

液相色谱-质谱/质谱法测定植物源性产品中强极性杀菌剂三乙膦酸铝残留

祝子铜, 雷美康, 姜芝英, 黄超群, 叶有标, 陈玉娇, 韩 超

Determination of Highly Polar Fungicide of Fosetyl-aluminium in Plant-derived Product by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

ZHU Zitong, LEI Meikang, JIANG Zhiying, HUANG Chaoqun, YE Youbiao, CHEN Yujiao, and HAN Chao

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023010043>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法测定植物源食品中噻呋灵胺的残留量

Determination of trifluralin residues in plant-derived food by solid phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

食品工业科技. 2017(02): 84-88 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.02.008>

同位素内标高效液相色谱-串联质谱法测定粮食及其制品中赈曲霉毒素A、B和C

Determination of Ochratoxin A,B and C in Cereals and Its Products by High-performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry Using an Isotope Internal Standard

食品工业科技. 2019, 40(21): 239-244 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.21.039>

QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中9种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂

Determination of 9 Strobilurin Fungicides in Vegetables by QuEChERS-Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

食品工业科技. 2021, 42(7): 289-295 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020060021>

同位素稀释气相色谱-串联质谱法测定动物源食品中克霉唑残留量

Determination of Clotrimazole Residue in Animal-Derived Food by Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry with Isotope Dilution

食品工业科技. 2021, 42(5): 216-220 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020030010>

同位素稀释-超高效液相色谱-串联质谱法测定水产品中孔雀石绿、结晶紫及其代谢物残留量的不确定度评定

Uncertainty Evaluation for Determination of Malachite Green,Crystal Violet and Their Metabolites in Aquatic Products by Isotope Dilution-Ultra Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

食品工业科技. 2020, 41(5): 206-214 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.05.034>

高效液相色谱-串联质谱法测定凉拌菜中4种植物毒素

Determination of Four Plant Toxins in Cold Dishes by High Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

食品工业科技. 2019, 40(24): 190-193 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.24.031>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

祝子铜, 雷美康, 姜芝英, 等. 液相色谱-质谱/质谱法测定植物源性产品中强极性杀菌剂三乙磷酸铝残留 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(3): 235-241. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023010043

ZHU Zitong, LEI Meikang, JIANG Zhiying, et al. Determination of Highly Polar Fungicide of Fosetyl-aluminium in Plant-derived Product by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(3): 235-241. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023010043

· 分析检测 ·

液相色谱-质谱/质谱法测定植物源性产品中强极性杀菌剂三乙磷酸铝残留

祝子铜¹, 雷美康¹, 姜芝英¹, 黄超群², 叶有标¹, 陈玉娇¹, 韩超^{3,*}

(1.衢州海关综合技术服务中心, 浙江衢州 324003;

2.杭州海关技术中心, 浙江杭州 310016;

3.浙江树人学院, 生物与环境工程学院, 浙江杭州 310015)

摘要:采用液相色谱-质谱/质谱法结合同位素内标法测定番茄、甘蓝、葡萄、金针菇、大米、花生等植物源性产品中强极性农药三乙磷酸铝。通过对色谱、质谱条件和前处理优化, 确定了最佳的实验条件。样品用乙腈进行提取, 经 HLB 固相萃取小柱净化, 采用 AQ C₁₈ 柱色谱柱分离, 以甲醇和 0.15% 甲酸溶液为流动相进行梯度洗脱, 流速为 0.1~0.2 mL/min。质谱采用多反应监测负离子扫描模式, 同位素内标标准曲线法定量。三乙磷酸铝在 20.0~800.0 ng/mL 范围内线性良好, 决定系数为 0.9904。三乙磷酸铝定量限为 100.0 µg/kg。对 6 种植物源性产品进行 3 个水平加标回收试验, 平均回收率范围为 69.6%~112.3%, 相对标准偏差为 1.0%~9.8%。该方法前处理简便, 灵敏度高, 能满足国内外标准法规对植物源性产品中三乙磷酸铝残留限量的要求。

关键词:植物源性产品, 强极性杀菌剂, 液相色谱-质谱/质谱法, 同位素内标法

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)03-0235-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023010043



本文网刊:

Determination of Highly Polar Fungicide of Fosetyl-aluminium in Plant-derived Product by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

ZHU Zitong¹, LEI Meikang¹, JIANG Zhiying¹, HUANG Chaoqun², YE Youbiao¹, CHEN Yujiao¹, HAN Chao^{3,*}

(1. Comprehensive Technology Center of Quzhou Customs, Quzhou 324003, China;

2. Technology Center of Hangzhou Customs District, Hangzhou 310016, China;

3. College of Biology and Environmental Engineering, Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015, China)

Abstract: A method was developed for determination of highly polar fungicide fosetyl-aluminium in plant-derived product of tomato, cabbage, grape, flammulina velutipes, rice, peanut by using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. The best experimental conditions were established by optimization of chromatogram, mass spectrum and pretreatment. Sample was extracted with acetonitrile and purified by HLB solid phase extraction cartridges. Separation was performed on the AQ C₁₈ column. The mobile phase consisted of methanol and 0.15% formic acid solution. The sample was analyzed by gradient elution and the flow rate was 0.1~0.2 mL/min. The mass spectrometer was operated in the negative ion mode (ESI⁻) using select reaction monitoring (SRM). Isotopically labelled internal standard calibration curve was used for quantitative analysis. Results showed that there was a good linearity for fosetyl-aluminium in the range of 20.0~800.0 ng/mL with a determination coefficient (r^2) of 0.9904. The limit of quantitation in the method was 100.0 µg/kg. The average recoveries of fosetyl-aluminium at three levels were in the range of 69.6%~112.3%, the RSDs were 1.0%~9.8%.

收稿日期: 2023-01-10

作者简介: 祝子铜 (1985-), 男, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 食品质量与安全检测, E-mail: ztzt1124@163.com。

* 通信作者: 韩超 (1977-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品质量与安全检测, E-mail: chaohan@zjsru.edu.cn。

The method is simple and sensitive, and can meet the requirements of domestic and foreign standards and regulations on the residual limit of fosetyl-aluminium in plant-derived products.

Key words: plant-derived product; highly polar fungicide; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS); isotopically labelled internal standard method

三乙磷酸铝(Fosethyl-AL)俗名疫霉灵、乙磷铝等,是一种广谱、低毒、安全的磷酸盐类内吸性杀菌剂,有双向内吸传导作用。它对霜霉属、疫霉属引起的病害有良好的防治效果,是目前国内外防治多种果蔬霜霉病应用较多的药剂,适用于水稻、蔬菜、瓜类等作物^[1]。随着该类杀菌剂的登记、推广和使用,该类农药残留问题逐渐被人们所关注,欧盟、美国和日本等国家和地区对该类农药制定了残留限量标准。欧盟规定三乙磷酸铝在蘑菇、谷物、油料作物等植物源性食品中的最大残留限量分别为 2、2、2 mg/kg^[2];美国规定三乙磷酸铝在柑橘类、葡萄、番茄中的最大残留限量分别为 9、10、3 mg/kg^[3];日本规定三乙磷酸铝在蘑菇、花生中的最大残留限量分别为 0.5、0.5 mg/kg^[4]。我国最新颁布的食品安全国家标准 GB 2763-2021《食品中农药最大残留限量》规定了黄瓜、苹果、葡萄、荔枝中的最大残留限量分别为 9、10、10、3 mg/kg^[5]。随着这些法规的实施,急需建立配套的测定植物源性食品中三乙磷酸铝杀菌剂的方法。

目前国内外公开报道的关于三乙磷酸铝杀菌剂分析手段主要有气相色谱法^[6]、液相色谱-质谱/质谱法^[7-10]、离子色谱-质谱/质谱法^[11-12]。气相色谱法需要先采用三甲基硅重氮甲烷在恒温下对三乙磷酸铝进行衍生化,在密闭反应瓶中用氢氧化钠碱解三乙磷酸铝生成乙醇,然后通过气相色谱法测定衍生化或碱解后的产物,从而对三乙磷酸铝进行定量。文献报道的液相色谱-质谱/质谱法分析三乙磷酸铝的方法仅仅针对菠菜^[7]、橄榄油^[8]、葡萄^[9]、甘蓝^[10]等部分基质,对其他果蔬类、谷类及油料类作物无相关研究,方法中均采用基质标准曲线外标法进行定量测定,针对不同种类的样品需要制备不同的空白基质液,存在工作量大、空白基质不易获取等问题。本研究采用乙腈进行的提取,以液相色谱-质谱/质谱法结合同位素内标法,提高了工作效率,定量的准确度。本研究采用番茄、甘蓝、葡萄、金针菇、大米、花生不同植物源性食品为研究对象,扩充了方法的应用范围。该分析方法能满足欧盟、美国、日本等国家的法规要求,助力农产品安全的出口,同时能满足 GB 2763-2021《食品中农药最大残留限量》标准中限量要求,对行政执法、国内抽检风险监测提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

番茄、甘蓝、葡萄、金针菇、大米、花生 购自本地市场(浙江衢州),取代表性样品约 500 g,将其可食部分先切碎,经多功能食品搅拌机充分捣碎均匀,试样均分为两份,装入洁净容器,密封,并标明标记,

于-18 ℃ 以下冷冻存放;乙腈、甲酸、甲醇 色谱纯,美国赛默飞世尔科技有限公司;HLB 固相萃取柱(500 mg, 6 mL)、0.22 μm 有机滤膜、无水硫酸镁、N-丙基乙二胺(PSA)、石墨化炭黑(GCB) 上海安谱实验科技股份有限公司;超纯水 由超纯水仪制得;标准物质:三乙磷酸铝、三乙磷酸铝-D₁₅ 纯度>98.0%,德国 Dr 公司。

PURELAB- Chorus 超纯水仪 英国 ELGA 公司;AB 4500 Q TRAP 液相色谱-质谱/质谱仪 美国 AB SCIEX 科技有限公司;Multifuge X1R 离心机 美国赛默飞世尔科技有限公司;T18 高速匀浆机、MS3 basic 漩涡振荡器 德国 IKA 公司;AL204 分析天平 瑞士梅特勒-托利多公司;N-EVAP-24 氮吹仪 美国 Organomation 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理 称取经捣碎均匀的试样(番茄、甘蓝、葡萄、金针菇)10 g(精确到 0.01 g)于 50 mL 离心管中,加入 200 μL 10 μg/mL 同位素内标中间液,加入 20 mL 乙腈,采用 T18 高速匀浆机以 9000 r/min 均质 1 min,在 20 ℃ 下以 8000 r/min 离心 5 min,上清液转移至 50 mL 容量瓶中,残渣中再加入 15 mL 乙腈,涡旋 1 min,以 8000 r/min 离心 5 min,合并上清液至 50 mL 容量瓶中,用乙腈定容,摇匀,待净化。

称取 5 g 试样(大米、花生,精确到 0.01 g)于 50 mL 离心管中,加入 200 μL 10 μg/mL 同位素内标中间液,加入 5 mL 水,静置 30 min,加入 20 mL 乙腈,用均质机以 9000 r/min 均质 1 min,以 8000 r/min 离心 5 min,上清液转移至 50 mL 容量瓶中,残渣中再加入 15 mL 乙腈,涡旋 1 min,以 8000 r/min 离心 5 min,合并上清液至 50 mL 容量瓶中,用乙腈定容,摇匀,待净化。

HLB 固相萃取柱依次用 5 mL 甲醇 5 mL 50% 甲醇溶液活化,取 2 mL 待净化液至已活化的 HLB 固相萃取柱中,接收上样液,再用 3 mL 乙腈洗脱,接收洗脱液,洗脱液于 45 ℃ 下氮吹至近干,用水定容至 2 mL,涡旋,过 0.22 μm 滤膜,供液相色谱-质谱/质谱仪测定。

1.2.2 标准溶液的配制 储备液:分别准确称取准确适量的标准物质和同位素内标标准物质,用 10% 乙腈溶液分别配制成浓度为 1000 μg/mL 标准储备液和同位素内标储备液,于 4 ℃ 避光保存。

中间液:分别准确移取适量的标准储备液和同位素内标储备液,用 10% 乙腈稀释配制成浓度为 10 μg/mL 的标准中间液和同位素内标中间液,于 4 ℃ 避光保存。

标准工作溶液:准确移取标准中间液适量和同位素内标中间液适量,用 10% 乙腈溶液稀释至 20.0、50.0、100.0、200.0、500.0、800.0 ng/mL 的标准工作溶液。

1.2.3 仪器条件

1.2.3.1 液相色谱条件 色谱柱:AQ-C₁₈ 柱,2.1 mm×150 mm(内径),粒度 3 μm,流动相:A 相为甲醇;B 相为 0.15% 甲酸溶液;柱温 30 ℃;流速:0.1~0.2 mL/min;进样量 20 μL;液相色谱流速及梯度洗脱见表 1。

表 1 液相色谱流速及梯度洗脱程序
Table 1 HPLC flow rate and gradient elution procedure

时间(min)	A相(%)	B相(%)	流速(mL/min)
0	0.0	100.0	0.1
3.0	0.0	100.0	0.1
4.0	5.0	95.0	0.2
9.0	90.0	10.0	0.2
11.0	90.0	10.0	0.2
11.1	0.0	100.0	0.1
16.0	0.0	100.0	0.1

1.2.3.2 质谱条件 离子源:电喷雾离子化(ESI)负离子模式;电喷雾电压:−4500 V;气帘气压力:30 psi;离子源温度:550 ℃;雾化气压力:55 psi;辅助气压力:55 psi;碰撞气:Medium;多反应监测扫描(MRM)采集参数见表 2。

表 2 三乙磷酸铝质谱参数
Table 2 Spectrometric parameter for fosetyl-aluminium

化合物	母离子(m/z)	子离子(m/z)	驻留时间(ms)	去簇电压(V)	碰撞能(V)
三乙磷酸铝	109.0	81.0 [*]	100	−50	−18
	109.0	63.0	100	−40	−33
三乙磷酸铝-D ₁₅	114.0	82.0	100	−90	−19

注:带*为定量离子。

1.3 数据处理

采用 Analyst software 1.7(美国 AB SCIEX 科技有限公司)软件进行数据采集,MultiQuant 3.0.2 软件进行数据处理和标准曲线建立。回收率及精密度采用 Microsoft Office Excel 2007 软件进行计算。回收率的计算均采用六个平行样品去平均值计算。

2 结果与分析

2.1 液相色谱条件的优化选择

2.1.1 色谱柱的选择 三乙磷酸铝为强极性物质,需要采用能够保留强极性物质的特殊色谱柱^[13-14],一般的 C₁₈ 反相液相色谱柱很难将其保留。查阅参考文献,AQ C₁₈ 色谱柱^[15-16]和 Hypercarb 色谱柱^[17-19]能够用于强极性物质的保留,试验比较了 2.1 mm×100 mm 3 μm AQ C₁₈ 柱和 Hypercarb 2.1 mm×100 mm 5 μm 色谱柱,Hypercarb 2.1 mm×100 mm 5 μm 色谱柱可以将三乙磷酸铝进行保留,但是峰形拖尾。而 2.1 mm×100 mm 3 μm AQ C₁₈ 色谱柱是一款耐 100%

水相的色谱柱,该色谱柱填料有适度的表面覆盖率和完全的封尾,对于高含水量流动相具有很好的兼容性,对有机酸等强极性化合物具有较强的保留能力,能够将三乙磷酸铝进行保留且峰形尖锐。图 1 为使用 2.1 mm×100 mm 3 μm AQ C₁₈ 色谱柱三乙磷酸铝标准溶液色谱图。因此选择使用 2.1 mm×100 mm 3 μm AQ C₁₈ 柱作为分析柱。

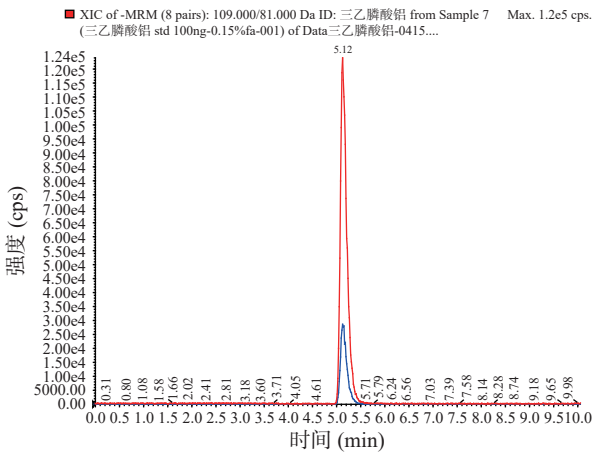


图 1 三乙磷酸铝标准溶液色谱图
Fig.1 Chromatogram of fosetyl-aluminium standard solution

注:红色谱图代表离子对 109/81,蓝色谱图代表离子对 109/63;图 2、图 3 同。

2.1.2 流动相的选择 参考文献 [20-22],试验对比了甲醇-水、甲醇-0.1% 甲酸溶液、甲醇-0.15% 甲酸溶液、甲醇-0.2% 甲酸溶液、乙腈-水、乙腈-0.15% 甲酸溶液、乙腈-0.2% 甲酸溶液作为流动相的分离效果。以三乙磷酸铝色谱峰的峰形、保留时间(Rt)、信噪比作为参考,对各流动相分离效果进行比较。

三乙磷酸铝在溶液中解离形成乙基磷酸阴离子,使得三乙磷酸铝在电喷雾离子源(ESI)离子化时形成 [M-H][−] 的准分子离子峰。推测在流动相中加入一定浓度的甲酸会对乙基磷酸的响应有一定的抑制,但是同时添加甲酸会使乙基磷酸以分子的形式存在,使乙基磷酸的峰形更加对称。由图 2 可以看出,流动相为甲醇-水时,三乙磷酸铝色谱峰前伸,峰形不对称。流动相为乙腈-水时,三乙磷酸铝色谱峰异常的窄,色谱峰采集的点数比较少,导致色谱峰面积不稳定,重现性不好。流动相加入甲酸后,三乙磷酸铝峰形变得尖锐对称。因此选择使用加入甲酸的溶液作为流动相。

实验比较了甲醇-甲酸溶液、乙腈-甲酸溶液作为流动相,色谱峰的信噪比数据。由图 2 和表 3 可以得出,当使用甲醇-0.15% 甲酸溶液作为流动相时,三乙磷酸铝色谱峰峰形尖锐对称、分析时间合适、信噪比明显较高。因此选择甲醇-0.15% 甲酸溶液作为流动相。

2.2 质谱参数的建立

三乙磷酸铝在溶液中是以乙基磷酸阴离子的形

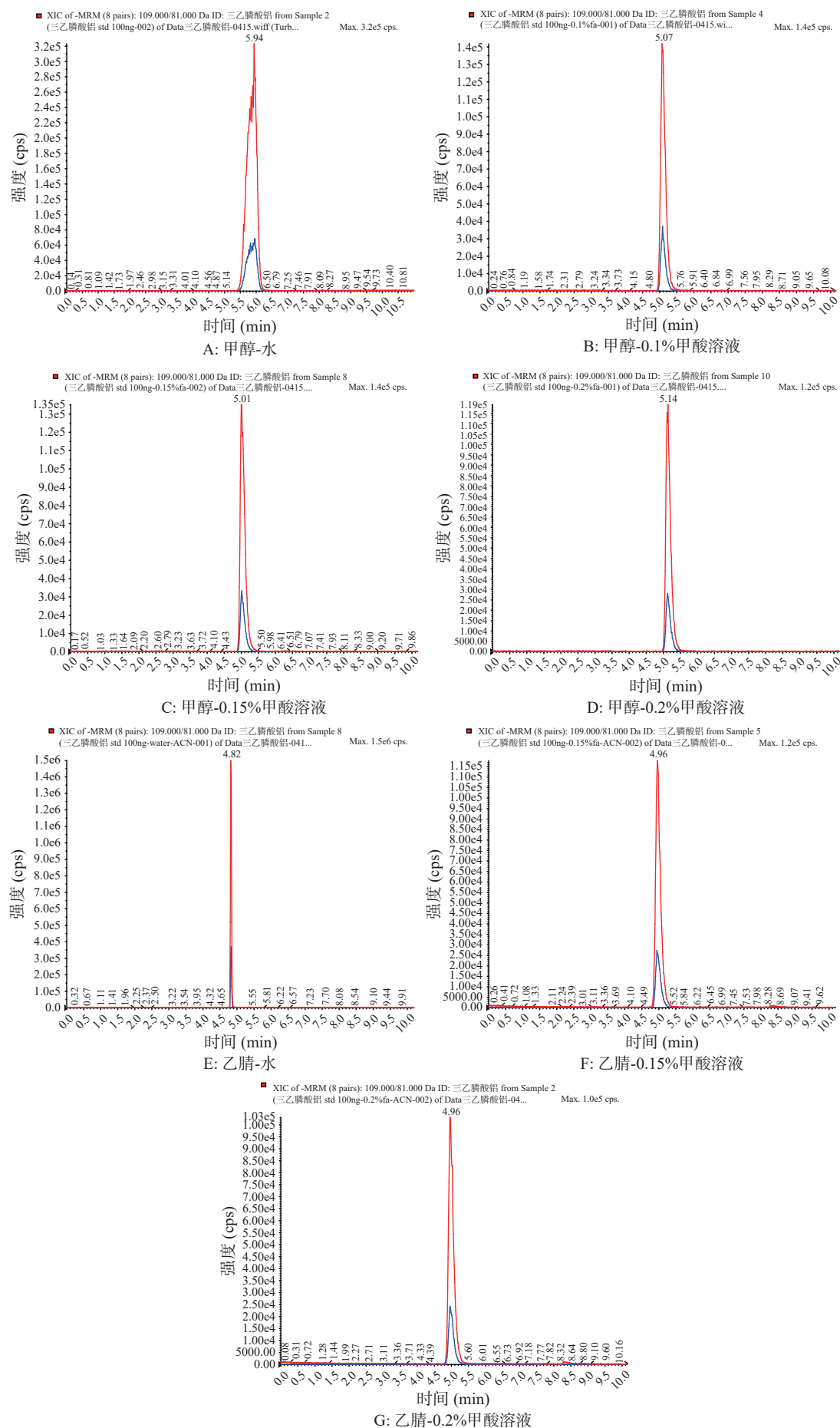


图 2 不同流动相条件下三乙膦酸铝色谱图

Fig.2 Chromatogram of fosetyl-aluminium in different mobile phase

表 3 三乙膦酸铝标准溶液在不同流动相条件下信噪比数据
Table 3 Signal to noise ratio of fosetyl-aluminium in different mobile phase

流动相	甲醇-0.1%甲酸溶液	甲醇-0.15%甲酸溶液	甲醇-0.2%甲酸溶液	乙腈-0.15%甲酸溶液	乙腈-0.2%甲酸溶液
信噪比	337	375	330	280	339

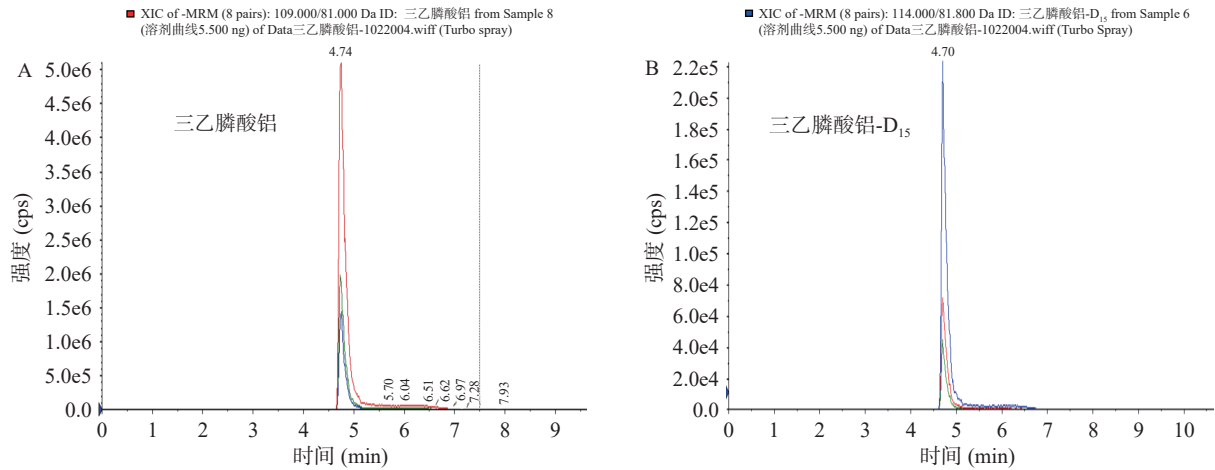


图 3 三乙膦酸铝及其同位素内标多反应监测色谱图
Fig.3 Multiple reaction monitoring chromatography of fosetyl-aluminium and fosetyl-aluminium-D₁₅ standard solution

式存在,可在负源条件下离子化,因此选用 ESI 模式,乙基磷酸形成 [M-H]⁻准分子离子峰,作为母离子。采用 1 μg/mL 待测化合物的标准溶液,分别以流动注射的方式进行母离子全扫描,确定乙基磷酸的母离子质量数。确定好母离子后分别对喷雾电压、蒸发温度、毛细管温度、气帘气流速、辅助气流速、雾化气流速行优化。优化好喷雾电压、蒸发温度、毛细管温度、气帘气流速、辅助气流速、雾化气流速之后,分别对各目标化合物进行子离子及碰撞能量优化,从中选出子离子丰度最高的碰撞能量作为最佳碰撞能量,选择两个丰度比较高、稳定性好的子离子作为定性和定量离子,建立多反应监测(MRM)模式。三乙膦酸铝详细质谱参数如表 2 所示。优化后的条件见“1.2.3”项下仪器条件。图 3 为三乙膦酸铝及其同位素内标在优化后的液相色谱条件和质谱参数下采集的色谱图。

2.3 提取条件的选择

三乙膦酸铝为强极性化合物,在溶液中以乙基磷酸阴离子的形式存在,根据工作经验及分析比较目前已发表的文献选择乙腈、1% 乙酸乙腈、1/1 乙腈溶液、1% 甲酸甲醇等溶液进行提取。实验后发现乙腈的提取效率最好,单点校正回收率在 90% 以上;乙腈对于植物源食品表现了很好的渗透性和较高的提取效率,同时又对蜡类、脂肪等非极性成分的提取能力较弱。最终选择以乙腈为提取溶液,既可以减少植物源食品中的色素,同时目标物的回收率满足《GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测》、Method validation and quality control procedures for pesticides residue analysis in food and feed 相关规定^[23-24]。

2.4 净化条件的选择

固相萃取、分散固相萃取等几种方法是常用的净化方法。用于三乙膦酸铝的固相萃取柱有 HLB、C₁₈ 固相萃取柱。分散固相萃取剂有 C₁₈、PSA、GCB、Florisil 等。GCB 能有效去除样品中的色素,对于深色的果蔬具有较好的净化效果。Florisil 适用于从非极性的基液中萃取极性化合物,如胺类、羟基类及含杂原子或杂环的化合物,但是去除色素的能力较弱;PSA 与 NH₂ 柱作用效果类似,均可吸附提取液中的极性化合物(如碳水化合物、色素)、有机酸、酚类;C₁₈ 柱对水相基质中的大部分有机物都能产生保留。实验比较了 HLB 小柱,150 mg 无水硫酸镁、25 mg PSA、75 mg GCB 几种净化方法。经实验比较,HLB 固相萃取柱可有效去除基质;150 mg 无水硫酸镁、25 mg PSA、75 mg GCB 对于色素的去除效果较好,但是回收率偏低。因此,本研究选用 HLB 小柱进行净化。

2.5 标准曲线和定量限

取按“1.2.2”项下制备好的标准工作液,以“1.2.3”项下的条件进行测定,以目标分析物的浓度与同位素内标浓度比值为横坐标,以目标分析物的峰面积与同位素内标峰面积比值为纵坐标,进行回归分析。三乙膦酸铝杀菌剂在 20.0~800.0 ng/mL 范围内呈良好的线性关系。

该方法的定量限由空白样品添加目标分析物进行回收试验获得,按“1.2.2”项下的条件进行处理,“1.2.3”项下的条件进行测定,以 10 倍信噪比(S/N>10)为定量限,结果见表 4。本实验结果显示,定量限均能满足欧盟^[2]、美国^[3]、日本^[4]和食品安全国家标准 GB 2763-2021《食品中农药最大残留限量》^[5] 的限量值要求。

表4 三乙磷酸铝的线性数据及定量限

Table 4 Linear test results and LOQ of fosetyl-aluminium

化合物	线性方程	r^2	线性范围(ng/mL)	LOQ($\mu\text{g/kg}$)
三乙磷酸铝	$Y=0.04328X+0.2847$	0.9904	20.0~800.0	100.0

2.6 回收率和精密度

测定本方法的回收率和精密度,实验选用番茄、甘蓝、葡萄、金针菇、大米、花生等作为样品基质,添加不同量的三乙磷酸铝杀菌剂标准溶液,每个添加水平平均做6个平行样,加标水平及回收率、精密度结果见表5。

表5 回收率与精密度(n=6)

Table 5 Mean recovery rate and precision (n=6)

样品基质	添加量(mg/kg)	三乙磷酸铝	
		平均回收率(%)	精密度(%)
番茄	0.3	102.7	9.8
	0.6	99.9	1.6
	3.0	92.9	2.3
甘蓝	0.5	69.6	5.8
	1.0	72.4	3.1
	10.0	74.8	6.1
葡萄	0.5	101.3	2.9
	1.0	99.1	2.3
	10.0	94.8	4.5
金针菇	0.1	105.6	4.0
	0.2	110.9	1.7
	2.0	112.3	1.0
大米	0.1	83.2	5.6
	0.2	88.9	2.8
	2.0	94.2	5.4
花生	0.1	87.2	3.0
	0.2	99.3	2.8
	2.0	106.7	1.9

2.7 方法基质效应

取空白番茄基质样品,按“1.2.2”项下方法制得空白基质溶液,用空白基质溶液将混合标准中间液稀释至20.0、50.0、100.0、200.0、500.0、800.0 ng/mL。另取混合标准中间液,用10%乙腈溶液稀释至20.0、50.0、100.0、200.0、500.0、800.0 ng/mL。将上述基质标准工作液和纯溶剂标准工作液分别进样,绘制标准曲线方程。使用上述两条标准曲线分别对不同添加浓度的番茄基质加标样品进行校正。回收率数据见表6,从表6中可以得出使用纯溶剂标准曲线进行校准,三乙磷酸铝回收率低于50%。而使用基质标准曲线进行校正,三乙磷酸铝回收率在

表6 纯溶剂标准曲线和番茄基质标准曲线校准后回收率(n=6)

Table 6 Recovery rate of pure solvent calibration and tomato matrix-matched calibration (n=6)

添加量(mg/kg)	纯溶剂标准曲线回收率范围(%)	番茄基质标准曲线回收率范围(%)
0.3	39.8~48.6	87.4~118.7
0.6	42.3~43.8	98.1~102.7
3.0	40.2~42.1	90.1~96.7

87.4%~118.7%。说明样品基质对三乙磷酸铝有较明显的基质抑制,降低基质效应的方法有通过更进一步的净化、采用基质标准曲线、对上机溶液进行稀释、采用同位素内标法等^[25-26]。本研究采用同位素内标标准曲线进行定量,可以有效地降低基质效应的影响。表6为纯溶剂标准曲线和番茄基质标准曲线校准后回收率数据。

2.8 实际样品测定

在市内农贸市场购买2份番茄、1份甘蓝、2份葡萄、1份金针菇、1份大米、1份花生等实际样品,利用本文建立的液相色谱-质谱/质谱法结合同位素内标进行测定,购买的样品中均未检出三乙磷酸铝。

3 结论

本研究采用液相色谱-质谱/质谱法结合同位素内标法,针对番茄、甘蓝、葡萄、金针菇、大米、花生等多种植物源性产品无需制备不同的空白基质液和配制基质标准曲线,提高了工作效率,解决了空白基质不易获取等实际检测问题。该方法采用乙腈进行提取,经HLB固相萃取小柱净化,采用AQ C₁₈柱色谱柱分离,以甲醇和0.15%甲酸溶液为流动相进行梯度洗脱,流速为0.1~0.2 mL/min。质谱采用多反应监测负离子扫描模式,同位素内标标准曲线法定量。三乙磷酸铝在20.0~800.0 ng/mL范围内线性良好,决定系数为0.9904。三乙磷酸铝定量限为100.0 $\mu\text{g/kg}$ 。对6种植物源性产品进行3个水平加标回收试验,平均回收率范围为69.6%~112.3%,相对标准偏差为1.0%~9.8%,能够满足欧盟、美国、日本以及我国等国内外法规中对该药物的最大残留限量要求。

参考文献

- [1] 汪智渊,杨红福,吴汉章.乙磷铝农药废液农业利用技术研究[J].安徽农业科学,2002,30(5):750-751. [WANG Z Y, YANG H F, WU H Z, et al. The analysis method for fosetyl-al residues in apples by GC[J]. Application of Waste Water of Pesticide Fosetyl-AL in Agriculture, 2002, 30(5): 750-751.]
- [2] Commission Regulation (EU) No 991/2014 of 19 September 2014 amending Annex III to Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council as regards maximum residue levels for fosetyl in or on certain products[S]. 2014.
- [3] 食品伙伴网.美国修订三乙磷酸铝在柑橘类水果中的最大残留限量[EB/OL]. [2018-03-22]. <http://news.foodmate.net/2018/03/462402.html>. [2022-02-08]. [Food Mate Net. United States revised the maximum residue limit of aluminum tris(O-ethylphosphonate) in citrus fruits[EB/OL]. [2018-03-22]. <http://news.foodmate.net/2018/03/462402.html>. [2022-02-08].]
- [4] 食品伙伴网.欧盟修订乙磷酸在部分产品中的最大残留限量[EB/OL]. [2014-09-25]. <http://news.foodmate.net/2014/09/277053.html> [2022-02-08]. [Food Mate Net. EU revised maximum residue limits for ethylene phosphate in some products[EB/OL]. [2014-09-25]. <http://news.foodmate.net/2014/09/277053.html>. [2022-02-08].]
- [5] 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 2763-2021 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S]. 2021. [National Health Commission of the People's Republic of China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, State Ad-

ministration for Market Regulation. GB 2763-2021 National food safety standard-Maximum residue limits for pesticides in food[S]. 2021.]

[6] 孙立荣,迟志娟,刘贤金,等.气相色谱法测定苹果中三乙膦酸铝残留[J].*农药*,2009,48(10):758-760. [SUN L R, CHI Z J, LIU X J, et al. The analysis method for fosetyl-al residues in apples by GC[J]. *Agrochemicals*, 2009, 48(10): 758-760.]

[7] 王洪艳,梁春实,蔡柳燕,等.高效液相色谱串联质谱法检测菠菜中三乙膦酸铝残留量[J].*农产品加工-学刊*,2012,2(2):124-126. [WANG H Y, LIANG C S, CAI L Y, et al. Rapid determination of fosetyl-aluminum residues in spinach by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Academic Periodical of Farm Products Processing*, 2012, 2(2): 124-126.]

[8] ROCIO N M, JOSE R M, RAFAEL L B, et al. Determination of polar pesticides in olive oil and olives by hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry and high resolution mass spectrometry[J]. *Talanta*, 2016, 158(1): 222-228.

[9] NARONG C. Determination of glyphosate, maleic hydrazide, fosetyl aluminum, and ethephon in grapes by liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(34): 7535-7541.

[10] 韩丙军,何燕,林冰,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定甘蓝中三乙膦酸铝的残留[J].*农药学报*,2017,19(3):403-408.

[HAN B J, HE Y, LI B, et al. Determination of fosetyl-aluminium residue in cabbage (*Brassica oleraceae* L.) by using ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2017, 19(3): 403-408.]

[11] LAURA M M, MICHAEL J T, EMILY E F. The utilization of ion chromatography and tandem mass spectrometry(IC-MS/MS) for the multi-residue simultaneous determination of highly polar anionic pesticides in fruit and vegetables[J]. *Food Chemistry*, 2019, 298(15): 1-8.

[12] ŁUKASZ R, FRANCISCO J D G, VICTOR C, et al. Coupling ion chromatography to Q-orbitrap for the fast and robust analysis of anionic pesticides in fruits and vegetables[J]. *Journal of AOAC International*, 2018, 101(2): 352-359.

[13] EMRAH G, OZGUR G, BULENT K. Quantification of fosetyl-aluminium/phosphonic acid and other highly polar residues in pomegranates using quick polar pesticides method involving liquid chromatography-tandem mass spectrometry measurement[J]. *Journal of Chromatography A*, 2021, 1642(12): 1-6.

[14] SAVINI S, BANDINI M, SANNINO A. An improved, rapid, and sensitive ultra-high-performance liquid chromatography-high-resolution orbitrap mass spectrometry analysis for the determination of highly polar pesticides and contaminants in processed fruits and vegetables[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(9): 2716-2722.

[15] 韩梅,候雪,邱世婷,等.超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱测定豆类杂粮中 53 种农药残留[J].*食品安全质量检测学报*,2020,11(8):2437-2445. [HAN M, HOU X, QIU S T, et al. Determination of 53 kinds of pesticide residues in coarse cereals by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2020, 11(8): 2437-2445.]

[16] 梁秀美,张维一,张微,等. QuEChERS-HPLC-MS/MS 法同

时测定水果中 38 种农药的残留量[J]. *食品科学*, 2020, 41(8): 288-296. [LIANG X M, ZHANG W Y, ZHANG W, et al. Simultaneous determination of residues of 38 pesticides in fruits by QuEChERS combined with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food Science*, 2020, 41(8): 288-296.]

[17] 陈晓水,朱书秀,蒋佳磊,等.高效液相色谱-串联质谱法测定烟草中马来酰肼残留量[J].*质谱学报*,2017,38(2):234-238.

[CHEN X S, ZHU S X, JIANG J L, et al. Determination of maleic hydrazide residue in tobacco by HPLC-MS/MS[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2017, 38(2): 234-238.]

[18] 刘秀娟,曹秀,余明霞,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中利巴韦林[J].*食品与发酵科技*,2022,58(6):127-131.

[LIU X J, CAO X, YU M X, et al. Determination of ribavirin in animal derived food by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food and Fermentation Science & Technology*, 2022, 58(6): 127-131.]

[19] 张秀尧,蔡欣欣,张晓艺,等.二维超高效液相色谱-三重四极杆/复合线性离子阱质谱联用法快速测定水产品及其制品中河豚毒素[J].*食品科学*,2020,41(18):311-316. [ZHANG X R, CAI X X, ZHANG X Y, et al. Rapid determination of tetrodotoxin in fresh and processed aquatic products by two-dimensional ultra-high performance liquid chromatography-triple quadrupole/linear ion trap mass spectrometry[J]. *Food Science*, 2020, 41(18): 311-316.]

[20] RENATA D A, ROBERTO R G, ROSLIA L R, et al. Fast determination of four polar contaminants in soy nutraceutical products by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Anal Bioanal Chem*, 2016, 408(28): 8089-8098.

[21] LI X J, WANG S, GUO Z, et al. Determination of fosetyl-aluminum in wheat flour with extract-dilute-shoot procedure and hydrophilic interaction liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Separations*, 2021, 197: 1-10.

[22] HANS G J M, RUUD C J V D. Rapid detection of pesticides not amenable to multi-residue methods by flow injection-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Anal Bioanal Chem*, 2014, 406: 6817-6825.

[23] 国家质量监督检验检疫总局. GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测[S]. 2008. [General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. GB/T 27404-2008 Criterion on quality of laboratories-Chemical testing of food[S]. 2008.]

[24] SANCO/12571/2013. Method validation and quality control procedures for pesticides residue analysis in food and feed[S]. 2013.

[25] 魏敏吉,李丽,张玉琰,等.液相色谱-串联质谱法在生物样品定量测定中存在的 inaccurate 因素分析和对策[J].*中国药理学杂志*,2015,11(50):925-930. [WEI M J, LI L, ZHANG Y H, et al. Discussions on the inaccurate problems and preventing strategies associated with the use of liquid chromatography-tandem mass spectrometry in quantitative assay of biosamples[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2015, 11(50): 925-930.]

[26] JANE K, ELIE F. Strategies for the elimination of matrix effects in the liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis of the lipophilic toxins okadaic acid and azaspiracid-1 in molluscan shellfish[J]. *Journal of Chromatography A*, 2010, 1217: 7123-7130.