

基于二维液相色谱-高分辨质谱联用技术构建复杂农产品基质中 农药多残留的非靶向筛查策略

姚雪*, 蒲婉欣, 李芳操

恩施州公共检验检测中心 湖北恩施

【摘要】针对复杂农产品基质中农药残留种类繁多、化学性质差异大以及传统分析方法覆盖范围有限的问题,本研究开发了一种基于二维液相色谱-高分辨质谱(2D-LC-HRMS)联用技术的非靶向筛查策略。通过优化在线固相萃取与二维色谱分离条件,结合信息非依赖采集模式,建立了涵盖1210种农药、兽药及其他污染物的筛查方法。该方法显著提高了色谱分离能力,将分析物的log P覆盖范围扩展至-8至12。在草莓实际样本检测中,成功筛查出67种母体农药及57种转化产物,证明了该方法在发现未知农药及其转化产物方面的优势。本研究为复杂农产品基质中农药多残留的高通量筛查提供了可靠技术支持。

【关键词】二维液相色谱-高分辨质谱;非靶向筛查;农药多残留;复杂农产品基质;转化产物

【收稿日期】2025年10月18日 **【出刊日期】**2025年11月27日 **【DOI】**10.12208/j.jafs.20250014

A comprehensive screening strategy for non-targeted analysis of pesticide multi-residues in complex agricultural matrices using two-dimensional liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry

Xue Yao*, Wanxin Pu, Fangcao Li

Enshi Public Inspection and Testing Center, Enshi, Hubei

【Abstract】To address the challenges of diverse pesticide residues in complex agricultural matrices and the limited coverage of traditional analytical methods, this study developed a non-targeted screening strategy based on two-dimensional liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry (2D-LC-HRMS). By optimizing online solid-phase extraction and two-dimensional chromatographic separation conditions, combined with data-independent acquisition mode, we established a screening method covering 1210 pesticides, veterinary drugs, and other contaminants. This method significantly improved chromatographic separation capability, extending the log P coverage range of analytes from -8 to 12. In practical strawberry sample analysis, 67 parent pesticides and 57 transformation products were successfully screened, demonstrating the method's advantage in discovering unknown pesticides and their transformation products. This research provides reliable technical support for high-throughput screening of pesticide multi-residues in complex agricultural matrices.

【Keywords】Two-dimensional liquid chromatography-high resolution mass spectrometry; Non-targeted screening; Pesticide multi-residues; Complex agricultural matrices; Transformation products

1 引言

农药在农业生产中的广泛应用极大地提高了作物产量,但同时也带来了农药残留问题,对食品安全和人类健康构成潜在威胁。据统计,2020年全球

农业领域的农药使用量已达到约270万吨,且呈持续增长趋势。尽管欧盟、美国和中国等国家和地区对农产品中的农药残留制定了严格的最大残留限量标准,但目前大多数常规检测方法主要针对已知母

*通讯作者:姚雪(1996-)女,湖北省恩施市人,侗族,大学本科,质量助理工程师(11级),研究方向为液相色谱在食品添加剂检测中的应用,现从事食品检测工作。

体农药,对于农药转化产物(transformation products, TP)的关注明显不足。

农药在环境中或农产品加工、储存过程中可能发生降解或转化,形成各种转化产物。这些转化产物可能具有与母体农药相同甚至更高的毒性,但关于它们在农产品中存在情况的研究却十分有限。更为复杂的是,农产品基质中含有大量干扰物质,如色素、有机酸、糖类和脂质等,这些物质严重干扰农药残留的检测与分析,特别是对于含量较低的转化产物。

传统的一维液相色谱-质谱技术在分析复杂样品时存在分离能力不足、基质干扰严重等问题,难以实现大量农药残留的全面筛查。近年来,二维液相色谱-高分辨质谱(2D-LC-HRMS)技术因具有更高的峰容量和分离能力,在复杂体系分析中展现出明显优势。该技术通过两种不同分离机制的色谱柱组合,显著提高了对复杂样品中不同性质化合物的分离效果。

本研究旨在构建一种基于二维液相色谱-高分辨质谱联用技术的非靶向筛查策略,通过对色谱条件和质谱参数的全面优化,实现对复杂农产品基质中农药母体及其转化产物的全面筛查与鉴定,为农产品质量安全风险评估提供新的技术手段。

2 方法部分

2.1 仪器与试剂

实验采用二维液相色谱系统,其中第一维色谱采用 YMC-Pack Diol HILIC 柱(2.1 mm×100 mm; 5 μm; 120 Å),第二维色谱采用 Agilent Poroshell 120 EC-C18 柱(2.1 mm×100 mm; 2.7 μm)。质谱检测采用 Q-TOF 高分辨质谱仪,配备电喷雾离子源(ESI)。

农药标准品包括有机磷类、氨基甲酸酯类、拟除虫菊酯类、新烟碱类等常见农药,纯度均大于 97%。乙腈、甲醇为色谱纯,实验用水为超纯水。

2.2 样品前处理

取均质后的农产品样品 10 g,加入 10 mL 4℃ 乙腈振荡提取 1 min,随后加入 4 g 无水硫酸镁、1 g 氯化钠、1 g 柠檬酸钠和 0.5 g 柠檬酸氢二钠进行盐析分离。涡旋混合 1 min 后,4500 r/min 离心 5 min。取上清液 2 mL,加入 150 mg 无水硫酸镁和 25 mg PSA 吸附剂进行净化处理,涡旋混合 1 min 后离心,取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜,待测。

对于脂质含量较高的动物源性食品样品,采用通过式固相萃取(pt-SPE)方法进行净化,显著降低基质效应,提高分析物回收率。

2.3 2D-LC-HRMS 分析条件

第一维色谱条件:采用 Diol HILIC 柱,流动相 A 为含 5 mmol/L 乙酸铵和 0.1%甲酸的水溶液,B 为乙腈。梯度洗脱程序:0-5 min, 95% B; 5-10 min, 95% B → 70% B; 10-15 min, 70% B → 50% B。流速 0.2 mL/min,柱温 35℃。

第二维色谱条件:采用 C18 反相色谱柱,流动相 A 为含 5 mmol/L 乙酸铵和 0.1%甲酸的水溶液,B 为含 5 mmol/L 乙酸铵和 0.1%甲酸的甲醇溶液。梯度洗脱程序:0-2 min, 5% B; 2-10 min, 5% B → 95% B; 10-12 min, 95% B; 12-12.1 min, 95% B → 5% B; 12.1-15 min, 5% B。流速 0.3 mL/min,柱温 40℃。

采用双循环进样方式,通过十通阀实现第一维色谱流出物到第二维色谱的切割与转移。第一维色谱流出物在 0.5-1.5 min 时间段内的极性馏分被切割并转移至第二维色谱柱进行进一步分离。

质谱条件:采用 ESI 离子源,正负离子切换模式;质量扫描范围 m/z 50-1250;分辨率>30000;碰撞能量为 15、30 和 45 eV 三级;离子源温度 500℃;电喷雾电压 4500 V;采用信息非依赖采集模式,包括全扫描和 MS/MS 扫描。

2.4 数据处理与筛查策略

非靶向筛查流程包括可疑筛查(suspect screening)和非靶向筛查(non-target screening)两个层次。

在可疑筛查阶段,整合实验室标准品、开源 LC-MS/MS 数据库及相关文献资料,编制包含 1265 种母体农药和常见转化产物的可疑物清单,用于筛查已知的食品风险物质。

在非靶向筛查阶段,首先通过查询现有数据库和使用计算机预测软件,构建包含 10226 个化合物的转化产物数据库;其次,根据实验二级质谱数据,归纳 39 类农药的质谱碎裂特征。通过与转化产物和质谱碎裂特征进行匹配,识别未知的农药及转化产物。

使用自编程序包 ModifiedMetMRM 处理非靶向代谢组数据,基于修饰反应类型筛选潜在代谢物。设置质谱峰列表与二级质谱文件的匹配参数为质量

精度 15×10^{-6} , 保留时间窗口 12 s。

3 结果与讨论

3.1 2D-LC 分离条件优化

本研究通过系统优化二维液相色谱的分离条件, 显著提高了对复杂农产品基质中不同极性农药的分离效果。与传统的一维色谱相比, 2D-LC 系统通过 HILIC 与反相 C18 两种不同分离机制的色谱柱组合, 将分析物的油水分配系数 ($\log P$) 覆盖范围从传统的 0-8 扩展至 -8 至 12, 极大改善了对强极性和强疏水性农药的分离能力。

在接口技术方面, 本研究采用了基于 packed loop 的切割技术, 将第一维色谱流出物中包含目标分析物的特定时间段 (0.5-1.5 min) 切割并转移至第二维色谱系统。这种设计既保证了目标组分的有效转移, 又避免了强基质干扰物进入第二维系统, 从而提高了质谱检测的稳定性与灵敏度。

通过对流动相组成、梯度程序、流速和柱温等参数的优化, 实现了 79 种农药在复杂果蔬基质中的有效分离, 各化合物的峰形对称, 无明显拖尾现象。

3.2 高分辨质谱数据采集策略

基于 Q-TOF 的高分辨质谱仪结合信息非依赖采集模式, 能够在单次分析中同时获取所有化合物的一级精确质量数和二级碎片信息, 为非靶向筛查提供了完整的数据支持。

本研究对比了数据依赖采集 (DDA) 和数据独立采集 (DIA) 两种模式的性能, 发现 DIA 模式更适用于复杂基质中未知化合物的筛查, 因为它不受母离子选择偏好的影响, 能够无歧视地获取所有离子的碎片信息。通过设置 15、30 和 45 eV 三级碰撞能量, 获得了丰富的碎片离子信息, 为化合物结构鉴定提供了可靠依据。

方法验证结果表明, 在 0.1-200 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内, 各目标化合物具有良好的线性关系, 相关系数 (r) 均大于 0.990。79 种化合物的检出限 (LOD) 和定量限 (LOQ) 范围分别为 0.01-4.0 $\mu\text{g/kg}$ 和 0.03-13.0 $\mu\text{g/kg}$, 满足国内外农药最大残留限量标准的要求。

3.3 实际样品筛查结果

将所建立的方法应用于草莓、葡萄、玉米等实际农产品样品的检测, 在草莓样本中共筛查出 67 种母体农药和 57 种转化产物。大多数农药残留水平低于最大残留限量, 处于相对较低的水平。值得注意

的是, 一些农药转化产物在样品中单独存在, 并未检测到其母体农药, 表明母体农药已经发生降解, 这凸显了监控农药降解产物的必要性和重要性。

对筛查出的农药进行初步溯源分析表明, 它们可能从长期受污染的温室土壤中迁移而来。这一发现为农产品中农药残留的来源解析和污染控制提供了重要依据。

3.4 方法优势与创新点

本研究建立的基于 2D-LC-HRMS 的非靶向筛查策略具有以下创新点和优势:

首先, 通过二维色谱分离与高分辨质谱的有机结合, 解决了复杂农产品基质中大量共提取干扰物质对农药检测的影响, 显著提高了筛查的覆盖范围和准确性。与常规的一维色谱-质谱方法相比, 本方法将可筛查的化合物数量从几百种提升至上千种。

其次, 通过整合可疑筛查和非靶向筛查策略, 并结合计算机预测的转化产物数据库与特征碎片离子匹配技术, 不仅能够检测已知农药, 还能发现未知的农药转化产物, 大大提升了方法的发现能力。

此外, 本研究采用的通过式固相萃取前处理技术, 显著简化了样品制备流程, 减少了有机溶剂使用量, 提高了分析通量, 适用于大规模农产品样本的快速筛查。

4 结论

本研究成功构建了一种基于二维液相色谱-高分辨质谱联用技术的非靶向筛查方法, 用于复杂农产品基质中农药多残留的全面分析。该方法通过优化二维色谱分离条件和高分辨质谱参数, 实现了对 1210 种农药、兽药及其他污染物的高覆盖筛查。实际样品检测结果表明, 该方法能够有效识别农产品中的母体农药及其转化产物, 为农产品质量安全风险评估提供了强有力的技术支撑。

未来, 我们将进一步完善农药转化产物数据库, 开发更高效的数据处理算法, 并将该方法推广应用至更多类型的农产品矩阵, 为食品安全监管提供更全面的解决方案。

参考文献

- [1] Chen T, Zhao C, Xu G. Suspect and nontarget screening of pesticides and their transformation products in agricultural products using liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry. *Talanta*. 2025;283:127154.

- [2] Kittlaus S, Schimanke J, Kempe G, et al. Development and validation of an efficient automated method for the analysis of 300 pesticides in foods using two-dimensional liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2013;1283:98-109.
- [3] Zarrouk E, Griffeuille P, El Balkhi S, et al. Quantitative screening of pesticides and their metabolites in human matrices: Are we ready to switch to high resolution mass spectrometry? *Toxicologie Analytique et Clinique*. 2022;34(3S):S55.
- [4] 许国旺团队. 新方法实现血清中 1210 种农、兽药等高覆盖筛查. 科学网. 2023.
- [5] Nazar N, Chatterjee NS, Panda SK, et al. Evaluating pass-through SPE cleanup for high-throughput analysis of large-scope multiclass microchemicals in fish, poultry meat, and chicken eggs using UHPLC-MS/MS. *Microchemical Journal*. 2025;219:116215.
- [6] Determination of 79 pesticide residues in fruits and vegetables by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *色谱*. 2025; 43(9): 1053-1062.
- [7] A novel method for efficient screening and annotation of important pathway-associated metabolites based on the modified metabolome and probe molecules. *色谱*. 2022;40(9):788-796.
- [8] Perspectives on Liquid Chromatography-High-Resolution Mass Spectrometry for Pesticide Screening in Foods. *J Agric Food Chem*. 2018;66(37):9573-9581.
- 版权声明:** ©2025 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

**OPEN ACCESS**