

食用农产品农药残留监测 与风险评估溯源技术研究

庞国芳 等 著



科学出版社

食用农产品农药残留监测 与风险评估溯源技术研究

庞国芳 等 著



科学出版社

北京

内 容 简 介

本书共5章。第1章介绍了1200多种农药化学污染物LC-Q-TOF/MS、GC-Q-TOF/MS、IDA-LC-Q-TOF/MS、LC-Q-Orbitrap/MS高分辨质谱数据库的创建与高通量非靶向农药多残留筛查方法的建立,实现了农药多残留非靶向侦测的电子化。第2章介绍了高分辨质谱-互联网-数据科学三元技术创新融合,创建了农药残留数据采集与智能分析平台,实现了海量侦测数据报告生成的自动化。第3章介绍了高分辨质谱-互联网-地理信息系统三元技术创新融合,研发了我国农药残留可视化在线制图系统,编制了中国市售水果蔬菜农药残留水平地图集,实现了农药残留风险溯源的视频化。第4章和第5章介绍了2012~2015年采用高分辨质谱技术对全国42个城市(27个省会城市、4个直辖市及11个果蔬主产区城市)2万多例市售果蔬样品进行侦测,形成了全国市售果蔬农药残留侦测报告;在此基础上,通过食品安全指数模型和风险系数模型,对受检农药开展了暴露风险评估和预警风险评估,形成了全国范围内市售果蔬农药残留膳食暴露风险与预警风险评估报告。

本书融合了高分辨质谱技术、数据科学理论以及WebGIS技术在农产品农药残留监控与评价的创新理论和创新应用研究成果,具有很高的学术价值和实用价值。可供从事食品生产、安全管理、质量监测、农业环境保护、科研、教育等技术与应用的各类专业技术人员参考。

审图号: GS(2018)1483号

图书在版编目(CIP)数据

食用农产品农药残留监测与风险评估溯源技术研究 / 庞国芳等著.
—北京: 科学出版社, 2018.6

ISBN 978-7-03-056400-9

I. ①食… II. ①庞… III. ①农产品—食品—农药残留量分析
IV. ①TS207

中国版本图书馆CIP数据核字(2018)第012000号

责任编辑: 杨 震 刘 冉/责任校对: 樊雅琼 王萌萌 严 娜

责任印制: 肖 兴/封面设计: 北京图阅盛世

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

http://www.sciencep.com

北京画中画印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2018年6月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2018年6月第一次印刷 印张: 61 3/4

字数: 1 460 000

定价: 298.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

序

农药的发明与使用,在解决食品供给保障问题上为人类作出了不可磨灭的重要贡献,却也带来了诸如农产品农药残留等危害人类健康的食品质量问题。随着世界人口的持续增加和耕地面积的不断减少,在今后相当长时间内,人类仍将继续依赖农药来减少农作物病虫害鼠害、提高农产品产量,以确保食品供给安全,这也意味着构成食品质量安全重要威胁的农产品农药残留问题将长期存在。因此,为了保障人类健康,保证食品安全,必须对农药残留实施严格监控。与此同时,世界发达国家利用国际贸易的“游戏规则”,凭借先进科学技术的优势,相继出台了严格的食品安全卫生标准,构筑了十分苛刻的技术壁垒措施,对不同农产品中的农药最大允许残留限量设置了越来越高的门槛。这严重制约了我国农产品出口,使我国蒙受了巨大的经济损失。

随着新农药的不断发明,日益增多的农药品种和各国愈来愈严格的最大残留限量要求,我国农产品安全领域面临以下几个亟待解决的重大问题:①如何实现更高通量的农产品农药多残留检测?②我国农产品农药残留现状和风险如何?③我国农产品农药残留在多大程度上影响我国农产品国际贸易?④如何更好地实现对农产品中农药残留的预警、问题溯源和安全监控?

作为我国农药残留分析领域的首席科学家,庞国芳院士已在该领域用心耕耘三十余载,使中国在农药多残留痕量分析技术领域的科研水平跻身于世界前列,也促进了该领域的技术进步,取得了令世界瞩目让国人骄傲的成绩。如今,年届七旬的他依然活跃在科研一线,孜孜以求,另辟蹊径,紧跟技术前沿,领导科研团队进行多学科合作研究,攻坚克难,为我国农产品安全领域的重大难题提供了一系列创新整体解决方案,并将这些研究成果集结成书,以飨读者。

该书是庞国芳院士科研团队最近5年来从事农药多残留检测技术与残留监控研究的重要专著。其创新技术理念和主要特色体现在:

第一,建立高分辨质谱非靶向侦测技术,实现农药残留检测技术跨越式发展。采用高分辨质谱技术,为世界常用1200多种农药化学污染物的每一种都创建一个自身独有的“电子身份证”(电子识别标准),建立了以电子识别标准取代传统农药实物标准做参比的鉴定方法,建立了高分辨质谱非靶向侦测技术,实现了农药残留检测技术的跨越式发展。

第二,农药残留定性筛查自动化。研究开发了农药残留质谱自动匹配定性鉴定智能筛查软件,可以自动进行样品试液检测和农药残留的定性比对,实现了非靶向农药残留快速筛查。

第三,农药残留侦测数据分析智能化。结合互联网技术与数据科学理论,建立的农药残留侦测数据采集系统和智能分析系统,实现了对海量农药残留侦测数据的自动采集和智能分析。

第四,农药残留侦测技术平台化。将高分辨质谱技术、互联网技术及数据科学技术创新融合,形成三元技术。在构建的农产品分类信息数据库、农药最大残留限量标准数

数据库、农药信息数据库、中国行政区划地理信息数据库等四大基础数据库上,实现了农药残留基础数据的关联存取与调用,打造出农药残留非靶向侦测-数据采集-智能分析技术平台,获得农药残留侦测结果数据库。

第五,农药残留侦测结果可视化。创造性地将农药残留侦测结果采用网络地理信息系统(WebGIS)进行空间分析,构建了包括在线电子地图系统和纸质地图在内的我国农药残留可视化系统,为产业自律、政府监管和第三方监督提供了基于空间可视化的科学数据支撑。

总而言之,全书充分展示了庞国芳院士科研团队农产品农药残留分析领域最前沿的技术创新以及多学科多元技术融合在农药残留监控领域的创新应用。无论是在非靶向农药残留检测品种数量上,还是高分辨质谱+互联网+数据科学/地理信息系统三元融合技术将地理信息、互联网海量数据分析方法引入农药多残留同时侦测、检测结果的可视化,均居世界领先水平。该书旨在促进提升食品安全问题发现能力、提高食品安全监管水平,以保障民众身体健康。



2017年12月29日

前 言

食品中农药及化学污染物残留问题是引发食品安全事件的重要因素，是世界各国及国际组织共同关注的食品安全重大问题之一。目前，世界上常用的农药种类超过 1200 种，而且不断地有新的农药被研发和应用，农药残留在对人类身体健康和生存环境造成新的潜在危害的同时，也给农药残留检测技术提出了越来越高的要求和新的挑战。作者团队以高分辨质谱技术为基础，研究建立了一系列适用于蔬菜水果等农产品中 1200 多种农药化学污染物的非靶向高分辨质谱侦测技术，并将这些技术应用于全国 31 个省会及直辖市两万多例市售农产品的农药残留检测，获得了海量农药残留检测结果。

这些农药残留结果往往与样品、地域、时间等信息交织在一起，如何实时、直观地了解复杂大量的农药残留分析结果，并从中找出分布规律，最终进行预测和预警，是农药残留领域的另一重要挑战。为了分析和认知多维复杂数据集合中的分布规律和本质特征，以及准确直观地评估农产品农药残留状况，作者团队创新性地采用数据科学理论和基于互联网的地理信息系统（WebGIS）技术，建立了农药残留可视化系统，首次实现了全国范围内的农药残留监控，并以形象直观的专题地图，多视角、多形式、多层次地呈现我国农药残留现状。

本书整理和收集了作者团队近五年来联合利用高分辨质谱技术、数据科学理论以及 WebGIS 技术开展农产品农药残留监控与评价的创新理论研究成果和部分应用研究成果。这主要包括以下几部分内容：

一、创建农药高分辨质谱数据库，建立高通量非靶向农药残留侦测技术。采用包括气相色谱-四极杆飞行时间质谱（GC-Q-TOF/MS）、液相色谱-四极杆飞行时间质谱（LC-Q-TOF/MS）及液相色谱-四极杆静电轨道阱质谱（LC-Q-Orbitrap/MS）在内的主流高分辨质谱技术，创建了 1200 多种世界常用农药化学污染物的一级精确质量数据库和二级碎片离子谱图库，建立了适用于 18 类 150 多种水果蔬菜的一次样品制备技术、同时测定的高通量非靶向农药残留侦测技术，具有高速度、高通量、高精度、高可靠性、高灵敏度等显著优势。

二、HID 三元技术创新融合，打造农药残留侦测技术平台。将用于农产品中农药残留高通量侦测的高分辨率质谱（High-resolution Mass Spectrometry）技术，用于存储、处理与展示大数据的互联网（Internet）技术和用于统计分析处理与数据挖掘计算的数据科学（Data Science）技术创新融合，形成 HID 三元技术。在构建了多国（或地区）农药最大残留限量（Maximum Residue Limit, MRL）标准数据库、多国（或地区）农产品分类信息数据库、农药信息数据库、中国行政区划地理信息数据库等四大基础数据库的基础上，打造出适用于全国范围的大量农产品中农药残留侦测技术数据采集和智能分析平台，为食品中农药化学污染物的综合评定提供科学、快捷、有效的综合信息管理平台。

三、结合 WebGIS 技术，构建我国农药残留可视化系统。首次将高分辨质谱技术与网络地理信息系统（WebGIS）结合，研究构建了包括在线制图系统和纸质地图在内的我

国农药残留可视化系统。该系统利用 WebGIS 技术, 将高分辨质谱非靶向检测技术所采集到的全国范围内的海量农药残留检测结果, 创新性地以专题地图的形式, 用形象直观的地图、统计图表及报表等方式, 多形式、多视角、多层次地呈现我国农药残留现状, 为我国农药残留监控和“智慧农药监管”提供重要技术支持。

此外, 为了真实反映我国百姓餐桌上水果蔬菜中农药残留污染状况以及残留农药的相关风险, 在 2012~2015 年间, 作者团队采用高分辨质谱检测技术对全国 42 个城市 (27 个省会城市、4 个直辖市及 11 个水果蔬菜主产区城市) 的市售水果蔬菜农药残留的“家底”进行了全方位普查, 形成了 2012~2015 年全国范围内市售水果蔬菜农药残留检测报告。在这基础上, 通过食品安全指数模型和风险系数模型, 对受检农药分别开展暴露风险评估和预警风险评估, 形成了 2012~2015 年全国范围内市售水果蔬菜农药残留膳食暴露风险与预警风险评估报告。这些报告为我国的水果蔬菜监管找到了方向, 也为指导消费者安全膳食、为政府相关部门对农药残留风险的管理提供了理论依据。

由于本书研究内容涉及处于不断发展的多个学科, 加上研究时间和研究条件所限, 不妥之处在所难免, 恳请广大读者批评指正。



2017 年 12 月 29 日

目 录

第 1 章 食用农产品四种高分辨质谱高通量非靶标农药多残留监测技术研究	1
1.1 引言	1
1.2 基于 LC-Q-TOF/MS 精确质量数据库和谱图库筛查水果蔬菜中 485 种 农药化学污染物方法研究	4
1.3 基于 GC-Q-TOF/MS 精确质量数据库和谱图库筛查水果蔬菜中 439 种 农药化学污染物方法研究	38
1.4 GC-Q-TOF/MS 和 LC-Q-TOF/MS 两种技术联用非靶向检测水果蔬菜 中 733 种农药化学污染物方法效能评价研究	73
1.5 基于 IDA-LC-Q-TOF/MS 精确质量数据库和谱图库筛查水果蔬菜中 427 种农药化学污染物方法研究	100
1.6 基于 LC-Q-Orbitrap/MS 精确质量数据库和谱图库筛查水果蔬菜中 575 种农药化学污染物方法研究	127
参考文献	157
第 2 章 高分辨质谱-互联网-数据科学三元融合技术构建农药残留侦测技术平台	361
2.1 引言	361
2.2 高分辨质谱-互联网-数据科学三元融合技术概述	361
2.3 农药残留侦测数据采集与智能分析平台构建	373
2.4 农药残留侦测报告的自动生成	413
2.5 农药残留侦测数据采集与智能分析平台应用示范	423
2.6 结论	427
参考文献	428
第 3 章 高分辨质谱-互联网-地理信息系统三元融合技术实现农药残留可视化	430
3.1 引言	430
3.2 基于高分辨质谱的农药残留大数据	431
3.3 农药残留可视化系统的设计	433
3.4 农药残留在线制图系统开发	443
3.5 农药残留地图编绘	458
3.6 农药残留可视化系统示范应用实例解读	480
3.7 结论	486
参考文献	487
第 4 章 市售水果蔬菜农药残留侦测报告 (2012~2015 年)	488
4.1 引言	488
4.2 气相色谱-四极杆飞行时间质谱 (GC-Q-TOF/MS) 非靶向侦测报告	489

4.3 液相色谱-四极杆飞行时间质谱 (LC-Q-TOF/MS) 非靶向侦测报告	570
4.4 结论	642
参考文献	645
第 5 章 市售水果蔬菜农药残留膳食暴露及预警风险评估报告 (2012~2015 年)	646
5.1 引言	646
5.2 GC-Q-TOF/MS 技术侦测 9823 例市售水果蔬菜农药残留膳食 暴露风险与预警风险评估	648
5.3 LC-Q-TOF/MS 技术侦测 12551 例市售水果蔬菜农药残留膳食 暴露风险与预警风险评估报告	762
参考文献	866

第1章 食用农产品四种高分辨质谱高通量非靶标 农药多残留监测技术研究

1.1 引言

1976年,世界卫生组织(WHO)、联合国粮农组织(FAO)和联合国环境规划署(UNEP)共同设立的全局环境监测系统/食品项目(Global Environment Monitoring System/Food),旨在掌握各成员国食品污染状况,了解食品污染物的摄入量,保护人体健康,促进国际贸易发展^[1]。美国1962年启动了PPRM(Pesticide Program: Residue Monitoring),此后又有NRP(National Residue Program)和PDP(Pesticide Data Program)相继建立。到目前为止,美国有三大农药残留监控系统^[2]。欧盟1971年71/118/EEC要求各成员国开展农兽药残留检测工作,到1996年欧共体启动《共同体农药残留监控计划》,现已形成欧盟层面和欧盟各成员国两个层面的残留监控体系^[3]。日本2003年启动了当时世界最为严厉的农药残留监控体系,“肯定列表制度”明确规定,只有符合该列表制度的农产品才能进入日本市场^[4]。中国1999年制定了《中华人民共和国动物及动物源食品中残留物质监控计划》^[5],2010年,卫生部等5部门联合制定《食品安全风险监测管理规定》,提出制定国家食品安全风险监测计划^[6]。

随着世界各国食品安全战略地位的确立,农药残留限量标准越设越多,限量要求越来越严,农药残留监控的挑战越来越大。农药最大残留限量(MRL)标准既是食品安全标准之一,也是食品农产品国际贸易的准入门槛,更是世界各国为保护食品农产品安全所重点研究的技术措施。目前世界常用农药有1200多种^[7],至今,欧盟、美国、日本和中国制定的农药最大残留限量(MRL)标准分别达到162248项(839种农药,2013年)^[8]、39147项(500多种农药,2011年)^[9]、51600项(823种农药,2013年)^[10]、4140项(433种农药,2016年)^[11]。与世界发达国家相比,中国学者在这一领域的研究还有广阔的发展空间。作者团队于2013年对1990~2013年24年间发表在15个主流国际杂志上4109篇检测农药残留的论文进行了研究,发现农药残留分析一直唱主角的色谱技术论文总量悄然被质谱技术超越,超越的时间点在2001年左右,到2013年农药残留质谱检测技术论文数量已遥遥领先于色谱技术论文数量。

重点研究农药残留三种质谱技术气相色谱质谱(GC-MS)、液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)和高分辨质谱(HRMS)24年的发展历程,GC-MS从1992年起持续22

年稳定发展; LC-MS/MS 技术前 12 年(1990~2001 年)仅有 46 篇论文,后 12 年(2001~2013 年)发表 577 篇,是前 12 年的 12.5 倍,其缘由是 ESI 和 APCI 离子源技术的进步,使 LC-MS/MS 技术异军突起,处于领先地位^[12]; HRMS 残留分析论文在前 12 年没有发现在这 15 个杂志上有发表,2002 年第一篇 LC-Q-TOF/MS 农药残留分析论文发表^[13],而后 12 年 HRMS 残留分析论文数量与日俱增^[14]。高分辨质谱的应用使低分辨质谱遇到的问题迎刃而解,代表性的 HRMS 是飞行时间质谱(TOF)和轨道离子阱质谱(Orbitrap),它们在农药多残留检测方面的最大优势是可在全扫描模式下提供足够的灵敏度,并获得尽可能多的化合物信息。同时,由于其进行精确质量数测定,可以提供化合物的同位素信息,因而可对化合物的元素组成进行解释, Q-TOF-MS/MS 和 Q-Orbitrap-MS/MS 的应用则可使化合物进一步得到确证。如果将质谱检测技术之前的农药单残留检测划分为农药残留检测的第一阶段,单级质谱进行农药残留检测划分为第二阶段,多级质谱进行农药残留检测划分为第三阶段,那么高分辨质谱技术的应用则使农药残留检测进入了跨越式发展的第四阶段。

2016 年在 15 个著名杂志上发表的 HRMS 农药残留论文已检索到 96 篇,对其中可见证高分辨质谱农药残留分析发展历史的 31 篇论文简介如下:

高分辨质谱应用于农药残留分析领域首先异军突起的技术是 LC-TOF-MS。较早期的报道在 2005 年, Ferrer 等^[15]应用 LC-TOF-MS 定量分析了不同水果和蔬菜中的 15 种农药残留,同时对比了不同浓度水平和基质对精确质量数测定的影响。接着 Ferrer 等^[16]将研究的农药种类增加到 101 种。此后, Gilbert-López 等^[17]应用 LC-TOF-MS 测定了果汁中的 5 种杀真菌剂及其 2 种代谢物和婴儿水果辅食中 12 种残留农药^[18]。Taylor 等^[19]应用 LC-TOF-MS 建立了 100 种农药在草莓中的定性和定量分析方法。Lacina 等^[20]用 LC-TOF-MS 建立了水果和蔬菜中 212 种农药的分析方法。Mezcua 等^[21]建立了 300 种农药的 LC-TOF-MS 数据库,开发了水果和蔬菜中 300 种农药的自动筛查方法。

随着 1996 年 LC-Q-TOF/MS^[22]新技术的诞生, LC-Q-TOF/MS 针对水果蔬菜农药检测较早的报道在 2007 年, Grimalt 等^[23]以不同水果中两种农药的测定为例,对 LC-Q-TOF/MS 技术对食品中农药筛查及确证能力进行了研究。Wang 等^[24]应用 LC-Q-TOF/MS 在全扫描模式对农药进行筛查,在 Q-TOF-MS/MS 模式进行确证,建立了婴幼儿水果和蔬菜辅食中 138 种农药的分析方法。Malato 等^[25]基于精确质量数据库,应用 LC-Q-TOF/MS 对水果和蔬菜中 97 种农药进行了筛查。López 等^[26]应用 LC-Q-TOF/MS 建立了 11 种水果和蔬菜中 199 种农药的筛查方法。Wang 等^[27]利用新一代 UHPLC-QTOF-MS 技术建立了包括 427 种农药的全扫描二级碎片离子的谱图数据库。利用具有人工智能的 IDA 模式在一次进样分析中实现 MS 与 MS/MS 之间的快速转换,从而利用谱图对碎片离子进行确证。Pérez-Ortega 等^[28]应用 LC-Q-TOF/MS 建立了 625 种污染物(包括 450 种农药)的多残留分析方法,并对不同采集模式的灵敏度和确证能力进行了对比研究。

关于 GC-TOF-MS 在水果和蔬菜中农药分析方面的应用,早期的报道在 2004 年, Patel 等^[29]应用 GC-TOF-MS 建立了婴儿水果食品中 98 种农药的测定方法。Leandro 等^[30]

应用 GC-TOF-MS 建立了婴儿食品、梨和莴苣中近百种农药的筛查方法。Koesukwiwat 等^[31]用 GC-TOF-MS 建立了水果和蔬菜 150 种农药的筛查方法。Dasgupta 等^[32]应用 GC-TOF-MS 建立了葡萄及酒中 135 种农药和 25 种有机污染物的筛查方法。Cervera 等^[33]应用 GC-TOF-MS 对 5 种水果和蔬菜中 55 种农药残留的目标性和非目标性分析方法进行了研究。

随着 2010 年 GC-Q-TOF/MS 在农药残留分析领域的首次应用^[34], 2012 年, Zhang 等^[35]基于精确质量数据库, 结合 GC-Q-TOF/MS 建立了蔬菜中 187 种农药的筛查和确证方法, 结果表明, GC-Q-TOF/MS 可以对农药的确证提供可靠依据。Zhang 等^[36]基于 GC-Q-TOF/MS 技术构建的 165 种农药的质谱库, 建立了苹果、大葱和菠菜中 165 种农药的筛查方法。Hernández 等应用 GC-(APCI)-Q-TOF-MS 技术建立了水果蔬菜^[37,38]和饲料及鱼肉中^[39]100 种以上农药及化学污染物残留的筛查方法, 结果表明, GC-Q-TOF/MS 技术在农药残留检测中具有检测范围广、灵敏度高等优点。

Orbitrap 质谱仪利用静电轴向谐波轨道技术, 是一种基于傅里叶变换的质量分析仪, 它与图像电流检测系统同时工作, 并通过傅里叶变换将得到的时域信号转换为频域信号, 而离子的运动频率与离子的质荷比相关, 从而可得到样品的质谱图。与 TOF 相比, Orbitrap 技术在分辨率和灵敏度方面具有一定的优势^[40]。2011 年 Alder 等^[41]建立了水果和蔬菜中 500 种农药的 LC-Orbitrap 筛查方法。Mol 等^[42]建立了水果和蔬菜中 556 种农药的 LC-Orbitrap 筛查方法, 重点研究了该方法在定性和确证方面的相关参数。就 LC-Q-Orbitrap/MS 技术而论, 对复杂基质中残留水平较低农药的大规模筛查方面表现出了令人满意的筛查能力, 涉及农药种类在 323~451 种之间^[43-45]。

作者团队于 2012 年开始陆续建立 LC-Q-TOF/MS、GC-Q-TOF/MS、IDA-LC-Q-TOF/MS 和 LC-Q-Orbitrap/MS 四种高分辨质谱的精确质量数据库和碎片离子谱图库, 在数据库建立的基础上, 研究建立了农药化合物定性筛查流程, 并对检索参数(保留时间窗口、精确质量范围、响应阈值、离子化形式等)进行优化, 并结合化合物的同位素分布和丰度信息, 以提高筛查的准确性, 减少假阳性和假阴性结果的产生。并通过同分异构化合物在质谱中碎裂行为的差异, 来对其进行定性确认。最后将方法应用于水果蔬菜样品的筛查检测过程中, 实现无标准品对照下农药多残留的快速定性确证, 通过在不同水果和蔬菜样品中添加不同水平的目标化合物对方法的准确性和可靠性进行了验证。所提出的分析方法准确可靠, 省时高效, 是一种可以用于日常大范围多种农药残留监测的有力手段。

从 2012 年至今, 已对中国 31 个省会/直辖市 280 个县区, 600 多个采样点(占全国人口 25%), 随机从市场采样 20000 多批, 检出农药 517 种, 初步查清了 31 个省会/直辖市市售水果蔬菜不同产地、不同目标残留农药存在状况和规律性特征, 为食品安全风险评估和市场监管提供了有力的技术支持。

1.2 基于 LC-Q-TOF/MS 精确质量数据库和谱图库筛查水果蔬菜中 485 种农药化学污染物方法研究

1.2.1 实验部分

1.2.1.1 试剂与材料

所有农药标准物质的纯度 $\geq 95\%$, 购自 Dr. Ehrenstorfer (Ausborg, Germany); 单标储备溶液 (1000 mg/L) 由甲醇、乙腈或丙酮配制, 所有标准溶液 4℃避光保存。色谱纯乙腈、甲苯和甲醇购自 Fisher Scientific (New Jersey, USA); 甲酸购自 Duksan Pure Chemicals (Ansan, Korea); 超纯水来自密理博超纯水系统 (Milford, MA, USA), 分析纯醋酸, NaCl, MgSO_4 , Na_2SO_4 , NH_4OAc 购自北京化学试剂厂 (北京, 中国); SPE 柱 (Sep-Pak Carbon/ NH_2 , 500 mg/6 cm^3) 购自 Waters 公司 (Milford, MA, USA)。

1.2.1.2 仪器与设备

安捷伦 1290-6550 液相色谱-四极杆飞行时间质谱仪 (LC-Q-TOF/MS) (Agilent 公司, 美国); 移液器 (Eppendorf 公司, 德国); SR-2DS 水平振荡器 (TAITEC 公司, 日本); 低速离心机 (中科中佳科学仪器有限公司, 中国); N-EVAPI12 氮吹仪 (OA-SYS 公司, 美国); 涡旋仪 (AS ONE, TRIO TM-1N, 日本); 8893 超声波清洗仪 (Cole-Pamer 公司, 美国); TL-602L 电子天平 (Mettler 公司, 德国)。反相色谱柱 ZORBAX SB-C18 柱 (2.1 mm $\times$ 100 mm, 3.5 μm)。双喷射式电喷雾电离 (ESI) 源 (美国, Santa Clara, CA, 美国)。

1.2.1.3 样品制备

水果蔬菜样品购自本地市场。样品取可食部分切碎后, 用搅拌机打碎, 装进样品瓶, 放入冰箱冷冻保存, 待提取。

(1) 提取: 称取 10 g 试样 (精确至 0.01 g) 于 80 mL 离心管中, 加入 40 mL 1% 醋酸乙腈, 用高速匀浆机 (IKA, FJ200-S) 15000 r/min 下, 匀浆提取 1 min, 加入 1 g 氯化钠, 4 g 无水硫酸镁, 振荡器 (TAITEC, SR-2DS) 振荡 5 min, 在 4200 r/min 下离心 5 min (Zonkia, KDC-40), 取上清液 20 mL 至鸡心瓶中, 在 40℃水浴中旋转蒸发 (Buchi, R-215) 浓缩至约 2 mL, 待净化。

(2) 净化: 在 Carbon/ NH_2 柱中加入约 2 cm 高无水硫酸钠。先用 4 mL 乙腈-甲苯 (3:1, 体积比) 淋洗 SPE 柱, 并弃去流出液, 当液面到达硫酸钠的顶部时, 迅速将样

品浓缩液转移至净化柱上,下接 80 mL 鸡心瓶接收。每次用 2 mL 乙腈-甲苯(3:1,体积比)洗涤样液瓶 3 次,并将洗涤液移入 SPE 柱中。在柱上加上 50 mL 贮液器,用 25 mL 乙腈-甲苯(3:1,体积比)进行洗脱,在 40℃水浴中旋转浓缩至约 0.5 mL。将浓缩液置于氮气下吹干,加入 1 mL 乙腈-水(3:2,体积比),混匀,经 0.22 μm 尼龙滤膜过滤后,供 LC-Q-TOF/MS 测定。

1.2.1.4 LC-Q-TOF/MS 分析

化合物通过液相色谱系统进行分离(Agilent 1290 series, Agilent technologies, Santa Clara, CA),配有反相色谱柱(ZORBAX SB-C18 2.1 mm $\times$ 100 mm, 3.5 μm)(Agilent Technologies, Santa Clara, CA);流动相 A 为 5 mmol/L 的乙酸铵-0.1%甲酸-水;流动相 B 为乙腈;梯度洗脱程序,0 min: 1%B, 3 min: 30%B, 6 min: 40%B, 9 min: 40%B, 15 min: 60%B, 19 min: 90%B, 23 min: 90%B, 23.01 min: 1%B, 后运行 4 min;流速为 0.4 mL/min;柱温: 40℃;进样量: 10 μL 。

Agilent 6550 LC-Q-TOF/MS 配有双喷雾离子源(Agilent 1290 series, Agilent technologies, Santa Clara, CA),电喷雾电离正离子模式(ESI^+);毛细管电压: 4000 V;干燥气温度: 325℃;干燥气流量 10 L/min,鞘气流速 11 L/min,鞘流气温度为 325℃;雾化气压力 40 psi^①,锥孔电压 60 V,碎裂电压 140 V。全扫描质荷比范围为 m/z 100~1700,并采用内标参比溶液对仪器质量精度进行实时校正,内标参比溶液包含嘌呤和 HP-0921。参比离子的精确质量数分别为 m/z 121.0509 和 m/z 922.0098。碎片离子数据通过 Target MS/MS 在确定的保留时间、母离子和碰撞能量下获得,具体信息见表 1-1。

数据采集与处理通过 Agilent MassHunter Workstation Software,精确质量数据库由 Excel(2010)建立并保存为 CSV 格式,碎片离子谱库通过 Agilent MassHunter PCDL Manager 建立。

1.2.1.5 数据库的建立

对于精确质量数据库,每种农药均配制成浓度为 1000 $\mu\text{g/L}$ 的储备液,配制合适浓度标准溶液,由 LC-Q-TOF/MS 在 MS 模式下进行测定,在“Find by Formula”算法下进行数据处理,精确质量数据通过化合物分子式进行检索,当目标化合物得分超过 90,精确质量偏差低于 5 ppm^②时,认为化合物被识别。并记录下该峰在色谱分离条件下的保留时间,以及母离子的精确质量数。将化合物名称、分子式、精确分子量、保留时间输入 Excel 模板,保存为精确质量数据库,用于筛查软件分析。流程图见图 1-1。

① 1 psi=6.89476 $\times 10^3$ Pa

② ppm, parts per million, 百万分之一, 10^{-6} 量级

表 1-1 精确质量数据库: 包括 485 种农药的分子式、精确质量、保留时间、前级离子以及谱库的确认

序号	农药名称 ^a	CAS 号	分子式	精确质量 (Da)	保留时间 ^b (min)	MS 离子	碎片离子谱图库				化合物匹配得分			
							前级离子	主要碎片 离子数 ^c	TOF 溶剂标准 ^d	TOF 基质标准 ^e	TOF 溶剂标准 ^f	Q-TOF 基质标准 ^g	Q-TOF 溶剂标准 ^h	Q-TOF 基质标准 ⁱ
1	1,3-Diphenyl urea	102-07-8	C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O	212.0949	7.14	[M+H] ⁺	213.1022	3	95.9	85.7	95.1	95.1	95.1	95.1
2	1-Naphthyl acetamide	86-86-2	C ₁₂ H ₁₁ NO	185.0841	4.57	[M+H] ⁺	186.0914	3	99.5	99.7	95.8	96.2	95.8	96.2
3	2,6-Dichlorobenzamide	2008-58-4	C ₇ H ₃ Cl ₂ NO	188.9748	3.2	[M+H] ⁺	189.9821	6	99.9	90.2	82.8	70.2	82.8	70.2
4	<u>3,4,5-Trimethacarb¹</u>	2686-99-9	C ₁₁ H ₁₃ NO ₂	193.1103	7.37	[M+H] ⁺	194.1176	2	98.3	97.9	97.7	98.1	97.7	98.1
5	6-Chloro-4-hydroxy-3-phenyl-pyridazin	40020-01-7	C ₁₀ H ₇ ClN ₂ O	206.0247	4.03	[M+H] ⁺	207.0320	3	99.6	99.1	94.4	91.4	94.4	91.4
6	Acetamiprid	135410-20-7	C ₁₀ H ₁₁ ClN ₄	222.0672	4.05	[M+H] ⁺	223.0745	4	95.9	99.3	89.3	83.9	89.3	83.9
7	Acetochlor	34256-82-1	C ₁₄ H ₂₀ ClNO ₂	269.1183	12.76	[M+H] ⁺	270.1255	6	99.1	98.4	87	87.1	87	87.1
8	Aclonifen	74070-46-5	C ₁₂ H ₁₆ ClN ₂ O ₃	264.0302	13.91	[M+H] ⁺	265.0374	7	96	94.4	76.2	69.9	76.2	69.9
9	<u>Aldicarb²</u>	116-06-3	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	190.0776	4.75	[M+Na] ⁺	213.0668	3	90.7	96.2	93.5	96.2	93.5	96.2
10	<u>Aldicarb-sulfone³</u>	1646-88-4	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	222.0674	2.66	[M+H] ⁺	223.0747	5	95.5	94.5	94.8	91.3	94.8	91.3
11	Aldimorph	1704-28-5	C ₁₈ H ₃₇ NO	283.2875	14.65	[M+H] ⁺	284.2948	12	88.2	89.8	94	94.6	94	94.6
12	Allidochlor	93-71-0	C ₈ H ₁₂ ClNO	173.0607	5.07	[M+H] ⁺	174.0680	3	95.7	99.6	89.3	85.6	89.3	85.6
13	Ametryn	834-12-8	C ₉ H ₁₇ N ₃ S	227.1205	7.05	[M+H] ⁺	228.1277	10	77.4	90.6	97.8	98.7	97.8	98.7
14	Amidithion	919-76-6	C ₇ H ₁₆ NO ₄ PS ₂	273.0258	4.4	[M+H] ⁺	274.0331	9	84.6	99.4	87.6	82.2	87.6	82.2
15	Amidosulfuron	120923-37-7	C ₉ H ₁₅ N ₃ O ₅ S ₂	369.0413	6.17	[M+H] ⁺	370.0486	3	99	98.5	98.1	97.6	98.1	97.6
16	Aminocarb	2032-59-9	C ₁₁ H ₁₆ N ₂ O ₂	208.1212	2.33	[M+H] ⁺	209.1285	4	66.9	73.6	88.3	85	88.3	85
17	Aminopyralid	150114-71-9	C ₆ H ₄ Cl ₂ N ₂ O ₂	205.9650	1.6	[M+H] ⁺	206.9723	6	98.9	99.5	94.7	76.6	94.7	76.6
18	Ancymidol	12771-68-5	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₂	256.1212	5.32	[M+H] ⁺	257.1285	4	99.3	96.7	81	94	96.7	81
19	Anilofos	64249-01-0	C ₁₃ H ₁₉ ClNO ₃ PS ₂	367.0233	14.94	[M+H] ⁺	368.0305	5	97.1	97.5	92.5	92.6	97.5	92.6
20	Aspon	3244-90-4	C ₁₂ H ₁₈ O ₄ P ₂ S ₂	378.0853	19.03	[M+H] ⁺	379.0926	5	99.2	92.1	93.1	89.6	93.1	89.6
21	Asulam	3337-71-1	C ₈ H ₁₀ N ₂ O ₄ S	230.0361	2.77	[M+H] ⁺	231.0434	3	99.3	99.6	88	86.2	99.6	88
22	Athidathion	19691-80-6	C ₈ H ₁₅ N ₂ O ₄ PS ₃	329.9932	13.46	[M+H] ⁺	331.0004	2	88.6	83.5	88.7	67.5	88.7	67.5
23	Atratrene	1610-17-9	C ₉ H ₁₇ N ₃ O	211.1433	4.62	[M+H] ⁺	212.1506	15	93.3	96.6	98.6	98.6	96.6	98.6

续表

序号	农药名称 ^a	CAS 号	分子式	精确质量 (Da)	保留时间 ^b (min)	碎片离子谱图库		化合物匹配得分			
						MS 离子	前级离子	主要碎片 离子数 ^c	TOF 溶剂标准 ^d	TOF 基质标准 ^e	Q-TOF 溶剂标准 ^f
24	Atrazine	1912-24-9	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	215.0938	6.5	[M+H] ⁺	216.1010	14	98.3	98.3	95.4
25	Atrazine-desethyl	6190-65-4	C ₆ H ₁₀ ClN ₅	187.0625	3.78	[M+H] ⁺	188.0697	7	97.8	95.4	90.5
26	Azaconazole	60207-31-0	C ₁₂ H ₁₁ Cl ₂ N ₃ O ₂	299.0228	6.91	[M+H] ⁺	300.0301	4	99.6	99.6	97.7
27	Azamectinophos	35575-96-3	C ₉ H ₁₀ ClN ₂ O ₃ PS	323.9737	5.41	[M+H] ⁺	324.9810	5	97.5	98.8	97
28	Azinphos-ethyl	2642-71-9	C ₁₂ H ₁₆ N ₃ O ₃ PS ₂	345.0371	13.4	[M+H] ⁺	346.0443	12	99.8	99.1	89.3
29	Azinphos-methyl	86-50-0	C ₁₀ H ₁₂ N ₃ O ₃ PS ₂	317.0058	9.63	[M+H] ⁺	318.0130	8	94.7	97.8	87.1
30	Azioprotine	4658-28-0	C ₇ H ₁₁ N ₇ S	225.0797	9.8	[M+H] ⁺	226.0869	10	99.8	99.5	86.1
31	Azoxystrobin	131860-33-8	C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₅	403.1168	11.3	[M+H] ⁺	404.1241	3	98.3	98.3	98.6
32	Benalaxyl	71626-11-4	C ₂₀ H ₂₃ NO ₃	325.1678	14.23	[M+H] ⁺	326.1751	9	96.3	98.3	98.9
33	Bendiocarb	22781-23-3	C ₁₁ H ₁₃ NO ₄	223.0845	5.88	[M+H] ⁺	224.0917	4	95.6	82.9	94
34	Benodanil	15310-01-7	C ₁₃ H ₁₀ NO	322.9807	8.51	[M+H] ⁺	323.9880	3	99.6	97.5	83.3
35	Benoxacor	98730-04-2	C ₁₁ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	259.0167	9.98	[M+H] ⁺	260.0240	6	97.2	90.1	82.3
36	Bensulfuron-methyl	83055-99-6	C ₁₆ H ₁₈ N ₄ O ₇ S	410.0896	7.96	[M+H] ⁺	411.0969	4	98.3	98.3	97.7
37	Bensulide	741-58-2	C ₁₄ H ₂₄ NO ₄ PS ₃	397.0605	15.32	[M+H] ⁺	398.0678	7	99.2	98.9	84.2
38	Bensultap	17606-31-4	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄ S ₄	431.0353	12.59	[M+H] ⁺	432.0426	15	97.5	98.6	98.6
39	Benzoximate	29104-30-1	C ₁₈ H ₁₈ ClNO ₅	363.0874	16.47	[M+H] ⁺	364.0946	4	99.8	99.6	90.1
40	Benzoylprop	22212-56-2	C ₁₆ H ₁₃ Cl ₂ NO ₃	337.0272	9.5	[M+H] ⁺	338.0345	3	71.2	79.9	75.1
41	Benzoylprop-ethyl	22212-55-1	C ₁₈ H ₁₇ Cl ₂ NO ₃	365.0585	15.36	[M+H] ⁺	366.0658	6	98.1	97.4	97.5
42	Benzyladenine	1214-39-7	C ₁₂ H ₁₁ N ₅	225.1015	3.78	[M+H] ⁺	226.1088	5	65.2	68.1	98.7
43	Bifenazate	149877-41-8	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₃	300.1474	12.39	[M+H] ⁺	301.1547	3	99	98.6	92
44	Bioallethrin	584-79-2	C ₁₉ H ₂₆ O ₃	302.1882	17.59	[M+H] ⁺	303.1955	9	94.8	93.8	85.6
45	Bioresmethrin^d	28434-01-7	C ₂₂ H ₂₆ O ₃	338.1882	19.22	[M+H] ⁺	339.1955	5	92.6	96.8	78.8
46	Bitertanol	55179-31-2	C ₂₀ H ₂₃ N ₃ O ₂	337.1790	12.88	[M+H] ⁺	338.1863	6	99.6	99.1	96.1
47	Bromacil	314-40-9	C ₉ H ₁₃ BrN ₂ O ₂	260.0160	4.93	[M+H] ⁺	261.0233	4	99.7	99.7	92

续表

序号	农药名称 ^a	CAS 号	分子式	精确质量 (Da)	保留时间 ^b (min)	MS 离子	碎片离子谱图库		化合物匹配得分			
							前级离子	主要碎片 离子数 ^c	TOF 溶剂标准 ^d	TOF 基质标准 ^e	Q-TOF 溶剂标准 ^f	Q-TOF 基质标准 ^g
48	Bromfeninfos	33399-00-7	C ₁₂ H ₁₄ BrCl ₂ O ₄ P	401.9190	14.25	[M+H] ⁺	402.9263	4	99.8	99.1	98.3	87.2
49	Bromobutide	74712-19-9	C ₁₅ H ₂₂ BrNO	311.0885	13.92	[M+H] ⁺	312.0958	5	97.8	99.7	95.3	95.3
50	Bromophos-ethyl	48224-78-6	C ₁₀ H ₁₃ BrCl ₂ O ₃ PS	391.8805	18.88	[M+H] ⁺	392.8878	10	94.9	99.2	79.4	72.7
51	Brompyrazon	3042-84-0	C ₁₀ H ₈ BrN ₃ O	264.9851	3.89	[M+H] ⁺	265.9924	7	99.7	99.5	94.7	93
52	Bromuconazole	116255-48-2	C ₁₃ H ₁₂ BrCl ₂ N ₃ O	374.9541	10.5	[M+H] ⁺	375.9613	4	98.3	99.1	96.4	96.9
53	Bupirimate	41483-43-6	C ₁₃ H ₂₄ N ₄ O ₃ S	316.1569	12.96	[M+H] ⁺	317.1642	11	97.1	97.5	96.8	96.7
54	Buprofezin	69327-76-0	C ₁₆ H ₂₃ N ₃ OS	305.1562	17.64	[M+H] ⁺	306.1635	6	90	77.7	97.3	97.2
55	Butachlor⁵	23184-66-9	C ₁₇ H ₂₆ ClNO ₂	311.1652	17.61	[M+H] ⁺	312.1725	7	97.3	98.5	95.2	92.3
56	Butafenacil	134605-64-4	C ₃₀ H ₁₈ ClF ₃ N ₂ O ₆	474.0805	14.33	[M+NH ₄] ⁺	492.1144	10	99.2	99.1	97.1	97.1
57	Butamifos	36335-67-8	C ₁₃ H ₂₁ N ₂ O ₄ PS	332.0960	16.62	[M+H] ⁺	333.1033	3	99.9	97.5	89	89.6
58	Butocarbexim²	34681-10-2	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	190.0776	4.48	[M+Na] ⁺	213.0668	4	91.2	94.8	90.4	92.4
59	Butocarbexim-sulfoxide	34681-24-8	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₃ S	206.0725	2.24	[M+H] ⁺	207.0798	9	97.5	97.5	93.4	93.7
60	Butoxycarbexim³	34681-23-7	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	222.0674	2.66	[M+H] ⁺	223.0747	6	96.5	98.6	83.3	86.4
61	Butralin	33629-47-9	C ₁₄ H ₂₁ N ₃ O ₄	295.1532	18.28	[M+H] ⁺	296.1605	3	97.1	97.9	85.1	73
62	Butylate	2008-41-5	C ₁₁ H ₂₃ NOS	217.1500	16.77	[M+H] ⁺	218.1573	3	77.6	96.3	94.6	90
63	Cadusafos	95465-99-9	C ₁₀ H ₂₃ O ₂ PS ₂	270.0877	14.78	[M+H] ⁺	271.0950	3	98.9	98.6	93	93
64	Cafenstrole	125306-83-4	C ₁₆ H ₂₂ N ₄ O ₃ S	350.1413	12.94	[M+H] ⁺	351.1486	1	99.6	98.9	95.4	95.3
65	Carbaryl⁶	63-25-2	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	201.0790	6.4	[M+H] ⁺	202.0863	2	99.2	98.8	94.4	95.4
66	Carbendazim	10605-21-7	C ₉ H ₈ N ₂ O ₂	191.0695	2.82	[M+H] ⁺	192.0768	2	62.6	64	97.5	97.4
67	Carbetamide	16118-49-3	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O ₃	236.1161	4.75	[M+H] ⁺	237.1234	7	90.5	90.2	91.3	85.1
68	Carbofuran	1563-66-2	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	221.1052	5.96	[M+H] ⁺	222.1125	4	97.6	99.1	93.2	95.9
69	Carbofuran-3-hydroxy	16655-82-6	C ₁₂ H ₁₅ NO ₄	237.1001	3.67	[M+H] ⁺	238.1074	8	92.2	95.8	83.6	84.3
70	Carbophenothion	786-19-6	C ₁₁ H ₁₆ ClO ₄ PS ₃	341.9739	18.27	[M+H] ⁺	342.9812	5	97.4	98.9	81.5	82.8
71	Carboxin	5234-68-4	C ₁₂ H ₁₃ NO ₂ S	235.0667	6.63	[M+H] ⁺	236.0740	2	97.5	99.6	91.8	91.5