

气相色谱-串联质谱法测定原料类果酱中 百菌清残留量

梁建英¹, 谢瑞龙^{1,2}, 胡雪^{1*}, 李慧秀¹, 刘丽君¹, 李翠枝¹, 吕志勇¹

- (1. 内蒙古伊利实业集团股份有限公司, 呼和浩特 010110;
2. 内蒙古伊利实业集团股份有限公司上海分公司, 上海 200127)

摘要: **目的** 建立气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)测定原料类果酱中百菌清农药残留的检测方法。**方法** 样品经 8 mL 去离子水水化, 采用乙腈提取, 加入 4 g 氯化钠盐析, 4200 r/min 离心 8 min。上清液经氟罗里硅土固相萃取柱净化, 使用正己烷-丙酮混合溶液(9:1, V:V)洗脱, 气相色谱-串联质谱仪测定, 外标法定量。**结果** 标准曲线在 5~250 ng/mL 范围内线性良好, 相关系数大于 0.99。百菌清的定量限为 0.01 mg/kg; 在 0.01~0.10 mg/kg 浓度范围的加标实验中, 回收率为 83.0%~116.8%, 精密密度为 3.7%~10.3%。**结论** 该方法操作简便、结果准确, 适用于原料类果酱中百菌清残留的测定。

关键词: 原料类果酱; 百菌清; 农药残留; 气相色谱-串联质谱法

Determination of chlorothalonil residues in raw jam by gas chromatography-tandem mass spectrometry

LIANG Jian-Ying¹, XIE Rui-Long^{1,2}, HU Xue^{1*}, LI Hui-Xiu¹, LIU Li-Jun¹, LI Cui-Zhi¹, LV Zhi-Yong¹

- (1. Inner Mongolia Yili Industrial Group Co., Ltd., Hohhot 010110, China;
2. Inner Mongolia Yili Industrial Group Co., Ltd., Shanghai Branch, Shanghai 200127, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for quantitative determination of chlorothalonil pesticide residue in raw jam materials by gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). **Methods** The sample was hydrated by 8 mL of deionized water, extracted by using acetonitrile, salted out with 4 g sodium chloride, centrifuged at 4200 r/min for 8 min. The supernatant was cleaned up by a florisil solid phase extraction column and eluted by n-hexane-acetone mixture (9:1, V:V), the analytes were determined by GC-MS/MS and quantified by external standard method. **Results** The standard curve had a good linear relationship in the range of 5–250 ng/mL, with the correlation coefficient was greater than 0.99. The limit of quantification of chlorothalonil was 0.01 mg/kg; the recoveries varied from 83.0% to 116.8% and the relative standard deviations varied from 3.7% to 10.3% at spiked levels of 0.01–0.10 mg/kg. **Conclusion** This method is simple, convenient, accurate and suitable for detection of chlorothalonil residue in raw jam materials.

KEY WORDS: raw jam; chlorothalonil; pesticide residues; gas chromatography-tandem mass spectrometry

*通信作者: 胡雪, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为乳制品检测方法开发。E-mail: jthuxue@yili.com

*Corresponding author: HU Xue, Master, Senior Engineer, Inner Mongolia Yili Industrial Group Co., Ltd., Hohhot 010110, China. E-mail: jthuxue@yili.com

0 引言

百菌清是一种广谱、高效的杀菌剂, 广泛用于防治果树、蔬菜等多种害虫, 其在植物体表上有良好的黏着性, 药效期长^[1]。2017 年, 百菌清被列入世界卫生组织国际癌症研究机构公布的 2B 类致癌物清单中, 可见百菌清的残留会对人类健康造成严重影响^[2-4]。水果作为人类生活必需品, 其农药残留安全防控意义重大, GB 2763—2019《食品安全国家标准 食品中农药残留最大限量》对不同水果中百菌清含量进行了限量规定, 如草莓中限量是 5 mg/kg、桃中限量是 0.2 mg/kg、葡萄中限量是 10 mg/kg 等。

果酱是以水果、果汁或果浆和糖等为主要原料, 经预处理、煮制、打浆(或破碎)、配料、浓缩、包装等工序制成的酱状产品^[5]。随着人们生活水平的提高, 为满足消费者对食品不同的口味需求, 果酱种类也不断多元化发展, 有低糖果酱^[6-7]、复合果酱^[8-9]、养生果酱^[10-11]等, 按产品用途果酱又可分为原料类果酱和佐餐类果酱。目前, 原料类果酱在乳制品企业中的酸乳类产品^[12-13]及冷冻饮品类产品^[14-15]中应用尤为广泛, 果酱的农药残留安全性也被日益关注, 尤其一些产品在出口发达国家时, 其食品添加剂、农药残留等指标受到日益严苛的要求^[16]。

近年来, 已发表的文章中对果酱中食品添加剂检测的研究较多^[17-18], 而国内外果酱中农药残留检测研究较少。林华山等^[19]用气相色谱法研究了果酱中多种有机磷农药残留的测定, 暂未有果酱中百菌清残留测定的文献报道, 多数研究的是水果中百菌清的残留检测方法。鉴于此, 本研究选取草莓果酱为典型基质, 利用气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)建立了原料类果酱中百菌清残留的测定方法, 以期为添加原料类果酱的乳制品质量安全的保障提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试剂与样品

乙腈(农残级)、正己烷(色谱纯)(上海安谱实验科技股份有限公司); 丙酮(色谱纯, 成都诺尔施公司); 氯化钠(分析纯, 天津光复科技公司); 超纯去离子水(自制); 标准物质: 百菌清(1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 北京曼哈格生物科技有限公司), 溶于丙酮中。

果酱样品: 原料供应商提供。

1.2 仪器与设备

氟罗里硅土固相萃取柱(500 mg/3 mL, 天津博纳艾杰尔公司); TQS9000 气相色谱-三重四极杆质谱联用仪(配有电子轰击离子源)、Biofuge Stratos 低温高速离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); AL 204 分析天平(感量为 0.0001 g, 瑞士 METTLER Toledo 公司); TurboVap LV 全自动氮吹仪(瑞典 Biotage 公司); KS501 涡旋振荡器(德国 IKA 公司)。

1.3 方法

1.3.1 样品提取

精确称取 5.0 g 果酱样品至 50 mL 离心管中, 加入 8~10 mL 去离子水, 涡旋混匀。然后加入 10 mL 乙腈, 涡旋振荡 1 min 后, 在离心管中再加入 4 g 氯化钠, 涡旋振荡 5 min 后于 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 4200 r/min 离心 8 min, 准确移取 5.0 mL 上清液至氮吹管中, 40 $^{\circ}\text{C}$ 下氮吹至近干, 待净化。

1.3.2 样品净化

用 1 mL 正己烷-丙酮混合溶液(9:1, V:V)将上述所得样品浓缩残渣涡旋混合溶解, 倾入预先用正己烷-丙酮混合溶液预淋洗的氟罗里硅土固相萃取柱, 并用一定量的正己烷-丙酮混合溶液洗脱, 收集洗脱液, 40 $^{\circ}\text{C}$ 条件下氮吹至近干, 用 1 mL 正己烷涡旋混合溶解残渣, 用气相色谱-质谱联用仪分析测定。

1.3.3 标准工作溶液

称取不含待测农药的果酱样品按上述操作制备样品空白提取液, 空白基质溶液氮气吹干, 加入一定体积的百菌清标准品中间液(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 并用一定体积的正己烷稀释至 1 mL, 配制成质量浓度依次为 5、10、20、50、100 和 250 ng/mL 的系列基质混合标准工作溶液, 供气相色谱-质谱联用仪测定。

1.3.4 色谱条件

色谱柱: 5%(质量分数)苯基-甲基聚硅氧烷石英毛细管色谱柱(HP-5MS)(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μm)。色谱柱温度: 40 $^{\circ}\text{C}$ 保持 1.5 min; 以 25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 程序升温至 90 $^{\circ}\text{C}$, 保持 1.5 min; 以 25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 程序升温至 180 $^{\circ}\text{C}$; 以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 程序升温至 280 $^{\circ}\text{C}$; 以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 程序升温至 300 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min。进样量: 1 μL 。进样方式: 不分流进样。

1.3.5 质谱条件

电离方式为电子轰击离子源; 电子能量 70 eV; 传输线温度 280 $^{\circ}\text{C}$; 离子源温度 300 $^{\circ}\text{C}$; 选择反应监测(select reaction monitoring, SRM), 每种农药的保留时间、定量离子对、定性离子对和碰撞电压见表 1。

表 1 百菌清的保留时间及质谱参数

Table 1 Retention time and mass spectrometric parameters of chlorothalonil

CAS 号	保留时间/min	定量离子对(m/z)	定性离子对(m/z)	碰撞电压/V
1897-45-6	12.64	265.9>133.0	265.9>230.9	38/14

1.4 百菌清残留量的计算

百菌清残留量的计算公式如式(1):

$$\text{残留量} = C \times \frac{V}{m} \times f \times \frac{1}{1000} \quad (1)$$

公式中: 残留量, mg/kg; C 为从标准工作曲线上得到的被测组分溶液质量浓度, ng/mL; V 为样品溶液定容体积, mL; m 为试样的质量, g; f 为稀释倍数; 1000 为换算系数。

2 结果与分析

2.1 样品前处理条件的优化

2.1.1 样品称样过程中加水量的优化

由于果酱具有一定的粘稠度, 需要加充足的水进行水化, 促使样品中的农药有效提取, 加水量太少会使得水化不充分, 而加水量太大又会使盐析用的氯化钠量增大, 从而增加了测试成本。实验中称取 5 g 草莓果酱空白基质, 选择 2 组不同的体积加水量(5 和 8 mL)进行对比实验: 按照相同测定步骤, 添加浓度为 0.04 mg/kg 的百菌清标准溶液, 测定最终回收率。结果显示, 两者回收率分别为 118.7%和 104.0%, 其中加入体积为 8 mL 水时, 回收率较优, 接近 100%; 此外观察实验发现, 8 mL 条件下能充分振荡, 有利于提取过程。因此, 在后续实验过程时加水的体积为 8 mL。

2.1.2 不同盐析试剂的对比

在农药残留测定过程中, 样品前处理提取溶剂主要有丙酮、乙酸乙酯、乙腈, 在黄松等^[20]进行的改良 QuEChERS 法在农药多残留检测中的应用研究中乙腈的提取效果最好, 本研究中百菌清测定直接选用乙腈作为提取溶剂。在提取过程中通常需加入盐类, 以促进目标农药由基质向提取溶剂转移, 参考 NY/T 761—2008《蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定》中采用乙腈中加氯化钠的提取方式, GB/T 23210—2008《牛奶和奶粉中 511 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法》采用乙腈加硫酸镁和氯化钠的提取方式, 本研究进行了 2 组对比实验, 一组是加入 4 g 氯化钠, 另一组是加入 4 g 硫酸镁和 1 g 氯化钠, 其他条件均相同, 进行添加浓度为 0.04 mg/kg 的百菌清标准溶液回收率对比实验。实验中 2 组回收率差别较少, 但第一组只加氯化钠时果酱色素去除效果明显(图 1), 因此, 盐析试剂优选 4 g 氯化钠。

2.1.3 复溶溶剂的选择

果酱样品提取后需在 40 °C 下氮吹至近干, 然后用一定体积的溶剂复溶, 经氟罗里硅土固相萃取柱净化以去除极性色素类杂质, 鉴于百菌清化合物的弱极性属性、氮吹后附着在氮吹管壁的果酱细颗粒物溶解性, 实验选择复溶溶剂分别为正己烷、正己烷-丙酮溶液(9:1, V:V), 在空白草莓基质样品中进行 0.01、0.02、0.10 mg/kg 3 个不同浓度水平的加标回收实验。实验结果见图 2, 添加水平为

0.01 mg/kg 时, 复溶液为正己烷条件下回收率为 95.6%, 复溶液为正己烷-丙酮(9:1, V:V)条件下回收率为 105.4%; 添加水平为 0.02 mg/kg 时, 复溶液为正己烷条件下回收率为 67.4%, 复溶液为正己烷-丙酮(9:1, V:V)条件下回收率为 100.5%; 添加水平为 0.10 mg/kg 时, 复溶液为正己烷条件下回收率为 68.3%, 复溶液为正己烷-丙酮(9:1, V:V)条件下回收率为 103.6%。结果表明正己烷-丙酮溶液(9:1, V:V)作为复溶溶剂时回收率明显提升, 因此, 复溶溶剂优选正己烷-丙酮溶液(9:1, V:V)。

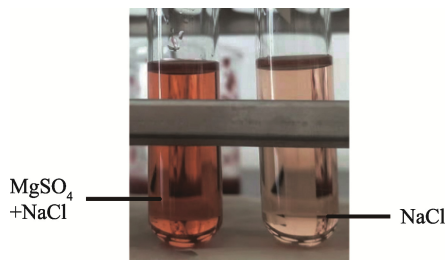


图 1 不同盐析试剂条件下样品提取状态对比图
Fig.1 Comparison of sample extraction conditions under different salting-out reagents

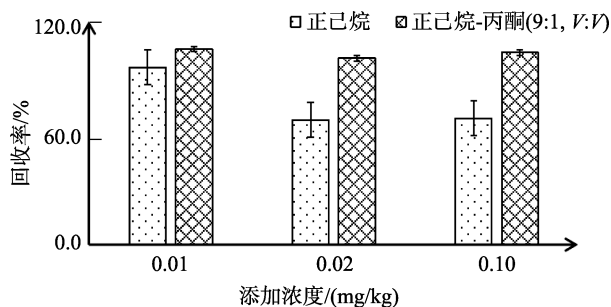


图 2 不同复溶液对比实验结果(n=3)

Fig.2 Comparative experimental results of different compound solvents (n=3)

2.1.4 洗脱溶剂配比的优化

果酱样品提取氮吹近干后, 需复溶并倾入预先用正己烷-丙酮混合溶液预淋洗的氟罗里硅土固相萃取柱, 用定量的正己烷-丙酮混合溶液洗脱, 选择合适的洗脱液可以把吸附在固相萃取柱填料上的目标物洗脱下收集, 而干扰杂质被吸附在填料上不被洗脱掉。实验在其他条件均相同下, 对洗脱溶剂配比分别为正己烷-丙酮混合液(9:1, V:V)、正己烷-丙酮混合液(7:3, V:V)、正己烷-丙酮混合液(5:5, V:V) 3 组进行了添加浓度为 0.04 mg/kg 的百菌清标准溶液回收率对比实验。实验结果表明, 3 组条件回收率差别较小, 对应的平均回收率分别为 100.9%、98.1%、102.8%, 但在实验过程中发现正己烷-丙酮混合液(7:3, V:V)、正己烷-丙酮混合液(5:5, V:V)条件下洗脱液氮吹复溶后, 复溶液相对较浑浊, 需要过滤膜后上机, 而正己烷-丙酮混合液(9:1, V:V)条件下脱液氮吹复溶后的复溶液呈清澈状, 无需

过滤膜可直接上机测定, 因此从实验效率及成本考虑最终选择洗脱溶剂配比为正己烷-丙酮混合液(9:1, V:V)。

2.2 标准曲线和定量限

本研究采用外标法定量, 将基质标准溶液依次进样后采集数据, 以百菌清的定量离子对峰面积为纵坐标, 基质标准溶液质量浓度(ng/mL)为横坐标, 绘制标准曲线。实验表明: 在 5~250 ng/mL 浓度范围内, 果酱基质中百菌清农药的标准曲线为 $Y=0.0005259X-0.00001903$ 、 $r^2=0.9995$, 相关系数大于 0.99, 具有良好的线性关系。本研究百菌清农药的定量限为 0.01 mg/kg, 满足信噪比(S/N)≥10 的要求, 方法满足使用要求。

2.3 方法回收率和精密度

本研究选择空白果酱样品进行 0.01、0.02、0.10 mg/kg 3 个不同浓度水平的加标实验, 每个浓度均做 6 次平行。测定的回收率及精密度结果见表 2。由表 2 可知, 回收率范围为 83.0%~116.8%, 精密度也在 3.7%~10.3%之间, 目标农药的回收率和精密度结果均满足检测要求, 适用于果酱中百菌清农药残留的测定。

表 2 百菌清的方法回收率和精密度(n=6)
Table 2 Recoveries and precision of chlorothalonil (n=6)

加标量/(mg/kg)	回收率/%	精密度/%
0.01	92.3~116.8	10.3
0.02	83.0~111.0	9.4
0.10	97.7~107.6	3.7

2.4 不同种类果酱方法适用性

为了验证该方法的适用性, 本研究选用浓缩菠萝汁、浓缩橙汁、蓝莓酱、红枣果酱及混合浆(菠萝汁+白葡萄汁+苹果汁+草莓汁)共 5 种空白果酱进行浓度为 0.01 mg/kg 的 3 平行加标回收实验。实验结果显示平均回收率范围为 91.0%~108.3%, 5 种果酱精密度分别为 10.81%、12.19%、5.82%、3.89%、3.35%, 满足检测要求。由此可知, 该方法具有较好的普适性, 可适用于不同种类果酱中百菌清农药残留的测定。

2.5 实际样品检测

实验中随机抽取 5 种常用果酱产品进行检测, 分别称取 5 g 草莓果酱、桃酱、青稞小米果味酱、小米绿豆果味酱、黄桃芒果果酱, 按照方法操作步骤进行百菌清农药残留检测, 结果均未检出, 与样品实际情况相符, 此方法适用。

3 结 论

本研究确定了最佳检测条件和方法, 建立了一种原

料类果酱中百菌清农药残留的气相色谱-串联质谱仪测定方法, 该方法操作简便、结果准确, 适用于不同种类的原料类果酱中百菌清残留的测定, 可以为果酱食品的安全保障提供技术支持。

参考文献

- [1] 姚芳, 陈小薇, 梁赤周, 等. 百菌清及其代谢产物(4-羟基百菌清)在油麦菜及土壤中的残留降解研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(1): 156-160.
YAO F, CHEN XW, LIANG CZ, *et al.* Research on the residue and degradation dynamic of chlorothalonil and its metabolite (4-hydroxy chlorothalonil) in *Lactuca sativa* and soil [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(1): 156-160.
- [2] 宋利军, 廖秀海, 李腾根, 等. 固相萃取-气相色谱质谱法同时测定水果中五氯硝基苯和百菌清残留量[J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(7): 786-788.
SONG LJ, LIAO XH, LI TG, *et al.* Determination of pentachloronitrobenzene and chlorothalonil residues in fruit by solid phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2020, 30(7): 786-788.
- [3] KWON JW, ARMBRUST KL. Degradation of chlorothalonil in irradiated water/sediment systems [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(10): 3651-3657.
- [4] AL-NASIR FM, JIRIES AG, AL-RABADI GJ, *et al.* Determination of pesticide residues in selected citrus fruits and vegetables cultivated in the Jordan valley [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2020, 123: 109005.
- [5] 冯彦娟. 低糖果酱的研究[J]. 理论研究, 2020, (6): 781.
FENG YJ. Study on low-sugar jam [J]. *Theor Res*, 2020, (6): 781.
- [6] 赵思佳, 高畅, 于泽, 等. 低糖果酱的研究进展[J]. 食品工业, 2019, 40(12): 264-267.
ZHAO SJ, GAO C, YU Z, *et al.* Research progress on low sugar jam [J]. *Food Ind*, 2019, 40(12): 264-267.
- [7] 张娜. 低糖果酱加工中问题研究[J]. 食品安全导刊, 2020, (9): 139.
ZHANG N. Study on processing problems of low-sugar jam [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2020, (9): 139.
- [8] 陈祖满, 朱菲, 郑云峰. 复合果渣果酱加工工艺研究[J]. 农产品加工, 2019, (7): 39-42.
CHEN ZM, ZHU F, ZHENG YF. Study on processing technology of jam with compound fruit residue [J]. *Farm Prod Process*, 2019, (7): 39-42.
- [9] 耿楠, 卢伟, 陆宁. 低糖山楂-红枣复合果酱配方研究[J]. 包装与食品机械, 2018, 36(2): 20-24.
GENG N, LU W, LU N. Research on the formula of low sugar haw and jujube compound jam [J]. *Packag Food Mach*, 2018, 36(2): 20-24.
- [10] 王强. 小浆果养生果酱的研制[J]. 现代食品, 2019, (15): 38-41.
WANG Q. Development of small berry healthy jam [J]. *Mod Food*, 2019, (15): 38-41.
- [11] 王晨, 刘玥, 曲迪, 等. 五味子皮渣乳酸发酵果酱制备工艺研究[J]. 保鲜与加工, 2019, 19(4): 75-81, 88.
WANG C, LIU Y, QU D, *et al.* Study on preparation technology of *Schisandra chinensis* peel residue lactic acid fermented jam [J]. *Storage Process*, 2019, 19(4): 75-81, 88.
- [12] 李岩, 于飞, 张鹏. 含果粒酸乳-中国酸乳市场的生力军[J]. 科技风, 2010, (5): 94.

- LI Y, YU F, ZHANG P. Yogurt with fruit grains is the new force in china's yogurt market [J]. Technol Wind, 2010, (5): 94.
- [13] 万剑啸, 陈文宝. 果粒酸乳饮料开发的市场机遇[J]. 中国乳品工业, 2007, 35(3): 60-62.
WAN JX, CHEN WB. The market opportunity for the development of yoghurt beverage with fruit grains [J]. Chin Dairy Ind, 2007, 35(3): 60-62.
- [14] 谢磊, 张冲, 古晓青. 冷冻饮品用桑葚果酱、包含果酱的冷冻饮品及其制备方法: 中国, 201310652038.2[P]. 2015-06-10.
XIE L, ZHANG C, GU XQ. Mulberry jam for frozen drink, frozen drink containing jam and its preparation method: CN, 201310652038.2 [P]. 2015-06-10.
- [15] 乔林成, 王国策, 张晓峰. 用于冷冻饮品的樱桃果酱及其制备方法: 中国, 201610724177.5[P]. 2017-02-22.
QIAO LC, WANG GC, ZHANG XF. Cherry jam for frozen drinks and its preparation method: CN, 201610724177.5 [P]. 2017-02-22.
- [16] 曹扬, 赵琨, 邢朝宏, 等. 2 种常见浆果及其果酱制品的国内外食品安全[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(4): 1349-1356.
CAO Y, ZHAO K, XIN CH, *et al.* Analysis of limits of domestic and foreign food safety standards for 2 common berries and their jam products [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(4): 1349-1356.
- [17] 刘鑫, 杨婷, 马飞, 等. 高效液相色谱法测定果酱中的苯甲酸和山梨酸[J]. 中国食品, 2018, (24): 143-144.
LIU X, YANG T, MA F, *et al.* Determination of benzoic acid and sorbic acid in jam by high-performance liquid chromatography [J]. China Food, 2018, (24): 143-144.
- [18] 李焯. 高效液相色谱法同时测定果酱中 12 种添加剂[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(8): 158-160.
LI Y. Simultaneous determination of 12 additives in jam by high performance liquid chromatography [J]. Food Res Dev, 2016, 37(8): 158-160.
- [19] 林华山, 洪娜, 黄伟, 等. 气相色谱法同时测定果酱中多种有机磷农药残留[J]. 现代食品科技, 2010, 26(3): 320-322.
LIN HS, HONG Y, HUANG W, *et al.* Detection of multi-residues of organic phosphorus in jam by GC [J]. Mod Food Sci Technol, 2010, 26(3): 320-322.
- [20] 黄松, 刘佳, 陈彦宏, 等. 改良 QuEChERS 法在农药多残留检测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(12): 3683-3688.
HUANG S, LIU J, CHEN YH, *et al.* Application of the modified QuEChERS in the multi-class pesticide residues [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(12): 3683-3688.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



梁建英, 硕士, 中级工程师, 主要研究方向为乳制品检测方法开发。
E-mail: liangjianying@yili.com



胡雪, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为乳制品检测方法开发。
E-mail: jthuxue@yili.com