阳性样品中的19种农药成分。用3级质谱分析了其中的4种化合物, 并给出了准确的MS<sup>3</sup>分子式预测结果。由于实际样品检测时可能添加的农药都是未知的, 因此分子式预测软件要设置的元素组成应该尽可能的全, 由此带来的问题是预测出的分子式数目很多, 结果不确定性大。利用离子阱飞行时间串联质谱的MS<sup>n</sup>功能和每一级都具备高质量数准确度的特点就可以很好地解决这一问题。