

三重四极杆质谱测定蔬果中玉米素和三种赤霉素残留量

LCMSMS-159

摘要：本文建立了岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 测定蔬果中玉米素和 3 种赤霉素残留量的分析方法。蔬果基质经 80 % 甲醇水溶液提取，超高效液相色谱 LC-30A 进行梯度洗脱分离，用串联质谱进行多反应监测分析，采用外标法建立定量方法。玉米素和赤霉素在 1~100 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好，相关系数在 0.9989~0.9998 之间。对低中高不同浓度的混合标准溶液连续 6 次进样进行精密度实验，玉米素和赤霉素的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.086 %~0.69 % 和 1.17 %~4.74 % 之间，仪器精密度良好，检出限范围为 0.018-0.160 $\mu\text{g/L}$ 。考察柑橘样品分析及加标实验，玉米素和 3 种赤霉素的回收率范围为 75.8 %~89.3 %，可以满足蔬果中赤霉素残留量的检测需求。

关键词：玉米素赤霉素蔬果三重四极杆质谱

外源性植物生长调节剂是人工合成具有植物激素活性的一类物质，它们在较低浓度下即可对植物的生长发育表现出调节作用。近年来，植物生长调节剂在农作物种植上得到广泛应用，目前在水果中常用的外源性植物生长调节剂有：赤霉素、玉米素等几类物质。近年来，生长调节剂应用日益广泛，主要用作调节农作物的生长发育、提高产量和改良品质。然而，生长调节剂与其他农药一样，也有一定的毒性。特别是近年来，由于生长调节剂的滥用及使用不当导致的食品安全问题逐渐增多，引起了人们的关注，但对多种组分的检测方法研究

还很少，有的还缺乏相关检测标准。目前我国对外源性植物生长调节剂的最高残留限量未做出规定，美国、日本等国家规定赤霉素在水果、蔬菜中的最高残留限量为 0.2 mg/kg。为了对生产中外源性植物生长调节剂的使用情况进行监测，保证食品安全，有必要对其残留量的检测方法进行研究。

本文以甲醇水溶液提取，使用 LCMSMS，建立了蔬果中玉米素和赤霉素残留的分析方法，该方法能有效地减少样品中杂质的干扰，操作简便、快捷，灵敏度高，精密度好，供相关检测人员参考。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为：LC-30AD \times 2 输液泵，DGU-20A₃ 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.60 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统

色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS III 2.0 mmI.

D. \times 50 mmL., 1.6 μm

流速：0.4 mL/min

进样体积：20 μL

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

流动相：A-0.05 % 甲酸水 B- 乙腈

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度 20 %，梯度洗脱见表 1。

表1 梯度洗脱程序

| Time (min) | B.Con. |
|------------|--------|
| 3.00 | 90 |
| 3.50 | 20 |
| 5.00 | stop |

分析仪器：LCMS-8040

离子源：ESI，正负离子同时扫描

离子源接口电压：4.5 kV

喷雾针位置：1 mm

雾化气：氮气 3 L/min

干燥气：氮气 15 L/min

碰撞气：氩气

脱溶剂管温度：250℃

加热模块温度：400℃

扫描模式：多反应监测 (MRM)

驻留时间：30 ms

延迟时间：3 ms

MRM 参数：见表 2

表 2 MRM 参数

| 化合物名称 | 英文名称 | CAS | 前 离子 | 产物离子 | Q1 Pre Bias (V) | CE (V) | Q3 Pre Bias (V) |
|------------|------------------|-----------|--------|----------|-----------------|--------|-----------------|
| 玉米素 | Zeatin | 1637-39-4 | 220.30 | 136.15 * | -15.0 | -18.0 | -28.0 |
| | | | | 119.10 | -15.0 | -35.0 | -21.0 |
| 赤霉素 GA3 | Gibberellic acid | 77-06-5 | 345.20 | 143.15 * | 17.0 | 28.0 | 14.0 |
| | | | | 221.15 | 17.0 | 24.0 | 14.0 |
| 赤霉素 GA4 | Gibberellin A4 | 468-44-0 | 331.20 | 243.20 * | 17.0 | 19.0 | 25.0 |
| | | | | 213.15 | 17.0 | 32.0 | 21.0 |
| 赤霉素 GA7 | Gibberellin A 7 | 510-75-8 | 329.20 | 223.20 * | 17.0 | 20.0 | 23.0 |
| | | | | 211.20 | 17.0 | 25.0 | 13.0 |

*表示定量离子

1.3 样品制备

1.3.1 样品前处理方法

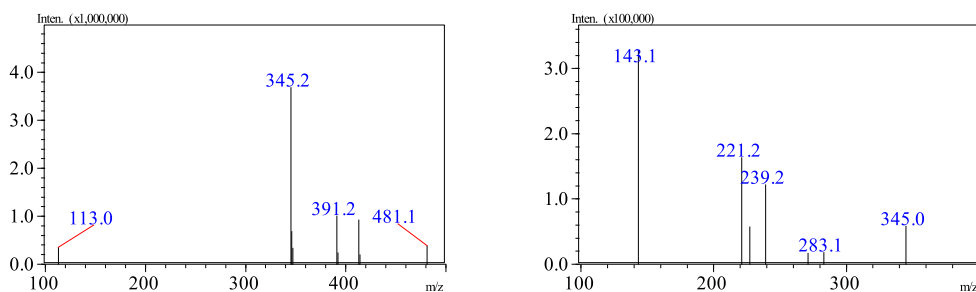
称取样品 5 g 于离心管中，加入 25 mL 80 % 甲醇水溶液，匀浆 2 min，10000 转 /min 离心 15 min，取 1 mL 上清液氮吹至近干，用 20 % 甲醇水溶液定容至 1 mL，过膜，待仪器使用。

1.3.2 标准溶液配制

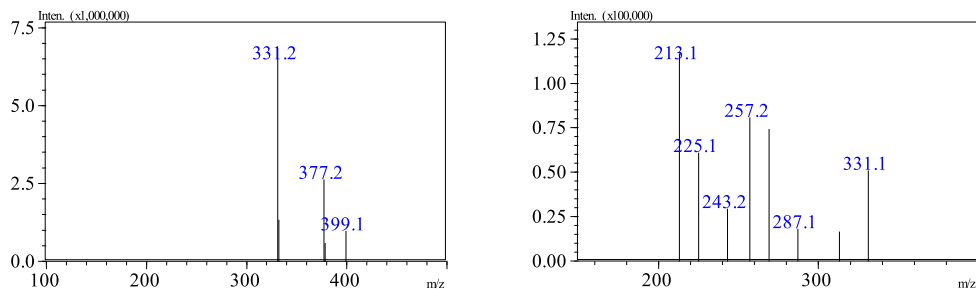
用甲醇配制 1.0 mg/L 的混合标准中间溶液，用 20 % 甲醇水溶液释成浓度为 1, 2, 5, 20, 100 μg/L 标准工作液。

结果讨论

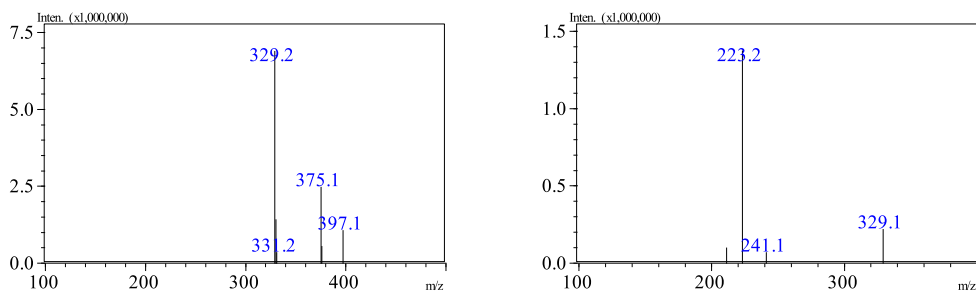
2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图



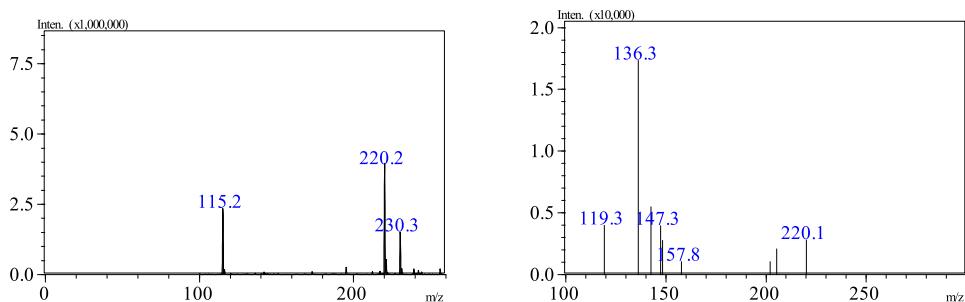
1 赤霉素 GA3 的一级质谱图 (左图) 和产物离子扫描质谱图 (CE 值为 23V) (右图)



2. 赤霉素 GA4 的一级质谱图 (左图) 和产物离子扫描质谱图 (CE 值为 30V) (右图)



3 赤霉素 GA7 的一级质谱图 (左图) 和产物离子扫描质谱图 (CE 值为 20V) (右图)



4 玉米素的一级质谱图 (左图) 和产物离子扫描质谱图 (CE 值为-20V) (右图)

图1 玉米素和赤霉素的一级质谱图和产物离子扫描质谱图

2.2 标准溶液的 MRM 色谱图

标准溶液 MRM 色谱图如图 2 所示。

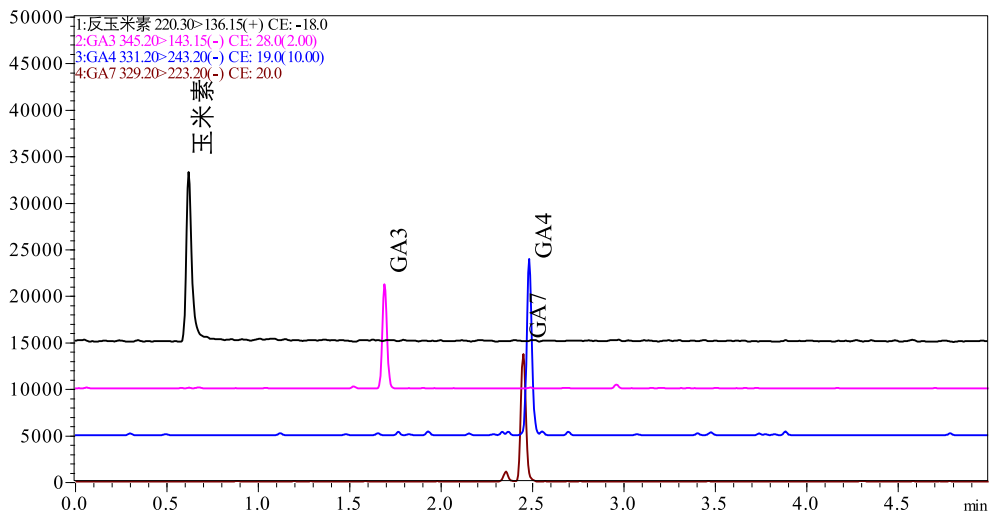


图2 2 µg/L 混合标准溶液的 MRM 色谱图

2.3 线性关系

按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，以 1, 2, 5, 20, 100 $\mu\text{g/L}$ 为浓度点，采用外标法建立校准曲线，如图 3 所示，3 种赤霉素线性浓度范围内线性相关性良好，相关系数均在 0.9989~0.9998 之间，软件自动计算检出限和定量限见表 4。

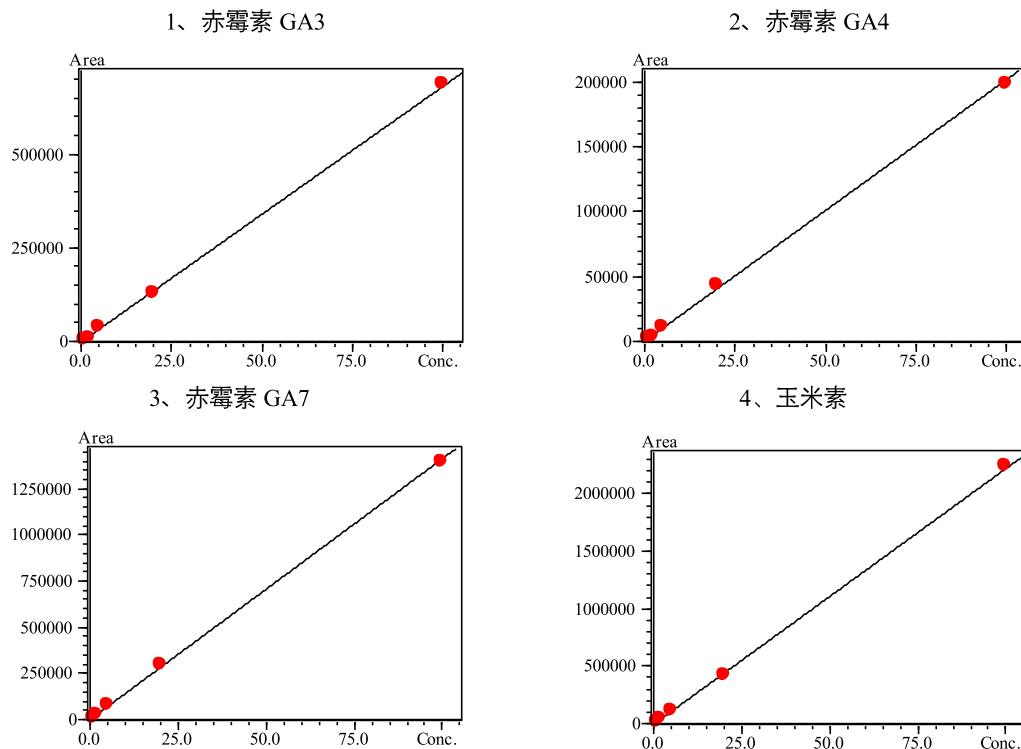


图3 玉米素和赤霉素的标准工作曲线

表 3 玉米素和赤霉素的校准曲线参数

| 编号 | 名称 | 校准曲线 | 线性范围 ($\mu\text{g/L}$) | 相关系数 (R) | 检出限 ($\mu\text{g/L}$) | 定量限 ($\mu\text{g/L}$) |
|----|---------|-------------------------------|-----------------------------|-------------|----------------------------|----------------------------|
| 1 | 赤霉素 GA3 | $Y = (6820.70)X + (-1542.14)$ | 1-100 | 0.9991 | 0.055 | 0.166 |
| 2 | 赤霉素 GA4 | $Y = (2015.45)X + (158.664)$ | 1-100 | 0.9989 | 0.160 | 0.486 |
| 3 | 赤霉素 GA7 | $Y = (14126.5)X + (-223.181)$ | 1-100 | 0.9991 | 0.018 | 0.056 |
| 4 | 玉米素 | $Y = (22272.7)X + (-6408.49)$ | 1-100 | 0.9998 | 0.098 | 0.296 |

2.4 精密度实验

配制低中高不同浓度的混合标样依次进样，平行测定 6 次，3 种物质的保留时间相对标准偏差和峰面积的相对标准偏差分别在 0.086%~0.69% 和 1.17%~4.74% 之间，结果表明系统具有良好的精密度。

表 5 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

| 样品名称 | RSD% (1 $\mu\text{g/L}$) | | RSD% (20 $\mu\text{g/L}$) | | RSD% (100 $\mu\text{g/L}$) | |
|---------|---------------------------|------|----------------------------|------|-----------------------------|------|
| | R.T. | Area | R.T. | Area | R.T. | Area |
| 赤霉素 GA3 | 0.17 | 4.74 | 0.14 | 4.28 | 0.21 | 3.31 |
| 赤霉素 GA4 | 0.18 | 4.54 | 0.093 | 4.50 | 0.14 | 3.32 |
| 赤霉素 GA7 | 0.13 | 4.11 | 0.086 | 2.20 | 0.14 | 1.25 |
| 玉米素 | 0.25 | 4.15 | 0.69 | 3.14 | 0.52 | 1.17 |

2.5 实际样品分析及回收率实验

将所建立的分析方法用于实际样品分析，检测柑橘样品，均未检测到这玉米素和赤霉素。图4为柑橘样品的MRM色谱图。在此柑橘中添加浓度为5 μg/kg的混合标准溶液，加标MRM色谱图如图5所示，加标回收率结果见表6。

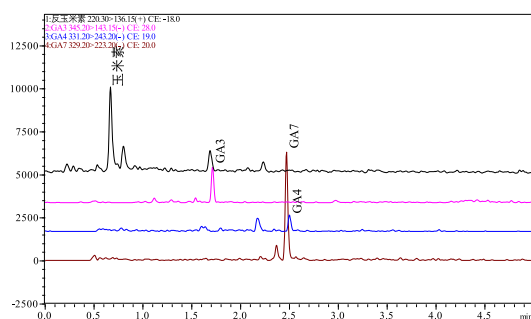
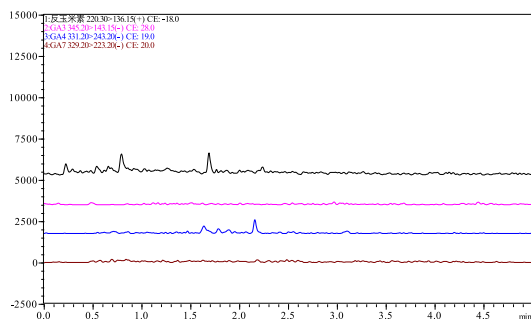


表6 3种赤霉素以及玉米素检测与加标回收结果

| 编号 | 名称 | 检测浓度 (μg/kg) | 理论浓度 (μg/kg) | 实测浓度 (μg/kg) | 回收率 (%) |
|----|---------|-----------------|-----------------|-----------------|------------|
| 1 | 赤霉素 GA3 | N.D. | 5 | 3.79 | 75.8 |
| 2 | 赤霉素 GA4 | N.D. | 5 | 4.01 | 80.2 |
| 3 | 赤霉素 GA7 | N.D. | 5 | 4.46 | 89.3 |
| 4 | 玉米素 | N.D. | 5 | 4.16 | 83.1 |

注：N.D.表示未检出

结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 测定蔬果中玉米素和赤霉素残留。玉米素和种赤霉素线性范围宽，在 1~100 μg/L 浓度范围内线性良好，相关系数在 0.9989~0.9998 之间。对低中高不同浓度的混合标准溶液进行精密度实验，连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.086%~0.69% 和 1.17%~4.74% 之间，仪器精密度良好，检出限范围为 0.018-0.160 μg/L。考察柑橘样品分析及加标实验，玉米素和赤霉素的回收率范围为 75.8%~89.3%，可以满足蔬果中玉米素和赤霉素残留量的检测需求。