

LC-MS/MS 测定水产品中十二种苯甲酰胺类药物残留

LCMSMS-1028

摘要： 本文使用三重四极杆液质联用仪，配备全新 RX 离子源，建立了水产品中十二种苯甲酰胺类药物残留量测定的方法。使用全新 RX 源配备 Corespray 技术，5 ng/mL 和 100 ng/mL 浓度对照品溶液，连续进样 6 次，十二种苯甲酰胺类药物的保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别在 0.30% 和 4.88% 以内，日间三批次重复进样，保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别在 0.26% 和 8.10% 以内。5 µg/kg 和 50 µg/kg 两个不同浓度加标回收率在 87.6%-107.0% 之间，平行三份样品的 RSD% 在 1.51%-9.78% 之间。本方法简单，稳定，准确，可供相关人员参考。

关键词： 三重四极杆液质联用仪 RX 源 水产品 苯甲酰胺类

技术特点：

- ❖ 使用全新 RX 源，扩大了雾化气流量选择的范围，进一步提升检测灵敏度；
- ❖ 本方法灵敏度高，定量限为 0.05-0.31 µg/kg，优于征求意见稿标准限量值 10 倍以上。
- ❖ RX 源配备全新 Corespray 技术，方法稳定性好，日间三批重复进样，RSD 小于 8.10%。

苯甲酰胺类药物是 20 世纪 70 年代开发的一种杀虫剂，它通过抑制昆虫表皮几丁质的合成实现对害虫的杀灭。苯甲酰胺类农药在农业生产中发挥着重要作用，但在农药施用过程中部分杀虫剂会通过沉淀、降雨等方式进入水环境中，直接或者间接对水生生物造成慢性毒害；在水产养殖中，苯甲酰胺类药物常用于养殖产品的杀菌除虱。它们最终随食物链进入人体，经慢性暴露、长期累积达到一定浓度时，对人体健康产生危害。

由于苯甲酰胺类农药的酰胺键在高温下会发生结构转化，所以目前主要的检测方法有液相色谱

法、液相色谱质谱联用法。岛津最新推出的 LCMS-8060RX 采用全新设计的加热 ESI 离子源、岛津独有的 IonFocus 离子聚焦技术以及 CoreSpray 喷雾技术，对于复杂样本基质可以进一步提升分析性能和结果的稳定性。本文参考《食品安全国家标准 水产品中苯甲酰胺类药物残留量的测定液相色谱 - 串联质谱法》征求意见稿，采用 LCMS-8060RX 建立了水产品中十二种苯甲酰胺类农药测定的方法，该方法简单，稳定，灵敏度高，抗假阳性能力强，供相关检测人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A _{5R}
输液泵：	LC-30AD×2	自动进样器：	SIL-30AC
柱温箱：	CTO-20AC	色谱工作站：	LabSolutions Ver.5.120
质谱检测器：	LCMS-8060RX		

1.2 分析条件

液相色谱条件：

色谱柱：Shim-pack GIST C18 (100 mm × 2.1 mm I.D., 3 µm), P/N:227-30008-05,
岛津（上海）实验器材有限公司

流 动 相 : A 相 -0.1% 甲酸水溶液; B 相 - 甲醇
流 速 : 0.4 mL/min 进 样 体 积 : 5 μ L
柱 温 : 40°C 进 样 器 温 度 : 15°C
洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 60%, 时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
6.00	Pumps	Pump B Conc.	95
8.00	Pumps	Pump B Conc.	95
8.10	Pumps	Pump B Conc.	60
10.00	Controller	Stop	

质谱条件:

离 子 源 : ESI (\pm) D L 温 度 : 150°C
雾 化 气 流 速 : 5.0 L/min 加 热 模 块 温 度 : 400°C
加 热 气 流 速 : 15.0 L/min 接 口 温 度 : 300°C
干 燥 气 流 速 : 3.0 L/min 扫 描 模 式 : 多反应监测 (MRM)

表 2 MRM 参数

序号	名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	灭幼脲	196791-54-5	307.0	154.2*	21	11	29
				126.2	21	22	25
2	氟酰脲	116714-46-6	491.0	471.0*	24	12	22
				305.1	24	15	30
3	氟铃脲	86479-06-3	459.0	438.9*	16	12	29
				175.1	16	36	29
4	氟苯脲	83121-18-0	379.0	339.0*	28	12	24
				359.0	26	7	18
5	虱螨脲	103055-07-8	509.0	326.0*	36	17	21
				339.0	36	11	22
6	氟幼脲	35367-31-8	343.1	323.1*	18	10	22
				156.2	10	12	16
7	杀铃脲	64628-44-0	357.1	154.2*	19	11	16
				85.1	19	42	30
8	氟啶蜚脲	86811-58-7	504.0	305.1*	26	13	14
				483.9	28	12	22
9	氟啶脲	71422-67-8	538.0	518.2*	28	15	24
				354.9	28	18	17

10	氯吡苯脲	68157-60-8	248.0	129.0*	-28	-35	-25
				93.1	-27	-15	-18
11	除虫脲	35367-38-5	311.0	158.0*	-11	-15	-30
				141.2	-11	-24	-11
12	氟虫脲	101463-69-8	489.0	158.1*	-11	-20	-12
				141.2	-11	-39	-17

注：* 表示定量离子

1.3 标准品及样品制备

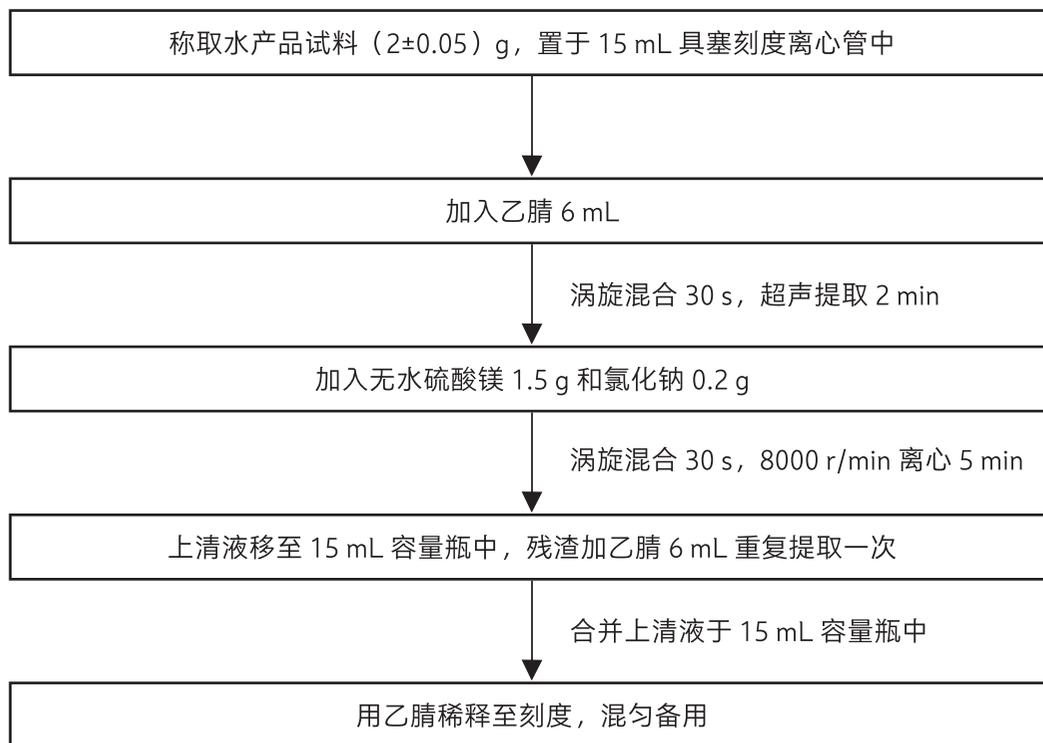
标准品: 氯吡苯脲和灭幼脲标准品溶液(100 µg/mL), 购自天津阿尔塔科技有限公司; 氟啶脲、杀铃脲、除虫脲、氟苯脲、氟虫脲、氟铃脲、氟幼脲、虱螨脲、氟酰脲、氟啶蜚脲混合标准品溶液(10 µg/mL), 购自安谱公司。

氯吡苯脲标准品溶液(10 µg/mL): 准确移取适量氯吡苯脲标准品溶液(100 µg/mL)于容量瓶中, 用乙腈稀释并定容至刻度, 配制成浓度为10 µg/mL的标准品溶液, -18°C冷冻保存。

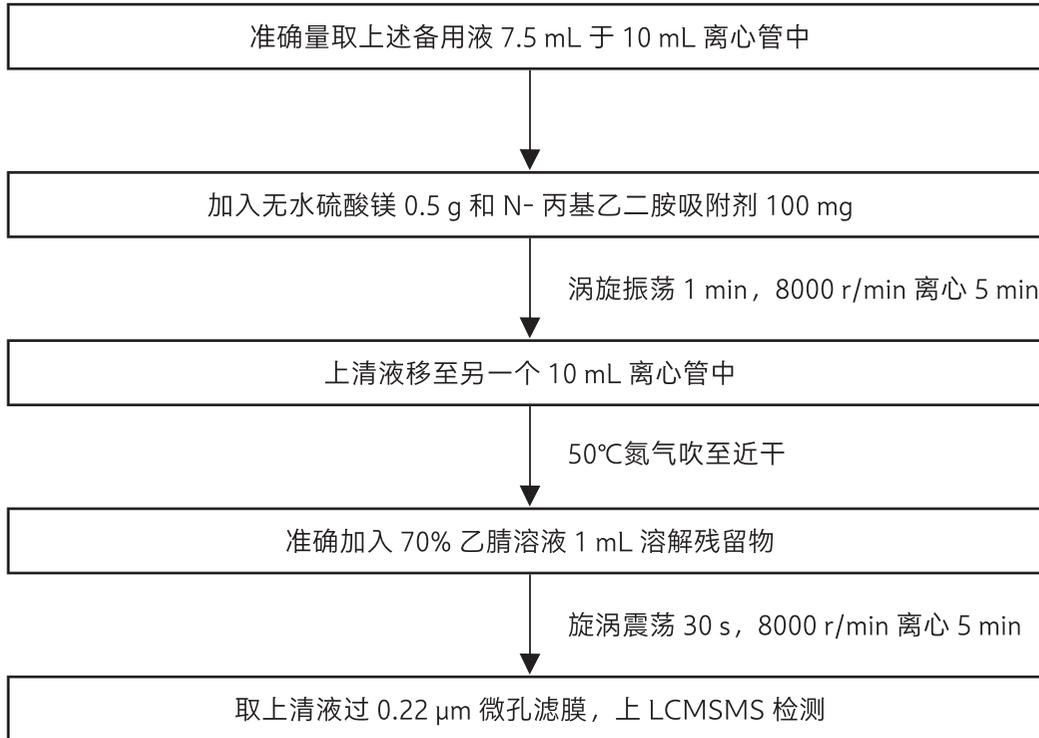
灭幼脲标准品溶液(10 µg/mL): 准确移取适量灭幼脲标准品溶液(100 µg/mL)于容量瓶中, 用乙腈稀释并定容至刻度, 配制成浓度为10 µg/mL的标准品溶液, -18°C冷冻保存。

混合标准中间工作液(1 µg/mL): 准确量取适量10 µg/mL的10种混标液、氯吡苯脲、灭幼脲标准品溶液于容量瓶中, 用乙腈稀释并定容至刻度, 配置成浓度为1 µg/mL的混合标准工作液。4°C以下保存, 有效期2周。

样品提取:



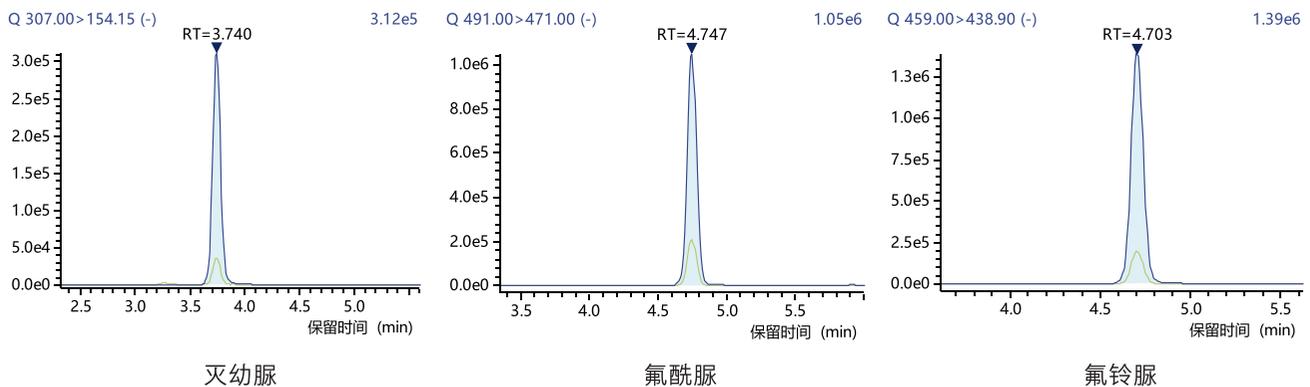
样品净化:



基质匹配标准曲线的制备：精密量取混合标准工作液，用 70% 的乙腈溶液配置成浓度为 2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL 和 200 ng/mL 的系列混合标准溶液。分别取 1 mL 加入 6 份经提取和净化的空白试料残渣中，涡旋溶解残余物，8000 r/min 离心 5 min，取上清液，过微孔滤膜，供三重四极杆液质联用仪测定。

■ 结果讨论

2.1 12 种苯甲酰胺类药物色谱图



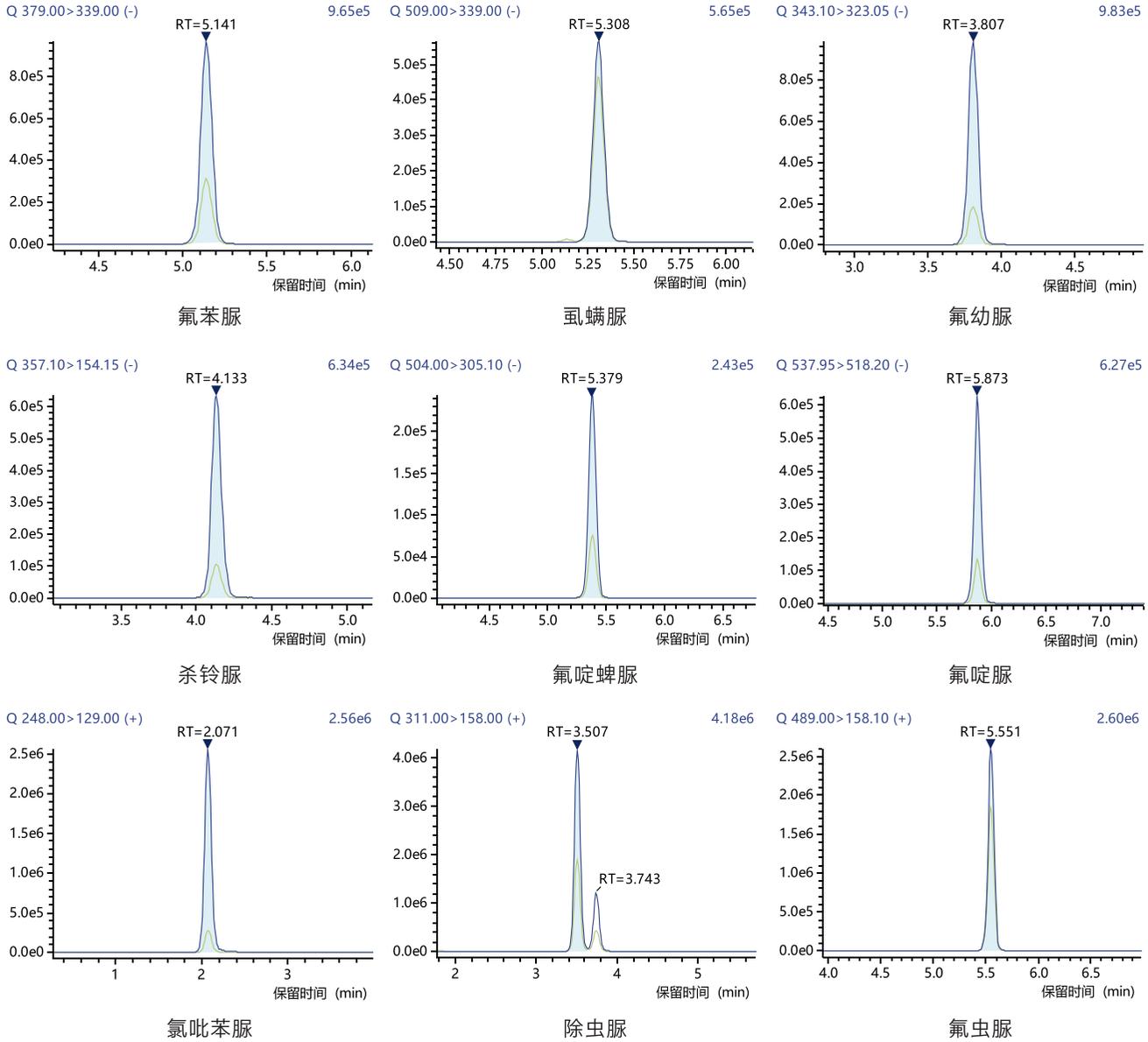
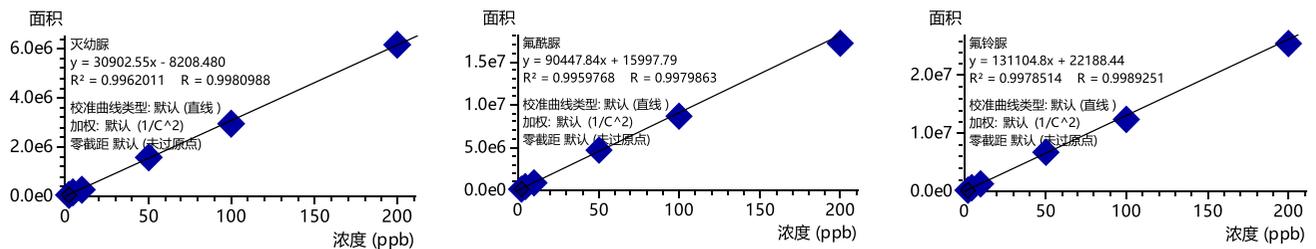


图 1 12 种苯甲酰脲类药物 MRM 色谱图 (50.0 ng/mL)

2.2 线性范围

按照 1.3 项下配制方法, 配制 2、5、10、50、100、200 ng/mL 标准系列工作溶液, 使用外标法拟合工作曲线, 校准曲线见图 2, 相关系数均大于 0.997。以 2 ng/mL 浓度点使用 3 倍信噪比的方式计算检出限, 12 种苯甲酰脲类药物的检出限为 0.02-0.10 ng/mL。



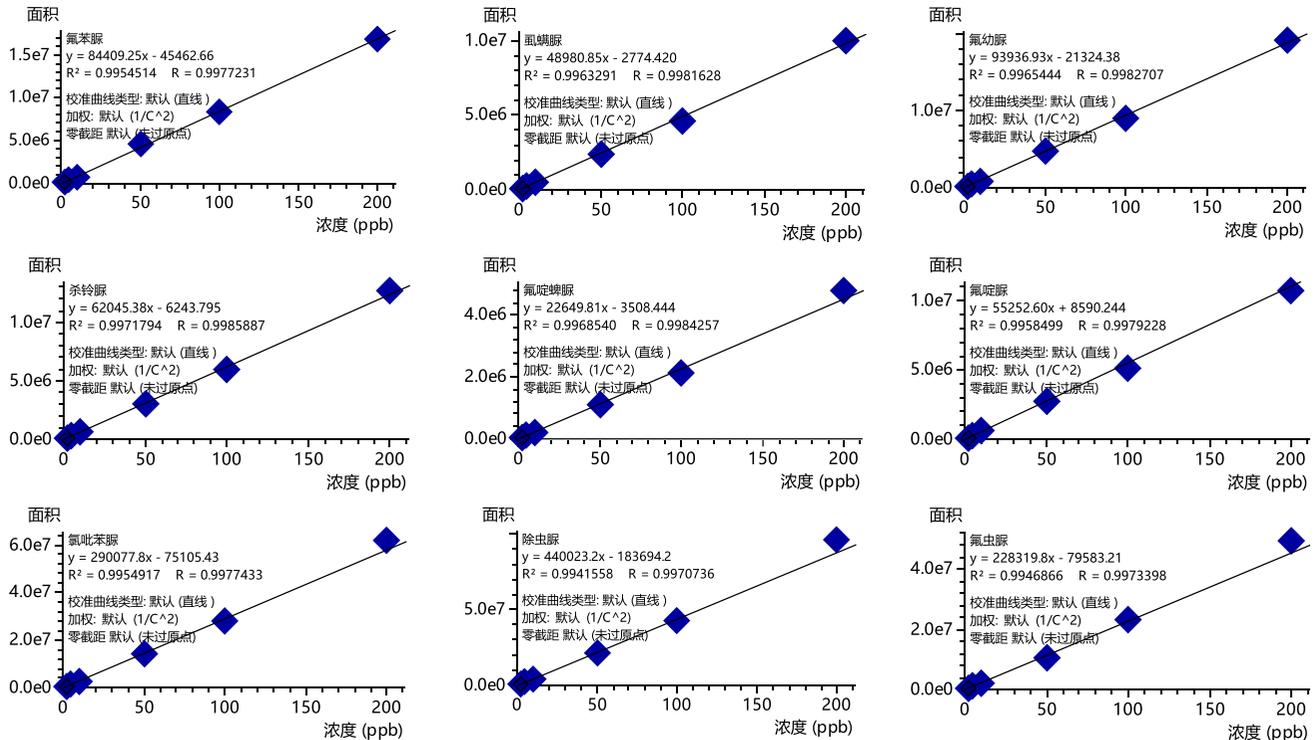


图 2 苯甲酰胺类药物校准曲线

表 3 苯甲酰胺类药物的校准曲线参数

序号	名称	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度 (%)	检出限 (ng/mL)
1	灭幼脒	2-200	0.998	95.1-108.9	0.05
2	氟酰脒	2-200	0.998	94.6-108.2	0.03
3	氟铃脒	2-200	0.999	94.9-105.4	0.05
4	氟苯脒	2-200	0.998	90.6-108.8	0.03
5	虱螨脒	2-200	0.998	93.8-108.6	0.02
6	氟幼脒	2-200	0.998	95.4-108.8	0.04
7	杀铃脒	2-200	0.999	95.4-108.0	0.02
8	氟啶蜱脒	2-200	0.998	94.1-105.7	0.04
9	氟啶脒	2-200	0.998	93.5-106.7	0.04
10	氯吡苯脒	2-200	0.998	91.8-106.8	0.10
11	除虫脒	2-200	0.997	90.1-109.4	0.02
12	氟虫脒	2-200	0.997	91.8-108.3	0.03

2.3 重复性考察

5 ng/mL、100 ng/mL 浓度对照品溶液，连续进样考察保留时间和峰面积的重复性，日内连续 6 针保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别在 0.13% 和 4.68% 以内，结果如表 4 所示。日间三批次重复进样，保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别在 0.26% 和 8.10% 以内，方法精密度良好。

表 4 苯甲酰胺类药物标准溶液连续 6 针重复性结果

序号	名称	峰面积 RSD (%)		保留时间 RSD (%)	
		5 ng/mL	100 ng/mL	5 ng/mL	100 ng/mL
1	灭幼脲	2.99	3.58	0.05	0.15
2	氟酰胺	1.84	4.51	0.13	0.16
3	氟铃脲	3.62	4.86	0.12	0.15
4	氟苯脲	4.68	4.87	0.10	0.25
5	虱螨脲	3.02	4.84	0.13	0.30
6	氟幼脲	2.40	3.67	0.07	0.16
7	杀铃脲	2.95	2.75	0.10	0.10
8	氟啶蜚脲	3.38	4.84	0.13	0.28
9	氟啶脲	2.30	4.75	0.07	0.19
10	氯吡苯脲	0.70	1.38	0.09	0.14
11	除虫脲	1.08	1.75	0.07	0.16
12	氟虫脲	2.94	4.88	0.10	0.26

2.4 加标回收率考察

取大虾空白基质，按照 1.3 前处理方法，对样品进行低、高两个浓度水平加标回收率考察。每个浓度平行制备三份样品，进行重复性考察。按照国标要求在 5-50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度范围，选择 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 两个水平的添加量。两水平加标回收率及重复性结果见表 5。

表 5 回收率结果 (n=3)

序号	名称	样品浓度	添加浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回收率 (%)	相对标准偏差 (%)
1	灭幼脲	N.D.	5	103.0	2.47
			50	95.2	4.55
2	氟酰胺	N.D.	5	104.1	1.79
			50	97.1	5.77
3	氟铃脲	N.D.	5	101.7	2.27
			50	101.6	7.22
4	氟苯脲	N.D.	5	107.0	3.14
			50	87.6	9.31
5	虱螨脲	N.D.	5	95.1	3.45
			50	96.6	3.70
6	氟幼脲	N.D.	5	99.4	3.35
			50	93.9	5.07
7	杀铃脲	N.D.	5	99.1	3.11
			50	96.8	3.57
8	氟啶蜚脲	N.D.	5	96.4	2.36
			50	96.4	6.71

9	氟啶脲	N.D.	5	103.6	4.73
			50	97.9	5.03
10	氯吡苯脲	N.D.	5	100.2	2.15
			50	94.3	2.55
11	除虫脲	N.D.	5	95.4	1.51
			50	90.9	3.07
12	氟虫脲	N.D.	5	102.7	2.19
			50	95.6	9.78

注：N.D. 代表未检出。

■ 结论

本文使用岛津最新推出的 LCMS-8060RX 测定水产品中十二种苯甲酰脲类药物。样品用乙腈提取，经 PSA 净化，三重四极杆液质联用仪外标法定量，线性范围在 2-200 ng/mL，相关系数 R 均大于 0.997，曲线各浓度点准确度在 90.1-109.4% 之间。重复性、回收率的考察均满足国标征求意见稿要求，可用于水产品中苯甲酰脲类药物的检测。

岛津应用云

