

LC-MS在手性农药对映体分析中的应用

王楠, 刘宇辉, 梁啸

辽宁大学药学院, 辽宁 沈阳

收稿日期: 2024年3月7日; 录用日期: 2024年5月10日; 发布日期: 2024年5月17日

摘要

目前使用的农药中, 手性农药占40%。手性农药具有一个或多个手性中心, 同时也具有多对对映异构体, 它们在生物活性、生态毒性和环境行为等方面表现出对映选择性差异。利用液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)可以分析出如活性高、毒性低的优势对映异构体, 推动农药单体的生产和推广, 对食品和环境安全具有重要意义。本文综述了LC-MS在手性农药杀菌剂、杀虫剂和除草剂对应异构体分析中的应用, 旨在为农药单体使用提供依据。

关键词

LC-MS, 手性农药, 对映体

Application of LC-MS in Pesticide Enantiomer Analysis

Nan Wang, Yuhui Liu, Xiao Liang

College of Pharmacy, Liaoning University, Shenyang Liaoning

Received: Mar. 7th, 2024; accepted: May. 10th, 2024; published: May. 17th, 2024

Abstract

Chiral pesticides account for 40% of the pesticides currently in use. Chiral pesticides have one or more chiral centers as well as multiple pairs of enantiomers, which exhibit enantioselective differences in biological activity, ecotoxicity and environmental behavior. Using liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), advantageous enantiomers, such as those with high activity and low toxicity, can be analyzed to promote the production and dissemination of pesticide monomers, which is of great significance for food and environmental safety. This paper reviews the application of LC-MS in the analysis of enantiomers corresponding to chiral pesticide fungicides, insecticides and herbicides, aiming to provide a basis for the use of pesticide monomers.

Keywords

LC-MS, Chiral Pesticides, Enantiomer

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

蔬菜是人们生活中不可缺少的农产品, 因其病虫害严重, 农药使用频繁[1]。然而, 滥用农药会在食品和环境留下不必要的残留物, 因此, 为确保食品安全, 对农药进行合理应用是必要的。目前使用的杀虫剂、杀菌剂、除草剂和植物生长调节剂等许多农药都具有手性, 手性农药约占农药总量的 40%, 虽然手性农药含有多种对映体, 但通常只有一种对映体具有较高的生物活性, 而其他对映体具有低活性或无相关活性, 甚至对人体有害, 因此, 手性农药对映体的科学评价对食品安全和环境安全具有重要意义[2]。

气相色谱(GC)结合各种传统检测技术如电子捕获检测(ECD)、火焰光度检测(FPD)、火焰电离检测(FID)以及液相色谱(LC)结合紫外线(UVD)和荧光检测(FLD)技术是食品和环境样品中农药残留分析最常用的技术。然而, 在采用这些传统的检测方法之前, 需要大量的样品制备来提取目标分析物。此外, 传统的样品制备需要液-液溶剂萃取和柱层析(CC)纯化, 耗时较长。随着技术的进步, 质谱(MS)可以很容易地与 GC 或 LC 组装, 已成为一种流行的分析农药的工具, 具有所需的灵敏度[3]。在气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)和液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)中, 最常用的对映异构体分离方法是使用手性固定相直接分离。GC-MS 的缺点是无法分析低挥发性、高极性和热不稳定的样品, 因此, LC-MS 具有更广的研究范围和更高的灵敏度, 优于等效的 GC-MS 系统[4]。此外, 市场上新型农药的总体趋势在性质上变得更加极极性, 这使得 LC-MS 成为分析的热门选择[5]。

本文概述了 LC-MS 的构成和原理, 对手性农药进行了简要介绍, 从杀菌剂、杀虫剂和除草剂三个方面简单概述了 LC-MS 技术在对映体分析中的应用。

2. LC-MS 简介

LC-MS 全称为液相色谱-质谱联用技术, 简称液质联用技术, 是目前应用最广的色谱-质谱联用技术之一[6]。它以液相色谱作为分离系统, 质谱作为检测系统, 将色谱的高分离能力和质谱的高选择性、高灵敏度的优点结合起来[7]。

2.1. LC-MS 仪器的构成

LC-MS 仪器包括自动进样器、HPLC 系统、电离源、质量分析器和检测器。理想情况下, 这些元素都在单个计算机系统的控制之下[8]。实验常用的流动相为水、甲醇、乙醇和乙腈等, 同时按需添加离子化试剂, 常用的有甲酸、乙酸、甲酸铵和乙酸铵等。色谱与质谱的接口技术, 最常用的电离源是电喷雾电离(ESI)和大气压化学电离(APCI)。目前比较常见液质联用仪主要有单四级质谱仪、飞行时间质谱仪、三重四级杆质谱仪和离子阱质谱仪[9], 紫外(UV)检测器仍然是 LC 中最常用的检测器[10]。

2.2. LC-MS 的原理

液质联用以液相色谱作为分离系统, 质谱为检测系统。样品在质谱部分和流动相分离, 被离子化后,

经质谱的质量分析器将离子碎片按质量数分开,经检测器得到质谱图[11]。对于 LC-MS 接口技术,ESI 和 APCI 是用于质谱仪的标准配置。对于 ESI 和 APCI,一些高压和热的组合被用于电离样品产生离子,然后由 MS 系统分析。在 ESI 中,高压场(3~5 kv)使色谱柱的流出物雾化,产生带电液滴,然后被聚焦到质谱仪上。这些液滴在接近质谱仪入口时逐渐变小,出现单个离子,然后被质谱系统分离。在 APCI 中,加热使柱洗脱液蒸发,然后电晕放电使溶剂分子电离,然后通过化学电离机制产生分析物离子[8]。

3. 手性农药简介

农药,是指农业上用于防治病虫害及调节植物生长的化学药剂。按用途主要可分为杀菌剂、杀虫剂、除草剂、杀线虫剂、杀软体动物剂、植物生长调节剂等。手性是自然界的基本属性,类似于人的左右手,不能重叠但互为镜像,手性农药具有手性特征,包括外消旋体和非外消旋体[12]。农化行业正在不断寻找新的农药,以开发具有最佳功效、较低的田间施用量、更高的选择性、良好的毒理学和环境安全性、更强的用户友好性和更好的经济可行性的产品,实现这些目标的一个策略是利用含有不对称中心的手性农药[13],研究开发环境友好的光学纯单体农药。

目前使用的农药中,手性农药约占农药总量的 40% [2],其中大多数是对映异构体或非对映异构体的外消旋混合物。对映异构体具有相同的物理化学性质,但它们通常表现出不同的药代动力学和药效学[4],在生物活性、生态毒性和环境行为方面表现出对映选择性差异[14]。在许多外消旋化合物中,只有一种对映体具有生物活性,或者比另一种对映体活性高得多[13]。例如,茚虫威对映体之间生物活性差异在 10 倍以上,其中 *S*-茚虫威作为高效体,其生物活性是 *R*-茚虫威的 1000 倍以上,目前市售茚虫威原药中 *S*-茚虫威与 *R*-茚虫威的比例约为 3:1 [15]。因此,手性农药对映体的科学评价对食品和环境安全具有重要意义。

4. LC-MS 在手性农药对映体分析中的应用

随着 LC-MS 技术的快速发展,其在手性农药的对映体分析中得到了越来越广泛的应用。手性农药具有不同的对映选择性生物活性,利用 LC-MS 技术,通过体内分析,可以鉴定出如活性高、毒性低的优势对映异构体,有助于开发生产光学纯单体农药,减少药量使用里,降低环境污染,提高食品安全。下面概述了 LC-MS 在手性杀菌剂、杀虫剂和除草剂对映体分析中的应用。

4.1. 手性杀菌剂

在所有农药中,杀菌剂的用量是世界上最多的。常用的杀菌剂主要有三唑类和酰胺类,均为手性农药[2]。杀菌剂主要用于发展中国家防治真菌病害。谷物、水果和蔬菜品种通常在整个生长季节与杀菌剂一起使用,以更好地预防疾病[16]。鉴于手性杀菌剂的生物学效应存在差异,人们频繁关注使用手性杀菌剂的不良影响,开始研究评估其对映选择性环境风险,包括急性毒性、内分泌干扰作用、代谢紊乱等[17]。

张兆贤等[18]基于 LC-MS 技术研究了 4 种手性三唑类杀菌剂在大鼠肝微粒体中的对映选择性代谢,结果表明,粉唑醇和灭菌唑的 *R*-对映异构体优先代谢,丙硫菌唑没有立体选择性,为三唑类杀菌剂的风险评估提供了更准确的数据。王霞等[19]研究了手性杀菌剂灭菌唑和丙硫菌唑在土壤中的对映选择性降解及其在蚯蚓中的对映选择性积累,结果表明,*R*-三替康唑和 *S*-丙硫菌唑优先积累,与土壤相似,应考虑代谢物的对映选择性毒性和潜在影响,以更准确地评估灭菌唑和丙硫菌唑对靶物种和非靶物种的生态风险。

4.2. 手性杀虫剂

杀虫剂是指用于害虫防治的化学药剂,是农药中用量最大、种类最多的。手性杀虫剂的使用预期带来直接收益的同时,也会对生态环境造成严重的危害,环境中持久性杀虫剂残留会对生态环境构成威胁。

随着技术的发展, 对手性杀虫剂的风险评估变得越来越重要, 此外, 手性杀虫剂对非靶标生物的毒理学作用越来越受到人们的关注, 因为它们对生态系统保护具有重要意义[19]。

崔静娜等[20]研究了手性杀虫剂马拉硫磷及其代谢物在斑马鱼中的生物蓄积、代谢及毒理作用, 研究发现, 马拉硫磷和马拉氧磷在斑马鱼组织中的积累具有立体选择性, 表现出优先富集的 *S*-对映异构体。*Rac*-马拉硫磷对斑马鱼的毒性较低, 分别是 *S*-马拉硫磷和 *R*-马拉硫磷的 1.2 倍和 1.6 倍, 研究结果为评估马拉硫磷对水生系统的环境风险提供了见解, 特别是对映异构体和代谢物。周彤等[21]研究了柑橘花蜜源系统中手性杀虫剂吡丙醚的立体选择性降解、生物学效应和暴露风险。立体选择性降解和生物效应现象表明, *S*-(-)-吡丙醚的立体异构体降解速度比 *R*-(+)-吡丙醚慢, 但 *R*-(+)-吡丙醚对靶标的降解效率更高。因此, 增加 *R*-(+)-吡丙醚活性对柑橘的持续时间有利于疗效。

4.3. 手性除草剂

除草剂是有毒的农用化学品, 可使杂草彻底地或选择地发生枯死。随着除草剂在农业中的使用越来越多, 大大增加了除草剂残留的发生率。*LC-MS* 广泛用于鉴定具有较高除草活性的对映异构体[19], 在开发使用单一对映体上发挥了重大作用。

张彦青等[22]研究了手性除草剂呋草酮在土壤中的对映选择性生物活性, 研究发现, *R*-呋草酮的生物活性分别是 *S*-呋草酮和 *Rac*-呋草酮的 6.3~35.6 倍和 1.7~9.9 倍。*R*-对映异构体对除草活性的贡献率为 86.3%~97.3%, 因此, 开发 *R*-呋草酮可以降低环境风险, 保护人类健康。岳思青等[23]评估了手性草铵膦从外消旋体切换到单一对映异构体的疗效风险, 证明 *L*-草铵膦具有更好的抑制杂草生长和对斑马鱼的早期毒性的功效 - 风险评估优势, 因此使用 *L*-草铵膦代替外消旋型草铵膦可以减轻对环境的大量不必要的污染, 有助于指导未来单一对映体的生产。

5. 总结和展望

5.1. 总结

在过去的几十年里, 农药在农业生产中得到了广泛的应用的同时, 也给环境安全和食品安全带来了不可避免的危害, 因此, 农药的合理应用很重要。手性农药作为一类特殊的农药, 被认为在减少农药施用总量方面具有广阔的前景[14]。手性农药不同对映异构体的生物学性质, 包括其生物活性、生态毒性和环境行为, 往往存在显著差异, 利用 *LC-MS* 技术分析对映异构体, 鉴定出优势单体, 进而对农药单体进行更全面的评估, 具有重要意义。

5.2. 展望

未来我们需要对农药单体的健康风险进行更全面的评估, 以便为今后农药单体的推广和使用提供更多参考。在对映体水平上对手性农药进行系统评价, 将为减少农药施用提供重要的数据支持和经验依据[14], 并为研究和开发低毒高效的光学纯单体农药提供了广阔的前景。

参考文献

- [1] 曹爱兵, 姚瑶, 陈长军, 等. 我国蔬菜农药的登记、残留现状及安全使用[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(22): 8-14.
- [2] Li, L., Wang, H., Shuang, Y., *et al.* (2019) The Preparation of a New 3, 5-Dichlorophenylcarbamated Cellulose-Bonded Stationary Phase and Its Application for the Enantioseparation and Determination of Chiral Fungicides by *LC-MS/MS*. *Talanta*, **202**, 494-506. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.05.011>
- [3] Rahman, M.M., Lee, D.J., Jo, A., *et al.* (2021) Onsite/On-Field Analysis of Pesticide and Veterinary Drug Residues by a State-Of-Art Technology: A Review. *Journal of Separation Science*, **44**, 2310-2327. <https://doi.org/10.1002/jssc.202001105>

- [4] Petrie, B., Camacho Muñoz, M.D. and Martín, J. (2019) Stereoselective LC-MS/MS Methodologies for Environmental Analysis of Chiral Pesticides. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **110**, 249-258. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.11.010>
- [5] Petrovic, M., Farré, M., De Alda, M.L., *et al.* (2010) Recent Trends in the Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of Organic Contaminants in Environmental Samples. *Journal of Chromatography A*, **1217**, 4004-4017. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.02.059>
- [6] 张丽杰, 孟鑫, 陈忠新, 等. 基于液质联用技术的中药药代动力学研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2015(7): 91-93.
- [7] 刘文. 液质联用技术在药物分析领域的应用进展[J]. 山东化工, 2017, 46(22): 46, 48.
- [8] Korfmacher, W.A. (2005) Foundation Review: Principles and Applications of LC-MS in New Drug Discovery. *Drug Discovery Today*, **10**, 1357-1367. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(05\)03620-2](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(05)03620-2)
- [9] 许晓辉, 邱国玉, 景武堂, 等. 液质联用技术在新药研发中的应用[J]. 转化医学电子杂志, 2018, 5(11): 90-94.
- [10] Beccaria, M. and Cabooter, D. (2020) Current Developments in LC-MS for Pharmaceutical Analysis. *Analyst*, **145**, 1129-1157. <https://doi.org/10.1039/C9AN02145K>
- [11] 张文君, 李敏敏, 张凤. 液质联用技术及其应用[J]. 山东化工, 2014, 43(11): 121-122.
- [12] 周佳, 梁水连, 相坛坛, 等. 手性农药研究进展[J]. 江西农业学报, 2021, 33(7): 75-80.
- [13] Jeschke, P. (2018) Current Status of Chirality in Agrochemicals. *Pest Management Science*, **74**, 2389-2404. <https://doi.org/10.1002/ps.5052>
- [14] Meng, Z., Cui, J., Li, R., *et al.* (2022) Systematic Evaluation of Chiral Pesticides at the Enantiomeric Level: A New Strategy for the Development of Highly Effective and Less Harmful Pesticides. *Science of the Total Environment*, **846**, Article ID: 157294. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157294>
- [15] 郭浩铭, 魏一木, 刘雪科, 等. 手性农药选择性生物活性与毒性效应研究进展[J]. 农药学学报, 2022, 24(5): 1108-1124.
- [16] Polat, B. and Tiryaki, O. (2023) Determination of Fungicide Residues in Soil Using QuEChERS Coupled with LC-MS/MS, and Environmental Risk Assessment. *Environmental Monitoring and Assessment*, **195**, Article No. 986. <https://doi.org/10.1007/s10661-023-11550-w>
- [17] Ji, C., Song, Z., Tian, Z., *et al.* (2023) Enantioselectivity in the Toxicological Effects of Chiral Pesticides: A Review. *Science of the Total Environment*, **857**, Article ID: 159656. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159656>
- [18] Zhang, Z., Gao, B., He, Z., *et al.* (2019) Enantioselective Metabolism of Four Chiral Triazole Fungicides in Rat Liver Microsomes. *Chemosphere*, **224**, 77-84. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.119>
- [19] Wang, X., Liu, Y., Xue, M., *et al.* (2019) Enantioselective Degradation of Chiral Fungicides Triconazole and Prothioconazole in Soils and Their Enantioselective Accumulation in Earthworms *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **183**, Article ID: 109491. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109491>
- [20] Cui, J., Wei, Y., Jiang, J., *et al.* (2023) Bioaccumulation, Metabolism and Toxicological Effects of Chiral Insecticide Malathion and Its Metabolites in Zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, **318**, Article ID: 137898. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.137898>
- [21] Tong, Z., Yang, T., Sun, M., *et al.* (2022) Systemic Assessment of the Chiral Insecticide Pyriproxyfen in a Citrus Nectar Source System: Stereoselective Degradation, Biological Effect and Exposure Risk. *Pest Management Science*, **78**, 3012-3018. <https://doi.org/10.1002/ps.6926>
- [22] Zhang, Y., Zhou, L., Li, R., *et al.* (2023) Comprehensive Assessment of Enantioselective Bioactivity, Toxicity, and Dissipation in Soil of the Chiral Herbicide Flurtamone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **71**, 4810-4816. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c00223>
- [23] Yue, S., Kong, Y., Shen, Q., *et al.* (2020) Assessing the Efficacy-Risk of the Widely Used Chiral Glufosinate: Switch from the Racemate to the Single Enantiomer? *Environmental Science & Technology Letters*, **7**, 143-148. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.9b00789>