

超高效液相色谱-串联质谱快速检测食品中苯基吡唑类化合物残留的方法

陈锂^{*}, 张启恒, 朱正伟, 吴婉琴, 江丰

(湖北省食品质量安全监督检验研究院, 国家市场监管重点实验室(动物源性食品中重点化学危害物检测技术), 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: 建立了一种 QuEChERS 前处理方法结合超高效液相色谱-串联质谱技术检测食品中乙虫腈、丁虫腈、吡草醚、氟甲腈、氟虫腈、氟虫腈砒、氟虫腈亚砒和氟虫腈-脱三氟甲基亚砒等 8 种苯基吡唑类化合物残留的分析方法。针对不同的食品基质, 使用 $\phi=1\%$ 醋酸乙腈和水作为提取溶剂, 经盐析和 QuEChERS 净化直接测定。以甲醇-水为流动相梯度洗脱, ESI 离子源正负离子模式同时进行多反应监测模式 (MRM) 扫描, 使用基质匹配标准溶液定量分析。苯基吡唑类化合物峰型尖锐对称, 分离效果较好, 在 1~800 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性良好, 相关系数大于 0.99。该方法在鸡蛋、禽肉、牛奶、枣、白菜、茶叶、大米基质中检出限为 0.01~0.53 $\mu\text{g/kg}$ 之间, 定量限为 0.04~1.75 $\mu\text{g/kg}$, 加标回收率范围为 70.12%~119.87%, 相对标准偏差 (RSD) 为 1.01%~9.91% ($n=6$)。该方法高效准确、通用性强, 可应用于不同食品基质中苯基吡唑类化合物同时检测分析。

关键词: 苯基吡唑类化合物; 超高效液相色谱-串联质谱; QuEChERS

文章编号: 1673-9078(2024)06-285-294

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.6.0652

Detection of Phenylpyrazole Residues in Food by Ultra-high Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

CHEN Li^{*}, ZHANG Qiheng, ZHU Zhengwei, WU Wanqin, JIANG Feng

(Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Key Laboratory of Detection Technology of Focus Chemical Hazards in Animal-derived Food for State Market Regulation, Hubei Provincial Engineering and Technology Research Center for Food Quality and Safety Test, Wuhan 430075, China)

Abstract: A food analytical method that combines QuEChERS pretreatment assay with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) was developed for the detection of eight phenylpyrazole residues in food; ethiprole, flufiprole, pyraflufen-ethyl, fipronil-desulfinyl, fipronil, fipronil-sulfone, fipronil-sulfide, and fipronil-detrifluoromethyl sulfoxide. Different food matrices were directly measured by salting-out and QuEChERS purification using 1% acetonitrile acetate and water as extraction solvents. Gradient elution was conducted using methanol and water as the mobile phase and scanning in the multiple reaction monitoring (MRM) mode was performed simultaneously

引文格式:

陈锂,张启恒,朱正伟,等.超高效液相色谱-串联质谱快速检测食品中苯基吡唑类化合物残留的方法[J].现代食品科技,2024,40(6):285-294.

CHEN Li, ZHANG Qiheng, ZHU Zhengwei, et al. Detection of phenylpyrazole residues in food by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(6): 285-294.

收稿日期: 2023-06-10

基金项目: 湖北省食品质量安全监督检验研究院联合创新科研项目 (HBQT-LH202101); 湖北省自然科学基金一般面上项目 (2023AFB863)

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

in the positive and negative ion ESI modes. Matrix-matched standard solutions were used for quantitative analysis. The peak shape of phenylpyrazoles was sharp and symmetrical, showing good separation effects, good linearity within the 1~800 $\mu\text{g/L}$ range, and correlation coefficients greater than 0.99. The detection limit of this method for eggs, poultry meat, milk, dates, Chinese cabbage, tea, and rice matrices ranged between 0.01~0.53 $\mu\text{g/kg}$, with the quantitation limit at 0.04~1.75 $\mu\text{g/kg}$, the standard recovery rates at 70.12~119.87%, and the relative standard deviation (RSD) from 1.01~9.91% ($n=6$). The developed QuEChERS-UHPLC-MS/MS method can be considered effective, accurate, and versatile, and it can be successfully applied for the simultaneous detection and analysis of different phenylpyrazole residues in food.

Key words: phenylpyrazoles; ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; QuEChERS

苯基吡啶类农药是以胃毒作用为主的神经类广谱杀虫剂, 通过影响昆虫氯离子通道达到兼具内吸和触杀的作用^[1], 因其优越的杀虫选择性与多数杀虫剂无交互抗性, 对已产生抗体的害虫有较好的防治效果, 被广泛使用于水稻、禽肉、蔬菜、茶叶等食品领域^[2]。自 2017 年欧洲爆发“毒鸡蛋”事件后, 氟虫腈已成为食品领域的监管重点, 欧盟及中国均对氟虫腈进行限制使用^[3,4]。因氟虫腈及其类似物价格低廉、除虫效果优异, 受经济利益的驱使此类农药一直存在混用、滥用、超标和超范围使用等问题。在最新的中国食品安全国家标准 GB 2763-2021 中, 对氟虫腈类农药扩大了监管范围并制定了新的临时限量^[5]。近年来, 苯基吡啶类农药重新引起了人们的广泛关注, 已开发出不同的前处理和检测方法。

根据相关标准及文献报道, 苯基吡啶类农药主要有氟虫腈、氟甲腈、氟虫腈砒、氟虫腈亚砒和丁虫腈, 其母体结构均为苯基连接吡啶环, 区别在吡啶环上的不同取代基团。随着欧盟对氟虫腈的限制使用, 参照氟虫腈开发出来的苯基吡啶类化合物替代品在市面上逐渐开始使用, 并在不同食品中偶有检出, 如乙虫腈、氟虫腈-脱三氟甲基亚砒和吡草醚等。此类化合物结构和质谱裂解碎片相似, 保留时间相近且难以区分, 易出现混淆, 急需建立多种苯基吡啶类化合物的快速检测及分析方法。由于食品基质复杂、干扰组分众多, 苯基吡啶类农药含量较低, 特别是对同类化合物的痕量混合检验, 样品前处理过程显得尤为重要。目前苯基吡啶类农药的前处理方法有液-液萃取法、固相萃取法 (SPE) 和 QuEChERS 方法。根据食品基质的不同有所差异, 液-液萃取法主要使用的溶剂为乙腈^[6]; 固相萃取法使用的固相萃取柱有 HLB 固相萃取柱 (水果)、N-丙基乙二胺 (PSA) 固相萃取柱 (蔬菜和肉制品)、十八烷基硅烷键合硅胶 (C_{18}) 固相萃取柱 (蔬菜)^[7-10]; QuEChERS 方法则在 PSA、 C_{18} 和石墨化炭黑 (GCB) 使用量上有所差

别^[11,12]。其中, 液-液萃取法和固相萃取法较为费时费力, QuEChERS 方法因其简单、便宜、安全和高效被广泛应用于食品前处理步骤中。而苯基吡啶类化合物检测方法有气相色谱法、液相色谱法、液相色谱串联质谱法和气相色谱串联质谱法等, 这些检测方法均可实现常见苯基吡啶类化合物在不同食品基质中的检测, 但是由于新型苯基吡啶类化合物沸点较高、结构相似且保留时间相近, 为实现多种化合物的高通量检测, 本方法使用超高效液相色谱-串联质谱对食品中 8 种苯基吡啶类农药残留进行分析方法研究, 通过 QuEChERS 净化, 以基质标准曲线定量, 建立 QuEChERS-UPLC-MS/MS 法检测食品中苯基吡啶类化合物快速定性和定量方法, 为实现食品中苯基吡啶类化合物的高效和快速监测提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

样品来源: 鸡蛋、禽肉、牛奶、柑橘、韭菜、茶叶、大米均采购于超市和农贸市场。

主要试剂: 色谱纯甲醇和乙腈, 赛默飞世尔公司; 乙酸、甲酸、无水硫酸钠、乙酸铵, 国药集团化学试剂有限公司; 超纯水 (超纯水机制得), Sigma 美国; QuEChERS 方法盐析和净化包, 深圳逗点生物技术有限公司。

标准品: 氟虫腈、氟虫腈砒、氟虫腈亚砒、氟甲腈、丁虫腈、乙虫腈、氟虫腈-脱三氟甲基亚砒和吡草醚, 均购于 First Standard (阿尔塔科技有限公司), 纯度均 $\geq 99\%$, 质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 。

主要仪器设备: 超高效液相色谱-TQS micro 质谱仪, 美国 Waters; Allegra X-22R 多功能台式冷冻离心机, 美国贝克曼公司; MSA125P-1CE-DU 分析天平, 德国 Sartorius 公司; 涡旋混合器型号 XH-C, 江苏金怡仪器科技公司。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液配制

混合标准储备溶液：分别准确吸取 1.0 mL 氟虫腈、丁虫腈、氟虫腈砒、氟虫腈-脱三氟甲基砒、氟虫腈亚砒、吡草醚、乙虫腈和氟甲腈标准品，用乙腈（色谱纯）溶解并定容至 10 mL，配制成浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准储备溶液，避光 -19 $^{\circ}\text{C}$ 备用保存。确认检出限后，按照不同化合物响应配制线性范围，吸取单一标准储备液使用色谱纯乙腈定容既得混合标准储备溶液。

1.2.2 试验方法

试样均质后准确称取 5.0 g（精确至 0.01 g）于离心管中（50 mL），加入 10 mL 水和 15 mL 1% 醋酸乙腈（体积分数），6 g 无水硫酸镁、1 颗陶瓷均质子和 1.5 g 醋酸钠，盖上离心管盖，剧烈振荡 1 min 后 3 800 r/min 离心 4 min；移取 8 mL 上层溶液至内含 400 mg PSA、1 200 mg 硫酸镁、200 mg GCB 及 400 mg C_{18} 的 15 mL 离心管中，涡旋 2 min；以 3 900 r/min 离心 2 min；准确吸取 2 mL 上清液，过 0.22 μm 有机相滤膜，UPLC-MS/MS 测定分析。

1.2.3 基质标准曲线的制备

称取不同空白食品基质 5.0 g，按 1.2.2 节方法

进行前处理。标准溶液用空白基质提取液稀释，基质标准曲线以纵坐标为峰面积（Y）对各被测组分的横坐标质量浓度（X， $\mu\text{g/mL}$ ）绘制作图。

1.2.4 色谱条件

色谱柱：ACQUITY UPLC BECH C_{18} （2.1 mm \times 50 mm，1.7 μm ）；进样体积：1 μL ；柱温：40 $^{\circ}\text{C}$ ；流动相：A 相为水，B 相为甲醇溶液，流速 0.3 mL/min。使用体积分数的梯度洗脱程序：0~0.5 min，90% A；0.5~3.0 min，90%~10% A；3.0~4.5 min，10% A；4.5~4.6 min，10%~90% A；4.6~60 min，90% A。8 种苯基吡唑类化合物色谱图见图 1。

1.2.5 质谱条件

离子化模式：电喷雾离子源（ESI），正离子和负离子同时扫描；质谱扫描方式：多反应监测模式（MRM）；毛细管电压：3 350 V；干燥气温度 450 $^{\circ}\text{C}$ ，干燥气流速 800 L/h；锥孔气流速 50 L/h；其他质谱条件见表 1。正离子模式分析 7 种目标化合物，负离子模式分析 1 种。

1.2.6 数据分析

相关质谱数据和定量结果由仪器中的 MassLynx 软件收集分析，数据汇总后，经 Office 软件进行数据处理。

表 1 8 种苯基吡唑类化合物保留时间及选择反应监测模式分析参数

Table 1 Retention time and UPLC-MS/MS parameters for 8 phenylpyrazoles

名称	英文名	CAS 号	加和离子	保留时间/min	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	锥孔电压 /V	碰撞电压 /V
氟虫腈	Fipronil	120068-37-3	[M-H]-	4.91	434.9	329.9*	-24	-15
						249.9		-30
氟虫腈砒	Fipronil-sulfone	120068-36-2	[M-H]-	5.02	450.9	414.9*	-30	-20
						281.9		-25
氟虫腈亚砒	Fipronil-sulfide	120067-83-6	[M-H]-	4.95	418.9	382.9*	-35	-15
						313.9		-22
氟甲腈	Fipronil-desulfinyl	205650-65-3	[M-H]-	4.86	386.9	350.9*	-35	-15
						281.9		-30
乙虫腈	Ethiprole	181587-01-9	[M-H]-	4.64	394.9	329.9*	-16	-10
						249.9		-22
丁虫腈	Flufiprole	704886-18-0	[M-H]-	4.99	488.9	398.9*	-48	-12
						329.9		-24
氟虫腈-脱三氟甲基砒	Fipronil-detrifluoromethyl sulfoxide	120068-79-3	[M-H]-	4.48	318.9	282.9*	-40	-10
						182.9		-32
吡草醚	Pyraflufen-ethyl	129630-19-9	[M+H]+	5.01	412.9	339.0*	24	18
						253.1		30

注：* 为定量离子。

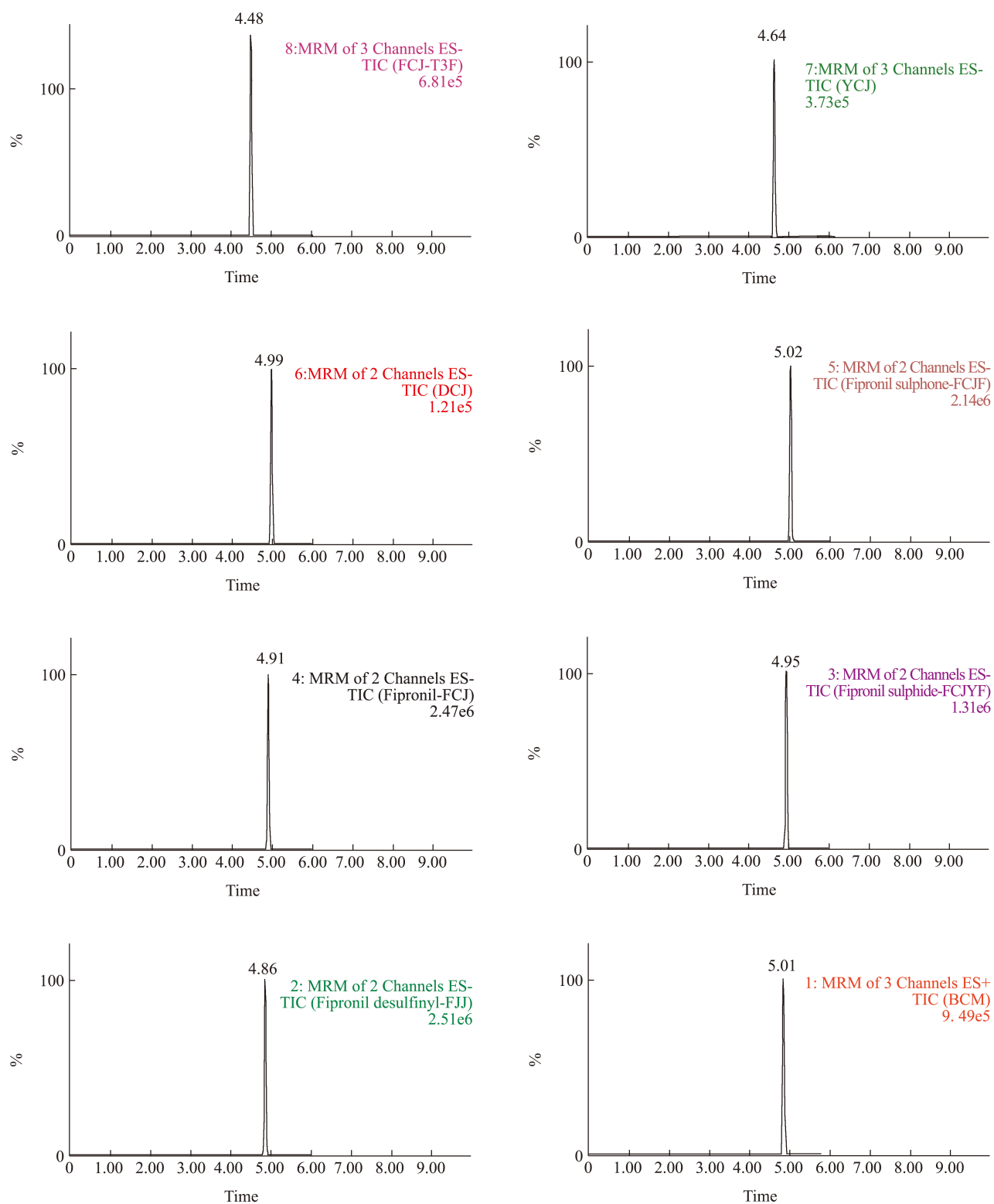


图 1 苯基吡唑类化合物正负离子同时采集模式下色谱图

Fig.1 Chromatogram of phenylpyrazoles under simultaneous positive and negative ion collection mode

2 结果与讨论

2.1 质谱条件优化

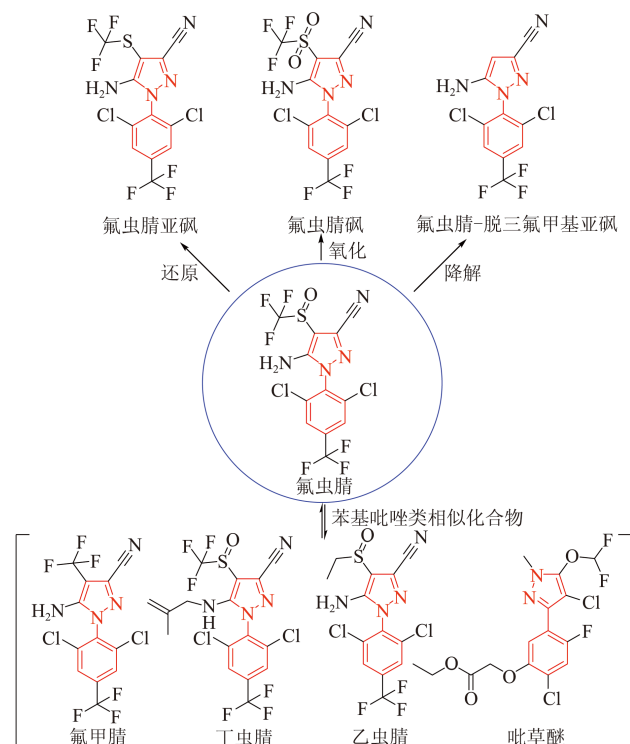


图2 苯基吡唑类化合物结构示意图

Fig.2 Structural diagram of phenylpyrazoles

如图2所示, 8种苯基吡唑类化合物均含有红色标识的苯基吡唑母体结构, 氟甲腓、丁虫腓、乙虫腓、吡草醚是与氟虫腓结构相似的苯基吡唑类化合物; 氟虫腓砜、氟虫腓亚砜、氟虫腓-脱三氟甲基亚砜为氟虫腓在食物基质或环境中可产生的降解代谢产物。此类化合物结构相似、质谱碎片相似度高, 选择适宜的分子离子峰和电离方式, 对此类化合物的分离和鉴别有着十分重要的意义。本方法将8种苯基吡唑类化合物配制成100 ng/mL的混合标准溶液, 进行质谱参数优化。在正离子模式下以一级质谱确定母离子, 可以找到丁虫腓、乙虫腓、吡草醚和氟虫腓-脱三氟甲基亚砜的 $[M+H]^+$ 分子离子峰; 再切换到负离子模式, 可以找到丁虫腓、乙虫腓、氟虫腓-脱三氟甲基亚砜、氟虫腓砜、氟虫腓亚砜、氟甲腓、氟虫腓的 $[M-H]^-$ 分子离子峰, 其中丁虫腓、乙虫腓和氟虫腓-脱三氟甲基亚砜在负离子模式下母离子响应更高, 而吡草醚基本没有响应, 因此选用正负离子同时扫描模式。参照母离子响应对毛细管出口电压进行优化, 再根据最优参数采集二级质谱, 选择响应最高的两个子离子作为定

量和定性离子, 最后优化碰撞能量和锥孔电压并确定具体参数, 详见表1。

2.2 色谱条件优化

本研究涉及8种结构相似出峰时间相近的苯基吡唑类化合物, 使用分离效果较好的BEH C_{18} 色谱柱进行分离。如表2所示, 比较了甲醇-0.1%甲酸水溶液(体积分数)、甲醇-5 mmol/L乙酸铵溶液、乙腈-5 mmol/L乙酸铵溶液、水-甲醇、甲醇-0.1%甲酸(体积分数)-5 mmol/L乙酸铵溶液、水-乙腈、乙腈-0.1%甲酸水溶液(体积分数)、乙腈-0.1%甲酸(体积分数)-5 mmol/L乙酸铵溶液等8种流动相在相同梯度洗脱条件下对目标化合物的峰型和灵敏度的影响。实验表明, 吡草醚在甲醇-5 mmol/L乙酸铵溶液体系下的响应值最高, 相较于纯溶剂体系, 乙酸铵的加入可以使流动相呈弱酸性^[13], 促进正离子模式下吡草醚的离子化程度, 提高目标化合物响应, 但在负离子模式下乙酸铵溶剂体系会对其他7种苯基吡唑类化合物产生一定的抑制作用。综合考虑, 其他7种苯基吡唑类化合物在甲醇-水中响应最高, 吡草醚响应可以满足灵敏度要求, 因此选择甲醇-水体系作为流动相。

2.3 提取溶剂选择

苯基吡唑类化合物属弱极性化合物, 其溶解度和回收率在不同溶剂和食品中各有差异, 使用乙腈作为提取和待测溶剂的主要成分, 目标化合物提取率和质谱分析峰型均较为理想^[14], 经前处理净化后可直接进样分析, 避免了耗时较长的浓缩和复配等过程。以尚未在文献中报道的新苯基吡唑类化合物氟虫腓-脱三氟甲基亚砜为代表, 考查纯乙腈和不同体积分数的醋酸(0.1%、0.5%、1%、2%、5%)以及水的加入对回收率的影响(图3)。结果表明, 氟虫腓-脱三氟甲基亚砜在酸性条件下的回收率整体偏高, 醋酸含量提高至5%时目标化合物回收率开始下降。当食品基质涉及干燥植物样品(茶叶)和高蛋白食品(牛奶)时, 直接加入酸化乙腈, 牛奶会出现蛋白质变性成团包覆现象, 茶叶会出现吸附膨胀导致目标物提取不完全, 导致目标物的提取率降低, 适量水的加入可以有效改善样品成团并使茶叶等干燥样品充分溶胀, 促进有机试剂对目标物的提取, 经盐析即可实现分离。综合不同食品基质的提取效果, 最终选用10 mL水和15 mL 1%醋酸乙腈(体积分数)作为提取溶液。

表 2 色谱流动相对苯基吡唑类化合物的影响

Table 2 Effects of chromatographic mobile phase on phenylpyrazoles

流动相	峰面积							
	氟虫腴	氟虫腴砒	氟虫腴亚砒	氟甲腴	乙虫腴	丁虫腴	氟虫腴-脱三氟甲基亚砒	吡草醚
水-甲醇	3.48×10^6	2.30×10^6	1.48×10^6	2.64×10^6	5.26×10^5	1.37×10^5	9.11×10^5	1.15×10^6
水-乙腴	1.78×10^6	2.06×10^6	1.08×10^6	2.36×10^6	2.52×10^5	1.22×10^5	5.60×10^5	3.93×10^6
甲醇-0.1%甲酸-水	1.50×10^6	1.39×10^6	7.94×10^5	1.58×10^6	9.89×10^4	8.35×10^4	2.89×10^5	1.47×10^6
乙腴-0.1%甲酸-水	1.36×10^6	1.68×10^6	9.86×10^5	1.91×10^6	5.46×10^4	9.60×10^4	2.94×10^5	3.21×10^5
甲醇-5 mmol/L 乙酸铵溶液	1.97×10^6	1.39×10^6	8.85×10^5	1.64×10^6	3.13×10^5	7.30×10^4	4.72×10^5	1.68×10^6
乙腴-5 mmol/L 乙酸铵溶液	1.13×10^6	1.26×10^6	7.42×10^5	1.47×10^6	9.14×10^4	7.20×10^4	2.88×10^5	7.21×10^5
甲醇-0.1%甲酸-5 mmol/L 乙酸铵溶液	6.28×10^5	8.58×10^5	4.16×10^5	8.99×10^5	6.06×10^4	4.08×10^4	1.45×10^5	3.88×10^5
乙腴-0.1%甲酸-5 mmol/L 乙酸铵溶液	5.45×10^5	7.09×10^5	4.22×10^5	7.68×10^5	5.55×10^4	3.82×10^4	1.41×10^5	8.78×10^5

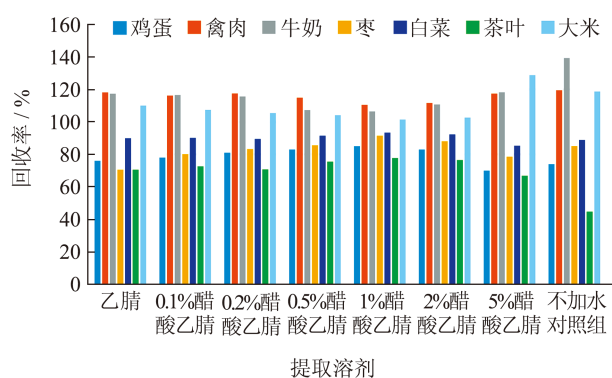


图 3 提取溶剂对氟虫腴-脱三氟甲基亚砒在不同食品中提取效率的影响

Fig.3 Effects of extraction solutions on the extraction efficiency of fipronil-detrifluoromethyl sulfoxide in different foods

2.4 前处理方法选择

本研究涉及 7 种食品基质，基本涵盖苯基吡唑类化合物可能出现的食品风险种类，选用 QuEChERS 作为前处理方法，可以有效降低不同食品中杂质对苯基吡唑类化合物痕量分析的干扰^[15]。QuEChERS 法使用的净化剂为 PSA、C₁₈ 和 GCB，根据 AOAC (Association of Official Agricultural Chemists)、CEN (European Committee for Standardization) 和我国食品安全国家标准中推荐使用方法^[16-18]，目前已商业化的净化方法有 4 种，分别是 A (150 mg 无水 MgSO₄、50 mg PSA)；B (50 mg PSA、150 mg 无水 MgSO₄ 和 50 mg C₁₈)；C (50 mg PSA、150 mg 无水 MgSO₄、和 25 mg GCB)；D (50 mg PSA、50 mg C₁₈、150 mg 无水 MgSO₄ 和 25 mg GCB)。本方法以氟虫腴-脱三氟甲基亚砒为代表目标物化合物，

比较不同 QuEChERS 净化方法在食品基质中的净化提取效果，每毫升净化溶液使用的一份净化方法包。如图 4 所示，净化方法 A 单独使用 PSA 可以对所有食品基质产生净化效果，但回收率整体偏低，受色素和脂质影响较大。对比于净化方法 A，净化方法 B 额外加入 C₁₈ 可以提高目标化合物在动物源性食品中的回收率；净化方法 C 额外加入 GCB 可以提高目标化合物在植物源性食品中的回收率，但是对动物源性食品呈基质增强效果；净化方法 D 虽然对个别食品基质回收率略有影响但综合回收率较好，将此方法应用于 7 种苯基吡唑类化合物，回收率质量分数在 70%~120% 之间 (图 5)，符合日常实验室检测需求。同 SPE 方法比较，该方法操作简便、普适性强，不会发生柱堵塞等问题，样品经前处理后可直接进样分析，避免了耗时较长的过柱和浓缩等步骤。

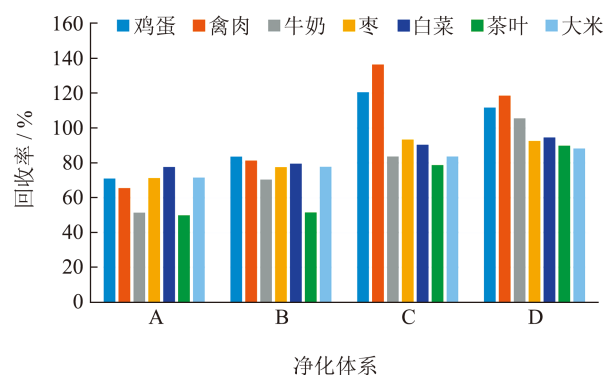


图 4 不同净化方法对氟虫腴-脱三氟甲基亚砒在食品基质中的影响

Fig.4 Effects of different purification methods on fipronil-detrifluoromethyl sulfoxide in different foods

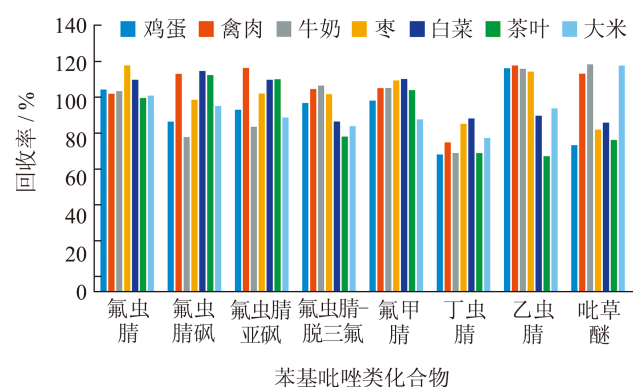


图 5 苯基吡唑类化合物在不同食品中的回收率

Fig.5 Recovery rates of phenylpyrazoles in different foods

2.5 检出限、定量限和基质效应的考察

基质效应普遍存在于食品痕量残留检测中，会对液质分析方法产生重要影响。本实验以基质匹配标准曲线与纯溶剂标曲斜率之比确定基质效应^[16]，使用标准储备液配制 1、10、50、100、200、400、800 $\mu\text{g/L}$ 不同水平的标准溶液，分别比较了

鸡蛋、禽肉、牛奶、枣、白菜、茶叶、大米的基质效应，目标化合物在 1~800 $\mu\text{g/L}$ 质量浓度内线性相关系数 (R^2) 均大于 0.99。由表 3 可知，氟虫腈在 7 种食品中基质效应为 6.54%~77.81%；氟虫腈砷基质效应为 -1.52%~44.05%；氟虫腈亚砷基质效应为 1.12%~46.64%；氟虫腈-脱三氟甲基亚砷基质效应为 13.05%~72.81%；氟甲腈基质效应为 3.10%~47.43%；乙虫腈基质效应为 18.83%~85.06%；丁虫腈基质效应为 -0.71%~70.76%；吡草醚基质效应为 -5.08%~82.96%，部分结果超出可接受的 $\pm 20\%$ 标准，因此在实际样品检测中应使用基质匹配标准曲线对目标化合物进行定量分析，以保证结果准确。采用基质加标回收的方法，以信噪比 (S/N) 为 3 确定检出限，S/N 为 10 确定定量限。苯基吡唑类化合物检出限在 0.01~0.53 $\mu\text{g/kg}$ 之间，定量限在 0.04~1.75 $\mu\text{g/kg}$ 之间，该方法符合复杂基质中苯基吡唑类化合物的痕量检测。

表 3 8种苯基吡唑类化合物基质效应、相对标准差、检出限、回收率和定量限

Table 3 Matrix effect, detection limit, quantification limit, recovery rate, and relative standard deviation of 8 phenylpyrazole compounds

名称	食品基质	基质效应 /%	检出限 /($\mu\text{g/kg}$)	定量限 /($\mu\text{g/kg}$)	回收率 /% 2、4、10 $\mu\text{g/kg}$	相对标准偏差 /%
氟虫腈	鸡蛋	6.54	0.02	0.08	110.69、106.41、102.58	4.82、2.47、2.08
	禽肉	32.37	0.02	0.07	115.12、110.54、106.77	7.25、5.77、2.61
	牛奶	23.09	0.02	0.06	108.25、106.39、102.11	5.72、4.12、1.58
	枣	49.26	0.02	0.06	118.88、115.47、109.25	8.81、3.21、2.02
	白菜	61.59	0.02	0.05	117.52、115.36、110.81	3.21、3.02、1.55
	茶叶	77.81	0.02	0.06	115.12、109.88、102.81	7.92、5.31、4.88
	大米	72.78	0.02	0.05	108.11、106.52、102.89	6.13、4.71、1.66
氟虫腈砷	鸡蛋	0.65	0.02	0.05	82.12、85.93、88.87	4.25、3.74、1.08
	禽肉	1.65	0.02	0.06	119.45、116.86、113.94	9.91、8.46、6.12
	牛奶	0.75	0.02	0.06	76.59、80.13、82.11	7.21、5.33、4.95
	枣	-1.52	0.02	0.05	104.89、102.33、100.78	3.22、1.89、1.01
	白菜	10.03	0.01	0.04	119.31、116.51、113.92	6.61、4.32、4.05
	茶叶	42.17	0.01	0.05	118.89、117.14、114.23	8.92、7.71、6.52
	大米	44.05	0.01	0.04	93.31、95.54、96.99	4.22、3.68、2.12
氟虫腈亚砷	鸡蛋	4.36	0.04	0.15	88.76、92.51、94.89	4.39、3.21、1.31
	禽肉	5.40	0.05	0.16	119.84、118.65、115.72	5.26、4.15、4.67
	牛奶	4.31	0.05	0.17	76.53、80.19、87.23	7.81、5.15、5.21
	枣	1.12	0.05	0.16	109.32、105.14、104.25	3.51、3.09、2.75
	白菜	17.63	0.04	0.14	114.56、110.79、111.38	4.98、3.72、4.24
	茶叶	46.48	0.04	0.14	118.35、115.47、111.26	6.84、5.91、5.23
	大米	46.64	0.03	0.11	84.38、89.92、92.02	4.38、3.99、2.11

续表 3

名称	食品基质	基质效应 /%	检出限 /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限 /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率/% 2、4、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	相对标准偏差 /%
氟虫腈-脱三 氟甲基砷	鸡蛋	13.05	0.07	0.22	90.12、95.56、98.88	6.21、5.72、3.23
	禽肉	15.62	0.06	0.21	114.49、110.35、105.78	5.78、5.23、4.14
	牛奶	22.31	0.06	0.20	115.68、110.24、107.99	5.89、4.64、4.13
	枣	55.85	0.05	0.16	109.64、105.74、103.82	5.06、4.53、3.47
	白菜	42.20	0.04	0.13	80.71、85.64、89.33	4.21、3.48、2.01
	茶叶	70.11	0.05	0.17	74.52、77.49、81.74	5.46、5.21、5.00
	大米	72.81	0.05	0.16	81.67、85.52、87.36	4.11、3.05、1.77
氟甲腈	鸡蛋	8.39	0.02	0.06	105.32、103.64、101.14	2.71、1.58、1.10
	禽肉	14.61	0.02	0.06	109.35、106.47、106.88	3.02、2.29、1.77
	牛奶	16.79	0.02	0.06	110.54、108.36、107.14	4.52、3.87、4.18
	枣	3.10	0.02	0.06	118.91、115.47、111.68	8.01、5.87、4.31
	白菜	18.87	0.02	0.05	117.51、114.32、110.82	3.78、2.05、2.01
	茶叶	43.95	0.02	0.06	110.68、106.17、104.78	7.85、6.32、4.15
	大米	47.43	0.01	0.05	88.75、90.74、93.14	3.71、2.23、2.08
乙虫腈	鸡蛋	18.83	0.19	0.64	119.92、118.16、117.41	8.32、7.77、7.02
	禽肉	33.98	0.15	0.50	119.86、119.12、118.45	8.13、6.54、5.78
	牛奶	49.87	0.24	0.80	118.56、118.01、116.75	7.92、6.54、6.17
	枣	35.47	0.12	0.41	117.32、115.64、114.87	6.13、5.54、6.10
	白菜	53.56	0.12	0.40	89.35、91.45、92.87	4.16、3.31、2.07
	茶叶	79.17	0.15	0.49	70.48、72.64、74.11	8.95、7.67、8.12
	大米	85.06	0.10	0.32	91.65、93.54、95.79	3.15、1.07、1.08
丁虫腈	鸡蛋	10.95	0.53	1.75	70.98、72.57、75.15	6.87、5.14、3.21
	禽肉	-0.71	0.51	1.70	72.61、77.12、79.30	6.54、4.11、5.78
	牛奶	2.65	0.47	1.56	70.30、72.55、73.47	7.46、6.61、5.14
	枣	8.31	0.40	1.34	78.32、81.54、88.17	5.32、3.78、4.11
	白菜	31.35	0.43	1.42	84.14、86.77、90.74	4.38、3.87、3.14
	茶叶	67.21	0.40	1.33	70.12、72.03、72.98	8.98、8.74、7.82
	大米	70.76	0.31	1.04	78.64、80.47、81.35	6.31、5.74、4.11
吡草醚	鸡蛋	4.11	0.13	0.44	72.13、75.49、78.12	7.21、7.11、6.54
	禽肉	-1.28	0.11	0.36	118.75、116.47、114.34	6.32、6.11、5.47
	牛奶	-5.08	0.07	0.23	119.47、118.34、118.77	7.98、7.16、7.35
	枣	15.71	0.11	0.36	79.14、82.54、86.04	5.14、5.36、4.78
	白菜	2.39	0.08	0.28	78.14、84.37、87.96	5.47、4.98、5.02
	茶叶	82.96	0.10	0.35	74.56、76.77、79.54	6.21、6.12、5.98
	大米	78.54	0.07	0.23	119.87、118.87、118.14	6.47、5.98、5.54

表 4 样品筛查结果

Table 4 Sample screening results

名称	含量/($\mu\text{g}/\text{kg}$)							
	鸡蛋	禽肉	牛奶	枣	白菜	茶叶	大米	吡草醚
氟虫腈	未检出	未检出	未检出	6.15	5.01、3.72	未检出	未检出	未检出
氟虫腈砒	未检出	未检出	未检出	3.31	4.23、5.87	未检出	未检出	未检出
氟虫腈亚砒	未检出	未检出	未检出	2.54	2.18、1.54	未检出	未检出	未检出
氟虫腈-脱三氟甲基亚砒	未检出	未检出	未检出	1.35	1.77、1.26	未检出	未检出	未检出
氟甲腈	未检出	未检出	未检出	5.42	8.65、3.36	未检出	未检出	未检出
丁虫腈	未检出	未检出	未检出	1.63	1.34、1.47	未检出	未检出	未检出
乙虫腈	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
吡草醚	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出

2.6 回收率和精密度

在空白鸡蛋、禽肉、牛奶、枣、白菜、茶叶、大米样品中分别添加 2、4、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3 个浓度水平的苯基吡啶类化合物混合标准溶液，按最优条件每个浓度重复测定 6 次，方法的准确度用回收率（质量分数）表示，精密度以 6 次平行测定的相对标准偏差（质量分数）表示，结果见表 3。氟虫腈在 7 种食品基质中加标回收率为 102.11%~118.88%，RSD 为 1.55%~8.81%；氟虫腈砒加标回收率为 76.59%~119.45%，RSD 为 1.01%~9.91%；氟虫腈亚砒加标回收率为 76.53%~119.84%，RSD 为 1.31%~7.81%；氟虫腈-脱三氟甲基亚砒加标回收率为 74.52%~115.68%，RSD 为 1.77%~6.21%；氟甲腈加标回收率为 88.75%~118.91%，RSD 为 1.10%~8.01%；乙虫腈加标回收率为 70.48%~119.86%，RSD 为 1.07%~8.95%；丁虫腈加标回收率为 70.12%~90.74%，RSD 为 3.14%~8.98%；吡草醚加标回收率为 72.13%~119.87%，RSD 为 4.78%~7.98%。本方法的回收率和精密度均可满足苯基吡啶类化合物的检测要求。

2.7 实际样品筛查

对市售鸡蛋、禽肉、牛奶、枣、白菜、茶叶、大米样品各 10 批次按照本方法进行筛查分析，在 2 批次白菜和 1 批次枣中检出苯基吡啶类化合物，检出化合物为氟虫腈、氟虫腈砒、氟虫腈亚砒、氟虫腈-脱三氟甲基亚砒、氟甲腈和丁虫腈，具体含量如表 4 所示。检出含量均低于食品安全国家标准（GB2763-2021）中农药最大残留限量的要求。但此类化合物存在较大的混用风险，混合含量较高，

阳性样品中均含有氟虫腈-脱三氟甲基亚砒，需要扩大苯基吡啶类化合物的监管种类。实际样本结果表明，本方操作简单、适用性强，适用于日常食品中苯基吡啶类化合物的检测和分析。

3 结论

本文建立了 8 种苯基吡啶类化合物超高效液相色谱串联质谱的检验方法，实现了此类化合物的定性和定量分析。针对不同种类的复杂食品基质，采用 1% 醋酸乙腈和水作为提取溶剂，经盐析和 QuEChERS 净化后可直接上机检测，建立了 QuEChERS-UPLC-MS/MS 法检测食品中苯基吡啶类化合物的通用筛查和定量方法，目标化合物检出限为 0.01~0.53 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间，定量限在 0.04~1.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，该方法适用于实际样品的检测，为不同食品中苯基吡啶类化合物残留检测提供了一种便捷、高效的筛查和定量方法，具有较好的理论和实际应用价值。

参考文献

- [1] VASYLIEVA N, AHN K C, BARNYCH B, et al. Development of an immunoassay for the detection of the Phenylpyrazole insecticide fipronil [J]. Environmental Science Technology, 2015, 49(16): 10038-10047.
- [2] LIU Z, CHEN D, Lyu B, et al. Occurrence of Phenylpyrazole and Diamide insecticides in lactating women and their health risks for infants [J]. Journal Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(14): 4467-4474.
- [3] CHARALAMPOUS A C, LIAPIS K S, BEMPELOU E D. Fipronil in eggs. Is LC-MS/MS the only option? A comparison study of LC-MS/MS and GC-ECD for the analysis of Fipronil [J]. Journal of Chromatography B, 2019, 1129:

- 121785.
- [4] GB/T 2763-2016, 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S].
- [5] GB/T 2763-2021, 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S].
- [6] 林涛,樊建麟,杨东顺,等.低温液液萃取/超高效液相色谱-串联质谱法快速测定鲜枣中氟虫腈及代谢物[J].分析测试学报,2015,34(12):1360-1365.
- [7] ENSMINGER M P, VASQUEZ M, TSAI H J, et al. Continuous low-level aquatic monitoring (CLAM) samplers for pesticide contaminant screening in urban runoff: Analytical approach and a field test case [J]. *Chemosphere*, 2017, 184: 1028-1035.
- [8] 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.
- [9] ZHANG M, BIAN K, ZHOU T, et al. Determination of residual Fipronil in chicken egg and muscle by LC-MS/MS [J]. *Journal of Chromatography B*, 2016, 1014: 31-36.
- [10] TOMAZINI R, GROSSELI G M, NARA R D S D, et al. Development of a simple method to quantify Fipronil and its intermediates in soil [J]. *Analytical Methods*, 2020, 12(25): 3242-3249.
- [11] CORRIAS F, ATZEI A, TADDEO R, et al. Fipronil and Fipronil sulfone distribution in chicken feathers and eggs after oral and dermal exposure [J]. *Foods*, 2021, 10(12): 1-15.
- [12] PASTORE V A A, SANTOS F A, LANA M A G, et al. Development and validation of a multiresidue method for the determination of macrocyclic lactones, monensin, and Fipronil in bovine liver by UHPLC-MS/MS using a QuEChERS extraction [J]. *Food Analytical Methods*, 2022, 15(11): 3177-3188.
- [13] 周佳,苏阿龙,朱书强,等.QuEChERS-液质联用法测定禽源性食品中苯基吡啶类杀虫剂残留[J].食品工业科技, 2019,40(16):206-211.
- [14] 陈婷,闫君,张文,等.改良QuEChERS-LC-MS/MS测定药食同源食品苯基吡啶类农药残留[J].食品工业,2021, 42(6):489-493.
- [15] HAN K, HUA J, ZHANG Q, et al. Multi-residue analysis of Fipronil and its metabolites in eggs by SinChERS-Based UHPLC-MS/MS [J]. *Food Science of Animal Resources*, 2021, 41(1): 59-70.
- [16] 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.
- [17] GB 23200.121-2021, 食品安全国家标准 植物源性食品中331种农药及其代谢物残留量的测定 液相色谱-质谱联用法[S].
- [18] GB 23200.115-2018, 食品安全国家标准 鸡蛋中氟虫腈及其代谢物残留量的测定液相色谱-质谱联用法[S].