

离子阱飞行时间质谱用于植物生长调节剂的定性筛查

LCMS-IT-TOF-041

摘要：使用高效液相色谱-离子阱飞行时间质谱（HPLC-IT-TOF）建立三种植物生长调节剂的定性筛查方法。本方法无需标准品，利用IT-TOF专用软件MetID进行初步筛查，出现阳性样品之后，再利用IT-TOF多级质谱功能进行结构鉴定，确认目标物。对黄瓜、西红柿和提子三种果蔬样品进行筛查，其中三种样品均可筛查到矮壮素，西红柿还可以筛查到氯吡脞，证明该方法高效可靠，无需标准品，可用于果蔬样品的快速筛查分析。

关键词：植物生长调节剂离子阱飞行时间质谱定性筛查多级质谱定性分析

在我国，植物生长调节剂被广泛用于果蔬生产中，如多效唑在桃生产中、氯吡脞在猕猴桃、西瓜和黄瓜生产中、矮壮素在番茄生产中均已普遍使用。国家质量监督检验检疫总局早在2011年就发布了《关于食品添加剂对羟基苯甲酸丙酯等33种产品监管工作的公告》。公告中明确指出，包括氯吡脞等33种产品，禁止作为食品添加剂出厂销售，食品生产企业禁止使用。不合理的过量生长调节剂被人体吸收后，会在人体内不断地积

累，往往会引起消费者患有支端肥大、骨质疏松、恶性肿瘤等疾病，而且易促使儿童提前发育、过早成熟等症状的出现。

本文建立了一种简单、无需标准品的筛查方法，采用简单快速的前处理方法，通过HPLC-IT-TOF对果蔬样品进行快速分析，使用MetID软件对分析数据进行筛查，得到初筛阳性样品之后使用IT-TOF多级质谱功能进一步的确认结构。

实验部分

1.1 仪器和试剂

本实验使用岛津超高效液相色谱仪Nexera XR与离子阱飞行时间质谱LCMS-IT-TOF联用系统。具体配置为LC-20AD_{XR}×2输液泵，DGU-20A₃在线脱气机，SIL-20AC_{XR}自动进样器，CTO-20AC柱温箱，CBM-20A系统控制器，LCMS-IT-TOF离子阱飞行时间质谱，LCMSsolution Ver. 3.70色谱工作站；

高速冷冻离心机（湘仪）；超声波振荡器（泰亚赛福）；匀质器（德国IKA）；超纯水仪（密理博）；旋转蒸发仪（EYELA）；氮吹仪（泰亚赛福）；

PSA及C18吸附剂（美国Varian，40 μm）；无水硫酸镁、无水醋酸钠为优级纯（上海国药集团）。乙腈（色谱纯，上海安谱公司），乙酸铵（色谱纯，上海安谱公司），甲酸（质谱级，美国Fisher公司），矮壮素、氯吡脞和多效唑（标准品，百灵威科技）；实验室用水均为超纯水，由Milli-Q纯水仪制得；所有果蔬均购买自菜市场。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器：Nexera XR 系统

色谱柱：Shim-pack XR-ODS II, 2.0 mm×75 mm L, 2.2 μm

流动相：A-2 mM 乙酸铵（含0.1%甲酸），B-乙腈

梯度程序见表1

流速：0.4 mL/min

进样体积：20 μL

柱温：40℃

质谱条件

分析仪器：LCMS-IT-TOF

离子源：ESI(+) 正模式

离子源接口电压：4.5 kV

检测器电压：1.60 kV

雾化气：氮气 1.5 L/min

干燥气：氮气 10 L/min

碰撞气：氩气

脱溶剂管温度：200℃

加热模块温度：200℃

1.3 标准溶液配制

标准储备液：精密称取矮壮素、氯吡脞和多效唑对照品各 10 mg 置于 10 mL 容量瓶中，加入甲醇溶解并定容至刻度即得标准储备液 1.0 mg/mL，于 -18℃ 下保存。标准测试液：取上述三种标准储备液各 100 μL，加入 700 μL 水稀释成为 1.0 mg/L 的测试液。

表1 时间程序

Time	Module	Action	Value
1.00	Pumps	B.Conc	20
3.00	Pumps	B.Conc	80
3.50	Pumps	B.Conc	80
3.51	Pumps	B.Conc	20
6.00	Controller	Stop	

1.4 样品前处理方法

称取 10.0 g 均质试样于 50 mL 具塞离心管中，加入 20.0 mL 含体积分数 1 % 乙酸的乙腈溶液、4.0 g 无水 MgSO₄、1.0 g 无水醋酸钠，高速均质 1 min，以 8000 r/min 离心 5 min，取上层清液 10 mL 于预先加有 150 mg PSA 及 850 mg 无水 MgSO₄ 的离心管中，再加入 100 mg C18 固相萃取吸附剂，涡旋 30 s，以 8000 r/min 离心 5 min，上层清液经 0.22 μm 微孔膜过滤，取 5.0 mL 滤液至具塞离心管中，N₂ 气流吹干，加入 1.0 mL 乙腈和 3.0 mL 0.1 % 甲酸水溶液溶解供 LC-MS/MS 分析。

结果讨论

2.1 建立液质方法

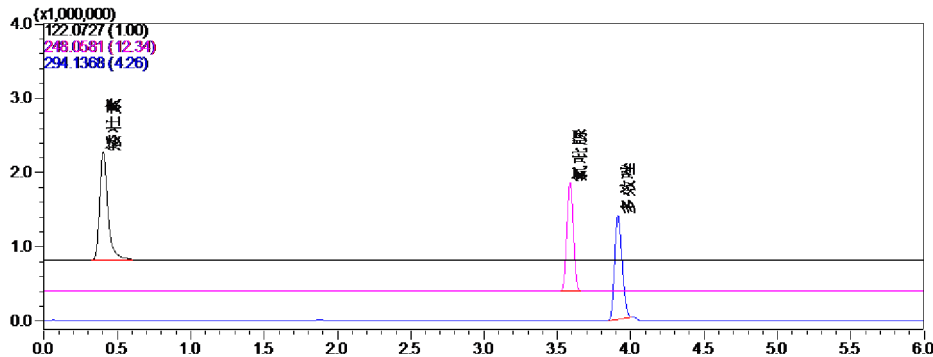


图1 10 μg/L 标准样品提取离子流图

建立分析方法，确定三种植物生长调节剂的出峰时间，10 μg/L 标准品提取离子流图见图 1。

2.2 建立 MetID 筛查库

使用 MetID 建立快速筛查方法，新建筛查表，输入三种植物生长调节剂分子式，得到表 1。

表2 三种植物生长调节剂 MetID 筛查表

Name	Formula	Use
矮壮素	+C ₅ H ₁₃ C ₁₂ N - HC ₁ [*]	Yes
氯吡脞	+C ₁₂ H ₁₀ C ₁ N ₃ O	Yes
多效唑	+C ₁₅ H ₂₀ C ₁ N ₃ O	Yes

* 属于季铵盐，存在 NH₄C₁ 结构，水溶液中将分解成 NH₃ + HC₁

2.3 快速筛查得到疑似阳性样品

使用 1.2 分析方法对 1.4 处理的三份果蔬样品进行分析，得到的数据结果使用 MetID 进行筛查，积分参数 width=3, slope=100, 筛查结果见表 3，西红柿筛查结果截屏见图 2。

表3 MetID 筛查结果

	黄瓜	西红柿	提子
矮壮素	检出	检出	检出
氯吡脞	未检出	检出	未检出
多效唑	未检出	未检出	未检出

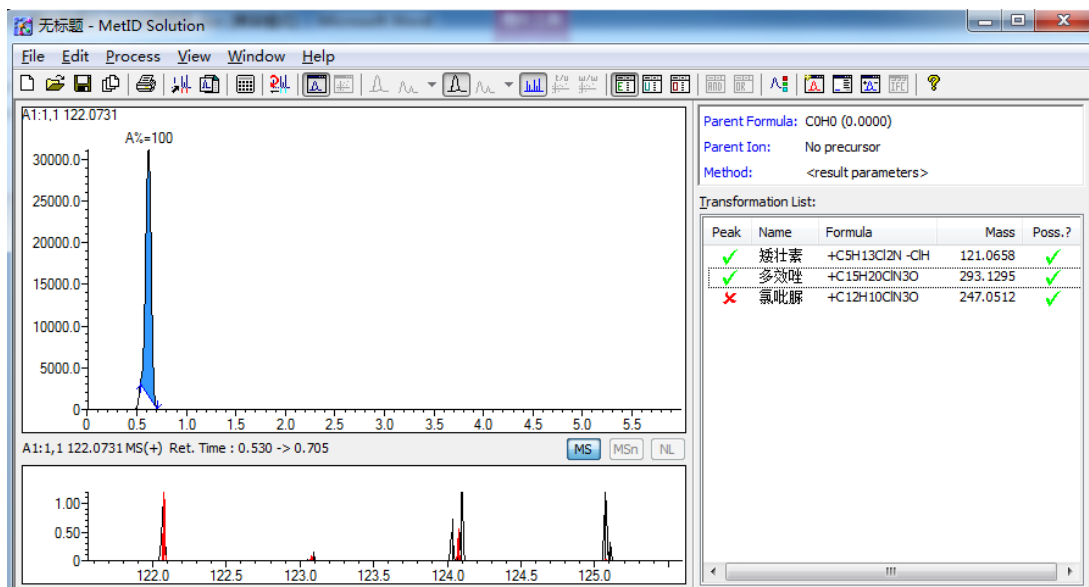


图2 西红柿样品 MetID 筛查结果

2.4 多级结构确定

对阳性样品进行自动多级分析，多级质谱图及其裂解规律如图 3-8。通过多级谱图的对照，可以进一步确定目标物的结构组成。为定性提供充足的依据。

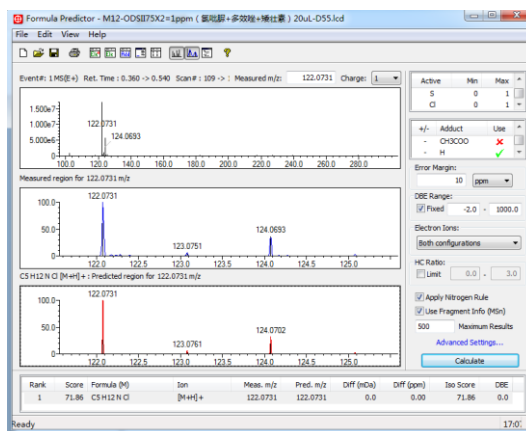
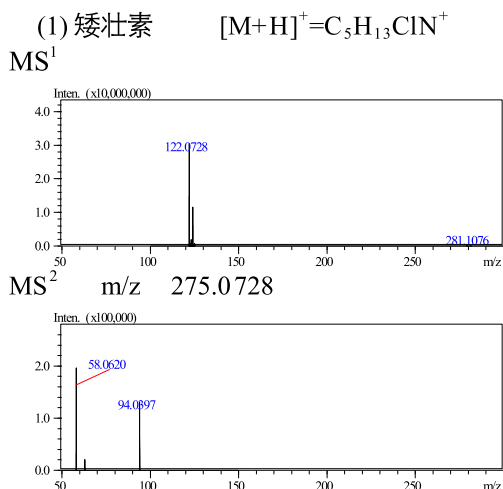


图3 矮壮素的MSⁿ质谱图及Formula Predictor计算结果

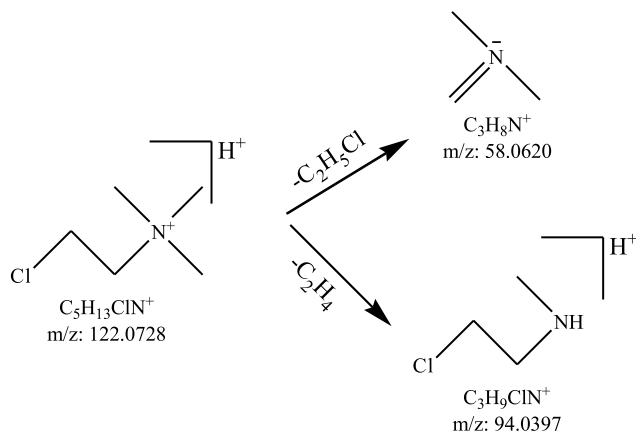


图4 矮壮素多级谱图裂解规律

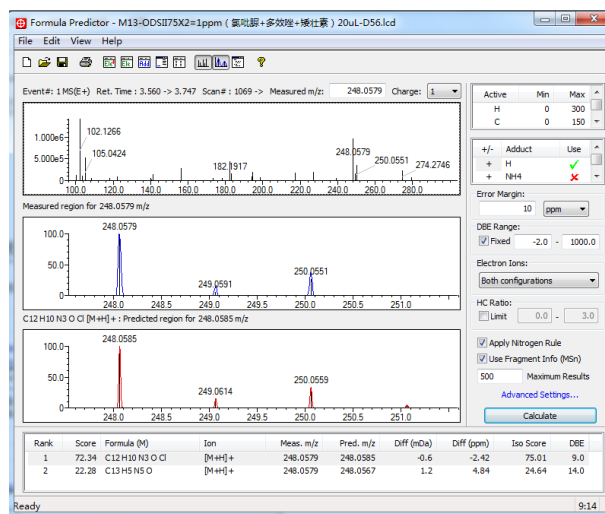
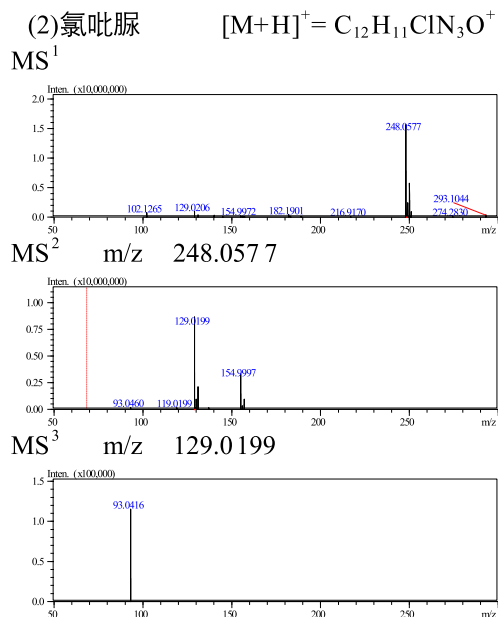


图5 氯吡啶的MSⁿ质谱图及Fomula Predictor计算结果

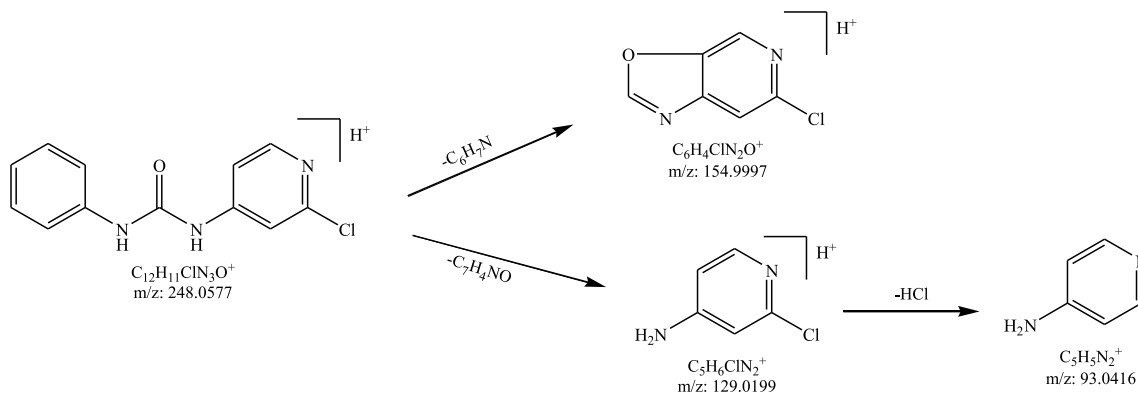


图6 氯吡啶多级谱图裂解规律

(3)多效唑 $[M+H]^+ = C_{15}H_{21}ClN_3O^+$
MS¹

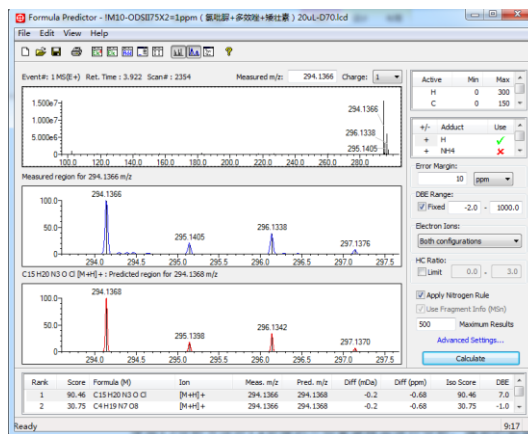
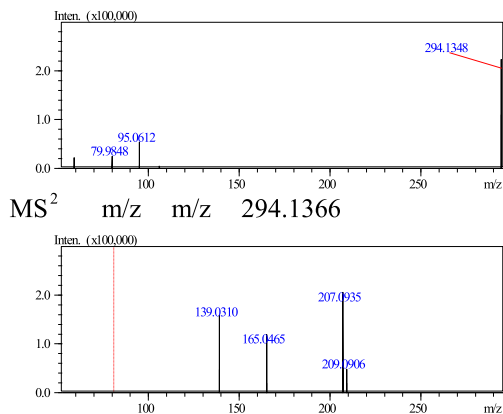


图 7. 多效唑的MSⁿ质谱图及Formula Predictor计算结果

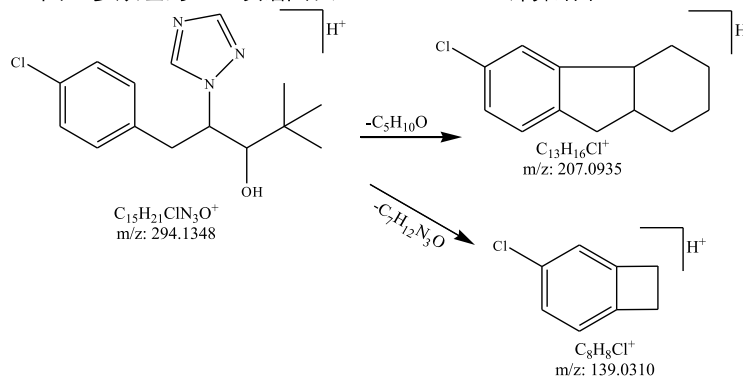


图 8 多效唑多级谱图裂解规律

结论

本文使用高效液相色谱 – 离子阱飞行时间质谱 (HPLC-IT-TOF) 建立三种植物生长调节剂的快速筛查方法。本方法无需标准品, 使用 MetID 进行初筛到疑似阳性样品, 再利用 IT-TOF 多级质谱功能进行结构鉴定, 确认目标物。对黄瓜、西红柿和提子三种果蔬样品进行筛查, 其中三种样品均可筛查到矮壮素, 西红柿还可以筛查到氯吡脞, 证明该方法高效可靠, 无需标准品, 可用于果蔬样品的快速筛查分析。