

液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中氟虫腈及其代谢物的残留量

李晶¹, 马勤川², 王琢¹, 孙丽萍¹, 原克波¹, 陈俊任¹

(1. 山东药品食品职业学院, 山东威海 264210) (2. 威海德生技术检测有限公司, 山东威海 264210)

摘要: 建立一种采用液相色谱-三重四级杆质谱测定鸡蛋中氟虫腈及其代谢物(氟甲腈、氟虫腈砒和氟虫腈硫醚)的快速筛查方法。鸡蛋样品经乙腈和正己烷提取, C₁₈ 固相萃取柱净化, Shim-pack XR-ODS III 色谱柱(2.0 mm i. D × 150 mm, 2.1 μm)分离, 以乙腈-5 mmol/L 乙酸铵(0.02%甲酸)水溶液为流动相, 梯度洗脱, 外标法定量。采用液相色谱-三重四级杆串联质谱动态多反应监测模式, 以负离子采集进行定性筛查和定量分析。结果表明, 氟虫腈及其代谢物在 0~50 μg/L 质量浓度范围内线性关系良好, 相关系数 R² 均大于 0.999。以 10 倍信噪比确定各药物的定量限(LOQ), 氟虫腈及其代谢物的定量限为 0.3~0.6 μg/kg。在 0.5、5.0 和 10.0 μg/kg 添加水平下, 氟虫腈及其代谢物的平均回收率为 92.3%~105.1%, 相对标准偏差(RSD)为 1.2%~8.6%。该方法简便、快速、灵敏, 适用于鸡蛋中氟虫腈及其代谢物的快速筛查和定量检测。

关键词: 液相色谱-串联质谱; 鸡蛋; 氟虫腈及其代谢物

文章编号: 1673-9078(2019)01-274-280

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.1.039

Determination of the Residues of Fipronil and Its Metabolites in Eggs by Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

LI Jing¹, MA Qin-chuan², WANG Zhuo¹, SUN Li-ping¹, YUAN Ke-bo¹, CHEN Jun-ren¹

(1. Shandong Drug and Food Vocational College, Weihai 264210, China)

(2. Weihai Desheng Technology Testing Co. Ltd., Weihai 264210, China)

Abstract: A rapid screening method was developed for the determination of the residues of fipronil and its metabolites (fipronil-desulfinyl, fipronil sulfone and fipronil sulfide) in eggs by liquid chromatography triple quadrupole mass spectrometry (LC-MS/MS). Egg samples were extracted with acetonitrile and n-hexane. The obtained extract was purified by a C18 solid phase extraction (SPE) column and further separated using a Shim-pack XR-ODS III column (2.0 mm I.D. × 150 mm L., 2.1 μm particle size) with a mobile phase in gradient elution (acetonitrile - 5 mmol/L ammonium acetate (0.02% formic acid)). Qualitative screening and quantitative analysis were performed by LC-MS/MS with dynamic multiple reaction monitoring (DMRM) mode and in negative ion mode, and quantification was carried out by the external standard method. The results showed that good linearity was detected for fipronil and its metabolites in the range of 0~50 μg/L, with the correlation coefficient R² greater than 0.999. The limit of quantification (LOQ) of fipronil and its metabolites was 0.3~0.6 μg/kg at the signal-to-noise ratio of 10. The average recovery of fipronil and its metabolites at the spiking levels of 0.5, 5.0 and 10.0 μg/kg ranged from 92.3% to 105.1%, with the relative standard deviation (RSD, n=6) in the range of 1.2%~8.6%. The method was proven to be simple, rapid and sensitive, and suitable for rapid screening and quantitative detection of fipronil and metabolite residues in eggs.

Key words: liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS); egg; fipronil and its metabolites

氟虫腈(Fipronil)又名芬普尼, 商品名称锐劲特, 是一种苯基吡唑类新型高效杀虫剂。氟虫腈的杀虫机制在于阻碍昆虫 γ-氨基丁酸控制的氯化物代谢, 对鳞翅目、直翅目、鞘翅目幼虫、蚜虫、螨虫、跳蚤、虱、叶蝉、等害虫有很高的杀虫活性^[1,2]。氟虫腈在自然条

件下, 会产生 3 种代谢物, 分别是氟甲腈、氟虫腈砒和氟虫腈硫醚。随着氟虫腈使用范围的逐渐扩大, 其残留的毒副作用也逐步显现。氟虫腈在食品和环境半衰期长, 且其残留物能够在生物体内富集, 对生物体的健康具有较大毒害风险^[3]。

2017 年 8 月欧洲发生“毒鸡蛋”事件, “毒鸡蛋”主要是指氟虫腈药物残留超标的鸡蛋。德国农业部首先在从荷兰和比利时进口的鸡蛋中检测出了氟虫腈,

收稿日期: 2018-05-12

基金项目: 山东省高等学校科技计划项目(J15LE60)

作者简介: 李晶(1985-), 女, 讲师, 硕士, 研究方向: 食品加工与检测

此事迅速引起全球消费者的注意。氟虫腈是一种杀虫剂,在禽类养殖过程中应用,用来杀灭跳蚤、螨和虱等。若长期大量食用被氟虫腈污染的鸡蛋,会导致肝、肾和甲状腺功能损伤。欧盟规定,在畜禽养殖过程中不得使用氟虫腈,同时也对氟虫腈的残留量做出了严格的规定,规定鸡蛋中氟虫腈的残留量不得超过 0.005 mg/kg。目前国内暂时还没有鸡蛋中氟虫腈残留标准,且对氟虫腈残留的检测研究主要限于水果和蔬菜,关于鸡蛋中氟虫腈残留的检测方法报道较少。因此,建立鸡蛋中氟虫腈简单、准确、快速、成本低的检测方法具有十分重要的意义。

目前氟虫腈的仪器检测方法有气相色谱法(GC)^[4,5]、高效液相色谱法(HPLC)^[6-9]、气相色谱-质谱联用法(GC-MS/MS)^[10-14]、液相色谱-质谱联用法(LC-MS/MS)^[15-20],大都集中于蔬菜水果中氟虫腈的检测,用液相色谱-质谱联用法(LC-MS/MS)法检测鸡蛋中氟虫腈及其代谢物的报道很少见,我国目前还没有关于鸡蛋中氟虫腈及其代谢物残留的标准检测方法。本研究对前处理提取和净化方法、MS/MS 参数和流动相体系进行优化,选择无水硫酸钠、正己烷和 C₁₈ 固相萃取柱对鸡蛋样品进行净化,建立了鸡蛋中氟虫腈及其代谢物检测的 LC-MS/MS 法,该方法操作简单、快速,灵敏度较高,回收率稳定,适合鸡蛋中氟虫腈及其代谢物的确证和定量测定。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

乙腈和正己烷(色谱纯),德国 Merck 公司;甲酸、乙酸铵(均为色谱纯),德国 Fluka 公司;C₁₈ 固相萃取柱(500 mg, 6 mL),天津艾杰尔公司;无水硫酸钠(分析纯),天津市科密欧化学试剂有限公司;氟虫腈及其代谢物标准溶液(1000 mg/L),农业部环境保护科研监测所。

1.2 仪器与设备

LC-20A 高效液相色谱、LCMS-8040 三重四级杆质谱仪、Shim-pack XR-ODS III 色谱柱(2.0 mm, D×150 mm, 2.1 μm),日本岛津;T25 均质机,德国 IKA 公司;KQ5200DB 型数控超声清洗仪,昆山市超声仪器有限公司;X1R 高速台式冷冻离心机,美国 Thermo;CPA225D 电子天平,赛多利斯;Milli-Q 超纯水装置,美国 Millipore 公司;12 位固相萃取仪,上海安谱实验科技股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液配制

分别准确移取 1.0 mL 氟虫腈及其代谢物标准溶于 10 mL 容量瓶中,用甲醇稀释成质量浓度为 100 μg/mL 的标准储备液,置于-20 °C 保存。移取标准储备液 1.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,制成标准混合液,4 °C 冰箱存放备用。用乙腈逐级稀释标准混合液,配制系列工作溶液。

1.3.2 提取

称取 5 g(精确至 0.01 g)打碎均匀、浆状的鸡蛋于 100 mL 具塞离心管中,加入 10 g 无水硫酸钠、20 mL 乙腈和 15 mL 乙腈饱和正己烷,15000 r/min 均质提取 2 min,4000 r/min 冷冻离心 5 min,转移下层乙腈于 50 mL 具塞量筒中,将残余的正己烷层加入分离的残留物中,再加入 20 mL 乙腈重复提取一次,合并乙腈层,用乙腈定容至 50 mL,混匀。

1.3.3 净化

将 C₁₈ 固相萃取柱小柱放入固相萃取装置上,先用 10 mL 乙腈活化,移入上述 10 mL 提取液,同时用 100 mL 鸡心瓶收集滤液,最后用 10 mL 乙腈洗涤柱,收集滤液和洗涤液,加入 5 mL 异丙醇,在 40 °C 下旋转蒸发至干,准确加入 1 mL 乙腈,超声溶解残渣,过 0.22 μm 滤膜,上机检测。

1.3.4 LC-MS/MS 条件

1.3.4.1 色谱条件

色谱柱:Shim-pack XR-ODS III 色谱柱(2.0 mm, D×150 mm, 2.1 μm);柱温 40 °C;进样量 1 μL;流速:0.3 mL/min;流动相:A 相为 5 mmol/L 乙酸铵溶液(含 0.02% (V/V) 甲酸),B 相为乙腈;梯度洗脱程序:0~1 min, 5% B~5% B;1~14 min, 5% B~95% B;14~21 min, 95% B~95% B;21~21.5 min, 95% B~5% B;21.5~25 min, 5% B~5% B。

1.3.4.2 质谱条件

采用电喷雾离子源(Electrospray ion source, ESI):加热块温度 400 °C;DL 管温度 250 °C;雾化气流速 3 L/min(氮气);干燥气流速 15 L/min(氮气);碰撞气 230 kPa(氩气);采集方式采用动态多反应监测(dynamic multiple reaction monitoring, DMRM)模式,负离子扫描。

2 结果与分析

2.1 MS/MS 参数的优化结果

表 1 氟虫腈及其代谢物的保留时间及质谱分析参数

Table 1 Retention time and mass spectral parameters for Fipronil and metabolite

化合物名称	保留时间/min	母离子	产物离子	Q1 Pre Bias/V	CE/V	Q3 Pre Bias/V	电离模式	相对丰度
氟虫腈	11.987	435.00	330.00*	10.0	16.0	21.0	ESI ⁺	29.61
			250.00	10.0	28.0	24.0		
氟甲腈	12.341	386.90	350.90*	27.0	12.0	21.0	ESI ⁺	14.30
			282.00	18.0	30.0	26.0		
氟虫腈砒	12.815	450.90	282.00*	12.0	27.0	26.0	ESI ⁺	94.10
			414.90	22.0	15.0	26.0		
氟虫腈硫醚	12.866	418.90	262.00*	20.0	28.0	24.0	ESI ⁺	60.93
			382.70	29.0	13.0	24.0		

注: *表示定量离子; “Q1”和“Q3”分别指质谱仪碰撞池前端和后端四极杆预杆偏置电压; “CE”指碰撞池电压。

氟虫腈及其代谢物(氟甲腈、氟虫腈砒和氟虫腈硫醚)分子结构中含有较多的卤代基和氨基,理论上可以在正离子模式下加上 H^+ 带正电荷,形成分子离子峰 $[M+H]^+$,在负离子模式下减去 H^+ 带负电荷,形成分子离子峰 $[M-H]^-$ 。

本研究分别采用 ESI⁺ 和 ESI⁻ 模式扫描,结果发现:氟虫腈及其代谢物在 ESI⁺ 模式下, $[M+H]^+$ 明显低于 ESI⁻ 模式下 $[M-H]^-$ 的响应值,在 ESI⁻ 模式下,氟虫腈及其代谢物的减氢峰离子信号均较强且稳定。因此,本研究选择 $[M-H]^-$ 作为母离子,然后对子离子的选择、碎裂电压、碰撞能量等参数进行优化,结果见表 1,选择 2 对检测离子对。欧盟 EU 标准 2002/657 已颁布的定性确认标准,均包含保留时间、定性确认点 (identification points, IP) 和相对丰度三个要素。实验选择 2 对检测离子对,IP 值为 4,满足定性要求,相对离子丰度允许偏差不超过 GB/T 27404-2008 中的规定范围,可确证样品中氟虫腈及其代谢物的存在^[21,22]。

2.2 流动相的优化

鸡蛋中基质复杂,鸡蛋中的磷脂成分会严重干扰化合物在离子源内的电离,造成严重的离子抑制效应,即使得到了良好的净化,微量的磷脂成分也会影响氟虫腈及其代谢物在离子源内的电离,因此选择合适的流动相及比例使药物和杂质在色谱柱中充分分开是非常必要的。本研究采用 ESI⁻ 模式,流动相中过高的酸会抑制氟虫腈及其代谢物的电离,为保证各药物具有良好的峰形和足够灵敏度,考察体系 A: 乙腈-水、体系 B: 乙腈-5 mmol/L 乙酸铵、体系 C: 乙腈-含体积分数 0.02% 甲酸 5 mmol/L 乙酸铵 3 种流动相体系,在质量浓度为 10 ng/mL 条件下,比较氟虫腈及其代谢物在上述流动相体系条件下,各药物的峰形及灵敏度。

结果表明,氟虫腈及其代谢物在中性或偏碱性流动相体系下,峰宽更宽,不尖锐,响应值也不如在酸

性流动相体系下的响应值,该现象与文献报道相符^[23]。当采用体系 C 时,氟虫腈及其 3 个代谢物的峰形和灵敏度都比较满意,为了使氟虫腈及其代谢物在离子源内电离时尽量小的受到基质效应的干扰,实验采用梯度洗脱模式,使目标物和杂质尽可能的分开,以获得较好的灵敏度和较小的干扰。

2.3 样品溶剂对色谱峰峰形及回收率的影响

采用高效液相色谱法测定化合物时,当样品定溶液的洗脱强度大于流动相的洗脱强度时,目标化合物的峰会变形,同时导致色谱柱柱效降低,即所谓的溶剂效应。为了获得比较好的峰形,一般采用流动相溶解样品;或者用洗脱强度相对较弱的溶剂溶解样品;或者先用强溶剂溶解样品后,再用弱溶剂进行稀释;或者采用减少进样量的方法;还可以优化流动相的比例,延长目标化合物的相对保留时间,以降低溶剂效应的影响^[24]。

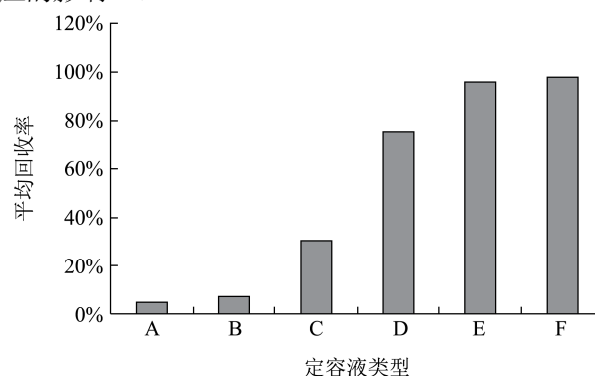


图 1 定溶液对氟虫腈及其代谢物回收率的影响

Fig.1 Effect of solution on recovery of fluoronitrile and its metabolites

氟虫腈及其代谢物属于弱极性化合物,用弱溶剂溶解会造成溶解不完全的现象,导致回收率较低。实验考察把氟虫腈及其代谢物标准溶液在 40 °C 条件下旋转蒸发至干,加入不同的样品溶剂溶解药物,考察

不同的样品溶剂对回收率的影响,按照体积比配制不同的样品溶剂:A:水、B:乙腈/水(10/90)、C:乙腈/水(30/70)、D:乙腈/水(50/50)、E:乙腈/水(80/20)、F:乙腈,结果见图1。由图1可知,当采用弱溶剂溶解时,回收率低,可能是因为溶解不完全造成的。因此实验采用强溶剂乙腈溶解,通过减少进样量的方式,获得了较高的回收率和满意的峰形。

2.4 提取净化条件的选择

鸡蛋中的杂质主要是脂肪、蛋白质、水分、微量金属元素以及一些活性成分。氟虫腈属于中等偏弱极性化合物,易于溶解在有机试剂中,乙腈具有良好的提取能力,可以破除提取过程中的乳化现象,且能去除蛋白,因此实验采用乙腈作为提取溶剂。

在提取的过程中加入适量无水硫酸钠,目的是为了除去鸡蛋中的水分以及一些水溶性杂质,且能起到分散基质的作用。本实验采用正己烷用以去除脂肪和一些非极性杂质,正己烷脱脂的方式常采用液液萃取的方法,本研究比较了正己烷加入的顺序对药物回收率的影响,实验了两种方法:一是提取时,正己烷和乙腈一起加入,在提取的过程中脱脂,离心后转移乙腈层,剩下的正己烷继续和新加入的乙腈再次进行提取;另一种加入方式是在乙腈提取后,把乙腈层转移到分液漏斗中,加入正己烷,然后振荡,静置分层后除去正己烷。实验发现,采用第二种方法,氟虫腈及其代谢物的回收率在70%~75%之间,明显低于第一种方法,原因可能是因为氟虫腈及其代谢物在正己烷中有溶解,正己烷参与了提取过程,结果见图2。

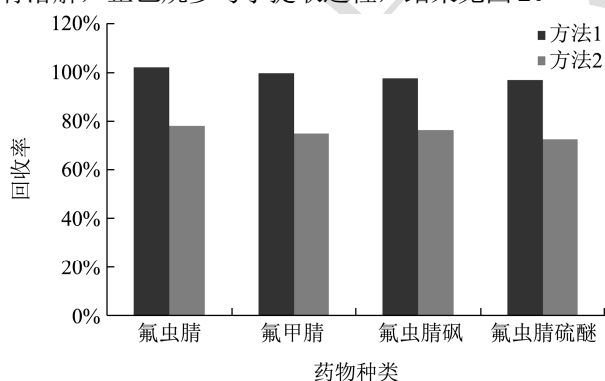


图2 正己烷脱脂顺序对氟虫腈及其代谢物回收率的影响

Fig.2 Effect of n-hexane degreasing sequence on the recovery of fipronil and its metabolites

鸡蛋中主要干扰物是脂肪、蛋白质、水溶性极性杂质和脂溶性杂质,乙腈可以沉淀蛋白质,可通过离心除去,用正己烷结合冷冻离心可以去除大部分脂肪,但仍含有其余痕量杂质。痕量杂质的存在会干扰目标化合物在离子源内的电离,通过考察基质效应(见

2.5),发现痕量杂质的存在会对目标化合物产生基质增强的效应。由于氟虫腈及其代谢物极性较小,出峰时间较晚,在12~13 min,极性杂质出峰时间早,不会和目标物共流出,因此干扰的痕量杂质主要是一些中等偏弱极性化合物。实验研究了采用HLB小柱和C₁₈小柱对杂质的去除效果,结果表明采用固相萃取小柱净化可明显消除基质效应,HLB小柱和C₁₈小柱的除杂效果不存在明显差异,考虑HLB小柱价格较C₁₈小柱贵,因此选择C₁₈小柱进行净化处理。

2.5 基质效应

当采用电喷雾离子源(ESI)时,样品中存在的基质会干扰目标化合物在离子源内的电离,可产生抑制或增强效应,即基质效应。基质效应的存在会影响目标物定量的准确性,例如方法的检出限、定量限、线性、精密度等^[25,26]。本研究以氟虫腈及其代谢物在基质中的信号峰面积与在溶剂标准溶液中的峰面积比值计算基质效应,若在85%~115%之间则认为不存在基质效应^[26,27]。试验比较了三种方法:不净化, C₁₈小柱净化和 HLB小柱净化。由图3可知,不净化时,氟虫腈及其代谢物表现为基质增强效应;采用 C₁₈和 HLB固相萃取柱净化时,氟虫腈及其代谢物基质效应不明显。

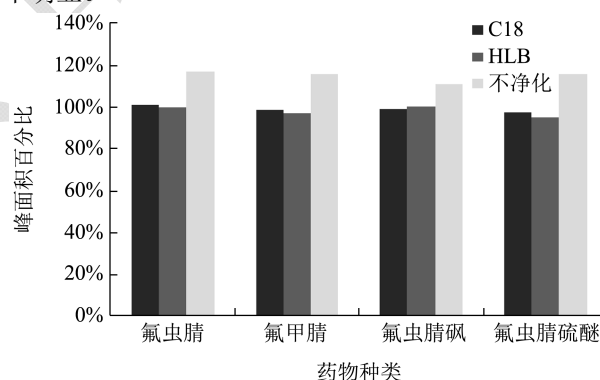


图3 2种净化方式下氟虫腈及其代谢物的基质效应情况

Fig.3 Matrix effect of fipronil and its metabolites under 2 purification methods

2.6 方法验证

2.6.1 线性关系与灵敏度

实验采用外标法定量,以标准溶液浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。由表2可知,氟虫腈及其代谢物的标准曲线在0~50 μg/L质量浓度范围内线性关系较好,相关系数R²大于0.999,以10倍信噪比确定各药物的定量限(limit of quantitation, LOQ),氟虫腈及其代谢物的定量限为0.3~0.6 μg/kg。

2.6.2 回收率和精密度

表 2 氟虫腈及其代谢物的定量限、线性方程、相关系数、加标回收率和精密度

Table 2 Limits of quantitation, correlation coefficients, calibration curves, recoveries and relative standard deviations for fluonitrile and its metabolites in egg

序号	化合物名称	LOQ/(μg/kg)	线性方程	相关系数	平均回收率/% (RSD/%)		
					鸡蛋		
					0.5 μg/kg	5.0 μg/kg	10.0 μg/kg
1	氟虫腈	0.6	Y=2693.80X-202.193	0.9993	94.6(4.2)	98.5(5.2)	105.1(4.3)
2	氟甲腈	0.3	Y=7262.74X-370.993	0.9991	92.3(8.6)	96.7(5.1)	95.6(6.6)
3	氟虫腈砒	0.5	Y=4539.78X-346.288	0.9993	93.5(3.9)	99.8(3.2)	97.4(3.5)
4	氟虫腈硫醚	0.5	Y=3665.88X-257.291	0.9996	94.7(7.8)	102.3(4.1)	104.1(3.9)

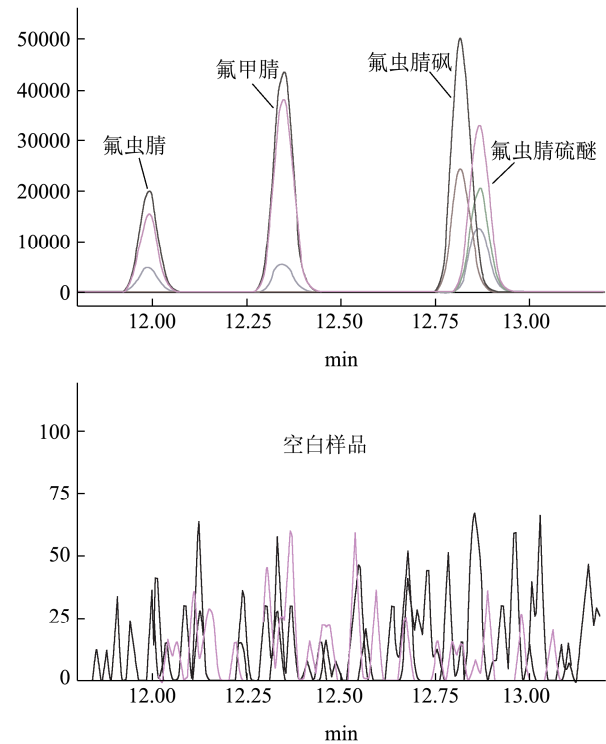


图 4 空白样品和加标样品中氟虫腈及其代谢物的总离子流色谱图

Fig.4 Total ion chromatography of fipronil and its metabolites in blank and spiked samples

考虑 LOQ 和残留量的高低, 需要高、中、低 3 个添加量, 因此向空白鸡蛋样品中按照最终浓度 0.5、5.0 和 10.0 μg/kg 添加氟虫腈及其代谢物的混合标准工作液, 每个浓度水平做 6 个平行样, 加标后混匀, 静置 30 min, 然后按照 1.3 节样品前处理方法进行提取和净化, 回收率和精密度见表 2。氟虫腈及其代谢物的加标回收率在 92.3%~105.1% 范围内, RSD 在 1.2%~8.6% 范围内, 回收率和精密度均较好。鸡蛋加标样品和空白样品中氟虫腈及其代谢物特征色谱图见图 4。按照 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》中方法确认的技术要求, 该方法满足鸡蛋中氟虫腈及其代谢物残留检测的要求^[28]。

3 结论

本研究采用液相色谱-三重四级杆串联质谱技术, 用乙腈和正己烷混合均质提取, C₁₈ 固相萃取小柱净化, 建立了鸡蛋中氟虫腈及其代谢物的残留分析方法。该方法前处理简单快速, 稳定性好, 在线性、回收率、精密度、定量限等方面均满足残留检测方法确认的要求, 可作为鸡蛋中氟虫腈及其代谢物残留的定性和定量检测手段。

参考文献

[1] 操海群,施艳红,花日茂.辣椒、白菜中氟虫腈残留分析方法的研究[J].食品科学,2005,26(9):377-380
CAO Hai-qun, SHI Yan-hong, HUA Ri-mao, et al. Study on analytical method on fipronil residue in pepper and Chinese Cabbage [J]. Food Science, 2005, 26(9): 377-380

[2] 吕冰,尹帅星,陈达伟,等.QuEChERS-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱测定动物性食品中氟虫腈及其代谢物残留[J].分析测试学报,2017,36(12):1424-1430
LYU Bing, YIN Shuai-xing, CHEN Da-wei, et al. Determination of Fipronil and its metabolites in animal derived foods by QuEChERS method combined with ultra performance liquid chromatography-high-resolution benchtop Q exactive mass spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2017, 36(12): 1424-1430

[3] 白宝清,李美萍,张生万.QuEChERS-DLLME-高效液相色谱法测定蔬菜中溴虫腈和氟虫腈残留[J].食品科学,2014,35(24):254-258
BAI Bao-qing, LI Mei-ping, ZHANG Sheng-wan, et al. Determination of chlorfenapyr and fipronil residues in vegetables by Qu ECh ERS combined with dispersive liquid-liquid microextraction and high performance liquid chromatography [J]. Food Science, 2014, 35(24): 254-258

[4] 周昱,徐敦明,陈达捷,等.固相微萃取-气相色谱法和气相色谱法

- 谱-质谱法测定茶叶中氟虫腈及其代谢物残留[J]. 色谱, 2011, 29(7): 656-661
- ZHOU Yu, XU Dun-ming, CHEN Da-jie, et al. Determination of fipronil and its metabolites in tea by solid-phase microextraction coupled with gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2011, 29(7): 656-661
- [5] Kurz M H S, Martel S, Goncalves F, et al. Development of a fast method for the determination of the insecticide fipronil and its metabolites in environmental waters by SPE and GC-ECD [J]. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2013, 24(4): 631-638
- [6] CAO Yong song, CHEN Jiu xin, WANG Yue long, et al. HPLC/UV analysis of chlorfenapyr residues in cabbage and soil to study the dynamics of different formulations [J]. Science of the Total Environment, 2005, 350(1/3): 38-46
- [7] Tomasini D, Sampaio M R F, Cardoso L V, et al. Comparison of dispersive liquid-liquid microextraction and the modified QuEChERS method for the determination of fipronil in honey by high performance liquid chromatography with diode-array detection [J]. Analytical Methods, 2011, 3(8): 1893-1900
- [8] Hadjmohammadi M R, Nikou S M, Kamel K. Determination of fipronil residue in soil and water in the rice fields in north of Iran by RP-HPLC method [J]. Acta Chimica Slovenica, 2006, 53(4): 517-520
- [9] Cid Y P, Ferreira T P, Medeiros D M V C, et al. Determination of fipronil in bovine plasma by solid phase extraction and liquid chromatography with ultraviolet detection [J]. Quimica Nova, 2010, 35(10): 2063-2066
- [10] Ramasubramanian T, Paramasivam M, Jayanthi R, et al. A simple and sensitive single-step method for gas chromatography-mass spectrometric determination of fipronil and its metabolites in sugarcane juice, jaggery and sugar [J]. Food Chemistry, 2014, 150: 408-413
- [11] Paramasivam M, Chandrasekaran S. Determination of fipronil and its major metabolites in vegetables, fruit and soil using QuEChERS and gas chromatography-mass spectrometry [J]. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2013, 93(11): 1203-1211
- [12] Araujo L, Troconis M, Cubillan D, et al. Single drop microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for the determination of diflufenican, mepanipyrim, fipronil, and pretilachlor in water samples [J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2013, 185(12): 10225-10233
- [13] Sartarelli N C, De Macedo A N, De Sousa J P, et al. Determination of chlorfenvinphos, fipronil, and cypermethrin residues in meat and bovine fat using QuEChERS method and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies, 2012, 35(13): 1895-1908
- [14] 薄海波. 气相色谱-串联质谱正离子模式测定食品中氟虫腈和溴虫腈残留[J]. 中国食品卫生杂志, 2013, 25(5): 431-434
- BO Hai-bo. Determination of fipronil and chlorfenapyr residues in foodstuffs by gas chromatography-tandem mass spectrometry in positive ion mode [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2013, 25(5): 431-434
- [15] Débora T, Maicon R F S, Sergiane S C, et al. Simultaneous determination of pesticides and 5-hydroxymethylfurfural in honey by the modified QuEChERS method and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. Talanta, 2012, 99: 380-386
- [16] 丁明, 钟冬莲, 汤富彬, 等. 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱联用测定竹笋中残留的 7 种杀虫剂农药[J]. 色谱, 2013, 31(2): 117-121
- DING Ming, ZHONG Dong-lian, TANG Fu-bin, et al. Determination of seven pesticide residues in bamboo shoots by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with solid-phase extraction [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2013, 31(2): 117-121
- [17] Sandip H, Dasharath P O, Sagar C U, et al. Residue analysis of fipronil and difenoconazole in okra by liquid chromatography tandem mass spectrometry and their food safety evaluation [J]. Food Chemistry, 2015, 176: 145-151
- [18] Maria G, Maria J A, Gonzalo F, et al. Validation of an off line solid phase extraction liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of systemic insecticide residues in honey and pollen samples collected in apiaries from NW Spain [J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 672(1-2): 107-113
- [19] 堵燕钰, 罗漪涟, 王洁琼, 等. 在线净化-液相色谱串联质谱技术测定蔬菜中氟虫腈及其代谢物残留[J]. 环境化学, 2017, 36(4): 928-930
- DU Yan-yu, LUO Yi-lian, WANG Jie-qiong, et al. Determination of fipronil and its metabolites in vegetables by on-line cleanup liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Environmental Chemistry, 2017, 36(4): 928-930
- [20] 胡贝贞, 蔡海江, 宋伟华. 茶叶中氟虫腈等 8 种农药残留的液

- 相色谱-串联质谱法测定及不确定度评定[J]. 色谱, 2012, 30(9): 889-895
- HU Bei-zhen, CAI Hai-jiang, SONG Wei-hua. Determination of eight pesticide residues in tea by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its uncertainty evaluation [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2012, 30(9): 889-895
- [21] 吴成, 任海雷, 赵志强, 等. 液相色谱-串联质谱法检测芹菜中氟虫腈及其代谢物残留[J]. 福建分析测试, 2016, 25(5): 37-40
- WU Cheng, REN Hai-lei, ZHAO Zhi-qiang, et al. Determination of the fipronil and its metabolites residues in celery by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Fujian Analysis & Testing, 2016, 25(5): 37-40
- [22] 向平, 沈敏, 卓先义. 液相色谱-质谱联用技术在药物和毒物分析中的应用[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2009: 21-26
- XIANG Ping, SHEN Min, ZHUO Xian-yi. Application of liquid chromatography-mass spectrometry in the analysis of drugs and toxicants [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 2009: 21-26
- [23] 贺敏, 宋丹, 董丰收, 等. UPLC-MS/MS 快速检测韭菜和土壤中氟虫腈及其代谢物残留[J]. 环境化学, 2016, 35(5): 925-932
- HE Min, SONG Dan, DONG Feng-shou, et al. Determination of fipronil and its metabolites in leek and soil by ultrahigh performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Environmental Chemistry, 2016, 35(5): 925-932
- [24] Layne J, Farcas T, Rustamov I, et al. Volume-load capacity in fast-gradient liquid chromatography: effect of sample solvent composition and injection volume on chromatographic performance [J]. Journal of Chromatography A, 2001, 913(1): 233-242
- [25] Patel D. Matrix effect in a view of LC-MS/MS: An overview [J]. International Journal of Pharma and Bio Sciences, 2011, 2: 559-564
- [26] 王建华, 葛敏敏, 张慧丽, 等. QuEChERS 法-液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中 7 种农药及其代谢物的残留量[J]. 食品科学, 2017, 38(20): 235-241
- WANG Jian-hua, GE Min-min, ZHANG Hui-li, et al. Determination of 7 pesticide and metabolite residues in vegetables using QuEChERS and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Science, 2017, 38(20): 235-241
- [27] Matuszewski B K, Constanzer M L, Chavez-eng C M. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS [J]. Analytical Chemistry, 2003, 75(13): 3019-3030
- [28] GB/T 27404-2008, 实验室质量控制规范 食品理化检验[S]. GB/T 27404-2008, Criterion on Quality Control of Laboratories-chemical Testing of Food [S]

(上接第 151 页)

- [19] 陆彩玲, 唐深, 刘楠楠, 等. 海马组织蛋白不同染色方法的比较[J]. 环境与职业医学, 2013, 30(1): 26-28
- LU Cai-ling, TANG Shen, LIU Nan-nan, et al. Comparison of different staining methods for hippocampal proteomic analysis [J]. Journal of Environmental & Occupational Medicine, 2013, 30(1): 26-28
- [20] 黄薇, 宋永康, 余华, 等. 酶法制备玉米抗氧化肽[J]. 中国食品学报, 2014, 14(8): 69-76
- HUANG Wei, SONG Yong-kang, YU Hua, et al. Enzymatic preparation of corn anti-oxidation peptide [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2014, 14(8): 69-76
- [21] 林燕, 陈计峦, 胡小松, 等. 酶解核桃蛋白制备抗氧化肽的研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(4): 204-207, 212
- LING Yan, CHEN Ji-luan, HU Xiao-song, et al. Preparation of antioxidant peptide from walnut protein by enzymatic hydrolysis [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(4): 204-207, 212
- [22] 王璋, 许时英. 食品化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2002
- WANG Zhang, XU Shi-ying. Food Chemistry [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2002
- [23] Montgomery D C. Design and Analysis of Experiments [M]. London: John Wiley and Sons Inc, 1991