

# 固相萃取-气相色谱-质谱法检测食品中 腐霉利的残留量

余婧\*, 周彬彬

(湖南省食品质量监督检验研究院, 长沙 410111)

**摘要:** **目的** 建立固相萃取-气相色谱-质谱法检测食品中腐霉利的残留量。**方法** 样品提取采用浸渍-振荡法, 采用石墨化碳黑固相萃取小柱和中性氧化铝固相萃取小柱对不同来源(植物源性和动物源性)的样品溶液进行净化和萃取, 然后经气相色谱-质谱法分析腐霉利的残留量。**结果** 在 0.005 ~ 1.0  $\mu\text{g/mL}$  范围内, 腐霉利呈现良好的线性关系( $r=0.9998$ )。茶叶、葡萄酒、猪肝样品分别按 0.01~0.10 mg/kg 添加 3 个水平的标样, 回收率在 81.4% ~ 103.6%之间, RSD 为 3.5% ~ 8.2%, 检出限分别为 0.025、0.01、0.025 mg/kg。**结论** 该方法适用于食品中腐霉利残留量的检测。

**关键词:** 食品; 腐霉利; 固相萃取; 气相色谱-质谱法

## Determination of procymidone residues in food by solid-phase extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry

YU Jing\*, ZHOU Bin-Bin

(Hunan Institute of Food Quality Supervision Inspection and Research, Changsha 410111, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for determination of procymidone residues in food by solid-phase extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry (SPE-GC-MS). **Methods** The dip-oscillation method was used for extraction. The graphitization-SPE column and neutral alumina-SPE column were applied for purification and extraction of food from different sources (animal or plant origin), and then procymidone residues were detected by GC-MS. **Results** Procymidone had a good linear relationship in the range of 0.005~1.0  $\mu\text{g/mL}$  with  $r=0.9998$ . The recoveries of tea, wine and pork liver samples spiked at 3 levels of 0.01~0.10 mg/kg were ranged from 81.4% to 103.6% with RSDs of 3.5%~8.2%, and the limit of detection tea, wine and pork liver were 0.025, 0.01, 0.025 mg/kg, respectively. **Conclusion** This method is appropriate for the determination of procymidone residues in food.

**KEY WORDS:** food; procymidone; solid-phase extraction; gas chromatography-mass spectrometry

## 1 引言

腐霉利(procymidone), N-(3,5-二氯苯基)-1,2-二甲基环丙烷-1,2-二甲酰基亚胺, 化学结构式如图 1 所示。腐霉利

是一种低毒性杀菌剂<sup>[1]</sup>, 能有效抑制农作物病害, 如黑星病、菌核病、大斑病等<sup>[2]</sup>。然而, 基于对环境土壤的保护以及人们身体健康的重视, 欧盟、美国、日本等发达国家或地区, 相继对进口食品中的腐霉利残留量提出了愈加严

\*通讯作者: 余婧, 硕士, 主要研究方向为食品安全。E-mail: yjing\_menglong@163.com

\*Corresponding author: YU Jing, Master, Hunan Institute of Food Quality Supervision Inspection and Research, Changsha 410117, China. E-mail: yjing\_menglong@163.com

格的限量标准<sup>[3]</sup>。如欧盟规定果蔬中腐霉利的最大残留限量(maximum residue limit, MRL)值为 0.02 mg/kg, 美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)和加拿大规定葡萄酒中腐霉利的 MRL 值分别为 0.2 mg/kg 和 1.0 mg/kg, 日本实行的“肯列表制度”中有关食品限量的暂定标准规定腐霉利的 MRL 值是 0.02 mg/kg, 而对于其他在暂定标准以外的农业品实行“一律标准”, 即 0.01 mg/kg<sup>[4]</sup>。

目前有关食品中腐霉利残留量分析方法的报道多采用硅胶柱、弗罗里硅土柱、活性炭柱、液液萃取等手段进行净化, 结合气相色谱法、气相色谱-质谱联用法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、高效液相色谱法等手段开展检测<sup>[5-14]</sup>。本研究采用液液直接提取、固相萃取净化并结合 GC-MS 法对腐霉利进行定性和定量分析。

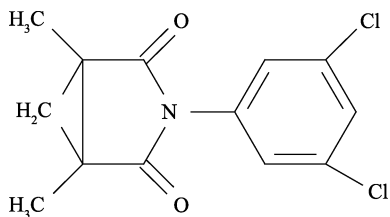


图 1 腐霉利化学结构式

Fig. 1 The chemical formula of procymidone

## 2 材料与方 法

### 2.1 仪器与试剂

6890-5973N 型 GC-MS 联用仪(美国 Agilent 公司); 固相萃取装置(带真空泵, 美国 Supelco 公司); CNM-01 多功能微量样品处理仪(长沙中迅电子研究所); 低速离心机、快速混匀器(广州 IKA Work 公司); 石墨化碳黑固相萃取小柱、中性氧化铝固相萃取小柱(美国 Supelco 公司)。

正己烷(优级纯)、丙酮(优级纯)、氯化钠(分析纯)、无水硫酸钠(经烘烤后置于干燥箱内冷却, 待用), 均购自天津恒兴化学试剂制造有限公司。

腐霉利标准品, 100 mg, 纯度为 99.5%, 购自美国 Sigma 公司。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 标准溶液的配制

标准储备液: 准确称取腐霉利标准品 0.1000 g, 置于 100mL 容量瓶, 加入正己烷溶解并定容至刻度, 得到 1.00 mg/mL 的标准储备液(未折算纯度)。

标准工作溶液: 用玻璃移液管移取适量标准储备液, 再用正己烷稀释成检测所需的系列标准工作溶液(0.0050~1.0 μg/mL)。

#### 2.2.2 仪器条件

色谱柱: HP-5MS 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.20 μm); 载气: 高纯氦气(纯度≥99.999%), 流速: 恒定为 1.0

mL/min; 升温程序: 起始温度为 100 °C(保持 1min), 再以 10 °C/min 的速率升至 280 °C 并保持 11 min; 电离方式: 电子轰击电离源, 能量采用 70 eV; 进样口、传输线及离子源温度分别为: 250 °C、285 °C、300 °C; 进样方式: 不分流进样; 采集方式: 同时采集总离子流(total ion current, TIC)和选择离子扫描(selective ion monitoring, SIM)模式下数据, 定量离子为 285 m/z(辅助离子 Q1: 96 m/z、Q2: 254 m/z、Q3: 283 m/z), 进样体积: 1 μL。

#### 2.2.3 样品前处理

##### (1) 样品中腐霉利的提取

分别称取有代表性的均匀样品(茶叶 1 g(精确至 0.001g); 葡萄酒、猪肝 2 g(精确至 0.001g)), 置于 15 mL 离心管中。再分别向离心管中依次加入 1 g 氯化钠和 5.0 mL 蒸馏水, 于快速混匀器上匀质 3.0 min 后, 室温下放置 1 min。再加入 3.0 mL 丙酮-正己烷(1:2, V:V)溶液, 于混匀器上匀质 1 min 后再以 3000 r/min 的速率离心 5 min。将上层的萃取清液转移至另一 15mL 离心管中。残渣再用 3.0 mL 丙酮-正己烷(1:2, V:V)溶液重复萃取 1 次, 合并 2 次的萃取液于离心管中。往离心管中加入 1 g 无水硫酸钠并于混匀器上混合 1.0 min, 室温下静置 2 min, 萃取液待净化。

##### (2) 试样萃取液净化

将石墨化碳黑固相萃取小柱和中性氧化铝固相萃取小柱(小柱内均预填 1 cm 高的无水硫酸钠层)分别安装在固相萃取真空抽滤装置上。为活化固相萃取柱, 先用 6 mL 丙酮-正己烷(1:1, V:V)溶液预淋洗, 待预淋洗液全部流尽, 将试样萃取液均分别过石墨化碳黑固相萃取小柱和中性氧化铝固相萃取小柱, 待萃取液全部流出后, 再分别用丙酮-正己烷(1:1, V:V)溶液洗脱石墨化碳黑固相萃取小柱和中性氧化铝固相萃取小柱, 全部洗脱液用 25 mL 离心管收集, 置于多功能微量样品处理仪上, 45 °C 下用氮吹仪吹至近干, 用 0.5 mL 正己烷复溶, 再于混匀器上均质 1 min, 最后经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后供 GC-MS 测定。

## 3 结果与分析

### 3.1 样品前处理方法的选择

为提高萃取效率, 样品提取采用浸渍-振荡法。即样品在用有机溶剂萃取前, 先用蒸馏水预泡一段时间。蒸馏水浸泡后的样品, 其组织细胞会更舒展和通透, 此后再加入有机溶剂振荡萃取就能更好地将目标化合物选择性富集。考虑到溶剂的选择性和极性, 前处理过程采用丙酮-正己烷(1:2, V:V)混合液均质 2 次提取, 该提取体系相对于乙腈毒性更小, 提取效率更高。

样品溶液的净化采用固相萃取技术, 样品经净化后, 其中脂溶性色素、油脂类物质等杂质得以有效去除, 从而大大降低了基基本底干扰。本研究以回收率和色差为指标考察了 2 种小柱用于不同源性食品中腐霉利的萃取和基质

净化效果,结果发现植物源性样品经石墨化碳黑小柱比经中性氧化铝小柱萃取效果要好,而动物源性样品经中性氧化铝小柱比经石墨化碳黑小柱萃取效果要好。

本研究还考察了用不同体积洗脱液洗脱固相萃取小柱的效果,研究表明,随着洗脱液体积加大,被洗脱下的腐霉利增多。用 10 mL 洗脱液洗脱小柱,能将 88% 以上的腐霉利洗脱下来。继续加大洗脱液体积,虽然能略微提高洗脱率,但同时也会导致更多杂质被淋洗下来,导致较高的基质背景(淋洗曲线见图 2~4)。故选用洗脱体积为 10 mL。

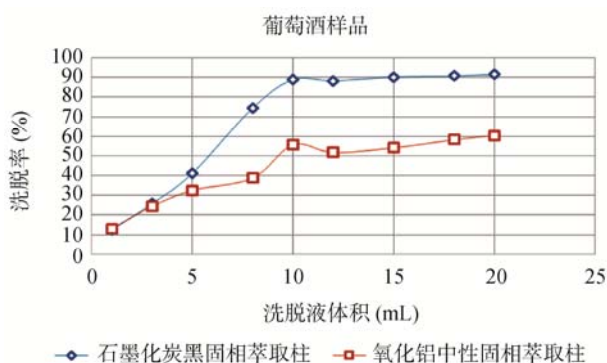


图 2 葡萄酒样品的洗脱曲线

Fig. 2 The elution curve of wine sample

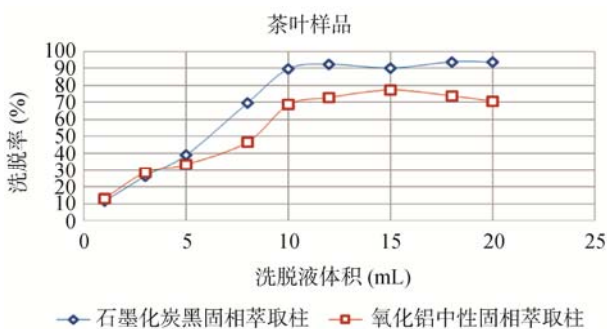


图 3 茶叶样品的洗脱曲线

Fig. 3 The elution curve of tea sample

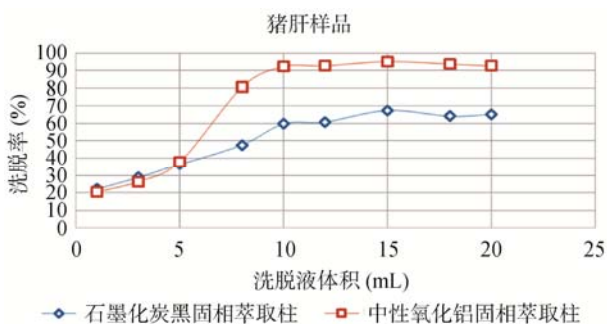


图 4 猪肝样品的洗脱曲线

Fig. 4 The elution curve of pork liver sample

### 3.2 质谱条件的选择

结合保留时间和选择离子丰度比参数对目标化合物进行定性。在 2.2.2 仪器试剂条件下,腐霉利的相对保留时间为 14.55 min,选择监视离子 ( $m/z$ ) 丰度比为 96:254:283:285  $m/z=100:5:37:24$ 。依据选择的色谱条件分别对标准溶液以及未知样品溶液进行测定,若液样中有与标准物质保留时间相同的峰,则做进一步质谱确证。对比标准溶液与未知样品溶液的 SIM 图谱,若两者的丰度比误差(如表 1 所示)在相应的允许范围内,则可推断未知样品中含有待测目标化合物。同时,可利用定量离子和辅助离子对未知样品中目标化合物进行定量分析。试验表明,本方法所选的监控离子响应较高,抗基质干扰强,用于定量分析可得到准确结果。

表 1 相对离子丰度最大容许误差

Table 1 Maximum permissible error of relative ion abundance

相对丰度(基峰)	>50%	20%~50%	10%~20%	10%
GC-MS 相对离子丰度最大允许误差	±10%	±15%	±20%	±50%

### 3.3 线性范围与检测限

分别取 0.005~1.0  $\mu\text{g/mL}$  腐霉利标准溶液进样分析,用所得标样峰面积( $Y$ )和其对应的溶液浓度( $X$ )作回归曲线,得到线性回归方程:  $Y=5.801 \times 10^{-7}X+3.621 \times 10^{-3}$ ,相关系数为  $r=0.9998$ 。

本方法的检测低限通过向空白基质中添加不同浓度的腐霉利标准溶液,再同 2.2.3 进行前处理,最终测定样品中腐霉利含量测得。以 3 倍信噪比( $S/N=3$ )作为不同基质样品中腐霉利的检出限,得出葡萄酒的检出限为 0.01 mg/kg;茶叶、猪肝的检出限均为 0.025 mg/kg。本方法所得检测限符合《残留分析质量控制指南》<sup>[15]</sup>的要求。

### 3.4 回收率及精密度试验

采用向空白基质样品加标来考察回收率,茶叶、葡萄酒、猪肝样品分别按 0.010~0.10 mg/kg 添加 3 个水平的标样,每个水平做 8 个平行样,本方法回收率和精密度见表 2。从表 2 可得知,将本方法应用于葡萄酒、茶叶和猪肝中腐霉利含量的测定,均能得到满意的回收率(81.4%~103.6%)和精密度(3.5% RSD 8.2%),说明本方法能满足这些基质中腐霉利的定量检测要求。

## 4 结论

本研究建立了一种测定食品中腐霉利残留量的固相萃取-气相色谱-质谱检测方法。该法操作简便,抗基质干扰效果明显,方法灵敏度和准确度较高,具有良好的选择富集性且通用性强,可以满足不同源性(动物、植物)样品基质

表 2 腐霉利加标回收率和精密度结果( $n=8$ )  
Table 2 Results of recoveries and precision of procymidone ( $n=8$ )

样品名称	葡萄酒			茶叶			猪肝		
	添加浓度(mg/kg)	0.01	0.02	0.1	0.025	0.05	0.1	0.025	0.05
实测值 1	0.0104	0.0174	0.0948	0.0235	0.0444	0.0737	0.0249	0.0496	0.0924
实测值 2	0.0110	0.0186	0.0901	0.0216	0.0522	0.0819	0.0257	0.0444	0.0915
实测值 3	0.0107	0.0185	0.0958	0.0215	0.0498	0.0752	0.0232	0.0436	0.0941
实测值 4	0.0094	0.0191	0.0925	0.0252	0.0508	0.0812	0.0248	0.0452	0.0972
实测值 5	0.0109	0.0200	0.0986	0.0255	0.0448	0.0898	0.0239	0.0388	0.0897
实测值 6	0.0109	0.0199	0.0903	0.0223	0.0437	0.0819	0.0233	0.0395	0.0912
实测值 7	0.0110	0.0164	0.0975	0.0205	0.0457	0.0852	0.0244	0.0409	0.0844
实测值 8	0.0092	0.0179	0.0867	0.0225	0.0415	0.0823	0.0241	0.0438	0.0814
平均值	0.0104	0.0185	0.0933	0.0228	0.0466	0.0814	0.0243	0.0432	0.0902
回收率(%)	103.6	92.5	93.3	91.2	93.2	81.4	97.2	86.5	90.2
RSD(%)	7.0	6.6	4.4	7.8	8.2	6.3	3.5	8.1	5.7

中腐霉利残留量的测定。方法的各项技术指标符合标准相关技术要求,具有一定的应用前景和实用价值。

#### 参考文献

- [1] 廖且根, 罗林广, 陆彦锋. 气相色谱-三重四级杆质谱联用测定食用油中残留的腐霉利[J]. 现代科学仪器, 2011, (1): 78-80.  
Liao QG, Luo LG, Lu YF. Determination of procymidone residues in the edible vegetable oils gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. Mod Sci Instrum, 2011, (1): 78-80.
- [2] 康燕玉. 微生物对腐霉利在土壤中降解的影响研究[J]. 现代农业科技, 2012, (22): 209-210.  
Kang YY. Study on infection of microbe on degradation dynamics of procymidone in soil [J]. Mod Agric Sci Technol, 2012, (22): 209-210.
- [3] 何理, 吴晖. 加速溶剂萃取 GC-NCI-MS 法测定糙米中氯硝胺残留量[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(24): 12222-12224.  
He L, Wu H. Detection of dicloran residue in crude rice by the combination of accelerated solvent extraction and GC-NCI-MS [J]. J Anhui Agric Sci, 2012, 40(24): 12222-12224.
- [4] 世界各国食品中农兽残留限量大全[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.  
Maximum limits of pesticide residues in foodstuffs in the national world [S]. Beijing: Standards Press of China, 2006.
- [5] Dzuman Z, Zachariasova M, Veprikova Z, *et al.* Multi-analyte high performance liquid chromatography coupled to high resolution tandem mass spectrometry method for control of pesticide residues, mycotoxins, and pyrrolizidine alkaloids [J]. Anal Chim Acta, 2015, 863(1): 29-40.
- [6] Restrepo AR, Ortiz AFG, Ossa DEH, *et al.* QuEChERS GC-MS validation and monitoring of pesticide residues in different foods in the tomato classification group [J]. Food Chem, 2014, 158(8): 153-161.
- [7] 徐国锋, 聂继云, 李静, 等. 苹果、香蕉和柑橘中腐霉利等 4 种防腐保鲜剂残留分析方法[J]. 农药学报, 2009, 11(3): 351-356.  
Xu GF, Nie JY, Li J, *et al.* Residue analysis of procymidone, imazalil, iprodione and prochloraz in apple, banana and citrus [J]. Chin J Pest Sci, 2009, 11(3): 351-356.
- [8] Li Y, Kim MR, Lee KB, *et al.* Determination of procymidone residues in ginseng by GC-ECD and GC-MS equipped with a solvent-free solid injector [J]. Food Control, 2007, 18(4): 364-368.
- [9] 郑龙, 周敏. 气相色谱-质谱联用法测定蔬菜中的腐霉利残留试验[J]. 广东农业科学, 2009, (3): 155-156.  
Zheng L, Zhou M. Determination of procymidone in vegetables by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Guangdong Agric Sci, 2009, (3): 155-156.
- [10] 祁超, 张浩, 潘洪玉, 等. 腐霉利的高效液相色谱分析[J]. 农药, 1998, (8): 18-19.  
Qi C, Zhang H, Pan HY, *et al.* Determination of procymidone by RP-HPLC [J]. Pesticides, 1998, (8): 18-19.
- [11] Anna S, Mirella B, Luciana B. Multiresidue determination of 19 fungicides in processed fruits and vegetables by capillary gas chromatography after gel permeation chromatography [J]. J AOAC Int, 1999, 82(5): 1229-1238.
- [12] 韩丙军, 汤建彪, 林靖凌, 等. 气相色谱法测定茶饮料中腐霉利、哒螨灵、高效氯氟菊酯残留[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(4): 290-291.  
Han BJ, Tang JB, Lin JL, *et al.* Determination of residual of procymidone, pyridaben and beta-cypermethrin in tea drinks by gas chromatography [J]. Jiangsu Agric Sci, 2012, 40(4): 290-291.
- [13] Wu G, Bao XX, Zhao SH, *et al.* Analysis of multi-pesticide residues in the foods of animal origin by GC-MS coupled with accelerated solvent extraction and gel permeation chromatography cleanup [J]. Food Chem, 2011, 126(2): 646-654.
- [14] Gandara JS, Losada PP, Rodriguez VG, *et al.* Comparison of GC-MS and HPLC-UV for determination of procymidone in wine [J]. J Agric Food

Chem, 1993, 41(4): 674-677.

[15] 国家质量监督检验检疫总局. 国质检食[2002]79号. 残留分析质量控制指南[S].

AQSIQ. The quality inspection [2002] No.79. Residual analysis quality control guidelines [S].

(责任编辑: 姚 菲)

### 作者简介



余 婧, 硕士, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: yjing\_menglong@163.com

---

## 《食品中农兽药残留检测与监控技术专题》征稿函

农药残留、兽药残留是目前食品安全最大的风险,也一直是食药监管部门监管的重点。近几年快速、高通量、多组分残留同时检测及未知化合物的农/兽药残留筛查技术取得了一定突破。

鉴于此,本刊特别策划了“农兽药残留检测与监控技术”专题,由华南农业大学食品学院孙远明教授担任专题主编。专题将围绕(1)国内国际农药兽药残留管理动态与风险评估新进展;(2)痕量农兽药残留多组分高通量的样品制备新技术,包括固相萃取、离子交换、凝胶渗透、加速溶剂萃取、衍生化、酶化学等;(3)痕量农兽药残留多组分高通量的检测新技术,包括液相色谱、气相色谱、色谱质谱联用、免疫亲和色谱、新型快速检测技术等;(4)重要农兽药残留的毒性、控制、分析技术及其各种仪器设备技术应用;(5)农兽药残留的监测抽样和风险管理控制;(6)农兽药残留能力验证的操作技巧等多方面展开讨论,计划在2017年5月出版。

鉴于您在该领域的成就,孙远明教授和主编吴永宁研究员特邀请您为本专题撰写稿件,综述、研究论文、研究简报均可,以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。请在2017年4月1日前通过网站或Email投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

投稿方式:

网站: [www.chinafoodj.com](http://www.chinafoodj.com)

Email: [jfoodsq@126.com](mailto:jfoodsq@126.com)

《食品安全质量检测学报》编辑部