

# Orbitrap Exploris GC在农药残留能力验证中的应用

史晓磊

赛默飞世尔科技（中国）有限公司

## 关键词

Orbitrap Exploris GC；静电场轨道阱高分辨气质联用仪；农药残留；快速筛查；准确定量；

## 引言

鉴于目前市场上农药种类繁多，滥用广泛的情况，国家卫健委联合农业农村部，市场监管局发布了最新的GB 2763-2021《食品安全国家标准食品中农药最大残留限量》，其中规定了564种农药的最大残留限量（MRLs），面对如此数目繁多的农药种类，如何建立一个高效全面的多农药残留监测方法兼具未知农药的定性筛查和准确定量技术显得至关重要，有助于食品中农药残留的安全风险监督及管理。多农药残留检测技术按照测定目标物时是否需要标准物质对照可分为非靶向筛查和靶向筛查，无论是Fapas还是农业农村部组织的能力验证，均采用靶向筛查，一般都是给出农药列表，实际添加的农药是列表的一种或多种，需要先筛查定性再精确定量，这无疑对分析实验室的能力提出了更高的要求，很多实验室往往是多台色谱质谱搭配使用，费时费力还不一定能得到准确的结果。

气相色谱质谱联用技术，作为目前农药残留最常用的分析仪器，具有高通量，抗基质干扰能力强等诸多优势，特别是当Orbitrap技术被应用于GCMS后，使得GC-Orbitrap相较于传统的GCMS如虎添翼。GC-Orbitrap通过超高的质量准确度（小于1ppm），从而获得农药的精细结构信息，进一步提升定性的准确性，同时超高的分辨率（ $m/z=200$ ， $R=60000$ ）使得GC-Orbitrap在使用全扫描方式时，获得堪比三重四级杆气质联用仪的定量限，使用GC-Orbitrap在做农药残留分析时，既获得无与伦比的准确度，又拥有符合各类检测标准的检出限和定量限，可谓是农药残留分析的一大神器。本文利用赛默飞全新一代的Orbitrap Exploris GC静电场轨道阱高分辨气质联用仪，对未知阳性添加农药样品进行分析，前处理参照GB23200.113，先建立了给出的农药范围的CompoundDatabase，对样品中的农药进行了筛查，再对筛查出的农药进行准确定量，并从线性，重复性，质量稳定性，回收率等方面对结果进行了验证。



图1 仪器配置

## 仪器与耗材

Thermo Fisher Scientific™ Orbitrap Exploris GC高分辨气质联用仪，配分流不分流进样口

Thermo Fisher Scientific™ TraceFinder 5.1数据处理系统配Decovolution 1.7解卷积功能

Thermo Fisher Scientific™ TG-5SiIMS 色谱柱 (30m\*0.25mm\*0.25μm, P/N: 26096-1301)

## 仪器参数

### GC参数：

进样口：280℃；

进样方式：不分流进样，不分流时间：1min；

载气：高纯氦气（99.999%）；

柱流速：1.2mL/min；

柱温箱：40℃保持1.5min，25℃/min升温至90℃，保持1.5min，再以25℃/min升温至180℃，保持1.5min，再以5℃/min升温至280℃，再以10℃/min升温至300℃，保持5min。

#### 质谱参数：

传输线温度：260℃；

离子源温度：300℃；

扫描方式：全扫描（35-500）；

离子化方式：EI；

电子能量：70eV；

分辨率：60000（m/z=200）；

锁定质量：m/z=73.04680，133.01356，207.03235，281.05114，355.06993。

#### 样品前处理：

称取10g果蔬样品于离心管中，加入10mL乙腈，4g硫酸镁、1g氯化钠、1g柠檬酸钠、0.5g柠檬酸氢二钠及1颗陶瓷均质子，盖上离心管盖，剧烈震荡1min后离心5min。吸取6mL上清液加到内含900mg硫酸镁及150mgPSA的离心管中，涡旋混匀1min后离心5min，准确吸取2mL上清液于10mL试管中，40℃水浴中氮气吹至近干，1mL乙酸乙酯复溶，过微孔滤膜于进样瓶中待测。

## 结果和讨论

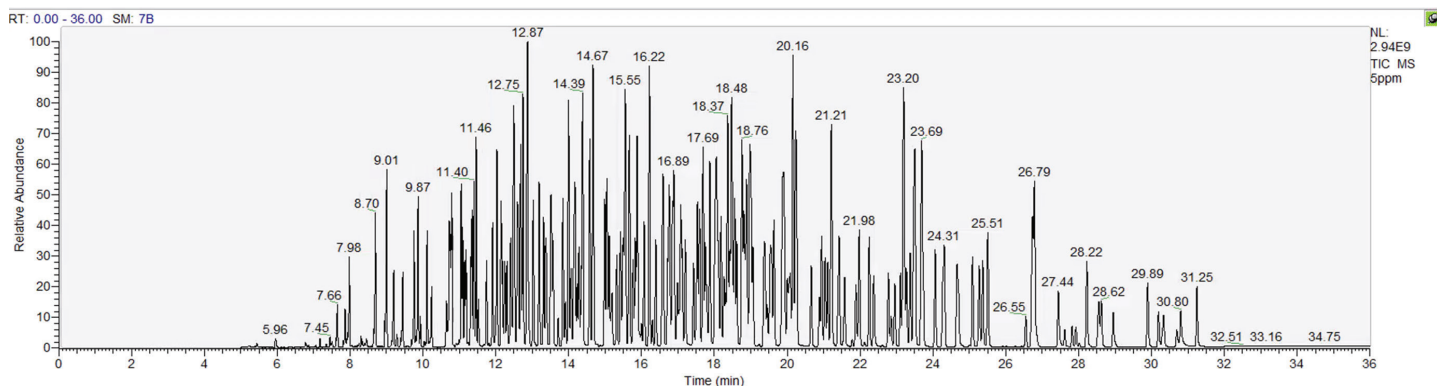


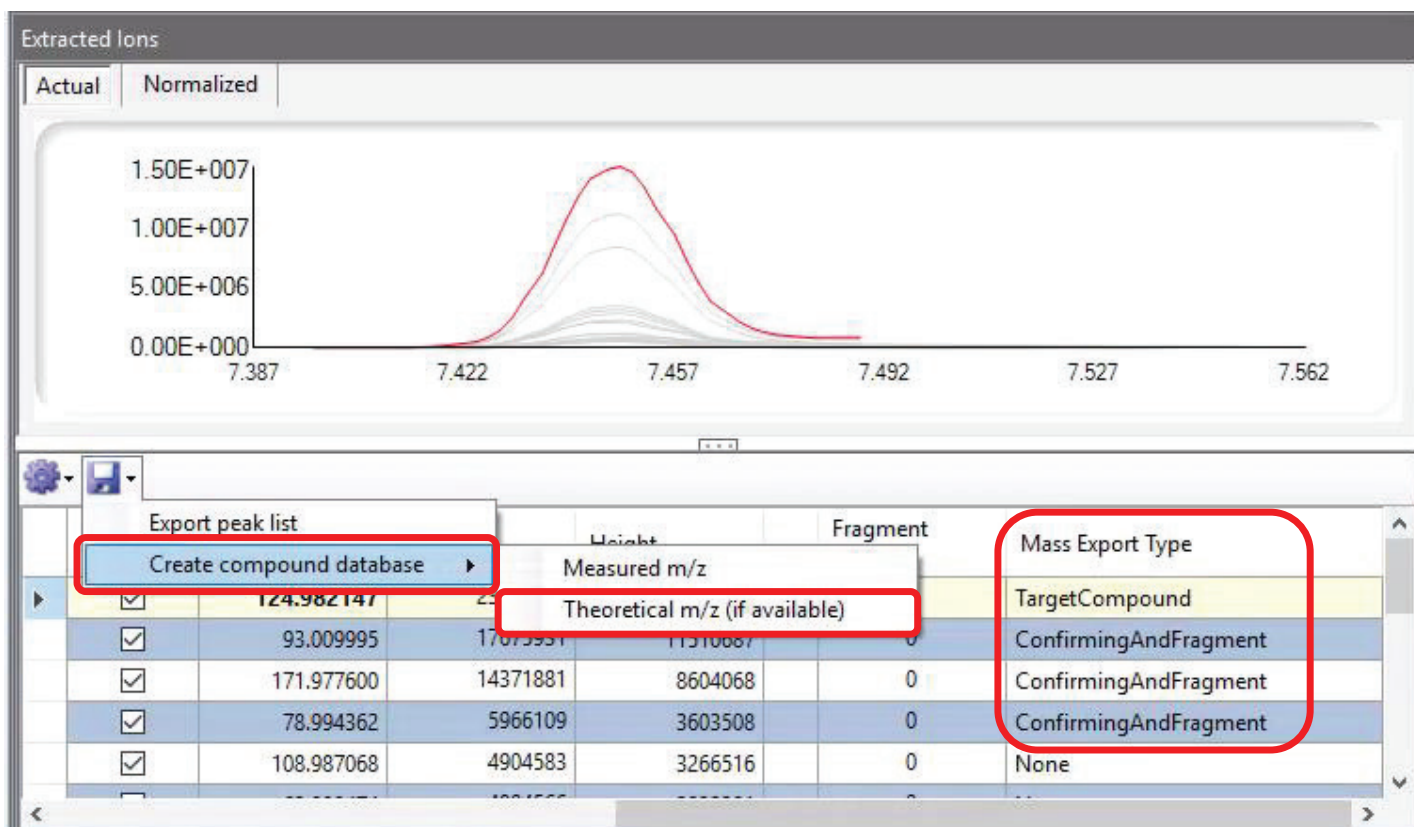
图2. 5µg/mL标准溶液全扫描色谱图



图3. 农药残留结果验证的流程

### 1. 农药及其代谢物CompoundDataBase的建立

创建多农药的CompoundDataBase（以下简称CDB），是后续精准筛查定性和准确定量的基础，参照上述仪器方法采集GB23200.113中给出的208种农药及其代谢物的混合标准溶液，浓度为5µg/mL，色谱图如图2所示。利用TraceFinder软件的Decovolution功能对数据进行解卷积处理，此功能可有效避免共流出现象对定性结果准确度的影响，使得混合标准品中的每个化合物均可快速获得准确的结果，基于该解卷积定性结果建立208种农药及其代谢物的CDB，该CDB中每个化合物均包含1个定量离子和2-4个确证及参考离子，以供筛查和定量时使用。



Compound Name	Peak Label	Peak Workflow	Associated Target Peak	Chemical Formula	MS Order	Precursor m/z	Product m/z	m/z	Adduct	Polarity	Charge State
165 Bifenox	T1: 340.9852	TargetPeak			ms1	0.000	0.000	340.9852	None	Positive	-1
166 Bifenox	T1C1: 173.01526	Confirming	T1: 340.9852		ms1	0.000	0.000	173.01526	None	Positive	-1
167 Bifenox	T1C2: 342.98209	Confirming	T1: 340.9852		ms1	0.000	0.000	342.98209	None	Positive	-1
168 Bifenox	T1C3: 309.96692	Confirming	T1: 340.9852		ms1	0.000	0.000	309.96692	None	Positive	-1
169 Bifenox	T1C4: 189.01021	Confirming	T1: 340.9852		ms1	0.000	0.000	189.01021	None	Positive	-1
170 Bifenox	T1F1: 173.01526	Fragment	T1: 340.9852		ms1	0.000	0.000	173.01526	None	Positive	-1
171 Bifenox	T1F2: 342.98209	Fragment	T1: 340.9852		ms1	0.000	0.000	342.98209	None	Positive	-1
172 Bifenox	T1F3: 309.96692	Fragment	T1: 340.9852		ms1	0.000	0.000	309.96692	None	Positive	-1
173 Bifenox	T1F4: 189.01021	Fragment	T1: 340.9852		ms1	0.000	0.000	189.01021	None	Positive	-1
174 Bifenthrin	T1: 181.10103	TargetPeak			ms1	0.000	0.000	181.10103	None	Positive	-1
175 Bifenthrin	T1C1: 165.06984	Confirming	T1: 181.10103		ms1	0.000	0.000	165.06984	None	Positive	-1
176 Bifenthrin	T1C2: 166.07747	Confirming	T1: 181.10103		ms1	0.000	0.000	166.07747	None	Positive	-1
177 Bifenthrin	T1C3: 182.10432	Confirming	T1: 181.10103		ms1	0.000	0.000	182.10432	None	Positive	-1
178 Bifenthrin	T1C4: 167.08087	Confirming	T1: 181.10103		ms1	0.000	0.000	167.08087	None	Positive	-1
179 Bifenthrin	T1F1: 165.06984	Fragment	T1: 181.10103		ms1	0.000	0.000	165.06984	None	Positive	-1
180 Bifenthrin	T1F2: 166.07747	Fragment	T1: 181.10103		ms1	0.000	0.000	166.07747	None	Positive	-1
181 Bifenthrin	T1F3: 182.10432	Fragment	T1: 181.10103		ms1	0.000	0.000	182.10432	None	Positive	-1
182 Bifenthrin	T1F4: 167.08087	Fragment	T1: 181.10103		ms1	0.000	0.000	167.08087	None	Positive	-1
183 Biphenyl	T1: 154.07736	TargetPeak			ms1	0.000	0.000	154.07736	None	Positive	-1
184 Biphenyl	T1C1: 152.06213	Confirming	T1: 154.07736		ms1	0.000	0.000	152.06213	None	Positive	-1
185 Biphenyl	T1C2: 153.06979	Confirming	T1: 154.07736		ms1	0.000	0.000	153.06979	None	Positive	-1
186 Biphenyl	T1C3: 155.0808	Confirming	T1: 154.07736		ms1	0.000	0.000	155.0808	None	Positive	-1
187 Biphenyl	T1C4: 76.03077	Confirming	T1: 154.07736		ms1	0.000	0.000	76.03077	None	Positive	-1

图4. 208种农药及其代谢物CDB的建立

## 2. 筛查方法的建立

利用TraceFinder软件的TargetScreening功能，结合建立的CDB，快速建立一个筛查方法。筛查参数中对结果的影响程度从大到小排列分别是定量离子，保留时间，确证离子，同位素信息等，其中定量离子是必备条件，也是对筛查结果影响最大的参数，如果样品定性结果中不包含定量离子，则可直接判定为未检出，定量离子的质量精度设置一般为2ppm。其次为保留时间，如果采用和建立CDB时一样的色谱条件，则保留时间至关重要，此时请选“Identify”，时间窗口可根据质控样品保留时间与CDB中比对后进行调整，但如果筛查时，没有采用和建立CDB时相同的色谱条件，则保留时间成为非必要条件，请选“Confirming”，筛查过程会忽略保留时间的差异继续按照后面的参数继续。再次是确证离子，根据欧盟的要求，阳性结果中必须至少有一个确证离子与CDB中匹配，如果有多个确证离子能匹配，则提升了筛查结果的准确性。如果想进一步增加结果的可靠性，可以启用同位素信息，此时筛查结果中会出现样品与CDB中的同位素丰度信息比较，包括质谱图的相似度，离子的质量偏差，强度偏差等。此外，还可启用NIST谱库检索，将目标物的质谱图与谱库中的质谱图进行比对，再多一重定性依据。

Target Screening Settings

Compound Databases

Enabled	Database Name	open
<input type="checkbox"/>	348Pesticides	open
<input type="checkbox"/>	1	open
<input type="checkbox"/>	33pesticides	open
<input type="checkbox"/>	46Pesticides Mix	open
<input type="checkbox"/>	51Pesticides Mix	open
<input type="checkbox"/>	72Pesticides Mix	open
<input type="checkbox"/>	78Pesticides Mix	open
<input type="checkbox"/>	Clin_Tox_Endura_SRM	open
<input type="checkbox"/>	Clin_Tox_Quantiva_SRM	open
<input type="checkbox"/>	DefaultGC	open
<input type="checkbox"/>	DefaultLC	open
<input type="checkbox"/>	EFS_Database	open
<input type="checkbox"/>	EFS_HRAM_Compound_Database	open
<input type="checkbox"/>	EPA	open
<input type="checkbox"/>	EPA2	open
<input checked="" type="checkbox"/>	GB23200.113-208Pesticides	open
<input type="checkbox"/>	GCMSMS Pesticide Analyzer 1001	open
<input type="checkbox"/>	LCM60+3IS	open
<input type="checkbox"/>	Metabolite_Database	open
<input type="checkbox"/>	Metabolite_Database_HILIC_01	open
<input type="checkbox"/>	Pesticides mix	open
<input type="checkbox"/>	Toxicology_HRAM_Compound_Database_v1	open

Identification and Confirmation Settings

Peaks  m/z

Retention Time  Identify  Confirm

Fragment Ions  Identify  Confirm

Isotopic Pattern  Identify  Confirm

Threshold Override  5,000

S/N Ratio Threshold 5.0

Mass Tolerance: 2.00 ppm

Ignore if Not Defined

Window Override (sec)  60

Ignore if Not Defined

Min. # of Fragments 2

Intensity Threshold 10,000

Mass tolerance 2.00 ppm

MS Order MS

Fit Threshold (%) 90

Allowed Mass Deviation (ppm) 5

Allowed Intensity Deviation (%) 10

Use Internal Mass Calibration

图5. TargetScreening方法的建立

### 3. 筛查结果的判定

按照上述前处理条件和仪器参数对能力验证的样品进行处理后采集，再利用TargetScreening进行筛查，筛查结果如图所示，此时不同表中“Flag”标记为●代表软件初步判断样品中含有目标化合物；“MZ”标记为●代表检测到的化合物定量离子精确分子量与CDB中相匹配；“FI”标记为●代表检测到的化合物的确证离子与CDB相匹配；“RT”标记为●代表检测到的化合物保留时间与数据库相匹配；“IP”标记为●代表检测到的化合物同位素丰度与数据库相匹配，只有CDB中有化学式的化合物才会进行同位素丰度比对。根据SANTE/2017/11813中对筛查结果的判定要求，采集方式为全扫描时，高分辨仪器的结果鉴定需至少有两个离子的精确质量偏差在2ppm以内，且信噪比大于3，本次未知样品中共筛查出29种农药，包括甲拌磷， $\alpha$ -六六六等。

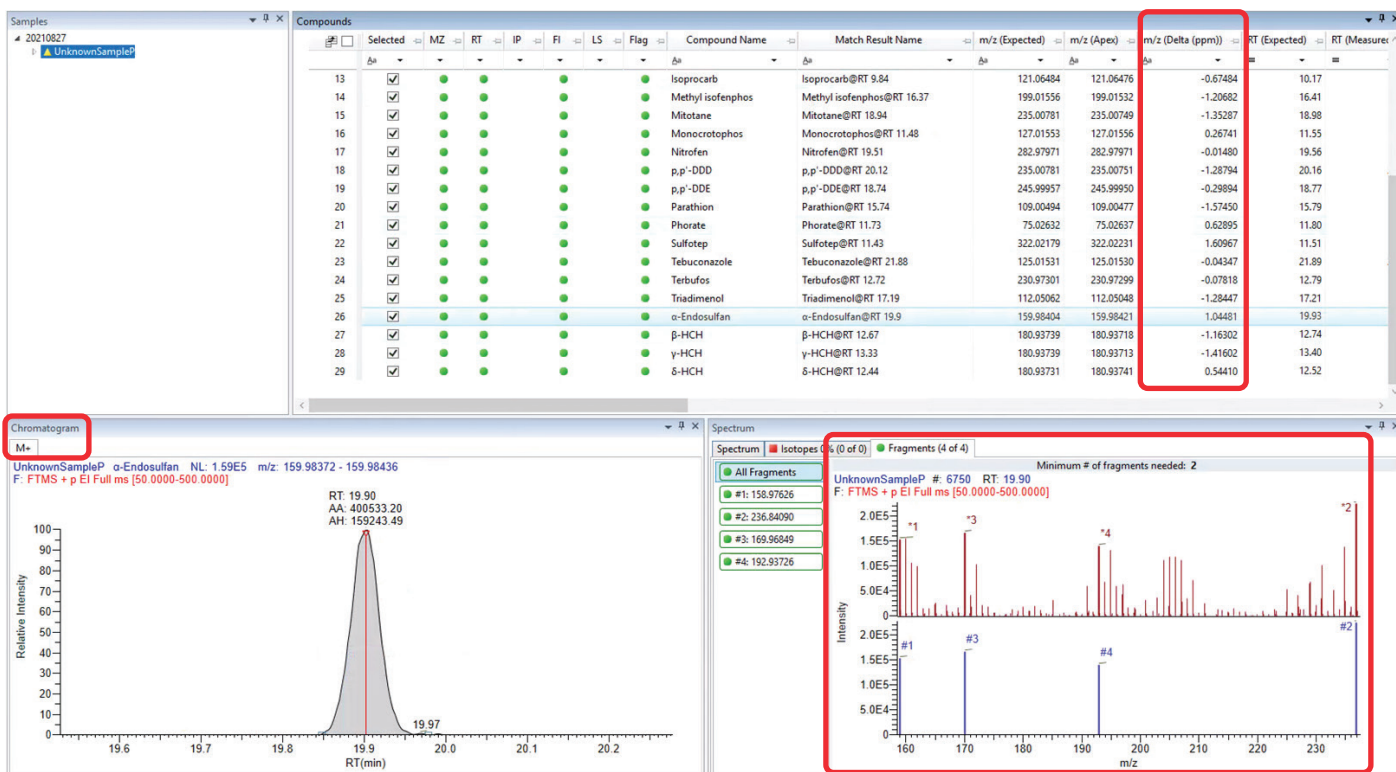


图6. TargetScreening结果查看

## 4. 定量方法的建立

检出的29种阳性化合物，利用TraceFinder软件结合上文创建的CDB，创建定量方法，根据SANTE/2017/11813的定量要求，定量方法中每个化合物均包含定量离子和至少两个定性离子，保留时间偏差±0.1min，离子比率偏差在±30%。

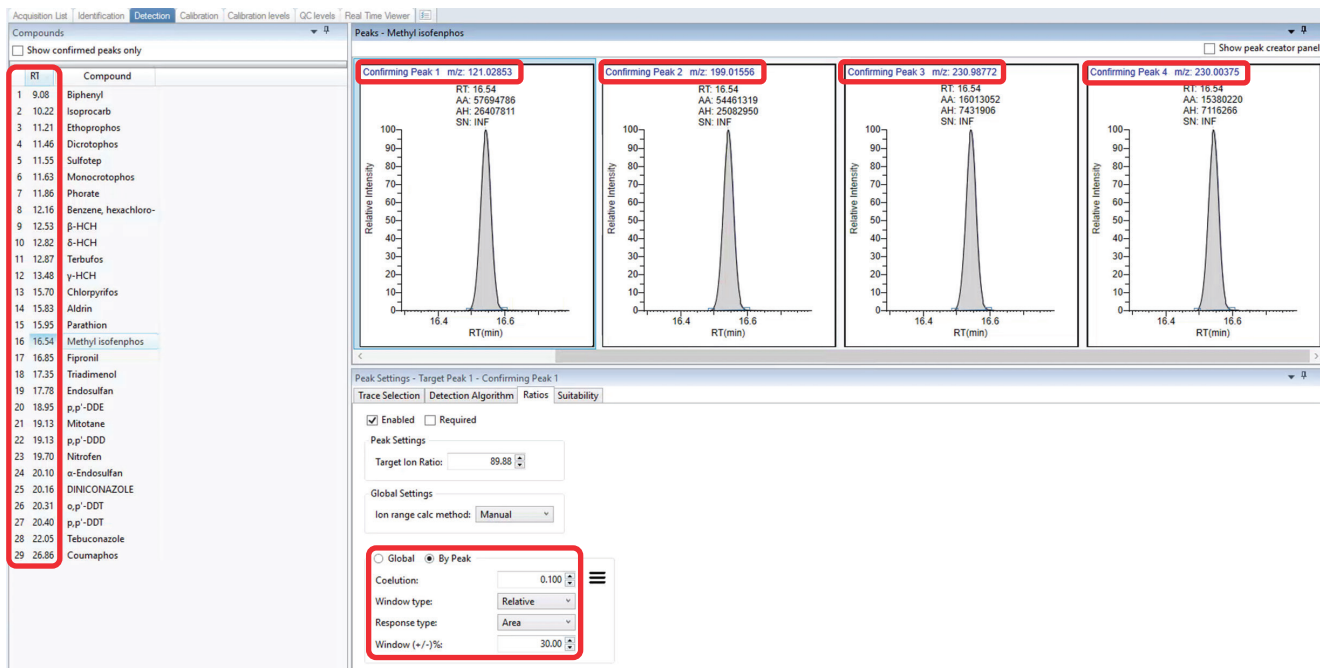


图7. 定量方法的建立

## 5. 校准曲线

参照GB23200.113中的要求，精确吸取208种农药混合标准溶液，逐级用乙酸乙酯释成质量浓度为5μg/L、10μg/L、50μg/L、100μg/L和500μg/L的基质工作曲线，部分农药的线性关系如下，回归系数均大于0.995。

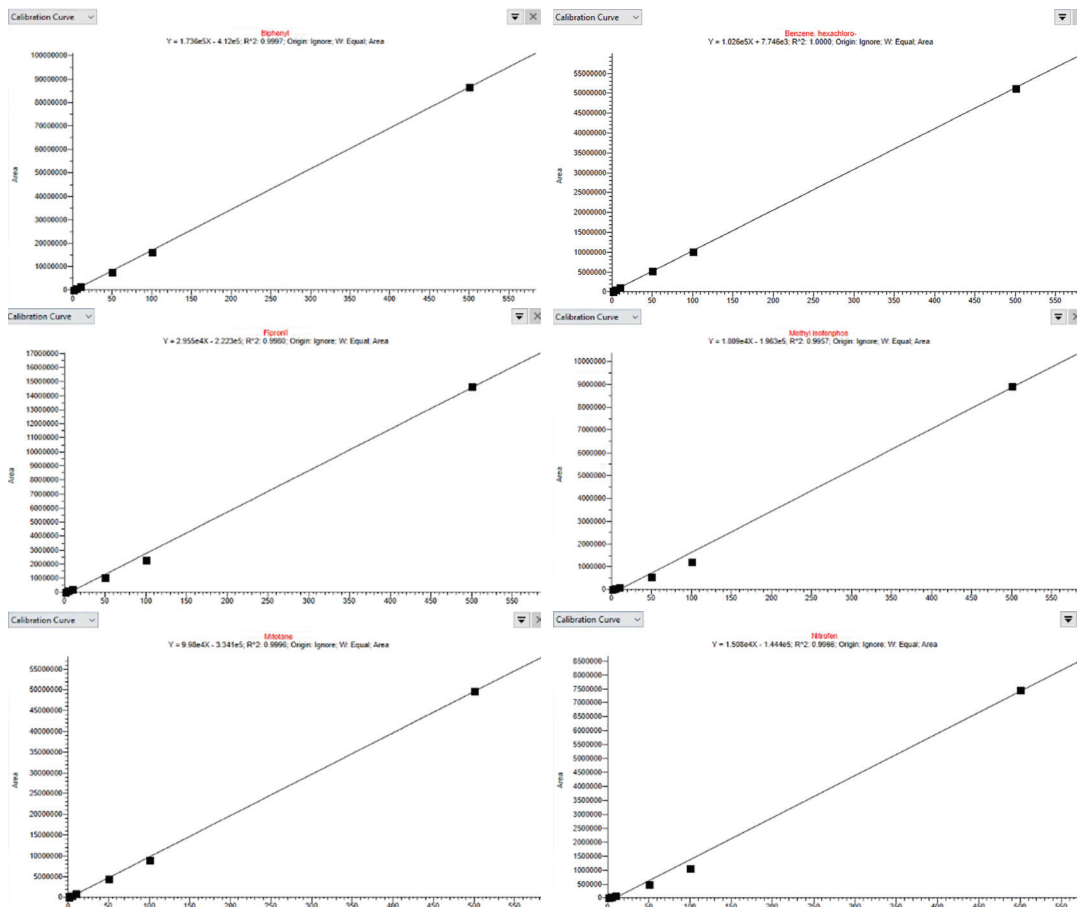


图8. 部分农药的校准曲线

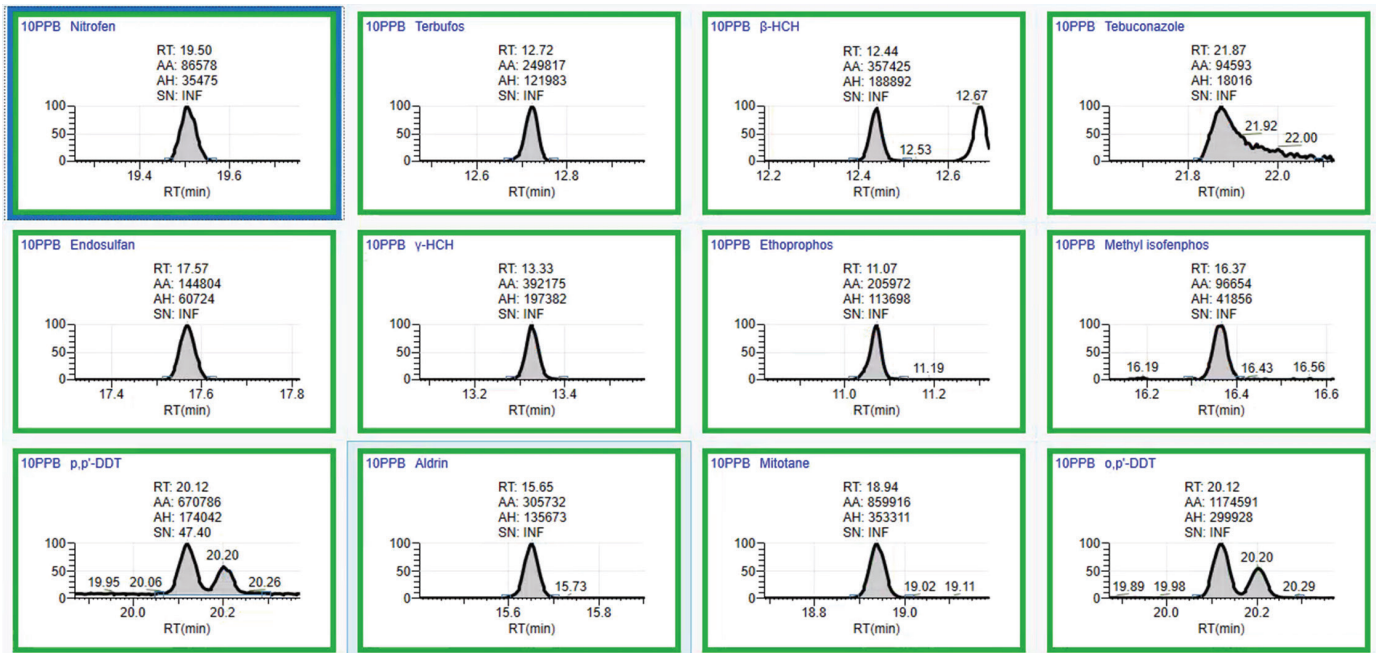


图9. 部分农药的定量离子提取图 (10µg/L)

## 6. 定量结果

利用上述的校准曲线，对筛查出的阳性农药进行定量分析，结果如下：

Compound	Sele	Flags	Flag Details	Peak Label	Type	Height	Area	RT	Sample Amt
1 Benzene, hexachloro-	✓			T1	Target Compound	22276	37597	11.96	0.291
2 Methyl isofenphos	✓			T1	Target Compound	85737	186803	16.34	21.179
3 Aldrin	✓			T1	Target Compound	570116	1289397	15.63	42.104
4 p,p'-DDT	✓			T1	Target Compound	1036527	4077768	20.20	47.433
5 Mitotane	✓			T1	Target Compound	27227	72051	18.93	4.070
6 p,p'-DDD	✓			T1	Target Compound	27227	72051	18.93	4.070
7 Coumaphos	✓			T1	Target Compound	135783	417364	26.66	55.169
8 Sulfotep	✓			T1	Target Compound	223987	379935	11.35	18.143
9 Nitrofen	✓			T1	Target Compound	237021	582317	19.50	48.182
10 δ-HCH	✓			T1	Target Compound	1086961	2143036	12.62	48.977
11 Tebuconazole	✓			T1	Target Compound	1098	1894	21.85	12.769
12 γ-HCH	✓			T1	Target Compound	1064231	2071362	13.28	48.755
13 Parathion	✓			T1	Target Compound	35218	71091	15.75	26.053
14 Dicrotophos	✓			T1	Target Compound	1132	459	11.26	24.594
15 β-HCH	✓			T1	Target Compound	1087693	1959203	12.33	49.684
16 α-Endosulfan	✓			T1	Target Compound	122133	314100	19.90	47.326
17 p,p'-DDE	✓			T1	Target Compound	637752	1526675	18.75	51.022
18 Ethoprophos	✓			T1	Target Compound	249194	451094	11.01	35.467
19 Fipronil	✓		F1,CPF	T1	Target Compound	221212	533259	16.65	25.570
20 o,p'-DDT	✓			T1	Target Compound	1688914	6681830	20.11	46.072
21 Monocrotophos	✓			T1	Target Compound	26102	66853	11.43	33.728
22 Chlorpyrifos	✓			T1	Target Compound	13146	26648	15.50	7.212
23 Biphenyl	✓			T1	Target Compound	520597	679689	9.00	6.289
24 Isoprocarb	✓			T1	Target Compound	16826	6250	10.10	4.930
25 Terbufos	✓			T1	Target Compound	1422	577	12.67	7.062
26 Phorate	✓			T1	Target Compound	1998	810	11.66	4.587
27 Endosulfan	✓			T1	Target Compound	568	230	17.66	448.008

图10.定量结果

## 7. 质量准确度

在高分辨数据中，质量准确度至关重要，较低的质量误差可在使用窄质量提取窗时确保高选择性并有助于确保阳性检测的可靠性。Orbitrap Exploris GC的C-trap的自动增益控制（AGC）功能可以设置最适的数目的离子进入，从而保护Orbitrap检测器免于饱和。这确保了农药在高低浓度范围内，均能保持良好的质量精确度。所有农药的质量误差值均未超过 1.0 ppm，远低于SANTE/2015/11945的限值（5 ppm），在精确的选择性检测中，提供最高置信度。

## 8. 重复性结果

低浓度点的重复性良好可以确保阳性农药检出的可信度，Orbitrap Exploris GC系统能够实现稳定、可靠的信号检测，是保障农药残留结果可靠性的依据，将浓度为10 $\mu$ g/L的农药混合标准溶液连续进样六次，所有农药的峰面积重复性均小4%，证实了系统的稳定性。

## 9. 回收率结果

为了验证阳性检出农药的结果可靠性，对检出的部分农药进行了添加回收实验，添加浓度为10mg/kg，其结果回收率均在80~120%之间，符合GB23200.113中对回收率的要求，结果如下：

表1.部分农药的重复性及回收率结果

名称	RSD(%)	回收率(%)	名称	RSD(%)	回收率(%)
艾氏剂	3.67	85.2	o,p'-滴滴涕	1.76	95.5
六氯苯	1.89	91.3	p,p'-滴滴涕	1.53	96.3
联苯	1.07	98.1	p,p'-滴滴伊	1.32	97.4
毒死蜱	3.98	88.1	p,p'-滴滴涕	2.01	98.1
蝇毒磷	2.54	82.3	对硫磷	2.89	88.1
百治磷	2.98	80.7	甲拌磷	2.65	84.4
硫丹	1.07	91.8	治螟磷	3.11	90.2
灭线磷	1.33	82.2	戊唑醇	3.73	88.8
氟虫腈	4.02	85.6	特丁硫磷	2.89	89.2
异丙威	3.45	93.2	$\alpha$ -六六六	1.58	99.2
甲基异柳磷	3.71	90.2	$\beta$ -六六六	1.12	93.6
o,p'-滴滴涕	1.86	98.2	$\gamma$ -六六六	0.81	94.2
除草醚	2.25	90.5	$\delta$ -六六六	0.97	96.3

## 结论

本文利用Orbitrap Exploris GC建立了GB23200.113中的208种农药的Compound Database，基于该Compound Database，对盲样进行了筛查，在盲样中筛查出29种农药，再对筛查出的农药进行了定量分析，得到了检出农药的定量结果，符合了农药残留能力验证，先盲筛再定量的流程，并在同一台仪器上完成。为了验证定量结果的可靠性，进行了重复性和回收率的测试，结果均符合SANTE/2015/11945对于定量结果的要求，再一次证实了Orbitrap Exploris GC的优异性能。

作为最新一代的静电场轨道阱高分辨气质联用仪Orbitrap Exploris GC一经推出，即备受关注，其分析平台采用了Orbitrap技术，具有高选择性和高分辨率，能提供卓越和灵活的性能，无论是在定量为主的常规检测，还是大规模筛查，都远胜于传统的气质联用仪，非常适合用于参加农药残留能力验证。除了基于GB23200.113建立的Compound Database外，赛默飞公司还利用GC-Orbitrap建立多农药质谱图库，用于农药的非靶向筛查，利用高分辨谱图库进行谱库检索，可以帮助用户获得更为准确的定性信息。



赛默飞  
官方微信

热线 800 810 5118  
电话 400 650 5118  
www.thermofisher.com

**Thermo Fisher**  
SCIENTIFIC