

实验技术与方法

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

薄海波

(青海师范大学化学系,青海 西宁 810008)

摘要:目的 建立食品中氟虫腈和溴虫腈残留的气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)分析方法。方法 试样经乙腈提取, *N*-丙基乙二胺(PSA)固相萃取柱(SPE)净化,采用GC-MS/MS以正离子模式多反应监测(MRM)定性、定量测定氟虫腈和溴虫腈。结果 该方法在5~50 μg/L浓度范围内呈线性,相关系数 r 均大于0.998。氟虫腈和溴虫腈的添加回收率分别为78.2%~102.5%和77.0%~104.1%,*RSD*分别为6.8%~15.2%和6.9%~17.1%,二者的检出限(LOD)均为5 μg/kg,定量限(LOQ)均为10 μg/kg。结论 气相色谱-串联质谱法正离子模式是简便、快速、准确测定食品中氟虫腈和溴虫腈残留分析方法。

关键词:氟虫腈;溴虫腈;气相色谱-串联质谱;正离子模式;固相萃取;农药残留

中图分类号:R155.5⁺1;TS201.6 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2013)05-0431-04

Determination of fipronil and chlorfenapyr residues in foodstuffs by gas chromatography-tandem mass spectrometry in positive ion mode

BO Hai-bo

(Chemistry Department of Qinghai Normal University, Qinghai Xining 810008, China)

Abstract: Objective To develop an analytical method for determination of fipronil and chlorfenapyr residues in foodstuffs by gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). **Methods** Fipronil and chlorfenapyr were extracted with acetonitrile and cleaned-up by a PSA solid phase extract (SPE) column for GC-MS/MS determination. Fipronil and chlorfenapyr were separated by a THERMO TR-Pesticide II column and detected by multiple reaction monitoring (MRM) with electrospray ionization operating in the positive ion mode. **Results** The calibration curves were linear between the range of 5–50 μg/L with $r \geq 0.998$. The recoveries of fipronil spiked sample ranged 78.2%–102.5% with *RSD* 6.8%–15.2%, and the recoveries of chlorfenapyr ranged 77.0%–104.1% with *RSD* 6.9%–17.1%. The limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) of fipronil and chlorfenapyr were both 5 and 10 μg/kg, respectively. **Conclusion** GC-MS/MS in positive ion mode is a simple, rapid, accurate analytical method for determination of fipronil and chlorfenapyr residues in foodstuffs

Key words: Fipronil; chlorfenapyr; GC-MS/MS; positive ion mode; solid phase extract; pesticide residues

氟虫腈(fipronil),是一种苯基吡唑类杀虫剂。溴虫腈(chlorfenapyr),又名虫螨腈,是一种吡咯类杀虫、杀螨剂。这两种农药具有对害虫防效高、持效期较长、用药量低等特点,广泛应用于蔬菜、水果、甘蔗、茶叶等农产品和家禽及畜牧产品上。但由于氟虫腈和溴虫腈在食品和环境中的半衰期长,且具有较大毒害风险,故国际食品法典委员会(CAC)、欧盟和美国等国都规定了严格的氟虫腈、溴虫腈残留限量标准。“中国技术性贸易措施网”收录的氟虫腈和溴虫腈残留限量标准多达391条,其中美国国家环保局规定溴虫腈在各类商品中的最大残留限量(MRL)为0.01~2.0 mg/kg,日本肯

定列表规定氟虫腈的MRL为0.01~5.0 mg/kg。目前氟虫腈和溴虫腈在我国已获准在粮食作物、蔬菜和果树上使用,GB 2763—2012中规定菜籽油、成品粮、柑桔、苹果和梨中氟虫腈的MRL为0.02 mg/kg,溴虫腈的MRL为0.05~2 mg/kg。因此,研究食品中氟虫腈和溴虫腈残留测定方法十分必要。

目前,氟虫腈和溴虫腈的测定方法主要是气相色谱-电子捕获检测法(GC-ECD)^[1-8]、液相色谱法^[9]和气相色谱-负化学电离源质谱法(GC-NCI-MS)^[10-14]等。GC-ECD法灵敏度高、定量准确,但不能对定性结果进行确证;张曼等^[10]分析牛肉中溴虫腈,Eiki等人^[11]测定农产品中虫螨腈(即溴虫腈)以及SN/T 1986—2007^[13]和SN/T 1982—2007^[14]均采用GC-NCI-MS法,解决了确证分析问题,但气相色谱-质谱仪通常配置的是常用的电子轰击电离源

收稿日期:2013-07-02

作者简介:薄海波 女 副教授 研究方向为食品安全与质量分析研究

E-mail:boh1212@163.com

(EI),分析氟虫腈和溴虫腈时所用质谱仪为负化学电离源,所以必须将质谱仪停机更换离子源,操作繁琐且重新开机抽真空会占用大量时间。另外,上述方法均为单组份测定方法,通用性受到局限。本试验首次采用EI电离源,以GC-MS/MS法在MRM正模式下同时分析氟虫腈和溴虫腈残留,避免了更换离子源,而且在优化的分析条件下,有效排除基质干扰、得到满意灵敏度,可满足国内、外氟虫腈和溴虫腈残留限量要求。同时,本研究通过二级质谱定性确证,进一步提高了分析结果的可靠性。此方法简便快速、实用性强,可用于水果、蔬菜、粮油及肉类等各种基质样品中氟虫腈和溴虫腈残留的同时测定。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

气相色谱-串联质谱仪(TSQ Quantum)(热电公司,美国),带电子轰击电离源(EI),三重四级杆质量分析器。Bond Elut PSA固相萃取小柱[Agilent, 500 mg 3 ml,使用前用3 ml 丙酮+正己烷(3+7, V/V)活化小柱,保持柱体湿润]。

氟虫腈、溴虫腈标准品(纯度 $\geq 98\%$, Dr. Ehrenstorfer GmbH公司),丙酮、正己烷和乙腈(均为色谱纯),氯化钠(分析纯)、水为超纯水。

标准储备溶液:用乙腈配制浓度为1 mg/ml的溶液,试验中按需要稀释。

1.2 方法

1.2.1 样品前处理

分别称取苹果、甘蓝、大米和鸡肉试样各10.00 g(精确至0.01 g)于50 ml聚丙烯离心管中,加入40 ml乙腈、5 g氯化钠,用高速匀浆机均质提取1 min,以5 000 r/min(离心半径 $r=150$ mm)离心10 min。准确分取上清液20 ml,40℃水浴旋转减压蒸至近干,用2 ml丙酮+正己烷(3+7, V/V)溶解残渣。待净化。

将待净化溶液倾入活化的PSA小柱,收集滤液,并用10 ml丙酮+正己烷(3+7, V/V)洗脱。合并滤液,40℃水浴旋转减压蒸至近干,用丙酮+正己烷(1+9, V/V)定容至1 ml,待测定。同时制备空白基质溶液。

1.2.2 气相色谱分析条件

色谱柱:THERMO TR-Pesticide II柱(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m/5 m Guard Column);柱温程序:70℃保持1 min,以30℃/min增加至280℃保持8 min;载气He,纯度 $>99.999\%$,恒流模式,流量1.0 ml/min;进样口温度250℃;质谱仪接口温度

280℃;进样方式为无分流进样,1.5 min后打开分流阀;进样量1.0 μ l。

1.2.3 串联质谱分析条件

离子源:EI;扫描方式:正离子扫描;检测方式:多反应监测(SRM);监测离子对:溴虫腈: m/z 247 $>$ 227和 m/z 249 $>$ 229;氟虫腈: m/z 367 $>$ 213和 m/z 370 $>$ 215。分别选择 m/z 247 $>$ 227和 m/z 367 $>$ 213为定量离子对;碰撞能量15 eV;溶剂延迟3.5 min。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂的选择

试验对比了用乙酸乙酯+正己烷(1+1, V/V)、乙腈、二氯甲烷+丙酮(9+1, V/V)作为溶剂的提取效果。试验结果显示,乙腈提取的氟虫腈和溴虫腈的回收率较高(见表1),且共提杂质含量较少,易于净化,方法简便快捷,且可获得稳定、满意的回收率。故选择乙腈为提取溶剂。

2.2 净化方法的选择

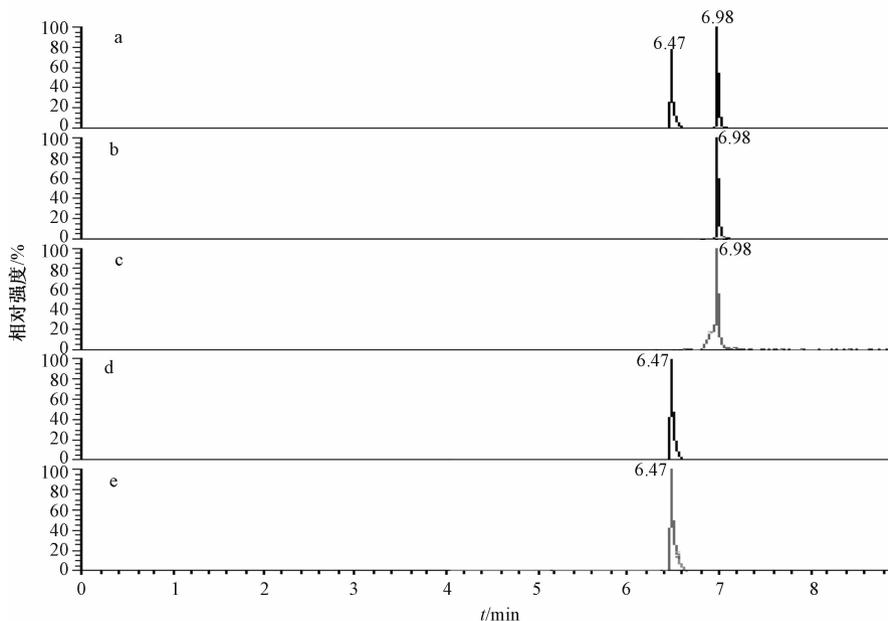
试样提取液中含有大量共提杂质,这些杂质如果进入气相色谱-串联质谱系统,不仅会直接影响试验的最终分析结果,而且将严重影响分析仪器的的工作状态及其使用寿命。所以,试样提取液的净化十分重要。根据氟虫腈和溴虫腈的结构特点和文献^[1-2, 4, 9-14]报导,试验对比研究了用硅胶固相萃取柱、PSA柱、石墨化炭黑-氨基柱组合的净化效果。结果表明,采用PSA柱净化,操作简便、效果明显,基本没有干扰峰,故选择PSA柱。

2.3 色谱条件优化

TR-Pesticide II是一款专用于农药分析的低流失色谱柱,在较高温度的分析中可降低对质谱仪的污染,色谱柱的惰化使极性化合物色谱峰的峰型对称、拖尾较小。试验显示,在1.2.2温度程序下,氟虫腈和溴虫腈在该柱上得到满意分离,且峰型对称。氟虫腈和溴虫腈保留时间分别为6.47和6.98 min(见图1)。

2.4 质谱条件优化

用氟虫腈和溴虫腈标准溶液做单级质谱全扫描,得到氟虫腈的丰度最高的两个碎片离子 m/z 367和 m/z 370,对这两个碎片离子进行二级质谱全扫描,得到特征离子对 m/z 367 $>$ 213和 m/z 370 $>$ 215。同样操作,得到溴虫腈的两个特征离子对 m/z 247 $>$ 227和 m/z 249 $>$ 229。试验通过优化得到的最佳碰撞能量均为15 eV。选择丰度相对较高的离子对 m/z 247 $>$ 227和 m/z 367 $>$ 213分别作为溴虫腈和氟虫腈的定量离子对。标准品的SRM总离子流图和质谱图详见图1。



注:a表示混合标准溶液总离子流图;b表示溴虫腈 m/z 247 > 227;c表示溴虫腈 m/z 249 > 229;
d表示氟虫腈 m/z 367 > 213;e表示氟虫腈 m/z 370 > 215

图1 混合标准溶液(10 $\mu\text{g/L}$)总离子流图及其多反应监测二级质谱图(MRM)

Figure 1 Total ion chromatogram and multiple reaction monitoring mass spectrum of mixed standard solution

2.5 线性关系

在质谱分析中,带有样品基体的溶液常出现离子抑制现象,即基质效应。试验采用大米等空白基质提取液稀释标准溶液,制备浓度分别为0、5、10、25、50 $\mu\text{g/L}$ 的氟虫腈和溴虫腈标准溶液,在上述气相色谱-串联质谱条件下进样测定。用基质校正曲线进行定量。结果表明,当氟虫腈和溴虫腈的质量浓度在0~50 $\mu\text{g/L}$ 范围时,仪器响应峰面积对化合物质量浓度呈良好线性,回归方程和相关系数分别为:氟虫腈: $y = 20300x + 318, r = 0.9992$;溴虫腈: $y = 31178x - 1224, r = 0.9988$ 。

2.6 方法的检出限和定量限

在二级质谱分析中,由于母离子到子离子的高度选择性,输出信号的基线噪音很低,可以得到高信噪比,所以方法灵敏度高。试验结果显示,按照3倍信噪比,氟虫腈和溴虫腈在试样中的检出限均为5 $\mu\text{g/kg}$ 。按照10倍信噪比,氟虫腈和溴虫腈在试样中的定量限均为10 $\mu\text{g/kg}$ 。

2.7 回收率和精密度试验

分别在苹果、甘蓝、大米和鸡肉空白样品中添加3个浓度水平的标准品溶液,每个添加水平平行测定6次。测定结果表明,氟虫腈的回收率为78.2%~102.5%,精密度以RSD表示,介于6.8%~15.2%之间;溴虫腈的回收率为77.0%~104.1%,RSD为6.9%~17.1%。试验数据详见表1。

表1 方法回收率和精密度($n=6$)

Table 1 Recoveries and precision of fipronil and chlorfenapyr

| 样品名称 | 分析目标物 | 添加浓度/ ($\mu\text{g/kg}$) | 测定值/ ($\mu\text{g/kg}$) | 回收率/ % | RSD/ % |
|------|-------|-------------------------------|------------------------------|-----------|-----------|
| 苹果 | 溴虫腈 | 5 | 4.61 | 92.2 | 11.7 |
| | | 10 | 8.37 | 83.7 | 8.3 |
| | | 20 | 17.78 | 88.9 | 10.9 |
| | 氟虫腈 | 5 | 3.85 | 77.0 | 15.6 |
| | | 10 | 8.63 | 86.3 | 11.3 |
| | | 20 | 18.02 | 90.0 | 9.8 |
| 甘蓝 | 溴虫腈 | 5 | 4.77 | 95.5 | 15.2 |
| | | 10 | 9.19 | 91.9 | 8.7 |
| | | 20 | 17.66 | 88.3 | 7.9 |
| | 氟虫腈 | 5 | 3.91 | 78.2 | 14.4 |
| | | 10 | 9.34 | 93.4 | 9.1 |
| | | 20 | 18.25 | 91.2 | 7.8 |
| 大米 | 溴虫腈 | 5 | 4.29 | 85.8 | 13.1 |
| | | 10 | 10.25 | 102.5 | 10.6 |
| | | 20 | 18.62 | 93.1 | 11.5 |
| | 氟虫腈 | 5 | 4.11 | 82.2 | 17.1 |
| | | 10 | 8.03 | 80.3 | 12.3 |
| | | 20 | 19.05 | 95.2 | 8.8 |
| 鸡肉 | 溴虫腈 | 5 | 4.38 | 87.6 | 14.4 |
| | | 10 | 9.37 | 93.7 | 11.1 |
| | | 20 | 18.14 | 90.7 | 6.8 |
| | 氟虫腈 | 5 | 3.89 | 77.8 | 16.5 |
| | | 10 | 10.41 | 104.1 | 6.9 |
| | | 20 | 19.78 | 98.9 | 10.7 |

2.8 实际样品分析

采用建立的方法测定苹果、甘蓝、大米、鸡肉等送检样品20余批次,均未检出氟虫腈和溴虫腈。

3 小结

本文建立了简便、快速、准确测定食品中氟虫腈和溴虫腈残留的分析方法。方法采用 SPA 固相萃取净化,气相色谱-串联质谱法以 EI 正模式 MRM 测定,氟虫腈和溴虫腈最低检出限达到 0.01 mg/kg,满足对氟虫腈和溴虫腈的限量要求。而且可以对检测结果进行二级质谱定性确证,进一步提高了测定结果的可靠性。

参考文献

- [1] 操海群,施艳红,花日茂,等. 辣椒白菜中氟虫腈残留分析方法的研究[J]. 食品科学,2005,26(9): 377-380.
- [2] 冯民,朱臻怡,熊华萱,等. 固相萃取和气相色谱法测定大米中氟虫腈(锐劲特)残留[J]. 现代仪器, 2009,6:69-71.
- [3] 郭新东,杜志峰,黄孟基,等. 气相色谱法测定食用植物油中的溴虫腈[J]. 粮油食品科技,2007,15(1):27-28.
- [4] 陈丽萍,林芎华,李顺芳. 溴虫腈在蔬菜上残留量的气相色谱法测定[J]. 现代农药,2008,7(3):31-32,43.
- [5] 张曼,林安清,许泓,等. 气相色谱法测定茶叶中残留的溴虫腈[J]. 食品研究与开发,2007,28(10):150-151,165.
- [6] 杜志峰,郭新东,罗海英,等. 固相萃取-气相色谱法测定蜂蜜

- 中的溴虫腈[J]. 现代食品科技,2007,23(3):80-82.
- [7] 付晓芳,林雁飞,李晶,等. 茶叶中氟虫腈残留量的检测[J]. 食品科学,2010,31(10):279-282.
- [8] 麦燕玲,钟国华,胡美英,等. 溴虫腈土壤和甘蓝微量残留量的气相色谱法测定[J]. 农药,2004,43(5):233-235.
- [9] CAO Y S, CHEN J X, WANG Y L, et al. HPLC/UV analysis of chlorfenapyr residues in cabbage and soil to study the dynamics of different formulations[J]. Sci Total Env, 2005, 350(1-3):38-46.
- [10] 张曼,林安清,许泓,等. 气相色谱-质谱法对牛肉中溴虫腈残留的测定[J]. 分析测试学报,2008,27(11):155-160.
- [11] Eiki W, Koji B, Heesoo E, et al. Evaluation of a commercial immunoassay for the detection of chlorfenapyr in agricultural samples by comparison with gas chromatography and mass spectrometric detection[J]. J Chromatogr A, 2005, 1074(1-2): 145-153.
- [12] Ueun E, Osimah, Sairo I, et al. Multiresidue analysis of pesticides in vegetables and fruits by gas chromatography/mass spectrometry after gel permeation chromatography and graphitized carbon column clean up[J]. J AOAC Int, 2004, 87(4):1003-1015.
- [13] 中华人民共和国卫生部. SN/T 1986—2007 进出口食品中溴虫腈残留量检测方法[S]. 北京:中国标准出版社,2007.
- [14] 中华人民共和国卫生部. SN/T 1982—2007 进出口食品中氟虫腈残留量检测方法[S]. 北京:中国标准出版社,2007.

实验技术与方法

高效液相色谱法同时测定植物油中的 15 种多环芳烃

乔海鸥,王敏娟,胡佳薇,王辛

(陕西省疾病预防控制中心,陕西 西安 710054)

摘要:目的 建立高效液相色谱-荧光法测定植物油中的 15 种多环芳烃。方法 样品用正己烷溶解,过中性氧化铝固相萃取小柱净化,采用 Waters-PAHs 专用柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)分离,乙腈-水梯度洗脱,流速 1.5 ml/min,柱温 30 ℃,进样量 10 μl;荧光检测器检测,外标法定量。结果 方法检出限在 0.15 ~ 2.0 μg/kg 之间,样品加标回收率在 78.0% ~ 115.2% 之间,RSD 在 0.2% ~ 2.0% 之间。结论 该方法具有前处理简单、灵敏度高、重复性好等优点,可用于植物油中 15 种多环芳烃的含量测定。

关键词:高效液相色谱法;植物油;多环芳烃;固相萃取;食品安全;食品污染物

中图分类号:R155;O657.7;O625.15 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2013)05-0434-04

Simultaneous determination of fifteen polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in plant oil by high performance liquid chromatography

QIAO Hai-ou, WANG Min-juan, HU Jia-wei, WANG Xin

(Shaanxi Center for Disease Control and Prevention, Shaanxi Xi'an 710054, China)

Abstract: Objective To establish a method for simultaneous determination of 15 PAHs in plant oil by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Methods** The sample was dissolved in n-hexane and cleaned up

收稿日期:2013-04-11

作者简介:乔海鸥 男 主管技师 研究方向为食品卫生检验 E-mail:qiaohaiou@yahoo.com.cn

通讯作者:王敏娟 女 技师 研究方向为食品卫生检验 E-mail:wj1010@126.com