

改进 QuEChERS-气相色谱-三重四级杆质谱法 测定水果中吗啉脂肪酸盐的残留

陈锂, 朱正伟, 汪薇, 荣茂, 江丰, 王会霞

(湖北省食品质量监督检验研究院, 湖北省食品质量安全检测工程技术研究中心, 湖北武汉 430075)

摘要: 该研究建立了水果中吗啉脂肪酸盐果蜡的气相色谱-三重四级杆质谱 (gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS) 分析方法。样品使用改进 QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe) 方法, 经 1% 甲酸-乙腈提取, 乙二胺-N-丙基甲硅烷 (PSA) 和石墨化炭黑吸附剂 (GCB) 净化, 使用 5.5 mol/L 盐酸和 4.3 mol/L 亚硝酸钠在冰浴条件下衍生 3 h, 以 HP-FFAP 毛细管柱进行分离, 在电子轰击源 (EI) 和多反应监测模式下进行测定, 基质曲线外标法定量。结果表明, 吗啉脂肪酸盐通过亚硝基化反应可生成稳定的亚硝基吗啉 (N-nitrosomorpholine, NMOR), 目标衍生化合物峰形较好, 在 1~800 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性良好, 相关系数大于 0.99, 检出限为 0.14~1.09 $\mu\text{g/kg}$, 定量限为 0.47~3.63 $\mu\text{g/kg}$, 加标回收率范围为 73.6%~118.5%, 相对标准偏差 (RSD) 为 3.6%~15.2% ($n=6$)。该方法准确、高效, 在实际样本中检出率较高, 适用于水果中吗啉脂肪酸盐果蜡的定性和定量检测。

关键词: 吗啉脂肪酸盐; 气相色谱-三重四级杆质谱; QuEChERS; 亚硝基吗啉

文章编号: 1673-9078(2022)04-241-247

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.4.0606

Determination of Morpholine Fatty Acid Salt Residues in Fruits by Improved QuEChERS-Gas Chromatography- Tandem Mass Spectrometry

CHEN Li, ZHU Zhengwei, WANG Wei, RONG Mao, JIANG Feng, WANG Huixia

(Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Hubei Provincial Engineering and Technology Research Center for Food Quality and Safety Test, Wuhan 430075, China)

Abstract: In this study, a gas chromatography-tandem mass (GC-MS/MS) method was developed to determine the morpholine fatty acid salt in fruits. Samples were analyzed using a modified QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe) method, through being extracted with 1% formic acid-acetonitrile, purified with ethylenediamine-N-propylsilane (PSA) and graphitized carbon black adsorbent (GCB), derivatized with 5.5 mol/L HCl and 4.3 mol/L NaNO_2 in ice bath for 3 h, separated by HP-FFAP capillary column, and measured in electron bombardment ion source (EI) and multiple reaction monitoring mode. Matrix calibration curve and external standard method were used for quantification. The results showed that morpholine fatty acid salts can be derivatized into stable nitrosomorpholine (NMOR) through nitrosation. The peak shape of the target derivative compound was good, The linearity in the analyte range of 1~800 $\mu\text{g/L}$ was good, with the correlation coefficient higher than 0.99, the limit of detection as 0.14~1.09 $\mu\text{g/kg}$, the limit of quantitation as 0.47~3.63 $\mu\text{g/kg}$, the recovery rate of spiked standard as 73.6%~118.5%, and the relative standard deviation (RSD) as 3.6%~15.2% ($n=6$). This method is accurate and efficient, has a high detection rate in actual samples, and is suitable for qualitative and quantitative detection of morpholine fatty acid salt in fruits.

引文格式:

陈锂,朱正伟,汪薇,等.改进 QuEChERS-气相色谱-三重四级杆质谱法测定水果中吗啉脂肪酸盐的残留[J].现代食品科技,2022,38(4): 241-247

CHEN Li, ZHU Zhengwei, WANG Wei, et al. Determination of morpholine fatty acid salt residues in fruits by improved QuEChERS-gas chromatography- tandem mass spectrometry [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(4): 241-247

收稿日期: 2021-06-08

基金项目: 国家重点研发计划重点专项 (2018YFC1602303); 湖北省自然科学基金青年项目 (2019CFB380)

作者简介: 陈锂 (1988-), 男, 博士, 工程师, 研究方向: 食品安全与检测, E-mail: 258585381@qq.com

Key words: morpholine fatty acid salt; GC-MS/MS; QuEChERS; N-nitrosomorpholine

吗啉脂肪酸盐果蜡由吗啉、脂肪酸和天然动植物蜡(如棕榈蜡)或天然动植物胶(如紫胶),在一定温度下反应制成。自12到13世纪起被广泛用于水果和蔬菜表面,用于防止水分的挥发、抑制昆虫的侵染和抗菌^[1,2],以达到长期存储和运输的目的。目前市场上的水果特别是柑橘、梨和苹果会被喷洒上人工生产的吗啉脂肪酸盐果蜡,人体误食后会在体内分解成吗啉和相应的脂肪酸。有动物机体实验表明,吗啉在一定剂量下摄入可以引起动物肝脏、肾脏损伤;由于环境和食物中亚硝酸盐的存在,吗啉还可以在适当的条件下发生亚硝基化反应生成亚硝基吗啉,亚硝基吗啉对所有受试动物均有致癌性^[3,4],属于WHO规定的2B类致癌物^[5]。欧盟在食品添加剂法规中,早已禁止销售含有吗啉的食物;加拿大卫生部建议吗啉类物质的每日允许摄入量(ADI)不超过0.48 mg/kg bw·d^[6];而在中国吗啉脂肪酸盐果蜡被允许按照产品要求适当添加使用,因此检测水果中吗啉脂肪酸盐果蜡具有极其重要的意义。

目前,国家标准GB 1886.227-2016《食品添加剂吗啉脂肪酸盐果蜡》只对果蜡的理化指标进行规定和检测,对其含量的检测方法并未给出。文献中的方法也主要集中于吗啉的直接提取和检测^[7,8],检测方法有液相法、液相色谱串联质谱法、气相色谱法和气相色谱-质谱法等^[9-11],由于吗啉分子量较小,在仪器分析中出峰时间较早且峰型较差,在复杂的食品基质中存在很大的干扰问题。同时,由于生产吗啉脂肪酸盐果蜡使用的脂肪酸和天然动植物蜡种类繁多,市面上的吗啉脂肪酸盐果蜡各不相同,难以对其进行准确的定性和定量,吗啉脂肪酸盐果蜡的检测方法未见报道。

为提高食品样品中目标化合物检测结果的准确性并降低基质干扰等问题,样品的前处理技术十分重要。QuEChERS方法被广泛的应用于食品前处理步骤中^[12],目前有两种官方的前处理方法,分别是AOAC(Association of Official Agricultural Chemists)推荐使用的乙酸盐作为缓冲剂的方法^[13]和CEN(European Committee for Standardization)使用的柠檬酸盐作为缓冲剂的方法^[14],其前处理方法都是使用提取试剂对目标化合物进行提取后分层,有机相通过不同吸附剂进行纯化达到去除食物基质中色素、脂肪和蛋白质等干扰物的目的^[15,16]。本研究根据吗啉脂肪酸盐果蜡的基本性质,经QuEChERS方法提取、净化后,通过衍生的方法将水果中的吗啉脂肪酸盐果蜡转换成亚硝基吗啉(N-nitrosomorpholine, NMOR),使用气相色谱-

串联质谱分析样品,以基质标准曲线定量,建立QuEChERS-GC-MS/MS法检测水果中吗啉脂肪酸盐果蜡的残留,为实现水果中吗啉脂肪酸盐果蜡的监测提供理论依据。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

TSQ 9000 GC-MS/MS 气相色谱-三重四极杆质谱仪,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;Avanti JXN-30 高速离心机,美国贝克曼公司;ME 2002 E 型分析天平,梅特勒-托利多仪器上海有限公司;XH-C 涡旋混合器,江苏金怡仪器科技公司;N-EVAP 24 氮吹仪,美国 Organomation 公司。

水果购于超市和农贸市场;乙腈、正己烷、乙酸乙酯、丙酮、甲醇、乙醚、二氯甲烷,均为色谱纯,德国默克公司;弗罗里硅土填料(Florisil) 40~60 μm、十八烷基键合硅胶填料(C₁₈) 40~60 μm、N-丙基乙二胺(N-propylethylenediamine, PSA) 40~60 μm、石墨化炭黑吸附剂(GCB) 40~60 μm,北京迪马科技有限公司;吗啉、N-亚硝基吗啉(NMOR),Toronto Research Chemicals;盐酸、亚硝酸钠、无水硫酸镁(MgSO₄),国药集团化学试剂有限公司。

1.2 标准溶液的配制

标准储备溶液(10 μg/mL):分别准确称取1.0 mg(精确至0.0001 mg)吗啉和亚硝基吗啉标准品,用色谱纯乙腈溶解并定容至100 mL,避光-18 °C保存备用。

1.3 样品前处理

分别取全果、果皮和果肉,切碎放入搅碎机中制备成匀浆,准确移取10.0 g至50 mL离心管中,加入1%酸化(甲酸)乙腈10 mL,1 g氯化钠,1颗陶瓷均质子,剧烈涡旋1 min,以4000 r/min离心3 min;取上清液7 mL,加入PSA 300 mg、GCB 300 mg,涡旋1 min;取上清液5 mL,加入2.5 mL 200 g/L HCl和2.5 mL 300 g/L NaNO₂ 40 °C超声10 min,冰浴3 h,期间每30 min涡旋一次,每次1 min,衍生完成后加入1 g NaCl,以4000 r/min离心3 min,取上清液2.5 mL至试管中,40 °C水浴中氮吹至近干,加入1 mL乙腈定容,过0.22 μm有机相滤膜,气相色谱-三重四极杆质谱测定分析。

表 1 亚硝基吗啉的质谱分析参数

Table 1 The mass spectrometry conditions of N-nitrosomorpholine

Analyte	Retention time/min	Precursor ions (m/z)	Product ion (m/z)	Collision energy(CE)/V
NMOR	10.44	116.10	86.12*	10
		116.10	56.12	25
		86.12	56.10	15

注: *: Quantitative ion.

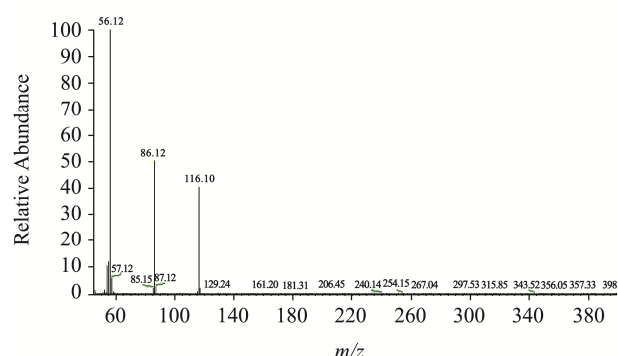
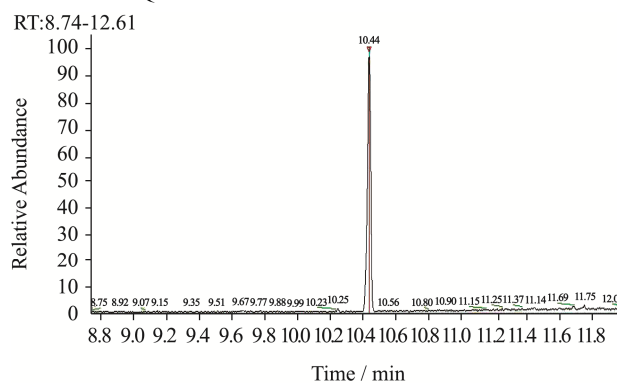


图 1 亚硝基吗啉色谱图

Fig.1 GC-MS/MS chromatogram in MRM mode of the N-nitrosomorpholine

1.4 基质标准曲线的制备

分别称取不含目标物的空白水果样品 10.0 g, 按 1.3 节方法进行预处理。用基质提取液稀释标准溶液, 以峰面积 (Y) 为纵坐标对各被测组分的质量浓度 (X, $\mu\text{g/mL}$) 为横坐标作图, 绘制基质标准曲线。

1.5 仪器条件

色谱条件: 色谱柱: HP-FFAP 毛细管柱 (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm); 升温程序: 40 $^{\circ}\text{C}$ 保持 1 min; 以 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 120 $^{\circ}\text{C}$ 保持 1 min; 以 30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 240 $^{\circ}\text{C}$ 保持 5 min, 总时长 16 min; 进样口温度 280 $^{\circ}\text{C}$, 流速 1.3 mL/min; 进样量 1.0 μL ; 进样方式: 不分流进样。

质谱条件: EI 源; 电离能量 70 eV, 离子源温度 280 $^{\circ}\text{C}$, 传输线温度 280 $^{\circ}\text{C}$, 溶剂延迟 3.5 min, 多反应监测模式, 其具体参数见表 1, 色谱图见图 1。

1.6 数据处理

相关质谱数据由仪器中的 Xcalibur 分析软件收集, Quan Browser 定量软件分析数据。数据汇总后, 经 Office 软件进行数据处理。

2 结果与讨论

2.1 提取试剂的选择

乙腈、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、1%甲酸-乙腈、乙醚是 QuEChERS 方法中常见的萃取溶剂^[17], 提取试剂的选择可以有效的降低基质效应, 减少共萃取物, 提高后续净化和衍生步骤的效果。前期实验表明, 水果中水分含量较大, 加入无水硫酸镁会迅速结块并放热降低目标化合物的提取率, 因此实验中不加入无水硫酸镁, 使用陶瓷均质子达到分散基质的效果。本实验以阳性柑橘为研究对象, 通过衍生后亚硝基吗啉峰面积比较六种常用有机试剂 (见图 2) 对吗啉脂肪酸盐果蜡的提取效果。

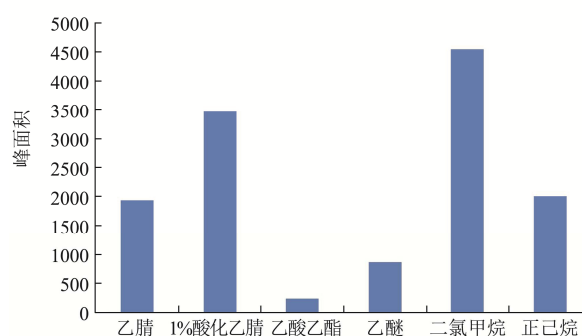


图 2 不同溶剂的提取效果

Fig.2 Extraction effects of different extraction solvents

结果表明, 乙酸乙酯的提取效果最差, 二氯甲烷的提取效果最好, 但是会引入更多的杂质对目标化合物进行干扰, 由于二氯甲烷不溶解于水, 在第二步衍生过程中亚硝基化反应在两相中进行, 导致衍生化效果不稳定, 实验准确度偏差大于 20%, 不符合 GB 27404-2008 实验室质量控制规范要求。1%甲酸-乙腈混溶于水提取效果较好, 目标化合物在酸性条件下衍生稳定, 因此选用 1%酸化乙腈作为提取试剂。

2.2 净化填料的优化

由于果汁基质含有较高的维生素、色素和糖分对后续衍生有较大的影响^[18]，为保证提取效率的同时排除基质干扰，本实验以阳性柑橘为研究对象，通过衍生后亚硝基吗啉峰面积进行比较，对净化填料和用量进行选择并优化。实验比较了单因素条件下 PSA、C₁₈、Florisil、GCB 不同使用量对目标化合物提取的影响（图 3）。结果表明，PSA 和 GCB 可以有效的去除柑橘中不同杂质对吗啉脂肪酸盐的影响，目标化合物峰面积随着用量的增加而提高，在 300 mg 时净化效果最优，继续增加净化填料用量会吸附目标化合物并对提取产生影响；C₁₈ 在 50 mg 时效果最优，随着用量的增加峰面积逐渐降低；Florisil 对目标化合物影响较大不适于吗啉脂肪酸盐果蜡的净化。由于柑橘中色素较多，单独使用 PSA 虽然净化效果较好，但是净化液依然带有颜色，而使用 GCB 净化后为无色溶液。为进一步筛选净化填料，将最优条件下的 PSA、GCB 和 C₁₈ 分别进行混合同单独使用 PSA 净化效果进行比较（如图 3，mixed-mode）。结果表明，PSA 和 GCB 混合使用的效果最优（MS-A），色素的存在对后续衍生存在一定的干扰，C₁₈ 的加入对目标化合物有一定的影响。因此，选用 300 mg PSA 和 300 mg GCB 作为净化剂填料。

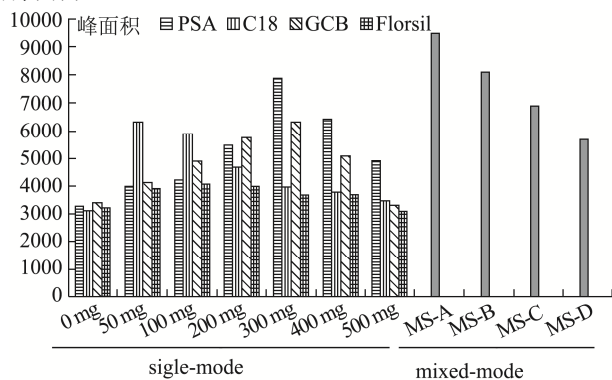


图 3 不同净化填料对吗啉脂肪酸盐的影响

Fig. 3 Extraction effects of different sorbents

注：MS-A: PSA (300 mg)+GCB (300 mg); MS-B: PSA (300 mg)+C₁₈ (50 mg); MS-C: GCB (300 mg)+C₁₈ (50 mg); MS-D: PSA (300 mg)+GCB (300 mg)+C₁₈ (50 mg)。

2.3 衍生效果的优化

吗啉脂肪酸盐果蜡是由吗啉、脂肪酸和天然动植物蜡（如棕榈蜡）或天然动植物胶（如紫胶），在一定温度下反应制成的食品添加剂。由于吗啉含有仲胺基团，仲胺在酸性条件下可以和亚硝酸钠、亚硝酸盐水溶液或氮氧化物（如 N₂O₃、N₂O₄、N₂O_x）发生亚硝

基化反应生成 N-亚硝胺（NAMs）^[19-21]。因此，根据吗啉这个特点，实验发现即使在常温条件下，不论吗啉脂肪酸盐果蜡取代基是什么，吗啉脂肪酸盐果蜡都可以发生亚硝基化反应生成亚硝基吗啉，反应如图 4 所示。本实验分别讨论了盐酸和亚硝酸钠浓度、反应温度和时间对衍生效果的影响，使用阳性鲜榨桔汁为样本，通过峰面积进行比较。由图 5 盐酸和亚硝酸钠浓度从 0 g/L 到 800 g/L 的正交试验可知，盐酸在 200 g/L 浓度下和亚硝酸钠 300 g/L 进行混合衍生效果最优，随着浓度的增加衍生效果逐渐降低，通过测量衍生 pH 发现，酸性条件下有利于亚硝基化反应，最优 pH 约为 3.3 左右，当亚硝酸钠过量时，衍生环境变成强碱性，对反应成抑制效果。

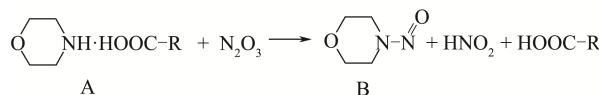
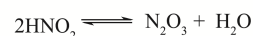
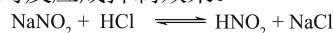


图 4 吗啉脂肪酸盐形成亚硝基吗啉的反应过程

Fig.4 Formation of NMOR by nitrosation of morpholine fatty acid

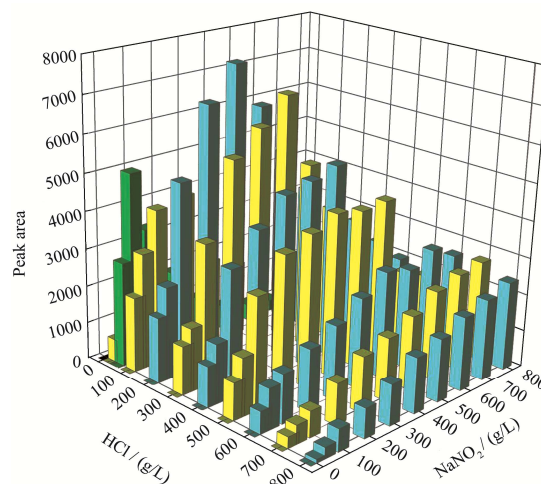


图 5 盐酸和亚硝酸钠浓度对衍生化反应的影响

Fig.5 Influence of hydrochloric acid (HCl) and sodium nitrite (NaNO₂) concentrations on the nitrosation reaction

食品基质中的亚硝基化反应速率会受到许多因素的干扰，如维生素 C 对反应有抑制作用，会延长反应时间^[18]。为减少食品基质对衍生化反应的影响，本实验探究了不同反应时间和温度下的反应效率。如图 6 所示，随着时间的延长峰面积逐渐提高，温度越高亚硝基化反应的速率越慢。当实验样本置于冰箱冷冻层温度设置为-25℃时，提取溶剂乙腈会从水相中分离出来从而降低反应速率。因此，最佳的反应温度为 0℃反应时间为 3 h。

表2 亚硝基吗啉的线性方程、基质效应、检出限和定量限

Table 2 Analytical performance of the proposed method for NMOR

Matrix	Linear range /($\mu\text{g/L}$)	Calibration curve	Matrix effect/%	Coefficient of Determination (R^2)	LOD/ ($\mu\text{g/kg}$)	LOQ/ ($\mu\text{g/kg}$)	Interday reproducibility/%
Solvent	1~800	$y=1.02\times 10^7x+5.84\times 10^5$		0.9986			
Whole citrus	1~800	$y=4.71\times 10^6x+3.48\times 10^6$	-53.8	0.9925	0.85	2.85	10.5
Citrus peel	1~800	$y=6.14\times 10^6x+3.07\times 10^6$	-39.8	0.9978	1.09	3.63	13.2
Citrus pulp	1~800	$y=1.98\times 10^6x+2.29\times 10^6$	-80.6	0.9954	0.47	1.57	8.8
Whole pear	1~800	$y=5.59\times 10^6x+2.86\times 10^6$	-45.2	0.9967	0.16	0.54	9.1
Pear peel	1~800	$y=7.25\times 10^6x+3.07\times 10^6$	-28.9	0.9915	0.35	1.16	11.3
Pear pulp	1~800	$y=4.11\times 10^6x+1.07\times 10^6$	-59.7	0.9923	0.14	0.47	7.1
Whole apple	1~800	$y=4.61\times 10^6x+2.79\times 10^6$	-54.8	0.9914	0.56	1.87	10.1
Apple peel	1~800	$y=6.79\times 10^6x+3.07\times 10^6$	-33.4	0.9907	0.61	2.04	8.6
Apple pulp	1~800	$y=2.14\times 10^6x+3.07\times 10^6$	-79.0	0.9951	0.35	1.16	6.0

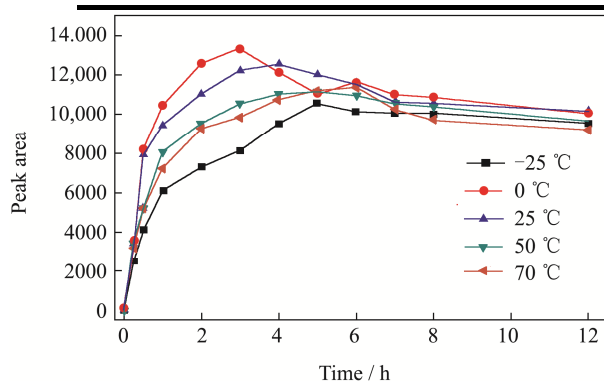


图6 衍生化温度和时间对反应的影响

Fig.6 Influence of the derivatization reaction temperature and time on the nitrosation reaction

2.4 检出限、定量限和基质效应的考察

由于吗啉脂肪酸盐果蜡种类各不相同，但衍生主要发生在其母体吗啉环上，都是将吗啉转变成亚硝基吗啉，所以使用吗啉标准储备液制备 1、10、50、100、200、400、800 $\mu\text{g/L}$ 7 个不同水平的标准溶液。加入 10 mL 1%酸化乙腈，2.5 mL 300 g/L HCl 和 2.5 mL 200 g/L NaNO_2 40 $^\circ\text{C}$ 超声 10 min，冰浴衍生 3 h，期间每 30 min 涡旋一次，每次 1 min，衍生完成后加入 1 g NaCl，以 4000 r/min 离心 3 min，取上清液 2.5 mL 至试管中，40 $^\circ\text{C}$ 水浴中氮吹至近干，加入 1 mL 乙腈定容，过 0.22 μm 有机相滤膜。

在最优气相色谱串联质谱条件下，通过质量浓度为横坐标和目标化合物的峰面积为纵坐标制作标准曲线，得到相应的回归方程及其相关系数。对市售水果样品同水平加标，通过 1.3 前处理后经气相色谱串联质谱检测，外标法定量绘制基质标准曲线。基质效应 ME (Matrix effect) 以基质匹配标准曲线与纯空白溶剂标曲斜率之比来确定；最低检出限 (limit of

detection, LOD) 由 3 倍信噪比得出 ($S/N=3$)；最低定量限 (limit of quantification, LOQ) 由 10 倍信噪比得出 ($S/N=10$)。

分别比较了柑橘、梨和苹果三种水果全果、果皮和果肉的基质效应，由表 2 可知，基质效应结果范围在 -28.9 到 -80.6 之间，所有结果均超过基质效应可接受的标准 ($\pm 20\%$)，基质效应明显，水果果肉比果皮表现出了更强的基质效应，因此在实际检测中为保证结果准确，采用基质匹配标准曲线对化合物进行定量分析。衍生后的亚硝基吗啉在 1~800 $\mu\text{g/L}$ 范围内呈良好的线性关系，其线性相关系数 (R^2) 均大于 0.99，亚硝基吗啉检出限在 0.14~1.09 $\mu\text{g/kg}$ 之间，定量限在 0.47~3.63 $\mu\text{g/kg}$ 之间，该方法可以满足复杂基质中痕量物质的检测。

2.5 回收率和日内精密度实验结果

空白水果样品中准确加入吗啉标准溶液，使添加量分别为 4、8、40 $\mu\text{g/kg}$ ，按最优条件进行测定，方法的准确度用回收率表示，每个添加水平重复测定 6 次。方法的日内精密度用 6 次平行测定的相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 表示。由表 3 可知，衍生后的亚硝基吗啉在不同水果中的加标回收率范围为 73.6%~118.5%，RSD 为 3.6%~15.2% ($n=6$)。

2.6 实际样品分析

采用优化建立的 GC-MS/MS 分析方法应用于果皮、果肉和整个水果的分析，选择表面光滑、光亮的水果样品作为实际监测样品。衍生化后苹果和梨果肉中 NMOR 含量较低或未检出，吗啉脂肪酸盐果蜡主要覆盖在水果表面。全柑橘、柑橘皮、柑橘肉、全苹果、苹果皮、全梨和梨皮的 NMOR 水平分别为 95~712、

20~366、10~90、98~263、18~132、110~291、20~143 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。柑橘、梨和苹果中吗啉脂肪酸盐果蜡的检出率分别为 78.5%、42.8%、35.7%。这些结果表明,水果中存在吗啉脂肪酸盐果蜡的残留污染,其中柑橘类风

险最高。实际样本结果表明,本方法灵敏度高,方法简单,在实际样本中有较高的检出率,适用于日常水果中吗啉脂肪酸盐果蜡的检测和分析。

表3 吗啉的添加回收率和RSD

Table 3 Average recoveries (n=6) and relative standard deviations (RSD) at three spiking levels

Matrix	Add 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$		Add 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$		Add 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
	Average recovery/%	Intra-day RSD/%	Average recovery/%	Intra-day RSD/%	Average recovery/%	Intra-day RSD/%
Whole orange	110.5	13.2	86.7	7.8	90.6	9.3
Orange peel	118.5	15.2	73.6	8.6	80.8	10.3
Orange pulp	107.6	9.5	88.6	5.7	94.1	6.6
Whole pear	109.7	8.5	86.1	5.9	90.1	6.1
Pear peel	115.7	10.1	80.5	6.6	85.1	7.5
Pear pulp	106.5	7.8	90.4	4.1	92.7	3.9
Whole apple	108.7	10.5	82.5	7.5	80.1	9.3
Apple peel	116.7	12.1	78.5	7.2	75.1	8.3
Apple pulp	89.2	8.5	90.7	3.6	91.5	4.1

3 结论

由于生产加工工艺的不同,市面上的吗啉脂肪酸盐果蜡存在多种不同的形式,在检验过程中难以对其进行定性和定量。目前水果表面的检测方法主要是对吗啉的检测,具有一定的局限性,无法准确的代表吗啉脂肪酸盐果蜡。本实验根据吗啉脂肪酸盐果蜡的性质,通过亚硝基化反应将吗啉脂肪酸盐果蜡转变成稳定的亚硝基吗啉进行监测,使用改进 QuEChERS 作为前处理方法,对提取试剂、净化剂种类和用量进行选择和优化,建立了 QuEChERS-GC-MS/MS 法测定水果中吗啉脂肪酸盐果蜡的检测方法。采用 1%甲酸-乙腈为提取溶剂,QuEChERS 净化处理,5.5 mol/L 盐酸和 4.3 mol/L 亚硝酸钠进行衍生,实现了吗啉脂肪酸盐果蜡的定性和定量方法,检出限为 0.14~1.09 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 0.47~3.63 $\mu\text{g}/\text{kg}$,该方法成功的应用于实际水果的检测,并提供了一种方法简单、灵敏度高、分离效果好的食品基质中吗啉脂肪酸盐果蜡残留检测方法,在理论和实际上都具有重要的意义。

参考文献

- [1] Callahan M T, Micallef S A. Waxing and cultivar affect *Salmonella enterica* persistence on cucumber (*Cucumis sativus* L.) fruit [J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 310: 108359
- [2] Chen H, Sun Z, Yang H. Effect of carnauba wax-based coating containing glycerol monolaurate on the quality

maintenance and shelf-life of Indian jujube (*Zizyphus mauritiana* Lamk) fruit during storage [J]. Scientia Horticulturae, 2019, 244: 157-164

- [3] Engemann A, Focke C, Humpf H U. Intestinal formation of N-nitrosocompounds in the pig cecum model [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(4): 998-1005
- [4] Matt J H, Rick J, WesleY M. Development and validation of a standardized method for the determination of morpholine residues in fruit commodities by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2014, 62(17): 3697-3701
- [5] World Health Organization (WHO). International Agency for Research on Cancer (IARC), 2019. In: List of Classifications, vols. 1e123. <https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications-volumes/>. (Accessed 24 February 2019). Accessed
- [6] Health Canada (2002). Archived - A Summary of Health Hazard Assessment of Morpholine in Wax Coatings of Apples. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/food-safety/information-product/summary-health-hazard-assessment-morpholine-coatings-apples.html#shrpg0>. (Accessed 05 December 2002). Accessed
- [7] Hengel M J, Jordan R, Maguire W. Development and validation of a standardized method for the determination of morpholine residues in fruit commodities by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(17): 3697-3701
- [8] 陈达炜,殷铁群,苗虹,等.分散微固相萃取-超高效液相色谱

- 高分辨质谱法测定果汁饮料中的吗啉残留[J].分析化学, 2015,43(4):570-575
- CHEN Dawei, YIN Yiqun, MIAO Hong, et al. Determination of morpholine residues in fruit juices by dispersive micro-solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2015, 43(4): 570-575
- [9] Chen D, Miao H, Zou J, et al. Novel dispersive micro-solid-phase extraction combined with ultrahigh-performance liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry to determine morpholine residues in citrus and apples [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(2): 485-492
- [10] Luong J, Shellie R A, Cortes H, et al. Ultra-trace level analysis of morpholine, cyclohexylamine, and diethylaminoethanol in steam condensate by gas chromatography with multi-mode inlet, and flame ionization detection [J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1229: 223-229
- [11] Cao M, Zhang P, Feng Y, et al. Development of a method for rapid determination of morpholine in juices and drugs by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Analytical Methods in Chemistry, 2018, 2018: 9670481
- [12] Alcantara D B, Fernandes T S M, Nascimento H O, et al. Diagnostic detection systems and QuEChERS methods for multiclass pesticide analyses in different types of fruits: an overview from the last decade [J]. Food Chemistry, 2019, 298: 124958
- [13] Lehotay S J, Tully J, Garca A V, et al. Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study [J]. Journal of AOAC International, 2007, 90(2): 485-520
- [14] CEN (European Committee for Standardization). Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE [J]. QuEChERS-Method EN, 2008, 15662: 2008
- [15] Farajzadeh M A, Dabbagh M S. Development of a dispersive solid phase extraction method based on in situ formation of adsorbent followed by dispersive liquid-liquid microextraction for extraction of some pesticide residues in fruit juice samples [J]. Journal of Chromatography A, 2020, 1627: 461398
- [16] Mcdougall G J, Foito A, Dobson G, et al. Glutathionyl-S-chlorogenic acid is present in fruit of *Vaccinium* species, potato tubers and apple juice [J]. Food Chemistry, 2020: 127227
- [17] 陈锂,朱正伟,荣茂,等.改进 QuEChERS-气相色谱-三重四级杆质谱法测定鸡蛋中七种手性拟除虫菊酯类有机污染物[J].现代食品科技,2020,36(9):284-292
- CHEN Li, ZHU Zhengwei, RONG Mao, et al. Determination of seven chiral pyrethroid organic pollutants in eggs using gas chromatography-tandem mass spectrometry with modified QuEChERS method [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(9): 284-292
- [18] Ohnishi T. Studies on mutagenicity of the food additive morpholine (fatty acid salt) [J]. Nippon Eiseigaku Zasshi (Japanese Journal of Hygiene), 1984, 39(4): 729-748
- [19] Kodamatani H, Iwaya Y, Saga M, et al. Ultra-sensitive HPLC-photochemical reaction-luminol chemiluminescence method for the measurement of secondary amines after nitrosation [J]. Analytica Chimica Acta, 2017, 952: 50-58
- [20] Casado J, Quintela M A L, Mosquera M, et al. The nitroprusside ion as a nitrosating reagent. Kinetic studies on the nitrosation of morpholine [J]. Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie, 1983, 87(12): 1208-1211
- [21] Challis B C, Shuker D E G. The chemistry of nitroso-compounds. Part 14. Nitrosation of amines in aqueous solution by dissolved gaseous NOCl [J]. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2, 1979, 7: 1020-1024