

气相色谱-质谱联用法测定食品中腐霉利残留量

卢晓宇¹ 陈跃² 王金花^{1*} 杜振霞² 徐超一¹

(1. 北京出入境检验检疫局, 北京 100026; 2. 北京化工大学理学院, 北京 100029)

摘要: 建立了气相色谱-质谱法测定食品中腐霉利的快速分析方法。样品用乙腈提取, 通过石墨化碳固相萃取柱净化, 经 DB-5 ms 气相色谱柱分离, 正电子电离(EI⁺)、选择离子监测模式(SIM)为定量离子和定性离子进行 MS 测定。结果表明, 腐霉利添加水平为 0.010、0.020 和 0.040 mg/kg 时, 回收率为 102.8% ~ 111.3%, 相对标准偏差小于 10%, 最低检出限为 0.005 mg/kg。本方法具有很高的灵敏度和准确度, 能够满足食品中腐霉利残留量的快速、高灵敏检测分析。

关键词: 腐霉利; 气相色谱-质谱联用; 农药残留; 食品安全

中图分类号: TB52

引言

腐霉利(procymidone)也叫速克灵、杀霉利, 是 N-(3,5-二氯苯基)-1,2-二甲基环丙烷-1,2-二羧基亚胺的商品名称, 是一种广谱内吸性杀菌剂, 具有保护和治疗作用, 对低温、高温条件下发生的各种作物的灰霉病菌核病有显著防效, 对葡萄孢属和核盘菌属所引起的病害具有特效^[1]。近年来, 为防治食品灰霉病(葡萄孢属灰霉菌)^[2-3], 腐霉利已被广泛应用。

腐霉利属低毒杀菌剂, 一般只对皮肤和眼有刺激作用^[4], 我国制定了果菜和菜籽油中腐霉利残留的限量标准分别为 2.0 mg/kg 和 1.0 mg/kg, 欧盟、美国及日本的“肯定列表制度”中规定食品中腐霉利残留的最低限量为 0.02 mg/kg^[5-6]。检测腐霉利残留的方法, 可采用高速溶媒提取液相色谱法^[7]、微量化学法^[8]、常规的液相色谱法和气相色谱法^[9-12], 但上述方法无法准确定性的缺点无法适应现今的检测要求, 而应用气相色谱-质谱联用技术检测的方法未见报道。

本文旨在通过研究食品中腐霉利残留气相色谱-质谱快速定性定量测定方法, 提高该种农药残留测

定方法的灵敏度、准确度及检测速度, 为保障食品安全及提供有力的技术支撑。本实验以 EI⁺ 和 SIM 模式进行 GC/MS 分析, 并对方法的检出限、线性范围、样品加标回收率及精密度进行了分析测定。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

GC/MS 联用仪, 6890N-5975 型, 安捷伦公司(美国); 超声波清洗器, KQ-250 型, 江苏昆山市超声仪器有限公司; 旋转蒸发器, EYELA-1000 型, Rikakikai 公司(日本); 自动快速浓缩仪, DSY-II 型, 北京金科精华苑技术研究所; 固相萃取装置, VisiprepTM型, Supelco 公司(美国)。石墨化碳固相萃取柱, 3 mL/500 mg, Waters 公司(美国)。

正己烷、丙酮、乙腈、甲苯, 均为色谱级, J. T. Baker 公司(美国)。腐霉利标准品, 纯度为 99%, Labor Dr. Ehrenstorfer-Schaefer(德国)。将该标准品以甲苯配制成 1000 mg/L 的标准储备液, 置于 -20℃ 冰箱保存。

1.2 色谱、质谱条件

DB-5 ms 毛细管色谱柱, 30 mm × 0.25 mm × 0.25 μm(膜厚); 载气, 高纯氮气(纯度 ≥ 99.999%); 流速, 1.2 mL/min; 柱温起始温度 100℃, 保持 1 min, 以 30℃/min 速率升温到 130℃ 后以 5℃/min 速率升温到 250℃, 之后以 10℃/min 速率升温到 300℃, 保持 5 min; 进样方式, 不分流, 1 min 后打开分流阀; 进样量, 2 μL; 进样口温度, 290℃。电离方式, 电子轰击电离源(EI); 电离能量, 70 eV; 四极杆

收稿日期: 2007-12-03

基金项目: 国家质检总局科技规划项目(2007IK270)

第一作者: 男, 1981 年生, 工程师

* 通讯联系人

E-mail: wangjh@bjciq.gov.cn

温度, 150℃; 离子源温度, 230℃。

1.3 标准曲线的绘制

用甲苯将腐霉利标准储备液稀释至不同浓度的标准溶液。按 1.2 节的分析条件测定标准曲线, 计算相关系数。

1.4 样品的处理

称取 10.00 g 粉碎好的试样于 50 mL 离心管中, 加 30 mL 乙腈以及过量氯化钠并超声提取 40 min。将提取液以 8000 r/min 离心 10 min, 取 15 mL 上层清液于鸡心瓶, 旋转蒸发至近干。将 10 mL 正己烷以一秒两滴的速度通过石墨化碳固相萃取柱, 并保持柱子湿润。用 2 mL 正己烷/丙酮溶液(正己烷和丙酮的体积比为 80:20)溶解鸡心瓶中残渣, 以一秒一滴的速度通过小柱, 然后仍用 8 mL 上述正己烷/丙酮溶液以每秒两滴的速度洗脱固相萃取柱, 合并收集于 10 mL 玻璃离心管中。氮气吹干后, 用甲苯定容到 1 mL, 供 GC/MS 检测。

2 结果与讨论

2.1 洗脱液的分析

通过实验发现, 样品用乙腈萃取的效率与丙酮、乙酸乙酯/正己烷溶液(乙酸乙酯和正己烷的体积比为 1)、丙酮/正己烷溶液的萃取效率(丙酮和正己烷的体积比为 1)相近, 但提取的杂质较少。食品中含有大量色素, 石墨化碳固相萃取柱能够很好的保留色素而不会对农药吸附。

将正己烷和丙酮的体积比为 100:0、80:20、90:10 和 95:5 的混合溶液为洗脱液, 结果表明样品标准溶液添加洗脱效率随溶剂的极性增大而增大, 用正己烷洗脱的洗脱效率最低($\leq 50\%$), 而正己烷和丙酮的体积比为 80:20 的洗脱溶剂的洗脱效率最为理想(60%~120%)。

腐霉利标准、空白样品以及样品加标的选择离子(SIM)谱图分别见图 1~3。

2.2 腐霉利质谱的丰度分析

在 1.2 的分析条件下对腐霉利标准进行全扫描, 腐霉利的全扫描(TIC)质谱图见图 4, 在确定监测离子时, 考虑到该化合物质谱解裂规律。在给定的分析参数下, 腐霉利的分子式为 $C_{13}H_{11}Cl_2NO_2$, 分子量为 283.0, 样品进入质谱仪后, 即产生稳定的分子离子峰(m/z 283.0), 同时产生丰度较高的 96.0、67.0 以及 283.0 的同位素 285.0 离子峰。选定丰度最高的 96.0 离子作为定量离子, 其余三个定

性离子相对 96.0 的相对丰度分别为: 67.0(40.1)、283.0(79.9)、285.0(52.6)。EI⁺ 裂解分析见图 5。

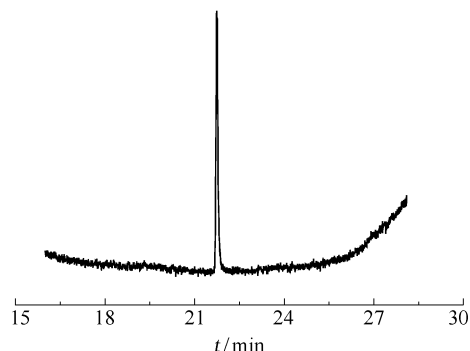


图 1 腐霉利标准品 SIM 离子流图

Fig. 1 GC-MS SIM chromatogram of procymidone

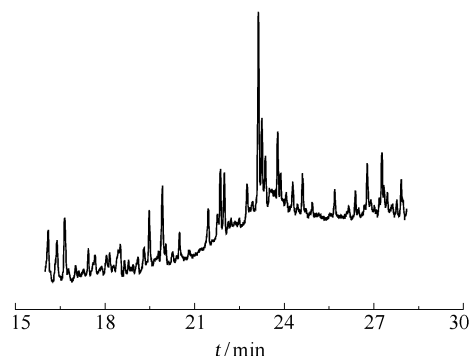


图 2 空白样品 SIM 离子流图

Fig. 2 GC-MS SIM chromatogram of the blank sample

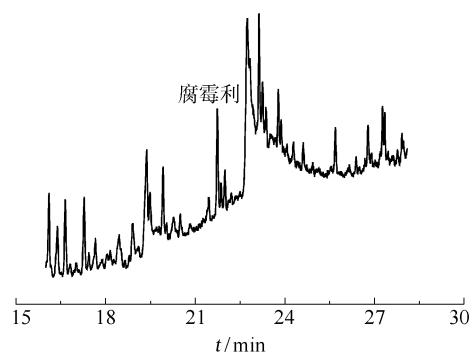


图 3 空白样品添加标准 SIM 离子流图

Fig. 3 GC-MS SIM chromatogram of the spiked sample

2.3 标准曲线和方法检出限

将标准储备溶液用甲苯稀释至 0.02、0.05、0.10、0.20、0.30、0.40、0.50 $\mu\text{g/mL}$, 不过原点做标准工作曲线, 以所得响应值(峰面积 Y)与浓度(ρ)进行回归分析。结果表明, 线性关系良好, 腐霉利的回归曲线为 $Y = 379.06\rho + 416.59$, 线性相关系数 r 为 0.9991, 其标准工作曲线如图 6 所示。

方法的检出限(LOD)是依据标准溶液浓度为

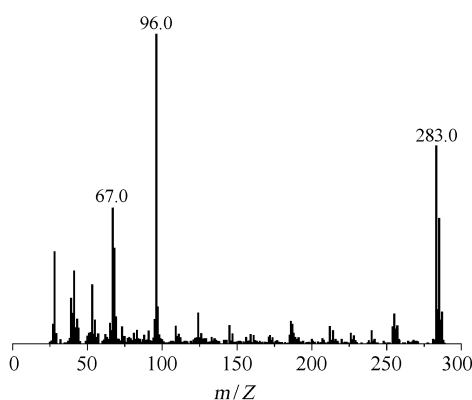


图 4 腐霉利标准品 TIC 质谱图

Fig.4 GC-MS TIC spectrum of procymidone

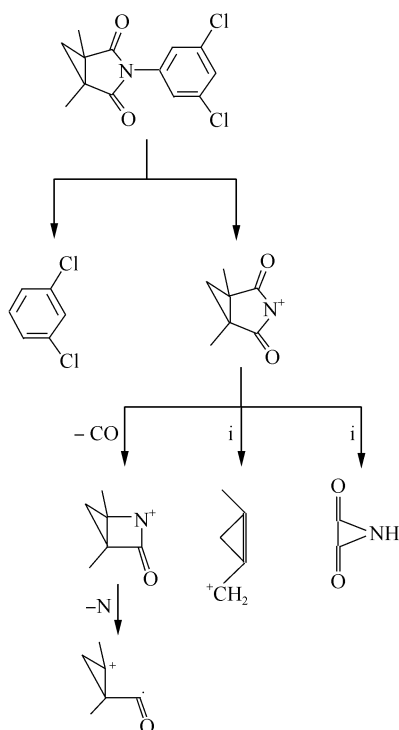
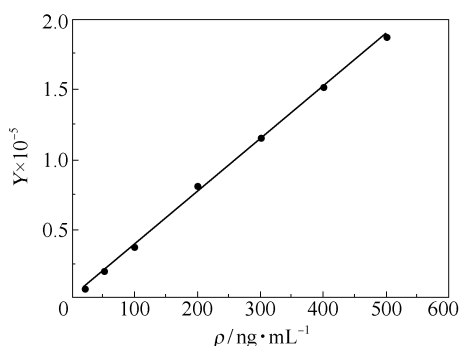
图 5 腐霉利的 EI⁺ 裂解图Fig.5 EI⁺ fragmentation of procymidone

图 6 腐霉利标准工作曲线图

Fig.6 Calibration curve for procymidone

0.02 $\mu\text{g/mL}$ 时的 3 倍信噪比值测得的。则本方法检测水果、蔬菜类食品中腐霉利的 LOD 为 0.005 mg/kg 。

2.4 方法的回收率与精密度

在三组各 9 个空白食品样品中分别加入 100、200 和 400 μL 的 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的腐霉利标准溶液,按 1.4 节方法进行处理测定,计算回收率和精密度。测定结果表明,腐霉利平均回收率为 102.8% ~ 111.3%;9 次平行测定的相对标准偏差范围为 3.9% ~ 5.2%,均满足定量分析要求,结果见表 1。

表 1 腐霉利的回收率及精密度测定结果 ($n=9$)Table 1 Recoveries and precisions of procymidone ($n=9$)

添加浓度/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	平均回收率/%	相对标准偏差/%
10.0	107.8	5.2
20.0	111.3	3.9
40.0	102.8	4.6

2.5 样品测定的标准

样液按照气相色谱-质谱条件进行定性测定时,如果检出的色谱峰的保留时间与标准中的腐霉利保留时间相一致,并且所选择的监测离子的丰度比相同,则可判定为样品中存在腐霉利。

本方法中气相色谱-质谱采用外标校准曲线法定量测定时,应保证所测样品中农药的响应值均在线性范围以内。

3 结论

本文用气相色谱质谱法快速测定食品中的腐霉利残留,经过大量实际样品实验的验证,回收率均在 60% ~ 120% 之间,且相对标准偏差小于 10%。该方法灵敏度和准确度均能达到残留检测的要求。

参考文献:

- [1] 樊晓青. 腐霉利在生菜中残留分析方法研究[J]. 上海农业科技, 2007(2): 17.
- [2] 付登茂. 速克灵防治草莓灰霉病的效果[J]. 西南园艺, 2001, 29(1): 14.
- [3] 孟飞, 徐福寿, 张莉丽. 几种杀菌剂防治草莓灰霉病的效果[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(18): 4658 - 4677.
- [4] 中国农业致富信息网. 腐霉利(procymidone)中毒急救[EB/OL]. [2006-06-05]. http://www.lyingo.com/Article_Print.asp?ArticleID=4474.
- [5] 林维宣. 各国食品中农药兽药残留限量规定[M]. 大

- 连:大连海事大学出版社, 2002.
- [6] 日本食品中农业化学品“肯定列表制度”及其残留限量[M]. 国家质量监督检验检疫总局标准法规中心, 2005,12: 856-859.
- [7] 柿本幸子. 高速溶媒提取液相色谱法测定水果中杀菌剂[J]. 食品卫生学杂志(日), 1997, 38(5): 358-362.
- [8] 黄志强, 熊芳, 彭三和, 等. 微量化学气相色谱快速测定葡萄酒中腐霉利残留量[J]. 色谱, 1993, 11(4): 246-247.
- [9] Navarro S, Barba A, Navarro G, et al. Multiresidue method for the rapid determination in grape, must and wine of fungicides frequently used on vineyards[J]. J Chromatograph A, 2000, 882(1-2): 221-229.
- [10] 葛宝坤, 高健会, 王伟, 等. 液相色谱法快速测定葡萄酒中多种防霉剂的残留量[J]. 中国食品卫生杂志, 2005, 17(2): 160-163.
- [11] 杨洋. 25% 灰克中速克灵的气相色谱分析[J]. 高师理科学刊, 2005, 25(3): 57-58.
- [12] 强建华. 百菌清、腐霉利复合烟剂的气相色谱分析[J]. 应用化工, 2001, 30(3): 36-37.

Determination of procymidone residues in foods using gas chromatography/mas spectrum(GC/MS)

LU XiaoYu¹ CHEN Yue² WANG JinHua¹ DU ZhenXia² XU ChaoYi¹

(1. Beijing Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Beijing 100026; 2. School of Science, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: A gas chromatography/mas spectrum(GC/MS) method capable of quantitative determination of procymidone residues present in foods has been developed. The procymidone residues were extracted by acetonitrile, purified using an Envi-carbon SPE column, and determined by gas chromatography with a DB-5ms capillary column and positive electron ionization mass spectrometric detection in the selected ion monitoring mode. GC/MS results for samples spiked at concentrations of 0.010, 0.020 and 0.040 mg/kg showed mean recoveries in the range 102.8% to 111.3% with relative standard deviations of no more than 10%. The detection limit of the analyte was 0.005 mg/kg. Optimum conditions for the qualitative and quantitative determination of procymidone residues in samples are specified.

Key words: procymidone; gas chromatography/mas spectrum(GC/MS); pesticide residues; safety of food