

LC-MS/MS 测定食品中灭螨醌和羟基灭螨醌含量

LCMSMS-754

摘要：本文采用岛津三重四极杆液质联用仪建立了食品中灭螨醌和羟基灭螨醌的定量分析方法。通过优化有机相种类和接口参数，0.5 ng/mL 标准溶液中两种化合物信噪比分别为 20 和 14，灵敏度高。在 0.5~500 ng/mL 浓度范围内线性良好，线性相关系数均大于 0.999，准确度分别为 94.6%~107.1% 和 93.7%~107.6%。精密密度实验中，1 ng/mL 标准溶液重复分析 6 次，保留时间 RSD 小于 0.08%，峰面积 RSD 小于 3.00%。实际样品加标实验中，5、50、500 ng/g 加标回收率为 87.0%~101.7%。实验结果表明，该方法灵敏度高、重复性佳、回收率高。

关键词：灭螨醌 羟基灭螨醌 食品 LC-MS/MS

技术特点：

- ❖ 此方法参考检测标准 SN/T 4066-2014，校准曲线最低点浓度完全满足标准测定低限要求。
- ❖ 通过优化流动相有机相种类和接口参数，灵敏度显著提高，且线性范围广。

灭螨醌是一种重要的合成杀螨剂农药，是用来控制虱类、螨类和其它无脊椎动物的杀虫剂，它的代谢产物为羟基灭螨醌。作为一种触杀性杀螨剂，无内吸活性，广泛用于梨、桃、柑橘、黄瓜、蔬菜、葡萄等食品的防治螨类危害。

灭螨醌和羟基灭螨醌结构相近且极性较弱，结构

式如图 1 所示。在常规 C18 色谱柱中保留非常强，影响两化合物的峰形和分离。此外，极性弱导致其在 ESI 源上不易电离，灵敏度低。本文参考标准 SN/T4066-2014，采用 Velox 核壳柱快速分离灭螨醌和羟基灭螨醌，并采用 APCI 源电离，通过优化流动相和离子源参数，显著提高了分析的灵敏度。

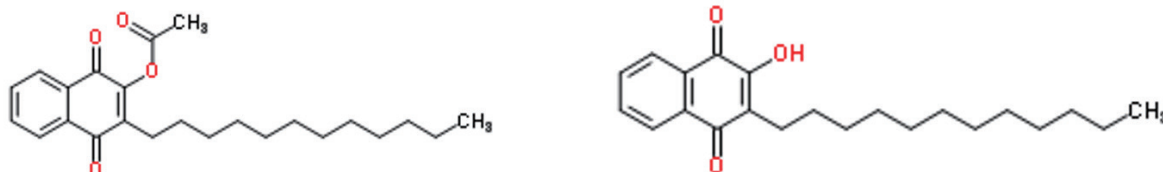


图 1 灭螨醌（左）和羟基灭螨醌（右）结构式

实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-30AD 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。

液相具体配置为：

系统控制器：	CBM-20A	自动进样器：	SIL-30AC
脱气机：	DGU-20A _{5R}	柱温箱：	CTO-20A
输液泵：	LC-30AD×2	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.99

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack Velox SP-C18 (50 mm x 2.1 mm I.D., 1.8 μm, P/N: 227-32001-02, 岛津(上海)实验器材有限公司)

流动相：A 相 -0.1% 甲酸甲醇 / 水溶液 (甲醇: 水 = 1: 1)，B 相 -0.1% 甲酸甲醇

流速：0.5 mL/min 柱温：35°C
 进样体积：10 μL
 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 流动相梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	60
5.00	Pumps	Pump B Conc.	90
5.10	Pumps	Pump B Conc.	60
8.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源：APCI (+)	D L 温度：280°C
接口电压：4.5 kV	加热块温度：280°C
雾化气：氮气 4 L/min	扫描模式：MRM
干燥气：氮气 5 L/min	MRM 参数：见表2
接口温度：450°C	

表2 MRM 参数

No.	中文名	英文名	CAS. No.	离子对	Q1 Pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
1	灭螨醌	Acequinocyl	57960-19-7	343.3>189.15*	-27	-24	-19
				343.3>115.15	-23	-49	-19
2	羟基灭螨醌	Acequino- cyl-hydroxy	57960-31-3	343.3>189.15*	-26	-20	-20
				343.3>115.15	-28	-48	-19

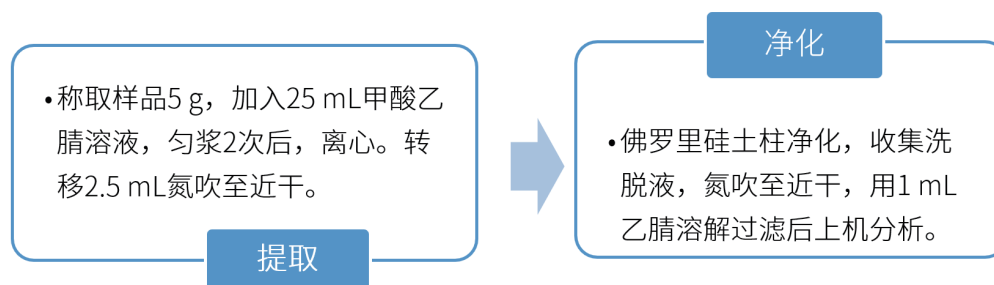
注：* 表示定量离子

1.3 标准品配制

标准储备液：准确称取标准品 10 mg，用乙腈溶解并定容至 100 mL，配制浓度为 100 μg/mL 标准储备液。

标准溶液：取适量标准储备液，用 0.5% 甲酸乙腈逐级稀释，配制浓度为：0.5、1、2.5、5、10、25、50、100、250、500 ng/mL 的标准溶液。灭螨醌和羟基灭螨醌见光易分解，稳定性较差，标准溶液建议现配现用。

1.4 样品前处理

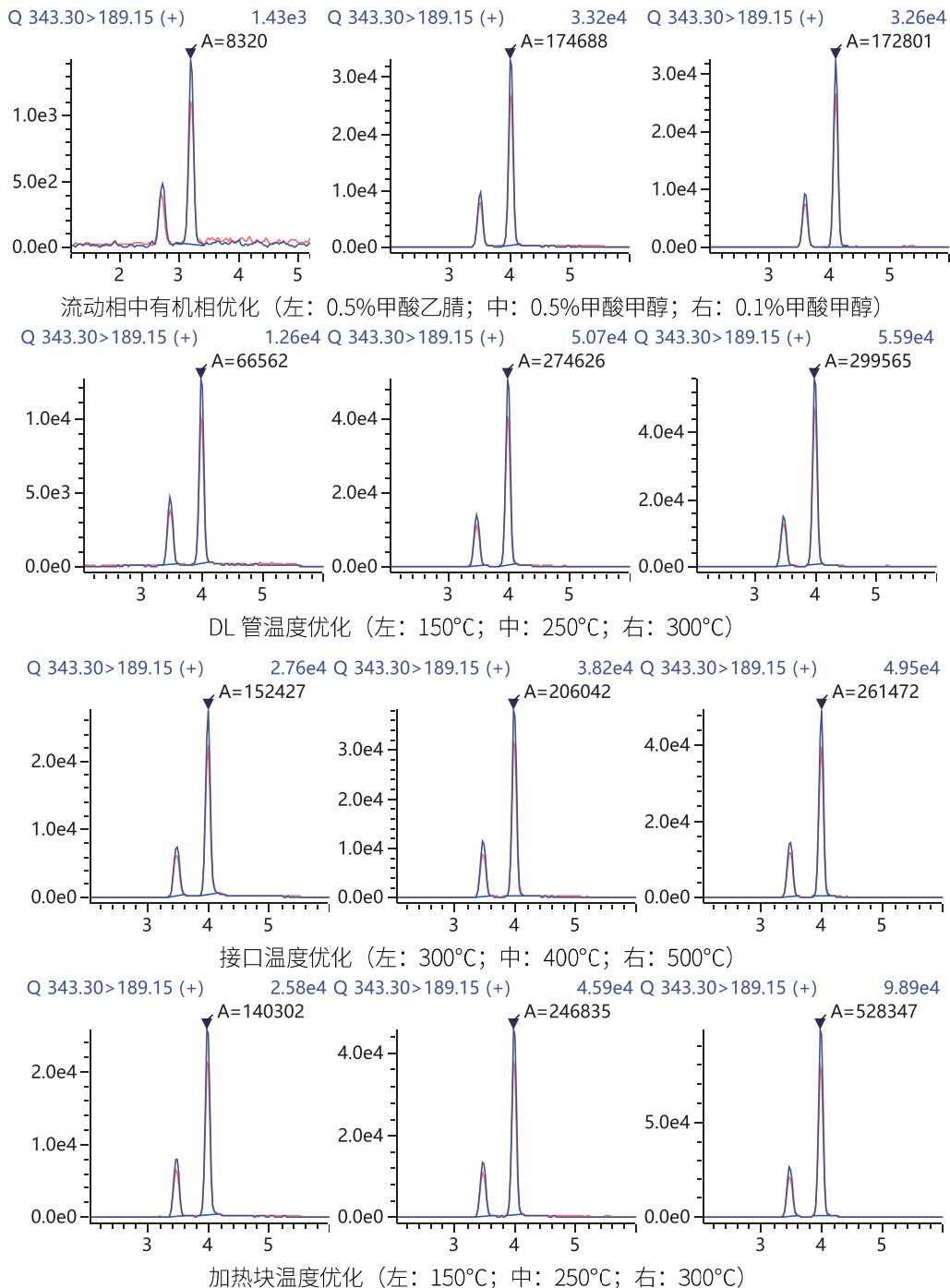


■ 结果与讨论

2.1 方法优化

为了提高方法灵敏度，得到最佳的分析条件，以灭螨醌为例，采用不同流动相及接口参数，分析 100 ng/mL 标准溶液。实验结果表明，流动相为 0.5% 甲酸甲醇时，100 ng/mL 灭螨醌峰面积比流动相为 0.5% 甲酸乙腈时提高了约 22 倍。但当降低甲醇中甲酸浓度至 0.1% 时，灭螨醌峰面积变化非常小。表明 APCI 正模式下，流动相的种类对灵敏度影响很大，但酸浓度的影响较小。

接口参数中，随着接口温度、DL 温度及加热块温度的升高，峰面积明显增大，其中加热块温度的影响最大；随着雾化气流量的增加和干燥气流量的降低，峰面积增加；而接口电压对峰面积的影响较小。不同参数对应的灭螨醌色谱图及峰面积如图 2 所示，变化趋势图如图 3 所示。为了兼顾仪器耐用性和分析的灵敏度，最终确定分析条件如 1.2 所示。



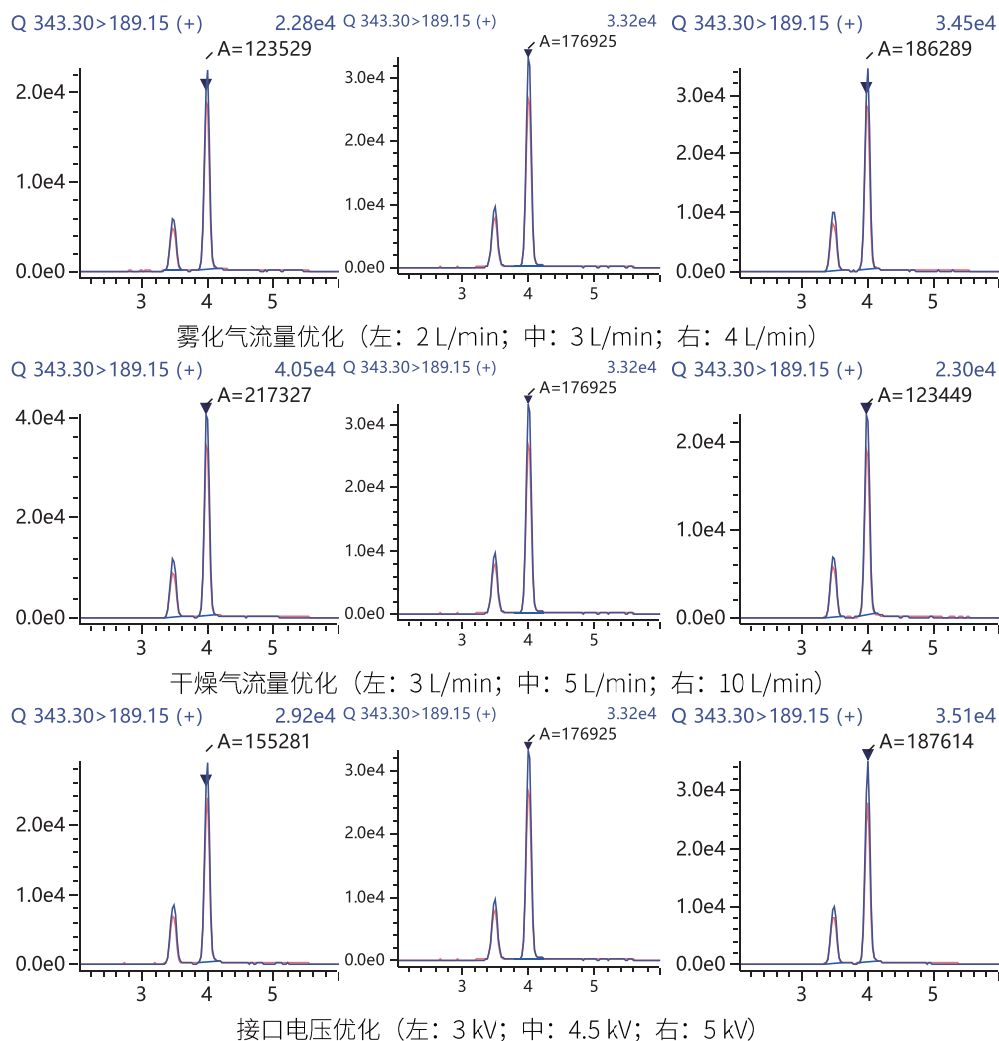


图 2 不同有机相种类及接口参数下灭螨醌 MRM 图和峰面积 (浓度: 100 ng/mL)

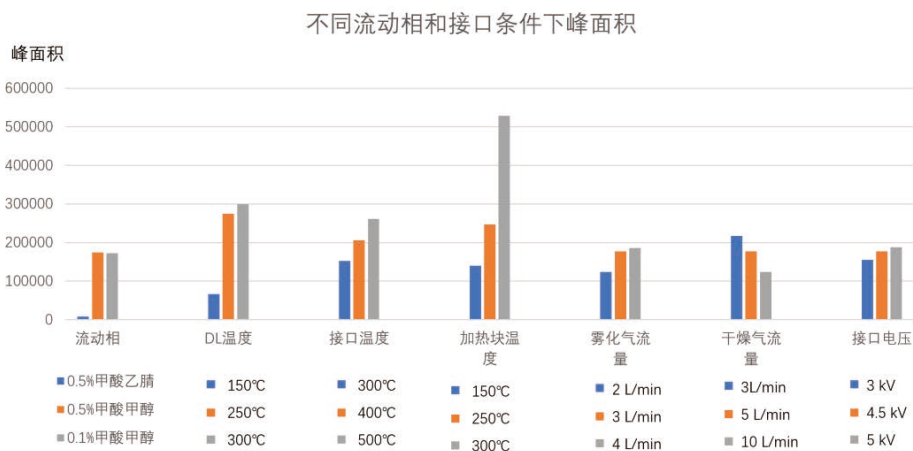


图 3 不同流动相和接口条件下峰面积变化图

2.2 标准溶液色谱图

采用 1.2 中分析方法, 分析 0.5 ng/mL 标准溶液, 得到色谱图如图 4 所示, 此时灭螨醌和羟基灭螨醌 S/N 分别为 20 和 14。标准 SN/T 4066-2014 中规定灭螨醌和羟基灭螨醌的测定低限为 0.005 mg/kg, 按照 1.4 前处理方法换算后上机浓度为 2.5 ng/mL。所以本方法校准曲线最低浓度 0.5 ng/mL 远低于标准中低限值。

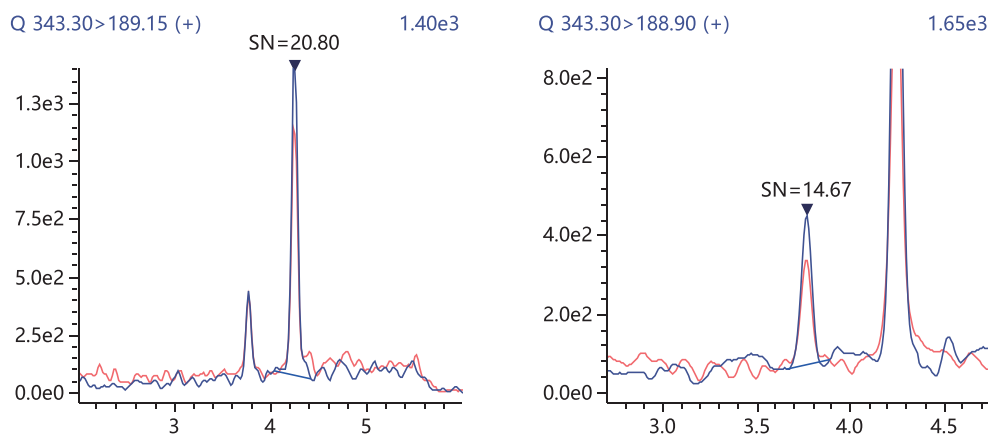


图4 灭螨醌和羟基灭螨醌 MRM 图 (浓度为 0.5 ng/mL)

2.3 标准溶液色谱图

按 1.2 中的分析条件测定两个化合物混合标准溶液，浓度为 0.5~500 ng/mL。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，采用外标法建立校准曲线，如图 5 所示。在 0.5~500 ng/mL 线性浓度范围内，线性相关性良好，线性相关系数大于 0.999，灭螨醌标准溶液回读准确度为 94.6%~107.1%，羟基灭螨醌准确度为 93.7%~107.6%。

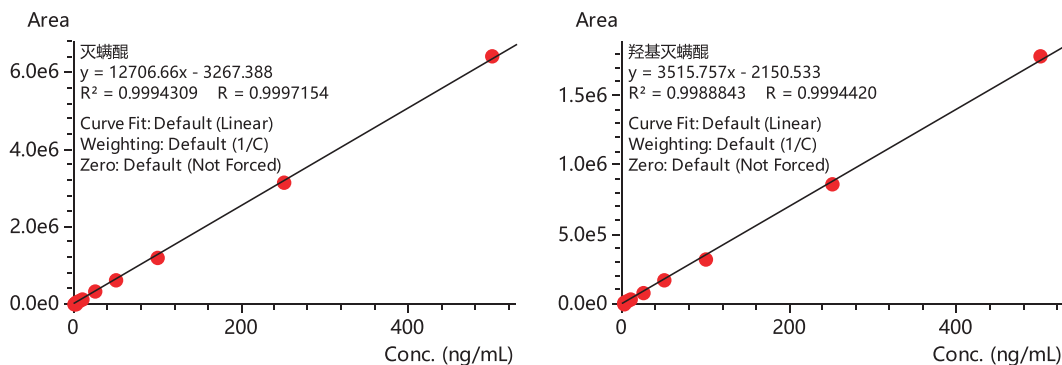


图5 校准曲线

2.4 精密度实验

按照 1.2 分析条件，将浓度为 1 ng/mL 的基质标准溶液重复分析 6 次。两化合物保留时间 RSD 分别为 0.047% 和 0.074%，峰面积 RSD 分别为 2.01%、2.86%，重复性结果良好。

2.5 样品测定及加标实验结果

按照 1.4 中样品处理方法对黄瓜样品进行处理，上机分析。样品中检出羟基灭螨醌，浓度为 3.0 ng/g。对此样品进行加标实验，加标量为 5、50 和 500 ng/g，重复实验 3 次，定量及加标结果如表 3 所示。此方法回收率及重复性佳。

表 3 黄瓜样品中啉铜定量及加标结果

No.	化合物名	样品浓度 (ng/g)	加标量 (5 ng/g)		加标量 (50 ng/g)		加标量 (500 ng/g)	
			回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)
1	灭螨醌	N.D.	87.0	3.61	87.2	1.88	99.1	1.51
	羟基灭螨醌	3.0	95.1	2.72	89.4	2.57	101.7	2.16

备注：N.D. 表示未检出

■ 结论

本文采用岛津三重四极杆液质联用仪建立了食品中灭螨醌和羟基灭螨醌的定量分析方法。通过优化有机相种类和接口参数，0.5 ng/mL 标准溶液中两种化合物信噪比分别为 20 和 14。在 0.5~500 ng/mL 浓度范围内线性良好，线性相关系数均大于 0.999，准确度分别为 94.6%~107.1% 和 93.7%~107.6%。精密度实验中，1 ng/mL 标准溶液重复分析 6 次，保留时间 RSD 小于 0.08%，峰面积 RSD 小于 3.00%。实际样品加标实验中，5、50、500 ng/g 加标回收率为 87.0%~101.7%。实验结果表明，该方法灵敏度高、重复性佳、回收率高。

岛津应用云

