

# 三重四极杆质谱法快速痕量测定水果中的膨大剂

## LCMSMS-170

**摘要：**本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用快速准确测定水果中膨大剂的分析方法。样品经适当样品前处理后，用超高效液相色谱分离，三重四极杆质谱仪进行定性定量分析。膨大剂在 0.1~10 ng/mL 浓度范围内线性良好，相关系数为 0.9998，仪器检出限为 0.01 ng/mL，定量限为 0.04 ng/mL。实际样品加标浓度所得回收率范围为 102 %~112 %。

**关键词：**水果膨大剂超高效液相色谱仪三重四极杆质谱

氯吡苯脲是一种人工合成的植物生长调节剂，它主要用于促进细胞分裂、促进果实生长、促进细胞增大，有利于果实的增产，在国际上被广泛应用于农业园艺，包括葡萄、苹果、猕猴桃、西瓜等作物。但在我国，氯吡苯脲在水果生产上的应用，却经历了从“允许”到“禁止”的转变过程。目前，在国家已登记的激素目录中，找不到明确规定可在水果培育中使用的激素，这就意味着目前培育水果不能使用任何激素，当然意味着禁止使用氯吡苯脲。国家质量监督检验检疫总局早在 2011 年就发布了《关于食品添加剂对羟基苯甲酸丙酯等 33 种产品监管工作的公告》。公告中明确指出，包括氯吡苯

脲等 33 种产品，禁止作为食品添加剂出厂销售，食品生产企业禁止使用。添加含有氯吡苯脲的添加剂后，水果不仅产量会大为提高，生产周期也会大幅缩短，而且生产出来的水果更好销售。人们如果长期食用添加了氯吡苯脲的食品，对生理机能和内分泌系统都会造成损害，并面临致癌、致畸形等危险。

目前，检测氯吡苯脲目前没有出台相关标准，而且由于植物基质复杂，所以，寻找选择性好并且灵敏度高的分析方法非常迫切。本文建立岛津超高效液相色谱与三重四极杆串联质谱联用法痕量快速测定水果中的氯吡苯脲，该方法具有简便、快速、灵敏度高等特点。

## 实验部分

### 1.1 仪器和试剂

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×2 输液泵，DGU-20A<sub>5</sub> 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. 5.53 SP3 色谱工作站；

高速冷冻离心机（湘仪）；超声波振荡器（泰亚赛福）；匀质器（德国 IKA）；超纯水仪（密理博）；旋转蒸发器（EYELA）；

甲醇（色谱纯，上海安谱公司），氯吡苯脲（标准品，百灵威科技）；实验室用水均为超纯水，由 Milli-Q 纯水仪制得；水果购买自市场。

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统

色谱柱：Shim-pack XR-ODS III, 2.0 mm×75 mm L, 1.6 μm

流动相：A- 水，B- 甲醇

洗脱方式：梯度洗脱（见表 1）

流速：0.4 mL/min

进样体积：10 μL

柱温：40℃

#### 质谱条件

分析仪器：LCMS-8040

离子源：ESI，正离子扫描

离子源接口电压：4.5 kV

雾化气：氮气 2.0 L/min

干燥气：氮气 18.0 L/min

碰撞气：氩气

脱溶剂管温度：200℃

加热模块温度：450℃

扫描模式：多反应监测（MRM）

驻留时间：100 ms

延迟时间：3 ms

MRM 参数：见表 2

表 1. 梯度洗脱程序

Time (min)	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	10%
3.00	Pumps	Pump B Conc.	90%
3.10	Pumps	Pump B Conc.	10%
6.00	Controller	Stop	

表 2. MRM 优化参数

化合物名称	英文名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
氯吡苯脲	Forchlorfenuron	68157-60-8	248.0	129.0*	-16.0	-16.0	-24.0
			248.0	155.0	-16.0	-14.0	-17.0

\*表示定量离子

### 1.3 标准溶液配制

标准储备液：精密称取氯吡苯脲对照品 0.01 g 置于 10 mL 容量瓶中，加入甲醇溶解并定容至刻度即得标准储备液 1.0 mg/mL，于 -18°C 下保存。

标准中间液：取 100  $\mu$ L 氯吡苯脲标准储备液于 10 mL 容量瓶中用水稀释配制成浓度为 10  $\mu$ g/mL 的中间储备液。

标准工作液：用水稀释上述标准中间液，配成 5 个不同浓度的系列标准工作液，浓度分别为 0.1、0.5、1.0、5.5、10.0 ng/mL，采用外标法进行定量。

### 1.4 样品前处理方法

称取 2.0 g 事先粉碎好的水果样品（精确到 0.01 g），加入 10 mL 乙腈溶液，涡旋 30s，混匀，超声 15 min，加入 2 g 无水硫酸镁，涡旋混匀，以 10000 r/min 离心 5 min，移出上清液，45°C 旋转蒸发至近干，加入甲醇水溶液（3:7, v/v）溶解定容至 1.0 mL，用 0.22  $\mu$ m 滤膜于进样小瓶中，待 LC-MS/MS 测定。

## 结果讨论

### 2.1 标准样品一级质谱图和产物离子质谱扫描图

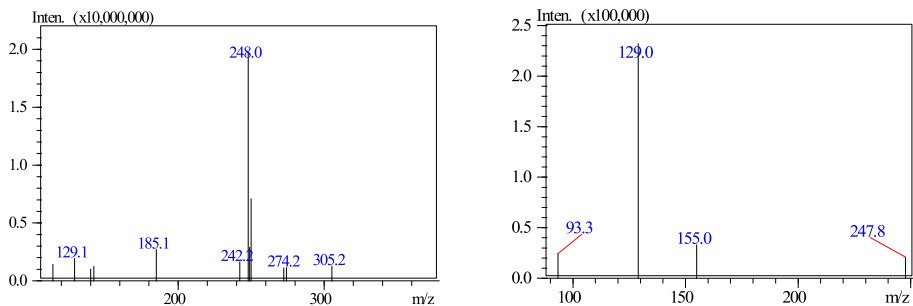


图 1. 氯吡苯脲的一级质谱图(左图)和产物离子质谱扫描图(CE值为 -20 V) (右图)

## 2.2 标准品的 MRM 色谱图

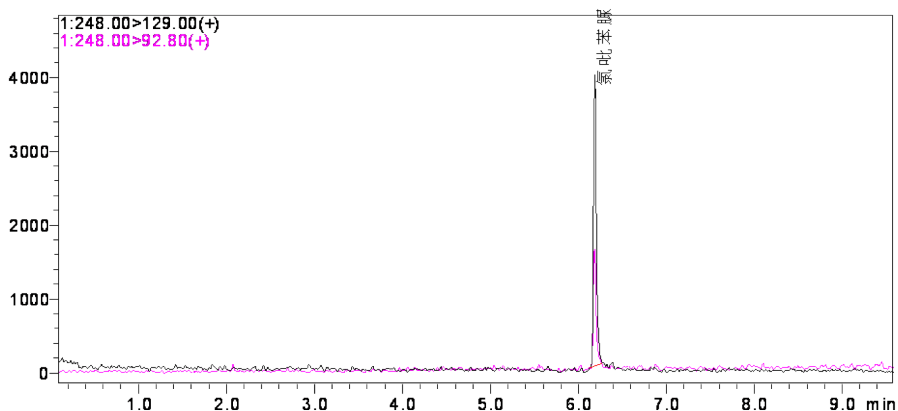


图2.氯吡苯脲0.5ng/mL的MRM色谱图

## 2.3 线性关系

将标准系列工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，以标准溶液浓度为横坐标，峰面积为纵坐标建立外标定量法，如图 3 所示，氯吡苯脲在 0.1~10 ng/mL 浓度范围内，线性相关性良好，相关系数为 0.9999，准确度在 86.1 %~106.3 % 之间(见表 3)。由 LabSolutions 软件算出信噪比，按照 3 倍信噪比和 10 倍信噪比分别作为仪器检出限和定量限结果，计算所得结果为氯吡苯脲仪器检出限为 0.01 ng/mL，定量限为 0.04 ng/mL。

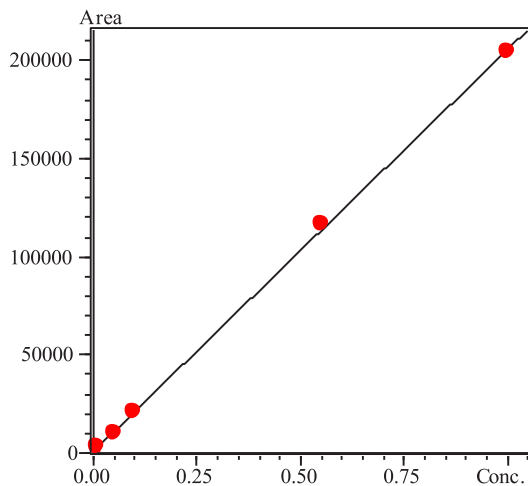


图 3. 氯吡苯脲的标准工作曲线

表 3. 氯吡苯脲的标准曲线信息

化合物名称	校准曲线	准确度范围	相关系数 (R)
氯吡苯脲	$Y = (205059)X + (671)$	92.2%~109.4%	0.9998

## 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(浓度见表 4)，平行测定 6 次，氯吡苯脲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 0.05 %~0.26 % 和 3.2 %~5.4 % 之间，结果表明系统具有良好的精密度。

表 4. 仪器精密度结果RSD% (n=6)

化合物名称	0.1 ng/mL		0.4 ng/mL		1.0 ng/mL	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
氯吡苯脲	0.05	3.60	0.26	5.40	0.09	3.91

## 2.5 基质加标实验

图 4、5 为市售猕猴桃按照 1.4 中样品制备方法所得样品和加标样品 MRM 检测色谱图。平行制备 3 组样品，检出含有氯吡苯脲含量为 0.076~0.084  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，加标浓度为 0.05  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，所得回收率范围为 102 %~112 % (见表 5)。

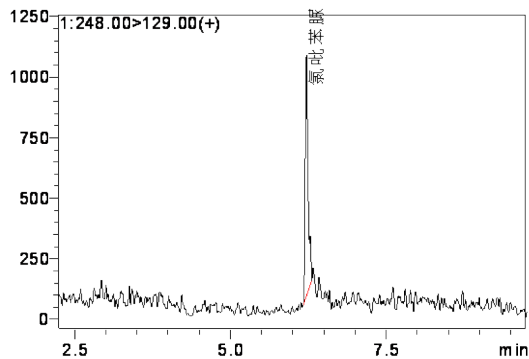


图4.市售水果MRM检测色谱图

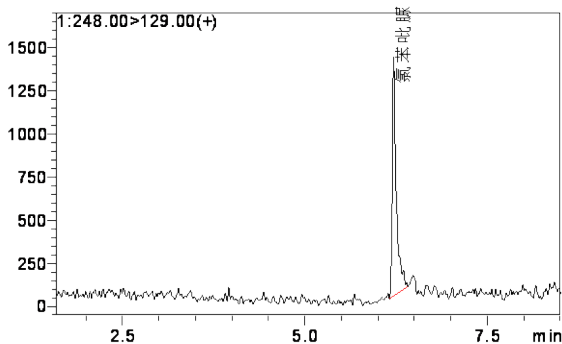


图5.水果加标 0.05 03  $\mu\text{g}/\text{kg}$  MRM 检测色谱图

表 5. 水果加标氯吡苯脲所得回收率结果 (n=3)

化合物名称	编号	样品检测浓度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	加标后检测浓度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	加标浓度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	回收率(%)
氯吡苯脲	1	0.0760	0.127	0.0501	102
	2	0.0840	0.140	0.0503	112
	3	0.0745	0.130	0.0499	111

## 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用快速痕量测定水果中氯吡苯脲的分析方法。膨大剂在 0.1~10  $\text{ng}/\text{mL}$  浓度范围内线性良好，相关系数为 0.9998，仪器检出限为 0.01  $\text{ng}/\text{mL}$ ，定量限为 0.04  $\text{ng}/\text{mL}$ 。实际样品加标浓度所得回收率范围为 102 %~112 %。实验结果表明使用岛津超高效液相色谱 LC-30A 和三重四极杆质谱 LCMS-8040 联用仪建立氯吡苯脲分析方法具有简便、快速、灵敏度高的特点，可以满足市场热点检测需求。