

# SFC-MS 手性拆分蔬菜中的两种三唑类手性农残

## SFC-013

**摘要：**本文建立了一种使用 SFC-MS 手性拆分蔬菜中的两种三唑类手性农残多效唑和甲霜灵羧酸的定性方法。本方法采用岛津 Nexera UC SFC-MS 系统，对比了不同色谱柱的分离效果，使用 Chiralpak AD-H 手性分析柱，手性异构体间实现了良好分离，保留时间重复性为 0.11%~0.12%，峰面积重复性 1.97%~2.31%；将该方法应用于蔬菜样品中，分别在多效唑和甲霜灵羧酸的 0.1 MRL、MRL、5 MRL 处加标，使用 QuEChERS 前处理方法处理，手性异构混合物依然分离良好。该方法简单、快速，可用于对蔬菜中的多效唑和甲霜灵羧酸手性异构体进行定性分析。

**关键词：**SFC-MS 农残 蔬菜 手性拆分

市售农药中，有 25% 是手性异构体，具有一个或多个对映体，出于其立体选择性差异，这些对映体对人体的毒性和在生物体的吸收、转化、代谢和排泄，以及环境代谢过程均表现出明显的不同。多效唑和甲霜灵羧酸是两种典型的三唑类手性杀菌剂，其杀菌作用主要来自于 R 型异构体，S 型毒性很小。因此有必要对蔬菜中的多效唑和甲霜灵羧酸进行手性异构拆分。

超临界流体色谱 (Supercritical Fluid Chromatography, SFC) 是以超临界流体为主要流动相，

添加改性剂或微量添加剂的二元或三元流动相的新型色谱分离技术。超临界流体具有低黏度、高扩散性和高溶解性等特点，使得 SFC 分析具有快速、高效、高分离等优势。

本实验使用岛津 Nexera UC SFC-MS 系统，对蔬菜中多效唑和甲霜灵羧酸的两个手性异构体混合物进行拆分。

## 实验部分

### 1.1 仪器

本实验采用超临界流体色谱 (SFC) 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为 LC-30ADSF (CO<sub>2</sub> 输液泵)，LC-30AD (输液泵)，DGU-20A5+DGU-20A3 (在线脱气机)，SIL-30AC (自动进样器)，CTO-20AC (柱温箱)，SFC-30A (背压调节单元)，CBM-20A (系统控制器)，LCMS-8045 (三重四极杆质谱仪) LabSolutions Ver.5.91 (色谱工作站)。

### 1.2 分析条件

超临界流体色谱条件

色谱柱：Chiralpak AD-H 手性分析柱  
(4.6 mm×250 mm, 5 μm)

流动相：A 相 - 超临界 CO<sub>2</sub>；B 相 - 甲醇

洗针模式：进样前后洗针，External only  
(进样针外壁清洗)，Rinse Port

流速：3.0mL/min

柱温：40°C

进样体积：1 μL

洗针液：甲醇

背压：10 MPa

补偿液：0.1 mL/min 甲醇

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 10%，时间程序见表 1。

表1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	10
5.00	Pumps	Pump B Conc.	30
6.00	Pumps	Pump B Conc.	30
6.5	Pumps	Pump B Conc.	10
9.00	Controller	Stop	

#### 质谱条件

离子化模式：ESI，正离子模式

雾化气流速：3.0 L/min

加热气流速：10.0 L/min

接口温度：300°C

DL 温度：250°C

碰撞气：氩气 230 kPa

加热模块温度：400°C

干燥气流速：10.0 L/min

扫描模式：多反应监测 (MRM)

接口电压：4.0 KV

驻留时间：100 ms

MRM 参数：见表 2

表2 MRM参数

No.	中文名称	英文名称	CAS号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	多效唑（立体异构混合物）	Paclobutrazol	76738-62-0	294.10	70.05*	-15.0	-220	-27.0
					125.05	-14.0	-42.0	-26.0
2	外消旋-甲霜灵羧酸	rac-Metalaxyl Carboxylic acid	87764-37-2	266.10	220.05*	-14.0	-13.0	-27.0
					192.10	-30.0	-16.0	-30.0

\*代表定量离子对

#### 1.3 标准溶液的配制

分别称取约 10 mg 的多效唑、甲霜灵羧酸标准品，用甲醇定容至 10 mL 量瓶，得到 1000 µg/mL 单一标准品母液；分别移取两份单一标准品母液 100 µL 至 10 mL 量瓶中，用甲醇定容，得到 10 µg/mL 混合标准品母液；将混合标准品母液逐级稀释至 10 ng/mL，用甲醇定容，作为标准工作液。

#### 1.4 样品前处理

实验中使用的卷心菜、黄瓜、豆角样品购自附近超市。

称取约 15 g 蔬菜样品于 50 mL 离心管中，分别加入 15 mL 含 1% 乙酸乙腈、6 g 无水硫酸镁和 1.5 g 乙酸钠，充分混匀，振荡，于 4000 r/min 的转速下离心 5 min；取上层清液转移至 15 mL 离心管中，加入 150 mg 无水硫酸镁和 50 mg PSA，充分混匀，振荡，于 5000 r/min 的转速下离心 5 min。取上清液，过 0.22 µm 滤膜，上机分析。

加标实验中，分别向三个基质的样品中加入 0.1 MRL、MRL 和 5 MRL（根据 GB 2763-2016，多效唑和甲霜灵的 MRL 均为 0.05 mg/kg）等量的混合标准工作液，按上述前处理步骤处理样品。

## 结果与讨论

### 2.1 分离条件优化

#### 2.1.1 色谱柱的优化

本实验先使用 Shim-pack XR-ODS 柱，采用常规反相液相的思路分析，结果显示多效唑与甲霜灵在常规反相色谱中各仅出 1 个峰，其手性异构体无法分离；之后采用 Chiralcel OD-H 手性分析柱（4.6 mm×250 mm，5 µm）进行分离，多效唑与甲霜灵的手性异构在该柱上能被分开，但分离度较差；最后采用 Chiralpak AD-H 手性分析柱（4.6 mm×250 mm，5 µm）分离，异构体成功实现基线分离，且分离度 > 1.5，因此本实验采用 Chiralpak AD-H 手性分析柱（4.6 mm×250 mm，5 µm）进行分析。

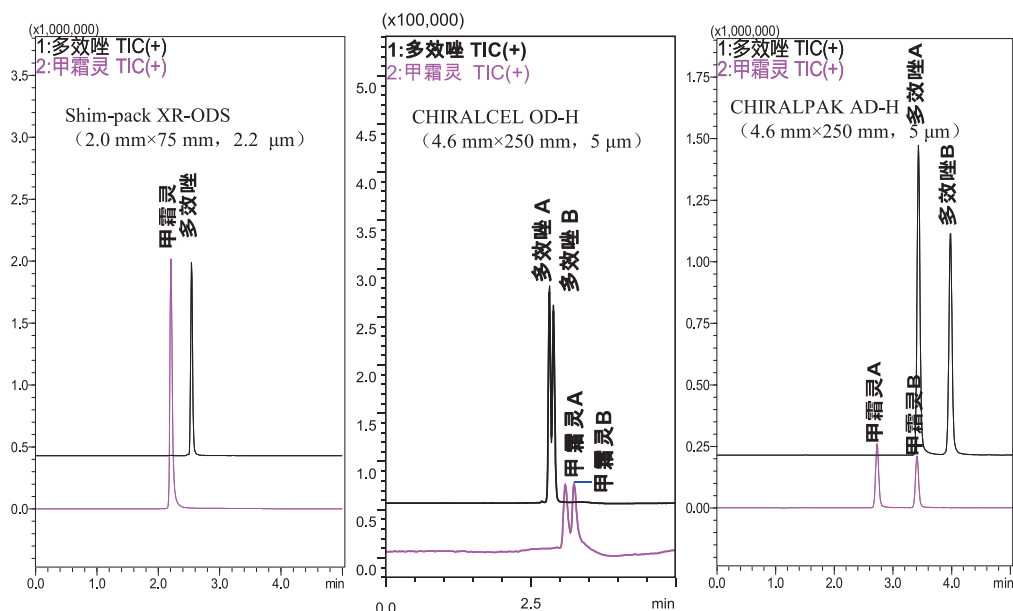


图1 3种色谱柱的分离效果对比图

### 2.1.2 其他色谱参数的优化

在上述分离条件的基础上，本实验又对比了背压（10 MPa、15 MPa、20 MPa）、柱温（35°C、40°C、50°C）和补偿流速（0.1 mL/min、0.15 mL/min、0.2 mL/min）对分离的影响，结果显示，在上述条件下两个化合物的手性异构体均能实现基线分离，影响此两种手性混合物分离的主要因素是色谱柱的选择。

### 2.2 稳定性考察

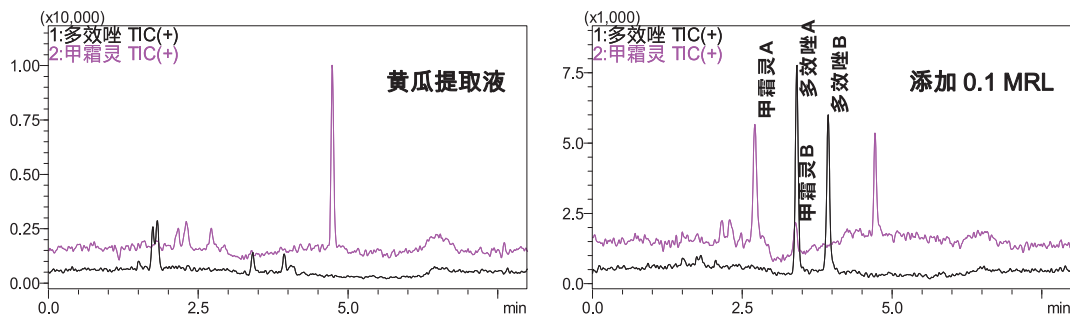
将 10 ng/mL 多效唑和甲霜灵羧酸标准品连续进样 6 针，考察仪器条件的稳定性，结果如表 1 所示。结果表明该仪器条件稳定。

表1 10 ng/mL混合标准样品稳定性考察结果 (n=6)

	多效唑A	多效唑B	甲霜灵羧酸A	甲霜灵羧酸B
保留时间RSD%	0.11	0.11	0.12	0.11
峰面积RSD%	1.97	2.31	2.29	2.31

### 2.3 蔬菜样品中手性异构体的分离

分别将卷心菜、黄瓜和豆角样品粉碎均质，按照 1.4 的方法加标后进行前处理，上样分析，结果如图 2。结果表明，本实验方法可以定性分析并分离出蔬菜中低、中、高浓度的多效唑和甲霜灵羧酸的手性异构体。



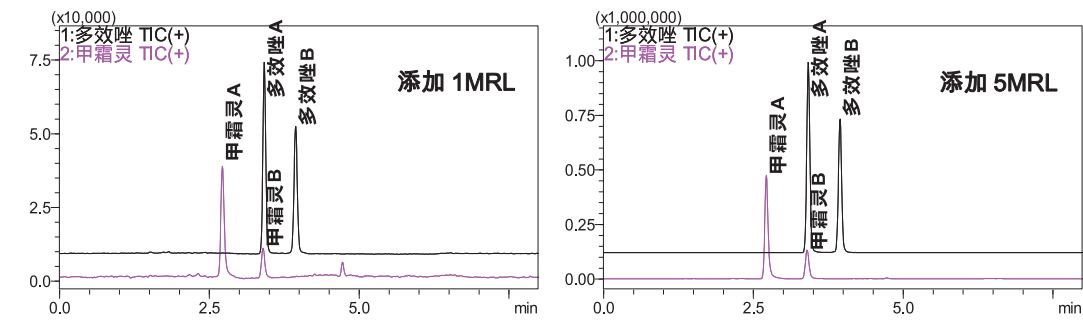


图2 黄瓜样品及样品加标色谱图 (MRL为0.05 mg/kg)

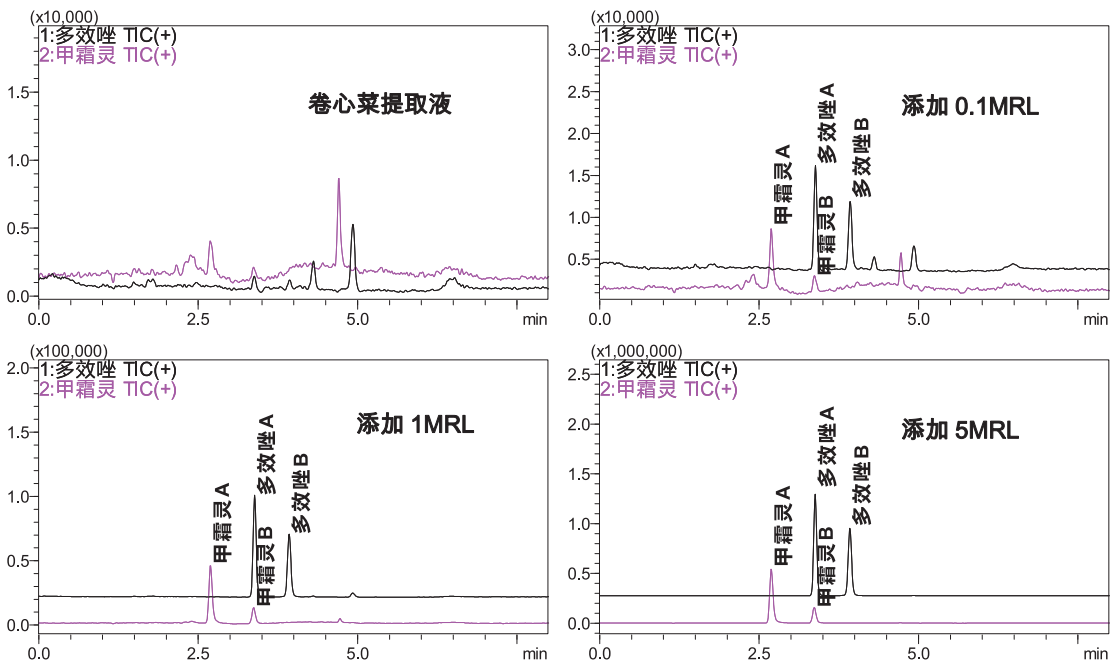


图3 卷心菜样品及样品加标色谱图 (MRL为0.05 mg/kg)

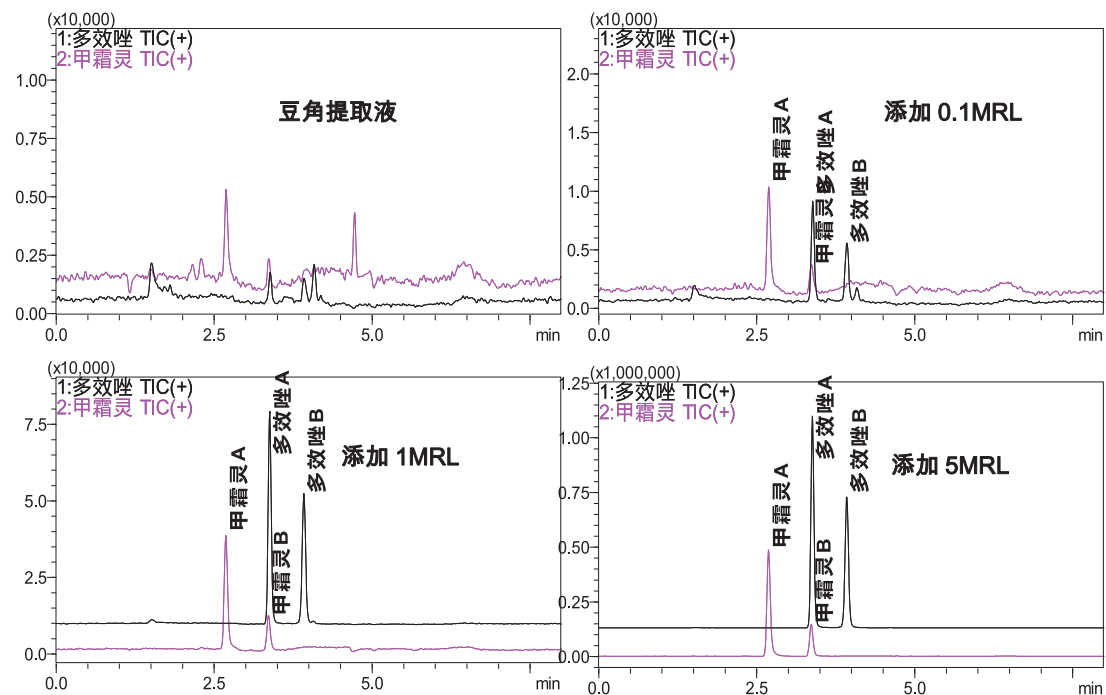


图4 豆角样品及样品加标色谱图 (MRL为0.05 mg/kg)

## ■ 结论

使用岛津 Nexera UC SFC-MS 手性拆分蔬菜中的两种三唑类手性农残，用 Chiralpak AD-H 手性分析柱进行分离，手性异构混合物得到了良好的分离。使用 QuEChERS 方法处理蔬菜样品中的两种三唑类手性农残，手性异构混合物依然分离良好。该方法简单、有效，可以满足蔬菜中两种三唑类手性农残的定性分析要求。