

秦德萍, 杨乾展. 分散固相萃取-同位素内标-气相色谱串联三重四极杆质谱法测定水产品中四聚乙醛残留量[J]. 环境化学, 2022, 41(11): 3824-3827.

QIN Deping, YANG Qianzhan. Determination of metaldehyde residues in aquatic products by gas chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry combined with dispersive solid phase extraction-isotope internal standard[J]. Environmental Chemistry, 2022, 41(11): 3824-3827.

分散固相萃取-同位素内标-气相色谱串联三重四极杆质谱法 测定水产品中四聚乙醛残留量

秦德萍¹ 杨乾展²

(1. 重庆市食品药品检验检测研究院, 国家市场监督管理总局重点实验室(调味品监管技术), 重庆, 401121; 2. 岛津企业管理(中国)有限公司, 重庆, 400010)

摘要 通过优化水产品样品前处理方法, 建立一种分散固相萃取-同位素内标-气相色谱串联三重四极杆质谱法测定水产品中四聚乙醛残留量方法。取 5.0 g 水产品, 乙腈提取, PSA 和 C18 粉净化, 上清液经浓缩、正己烷定容后, 采用三重四极杆串联质谱的选择多反应监测模式检测, 内标法定量。研究结果表明, 本方法中四聚乙醛在 0.002—0.120 mg·L⁻¹ 范围内具有良好的线性关系, 相关系数 0.9999, 加标回收率 103.0%—114.6%, 检出限 0.001 mg·kg⁻¹, 定量限 0.002 mg·kg⁻¹。本方法具有操作简单、灵敏度高等特点, 适用于大量水产品中四聚乙醛残留量的检测。

关键词 四聚乙醛, 水产品, 气相色谱串联三重四极杆质谱法。

Determination of metaldehyde residues in aquatic products by gas chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry combined with dispersive solid phase extraction-isotope internal standard

QIN Deping¹ YANG Qianzhan²

(1. Chongqing Institute for Food and Drug Control, Key Laboratory of Condiment Supervision Technology for State Market Regulation, Chongqing, 401121, China; 2. Shimadzu (China) Co., LTD, Chongqing, 400010, China)

Abstract An analytical method was developed for the determination of metaldehyde residues in aquatic products using GC-MS/MS combined with dispersive solid phase extraction-isotope internal standard. 5.0 g aquatic product samples were extracted with acetonitrile and purified with PSA and C18. After the supernatant was concentrated and redissolved with n-hexane, the supernatant was detected by tandem mass spectrometry in MRM mode and quantified by internal standard method. The method displayed good linearity in the concentration of metaldehyde ranged from 0.002 mg·L⁻¹ to 0.120 mg·L⁻¹ with the correlation coefficient of 0.9999, the average recoveries ranged from 103.0% to 114.6%, the limit of detection of 0.004 mg·kg⁻¹ and the limit of quantification of 0.002 mg·kg⁻¹. This method is fast, ensitivity and suitable for determination of metaldehyde residues in numbers of aquatic products.

Keywords metaldehyde, aquatic products, gas chromatography-tandem mass spectrometry.

四聚乙醛(Metaldehyde, 2,4,6,8-四甲基-1,3,5,7-四氧杂环辛烷)是一种杀灭软体动物(如水稻福寿螺、蜗牛和蛞蝓等)的特效农药^[1-2]。近年来,四聚乙醛在水产品的养殖中使用较广泛,人类过量摄入残留在水产品中的四聚乙醛会对人体产生慢性和急性中毒^[3]。因此,快速、准确测定水产品中四聚乙醛残留量对指导水产品养殖和保障人体健康有重要意义。

目前,检测四聚乙醛残留量的主要方法有气相色谱法(GC)^[4]、气质联用法(GC-MS)^[5]、液质联用法(HPLC-MS/MS)^[6-7]。GC法应用在复杂基质样品中,为避免假阳性结果和基质干扰,其净化步骤较复杂。HPLC-MS/MS法需大量的有机溶剂作为流动相,不利于环境保护。现有的GC-MS法在四聚乙醛浓度较低时,结果易受样品基质干扰,检出限较高。GC-MS/MS法较GC-MS法前处理过程简单,溶液净化要求低,受基质干扰程度小,有很好的选择性和灵敏度。近年来,分散固相萃取(DSPE)^[8-9]是一种广泛应用于药物残留前处理的净化方法,该方法是将吸附剂直接分散于提取液中净化杂质,成本低、过程简便。

本研究采用DSPE法净化水产品中四聚乙醛,结合同位素内标法,建立测定水产品中四聚乙醛残留量的DSPE-同位素内标-气相色谱串联三重四极杆质谱法,为调查水产品中四聚乙醛残留量提供简便快速的分析方法,有助于监管部门快速开展四聚乙醛残留量的安全监控。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 材料与仪器

TQ8050N 三重四极杆气质联用仪,日本岛津公司;VF-1701 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm),美国安捷伦科技有限公司;Multifuge X1R 离心机,美国赛默飞世尔科技公司;MSA225S-100-DU 天平,德国赛多利斯公司;Turbovap LV 氮吹仪,英国 Biotage 公司;SR-2ES 振荡器,日本 TAITEC 公司。

四聚乙醛标准物(纯度 99.8%,批号 2203664),上海安谱瑾世标准技术有限公司;D16-四聚乙醛标准溶液(浓度 100 mg·L⁻¹,批号 2250904),上海安谱瑾世标准技术有限公司。

乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶(PSA)填料 40 μm,美国安捷伦科技有限公司;十八烷基硅烷键合硅胶(C18)填料 40 μm,美国安捷伦科技有限公司;乙腈、丙酮、正己烷(色谱纯),天津科密欧化学试剂有限公司;无水硫酸镁和氯化钠(分析纯),成都市科隆化学品有限公司;

牛蛙、草鱼、基围虾、黄辣丁、泥鳅、花甲各 2 kg,购于重庆市渝北区生鲜食品店。

1.2 试验方法

1.2.1 标准溶液制备

4 mg·mL⁻¹ 四聚乙醛标准贮备液:准确称取四聚乙醛标准物 100 mg,丙酮定容到 25 mL, -18℃ 以下保存,备用;

1.0 mg·L⁻¹ 四聚乙醛标准贮备液:准确移取 4 mg·mL⁻¹ 四聚乙醛标准贮备溶液 0.025 mL 于 10 mL 容量瓶中,用丙酮定容,2—8℃ 避光保存,备用;

1.0 mg·L⁻¹ D16-四聚乙醛标准贮备溶液:准确移取 1.0 mL D16-四聚乙醛于 100 mL 容量瓶中,用丙酮定容,2—8℃ 避光保存,备用;

四聚乙醛标准工作溶液:分别移取 1.0 mg·L⁻¹ 四聚乙醛标准贮备溶液 0.010、0.020、0.050、0.100、0.500、1.200 mL 于 10 mL 容量瓶中,加入 0.05 mL D16-四聚乙醛标准贮备溶液,正己烷定容,得到四聚乙醛浓度为 0.001、0.002、0.005、0.010、0.050、0.120 mg·L⁻¹,内标浓度为 0.005 mg·L⁻¹ 的工作溶液。

1.2.2 样品处理

将购于超市的水产品,取可食部分粉碎后充分混匀,于-18℃ 环境下保存备用。称取混匀后试样 5.0 g 于 50 mL 塑料离心管中,加 D16-四聚乙醛标准贮备溶液 0.025 mL、水 2 mL、乙腈 10 mL,涡旋 1 min,振荡 10 min 后加入氯化钠 2 g,涡旋 1 min,6000 r·min⁻¹ 离心 5 min,取上清液 6 mL 于装有 200 mg MgSO₄、100 mg PSA 和 100 mg C18 的离心管中,涡旋 1 min,6000 r·min⁻¹ 离心 5 min,取上清液 4 mL 氮吹至近干,加入 2 mL 正己烷复溶,涡旋 1 min,过 0.22 μm 滤膜,待测。

1.3 测定条件

进样口温度为 250℃,进样量为 1.0 μL,进样方式为不分流进样;电子轰击源为 70 eV;离子源温度为 230℃;传输线温度为 280℃;溶剂延迟为 7 min;载气为氦气;碰撞气为氩气;色谱柱程序升温步骤:初始温度为 50℃,以 20℃·min⁻¹ 升温至 260℃ 保持 3 min。

多反应监测:选择一对定量离子和一对定性离子。保留时间、定量和定性离子对、碰撞电压信息见表 1。

表 1 保留时间、定量离子对、定性离子对和碰撞电压

Table 1 Retention time, quantitative ion pair, qualitative ion pair and collision voltage

农药名称	保留时间/min	定量离子对	碰撞电压/V	定性离子对	碰撞电压/V
四聚乙醛	7.56	89.00, 45.10	6	89.00, 43.00	30
D16-四聚乙醛	7.54	98.00-50.10	6	98.00-46.10	30

将四聚乙醛标准系列工作液注入气质联用仪中,以四聚乙醛和 D16-四聚乙醛峰面积比值为纵坐标,以四聚乙醛和 D16-四聚乙醛含量比值为横坐标,绘制标准工作溶液曲线。

样液的四聚乙醛色谱峰与标准溶液色谱峰的保留时间的相对误差为±2.5%。样品质谱图中均出现定量和定性离子,且其相对离子丰度比与标准溶液中的相对离子丰度相比,需满足表 2。

表 2 定性测定时相对离子丰度最大允许偏差

Table 2 Maximum allowable deviation of relative ion abundance in qualitative determination

相对离子丰度	>50%	20%—50%	10%—20%	≤10%
允许相对偏差	±10%	±15%	±20%	±50%

1.4 数据分析

通过 SPSS Statistics 17.0 软件的单因素方差分析分析不同净化剂对水产品中四聚乙醛回收率是否存在显著差异。

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 样品前处理优化

在不含四聚乙醛的草鱼样品(5.0 g)中加入 0.010 mg·kg⁻¹ 浓度水平的四聚乙醛标准溶液,混匀,避光放置 1 h,使四聚乙醛充分渗透到样品中,作为含四聚乙醛的阳性水产品样品,用来研究水产品前处理的试验条件。

2.1.1 提取优化

本试验考察了提取溶剂和上机用的溶剂。针对水产品中高蛋白,少脂肪的特点,提取溶剂优先考虑乙腈(乙腈除油效果较好)。结果表明,乙腈作为提取溶剂,能够完全提取水产品中四聚乙醛。样品中四聚乙醛经过乙腈提取、DSPE 净化杂质后直接上机,四聚乙醛的峰形不好,出现双肩峰;将净化后的提取液经氮吹浓缩至近干,正己烷定容后上机,四聚乙醛的峰形较好。本方法确定乙腈为提取溶剂,样品溶液需浓缩、正己烷置换溶剂后上机。

2.1.2 分散固相萃取净化剂的选择

目前,净化样品溶液中杂质的分散固相萃取剂主要为 C18(主要吸附非极性的油脂和糖类等)、PSA(主要吸附脂肪酸和有机酸等)、GCB(主要吸附色素)。鉴于水产品中色素较少,不采用 GCB。

5.0 g 阳性样品经乙腈提取、离心后,取 6 mL 上清液于装有 200 mg MgSO₄+0 mg PSA+0 mg C18(a 组)、200 mg MgSO₄+100 mg PSA+0 mg C18(b 组)、200 mg MgSO₄+0 mg PSA+100 mg C18(c 组)、200 mg MgSO₄+100 mg PSA+100 mg C18(d 组)的 15 mL 离心管中做净化对比试验,各组重复 3 次,考察 4 个组对四聚乙醛回收率的影响。结果表明,4 个组的四聚乙醛回收率均在 91.2%—110.7% 范围内,各组间的四聚乙醛回收率差异不显著($P>0.05$)。d 组样品图谱的杂峰较少,信噪比(S/N)最大。因此,试验选择 200 mg MgSO₄+100 mg PSA+100 mg C18 净化试样溶液。

2.2 标准曲线、检出限和定量限

四聚乙醛在浓度为 0.002—0.120 mg·L⁻¹ 范围内,四聚乙醛和内标峰面积的比值与四聚乙醛和内标含量的比值有良好的线性关系,线性方程为 $Y=1.1590X+0.0327$,相关系数为 0.9999,标准溶液色谱图信息见图 1。

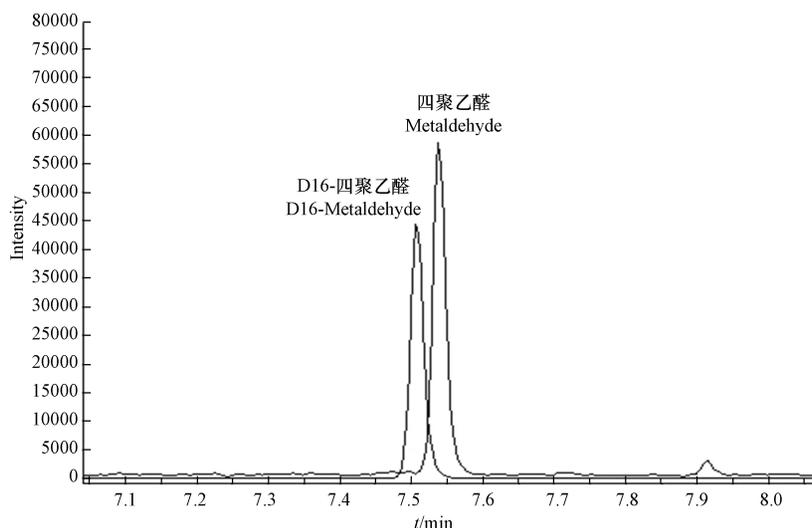
图 1 四聚乙醛标准溶液色谱图(5 μg·L⁻¹)

Fig.1 Chromatogram of standard solution of metaldehyde

按照 GB/T 27414-2017 中目视评价法评估检出限(LOD),当样品含量为 0.001 mg·kg⁻¹ 时,7 次独立测试的结果均为阳性,信噪比(S/N)均大于 3,确定 0.001 mg·kg⁻¹ 为方法 LOD,低于 SN/T 4264-2015(LOD: 0.01 mg·kg⁻¹),灵敏度高。

在样品中标加 2 倍 LOD 的四聚乙醛,经过前处理和上机检测,四聚乙醛的回收率为 109.3%—116.6%,满足 GB/T 27404-2008 要求(当被测组分含量小于 0.1 mg·kg⁻¹ 时,回收率范围为 60%—120%),确定本方法定量限(LOQ)为 0.002 mg·kg⁻¹。

2.3 正确度和精密度

在草鱼、泥鳅样品中加入 3 个浓度水平(1 倍 LOQ、2 倍 LOQ、限值)的四聚乙醛标准溶液,混匀,避光放置 1 h,

再按本试验方法进行实验前处理和检测,获得本方法的正确度(回收率)和精密度,结果见表3。由表3可知,四聚乙醛在添加3个浓度水平时的回收率均在103.0%—114.6%之间,相对标准偏差在2.1%—4.5%之间,满足GB/T 27404-2008要求,表明本方法准确可靠,可满足分析要求。

表3 方法的精密度及回收率试验结果($n=6$)

Table 3 Results of tests for recovery and precision of the method

样品	添加0.002 mg·kg ⁻¹		添加0.006 mg·kg ⁻¹		添加0.100 mg·kg ⁻¹	
	回收率/%	相对标准偏差/%	回收率/%	相对标准偏差/%	回收率/%	相对标准偏差/%
草鱼	114.6	2.7	109.3	2.9	103.0	2.1
泥鳅	112.7	4.5	108.9	3.6	104.1	2.5

2.4 样品分析

分别采用本试验方法和SN/T 4264-2015检测市场上常见的6种水产品(牛蛙、草鱼、基围虾、黄辣丁、泥鳅和花甲)中的四聚乙醛,同时做草鱼的加标回收质控实验,其四聚乙醛加标浓度为0.010 mg·L⁻¹,并比较2种方法的检测结果。6种水产品经两种方法检测均未检出四聚乙醛,SN/T 4264-2015的加标回收率为73.2%,本方法的加标回收率为108.5%。结果表明,本方法与SN/T 4264-2015检测结果一致;本方法提取剂用量为SN/T 4264-2015的七分之一;本方法样品提取液不需过固相萃取柱净化,前处理过程简单,成本低。

3 结论(Conclusion)

本试验优化了实验前处理步骤,采用质谱多反应监测模式,同位素内标法定量,建立了DSPE-同位素内标-气相色谱串联三重四极杆质谱法测定水产品中四聚乙醛残留量。本方法具有操作简单、灵敏度高等特点,适用于大量水产品中四聚乙醛残留量的检测。

参考文献 (References)

- [1] 俞丽玲,朱明东,朱明东,等.密达利杀灭山丘钉螺效果和鱼毒试验[J].*中国血吸虫病防治杂志*,2009,21(6):532-534.
- [2] 王尚位,罗秉荣,王海英,等.密达利杀灭椎实螺效果实验观察[J].*热带病与寄生虫学*,2012,10(4):222-224.
- [3] HALLETT K C, ATFIELD A, COMBER S, et al. Developmental toxicity of metaldehyde in the embryos of *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda: Pulmonata) co-exposed to the synergist piperonyl butoxide [J]. *Science of The Total Environment*, 2016, 543: 37-43.
- [4] SN/T 1787-2006.进出口密达中四聚乙醛的检测方法气相色谱法[S].
- [5] SN/T 4264-2015.出口食品中四聚乙醛残留量的检测方法气相色谱-质谱法[S].
- [6] 李存,赵莉,杨挺,等.液相色谱串联质谱法测定蔬菜中四聚乙醛残留量[J].*分析化学*,2011,39(2):239-242.
- [7] 张玉梅,李俊,何钰,等.HPLC-MS/MS法测定水中四聚乙醛含量[J].*生物化工*,2020,6(5):6-8.
- [8] MARCHIS D, FERRO G L, BRIZIO P, et al. Detection of pesticides in crops: A modified QuEChERS approach [J]. *Food Control*, 2012, 25(1): 270-273.
- [9] 刘亚伟,董一威,孙宝利,等.QuEChERS在食品中农药多残留检测的应用研究进展[J].*食品科学*,2009,30(9):285-289.