

# 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法测定动物源性产品中磺酰草吡啶及其代谢物残留量

荣杰峰<sup>1,2\*</sup>

(1. 福建省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所/福建省农产品质量安全重点实验室, 福州 350003; 2. 泉州海关综合技术服务中心, 泉州 362000)

**摘要:** **目的** 建立超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法测定动物源性产品中磺酰草吡啶及其代谢物残留量的分析检测方法。**方法** 样品经甲酸-乙腈溶液提取, 提取液先经低温冷冻除脂后, 再采用十八烷基键合硅胶、石墨化碳黑和无水硫酸镁分散固相萃取进行净化, 以 Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱为分析柱, 甲醇-0.2%甲酸溶液为流动相进行梯度洗脱分离, 采用高分辨质谱平行反应监测扫描模式, 以正离子采集进行定性定量分析, 基质匹配外标法定量。**结果** 磺酰草吡啶和磺酰草吡啶-脱甲基在 0.5~50.0 µg/L 范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.995。空白样品在 4 个加标水平下的平均回收率为 82.4%~114.6%, 相对标准偏差( $n=6$ )为 3.1%~8.9%; 方法检出限为 0.3 µg/kg, 定量限为 1.0 µg/kg。**结论** 该方法操作简单快速、灵敏度高、结果准确, 可应用于动物源性产品中磺酰草吡啶及其代谢物的检测。

**关键词:** 磺酰草吡啶; 代谢物; 动物源性产品; 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法

## Determination of pyrasulfotole and its metabolite residues in animal-derived products by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry

RONG Jie-Feng<sup>1,2\*</sup>

(1. Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology, Fujian Academy of Agricultural Sciences/Fujian Key Laboratory of Agro-products Quality & Safety, Fuzhou 350003, China;  
2. Quanzhou Customs Comprehensive Technology Service Center, Quanzhou 362000, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish an analytical method for the determination of pyrasulfotole and its metabolite residue in animal-derived products by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry. **Methods** The samples were extracted with formic acid-acetonitrile solution, the extract was degreased by low temperature freezing first, and then cleaned up with stearyl bonded silica gel, graphitized carbon, and anhydrous magnesium sulfate as dispersive solid-phase extraction sorbent. The chromatographic analysis was performed on a Waters Acquity UPLC HSS T3 column with 0.2% formic acid solution and methanol as mobile phase

**基金项目:** 福建省农产品质量安全重点实验室开放课题项目(KFKT2020-5)

**Fund:** Supported by the Open Project of Fujian Key Laboratory of Agro-products Quality & Safety (KFKT2020-5)

**\*通信作者:** 荣杰峰, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: jfrong2010@163.com

**\*Corresponding author:** RONG Jie-Feng, Master, Senior Engineer, Quanzhou Customs Comprehensive Technology Service Center, Deyuan Industrial & Trade Park Inspection and Quarantine Building, Anxi, Quanzhou 362000, China. E-mail: jfrong2010@163.com

by gradient elution, high resolution mass spectrometry parallel reaction monitoring scanning mode was used for qualitative screening and quantitative analysis by positive ion acquisition and an matrix matching external standard method was used for quantification. **Results** The calibration curves of pyrasulfotole and its metabolite were linear in the range 0.5–50.0  $\mu\text{g/L}$  respectively, with correlation coefficients greater than 0.995. The average recoveries of blank samples at 4 levels were 82.4%–114.6%, the relative standard deviations ( $n=6$ ) were 3.1%–8.9%; and the limits of detection were 0.3  $\mu\text{g/kg}$ , the limits of quantitation were 1.0  $\mu\text{g/kg}$ . **Conclusion** This method is simple, rapid, sensitive and accurate, can be used for rapid detection of pyrasulfotole and its metabolites in animal-derived products.

**KEY WORDS:** pyrasulfotole; metabolite; animal-derived products; ultra performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry

## 0 引言

磺酰草吡唑是拜耳公司研发的用于谷物田的 4-羟基苯基丙酮酸双加氧酶(4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase, HPPD)抑制剂类除草剂,具有高效、安全、环境友好等特点<sup>[1-2]</sup>,现已成为 HPPD 抑制剂中的第五大产品<sup>[3]</sup>,目前在加拿大、美国、澳大利亚广泛用于谷物田除草,磺酰草吡唑及代谢物磺酰草吡唑-脱甲基的结构式见图 1。畜禽类动物食用含磺酰草吡唑残留饲料作物后可能导致其体内产生残留,从而可能通过食物链对人体造成危害,加拿大和美国制定了磺酰草吡唑在牛肉、羊肉、禽肉及相关副产品、蛋和奶等动物源性食品中残留限量值,限量值最低为 0.01 mg/kg,残留限量以磺酰草吡唑及代谢物磺酰草吡唑-脱甲基之和计。目前该农药在中国尚未取得登记,针对磺酰草吡唑的研究相对较少,国内外主要集中在合成和除草应用研究等方面<sup>[4-9]</sup>。分析方法方面在国内外尚未发现磺酰草吡唑的残留分析方法,仅白晓晨等<sup>[10]</sup>采用高效液相色谱法建立了一种测定磺酰草吡唑原药含量的分析方法;目前国内尚未建立磺酰草吡唑的检测技术标准,也缺乏相关限量要求,所以有必要建立磺酰草吡唑在动物源性产品中的痕量分析方法,为相关部门监测进口动物源性产品中磺酰草吡唑的污染现状提供科学依据。

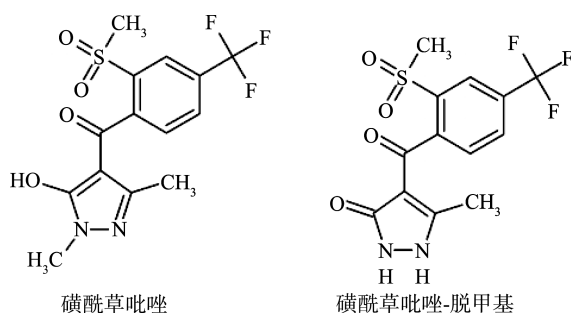


图 1 磺酰草吡唑及其代谢物的结构式

Fig.1 Structural formulas of pyrasulfotole and itsmetabolite

超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法(ultra performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap

high resolution mass spectrometry, UPLC-Q-Orbitrap HRMS)将高选择性的四极杆和高分辨率高灵敏度的轨道阱进行有机结合,具有选择性好、分辨率高和灵敏度优越等突出优点,在动物源食品中的残留物分析和成分检测中已得到广泛应用<sup>[11-16]</sup>。本研究基于冷冻除脂结合分散固相萃取进行样品前处理,结合 UPLC-Q-Orbitrap HRMS,建立动物源性产品中磺酰草吡唑及其代谢物残留的检测方法,旨在为我国动物源性产品中磺酰草吡唑的风险评估提供检测技术支持,防止相关贸易输入风险的发生。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

牛肉、羊肉、猪肉、鸡肉、猪肝、羊肝、鸡蛋和牛奶样品购自市场。

正己烷、丙酮、乙酸乙酯、无水硫酸镁(anhydrous magnesium sulfate,  $\text{MgSO}_4$ )、氯化钠(sodium chloride,  $\text{NaCl}$ )(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);乙腈、甲醇、甲酸(色谱纯,美国 TEDIA 公司);石墨化碳黑(graphitized carbon, GCB)、乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶(primary-secondary amine, PSA)、十八烷基键合硅胶(stearyl bonded silica gel,  $\text{C}_{18}$ )、中性氧化铝(neutral aluminum oxide, AL-N)(上海安谱实验科技股份有限公司);磺酰草吡唑( $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ )、磺酰草吡唑-脱甲基( $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ )(纯度 100  $\mu\text{g/mL}$ , 阿尔塔科技有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱系统、Vanquish UHPLC 超高效液相色谱系统(美国赛默飞世尔科技公司); DTY-86-340-LA 超低温冰柜(北京德天佑公司); H-2050R 高速冷冻离心机(湘仪离心机仪器有限公司); GM200 刀式研磨仪(德国莱驰公司); T25 basic 高速均质机(德国艾卡公司); BSA2202S 分析天平(精度 0.01 g, 德国赛多利斯公司); Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ , 美国沃特世公司); 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜(天津市津腾实验设备有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 样品前处理

牛肉、羊肉、鸡肉、牛肝和羊肝等样品切成小块, 用刀式研磨仪 5000 r/min 粉碎至浆状, 鸡蛋取 10 枚去壳后搅拌均匀, 牛奶样品取约 200 g 搅拌均匀。称取 5 g(精确至 0.01 g)制备好的试样于 50 mL 聚丙烯离心管中, 加入 4 g 氯化钠和 25 mL 0.2%甲酸乙腈溶液, 13500 r/min 均质提取 1 min, 5000 r/min 离心 3 min。吸取 1.5 mL 上清液于 2 mL 聚丙烯离心管中, 于超低温冰箱( $\leq -65^{\circ}\text{C}$ )冷冻 10 min, 低温冷冻离心机 15000 r/min 离心 1 min, 取上清液 1.0 mL 于 2 mL 聚丙烯离心管中, 加入 5 mg GCB 和 10 mg  $\text{C}_{18}$  和 20 mg  $\text{MgSO}_4$ , 涡旋混合 1 min, 12000 r/min 离心 3 min, 取上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜, 待测定。

1.3.2 标准溶液的配制

分别吸取适量的磺酰草吡唑和磺酰草吡唑-脱甲基标准储备液, 用甲醇稀释成 1 mg/L 磺酰草吡唑和磺酰草吡唑-脱甲基的混合标准中间液; 再用甲醇和空白样品提取液(空白样品按 1.3.1 节处理)稀释质量浓度为 0.5、1.0、2.0、10.0、50.0  $\mu\text{g/L}$  的系列标准工作溶液和基质匹配标准工作溶液, 工作溶液现配现用。

1.3.3 仪器条件

色谱条件: Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱(2.1 mm $\times$  100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ ); 流速: 0.4 mL/min; 进样量: 5  $\mu\text{L}$ ; 流动相 A 为 0.2%甲酸水; 流动相 B 为甲醇; 梯度洗脱程序: 0~2.0 min, 10% B; 2.0~2.5 min, 10%~90% B; 2.5~5.0 min, 90% B; 5.0~5.1 min, 90%~10% B; 5.1~7.0 min, 10% B。

质谱条件: HESI 离子化方式; 喷雾电压为 3500 V; 毛细管温度为 350 $^{\circ}\text{C}$ ; 离子传输管温度: 350 $^{\circ}\text{C}$ ; 采集方式: 平行反应监测(parallel reaction monitoring, PRM)模式, 正离子模式; 鞘气( $\text{N}_2$ ): 35 arb; 辅助气( $\text{N}_2$ ): 10 arb; 二级扫描分辨率: 17500; 二级质谱碰撞能为归一化碰撞能(normalized collision energy, NCE): 20%、40%、60%。

在上述质谱条件下, 优化得到磺酰草吡唑及代谢物的质谱参数见表 1。

1.4 数据处理

实验数据采集和定性分析通过 Thermo Xcalibur4.2 软件完成, 检测结果的定量和数据分析通过 Thermo TraceFinder4.1 软件完成, 并通过 Microsoft Excel 2007 软件进行图形绘制。

2 结果与分析

2.1 仪器条件的优化

2.1.1 流动相体系的选择

流动相体系的选择直接决定了目标化合物的峰型、响应和出峰时间, 实验考察了常用的流动相体系甲醇-水、甲醇-0.1%甲酸水, 甲醇-0.2%甲酸水、甲醇-5 mmol/L 乙酸铵水(含 0.1%甲酸)、乙腈-水和乙腈-0.2%甲酸水对色谱峰形和信号响应的影响。结果表明, 未添加甲酸的流动相体系(甲醇-水和乙腈-水)中磺酰草吡唑和磺酰草吡唑-脱甲基的峰型均出现前伸和拖尾现象; 峰形在流动相体系添加甲酸后得到明显改善, 并且在水相中的甲酸含量达到 0.2%时两种物质的峰形能达到较好的状态; 水相中添加乙酸铵对磺酰草吡唑和磺酰草吡唑-脱甲基的响应和峰形无明显影响。所以, 甲醇-0.2%甲酸水和乙腈-0.2%甲酸水均可作为本研究的流动相体系, 最终选择系统压力较小的甲醇-0.2%甲酸水为流动相。

2.1.2 质谱条件优化

利用 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 的 PRM 模式对磺酰草吡唑及磺酰草吡唑-脱甲基混合标准溶液进行检测, 通过提供化合物的精确分子质量和分子离子峰类型, 即可准确寻找到母离子/子离子, 实验发现采用正离子模式对磺酰草吡唑及磺酰草吡唑-脱甲基进行检测的响应明显优于负离子模式, 所以最终选择分子离子峰类型为 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。碰撞能量使用归一化碰撞能量(NCE)比较了 10%, 20%, 30%、20%, 40%, 60%和 30%, 50%, 70% 3 组数据之间的差异, 发现磺酰草吡唑及其代谢物均在使用 20%, 40%, 60%的 NCE 下能获得更好的响应, 图 2 为 1 ng/mL 磺酰草吡唑和磺酰草吡唑-脱甲基的二级质谱定量离子提取离子流色谱图。

2.2 前处理方法的优化

2.2.1 提取溶剂及用量的选择

动物源性产品常用的提取溶剂有丙酮、乙酸乙酯、甲醇和乙腈等<sup>[17-19]</sup>, 实验选择丙酮、乙酸乙酯和乙腈为提取溶剂, 以磺酰草吡唑及其代谢物的平均回收率为指标(加标量 2  $\mu\text{g/kg}$ )考察不同溶剂的提取效果, 采用溶剂标准曲线进行校准定量。对于丙酮和乙酸乙酯, 按照 1.3.1 进行提取净化处理后, 对提取液 40 $^{\circ}\text{C}$ 氮吹至干后用 1 mL 乙腈复溶后上机。由图 3 可知, 丙酮和乙腈为提取溶剂时, 磺酰草吡唑及其代谢物的回收率明显高于采用乙酸乙酯为提取溶剂时的回收率, 但采用丙酮为提取溶剂时提取液中脂溶

表 1 磺酰草吡唑及其代谢物的定性定量分析质谱数据

Table 1 Mass spectrometric parameters for qualitative and quantitative analysis of pyrasulfotole and its metabolites

| 化合物       | 分子式                                                                | 精确分子质量( $m/z$ ) | 离子峰类型                   | 保留时间/min | 子离子( $m/z$ )          |
|-----------|--------------------------------------------------------------------|-----------------|-------------------------|----------|-----------------------|
| 磺酰草吡唑     | $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ | 363.06210       | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 3.95     | 250.99136*, 113.06780 |
| 磺酰草吡唑-脱甲基 | $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ | 349.04640       | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 3.94     | 250.99136*, 283.01663 |

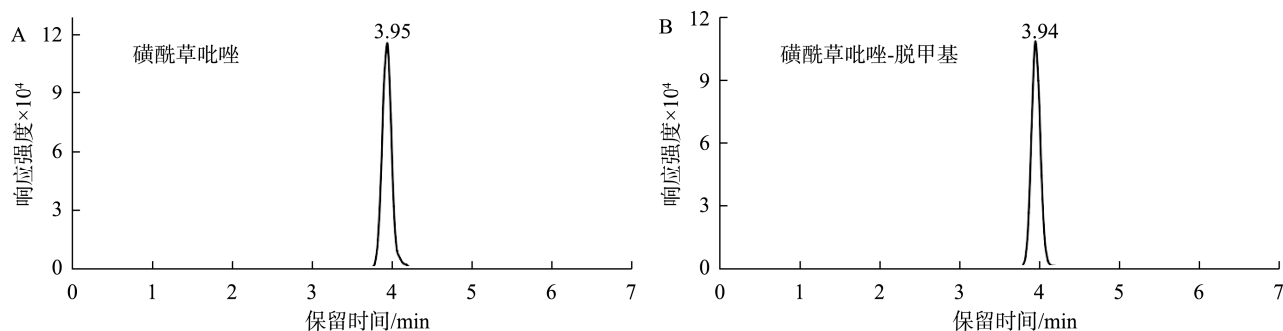


图 2 磺酰草吡唑及其代谢物(1 ng/mL)二级质谱定量离子提取离子色谱图

Fig.2 Secondary mass spectrometry quantitative ion extraction chromatograms of pyrasulfotole and its metabolites (1 ng/mL)

性杂质较多, 溶液比较浑浊, 为后续净化带来困难; 乙腈具有较好的蛋白沉淀作用<sup>[20-21]</sup>, 提取溶液相对更加清澈, 综合考虑选择乙腈作为提取溶剂, 在此基础上向乙腈溶剂中加入少量的甲酸, 发现微量甲酸的加入有利于提取回收率的提高, 并在 0.2% 时达到较好的状态, 当甲酸的加入量继续增加, 回收率反而减小, 可能更高含量的甲酸反而降低了目标物质的溶解性, 所以最终选择 0.2% 甲酸乙腈为提取溶剂。

在此基础上, 选择 10、25 和 50 mL 进行实验优化提取溶剂用量。结果如图 4 所示, 提取溶剂用量为 10 mL 时,

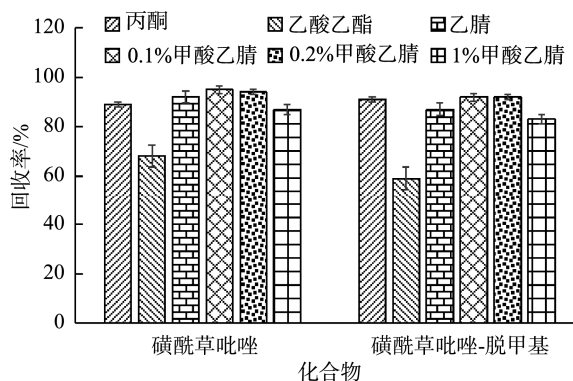


图 3 不同提取溶剂对磺酰草吡唑及其代谢物提取回收率的影响( $n=3$ )

Fig.3 Effects of different extraction solvents on the recovery of pyrasulfotole and its metabolite ( $n=3$ )

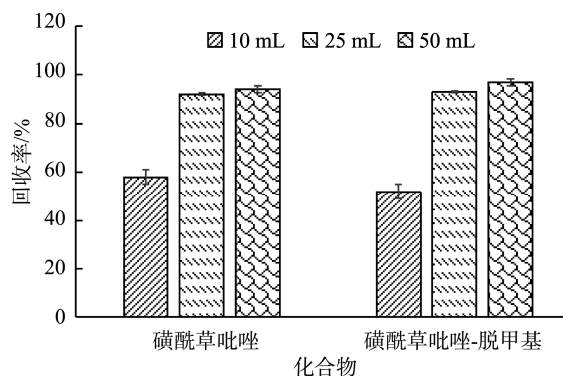


图 4 提取溶剂体积对磺酰草吡唑及其代谢物回收率的影响( $n=3$ )

Fig.4 Effects of extraction solvent volume on the recoveries of pyrasulfotole and its metabolite ( $n=3$ )

由于基质效应等因素的影响, 磺酰草吡唑及其代谢物的回收率低于 60%, 乙腈用量为 25 mL 和 50 mL 时, 回收率无显著差异, 均可达到分析测定要求, 所以考虑成本和操作便捷性, 最终选取 25 mL 为最佳提取溶剂用量。

### 2.2.2 净化过程的优化

动物源性样品基质复杂, 所含的多种基质与目标化合物具有相似理化性质, 基质共提取物容易导致目标化合物的离子化效率的抑制或增强, 同时造成仪器的污染, 从而应该在前处理过程予以去除, 动物源性样品常见的共提取物主要有脂肪、脂肪酸、色素和糖类等<sup>[18,20-23]</sup>。本研究参照文献方法冷冻除脂后, 提取液中剩余的脂肪含量较少, 可使用 QuEChERS 净化方法进一步净化<sup>[24-25]</sup>。常用的 QuEChERS 净化试剂有 PSA、C<sub>18</sub>、GCB、AL-N 和 MgSO<sub>4</sub>。实验考察了 20 mg PSA、C<sub>18</sub>、GCB、AL-N 和 MgSO<sub>4</sub> 5 种净化试剂对磺酰草吡唑和磺酰草吡唑-脱甲基标准溶液的吸附回收率(图 5), 发现 PSA 和 AL-N 对两种物质的吸附明显, 回收率均低于 60%, C<sub>18</sub> 对两种物质也有轻微的吸附, 但回收率在 85% 以上, 可能是 PSA 和 AL-N 对酸性农药的较容易吸附的缘故, 最终选择 GCB、C<sub>18</sub>、MgSO<sub>4</sub> 作为本研究的净化试剂。GCB 能基本去除基质中的天然色素; 而 C<sub>18</sub> 可进一步减少溶液中的脂肪及脂肪酸, MgSO<sub>4</sub> 用于去除样液中的水分。实验进一步考察了净化试剂用量, 实验发现因基质的浓度相对较小, 5 mg GCB 即可对基质中的色素

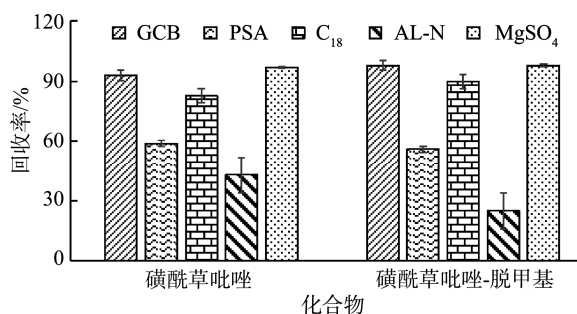


图 5 净化试剂对磺酰草吡唑及其代谢物回收率的影响( $n=3$ )

Fig.5 Effects of extraction purification reagents on the recoveries of pyrasulfotole and its metabolite ( $n=3$ )

基本清除,在此基础上考察了不同 C<sub>18</sub> 用量(5、10、20、35 和 50 mg)对净化回收率的影响,结果表明,5、10 和 20 mg 的回收率相差不大,但超过 20 mg C<sub>18</sub> 样液中的磺酰草吡唑及代谢物的回收率逐渐降低,综合考虑实验选择净化试剂用量为 5 mg GCB+10 mg C<sub>18</sub>+20 mg MgSO<sub>4</sub>。

2.3 基质效应的考察

Q-Orbitrap HRMS 相较于常规的三重四极杆质谱具有更强的抗干扰能力,但基质效应(matrix effects, ME)仍然存在,且动物源性样品众多,不同类型基质差异显著,可能存在基质抑制或基质增强效应,因此有必要对基质效应进行评价;本研究按基质效应公式对净化后基质效应进行评估:基质效应(ME)=[(基质匹配校准曲线斜率/纯溶剂标准曲线率)-1]×100%<sup>[18,22,26-28]</sup>。评估结果如图 6 所示,牛肉、羊肉、猪肉、鸡肉和鸡蛋 5 种基质中磺酰草吡唑及磺酰草吡唑-脱甲基的绝对基质效应均小于 20%,为弱基质效应,但猪肝、羊肝和牛奶中磺酰草吡唑及磺酰草吡唑-脱甲基的基质效应均小于-20%,表现为基质抑制效应,为中等基质效应,需采取措施补偿<sup>[29-30]</sup>,本研究采用基质匹配校准法进行基质效应的补偿,以降低基质效应对目标化合物回收率的影响。

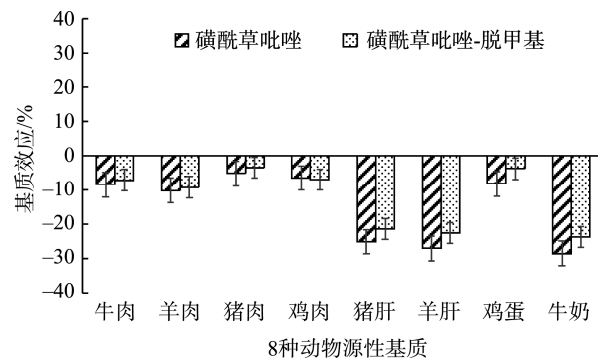


图 6 不同基质中磺酰草吡唑及代谢物的基质效应  
Fig.6 Matrix effects of pyrasulfotole and its metabolites in different substrates

2.4 方法学验证

2.4.1 线性关系与定量限

按照 1.3.2 方法配制磺酰草吡唑及其代谢物系列标准工作溶液及基质匹配标准工作溶液,按 1.3.3 仪器条件进行检测,以磺酰草吡唑及其代谢物质量浓度(X, μg/L)为横坐标,以定量离子峰面积为纵坐标(Y)绘制标准工作曲线。在空白样品溶液中添加适量的标准溶液后上机测定,以 3 倍信噪比(S/N=3)确定方法的检测限(limits of detection, LODs),以 10 倍信噪比(S/N=10)确定方法的定量限(limits of quantitation, LOQs),磺酰草吡唑及其代谢

物在溶剂和不同基质中的线性回归方程和相关系数(r)见表 2。结果表明,在溶剂和 8 种基质提取液中,磺酰草吡唑及其代谢物在线性范围 0.5~50.0 μg/L 内线性关系良好,相关系数均大于 0.995;方法检出限为 0.3 μg/kg,方法定量限为 1.0 μg/kg。

表 2 磺酰草吡唑及其代谢物的回归方程和相关系数  
Table 2 Regression equation and correlation coefficient (r) of pyrasulfotole and its metabolite

| 化合物       | 基质 | 回归方程                                 | 相关系数   |
|-----------|----|--------------------------------------|--------|
| 磺酰草吡唑     | 溶剂 | $Y=5.835\times10^5X+2.546\times10^5$ | 0.9989 |
|           | 牛肉 | $Y=5.342\times10^5X-0.765\times10^5$ | 0.9956 |
|           | 羊肉 | $Y=5.243\times10^5X+5.454\times10^5$ | 0.9977 |
|           | 猪肉 | $Y=5.536\times10^5X-6.944\times10^4$ | 0.9978 |
|           | 鸡肉 | $Y=5.456\times10^5X-4.488\times10^5$ | 0.9988 |
|           | 猪肝 | $Y=5.268\times10^5X+4.457\times10^4$ | 0.9967 |
|           | 羊肝 | $Y=5.256\times10^5X+3.568\times10^5$ | 0.9958 |
|           | 鸡蛋 | $Y=5.355\times10^5X+3.676\times10^5$ | 0.9988 |
|           | 牛奶 | $Y=5.225\times10^5X-4.476\times10^5$ | 0.9987 |
|           | 溶剂 | $Y=8.432\times10^5X+2.543\times10^5$ | 0.9968 |
| 磺酰草吡唑-脱甲基 | 牛肉 | $Y=7.832\times10^5X+4.548\times10^5$ | 0.9974 |
|           | 羊肉 | $Y=7.658\times10^5X+5.348\times10^5$ | 0.9963 |
|           | 猪肉 | $Y=8.141\times10^5X+6.258\times10^4$ | 0.9966 |
|           | 鸡肉 | $Y=7.845\times10^5X-2.358\times10^5$ | 0.9968 |
|           | 猪肝 | $Y=6.632\times10^5X-1.567\times10^5$ | 0.9978 |
|           | 羊肝 | $Y=6.532\times10^5X+7.978\times10^4$ | 0.9978 |
|           | 鸡蛋 | $Y=8.115\times10^5X-3.378\times10^5$ | 0.9968 |
|           | 牛奶 | $Y=6.432\times10^5X+1.232\times10^5$ | 0.9976 |

2.4.2 回收率与相对标准偏差

分别对牛肉、羊肉、猪肉、鸡肉、猪肝、羊肝、鸡蛋和牛奶样品空白样品进行 4 个水平的加标回收实验,每个加标浓度平行测定 6 次,回收率和相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs, n=6)见表 3。磺酰草吡唑及其代谢物磺酰草吡唑-脱甲基在 4 个加标水平下的平均回收率为 82.4%~114.6%,RSDs 为 3.1%~8.9%,符合 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范》的要求(当含量 X<0.1 mg/kg 时,回收率范围应在 60%~120%之间,RSDs<15%),表明本方法具有较好的准确度和精密度。

2.5 实际样品检测

用本方法对市售的牛肉、羊肉、猪肉、鸡肉、猪肝、羊肝、鸡蛋和牛奶样品各 5 个进行检测,仅在一份进口牛奶样品中检出磺酰草吡唑,检测值为 2.3 μg/kg,含量较低,代谢物磺酰草吡唑-脱甲基均未检出。

表 3 磺酰草吡啶及其代谢物在不同样品中的平均回收率和相对标准偏差(n=6)  
Table 3 Average recoveries and RSDs for pyroxasulfone spiked in different sample matrices (n=6)

|               | 样品种类 | 加标 1 μg/kg |        | 加标 2 μg/kg |        | 加标 10 μg/kg |        | 加标 60 μg/kg |        |
|---------------|------|------------|--------|------------|--------|-------------|--------|-------------|--------|
|               |      | 回收率/%      | RSDs/% | 回收率/%      | RSDs/% | 回收率/%       | RSDs/% | 回收率/%       | RSDs/% |
| 磺酰草吡啶         | 牛肉   | 94.5       | 6.7    | 89.2       | 4.1    | 95.8        | 6.2    | 95.6        | 5.3    |
|               | 羊肉   | 94.1       | 6.1    | 93.9       | 4.5    | 96.8        | 5.8    | 92.5        | 4.6    |
|               | 猪肉   | 97.3       | 6.6    | 109.8      | 3.1    | 95.6        | 5.4    | 114.6       | 4.7    |
|               | 鸡肉   | 93.0       | 7.4    | 95.2       | 5.6    | 94.6        | 5.7    | 87.0        | 5.3    |
|               | 猪肝   | 82.4       | 6.5    | 84.6       | 6.7    | 93.5        | 6.2    | 96.4        | 4.9    |
|               | 羊肝   | 86.1       | 8.5    | 91.8       | 6.4    | 102.4       | 4.8    | 98.3        | 4.1    |
|               | 鸡蛋   | 95.3       | 7.6    | 92.7       | 6.0    | 97.5        | 6.7    | 98.4        | 8.9    |
|               | 牛奶   | 96.8       | 6.5    | 94.6       | 5.5    | 96.5        | 5.9    | 98.0        | 6.3    |
| 磺酰草吡啶-<br>脱甲基 | 牛肉   | 92.4       | 6.4    | 91.4       | 6.3    | 98.7        | 5.3    | 96.5        | 4.3    |
|               | 羊肉   | 89.4       | 6.3    | 88.5       | 5.6    | 93.6        | 4.6    | 97.5        | 3.4    |
|               | 猪肉   | 94.3       | 5.4    | 98.6       | 6.3    | 94.5        | 4.9    | 95.5        | 4.6    |
|               | 鸡肉   | 89.6       | 5.7    | 93.4       | 5.4    | 95.5        | 4.6    | 93.6        | 5.2    |
|               | 猪肝   | 85.2       | 7.6    | 87.5       | 6.5    | 94.8        | 5.9    | 95.4        | 4.6    |
|               | 羊肝   | 87.3       | 7.9    | 93.5       | 7.3    | 98.5        | 6.7    | 95.4        | 5.6    |
|               | 鸡蛋   | 88.9       | 8.6    | 86.9       | 7.9    | 93.7        | 5.8    | 96.8        | 5.3    |
|               | 牛奶   | 94.7       | 5.8    | 92.6       | 5.3    | 97.5        | 5.1    | 101.5       | 4.5    |

3 结 论

本研究中以动物源性产品为实验对象，通过优化流动相体系、筛选提取溶剂及用量、对提取和净化过程进行研究，并选用高选择性、高分辨率和高灵敏度的 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 进行测定，该方法的检出限为 0.3 μg/kg，定量限为 1.0 μg/kg，达到了超痕量级，使得方法具有高的灵敏度和特异性；同时通过考察了基质效应，使用基质匹配校准法进行定量，有效减弱基质效应的影响，确保了方法的准确性。本研究选取牛肉、猪肉、羊肝、鸡蛋和牛奶动物源性样本作为检测基质，覆盖面较广，基本可代表动物源性产品品种，能满足实验室大批量动物源性产品中磺酰草吡啶及其代谢物残留量的快速检测需求；从实际样品的检测情况看，在一份进口牛奶样品中检出磺酰草吡啶，该方法的建立对于进口动物源性产品中磺酰草吡啶的监测具有较好的现实意义。

参考文献

[1] 秦博, 英君伍, 崔东亮, 等. 磺酰草吡啶的合成与生物活性研究[J]. 现代农药, 2020, 19(4): 19–22.  
QIN B, YING JW, CUI DL, *et al.* Synthesis and bioactivity of pyrasulfotole [J]. Mod Agrochem, 2020, 19(4): 19–22.

[2] 赵全刚, 英君伍, 刘鹏飞, 等. 除草剂 pyrasulfotole 的合成[J]. 农药, 2017, 56(5): 324–325, 338.  
ZHAO QG, YING JW, LIU PF, *et al.* Synthesis of herbicide pyrasulfotole [J]. Chin J Pestic, 2017, 56(5): 324–325, 338.

[3] 柏亚罗. HPPD 抑制剂类除草剂的产品研发及市场概况[J]. 世界农药, 2021, 43(5): 1–13, 56.  
BAI YL. R&D and market profile on HPPD inhibitor herbicides [J]. World Pestic, 2021, 43(5): 1–13, 56.

[4] MAHONEY KJ, MCNAUGHTON KE, SIKKEMA A, *et al.* Control of

glyphosate-resistant horseweed in winter wheat with pyrasulfotole premixed with bromoxynil [J]. Weed Technol, 2016, 30(1): 291–296.

[5] GREY TL, DIERA A, MOORE JM, *et al.* Effect of pyrasulfotole carryover to peanut and tobacco [J]. Weed Technol, 2017, 31(5): 1–7.

[6] BRANDON RE, XUE Q, BELL J, *et al.* Palmer amaranth control and grain sorghum injury with pyrasulfotole plus bromoxynil and tank mixtures [J]. Crops Soils, 2017, 50(2): 42–49.

[7] REDDY SS, STAHLMAN PW, GEIER PW, *et al.* Weed control and crop safety with premixed pyrasulfotole and bromoxynil in grain sorghum [J]. Weed Technol, 2013, 27(4): 664–670.

[8] FROMME DD, GRICHAR WJ, DOTRAY PA, *et al.* Grain sorghum tolerance and weed control with pyrasulfotole plus bromoxynil combinations [J]. Crop Management, 2013, 12(1): 1–9.

[9] REDDY SS, STAHLMAN PW, GEIER PW, *et al.* Broadleaf weed control and crop safety with premixed pyrasulfotole and bromoxynil in winter wheat [J]. Am J Plant Sci, 2012, 3(11): 1613–1618.

[10] 白晓晨, 梁爽, 孙冰, 等. 磺酰草吡啶的高效液相色谱分析[J]. 农药, 2021, 60(10): 732–734.  
BAI XC, LIANG S, SUN B, *et al.* Analysis of pyrasulfotole by high performance liquid chromatography [J]. Chin J Pestic, 2021, 60(10): 732–734.

[11] 张朋杰, 张宪臣, 李云松, 等. QuEChERS 结合超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法快速测定禽畜肉中 157 种农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(16): 5391–5400.  
ZHANG PJ, ZHANG XC, LI YS, *et al.* Rapid determination of 157 kinds of pesticide residues in livestock and poultry meat by QuEChERS combined with ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(16): 5391–5400.

[12] PHILLIPS AL, WILLIAMS AJ, SOBOS JR, *et al.* A framework for utilizing high resolution mass spectrometry and non-targeted analysis (NTA) in rapid response and emergency situations [J]. Environ Toxicol Chem, 2021, 41(5): 1117–1130.

[13] 李云飞, 张薇, 高燕, 等. 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法测定动物源性食品中 33 种兽药残留及质谱库的建立[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(2): 629–635.

- LI YF, ZHANG W, GAO Y, *et al.* Detection of veterinary drug residues in animal-derived foods by ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry and establishment of mass library [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(2): 629–635.
- [14] SUN Z, ZHAO MF, ZUO LH, *et al.* Rapid qualitative profiling and quantitative analysis of *Juglandis Mandshuricae* Cortex and seven flavonoids by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2021, 45(2): 518–528.
- [15] CHENG SD, WEI Z, XIAO ZM, *et al.* Trace analysis and identification of 33 sulfonamides and sulfonamide potentiators in eggs by ultrahigh-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-high-field orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. *Anal Methods*, 2021, 13(38): 4452.
- [16] LI TT, CAO JJ, LI Z, *et al.* Broad screening and identification of  $\beta$ -agonists in feed and animal body fluid and tissues using ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometry combined with spectra library search [J]. *Food Chem*, 2016, 192: 188–196.
- [17] 陈思敏, 吴映璇, 蓝草, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定乳制品中苯并咪唑类药物及其代谢物的残留量[J]. *理化检验(化学分册)*, 2020, 56(5): 553–564.
- CHEN SM, WU YX, LAN C, *et al.* UHPLC-MS/MS Determination of residual amounts of benzimidazole and its metabolites in dairy products [J]. *Phys Test Chem Anal Part B*, 2020, 56(5): 553–564.
- [18] 李蔚然, 郑铎, 汤晓艳. 基于液相色谱-串联质谱法的动物源性食品中 33 种农药及其代谢物的测定[J]. *农产品质量与安全*, 2022, (6): 5–14.
- LI WR, ZHENG X, TANG XY. Determination of 33 pesticides and their metabolites residue in animal-derived foods by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Qual Saf Agro-prod*, 2022, (6): 5–14.
- [19] 宁霄, 金绍明, 高文超, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中氟虫腈及其代谢物残留[J]. *分析化学*, 2018, 46(8): 1297–1305.
- NING X, JIN SM, GAO WC, *et al.* Determination of fipronil and its metabolites in vegetative foods by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2018, 46(8): 1297–1305.
- [20] 吴香伦, 周华, 黄琴, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法快速检测动物源性食品中 14 种喹诺酮类药物残留[J]. *中国卫生检验杂志*, 2021, 31(5): 545–549.
- WU XL, ZHOU H, HUANG Q, *et al.* QuEChERS-ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for rapid detection of 14 quinolones residues in animal-derived foods [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2021, 31(5): 545–549.
- [21] 王敬, 张海超, 贾海涛, 等. QuEChERS/高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中 14 种蛋白同化激素残留[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(20): 291–299.
- WANG J, ZHANG HC, JIA HT, *et al.* Determination of 14 anabolic androgenic steroids in animal derived foods by QuEChERS-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2022, 43(20): 291–299.
- [22] 何旭峰, 黄小兰, 肖琦, 等. 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[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(20): 7977–7985.
- HE XF, HUANG XL, XIAO Q, *et al.* Simultaneous determination of 5 kinds of bisamide insecticides residues in animal-derived foods by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(20): 7977–7985.
- [23] 刘开, 郭建博, 薛晓文, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中硝基咪唑类药物及其代谢物的残留量的研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(19): 6751–6758.
- LIU K, GUO JB, XUE XW, *et al.* Determination of nitroimidazoles and their metabolites residues in foodstuffs of animal origin by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(19): 6751–6758.
- [24] 潘晓玉, 王宗义, 赵逸涵, 等. 冷冻脱脂-分散固相萃取/气相色谱-串联质谱法检测食用植物油中 4 种多环芳烃[J]. *分析试验室*, 2022, 41(4): 419–423.
- PAN XY, WANG ZY, ZHAO YH, *et al.* Determination of 4 kinds of PAHs in edible plant oil by gas chromatography-tandem mass spectrometry with frozen defatting dispersive solid-phase extraction [J]. *Chin J Anal Lab*, 2022, 41(4): 419–423.
- [25] 马蒙蒙, 王宗义, 贾明宏, 等. 超低温冷冻脱脂-气相色谱串联质谱法检测食用植物油中 21 种邻苯二甲酸酯[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(12): 271–274, 300.
- MA MM, WANG ZY, JIA MH, *et al.* Determination of 21 phthalic acid esters in edible vegetable oils by gas chromatography-tandem mass spectrometry with removing fat through ultra low temperature freezing [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2018, 39(12): 271–274, 300.
- [26] 李子豪, 王昌钊, 赵铁营, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定乳及乳制品中苯菌酮的残留量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(20): 6684–6691.
- LI ZH, WANG CZ, ZHAO TY, *et al.* Determination of metrafenone residues in milk and milk products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(20): 6684–6691.
- [27] 张海超, 王敬, 洪灯, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定动物源性食品中 46 种食源性兴奋剂残留量[J]. *食品科学*, 2022, 43(14): 338–345.
- ZHANG HC, WANG J, HONG D, *et al.* Simultaneous determination of 46 foodborne stimulant drug residues in animal-derived foods by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2022, 43(14): 338–345.
- [28] 荣杰峰, 张志勇, 张松艳, 等. 气相色谱-三重四极杆质谱法测定动物源性食品中砒唑草啉残留量[J]. *分析测试学报*, 2022, 41(8): 1242–1246.
- RONG JF, ZHANG ZY, ZHANG SY, *et al.* Determination of pyrazosulfone residues in animal-derived foods by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2022, 41(8): 1242–1246.
- [29] 周剑, 王敏, 杨梦瑞. 液相色谱质谱分析中的基质效应研究[J]. *农产品质量与安全*, 2018, (1): 67–70.
- ZHOU J, WANG M, YANG MR. Matrix effect in liquid chromatography-mass spectrometry analysis [J]. *Qual Saf Agro-prod*, 2018, (1): 67–70.
- [30] RAJSKI L, LOZANO A, UCLÈS A, *et al.* Determination of pesticide residues in high oil vegetal commodities by using various multi-residue methods and clean-ups followed by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1304: 109–120.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

## 作者简介



荣杰峰, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: jfrong2010@163.com