

气相色谱-三重四极杆质谱法快速测定糙米中 氟虫腈及其代谢物残留

庄件兵*, 王玉婷, 李青, 徐慧, 高宏

(江苏省理化测试中心, 南京 210000)

摘要: **目的** 建立气相色谱-三重四极杆质谱(gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry, GC-MS/MS)测定糙米中氟虫腈及其代谢产物氟甲腈、氟虫腈砜、氟虫腈硫醚残留的分析方法。**方法** 糙米加水涡旋混匀后乙腈提取, 通过 N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)、C₁₈ 粉末、石墨化炭黑(graphitized carbon black, GCB)粉末净化提取液, 气相色谱-三重四极杆质谱多重反应离子监测模式(multiple reaction monitoring, MRM)检测, 以外标法定量。**结果** 在 1~50 µg/L 范围下, 氟虫腈及其代谢物具有良好的线性关系, 相关系数(*r*)均大于 0.99, 在 2、10、20 µg/kg 3 个添加水平下, 氟虫腈及其代谢物的平均回收率为 91.6%~109.9%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 4.3%~6.3%。氟虫腈及其代谢物在糙米中的定量限为 0.2~0.5 µg/kg, 定量限添加回收率在 85.0%~108.0%, RSD 为 5.9%~6.9%。**结论** 该方法操作简单快速、试剂耗材消耗少、灵敏度高, 适用于快速处理大批量糙米中氟虫腈及其代谢产物的残留量检测。

关键词: 气相色谱-三重四极杆质谱法; 糙米; 氟虫腈及其代谢产物; 残留

Rapid determination of fipronil and metabolites residue in unpolished rice by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry

ZHUANG Jian-Bing*, WANG Yu-Ting, LI Qing, XU Hui, GAO Hong

(Physics and Chemistry Testing Center of Jiangsu Province, Nanjing 210000, China)

ABSTRACT: Objective To establish an analytical method for the determination of fipronil and its metabolites of fipronil-desulfinyl, fipronil-sulfide and fipronil-sulfone residues in unpolished rice by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (GC-MS/MS). **Methods** Unpolished rice was extracted by acetonitrile mixed with water vortex, cleaned up by primary secondary amine(PSA), C₁₈ and graphitized carbon black(GCB), detected by gas chromatography-triple four-step mass spectrometry and multiple reaction monitoring(MRM), and quantified by external standard method. **Results** That calibration curve was linear in the range of 1–50 µg/L, and the correlation coefficients (*r*) were all higher than 0.99. When the spiked levels were 2, 10, 20 µg/kg, the average recoveries of fipronil and its metabolites were between 91.6%-109.9%, the relative standard deviations (RSD) were 4.3%–6.3%. The limits of detection for fipronil and its metabolites in unpolished rice were 0.2-0.5 µg/kg. Quantitative limit addition the average recoveries of fipronil and its metabolites were between 85.0%-108.0%, the relative standard deviations were 5.9%–6.9%. **Conclusion** This method is simple and fast to operate, consumes less consumables and has high sensitivity, and is suitable for quickly processing the residues of fipronil and its metabolites in large

*通讯作者: 庄件兵, 工程师, 主要研究方向为食品、化妆品、药品相关项目的检测技术工作。E-mail: zhuangjianb@126.com

*Corresponding author: ZHUANG Jian-Bing, Engineer, Physics and Chemistry Testing Center of Jiangsu Province, Nanjing 210000, China. E-mail: zhuangjianb@126.com

quantities of unpolished rice.

KEY WORDS: gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry; unpolished rice; fipronil and its metabolites; residue

1 引言

氟虫腈商品名为锐劲特,是一种苯基吡唑类广谱杀虫剂。氟虫腈为 GABA-氯离子通道抑制剂,与现有杀虫剂无交互抗性,对有机磷、有机氯、氨基甲酸酯、拟除虫菊酯等类杀虫剂已经产生抗性的或敏感的害虫均有较好的防治效果。氟虫腈在水解、光解等作用下会产生 3 种代谢物^[1]分别是氟甲腈、氟虫腈砒、氟虫腈硫醚,氟虫腈的残留限量值是指这 4 种农药残留物的总和。自 2009 年 10 月 1 日起,除卫生用、玉米等部分旱田种子包衣剂外,在我国境内停止销售和使用用于其他方面的含氟虫腈成分的农药制剂^[2]。GB 2763-2016《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》^[3]中明确了氟虫腈及其残留物在糙米中的限量为 0.02 mg/kg。目前文献报道的主要是通过气相色谱法(gas chromatography, GC)^[4-6]、气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[7-11]、气相色谱-串联质谱法(gas chromatography tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)^[12]、液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)^[13-15]来检测氟虫腈及其代谢物的残留,并未见有对糙米进行氟虫腈及其代谢物的检测方法研究,使用气相色谱-三重四极杆质谱测定氟虫腈的有 GB 23200.113-2018《食品安全国家标准 植物源性食品中 208 种农药及其代谢物残留量的测定》^[16],但并未同时检测氟虫腈的 3 种代谢物。因此本研究采用分散固相萃取-气相色谱-三重四极杆质谱法处理批量样品来满足实验室的要求,以期为实验室带来更为高效的检测方法,达到提高检测效率的目的。

2 材料与方 法

2.1 试剂与仪器

氟虫腈、氟甲腈、氟虫腈砒、氟虫腈硫醚标准品

(100 μg/mL,农业部环境保护科研检测所);乙腈[色谱纯,默克化工技术(上海)有限公司];氯化钠、无水硫酸镁(分析纯,南京化学试剂股份有限公司);PSA、C₁₈(无锡科奥美萃生物科技有限公司);石墨碳黑 GCB(美国 Supelco 公司)。

WH-3 振荡仪(上海沪西分析仪器厂有限公司);SC-3610 离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);AutoVap S60 全自动氮吹仪(美国 ATR 公司);Agilent7890B-7000D 气相色谱-三重四极杆质谱(美国 Agilent 公司)。

糙米样品:采购于当地超市和市场。

2.2 实验方法

2.2.1 样品前处理

准确称取 5 g 粉碎后全部过 425 μm 标准网筛的糙米样品于 50 mL 塑料离心管中,加入 5 mL 水涡旋混匀,加 3 g 氯化钠,10 mL 乙腈,涡旋 1 min,超声 10 min,4000 r/min 离心 5 min,取 5 mL 上清液于氮吹管中,在 50 °C 水浴中氮吹近干,在氮吹管中加 2 mL 乙腈振荡涡旋,溶解残渣,准备净化。加入 100 mg PSA、50 mg C₁₈、50 mg GCB、200 mg 无水硫酸镁,振荡涡旋 1 min,过 0.22 μm 有机滤膜,装瓶准备进样。

2.2.2 色谱条件

色谱柱:DB-5MS UI 毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm);升温程序:初始温度 150 °C 保持 2 min,以 20 °C/min 的速率升温到 250 °C,保持 2 min,以 20 °C/min 的速率升温到 300 °C,保持 3.5 min;进样口温度:270 °C;载气为高纯氮气(99.999%);恒流模式流速 1.0 mL/min;不分流进样,进样量:1.0 μL。

2.2.3 质谱条件

电子轰击离子源(electrons ion, EI);传输线温度 280 °C;离子源温度:230 °C;四极杆温度:150 °C;多反应离子监测模式(multiple reaction monitoring, MRM),详细信息见表 1。

表 1 氟虫腈及其代谢物多反应离子监测条件

Table 1 Multiple reaction monitoring parameters of fipronil and its metabolites

化合物	保留时间/min	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能量(CE)/V
氟甲腈	6.979	388.0	333.0	20
		332.8	231.1	30
氟虫腈硫醚	7.612	420.0	350.9	10
		351.1	254.9	20
氟虫腈	7.745	366.9	212.9	25
		368.9	214.9	25
氟虫腈砒	8.606	382.8	255.0	20
		385.0	257.0	20

3 结果与分析

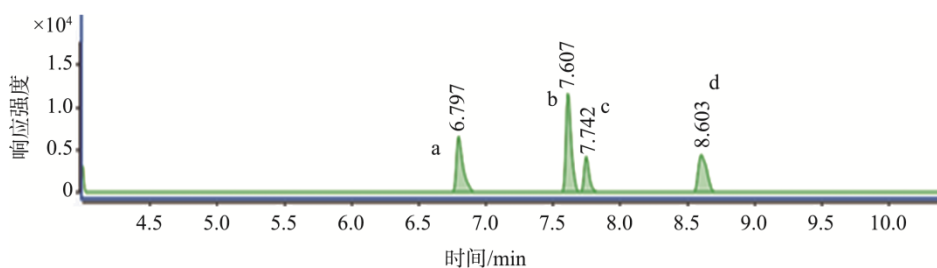
3.1 色谱结果

本方法采用空白基质进行加标试验, 基质标准、基质空白、试剂空白及基质加标的图谱见图 1~4。如图可知, 空白糙米样品及试剂空白中均不含干扰物质, 各目标化合物的峰形较好。

3.2 提取溶剂的选择

氟虫腈及其代谢物溶于丙酮、正己烷、乙腈等有机溶

剂。本研究分别考察了丙酮、正己烷、乙腈、乙酸乙酯作为提取溶剂时的提取效果, 结果表明: 在使用丙酮、乙酸乙酯为溶剂时, 样品经过超声离心后, 提取液比较浑浊, 颜色较深; 乙腈、正己烷作为溶剂时, 提取液比较澄清, 颜色较淡; 丙酮、乙腈都与水互溶需要加入一定剂量的氯化钠促使水相与有机相的分离。实验过程表明乙腈作为提取溶剂有效地使有机相与样品基质完全分离, 能氮吹至近干, 通过净化能得到无色澄清溶液, 且最后回收满意, 因此本研究选择乙腈作为提取溶剂。



注: a: 氟甲腈; b: 氟虫腈硫醚; c: 氟虫腈; d: 氟虫腈砒。

图 1 阴性糙米基质混合标准图谱(100 µg/L)

Fig.1 Spectrum of negative unpolished rice substrate mixed standards(100 µg/L)

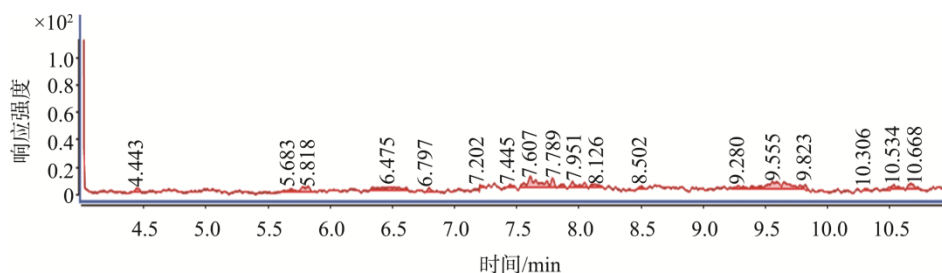


图 2 糙米样品图谱

Fig.2 Spectrum of unpolished rice sample

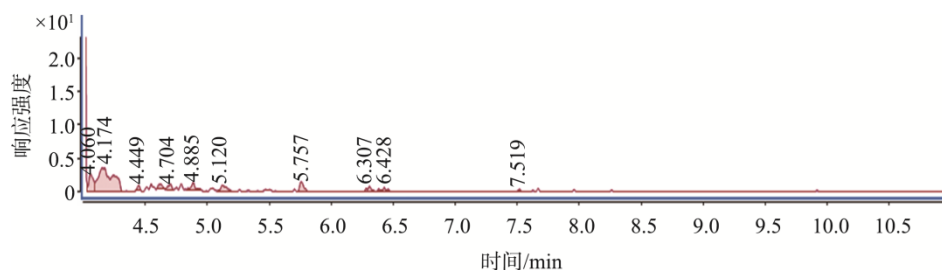


图 3 空白图谱

Fig.3 Spectrum of blank

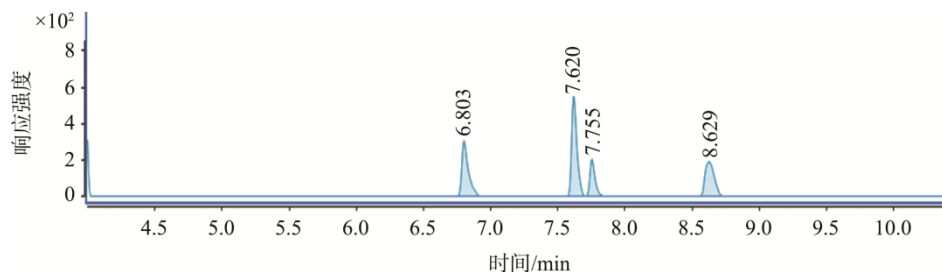


图 4 糙米加标图谱(5 µg/L)

Fig.4 Spectrum of unpolished rice spiked(5 µg/L)

3.3 基质效应

按照上述净化条件配制基质标准溶液 100 $\mu\text{g/L}$ 同时配制相同浓度的溶液标准, 检测结果见表 2。结果表明基质标准溶液(以氟虫腈为例)的峰面积是同等浓度的溶液标准的 163.8%, 为了整个实验的数据准确性, 采用基质标准曲线校正定量, 结果见表 2。

3.4 标准曲线和定量限

量取一定体积的混合标准溶液, 用阴性样品提取净化后的溶液配制质量浓度为 1.0、2.5、5.0、10.0、25.0、50.0 $\mu\text{g/L}$ 的基质混合标准溶液, 按实验方法进行测定, 以定量离子对峰面积 Y 为纵坐标, 质量浓度(X , $\mu\text{g/L}$)为横坐

标绘制标准曲线, 得到线性回归方程及相关系数(r), 以 10 倍信噪比计算方法的定量限($10 S/M$), 结果见表 3。

3.5 精密度实验

对空白糙米样品进行 10.00 $\mu\text{g/kg}$ 的加标, 按实验方法平行测定 6 次, 其测定值的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 6.1%~8.2%(见表 4), 表明该方法有较好的精密度。

3.6 回收实验

取空白糙米样品分别进行高、中、低及定量限 4 个浓度的加标实验, 每个浓度平行 6 次, 加标平均回收率结果见表 5。本方法的加标回收率和 RSD 均证明了方法的准确性和可行性。

表 2 样品的基质效应
Table 2 Matrix effect of sample

溶液	峰面积	基质效应/%
基质标准溶液(100 $\mu\text{g/L}$)	129832	163.8
溶液标准溶液(100 $\mu\text{g/L}$)	79281	

表 3 线性参数及定量限
Table 3 Linear parameter and limit of quantitation

化合物	线性回归方程	相关系数(r)	定量限/ $(\mu\text{g/kg})$
氟甲腈	$Y=268.854285X-19.218625$	0.9994	0.5
氟虫腈硫醚	$Y=398.830784X+65.442018$	0.9992	0.2
氟虫腈	$Y=113.747820X+34.343644$	0.9989	0.5
氟虫腈砒	$Y=240.918821X+78.189107$	0.9997	0.5

表 4 精密度实验结果($n=6$)
Table 4 Results of tests for precision ($n=6$)

化合物	添加值/ $(\mu\text{g/kg})$	测定平均值/ $(\mu\text{g/kg})$	相对标准偏差 RSD/%
氟甲腈	10.00	9.23	6.1
氟虫腈硫醚	10.00	9.61	6.1
氟虫腈	10.00	9.79	7.1
氟虫腈砒	10.00	10.37	8.2

表 5 回收实验结果($n=6$)
Table 5 Results of tests for recovery ($n=6$)

化合物	加标量/ $(\mu\text{g/kg})$	测定量/ $(\mu\text{g/kg})$	回收率/%	RSD/%
氟甲腈	0.5	0.46	92.0	6.9
	2.00	1.98	99.0	4.8
	10.00	9.17	91.7	5.3
	20.00	20.38	101.9	5.1
氟虫腈硫醚	0.2	0.17	85.0	6.6
	2.00	1.87	93.5	5.1
	10.00	9.54	95.4	5.3
	20.00	20.97	104.9	5.8
氟虫腈	0.5	0.51	102.0	5.9
	2.00	2.09	104.9	5.0
	10.00	10.61	106.1	4.3
	20.00	21.98	109.9	5.2
氟虫腈砒	0.5	0.54	108.0	6.1
	2.00	1.95	97.5	6.3
	10.00	9.16	91.6	5.2
	20.00	19.83	99.2	5.5

3.7 实际样品检测

采集周边 20 家超市及 10 家菜市场共 50 份糙米样品, 按本实验方法进行测定, 结果均未检出有氟虫腈及其 3 种代谢物。

4 结 论

本研究采用了优化的 QuEChERS 法提取目标物净化样品, 建立了气相色谱-三重四极杆质谱法快速测定糙米中氟虫腈及其 3 种代谢物残留的检测方法。该方法采用分散固相萃取作为前处理过程中的净化方法, 前处理方法快速简单, 能高效的处理批量样品满足实验室的要求, 同时在精密度、准确性、灵敏度上都能满足糙米中氟虫腈及其代谢物残留的检测要求。

参考文献

- [1] 崔新仪, 储晓刚, 王大宁. 氟虫腈及其代谢物的研究进展[J]. 农药, 2008, 47(2): 87-89.
Cui XY, Chu XG, Wang DN. Research development of fipronil and its metabolites [J]. Agrochemicals, 2008, 47(2): 87-89.
- [2] 中华人民共和国农业部工业和信息化部环境保护部第 1157 号公告 [EB/OL]. [2009-02-08]. http://jiuban.moa.gov.cn/zwlml/tzgg/gg/200902/t20090227_1226994.htm
Ministry of Agriculture of the PRC、Ministry of Industry and Information Technology of PRC and Ministry of Environmental of the PRC Notice no.1157 [EB/OL]. [2009-02-08]. http://jiuban.moa.gov.cn/zwlml/tzgg/gg/200902/t20090227_1226994.htm
- [3] GB 2763-2016 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S].
GB 2763-2016 National food safety standard-Maximum residue limits for pesticides in food [S].
- [4] 赵丽, 洪雪花, 荣国琼, 等. 气相色谱法测定水果中氟虫腈农药残留 [J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(10): 3921-3924.
Zhao L, Hong XH, Rong GQ, *et al.* Determination of fipronil residues in fruit by gas chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(10): 3921-3924.
- [5] 叶倩, 邓义才, 路大海, 等. 气相色谱法测定蔬菜水果中氟虫腈等 6 种农药残留[J]. 农药, 2016, 55(1): 51-54.
Ye Q, Deng YC, Lu DH, *et al.* Simultaneous Determination of residues of fipronil ect. six pesticides in vegetable and fruits by gas chromatography with electron capture detector [J]. Agrochemicals, 2016, 55(1): 51-54.
- [6] 王洁莲, 闫会平. 气相色谱法检测橙子中氟虫腈农药残留分析[J]. 农学报, 2016, 6(1): 83-87.
Wang JL, Yan HP. Determination of fipronil pesticide residues in orange by gas chromatographic method [J]. J Agric, 2016, 6(1): 83-87.
- [7] 周昱, 徐敦明, 陈达捷, 等. 固相微萃取-气相色谱法和气相色谱-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 Y, Xu DM, Cheng DJ, *et al.* Determination of fipronil and its metabolites in tea by solid-phase microextraction coupled with gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2011, 29(7): 656-661.
- [8] 闫思月, 李兴海, 赵尔成, 等. 分散固相萃取-分散液液微萃取-气相色谱质谱法测定玉米和糙米中氟虫腈及其代谢物的残留[J]. 分析实验室, 2016, 35(4): 386-389.
Yan SY, Li XH, Zhao EC, *et al.* Determination of fipronil and its

metabolites in corn and rice by combination of dispersive solid-phase extraction and dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Anal Lab, 2016, 35(4): 386-389.

- [9] 周宏霞, 毕乐飞, 臧汝瑛, 等. GC-MS 法测定芹菜中氟虫腈及其代谢物的残留量[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(19): 166-169.
Zhou HX, Bi LF, Zang RY, *et al.* Determination of fipronil and its metabolites in celery by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Food Res Dev, 2017, 38(19): 166-169.
- [10] 胡贵祥, 夏祥, 朱惠芳. QuChERS 在线凝胶色谱-气相色谱/质谱联用法测定水果蔬菜中氟虫腈农药残留[J]. 化学试剂, 2017, 39(5): 509-512.
Hu GX, Xia X, Zhu HF. Determination of fipronil in vegetables and fruits by QuChERS-online gel permeation chromatography coupled with gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chem Reag, 2017, 39(5): 509-512.
- [11] 沈伟健, 柳茵, 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.
- [12] 柳茵, 龚玉霞, 王绳云, 等. 气相色谱-串联质谱法测定蛋和蛋制品中氟虫腈及其代谢物残留量[J]. 质谱学报, 2019, 40(1): 74-82.
Liu H, Gong YX, Wang SY, *et al.* Determination of fipronil and its metabolite residues in eggs and egg products by GC-MS/MS [J]. J Chin Mass Spec Soc, 2019, 40(1): 74-82.
- [13] 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): 37-41.
Wu C, Ren HL, Zhao ZQ, *et al.* Determination of the fipronil and its metabolites residues in celery by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Fujian Anal Test, 2016, 25(5): 37-41.
- [14] 韩继新, 李占军, 曹天泽, 等. 液/质-质谱法测定蔬菜中氟虫腈残留含量[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(19): 148-151.
Han JX, Li ZJ, Cao TZ, *et al.* Determination of fipronil residues in vegetables by LC/MS-MS [J]. Food Res Dev, 2017, 38(19): 148-151.
- [15] 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.
Lin T, Fan JL, Yang DS, *et al.* Determination of fipronil and its metabolites in fresh jujube by low temperature liquid-liquid extraction/ultra high liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2015, 34(12): 1360-1365.
- [16] GB 23200.113-2018 食品安全国家标准 植物源性食品中 208 种农药及其代谢物残留量的测定[S].
GB 23200.113-2018 National food safety standard-Determination of 208 pesticides and their metabolites residues in food of plant origin [S].

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



庄件兵, 工程师, 主要研究方向为食品、化妆品、药品相关项目的检测技术工作。
E-mail: zhuangjianb@126.com