DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251202004
引用格式: 张蕊, 张宇, 郭冬雪, 等. 高分辨质谱结合分子网络技术快速筛查小麦中农药及其代谢物[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(2): 196–205.
ZHANG R, ZHANG Y, GUO DX, *et al*. Rapid screening of pesticide and their metabolites in *Triticum aestivum* L. by high-resolution mass spectrometry combined with molecular network technology [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(2): 196–205. (in Chinese with English abstract).

高分辨质谱结合分子网络技术快速筛查小麦中农药及其代谢物

张 蕊[1*], 张 宇[1,2], 郭冬雪[1], 吴 宇[1], 叶 金[1], 朱 琳[1], 王松雪[1]
(1. 国家粮食和物资储备局科学研究院, 北京 100037; 2. 中南林业科技大学食品科学与工程学院, 长沙 410004)

摘 要: 目的 建立超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱技术(ultra performance liquid chromatography coupled to quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry, UPLC-Q-Orbitrap HRMS)与分子网络策略的非靶向筛查方法, 用于小麦中农药残留及其代谢物的快速识别。**方法** 以加标小麦样品为对象, 利用 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 采集高分辨质谱数据。原始数据经 MSConvert 格式转换后, 导入 MZmine 软件进行预处理, 再上传至全球天然产物社会分子网络平台(global natural products social molecular networking, GNPS)构建可视化分子网络。系统考察了 MS2 质谱图去噪阈值和 GNPS 网络构建参数(最小匹配碎片离子数、谱库搜索最小匹配数)对种子节点识别效率的影响, 并综合运用精确质量数、保留时间及特征碎片离子裂解规律对目标物进行鉴定。**结果** 当 MS2 去噪阈值设为 1.0E3、GNPS 最小匹配碎片离子数和谱库搜索最小匹配数均设置为2时, 分子网络注释率和整体种子节点识别率达到最优, 分别为58.9%和94.9%。在优化条件下, 通过分子网络成功聚类并识别了结构相近的农药, 以及杀线威、抗蚜威、咪鲜胺、亚胺硫磷、马拉硫磷的代谢产物, 并阐明了其主要裂解途径。**结论** 本研究建立的 UPLC-Q-Orbitrap HRMS-分子网络整合分析策略, 能够实现小麦中结构相似农药及其代谢物的快速、高效筛查, 为复杂农产品基质中非靶向农药残留分析提供了可靠的技术方案和新的研究思路。

关键词: 小麦; 农药残留; 代谢物; 高分辨质谱法; 非靶向筛查; 分子网络

Rapid screening of pesticide and their metabolites in *Triticum aestivum* L. by high-resolution mass spectrometry combined with molecular network technology

ZHANG Rui[1*], ZHANG Yu[1,2], GUO Dong-Xue[1], WU Yu[1], YE Jin[1], ZHU Lin[1], WANG Song-Xue[1]
(1. *Academy of National Food and Strategic Reserves Administration*, *Beijing* 100037, *China*;
2. *College of Food Science and Engineering*, *Central South University of Forestry & Technology*, *Changsha* 410004, *China*)

收稿日期: 2025-12-02
基金项目: 国家粮食和物资储备局科学研究院结余资金专项(JY2407)
第一作者/*通信作者: 张蕊(1975—), 女, 硕士, 研究员, 主要研究方向为粮油质量安全检测技术研究。E-mail: zr@ags.ac.cn

ABSTRACT: Objective　To establish an untargeted screening method for rapidly identifying pesticide residues and their metabolites in *Triticum aestivum* L. by ultra performance liquid chromatography coupled to quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry (UPLC-Q-Orbitrap HRMS) combined with a molecular networking strategy. **Methods**　Fortified *Triticum aestivum* L. samples were analyzed using UPLC-Q-Orbitrap HRMS to acquire high-resolution mass spectrometry data. The raw data were converted by MSConvert, imported into MZmine software for preprocessing, and then uploaded to the global natural products social molecular networking (GNPS) platform for constructing a visual molecular network. The effects of the MS2 spectral denoising threshold and GNPS network construction parameters (minimum matched fragment ions, minimum matched spectra for library search) on seed node identification efficiency were systematically investigated. Target compounds were identified by integrating accurate mass, retention time and characteristic fragment ion cleavage patterns. **Results**　Optimal network annotation rate (58.9%) and seed node recognition rate (94.9%) were achieved when the MS2 denoising parameter was set to 1.0E3, and both the minimum matched fragment ions and library search minimum matches in GNPS were set to 2. Under the optimized conditions, structurally similar pesticides were successfully clustered and identified through molecular networking, along with the metabolites of oxamyl, pirimicarb, prochloraz, phosmet and malathion, with their major fragmentation pathways elucidated. **Conclusion**　A UPLC-Q-Orbitrap HRMS-molecular networking non-targeted screening strategy is developed, enabling rapid and efficient identification of structurally similar pesticide residues and metabolites in *Triticum aestivum* L.. This approach provides a reliable analytical framework and technical methodology for screening non-targeted pesticide residues and metabolites in complex matrices.

KEY WORDS: *Triticum aestivum* L.; pesticide residues; metabolites; high-resolution mass spectrometry; non-targeted screening; molecular network

0　引　言

小麦是我国主要粮食作物之一, 其稳定生产关系着国家粮食安全。我国小麦产量在 2015 年首次突破 1.3 亿 t, 此后连续多年保持高产、稳产。农药在实现小麦连年高产中发挥了不可替代的作用。然而, 农药是把“双刃剑”, 在发挥防治病虫害作用的同时, 也带来了农药残留问题。农药一方面以母体形式被作物吸收、富集, 并通过食物链传递; 另一方面, 其在环境介质或生物体内可发生代谢转化, 在代谢过程中有时产生比母体生物毒性更大的有毒代谢物[1−2], 如有机磷农药的 P=S 键被氧化为 P=O 键, 相应代谢物的毒性可达母体的 5~1000 倍[2]。因此, 农药及其代谢物潜藏的安全风险是一个长期受到关注的问题。

目前, 农药及其代谢物分析方法主要采用基于低分辨质谱的靶向技术[3−7], 该技术高度依赖标准品, 通量有限, 不能满足潜在或未知农药及代谢物识别的需求。液相色谱-串联高分辨质谱技术能通过高分辨率全扫描获得目标物精确质量数, 将复杂基质中干扰物与目标分析物区分开, 同时能降低对标准品的依赖, 实现对复杂基质中痕量化合物高通量定量分析及未知物的非靶向筛查(non-targeted screening, NTS)[8], 该技术已逐渐应用于代谢组学、环境、中药、食品等领域[8−12]。

NTS 技术是以高分辨质谱数据采集为基础, 通过数据分析实现未知化合物的鉴别。在此过程中, 高质量的数据采集是筛查的前提, 而高效的数据分析策略则是实现精准 NTS 筛查的关键因素。目前, 基于数据分析策略的研究已广泛开展, 代表性技术包括数据库匹配[13−15]、代谢组学分析[16−18]、质谱裂解特征[19−21]、质量亏损过滤[21−24]以及分子网络技术[12,25−28]等。其中, 分子网络技术是一种质谱数据可视化注释技术, 可根据质谱之间的相似性, 将结构类似的化合物聚集成簇, 不仅可在未知样品成分组成的情况下直观获得各成分之间的关系, 还可根据已知成分的质谱信息对其他相关成分进行快速解析, 从而发现类似物或新化合物, 提高化合物的鉴定效率, 分子网络技术已成为各领域的研究热点[12,25−28]。

有关于分子网络技术在小麦中农药及其代谢物分析中应用的研究较少。因此, 本研究以小麦为研究对象, 利用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法(ultra performance liquid chromatography coupled to quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry, UPLC-Q-Orbitrap HRMS), 建立特征分子网络(feature-based molecular networking, FBMN), 并结合全球天然产物分子网络在线分析平台(global natural products social molecular networking, GNPS), 根据可视化离子间的聚集与分布, 进行农药及代谢物的快速识别, 为解决 NTS 筛查小麦中未知农药及其代谢物的分析提供思路。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

小麦籽粒, 田间采样。

331 种农药及 6 种代谢物标准品(质量浓度 100 mg/L, 天津阿尔塔科技有限公司); 乙腈、甲醇、乙酸(色谱纯)、甲酸(质谱纯)、质谱仪正离子模式校正液(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 乙酸胺(质谱纯, 德国 Merck 公司); 超纯水(美国 Millipore 公司)。

1.2 仪器与设备

U1tiMate 3000 型高效液相色谱仪、Q-Exactive Orbitrap 高分辨质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); VORTEX 3 涡旋振荡仪(德国 IKA 公司); SCDEALL VX-IV 多管涡旋振荡器[安简(北京)科技有限公司]; 3-30 K 离心机(美国 Sigma 公司); GT10-1 高速台式离心机(北京时代北利离心机有限公司); Milli-Q 超纯水纯化系统(美国 Millipore 公司); SQP 分析天平(精度 1 mg, 北京赛多利斯仪器有限公司); CORTECSTM UPLC C_{18} 柱(100.0 mm×2.1 mm, 1.6 μm, 美国 Waters 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 样品前处理

采用本实验室前期研究方法[29], 准确称取 5 g 样品, 加入 20 mL 乙腈-水-乙酸(70:29:1, *V*:*V*:*V*)混合溶剂, 涡旋混匀 20 min 后, 以 7000 r/min 离心 10 min 使固液分离。转移 0.5 mL 上清液于 1.5 mL 离心管中, 加入 0.5 mL 水稀释, 涡旋混匀 1 min, 然后在 4 ℃下以 12000 r/min 离心 10 min, 取上清液用 0.22 μm 的聚四氟乙烯滤膜过滤, 混匀待测。

1.3.2 构建数据库样品

空白对照组: 13 个空白小麦样品。

方法验证样品: (1)分别配制浓度为 0.02、0.20、0.50 mg/kg 含 331 种农药的混合纯溶液, 各 1 个; (2)取空白小麦分别添加 331 种农药及 6 种代谢物, 制备 4 个高浓度(0.5 mg/kg)、3 个低浓度(0.02 mg/kg)加标样品; (3) 12 个小麦样品。

1.3.3 仪器条件

(1)色谱条件

流动相: A 为甲醇, D 为含 0.1%(体积分数)的甲酸和 1 mmol/L 乙酸铵的水溶液, 流速 0.3 mL/min。梯度洗脱程序: 0~2 min, 90% D; 2~24 min, 90%~5% D; 24~27 min, 5% D; 27~30 min, 5%~90% D; 柱温 40 ℃; 进样量 2 μL。

(2)质谱条件

采用本实验室前期研究方法[29], 全扫描/数据依赖二级质谱扫描模式进行数据 NTS 采集。主要质谱参数设置如下: 离子源为加热电喷雾离子源, 离子化模式为正离子模式; 离子源温度 300 ℃; 喷雾电压 3.2 kV; 离子传输管温度 320 ℃; 鞘气流速 35 unit; 辅助气流速 10 unit。一级全扫描质谱范围为 80~1200 (*m*/*z*), 分辨率设置为 70000 FWHM; 自动增益控制目标值为 1×10^6; 最大注入时间为 100 ms。数据依赖性二级质谱扫描分辨率设置为 17500 FWHM; 自动增益控制目标值为 1×10^5; 最大注入时间为 60 ms; 每个扫描周期内最多选择 5 个丰度最高的母离子进行碎裂; 母离子隔离窗口为 1.5 (*m*/*z*); 碎裂采用阶梯归一化碰撞能量, 能量值分别设置为 20、40 和 60 eV。

1.4 数据处理

(1)高分辨质谱采集所得原始数据, 使用 MSConvert 软件(版本 3.0)转换为 mzML 格式。

(2)转换后的数据导入 MZmine 软件(版本 4.4.3), 依次进行质谱噪声过滤、色谱峰检测、特征提取、解卷积、同位素峰识别与分组、保留时间与 *m*/*z* 校正等处理, 最终导出包含特征峰信息的列表文件; 。

(3)将上述处理后的数据上传至 GNPS[30], 选用“创建分子网络”工作流进行分子网络构建。关键参数设置如下: 前体离子质量容差 0.02 Da, 碎片离子质量容差 0.02 Da, 最小匹配余弦相似度 0.7(即余弦相似度大于等于 0.7 时方建立节点间连接), 最小共有碎片离子数 2, 网络最大簇规模 100。

(4)分子网络构建完成后, 直接通过该平台内置工具对网络结构进行可视化分析与展示。

1.5 质谱分析

质谱数据通过 Thermo Xcalibur 软件(版本号 4.5.474.0)处理分析, 与自建数据库[19]图谱中的相对保留时间、母离子、二级碎片离子信息等比对确认。本研究高分辨质谱结合分子网络技术的 NTS 筛查策略见图 1。

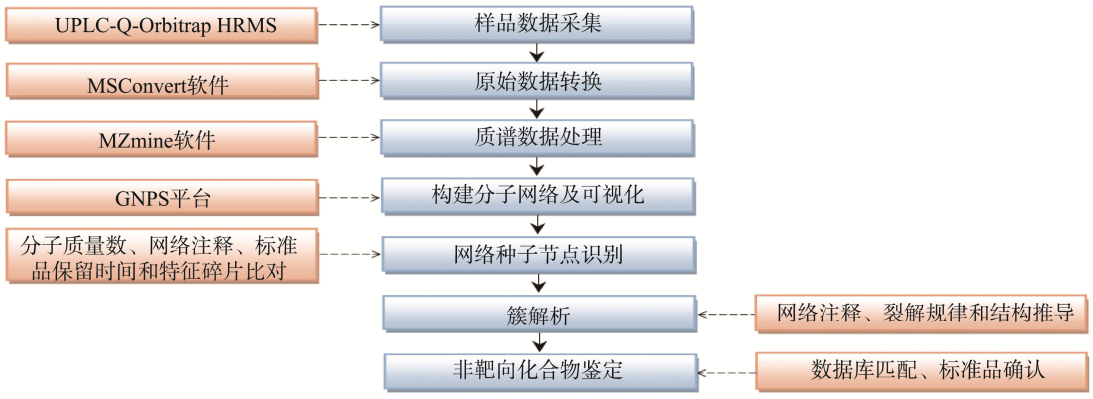


图 1 HRMS 结合分子网络技术的 NTS 筛查策略

Fig.1 NTS strategy based on HRMS coupled with molecular network

2　结果与分析

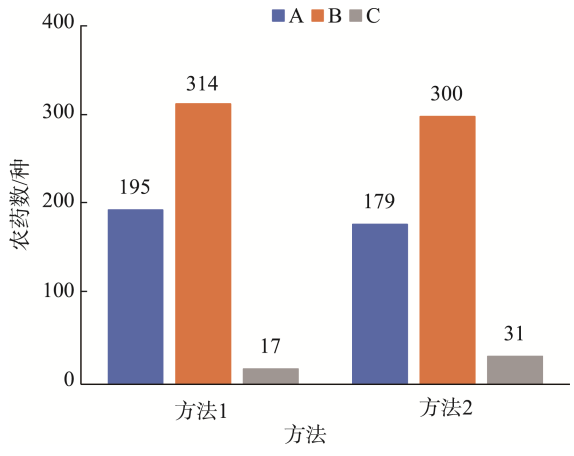
2.1　分子网络构建关键参数优化

构建的分子网络是由众多节点构成。以其中已知化合物作为种子节点，用于识别网络中的未知节点，因此种子节点的准确识别是鉴定未知物(如代谢物、相似化合物)的关键前提。本研究选取了 331 种常用农药(涵盖杀虫剂、除草剂、杀菌剂等)，系统考察了数据处理关键参数对种子节点识别效果的影响。种子节点的识别主要通过两种途径实现：(1)基于分子网络注释，其识别比例(即注释率)以占添加农药种类的百分比表示；(2)通过精确质量数并结合实验室自建的农药残留数据库、标准品进行比对鉴定。

2.1.1　质谱去噪参数

质谱去噪是数据处理至关重要的一步，参数设置过于严格，可能过滤掉真实的弱信号，导致假阴性，设置过于宽松，可能保留过多噪音，导致假阳性。本研究考察了 MS2 去噪参数对于种子节点识别的影响。

当 GNPS 最小匹配碎片离子数和谱库搜索最小匹配数为 2, MS2 去噪参数设置为 1.0E3(方法 1)，分子网络中共检测节点大于等于 2 的分子簇 1956 个，检出农药 314 种(其中网络标识 195 种，注释率 58.9%)，总识别率 94.9%，未检出农药 17 种。当 MS2 去噪参数设置为 1.0E4(方法 2)，分子网络中共检出节点大于等于 2 的分子簇 1530 个，检出农药 300 种(其中网络标识 179 种，注释率 54.1%)，识别率 90.6%，未检出农药 31 种，见图 2。空白对照组采用方法 1 处理，未检出农药。结果表明, MS2 去噪参数提高导致了部分真实信号丢失，匹配度变差，识别农药品种减少。为获得更多种子节点，可将 MS2 去噪参数设置为 1.0E3。



注: A. 网络注释农药数; B. 总检出农药数; C. 未检出农药数，图 3 同。

图 2　质谱去噪参数对分子网络中种子节点识别的影响

Fig.2　Effects of mass detection parameter on seed node identification in molecular networks

2.1.2　GNPS 参数

GNPS 算法是通过比较谱图之间的相似性(共享碎片离子)构建网络，当两个谱图共享的碎片离子数量超过设定的“匹配碎片数”阈值，建立连接，归入同一个簇。设置 MS2 去噪参数为 1.0E3，考察了 GNPS 不同最小匹配碎片离子数、谱库搜索最小匹配数对种子节点识别的影响。

当设置最小匹配碎片离子数为 4，谱库搜索最小匹配数 4(方法 3)，在分子网络中共检测节点大于等于 2 的分子簇 2988 个，检出农药 315 种(其中网络标识 141 种，注释率 42.6%)，识别率 95.2%，未检出农药 16 种，见图 3。与方法 1 相比，检出农药品种数相当，但网络注释率明显降低，这主要是由于谱库搜索所设置的最小匹配数阈值提高所致。因此，将搜索阈值设定为 2，更有利于通过网络注释识别农药。

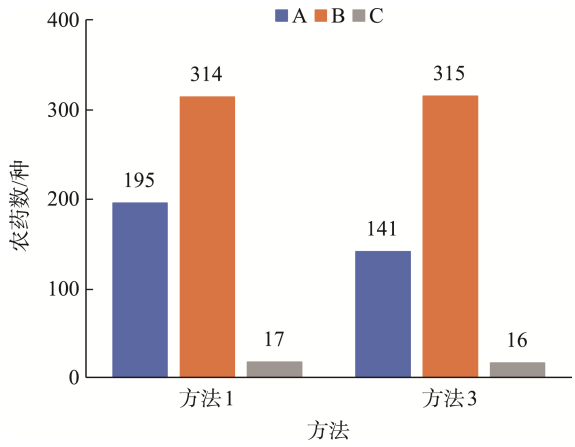


图 3　GNPS 参数对分子网络中种子节点识别的影响

Fig.3　Effects of GNPS parameter on seed node identification in molecular networks

当最小匹配碎片离子数阈值设定值较低时，允许碎片离子相似度较低的分子谱图之间建立连接，被纳入同一个网络，并获得较少的簇；当阈值提高时，因无法达到共享离子数，原本连通的大簇会在薄弱处断裂，分成多个互不相连的小簇，而获得较多的簇。以烯唑醇(三唑类农药)为种子节点，采用方法 1 构建分子网络，获得一个包含 25 个节点的大簇，其中分子网络注释识别出 10 种三唑类农药和 1 种三唑硫酮类农药，通过自建数据库对 11 种注释农药进行了确认；采用方法 3 构建分子网络，获得一个包含 2 个节点的簇，见图 4。结果表明，在 NTS 化合物快速筛查方面，相较于方法 3，方法 1 在识别具有相同碎片特征的农药时表现更加高效，然而给未知节点的解析也带来了一定挑战。后续采用方法 1 构建的分子网络开展未知物解析。与质量亏损过滤、特征离子非靶向筛查相比，分子网络在没有先验信息的情况下，仅依赖串联质谱数据将结构相似的物质自动聚集成簇，从而更高

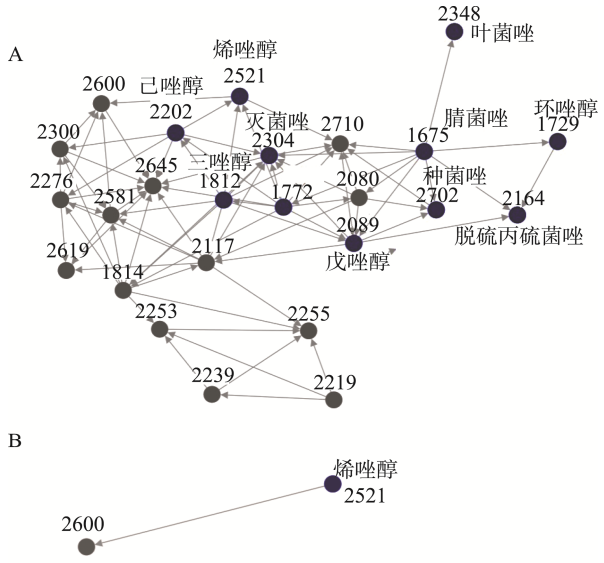
效地筛查潜在的非靶向目标物。

2.2 基于分子网络未知代谢物识别方法的验证

为验证所构建分子网络在准确识别非靶向化合物的适用性，本研究对高、低两个浓度水平的小麦加标样品中的 5 种农药代谢物进行了识别。

2.2.1 杀线威(氨基甲酸酯类)代谢物的识别

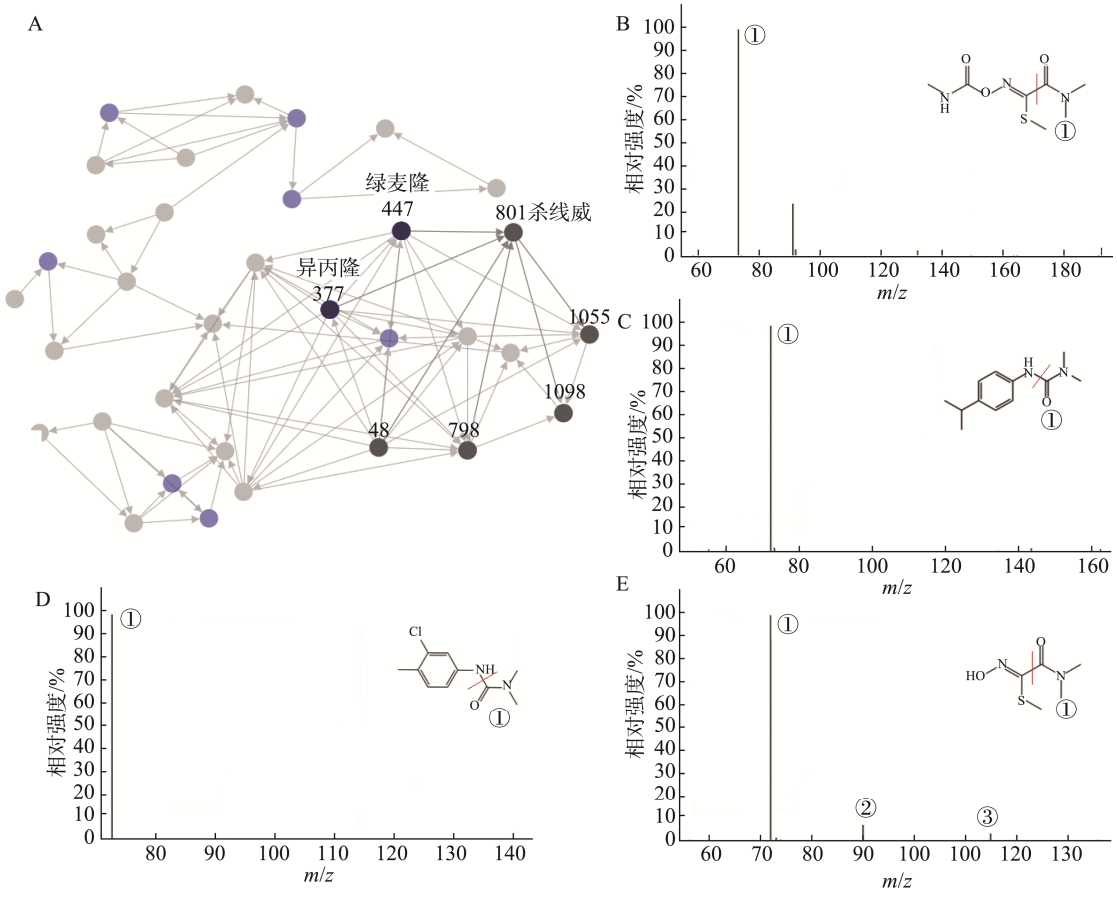
第一步，种子节点识别。根据精确质量数(237.1017)在 GNPS 中检索杀线威，并结合保留时间及自建数据库[30]特征碎片离子信息，对该节点进行确认。第二步，种子节点所在簇的解析。该簇主要由具有特征碎片 72.04(分子网络标注)的化合物聚集而成。碎片 72.04 多为氨基甲酸酯类及脲类农药的特征碎片离子 $C_3H_6NO^+$(理论精确质量数 72.0444)。由网络拓扑显示，6 个节点与节点 801 直接关联，将每一个关联节点视为杀线威同类化合物或转化产物的候选物。其中 377、477 已分别被分子网络注释为异丙隆、绿麦隆，经实验室自建标准谱库[30]确认，注释正确，见图 5。簇内未知节点 1055 与节点 801 具有相同的保留时间，



注: A. 方法 1; B. 方法 3。

图 4 烯唑醇分子网络

Fig.4 Molecular network of diniconazole



注: A. 杀线威的分子网络图; B. 节点 801; C. 节点 377; D. 节点 447; E. 节点 48。①、②、③为特征峰。

图 5 农药杀线威的分子网络及部分节点质谱图

Fig.5 Molecular network of oxamyl and mass spectra of partial

但其质量数增加了 14.015。鉴于该节点仅在高浓度样品中检出，推测其为源内反应形成的加合物。另一个未知节点 48 与节点 801 $[M+NH_4]^+$相差质量数 74.042，对应中性质量差 57.016。从结构裂解角度分析，杀线威中酯基(-COO-)中的羰基具有极性，可发生水解反应，导致酰氧键(C-O 键，图 6 中 A 处)断裂。断裂后，分子右侧部分加氢形成新化合物，其理论质量数与观测值(57.016)高度吻合，故初步推断节点的结构式。为验证上述推断，对该化合物裂解途径进行解析(图 6)。其在 B 处断裂可产生特征碎片离子 $C_3H_6ON^+$ (72.0444)与 $C_2H_4NSO^+$ (90.0008)，在 C 处断裂则生成特征碎片离子 $C_4H_7O_2N_2^+$ (115.0502)，这些碎片离子分别对应图 4E 中特征峰①、②、③，初步推断该节点为杀线威-肟。第三步，识别代谢物的鉴定。经与杀线威-肟标准品比对，节点 48 被注释为杀线威代谢产物—杀线威-肟。按此思路，开展抗蚜威、咪鲜胺、亚胺硫磷、马拉硫磷代谢物的识别。

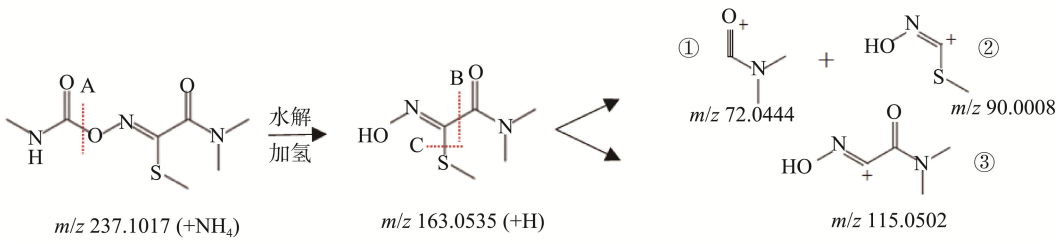
2.2.2　抗蚜威(氨基甲酸酯类)代谢物的识别

根据精确质量数 239.1501 在 GNPS 中检索抗蚜威，其对应节点 825 已被网络注释，同时通过自建数据库对节点进一步确认。未知节点 623 (225.13)与节点 825 均含有碎片 70.04，提示节点 623 含有特征碎片 $C_3H_6ON^+$ (70.0444，见图 7 中 A 部分)，同时与抗蚜威中性质量差 14.02，常见于 $-CH_2$(理论质量 14.015)。在细胞色素 P450 酶作用下化合物可发生脱烷基化反应[31]，会引起中性碎片-CH_2 丢失。含二甲基叔胺结构的化合物(如抗蚜威)，在生物代谢过程中可能发生 N-脱甲基反应。结合以上碎片特征与质量差信息，初步推断节点 623 为抗蚜威的脱甲基代谢产物脱甲基-抗蚜威。经与标准品比对，节点 623 被注释为脱甲基-抗蚜威。

2.2.3　咪鲜胺(咪唑类)代谢物的识别

以咪鲜胺为种子节点(节点 3522)，其关联的节点 3048 已被网络注释为咪鲜胺-脱咪唑甲酰氨基，见图 8。从结构裂解角度对节点 3048 的结构进行推导。咪鲜胺的氨基甲酰基与咪唑基的 C-N 键断裂，脱除咪唑，产生特征碎片离子 $C_{12}H_{13}Cl_3NO_2^+$(理论质量数 308.0006)，节点 3048 与节点 3522 均含有 308.00 碎片峰，说明节点 3048 含有与咪鲜胺相同的氨基甲酰基部分；根据氮原则，不含氮或含偶数氮的化合物，分子量一定为偶数，节点 3048 分子量为偶数，说明含有两个 N，其中氨基甲酰基部分含有 1 个 N；节点 3048 分子量减去特征碎片离子和 N，差值为 30.022，该值常见于 CH_2O 基团。结合裂解规律推导节点 3048 的分子式为 $C_{13}H_{15}Cl_3N_2O_3$，计算其理论加氢质量数为 353.0221，与节点 3048 母离子质量数(353.022)高度一致。从裂解结构推测与网络注释一致。经与实验室自建标准谱库比对，确证网络注释正确。另一未知节点 3595 (380.032)网络标注质量数以及特征二级碎片(284.00、269.95)相较于节点 3522 (376.038)均呈现出+4 的质量偏移，且二者保留时间一致。结合咪鲜胺分子结构中含氯的特性，可推断节点 3595 为咪鲜胺同位素峰。

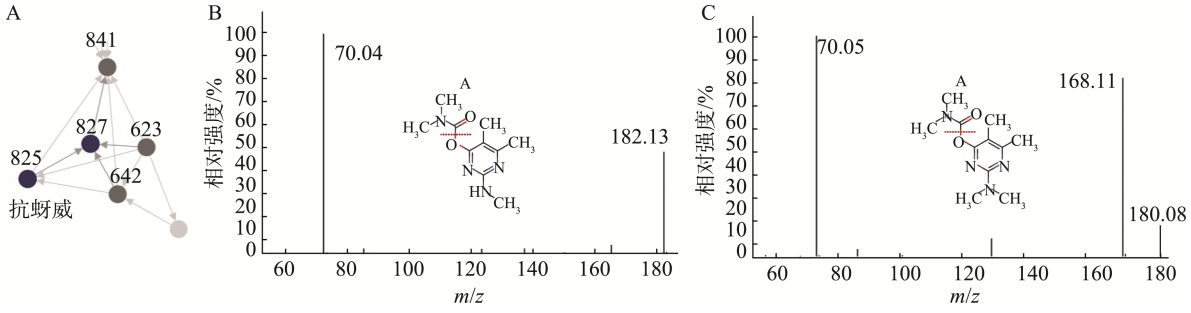
添加的咪鲜胺另一种代谢物咪鲜胺-脱氨基咪唑(节点 2469)并未聚类于咪鲜胺节点簇中。对比咪鲜胺、咪鲜胺-脱咪唑甲酰氨基和咪鲜胺-脱氨基咪唑的标准质谱图(图 9)可知，咪鲜胺-脱咪唑甲酰氨基与咪鲜胺具有相同的碎片离子峰 308.0006、265.9537、85.0886、70.0287，而咪鲜胺-脱氨基咪唑特征碎片是 325.0272、282.0214、129.1022、86.0964，谱图存在显著差异。因此，对于与母体质谱特征差异大的代谢物，不宜采用分子网络策略进行筛查。



注：①、②、③对应图 4E 中的特征峰。

图 6　杀线威代谢路径及代谢物质谱碎片推断

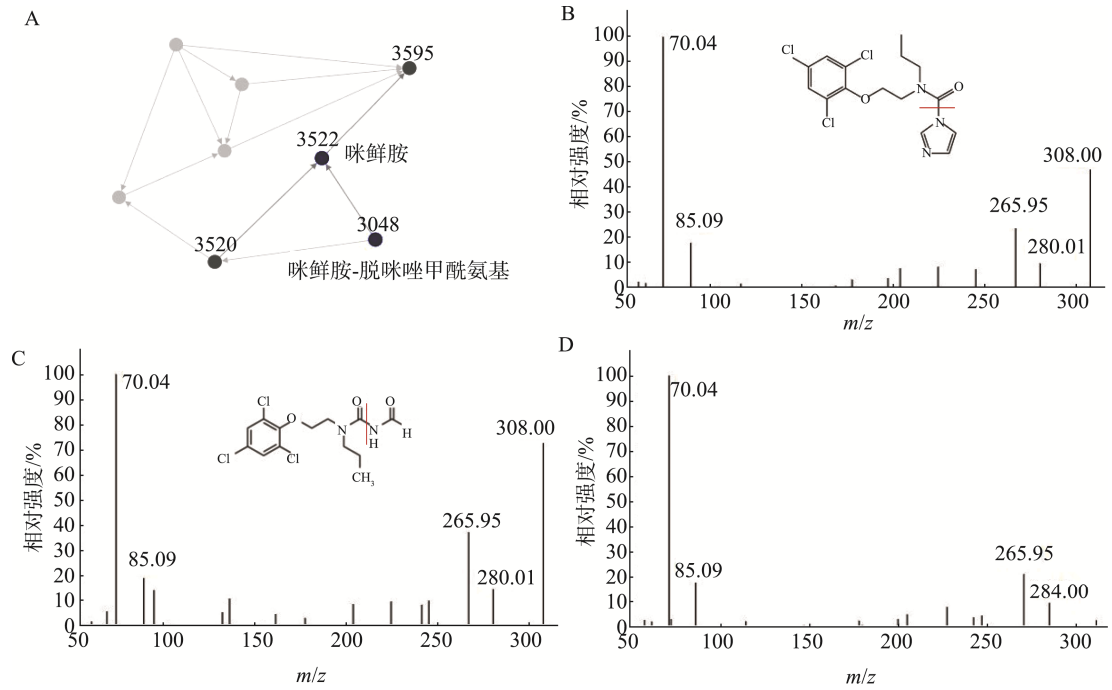
Fig.6　Metabolic pathways of oxamyl and mass spectrometric fragmentation inference of its metabolites



注：A. 抗蚜威的分子网络图；B. 节点 825；C. 节点 623。

图 7　农药抗蚜威的分子网络及部分节点质谱图

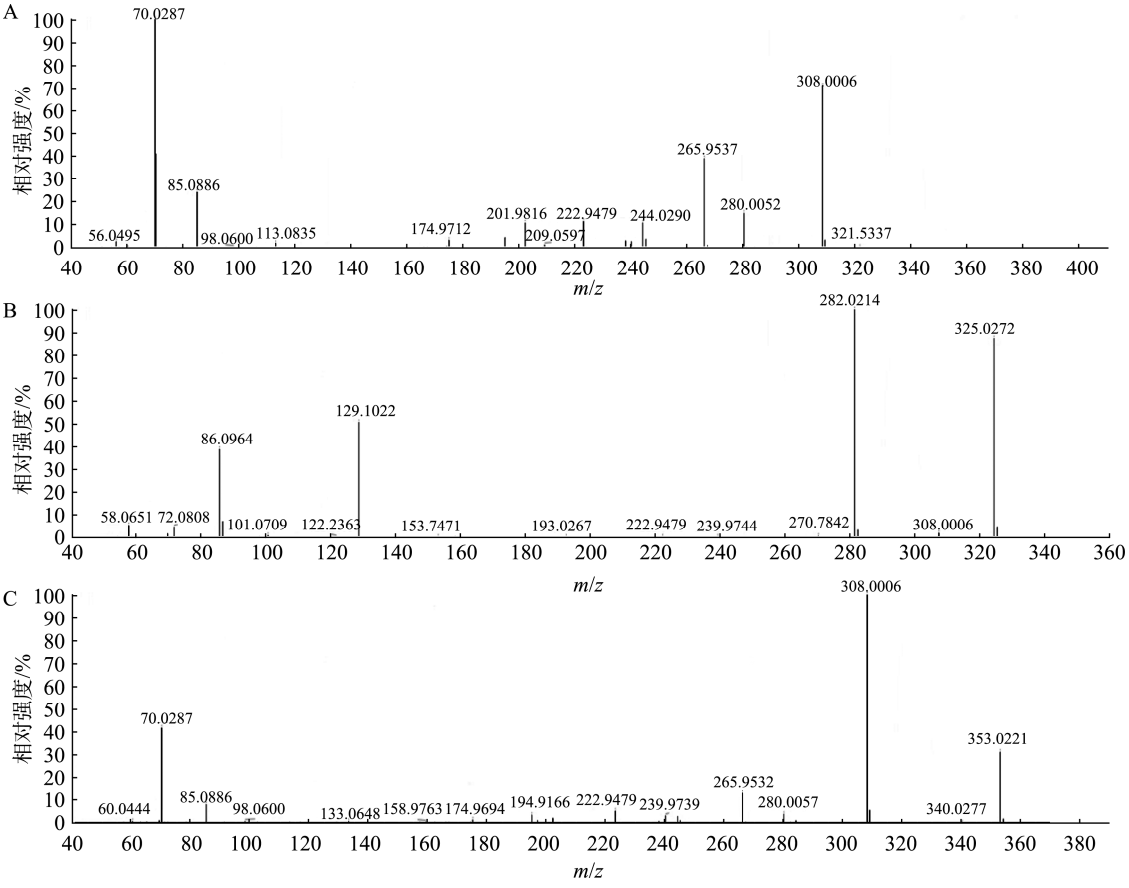
Fig.7　Molecular network of pirimicarb and mass spectra of partial



注: A. 咪鲜胺的分子网络图; B. 节点 3522; C. 节点 3048; D. 节点 3595。

图 8 农药咪鲜胺的分子网络及部分节点质谱图

Fig.8 Molecular network of prochloraz and mass spectra of partial



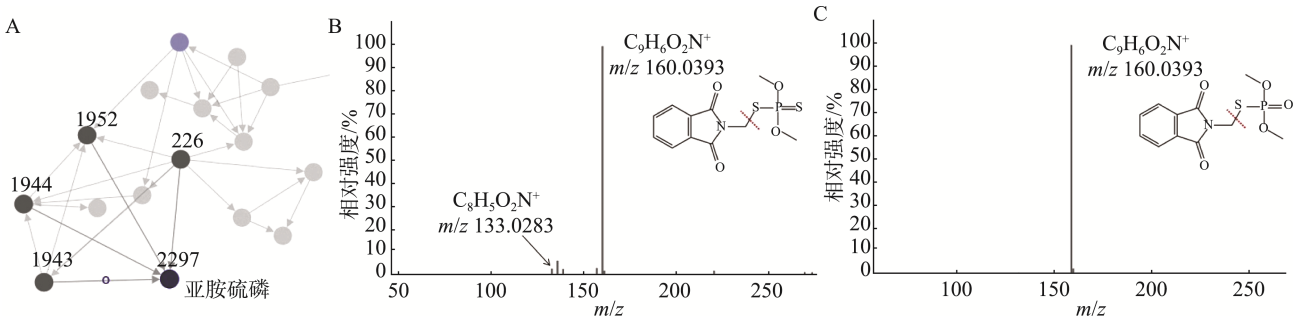
注: A. 咪鲜胺; B. 咪鲜胺-脱氨基咪唑; C. 咪鲜胺-脱咪唑甲酰氨基。

图 9 咪鲜胺及其两种代谢物标准谱图

Fig.9 Standard spectra of prochloraz and its 2 kinds of metabolites

2.2.4　亚胺硫磷和马拉硫磷(有机磷类)代谢物的识别

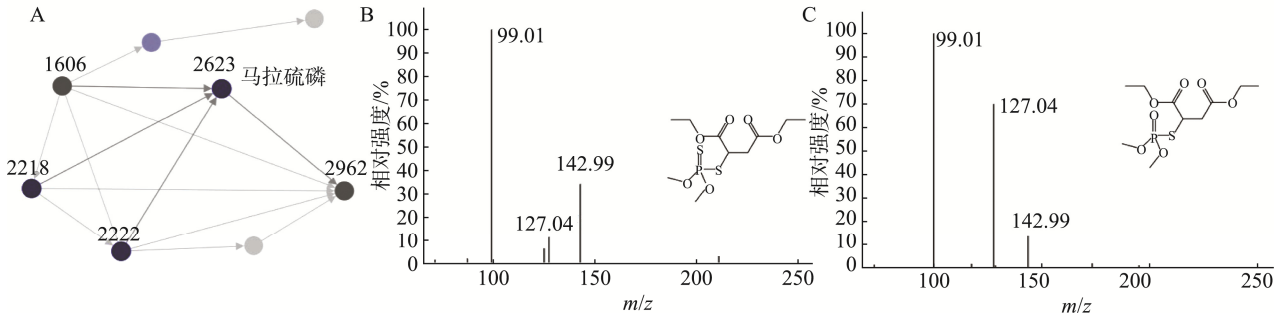
以有机磷类农药亚胺硫磷(精确分子质量数 318.0018)为种子节点(2297, 已被分子网络注释), 其簇内呈现特征离子峰 160.0393(分子网络, 图 10)。亚胺硫磷在电喷雾电离过程中形成[M+H]准分子离子, 当分子中 S-C 键发生断裂, 生成碎片离子 $C_9H_6O_2N^+$(理论质量数 160.0393)及相应的中性丢失片段, 若酞酰亚胺基上的 C-N 键发生断裂并伴随质子转移, 可生成碎片 $C_8H_5O_2^+$(理论质量数 133.0284)及中性丢失片段。通过 Xcalibur 软件从原始质谱数据中提取亚胺硫磷二级质谱图确认了上述两个特征碎片的存在(实验值 160.0393 与 133.0283), 由此推断簇内特征离子峰 160.0393 为碎片 $C_9H_6O_2N^+$。此外, GNPS 图谱边注释显示, 未知节点 1943 与亚胺硫磷(2297)之间存在 1 个 O 的质量差异, 结合有机磷农药的典型代谢规律, 推测该差异由亚胺硫磷分子中硫原子被氧原子取代所致, 经与实验室自建标准谱库比对, 注释节点 1943 为亚胺硫磷的氧化代谢产物—氧亚胺硫磷。未知节点 1944 与氧亚胺硫磷特征碎片与出峰时间一致, 质量数相差 0.02, 初步考虑是同位素组合带来的细微质量差异, 注释为氧亚胺硫磷。以农药马拉硫磷(节点 2623)为种子节点进行分子网络分析, 与其关联的节点 2222 (2218)被网络注释为马拉氧磷, 见图 11, 经与实验室自建标准谱库确认, 该节点注释正确。



注: A. 亚胺硫磷的分子网络图; B. 节点 2297; C. 节点 1943。

图 10　农药亚胺硫磷的分子网络及部分节点质谱图

Fig.10　Molecular network of phosmet and mass spectra of partial



注: A. 马拉硫磷的分子网络图; B. 节点 2623; C. 节点 2222。

图 11　农药马拉硫磷的分子网络及部分节点质谱图

Fig.11　Molecular network of malathion and mass spectra of partial

与数据库非靶向筛查方法相比, 分子网络技术优势在于基于谱图相似性, 可识别未知代谢物, 而非数据库依赖, 并可借助网络注释, 在无标准品的情况下实现部分常见化合物的快速识别。农药残留种类繁多, 对于无自建数据库的实验室, 可采用分子网络技术进行非靶向筛查, 再购买标准品进行确证, 更加高效。

3　结　论

本研究基于 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 和分子网络技术, 系统探究了 MZmine、GNPS 关键参数对小麦中 331 种农药种子节点识别的影响, 确定了 MS2 去噪(1.0E3)、最小匹配碎片离子数(2)、谱库搜索最小匹配数(2)最优参数。基于网络注释与特征碎片离子裂解规律分析, 并结合精确分子质量、保留时间信息, 建立了无标准品条件下农药及其代谢物的快速筛查和鉴定的方法, 形成了一套农药 NTS 筛查分子网络技术策略, 下一步继续优化同位素过滤参数, 有望减少同位素对未知物鉴定的干扰。本研究所构建的分子网络具有巨大的未知农药及未知代谢物的挖掘潜力, 为小麦中农药残留及代谢物的 NTS 筛查提供了可靠的分析思路与技术支撑。

参考文献

[1] 宋禹, 王强, 张昌朋, 等. 丁硫克百威、克百威在白菜中的降解[J]. 食品科学, 2017, 45(11): 135–139.
SONG Y, WANG Q, ZHANG CP, *et al*. Degradation of carbosulfan and carbofuran in cabbage [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(11): 135–139.

[2] 朱正伟, 陈锂, 吴婉琴, 等. 杀扑磷降解产物的鉴定及在蔬菜中残留量的检测[J]. 食品与机械, 2021, 37(3): 70–75, 95.
ZHU ZW, CHEN L, WU WQ, *et al*. Identification of degradation products of methidathion and its determination of residues in vegetables [J]. Food & Machinery, 2021, 37(3): 70–75, 95.

[3] 王柄钧, 史晓梅, 张巍巍, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-三重四极杆质谱法快速检测主要原粮与油料中 101 种农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(18): 7273–7280.
WANG BJ, SHI XM, ZHANG WW, *et al*. Rapid determination of 101 kinds of pesticide residues in main raw grain and oil by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(18): 7273–7280.

[4] HAN YT, SONG L, ZOU N, *et al*. Rapid multiplug filtration cleanup method for the determination of 124 pesticide residues in rice, wheat, and corn [J]. Journal of Separation Science, 2017, 40(4): 878–884.

[5] 王文昌, 吴娟娟, 栗星, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定大米和小麦中 7 种吡啶类农药的残留量[J]. 理化检验-化学分册, 2025, 61(5): 561–567.
WANG WC, WU JJ, LI X, *et al*. Determination of residues of 7 pyridine pesticides in rice and wheat by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with QuEChERS [J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2025, 61(5): 561–567.

[6] 范宏, 谭莉, 张惠峰, 等. 多壁碳纳米管分散固相萃取-液相色谱串联质谱法测定大米中 26 种氨基甲酸酯类农药及其代谢产物残留量[J]. 食品科技, 2023, 48(10): 276–283.
FAN H, TAN L, ZHANG HF, *et al*. Determination of 26 carbamate pesticides and their metabolites residues in rice by multi-walled carbon nanotubes dispersion solid phase extraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Science and Technology, 2023, 48(10): 276–283.

[7] 薛科宇, 田继锋, 宋国华, 等. 多壁碳纳米管-液质联用法检测小麦中农药残留[J]. 粮食与油脂, 2022, 35(9): 153–157.
XUE KY, TIAN JF, SONG GH, *et al*. Determination of residues in wheat by multi-walled carbon nanotubes combined with HPLC-MS/MS [J]. Cereals & Oils, 2022, 35(9): 153–157.

[8] 苏敏, 李红丽, 白亚敏, 等. 基于液相色谱-串联高分辨质谱技术的食品中污染物检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(4): 44–52.
SU M, LI HL, BAI YM, *et al*. Research progress on determination of pollutants in food by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(4): 44–52.

[9] CHRISTINE H, NADIN U, TOBIAS S, *et al*. Identification of novel micropollutants in wastewater by a combination of suspect and nontarget screening [J]. Environmental Pollution, 2024, 184: 25–32.

[10] BLACK GP, HE GC, DENISON MS, *et al*. Using estrogenic activity and nontargeted chemical analysis to identify contaminants in sewage sludge [J]. Environmental Science & Technology, 2021, 55(10): 6729–6739.

[11] SUN J, CHARRON CS, LIU ZH, *et al*. Study on human urinary metabolic profiles after consumption of kale and daikon radish using a high-resolution mass spectrometry-based non-targeted and targeted metabolomic approach [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(48): 14307–14318.

[12] 罗雅雯, 骆骄阳, 何春娇, 等. 基于 UPLC-Q-Orbitrap MS 和分子网络技术快速鉴定远志与卵叶远志化学成分[J]. 中药与临床, 2025, 16(3): 8–15.
LUO YW, LUO JY, HE CJ, *et al*. Rapid identification of chemical constituents of *Polygala tenuifolia* Willd. and *Polygala sibirica* L. by UPLC-Q-Orbitrap MS and molecular networking [J]. Pharmacy and Clinics of Chinese Materia Medica, 2025, 16(3): 8–15.

[13] 周秀锦, 陈宇, 杨赛军, 等. 超高效液相色谱 – 四极杆飞行时间质谱法非靶向快速筛查进口粮谷中未知的农药残留[J]. 色谱, 2017, 35(8): 787–793.
ZHOU XJ, CHEN Y, YANG SJ, *et al*. Rapid screening of pesticide residues in imported grains by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2017, 35(8): 787–793.

[14] 孟子训, 欧阳海燕, 冯云, 等. 基于四极杆静电场轨道阱高分辨质谱非靶向快速筛查江苏市售主要蔬菜中的农药残留[J/OL]. 分析试验室, 1–14. [2025-05-07]. https://link.cnki.net/urlid/11.2017.TF.20250506.1509.014
MENG ZX, OUYANG HY, FENG Y, *et al*. Non-targeted rapid screening of pesticide residues in main vegetables sold in Jiangsu Province based on quadrupole electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry [J/OL]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 1–14. [2025-05-07]. https://link.cnki.net/urlid/11.2017.TF.20250506.1509.014

[15] 王迪, 王玲珑, 张瑞君, 等. 基于高分辨质谱的 21 种黄酮类化合物二级碎片数据库构建与完善[J]. 中药与临床, 2025, 16(5): 30–36.
WANG D, WANG LL, ZHANG RJ, *et al*. Construction and improvement of a secondary fragment database of 21 kinds of flavonoids based on high-resolution mass spectrometry [J]. Pharmacy and Clinics of Chinese Materia Medica, 2025, 16(5): 30–36.

[16] 薛伟锋, 杨爱馥, 栾慎顺, 等. 代谢组学在鱼肉中兽药残留非靶向筛查的新应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(7): 1–10.
XUE WF, YANG AIF, LUAN SS, *et al*. New application of metabolomics in non-targeted screening of residual veterinary drugs in fish [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(7): 1–10.

[17] 李淑芳, 刘文斌, 冯书惠, 等. 基于非靶向代谢组学的不同品种香菇差异分析[J]. 分析测试学报, 2025, 44(10): 2143–2152.
LI SF, LIU WB, FENG SH, *et al*. Differential analysis of different varieties of *Lentinula edodes* based on untargeted metabolomics [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2025, 44(10): 2143–2152.

[18] 蒋勋, 陶会, 宋杰玉, 等. 基于 UPLC-Q-Orbitrap 高分辨质谱分析贵州红茶的品质特征[J]. 中国食品学报, 2023, 23(5): 341–351.
JIANG X, TAO H, SONG JY, *et al*. Analysis of quality characteristics of guizhou black tea based on UPLC-Q-Orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and

Technology, 2023, 23(5): 341–351.

[19] LIANG WY, ZHENG FJ, CHEN TT, *et al*. Nontargeted screening method for veterinary drugs and their metabolites based on fragmentation characteristics from ultra high-performance liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry [J]. Food Chemistry, 2022, 369: 130928.

[20] 刘玲玲, 张宇婧, 郭旭冉, 等. 基于超高效液相色谱-线性离子阱-静电场轨道阱高分辨质谱和生物信息分析的丁氏三阳透解汤成分鉴定及物质基础研究[J]. 世界中医药, 2024, 19(20): 3053–3060, 3066.
LIU LL, ZHANG YJ, GUO XR, *et al*. Component identification and material basis of dingshisanyangtoujie based on UPLC-Q-Orbitrap/MS/MS and bioinformatics analysis technology [J]. World Chinese Medicine, 2024, 19(20): 3053–3060, 3066.

[21] 岳宁, 李晓慧, 李敏洁, 等. 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法非靶向筛查苹果中苯脲类农药[J]. 分析测试学报, 2022, 41(6): 805–811.
YUE N, LI XH, LI MJ, *et al*. Non-targeted screening of phenylurea pesticides in apples by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2022, 41(6): 805–811.

[22] 吴琼, 汪阳忠, 安彤, 等. 利用特征中性丢失和非靶向液相色谱-质谱联用技术鉴定烟草中的糖苷成分[J]. 分析测试学报, 2023, 42(1): 68–74.
WU Q, WANG YZ, AN T, *et al*. Identification of glycosides in tobacco by characteristic neutral loss and untargeted liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2023, 42(1): 68–74.

[23] 姜悦, 高雯, 杨华, 等. 基于高分辨质谱的质量亏损过滤技术在中药成分表征中的应用进展[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(18): 4835–4845.
JIANG Y, GAO W, YANG H, *et al*. High resolution mass spectrometry-based mass defect filtering for characterization of traditional Chinese medicine: A review [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2022, 47(18): 4835–4845.

[24] 石培育, 宋娟, 蒋锡兰, 等. 高分辨质谱非靶向筛查分析方法在食品化学危害物监测中的研究进展[J/OL]. 食品科学, 1–21. [2024-05-24]. https://link.cnki.net/urlid/11.2206.TS.20240523.1807.050
SHI PY, SONG J, JIANG XL, *et al*. Research progress in the analysis method of non-targeted screening by high resolution mass spectrometry for food chemical hazards monitoring [J/OL]. Food Science, 1–21. [2024-05-24]. https://link.cnki.net/urlid/11.2206.TS.20240523.1807.050

[25] WU G, QIAN YL, FAN F, *et al*. Revealing specific transformation pattern of sulfonamides during wastewater biological treatment processes by molecular networking nontarget screening [J]. Water Research, 2023, 235: 119895.

[26] 谈晓梅, 张雨薇, 焦昭钰, 等. 基于分子网络技术识别新污染物及其转化产物的研究进展[J]. 色谱, 2025, 43(1): 33–42.
TAN XM, ZHANG YW, JIAO ZY, *et al*. Advances in molecular networking technology for discovering emerging contaminants and transformation products [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2025, 43(1): 33–42.

[27] 王建凤, 王泽昊, 张艺楷, 等. 基于代谢组学和特征分子网络技术分析小鼠体内氧氟沙星的代谢产物[J]. 分析测试学报, 2023, 42(9): 1168–1173.
WANG JF, WANG ZH, ZHANG YK, *et al*. Identification of ofloxacin metabolites in mice based on metabolomics and feature-based molecular network technologies [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2023, 42(9): 1168–1173.

[28] 董现龙, 杨琳娇, 秦雪梅, 等. 基于 UHPLC-Q Exactive MS 的分子网络技术快速分析龙葵叶物质成分[J]. 药学学报, 2023, 58(4): 1003−1013.
DONG XL, YANG LJ, QIN XM, *et al*. Rapid identification of the chemical compounds in the leaves of *Solanum nigrum* L. based on UHPLC-Q exactive MS and molecular network technology [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2023, 58(4): 1003–1013.

[29] 罗丽娟, 赵小萌, 叶金, 等. 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱质谱同时回溯定性和精准定量粮食中多种农药残留[J]. 中国粮油学报, 2025, 40(1): 183–192.
LUO LJ, ZHAO XM, YE J, *et al*. UPLC-Q-Orbitrap HRMS for simultaneous accurate quantitative and retrospective qualitative screening of pesticide residues in grain [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2025, 40(1): 183–192.

[30] GNPS: Global natural products social molecular networking [Z]. https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/index.jsp

[31] 刘婷婷, 李如男, 董丰收, 等. 农药在植物和微生物中的代谢转化研究进展[J]. 现代农药, 2022, 21(8): 1–11.
LIU TT, LI RN, DONG FS, *et al*. Research progress on metabolic transformations of pesticides in plants and microorganisms [J]. Modern Agrochemicals, 2022, 21(8): 1–11.

(责任编辑: 安香玉　蔡世佳)