

应用纪要

使用UPLC-MS和阴离子型极性农药分析色谱柱测定葡萄中的阴离子型极性农药

Pavan Kumar K, Bhaskar K, Taposh Gorella, Padmakar Wagh

Waters Corporation



这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

极性农药由于其潜在致癌性的警告，最近引起公众广泛关注。它们分为除草剂、杀菌剂和植物生长调节剂。由于强极性阴离子型农药在反相液相色谱柱上的保留不足、发生表面相互作用且法规要求的含量低，因此分析非常棘手。本研究评估了使用沃特世阴离子型极性农药分析色谱柱、ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统和Xevo TQ-XS串联四极杆质谱仪对葡萄中含量低至0.001 mg/kg的极性农药及其代谢物进行分离、鉴定和定量的性能。将阴离子型极性农药分析色谱柱的保留性能、ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统的分离能力以及Xevo TQ-XS串联四极杆质谱仪的灵敏度相结合，使食品安全实验室能够轻松满足常规极性农药分析的法规要求。

优势

- 无需衍生化即可成功保留和分离极性农药
- 定量分析葡萄中含量 ≥ 0.001 mg/kg的阴离子型极性农药
- 所用方法满足食品安全实验室中常规极性农药分析的法规要求

简介

印度是面向许多国家（尤其是欧盟）的主要葡萄出口国之一，制定了监测多种食品中极性农药的相关法规。在出口到欧盟国家之前，必须对葡萄进行采收前强制检测¹。受法规监管的农用化学品列表可参见Annexure 9²。由于强极性阴离子型化合物（例如草甘膦和乙烯利）（图1）的理化特性使其保留不佳，因此使用反相填料（例如C₁₈）的标准分析方法不适用。其他挑战包括离子性质、表面相互作用、溶液不稳定性和代谢物检测。最近开发出多种方法，可以在无需衍生化的同时改善色谱保留性能和分离效果，但需要使用多个单残留分析方法(SRM)。之前曾提出过使用沃特世阴离子型极性农药分析色谱柱测定未经衍生化的阴离子型极性农药的方法³。本文介绍了使用该色谱柱、ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统和Xevo TQ-XS串联四极杆质谱仪对葡萄中的极性农药及其代谢物进行分离、鉴定和定量的单一多残留分析方法，所考察的分析物的定量限(LOQ)达到 ≥ 0.001 mg/kg。

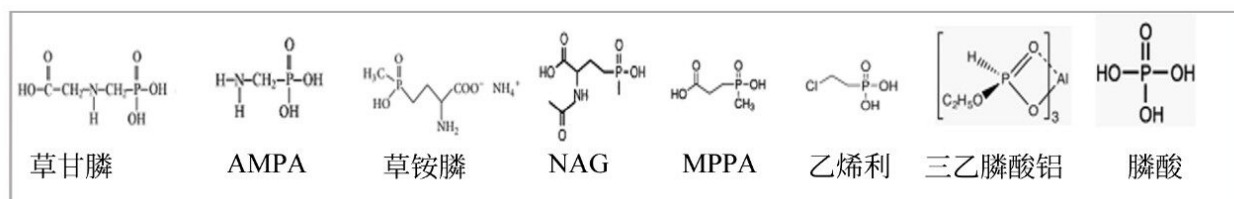


图1.所有极性农药的化学结构

结果与讨论

之前曾提出过使用沃特世阴离子型极性农药分析色谱柱 (2.1 x 100 mm, 5 μm, 部件号: 186009287) 测定未经衍生化的阴离子型极性农药的方法³。为使这些化合物达到分析所需的保留性能和分离效果, 我们使用基于HILIC的非衍生化方法。所用色谱柱固定相由具有三键键合二乙基胺(DEA)键合相的亚乙基桥杂化(BEH)颗粒组成。这种键合相兼具亲水性表面和阴离子交换特性, 非常适合用于色谱保留和分离极性阴离子化合物(图2)。我们提出的单一多残留分析方法使极性农药获得了优异的色谱分离效果和保留性能。使用ESI正电离模式和负电离模式分析葡萄基质中的一组八种农药(草甘膦及其代谢物AMPA、草铵膦及其代谢物MPPA和NAG、乙烯利、三乙磷酸铝、磷酸)。草铵膦在ESI负电离模式下的灵敏度低于ESI正电离模式下的灵敏度, 结果如图3所示。

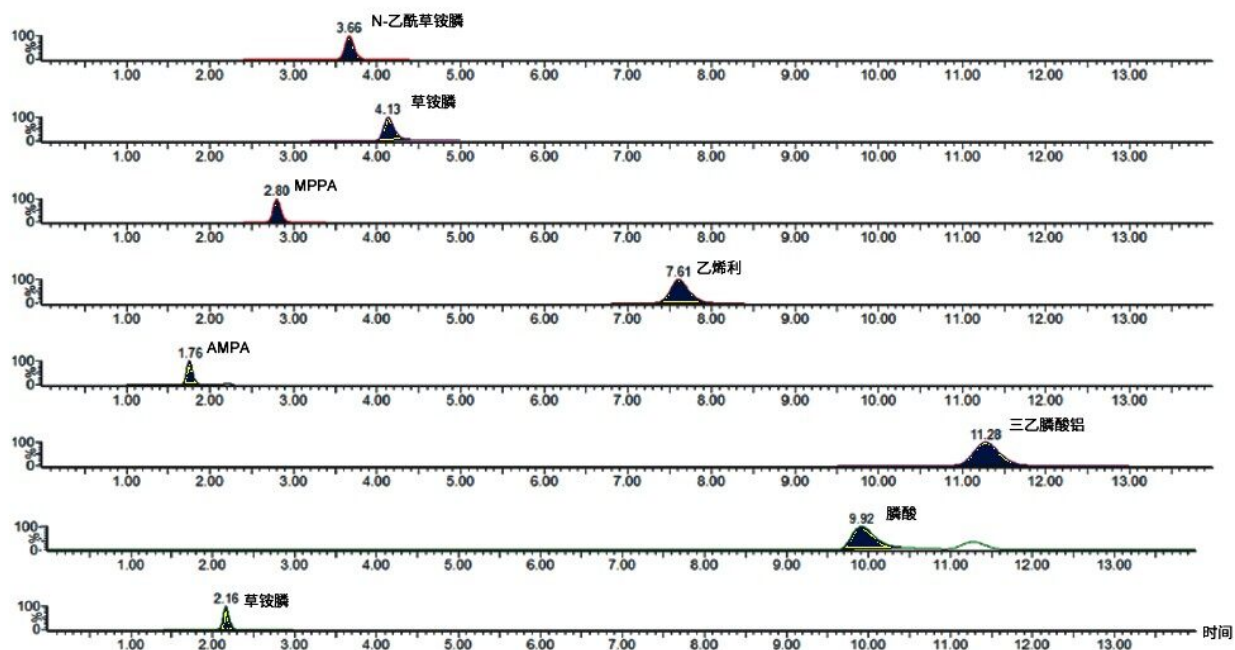


图2.葡萄基质中0.100 mg/kg分析物的代表性色谱图

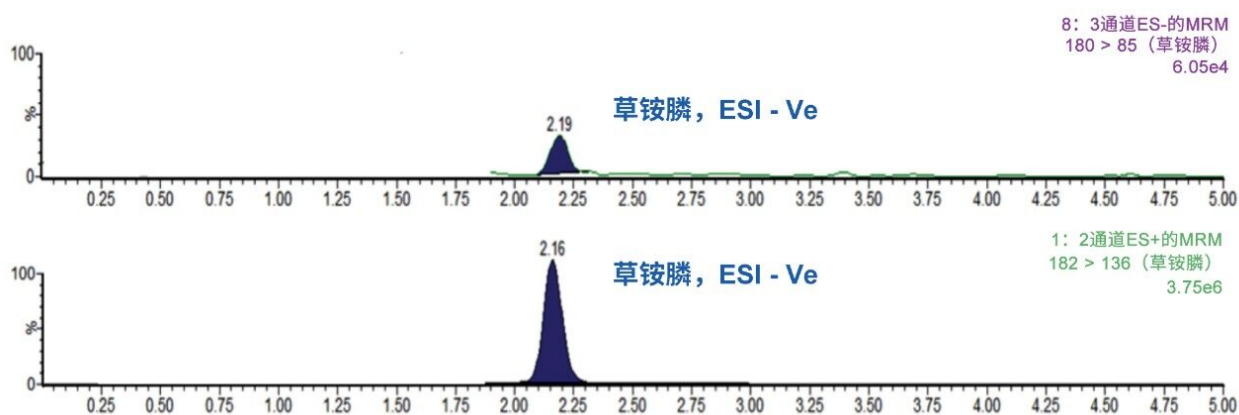


图3.基质中浓度为0.010 mg/kg的草铵磷在正电离模式和负电离模式下的灵敏度

样品提取使用QuPPe EU SRM方法进行⁴。使用搅拌器将市售葡萄样品搅拌成匀浆，然后取约 10.0 ± 0.1 g匀浆样品。回收样品也按照图4所示的提取步骤进行处理，在添加提取溶剂之前先加入混标。在回收率研究中，所用的磷酸加标浓度为0.010 mg/kg和0.050 mg/kg，其余分析物的加标浓度为0.001、0.0025和0.010 mg/kg (n=3)。由于空白基质中存在分析物，因此以0.010 mg/kg为加标浓度考察磷酸的回收率。磷酸钾通常用作植物强化剂，因此会检测到痕量的磷酸残留⁵。

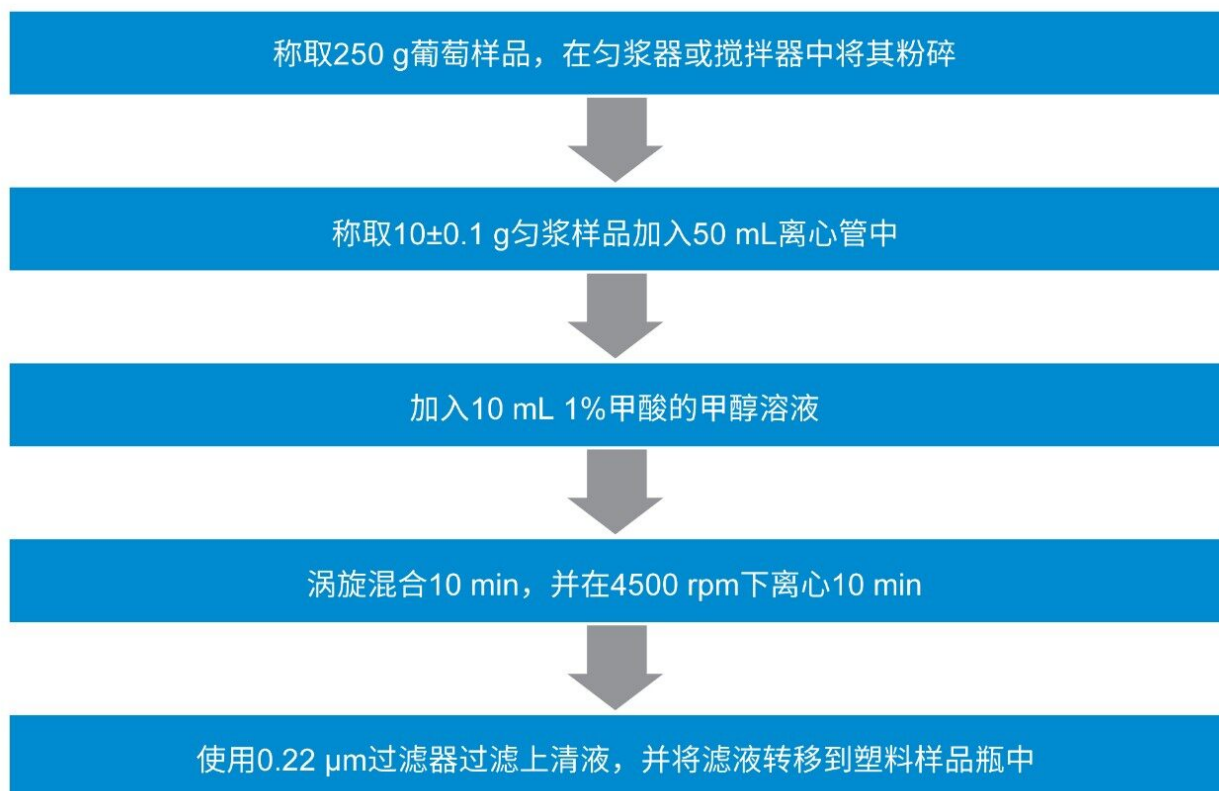
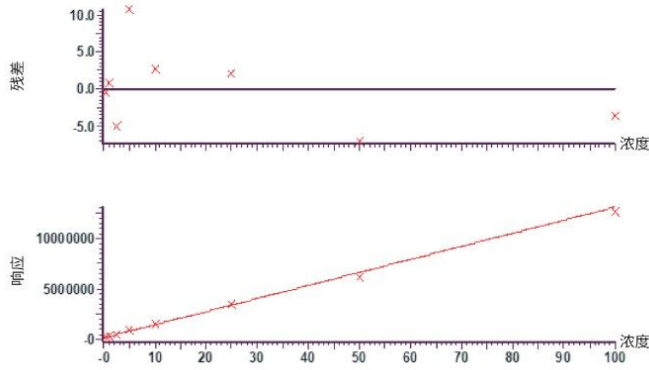


图4.样品前处理方案

本研究所用的分析方法是阴离子型极性农药入门指南中的方法B⁶。所有样品均使用ACQUITY UPLC I-Class PLUS与Xevo TQ-XS串联四极杆质谱仪联用系统进样分析。使用TargetLynx XS，按照程序标准定量分析加标样品。通过采集0.0005 mg/kg至0.100 mg/kg的数据绘制标准曲线，结果表现出优异的决定系数($R^2 \geq 0.99$)，并且所有残差均在±20%以内，无需使用内标（图5）。该方法的保留时间稳定性为±0.1 min，离子丰度比偏差为±30%。正确度(%)和精密度(%RSD)均处于可接受范围内（如图6所示），满足SANTE/12682/2019的要求⁷。

草铵膦

化合物名称: 草铵膦
 相关系数: $r=0.997953$, $r^2=0.995909$
 校正曲线: $129662 * x + 160094$
 响应类型: 外标法, 按峰面积计算
 曲线类型: 线性, 原点: 排除, 加权: $1/x^2$, 轴转: 无



三乙磷酸铝

化合物名称: 三乙磷酸铝
 相关系数: $r=0.995894$, $r^2=0.991806$
 校正曲线: $9455.84 * x + 3152.48$
 响应类型: 外标法, 按峰面积计算
 曲线类型: 线性, 原点: 排除, 加权: $1/x^2$, 轴转: 无

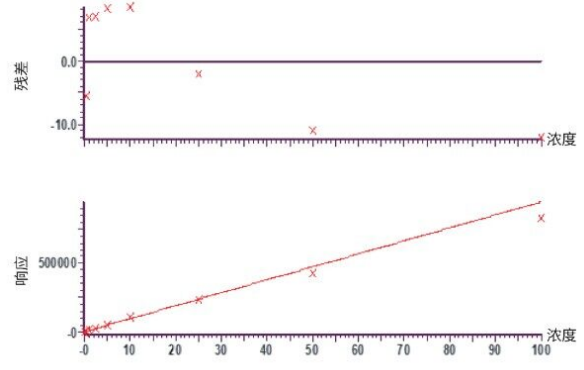


图5.三乙磷酸铝和草铵膦的程序标准曲线及各自残差的代表性示例

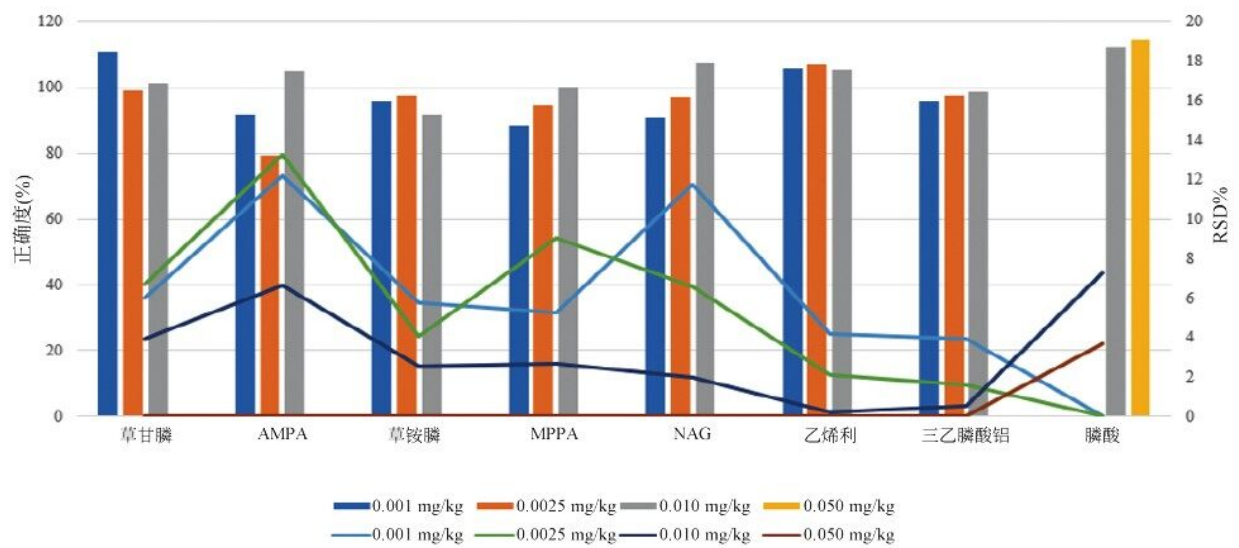


图6.葡萄基质中以0.001、0.0025、0.010和0.050 mg/kg为加标浓度得到的正确度百分比(条)和精密度RSD%(线)

结论

本应用简报介绍ACQUITY UPLC I-Class PLUS和Xevo TQ-XS在分析强极性阴离子型农药（含量仅为法规限值的1/50）中的应用。向葡萄样品中加入八种强极性阴离子型农药（包括其代谢物）的混合物，以证明具有适当的样品回收率。使用沃特世阴离子型极性农药分析色谱柱能够使母体分析物及其代谢物获得优异的色谱保留性能和分离效果。使用Waters ACQUITY UPLC I-Class PLUS与Xevo TQ-XS联用系统，能够为这些分析物提供优异的灵敏度、决定系数和重现性。使用ESI正电离模式和负电离模式，能够为所有分析物提供出色的灵敏度。总之，将阴离子型极性农药分析色谱柱的保留性能、ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统的分离能力和Xevo TQ-XS串联四极杆质谱仪的灵敏度相结合，使食品安全实验室能够轻松满足常规极性农药分析的法规要求。

参考文献

1. <http://apeda.gov.in/apedawebsite/Grapenet/procedureforexportofgrapes2017-18.pdf> <
<http://apeda.gov.in/apedawebsite/Grapenet/procedureforexportofgrapes2017-18.pdf>>
2. https://apeda.gov.in/apedawebsite/Grapenet/Annexure_9.doc_22.10.2019.pdf <
https://apeda.gov.in/apedawebsite/Grapenet/Annexure_9.doc_22.10.2019.pdf>
3. Determination of Anionic Polar pesticides in High water food stuffs, Waters Technology brief no: 720006645EN <<https://www.waters.com/nextgen/in/en/library/application-notes/2019/determination-of-anionic-polar-pesticides-in-high-water-foodstuffs.html>> , January 2020.
4. https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlSRM/meth_QuPPE-PO_EurlSRM.pdf <
https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlSRM/meth_QuPPE-PO_EurlSRM.pdf>
5. https://n-bnn.de/sites/default/dateien/bilder/Downloads/FactSheet_phosphonic_acid_en_Mai_2017.pdf <
https://n-bnn.de/sites/default/dateien/bilder/Downloads/FactSheet_phosphonic_acid_en_Mai_2017.pdf>
6. Method Startup guide for Anionic Polar pesticides Column, waters Manual guide no: 720006689EN <<https://www.waters.com/waters/support.htm?lid=135034715&type=USRM>> Rev A, September 2019.
7. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2019-12682.pdf <

https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2019-12682.pdf

特色产品

ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/134613317>>

Xevo TQ-XS三重四极杆质谱仪 <<https://www.waters.com/134889751>>

MassLynx MS软件 <<https://www.waters.com/513662>>

TargetLynx <<https://www.waters.com/513791>>

720006925ZH, 2020年5月