

Liquid Chromatography/
Mass Spectrometry

作者

Sharanya Reddy

Blas Cerda

PerkinElmer, Inc.
Shelton, CT USA

UHPLC与AxION 2TOF 质谱联用快速定量 分析橙汁中多菌灵

简介

近几个月来，进口橙汁中杀菌剂残留引起了极大的关注，需要建立简单快速的分析方法。

一家私人公司向FDA报警称，从巴西进口的橙汁中含有杀菌剂即多菌灵。在美国果汁中含有该物质是违法的，故该机构扩大了对进口产品中残留物的检测。为了应对日益增加的关注，我们已

经建立了一种快速的、简单的定量分析方法，该方法可以测定多菌灵浓度低至10ppb。

我们建立的方法既能够检测目标分析物如多菌灵，同时也可以检测非目标的化合物，该方法依靠带有Ultraspray™ 2离子源的 AxION® 2时间飞行（TOF）质谱仪（MS）提供全范围，高质量精度的数据，该离子源在飞行校准过程中具有质量锁定功能。与三重四级杆仪器需要预先设定目标物不同，TOF可以通过不降低分析灵敏度的全范围扫描方式采集精确质量和高分辨率的数据，该数据可鉴定无限制数量化合物的结构。任何感兴趣的化合物可以通过简单检索该分析物的精确质量而被检测到，且通过保留时间的匹配度进行快速确认。利用一根表面多孔颗

粒 (SPP) 的色谱柱, 使得稀释-上样的样品前处理方式成为可能同时可以保证分离度且缩短传统UHPLC色谱柱的分析时间。

试验

仪器参数见表1所示。

样品制备

表1 实验条件															
目标分析物	多菌灵														
液相色谱条件															
泵类型:	Flexar™ FX-15														
色谱柱:	PerkinElmer Brownlee™ SPP C-18(2.1mmX100mm, 2.7 μm)														
流动相:	A:含有5mM甲酸和5mM甲酸铵的水溶液 B:含有5mM甲酸和5mM甲酸铵的甲醇溶液														
流速:	0.3mL/min														
梯度条件:	<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>%A</th> <th>%B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1.0</td> <td>67.5</td> <td>32.5</td> </tr> <tr> <td>2.0</td> <td>45</td> <td>55</td> </tr> <tr> <td>2.0</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> </tbody> </table>			时间 (min)	%A	%B	1.0	67.5	32.5	2.0	45	55	2.0	0	100
时间 (min)	%A	%B													
1.0	67.5	32.5													
2.0	45	55													
2.0	0	100													
进样体积:	10 μL														
MS 条件															
质谱仪:	PerkinElmer AxION 2 TOF MS														
离子源:	Ultraspray™ 2 DualESI 源														
扫描范围捕集	100-400 m/z (D7:66, D8:80)														
脉冲模式:															
毛细管出口电压:	+90V														
干燥气温度 和流速	350°C, 12L/min														
锁定质量校准 流速和离子	35 μL /nin 利用m/z 322.04812 和622.02896														

高分辨率和精确质量的AxION 2 TOF MS及坚实的大颗粒SPP色谱柱实现了样品制备的简化。橙汁样品用水稀释10倍后离心, 取上清液, 用0.2 μm PTFE针式过滤器过滤后直接注入样瓶中。

结果

利用提供的快速RP-LC条件, 实验发现多菌灵的保留时间仅为2.2min, 计算橙汁中多菌灵的检出限为0.75ppb。图1是果汁样品中100ppb多菌灵的提取离子色谱图。

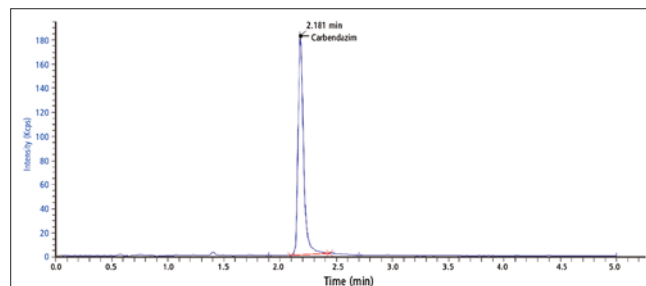


图1 果汁样品中100ppb多菌灵的提取离子色谱图 (EIC)

通过精确质量、保留时间匹配度及同位素峰确定化合物结构。根据计算多菌灵同位素的自然丰度, 预期比例与测定比例相比较见图2所示。

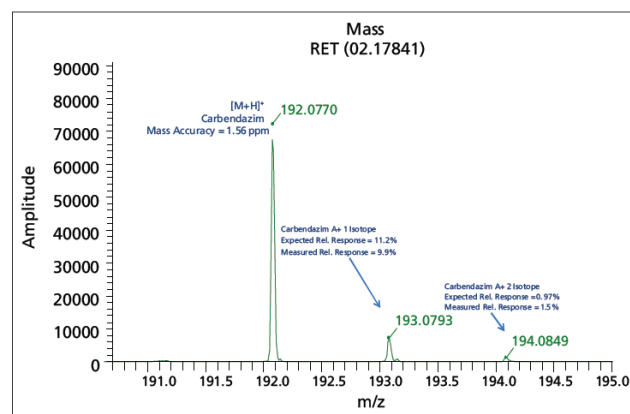


图2 通过高分辨率的AxION 2 TOF MS得到同位素丰度图谱可无需碎片信息用作附加的确认鉴定化合物手段

稀释和分析之前, 在橙汁样品中加入多菌灵的标准品, 从而获得校准曲线。线性范围在1ppb至300ppb范围内, 相关系数大于0.996 (如图3所示)。

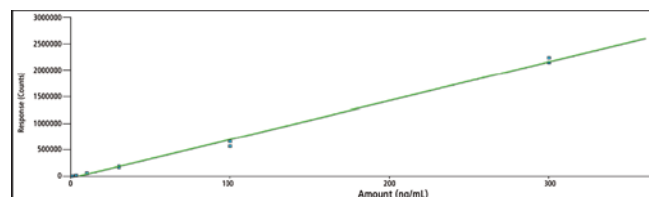


图3 橙汁中多菌灵浓度范围为1ppb至300ppb的校准曲线

重点提出的是,在每次运行时具有精确的质量和高分辨率才的AxION 2 TOF MS可以采集大量的信息。图4显示,在不理想的色谱条件下,仍有大量数据被采集,且可以如何轻松获得高质量的分析结果。利用提取窄范围m/z的特异性离子色谱图如5mDa,可以使分析时间保持很短。

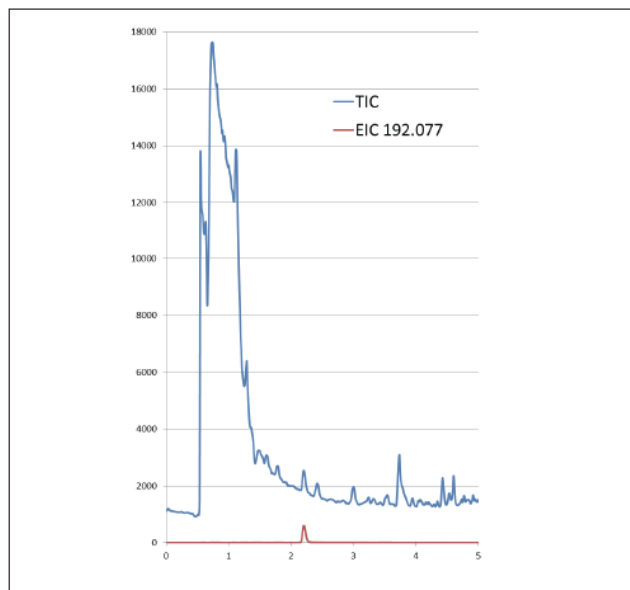


图4 多菌灵的总离子色谱图和提取离子色谱图

非目标分析物的鉴定

多菌灵被定量分析后,橙汁样品的数据被进一步用于检测非目标的分析物,即在美国桔子中常见的农药。下列几种农药是桔子常常使用的,也是橙汁中经常被检出的。

- 涕灭威
- 除草定
- 西维因
- 毒死蜱
- 乐果
- 抑霉唑
- 邻苯基苯酚
- 噻菌灵

通过简单的再次分析数据,保留时间4.76min的色谱峰被鉴定。该峰的EIC提供了同位素比率的质谱图,见图5,因此鉴定该峰为西维因。

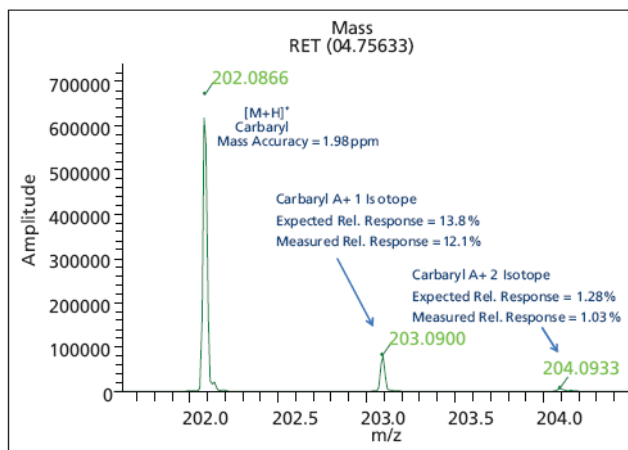


图5 鉴定西维因同位素谱图与理论计算值的比较

高精度质量及同位素信息可用于色谱峰的鉴定,通过运行相应的标准品以保留时间进行确证(图6)。

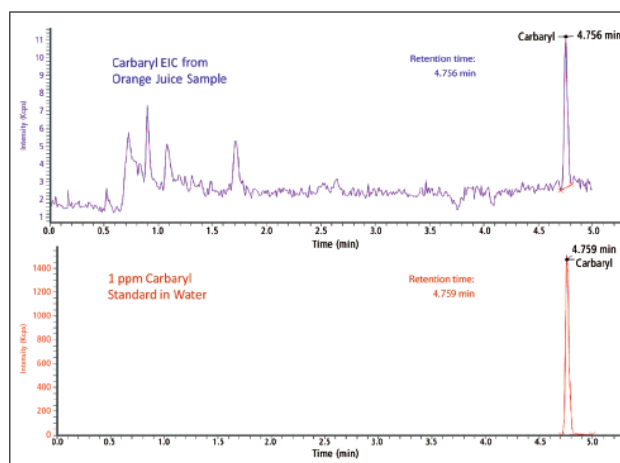


图6 橙汁样品中西维因提取离子色谱图与西维因标准品提取离子色谱图的比较

结论

本文建立了一个少于5min稀释-上样的LC-TOF方法,用于定量测定橙汁中的多菌灵。结果表明该方法快速、高效,样品通量可与那些已公开的方法相媲美,甚至更优。此外采集的数据被用于筛查8种其它当前最有可能在橙汁中存在的农药。通过精确质量鉴定,与标准物质保留时间匹配确证,发现在该橙汁样品中存在西维因,从而展示出全扫描质量分析仪的优势。

PerkinElmer, Inc.

珀金埃尔默仪器(上海)有限公司

地址:上海张江高科技园区张衡路1670号

邮编:201203

电话:021-60645888

传真:021-60645999

www.perkinelmer.com.cn



要获取全球办事处的完整列表,请访问<http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs>

版权所有 ©2012, PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer® 是PerkinElmer, Inc. 的注册商标。其它所有商标均为其各自持有者或所有者的财产。