

LC-MSMS 测定植物源食品中咪鲜胺及其代谢产物

LCMSMS-751

摘要： 本文建立了使用岛津三重四极杆液质联用技术测定植物源性食品中咪鲜胺及其代谢物残留量的方法。实验采用外标法建立基质匹配校准曲线，在 10~160 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内，目标物线性关系良好，相关系数均大于 0.99。对空白青菜基质进行了低、中、高 (0.01、0.02、0.1 mg/kg) 三个浓度水平的加标回收实验，回收率在 71.6-107% 之间，RSD 在 1.18~3.88% 之间。相较于标准方法，该方法可实现 ESI 正负离子模式下的一针分析，同时通过对 2,4,6- 三氯苯酚特征离子对的优化，提升了原方法抗基质干扰能力。

关键词： 三重四极杆液质联用仪 植物源性食品 咪鲜胺

技术特点：

- ❖ 实现 ESI 正负离子模式同时分析，提高检测效率。
- ❖ 在标准的基础上优化了 2,4,6- 三氯苯酚特征离子对，提升了原方法抗基质干扰能力。

咪鲜胺是一种咪唑类广谱高效杀菌剂，主要是通过抑制雄激素的分泌来破坏真菌的生殖发育，具有保鲜和杀菌防腐的双重功效，被广泛用于经济作物的种植与保藏过程。

有研究表明，咪鲜胺在环境中首先降解为 N- 丙基 -N-[2-(2,4,6- 三氯苯氧基) 和 N- 醛基 -N- 丙基 -N-[2-(2,4,6- 三氯苯氧基) 乙基] 脲，最后降解为 2,4,6- 三氯苯酚。虽然咪鲜胺属于低毒性杀菌剂，但其最终代谢产物可能会对环境以及人类产生长期不良影响。因此，

我国 GB 2763-2021 《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》对不同食品中咪鲜胺及其代谢物限量做了明确要求。

本文参考 SN/T 5444-2022 《出口植物源食品中咪鲜胺及其代谢产物的测定 液相色谱 - 质谱 / 质谱法》，使用岛津三重四极杆液质联用仪，建立了植物源性食品中咪鲜胺及其代谢物的检测方法，可为相关从业人员提供参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050，配置信息如下：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A 5R
输液泵：	LC-30AD×2	柱温箱：	CTO-20AC
自动进样器：	SIL-30AC	质谱仪：	LCMS-8050
色谱工作站：	Labsolutions Ver. 5.109		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：	Shim-pack GIST C18-AQ HP (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 μm , 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-30807-02)		
流动相：	A- 水; B- 甲醇		
进样体积：	5 μL	柱温：	40 $^{\circ}\text{C}$
流速：	0.4 mL/min	洗针液：	甲醇 / 水 = 1:1 (v:v)
洗脱方式：	梯度洗脱，B 相起始浓度为 30%，时间程序如表 1 所示。		

表 1 梯度洗脱程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
1.00	泵	B Conc	30
2.00	泵	B Conc	100
5.00	泵	B Conc	100
5.10	泵	B Conc	30
7.50	控制器	STOP	

质谱条件

离子化模式：ESI±	雾化气流速：3.0 L/min
接口电压：4 kV	干燥气流速：10.0 L/min
接口温度：300 °C	加热气流速：10.0 L/min
D L 温度：250 °C	碰撞气：氩气
加热模块温度：400 °C	扫描模式：多反应监测 (MRM)
MRM 参数：见表 2	

表 2 MRM 参数

序号	中文名称	英文名	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE	Q3 Pre Bias(V)
1	咪鲜胺	Prochloraz	67747-09-5	376.00	266.00 308.00*	-14 -14	-18 -13	-29 -13
2	N-丙基-N-[2-(2,4,6-三氯苯氧基)]	BTS44595	139520-94-8	327.00	129.15 284.00*	-23 -12	-21 -16	-21 -17
3	N-醛基-N-丙基-N-[2-(2,4,6-三氯苯氧基)乙基]脒	BTS44596	139542-32-8	355.00	268.00 310.00*	-25 -18	-19 -15	-29 -13
4	2,4,6-三氯苯酚	BTS45186	88-06-2	194.95 196.95	35.05* 35.05	11 16	22 29	12 10

* 代表定量离子对

■ 样品前处理

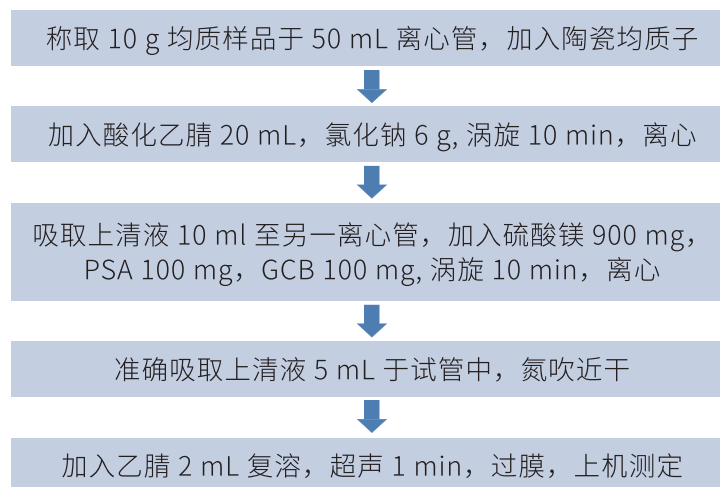


图 1 样品前处理图

■ 结果与讨论

3.1 BTS45186 离子对的优化

标准中 BTS45186 选用的离子对为 (196.95 > 161.00) 和 (196.95 > 95.00)，但在实际应用中发现，其定量离子对 (196.95 > 161.00) 容易受到样品基质影响，背景干扰较大 (如图 2 左图所示)。本文考虑到该化合物含有 3 个氯离子，可以形成具有不同质量数的同位素峰，考察了其同位素峰的二级质谱碎裂情况，发现主要二级碎片均为氯离子。通过质谱参数优化，选择碎片离子 m/z 35.05 丰度最高的 m/z 194.95 和 m/z 196.95 作为母离子，采用两个不同的母离子分别找一个子离子的方式获得 5 个得分点，以满足欧盟 EC 657/2002 中化合物定量的鉴别点数要求。相比标准方法，BTS45186 的离子对通道基线较低，专属性更强 (如图 2 右图所示)。

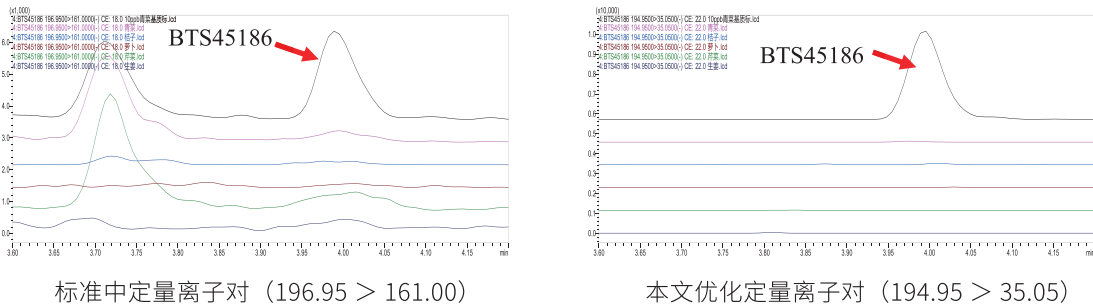


图 2 BTS4518 在不同基质 (青菜、桔子、萝卜、芹菜、生姜) 中定量离子对优化前后的 MRM 色谱图

3.2 标准样品谱图

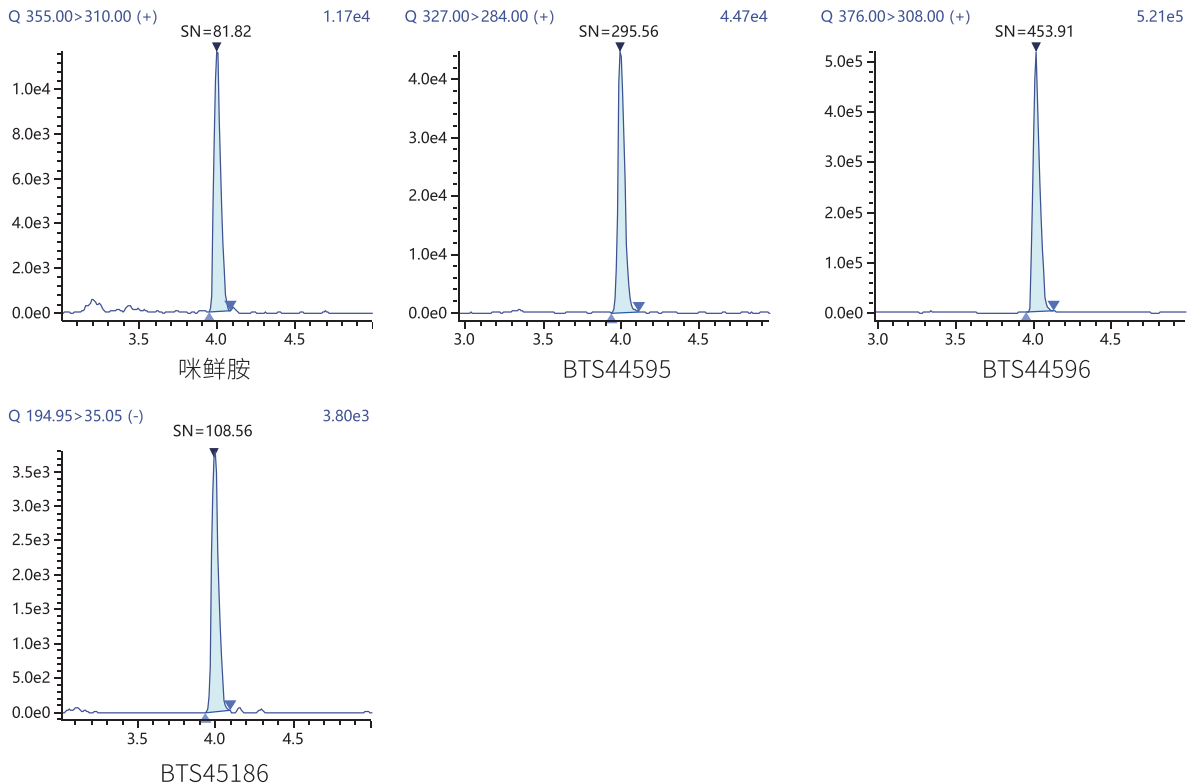


图 3 10 μg/L 青菜基质标准溶液的 MRM 色谱图

3.3 校准曲线和定量限

分别配制 10、20、50、100、160 $\mu\text{g/L}$ 的青菜基质匹配标准溶液按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线。根据 10 $\mu\text{g/L}$ 标样数据，以 3 倍信噪比、10 倍信噪比计算检出限、定量限。各化合物线性方程、相关系数、检出限以及定量限如表 3 所示。

表 3 线性方程及灵敏度

序号	组分名称	校准曲线	相关系数 r	检出限 ($\mu\text{g/L}$)	定量限 ($\mu\text{g/L}$)
1	咪鲜胺	$Y=3220X+2917$	0.9954	0.37	1.22
2	BTS44595	$Y=11406X+10789$	0.9992	0.10	0.34
3	BTS44596	$Y=150866X-55268$	0.9999	0.07	0.22
4	BTS45186	$Y=1388X-3698$	0.9984	0.28	0.92

3.4 重复性实验

取 10 $\mu\text{g/L}$ 青菜基质匹配标准溶液，连续进样 6 次，考察仪器的重复性。结果如表 4 所示。

表 4 峰面积和保留时间重复性结果 (n=6)

序号	组分名称	峰面积 RSD (%)	保留时间 RSD (%)	序号	组分名称	峰面积 RSD (%)	保留时间 RSD (%)
1	咪鲜胺	4.32	0.08	3	BTS44596	1.63	0.09
2	BTS44595	3.97	0.10	4	BTS45186	5.23	0.11

3.5 加标回收率

将青菜空白样品进行低、中、高三个浓度水平加标，按照上述前处理方法处理后上机，每个水平重复测定 4 次。结果如表 5 所示：平均回收率在 71.6%~90.7% 之间，RSD 在 1.18%~3.88% 之间。

表 5 添加回收率结果 (n=4)

序号	名称	低浓度 (0.01 mg/kg)		中浓度 (0.02 mg/kg)		高浓度 (0.1 mg/kg)	
		平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	咪鲜胺	93.9	3.88	93.0	3.86	80.3	3.54
2	BTS44595	100	1.46	91.1	2.82	78.3	1.23
3	BTS44596	92.7	1.54	78.9	1.55	71.6	1.18
4	BTS45186	107	3.39	90.3	1.35	78.1	1.32

■ 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪测定植物源性食品中咪鲜胺及其代谢物残留量的方法。目标物在线性范围在 10~160 $\mu\text{g/L}$ 间，相关系数 $R \geq 0.99$ 。在空白青菜基质中添加低、中、高三个浓度 (0.01、0.02、0.1 mg/kg) 的混标，回收率在 71.1-107% 之间，RSD 在 1.18~3.88%。本方法实现了正负离子模式的一针分析，可满足植物源性食品中咪鲜胺及其代谢物快速检测的需要。

岛津应用云

