

- [11] 周伟峰,王婷,马兴华,等. 顶空-气相色谱法测定土壤中代森锌的残留[J]. 环境化学, 2015, 34(7): 1380-1382.
- [12] 石利利,单正军,金怡. 荔枝中代森锰锌及其代谢产物乙撑硫脲残留量的气相色谱测定[J]. 分析测试学报, 2005, 24(2): 92-94.
- [13] 阎蕾,陈杰,昌恒. 土壤中二硫代氨基甲酸酯类农药检测方法开发[J]. 山东工业技术, 2015(4): 236.
- [14] 邵辉,刘磊,李辉,等. 溶剂吸收-气质联用法测定蔬菜和粮谷中代森铵残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(8): 2966-2972.
- [15] 边照阳,唐纲岭,张洪飞,等. 烟草中二硫代氨基甲酸酯农药残留量的测定[J]. 烟草科技, 2011(3): 46-49.
- [16] 王亚恩,王建华,刘润珠,等. 气相色谱-质谱测定蔬菜与水果中代森锰锌残留量[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(31): 15252-15255.
- [17] 臧金海,梁春实,马继军,等. 中性氧化铝柱净化-高效液相色谱法测定菠菜中的代森锰锌丙森锌和福美双[J]. 农产品加工学刊, 2012(4): 139-141.
- [18] 贺东霞. 柱前衍生-HPLC法测定香菇中二硫代氨基甲酸酯类农药残留量[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(23): 3354-3357.
- [19] 马婧玮,潘灿平,张军锋. 衍生化-高效液相色谱法测定水稻中的代森锰锌[J]. 农药, 2008, 47(6): 440-442.
- [20] 陈武瑛,董丰收,刘新刚,等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法快速测定苹果中代森锰锌残留[J]. 分析化学, 2010, 38(4): 508-512.
- [21] HAYAMA T, YADA K, ONIMARU S, et al. Simplified method for determination of polycarbamate fungicide in water samples by liquid chromatography with tandem mass spectrometry following derivatization with dimethyl sulfate [J]. J Chromatogr A, 2007, 1141(2): 251-258.
- [22] CRNOGORAC G, SCHWACK W, SCHMAUDER S. Trace analysis of dithiocarbamate fungicide residues on fruits and vegetables by hydrophobic interaction liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2008, 22(16): 2539-2546.
- [23] 陈志永,王继军,黄士忠,等. 代森锌在花生和土壤中残留测定分析方法的研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(15): 81-84.
- [24] 国家食品安全风险评估中心. 2018 年国家食品污染和有害因素风险监测工作手册(中卷)[Z]. 2018.
- [25] 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. 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量: GB 2763—2019[S]. 北京:中国农业出版社,2019.

## 实验技术与方法

# 离子色谱-三重四极杆质谱联用法测定血浆和尿液中 3-硝基丙酸

张晓艺,张秀尧,蔡欣欣,李瑞芬

(温州市疾病预防控制中心,浙江温州 325001)

**摘要:**目的 建立离子色谱-三重四极杆质谱联用技术测定血浆和尿液中 3-硝基丙酸的方法。方法 血浆和尿液标本经高氯酸水溶液提取 3-硝基丙酸, pH=1~2 条件下经固相支持液萃取法净化,叔丁基甲醚作为萃取剂,萃取液氮吹浓缩后溶于水。以 Ionpac AS 19 型阴离子色谱柱(250 mm×2 mm, 7.5 μm)作为分析柱,氢氧化钾作为淋洗液进行梯度分离,电喷雾负离子多反应监测(MRM)模式检测,基质加标标准曲线外标法定量。结果 3-硝基丙酸的线性范围为 0.1~250 μg/L,相关系数优于 0.999,在 0.30、1.00、25.0 和 200 μg/L 的浓度水平下进行加标回收试验,血浆和尿液中 3-硝基丙酸的平均加标回收率为 92.0%~114%,相对标准偏差在 2.0%~12%之间(n=6),方法的检出限(信噪比为 3)均为 0.1 μg/L。结论 本方法简单、灵敏、准确,可用于血浆和尿液中 3-硝基丙酸的检测。

**关键词:**离子色谱-三重四极杆质谱;生物标本;血浆;尿液;3-硝基丙酸

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2020)02-0149-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2020.02.008

## Determination of 3-nitropropionic acid in plasma and urine by ion chromatography-triple quadrupole mass spectrometry

ZHANG Xiaoyi, ZHANG Xiuyao, CAI Xinxin, LI Ruifen

(Wenzhou Municipal Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang Wenzhou 325001, China)

**Abstract: Objective** A simple and sensitive method for the determination of 3-nitropropionic acid (3-NPA) in plasma

收稿日期:2020-01-02

作者简介:张晓艺 女 主管技师 研究方向为食品安全检测 E-mail: 358812677@qq.com

通信作者:张秀尧 男 主任技师 研究方向为液相色谱-质谱联用技术在食品安全检测中的应用 E-mail: xyzwz123@126.com

and urine by ion chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (IC-MS/MS) was established. **Methods** Plasma and urine samples were extracted with aqueous solution containing 3% perchloric acid, and then the extract was centrifuged to remove the protein and lipids. The target analyte in the extract was cleaned-up by solid supported liquid/liquid extraction under pH=1-2, and methyl tert-butyl ether (MTBE) was used as eluent. After the MTBE was removed by nitrogen, the 3-NPA in the residues was dissolved into water. The separation of 3-NPA was carried out on a Dionex Ionpac AS19 analytic column (250 mm×2 mm, 7.5 μm) with gradient elution using KOH solution electrolytically generated from on-line eluent generation cartridge. Before the eluent flow entered the ion source of mass spectrometer, the potassium ion in the eluent was removed by an in-line suppressor. The 3-NPA was detected by negative electrospray ionization triple quadrupole mass spectrometry in the multiple reaction monitoring (MRM) mode. **Results** The result showed that the correlation coefficients of linear calibration curve of 3-NPA were above 0.999 at the corresponding concentration ranges of 0.1-250 μg/L. The average recoveries were 92.0%-114% for 3-NPA in plasma and urine with relative standard deviations of 2.0%-12% ( $n=6$ ). The limits of detection of 3-NPA ( $S/N=3$ ) were 0.1 μg/L. **Conclusion** The method is simple, sensitive and accurate, and can be used for the determination of 3-NPA in plasma and urine.

**Key words:** Ion chromatography-triple quadrupole mass spectrometry; biological samples; plasma; urine; 3-nitropropionic acid

3-硝基丙酸(3-nitropropionic acid, 3-NPA)是曲霉属和青霉属等真菌产生的有毒代谢产物,我国从变质甘蔗中曾分离到的甘蔗节菱孢、蔗生节菱孢等真菌也具有产生3-硝基丙酸的能力。3-硝基丙酸是流行于我国北方地区变质甘蔗中毒的病因,其中毒的主要症状为中枢神经系统受损,表现为呕吐、头晕、阵发性抽搐、视力障碍、眼球偏侧凝视、昏迷等,严重者可在1~3 d内死亡。幸存者常留有终身残疾后遗症,主要为锥体外系损害,表现为四肢屈曲、扭转、痉挛、肢体强直、静止时张力减低等症状<sup>[1-3]</sup>。某些高等植物也含有3-硝基丙酸及类似物,曾引起家畜中毒<sup>[4-5]</sup>。3-硝基丙酸为线粒体毒素(mitochondrial toxin),可通过血脑屏障,抑制三羧酸循环和氧化还原复合体II的功能,最终导致组织器官的损害<sup>[6-7]</sup>。大鼠灌胃3-硝基丙酸后血液浓度达峰时间约为12 min,进入血液后很快分布于各组织,并迅速通过血脑屏障,给药后5 min即可在脑部不同区域检出3-硝基丙酸。3 d内从尿、粪中排出总灌胃量的22.3%。3-硝基丙酸小鼠静脉注射的半数致死量(LD<sub>50</sub>)为50 mg/kg BW,小鼠灌胃的LD<sub>50</sub>约为68.1~100 mg/kg BW,人中毒剂量约为12.5 mg/kg BW,3-硝基丙酸对人类的毒性属于剧毒级,引起中毒的甘蔗样品中3-硝基丙酸的含量范围为285~6 660 mg/kg<sup>[8-11]</sup>。

报道生物标本中3-硝基丙酸的测定方法主要有液相色谱法<sup>[12-13]</sup>、液相色谱-质谱联用法<sup>[14]</sup>。液相色谱紫外检测法虽已应用于血浆和尿液中3-硝基丙酸的测定,但其检测灵敏度低、定性能力差,难以满足实际中毒生物标本检测的要求。有采用超高效液相色谱-串联质谱法测定血清、尿液和呕吐物等标本中3-硝基丙酸,由于采用反相色谱柱进行分离,3-硝基丙酸保留很弱,保留因子约为0.5。由于

极性基质成分的共流出,基质效应较严重<sup>[14]</sup>。

近年来,离子色谱-质谱联用(IC-MS/MS)法在环境和食品中的应用越来越广泛<sup>[15-18]</sup>,但在生物标本中的应用并不多<sup>[19-21]</sup>。有报道采用IC-MS/MS法测定了血清中异杀鼠酮,待测物在Ionpac AS11色谱柱上分离,以离子阱-串联质谱电喷雾负离子多反应监测(MRM)模式检测<sup>[19]</sup>。BAYGILDIEV等<sup>[20]</sup>建立了大鼠尿液中有机磷神经毒剂代谢产物甲基磷酸的IC-MS/MS检测方法,以阴离子交换色谱柱作为分析柱,用三重四极质谱电喷雾电离负离子MRM模式检测。本实验室曾报道血浆和尿液中的氟乙酸稳定同位素稀释IC-MS/MS检测法,方法的检出限分别为0.03和0.1 μg/L<sup>[21]</sup>。但有关测定血浆和尿液中3-硝基丙酸的离子色谱-三重四极杆质谱联用法未见有文献记载。本试验采用高氯酸超声提取,提取液用固相支持的液液萃取(solid supported liquid/liquid extraction, SLE)法净化、离子色谱分离、三重四极杆质谱电喷雾负离子MRM模式检测,方法简单、快速、灵敏、准确。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器与试剂

离子色谱系统(配备Dionex ICS-1100离子色谱仪、RFC-30淋洗液自动发生器、ASRS 500电解再生抑制器、DV-AS自动进样器,美国Thermo Scientific),QTRAP 6500三重四极杆/复合线性离子阱质谱仪(美国AB SCIEX),Orion 5-star酸度计,3~30 K高速冷冻离心机,24孔N-EVAP氮吹仪,Gradient A10 Mill-Q超纯水器(法国Millipore)。

3-硝基丙酸标准物质(N5636,纯度97%,美国Sigma),叔丁基甲醚和乙酸乙酯均为液相色谱溶剂级,高氯酸为分析纯,固相支持液液萃取柱(1 g/6 ml,

天津博纳艾杰尔科技有限公司)。健康人血浆经浙江省卫生行政部门审批由温州市中心血站提供,尿液由健康人提供。

## 1.2 方法

### 1.2.1 标准溶液的配制

称取 0.100 0 g 3-硝基丙酸标准物质,溶于水并定容至 100 ml,制成 1.00 mg/ml 的标准储备溶液, -18 ℃ 保存。临用时再用水稀释成合适浓度的标准工作溶液。

### 1.2.2 样品前处理

吸取 500  $\mu$ l 血浆或尿液标本于 5 ml Eppendroff 管中,加入 500  $\mu$ l 3% 高氯酸,旋涡 10 s, 6 ℃ 10 000 r/min 离心 5 min (离心力为 10 397 *g*), 取上清液加入至 SLE 萃取柱中,静置 5 min 以上,加入 6.0 ml 叔丁基甲醚洗脱(控制流速 1~2 ml/min),洗脱液 45 ℃ 氮吹至近干,残渣中加入 500  $\mu$ l 水溶解,过 0.2  $\mu$ m 滤膜,滤液滤至 0.5 ml 带有滤头的自动进样瓶中,待测。

### 1.2.3 仪器条件

色谱:分析柱为 Ionpac AS19 型色谱柱(250 mm  $\times$  2 mm, 7.5  $\mu$ m),保护柱为 AG19(50 mm  $\times$  2 mm), ASRS 500 阴离子抑制器(2 mm, 外接水模式),氢氧化钾淋洗液由 RFC-30 在线自动产生,梯度淋洗:0~16.0 min, 17 mmol/L KOH; 16.0~17.0 min, 17~70 mmol/L KOH; 17.0~22.0 min, 70 mmol/L KOH; 22.0~22.1 min, 70~17 mmol/L KOH; 22.1~27.0 min, 17 mmol/L KOH; 淋洗液流速为 0.30 ml/min; 柱温为 30 ℃; 定量环体积为 10  $\mu$ l。

质谱:电喷雾离子源负离子 MRM 模式。离子化电压(IS)-4 500 V,离子源温度(TEM) 500 ℃,气帘气(CUR) 277 kPa,喷雾气(GS1) 345 kPa,辅助加热气(GS2) 345 kPa,碰撞气(CAD): Medium。3-硝基丙酸定量离子对为  $m/z$  189.0  $>$   $m/z$  45.9,去簇电压(DP)为 -40 V,碰撞能量(CE)为 -16 eV;质谱峰驻留时间为 2 000 ms。

运行开始时,色谱柱流出液经六通切换阀切换至废液,11.00 min 切换至离子源中直到 18.00 min,六通切换阀又将柱流出液切换至废液中。

## 2 结果与分析

### 2.1 质谱条件优化

3-硝基丙酸为水溶性有机酸,故采用电喷雾负离子模式对质谱条件进行优化,Q1 扫描时出现  $[M-H]^-$  峰,以  $[M-H]^-$  作为母离子进行碰撞解离,子离子扫描发现只有  $m/z$  45.9 ( $[NO_2]^-$ ) 碎片离子,选为测定的定量离子,再对去簇电压、碰撞能量、离子化电

压和离子源温度等参数进行优化,使子离子的信号达到最高。再设定合适的峰驻留时间(dwelling time)使得色谱峰的采样点数在 15~20 之间,得到较好的定量重复性。

### 2.2 离子色谱条件优化

3-硝基丙酸极性较大,在反相色谱柱上保留很弱,保留因子  $k$  约为 0.5<sup>[14,22-23]</sup>,分离会与极性杂质共流出,基质抑制效应严重,在亲水色谱柱 BEH HILIC 和 Amide 色谱柱上保留更弱<sup>[23]</sup>,但特别适合于离子色谱分离<sup>[24]</sup>。本试验采用大容量 Ionpac AS19 色谱柱,用 17 mmol/L KOH 对样品中 3-硝基丙酸进行等度分离,再用 70 mmol/L KOH 作为强洗脱剂去除色谱柱上强保留成分,从而消除对后续样品分析可能造成的不良影响。色谱柱流出液经阴离子抑制器抑制除去了流动相中钾等阳离子后,进入质谱离子源进行检测。分别取 6 份不同来源的空白血浆和空白尿液按本法进行测定,未显示有内源性杂质干扰。

色谱柱流出液中 KOH 经阴离子抑制器抑制去除钾离子而生成水,有文献<sup>[25]</sup>记载利用高压泵以一定的比例泵入乙腈等有机溶剂通过三通与抑制器流出液汇合后再进入质谱进行测定,可以改善待测物的电离效果而使质谱信号增加数倍。尝试泵入一定比例的乙腈、甲醇和异丙醇,结果显示泵入的有机溶剂虽能使待测物的质谱信号有所提高,但又有稀释作用,使得质谱的最终响应没有明显变化,因此不需泵入有机溶剂。

### 2.3 样品前处理方法优化

3-硝基丙酸的酸度常数  $pK_a$  为 3.66,  $\log P$  为 -0.17<sup>[23]</sup>,常见的样品前处理方法有在  $pH = 2\sim 3$  条件下乙酸乙酯萃取法<sup>[5,26]</sup>,也有采用硅胶键合乙二胺基-N-丙基(PSA)固相萃取法<sup>[14]</sup>。由于 3-硝基丙酸被 PSA 固相萃取柱吸附,需用 10 ml 10% 氨水-甲醇溶液才能完全洗脱,条件比较苛刻,且操作步骤多,处理时间长,因此采用基于液液萃取法原理的固相支持液液萃取法进行优化,固相支持液液萃取法具有萃取效率高、影响因素少和操作简单等优点。考虑到血浆中含有蛋白质等杂质,选择高氯酸作为提取剂,既能提取 3-硝基丙酸,沉淀去除蛋白质,又能调节酸度。

以尿液标本为代表进行上样条件优化,分别取 5 份 5 ml 尿液标本,分别加入高氯酸溶液调节  $pH$  值为 1、2、3、4 和 5,再分别加入 100  $\mu$ l 1.0 mg/L 3-硝基丙酸标准溶液,用水稀释至 10 ml,取 1.0 ml 上 SLE 萃取柱,用 6.0 ml 叔丁基甲醚进行萃取洗脱和测定,结果见图 1,显示  $pH$  值在 1~2 的范围内 3-硝基丙酸

的响应值达到平台且最高,将此 pH 值范围作为 SLE 萃取柱上样条件。在 500  $\mu\text{l}$  的血浆或尿液中加入 500  $\mu\text{l}$  3%高氯酸溶液,以沉淀去除蛋白质,低温高速离心得到澄清的提取液,此时提取液的 pH 值约为 1~2,符合 SLE 萃取柱上样条件的要求。

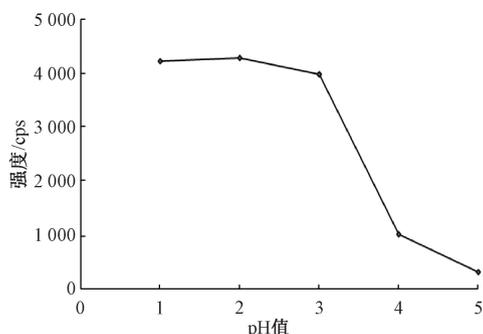


图1 上样液的酸度对3-硝基丙酸洗脱率的影响

Figure 1 Effect of the acidity of sample solution on elution rate of 3-nitropropionic acid

## 2.4 萃取剂的选择

分别取4份500  $\mu\text{l}$  血浆和尿液加标样品(加标浓度10 ng/ml),各加入500  $\mu\text{l}$  3%高氯酸溶液,离心后取上清液上SLE萃取柱,其中2份用6.0 ml叔丁基甲醚洗脱,另2份用6.0 ml乙酸乙酯洗脱,结果见图2,叔丁基甲醚的响应值高于乙酸乙酯,故选择叔丁基甲醚作为萃取剂。

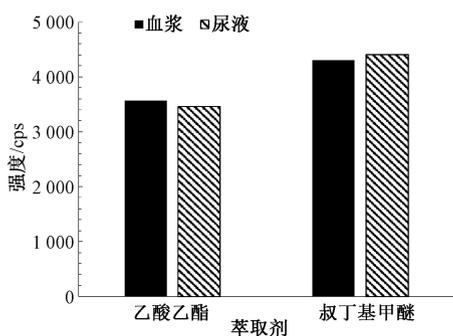


图2 萃取剂种类对3-硝基丙酸洗脱率的影响

Figure 2 Effect of eluant types on elution rate of 3-nitropropionic acid

分别取6份500  $\mu\text{l}$  血浆和尿液加标样品(加标浓度10 ng/ml)各加入500  $\mu\text{l}$  3%高氯酸溶液,离心后取上清液上SLE萃取柱,分别用3.0、6.0和9.0 ml叔丁基甲醚萃取洗脱,平行试验,以9.0 ml洗脱率为100%,结果显示6.0 ml叔丁基甲醚洗脱率约为97%,见图3。故最终选择6.0 ml叔丁基甲醚作为SLE萃取柱的萃取剂。

## 2.5 样品的基质效应和提取回收率<sup>[27]</sup>

基质效应(matrix effect, ME)是通过比较基质标准曲线的斜率与相同浓度水平的溶剂标准曲线的斜率进行评估,即  $ME = (\text{基质标准曲线的斜率} / \text{溶剂$

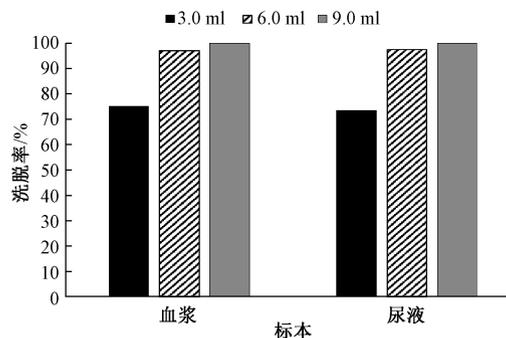


图3 萃取剂的体积对3-硝基丙酸洗脱率的影响

Figure 3 Influence of the volume of eluant on the elution rate of 3-nitropropionic acid

标准曲线的斜率)  $\times 100\%$ 。分别吸取6份500  $\mu\text{l}$  空白血浆或空白尿液按1.2.2进行样品前处理,氮吹至近干,残渣中分别加入500  $\mu\text{l}$  浓度为0.30、1.0、5.0、20.0、100和250  $\mu\text{g/L}$  3-硝基丙酸的标准工作溶液,溶解后过0.2  $\mu\text{m}$  滤膜,进行测定,得到血浆的基质标准曲线为  $y = 20280x - 4434$ ,尿液的基质标准曲线为  $y = 6951x + 4582$ ,而0.30、1.0、5.0、20.0、100和250  $\mu\text{g/L}$  3-硝基丙酸的标准工作溶液的回归方程为  $y = 20823x - 3644$ ,血浆基质效应为97.4%,不显示有明显的基质效应;而尿液基质效应为33.4%,显示有基质效应。

提取回收率(recovery of extract, RE)则通过计算基质加标标准曲线斜率与基质标准曲线斜率的比值来确定,即  $RE = (\text{加标标准曲线的斜率} / \text{基质标准曲线的斜率}) \times 100\%$ 。分别在6份500  $\mu\text{l}$  空白血浆或空白尿液加入10  $\mu\text{l}$  合适浓度的3-硝基丙酸的标准工作溶液,使血浆或尿液中3-硝基丙酸的加标浓度分别为0.30、1.0、5.0、20.0、100和250  $\mu\text{g/L}$ ,按1.2.2进行样品前处理,氮吹至近干,残渣溶于500  $\mu\text{l}$  水,过0.2  $\mu\text{m}$  滤膜后测定,得到血浆标本加标标准曲线为  $y = 11959x + 202$ ,提取回收率为59.0%;尿液标本加标标准曲线为  $y = 6399x + 179$ ,提取回收率为92.1%。

采用内标法定量可以校正待测物在样品前处理中的损失,可以校正质谱测定过程中的基质效应,从而得到更好的准确度和精密度,最理想的是采用稳定同位素内标法,但目前3-硝基丙酸还没有商品化的同位素内标,因此采用基质加标标准曲线法进行定量,试图通过基质匹配来校准样品的提取不完全和基质效应对测定结果的影响。

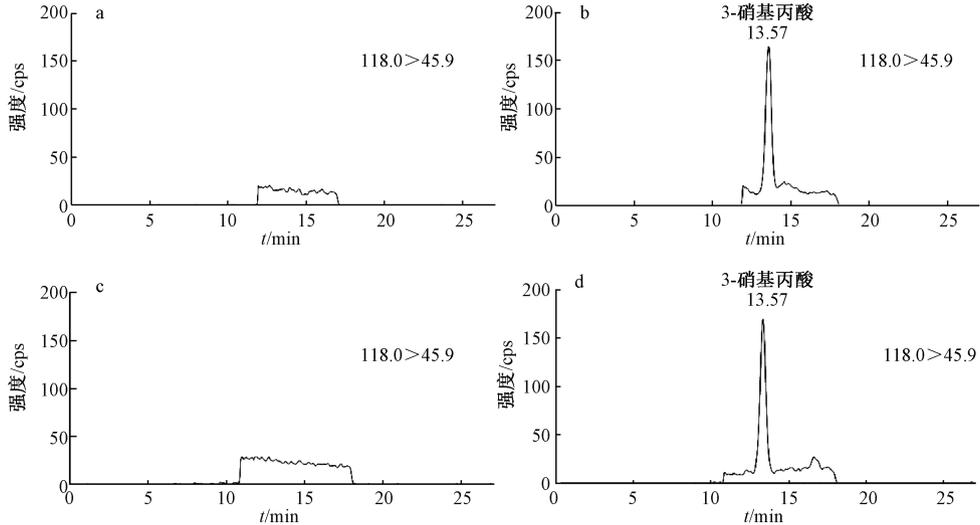
## 2.6 方法的分析性能

### 2.6.1 标准曲线、检出限和定量限

分别在6份空白血浆和6份空白尿液中加入适量3-硝基丙酸标准工作溶液,使待测物的浓度分别为0.30、1.0、5.0、20.0、100和250  $\mu\text{g/L}$ ,按1.2.2进行

样品前处理后再测定,采用 MultiQuant 定量软件进行数据处理,以定量离子对的峰面积( $y$ )对标准系列浓度( $x$ ,  $\mu\text{g/L}$ )进行回归(权重取  $1/X$ ),血浆和尿液标本的回归方程分别为: $y = 11959x + 202$  和  $y = 6399x + 179$ ,相关系数均优于 0.999,线性关系良好。

在空白血浆和空白尿液中分别加入低浓度的



注:a. 空白血浆; b. 空白血浆加标 0.3  $\mu\text{g/L}$  3-硝基丙酸; c. 空白尿液; d. 空白尿液加标 0.3  $\mu\text{g/L}$  3-硝基丙酸

图 4 3-硝基丙酸 IC-MS/MS 色谱图

Figure 4 IC-MS/MS chromatograms of 3-nitropropionic acid

### 2.6.2 样品的加标回收和精密度试验

在空白血浆和空白尿液中分别添加不同浓度的 3-硝基丙酸标准溶液,混匀,放置 30 min,再按 1.2 法进行操作,其回收率和精密度结果见表 1。血浆和尿液中 3-硝基丙酸的加标回收率在 92.0% ~ 114% 之间,相对标准偏差(RSD)在 2.0% ~ 12% 范围内,符合痕量分析的要求。

表 1 血浆和尿液中 3-硝基丙酸的加标回收率和精密度( $n=6$ )

Table 1 Recoveries and RSDs of 3-nitropropionic acid in plasma and urine samples

标本	添加浓度 /( $\mu\text{g/L}$ )	测定值 /( $\mu\text{g/L}$ )	回收率 /%	RSD /%
血浆	0.30	0.33	110	12
	1.00	1.11	111	4.8
	25.0	24.8	99.0	8.6
	200	185	92.5	9.6
尿液	0.30	0.32	107	11
	1.00	1.14	114	9.5
	25.0	23.1	92.0	7.8
	200	206	103	2.0

### 3 小结

本试验采用高氯酸提取、固相支持液萃取柱净化,离子色谱-三重四级杆质谱联用法快速测定血浆和尿液中的 3-硝基丙酸,通过操作条件的优化,

3-硝基丙酸进行测定,以分子离子对的信噪比为 3 时的标本浓度作为检出限(LOD),以信噪比为 10 时的标本浓度作为定量限(LOQ),试验测得血浆和尿液的检出限均为 0.1  $\mu\text{g/L}$ ,定量限均为 0.3  $\mu\text{g/L}$ 。血浆和尿液定量限水平加标样品的质谱色谱图见图 4。

达到较高的灵敏度,且操作简单、结果准确,适用于血浆和尿液中 3-硝基丙酸的测定。

### 参考文献

- [1] 刘兴玠,罗雪云,吕可蕊. 食变质甘蔗中毒的病因研究 I. 流行病学及临床资料的分析以及中毒样品的毒性试验[J]. 卫生研究, 1984, 13(5): 24-28.
- [2] 赵秀勉,徐玮,张海红. 变质甘蔗中毒病原菌节菱孢霉菌及其毒素国内研究进展[J]. 河北医学院学报, 1995, 16(3): 183-184.
- [3] 中华人民共和国卫生部. 变质甘蔗食物中毒诊断标准及处理原则: WS/T 10—1996 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1996.
- [4] ANDERSON R C, MAJAK W, RASMUSSEN M A, et al. Toxicity and metabolism of the conjugates of 3-nitropropanol and 3-nitropropionic acid in forages poisonous to livestock[J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(6): 2344-2350.
- [5] 汪傲,雷祖玉,冯学勤,等. 我国某些豆科植物中 3-硝基丙酸的气相色谱和气相色谱-质谱的研究[J]. 草地学报, 1992, 9(2): 34-37.
- [6] BEAL M F, BROUILLET E, JENKINS B G, et al. Neurochemical and histologic characterization of striatal excitotoxic lesions produced by the mitochondrial toxin 3-nitropropionic acid[J]. J Neurosci, 1993, 13(10): 4181-4192.
- [7] 王丹丹,李峰. 3-硝基丙酸动物模型和亨廷顿氏病[J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(8): 70-75.
- [8] 刘兴玠,李秀芳,孙艳洁,等. 变质甘蔗中毒的预防研究——I. 流行病学的调查分析[J]. 卫生研究, 1993, 22(1):

- 31-33.
- [9] 朱家琦,刘泽崧,王颖. 3-硝基丙酸的代谢研究[J]. 卫生研究,1993,22(2):93-96.
- [10] 陈晓明,胡文娟,陈君石,等. 天然毒素3-硝基丙酸的研究现状[J]. 国外医学-卫生学分册,1998,17(3):158-161.
- [11] 刘勇,吴南,吴永宁,等. 3-硝基丙酸的气相色谱-热能检测器测定法及其在大鼠体内的毒物代谢动力学研究[J]. 卫生研究,1993,22(1):35-38.
- [12] MUIR A D, MAJAK W. Quantitative determination of 3-nitropropionic acid and 3-nitropropanol in plasma by HPLC[J]. Toxicol Lett,1984,20(2):133-136.
- [13] MAJAK W, MCDIARMID R E. Detection and quantitative determination of 3-nitropropionic acid in bovine urine[J]. Toxicol Lett,1990,50(2/3):213-220.
- [14] 刘红河,刘桂华,康莉,等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定中毒样品中3-硝基丙酸[J]. 卫生研究,2016,45(1):56-60.
- [15] 桂建业,孙威,张辰凌,等. 离子色谱-串联质谱法分析环境水体中痕量人工甜味剂[J]. 分析化学,2016,44(3):361-366.
- [16] 熊洽渝,董英,周洪斌,等. 在线富集离子色谱-质谱联用法同时测定饲料添加剂中的16种有机酸[J]. 色谱,2014,32(2):145-150.
- [17] 杜利君,刘晓琳,李晓雨,等. 分散固相萃取-离子色谱质谱法测定乳制品中硫氰酸盐含量[J]. 中国食品添加剂,2017(6):190-194.
- [18] 杜利君,花锦,赵悠悠,等. 分散固相萃取-离子色谱质谱法测定水果和蔬菜中的草甘膦残留量[J]. 分析实验室,2017,36(11):1277-1280.
- [19] CAI M Q, DONG X Y, CHEN X H, et al. An assay for identification and determination of toxic rodenticide valone in serum by ion chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry with ion trap detector [J]. Talanta,2009,78(1):242-247.
- [20] BAYGILDIEV T, ZATIRAKHA A, RODIN I, et al. Rapid IC-MS/MS determination of methylphosphonic acid in urine of rats exposed to organophosphorus nerve agents [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci,2017,1058(5):32-39.
- [21] 张晓艺,张秀尧,蔡欣欣,等. 稳定同位素稀释离子色谱-三重四极杆质谱法测定血浆和尿液中的氟乙酸[J]. 色谱,2018,36(10):979-984.
- [22] 张璐,乐爱山,郑玲,等. 固相萃取/超高效液相色谱-电喷雾串联质谱法检测酶制剂中3-硝基丙酸[J]. 分析测试学报,2013,32(6):747-752.
- [23] 李兵,吴国华,刘伟,等. 固相萃取-超高效液相色谱串联质谱法检测甘蔗中3-硝基丙酸的方法研究[J]. 中国食品卫生杂志,2012,24(2):127-132.
- [24] 邵国健,姚建花,朱文涛. 固相萃取-离子色谱法测定甘蔗中3-硝基丙酸[J]. 中国卫生检验杂志,2016,26(15):2154-2156.
- [25] ADAMS S, GUEST J, DICKINSON M, et al. Development and validation of ion chromatography-tandem mass spectrometry-based method for the multiresidue determination of polar ionic pesticides in food[J]. J Agric Food Chem,2017,65(34):7294-7304.
- [26] 江涛,张庆林,罗雪云. 3-硝基丙酸的高效液相色谱分析[J]. 卫生研究,1999,28(5):300-302.
- [27] MATUSZEWSKI B K, CONSTANZER M L, CHAVEZ-ENG C M. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS[J]. Anal Chem,2003,75(13):3019-3030.

## 实验技术与方法

# 超高效液相色谱-串联质谱法测定白酒中9种甜味剂

王丽英,任贝贝,路杨,刘梦颖,刘印平,常凤启  
(河北省疾病预防控制中心,河北 石家庄 050021)

**摘要:**目的 建立准确、快速检测白酒中安赛蜜、糖精钠、甜蜜素、阿斯巴甜、三氯蔗糖、纽甜、阿力甜、甜菊糖苷和甜菊双糖苷9种甜味剂的超高效液相色谱-串联质谱分析方法。方法 样品经沸水浴加热除去乙醇,采用超高效液相色谱-串联质谱法进行检测。以水(含10 mmol/L 乙酸铵)和甲醇为流动相,HSS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm)进行分离,电喷雾离子化多反应监测模式检测。结果 9种甜味剂在相应线性范围内关系良好,相关系数均≥0.999;方法回收率为85.2%~102.8%,相对标准偏差(RSD)为3.8%~7.3%;检出限为0.3~1.5 μg/kg。结论 该方法操作简单快速、重现性好,可用于白酒中9种甜味剂的检测。

**关键词:**甜味剂;糖精钠;甜蜜素;白酒;超高效液相色谱-串联质谱

**中图分类号:**R155 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2020)02-0154-06

**DOI:**10.13590/j.cjfh.2020.02.009