

# 食品中氟虫腈的危害及检测方法研究进展

冯 灏<sup>1,2</sup>, 程 慧<sup>1,2</sup>, 彭青枝<sup>1,2</sup>, 胡家勇<sup>1,2</sup>, 周陶鸿<sup>1,2\*</sup>

(1. 湖北省食品质量安全监督检验研究院, 武汉 430075;

2. 湖北省食品质量安全检测工程技术研究中心, 武汉 430075)

**摘 要:** 氟虫腈, 又名锐劲特, 是一种具有苯环结构的有机小分子, 由法国罗纳-普朗克公司开发, 获中国专利授权。氟虫腈是一种苯基吡唑类广谱杀虫剂, 在水中溶解性较好。由于生产成本较低、杀菌效率高, 因而被广泛应用于防治蔬菜、水稻、烟草、棉花、畜牧业、公共卫生、贮存用品及地面建筑中各类别的作物害虫及卫生害虫。作为一类比较创新且性能好的的灭虫农药, 氟虫腈曾在全国范围内乃至国际上被大量利用。欧盟法律规定, 氟虫腈不得用于人类食品产业链的畜禽养殖过程。我国规定 2009 年 10 月 1 日起禁止使用含氟虫腈成分的农药制剂。欧盟委员会于 2013 年限制了氟虫腈在农作物保护中的使用。食品中氟虫腈的残留可通过食物链进行富集, 对人体有较强的毒性, 长期积累会诱发各种疾病。本文主要对氟虫腈的标准限量、应用、毒性及各种检测方法进行了综述, 并在此基础上进行展望。

**关键词:** 氟虫腈; 应用; 毒性; 食品; 定性检测; 定量检测

## Research progress on the harm of fipronil residue in food and its detection technology

FENG Hao<sup>1,2</sup>, CHENG Hui<sup>1,2</sup>, PENG Qing-Zhi<sup>1,2</sup>, HU Jia-Yong<sup>1,2</sup>, ZHOU Tao-Hong<sup>1,2\*</sup>

(1. Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Wuhan 430075, China; 2. Hubei Provincial Engineering and Technology Research Center for Food Quality and Safety Test, Wuhan 430075, China)

**ABSTRACT:** Fipronil, also known as ruijinte, is a small organic molecule with benzene ring structure. Fipronil was developed by French company ronalt-planck and licensed by Chinese patent. Fipronil is a broad - spectrum insecticide of phenylpyrazole, which has better solubility in water. Because of low production cost and high bactericidal efficiency, it is widely used to control various crop pests and sanitary pests in vegetables, rice, tobacco, cotton, animal husbandry, public health, storage supplies and ground buildings. As an innovative insecticide with good performance, fipronil has been widely used in China and even in the world. European Union law stipulates that fipronil cannot be used in the livestock and poultry breeding process of the human food industry chain. China has banned the use of pesticide preparations containing fluorozoonitrile since October 1, 2009. The European commission restricted the use of fipronil in crop protection in 2013. The residue of fipronil in food can be enriched through the food chain, which has strong toxicity to human body, and long-term accumulation will induce various diseases. In this paper, the standard limit, application, toxicity and various detection methods of fipronil were reviewed, and forecasted the prospect on this foundation.

基金项目: 湖北省市场监督管理局科技计划项目(Hbse jg-kj201914)

Fund: Supported by Science and Technology Planning Project of Hubei Market Supervision Administration (Hbse jg-kj201914)

\*通讯作者: 周陶鸿, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: zthmail@163.com

\*Corresponding author: ZHOU Tao-Hong, Master, Senior Engineer, Research Associate, Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, No666, Gaoxin Road, Donghugaoxin District, Wuhan 430075, China. E-mail: zthmail@163.com

**KEY WORDS:** fipronil; application; toxicity; food; qualitative detection; quantitative detection

## 1 引言

2017 年 8 月初, 荷兰被爆出“毒鸡蛋”事件, 鸡蛋受杀虫剂大范围污染<sup>[1]</sup>, 持续发酵的欧洲“毒鸡蛋”事件影响欧洲多国, 包括比利时、荷兰、德国、法国、瑞典、英国、奥地利爱尔兰、意大利、卢森堡、波兰、罗马尼亚、斯洛伐克、斯洛文尼亚、丹麦和瑞士等, 中国台湾也受到波及<sup>[2]</sup>。事发后, 欧洲各国展开善后工作, 有毒鸡蛋被收回有近亿枚, 被宰杀产毒蛋的鸡近百万只, 数以百万计的鸡蛋从超级市场下架, 数十个家禽养殖场被关闭。荷兰农场因这桩风波名誉扫地, 损失达 3300 万欧元(约合 2.6 亿元人民币)。此次“毒鸡蛋”事件中检测到鸡蛋中氟虫腈含量高达 0.72 mg/kg, 较高的甚至达到 0.92 mg/kg, 远远超出欧盟规定的鸡蛋中氟虫腈限值。对荷兰农场造成了极大的不良影响。2006~2014 年, 在日本肯定列表实施 8 年多来, 我国茶叶产业被日本一共通报 99 次, 其中乌龙茶被通报 87 次, 绿茶被通报 12 次, 其中氟虫腈被通报的次数为 22 批次, 占总次数的 21.78%, 2013 年 2 月 13 日起日本开始对中国出口乌龙茶实施氟虫腈命令检查。2017 年 9 月 18 日, 日本厚生省更新输日食品违反日本食品卫生法情况通报, 通报显示我国出口乌龙茶检出氟虫腈超标, 为 0.009 mg/kg。日本对茶叶中氟虫腈限量极为严苛, 仅为 0.002 mg/kg。国家标准 GB/T 23204-2008 只适合茶叶中氟虫腈的检测, 但其检出限达不到相关法律法规的要求。基于其高风险及高破坏性, 食品中氟虫腈的残留检测日益引起人们的关注和重视。因此本文主要对氟虫腈的标准限量、应用、毒性及各种检测方法进行了综述, 以期相关部门提供参考。

## 2 氟虫腈的标准及限量

鉴于氟虫腈对人体及动物的毒理学作用, 世界各国食品安全机构均对农产品中氟虫腈的最大残留量(maximum residue limit, MRL)均有严格的限量规定。美国环境保护署(United States Environmental Protection Agency, USEPA)在 2012 年发布的鸡蛋中氟虫腈限值为 0.03mg/kg, 欧盟(European Union, EU)的最高残留限量为 0.005 mg/kg, 欧洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)的最高残留限量为 0.01 mg/kg。我国于 2019 年 08 月 15 日更新发布了 GB 2763-2019《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》, 规定氟虫腈在蔬菜水果鸡蛋中的最大残留限量不变, 为 0.02 mg/kg, 增加部分谷物中氟虫腈的限量要求, 小麦、大麦、燕麦等限量为 0.002 mg/kg, 但仍未提及茶叶中的限量。2019 年 10 月 29 日, 欧盟委员会发布(European Commission)2019/1792 号条例, 修订氟虫腈在多

种产品中的最大残留限量, 该条例于 2020 年 5 月 18 日起实施, 规定氟虫腈在谷物蔬菜茶叶等食品中的限量仅为 0.005 mg/kg。由此可见, 食品中氟虫腈的最大残留限量越来越严格, 因此, 采取有效的检测手段尤为重要。

## 3 氟虫腈的应用

氟虫腈具有不同于现存杀虫剂的全新化学结构和独特的杀虫机制, 能有效防除对常规农药具有抗性的害虫, 是首个用于有害物防治的苯基吡唑类杀虫剂<sup>[3]</sup>, 也是作用于  $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)受体、阻断氯离子通道的第 2 代杀虫剂, 化学名(RS)-5-氨基-1-(2, 6-二氯-4-三氟甲基苯基)-4-三氟甲基-亚磺酰基吡唑-3-腈<sup>[4]</sup>, 具有活性高, 应用范围广等特点, 对半翅目、缨翅目、鞘翅目、鳞翅目等害虫及菊酯类、氨基甲酸酯类杀虫剂已产生抗性害虫也显示极高敏感性<sup>[5]</sup>。可用于水稻、棉花、蔬菜、大豆、油菜、烟叶、马铃薯、茶叶、高粱、玉米、果树、森林、公共卫生、畜牧业等, 防治稻螟虫、褐飞虱、稻象甲、棉铃虫、黏虫、小菜蛾、菜青虫、甘蓝夜蛾、甲虫、切根虫、球茎线虫、毛虫、果树蚊虫、麦长管蚜、球虫、毛滴虫等, 主要用在水稻、甘蔗、土豆等农作物上<sup>[6,7]</sup>, 动物保健方面主要用于杀灭猫和狗身上的跳蚤和虱等寄生虫<sup>[8,9]</sup>, 同时对卫生害虫的蟑螂防治也有非凡的效果<sup>[10]</sup>。

## 4 氟虫腈的毒性

氟虫腈进入生物体内, 通过代谢作用可以转化为氟虫腈砒、氟甲腈、氟虫腈硫醚等代谢产物。氟虫腈残留可以通过渗滤、农业径流、雨水和洪灾进入水体, 对水生动物造成危害, 其中对水生甲壳类动物鱼、虾、蟹剧毒<sup>[11]</sup>, 对蜜蜂高毒<sup>[12,13]</sup>, 对高地地区捕食性的鸟类高毒, 而对水禽和其它鸟类无毒<sup>[14]</sup>; 在农作物、蔬菜、瓜果上喷洒氟虫腈农药后也会在表面形成氟虫腈残留, 并且在环境中代谢缓慢, 在生物体脂肪内有富集作用。动物通过接触这些氟虫腈污染物也将受到危害。氟虫腈最终将在动物体内各组织中沉积, 并通过食物链危害人类的健康和生命安全。实验表明, 令小鼠口服氟虫腈或者鼻内氟虫腈给药, 均出现肺炎反应<sup>[15]</sup>, 且在大鼠模型中, 大鼠摄取氟虫腈后释放的自由基清除剂会导致氧化应激反应, 对氧化应激反应高度敏感的肝脏和肾脏都会有明显的损伤<sup>[16]</sup>。

## 5 检测方法

### 5.1 理化分析方法

#### 5.1.1 气相色谱法

气相色谱法是指利用气体作流动相的色层分离分析

方法。根据图中表明的出峰时间和顺序,可对化合物进行定性分析;根据峰的高低和面积大小,可对化合物进行定量分析。具有效能高、灵敏度高、选择性强、分析速度快、应用广泛、操作简便等特点。氟虫腈检测通常采用 ECD 检测器进行测定,该方法可以检测谷物、鸡蛋、蔬菜和水果等食品中氟虫腈及其代谢产物的含量<sup>[17-21]</sup>。

王爱军等<sup>[22]</sup>研究测定了鸡蛋中氟虫腈的残留,样品经过乙腈/水提取、HLB 固相萃取柱净化、外标法定量,方法检出限 0.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,能够满足对鸡蛋中氟虫腈残留量的检测需要。曹天亚等<sup>[23]</sup>通过优化气相色谱法检测方法测定蔬菜水果中氟虫腈残留量,氟虫腈获得了很好的分离效果且峰型成正态分布,该气相色谱法完全可以用作蔬菜水果中氟虫腈残留量的检测。丁立平等<sup>[24]</sup>以气相色谱法建立了快速测定茶叶中氟虫腈残留量的检测方法,经丙酮与正己烷混合液提取,经中性氧化铝-石墨化碳混合柱净化,丙酮与正己烷混合液定容,用外标法定量,该方法检测限为 0.00080  $\text{mg}/\text{kg}$ ,由此可见,气相色谱法可以基本满足大部分食品中氟虫腈及其残留量的测定,且灵敏度好,检出限低,能满足国内各种法规标准的要求,但气相色谱法仅通过保留时间来进行定性,在遇到干扰的情况难以进行准确性,所以在遇到阳性样品需要进行进一步通过其他方法进行确认,且国外一些国家对氟虫腈限量要求更为严格,对其检出限有更高的要求,需对氟虫腈检测方法进行更加深入的探索。

### 5.1.2 液相色谱法

液相色谱法是指以液体为流动相,采用多种形式的固定相,基于混合物中各组分对两相亲和力的差别,被测物种不同物质与固定相的相互作用不同,不同的物质顺序离开色谱柱,通过检测器得到不同的峰信号,通过分析对比这些信号来判断。已有检测方法中采用液相色谱法检测大部分是对原药的检测<sup>[25-27]</sup>,对食品中氟虫腈的检测应用较少。

Hafeez A 等<sup>[28]</sup>建立了高效液相色谱法同时测定制剂产品中氟虫腈、虫螨腈和吡丙醚的分析方法。氟虫腈、虫螨腈和吡丙醚的保留时间分别为 3.70、8.61 和 10.09 min,线性浓度范围在 20~800  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,  $r^2 > 0.997$ 。氟虫腈、虫螨腈和吡丙醚的检出限分别为 15.1、13.3 和 20.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,定量限分别为 45.9、40.3、60.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。该检测方法具有良好的线性以及精密度,适用于氟虫腈,虫螨腈和吡丙醚的测定。

### 5.1.3 气相色谱-质谱联用法

气相色谱-质谱联用法是指联合气相色谱对有机化合物分离效果好、分辨能力高等优点,利用质谱准确鉴定化合物的一种有效手段。该方法具有较高的灵敏度和分辨能力,同时也具有较强的定性定量能力,在食品检测领域被广泛应用<sup>[29-33]</sup>。

Shen 等<sup>[34]</sup>建立了用气相色谱-阴性化学电离-质谱联用技术 (gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry, GC-NCI-MS)测定鸡蛋及其制品中氟虫腈及其代谢物残留的分析方法,经分散固相萃取法 QuEChERS 前处理进行提取,GC-NCI-MS 进行测定,外标法定量,用矩阵校正标准曲线。闫思月等<sup>[35]</sup>建立了分散固相萃取-分散液液微萃取与气相色谱/质谱联用测定玉米和大米中痕量氟虫腈及其代谢物残留的分析方法。对影响分散液液微萃取效率的因素,包括萃取溶剂种类及体积、盐等条件进行了优化,以最低添加浓度 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  作为定量限进行谷物中氟虫腈及其代谢物残留的测定。胡贝贞等<sup>[36]</sup>发明公开了一种茶叶中氟虫腈及其代谢产物氟甲腈、氟虫腈硫醚、氟虫腈砒的检测方法专利,该发明能够准确测定茶叶样品中氟虫腈及其代谢产物氟甲腈、氟虫腈硫醚、氟虫腈砒的残留量,以乙腈提取目标物获得待净化液,经基质分散净化管净化,目标物在气相色谱-负化学源-串联质谱仪多反应监测模式下,以保留时间和离子对信息比较进行定性,内标法定量,该方法分析速度快、灵敏度高、重现性和准确度好。Wang 等<sup>[37]</sup>建立了一种同时测定玉米籽粒、玉米秸秆中氟虫腈及其代谢物的方法。该方法分 3 步进行,首先用超声波或机械研磨法进行液-固相萃取,然后用液-液分配法和固相萃取法 (solid phase extraction, SPE) 进行清洗,通过气相色谱-电子捕获检测对每个样品进行定量。该方法分别在 0.002、0.01、0.1  $\text{mg}/\text{kg}$  3 种浓度下进行了 5 次重复验证,平均回收率为 83%~106%,相对标准偏差小于 8.9%。该检测方法具有良好的线性,精密度和较高的回收率。

### 5.1.4 液相色谱-质谱联用法

液相色谱-质谱联用法以液相色谱为分离系统,质谱为检测系统。样品在质谱部分和流动性分离,被离子化后经质谱的质量分析器将离子碎片按质量数分开,经检测器得到质谱图。该方法分析范围广、分析速度快、分离能力强、检出限低。在食品中的痕量污染物残留检测方面被广泛应用<sup>[38-42]</sup>。

胡文等<sup>[43]</sup>利用液相色谱-串联质谱 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)快速、准确地测定茶叶中氟虫腈残留量的方法,前处理方法为乙腈提取,GCB/PSA 固相萃取柱净化。用多反应监测技术确定氟虫腈定性离子对 434.7/329.8 和 434.7/249.9,该实验采用基质匹配法进行定量分析,以空白茶叶样品的提取液为标准溶液的稀释溶液,使标准溶液和样品溶液具有相同的离子化环境,从而消除基质效应。方法定量限仅为 0.002  $\text{mg}/\text{kg}$ 。李敏青等<sup>[44]</sup>建立了一种高效液相色谱-串联质谱测定植物源食品(菠菜、苹果、香蕉、大米、大豆、茶叶)中的氟虫腈及其代谢物(氟虫腈砒,氟虫腈硫醚,氟甲腈)残留量的方法,以 QuEChERS 提取盐包提取目标化合

物, 借助分散固相萃取或固相萃取(GCB/PSA)作为净化手段, 经液相色谱进行高效液相色谱分离, 以电喷雾电离串联质谱多反应监测负离子模式进行检测, 外标法定量, 该方法定量限(limit of quantification, LOQ)均为 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 能满足于目前我国主要贸易国和地区的限量要求。Wang 等<sup>[45]</sup>采用超高效液相色谱-三重四级杆-线性离子阱质谱(ultra-high performance liquid chromatography-triple quadruple-linear ion trap mass spectrometry, UPLC-QqLIT-MS/MS)测定鸡蛋中氟虫腈及代谢物氟虫腈砒、氟甲腈、氟虫腈硫醚残留, 结果表明, 4 种分析物的平均回收率为 90.7%~105%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 0.7%~4.9%。校准曲线在 0.05~20  $\mu\text{g}/\text{L}$  浓度范围内线性度良好。相关系数  $r^2$  均大于 0.999, 该方法有足够的灵敏度和良好的重现性, 适合于蛋类中氟虫腈及其代谢物残留的痕量分析。

## 5.2 快速定性分析方法

### 5.2.1 量子点免疫层析法

免疫层析技术是一种快速、简便、灵敏、直观、价格低廉、可真正实现现场检测的检测方法。具有很多气相色谱仪、高效液相色谱仪、气质联用仪、液质联用仪等仪器检测方法无法企及的优点, 但量子点和某些蛋白质结合后可能导致量子点的荧光减弱或淬灭, 且检测时需要用紫外光作为激发光, 操作程序稍显复杂。

张改平等<sup>[46]</sup>发明公开了一种快速检测微量氟虫腈的量子点试纸条及其制备方法。该试纸条底层为支撑层, 中间层为吸附层, 保护层固定在吸附层上, 吸附层从测试端依次为吸附纤维层、量子点标记抗体纤维层、纤维素膜层及手柄端的吸水材料层, 其中在纤维素膜上喷涂有偶联氟虫腈的载体蛋白作为检测线, 还设有用抗体或 SPA 印制的质控线。其目测检测限为 1  $\text{ng}/\text{mL}$ , 具有较强的特异性和较高的灵敏度, 只需一个紫外发光设备即可现场操作完成定性分析, 且与其他农药或兽药无交叉反应, 在保障食品安全、保护消费者健康方面具有极其重要的意义。

### 5.2.2 酶联免疫法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)

酶联免疫法具有检测速度快、费用低廉、仪器简单易携、灵敏度高、选择性强以及能用于大批量样品检测等优点。它将酶催化反应的放大作用和抗原抗体亲和反应的高度专一性、特异性相结合, 以酶标记的抗原或抗体作为主要试剂进行免疫测试, 具有很高的灵敏度, 但是该实验所需抗体制备比较困难, 且必须要在配备有酶标仪的实验室进行, 检测数据的稳定性较低。目前市场有采用多克隆抗体、单克隆抗体、纳米抗体的多种 ELISA 检测试剂盒。

Vasylieva 等<sup>[47]</sup>开发了一种敏感的, 有竞争力的间接异源酶联免疫吸附测定法对杀虫剂中的氟虫腈进行测定。产生了对氟虫腈及其代谢物具有不同特异性的抗体。开发了 2 种 ELISA 值为 0.58  $\text{ng}/\text{mL} \pm 0.06 \text{ ng}/\text{mL}$  和 2.6  $\text{ng}/\text{mL}$

$\pm 0.4 \text{ ng}/\text{mL}$  的 ELISA。设计不同的半抗原和包被抗原导致两种具有不同结构相关化合物的交叉反应性模式的测定: 氟虫腈-硫化物, 氟虫腈-三氟甲基磺酰基和氟虫腈-氟虫腈 96%、38%和 101%相对于 39%、1.4%和 25%脱亚磺酰基。通过加标水, 人血清和尿基质的回收率研究证实了免疫测定的性能, 对于不同浓度的回收率范围为 85%~111%。该方法用于分析从暴露研究获得的人尿液样品和来自含氟虫腈饮食处理的大鼠的血清样品。洪霞等<sup>[48]</sup>发明了一种检测氟虫腈的化学发光免疫检测试剂盒, 该发明主要是利用抗原与抗体的特异性免疫反应的基本原理来实现的, 茶叶样品经乙腈提取, 正己烷净化后, 加入氟虫腈-辣根过氧化物酶, 充分混合后于室温下避光静置温育, 将孔内液体甩干, 用洗涤工作液充分洗涤直至完全除去孔中的液体, 用吸水纸拍干, 加入发光底物液混合液(A 液: 鲁米诺及增强剂, B 液: 尿素过氧化氢, 1:1 混合)将处理过后的样品在化学发光检测仪内检测发光强度(RLU)。将计算的相对发光强度值(相对发光强度= $\text{RLU}/\text{RLU}_{\text{max}}$ ,  $\text{RLU}$ =标准(或样品)溶液的发光强度值,  $\text{RLU}_{\text{max}}$ =空白(浓度为 0 的标准溶液)的发光强度值)对应氟虫腈( $\mu\text{g}/\text{L}$ )的自然对数作半对数坐标系曲线图。各待测样品的氟虫腈浓度根据其 RLU 值在标准曲线上查出, 或通过标准曲线相应的方程计算得出。如样品经过了预先稀释, 应根据标准曲线所得出的样品浓度要再乘以其稀释倍数。在整个反应过程中, 样品中氟虫腈含量越高, 反应体系中发光强度越弱; 反之, 样品中氟虫腈含量越少, 发光强度越高。与传统的酶联免疫吸附分析法比较, 本发明的试剂盒具有更高的灵敏度, 且检测时间短、费用低, 可用于茶叶样品中氟虫腈的残留量检测。

### 5.2.3 拉曼光谱法

拉曼光谱是一种散射光谱。拉曼光谱法是基于印度科学家 C.V.拉曼(Raman)所发现的拉曼散射效应, 对与入射光频率不同的散射光谱进行分析以得到分子振动、转动方面信息, 并应用于分子结构研究的一种分析方法。拉曼光谱的测量通常不需要对样品进行复杂的制备甚至无损测量, 对含水样品并不敏感, 因此拉曼光谱可以直接进行固体、液体、胶状物质的测量, 结合合适的气体样品池, 还可以对气体进行直接检测。采用拉曼光谱库, 我们可以轻松的对未知物质进行鉴别, 或者对已知物质进行确认。不足之处在于拉曼信号是个弱信号, 有些样品直接测试的信号太弱, 不容易判别且任何一种物质的引入都会对被测体系带来某种程度的污染, 对分析的结果产生影响。

胡晓飞等<sup>[49]</sup>发明公开了一种快速检测微量氟虫腈的表面增强拉曼金标试纸条及其制备方法, 所述试纸条底层为支撑层, 中间层为吸附层, 保护层固定在吸附层上, 吸附层从测试端依次为吸附纤维层、表面增强拉曼胶体金标记抗体纤维层、纤维素膜层及手柄端的吸水材料层, 其中在纤维素膜上喷涂有偶联氟虫腈的载体蛋白作为检测线,

还设有抗体或 SPA 印制的质控线。本发明试纸条以竞争模式为基础制备而成, 样品及检测线上的靶标物竞争结合表面增强拉曼胶体金标记抗体。试验表明, 本试纸具有较强的特异性和较高的灵敏度, 目测检测限为 ng 级; 拉曼仪定量检测检测限为 pg 级。与其他农药或兽药无交叉反应。谢云飞等<sup>[50]</sup>发明提供了一种利用光照和表面增强拉曼快速检测氟虫腈的方法, 该方法将含有目标物的溶液进行紫外照射, 再与表面增强试剂混合, 然后进行表面增强拉曼光谱测试。本发明通过检测氟虫腈的光解产物来确证氟虫腈的存在, 分析特征峰出现在一般拉曼图谱的静默区, 创新地将 2142 cm 处的拉曼峰作为定性定量特征峰。该方法灵敏简便易操作, 分析成本低。

## 6 展 望

食品中氟虫腈的检测目前已有比较多的研究文章, 采用的方法绝大多数都是理化分析法, 该法主要用于定量分析。主要有气相色谱法、液相色谱法、气相色谱-质谱联用法、液相色谱-质谱联用法等, 这类方法灵敏度和准确度较好, 但前处理复杂, 耗时较长, 需要昂贵精密的仪器设备以及专业人员操作。由于这些过高的检测条件, 给现场检测带来了诸多不便。还有一类为快速分析法, 该方法主要用于定性分析, 主要有量子点免疫层析法、酶联免疫吸附法、拉曼光谱法等。量子点免疫层析法检测时需要用紫外光作为激发光, 操作程序稍显复杂; 酶联免疫吸附法要求复杂的抗体制备, 研发过程中难题较多; 拉曼光谱法中拉曼信号是弱信号且干扰较大。为了应对目前市场需求的实时监控和评估, 有必要寻找一种快速灵敏、成本低廉、可裸眼辨别且易操作的检测方法。

核酸适配体 (aptamer) 是通过指数富集配体系统进化技术 (systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX) 经体外合成的寡核苷酸库中筛选得到的一类长度为 20~100 bp 的能与靶分子特异性结合的寡核苷酸序列, 具有制备周期短、灵敏度高、亲和力强、识别靶分子范围广、特异性好、易合成、易改造等优点, 既可填补因分子量小而无法制备抗体的难题, 又可解决检测对象需要衍生的难题。已广泛应用于药物筛选、药物检测、疾病诊断、食品分析等方面<sup>[49-53]</sup>。在食品中小分子危害物检测领域, 核酸适配体有抗体无法比拟的明显优势。目前氟虫腈对应的核酸适配体筛选报道较少, 基于核酸适配体检测食品中农兽药残留的相关文献中比较成熟的是氯霉素, 其对应的适配体完整序列大致相同, 这说明氯霉素的适配体筛选方法基本确定, 并且得到研究者的巧妙设计后结合纳米金颗粒、磁性纳米粒子、荧光素和量子点等各种类型的新型纳米标记材料, 使得食品中氯霉素残留检测方式多样化。氟虫腈核酸适配体的检测研究可以借鉴氯霉素核酸适配体检测研究方法, 找出最优核酸适配体用于发展快速

检测食品中氟虫腈残留的方法。快速检测符合我国的食品行业发展要求, 我国农业部于 2012 年 8 月 14 日公布的《农产品质量安全检测管理办法(农业部令 2012 第 7 号)》明确规定可以采用快速检测方法对食用农产品进行安全筛查。因此, 氟虫腈快速检测方法必定将成为一个研究热点, 寻求一种快速灵敏、成本低廉、可裸眼辨别且易操作的检测方法对监控氟虫腈违规使用, 降低食品安全风险必将有显著的技术支撑作用。

## 参考文献

- [1] 欧洲现“毒鸡蛋” 数百万鸡蛋疑遭杀虫药污染急召回[N/OL]. 中国新闻网, 2017-08-04. <http://www.chinanews.com/gj/2017/08-04/8295439.shtml>.  
Europe now 'toxic eggs' millions of eggs suspected of being contaminated by insecticides recalled [N/OL]. China news network, 2017-08-04. <http://www.chinanews.com/gj/2017/08-04/8295439.shtml>.
- [2] 欧盟 RASFF 通报: “毒鸡蛋”已波及 20 个国家或地区[N/OL]. 食品伙伴网, 2017-08-14. <http://news.foodmate.net/2017/08/439722.html>.  
European Union RASFF reported that "toxic eggs" has been spread to 20 countries or regions [N/OL]. Food partner network, 2017-08-14. <http://news.foodmate.net/2017/08/439722.html>.
- [3] Saini S, Rani M, Kumari B. Persistence of fipronil and its metabolites in soil under field conditions [J]. Environ Monit Assess, 2014, 186(1): 69-75.
- [4] Merkowsky K, Sethi RS, Gill JP, et al. Fipronil induces lung inflammation *in vivo* and cell death *in vitro* [J]. J Occup Med Toxicol, 2016, 11(1): 1-10.
- [5] Wang X, Martinez, María A, et al. Fipronil insecticide toxicology: oxidative stress and metabolism [J]. Crit Rev Toxicol, 2016, 46: 876-899.
- [6] Asahi M, Kobayashi M, Matsui H, et al. Differential mechanisms of action of the novel gamma-aminobutyric acid receptor antagonist ectoparasiticide fluralaner (A1443) and fipronil [J]. Pest Manag Sci, 2015, 71(1): 91-95.
- [7] Dennett JA, Bernhardt JL, Meisch MV. Operational note effects of fipronil and lambda-cyhalothrin against larval Anopheles quadrimaculatus and nontarget aquatic mosquito predators in Arkansas small rice plots [J]. J Am Mosq Control Ass, 2003, 19(2): 172-174.
- [8] Dryden MW, Smith V, Davis WL, et al. Evaluation and comparison of a flumethrin-imidacloprid collar and repeated monthly treatments of fipronil(s)-methoprene to control flea, *Ctenocephalides f. felis*, infestations on cats for eight months [J]. Parasites Vectors, 2016, 9(1): 287-292.
- [9] Lopes W, Chiummo RM, Vettorato LF, et al. The effectiveness of a fixed-dose combination pour-on formulation of 1.25% fipronil and 2.5% fluazuron against economically important ectoparasites and associated pharmacokinetics in cattle [J]. Parasitol Int, 2017, 66(5): 627-634.
- [10] Xue RD, Pridgeon JW, Becnel JJ, et al. Fipronil as a larvicide against the container-inhabiting mosquito, *Aedes albopictus* [J]. J Am Mosq Control Ass, 2009, 25(2): 224-227.
- [11] Leblanc GA. Crustacean endocrine toxicology: A review [J]. Ecotoxicology, 2007, 16(1): 61-81.
- [12] Roat TC, Carvalho SM, Palma MS, et al. Biochemical response of the Africanized honeybee exposed to fipronil [J]. Environ Toxicol Chem, 2017, 36(1): 1-10.

- 2017, 36(6): 1652–1660.
- [13] Kairo G, Biron DG, Ben AF, *et al.* Nosema ceranae, fipronil and their combination compromise honey bee reproduction via changes in male physiology [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 8556–8569.
- [14] Ozoe Y, Yagi K, Nakamura M, *et al.* Fipronil-related heterocyclic compounds: Structure-activity relationships for interaction with  $\gamma$ -aminobutyric acid and voltage-gated ion channels and insecticidal action [J]. *Pest Biochem Physiol*, 2000, 66(2): 92–104.
- [15] Merkowsky K, Sethi RS, Gill JPS, *et al.* Fipronil induces lunginflammation in vivo and cell death *in vitro* [J]. *J Occup Med Toxicol*, 2016, 11(1): 1–10.
- [16] Gibbons D, Morrissey C, Mineau P. A review of the direct and indirect effects of neonicotinoids and fipronil on vertebrate wild-life [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2015, 22(1): 103–118.
- [17] 朱小委. 气相色谱法测定菜心中氟虫腈及其代谢物[J]. *吉林农业*, 2019, 24(6): 65–66  
Zhu XW. Determination of fluoxitrite and its metabolites in vegetable by gas chromatography [J]. *Jilin Agric*, 2019, 24(6): 65–66.
- [18] 王洁莲, 陶会平. 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 Agron*, 2016, 6(1): 83–87.
- [19] 马丽娜. 气相色谱仪检测花生中氟虫腈、氟甲腈、氟虫腈硫化物、氟虫腈砷化物残留量试验总结[J]. *河南农业*, 2019, 10(28): 16–17.  
Ma LN. Gas chromatography-determination of fluoronitrile, fluoronitrile, fluoronitrile sulfide and fluoronitrile sulfoxide residues in peanut by gas chromatography-determination [J]. *Henan Agric*, 2019, 10(28): 16–17.
- [20] 吴洁珊, 蔡勤仁, 任永霞, 等. 气相色谱法快速测定蛋中氟虫腈及其代谢物[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(6): 1358–1361.  
Wu JS, Cai QR, Ren YX, *et al.* Rapid determination of fluoronitrile and its metabolites in eggs by gas chromatography [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(6): 1358–1361.
- [21] 廖燕芝, 邓鸣, 陈同强, 等. 气相色谱-质谱法测定鲜蛋中氟虫腈及其代谢物[J]. *化学分析计量*, 2018, (4): 81–84.  
Liao YZ, Deng M, Cheng TQ, *et al.* Determination of fluoronitrile and its metabolites in fresh eggs by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chemistry*, 2018, (4): 81–84.
- [22] 王爱军. 气相色谱法检测鸡蛋中氟虫腈的残留[J]. *农产品加工*, 2019, (7): 62–64, 68.  
Wang AJ. Determination of flufenitrile residue in eggs by gas chromatography [J]. *Agric Prod Proc*, 2019, (7): 62–64, 68.
- [23] 曹天亚, 冯正伟, 金鑫. 气相色谱法对蔬菜水果中氟虫腈和哒螨灵残留检测的探究[J]. *江西农业*, 2018, (16): 31–33.  
Cao TY, Feng ZW, Jin X. Gas chromatography for the detection of flufenitrile and acaridin residues in vegetables and fruits [J]. *Jiangxi Agric*, 2018, (16): 31–33.
- [24] 丁立平. 茶叶中氟虫腈残留量的测定[J]. *分析测试技术与仪器*, 2010, (3): 69–72.  
Ding LP. Determination of fluoxitrite residue in tea [J]. *Anal Testing Tech Inst*, 2010, (3): 69–72.
- [25] 郭善, 赵永根. 农药氟虫腈的高效液相色谱检测[J]. *广东化工*, 2016, 43(22): 160–161.  
Guo S, Zhao YG. Determination of fluoxonitrile by high performance liquid chromatography [J]. *Guangdong Chem Ind*, 2016, 43(22): 160–161.
- [26] 王玉玲, 史常春, 李自华, 等. 氟虫腈高效液相色谱分析方法优化[J]. *农药*, 2014, 53(8): 577–578, 593.  
Wang YL, Shi CC, Li ZH, *et al.* Optimization of HPLC method for determination of fluobenzonitrile [J]. *Pesticide*, 2014, 53(8): 577–578, 593.
- [27] 杨淑娟, 唐慧敏, 徐成, 等. 0.1%氟虫腈饵剂的高效液相色谱分析[J]. *现代农药*, 2010, (5): 40–42.  
Yang SX, Tang HM, Xu C, *et al.* Analysis of 0.1% fluobenzene baits by high performance liquid chromatography [J]. *Mod Agrochem*, 2010, (5): 40–42.
- [28] Hafeez A, Tawab IA, Iqbal S. Development and validation of an HPLC method for the simultaneous determination of fipronil, chlorfenapyr, and pyriproxyfen in insecticide formulations [J]. *J AOAC Int*, 2016, 99(5): 1185–1190.
- [29] 王艳丽, 陈克云, 梁秀清, 等. 分散固相萃取/气相色谱质谱法测定动物源性食品中的氟虫腈及其代谢物[J]. *分析测试学报*, 2018, 37(4): 440–445.  
Wang YL, Chen KY, Liang XQ, *et al.* Determination of fluoronitrile and its metabolites in animal-derived food by dispersing SPE/GC/MS [J]. *J Anal Test*, 2018, 37(4): 440–445.
- [30] 陈沙, 朱作为, 黄宗兰, 等. 气相色谱三重四极杆串联质谱法测定鸡蛋和鸡肉中氟虫腈及其代谢物残留量的研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(6): 76–81.  
Chen S, Zhu ZW, Huang ZL, *et al.* Determination of flufenitrile and its metabolites in eggs and chicken by gas chromatography triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(6): 76–81.
- [31] 罗彤, 付文雯, 黄坤, 等. 气相色谱-负化学源质谱法测定牛奶中氟虫腈及其代谢物残留[J]. *中国乳品工业*, 2019, 47(7): 39–41.  
Luo T, Fu WW, Huang K, *et al.* Determination of fluoronitrile and its metabolite residues in milk by gas chromatography-negative chemical source mass spectrometry [J]. *Chin Dairy Ind*, 2019, 47(7): 39–41.
- [32] 郝杰, 邵瑞婷, 姜洁, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋、鸡肉中氟虫腈及其代谢物残留[J]. *食品科学*, 2019, 40(2): 326–331.  
Hao J, Shao RT, Jiang J, *et al.* Determination of fluoxitrite and its metabolite residues in eggs and chicken by QuEChERS-ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2019, 40(2): 326–331.
- [33] 夏义平, 尹啸冰, 林肖惠, 等. QuEChERS-固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法快速测定鸡蛋和鸡肉中氟虫腈及其代谢产物[J]. *中国食品卫生杂志*, 2018, 30(4): 395–400.  
Xia YP, Ying XB, Lin XH, *et al.* Rapid determination of fluoxitrite and its metabolites in eggs and chicken by QuEChERS-solid phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Food Hyg*, 2018, 30(4): 395–400.
- [34] Shen W, 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]. *Chromatography*, 2017, 35(12): 1224–1228.
- [35] 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大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.* The residue of flufenitrile and its metabolites in maize and rice was determined by dispersing solid phase extraction (spe) – dispersing liquid liquid microextraction (spe) – gas chromatography–mass spectrometry (gc–ms) [J]. *Anal Lab*, 2016, 35(4): 386–389.
- [36] 韩超. 茶叶中氟虫腈及其代谢产物氟甲腈、氟虫腈硫醚、氟虫腈砜的检测方法[P]. CN, 201810325535. 4, 2018.  
Han C. Method for determination of fluoronitrile and its metabolites fluoronitrile, fluoronitrile sulfide and fluoronitrile sulfone in tea CN, 201810325535. 4 [P]. 2018.
- [37] Wang T L, Hu J Y, Liu C L. Simultaneous determination of in—secticide fipronil and its metabolites in maize and soil by gas chromatography with electron capture detection [J]. *Environ Monit Assess*, 2014, 186(5): 2767–2774.
- [38] 何曼莉, 李敏青, 徐娟, 等. 气相色谱法和高效液相色谱–串联质谱法测定鸡蛋中氟虫腈及其代谢物残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(6): 1314–1320.  
He ML, Li MQ, Xu J, *et al.* Determination of fluoronitrile and metabolite residues in eggs by gas chromatography and high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(6): 1314–1320.
- [39] 郝杰, 邵瑞婷, 姜洁, 等. QuEChERS–超高效液相色谱–串联质谱法测定鸡蛋、鸡肉中氟虫腈及其代谢物残留[J]. *食品科学*, 2019, 40(2): 326–331.  
Hao J, Shao RT, Jiang J, *et al.* Determination of fluoxitrile and its metabolite residues in eggs and chicken by QuEChERS– ultra high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2019, 40(2): 326–331.
- [40] 肖国军, 蔡超海, 王生, 等. 高效液相色谱–串联质谱法测定蔬菜中氟虫腈及其代谢物残留[J]. *现代预防医学*, 2019, 46(7): 1260–1263.  
Xiao GJ, Cai CH, Wang S, *et al.* Determination of fluoronitrile and its metabolite residues in vegetables by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. *Mod Prev Med*, 2019, 46(7): 1260–1263.
- [41] 周鹏, 黄芊, 欧阳立群, 等. 稳定同位素稀释超高效液相色谱–串联质谱法测定饲料中氟虫腈及其代谢物[J]. *色谱*, 2018, 36(7): 629–633.  
Zhou P, Huang Q, Ouyang LQ, *et al.* Determination of flufenitrile and its metabolites in feed by stable isotope dilution ultra–high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. *Chromatography*, 2018, 36(7): 629–633.
- [42] 冯义志, 张爱娟, 李文平, 等. 高效液相色谱串联质谱法快速测定氟虫腈及其代谢物在花生和土壤中残留[J]. *现代农药*, 2018, 17(6): 39–43.  
Feng YZ, Zhang AJ, Li WP, *et al.* Rapid determination of fluoronitrile and its metabolites in peanut and soil by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Mod Pestic*, 2018, 17(6): 39–43.
- [43] 胡文. 液相色谱–串联质谱检测茶叶中氟虫腈的残留量[J]. *广东茶业*, 2019, (1): 7–11.  
Hu W. Determination of fluoxonitrile residue in tea by liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. *Guangdong Tea Ind*, 2019, (1): 7–11.
- [44] 李敏青, 徐娟, 王岚, 等. 高效液相色谱–电喷雾电离串联质谱法测定植物性食品中氟虫腈及其代谢物的残留[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(2): 251–256, 262.  
Li MQ, Xu J, Wang L, *et al.* Determination of fluoronitrile and its metabolites in plant food by high performance liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Food Ind Sci Technol*, 2019, 40(2): 251–256, 262.
- [45] Ni W, Chenchen W, Huidong L, *et al.* Determination of fipronil and its metabolites in eggs by UPLC–QqLIT–MS/MS with multistage mass spectrometry mode [J]. *J Liquid Chromatogra Related Technol*, 2018, 41(9): 544–551.
- [46] 张改平, 魏凤仙, 等. 一种快速检测微量氟虫腈的量子点试纸条及其制备方法[P]. CN, 201810005901.8, 2018.  
Zhang GP, Wei FX, *et al.* A quantum dot strip for the rapid detection of trace fluoronitrile and a preparation method thereof are presented: Chin [P]. CN, 201810005901.8, 2018.
- [47] Vasylieva N, Ahn KC, Barnych B, *et al.* Development of an immunoassay for the detection of the phenylpyrazole insecticide fipronil [J]. *ES&T*, 2015, 49(16): 10038–10047.
- [48] 洪霞, 杜霞, 等. 一种检测茶叶中氟虫腈的化学发光免疫检测试剂盒 CN, 201810005901.8 [P]. 2018.  
Hong X, Du X, *et al.* A chemiluminescent immunoassay kit for the detection of fluobenzonitrile in tea CN, 201810005901.8 [P]. 2018.
- [49] 胡晓飞, 邓瑞广, 魏凤仙, 等. 一种快速检测微量氟虫腈的表面增强拉曼金标试纸条及其制备方法 CN, 201810005898. X [P]. 2018.  
Hu XF, Deng RG, Wei FX, *et al.* Surface-enhanced Raman gold label test strip for rapid detection of trace fipronil and preparation method thereof CN, 201810005898. X [P]. 2018.
- [50] 谢云飞, 许乐贝, 等. 一种利用光照和表面增强拉曼快速检测氟虫腈的方法 CN, 201810315712. 0 [P]. 2018.  
Xie YF, Xu LB, *et al.* A Method for rapid detection of fipronil by illumination and surface enhanced Raman CN, 201810315712. 0 [P]. 2018.
- [51] Gu H, Duan N, Wu S, *et al.* Graphene oxide–assisted non–immobilized SELEX of okdaic acid aptamer and the analytical application of aptasensor [J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 21665–21673.
- [52] Zheng Y, Zhao Y, Di Y, *et al.* DNA aptamers from whole–serum SELEX as new diagnostic agents against gastric cancer [J]. *RSC Adv*, 2019, 9(2): 950–957.
- [53] Gopinathan P, Hung LY, Wang CH, *et al.* Automated selection of aptamers against cholangiocarcinoma cells on an integrated microfluidic platform [J]. *Biomicrofluidics*, 2017, 11(4): 44101–44118.

(责任编辑: 王 欣)

## 作者简介



冯 灏, 硕士, 助理工程师, 主要研究方向为食品科学与工程。  
E-mail: meinrosa@163.com



周陶鸿, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。  
E-mail: zthmail@163.com