

实验技术与方法

QuEChERS 结合气相色谱-串联质谱法测定水果中 5 种植物生长调节剂

薛荣旋, 黄诚, 刘国平, 欧阳珮珮, 卢丽明, 林胜军

(中山市疾病预防控制中心, 广东 中山 528403)

摘要:目的 通过优化前处理方法和气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)仪器参数,建立 QuEChERS 结合 GC-MS/MS 法同时测定 4 种水果中 4-氯苯氧乙酸、2,4-二氯苯氧乙酸、茶乙酸、吲哚乙酸、吲哚丁酸 5 种植物生长调节剂残留量的分析方法。方法 苹果、橘子、香蕉、葡萄样品经二氯甲烷提取,加入三氟化硼甲醇溶液后选用乙二胺-*N*-丙基硅烷(PSA)+C18 进行净化,加温衍生后,采用 GC-MS/MS 法对 5 种植物生长调节剂进行定性、定量分析。结果 采用改进的 QuEChERS 前处理方法,5 种植物生长调节剂在 10.00~1 000 $\mu\text{g/L}$ 浓度之间线性良好($r \geq 0.999$),在 10.0~200 $\mu\text{g/kg}$ 添加水平下,方法的回收率在 63.4%~107% 之间,相对标准偏差在 0.480%~14.8% 之间。结论 该方法快速、准确,结合 GC-MS/MS 法能满足水果中 5 种植物生长调节剂残留的检测分析要求。

关键词: QuEChERS; 气相色谱-串联质谱; 植物生长调节剂; 水果; 农药残留; 检测

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2017)05-0561-06

DOI: 10.13590/j.cjfh.2017.05.008

Determination of five plant growth regulators in fruits by QuEChERS with gas chromatography-tandem mass spectrometry

XUE Rong-xuan, HUANG Cheng, LIU Guo-ping, OUYANG Pei-pei, LU Li-ming, LIN Sheng-jun
(Zhongshan Center for Disease Control and Prevention, Guangdong Zhongshan 528403, China)

Abstract: Objective To establish a method for the determination of 4-chlorophenoxyacetic acid, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, naphthylacetic acid, indole acetic acid and indolybutyric acid in fruits by QuEChERS with gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). **Methods** Five plant growth regulators in fruits were extracted by methylene chloride, purified by QuEChERS, and were identified and quantified by GC-MS/MS after derivatization from the purified samples. **Results** The linear correlation coefficients of each linear regression equation for the five plant growth regulators were over 0.999 and the relative standard deviations ($n=6$) were between 0.480% and 14.8%. The recoveries of the method were between 63.4% and 107% at the spiked levels of 10.0-200 $\mu\text{g/kg}$. **Conclusion** The method was rapid and accurate, and could meet the requirement for the detection of the five kinds of plant growth regulators in fruits.

Key words: QuEChERS; gas chromatography-tandem mass spectrometry; plant growth regulators; fruits; pesticide residues; test

植物生长调节剂是一类通过调控植物的生理过程,达到稳产增产、改善农作物品质、增强作物抗逆性等性质的有机物质,在实际的农业生产中已被广泛应用。当前,现有的植物生长调节剂检测方法包括气相色谱法、液相色谱法、气相色谱-质谱法、气相色谱-串联质谱法、液相色谱-质谱法、高效液相色谱-串联质谱法等,但前面两种方法存在灵敏度不够、前处理繁琐等问题。气相色谱法与液相色谱法大部分报道应用于单一组分的检测,如乙烯利^[1]、2,4-二氯苯氧乙酸^[2]、赤霉素^[3]、多效唑^[4]等。液相色谱法与气相色

谱法比较,样品前处理较为简单,但检出限仍不能与质谱仪相比较。随着质谱技术的成熟和发展,气相色谱-质谱和高效液相色谱-串联质谱技术也同样在植物生长调节剂的检测中发挥着重要作用^[5-7]。

QuEChERS 法是近年来农产品检测的快速样品前处理技术,利用吸附剂填料与基质中的杂质相互作用,从而达到除杂净化的目的。周纯洁等^[8]建立了 QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法同时测定蔬菜中 6 种植物生长调节剂残留量的检测方法;但关于 QuEChERS 与气相色谱-串联质谱的报道相对较少,徐宜宏等^[9]报道了关于苹果、番茄、玉米中莠去津、甲萘威、三唑酮、西玛津、戊唑醇、烯效唑、多效唑 7 种植物生长调节剂气相色谱-串联质谱检测方法,其主要的净化方法为乙二胺-*N*-丙基硅烷(PSA)粉末和石墨

收稿日期: 2017-06-01

作者简介: 薛荣旋 女 主管技师 研究方向为食品卫生检验

E-mail: 121759896@qq.com

化碳黑粉末结合;高强^[10]建立了关于豆芽中多组分植物生长调节剂残留的质谱检测,其气相色谱-质谱法检测的净化方式为MCS固相萃取。

本试验通过优化样品提取、净化条件和仪器条件,建立应用改进QuEChERS法结合气相色谱-串联质谱法检测水果中4-氯苯氧乙酸、2,4-二氯苯氧乙酸、萘乙酸、吲哚乙酸和吲哚丁酸5种植物生长调节剂的分析方法。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

Trace Ultra GC/XLS气相色谱-串联质谱仪(美国Thermo)、超声波清洗器、振荡器、漩涡混匀器、水浴箱、氮吹仪、分析天平。

4-氯苯氧乙酸(CAS:122-88-3)、2,4-二氯苯氧乙酸(CAS:94-75-7)、萘乙酸(CAS:86-87-3)、吲哚乙酸(CAS:87-51-4)和吲哚丁酸(CAS:133-32-4)标准品,纯度均为99.0%,均购自德国Dr Ehrenstorfer GmbH;二氯甲烷、无水硫酸钠、甲醇均为分析纯,三氟化硼甲醇溶液(13%~15%),正己烷、乙酸乙酯均为色谱纯;乙酸乙酯-正己烷(2:8,V/V):吸取2.00 ml乙酸乙酯和8.00 ml正己烷混匀;三氟化硼甲醇溶液:吸取1 ml三氟化硼甲醇溶液(13%~15%)和9 ml甲醇混合而成,现配现用。Cleanert PSA、Cleanert C18均购自博纳艾杰尔科技公司。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液的制备

5种植物生长调节剂混合贮备液(1.00 mg/ml):分别称取10.1 mg(精确至0.000 1 g,折算为100%含量)上述5种植物生长调节剂标准品,用甲醇分别溶解并定容至10 ml,4℃保存。

1.00 mg/L植物生长调节剂混合标准应用液:各吸取1.00 mg/ml植物生长调节剂贮备液50 μl,用甲醇定容至50 ml,4℃保存。

1.2.2 样品的制备

取苹果(去柄)、橘子、香蕉、葡萄样品1 kg左右,置搅拌机中全果搅碎,转至500 ml聚乙烯塑料瓶中冷藏保存。

1.2.3 样品的提取

称取水果样品5.0 g,用20~40 g无水硫酸钠研磨至干粉状,倒入碘量瓶中,加入30 ml二氯甲烷,振摇30 min后全量移取上清液,再加入30 ml二氯甲烷重复提取一次,合并上清液后40℃氮吹至近干,在氮吹瓶内加入1.00 ml甲醇超声复溶,待衍生处理。

1.2.4 衍生化和净化

在已加入甲醇复溶后的氮吹瓶中加入1 ml三

氟化硼甲醇衍生溶液,涡旋混匀后加入净化剂(50 mg PSA + 50 mg C18),涡旋混匀,然后放置恒温水浴箱中,以70℃衍生30 min。冷却后,迅速加入2 ml超纯水和1.00 ml乙酸乙酯-正己烷(2:8,V/V)溶液,经涡旋混匀后静置30 min,取上层有机相过0.22 μm滤膜后上机检测。

1.2.5 仪器条件

色谱:DB-5MS毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm,0.25 μm);进样口温度250℃;升温程序:80℃保持1 min,以10℃/min速率升至250℃,以20℃/min速率升至300℃,保持4 min;载气:氦气,纯度≥99.999%,流速1.5 ml/min;进样量1 μl;电离方式:电子轰击电离(EI)源,70 eV;传输线280℃;离子源温度250℃;进样方式:不分流进样。

质谱:5种植物生长调节剂的质谱参数见表1。

表1 5种植物生长调节剂的质谱参数
Table 1 Mass spectrometric parameters of five plant growth regulators

化合物	保留时间/min	分段采集时间/min	母离子/(m/z)	子离子1/(m/z)	子离子2/(m/z)
4-氯苯氧乙酸	9.45	8.45~10.45	200.04	140.61*	199.73
2,4-二氯苯氧乙酸	11.21	10.71~11.71	199.03	156.85*	198.54
萘乙酸	11.97	11.47~12.47	141.05	114.66*	140.66
吲哚乙酸	13.21	12.71~13.71	130.02	129.41*	102.53
吲哚丁酸	15.22	14.72~15.72	130.03	129.60*	—
			217.11	129.72	—

注:*为定量离子;—为该物质一个母离子配对一个子离子

2 结果与分析

2.1 QuEChERS体系的选择

QuEChERS净化剂可直接作用于提取液中,选择性地保留基质干扰成分而达到净化的目的。C18主要用于去除基质中的脂类等非极性干扰物;PSA主要用于吸附基质中的有机酸和脂肪酸。由于4-氯苯氧乙酸、2,4-二氯苯氧乙酸、萘乙酸、吲哚乙酸、吲哚丁酸均含有羧基官能团,而PSA(N-丙基乙二胺)的官能团含有两个氨基,在加入衍生剂前加入可能会对目标物产生吸附作用。本试验主要考察改良后的QuEChERS体系对5种植物生长调节剂的影响,方案主要内容包括在苹果、橘子、香蕉、葡萄4种水果中添加3种浓度水平的化合物,测定3种QuEChERS组合的加入方式对5种植物生长调节剂的影响——以平均回收率计算。5种植物生长调节剂在加入三氟化硼衍生剂后,在室温下会缓慢发生衍生反应,因此在试验中均选择加入衍生剂后再净化,避免直接加入PSA后可能会吸附目标物。第一种方式为在加温衍生化后加入50 mg PSA对样品进

行净化;第二种方式为加入三氟化硼甲醇衍生溶液后再加入 50 mg PSA + 50 mg C18 进行净化,然后加温进行进一步衍生;第三种方式为在加温衍生化后加入 50 mg PSA + 50 mg C18 对样品进行净化。结果显示第一种方式加入净化体系后,方法的平均回收率在 44.0% ~ 101% 之间,第二种方式加入净化体系后,方法的平均回收率在 61.4% ~ 107% 之间,第三种方式加入净化体系后,方法的平均回收率在

49.1% ~ 109% 之间。从图 1 ~ 4 的结果可见,以第二种方式处理,5 种植物生长调节剂的回收率均大于其他方式;第一种方式与第三种方式比较,第一种方式处理后目标物的加标回收率较好,可能在衍生后加入 C18,会对试验生成的衍生物有部分吸附;因此本试验的 QuEChERS 体系采用在加入三氟化硼甲醇溶液后再加入 50 mg PSA + 50 mg C18 进行净化,然后再加温衍生。

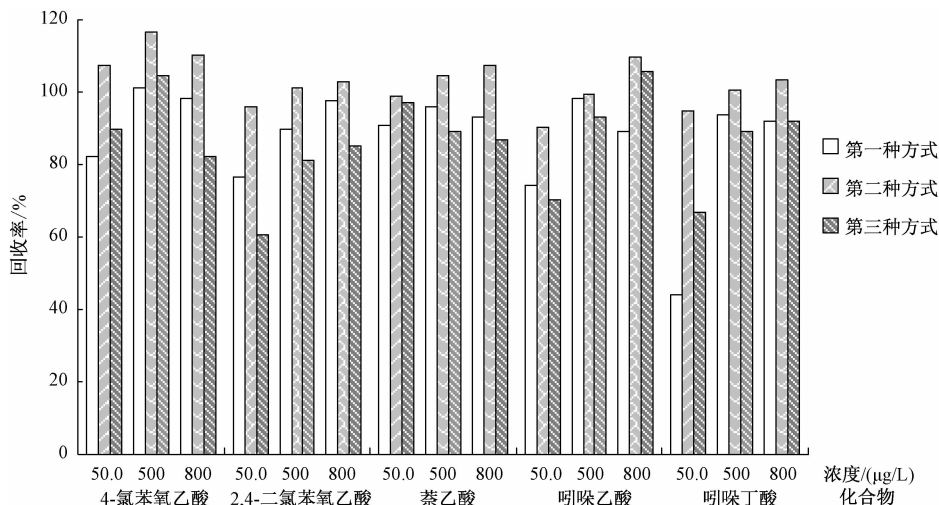


图 1 3 种净化剂加入方式对苹果中 5 种植物生长调节剂的影响

Figure 1 Effect of 3 kinds of detergent addition methods on 5 plant growth regulators in apples

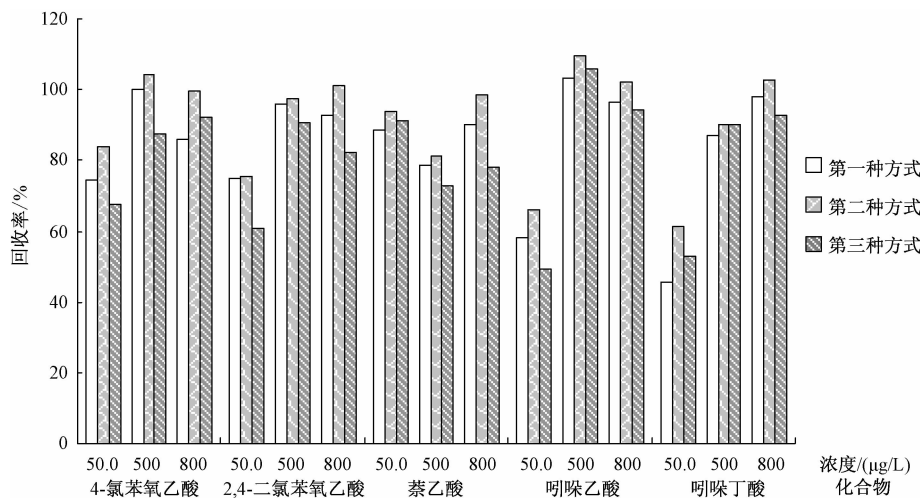


图 2 3 种净化剂加入方式对橘子中 5 种植物生长调节剂的影响

Figure 2 Effect of 3 kinds of detergent addition methods on 5 plant growth regulators in oranges

2.2 色谱柱的选择

试验对比了非极性 TR PESTICIDE II 色谱柱 (30 m × 0.25 mm, 0.25 µm) 和 DB-5MS 色谱柱 [30 m × 0.25 mm, 0.25 µm, (5% - 苯基) - 95% 二甲基聚硅氧烷] 对待测物的分离效果。结果显示,5 种植物生长调节剂均分离良好,但在 TR PESTICIDE II 色谱柱 5 种植物生长调节剂均有拖尾现象,因此选择了 DB-5MS 色谱柱来分析待测物。

2.3 质谱条件参数的选择

试验过程中,先选用单针进样的方式对标准品

进行全扫描,选出母离子和相对应的保留时间;通过优化碰撞能量,根据数据结果选择最佳的碰撞能量,得到最佳子离子灵敏度;最后采用高选择性反应监测 (H-SRM) 对 5 种植物生长调节剂进行监测,5 种植物生长调节剂的 SRM 色谱图见图 5,质谱分析参数见表 1。

2.4 方法的线性方程、检出限、定量限和加标回收率

根据建立的试验方法,选取水果空白基质配制 5 种植物生长调节剂的混合标准溶液,在 10.00 ~

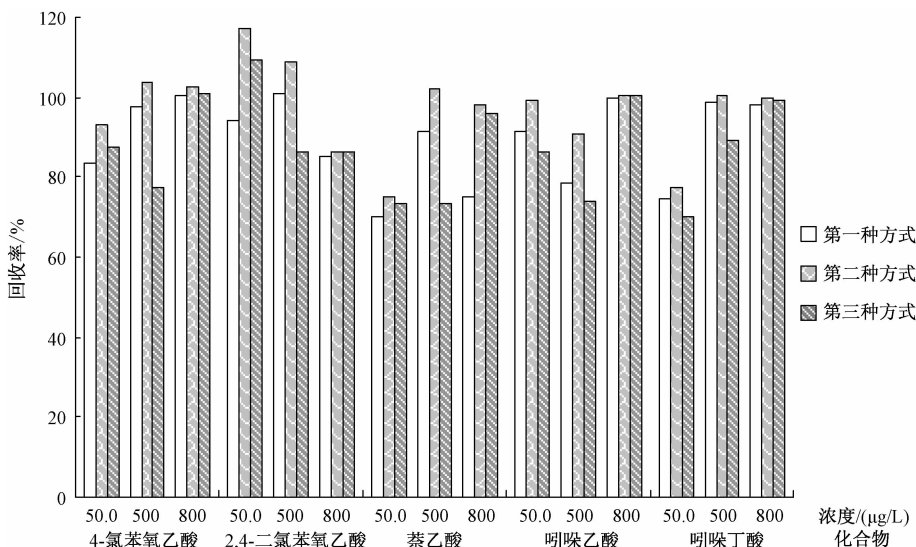


图3 3种净化剂加入方式对香蕉中5种植物生长调节剂的影响

Figure 3 Effect of adding 3 kinds of cleaning agents on 5 plant growth regulators in bananas

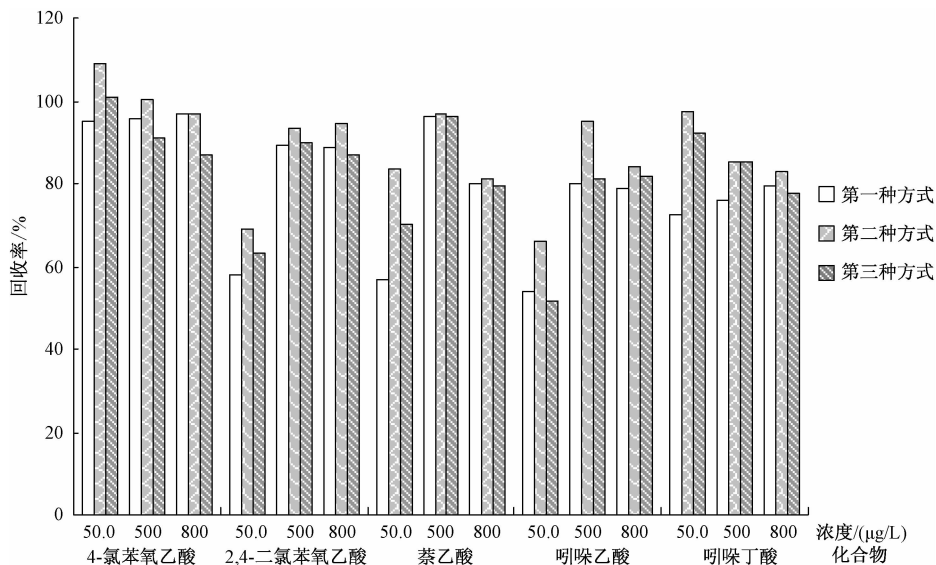
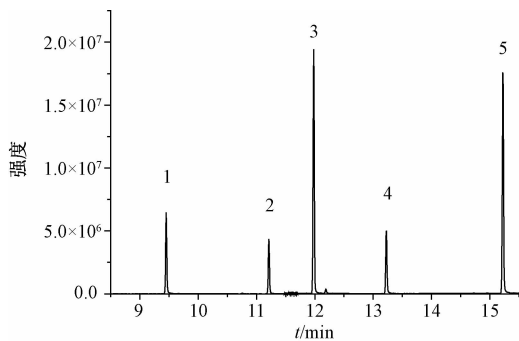


图4 3种净化剂加入方式对葡萄中5种植物生长调节剂的影响

Figure 4 Effect of 3 kinds of detergent addition methods on 5 plant growth regulators in grapes



注:1:4-氯苯氧乙酸;2:2,4-二氯苯氧乙酸;
3:萘乙酸;4:吲哚乙酸;5:吲哚丁酸

图5 5种植物生长调节剂 H-SRM 总离子流图(500 µg/L)
Figure 5 Total ion flow diagram of 5 plant growth regulators with high selective reaction sacn

1 000 µg/L 范围内呈良好线性关系,线性相关系数 (r) 均 > 0.999。以三倍信噪比 ($S/N = 3$) 计算得到 5 种植物生长调节剂的检出限,以十倍信噪比 ($S/N = 10$) 计算得到 5 种植物生长调节剂的定量限,见表 2。

表 2 5 种植物生长调节剂的检出限和定量限

Table 2 Detection limits and quantitative limits of 5 plant growth regulators in four fruit

化合物	线性范围 /(µg/L)	检出限 /(µg/kg)	定量限 /(µg/kg)
4-氯苯氧乙酸	10.00 ~ 1 000	1.0	3.0
2,4-二氯苯氧乙酸	10.00 ~ 1 000	2.0	6.0
萘乙酸	10.00 ~ 1 000	0.2	0.6
吲哚乙酸	10.00 ~ 1 000	2.0	6.0
吲哚丁酸	10.00 ~ 1 000	0.5	1.5

选取空白基质,采用标准加入法,测定 5 种植物生长调节剂的回收率及精密度,见表 3。5 种植物生长调节剂的添加水平为 0.010、0.100 和 0.200 mg/kg,结果

表明,5 种植物生长调节剂的回收率在 63.4% ~ 107% 之间, RSD 在 0.480% ~ 14.8% 之间,其精密度和准确度均符合检测方法确认的技术要求。

表 3 3 种浓度中 5 种植物生长调节剂的回收率 (n = 6)

Table 3 Recoveries of 5 plant growth regulators in 3 concentrations

水果	浓度 (mg/kg)	4-氯苯氧乙酸		2,4-二氯苯氧乙酸		萘乙酸		吲哚乙酸		吲哚丁酸	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
苹果	0.010	93.1	13.7	83.0	13.7	95.6	4.35	78.3	13.3	83.3	12.0
	0.100	107	7.45	90.7	11.3	96.4	7.98	96.8	3.28	94.5	6.11
	0.200	99.7	9.73	95.2	9.52	95.7	10.8	102	10.9	95.8	7.05
橘子	0.010	75.3	10.8	70.3	11.8	91.0	2.93	67.8	14.8	63.4	14.7
	0.100	97.2	8.90	94.6	3.66	77.6	5.45	106	2.85	89.3	2.12
	0.200	92.5	7.47	91.9	10.3	89.1	11.6	97.6	4.13	97.7	5.11
香蕉	0.010	88.1	5.45	107	11.1	72.9	3.37	92.4	6.94	73.9	4.86
	0.100	99.4	3.81	98.6	11.4	95.7	5.89	81.1	10.6	96.1	6.10
	0.200	101	1.35	85.9	0.877	89.6	14.4	100	0.525	99.1	0.960
葡萄	0.010	102	6.82	63.5	8.75	74.7	10.5	67.3	6.06	87.3	14.8
	0.100	95.7	4.88	90.9	2.46	96.3	0.480	85.5	9.86	82.2	6.54
	0.200	93.7	6.02	90.1	4.42	80.2	0.937	81.5	3.51	80.0	3.33

2.5 样品分析

从中山市水果市场采集香蕉、苹果、葡萄、橘子 4 种水果各 6 份进行分析,结果显示有两份香蕉检

出 4-氯苯氧乙酸和吲哚乙酸(见图 6、7),含量为 0.005 和 0.002 mg/kg;其他均未检出。

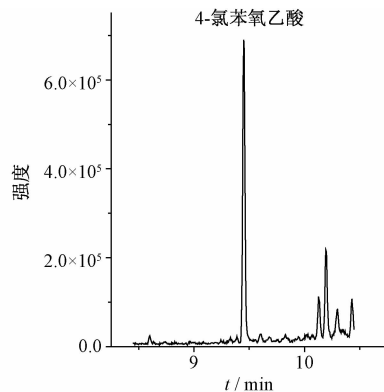
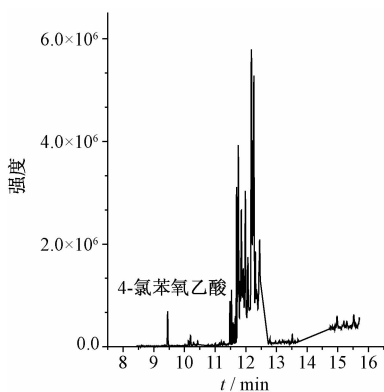


图 6 香蕉阳性样品的总离子流图和提取 4-氯苯氧乙酸离子色谱图

Figure 6 Total ion flow diagram of the positive banana sample and the selected ions chromatograms of 4-CPA

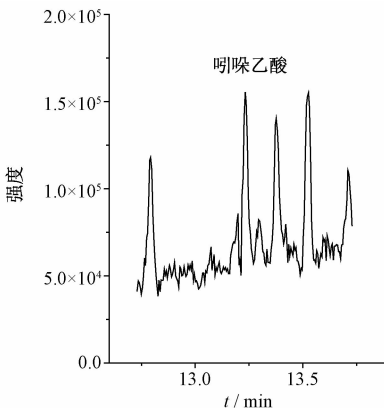
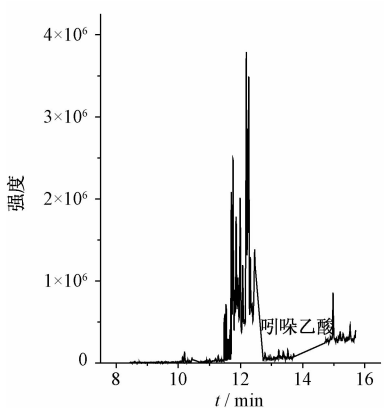


图 7 香蕉阳性样品的总离子流图和提取吲哚乙酸离子色谱图

Figure 7 Total ion flow diagram of the positive banana sample and the selected ions chromatograms of IAA

3 小结

通过对样品前处理和仪器分析条件进行优化,建立了二氯甲烷提取,QuEChERS萃取净化,同时测定水果中5种水果植物生长调节剂的气相色谱-串联质谱检测方法,5种植物生长调节剂的回收率和线性关系良好,能够满足水果中的植物生长调节剂的残留量检测分析。

参考文献

- [1] 李晓娜,刘龙腾,陈钟,等. 气相色谱法测定番茄中乙烯利的残留量[J]. 农药科学与管理,2013,34(6):32-35.
- [2] 陈友清,冯先桔. 衍生化气相色谱法测定柑橘果实中的2,4-二氯苯氧乙酸[J]. 浙江柑橘,2003,20(1):43-45.
- [3] 雷静,许立兴,崔新仪,等. 高效液相色谱法测定马铃薯中GA3含量[J]. 保鲜与加工,2016,16(4):123-127.
- [4] 谭莹,倪竹南,汤磊,等. 果蔬中多效唑的高效液相色谱快速

- 检测方法[J]. 中国卫生检验杂志,2014,24(23):3361-3365.
- [5] 闫震,聂继云,徐国锋,等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测水果中6种植物生长调节剂[J]. 园艺学报,2016,43(1):175-182.
- [6] 刘思洁,方赤光,崔勇,等. 植物生长调节剂在植物源性食品中残留量检测技术的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报,2016,7(1):8-13.
- [7] 黄何何,张缙,徐敦明,等. QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法同时测定水果中21种植物生长调节剂的残留量[J]. 色谱,2014,32(7):707-716.
- [8] 周纯洁,赵博,吴丹,等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定蔬菜中6种植物生长调节剂[J]. 食品工业科技,2016,37(10):94-110.
- [9] 徐宜宏,蒋施,付海滨,等. 苹果、番茄、玉米中7种植物生长调节剂的气相色谱-串联质谱检测方法[J]. 农药,2014,53(2):113-115.
- [10] 高强. 豆芽中多组分植物生长调节剂残留的质谱检测[D]. 河南:郑州大学,2015.

实验技术与方法

超高效液相色谱-荧光检测法准确定量调味油中罗丹明B的两种前处理方法比较

段鹤君^{1,2},丁晓静^{1,2},赵珊^{1,2}

- (1. 北京市疾病预防控制中心 食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室,北京 100013;
2. 北京市预防医学研究中心,北京 100013)

摘要:目的 研究有效提取和净化调味油中罗丹明B的两种前处理方法,为超高效液相色谱-荧光检测(UPLC-FLR)法的准确定量提供有价值的参考。方法 第一种方法用酸化乙腈提取,混合型阳离子交换固相萃取(SPE)柱净化;第二种方法用含20%丙酮的正己烷提取,中性氧化铝SPE柱净化。两种方法的净化液吹至近干,用50%甲醇-水复溶,滤膜过滤后用UPLC-FLR测定。结果 两种方法中罗丹明B在5.0、50.0、200.0 μg/kg三个水平下的加标回收率分别在82.8%~101.9%、80.9%~93.6%之间,相应相对标准偏差(RSD)分别在1.5%~2.9%(n=6)、1.0%~2.1%(n=6)之间。结论 两种方法均可满足调味油中罗丹明B的测定,第一种方法在5.0、50.0 μg/kg加标水平的回收率均优于第二种方法,且无需大容量SPE柱;高浓度(200.0 μg/kg)加标水平的回收率差异无统计学意义(P>0.05)。

关键词:固相萃取;超高效液相色谱;荧光检测;罗丹明B;调味油;违法添加物;色素

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2017)05-0566-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2017.05.009

Two pretreatment methods for the accurate determination of rhodamine B in chili oil by ultra-high performance liquid chromatography with fluorescence detection

DUAN He-jun^{1,2}, DING Xiao-jing^{1,2}, ZHAO Shan^{1,2}

- (1. Beijing Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China;
2. Beijing Center for Preventive Medical Research, Beijing 100013, China)

收稿日期:2017-05-09

作者简介:段鹤君 女 副研究员 研究方向为分析化学 E-mail: dhj@vip.163.com

通信作者:赵珊 女 主任技师 研究方向为食品卫生 E-mail: ms_zhaoshan@aliyun.com