

水果中双胍三辛烷基苯磺酸盐的LC-MS/MS检测方法

LC-MS/MS Method for Quantification of Iminoctadine tris(albesilate) in Fruits

陈西, 赵祥龙, 刘冰洁, 郭立海

Chen xi, Zhao xianglong, Liu bingjie, Guo lihai

SCIEX中国

SCIEX China

Key Words: QTRAP; Iminoctadine tris(albesilate); Belkute; Fruits

前言

双胍三辛烷基苯磺酸盐 (Iminoctadine tris(albesilate), 商品名为百可得, 是触杀和预防型杀菌剂, 可防治大多数子囊菌和半知菌引起的真菌病害^[1]。百可得常用于沃柑等柑橘类水果的防腐保鲜处理, 而且能使果面光亮, 提高商品的价值。但部分果商为保证水果品相, 擅自调高百可得的稀释浓度, 且忽视30天的“安全间隔期”, 用药后直接上市销售, 导致果面可能会有过量农药残留, 对人体造成伤害。因此需要对上市农产品中的双胍三辛烷基苯磺酸盐含量进行检测。我国标准规定双胍三辛烷基苯磺酸盐在水果蔬菜中的最大残留量为0.2~3 mg/kg, 其中沃柑中限量为3 mg/kg^[2]。

双胍三辛烷基苯磺酸盐 (图1) 结构中存在多个电荷中心, 因此在质谱参数的寻找和色谱条件优化上存在难点。目前有报道的主要为高效液相色谱法 (HPLC), 但存在灵敏度不够或需要柱后衍生的问题^[1, 3]。本文建立和验证了双胍三辛烷基苯磺酸盐的LC-

MS/MS定量方法, 并介绍了通过QTRAP®系统 (三重四极杆复合线性离子阱质谱) 功能进行疑难化合物方法开发的具体流程, 为制定双胍三辛烷基苯磺酸盐检测标准提供了参考。

实验方法

1. 液相条件:

色谱柱: Phenomenex Kinetex F5 2.6 μm, 2.1 × 100 mm;

流动相: A相: 0.3%甲酸水溶液 (含2 mM甲酸铵)

B相: 0.3%甲酸甲醇 (含2 mM甲酸铵)

流速: 0.5 mL/min;

色谱柱温度: 40°C;

进样量: 1 μL;

洗脱程序:

Time(min)	A (%)	B (%)
0.0	90	10
0.3	90	10
0.8	20	80
2.2	2	98
4.0	2	98
4.1	90	10
6.0	90	10

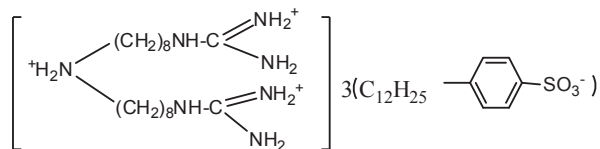


图1. 双胍三辛烷基苯磺酸盐结构式

2. 质谱方法:

离子源: ESI源, 正离子模式
 气帘气 CUR: 30 psi 碰撞气 CAD: 6
 雾化气 GS1: 60 psi 辅助气 GS2: 65 psi
 IS电压: 4000 V 源温度 TEM: 650°C

化合物名称	母离子	子离子	DP	CE
双胍三辛烷基		187.2	70	22
苯磺酸盐	178.7	157.6	70	18
		280.2	70	22

3. 样品制备

取20g待测样品匀浆, 加25%丙酮水溶液(含0.5%甲酸) 20 ml, 震荡30 min再超声5 min, 离心, 取上清液, 得提取样品溶液。提取后样品离心, 用0.5%甲酸甲醇稀释10倍, 离心, 取上清液进样。

方法优化

1. 质谱参数优化

多电荷中心的化合物, 在质谱中产生的质谱图比较复杂, 常规可以产生 $[M+H]^+$, $[M+2H]^{2+}$, $[M+3H]^{3+}$, $[M+Na]^+$, $[M+2Na]^{2+}$, $[M+H+Na]^{2+}$ 等离子, 所以直接针泵进样寻找母离子干扰较多, 本实验直接用常规的正离子流动相(0.1%甲酸水-甲醇)接色谱柱进样, 应用QTRAP®系统独有的信息依赖采集(IDA)的复合采集模式: Q3 MS-ER-IDA-EPI, 一针进样同时得到更高分辨率的一级质谱图和增强的二级质谱图(图2)。其中ER为增强分辨率扫描, 可在常规四极杆扫描的基础上提高分辨率(图3), 通过同位素峰之间的质荷比规律, 帮助确定化合物的带电荷数。

2. 溶剂与容器

实验过程中发现, 当使用纯甲醇做溶剂时, 不同浓度化合物线性关系较差, 甲醇中加入0.5%以上甲酸后得到改善。双胍三辛烷基苯磺酸盐不宜用玻璃进样瓶, 化合物会随时间推移与玻璃发生特异性吸附, 导致响应降低(图4)。前处理和进样过程建议使用塑料容器。

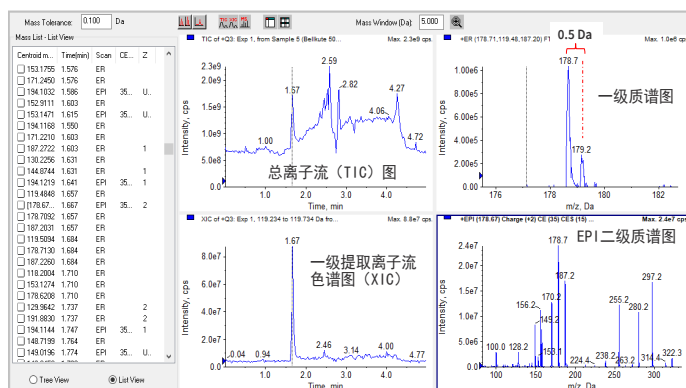


图2. 双胍三辛烷基苯磺酸盐在Q3 MS-ER-IDA-EPI复合扫描模式下一次得到多个信息。

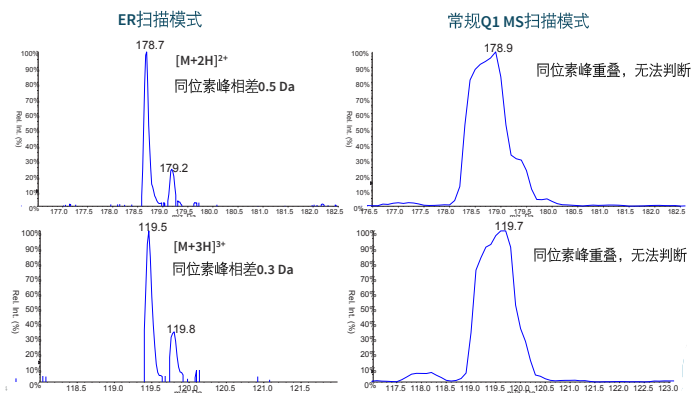


图3. 双胍三辛烷基苯磺酸盐不同加合离子 ($[M+2H]^{2+}$ 和 $[M+3H]^{3+}$) 在不同扫描模式下的质谱图比较: ER模式可更好的区分多电荷离子的同位素峰。

结果

1. 线性范围

双胍三辛烷基苯磺酸盐典型色谱图如图5所示, 在0.1-200 ng/mL范围内线性关系良好 ($r>0.999$) (图6), 保证了不同浓度水平样品的准确定量。

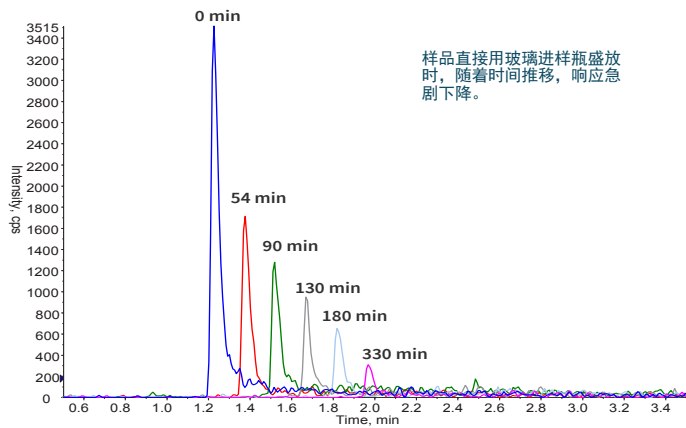


图4. 玻璃进样瓶中双胍三辛烷基苯磺酸盐(6 ng/mL)在不同时间点响应逐渐降低。

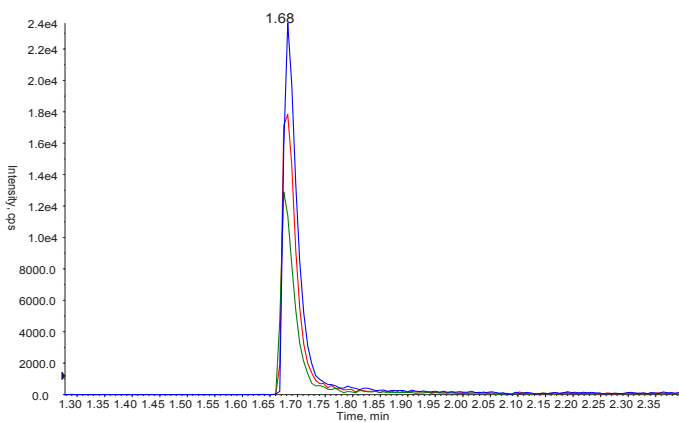


图5. 双胍三辛烷基苯磺酸盐典型提取离子流色谱图 (XIC) (6 ng/ml)

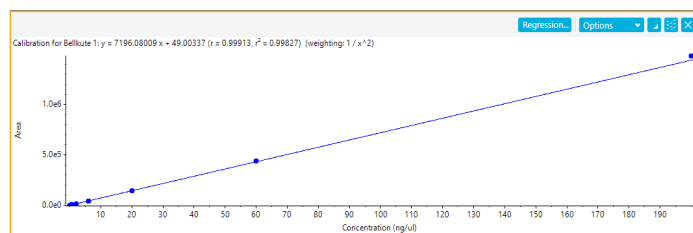


图6. 双胍三辛烷基苯磺酸盐的标准曲线

2. 基质效应

不同基质 (沃柑-1、沃柑-2、甜橙、苹果) 提取液分别用 0.5% 甲酸甲醇稀释 10 倍, 所得溶液作为溶剂, 配制 10 ng/ml 的加标溶液。每个基质平行配置 5 份, 扣除各基质中本身含有的双胍三辛烷基苯磺酸盐, 回收率均在 87.1 %~108.2 % 之间, 相对标准偏差 (RSD %) 在 2.65 % 以内, 表明该方法不受样品基质干扰 (表 1)。

表1. 双胍三辛烷基苯磺酸盐在不同基质中的回收率%

	沃柑-1	沃柑-2	甜橙	苹果
1	90.1	95.7	96.7	107.8
2	93.3	95.7	98.1	108.1
3	91.2	94.1	95.2	106.3
4	92.4	92.4	95.8	102.8
5	87.1	94.7	95.6	108.2
回收率 %	90.82 ± 2.41	94.52 ± 1.37	96.28 ± 1.16	106.64 ± 2.28
RSD %	2.65	1.45	1.20	2.14

3. 重复性

基质效应考察的样品, 各基质任选一个样品, 连续进样 6 次, 考察方法的重复性, 化合物峰面积 RSD 值均在 2.12 % 以内 (表 2) 表明该方法有良好的重复性。

表2. 不同基质样品连续进样 RSD% (n=6)

	沃柑-1	沃柑-2	甜橙	苹果
1	17.87	9.63	11.2	10.24
2	18.98	9.54	11.19	10.47
3	18.71	9.64	11.23	10.77
4	18.84	9.49	11.00	10.66
5	18.99	9.6	11.13	10.39
6	18.99	9.88	11.21	10.76
RSD %	2.12	1.28	0.70	1.87

总结

本方案基于液相质谱联用仪器SCIEX QTRAP® 系统，建立了杀菌剂双胍三辛烷基苯磺酸盐的定量方法，并对方法的线性范围、重复性和基质效应进行了验证，为果品中杀菌剂的控制提供了简单、快速可靠的检测方法。SCIEX QTRAP®系统可实现一针进样同时得到增强分辨率的一级质谱图和高灵敏度的二级质谱图，在定量的基础上扩展仪器的定性能力，并且有助于疑难化合物的方法开发，是检验和科研人员解决疑难杂症的利器。

参考文献

- [1] 吴珉, 李振, 等. 高效液相色谱法测定番茄与土壤中双胍三辛烷基苯磺酸盐残留量[J]. 农药, 2006年, 第45卷第11期
- [2] GB 2763-2021
- [3] 邹伟斌, 冯秀珍, 等. 高效液相定量分析双胍三辛烷基苯磺酸盐40%可湿性粉剂[J]. 农药科学与管理, 2012, 33(1)

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-13735-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话: 010-5808-1388
传真: 010-5808-1390
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话: 021-2419-7200
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州分公司
广州市天河区珠江西路15号
珠江城1907室
电话: 020-8510-0200
传真: 020-3876-0835
官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)