

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2016.05.2015112002

贺敏, 宋丹, 董丰收, 等. UPLC-MS/MS 快速检测韭菜和土壤中氟虫腈及其代谢物残留[J]. 环境化学, 2016, 35(5): 925-932

HE Min, SONG Dan, DONG Fengshou, et al. Determination of fipronil and its metabolites in leek and soil by ultrahigh performance liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Environmental Chemistry, 2016, 35(5): 925-932

UPLC-MS/MS 快速检测韭菜和 土壤中氟虫腈及其代谢物残留*

贺敏^{1,2} 宋丹³ 董丰收² 郑永权^{2**}

(1. 北京市农林科学院植物保护环境保护研究所, 北京, 100097;

2. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京, 100193; 3. 长江大学农学院, 荆州, 434025)

摘 要 建立了韭菜和土壤中氟虫腈及其代谢物的多残留分析方法. 样品经乙腈提取, 分散固相萃取剂净化土壤, 固相萃取柱净化韭菜, 超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱在多反应离子监测模式下检测, 基质匹配外标法定量. 在 0.001—0.2 mg·kg⁻¹ 添加浓度范围内, 4 个化合物的平均回收率为 71.8%—107.9%, 相对标准偏差为 1.5%—15.4%, 最小检出量 (LOD) 在 0.0001—0.012 ng 范围内, 土壤中最低检测浓度 (LOQ) 为 0.001 mg·kg⁻¹, 韭菜中最低检测浓度 (LOQ) 为 0.002 mg·kg⁻¹. 该方法满足农药残留检测的要求, 适合韭菜和土壤样品中氟虫腈及其代谢物的残留检测.

关键词 超高效液相色谱-串联质谱, 氟虫腈, 脱亚硫酰基氟虫腈, 氟虫腈砜, 氟虫腈硫醚.

Determination of fipronil and its metabolites in leek and soil by ultrahigh performance liquid chromatography-mass spectrometry

HE Min^{1,2} SONG Dan³ DONG Fengshou² ZHENG Yongquan^{2**}

(1. Institute of Plant Protection and Environment Protection, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Science, Beijing, 100097, China;

2. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, 100193, China;

3. College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou, 434025, China)

Abstract: A method was developed for the simultaneous determination of fipronil, fipronil desulfinyl, fipronil sulfone and fipronil thioether in leek and soil. The residues were extracted from samples with acetonitrile. Soil sample was cleaned up by 100 mg florisisl, and leek sample was cleaned up by solid phase extraction (SPE) column. They were detected by ultrahigh performance liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-MS/MS) under multiple reaction monitoring mode, external standard method for quantitative by matrix-match standard solution. Average recoveries of the method ranged from 71.8%—107.9%, and the relative standard deviation was 1.5%—15.4%. The limit of detection (LOD) of these four compound were in the range of 0.0001—0.012 ng, while limit of quantification (LOQ) was 0.001 mg·kg⁻¹ in soil and 0.002 mg·kg⁻¹ in leek, respectively. The method was simple and reliable. It meets with the requirement of pesticide residues analysis, and could be applied for determining fipronil, fipronil desulfinyl, fipronil sulfone and fipronil thioether in leek and soil samples.

2015 年 11 月 20 日收稿 (Received: November 20, 2015).

* 国家公益性行业 (农业) 科研专项 (201303027) 资助.

Supported by the Special Fund for Agro-Scientific Research in the Public Interest (201303027).

** 通讯联系人, Tel: 010-62815908, E-mail: yqzheng@ippcaas.cn

Corresponding author, Tel: 010-62815908, E-mail: yqzheng@ippcaas.cn

Keywords: ultrahigh performance liquid chromatography-mass spectrometry, fipronil, fipronil desulfinyl, fipronil sulfone, fipronil thioether.

韭菜在我国属于小宗作物,其生产过程中发生的韭蛆防治难度大,但目前国内登记防治韭蛆的杀虫剂少(只有吡虫啉、辛硫磷、氯氰菊酯和氟啶脲),开发高效低残留低风险化学防治技术是控制韭蛆、保证韭菜安全生产的重要举措。氟虫腈具有杀虫谱广、活性高、作用速度快、持效期长等特点^[1-2],对土壤中的根蛆害虫有较好的防治效果,但它在韭菜地使用后,韭菜上的残留情况目前还未见相关报道。

我国对氟虫腈的残留物定义为氟虫腈及其代谢物之和,GB/T 2763—2014 规定氟虫腈在韭菜上的最大残留限量为 0.02 mg·kg⁻¹^[3]。关于氟虫腈的检测分析方法,已见报道的有气相色谱^[4-6]、气质联用^[7-9]、液相色谱^[10-12]、液质联用^[13],均未涉及代谢物分析。MOHAPATRA、KUMAR、Wang、Cheng^[14-17]等陆续报道了花粉、玉米等作物中氟虫腈及其代谢物的残留检测方法,主要采用微萃取-气相色谱/质谱和 QuEChERS-液相色谱/质谱的方法。韭菜的基质非常复杂,富含色素、挥发油、含硫化合物^[18],采用微萃取和 QuEChERS 方法净化,共萃取物对目标化合物的干扰大,而固相萃取(SPE)比 QuEChERS 净化能排除更多的杂质,减小基质效应,有利于韭菜样品中目标化合物的准确定性定量。GB/T 2763—2014 中推荐氟虫腈在蔬菜上的检测按照 GB/T 20769^[19]和 SN/T 1982^[20]的方法测定。但 GB/T 20769 中没有涉及氟虫腈的检测分析,SN/T 1982 仅仅规定了母体氟虫腈的气相色谱-质谱检测,没有代谢物的测定分析方法。

为此,本文开展了韭菜和土壤中氟虫腈及其代谢物的多残留分析方法研究,利用乙腈超声提取,石墨化炭黑固相萃取柱净化,超高效液相色谱分离,三重四极杆串联质谱在多反应离子模式下同时检测韭菜中氟虫腈、脱亚硫酰基氟虫腈、氟虫腈砒、氟虫腈硫醚,建立的多残留分析方法达到《农药残留试验准则》^[21]的要求,能为氟虫腈及其代谢物的残留监控提供技术手段。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 仪器与试剂

超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱 (Acquity-Xevo TQD, Waters 公司); MassLynx V4.1 数据采集和处理系统; Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (粒径 1.7 μm, 100 mm×2.1 mm, Waters 公司); ZP-200 振荡仪 (太仓市实验设备厂); QL-901 漩渦混合器 (海门市其林贝尔仪器制造有限公司); Eppendorf 5415D 离心机 (德国 Eppendorf 公司); Foss 2094 样品均质机 (丹麦 Foss 有限公司); BUCHI-215 型旋转蒸发浓缩仪 (瑞士布琪公司); Filter Unit 滤膜 (0.22 μm, Waters 公司); 1/10 万和 1/100 电子天平 (瑞士梅特勒-托利多集团); TDZ5-WS 台式低速离心机 (湖南湘仪仪器实验开发有限公司); 超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司) 等。

氟虫腈标准品,纯度 99%,以色列马克西姆化学公司提供;脱亚硫酰基氟虫腈标准品,100 mg·L⁻¹,百灵威公司购买;氟虫腈砒标准品,纯度 98.3%,以色列马克西姆化学公司提供;氟虫腈硫醚标准品,纯度 99.4%,以色列马克西姆化学公司提供;佛罗里硅土 (Florisol) 吸附剂和石墨化炭黑 (GCB) 固相萃取柱,月旭科技(上海)有限公司购买。

1.2 样品前处理

1.2.1 样品制备

空白韭菜和土壤样品来自中国农业科学院蔬菜花卉研究所韭菜基地,土壤样品除去其中的碎石、杂草和植物根茎等杂物,碾碎后过筛,收集于搪瓷盘或其他适宜容器中,充分混匀,用四分法分取 200—300 g 样品 2 份,分别装入封口样品袋中,并外贴标签,贮存于-20 °C 冰柜中保存,临用前拿出。韭菜植株样品先置于-20 °C 冰柜中冷冻 24 h,然后均质机搅碎,四分法分取 200—300 g 样品 2 份,分别装入样品袋中,并外贴标签,于-20 °C 冷冻保存,临用前拿出。

1.2.2 提取

土壤和韭菜:称取样品 20 g (准确至 0.01 g) 置于 250 mL 具塞三角瓶中,加入 7 g 氯化钠摇匀,加入

50 mL 乙腈避光浸泡过夜,过无水硫酸钠漏斗脱水,收集 25 mL 上清液,转入 100 mL 平底烧瓶中,旋转蒸发仪上浓缩近干,氮吹仪吹干,土壤加入 2.0 mL 乙腈待净化,韭菜加入 1.0 mL 乙酸乙酯待净化。

1.2.3 净化

土壤:采用弗罗里硅土(Florisil)吸附剂净化。将 1.5 mL 提取液转入装有 Florisil 100 mg 的 2 mL 离心管中,涡旋 1 min 后于离心机($14000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$)离心 1 min,取上清液过 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜后,转入预切口进样小瓶,待 UPLC-MS/MS 检测分析。

韭菜:用 5.0 mL 乙酸乙酯活化石墨炭固相萃取柱,将上述制备好的 1.0 mL 样品转入小柱内,用 7.0 mL 乙酸乙酯-丙酮(体积比 1:1)的混合溶液分 7 次洗脱小柱,收集洗脱液于平底烧瓶中,旋转蒸发仪上浓缩至近干,乙腈准确定容至 2.0 mL,转入预切口进样小瓶中,待 UPLC-MS/MS 检测分析。

1.3 标准溶液配制及添加回收率实验

分别取 2.0 mL 的氟虫腈、脱亚硫酸基氟虫腈、氟虫腈砒和氟虫腈硫醚母液(浓度为 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),用乙腈定容到 20.0 mL,配成浓度为 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准溶液。用系列稀释法配制浓度为 0.001、0.002、0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准溶液系列。

基质匹配标准溶液的配制:称取空白样品,按照 1.2 节所述的前处理分析方法,最后将用乙腈定容至 2.0 mL,改为分别加入质量浓度为 0.001、0.002、0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合标准工作液 2.0 mL,待检测分析。

添加回收率实验:称取空白韭菜和土壤样品,添加农药的混合标准溶液,土壤添加质量浓度水平为 0.001、0.02、0.1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,韭菜添加质量浓度水平为 0.002、0.02、0.1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,每个浓度设置 5 个重复,另设空白对照,按照 1.2 节所述的前处理方法进行实验。

1.4 仪器条件

1.4.1 超高效液相色谱条件

色谱柱:ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱($1.7 \mu\text{m}$, $2.1 \text{ mm}\times 100 \text{ mm}$);**柱温:** $35 \text{ }^\circ\text{C}$; **样品室温度:** $15 \text{ }^\circ\text{C}$; **流速:** $0.3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; **进样量:** $3 \mu\text{L}$; **流动相 A** 为 0.1% 甲酸水溶液, **流动相 B** 为乙腈,二元梯度洗脱分离,洗脱程序:0—2.0 min,流动相 A 由 85% 线性变化至 10%; 2.0—4.0 min,流动相 A 保持 10% 的比例等度洗脱; 4.0—5.0 min,流动相 A 由 10% 线性变化至 85%。

1.4.2 质谱条件

电喷雾负离子电离源(ESI⁻),扫描方式为多反应离子监测模式(MRM),毛细管电压 0.5 kV,离子源温度为 $150 \text{ }^\circ\text{C}$,去溶剂气温度为 $500 \text{ }^\circ\text{C}$;去溶剂气、锥孔气体为高纯液氮,去溶剂气流速 $1000 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$,锥孔气体流速 $50 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$;碰撞气为高纯氩气;4 个化合物的保留时间、定量离子对、定性离子对、滞留时间、锥孔电压、碰撞能量等见表 1。

表 1 目标化合物的质谱参数
Table 1 Mass spectrum parameters of target compound

化合物 Compound	单同位素质量数 Monoisotopic mass number	保留时间 Retention time/min	定量*/定性 离子对 Quantification*/ qualitative ion transition(m/z)		离子滞留时间 Dwell time/s	锥孔电压 Cone/V	碰撞能量 Collision/V	定性/定量*
								离子比 Qualitative/ quantification* ion ratio
氟虫腈	435.94	2.77	434.996>330.102*	0.038	34	26	0.278	
			434.996>250.111	0.038	32	14		
脱亚硫酸基 氟虫腈	387.97	2.82	386.968>351.119*	0.038	26	30	0.125	
			386.968>282.182	0.038	26	10		
氟虫腈砒	451.93	2.88	450.932>415.045*	0.038	36	26	0.867	
			450.932>282.113	0.038	34	14		
氟虫腈硫醚	419.94	2.90	418.996>383.034*	0.038	32	26	0.805	
			418.996>262.072	0.038	30	12		

1.5 定量方法

采用外标法定量,即用农药标准品(加入一定量的基质)配制成一系列质量浓度的标准溶液,按照

1.4 节的方法进样检测分析,以农药标准溶液浓度为横坐标,定量离子对的色谱峰面积为纵坐标,绘制标准曲线.在相同检测条件下,用公式(1)计算出待测样品中农药残留量:

$$C = \frac{A_{\text{样}} \times C_{\text{标}} \times V_{\text{标}} \times V_{\text{终}} \times L_1}{A_{\text{标}} \times m \times V_{\text{样}} \times L_2} \quad (1)$$

式中, C 为样品中农药残留量测定值($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); $A_{\text{样}}$ 为样品溶液定量离子对的峰面积; $A_{\text{标}}$ 为标准溶液定量离子对的峰面积; $C_{\text{标}}$ 为标准溶液进样浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); $V_{\text{标}}$ 为标准溶液进样体积(μL); $V_{\text{样}}$ 为样品溶液进样体积(μL); $V_{\text{终}}$ 为样品的定容体积(mL); L_1 为提取溶液有机相的体积(mL); L_2 为提取溶液有机相的取用体积(mL); m 为样品质量(g)。

1.6 基质效应评价方法

基质效应(Matrix effects, ME)是指在样品测试过程中,由于目标化合物以外的其他物质的存在,直接或间接影响待测物响应的现象.由于质谱检测的高选择性,基质效应的影响在色谱图上往往观察不到,即空白基质色谱图表现为一条直线,但基质中的共流出组分会影响分离并改变目标化合物的离子化效率,引起目标化合物检测信号的抑制或增强,当基质抑制或增强效应过大时,能影响定量测定的准确性.因此,本实验采用提取净化后添加标样法建立数学模型评定基质效应的大小,用公式(2)表示^[22-23].式中,ME为基质效应大小; A 为建立溶剂标准曲线后获得的线性方程斜率; B 为建立基质标准曲线后获得的线性方程斜率.

$$\text{ME} = \frac{B - A}{A} \times 100\% \quad (2)$$

当ME值 $< \pm 10\%$,基质效应可以忽略,用溶剂标准曲线定量即可;当ME值 $\pm 10\% < \text{ME} < \pm 50\%$,有基质效应增强或减弱现象,用基质标准曲线定量可适当消除基质效应对定量的影响;当ME值 $> \pm 50\%$,基质效应对定量的干扰较大,应优化样品预处理方法使ME值 $< 50\%$.

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 检测条件的优化

2.1.1 液相色谱条件

待测物在质谱上以电喷雾负离子电离源(ESI^-)检测,一般在负离子检测方式下使用偏碱性流动相.但本实验待测物在碱性流动相下,色谱峰脱尾,灵敏度不如酸性流动相(可能与韭菜样品共萃取物在 ESI^- 模式下干扰目标化合物电离,基质效应增大有关).流动相的pH值对峰形影响很大,考虑到色谱峰形和4个化合物的分离,在流动相中加入甲酸.比较了流动相含0.01%、0.05%、0.1%、0.2%甲酸时,对质谱响应的影响,发现当流动相含0.1%甲酸时,既可以改善脱尾的峰形,提高分离度又可以增加样品的质谱响应,甲酸在流动相中的比例太高会抑制化合物的响应,比例太小起不到改善峰形的作用.比较了0.1%甲酸水溶液-甲醇流动相体系和0.1%甲酸水溶液-乙腈流动相体系.实验发现,选用0.1%甲酸水溶液-乙腈流动相体系,色谱柱压力比0.1%甲酸水溶液-甲醇流动相体系低,氟虫腈、脱亚硫酰基氟虫腈、氟虫腈砒和氟虫腈硫醚在0.1%甲酸水溶液-乙腈流动相体系中灵敏度比在0.1%甲酸水溶液-甲醇体系中灵敏度高(色谱峰窄),加大流动相中水相的比例有利于色谱峰形的改善.因此选取0.1%甲酸水溶液-乙腈流动相体系作为本实验的流动相,当流速为 $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,0.1%甲酸水溶液-乙腈的梯度洗脱比例如1.4.2节的条件时,所有化合物均能获得最好的灵敏度和色谱峰形.

2.1.2 质谱条件

氟虫腈、脱亚硫酰基氟虫腈、氟虫腈砒和氟虫腈硫醚的分子量分别为437.2、389.1、453.2和421.2,在MassLynx V4.1数据采集和处理系统中,按照分子量大小开展质谱条件摸索,电喷雾正离子电离(ESI^+)和负离子电离(ESI^-)模式下,都找不到目标化合物的分子离子峰.利用“分子量计算器”计算单同位素质量数,获得4个化合物的单同位素质量数分别为435.94、387.97、451.93和419.94.在MS Tune模式下,用单同位素质量数开展手动调谐方法研究.在电喷雾正离子电离(ESI^+)模式下,4个化合物均无响应.在电喷雾负离子电离(ESI^-)模式下,均有响应值高的分子离子峰 $[\text{M}-\text{H}]^-$,分别为 m/z 434.996、

m/z 386.968、 m/z 450.932、 m/z 418.996,手动调节锥孔电压和碰撞能量大小,使分子离子峰的响应值最高,分别保存分子离子峰调谐文件。

利用 XEVO TQD MS Detector 中 IntelliStart 程序,在分子离子峰调谐文件的基础上,质谱检测器能自动对目标化合物的分子离子峰、碎片离子峰进行扫描,获得丰度高的离子对序列。在负离子模式下(ESI^-),对 4 个化合物设置自动搜索和调谐程序后,在不加酸碱的调谐液(乙腈:水=1:1)中,氟虫腈、脱亚硫酰基氟虫腈、氟虫腈砜和氟虫腈硫醚均能较好地电离,IntelliStart 模式下,自动获得多个反应选择离子对,丰度最高且特征性强的离子对用来定量,强度次之的离子对用来定性,4 个化合物获得的质谱参数见表 1。

2.2 基质效应

韭菜和土壤样品中,包含无机盐、各种有机化合物(糖类、胺类、尿素、类脂类、肽类)和目标化合物的同类物及其代谢物,同时还包含处理样品的塑料管残留聚合物、有机酸、缓冲液、SPE 柱材料等,这些物质都会导致基质效应的发生。

为了保证方法的灵敏度和选择性,本实验采用基质匹配标准溶液配备标准曲线,土壤样品使用分散净化剂(Florisil)净化,回收率较好,且 $ME < 50\%$;韭菜样品采用分散净化剂(Florisil+GCB)净化,ME 值远远大于 50%,选用石墨碳固相萃取小柱净化后,基质效应适当减小,ME 值 $< 50\%$,实验结果见表 2。因此,本实验中韭菜样品的净化选用固相萃取小柱,净化更干净,提高了方法的灵敏度和准确度。

2.3 方法的线性相关性、准确度、灵敏度和精密度

氟虫腈及其代谢物的溶剂标准曲线和基质匹配标准曲线在 $0.001—0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内均能呈现出较好的线性,相关系数 r 均在 0.99 以上。参照《农药残留试验准则》^[21] 中最小检出量(LOD,指使检测系统产生 3 倍噪音信号所需待测物的质量,以 ng 为单位表示)和最低检测浓度(LOQ,指用添加方法能检测出待测物在样品中的最低含量,以 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 为单位表示)的定义,氟虫腈及其代谢物的最小检出量(LOD)为 $0.0001—0.012 \text{ ng}$,土壤中 LOQ 为 $0.001 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,韭菜中 LOQ 为 $0.002 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,具体见表 2。

表 2 氟虫腈及其代谢物在不同基质中的回归方程、相关系数和检出限

Table 2 Comparison of matrix-matched calibration and solvent calibration

化合物 Compound	基质 Matrix	线性范围	线性方程	相关系数 Correlation coefficient	基质效应 Matrix effect/%	最小检出量 LOD/ ng	最低检测浓度 LOQ/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
		Concentration range/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	Regression equation				
氟虫腈	乙腈	0.001—0.2	$y = 104.329x + 560.31$	0.9950	/	0.0006	/
	土壤	0.001—0.2	$y = 94.1462x + 306.863$	0.9959	-10	0.003	0.001
	韭菜	0.001—0.2	$y = 55.0999x + 167.186$	0.9971	-47	0.005	0.002
脱亚硫酰基氟虫腈	乙腈	0.001—0.2	$y = 70.8507x + 186.889$	0.9975	/	0.0003	/
	土壤	0.001—0.2	$y = 94.1462x + 172.847$	0.9961	33	0.0001	0.001
	韭菜	0.001—0.2	$y = 41.5618x + 85.687$	0.9990	-41	0.003	0.002
氟虫腈砜	乙腈	0.001—0.2	$y = 91.9291x + 122.290$	0.9957	/	0.003	/
	土壤	0.001—0.2	$y = 77.4604x + 354.143$	0.9969	-16	0.012	0.001
	韭菜	0.001—0.2	$y = 82.423x + 71.19$	0.9984	-10	0.003	0.002
氟虫腈硫醚	乙腈	0.001—0.2	$y = 41.0964x + 105.021$	0.9952	/	0.003	/
	土壤	0.001—0.2	$y = 33.8803x + 225.911$	0.9970	-18	0.001	0.001
	韭菜	0.001—0.2	$y = 36.9242x + 25.7757$	0.9967	-10	0.003	0.002

按照 1.2 节和 1.4 节所述的方法进行添加回收率实验,采用基质匹配标准曲线定量,氟虫腈、脱亚硫酰基氟虫腈、氟虫腈砜和氟虫腈硫醚的平均回收率为 71.8%—107.9%,重复性试验的相对标准偏差(日内差, RSD^a , $n=5$)为 1.5%—15.4%,重现性试验的相对标准偏差(日间差, RSD^b , $n=15$)为 1.4%—9.4%,见表 3。分析方法的准确度、灵敏度和精密度满足农药残留分析的要求^[21],氟虫腈及其代谢物的定量离子和定性离子图,见图 1。

表3 氟虫腈及其代谢物在韭菜和土壤中的添加回收率和相对标准偏差

Table 3 Recovery and relative standard deviation of fipronil and its metabolites in leek and soil

样品 Sample	添加浓度 Spiked level/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	氟虫腈 Fipronil			脱亚硫酰基氟虫腈 Fipronil desulfinyl			氟虫腈砜 Fipronil sulfone			氟虫腈硫醚 Fipronil thioether		
		回收率 AR/%	日内差 RSD ^a /%	日间差 RSD ^b /%	回收率 AR/%	日内差 RSD ^a /%	日间差 RSD ^b /%	回收率 AR/%	日内差 RSD ^a /%	日间差 RSD ^b /%	回收率 AR/%	日内差 RSD ^a /%	日间差 RSD ^b /%
土壤	0.001	107.9	3.8	7.2	94.7	4.3	2.8	100.7	4.2	6.2	99.8	2.6	9.4
	0.02	91.4	1.5	6.5	87.7	7.2	5.9	94	4.7	6.7	88.3	7.1	7.5
	0.1	81.8	2.7	5.8	94.3	4.1	4.3	82.1	3.3	5.4	79.5	2.7	5.4
韭菜	0.002	96.1	11.8	5.7	104	4.9	5.2	81.5	10.1	3.2	74.1	15.4	3.9
	0.02	79.8	10.4	6.8	71.8	7.8	1.4	91.2	15	6.7	73.6	12.7	7.5
	0.1	84.3	4.6	4.5	94.8	11.9	3.5	93.3	4.8	1.5	86.8	14.2	3.2

注:AR;所有重复样品回收率的平均值;RSD^a:日内相对标准偏差($n=5$);RSD^b:日间相对标准偏差($n=15$).

AR: Average recovery, RSD^a: Intra-day precision ($n=5$), RSD^b: Inter-day precision ($n=15$)

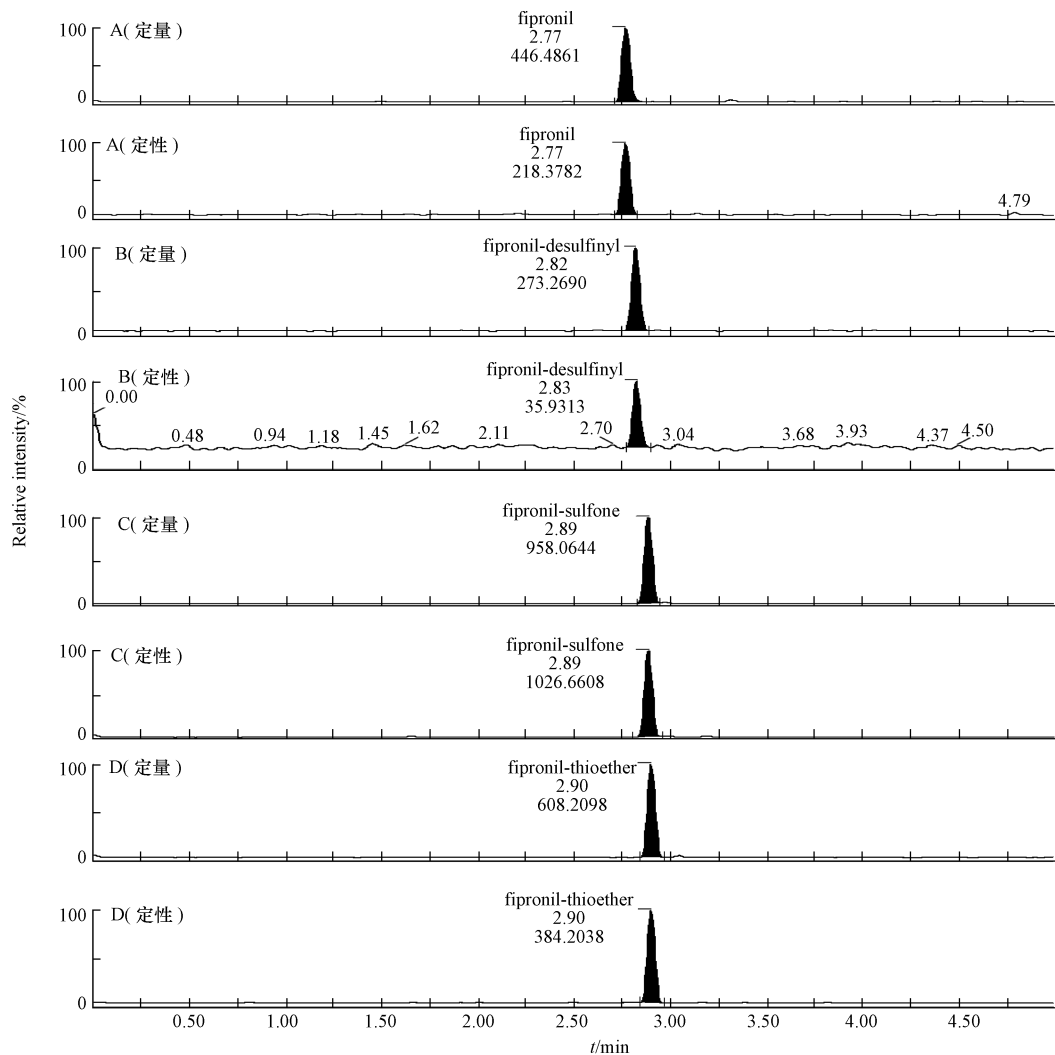


图1 氟虫腈(A)、脱亚硫酰基氟虫腈(B)、氟虫腈砜(C)、氟虫腈硫醚(D)的多反应选择离子图($0.001\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

Fig.1 Typical UPLC-MS/MS MRM chromatograms of fipronil (A), fipronil-desulfinyl (B), fipronil-sulfone (C) and fipronil-thioether (D) in solvent standard ($0.001\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

3 结论 (Conclusion)

本方法采用乙腈振荡提取,石墨化炭黑固相萃取柱和 Florisil 分散净化剂净化,Acquity UPLC BEH C18 色谱柱(100 mm×4.6 mm i.d., 1.7 μm)分离,超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱检测分析,建立了韭菜和土壤中氟虫腈、脱亚硫酸基氟虫腈、氟虫腈砒和氟虫腈硫醚的多残留分析方法.韭菜和土壤样品进行不同水平的添加回收率试验,其回收率为 71.8%—107.9%,相对标准偏差为 1.5%—15.4%,符合农药残留试验准则的要求.在上述的实验条件下,氟虫腈、脱亚硫酸基氟虫腈、氟虫腈砒和氟虫腈硫醚的最小检出量(LOD)在 0.0001—0.012 ng 范围内,土壤中最低检测浓度(LOQ)为 0.001 mg·kg⁻¹,韭菜中最低检测浓度(LOQ)为 0.002 mg·kg⁻¹.我国规定氟虫腈在韭菜上的最大残留限量(MRL)为 0.02 mg·kg⁻¹,该方法能满足韭菜和土壤样品检测分析的要求.

参考文献 (References)

- [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 X Y, CHU X G, WANG D N. Research development of fipronil and its metabolites[J]. Pesticide, 2008, 47(2): 87-89(in Chinese).
- [2] 张芳芳,洪雅青,张幸. 氟虫腈的毒理学研究进展[J]. 职业与健康,2008,24(20): 2211-2213.
ZHANG F F, HONG Y Q, ZHANG X. Advance in toxicological study on fipronil[J]. Occupation and Health, 2008, 24(20): 2211-2213(in Chinese).
- [3] GB/T 2763—2014. 食品安全国家标准《食品中农药最大残留限量》[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
GB 2763—2014. National food safety standard 《Maximum residue limits for pesticides in food》[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014(in Chinese).
- [4] 陈志涛,丁立平,吴文凡,等. 分散固相萃取-气相色谱法测定水产品中氟虫腈和丁烯氟虫腈的残留[J]. 农药,2014,53(12): 904-905.
CHENG Z T, DING L P, WU W F, et al. Determination of fipronil and flufiprole residues in aquatic products by GC with dispersive solid phase extraction[J]. Pesticide, 2014, 53(12): 904-905(in Chinese).
- [5] 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,2010,16(3): 191-194.
DING L P. Determination of fipronil residue in tea[J]. Analysis and Testing Technology and Instruments, 2010, 16(3): 191-194(in Chinese).
- [6] 王志强,周晓冬,黄胜海,等. 水中氟虫腈残留分析方法的研究[J]. 江苏农业科学,2010,19(3): 388-389.
WANG Z Q, ZHOU X D, HUANG S H, et al. Determination of fipronil in water[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2010, 19(3): 388-389(in Chinese).
- [7] 薄海波. 气相色谱-串联质谱正离子模式测定食品中氟虫腈和溴虫腈残留[J]. 中国食品卫生杂志,2013,25(5): 431-434.
BAO H B. Determination of fipronil and chlorfenapyr residues in foodstuffs by gas chromatography-tandem mass spectrometry in positive ion mode [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2013, 25(5): 431-434(in Chinese).
- [8] 丁立平,刘微,方光伟,等. 改进 QuChERS-气质联用法测定蔬菜中氟虫腈和丁烯氟虫腈残留量[J]. 分析实验室,2013,32(8): 117-120.
DING L P, LIU W, FANG G W, et al. Determination of fipronil and butane-fipronil residues in vegetable by improved QuChERS-GC /MS [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2013, 32(8): 117-120(in Chinese).
- [9] 荣杰峰,韦航,许美珠,等. 气相色谱-电子轰击源质谱法测定茶叶中氟虫腈残留量[J]. 分析实验室,2014,33(1): 69-72.
RONG J F, WEI H, XU M Z, et al. Levels and distribution of polychlorinated biphenyls in the atmosphere of Beijing[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2014, 33(1): 69-72(in Chinese).
- [10] 白宝清,李美萍,张生万. QuEChERS-DLLME-高效液相色谱法测定蔬菜中溴虫腈和氟虫腈残留[J]. 食品科学,2014,35(24): 254-258.
BAI B Q, LI M P, ZHANG S W. Determination of chlorfenapyr and fipronil residues in vegetables by QuEChERS combined with dispersive liquid-liquid microextraction and high performance liquid chromatography [J]. Food Science, 2014, 35(24): 254-258(in Chinese).
- [11] HADJMOHAMMADI M R, NIKOU S M, KAMEL K. Determination of fipronil residue in soil and water in the rice fields in north of Iran by RP-HPLC method[J]. Acta ChimSlov, 2006, 53(4): 517-520.
- [12] LIU D H, WANG P, ZHU W D, et al. Enantioselective degradation of fipronil in Chinese cabbage (*Brassica pekinensis*) [J]. Food Chem, 2008, 110(2): 399-405.
- [13] BRENNAN A A, YOU J, LYDY M J. Comparison of cleanup Methods for fipronil and its degradation products in sediment extracts[J]. Talanta, 2009, 78(4-5): 1408-1413.

- [14] MOHAPATRA S, DEEPA M, JAGDISH G K, et al. Fate of fipronil and its metabolites in/on grape leaves, berries and soil under semi arid tropical climatic conditions[J]. B Environ Contam Tox, 2010, 84(5): 587-591.
- [15] KUMAR R, SINGH B. Persistence and metabolism of fipronil in rice (*Oryza sativa* Linnaeus) field[J]. B Environ Contam Tox, 2013, 90(4): 482-488.
- [16] WANG T L, HU J Y, LIU C L. Simultaneous determination of insecticide fipronil and its metabolites in maize and soil by gas chromatography with electron capture detection[J]. Environ Monit Assess, 2014, 186(5): 2767-2774.
- [17] CHENG Y P, DONG F S, LIU X G, et al. Simultaneous determination of fipronil and its major metabolites in corn and soil by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Analytical Methods, 2014, 6(6): 1788-1795.
- [18] 罗梅梅, 朱晓丹, 贺敏, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测韭菜中 4 种杀虫剂残留[J]. 农药, 2014, 53(11): 820-824.
LUO M M, ZHU X D, HE M, et al. Determination of 4 insecticides residues in leek by ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Pesticide, 2014, 53(11): 820-824 (in Chinese).
- [19] GB/T 20769—2008. 水果和蔬菜中 450 种农药及相关化学品残留量的测定——液相色谱-串联质谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.
GB/T 20769—2008. Determination of 450 pesticides and related chemicals residues in fruits and vegetables—LC-MS-MS method [S]. Beijing: Standards Press of China, 2005 (in Chinese).
- [20] SN/T 1982-2007. 进出口食品中氟虫腈残留量检测方法-气相色谱-质谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.
SN/T 1982-2007. Determination of fipronil residues in food for import and export-GC-MS method [S]. Beijing: Standards Press of China, 2005 (in Chinese).
- [21] 农业部农药检定所. NY/T 788-2004. 农药残留试验准则(农业部行业标准)[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
Institute for the Control of Agrochemicals. NY/T 788-2004. Guideline on pesticide residue trials (industrial standard of Agriculture Ministry) [S]. Beijing: Standards Press of China, 2004 (in Chinese).
- [22] LI MINMIN, LIU XINGANG, DONG FENGSHOU, et al. Simultaneous determination of cyflumetofen and its main metabolite residues in samples of plant and animal origin using multi-walled carbon nanotubes in dispersive solid-phase extraction and ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1300: 95-103.
- [23] VAN EECKHAUT A, LANCKMANS K, SARRE S, et al. Validation of bioanalytical LC-MS/MS assays; Evaluation of matrix effects[J]. Journal of Chromatography B, 2009, 877(23): 2198-2207.