气相色谱-负化学源质谱法测定食品中残留的丙炔氟草胺

李梅娟*

(福建省产品质量检验研究院，国家加工食品质量监督检验中心，福州 350002)

摘 要：目的 建立气相色谱-负化学源质谱法(gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry, GC-NCI-MS)测定食品中残留的丙炔氟草胺的方法。**方法** 样品经乙腈提取，固相萃取净化，丙酮+正己烷(1：1，*V*: *V*)洗脱，采用纯溶剂校正曲线外标法定量，由 GC-NCI-MS 在选择离子监测模式下进行测定。**结果** 丙炔氟草胺在 0.01~1.00 mg/L 范围内有良好的线性关系(r>0.999)，最低检出限为 0.0006 mg/kg，在 0.01、0.02、0.10 mg/kg 3 个添加水平下丙炔氟草胺的回收率为 92.5% ~ 107%，相对标准偏差均≤10.1%(n=6)。**结论** 该方法灵敏度，准确度和精密度均较高，能消除复杂基质带来的干扰，适合多种食品中丙炔氟草胺检测的确证分析。

关键词: 气相色谱-质谱；负化学源；丙炔氟草胺；食品

Determination of flumioxazin residue in foods by gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry

LI Mei-Juan*

(*National Quality Supervision and Testing Center for Processed Food*, *Fujian Inspection and Research Institute for Product Quality*, *Fuzhou* 350002, *China*)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of flumioxazin residue in foods by gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry (GC-NCI-MS). **Methods** The samples were extracted by acetonitrile, purified by solid phase extraction and eluted by acetone+n-hexane (1:1, *V:V*). It was quantified by pure solvent calibration curve external standard method and determined by GC-NCI-MS under the selective ion monitoring mode. **Results** Flumioxazin had a good linear relationship in the range of 0.01~1.00 mg/L (r>0.999), and the minimum limit of detection was 0.0006 mg/kg. The recovery rates of flumioxazin in the 3 added levels of 0.01, 0.02 and 0.10 mg/kg were 92.5% to 107%, and the relative standard deviations were ≤10.1% (n=6). **Conclusion** The method has high sensitivity, accuracy and precision, it can eliminate interference caused by complex matrices, and is suitable for confirmatory analysis of flumioxazin in various foods.

KEY WORDS: gas chromatography-mass spectrometry; negative chemical ionization; flumioxazin; food

***通讯作者:** 李梅娟，硕士，助理工程师，主要研究方向为食品安全分析与检测。E-mail: 15392487183@163.com

***Corresponding author:** LI Mei-Juan, Master, Assistant Engineer, Fujian Inspection and Research Institute for Product Quality, National Quality Supervision and Testing Center for Processed Food, Fuzhou 350002, China. E-mail: 15392487183@163.com

1 引 言

丙炔氟草胺(flumioxazin, 结构式如图 1), 是由日本住友化学工业株式会社在 1993 年上市的环酰亚胺类除草剂。自 2012 年以来, 国内企业陆续登记了该品种的原药, 因其具有水溶性、能快速降解以及施用量低, 对地下水无污染而被广泛用于大豆、花生, 果园中杂草的防除, 其对草甘膦抗性杂草水萱麻防除效果优异[1,2]。我国先后发布实施了 SN/T 1983-2007《进出口食品中丙炔氟草胺残留量检测方法 气相色谱-质谱法》[3]和 GB 23200.31-2016《食品安全国家标准 食品中丙炔氟草胺残留量的测定 气相色谱-质谱法》[4], 均规定了其最大残留量为 0.01 mg/kg。

目前, 气相色谱-质谱法主要有气相色谱-电子轰击离子源质谱法(gas chromatography-electron ionization-mass spectrometry, GC-EI-MS), 可实现上百种农药的同时分析, 是近些年应用最广泛的方法。相对于常用的 EI 源, 气相色谱-负化学源质谱法(gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry, GC-NCI-MS)对电负性强的农药(如含有卤素、硫、磷、氮、氧的农药), 选择性和灵敏度更优, 抗干扰性较好。丙炔氟草胺含有—O—电负性基团, 因此, GC-NCI-MS 可作为于此农药残留的特征分析方法。

近年来, 有较多文献研究了 GC-NCI-MS 在农药残留上的应用[5-7], 也有相关文献报道了利用 GC-EI-MS 对丙炔氟草胺的检测[8-11], 董静等[12]采用 GC-NCI-MS 对比 GC-EI-MS 法同时检测蔬菜中丙炔氟草胺等 103 种农药的残留。但国内外采用 GC-NCI-MS 检测多种食品中丙炔氟草胺残留的报道鲜少。在 2019 年国家食品安全监督抽检实施细则也在豆类项目中增加了对丙炔氟草胺的检测, 因此, 本研究建立了应用 GC-NCI-MS 检测西芹、杨桃、大豆和大米中丙炔氟草胺残留的方法, 有效解决了 GC-EI-MS 基质干扰强的问题, 对现有标准的检测方法进行了有效的补充。

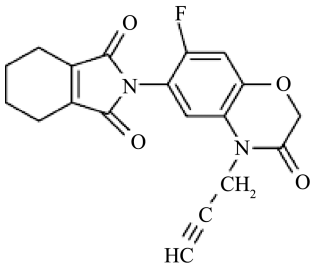

图 1 丙炔氟草胺结构式

Fig.1 Structural formula of flumioxazin

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

7890B-5977B 气质联用仪(配有负化学源, 美国 Agilent 公司); KQ-800KDE 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司); Reeko AutoEVA-60 全自动平行浓缩仪(厦门睿科仪器有限公司); SIGMA 高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司)。

乙腈(分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 丙酮、正己烷(色谱纯, 美国 Fisher 公司); 标准品丙炔氟草胺(CAS 号: 103361-09-7, 纯度为 99.5%, 德国 Dr. Ehrenstorfer 公司); SPE 固相萃取柱(WondaSep GC-e/PSA, 500 mg/6 mL, 日本 GL Sciences 公司)。

实验样品为监督抽查时在生产企业及市场上随机抽查的不同类型样品(包括西芹 18 个, 油麦菜 18 个, 杨桃 16 个, 莲雾 16 个, 大豆, 黄豆和有机黑豆共 32 个), 总计 100 个。

2.2 标准溶液的配置

准确称取 10 mg 丙炔氟草胺标准品, 用丙酮溶解并定容至 100 mL, 得到浓度为 100 mg/L 的标准储备液。保存于棕色标液瓶(0 ~ 4 ℃)。用丙酮溶解并稀释至 0.01、0.05、0.1、0.2、0.5、0.8、1.0 mg/L 的标准工作曲线。

2.3 样品前处理

2.3.1 样品提取

水果和蔬菜: 称取粉碎并混合均匀过的样品 10.0 g, 置于 50 mL 离心管中, 加入 20 mL 乙腈和 5 g 氯化钠, 超声提取 30 min 后于 5000 r/min 速率下离心 5 min。准确移取 10 mL 上层液至鸡心瓶中, 在 40 ℃水浴中浓缩至近干。

大豆和大米: 称取粉碎过的样品 2.0 g, 置于 50 mL 离心管中, 分别用 10 mL 乙腈提取 2 次, 充分振荡 3 min 后于 5000 r/min 速率下离心 5 min, (大豆样品需加 2 mL 乙腈饱和正己烷, 振荡离心后弃去正己烷层)。将上清液移至鸡心瓶中, 在 40 ℃水浴中浓缩至近干。

2.3.2 样品净化

在 Carb/PSA 柱中加入约 1 cm 高无水硫酸钠, 加样前先用 5 mL 丙酮+正己烷(1:1, *V*:*V*)预洗柱, 将样品浓缩液转移至净化柱上, 再每次用 2 mL 丙酮+正己烷(1:1, *V*:*V*)洗涤鸡心瓶 3 次, 并将洗涤液移入柱中, 再用洗脱液继续淋洗柱子, 收集至 12 mL, 在 40 ℃水浴中氮吹干, 用丙酮准确定容至 1 mL 后上机测试。外标法定量。

2.4 仪器条件

ZB-5MS 弹性石英毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 升温程序: 初始温度 80 ℃, 保持 2 min, 以 15 ℃/min 升至 300 ℃, 保持 10 min; 后运行 300 ℃, 2 min; 载气: 高纯氦气(≥99.999%); 载气流速: 1.0 mL/min; 进样体积: 2 μL; 进样模式: 不分流进样, 进样口温度: 300 ℃; MS 传输线温度: 280 ℃; 离子源温度: 150 ℃; 四极杆温度: 150 ℃; 电离模式: NCI; 电子

能量: 经自动调谐后得到的电子能量; 溶剂延迟时间: 6.00 min; 反应气: 高纯甲烷气(≥99.999%); 数据采集模式: 选择离子监测模式, 监测离子 *m/z* 354、355、287。

3　结果与分析

3.1　前处理方法的选择与优化

本研究选择在 GC-NCI-MS 条件下, 在加标水平为 0.01 mg/kg 时, 通过对比乙腈, 乙酸乙酯和丙酮+正己烷(1:1, *V*:*V*)的提取效果, 结果见表 1, 乙腈对 4 种基质的提取效果都较好, 回收率在 90%~105%之间, 乙酸乙酯提取时回收率在 78.1%~106%, 在杨桃的提取时回收率较其他三者低, 而丙酮+正己烷(1:1, *V*:*V*)提取时回收率普遍较高, 均超过 110%, 可能是由于丙酮会溶解更多的杂质, 导致基质干扰更大, 影响了最终的定量。乙腈能与水互溶, 盐析后容易与水分离, 样品中的糖、脂肪、蛋白质等不易被提取出来[9], 同时, 考虑到乙酸乙酯气味重, 不利于实验操作。因此, 本研究采用乙腈提取。

丙炔氟草胺的净化方法主要有活性炭柱[9], C_{18}粉末+PSA 粉末[12], 活性炭柱+0.5 g 酸性氧化铝[10], LC-NH_2 固相萃取柱[11]等。在净化实验中, 考虑到基质的复杂性和菠菜等色素含量高, 本文采用 Carb/PSA 净化, 得到满意的效果。通过比较丙酮+正己烷(1:1, *V*:*V*), 丙酮+正己烷(1:9, *V*:*V*)和乙腈+甲苯(3:1, *V*:*V*)的洗脱效果, 结果表明丙酮+正己烷(1:1, *V*:*V*)结果较好, 除杂能力也较强, 因此随后的研究选择丙酮+正己烷(1:1, *V*:*V*)作为洗脱液, 实验结果与卢声宇等[10]研究苯醚甲环唑和丙炔氟草胺在 5 种农产品上的残留所选洗脱液一致。

在定容液的选择上, 考虑到丙炔氟草胺不易溶于正己烷, 而乙腈上机对色谱柱损害大, 因此采用丙酮溶解上机。

3.2　基质效应

实验通过测定基质匹配标准溶液的平均响应值(A, *n*=5)和分析物在纯溶剂中的平均响应值(B, *n*=5)的比值来考察基质效应(matrix effects, *ME*)的大小, 按公式(1)计算。实验时添加浓度均为丙炔氟草胺的检出限 10 倍浓度(0.1 mg/kg)。当 *ME* > 0 时, 表示基质对待测物有基质增强效应; *ME* < 0 为基质抑制效应。一般按 *ME* 绝对值将基质效应分为弱基质效应(0% ~ 20%)、中等基质效应(20% ~ 50%)和强基质效应(大于 50%)[13]。将丙炔氟草胺在 4 种基质中的 *ME* 绝对值按此分类进行统计, 结果见图 2。

有相关报道显示丙炔氟草胺在 GC-EI-MS 条件下表现为强基质效应[14,15], 而从图 2 可以看出, 丙炔氟草胺在 GC-NCI-MS 条件下显示为弱基质效应, 说明 GC-NCI-MS 选择性强, 比 GC-EI-MS 的抗干扰能力更强, 故采用溶剂配置标准曲线即可。

$$ME\,/\,\% = \frac{A-B}{B}\times 100 \tag{1}$$

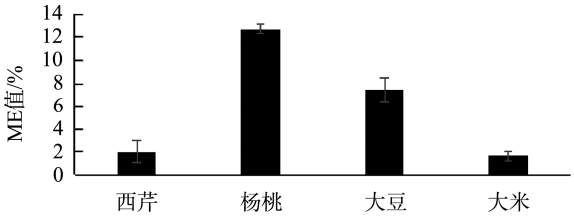

图 2　4 种不同基质中丙炔氟草胺的基质效应大小(*n*=5)

Fig.2　Value of matrix effects on flumioxazin in four different matrices (*n*=5)

3.3　方法学评价

3.3.1　线性关系和定量限

将“2.2”节中已经配制好的丙炔氟草胺标准工作溶液按 GC-NCI-MS 仪器条件进样, 外标法定量, 以标准溶液的质量浓度(mg/L)为横坐标(*X*), 以定量离子的峰面积为纵坐标(*Y*)作标准曲线, 线性方程为 $Y=66440X-96.104$, 相关系数为 $r^2=0.9993$, 这说明在 0.01~1.00 mg/L 范围内呈现良好的线性关系。其中阴性大豆添加水平为(0.1 mg/L)的总离子流色谱图(total ions chromatogram, TIC)见图 3。结合浓度为 0.01 mg/L 的标准溶液谱图, 根据检出限浓度处的信噪比 *S*/*N*=3 可以推断出折算到样品的方法检出限分别为: 蔬菜和水果: 0.0006 mg/kg, 大豆和大米: 0.0025 mg/kg。根据定量限浓度处的信噪比 *S*/*N*=10 可以推断出折算到样品的方法定量限分别为: 蔬菜和水果: 0.002 mg/kg, 大豆和大米: 0.008 mg/kg。

表 1　采用不同提取溶剂提取不同空白基质的回收率及其相对标准偏差(*n*=3, %)

Table 1　Recoveries and relative standard deviations of different standards extracted with different solvents (*n*=3, %)

提取溶剂	回收率/RSDs			
	西芹	杨桃	大豆	大米
乙腈	105/4.23	90.2/2.10	95.5/5.13	103/5.54
乙酸乙酯	106/3.81	78.1/3.93	102/9.03	91.8/2.74
丙酮+正己烷(1:1, *V*:*V*)	175/9.08	145/6.50	110/7.52	112/7.83

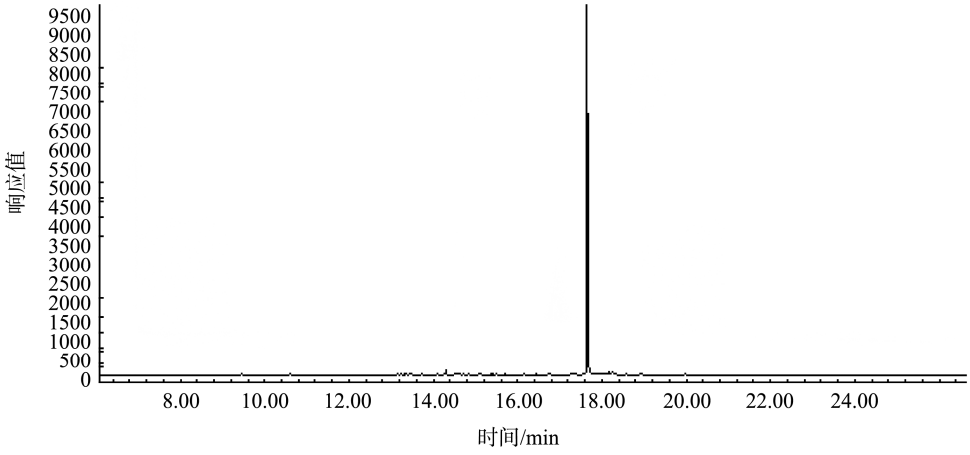

图 3 阴性大豆基质中丙炔氟草胺(0.1 mg/L)的 TIC 图

Fig.3 Total ion current (TIC) chromatogram of flumioxazin (0.1 mg/L) with matrix of negative soybean

综上所述，本研究方法的灵敏度很高，所研究基质的方法检出限和定量限完全满足现在国内外的限量要求。

3.3.2 准确度和精密度

选取阴性西芹、杨桃、大豆和大米样品做添加回收试验，3 个添加水平分别为 0.01、0.02、0.10 mg/kg，每个添加水平做 6 个平行样，平均回收率及其相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)见表 2。

表 2 丙炔氟草胺在 4 种基质中 3 个添加水平下的回收率及其相对标准偏差(n=6)

Table 2 Recoveries and RSDs of flumioxazin at three spiked levels in four matrixes (n=6)

基质	添加水平/(mg/kg)	回收率/%	RSD/%
西芹	0.01	99.4	7.62
	0.02	107	9.24
	0.10	107	7.43
杨桃	0.01	93.8	8.87
	0.02	97.7	9.86
	0.10	95.9	7.04
大豆	0.01	98.0	10.1
	0.02	96.1	8.38
	0.10	103	10.1
大米	0.01	99.1	6.36
	0.02	92.5	6.34
	0.10	101	7.56

3.4 实际样品检测

利用本研究所建立的食品中丙炔氟草胺的检测方法，对送检的 100 个样品进行了检测，结果并未检出有丙炔氟草胺残留，这可能与丙炔氟草胺使用剂量低，在环境中易降解有关。

4 结 论

本实验采用固相萃取净化、建立了 GC-NCI-MS 测定食品中丙炔氟草胺残留量的检测方法。实验表明，该方法操作简单，线性良好，灵敏度、准确度和精密度均较高；选择性好，抗干扰能力强，可以满足国内外对食品中丙炔氟草胺残留的限量要求。因此，可用于各类食品中丙炔氟草胺除草剂残留的测定方法，可以对现有检测标准作一个补充。

参考文献

[1] 黄华树. 丙炔氟草胺述评[J]. 农药, 2016, 55(10): 778–780.
Huang HS. Review on flumioxazin [J]. Agrochemicals, 2016, 55(10): 778–780.

[2] 陈晨. 丙炔氟草胺市场快速增长未来或将继续跑赢除草剂市场[J]. 农药市场信息, 2018, (19): 30–31.
Chen C. The rapid growth of flumioxazin market may continue to outperform the herbicide market in the future [J]. J Pestic Mark News, 2018, (19): 30–31.

[3] SN/T 1983-2007 进出口食品中丙炔氟草胺残留量检测方法 气相色谱-质谱法[S].
SN/T 1983-2007 Method for determination of residual propargyl fluoxamine in imported and exported food-Gas chromatography-mass spectrometry [S].

[4] GB 23200.31-2016 食品安全国家标准 食品中丙炔氟草胺残留量的测定 气相色谱-质谱法[S].
GB 23200.31-2016 National food safety standard-Determination of residual propargyl fluoxamine in food-Gas chromatography-mass spectrometry [S].

[5] 罗彤, 付文雯, 黄坤, 等. 气相色谱-负化学源质谱法测定牛奶中氟虫腈及其代谢物残留[J]. 中国乳品工业, 2019, 47(7): 39–41.
Luo T, Fu WW, Huang K, *et al*. Determination of fipronil and its metabolites in milk by gas chromatography-negative chemical ionization

mass spectrometry [J]. Chin Dairy Ind, 2019, 47(7): 39–41.

[6] 沈伟健, 柳菡, 张睿, 等. 气相色谱-负化学源质谱法测定禽蛋及蛋制品中氟虫腈及其代谢物[J]. 色谱, 2017, 35(12): 1224–1228.
Shen WJ, Liu H, Zhang R, *et al*. Determination of fipronil and its metabolites in eggs and egg products with gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2017, 35(12): 1224–1228.

[7] 张慧丽, 王建华, 姜瑛, 等. 固相萃取-气相色谱-负化学源质谱法检测水果和蔬菜中的毒杀芬[J]. 化学分析计量, 2016, 25(5): 53–56, 67.
Zhang HL, Wang JH, Jiang Y, *et al*. Detection of toxaphene in fruits and vegatables by gas chromatography–negative ion mass spectrometry with dispersive solid phase extraction [J]. Chem Anal Meter, 2016, 25(5): 53–56, 67.

[8] 王连珠, 杨明智, 王瑞龙, 等. 气相色谱-质谱法测定生姜中丙炔氟草胺残留量[J]. 食品科学, 2006, 27(10): 461–463.
Wang LZ, Yang MZ, Wang RL, *et al*. Determination of flumioxazin residue in ginger by GC-MS [J]. Food Sci, 2006, 27(10): 461–463.

[9] Ferrell JA, Vencill WK. Gas chromatographic/mass spectrometric determination of flumioxazin extracted from soil and water [J]. J AOAC Int, 2004, 87(1): 56–59.

[10] 卢声宇, 徐敦明, 余孔捷, 等. 气相色谱/气质联用分析5种农产品中的苯醚甲环唑和丙炔氟草胺残留[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(5): 1827–1831.
Lu SY, Xu DM, Yu KJ, *et al*. Determination of difenoconazole and flumioxazin in 5 agricultural products by gas chromatography (GC) with ECD and MS [J]. J Agro-Environ Sci, 2007, 26(5): 1827–1831.

[11] 林黎, 叶刚, 谢丽琪, 等. 气相色谱-质谱法检测食品中残留的丙炔氟草胺[J]. 色谱, 2008, (3): 318–321.
Lin L, Ye G, Xie LQ, *et al*. Determination of flumioxazin residue in foods using gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2008, (3): 318–321.

[12] 董静, 潘玉香, 秦亚萍, 等. 气相色谱-负化学离子源质谱法同时检测蔬菜 103 种农药残留[J]. 分析科学学报, 2010, 26(3): 323–328.
Dong J, Pan YX, Qin YP, *et al*. Simultaneous determination of 103 pesticide residues using gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry [J]. J Anal Sci, 2010, 26(3): 323–328.

[13] Kmellár B, Fodor P, Pareja L, *et al*. Validation and uncertainty study of a comprehensive list of 160 pesticide residues in multi-class vegetables by liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2008, 1215(1): 37–50.

[14] 李岩, 卢雄, 宋丹丹. 气相色谱-质谱法筛查测定浓缩果蔬汁中 73 种农药残留[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(7): 217–222.
Li Y, Lu X, Song DD. Determination of 73 pesticide residues in concentrated fruit and vegetable juices using gas chromatography-mass spectrometry [J]. Food Ferment Ind, 2016, 42(7): 217–222.

[15] 黄松, 宋安华, 陈穗, 等. QuEChERS-气相色谱-串联质谱法测定油麦菜中农药多残留的基质效应[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(12): 3863–3868.
Huang S, Song AH, Chen S, *et al*. Determination of matrix effects of pesticide multi-residues in lettuces by QuEChERS-gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(12): 3863–3868.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介

李梅娟, 硕士, 助理工程师, 主要研究方向为食品安全分析与检测。
E-mail: 15392487183@163.com