

# 优化气相色谱-质谱法测定水果和蔬菜中五氯硝基苯残留量的前处理方法

赵 丽, 师 真, 张瑞雨, 农蕊瑜, 董玉英\*

(昆明市疾病预防控制中心, 昆明 650228)

**摘 要:** **目的** 建立检测水果和蔬菜中五氯硝基苯残留量的气相色谱-质谱联用方法。**方法** 样品采用3种不同前处理方法进行提取净化后, 采用内标法进行定量。优化样品预处理方法, 选择适宜的提取溶剂、最佳的超声和振荡时间, 采用选择性离子扫描模式进行质谱检测。**结论** 在0.02~0.10 µg/mL添加水平, 经正己烷提取和QuEChERS柱净化处理的样品, 其五氯硝基苯的平均回收率在68.32%~96.82%之间, 相对标准偏差为3.4%~5.9% ( $n=6$ )。以信噪比  $S/N=3$  计算五氯硝基苯的最低检出限为0.002 mg/kg, 方法的定量限为0.0067 mg/kg ( $S/N=10$ )。**结论** 优化后的前处理方法结果准确、重现性好, 检出限相对较低, 满足水果和蔬菜中五氯硝基苯残留量的检测要求。

**关键词:** 水果; 蔬菜; 五氯硝基苯; 气相色谱-质谱联用

## Optimization of pretreatment method for determination of nitrobenzene residues in fruits and vegetables by gas chromatography-mass spectrometry

ZHAO Li, SHI Zhen, ZHANG Rui-Yu, NONG Rui-Yu, DONG Yu-Ying\*

(Kunming City Center for Disease Control and Prevention, Kunming 650228, China)

**ABSTRACT: Objective** To optimum the pretreatment method for determination of nitrobenzene residues in fruits and vegetables by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Methods** Samples were extracted and purified by 3 kinds of different pretreatment methods, and quantified by internal standard method. The sample pretreatment method was optimized, including appropriate extraction solvent, and the best ultrasonic and oscillation time. Selective ion scanning (SIM) mode was used for mass spectrometry detection. **Results** At the spiked levels of 0.02~0.10 µg/mL, average recoveries of nitrobenzene were 68.32%~96.82%, and the relative standard deviations were 3.4%~5.9% ( $n=6$ ). The lowest limit of detection of nitrobenzene was 0.002 mg/kg ( $S/N=3$ ) and the limit of quantification was 0.0067 mg/kg ( $S/N=10$ ). **Conclusions** The established method has high accuracy and reproducibility, and the limit of detection is relatively low, which can meet the detection requirements of nitrobenzene residues in fruits and vegetables.

**KEY WORDS:** fruits; vegetables; quintozene; gas chromatography-mass spectrometry

\*通讯作者: 董玉英, 主任技师, 主要研究方向为理化检验。E-mail: 417640514@qq.com

\*Corresponding author: DONG Yu-Ying, Senior Technologist, Kunming City Center for Disease Control and Prevention, No.4, Ziyun Road, Xishan District, Kunming 650228, China. E-mail: 417640514@qq.com

## 1 引言

五氯硝基苯属于有机氮保护性杀菌剂, 纯品为白色无味结晶。不溶于水, 溶于有机溶剂, 化学性质稳定, 不易挥发、氧化分解<sup>[1]</sup>; 对人、畜、鱼低毒, 在土壤残留效期长<sup>[2]</sup>。其主要用作土壤和种子处理, 对多种蔬菜的苗期病害及土壤传染的病害有较好的防治效果, 但其具有致癌的可能性, 在我国无公害蔬菜生产中已经被禁止使用。现有国标中五氯硝基苯限量最低为西瓜 0.02 mg/kg、番茄 0.1 mg/kg、茄子 0.1 mg/kg<sup>[3]</sup>。目前, 五氯硝基苯农药检测一般采用气相色谱法(gas chromatography, GC)<sup>[4,5]</sup>、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)<sup>[2]</sup>、气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)技术<sup>[6-8]</sup>。

本研究在参考有关文献的基础上<sup>[9-15]</sup>, 建立气相色谱-质谱联用检测多种水果和蔬菜中五氯硝基苯农药残留量的方法。简化了操作步骤, 节约了试剂成本, 且重现性好、回收率高、方法检出限低, 能更好地满足水果中五氯硝基苯残留量测定的要求。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料与仪器

Agilent 7000C-7890B 气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司); DS-1 型高速均质器(上海精科实业有限公司); R-210 旋转蒸发仪(瑞士 BUCHI 公司); Florisil-SPE 柱(上海安谱公司)、QuEChERS 柱(美国安捷伦公司)。

五氯硝基苯、顺式-环氧七氯标准溶液(100 µg/mL, 农业部环境保护科研检测所); 乙腈、正己烷、丙酮(色谱纯, 美国 Sigma 公司)。

### 2.2 试验方法

#### 2.2.1 仪器条件

色谱柱: DB-35S 毛细管色谱柱; 色谱柱温度: 初始温度 40 °C, 保持 1 min, 30 °C/min 速率升至 130 °C, 再以 5 °C/min 速率升至 250 °C, 保持 5 min

离子源温度: 230 °C; 进样口温度: 260 °C; 传输线温度: 280 °C; 载气: 高纯氦气(纯度 99.999%), 载气流速 1.2 mL/min; 进样量: 1.0 µL

五氯硝基苯定量离子为 295, 定性离子为 237, 249; 顺式-环氧七氯定量离子为 353, 定性离子为: 351, 355。

定量方法: 峰面积内标法定量。

#### 2.2.2 农药标准储备液的配制

准确吸取五氯硝基苯标准溶液 1.00 mL 于 10 mL 的容量瓶内, 用正己烷定容至刻度, 即配成浓度为 10.0 µg/mL 的储备液。以标准储备液为基础分别配制五氯硝基苯浓度为 0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 µg/mL 的标准溶液, 内标

液顺式-环氧七氯浓度均为 1.2 µg/mL。

#### 2.2.3 样品前处理优化

前处理方式 1: 称取 15 g(精确至 0.01 g)切碎混匀的水果和蔬菜样品, 加入 3~5 g 氯化钠, 加入 60 µL 标溶液, 加入 30 mL 乙腈, 涡旋混匀 1 min, 超声提取 30 min, 加入 8 g 无水硫酸钠, 混匀, 4000 r/min 离心 5 min, 取上清液 20 mL 至鸡心瓶中, 于 30 °C 水浴中减压蒸馏浓缩至净干, 待净化。

Florisil-SPE 柱依次用 5 mL 丙酮+正己烷(1:9, V:V)溶液和 6 mL 正己烷活化, 提取液经 5 mL 正己烷复溶后上样并收集, 采用 10 mL 丙酮+正己烷(1:9, V:V)溶液洗脱, 收集并合并洗脱液, 氮气吹至净干, 用正己烷准确定容至 1 mL, 待 GC-MS 分析测定。

前处理方式 2: 称取 15 g(精确至 0.01 g)切碎混匀的水果样品, 加入 3~5 g 氯化钠, 加入 120 µL 内标溶液, 加入 30 mL 乙腈, 涡旋混匀 1 min, 超声提取 30 min, 加入 8 g 无水硫酸钠, 混匀, 4000 r/min 离心 5 min, 取上清液 10 mL 于 QuEChERS 净化柱中, 充分反复震荡进行净化。净化后离心, 将上清液完全转移至氮吹瓶中, 并用乙腈润洗并合并于氮吹瓶中进行氮吹, 浓缩至 1 mL, 待 GC-MS 分析测定。

前处理方式 3: 称取 15 g(精确至 0.01 g)切碎混匀的水果样品, 加入 3~5 g 氯化钠, 加入 120 µL 内标溶液, 加入 30 mL 正己烷, 涡旋混匀 1 min, 超声提取 30 min, 加入 8 g 无水硫酸钠, 混匀, 4000 r/min 离心 5 min, 取上清液 10 mL 于 QuEChERS 净化柱中, 充分反复震荡进行净化。净化后离心, 将上清液完全转移至氮吹瓶中, 并用正己烷润洗, 合并于氮吹瓶中进行氮吹, 浓缩至 1 mL, 待 GC-MS 分析测定。

## 3 结果与分析

### 3.1 线性关系与最低检测浓度

实验表明, 在所选标准浓度 0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 µg/mL 范围内, 线性关系良好。五氯硝基苯线性方程为  $Y=7.0409X+0.00189$ , 相关系数  $r$  为 0.9996。当取样量为 15.0 g 时, 方法的检出限为: 五氯硝基苯 0.002 mg/kg ( $S/N=3$ ); 方法的定量限为 0.0067 mg/kg ( $S/N=10$ )。

### 3.2 样品前处理方法对回收率的影响

经试验测定, 采用方法 1 处理的蔬菜和水果样品, 其回收率为 40.26%~51.35%。采用方法 2 处理的蔬菜水果样品, 其回收率为 62.32%~76.93%, 并且乙腈对色素的提取能力较强, 所以提取液经进化处理后, 待测样液的颜色相对较深, 对质谱和色谱柱的污染相对较大。采用方法 3 处理的样品, 其回收率在 80.13%~96.82%之间, 且提取液经净化后, 待测样液颜色相对较浅。因此方法 3 处理的样品, 其准确度更高。其回收率比较见图 1, 样品色谱图见图 2。

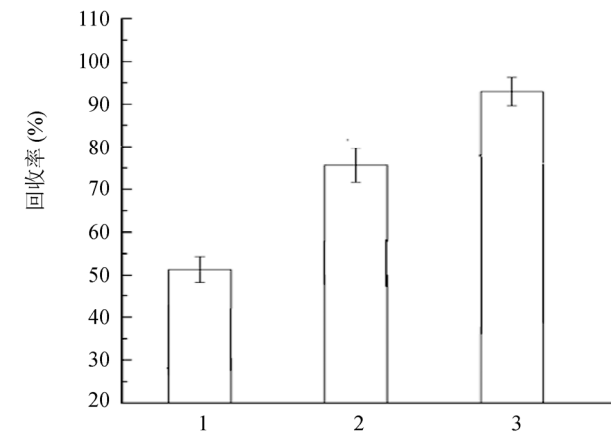


图 1 3 种不同前处理方法的回收率( $n=3$ )  
Fig. 1 Recovery rates of 3 kinds of different pretreatment methods ( $n=3$ )

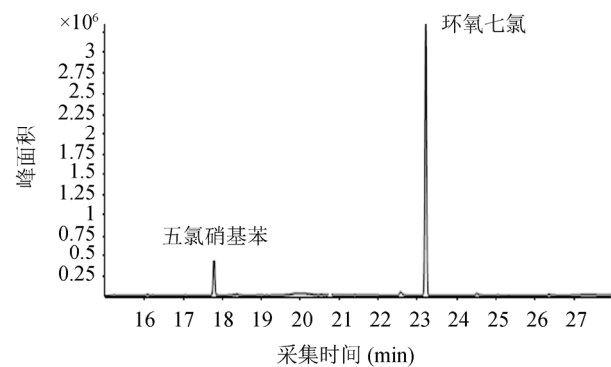


图 2 样品加标色谱图  
Fig. 2 Chromatogram of sample spiked with standard

3.3 超声及振荡时间对样品回收率的影响

在样品前处理提取过程中, 分别超声 5、10、20、30、40 min, 再进行净化处理, 采用前处理方式 3 分别采用 5 个超声时间进行提取, 其对应的回收率分别为 38.6%、42.8%、56.7%、87.9%、86.9%。因此, 在提取过程中超声

时间宜选择在 30 min 以上。此外, 超声后需充分振荡后再进行离心、净化。

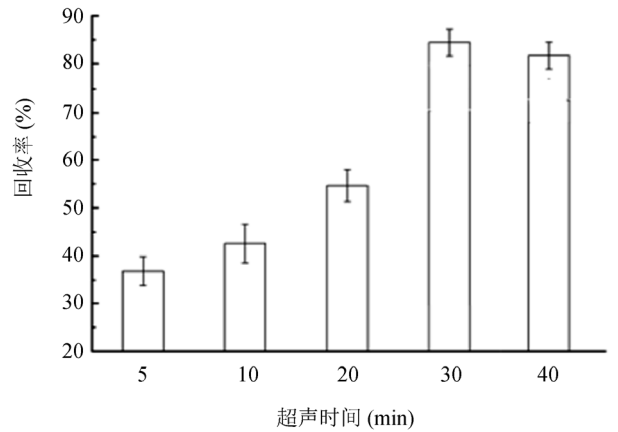


图 3 超声时间对回收率的影响( $n=3$ )  
Fig. 3 Effect of ultrasonic time on recovery rate ( $n=3$ )

3.4 样品基质对回收率的影响

分别采用 3 种前处理方法考察了水果和蔬菜对回收率的影响, 并对水果和蔬菜种类进一步细分, 结果表明: 含色素较少的水果和蔬菜其回收率较含色素较多的水果和蔬菜回收率较高, 具体结果见表 1。因此, 色素的含量高低对检测结果具有一定影响, 在前处理过程中应尽量将色素去除或不提取于待测样液中。

3.5 精密度实验和回收率实验

分别取火龙果、西瓜、桔子、梨、苹果、香蕉、青菜叶、韭菜、白萝卜和芹菜等 6 种水果和 4 种蔬菜各 2 份, 每份分别加入浓度 0.02、0.06、1.0  $\mu\text{g/mL}$  的五氯硝基苯标准溶液各 1.0 mL, 并采用方法 3 对样品进行前处理后进行加标回收实验, 测得其回收率为 68.32%~96.82%, 精密度( $n=6$ )为 3.4%~5.9%, 结果见表 1。表明采用本文建立的前处理方法 3 可对蔬菜和水果中的五氯硝基苯进行较好的分析。

|      |         | 表 1 方法的回收率和精密度( $n=6$ )<br>Table 1 Recoveries and precisions ( $n=6$ ) |                               |        |                               |        |                               |        |
|------|---------|------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------|-------------------------------|--------|-------------------------------|--------|
| 样本名称 | 样品质量(g) | 本底值( $\mu\text{g/mL}$ )                                                | 低浓度加标(0.02 $\mu\text{g/mL}$ ) |        | 中浓度加标(0.06 $\mu\text{g/mL}$ ) |        | 高浓度加标(0.10 $\mu\text{g/mL}$ ) |        |
|      |         | 五氯硝基苯                                                                  | 回收率(%)                        | RSD(%) | 回收率(%)                        | RSD(%) | 回收率(%)                        | RSD(%) |
| 火龙果  | 15.00   | ND                                                                     | 68.93                         | 5.6    | 82.36                         | 4.9    | 84.31                         | 4.0    |
| 西瓜   | 15.00   | ND                                                                     | 70.32                         | 5.7    | 80.31                         | 4.3    | 81.96                         | 3.8    |
| 桔子   | 15.00   | ND                                                                     | 71.52                         | 5.3    | 84.96                         | 4.8    | 85.22                         | 3.4    |
| 梨    | 15.03   | ND                                                                     | 76.50                         | 5.0    | 96.23                         | 4.5    | 96.82                         | 3.9    |
| 苹果   | 15.04   | ND                                                                     | 73.21                         | 5.9    | 92.13                         | 4.9    | 96.55                         | 3.4    |
| 香蕉   | 15.03   | ND                                                                     | 71.39                         | 4.7    | 94.72                         | 4.8    | 96.38                         | 3.5    |
| 青菜叶  | 15.02   | ND                                                                     | 69.01                         | 5.1    | 81.23                         | 4.6    | 82.66                         | 3.7    |
| 韭菜   | 15.04   | ND                                                                     | 68.32                         | 4.6    | 80.43                         | 4.7    | 81.94                         | 3.6    |
| 白萝卜  | 15.02   | ND                                                                     | 75.02                         | 5.3    | 92.39                         | 4.9    | 94.80                         | 3.4    |
| 芹菜   | 15.00   | ND                                                                     | 74.67                         | 4.6    | 90.36                         | 4.3    | 93.21                         | 3.6    |

注: ND 为未检出。

## 4 结 论

研究并建立了一种测定水果和蔬菜中五氯硝基苯残留的 GC-MS 检测技术, 通过对提取溶剂、超声时间、净化方法进行优化, 开发了样品前处理的较优方法。同时考察了样品基质对检测回收率的影响。该方法具有灵敏度高、分离效果好、重复性好的特点, 且样品前处理方法更简单方便, 能有效节约试剂和节约时间, 适用于大批量水果和蔬菜中五氯硝基苯残留检测的要求。对盲样考核和食品安全风险监测提供了一种参考方法。

## 参考文献

- [1] 朱惠芳, 胡美华, 胡贵祥. QuEChERS-气相色谱法测定水果中的五氯硝基苯[J]. 现代预防医学, 2016, 43(9): 3584–3614.  
Zhu HF, Hu MH, Hu GX. Determination of pentachloronitrobenzene in fruits by QuEChERS coupled with gas chromatography [J]. Mod Prev Med, 2016, 43(9): 3584–3614.
- [2] 金永富, 欧阳立群, 吴富中. 蔬菜中五氯硝基苯残留量的高效液相色谱测定[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, (21)(2): 361–362.  
Jin YF, OU Y LQ, Wu FZ. Determination of pentachloronitrobenzene in vegetable with high performance liquid chromatography [J]. Chin J Health Lab Technol, 2011, (21)(2): 361–362.
- [3] GB 2763-2016 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S].  
GB 2763-2016 National Food Safety Standards-Food pesticide maximum residue limit [S].
- [4] 汤富彬, 钟冬莲, 徐玉祥, 等. 气相色谱法同时测定竹笋中毒死蜱、五氯硝基苯、氰戊菊酯和溴氰菊酯农药残留量[J]. 食品工业科技, 2012, 33(7): 362–364.  
Tang FB, Zhong DL, Xu YX, *et al.* Simultaneous determination of chlorpyrifos, quintozene, fenvalerate and deltamethrin in bamboo shoots by gas chromatography [J]. Food Ind Sci Technol, 2012, 33(7): 362–364.
- [5] GB/T 5009.136-2003. 植物性食品中五氯硝基苯残留量的测定[S].  
GB/T 5009.136-2003. Determination of the residual amount of pentachloronitrobenzene in plant food [S].
- [6] 陈红平, 刘新, 汪庆华, 等. 气相色谱-质谱法同时测定茶叶中 72 种农药残留量[J]. 食品科学, 2011, 32(6): 159–164.  
Chen HP, Liu X, Wang QH, *et al.* Determination of 72 pesticide residues in tea by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Food Sci, 2011, 32(6): 159–164.
- [7] 孙华康, 王娟, 赵爱源, 等. 气相色谱-质谱法测定东北人参中 9 种农药残留[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(6): 116–120.  
Sun HK, Wang J, Zhao AY, *et al.* Determination of nine pesticide residues in panax ginseng from Northeast China by GC-MS [J]. Food Res Dev, 2017, 38(6): 116–120.
- [8] 邱伟芬, 张昌娟, 文良, 等. 气相色谱-质谱联用结合 QuEChERS 法快速筛查大米中多种农药残留[J]. 食品科学, 2015, 36(12): 221–225.  
Qiu WF, Zhang CJ, Wen L, *et al.* Rapid determination of pesticide multi-residues in rice by QuEChERS and GC-MS [J]. Food Sci, 2015, 36(12): 221–225.
- [9] Hou X, Han M, Dai XH, *et al.* A multi-residue method for the determination of 124 pesticides in rice by modified QuEChERS extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2013, 138(2): 1198–1205.
- [10] Nguyen TD, Lee BS, Lee BR, *et al.* A multiresidue method for the determination of 109 pesticides in rice using the quick easy cheap effective rugged and safe (QuEChERS) sample preparation method and gas chromatography/mass spectrometry with temperature control and vacuum concentration [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2007, 21(18): 3115–3122.
- [11] Arias JO, Rombaldi C, Caldas SS, *et al.* Alternative sorbents for the dispersive solid-phase extraction step in quick, easy, cheap, effective, rugged and safe method for extraction of pesticides from rice paddy soils with determination by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2014, 1360(19): 66–75.
- [12] Pareja L, Cesio V, Heinzen H, *et al.* Evaluation of various QuEChERS based methods for the analysis of herbicides and other commonly used pesticides in polished rice by LC-MS/MS [J]. Talanta, 2011, 83(5): 1612–1622.
- [13] 赵丽, 董玉英, 荣国琼, 等. 气相色谱-质谱法同时测定水果中五氯硝基苯、百菌清农药残留[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(9): 94–95.  
Zhao L, Dong YY, Rong GQ, *et al.* Determine of nitrobenzene and bacteria pesticide residues by GC-MS [J]. Anhui Agric Sci, 2017, 45(9): 94–95.
- [14] 朱惠芳, 胡美华, 胡贵祥. QuEChERS-气相色谱法测定水果中的五氯硝基苯[J]. 现代预防医学, 2016, 43(9): 3584–3614.  
Zhu HF, Hu MH, Hu GX. Determination of pentachloronitrobenzene in fruits by QuEChERS coupled with gas chromatography [J]. Mod Prev Med, 2016, 43(9): 3584–3614.
- [15] Pareja L, Fernandez-Alba AR, Cesio V, *et al.* Analytical methods for pesticide residues in rice [J]. Trend Anal Chem, 2011, 30(2): 270–291.

(责任编辑: 姜 姗)

## 作者简介



赵 丽, 硕士, 主管技师, 主要研究方向为理化检验。

E-mail: zhaoli880@126.com

董玉英, 主任技师, 主要研究方向为理化检验。

E-mail: 417640514@qq.com