

SCIEX Triple Quad™ 3500 系统对黄瓜中灭螨醌及代谢物定性与定量分析

Identification and Quantitation of Acequinocyl in cucumber by SCIEX Triple Quad™ 3500 system

杜文龙, 秦孟姣, 郭立海

Du Wenlong, Qin Mengjiao, Guo Lihai

SCIEX应用技术中心, 北京

Keywords: Acaricide, Triple Quad™3500, ESI

前言

灭螨醌是一种杀螨剂, 无内吸活性, 具有低污染、低毒, 高效的杀螨能力, 用于控制云杉叶螨、欧洲红螨等特殊螨虫, 对螨虫的作用机理是可以抑制电子传递链中复合物Ⅲ的线粒体呼吸作用, 键合点为复合物Ⅲ辅酶氧化作用点Q0。灭螨醌对皮肤和眼睛无刺激, 不会造成皮肤过敏, 也没有确切的研究证明它对神经系统和生殖系统有影响。但是它被认为是维生素K的拮抗物, 对血液凝固系统会带来影响, 血液凝固时间延长, 导致内出血。灭螨醌具有羟基灭螨醌等11种代谢物质。由于羟基灭螨醌仍然保留了与灭螨醌基本相同的萘醌结构, 被同样认为对血液凝固会产生影响, 因此对植物及动物源性视频中的灭螨醌进行风险评估及残留检测时, 除了灭螨醌, 还应包括羟基灭螨醌。

美国、加拿大、日本、法国、英国等国家农产品进出口均明确灭螨醌的限量标准, 最大残留量 (MRLs) 为灭螨醌及其羟基灭螨醌的混合残留总量。日本肯定列表中黄瓜中灭螨醌的限量为1 ppm; 美国联邦法规CFR TITLE 21中黄瓜中灭螨醌的限量为0.15 ppm; 《GB 2763-2021 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》规定黄瓜中灭螨醌到额限量为0.01 mg/kg; 《SN/T 4066-2014出口食品中灭螨醌和羟基灭螨醌残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》中确定灭螨醌及其代谢物的测定低限为0.005 mg/kg。

灭螨醌及羟基灭螨醌由于其稳定性的特点, 导致许多客户在实验过程中发现灭螨醌定性及定量不准确。灭螨醌在光照条件下极易转化为其代谢物, 且在不同pH溶液中转化速率也不同; 在实验中, 我们发现, 灭螨醌在环境中降解, 但并没有转化成羟基灭

螨醌。ESI源较APCI源有较好的灵敏度, 可进行代谢物的解析, 满足黄瓜中灭螨醌及其代谢物的检测需求。基于此, 我们开发了ESI离子源对灭螨醌及代谢物和降解产物进行定性与定量分析方法。

本方法具有以下特点:

- 1、低浓度水平: 本方法基质加标定量限可以做到0.1 µg/kg, 满足《GB 2763-2021 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》的限量要求;
- 2、确定灭螨醌在环境中的降解产物;

试验方法

1. 样品前处理

取10.0 g匀浆黄瓜汁, 加入10 mL乙腈、陶瓷均质子, 垂直震荡1 min, 加入提取包 (4 g硫酸镁、1 g氯化钠、1 g柠檬酸钠、0.5 g柠檬酸氢二钠), 垂直震荡1 min后4200 r/min离心5 min。

定量吸取上清液至内含除水剂和净化材料的塑料离心管中的, (每毫升提取液使用PSA 50 mg; PC 8 mg; C18 50 mg; MgSO₄ 150 mg), 涡旋混匀1 min。4200 r/min离心5 min, 吸取上清液过微孔滤膜, 供液相。

2. 液相条件

液相色谱仪: SCIEX Exion LC系统;

分析柱及流动相条件: Phenomenex Polar C18 (2.1×100mm, 1.6 µm), 流速: 0.3mL/min, 流动相A: 水 (0.05%甲酸); 流动相B: 甲醇 (0.05%甲酸)

柱温：40℃

梯度洗脱条件：

表 1. 流动相洗脱程序

时间	A%	B%
0	30	70
0.5	30	70
2.0	0	100
5.0	0	100
5.1	30	70
6	30	70

3. 质谱条件

质谱仪：SCIEX Triple Quad™ 3500系统

离子源：ESI源

离子源参数：

离子源电压 (IS)：3500 V 气帘气 (CUR)：20 psi

碰撞气 (CAD)：8 离子源温度 (TEM)：650 °C

雾化气 (Gas1)：50 psi 辅助加热气 (Gas2)：45 psi

表2. 灭螨醌和羟基灭螨醌质谱参数

化合物名称	英文名称	保留时间 RT, min	母离子	子离子	去簇电压 DP, V	碰撞能量 CE, V
灭螨醌	Acequinocyl	4.43	343.3	189.0*	120	30
			343.3	115.0	120	77
羟基灭螨醌	Hydroxyacequinocyl	4.17	343.3	189.0*	120	30
			343.3	115.0	120	77

4. 实验结果

4.1 灭螨醌及羟基灭螨醌的典型色谱图 (见图1)

4.2 标准曲线及灵敏度结果 (见图2, 表3)

采用空白基质稀释标准品，配置浓度在0.1-50 µg/L范围内的系列标准曲线，2种化合物线性关系良好，见图2，以S/N≥10为定量限标准，确定2种化合物的仪器灵敏度，见表3。

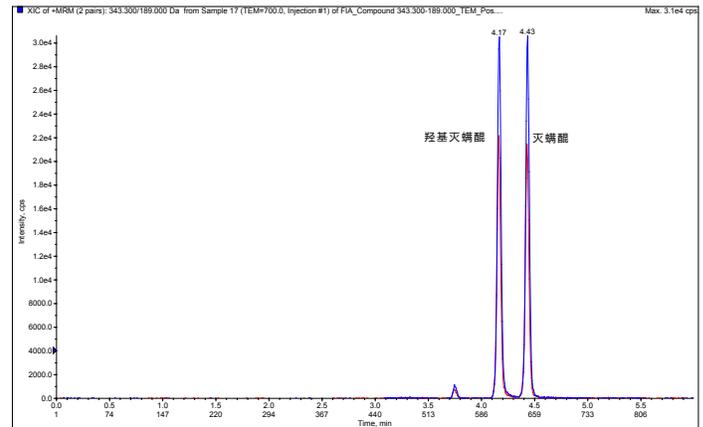


图 1. 灭螨醌和羟基灭螨醌的典型色谱图

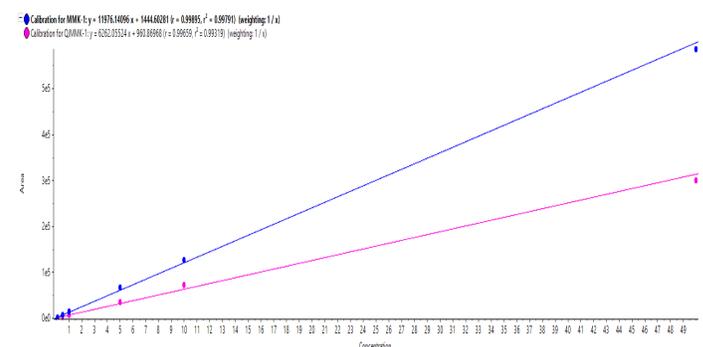


图 2. 灭螨醌和羟基灭螨醌的线性关系曲线

表 3. 灭螨醌代谢物的线性方程及定量限结果

化合物名称	线性方程	相关系数	线性范围 (µg/L)
灭螨醌	$y=11976.14096x+1444.60281$	0.9990	0.1-50
羟基灭螨醌	$y=6262.05524x+960.86968$	0.9966	0.1-50

4.3 方法回收率和稳定性

针对本方法中涉及的2种化合物，在1 µg/kg、5 µg/kg、20 µg/kg三个浓度点的重复性添加回收试验，灭螨醌的平均回收率范围83.1%~99.0%；羟基灭螨醌的平均回收率69.4%~76.7%，所有化合物的标准偏差Percent CV在2.09%~2.66%之间，方法及仪器的稳定性良好。

Component Name	Actual Concentration	Num. Values	Mean	Standard Deviation	Percent CV	Average Accuracy across Replicates
MMK-1	1.00	6 of 6	0.831	0.022	2.66	83.14
MMK-1	5.00	6 of 6	4.576	0.106	2.31	91.53
MMK-1	20.00	6 of 6	19.797	0.514	2.60	98.99
QIMMK-1	1.00	6 of 6	0.694	0.014	2.09	69.42
QIMMK-1	5.00	6 of 6	3.568	0.080	2.24	71.35
QIMMK-1	20.00	6 of 6	15.337	0.353	2.30	76.69

图 3. 方法重复性数据

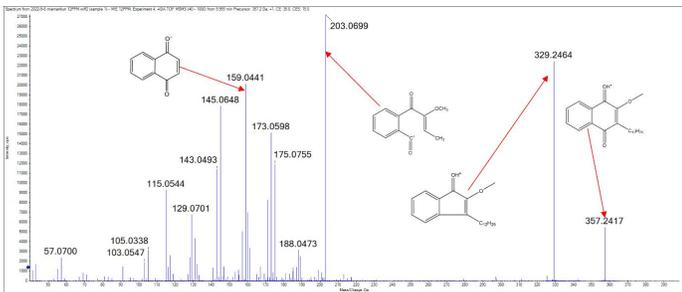


图 4. 灭螨醌降解产物碎片解析

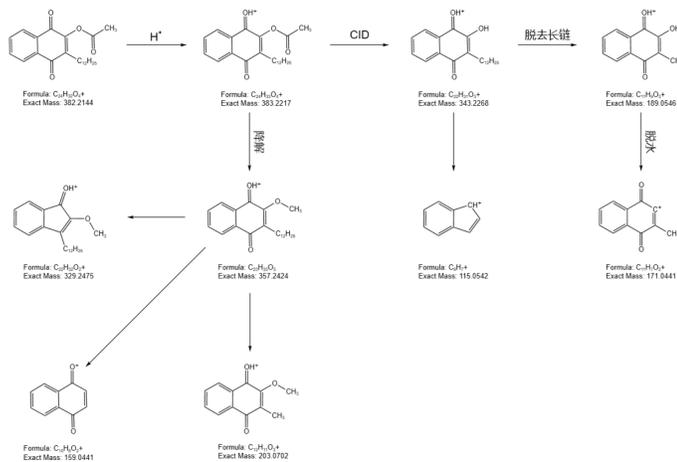


图 5. 灭螨醌裂解规律 (仅供参考)

4.4 灭螨醌降解产物的鉴定

本试验通过SCIEX X500R对降解后的灭螨醌样品（灭螨醌样品配置完成，置于日常环境中30day后）进行分析，通过SCIEX OS软件对降解产物进行结构解析，该降解产物的分子式为C₂₃H₃₂O₃，推测该产物为2-dodecyl-3-methoxynaphthalene-1,4-dione。碎片解析图见图4、图5。

4.5 关键点

- 1、灭螨醌会随着时间的变化而降解，且降解时间较快，标准工作液要临用现配；标准储备液配置完成后应及时放回-18℃冰箱中。
- 2、灭螨醌及羟基灭螨醌属于见光分解化合物，实验操作过程全程避光，样品溶液保存在棕色小瓶中。
- 3、灭螨醌及羟基灭螨醌使用90%甲醇-0.05%甲酸稀释；样品复溶液使用90%甲醇-0.05%甲酸复溶。

总结

建立了一种基于SCIEX Triple Quad™ 3500 ESI离子源分析灭螨醌和羟基灭螨醌的分析方法。该方法的灵敏度高、重复性好、准确度高。并对灭螨醌的降解产物进行了解析，推测该降解产物为2-dodecyl-3-methoxynaphthalene-1,4-dione。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT2-02-15400-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话: 010-5808-1388
传真: 010-5808-1390
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话: 021-2419-7201
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话: 020-8842-4017

官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)