

超高效液相色谱-串联质谱法快速分析 草莓及其制品中杀虫双残留量

卢晓宇¹, 王金花^{1,*}, 陈跃², 黄梅¹, 周琦¹, 徐超一¹

(1. 北京出入境检验检疫局食品安全检测中心, 北京 100026

2. 北京化工大学理学院, 北京 100029)

摘要: 应用超高效液相色谱-串联质谱仪(UPLC-MS-MS)研究了草莓中杀虫双残留的测定方法。样品用甲醇-水(1:1, V/V)提取, 无需经过任何净化过程; 以等梯度流动相、经ACQUITY UPLC HSS T3超高效液相色谱柱分离; 以电喷雾负离子(ESI⁻)和多反应监测模式(MRM)进行MS测定。结果表明: 杀虫双添加水平为0.05、0.10和0.20mg/kg时, 回收率为65.3%~91.5%; 相对标准偏差为7.8%~11.8%; 方法检出限为3.0μg/kg。本方法仅需约1min的检测时间, 且具有很高的灵敏度和准确度, 能够满足草莓及其制品中残留杀虫双的快速、高灵敏检测分析。
关键词: 杀虫双残留; 草莓及其制品; UPLC-MS-MS

Method for Rapid Detection of Bisulap Residues in Strawberry and Its Products Using Ultra Performance Liquid Chromatography with Electrospray Tandem Mass Spectrometry

LU Xiao-yu¹, WANG Jin-hua^{1,*}, CHEN Yue², HUANG Mei¹, ZHOU Qi¹, XU Chao-yi¹

(1. Food Safety Inspection Center, Beijing Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Beijing 100026, China;

2. College of Science, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: A ultra performance liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry (UPLC-MS-MS) method was developed for the quantitative determination of bisulap residue in raw strawberry and its processed products. The samples were extracted by methanol-water (1:1, V/V) without any purifying treatments, were separated by ACQUITY UPLC HSS T3 UPLC column with equal gradient mobile phase, and detected by electrospray tandem mass spectrometry with ES⁻ and multiple reaction monitoring (MRM) modes. Results showed that the mean recoveries range from 65.3% to 91.5% with relative standard deviations in the range of 7.8%~11.8% when the spiked concentrations of bisulap are 0.05, 0.10 and 0.20 mg/kg respectively, and the limit of detection is 3.0 μg/kg. The detection operation can be completed within 1 minute with high sensitivity and accuracy, and is suitable for the fast qualitative and quantitative detection for bisulap residue in strawberry samples.

Key words bisulap residues; strawberry and strawberry products; UPLC-MS-MS

中图分类号: O657.6 S482.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)05-0352-03

杀虫双(bisulap)是2-N,N-二甲氨基-1,3-双(硫代磷酸钠基)丙烷的商品名称, 是一种广泛用于水稻、叶菜、草莓等作物的广谱性沙蚕毒类杀虫剂^[1-2]。我国制定了大米中杀虫双残留的限量标准为0.2mg/kg^[3], 对草莓没有明确的规定。欧盟、美国及日本的“肯定列表制度”也未涉及, 但对外出口的草莓却要求检测杀虫双残留的含量。

检测杀虫双残留的方法, Arlington用氯化镍溶液

催化, 使杀虫双转化成沙蚕毒素, 然后用示波极谱进行检测^[4], 国内也有衍生为沙蚕毒素但通过气相色谱-质谱仪检测的方法^[5], 而程雪梅^[6]、赵红^[7]等则用甲烷反应气的GC-MS-CI⁺法检测, 其他的诸如GC-TSD法^[8]、GC-PFPD法^[9-10]、HPLC法^[11]以及电化学法^[12]也有报道。但大量的衍生步骤不仅费时而且影响检测的准确性, 方法检出限也无法适应现今的检测要求。应用超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS-MS)检测的方法未见报道。本研

收稿日期: 2007-10-10

作者简介: 卢晓宇(1981-), 男, 工程师, 研究方向为食品安全。E-mail: luxiaoyu@bjciq.gov.cn

*通讯作者: 王金花(1968-), 女, 博士, 研究方向为食品分析。E-mail: wangjh@bjciq.gov.cn

究应用 Waters 公司新生产的针对极性有机化合物的 T3 色谱柱, 以 ESI⁻ 和 MRM 模式进行 UPLC/MS-MS 分析, 建立了草莓中杀虫双残留灵敏、准确、快速的定性定量分析测定方法。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

甲醇(HPLC级) 美国Fisher公司; 水由Mill-Q净化系统制得; 杀虫双标准品纯度均为99% ± 0.5% 德国Labor Dr. Ehrenstorfer-Schaefer公司; 将该标准品用甲醇(HPLC 级, 美国 Fisher 公司) 配制成 1000mg/L 的标准储备液, 置于-20℃冰箱保存。

Acquity超高效液相色谱、Micromass Quattro Premier XE 串联质谱 Waters公司; 电喷雾电离(ESI)接口。

1.2 色谱、质谱条件

ACQUITY, UPLC; 50mm × 2.1mm HSS (High Strength Silica column) T3 柱, 粒径: 1.8μm; 柱温: 30℃; 流速: 0.25ml/min; 流动相为纯水; 进样体积: 3μl; ESI⁻ 模式, 毛细管电压 3kV, 萃取电压 5V; 离子源温度: 110℃; 脱溶剂温度: 400℃; 脱溶剂气流量: 600L/h; 锥孔气流量: 50L/h; 扫描范围: 50~350m/z; 光电倍增器电压: 650V; 碰撞室氦气流量: 0.15L/h, 杀虫双的分子结构式见图1, 其监测离子、碰撞能量和锥孔电压等MRM 分析参数见表1。在确定监测离子对时, 考虑到质谱解裂规律。杀虫双的分子式为C₅H₁₁N₂O₆S₄Na₂, 分子量为355.42, 样品进入一级质谱后, 在给定的分析参数下, 仅改变碰撞能量, 即产生稳定的基峰[M-2Na+H]⁺离子(m/z 310.10); 该离子作为母离子进入二级质谱发生α断裂, 失去SO₃、CH₂S等碎片, 选择丰度较强的碎片离子m/z 230.00、m/z 184.80及m/z 80.70为子离子, 其中丰度最高的m/z 230.00为定量离子。

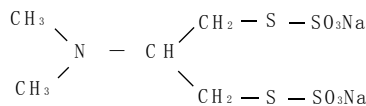


图1 杀虫双的分子结构式

Fig.1 Structural formula for bisulap

1.3 样品的处理

样品混匀, 准确称取 5.00g, 加甲醇-水(1+1, V/V) 定容至 25ml, 2500r/min 以上旋涡混匀 1min, 超声波提

取 30min, 8500r/min 离心 10min, 取上清液过 0.2 μm 滤膜 (13mm GHP 美国 Waters 公司), 供 UPLC-MS-MS 检测。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂的选择

通过实验发现, 样品用甲醇-水(1+1, V/V) 提取的效率与乙腈-水(1+1, V/V) 相近, 但提取的杂质较少。而相比较纯水、纯甲醇和纯乙腈提取, 提取更为充分, 效率更高。在尝试过不同比例的甲醇-水提取试验后, 发现甲醇和水在等体积条件下效果更好, 故本方法采用甲醇-水(1+1, V/V) 作为提取溶剂。

2.2 色谱条件的选择

杀虫双极易溶于水, 对常用的 C₁₈ 反相色谱柱和流动相如乙腈、甲醇、10mmol/L 乙酸铵、0.1% 甲酸以及纯水进行了质谱行为考察。实验发现, 在流动相中加入 10mmol/L 乙酸铵和 0.1% 甲酸都有助于目标物形成稳定的母离子峰。在满足灵敏度的条件下, 选定乙腈-水溶液系统作为本方法的流动相。但当体积份数从 5% 或 10% 线性递增至 95% 或 90% 并保持时, 没有得到目标分析物明显的色谱峰, 而改用 HSS 柱后, 当采用 100% 水时, 杀虫双峰面积信号最强, 且峰形对称。图 2 为目标物 MRM 模式下的色谱分离图。

2.3 质谱参数的优化

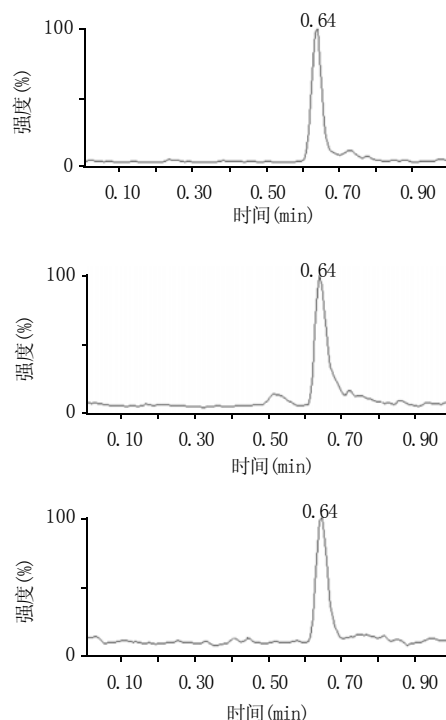


图2 杀虫双(保留时间 0.64min)的以草莓为基质、浓度为 20.0ng/ml 的多反应监测色谱图

Fig.2 MRM chromatograms obtained from a strawberry matrix-matched standard containing 20.0 ng/ml of bisulap (*R*_t=0.64 min)

表1 杀虫双的MRM分析参数

Table 1 MRM analytical parameters for bisulap

监测离子对	驻留时间(s)	碰撞能量(V)	锥孔电压(V)
310.10 > 80.70	0.1	28	18
310.10 > 184.80	0.1	22	18
310.10 > 230.00	0.1	15	18

杀虫双在水溶液中能形成离子化, 适合ESI 电离模式。由于结构中含有易电离的 Na^+ , 在流动相的作用下易形成带负电荷的基团, 故实验采用ESI⁻模式, 对一级质谱的毛细管电压、锥孔电压、离子源温度、去溶剂气流量和二级质谱的碰撞器电压等条件进行了优化, 定量分析在多反应监测模式下完成。

2.4 标准曲线和方法检出限

标准曲线的制备: 准确称取5.0g 空白样品, 按“1.3”方法进行处理, 获取基质溶液作为溶剂, 配置标准系列溶液, 浓度为5.0、10.0、20.0、30.0、40.0、50.0 $\mu\text{g/L}$, 以所得响应值(峰面积) Y 与浓度 X 进行回归分析。结果表明, 线性关系良好, 杀虫双的回归曲线为 $Y=3.4X-12.9$, 线性相关系数为0.9973。

用甲醇直接作为溶剂配置标准系列溶液到上述浓度, 杀虫双的线性相关系数为0.9982, 同样符合实验要求。

方法的检出限(limit of detection, LOD)是依据基质标准溶液浓度为5.0 $\mu\text{g/L}$ 时的3倍信噪比值测得的。则检测5.0g 草莓样品中杀虫双的 LOD 为3.0 $\mu\text{g/kg}$ 。

2.5 方法的回收率与精密度

在三组各9个空白草莓样品中分别加入250、500和1000 μL 的100.0 $\mu\text{g/L}$ 的杀虫双标准溶液, 按“1.3”方法进行处理测定, 计算回收率和精密度。测定结果表明, 杀虫双平均回收率为76.1%~81.4%; 9次平行测定的相对标准偏差分别为7.8%~11.8%, 均满足定量分析要求, 结果见表2。

表2 回收率及精密度测定结果($n=9$)
Table 2 Results of recoveries and precisions ($n=9$)

组分	添加水平($\mu\text{g/kg}$)	回收率(%)	相对标准偏差(%)
杀虫双	50.0	79.7	11.8
	100.0	76.1	7.8
	200.0	81.4	8.0

2.6 样品测定

2.6.1 定性分析

样品溶液和标准溶液均按UPLC-MS-MS 条件分别进行测定。进行样品测定时, 如果检出的色谱峰的保留

时间与基质标准中杀虫双相一致, 并且所选择的对应的三对离子对的丰度比相一致, 则可判定为样品中存在杀虫双。

2.6.2 定量分析

本实验采用外标法定量。为减少基质对定量测定的影响, 用空白样品提取液配制基质标准工作液, 制定标准工作曲线, 并严格控制进样量使所测样品中目标化合物的响应值在上述线性范围以内。

应用所建立的方法, 已对上百份草莓及草莓酱等样品进行了杀虫双残留的测定, 结果在多份样品中检出了杀虫双, 含量为0.026~0.580 mg/kg 。

上述结果表明, 本方法灵敏度高、选择性好, 前处理方法简单、无需净化, 回收率高且非常稳定, 同时线性关系、回收率和重现性等方法学指标良好, 特别是分析时间极短(仅需约1min), 是一种高效、快速的适于草莓及其制品中杀虫双残留定性、定量分析的方法。

参考文献:

- [1] 张晓波. 气相色谱-质谱法分析鉴定鱼体内杀虫双[J]. 理化检验: 化学分册, 2005, 41(9): 633-635.
- [2] 许淑琼, 陈福林. 天然木醋液在大棚草莓上的应用初报[J]. 西南园艺, 2003, 31(3): 24.
- [3] GB 14928.12-4 大米中杀虫双最大残留限量标准[S].
- [4] AOAC. Official methods of analysis of the association of Official Analytical Chemists[S]. Arlington: U. S. The Association of Official Analytical Chemists, 1990.
- [5] 王燕军. 杀虫双的检验和质谱解析[J]. 刑事技术, 2000(4): 16-17.
- [6] 程雪梅, 张雪曼, 苏青云. 气相色谱-质谱法测定荔枝、龙眼中杀虫双残留量[J]. 分析测试学报, 2006, 25(s1): 116-117; 119.
- [7] 赵红, 朱翠山, 王培荣, 等. MS-MS检测杀虫双根施后对棉籽的污染[J]. 分析测试学报, 2004, 23(9): 233-234.
- [8] 刘颖. GC/TSD法检验杀虫双[J]. 刑事技术, 2003(5): 26-27.
- [9] 邱月明, 庄无忌. 化学反应-气相色谱法测定蔬菜中杀虫双残留量[J]. 分析化学, 1994, 22(9): 899-901.
- [10] 应剑波, 谢伟宏. GC-PPFD法测定血中的杀虫双[J]. 刑事技术, 2006(1): 39-40.
- [11] 许来威, 张雪冰, 邢红. 杀虫双水剂的高效液相色谱分析[J]. 农药, 2001, 40(2): 16-17.
- [12] 刘新华, 李春玲, 侯志强, 等. 农药杀虫双的测定及电极反应机理研究[J]. 山东化工, 2001, 30(5): 49-50.