

◆ 残留与环境 ◆

固相萃取-液相色谱串联质谱法测定番茄中春雷霉素的残留量

杨 梅

(上海天祥质量技术服务有限公司食品部,上海 200233)

摘要:以水提取样品,采用固相萃取-液相色谱串联质谱法(LC-MS/MS)快速测定番茄中春雷霉素的残留量。用水溶液从番茄中提取春雷霉素,PCX混合阳离子交换固相萃取柱净化,LC-MS/MS多反应监测模式正离子分析,外标法定量。结果表明,春雷霉素线性范围为5~100 μg/L,方法检出限为0.05 mg/kg,线性相关系数大于0.995;实际样品中对春雷霉素加标量分别为0.05、0.10、0.20 mg/kg时,回收率为75.25%~85.74%,相对标准偏差为2.51%~3.80%,方法检出限符合GB2763—2019《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》中对春雷霉素在番茄中最大残留限量规定(0.05 mg/kg)。该方法操作简单、快速、灵敏度、准确度高,适用于番茄中春雷霉素残留量的分析。

关键词:固相萃取;液相色谱串联质谱;春雷霉素;最大残留限量

中图分类号:TQ 450.2+63 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2020.05.008

Determination of Kasugamycin in Tomato by SPE-LC-MS/MS

YANG Mei

(Shanghai Intertek Co., Ltd. (ITS), Food Lab., Shanghai 200233, China)

Abstract: An analytic method was developed for determination of Kasugamycin in tomato by SPE. Kasugamycin was extracted from tomato with water, then purified by PCX and analyzed by LC-MS/MS. It was quantified by the external standard method. The linear range was 5-100 μg/L, and limits of detection was 0.05 mg/kg. The linear correlation coefficient was more than 0.995. When Kasugamycin in sample at the concentrations of 0.05, 0.10, 0.20 mg/kg, the recoveries were in the range of 75.25%-85.74%, and RSD were in the range of 2.51%-3.80%. The limited detection confirm to the demand of MRL for tomato in GB 2763-2019, which is 0.05 mg/kg. The method is simple, rapid, sensitive and accurate, which is suitable for determination of compound Kasugamycin in tomato.

Key words: SPE; Liquid Chromatography-Mass Spectrometry; Kasugamycin; MRL

春雷霉素(kasugamycin),又名春日霉素、加收米、加瑞农等,是一种农用抗生素类杀菌剂,具有极强的内吸渗透性,对真菌和细菌都有很好的预防和治疗效果。自研发以来,其在亚洲和南美洲就被广泛应用于农业,对水稻稻瘟病、番茄叶霉病、马铃薯环腐病、黄瓜和西瓜细菌性角斑病等具有很好的防治效果。春雷霉素对人畜无毒、低残留、无污染,符合现代化环保要求^[1],是目前应用较为普遍的一种

理想杀菌剂。

目前,国内的农药残留限量标准GB 2763—2019《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》对春雷霉素的残留限量有了明确的规定。该标准已于2020年2月正式生效,标准中规定春雷霉素在番茄中的最大临时限量为0.05 mg/kg^[2]。春雷霉素为易溶于水的强极性物质,在液相色谱上保留时间较短,使得对其的分离和分析有一定难度^[3]。目前春雷霉

收稿日期:2020-01-02

作者简介:杨梅(1974—),女,辽宁清原人,硕士,工程师,从事食品分析工作。E-mail:1nyangmei@163.com

素的检测方法尚没有相应的国家标准及行业标准,相关文献也较少^[4-6],有关番茄中春雷霉素的残留检测方法也很少。笔者通过优化色谱、质谱条件,建立了用固相萃取-液相色谱-串联质谱联用技术测定番茄中春雷霉素的方法,供相关人员测定番茄中春雷霉素残留时做参考。

1 实验器材与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器

液相色谱串联质谱仪、HILIC色谱柱(150 mm × 3.0 mm),赛默飞世尔科技(中国)有限公司;BH600分析天平,梅特勒-托利多(上海)有限公司;搅拌机,飞利浦(中国)投资有限公司;SF-DL-4M冷冻离心机,上海菲恰尔分析仪器有限公司;SK3300HP超声波提取仪,上海科导超声仪器有限公司;DC-12H氮吹仪,上海安谱科学仪器有限公司;涡旋混合器,上海医大仪器有限公司;FJ-200高速分散均质机,上海标本模型厂;57044固相萃取仪,美国色谱科公司。

1.1.2 试剂和耗材

超纯水,美国密里博公司;乙腈(色谱级)、甲醇(色谱级)、甲酸(色谱级),美国ACS恩科化学有限公司;氨水(分析纯),上海国药集团;PCX混合阳离子交换固相萃取柱(60 mg/3 mL),天津博纳艾杰尔科技有限公司;高纯度氮气(纯度99%)、高纯度氩气(纯度99%),上海液化空气集团。

1.1.3 标准物质

春雷霉素盐酸盐(kasugamycin hydrochloride),CAS为19408-46-9,分子式为 $C_{14}H_{26}ClN_3O_9$,分子量为415.824。标准物质购自Dr. E.公司。

1.1.4 试剂的配置

① 10%氨水-甲醇溶液:移取10 mL氨水用甲醇定容至100 mL;② 0.1%甲酸-水溶液:移取1 mL甲酸用水定容至1 000 mL。

1.1.5 标准溶液的配置

① 标准储备液(1 000 mg/L):精确称取10.95 mg春雷霉素盐酸盐(折算后含纯品春雷霉素10 mg)标准品,用水溶解并定容至10 mL,使其标准储备液中春雷霉素的质量浓度为1 000 mg/L。置于1~4℃冰箱保存,可保存12个月。② 标准中间液(10.00 mg/L):准确移取各标准储备液100 μL用水定容至10 mL,混匀。置于1~4℃冰箱保存,可保存1个月。

1.2 试样的制备与保存

抽取番茄样品,先用搅拌机搅碎,再用高速分

散均质器以15 000 r/min转速进一步匀浆至糊状,于4℃保存,待测。

1.3 试样的前处理

1.3.1 提取

称取均质后试样2.00 g于50 mL离心管中,加入10 mL水,涡旋均匀,超声15 min,以3 000 r/min转速离心10 min,用水定容至20 mL。

1.3.2 净化

取10 mL提取液过用6 mL甲醇、6 mL水活化好的PCX混合阴离子交换固相萃取柱。随后用3 mL水、3 mL甲醇淋洗,抽干。用10%氨水-甲醇9 mL洗脱;用甲醇定容至10 mL,取2 mL氮吹去除氨水,至约0.5 mL;用50%甲醇水溶液定容至2 mL,过膜后上机进行LC-MS/MS检测。

1.4 仪器条件

① 液相条件。色谱柱:HILIC柱(150 mm × 3.0 mm, 5 μm);流动相:A相为0.1%甲酸水溶液,B相为乙腈,流动相梯度见表1;流速:0.3 mL/min;进样量:10 μL。

表1 流动相梯度

时间/min	B/%	A/%
0	30.0	70.0
2.0	30.0	70.0
2.1	60.0	40.0
6.0	60.0	40.0
6.1	30.0	70.0
8.5	30.0	70.0

② 质谱条件。离子源:电喷雾ESI离子源;扫描方式:正离子扫描;检测方式:SRM;电喷雾电压:3 500 V;鞘气:高纯氮气,5 psi;辅助气:高纯氩气,5 psi。

2 结果与讨论

2.1 仪器条件的确定

春雷霉素在 C_{18} 液相色谱柱上没有保留,本方法采用HILIC柱进行色谱分析。采用乙腈和0.1%甲酸水溶液作为流动相。

在全扫描方式下,配置一定浓度标准品,将标准品直接注入质谱来优化质谱条件,找到最强的+H离子峰作为母离子,对选定的母离子进行扫描,优化碰撞能,选择其中响应和峰型较好的2对离子对作为定量离子(380.2/112.0)和定性离子(380.2/336.1)。碰撞能量(V)为17/5,传输透镜补偿电压为74 V。春雷霉素标准品的多反应监测模式离子扫描谱见图1。

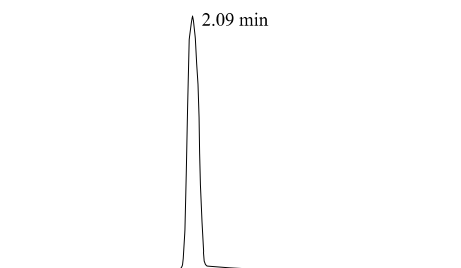


图1 春雷霉素的标准品多反应监测模式离子扫描谱图

2.2 标准曲线

为消除LC-MS/MS的基质效应对检测结果造成的影响,笔者以空白番茄提取液作为溶剂配置并绘制春雷霉素标准物质的基质工作曲线,质量浓度点分别为5、10、20、50、100 $\mu\text{g/L}$,利用MRM离子扫描方法进行检测,得到春雷霉素标曲线的回归方程,线相关系数为0.999 7,在5~100 $\mu\text{g/L}$ 范围内呈现良好的线性关系,适合做定量分析。春雷霉素的基质工作曲线见图2。

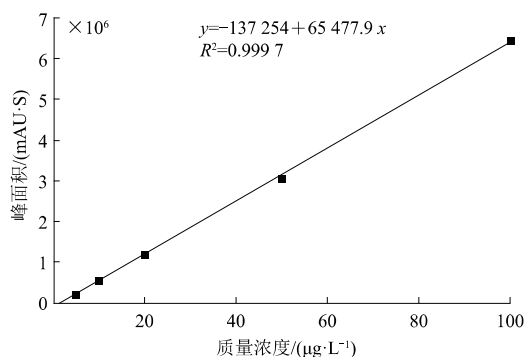


图2 春雷霉素的基质工作曲线

2.3 方法的准确度和精密度

按照已建立的方法,以番茄为空白,按照0.05、0.10、0.20 mg/kg 的加标量对春雷霉素进行添加实验,每个水平进行7次平行试验,检验方法的准确度和精密度。回收率为75.25%~85.74%,相对标准偏差为2.51%~3.80%。各组分的加标回收率和相对标准偏差见表2。春雷霉素样品加标多反应监测模式离子扫描谱图见图3。

2.4 实际样品的测定

利用所建立的方法分析了从上海某市场及超市中采集的番茄样品中的春雷霉素,在少数的番茄样品中检测到微量春雷霉素残留,但未达到方法检出限。图4是某市场采集的番茄样品的多反应监测模式正离子扫描谱图。

表2 春雷霉素的加标量、加标回收率和相对标准偏差

加标量/ $(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	平均回收率/%	相对标准偏差/%
0.05	75.25	2.51
0.10	80.45	3.80
0.20	85.74	2.30

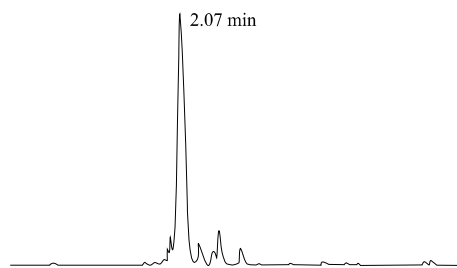


图3 春雷霉素的样品加标多反应监测模式正离子扫描谱图

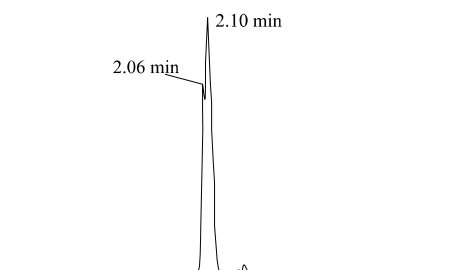


图4 实际样品的多反应监测模式正离子扫描谱图

3 结论

本实验采用水溶液为提取溶剂,将固相萃取-液相色谱-串联质谱联用技术相结合,建立了测定番茄中春雷霉素残留量的分析方法。该方法操作简单、快速,灵敏度高,准确度高,稳定性好,污染小,检出限能够满足相关残留限值的要求。利用该方法能够实现番茄中春雷霉素残留量的检测。

参考文献

- [1] 汪桂,吴蕴,袁小雨,等.春雷霉素的研究现状及展望[J].生物加工过程,2016,14(4):70-74.
- [2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会,中华人民共和国农业农村部,国家市场监督管理总局.GB 2763—2019 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S].北京:中国农业出版社,2019.
- [3] 刘进玺,钟红舰,董小海.亲水作用液相色谱串联质谱法测定糙米中春雷霉素残留量[J].现代农药,2012,11(6):32-34.
- [4] 刘进玺,范丽霞,钟红舰,等.超高压液相色谱串联质谱法测定水中春雷霉素残留量[J].农药科学与管理,2013,34(3):37-39.
- [5] 吴国旭,毕富春,翟立红.春雷霉素高效液相色谱分析方法[J].农药,2010,49(12):902-903.
- [6] 牛长群,祝仕清,张慧敏.反向离子对高效液相色谱法和高效毛细管电泳法测定春雷霉素[J].中国抗生素杂志,2001,26(5):348-350.

(责任编辑:徐娟)