

豆芽中 4-氯苯氧乙酸钠、6-苄基腺嘌呤、2,4-滴的检测

LCMSMS-017

摘要： 本文建立使用超高效液相色谱仪与三重四极杆质谱仪联用快速检测豆芽中 4-氯苯氧乙酸钠、6-苄基腺嘌呤、2,4-滴的方法。样品经提取后，用超高效液相色谱分离，三重四极杆质谱仪进行定量分析。3种化合物在 1.5分钟内得到快速分离和检测。4种样品在 1~ 100 μg/L浓度范围内线性良好，标准曲线的相关系数均在 0.999以上；对 10 μg/L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相对标准偏差分别在 0.391%和 4.268%以下，系统精密度良好；对于豆芽中的 4-氯苯氧乙酸钠、6-苄基腺嘌呤、2,4-滴的检测，本方法均可满足标准限量要求。

关键词： 生长调节剂 豆芽 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

6-苄基腺嘌呤(6-benzylaminopurine, 6-BA)是一种人工合成的细胞分裂素，与植物内源激素具有相似的结构和性质，能够抑制植物叶内叶绿素、核酸和蛋白质分解，广泛用作无根豆芽的生长调节剂。4-氯苯氧乙酸钠(CPA-Na)，又称为促生灵，为国家标准允许使用的食品添加剂，广泛用于发制豆芽。2,4-滴为一种常用的除草剂，有毒。该药在大剂量下为除草剂，低剂量使用为植物生长调节剂，因此必须在规定的浓度范围内使用。如在豆芽发制过程超剂量使用以上物质，则会危害人体健康。例如，人体摄入过多 6-BA 会刺激皮肤黏膜，造成食道、胃黏膜损伤，出现恶心、呕吐等现象。目前，同时检测多种生长调节剂的方法报道较少，因此本文开发 LCMSMS 色谱质谱联用方法，同时检测以上 3 种生长调节剂，满足对豆芽中相关化合物进行快速检测的要求。

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
(2.0 mm I.D. × 50 mm L., 2.2 μm)

流动相：A – 水；B – 甲醇

流速：0.3 mL/min

进样体积：3 μL

柱温：40°C

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 80%，时间程序见表 1。

表1 梯度洗脱时间程序

| Time(min) | Module | Command | Value |
|-----------|------------|--------------|-------|
| 0.50 | Pumps | Pump B Conc. | 90 |
| 0.70 | Pumps | Pump B Conc. | 100 |
| 0.80 | Pumps | Pump B Conc. | 100 |
| 0.81 | Pumps | Pump B Conc. | 80 |
| 1.50 | Controller | Stop | |

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-8030 联用系统：LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A₅ 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8030 三重四极杆质谱仪，LabSolution Ver. 5.41 色谱工作站。

质谱条件

分析仪器: LCMS-8030

离子源: ESI(+), ESI(-)

离子源接口电压: 4.5kV, -3.5 kV

雾化气: 氮气 3.0 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: 1 ms

MRM 参数: 见表 2

表2 6-苄基腺嘌呤、4-氯苯氧乙酸钠及2,4-滴的MRM参数

| 编号 | 名称 | 前体离子 | 产物离子 | Q1 Pre Bias(V) | CE(V) | Q3 Pre Bias(V) |
|----|----------|--------|----------|----------------|-------|----------------|
| 1 | 6-苄基腺嘌呤 | 225.90 | 91.15 | -17.0 | -25.0 | -18.0 |
| | | | 65.10 * | -24 | -50 | -25 |
| 2 | 4-氯苯氧乙酸钠 | 184.90 | 127.20 | 19.0 | 15.0 | 26.0 |
| | | | 141.20 * | 18.0 | 15.0 | 15.0 |
| 3 | 2,4-滴 | 218.90 | 161.10 | 23.0 | 15.0 | 17.0 |
| | | | 124.85 * | 23.0 | 30.0 | 24.0 |

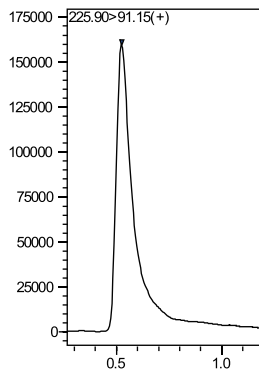
*表示定性离子

1.3 样品制备
标准溶液配制:

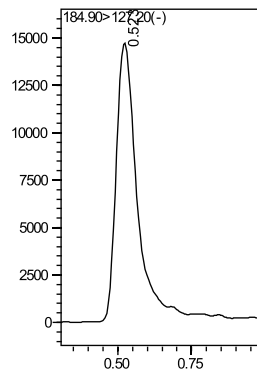
用甲醇配制 1 mg/L 的混合标准溶液, 用甲醇稀释成浓度为 1, 10, 100 µg/L 的标准工作液。

样品前处理方法:

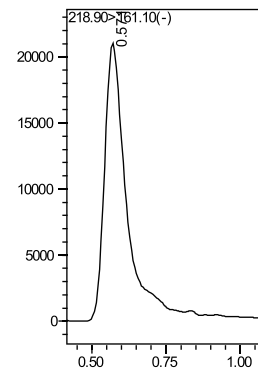
参考《DB11/T 379-2006 豆芽中 4-氯苯氧乙酸钠、6-苄基腺嘌呤、2,4-滴、赤霉素、福美双的测定》。本实验豆芽样品由用户提供。

结果讨论
2.1 标准样品的 MRM 色谱图


6-苄基腺嘌呤



4-氯苯氧乙酸钠



2,4-滴

2.2 线性关系

将浓度为 1, 10, 100 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准工作液按 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，绘制校准曲线如下图所示；所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。

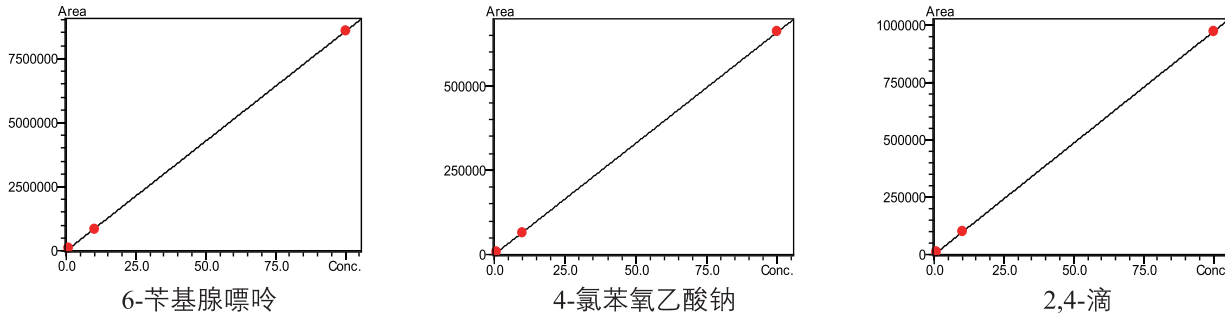


表3 6-苄基腺嘌呤、4-氯苯氧乙酸钠、2,4-滴的校准曲线参数

| No. | 名称 | 校准曲线 | 相关系数 r |
|-----|----------|------------------|--------|
| 1 | 6-苄基腺嘌呤 | $Y = (85607.9)X$ | 0.9999 |
| 2 | 4-氯苯氧乙酸钠 | $Y = (6605.55)X$ | 0.9998 |
| 3 | 2,4 - 滴 | $Y = (9741.88)X$ | 0.9999 |

2.3 精密度实验

对 10 $\mu\text{g/L}$ 混合标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示：10 $\mu\text{g/L}$ 标准品的峰面积和保留时间的相对标准偏差分别在 1.496%~3.860% 和 0.102%~0.583% 之间，仪器精密度良好。

表4 10 $\mu\text{g/L}$ 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

| 样品名称 | 模式 | R.T(min) | RSD% | RSD% |
|----------|----|----------|-------|-------|
| | | | R.T | Area |
| 6-苄基腺嘌呤 | + | 0.524 | 0.116 | 1.397 |
| 4-氯苯氧乙酸钠 | - | 0.526 | 0.283 | 4.268 |
| 2,4 - 滴 | - | 0.571 | 0.299 | 2.157 |

2.4 灵敏度实验

为考察方法的灵敏度，在豆芽空白基质中添加混合标样，配制 10 µg/L 的样品。通过 LabSolution 软件计算 10 µg/L 信噪比、仪器检测限 (3 倍噪声计算)，豆芽基质中 4-氯苯氧乙酸钠、6-苄基腺嘌呤、2,4-滴的信噪比 (10 µg/L)、检测限如表 5 所示。根据北京市地方标准《DB11/377-2006 豆芽安全卫生要求》中 3 种化合物的限量 (见表 5)，本方法完全满足此标准的检测要求。

表5 10 µg/L信噪比、检测限及限量要求

| 样品名称 | S/N | LOD (µg/L) | 限量要求 (mg/kg) |
|----------|--------|---------------|-----------------|
| 6-苄基腺嘌呤 | 105.55 | 0.25 | ≤0.2 |
| 4-氯苯氧乙酸钠 | 119.83 | 0.36 | ≤1 |
| 2,4-滴 | 92.61 | 0.28 | ≤0.1 |

结论

建立了使用超高效液相色谱仪和三重四极杆质谱仪联用测定豆芽中 4-氯苯氧乙酸钠、6-苄基腺嘌呤、2,4-滴的方法。该方法分析速度快，精密度良好；校准曲线在 1 ~ 100 µg/L 范围内的相关系数均在 0.9998 以上；对于豆芽中相关 3 种化合物的检测限，满足《DB11/377-2006 豆芽安全卫生要求》中的要求。