

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.80531

超高效液相色谱—串联质谱法测定动物源性食品中百菌清及其代谢物 4-羟基百菌清残留量

刘小芳^{1,2} 李政^{1,2} 何浩^{1,2} 蒋军杰^{1,2} 陈媛媛^{1,2}

(1. 湖南省产商品质量检验研究院, 湖南 长沙 410007;

2. 食品安全监测与预警湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410007)

摘要: [目的] 建立超高效液相色谱—串联质谱法同时测定动物源性食品中百菌清及其代谢物 4-羟基百菌清残留的检测方法。[方法] 样品经 1% 乙酸—乙腈溶液振荡提取, 正己烷脱脂, 基质分散固相萃取剂 (PSA、无水硫酸镁) 净化, 通过 Waters BEH C₁₈ 色谱柱分离, 以乙腈—0.1% 甲酸水溶液为流动相进行梯度洗脱, 采用大气压化学电离源 (APCI) 负离子多反应监测模式 (MRM) 进行测定, 基质匹配外标法定量。[结果] 百菌清及 4-羟基百菌清在 5~500 μg/L 范围内线性关系良好, 定量限均为 0.005 mg/kg, 平均回收率分别为 69.3%~111.0% 和 65.3%~117.9%, 相对标准偏差分别为 1.6%~10.8% 和 1.1%~9.0%。[结论] 该方法前处理简单快速, 灵敏度高, 准确可靠, 可用于动物源性食品中百菌清及其代谢物 4-羟基百菌清的同时测定。

关键词: 超高效液相色谱—串联质谱; 百菌清; 4-羟基百菌清; 动物源性食品

Determination of chlorothalonil and its metabolite 4-hydroxychlorothalonil residues in animal-derived food by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LIU Xiaofang^{1,2} LI Zheng^{1,2} HE Hao^{1,2} JIANG Junjie^{1,2} CHEN Yuanyuan^{1,2}

(1. Hunan Provincial Institute of Product and Goods Quality Inspection, Changsha, Hunan 410007, China; 2. Hunan Provincial Key Laboratory of Food Safety Monitoring and Early Warning, Changsha, Hunan 410007, China)

Abstract: [Objective] To establish a method for simultaneous determination of chlorothalonil and its metabolite 4-hydroxychlorothalonil residues in animal-derived food by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. [Methods] The samples were extracted by oscillating with acetonitrile solution of 1% acetic acid, defatted with n-hexane, purified by matrix dispersible solid phase extractant (PSA, anhydrous magnesium sulfate), separated by Waters BEH C₁₈ column under a gradient elution program using 0.1% formic acid aqueous solution and acetonitrile as the mobile phases. The anion multiple reaction monitoring model (MRM) of atmospheric pressure chemical ionization source (APCI) was used for the determination, and the matrix matching external standard method was used for quantitative determination. [Results] The linear relationships of chlorothalonil and 4-hydroxychlorothalonil were good in the range of 5~500 μg/L, and the limits of quantitation were 0.005 mg/kg. The average recoveries of chlorothalonil and 4-hydroxychlorothalonil were 69.3%~111.0% and 65.3%~117.9%, respectively. The relative standard deviations of chlorothalonil and 4-hydroxychlorothalonil were 1.6%~10.8% and 1.1%~9.0%, respectively. [Conclusion] The method is simple, rapid, sensitive, accurate and reliable for simultaneous determination of chlorothalonil and its metabolite 4-hydroxychlorothalonil in animal-derived food.

Keywords: ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; chlorothalonil; 4-hydroxychlorothalonil; animal-derived food

基金项目: 湖南省自然科学基金资助项目 (编号: 2023JJ60530)

通信作者: 刘小芳 (1991—), 女, 湖南省产商品质量检验研究院工程师, 硕士。E-mail: 740954546@qq.com

收稿日期: 2024-06-11 改回日期: 2024-09-11

百菌清(chlorothalonil)是一种非内吸性高效杀菌剂^[1]。由于其毒性低、黏附性好,目前在果树、蔬菜、茶树上广泛应用^[2]。毒理学试验发现百菌清对大鼠肾脏有致癌作用,会影响大鼠生殖繁衍和后代生命力^[3]。除此之外,人们还发现蜜蜂幼虫在百菌清高暴露剂量下,不仅其肠道的微生物结构会改变,存活率也会降低^[4]。百菌清最主要的代谢产物是4-羟基-2,5,6-三氯异二苯腈(简称4-羟基百菌清),其毒性比百菌清更强,对人类健康、环境的影响更加深远^[5]。因此,对百菌清及其代谢物4-羟基百菌清在食品中的残留量,许多国家制定了严格的限量标准。如2009年,美国将百菌清残留范围扩大为针对百菌清和4-羟基百菌清的总残留量^[1];2017年,新西兰开始限制使用百菌清,其环保署严格控制含百菌清的产品^[6];2021年,欧盟委员会发布(EU)2021/155法规,修订了(EC)No 396/2005实施条例《食品中农药最大残留限量法规》,关于根茎类蔬菜、茶叶、咖啡豆、干豆中百菌清最大残留限量被修订^[7];同年,巴西国家卫生监督局(ANVISA)发布了G/SPS/N/BRA/1832/Add.1通报,有关稻米、花生中百菌清的最大残留限量也被制定^[8]。2022年,加拿大有害生物管理局(PMRA)特别审查百菌清和百菌清最终用途产品^[9];2024年3月,关于啤酒花的百菌清最大残留量被巴西新增为5 mg/kg^[10]。GB 2763—2021明确规定了蔬菜、水果、谷物、油料和油脂、食用菌、坚果、糖料、饮料类、药用植物、调味料中百菌清最大残留限量,新增禽肉类、生乳等7种动物源性食品中百菌清的临时限量,但是新版国家标准中只有蔬菜、水果、谷物、油料和油脂、调味料、糖料、食用菌以及茶叶的测定方法,无关于新增的动物源性食品中百菌清的检测方法^[11]。

目前,国内外关于百菌清的分析方法主要包括气相色谱法^[12-15]、气相色谱—质谱法^[16-18]、液相色谱法^[19-20]、液相色谱—质谱法^[21-22]、4-羟基百菌清的分析方法主要有液相色谱—质谱法^[21-23]。虽然检测方法众多,但以上方法或是只能检测单一化合物百菌清或4-羟基百菌清^[12-18,20];或是检测两种,需要气相色谱仪与超高效液相色谱—串联质谱仪分开测定,不够快速^[23];或是同时检测两种,但现有研究大多集中在果蔬类样品上^[21-22],关于百菌清以及4-羟基百菌清在动物源性食品基质中的研究甚少。

研究拟通过对样品进行提取和净化,建立同时测定动物源性食品中百菌清和4-羟基百菌清残留量的分析方法,以期能够准确、高效测定大批量样品,并为动物源性食品中百菌清及其代谢物4-羟基百菌清的残留量检测提供技术支持。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与amp;仪器

1.1.1 材料与amp;试剂

百菌清:纯度98.15%,德国Dr.Ehrenstorfer公司;

4-羟基百菌清:纯度97.60%,上海安谱瑞世标准技术

服务有限公司;

乙腈、正己烷:HPLC级,上海安谱实验科技股份有限公司;

甲酸、乙酸、无水硫酸钠、无水硫酸镁:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

Cleanert PSA 粉末:40~60 μm,天津博纳艾杰尔科技有限公司;

猪肉、牛肉、羊肉、鸡肉、猪肝、猪油、鸡肝、鸡皮、纯牛奶:市售。

1.1.2 主要仪器设备

三重四极杆液相色谱质谱联用仪:LCMS-8050型,日本岛津公司;

氮吹浓缩装置:TurboVap LV型,瑞典Biotage公司;

智能高速冷冻离心机:3H16RI型,湖南赫西仪器装备有限公司;

电子天平:S225D-1CN型,德国赛多利斯集团;

离心管振荡器:KB-5010型,江苏海门市其林贝尔仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液的配制

(1) 标准贮备液:分别称取一定量的百菌清与4-羟基百菌清标准品,置于10 mL棕色容量瓶中,用乙腈溶解,配制成100 μg/mL的贮备液,避光-18℃保存,有效期6个月。

(2) 标准中间液:取适量体积的百菌清与4-羟基百菌清标准贮备液,用乙腈稀释,配制成1.0 μg/mL的混合标准中间液,现用现配。

(3) 标准工作溶液:取适量体积的标准中间液,用空白基质溶液稀释成标准系列工作曲线,待测。

1.2.2 样品前处理 称取制备均匀的样品2 g(精确至0.01 g),置于50 mL离心管中,加入15 mL 1%乙酸—乙腈溶液和5 g无水硫酸钠,混匀,振荡提取15 min,8 000 r/min离心5 min,收集提取液;残渣继续加入15 mL 1%乙酸—乙腈溶液,振荡提取15 min,8 000 r/min离心5 min后合并2次提取液于40℃氮吹至干,然后用1 mL 80%乙腈水溶液溶解样品,待净化。

加入1 mL乙腈饱和的正己烷进行脱脂,而后加入净化剂(50 mg PSA、150 mg硫酸镁)净化,剧烈涡旋1 min,离心5 min,过0.22 μm有机滤膜后,待测。

1.2.3 色谱和质谱条件 色谱柱:Waters BEH C₁₈色谱柱(100 mm×2.1 mm,1.7 μm);流动相:A为0.1%甲酸水溶液,B为乙腈;流速:0.3 mL/min;进样量:10 μL;柱温:40℃;洗脱梯度:0~1.00 min,20% B;1.00~4.50 min,20%~70% B;4.50~7.00 min,70% B;7.00~7.10 min,70%~95% B;7.10~10.00 min,95% B;10.00~10.10 min,95%~20% B;10.10~13.00 min,20% B。

离子源为大气压化学电离源(APCI);负离子扫描

MRM 多反应监测模式;电晕针电压 3 500 V;干燥气流量 5 L/min;雾化气流量 3 L/min;加热模块温度 200 °C;脱溶

剂管温度 200 °C;接口温度 350 °C;碰撞气压力 2.7×10⁵ Pa;其他质谱条件见表 1。

表 1 百菌清及 4-羟基百菌清的质谱参数[†]

Table 1 Mass spectrum parameters of chlorothalonil and 4-hydroxychlorothalonil

化合物	保留时间/ min	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	四极杆 1 预杆 偏置电压/V	碰撞能量/ V	四极杆 3 预杆 偏置电压/V
4-羟基百菌清	5.328	245.0	182.1*	11.0	28.0	18.0
			147.1	27.0	35.0	24.0
百菌清	6.244	245.0	182.1*	11.0	28.0	18.0
			147.1	27.0	35.0	24.0

† *定量离子。

1.3 数据处理

岛津 LCMS-8050 配有 LabSolutions 数据处理软件,可以建立标准曲线及计算结果,采用 WPS Excel 进行数据处理及图表绘制。色谱图采用 OriginPro 8.5 软件绘制。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂的选择

百菌清及 4-羟基百菌清易溶于乙腈、乙酸乙酯、正己烷、丙酮等有机试剂,常采用上述溶剂进行提取。陈美君等^[19]比较不同提取溶剂(乙酸乙酯、乙腈、正己烷)对鸡胗中百菌清及其代谢物 4-羟基百菌清的提取效率,最终得出乙腈的提取效率最高;刘贺等^[24]比较了乙腈、1% 乙酸—乙腈、丙酮 3 种提取溶剂对果蔬中百菌清的提取效率,发现使用 1% 乙酸—乙腈提取时,百菌清回收率最佳。考虑到乙腈、乙酸乙酯、正己烷、丙酮 4 种有机试剂中,乙腈极性最大且穿透性强,更适合提取极性的 4-羟基百菌清,故选用乙腈作为提取溶剂。因动物源性食品中有较高含量的蛋白质,在乙腈中加入 1% 乙酸,可以进一步沉淀蛋白质,提高目标物的提取效率,故该研究最终提取溶剂为 1% 乙酸—乙腈溶液。

2.2 净化方式的优化

百菌清及 4-羟基百菌清常用的前处理方法有 SPE 法、QuEChERS 法和直接萃取法。由于动物源性食品种类多、基质复杂、干扰物多,直接萃取法后上机测定也发现 2 种目标物峰形不佳,不利于准确定量;SPE 法操作繁琐,净化效率低;QuEChERS 法具有操作简便、回收率高、高效快速等优点,因此选择 QuEChERS 法。样品经 1% 乙酸—乙腈溶液提取正己烷脱脂后,还有少量的蛋白质、脂肪、有机酸、糖原、胆固醇等杂质会对目标物的分析造成一定的干扰,需要进一步净化。常用的 QuEChERS 净化剂有十八烷基键合硅胶 C₁₈、*N*-丙基乙二胺 PSA、无水硫酸镁、石墨碳化黑 GCB 等。该研究比较了 PSA 粉末、C₁₈ 粉、PSA+C₁₈ 混合粉末、PSA+无水硫酸镁、PSA+无水硫酸镁+GCB 粉的净化效果,发现 PSA+无水硫酸镁组合使

用时,其净化效果和回收率均最好。PSA 可以去除有机酸、糖原、部分色素,无水硫酸镁主要起到除水和盐析作用。通过对净化剂用量进行优化,最终选用 PSA 50 mg、无水硫酸镁 150 mg 为该研究基质分散固相萃取剂。

2.3 复溶溶剂的选择

为了比较不同浓度的复溶溶剂对百菌清、4-羟基百菌清回收率的影响,分别用 20%、40%、60%、80% 乙腈水及纯乙腈溶解氮吹后样品。试验发现,20%、40%、60% 乙腈水溶解时,百菌清回收率不合格,这主要是因为百菌清微溶于水,溶剂中水比例太高,会有部分百菌清不溶解;纯乙腈溶解时,4-羟基百菌清色谱峰有毛刺,峰型不佳,这可能是因为纯乙腈溶解性太好,样品中部分净化不彻底的脂肪、蛋白质等杂质同样被溶解,对 4-羟基百菌清的分析造成了干扰。综合考虑,最终选用 80% 乙腈水作为复溶溶剂,此时,百菌清及 4-羟基百菌清的回收率与峰形都最好。

2.4 液相色谱与质谱条件的确定

2.4.1 质谱条件的优化 采用直接进样的方式分别对百菌清与 4-羟基百菌清进行一级全扫描(见图 1),两者谱图高度相似,均检测到 *m/z* 245.0, 247.0, 249.0 3 个离子峰。根据同位素丰度比 3:3:1 以及百菌清、4-羟基百菌清的相对分子质量推测 *m/z* 245.0 离子峰是 4-羟基百菌清 [C₈N₂OCl₃]⁻,百菌清发生取代反应也生成 4-羟基百菌清 [C₈N₂OCl₃]⁻。接着比较百菌清与 4-羟基百菌清在相同前体离子 *m/z* 245.0 和相同碰撞能量 35.0 V 条件下的二级谱图(见图 2),均检测到 5 个碎片离子峰 *m/z* 112.0, 147.1, 175.1, 182.1, 210.1, 且 5 个离子峰的相对丰度大致相同。说明百菌清确实发生取代反应,这也与李凌云等^[21]、毕瑞锋等^[22]的结论一致。该研究以 *m/z* 245 为母离子,选取二级谱图中相对丰度较高的两对子离子 *m/z* 147, 182 分别为定性离子和定量离子,优化后的质谱参数见表 1。百菌清与 4-羟基百菌清保留时间分别为 6.244, 5.328 min,这是因为百菌清在离子源中首先会发生取代反应,因此比 4-羟基百菌清后出色谱峰,通过保留时间可以快速区分百菌清与 4-羟基百菌清。

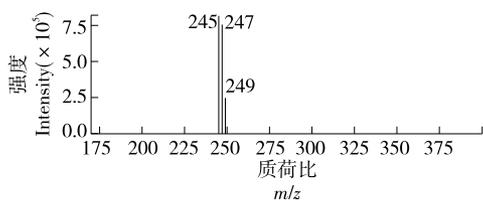


图1 百菌清的一级全扫描质谱图

Figure 1 Primary full scan mass spectrometry of chlorothalonil

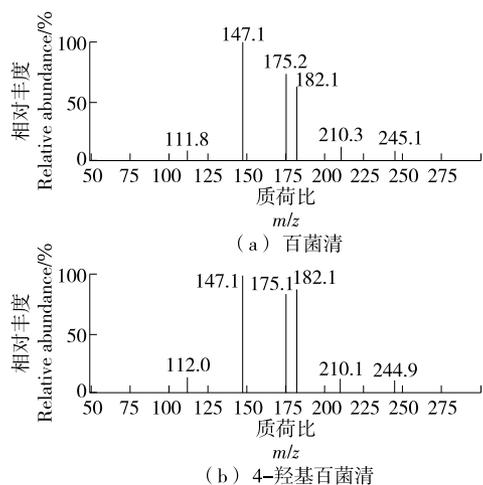


图2 百菌清和4-羟基百菌清的二级质谱图

Figure 2 Secondary mass spectrometry of chlorothalonil and 4-hydroxychlorothalonil

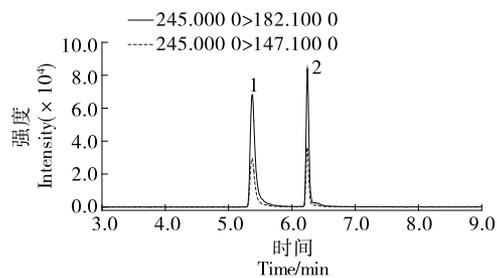
2.4.2 流动相的优化 该研究比较了流动相分别为乙腈—0.1%甲酸水溶液、乙腈—水、甲醇—0.1%甲酸水溶液时对百菌清及4-羟基百菌清的响应情况。结果显示：流动相的水溶液中含有0.1%甲酸可以大大提高4-羟基百菌清的响应；采用乙腈—0.1%甲酸水溶液作流动相时，4-羟基百菌清的响应值好于甲醇—0.1%甲酸水溶液；此外，在乙腈—0.1%甲酸水溶液中加入10 mmol/L乙酸铵后，会提高百菌清的响应，但对4-羟基百菌清的影响不明显。综合考虑，该研究选取乙腈—0.1%甲酸水溶液作为最终的流动相。优化条件下百菌清及4-羟基百菌清的色谱图见图3。

2.5 基质效应的考察

动物源性食品种类多，成分杂，不同样品基质中的杂质可能会对目标化合物的分析产生一定的干扰，影响分析的准确度、精密度和灵敏度，因此在质谱分析中考察基质效应十分必要。分别用猪肉、猪肝等9种动物源性空白基质样液及80%乙腈—水配制系列标准溶液，上机测定后绘成标准曲线。按式(1)计算基质效应。

$$M_E = \frac{k_2 - k_1}{k_1} \times 100\%, \quad (1)$$

式中：



1. 4-羟基百菌清 2. 百菌清

图3 4-羟基百菌清和百菌清标准溶液(0.1 mg/L)的MRM色谱图

Figure 3 MRM chromatogram of 4-hydroxychlorothalonil and chlorothalonil standard solutions (0.1 mg/L)

M_E ——基质效应，%；

k_2 ——基质匹配标准曲线的斜率；

k_1 ——溶剂标准曲线的斜率。

M_E 为负数、正数时分别代表基质抑制效应、基质增强效应。 $|M_E|$ 越大，基质效应越强^[21]。具体结果见图4，大部分基质对百菌清及4-羟基百菌清均有不同程度的抑制效应；4-羟基百菌清在9种基质中均表现弱基质效应；百菌清在牛肉、猪肉、羊肉等基质中基质效应逐渐增大，尤其在鸡肝基质中达到最大，为77.4%。这可能是因为在鸡肝(禽类内脏)中含有比哺乳动物肉类或禽肉类更丰富的蛋白质、有机酸、胆固醇、糖原等内源性物质，当进行前处理时，这些物质与百菌清、4-羟基百菌清共流出，在离子源端与目标化合物竞争离子化导致。为了消除基质效应带来的影响，该研究采用基质标准曲线对百菌清和4-羟基百菌清进行定量。

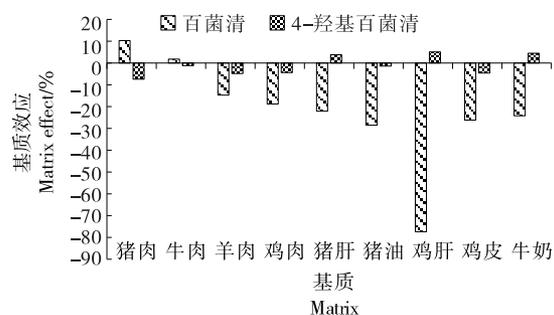


图4 百菌清和4-羟基百菌清的基质效应

Figure 4 Matrix effects of chlorothalonil and 4-hydroxychlorothalonil

2.6 方法学评价

2.6.1 线性范围与定量限 按1.2.2前处理方法制备牛肉、猪肉、羊肉等空白基质样液，然后分别配成质量浓度为5, 10, 20, 40, 50, 100, 200, 500 $\mu\text{g/L}$ 的标准溶液，以色谱峰的峰面积对百菌清及4-羟基百菌清的质量浓度绘制

标准曲线。具体结果见表 2, 在 5~500 μg/L 范围内两者均呈良好线性, 相关系数均大于 0.998。

在阴性样品中添加百菌清及 4-羟基百菌清, 以 10 倍信噪比结合回收率和精密度确定方法定量限(LOQ)。结果表明, 百菌清及 4-羟基百菌清的定量限均为 0.005 mg/kg,

与李凌云等^[21]的方法相比, 灵敏度更高; 且在该浓度水平下, 百菌清及 4-羟基百菌清的平均回收率和精密度同时满足 GB/T 27404—2008 的要求。GB 2763—2021 中哺乳动物内脏、肉类、脂肪等 7 种细分品类下 4-羟基百菌清的临时限量为 0.01~0.20 mg/kg, 该定量限满足检测要求。

表 2 百菌清及 4-羟基百菌清在不同基质中的线性关系

Table 2 Linear relationship of chlorothalonil and 4-hydroxychlorothalonil in different matrixes

基质	线性范围/ (μg·L ⁻¹)	定量限/ (mg·kg ⁻¹)	百菌清		4-羟基百菌清	
			线性方程	相关系数	线性方程	相关系数
猪肉	5~500	0.005	Y=870.658X+6 639.88	0.998 6	Y=1 418.94X+5 958.46	0.999 6
牛肉	5~500	0.005	Y=803.905X+2 800.05	0.999 9	Y=1 514.74X+6 577.42	0.999 9
羊肉	5~500	0.005	Y=673.363X+9 579.04	0.999 2	Y=1 458.82X+7 384.66	0.999 9
鸡肉	5~500	0.005	Y=641.480X-2 843.00	0.999 8	Y=1 464.78X+3 289.52	0.999 8
猪肝	5~500	0.005	Y=615.214X+1 834.16	0.999 4	Y=1 590.22X+6 887.45	0.999 6
猪油	5~500	0.005	Y=564.620X+3 974.60	0.999 6	Y=1 511.42X+303.867	0.999 2
鸡肝	5~500	0.005	Y=178.283X+531.072	0.999 3	Y=1 610.29X-388.038	0.999 7
鸡皮	5~500	0.005	Y=582.382X+11 342.0	0.999 4	Y=1 462.06X+1 6611.0	0.999 2
牛奶	5~500	0.005	Y=598.703X+2 758.34	0.999 0	Y=1 601.69X+1 313.64	0.999 9

2.6.2 准确度与精密度 在牛肉、猪肉、羊肉、鸡肉、猪肝、牛奶、鸡皮、猪油和鸡肝 9 种阴性样品中分别添加定量的百菌清及 4-羟基百菌清标准溶液, 按 1.2.2 前处理方法进行加标回收试验, 每种样品分别做 3 个水平, 每个加标水平做 6 平行。

如表 3 所示, 在牛肉、猪肉、羊肉等 9 种基质中, 百菌清和 4-羟基百菌清的平均回收率分别为 69.3%~111.0% 和 65.3%~117.9%, 相对标准偏差分别为 1.6%~10.8% 和

1.1%~9.0%。与李凌云等^[21]的方法相比, 该研究中百菌清的平均回收率更高, 稳定性更好。根据 GB/T 27404—2008, 当被测组分含量 <0.1 mg/kg 或为 0.1~1 mg/kg 时, 回收率参考范围分别为 60%~120%, 80%~110%; 当被测组分含量 <0.01 mg/kg、<0.1 mg/kg 或 <1 mg/kg 区间时, 精密度应分别 <21%, <15%, <11%, 该研究回收率和精密度均符合标准要求。说明该方法适用于动物源性食品中百菌清和 4-羟基百菌清残留量的定量分析。

表 3 百菌清及 4-羟基百菌清在不同基质中的平均加标回收率和精密度[†]

Table 3 Average recoveries and precision of chlorothalonil and 4-hydroxychlorothalonil in different matrixes (n=6)

基质	百菌清						4-羟基百菌清					
	低		中		高		低		中		高	
	回收率/%	精密度/%	回收率/%	精密度/%	回收率/%	精密度/%	回收率/%	精密度/%	回收率/%	精密度/%	回收率/%	精密度/%
猪肉	86.3	6.0	82.8	5.4	74.4	5.5	92.5	5.9	77.8	4.1	84.4	3.4
牛肉	76.1	6.0	87.6	4.6	69.9	4.3	104.4	4.1	93.3	4.6	80.1	2.6
羊肉	73.6	1.8	90.4	3.1	79.3	3.5	100.2	1.1	102.5	7.5	83.0	7.0
鸡肉	105.3	5.7	101.6	8.7	97.2	10.8	89.5	3.2	93.5	9.0	90.2	7.2
猪肝	77.5	5.5	86.3	5.4	92.8	4.7	98.3	7.0	83.2	6.0	91.8	6.9
猪油	69.3	1.8	81.1	1.6	76.2	3.4	90.2	2.8	65.3	3.2	74.4	2.8
鸡肝	76.7	9.7	73.0	7.2	101.4	10.0	66.4	3.2	68.9	3.6	67.4	5.0
鸡皮	99.6	3.6	111.0	3.3	101.7	5.8	109.9	1.8	117.9	1.5	96.2	7.7
牛奶	107.3	5.2	78.1	2.2	74.8	3.0	72.5	4.8	88.1	2.6	84.7	4.4

† 猪肉、牛肉、羊肉、鸡肉及鸡皮低、中、高水平分别为 0.005, 0.01, 0.02 mg/kg; 猪油、鸡肝及牛奶低、中、高水平分别为 0.005, 0.03, 0.07 mg/kg; 猪肝低、中、高水平分别为 0.005, 0.04, 0.20 mg/kg。

2.7 实际样品的检测

采用该研究方法, 对 40 份市售的牛肉、猪肉、猪腰等动

物源性样品进行百菌清及 4-羟基百菌清的残留量测定。结果显示, 40 份样品中均未检出百菌清及 4-羟基百菌清。

3 结论

通过对前处理方法、仪器条件进行优化,以及方法学验证,建立了同时测定动物源性食品中百菌清及其代谢物4-羟基百菌清残留量的超高效液相色谱—串联质谱法。该方法前处理过程简单;百菌清与4-羟基百菌清定量限均为0.005 mg/kg,灵敏度高;百菌清与4-羟基百菌清平均回收率分别为69.3%~111.0%和65.3%~117.9%,相对标准偏差分别为1.6%~10.8%和1.1%~9.0%,结果准确、稳定、可靠。

参考文献

- [1] 刘庆菊,韩平,巩文雯,等.农产品中百菌清残留快速检测研究进展[J].食品科技,2018,43(6):306-311.
LIU Q J, HAN P, GONG W W, et al. Advances in rapid detection of chlorothalonil in agricultural products[J]. Food Science & Technology, 2018, 43(6): 306-311.
- [2] VANSOYAPRIL R, TJEERDEMARONALD S. Environmental fate and toxicology of chlorothalonil[J]. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 2014, 232: 89-105.
- [3] YU S Y, WAGES R M, COBB P G, et al. Effects of chlorothalonil on development and growth of amphibian embryos and larvae[J]. Environmental Pollution, 2013, 181: 329-334.
- [4] TONG W, BO H, XING W, et al. Chlorothalonil alters the gut microbiota and reduces the survival of immature honey bees reared in vitro[J]. Pest Management Science, 2022, 78(5): 1 976-1 981.
- [5] 环境保护部.国家污染物环境健康风险名录:化学第二分册[M].北京:中国环境科学出版社,2011:28-33.
Ministry of Environmental Protection. The national catalogue of environmental health risks of pollutants: chemistry part two[M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2011: 28-33.
- [6] 申继忠,叶子雨.百菌清的禁用与替代产品的选择[J].世界农药,2021,43(7):9-17,37.
SHEN J Z, YE Z Y. Chlorothalonil prohibition, restriction and alternative products[J]. World Pesticide, 2021, 43(7): 9-17, 37.
- [7] 海关总署.欧盟修订食品中百菌清等农药的最大残留限量[EB/OL].(2021-02-22)[2024-04-28].<http://news.foodmate.net/2021/02/585548.html>.
General Administration of Customs. The EU revised the maximum residue limits of pesticides such as chlorothalonil in food[EB/OL].(2021-02-22)[2024-04-28].<http://news.foodmate.net/2021/02/585548.html>.
- [8] 海关总署.巴西制定食品中百菌清最大残留限量[EB/OL].(2021-07-01)[2024-04-28].<http://news.foodmate.net/2021/07/598259.html>.
General Administration of Customs. Maximum residue limits for chlorothalonil in food are established in Brazil[EB/OL].(2021-07-01)[2024-04-28].<http://news.foodmate.net/2021/07/598259.html>.
- [9] 加拿大就百菌清及其最终用途产品进行特别审查[J].农药,2022,61(4):279.
Canada conducted a special review of chlorothalonil and its end-use products[J]. Pesticides, 2022, 61(4): 279.
- [10] 厦门技术性贸易措施信息网.巴西制订部分食品中百菌清等农药的最大残留限量[EB/OL].(2024-03-12)[2024-04-28].<http://news.foodmate.net/2024/03/683080.html>.
Xiamen Technical Trade Measures Information Network. Brazil has set maximum residue limits for pesticides such as chlorothalonil in some foods[EB/OL].(2024-03-12)[2024-04-28].<http://news.foodmate.net/2024/03/683080.html>.
- [11] 国家卫生健康委员会,国家市场监督管理总局,农业农村部.食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量:GB 2763—2021[S/OL].(2021-03-03)[2024-04-22].<http://down.foodmate.net/standard/yulan.php?itemid=108497>.
National Health Commission, State Administration for Market Supervision and Administration, Ministry of Agriculture and Rural Affairs. National food safety standard maximum residue limit of pesticides in food: GB 2763—2021[S/OL].(2021-03-03)[2024-04-22].<http://down.foodmate.net/standard/yulan.php?itemid=108497>.
- [12] 曹叶中,蔡文.气相色谱法测定果蔬中百菌清残留的方法优化[J].食品安全质量检测学报,2020,11(21):7 935-7 941.
CAO Y Z, CAI W. Optimization of detection method of chlorothalonil residue in fruits and vegetables by gas chromatography[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2020, 11(21): 7 935-7 941.
- [13] 苏龙,龚道新,赵佳,等.百菌清在花生中的残留及膳食风险评估[J].农药,2021,60(7):504-507,511.
SU L, GONG D X, ZHAO J, et al. Residues and dietary risk assessment of chlorothalonil in peanut[J]. Agrochemical, 2021, 60(7): 504-507, 511.
- [14] 王飞,苟龙,令狐玉妹,等.气相色谱法测定果蔬汁中百菌清与哒螨灵残留[J].农业科技与信息,2022(22):95-97.
WANG F, GOU L, LINGHU Y M, et al. Determination of chlorothalonil and pyridaben residues in fruit and vegetable juice by gas chromatography[J]. Agricultural Science and Information, 2022(22): 95-97.
- [15] 李盼盼,史晓华,李嘉业,等.气相色谱法测定西葫芦中百菌清残留量的不确定度评定[J].中国标准化,2024(6):185-191.
LI P P, SHI X H, LI J Y, et al. Evaluation of the uncertainty of chlorothalonil residue in zucchini by gas chromatography[J]. China Standardization, 2024(6): 185-191.
- [16] 梁建英,谢瑞龙,胡雪,等.气相色谱—串联质谱法测定原料类果酱中百菌清残留量[J].食品安全质量检测学报,2021,12(21):8 620-8 624.
LIANG J Y, XIE R L, HU X, et al. Determination of chlorothalonil residues in raw jam by gas chromatography-

- tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2021, 12(21): 8 620-8 624.
- [17] 马莹, 刘喜, 马超. 全自动固相萃取—气相色谱—质谱法测定水中百菌清的含量[J]. *理化检验(化学分册)*, 2022, 58(6): 729-731.
- MA Y, LIU X, MA C. Determination of chlorothalonil in water by automatic solid phase extraction with gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Physical Testing and Chemical Analysis (Part B Chemical Analysis)*, 2022, 58(6): 729-731.
- [18] 蒋莹, 诸鸿未, 赵霞. 气相色谱—质谱法同时测定水性涂料中 3 种生物杀伤剂的含量[J]. *理化检验(化学分册)*, 2023, 59(1): 61-64.
- JIANG Y, ZHU H W, ZHAO X. Simultaneous determination of three biological killers in waterborne coatings by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Physical Testing and Chemical Analysis (Part B Chemical Analysis)*, 2023, 59(1): 61-64.
- [19] 陈美君, 左海根, 刘小玉, 等. 鸡胗中百菌清及其代谢物残留量检测[J]. *安徽农业科学*, 2022, 50(3): 201-203, 258.
- CHEN M J, ZUO H G, LIU X Y, et al. Detection of chlorothalonil and its metabolites residue in gizzards[J]. *Journal of Anhui Agri Sci*, 2022, 50(3): 201-203, 258.
- [20] 郭爱华, 李建红, 李堃, 等. 高效液相色谱法同时测定饮用水中呋喃丹、甲萘威、莠去津及百菌清[J]. *中国卫生检验杂志*, 2016, 26(22): 3 213-3 216.
- GUO A H, LI J H, LI K, et al. Simultaneous determination of carbofuran, carbaryl, atrazine and chlorothalonil in drinking water by high performance liquid chromatography[J]. *Chin J Health Lab Tec*, 2016, 26(22): 3 213-3 216.
- [21] 李凌云, 许晓敏, 林桓, 等. 液相色谱—大气压化学电离串联质谱法测定蔬菜中百菌清残留[J]. *农产品质量与安全*, 2021(1): 56-59, 66.
- LI L Y, XU X M, LIN H, et al. Determination of chlorothalonil residues in vegetables by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry[J]. *Agricultural Product Quality and Safety*, 2021(1): 56-59, 66.
- [22] 毕瑞锋, 邓锁成, 付萌, 等. 改进的 QuEChERS-高效液相色谱—串联质谱法同时测定蔬菜水果中百菌清及其代谢物残留[J]. *农药学报*, 2022, 24(2): 429-434.
- BI R F, DENG S C, FU M, et al. Simultaneous determination of chlorothalonil and its metabolite in fruits and vegetables using modified QuEChERS-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2022, 24(2): 429-434.
- [23] 李文希, 浦恩堂, 代雪芳, 等. 百菌清及其代谢物 4-羟基百菌清在三七上的残留行为及膳食风险评估[J]. *农药学报*, 2020, 22(3): 510-520.
- LI W X, PU E T, DAI X F, et al. Residual behavior and dietary risk assessment of chlorothalonil and its metabolite 4-hydroxy chlorothalonil in *Panax notoginseng*[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2020, 22(3): 510-520.
- [24] 刘贺, 张鹏, 孙利东, 等. 优化后的 QuEChERS 方法测定不同基质中百菌清农药残留[J]. *黑龙江大学自然科学学报*, 2023, 40(2): 193-198.
- LIU H, ZHANG P, SUN L D, et al. Optimized QuEChERS method for determination of chlorothalonil pesticide residues in different matrices[J]. *Journal of Natural Sciences, Heilongjiang University*, 2023, 40(2): 193-198.
- (上接第 19 页)
- [21] 陈静, 王宏雁, 王宁, 等. 响应曲面法优化蜂胶中的活性黄酮提取[J]. *应用化工*, 2011, 40(10): 1 753-1 757.
- CHEN J, WANG H Y, WANG N, et al. Optimization of extraction of flavonoids from propolis with response surface methodology[J]. *Applied Chemical Industry*, 2011, 40(10): 1 753-1 757.
- [22] LUO L, ZHANG Y, WANG K, et al. In situ and real-time monitoring of an ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis process of corn gluten meal by a miniature near infrared spectrometer[J]. *Analytical Methods*, 2017, 9(25): 3 795-3 803.
- [23] 李春燕, 叶利明, 薛金涛. 近红外光谱模型快速无损测定肉中糖的含量[J]. *理化检验(化学分册)*, 2023, 59(12): 1 407-1 412.
- LI C Y, YE L M, XUE J T. Rapid and nondestructive determination of glucose in meat by near infrared spectroscopy model[J]. *Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis)*, 2023, 59(12): 1 407-1 412.
- [24] 龚润华, 杨信廷, 郭晓晖, 等. 基于近红外光谱技术的红小豆品质多指标无损检测及品种鉴别方法研究[J/OL]. *中国粮油学报*. (2024-04-18) [2024-05-20]. <https://doi.org/10.20048/j.cnki.issn.1003-0174.000813>.
- GONG R H, YANG X T, GUO X H, et al. Non-destructive determination of multiple quality indicators and varieties of red bean using near-infrared spectroscopy[J/OL]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*. (2024-04-18) [2024-05-20]. <https://doi.org/10.20048/j.cnki.issn.1003-0174.000813>.
- [25] 汤丽华, 刘敦华. 基于近红外光谱的枸杞化学成分定量分析[J]. *现代食品科技*, 2013, 29(9): 2 306-2 310.
- TANG L H, LIU D H. Quantitative analysis of lycium barbarum composition based on near infrared spectrum[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2013, 29(9): 2 306-2 310.
- [26] 蒋代余. 基于深度学习的烟草近红外光谱数据分析[D]. 重庆: 重庆邮电大学, 2021: 11-12.
- JIANG D Y. Analysis of tobacco near infrared spectrum data based on deep learning[D]. Chongqing: Chongqing University of Posts and Telecommunications, 2021: 11-12.