

· 研究论文 ·

超高效液相色谱-串联质谱法测定香蕉中 壬基酚聚氧乙烯醚及其降解产物

罗金辉^{*1,2}, 吕岱竹^{1,2}, 林勇¹

(1. 中国热带农业科学院 分析测试中心, 海南 海口 571101;

2. 中国热带农业科学院 环境与植物保护研究所, 海南 儋州 571737)

摘要: 为了研究壬基酚聚氧乙烯醚在食品中的残留量及安全性, 通过乙腈提取、固相萃取法净化, 建立了香蕉中壬基酚聚氧乙烯醚(NP_nEO)及其降解产物壬基酚(NP)的超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)测定方法, 并对流动相、监测离子和校正曲线等进行了优化和探讨。结果表明: 在5~40 μg/kg 添加水平范围内, NP_nEO及NP的添加回收率在75%~117%之间, 相对标准偏差(RSD)在3.2%~9.6%之间; NP_nEO的检出限在0.005~0.04 μg/kg之间, NP的检出限(LOD)为0.5 μg/kg; 该方法快速、灵敏、准确度高, 符合残留检测的要求。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱; 香蕉; 壬基酚聚氧乙烯醚; 壬基酚

DOI: 10.3969/j.issn.1008-7303.2011.05.13

中图分类号: O657.63 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2011)05-0514-05

Determination of nonylphenol polyethoxylates and its metabolite nonylphenol in banana by UPLC-MS/MS

LUO Jin-hui^{*1,2}, LÜ Dai-zhu^{1,2}, LIN Yong¹

(1. Analysis and Testing Center Academy of Tropic Agriculture Science, Haikou 571101, Hainan Province, China;

2. Environment and Plant Protection Research Institute, CATAS, Danzhou 571737, Hainan Province, China)

Abstract: In order to study the residues and safety of pesticide adjuvant nonylphenol ethoxylate (NP_nEO) in food, a quick and sensitive analytical method for nonylphenol ethoxylate and its metabolite nonylphenol in banana was established with UPLC-MS/MS. The samples were extracted by acetonitrile and cleaned by solid phase extraction column. Several UPLC-MS/MS conditions that included the mobile phase, monitor ions and the selection of calibration of the measurement were studied. The recovery ranged from 75% to 117% at three spiking levels from 5-40 μg/kg with relative standard deviations of 3.2%-9.6%, meanwhile, the limit of detection of nonylphenol ethoxylate were 0.005-0.04 μg/kg and nonylphenol was 0.5 μg/kg. The method was sensitive and rapid.

Key words: UPLC-MS/MS; banana; nonylphenol ethoxylate; nonylphenol

壬基酚聚氧乙烯醚(NP_nEO)是农药加工中的常用助剂之一,其降解产物壬基酚(NP)在环境中比较稳定,且具有较强的毒性和生物累积性^[1-2]。目前,有关NP_nEO和NP的分析方法主要有液相色谱

收稿日期:2011-04-25;修回日期:2011-08-01.

作者简介: * 罗金辉(1964-)男,福建人,通讯作者(Author for correspondence),副研究员,主要研究方向为农产品质量安全,电话:0898-66895011, E-mail: luocat@21cn.com

基金项目:中央公益性科研院所基本业务费(2009hzzs1J034).

法(LC)、液相色谱-质谱联用法(LC-MS)、气相色谱法(GC)、气相色谱-质谱联用法(GC-MS)等,且大多用于分析环境样品(如污水、饮用水、地表水、淤泥等)和生物样品(如鱼组织、羊毛、纺织品等)^[1-6]。由于GC及GC-MS只能测定聚合度低于4的短链壬基酚聚氧乙烯醚,而且均需进行酰化、烷基化、硅烷化等衍生处理^[7],操作较繁琐。超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)具有灵敏度高、易排除杂质干扰、分析时间短、溶剂用量少等特点^[8],常用于农药多残留及环境污染物的检测^[7-9]。目前尚未见有关采用UPLC-MS/MS方法同时分析NP_nEO及NP的报道。为了解不同聚合度的NP_nEO在香蕉中的分布及降解速率,本研究建立了香蕉中NP_nEO及NP的UPLC-MS/MS分析方法。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器

壬基酚标准品(nonylphenol,纯度98%,简称NP);壬基酚聚氧乙烯醚(NP_nEO)混合标样(由不同聚合度的NP_nEO组成,平均聚合度为10),购自日本东京化成公司;实验用水为Millipore纯水,经milli-Q净化系统0.22 μm过滤膜过滤的超纯水;试剂为色谱纯或分析纯。Waters超高效液相色谱-串联质谱仪(UPLC Quattro Prime,Masslynx工作站),石墨化碳黑/氨基复合型固相萃取柱(6 mL/500 g);Oasis HLB固相萃取柱,美国Waters公司;LC₁₈固相萃取柱,Supelclean公司;NH₂固相萃取柱,美国色谱科;Acrodisc GHP两性滤膜,美国Pall公司。

1.2 供试材料

香蕉样品采自喷洒过壬基酚聚氧乙烯醚助剂的

海南永庄村田间香蕉试验地。

1.3 样品前处理

称取25 g香蕉样品于200 mL具塞锥形瓶中,加入50.0 mL乙腈,匀浆2 min。匀浆液经滤纸过滤,加入预先放有5~7 g氯化钠的100 mL具塞量筒内,剧烈振荡2 min,于室温下静置10 min。准确吸取10 mL上清液,于旋转蒸发仪上40 °C下蒸发至近干,加入2 mL乙腈,得样品溶液。取石墨化碳黑/氨基复合型固相萃取柱,先用10 mL乙腈-甲苯(1:4,体积比)混合溶剂预淋洗,加入样品溶液,再用10 mL相同的混合溶剂分两次淋洗。收集洗脱液,用氮气吹干,用甲醇定容至2 mL,过膜(0.22 μm),待色谱检测。

1.4 检测条件

1.4.1 超高效液相色谱条件 ACQUITY UPLC C₁₈色谱柱(50 mm×2.1 mm)。流速0.25 mL/min,柱温为室温,进样量5 μL。流动相组成及梯度洗脱设计见表1。

表1 流动相组成和梯度

Table 1 Composition and gradient of flow phase

时间 Time/min	V _{乙腈(Acetonitrile)} /%	V _{水(Water)} /%
0.0	40	60
4.5	100	0
5.0	40	60

1.4.2 质谱条件 电离方式:ESI;扫描方式:多反应监测MRM;毛细管电压:3 kV;离子源温度:110 °C;去溶剂气温度:350 °C;去溶剂气流量:900 L/h;锥孔反吹气流量:50 L/h;碰撞气流速0.18 mL/min。NP检测选用ESI⁻模式,NP_nEO选用ESI⁺模式,锥孔电压和碰撞电压经条件优化(见表2)。

表2 壬基酚聚氧乙烯醚及壬基酚的质谱参数

Table 2 Mass spectrometric parameters for determination NP_nEO and NP

分析目标 Analyte	孔电压 Cone voltage/V	母离子 Parent ion <i>m/z</i>	子离子 Daughter ions <i>m/z</i>	碰撞能量 Collision energy/eV	驻留时间 Dwell time/s
NP	36	219.3	133.0	34	0.02
			146.8	32	0.02
NP ₅ EO	36	463.5	156	41	0.02
			110.9	34	0.02
NP ₆ EO	42	507.3	421.3	40	0.02
			243	37	0.02
NP ₇ EO	36	551.1	186	43	0.02
			199.2	41	0.02
NP ₈ EO	40	595.3	331.3	44	0.02
			347.2	38	0.02

续表(Continued)

分析目标 Analyte	孔电压 Cone voltage/V	母离子 Parent ion m/z	子离子 Daughter ions m/z	碰撞能量 Collision energy/eV	驻留时间 Dwell time/s
NP ₉ EO	40	639.3	553.0	30	0.02
			271.0	41	0.02
NP ₁₀ EO	35	683.3	597.4	50	0.02
			419.4	49	0.02
NP ₁₁ EO	10	727.3	479.3	57	0.02
			463.4	57	0.02
NP ₁₂ EO	19	771.4	507.5	50	0.02
			419.3	53	0.02

1.5 实际样品测定

在海南省海口市进行了农药助剂 NP_nEO 在香蕉上的消解动态试验。于香蕉结果期喷雾施药 1 次,施药有效剂量为 200 mg/kg。分别采集施药后 2 h 及 1、3、7、14、21、35、42 和 60 d 的香蕉样品, -20 °C 保存,采用所建立的方法进行测定。

2 结果与讨论

2.1 不同流动相体系的选择

由于电喷雾质谱的电离是在溶液状态下进行的,因此流动相的组成及添加剂的种类除了会影响目标化合物的保留时间和峰形外,还会明显影响到目标物的离子化效率,从而影响检测的灵敏度。因此在满足较好的色谱分离的同时,研究比较了在相同仪器条件下,分别以甲醇-水、乙腈-水、甲醇-甲酸溶液、乙腈-甲酸溶液为流动相时 NP_nEO 和 NP 的响应值。结果表明: NP_nEO 在甲醇-甲酸体系中的响应值最高,但由于甲醇和目标物酚类化合物间存在一定的氢键作用,所以其色谱图存在不同程度的拖尾现象;虽然加入适量的甲酸可以避免色谱峰拖尾,改善分离效果,但由于 NP 带有羟基,在溶液中可电

离出质子,加入甲酸会抑制 NP 的电离,从而影响其灵敏度。综合利弊,本方法最终选择乙腈-水体系为流动相。

2.2 离子化方式的选择

电喷雾电离(ESI⁺)和大气压化学电离(APCI)均有被用于 NP_nEO 检测的报道,但 ESI⁺的灵敏度和专属性更高^[3]。本研究分别采用 ESI⁺和 APCI 两种方式对 NP_nEO 进行了分析,结果表明:在 ESI⁺方式下,由于 NP_nEO 具有较强的表面活性及对碱金属离子的亲和性,在电喷雾质谱分析过程中,其往往以与碱金属离子结合的离子峰的形式存在,可有效进行离子化,灵敏度高;而 NP 在 ESI⁻下响应情况最好;因此本研究在分析 NP_nEO 时采用 ESI⁺模式,分析 NP 时则采用 ESI⁻模式。

在进行质谱条件优化时,分别取 NP_nEO 及 NP 标准溶液,以 20 mL/min 的流速分别注入离子源。在正负离子检测方式下分别对其进行一级及二级质谱全扫描,选取丰度最强的离子作为各组份的监测离子,对锥孔电压及碰撞气能量等参数进行优化,从而得到较高的灵敏度、重现性及较好的峰形。图 1 为样品中的 NP 和 NP₉EO 的多反应监测(MRM)的

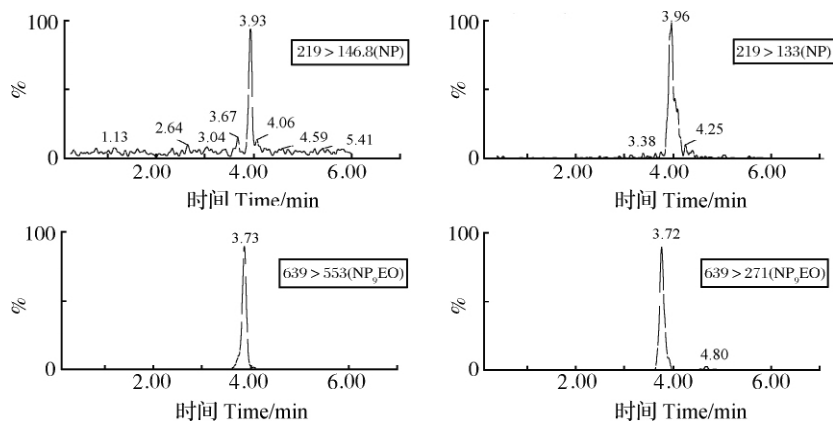


图 1 样品中 NP 与 NP₉EO 的多反应监测(MRM)色谱图

Fig. 1 MRM chromatograms of NP and NP₉EO in the sample

离子色谱图。

2.3 固相萃取条件的优化

试验中对 LC₁₈ 固相萃取柱、NH₂ 固相萃取柱、Oasis HLB 固相萃取柱、石墨化碳黑/氨基复合型固相萃取柱 4 种萃取小柱的净化效果进行了对比, 尽管其回收率均能达到 70% 以上, 但石墨化碳黑/氨基复合型固相萃取柱可除去大量的色素, 净化效果最好, 故选择该柱进行净化。通过考察不同洗脱液对回收率的影响(结果见表 3), 最终以回收率较高的乙腈-甲苯 = 1:4(体积比)为洗脱液。

2.4 方法的准确度、精密度与检出限

分别在香蕉空白样品中添加不同聚合度 NP_nEO 和 NP 的混合标样, 添加水平分别为 1、5 和 40 μg/kg, 重复 6 次。按 1.3 节所述步骤操作, 根据标准曲线, 计算得到方法的回收率及相对标准偏差(RSD)。由于基质效应在质谱分析中非常普遍, 样品中基质分子会改变电喷雾的离子化效率, 导致目标成分响应信号损失, 因此本文中的标准均为基质

标准。以 NP_nEO 及 NP 的色谱峰面积与内标峰面积的比值对质量浓度作线性回归, 发现在 4 ~ 40 μg/L 范围内线性关系良好; 在选定的色谱-质谱条件下, 分析土壤样品中 NP_nEO 及 NP 的残留量, 分别以 3 倍信噪比计算得方法的检出限(LOD)。NP_nEO 及 NP 的添加回收率、RSD 及 LOD 值见表 4。

表 3 不同洗脱液对石墨化碳黑/氨基萃取小柱回收率的影响

Table 3 Effect of different elutions solvent on the recovery of CNWBOND Carbon/NH₂ exaction column

洗脱液 Elution	化合物 Compounds	回收率 Recovery / %
V _{乙腈} (Acetonitrile) : V _{二氯甲烷} (Dichloromethane) = 1:4	NP	46 ~ 65
	NP _n EO	53 ~ 64
V _{甲醇} (Methanol) : V _{二氯甲烷} (Dichloromethane) = 1:4	NP	52 ~ 71
	NP _n EO	56 ~ 72
V _{乙腈} (Acetonitrile) : V _{甲苯} (Toluene) = 1:4	NP	80 ~ 92
	NP _n EO	80 ~ 85

表 4 NP_nEO 及 NP 在香蕉中添加回收率、精密度及检出限(n=6)

Table 4 Recovery, precision and LOD of NP_nEO and NP(n=6)

化合物 Compounds	添加水平 Fortified level/(μg/kg)	平均回收率 Average recovery / %	相对标准偏差 RSD / %	检出限 LOD/(μg/kg)
NP	5.00	75.9	8.7	0.5
	10.0	76.2	9.6	
	40.0	81.5	6.3	
NP ₅ EO	5.00	80.1	7.8	0.04
	10.0	84.3	6.5	
	40.0	88.0	9.1	
NP ₆ EO	5.00	115.0	3.2	0.04
	10.0	116.0	4.6	
	40.0	110.0	5.8	
NP ₇ EO	5.00	98.7	5.1	0.03
	10.0	95.6	2.6	
	40.0	97.3	4.1	
NP ₈ EO	5.00	93.2	3.8	0.01
	10.0	117.0	5.7	
	40.0	95.6	4.5	
NP ₉ EO	5.00	98.9	5.6	0.005
	10.0	90.2	6.3	
	40.0	93.4	4.9	
NP ₁₀ EO	5.00	80.3	5.1	0.02
	10.0	75.9	5.3	
	40.0	83.2	4.2	
NP ₁₁ EO	5.00	113.2	5.2	0.03
	10.0	96.8	4.8	
	40.0	102.3	6.7	
NP ₁₂ EO	5.00	98.2	3.2	0.03
	10.0	96.3	5.3	
	40.0	95.2	4.5	

2.5 实际样品分析

运用所建立方法对采自田间的香蕉样品进行了分析,结果表明,在喷洒 NP_nEO 后 2 h 至 28 d 内样品中的 NP 含量在 2 ~ 340 μg/kg 之间, NP_nEO (聚合度为 5 ~ 12) 含量在 9 ~ 247 μg/kg 之间。

3 结论

研究建立了超高效液相色谱-串联质谱分析热带水果香蕉中壬基酚聚氧乙烯醚及壬基酚的方法,该方法简便、灵敏、快速,在 6 min 内即可完成样品的分析,且无杂质干扰,检出限在 0.005 ~ 0.5 μg/kg 之间,添加回收率在 75% ~ 117% 之间,样品测定准确,重复性好,能满足定量分析的要求。

参考文献:

- [1] CHANG B V, CHIANG B W, YUAN S Y. Biodegradation of nonylphenol in soil[J]. *Chemosphere* 2007, 66: 1857 - 1862.
- [2] JONKERS N, KNEPPER T P, DE VOOGT P. Aerobic biodegradation studies of nonylphenol ethoxylates in river water using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [J]. *Environ Sci Technol* 2001, 35(2): 335 - 340.
- [3] ZHANG Wei-ya(张伟亚), WANG Cheng-yun(王成云), LI Li-xia(李丽霞). 液-质联用法测定纺织品中烷基酚和烷基酚聚氧乙烯醚[J]. *Chin J Anal Chem(分析测试学报)* 2007, 26(4): 515 - 518.
- [4] WANG Jin-hua(王金花), LU Xiao-yu(卢晓宇), HUANG Mei(黄梅) *et al.* 超高效液相色谱-质谱法快速分析番茄及其制品中矮壮素和缩节胺残留量[J]. *Chin J Anal Chem(分析化学)* 2007, 35(10): 1509 - 1512.
- [5] FOUNTOLAKIS M, DRILLIA P, PAKOU C, *et al.* Analysis of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in sewage sludge by high performance liquid chromatography for lowing microwave-assisted extraction [J]. *J Chromatogr A* 2005, 1089(1-2): 45 - 51.
- [6] YAO Ning(姚宁), HAO Rui-xia(郝瑞霞), CHEN Xi(陈曦), *et al.* GC-MS 法同时测定壬基酚聚氧乙烯醚短链生物降解产物[J]. *Chinese J Anal Lab(分析实验室)* 2008, 27(6): 52 - 56.
- [7] SHENG Yi(盛毅), ZHOU Shu-qiong(周述琼), ZHANG Hua(章骅) *et al.* 烷基酚聚氧乙烯醚的环境危害及检测方法评价[J]. *Modern Scientific Instruments(现代科学仪器)* 2009, 4(8): 141 - 145.
- [8] JI Ran(纪然), ZHU Guang-yan(朱光艳), LIU Bing(刘冰). 超高效液相色谱-串联质谱测定甘蓝和土壤中的醚菊酯残留[J]. *Chin J Pestic Sci(农药学报)* 2010, 12(3): 283 - 288.
- [9] SHENG Yu(盛宇), XU Jun(徐军), LIU Xin-gang(刘新刚), *et al.* 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法快速检测棉花和土壤中氟铃脲的残留[J]. *Chin J Pestic Sci(农药学报)* 2010, 12(3): 294 - 298.

(责任编辑: 金淑惠)

欢迎订阅《农化市场十日讯》

欢迎索取 WWW.NH10.CN 会员帐号及密码

《农化市场十日讯》于 1990 年创刊,是国内创刊最早的农化信息类期刊。其以农化生产、销售、科研、农资、植保及相关配套单位为主要读者对象,结合行业特点、热点,快速报道农化市场动向。2011 年该刊全新改版,“原药版”“海外版”“营销版”三版齐下,更专业、更全面地为广大读者提供优质服务。另外,中国农化市场十日讯网 2011 年全新运营,网罗农药界最新资讯,及时发布行业要闻、原药行情及市场分析,是融资讯、供求、调剂为一体的农化市场信息平台。其实行会员制:普通会员(网刊浏览)、中级会员(网刊浏览、原药行情、产品调剂、供求信息发布)、高级会员(网刊浏览下载、原药行情、电子价格曲线图、产品调剂、供求信息发布)。

银行汇款:

户名:南通市农化市场信息中心 开户行:中国农业银行南通城东分理处 帐号:716701040001297

农行卡:6228480420865358113 持卡人:孙娟

邮局汇款:江苏省南通市人民西路 366 号 农化市场信息中心 孙娟 收 邮编:226007

联系电话:0513-83556825、13809081381 传真:0513-83554785

E-mail: shirixun@126.com 网址:www.nh10.cn QQ: 394529587(十日讯)