

UPLC/MS/MS 法测定番茄中盐酸吗啉胍残留量

邵辉, 张玉婷, 李辉, 刘磊, 李娜, 宋淑荣, 郭永泽*

(天津市农业科学院中心实验室, 天津 300381)

摘要: 采用三氯乙酸提取, HLB 固相萃取柱净化, 建立了番茄中盐酸吗啉胍残留量的 UPLC/MS/MS 测定方法。添加盐酸吗啉胍质量分数为 0.005、0.05 mg·kg⁻¹, 平均回收率分别为 77.7%和 86.7%, 相对标准偏差分别为 8.1%和 6.3%, 定量限为 0.005 mg·kg⁻¹。

关键词: UPLC/MS/MS; 番茄; 盐酸吗啉胍

中图分类号: X592

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2011)06-0978-04

Determination of moroxydine hydrochloride in tomato by UPLC/MS/MS

SHAO Hui, ZHANG Yu-ting, LI Hui, LIU Lei, LI Na, SONG Shu-rong, GUO Yong-ze

(Center Lab, Tianjin Academe of Agricultural Science, Tianjin 300381)

Abstract: An accurate UPLC/MS/MS method for the determination of moroxydine hydrochloride in tomato has been developed by extracting tomato sample with trichloroacetic acid, and then purifying with HLB solid-phase extraction column. Precision and accuracy were assessed by adding moroxydine hydrochloride into tomato at two concentration levels (0.005 and 0.05 mg·kg⁻¹) using five replicates at each level. The average recoveries of moroxydine hydrochloride were between 77.7% and 86.7% with the RSD between 8.1% and 6.3%, and the limit of detection was 0.005 mg·kg⁻¹.

Key words: determination; moroxydine hydrochloride; tomato; UPLC/MS/MS

盐酸吗啉胍, 英文名称为 moroxydine hydrochloride, 是一种广谱、低毒病毒防治剂, 稀释后的药液喷施到番茄叶面后, 可通过水气孔进入植物体内, 抑制或破坏核酸和脂蛋白的形成, 阻止病毒的复制过程, 从而起到防治番茄病毒病的作用。目前国内对于盐酸吗啉胍的测定研究大多是对药物样品^[1-5], 也有对于生物体液的研究^[6], 对于盐酸吗啉胍的残留测定研究仅见于动物组织中^[7], 但是未见有农产品中盐酸吗啉胍残留量测定方法报道。本研究建立了番茄中盐酸吗啉胍残留量 UPLC/MS/MS 测定法, 方法灵敏度高, 为研究盐酸吗啉胍的残留消解动态, 进而为盐酸吗啉胍的登记和合理使用提供技术支撑, 对保障食品安全具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 仪器设备 Waters Acquity Ultra Performance LC 超高效液相色谱仪, Waters Quattro Premier XE 三重四极杆质谱仪, 配电喷雾离子源 (ESI); 食品粉碎机; 固相萃取装置; 旋转蒸发器。

1.1.2 试剂 三氯乙酸、庚烷磺酸钠和冰乙酸, 均为分析纯; 甲醇、乙腈为色谱纯; 水为超纯水。

Oasis HLB 固相萃取柱 (Waters 公司, 3 mL, 60 mg)。

盐酸吗啉胍标准样品: 纯度为 98.0%。

10 mmol·L⁻¹ 庚烷磺酸钠溶液配制方法: 称取 0.202 g 庚烷磺酸钠, 用体积分数为 0.1%的乙酸溶液溶解并定容至 100 mL。

收稿日期: 2011-04-11

作者简介: 邵辉, 男, 助理研究员。E-mail: shaohui61499223@126.com

* 通讯作者: 郭永泽, 男, 副研究员。E-mail: guoyz1971@126.com

1.2 样品前处理

称样 10 g, 加 50 g·L⁻¹ 三氯乙酸溶液 25 mL, 振荡 30 min, 过滤, 滤液中加 10 mmol·L⁻¹ 庚烷磺酸钠溶液 25 mL, 振荡 1 min 混匀, 加蒸馏水定容至 60 mL, 混匀。

Oasis HLB 柱 (3 mL, 60 mg) 使用前分别加 3 mL 甲醇和 3 mL 水平衡, 保持湿润, 取 5 mL 样品溶液过柱, 待全部通过后, 用 3 mL 甲醇/水 (5/95, V/V) 淋洗柱, 弃去, 抽干柱, 用 3 mL 甲醇洗脱, 收集浓缩至干, 用甲醇定容 2 mL, 过 0.22 μm 滤膜待测。

1.3 仪器条件

色谱柱: Acquity BEH C18(2.1 mm×50 mm, 1.7

μm); 柱温: 30℃; 进样量: 5 μL; 流动相: 乙腈/水(V/V, 90/10); 流速: 0.5 mL·min⁻¹, 运行时间: 3 min。

离子源: ESI(+); 毛细管电压: 3.0 kV; 离子源温度: 110℃; 脱溶剂气温度: 400℃; 锥孔反吹气流量: 50 L·h⁻¹; 脱溶剂气流量: 550 L·h⁻¹; 检测方式: 多反应监测扫描模式 (MRM) (见表 1)。

1.4 定性

进行样品测定时, 如果检出的色谱峰的保留时间与标准品的保留时间一致, 并且在扣除背景后样品质谱图中, 所选择的离子均出现且丰度比与标准品的离子丰度比一致, 则可判断样品中存在这种农药化合物。

表 1 多反应监测表

Table 1 Multiple reaction monitor

母离子(m/z) Precursor ion	子离子(m/z) Daughter ion	锥孔电压/V Cone voltage	碰撞电压/V Collision voltage
172	112.6*	25	20
172	84.5	25	17

* 为定量离子 Quota ion.

1.5 定量

以外标准曲线法定量, 为减小基质效应对定量准确性的影响, 采用基质匹配工作溶液做标准曲线, 并且保证所测化合物响应在仪器线性范围之内。

残留量计算公式如下:

$$R = \frac{C \times V}{W} \times 12$$

公式中: R —样品中农药残留量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), C —根据标准曲线计算的农药浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), V —样品溶液定容体积 (mL), W —称样重量 (g), 12—稀释倍数。

2 结果与分析

2.1 母离子、锥孔电压、子离子、碰撞电压及定量子离子的选择

以注射标准样品的方式在 ESI 正离子模式下进行母离子全扫描, 确定盐酸吗啡的母离子为 m/z 172, 并且对锥孔电压进行了优化, 发现在 25 V 下母离子响应最大。接下来对母离子 m/z 172 施加碰撞电压进行子离子扫描, 发现 m/z 112.6 和 m/z 84.5 是响应较大且比较稳定的 2 个, 因此将其确定为定性定量的子离子。再对 m/z 112.6 和 m/z 84.5 两个子离子进行碰撞电压的优化, 发现在 20 V 的电压下, 子离子 m/z 112.6 的丰度较其它电压下大; 在

17 V 的电压下, 子离子 m/z 84.5 的丰度较其它电压下大, 因此将 20 V 和 17 V 分别作为 2 个通道的碰撞电压。通过比较, 发现子离子 m/z 112.6 的灵敏度比 m/z 84.5 高, 因此确定子离子 m/z 112.6 为定量子离子。

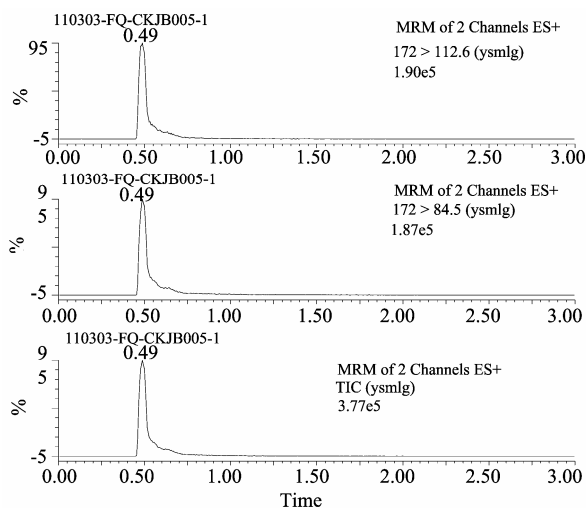


图 1 标样

Figure 1 Chromatogram of the standard

2.2 方法的专一性

采用多反应监测 (MRM) 扫描模式, 1 个母离子生成 2 个子离子的反应在定性上可以达到欧盟委

员会指令 96/23/EC 和 2002/657/EC 对在农药和兽药残留分析中以质谱作为确认方法所要求达到的标准。液相色谱测定法如初步检出为阳性结果，尚需用质谱或其他手段进一步确证，而本方法对目标化合物和杂质有良好区分能力，一步完成，高效准确。

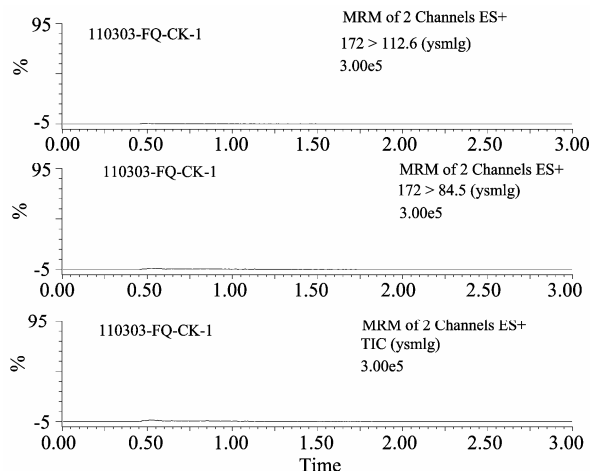


图 2 番茄对照
Figure 2 Chromatogram of tomato

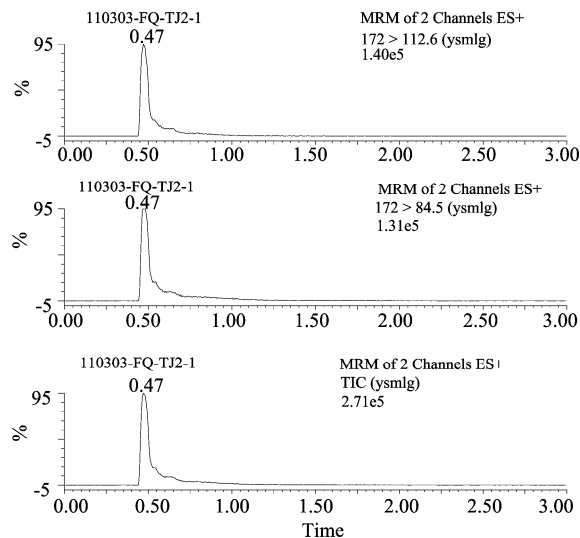


图 3 番茄添加 0.005 mg·kg⁻¹
Figure 3 Chromatogram of tomato fortified with standard at 0.005 mg·kg⁻¹

图 1、图 2 和图 3 中，每个图最上面为母离子 m/z 172 碰撞后产生的子离子 m/z 112.6 的图；中间为母离子 m/z 172 碰撞后产生的子离子 m/z 84.5 的图；下面为两个子离子的总离子流图。从图 1、图 2 和图 3 可以看出没有杂质干扰目标化合物的定性定量。

2.3 标准曲线线性关系分析

以基质空白溶液配制盐酸吗啡瓜标准样品系列质量浓度 0.1、0.02、0.01、0.002、0.001 mg·L⁻¹，以质量浓度为横坐标，峰面积为纵坐标做标准曲线，得线性方程为 $y = 8\,440\,649.156\,0x - 9\,028.867\,6$ ， $r = 0.999\,5$ ，可见在 0.001~0.1 mg·L⁻¹，线性关系良好，见图 4。

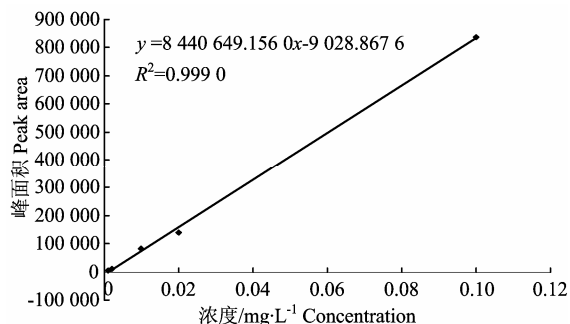


图 4 盐酸吗啡瓜标准曲线
Figure 4 Curve of moroxydine hydrochloride

2.4 方法的检出限

根据实测，本方法盐酸吗啡瓜的定量限为 0.005 mg·kg⁻¹。

2.5 方法的平均回收率和相对标准偏差

目前我国和联合食品法典委员会 (CAC) 等国内外国家和组织均没有规定番茄中盐酸吗啡瓜的 MRL，也没有规定在其他农产品中的 MRL，因此方法添加质量分数为盐酸吗啡瓜的方法检出限和 10 倍检出限，分别为 0.005 和 0.05 mg/kg。平均回收率和相对标准偏差均满足农药残留分析对准确度和精密度的要求 (见表 2)。

表 2 方法的平均回收率和相对标准偏差
Table 2 Recoveries and relative standard deviations (RSDs)

添加质量分数/mg·kg ⁻¹ Fortified concentrations	回收率/% Recoveries					平均回收率/% Average recoveries	相对标准偏差/% RSDs
0.005	71.9	81.5	86.3	76.7	71.9	77.7	8.1
0.05	79.6	82.5	88.2	92.6	90.6	86.7	6.3

3 结论

本方法检出限低、杂质干扰小, 集准确性与定量于一体, 前处理操作简单, 在实际样品测定中准确高效。

参考文献:

- [1] 周小露, 何勇虎, 伍思强. 治感佳片中乙酰氨基酚和盐酸吗啉胍的含量测定[J]. 中国药业, 2008, 17(24): 24.
- [2] 吕海华, 陈军. HPLC 法同时测定感冒清胶囊中 3 组分的含量[J]. 安徽医药, 2007, 11(8): 708-709.
- [3] 苗爱东, 王本富, 冯冰, 等. 盐酸吗啉胍片的 HPLC 测定[J]. 中国医药工业杂志, 1997, 28(10): 460-461.
- [4] 朱定芳, 黄均涛. HPLC 法测定吗啉胍滴眼液中盐酸吗啉胍含量[J]. 广东药学, 2000, 10(5): 19-20.
- [5] 罗凤琴, 张锦, 刘韵琪. 紫外分光光度法测定盐酸吗啉胍片的含量[J]. 川北医学院学报, 2003, 18(3): 93-95.
- [6] Vessman J, Johansson M, Gröningsson K. Determination of moroxydine in biological fluids by electron-capture gas chromatography [J]. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 1982, 229(1): 227-233
- [7] 祝伟霞, 杨冀州, 魏蔚, 等. 动物组织中盐酸吗啉胍残留的高效液相色谱-串联质谱测定[J]. 分析测试学报, 2008, 27(4): 437-439.

本刊外聘编委 岳永德教授

1978 - 1981 就读于浙江农业大学, 获农药残留与环境毒理方向硕士学位; 1985 年 11 月 - 1988 年 2 月在德国 Fraunhofer 环境化学和生态毒理学研究所及霍恩海姆大学植物医学系, 访问学者, 从事农药残留及环境毒理研究; 1993 年 3 - 10 月在德国萨尔兰大学生物化学和药物化学系, 高级访问学者, 从事农药代谢降解研究。1994-2003 年任安徽农业大学副校长, 2003 年 8 月调任国家林业局国际竹藤网络中心常务副主任。

兼任国家科技部“食品安全重大科技专项”专家组成员, 国家竹藤标准化委员会副主任委员, “茶叶生物技术”国家重点开放实验室学术委员会副主任, 享受国务院特殊专家津贴。

曾主持完成多项国家和省部级农药残留分析、典型环境污染物转归和农药安全使用标准研究课题。包括国家自然科学基金项目 3 项, 国家攀登计划子课题 1 项, 安徽省“九·五”、“十·五”攻关项目、安徽省自然科学基金等项目多项。近年主持了国家十五重大科技专项“农药残留检测技术”子项目 2 项, 国家 863 项目子项目 1 项。主编全国统编教材《农药残留分析》、《环境保护学》以及《茶叶农药残留与控制》、《有害生物综合治理与展望》、《农药残留研究进展》等著作。发表研究论文 100 余篇, 其中 SCI 收录 9 篇。曾获安徽省首届青年科技奖, 获省部级科技进步二等奖 2 项、自然科学三等奖 1 项和科技进步三等奖 2 项。