QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定动物源性食品中 5 种双酰胺类杀虫剂的残留

何旭峰, 黄小兰*, 肖 琦, 周祥德
(重庆市万州食品药品检验所, 重庆 404100)

摘 要: 目的 建立超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)检测猪肉、猪肝、鸭肉、鸡肉和鱼肉等动物源性食品中 5 种双酰胺类杀虫剂(氟苯虫酰胺、氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺、四氯虫酰胺、环溴虫酰胺)残留量的分析方法。**方法** 采用 QuEChERS 前处理技术, 样品用乙腈提取, 提取液经盐析脱水, 吸附剂净化, 用 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱梯度洗脱分离, 电喷雾离子源离子化, 负离子多反应监测模式检测。**结果** 5 种双酰胺类杀虫剂在 2.0~50.0 ng/mL 的质量浓度范围内线性关系良好, 相关系数(r)大于等于 0.9983。在 3.0、6.0 和 12.0 μg/kg 3 个添加水平下, 5 种双酰胺类杀虫剂的回收率范围为 79.6%~112.4%, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)为 0.4%~6.9% (n=6), 方法检出限和定量限范围分别为 0.7~1.0 μg/kg 和 2.0~3.0 μg/kg。**结论** 本方法操作简单、灵敏度和准确度高、重现性好, 可同时检测动物源性食品中 5 种双酰胺类杀虫剂的残留量, 为其日常监管提供技术支持。

关键词: QuEChERS; 超高效液相色谱-串联质谱法; 动物源性食品; 双酰胺类杀虫剂

Simultaneous determination of 5 kinds of bisamide insecticides residues in animal-derived foods by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

HE Xu-Feng, HUANG Xiao-Lan*, XIAO Qi, ZHOU Xiang-De
(*Chongqing Wanzhou Food and Drug Inspection Institute*, *Chongqing* 404100, *China*)

ABSTRACT: Objective To establish an method for the determination of the residues of 5 kinds of bisamide insecticides (cyantraniliprole, chlorantraniliprole, tetraclofenac, chlorfenapyr, flubendiamide) in pork, pork liver, duck meat, chicken, fish and other animal-derived foods by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** The QuEChERS pretreatment technology was adopted, the samples were extracted with acetonitrile, and the extracts were subjected to salting-out dehydration, adsorbent purification, gradient elution and separation on an ACQUITY UPLC BEH C_{18} column, followed by ionization with an electrospray ion source, and anion multi-reaction monitoring mode detection. **Results** The linear relationships were good within the mass concentration range of 2.0-50.0 ng/mL, and the correlation coefficients (r) were greater than or equal to 0.9983. At the 3 kinds of addition levels of 3.0, 6.0 and 12.0 μg/kg, the recovery rates of the 5 kinds of bisamide insecticides ranged from 79.6% to 112.4%, and the relative standard deviations (RSDs) were 0.4%–6.9% (n=6), and the limits of detection and quantification were 0.7–1.0 μg/kg and 2.0–3.0 μg/kg, respectively. **Conclusion** This method is simple

***通信作者:** 黄小兰, 工程师, 主要研究方向为食品加工与安全分析。E-mail: 534832723@qq.com
***Corresponding author:** HUANG Xiao-Lan, Engineer, Chongqing Wanzhou Food and Drug Inspection Institute, No.16 Longxi Avenue, Wanzhou District, Chongqing 404100, China. E-mail: 534832723@qq.com

to operate, high in sensitivity and accuracy, good in reproducibility, and can simultaneously detect the residues of 5 kinds of bisamide insecticides in animal-derived foods, thus providing technical support for their daily supervision.

KEY WORDS: QuEChERS; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; animal-derived foods; bisamide insecticides

0 引 言

双酰胺类杀虫剂是以鱼尼丁受体为靶标的杀虫剂，国际抗性行动委员会将其定义为第 28 类杀虫剂[1]。目前已上市的双酰胺类杀虫剂主要有：氟苯虫酰胺、氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺、四氯虫酰胺、环溴虫酰胺，其作用机理为激活昆虫鱼尼丁(肌肉)受体，过度释放细胞内钙库中钙离子导致昆虫瘫痪死亡，对大部分鳞翅目、鞘翅目害虫具有快速、长效、广谱的防治作用[2]，被广泛应用于防治稻飞虱、纵卷叶螟、三化螟等引起的虫害，是粮谷类植物常用的杀虫剂[3]。同时，5 种双酰胺类杀虫剂在土壤、水中具有难降解性，容易长时间残留于环境中[4]。故随着双酰胺类杀虫剂在农业生产中的使用，农药残留一方面可能直接通过粮谷[5]进入家禽家畜体内，另一方面也可通过水体、土壤进入到水生动物[6]中，最终通过食物链转移至人体引发潜在的安全健康风险。

目前，国际食品法典委员会、欧洲联盟、美国和日本等国际组织和发达国家均对双酰胺类杀虫剂的最大残留限量(maximum residue limit, MRL)作了严格的规定。在我国，GB 2763—2019《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》仅规定了食品中的氟苯虫酰胺、氯虫苯甲酰胺和植物源性食品中的溴氰虫酰胺的 MRL 值，而四氯虫酰胺和环溴虫酰胺还未作规定。在研究对象方面，国内外主要集中在果蔬[7–8]、粮谷油料作物[5,9]、土壤和水体等方面[10–12]，未见动物源性食品中同时测定 5 种双酰胺类杀虫剂的报道。现有标准 SN/T 5221—2019《出口植物源食品中氯虫苯甲酰胺残留量的测定》、GB 23200.76—2016《食品安全国家标准 食品中氟苯虫酰胺残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》、DB37/T 3991—2020《食品中溴氰虫酰胺残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》、DB37/T 3990—2020《食品中四氯虫酰胺残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》也仅针对植物源性食品中双酰胺类杀虫剂制定了检测方法，且均为单个项目的独立检验，即完成一个样品中不同的双酰胺类杀虫剂需要不同的前处理方法，存在检验周期长、试剂 消耗大、检测资源浪费等缺点，并且仍缺少环溴虫酰胺的检测方法。因此迫切需要建立同时测定动物源性食品中 5 种双酰胺类杀虫剂残留的方法。

超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)因其较高的灵敏度和定性能力成为食品中农药残留测定的首选[7–8,13–14]。目前主要的前处理方法有液-液萃取法[15–16]、固相萃取法(solid phase extraction, SPE)[17–18]和基质固相分散萃取技术(QuEChERS)[7]等，相较于前 2 种前处理方式，QuEChERS 处理方法具有溶剂消耗少、适用性好、重现性好、处理快、成本低等优点。因此，本研究采用 QuEChERS 前处理技术，结合 UPLC-MS/MS 法建立了同时测定动物源性食品中 5 种双酰胺类杀虫剂残留的方法，旨在为研究双酰胺类杀虫剂在动物体内的残留降解奠定基础，也为动物源性食品中此类农药 MRL 值的制定和日常监控提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

环溴虫酰胺标准物质(纯度 96.6%)、氟苯虫酰胺标准物质(纯度 96.6%)(德国 Dr. Ehrenstorfer 公司)；氯虫苯甲酰胺标准物质(纯度 97.5%，上海道垚测试技术有限公司)；溴氰虫酰胺标准物质(纯度 98.0%)、C_{18} 固相萃取填料(40 μm)、N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA, 40 μm)(上海安谱实验科技股份有限公司)；四氯虫酰胺标准物质(纯度 97.8%，北京曼哈格生物科技有限公司)；乙腈、甲醇(色谱纯，德国 Merck 公司)；无水硫酸钠、无水硫酸镁、氯化钠(分析纯，天津市大茂化学试剂厂)；实验用水为 Milli-Q 系统纯化水。

1.2 仪器与设备

UltiMate3000 型超高效液相色谱仪、TSQ Quantum Access Max 型质谱仪配有电喷雾离子源(美国热电公司)；Milli-Q 超纯水机(美国 Millipore 公司)；3K15 型高速离心机(德国 Sigma 公司)；SQP 型电子天平(德国 Sartorius 公司)；MS3 basic 型涡旋混合器、T25.VLTRA 型高速均质器(德国 IKA 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

分别准确称取适量氟苯虫酰胺、氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺、四氯虫酰胺、环溴虫酰胺标准物质于 5 个 10 mL 容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，得质量浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备液，贮存于棕色玻璃瓶中，-20 ℃下避光保存。

精密吸取 5 种标准储备液各 0.10 mL 于 10 mL 容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，得到 10.0 μg/mL 混合标准

溶液, -20 ℃下避光保存。测试前用乙腈稀释成质量浓度为 2.0、5.0、10.0、20.0、30.0、50.0 ng/mL 标准工作液系列。

1.3.2　样品前处理

取待测样品组织 500 g, 用组织粉碎机制成肉糜状后, 装入洁净的自封袋, 密封, 保存于-20 ℃下。称取肉糜样品 2 g(精确至 0.0001 g)于 50 mL 离心管中, 先加入 2 mL 水, 涡旋混匀, 再加入 10.0 mL 乙腈涡旋混合, 8000 r/min 均质提取 5 min 后, 向离心管中加入 1 g 无水硫酸镁和 2 g 氯化钠, 涡旋混合 2 min, 再以 6000 r/min 离心 5 min, 收集上清液, 待净化。取样品提取液 6.0 mL 转入盛有 150 mg PSA、150 mg C_{18} 和 400 mg 无水硫酸镁的离心管中, 涡旋混合 1 min, 4000 r/min 离心 3 min, 取上清液 5.0 mL 于 45 ℃氮吹浓缩至约 0.5 mL, 加乙腈复溶至 1.0 mL, 过 0.22 μm 有机滤膜, 供超高效液相色谱-串联质谱仪分析。

1.3.3　仪器条件

(1)色谱条件

色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C_{18} (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 柱温: 40 ℃; 进样量: 2 μL; 流速: 0.2 mL/min; 流动相: A 相为乙腈; B 相为 5 mmol/L 乙酸铵溶液; 梯度洗脱程序为: 0~0.1 min, 20% A; 0.1~7.5 min, 20%~90% A; 7.5~9.0 min, 90% A; 9.0~9.1 min, 90%~20% A; 9.1~10.0 min, 20% A。

(2)质谱条件

电喷雾离子源(electrospray ion source, ESI), 负离子模式; 电离电压 3000 V; 扫描方式为多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式; 鞘气流量 30 Arb; 辅助气流量 10 Arb; 温度 300 ℃; 碰撞气为高纯氩气, 流量为 1.5 Arb; 毛细管温度 350 ℃。

在负离子模式下, 对透镜电压、碰撞能量和离子对进行优化, 5 种化合物质谱参数见表 1。

1.4　数据处理

利用 TracFinder 3.3(美国热电公司)完成图谱采集和数据处理。采用 Excel 2016 软件进行统计分析和绘图。

2　结果与分析

2.1　样品前处理条件优化

2.1.1　提取剂的选择

农残提取的常用溶剂有丙酮、正己烷、石油醚、乙腈、二氯甲烷等[19], 乙腈的使用更为普遍, 并且乙腈对 5 种双酰胺类杀虫剂具有较强的溶解能力, 而对油脂、色素和蛋白质类物质的溶解能力较弱[8], 这使其成为本研究提取溶剂的首选。在此基础上, 本研究采用空白猪肉和猪肝为基质, 在 12.0 μg/kg 的添加水平下比较了酸性乙腈(含 0.1%甲酸)和纯乙腈的提取效率, 见图 1。结果发现, 采用酸性乙腈为提取剂时, 猪肉中溴氰虫酰胺、氯虫苯甲酰胺、氟苯虫酰胺 3 者的响应略高于猪肝基质; 而采用乙腈为提取剂时, 猪肝中环溴虫酰胺、氟苯虫酰胺的响应略高, 其余杀虫剂基本一致。总的来说, 5 种杀虫剂在两种提取剂中均能获得良好的回收率, 在 83.0%和 110.9%之间, 表明酸性乙腈和纯乙腈均可作为 5 种双酰胺类杀虫剂的提取溶剂。本研究为了和流动相一致, 故选取了乙腈作为提取剂。

表 1　质谱参数

Table 1　Mass spectrometric parameters

中文名	保留时间/min	母离子(*m*/*z*)	产物离子(*m*/*z*)	透镜电压/V	碰撞能量/V
溴氰虫酰胺	6.47	472.8	203.9*	54	16
			201.9		16
氯虫苯甲酰胺	7.03	481.8	203.9*	47	15
			201.9		16
四氯虫酰胺	7.87	535.7	201.9*	51	14
			203.9		14
环溴虫酰胺	8.24	599.7	256.0*	65	16
			257.8		17
氟苯虫酰胺	8.42	680.7	254.0*	81	28
			274.0		17

注: *为定量离子。

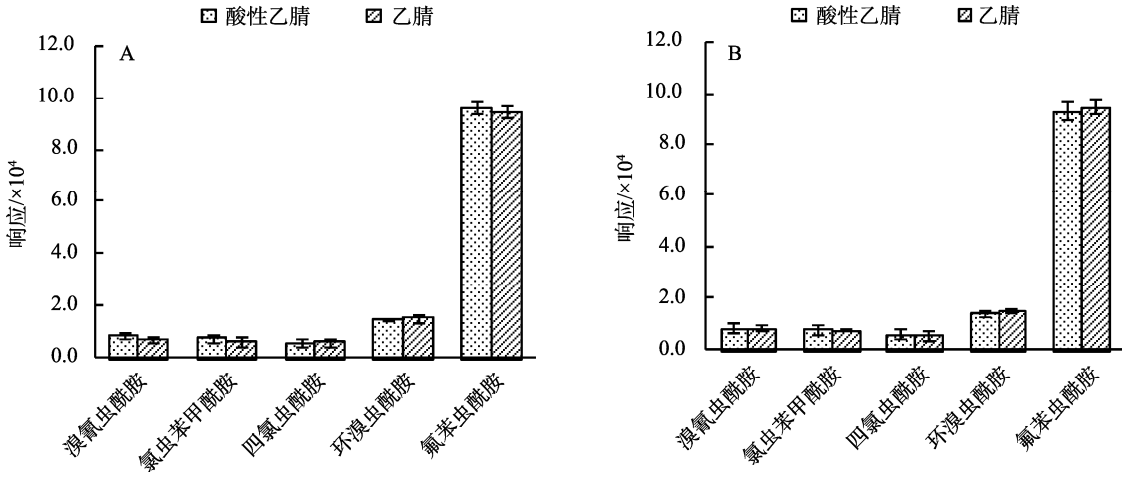
2.1.2 脱水剂的选择

本研究为了使样品肉糜更好地分散, 与提取剂充分接触, 需先向样品中加入适量水, 避免直接加入乙腈使样品结块而影响提取。提取后需分离提取液中的水分, 本研究比较了无水硫酸镁、无水硫酸钠、氯化钠的脱水效果, 结果如表 2 所示。无水硫酸钠的除水能力较弱, 添加量在 2~5 g 时, 仅可除去提取液中约 50%的水分, 而 5 种双酰胺类杀虫剂的脂溶性较好, 易溶于乙腈层中, 剩余水分提高了水溶性杂质的含量, 故应尽可能地除去水分才有利于排除干扰。无水硫酸镁和氯化钠的除水能力较强, 能使提取液分层良好, 添加量在 1.2 g 时即可除去提取液中约 90%的水, 无水硫酸镁溶解时会放热, 适当地升温有利于杀虫剂的提取, 但大量使用时, 发热严重, 过高的温度无法保证杀虫剂的稳定提取。氯化钠使用量超过 1.5 g 时, 水层就已饱和, 继续提高氯化钠的用量作用不大, 考虑到不同样品的含水量存在一定差异, 为保证脱水效果, 氯化钠应适当过量。综上所述, 确定同时使用无水硫酸镁和氯化钠为除水剂, 且用量分别为 1 g 和 2 g。

2.1.3 净化吸附剂的选择

QuEChERS 方法常用 PSA 除去糖类、脂肪酸和亲脂性色素, C_{18} 则可有效除去脂肪和脂类等非极性有机物[20]。动物源性食品基质较为复杂, 为获得理想的净化效果, 本研究同时使用 PSA 和 C_{18} 2 种吸附剂。

以空白猪肉为基质, 在 15.0 μg/kg 添加水平下, 制备样品提取液, 于 10 mL 离心管中分别加入 75、150 和 225 mg 的 PSA 和 C_{18}, 比较不同吸附剂在不同用量下对样品提取液的净化效果和对 5 种杀虫剂吸附情况, 结果如图 2 所示。随着 PSA 和 C_{18} 用量的提高, 净化效果不断增强, 但回收率呈下降趋势。由图 2 可知 PSA 对溴氰虫酰胺和氯虫苯甲酰胺吸附能力更大, C_{18} 更易吸附另外 3 种。在此基础上, 通过回收实验考察了不同比例吸附剂混用对目标物的影响, 结果见表 3。结果发现, 当 PSA 和 C_{18} 用量分别达到 175 mg 时, 溴氰虫酰胺、氯虫苯甲酰胺和氟苯虫酰胺的回收率均低于 80%。因此, 为了保证所有化合物回收率大于 80%且净化效果良好, 最终确定 PSA 和 C_{18} 的用量分别为 150 mg。比较提取液净化前后的选择离子流图(见图 3), 干扰峰的数量和响应均有下降, 净化效果明显。



注: A: 猪肉; B: 猪肝。

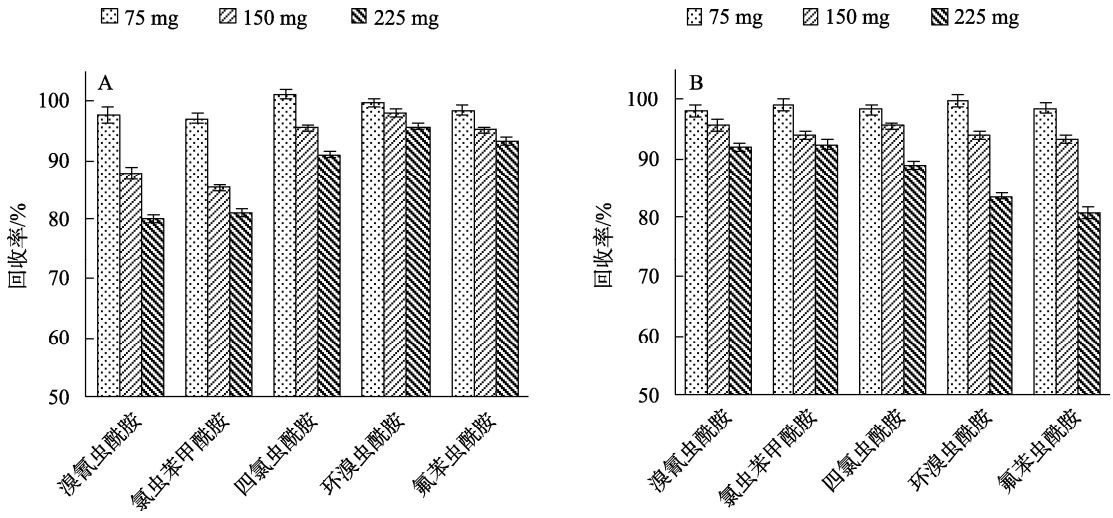
图 1 不同提取剂对 5 种化合物提取效率的影响(n=3)

Fig.1 Effects of different extractants on extraction efficiencies of 5 kinds of compounds (n=3)

表 2 不同质量脱水剂对提取液的脱水效率(n=3)

Table 2 Dehydration efficiencies of different quality of dehydrating agent for extracting solution (n=3)

无水硫酸钠		无水硫酸镁		氯化钠	
添加量/g	脱水率/%	添加量/g	脱水率/%	添加量/g	脱水率/%
1	28	0.8	25	0.8	28
2	49	1	49	1	55
3	49	1.2	87	1.2	91
4	48	1.4	91	1.4	95
5	49	1.6	95	1.6	95



注: A: PSA; B: C_{18}。

图 2　不同用量的吸附剂对回收率的影响(n=3)

Fig.2　Effects of different dosages of adsorbent on recovery rates (n=3)

表 3　添加浓度为 15.0 μg/kg 的猪肉中使用不同比例吸附剂的平均回收率及相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)(n=3)

Table 3　Average recoveries and RSDs of adsorbents with different proportions in pork with a concentration of 15.0 μg/kg (n=3)

PSA 和 C_{18}	溴氰虫酰胺		氯虫苯甲酰胺		四氯虫酰胺		环溴虫酰胺		氟苯虫酰胺	
用量/mg	回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%
75/75	95.8	4.3	96.1	1.7	99.4	2.9	99.4	4.2	97.0	1.2
75/150	93.6	3.1	91.3	3.5	96.6	3.2	93.7	2.7	92.0	2.3
75/175	89.9	4.2	89.7	1.3	90.1	2.1	83.3	0.6	79.6	4.3
150/75	86.3	4.7	84.5	3.7	93.8	3.9	97.8	1.2	93.8	0.9
150/150	84.3	3.3	80.3	2.5	91.2	1.5	92.2	3.9	88.9	2.4
150/175	81.0	0.9	78.9	4.1	85.0	1.2	82.0	4.4	76.9	1.7
175/75	89.9	5.3	89.7	0.6	90.1	2.7	83.3	3.5	79.6	5.2
175/150	81.0	5.3	78.9	1.8	85.0	3.5	82.0	2.7	76.9	1.1
175/175	73.7	4.7	75.0	3.2	81.1	4.5	80.1	3.5	75.5	1.5

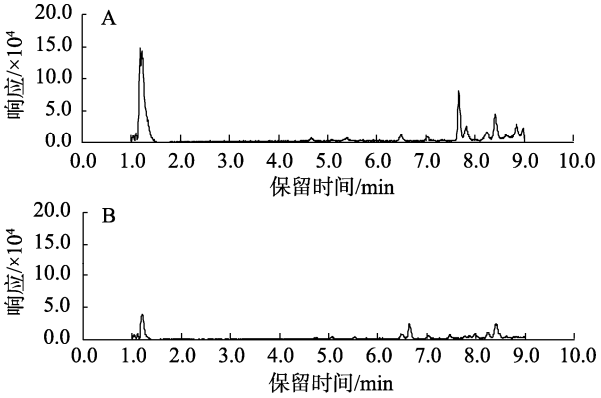


图 3　提取液净化前(A)和经 PSA、C_{18} 各 150 mg 净化后(B)的总离子流图

Fig.3　Total ion chromatograms of the extract before purification (A) and after purification with 150 mg PSA and 150 mg C_{18} (B)

2.2　液相色谱条件的优化

2.2.1　流动相体系优化

甲醇和乙腈是色谱检测中常用的有机系流动相。本研究比较了甲醇-水、乙腈-水作为流动相的效果, 结果发现, 采用乙腈作为流动相时, 目标物的出峰时间适中、峰宽较小、灵敏度较高、系统工作压力也较小。同时, 本研究又比较了乙腈-水、乙腈-0.1%甲酸水和乙腈-5 mmol/L 乙酸铵溶液, 结果见图 4。由图 4 可见, 乙酸铵存在的情况下目标物峰形均有所改善, 保留时间更为稳定。考虑乙酸铵溶液可提供稳定的酸碱环境并有利于目标物的离子化, 最终确定流动相为乙腈-5 mmol/L 乙酸铵溶液。

2.2.2　色谱柱选择

本研究比较了 ACQUITY UPLC BEH C_{18} (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm, 后称 C_{18} 柱)和 ACQUITY UPLC HSS T3 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm, 后称 T3 柱)2 种色谱柱的灵敏度和分离效率, 结果见图 5。由图可见, C_{18} 柱的峰形更尖锐, 灵敏度更高, 这主要是因为 C_{18} 柱拥有 17%的含碳量(T3 柱的含碳量为 4.7%), 对弱极性和非极性化合物的保留能力更强, 所测杀虫剂极性较弱, 出峰时间靠后, 此时流动相中有机相的比例较高, 流动相洗脱能力也更强, 使目标峰的峰宽更小, 获得了更尖锐的峰, 优化梯度洗脱程序后, 10 min 即可完成

分析，因此选择 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 为分析色谱柱。

2.3 质谱条件的优化

质谱条件优化中，母离子主要考虑$[M-H]^-$、$[M+H]^+$、$[M+HH_4]^+$。超高效液相色谱仪、进样蠕动泵和质谱仪使用三通连接，在有流动相参与的情况下分别在正、负离子模式下优化各个化合物，所用标准溶液质量浓度均为 5 μg/mL，优化结果见图 6。由图 6 可知，在正离子模式下，除氟苯虫酰胺的$[M+H]^+$离子响应较低外，其他 4 个化合物的$[M+H]^+$离子响应均能到达 10^6，也较为稳定；5 个化合物的$[M+HH_4]^+$离子响应较弱，其中氟苯虫酰胺的$[M+HH_4]^+$离子响应过低致难以分辨。在负离子模式下，5 个化合物的$[M-H]^-$离子信号稳定，总体响应强度稍弱于正离子模式，但负模式下噪声更小、干扰较少，目标信号的信噪比更高，所以最终确定在负模式下建立质谱方法。同时优化了透镜电压，碰撞能量，针对每个母离子选取其响应强度较高的 2 个碎片离子为特征子离子。5 种双酰胺类杀虫剂提取离子流图见图 5。

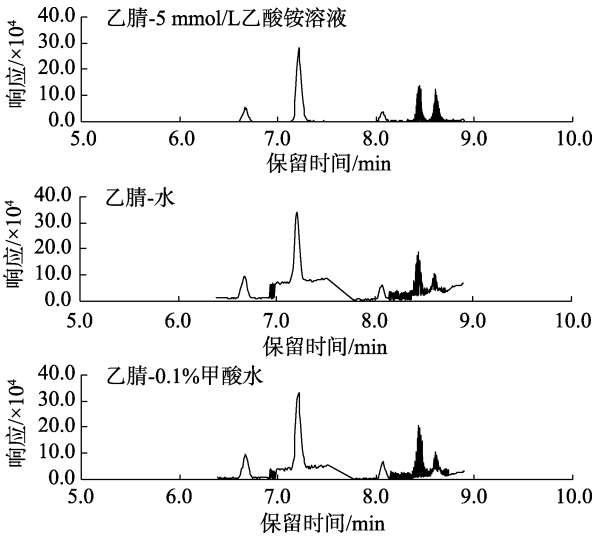
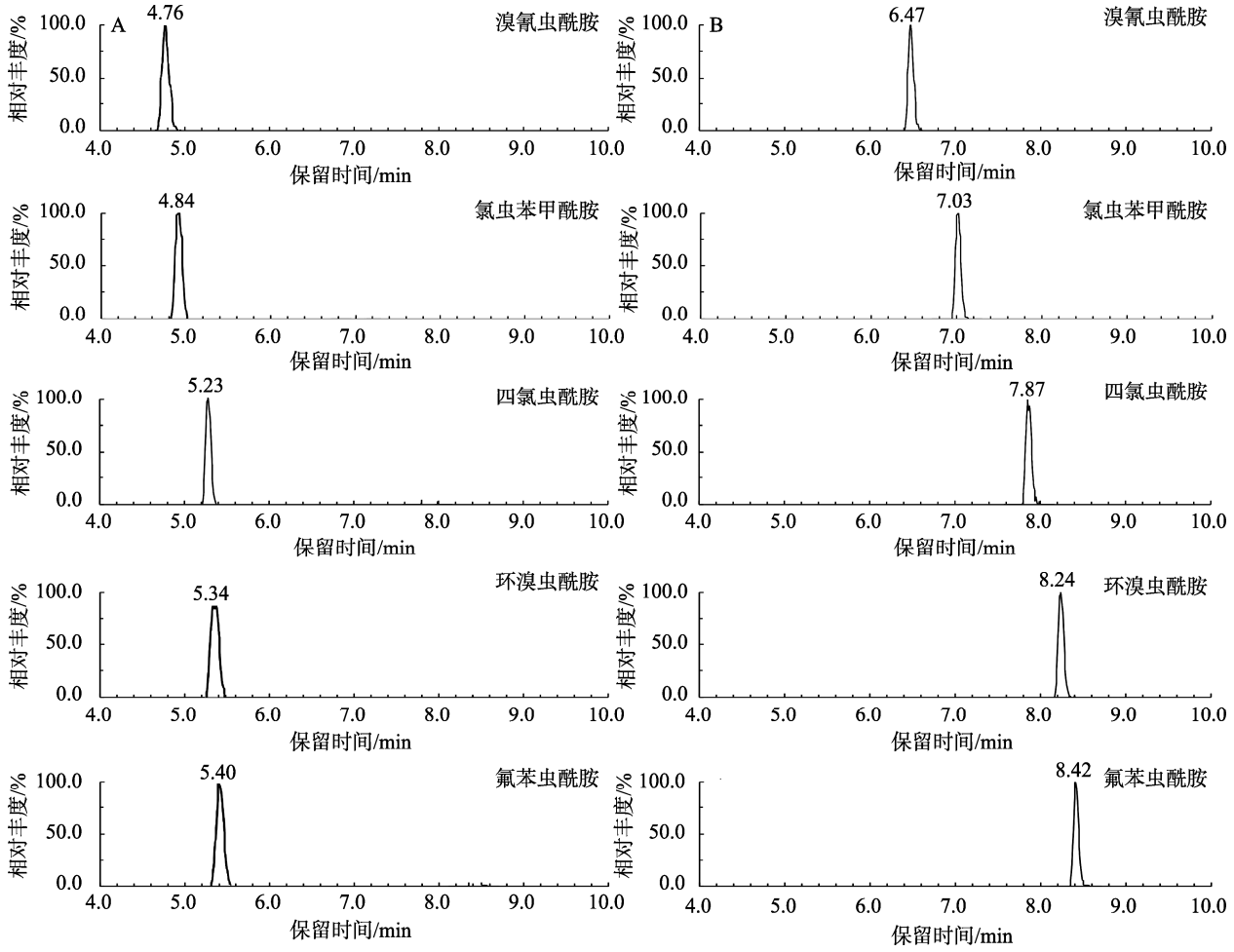


图 4 不同流动相系统 5 种化合物的选择离子流图

Fig.4 Selective ion flow diagrams of 5 kinds of compounds in different mobile phase systems



注: A: T3 柱; B: C_{18} 柱。

图 5 不同色谱柱 5 种化合物的提取离子流图

Fig.5 Extraction ion flow diagrams of 5 kinds of compounds on different chromatographic columns

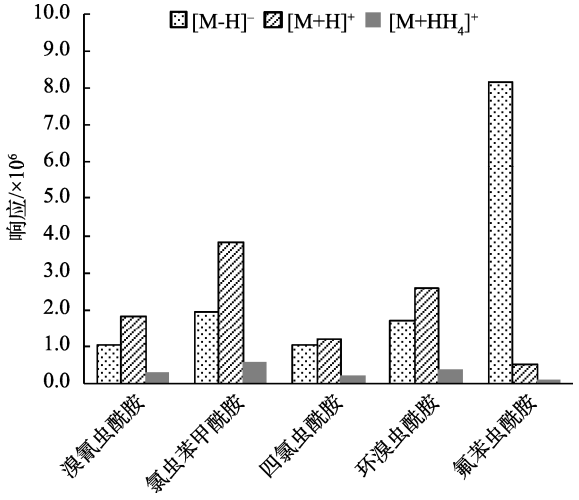


图 6　化合物母离子的响应强度

Fig.6　Response intensity of the compound parent ions

2.4　线性范围和基质效应

利用 1.3.2 和 1.3.3 节所述方法, 选取鸡肉、鸭肉、鱼肉、猪肉、猪肝制备空白基质溶液, 分别配制成质量浓度为 2.0、5.0、10.0、20.0、30.0、50.0 ng/mL 基质匹配标准溶液系列。同时, 以初始流动相为溶剂配制相同质量浓度的溶剂标准溶液系列。将以上标准溶液系列上机测试, 并绘制标准曲线, 相关系数(r)和回归方程如表 4 所示。结果表明, 5 种双酰胺类杀虫剂在 2.0~50.0 ng/mL 的质量浓度范围内线性关系良好, 相关系数均大于等于 0.9983。

在超高效液相色谱-串联质谱检测过程中, 共洗脱物质影响目标物离子化的现象即为基质效应, 在质谱测定中普遍存在[21], 它对分析有较大干扰, 影响检测结果的准确性。为了考察基质效应, 本研究通过基质匹配标准工作曲线斜率(M_{martix})和以初始流动相为溶剂的标准工作曲线斜率(M_{solvent})来计算基质效应(matrix effect, ME)。

$$\mathrm{ME}\ (\%)=(M_{\mathrm{martix}}/M_{\mathrm{solvent}}-1)\times 100\%$$

若 ME 值为正值, 则为基质增强效应; 若 ME 为负值, 则为基质抑制效应[22]。当 ME 的绝对值为 0~20%时, 表现为可忽略的弱基质效应[23], 当 ME 的绝对值大于 20%, 就需要减弱消除基质效应。由表 4 可知, 本方法中同时存在基质增强和抑制的情况, 但 ME 的绝对值在 0.1%~16.0%, 基质效应较弱, 表现为可忽略的弱基质效应。

2.5　检出限、定量限、回收率和精密度

称取空白基质 2 g(精确至 0.0001 g)于 50 mL 离心管中, 以 10.0 μg/kg 的浓度水平加入适量混合标准溶液, 按 1.3.2 和 1.3.3 节进行样品处理, 上机测定记录各目标化合物的信噪比, 以 3 倍信噪比计算检出限(limit of detection, LOD), 以 10 倍信噪比对应浓度作为定量限(limit of quantification, LOQ)。结果显示: 溴氰虫酰胺、氯虫苯甲酰胺、四氯虫酰胺、环溴虫酰胺的 LODs 和 LOQs 分别为 1.0 和 3.0 μg/kg, 氟苯虫酰胺的 LOD 和 LOQ 分别为 0.7 和 2.0 μg/kg。以鸡肉、鱼肉、鸭肉、猪肉和猪肝为空白样品进行加标回收实验考察方法的准确度。设置低(L)、中(M)、高(H) 3 个添加水平的回收实验, 添加水平依次为 3.0、6.0、12.0 μg/kg, 每个添加水平平行 6 份, 按照“1.3”中的方法处理测定, 计算平均回收率, 结果见表 5。5 种杀虫剂的平均回收率为 79.6%~112.4%, RSDs≤6.9%, 满足 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范食品理化检测》的要求。

表 4　5 种化合物在 6 种基质中的线性方程、相关系数及基质效应(n=3)

Table 4　Linear equations, correlation coefficients and matrix effects of 5 kinds of compounds in 6 kinds of matrices (n=3)

基质	化合物	线性方程	r	ME/%
流动相	溴氰虫酰胺	Y=6482X+4288	0.9998	—
	氯虫苯甲酰胺	Y=4554X+2579	0.9994	—
	四氯虫酰胺	Y=2948X–1476	0.9992	—
	环溴虫酰胺	Y=7105X+1165	0.9995	—
	氟苯虫酰胺	Y=29280X+1130	0.9999	—
鸡肉	溴氰虫酰胺	Y=7405X+1751	0.9995	14.2
	氯虫苯甲酰胺	Y=4702X+2386	0.9993	3.2
	四氯虫酰胺	Y=3122X–1581	0.9991	5.9
	环溴虫酰胺	Y=7155X+516.1	0.9997	0.7
	氟苯虫酰胺	Y=29240X+1667	0.9997	–0.1
鸭肉	溴氰虫酰胺	Y=7005X+1908	0.9995	8.1
	氯虫苯甲酰胺	Y=4482X+2158	0.9994	–1.6
	四氯虫酰胺	Y=3229X–1004	0.9992	9.5
	环溴虫酰胺	Y=6857X+1301	0.9993	–3.5
	氟苯虫酰胺	Y=30581X+1207	0.9997	4.4
鱼肉	溴氰虫酰胺	Y=6608X+3765	0.9992	1.9
	氯虫苯甲酰胺	Y=4424X+2876	0.9997	–2.9
	四氯虫酰胺	Y=3245X+1958	0.9994	10.1
	环溴虫酰胺	Y=6679X+3708	0.9990	–6.0
	氟苯虫酰胺	Y=28860X+7059	0.9996	–1.4
猪肉	溴氰虫酰胺	Y=6298X+4854	0.9990	–2.8
	氯虫苯甲酰胺	Y=3931X+4528	0.9990	–13.7
	四氯虫酰胺	Y=2667X+2173	0.9991	–9.5
	环溴虫酰胺	Y=6384X+5233	0.9998	–10.1
	氟苯虫酰胺	Y=26170X+13740	0.9995	–10.6
猪肝	溴氰虫酰胺	Y=6204X+5802	0.9983	–4.3
	氯虫苯甲酰胺	Y=3827X+3837	0.9991	–16.0
	四氯虫酰胺	Y=2838X+487.9	0.9997	–3.7
	环溴虫酰胺	Y=6076X+2788	0.9989	–14.5
	氟苯虫酰胺	Y=26470X+16630	0.9996	–9.6

注: Y为峰面积; X为目标物质量浓度/(ng/mL); —表示计算结果为0。

表 5 不同基质中 5 种双酰胺类杀虫剂的平均回收率和相对标准偏差(n=6)

Table 5 Average recoveries and RSDs of 5 kinds of diamide insecticides in different substrates (n=6)

基质	添加级别/(μg/kg)	溴氰虫酰胺		氯虫苯甲酰胺		四氯虫酰胺		环溴虫酰胺		氟苯虫酰胺	
		平均回收率/%	RSDs/%	平均回收率/%	RSDs/%	平均回收率/%	RSDs/%	平均回收率/%	RSDs/%	平均回收率/%	RSDs/%
鸡肉	3.0	106.7	1.7	90.0	6.9	90.1	3.9	99.7	2.0	88.0	2.9
	6.0	99.0	3.5	92.3	1.5	85.9	1.5	93.8	2.2	88.4	3.2
	12.0	88.1	1.3	80.2	2.1	80.7	1.2	88.5	4.8	83.8	2.1
鱼肉	3.0	112.4	1.6	104.5	4.6	93.1	6.9	98.0	5.9	112.0	3.2
	6.0	105.8	2.4	96.7	3.9	94.7	4.4	102.7	5.2	111.9	4.3
	12.0	96.2	3.5	83.3	1.8	91.3	2.4	100.5	1.1	112.2	2.3
鸭肉	3.0	99.0	2.7	101.0	1.7	88.1	6.3	95.7	1.5	87.6	4.2
	6.0	100.1	3.5	94.4	2.7	82.6	5.3	97.2	6.9	86.4	2.7
	12.0	85.5	4.5	85.2	2.3	79.6	4.7	89.1	1.5	83.3	0.6
猪肉	3.0	94.2	5.7	96.3	4.7	84.7	1.2	88.1	6.7	88.7	1.8
	6.0	90.0	1.2	86.6	3.3	86.1	5.6	92.2	2.5	90.3	3.2
	12.0	88.3	2.3	88.0	0.9	83.0	6.2	86.8	4.1	86.5	0.4
猪肝	3.0	106.3	4.3	97.6	2.4	97.5	3.8	104.0	0.6	110.9	4.9
	6.0	98.3	3.1	94.5	1.7	89.4	2.3	94.3	3.9	95.7	4.1
	12.0	90.2	4.2	85.2	3.9	85.4	0.5	93.5	1.8	104.1	1.0

2.6 实际样品检测

从重庆市万州本地超市和农贸市场购买了 5 份鸡肉、4 份鱼肉、4 份猪肉、3 份猪肝、2 份鸭肉样品，采用本研究建立的方法进行测定，每份样品平行测定 3 次。检测结果显示：1 份鱼肉中检出氯虫苯甲酰胺，残留量为(4.10±0.25) μg/kg (n=3)，其余样品均未检出双酰胺类杀虫剂残留。参照 GB 2763—2019 中对哺乳动物和禽类的限量最小值(0.01 mg/kg)，检出的鱼肉样品符合规定。

3 讨论与结论

本研究用乙腈提取样品后经 QuEChERS 净化处理，超高效液相色谱-串联质谱仪分析，外标法定量，建立了同时测定动物源性食品中 5 种双酰胺类杀虫剂残留的方法。该法具有溶剂消耗少、成本低、处理效率高、准确度高、重现性好等特点。同时本研究选取鸡鸭肉、猪肉、鱼肉和猪肝等动物源性样本作为检测基质，覆盖面较广，基本代表了动物源性食品品种，适用于动物源性食品中 5 种双酰胺类杀虫剂残留的快速测定。

参考文献

[1] 郑雪松，赖添财，时立波，等. 双酰胺类杀虫剂应用现状[J]. 农药，2012, 51(8): 554–557, 580.
ZHENG XS, LAI TC, SHI LB, *et al*. Current situation on application of novel diamide insecticides [J]. Agrochemicals, 2012, 51(8): 554–557, 580.

[2] 段劲生，王梅，董旭，等. 氯虫苯甲酰胺在水稻及稻田环境中的残留动态[J]. 植物保护, 2016, 42(1): 93–98.
DUAN JS, WANG M, DONG X, *et al*. Residue and degradation of chlorantraniliprole in rice and the environment [J]. Plant Prot, 2016, 42(1): 93–98.

[3] 严明，柏亚罗. 双酰胺类等五大类热点农药的市场概况及产品研发[J]. 现代农药, 2019, 18(1): 7–15.
YAN M, BO YL. Market overview and product R & D on five hot pesticide sectors including diamide class [J]. Mod Agrochem, 2019, 18(1): 7–15.

[4] 陈朗，袁善奎，姜辉，等. 双酰胺类杀虫剂环境风险问题浅析[J]. 农药科学与管理, 2019, 40(3): 19–26.
CHEN L, YUAN SK, JIANG H, *et al*. A brief analysis on the environmental risk of diamide insecticides [J]. Pestic Sci Admin, 2019, 40(3): 19–26.

[5] 马婧玮，马欢，安莉，等. QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法测定主要谷物和油料作物中氯虫苯甲酰胺的残留[J]. 农药学学报, 2018, 20(1): 129–134.
MA JW, MA H, AN L, *et al*. QuEChERS-determination of chlorantraniliprole residues in primary grain and oilseed crops by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Pestic Sci, 2018, 20(1): 129–134.

[6] 林涛，游泳，林荣华，等. 三种双酰胺类杀虫剂制剂对大型溞生长发育和繁殖的影响[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(1): 306–312.
LIN T, YOU Y, LIN RH, *et al*. Effect of three diamide Insecticide preparations on development and re-production of *Daphnia magna* straus

[J]. Asian J Ecotoxicol, 2016, 11(1): 306–312.

[7] 贺敏, 景子伟, 贾春虹, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测番茄和甘蓝中溴虫氟苯双酰胺的残留[J]. 农药, 2019, 58(4): 279–281, 284.
HE M, JING ZW, JIA CH, *et al*. Simultaneous determination of broflanilide residues in tomato and cabbage by UPLC-MS/MS [J]. Agrochemicals, 2019, 58(4): 279–281, 284.

[8] 孙程鹏, 许炳雯, 高娜, 等. Sin-QuEChERS 结合超高效液相色谱串联质谱法同时检测果蔬中 5 种双酰胺类杀虫剂[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(6): 1784–1791.
SUN CP, SUN BW, GAO N, *et al*. Simultaneous determination of 5 kinds of diamide insecticides in fruits and vegetables by Sin-QuEChERS with ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(6): 1784–1791.

[9] 黄美玲, 林毅楠, 周杨, 等. 液相色谱串联质谱法测定油料作物中 3 种双酰胺类杀虫剂残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(15): 5099–5106.
HUANG ML, LIN YN, ZHOU Y, *et al*. Determination of 3 kinds of diamide insecticides in oil crops by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(15): 5099–5106.

[10] 王盛男, 王岩, 李雯雯, 等. 气相色谱法测定土壤中酰胺类除草剂[J]. 分析实验室, 2021, 40(1): 30–33.
WANG SN, WANG Y, LI WW, *et al*. Determination of amide herbicides in soil by gas chromatography [J]. Chin J Anal Lab, 2021, 40(1): 30–33.

[11] 黄丽, 邓毅书, 浦恩堂, 等. HPLC 测定氯虫苯甲酰胺在烟草和土壤中的残留与消解动态[J]. 西南农业学报, 2020, 33(2): 395–400.
HUANG L, DENG YS, PU ENT, *et al*. Residue detection and digestion dynamics of chlorantraniliprole in tobacco plants and soil by HPLC [J]. Southwest Chin J Agric Sci, 2020, 33(2): 395–400.

[12] 吕磊, 彭婕, 甘金华, 等. 分散固相萃取-液质联用法测定稻渔综合种养环境中四种农药残留[J]. 环境化学, 2019, 38(11): 2443–2448.
LV L, PENG J, GAN JH, *et al*. Determination of four pesticide residues in rice-aquaculture integrated cultivation environment using dispersion solid phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectromentry method [J]. Environ Chem, 2019, 38(11): 2443–2448.

[13] AASMA B, NAZIA R, SOFIA K, *et al*. Method optimization and validation for the routine analysis of multi-class pesticide residues in Kinnow Mandarin and fruit quality evaluation [J]. Food Chem, 2022. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130914

[14] MARIA C, DESPO LC, AGAPIOS A. Method validation for the determination of 314 pesticide residues using tandem MS systems (GC-MS/MS and LC-MS/MS) in raisins: Focus on risk exposure assessment and respective processing factors in real samples (A pilot survey) [J]. Food Chem, 2021. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129964

[15] 陈峰, 张宝锋, 何平, 等. 液液萃取-程序升温大体积进样-气相色谱串联质谱法测定地表水中 25 种痕量有机氯农药[J]. 分析试验室, 2020, 39(8): 969–973.
CHEN F, ZHANG BF, HE P, *et al*. Trace analysis of 25 organochlorine pesticides in surface water by liquid liquid extraction-programmed temperature vaponization and large volume injection-gas chromatography tandem mass spectrometry [J]. Chin J Anal Lab, 2020, 39(8): 969–973.

[16] 聂宏骞, 杨路平, 毛书青, 等. 分散液液微萃取-气相色谱-质谱法测定茶饮料中 5 种农药残留[J]. 食品科技, 2020, 45(7): 338–343.
NIE HQ, YANG LP, MAO SQ, *et al*. Determination of five kinds of pesticides residue in tea beverages by dispersive liquid-liquid microextraction combined with GC-MS [J]. Food Sci Technol, 2020, 45(7): 338–343.

[17] 张云, 郑敬峰, 李耀平, 等. 液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中氯虫苯甲酰胺和氟虫酰胺残留量[J]. 食品科学, 2013, 34(10): 272–275.
ZHANG Y, ZHENG JF, LI YP, *et al*. LC-MS/MS determination of chloranteraniliprole and flubendiamide residues in animal-derived foodstuffs [J]. Food Sci, 2013, 34(10): 272–275.

[18] 曾艳, 郎红, 杨巧慧, 等. 固相萃取-GC/LC-MS/MS 测定茶叶中 79 种农药残留[J]. 茶叶科学, 2019, 39(5): 576–586.
ZHEN Y, LANG H, YANG QH, *et al*. Determination of 79 pesticide residues in tea by solid phase extraction with GC-MS/MS and LC-MS/MS [J]. J Tea Sci, 2019, 39(5): 576–586.

[19] 李雯雯, 王岩, 王盛男, 等. 植物源性食品中有机磷农药残留检测前处理技术的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(6): 1852–1858.
LI WW, WANG Y, WANG SN, *et al*. Research progress of pretreatment technology for detection of organophosphorus pesticide residues in plant-derived foods [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(6): 1852–1858.

[20] 曹雪琴, 杨飞, 陈国通, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水果中十种保鲜剂残留量[J]. 食品科学, 2020, 1(4): 319–324.
CAO XQ, YANG F, CHEN GT, *et al*. Determination of 10 preservatives in fruits by ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2020, 1(4): 319–324.

[21] 刘晓云, 陈笑艳, 钟大放. 液相色谱-串联质谱生物分析方法的基质效应和对策[J]. 质谱学报, 2017, 38(4): 388–399.
LIU XY, CHEN XY, ZHONG DF. Matrix effects and countermeasure of liquid chromatography-tandem mass spectrometry in bioanalysis [J]. J Chin Mass Spectrom Soc, 2017, 38(4): 388–399.

[22] 乐渊, 刘春华, 吴南村, 等. 多壁碳纳米管净化-液相色谱串联质谱法测定瓜菜中双酰胺类杀虫剂[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(10): 2961–2966.
LE Y, LIU CH, WU NC, *et al*. Determination of diamide insecticide residues in melons and vegetables using multiwailed carbon nanotubes purification coupled with ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(10): 2961–2966.

[23] HE ZY, CHEN SS, WANG L, *et al*. Multiresidue analysis of 213 pesticides in leek and garlic using QuEChERS-based method and gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. Anal Bioanal Chem, 2015, 407(9): 2637–2643.

(责任编辑: 张晓寒 郑　丽)

作者简介

何旭峰, 工程师, 主要研究方向为食品质量检测与安全分析。
E-mail: 182401266@qq.com

黄小兰, 工程师, 主要研究方向为食品加工与安全分析。
E-mail: 534832723@qq.com