

# QuEChERS 结合超高效液相色谱-串联质谱法同时测定果蔬中 12 种新烟碱类农药残留

黄丁宁<sup>1</sup>, 缪丹旒<sup>2\*</sup>, 赵巧灵<sup>2</sup>, 缪文华<sup>1</sup>, 邵思尧<sup>2</sup>

(1. 浙江海洋大学食品与医药学院, 舟山 316022; 2. 舟山市食品药品检验检测研究院, 舟山 316012)

**摘要:** **目的** 建立基于 QuEChERS 前处理技术结合超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)同时检测水果和蔬菜中 12 种新烟碱类农药残留的分析方法。**方法** 样品采用乙腈提取, 上清液采用 N-丙基乙二胺、无水硫酸镁(MgSO<sub>4</sub>)和石墨化炭黑的 QuEChERS 基质分散萃取法净化, 经 InfinityLab Poroshell 120 EC-C<sub>18</sub> (100 mm×2.1 mm, 2.7 μm)色谱柱分离, 以 0.1%甲酸水溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵)-乙腈为流动相, 基质匹配曲线外标法定量。**结果** 12 种新烟碱类农药在 0.05~200.00 ng/mL 范围内具有良好的线性关系( $r^2>0.99$ ), 方法检出限( $S/N=3$ )为 0.02~0.26 μg/kg。在 2.0、20.0、50.0 μg/kg 加标水平下的平均回收率为 88.90%~118.00%, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs,  $n=6$ )为 1.55%~6.12%。在 6 种果蔬基质中, 12 种目标物存在不同的基质效应。与国家标准方法比较发现, 在 3 种色素含量较高的果蔬基质中, 本方法的回收率高于标准方法回收率, 且其 RSD 小于标准方法的 RSD。**结论** 该方法提取效果好、灵敏度高、专属性强, 适用于果蔬中 12 种新烟碱类农药残留快速检测及确证分析。

**关键词:** 新烟碱类农药; 果蔬; QuEChERS 法; 超高效液相色谱-串联质谱法; 基质效应

## Simultaneous determination of 12 kinds of neonicotinoid pesticides in fruits and vegetables by QuEChERS combined with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

HUANG Ding-Ning<sup>1</sup>, MIAO Dan-Ni<sup>2\*</sup>, ZHAO Qiao-Ling<sup>2</sup>, MIAO Wen-Hua<sup>1</sup>, SHAO Si-Yao<sup>2</sup>

(1. School of Food and Medicine, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;

2. Zhoushan Institute for Food and Drug Control, Zhoushan 316012, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the simultaneous determination of 12 kinds of neonicotinoid pesticides residues in fruits and vegetables by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) based on QuEChERS pretreatment technique. **Methods** The sample was extracted with acetonitrile. The supernatant was purified using a QuEChERS matrix dispersion extraction method of N-propylethylenediamine, anhydrous magnesium sulfate (MgSO<sub>4</sub>), and graphitized carbon black, and then subjected to InfinityLab Poroshell 120 EC-C<sub>18</sub> (100 mm×2.1 mm, 2.7 μm) chromatographic column for separation, using 0.1% formic acid aqueous solution (containing 5 mmol/L ammonium acetate) -acetonitrile as mobile phase, and matrix

基金项目: 浙江省市场监督管理局青年科技项目(QN2023456)

Fund: Supported by the Youth Science and Technology Project of Zhejiang Provincial Administration for Market Regulation (QN2023456)

\*通信作者: 缪丹旒, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品科学、色谱分析。E-mail: 826293071@qq.com

\*Corresponding author: MIAO Dan-Ni, Master, Engineer, Zhoushan Institute for Food and Drug Control, No.49, Beichan Xingang Development Zone, Dinghai District, Zhoushan 316012, China. E-mail: 826293071@qq.com

matching curve external standard method was used for quantitative analysis. **Results** The 12 kinds of neonicotinoid pesticides had good linear relationship in the range of 0.05–200.00 ng/mL ( $r^2>0.99$ ), and the limit of detection ( $S/N=3$ ) was 0.02–0.26  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . The average recoveries at levels of 2.0, 20.0, 50.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  were 88.90% to 118.00%, and the relative standard deviations (RSDs,  $n=6$ ) was 1.55%–6.12%. Among the 6 kinds of fruit and vegetable substrates, 12 kinds of target substances had different matrix effects. Compared with the national standard method, among the 3 fruit and vegetable substrates with high pigment content, the recoveries of this method was higher than that of the standard method, and the RSD was smaller than that of the standard method. **Conclusion** This method has good extraction effect, high sensitivity and strong specificity, and is suitable for rapid detection and confirmatory analysis of 12 kinds of neonicotinoid pesticide residues in fruits and vegetables.

**KEY WORDS:** neonicotinoid pesticides; fruit and vegetable; QuEChERS method; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; matrix effect

## 0 引言

新烟碱类农药(neonicotinoid pesticides)是继有机磷类、氨基甲酸酯类、拟除虫菊酯类杀虫剂之后的第4大类杀虫剂<sup>[1]</sup>,其对粮食、油料、蔬菜和水果等多种作物种植虫害有防治效果<sup>[2-4]</sup>。近年来,随着其在粮油、果蔬等作物有害生物治理中的广泛应用,该类农药在不同的环境介质中如花粉、土壤、水体、果蔬中不断被检出。研究表明,新烟碱类农药不仅能够通过蜜蜂的觅食和归巢能力影响到其种群的数量<sup>[5-6]</sup>,同时对水生及陆生动物也有致死作用<sup>[4]</sup>。新烟碱类农药已在全球范围产生不可忽视的农药残留问题,目前世界各国及组织已颁布相关法令限制或禁止新烟碱类杀虫剂的使用以减缓其危害<sup>[7]</sup>。

目前关于农药残留检测的方法主要有气相色谱法<sup>[8-11]</sup>、液相色谱法<sup>[12-13]</sup>、气相色谱-质谱法<sup>[14-16]</sup>、液相色谱-质谱法<sup>[17-22]</sup>等。关于新烟碱类农药的检测方法的研究起步较晚。仅乐渊等<sup>[20]</sup>建立了香蕉中8种新烟碱类农药的检测方法,杨冰鑫等<sup>[21]</sup>建立了大白菜中8种新烟碱类农药的检测方法,但方法的适用范围窄,前处理相对复杂;张伟来等<sup>[22]</sup>建立了蔬菜中6种新烟碱类农药检测方法,但检测种类少,且无基质效应的评价研究。同时,目前关于新烟碱类农药的检测方法主要以吡虫啉、噻虫嗪、噻虫胺等农药为主,国内外新烟碱类农药相关标准较少,GB/T 23379—2009《水果、蔬菜及茶叶中吡虫啉残留的测定 高效液相色谱法》主要针对吡虫啉的检测为主,且采用固相萃取柱净化法,无法实现大批量同时处理,且低浓度回收率低。本团队前期采用GB 23200.121—2021《食品安全国家标准 植物源性食品中331种农药及其代谢物残留量的测定 液相色谱-质谱联用法》对果蔬中9种新烟碱类农药进行检测,发现吡虫啉、噻虫嗪、噻虫胺在香蕉中检出率较高,其中吡虫啉最高检出值达0.41 mg/kg,姜中噻虫胺检出值达6.8 mg/kg,韭菜、芹菜中有啶虫脒等检出。标准方法中的净化方法对于香蕉、苹果、蔬菜等色素较低的样品基质回收率和稳定

性均较好,但在样品基质如韭菜、菠菜、芹菜等色素较高基质中,基质效应影响较大。此外,对于新兴的新烟碱类农药环氧虫啉、啶虫脒、啶虫脒的检测方法还鲜有报道,因此,建立色素含量较高的果蔬中多组分新烟碱类农药残留的准确、快速检测方法十分迫切。

鉴于此,本研究以水果、蔬菜作为研究对象,基于QuEChERS前处理技术结合超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)拟建立同时检测果蔬中12种新烟碱类农药残留的高灵敏、快速检测方法,优化并确定QuEChERS最优前处理方法和测定条件,降低复杂样品中目标化合物的基质效应影响,并将方法应用于不同种类果蔬中进行检测,为果蔬新烟碱类农药残留快速检测及确证分析提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

香蕉、草莓、苹果、韭菜、大白菜、火龙果、菠菜等80批次果蔬样品购于市场。

甲醇、乙腈(色谱纯,德国Merck公司);甲酸[色谱级,阿拉丁试剂(上海)有限公司];乙酸铵、无水硫酸镁( $\text{MgSO}_4$ ,分析纯,国药集团化学试剂有限公司);噻虫嗪、噻虫胺(纯度99.8%)、吡虫啉、氯噻啉、噻虫啉、啶虫脒、啶虫脒、呋虫胺、氟啶虫胺腈、烯啶虫胺、环氧虫啉、啶虫脒、氟啶虫脒(纯度100%)(北京BePure公司);QuEChERS盐包[6 g  $\text{MgSO}_4$ 、1.5 g NaOAc,纳谱分析技术(苏州)有限公司];石墨化炭黑(graphitized carbon black, GCB)(120–400目)、十八烷基硅胶  $\text{C}_{18}$  (40–63  $\mu\text{m}$ )、N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA) (40–63  $\mu\text{m}$ )、陶瓷均质子(上海安谱实验科技股份有限公司);水均为超纯水。

### 1.2 仪器与设备

InfinityLab Poroshell 120 EC- $\text{C}_{18}$  (100 mm $\times$  2.1 mm,

2.7  $\mu\text{m}$ )、G4220B/G6470A 三重四极杆液相色谱质谱联用仪(美国安捷伦公司); AS20500ADTKQ-500DE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); H20-I-2-TOC-T 超纯水机、MSA225S 电子天平(精度 0.01 mg)(德国赛多利斯科学仪器有限公司); FC204 电子天平(精度 0.1 mg, 上海精密科学仪器有限公司); TGC-10C 高速离心机(上海安亭科学仪器厂); Multi Reax 多管式旋涡混合器(德国 Heidolph 公司)。

### 1.3 样品前处理

将均质后的试样准确称取 15 g(精确到 0.01 g)于 50 mL 聚丙烯离心管中,加入 5 mL 乙腈,旋涡振荡 5 min,超声提取 15 min,加入陶瓷均质子,加入 QuEChERS 盐包,手摇振荡 1 min,3700 r/min 离心 6 min,取上清液至预先装有 1200 mg  $\text{MgSO}_4$ 、400 mg PSA 和 30 mg GCB 的 15 mL 纯化管中,涡漩混匀 1 min,离心,移取上清液 0.2 mL,加入 0.8 mL 初始流动相,混合后经 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤,供 UPLC-MS/MS 测定。

### 1.4 标准溶液配制

精确称取 12 种新烟碱类农药标准品(精确到 0.001 g),用乙腈定容,配制成 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准混合溶液,  $-18^\circ\text{C}$  冷冻保存。

取阴性样品,按 1.3 方法处理与净化,用该阴性样品溶液和标准混合溶液配制质量浓度 0.05~200.00  $\text{ng}/\text{mL}$  基质匹配混合标准系列溶液。临用现配。

### 1.5 实验方法

#### 1.5.1 色谱条件

色谱柱: InfinityLab Poroshell 120 EC-C<sub>18</sub> (100 mm $\times$  2.1 mm, 2.7  $\mu\text{m}$ ); 流动相 A: 含 0.1% 甲酸的乙酸铵水溶液 (5 mmol/L), B 为乙腈; 流速 0.4 mL/min; 进样量 5  $\mu\text{L}$ , 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution procedures

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	90	10
2	90	10
8	70	30
10	30	70
11	10	90
12	10	90
13.1	90	10

#### 1.5.2 质谱条件

干燥气温度 350 $^\circ\text{C}$ ; 干燥气流量 5 L/min; 雾化器压力 45 psi; 鞘气温度 350 $^\circ\text{C}$ ; 鞘气流速 11 L/min; 毛细管电压正离子 4500 V, 负离子 3500 V; 喷嘴电压 500 V。电喷雾电离正模式(electrospray ionization, ESI<sup>+</sup>); 检测模式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式。具体参数见表 2。

### 1.6 数据处理

数据采用安捷伦 Masshunter B.10.00 软件分析,采用 Microsoft Excel 2017 软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 质谱条件的优化

为获得 12 种新烟碱类农药的质谱最优参数,考虑到化合物本身的结构和特性,在 ESI<sup>+</sup>电离方式下分别对 12 种新烟碱类化合物进行检测,首先进行一级质谱扫描,获得精准母离子( $m/z$ ),在确定母离子后,再对 12 种目标化合物进行二级质谱全扫描,以确定各组分目标物的子离子,即主要碎片离子,使其各自目标物的灵敏度、特异性均满

表 2 12 种新烟碱类农药的质谱参数

Table 2 Mass spectrum parameters of 12 kinds of neonicotinoid pesticides

化合物名称	保留时间/min	分子式	母离子( $m/z$ )	产物离子( $m/z$ )	去簇电压/V	CE/eV
吡虫啉	5.575	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	256.0	175.2*、209.1	90	20、12
氯噻啉	5.942	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub> S	262.0	181.1*、122.1	80	12、20
噻虫嗪	4.208	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>3</sub> S	292.0	211.1*、181.1	82	5、21
噻虫胺	5.176	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub> S	250.1	169.1*、132.1	80	8、12
噻虫啉	7.427	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> ClN <sub>4</sub> S	253.1	126.1*、90.2	115	20、44
啉虫脒	6.218	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>4</sub>	223.1	126.0*、56.2	97	17、13
呋虫胺	1.561	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	203.0	129.1*、87.1	110	12、8
氟啉虫胺腈	7.433	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	278.1	174.0*、153.9	70	30、4
烯啉虫胺	2.827	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> ClN <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	271.1	56.2*、99.2	85	32、12
环氧虫啉	4.642	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> ClN <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	322.9	276.9*、233.9	95	10、20
啉虫啉	7.976	C <sub>17</sub> H <sub>23</sub> ClN <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	366.9	137.0*、320.9	110	30、10
氟啉虫酰胺	3.914	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O	230.0	203.0*、174.0	100	18、20

注: \*表示定量离子; 碰撞能量(collision energy, CE)。

足加标样品的离子丰度比与对照品偏差均在 10% 以内的条件下, 选择响应最高、稳定性最好的 3 对或 2 对离子对作为定性或定量离子对<sup>[23]</sup>; 其中灵敏度最高的、响应最好的离子为定量离子, 其余为定性离子。12 种化合物优化的质谱参数见表 1。

## 2.2 色谱条件的选择

为了实现 12 种新烟碱类化合物的有效分离, 在相同条件下, 采用 4 种不同的流动相进行对比, 分别为 0.1% 甲酸水溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵)-乙腈、0.1% 甲酸水溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵)-甲醇、0.1% 甲酸水溶液-甲醇、0.1% 甲酸水溶液-乙腈等。结果表明, 流动相为 0.1% 甲酸水溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵)-乙腈时, 各目标化合物的响应值最高, 重复性最好, 其次为 0.1% 甲酸水溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵)-甲醇, 而 0.1% 甲酸水溶液-甲醇、0.1% 甲酸水溶液-乙腈作为流动相时, 各目标物响应值相对较低。因此, 本研究选用 0.1% 甲酸水溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵)-乙腈作为流动相。

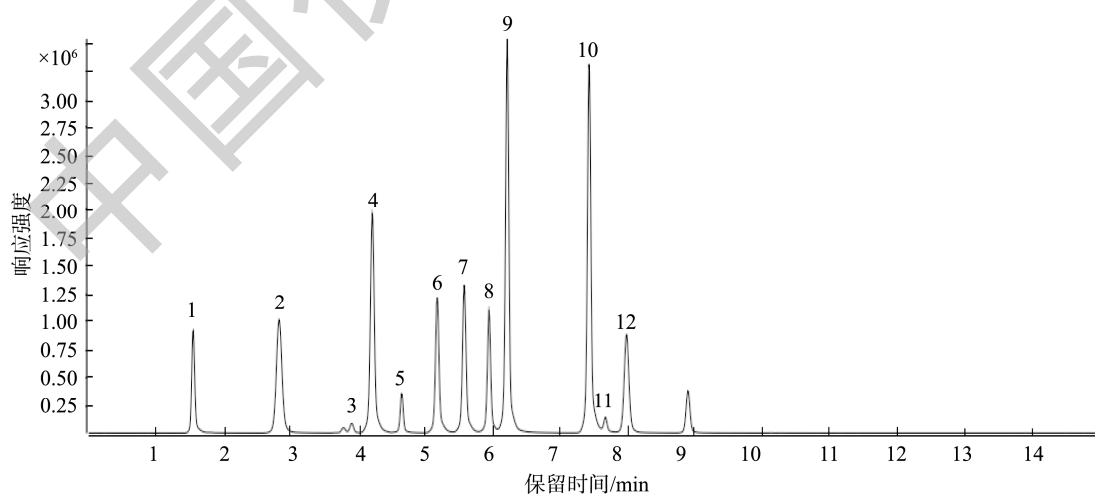
考察流动相中甲酸浓度的优化时, 分别采用 0.01%、0.05%、0.10% 和 0.20% 的甲酸水溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵)-乙腈进行分析, 结果显示, 各目标物的响应值在 0.01%~0.10% 范围内随甲酸浓度增大而增强, 而甲酸浓度为 0.20% 时, 各目标物的响应值与甲酸浓度为 0.10% 的响应值相差不大, 此外, 考虑到延长色谱柱寿命的使用, 本研究选用 0.1% 甲酸水溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵)-乙腈作为流动相进行梯度洗脱<sup>[23]</sup>。在优化条件下, 200 ng/mL 的混合标准溶液离子 MRM 色谱图见图 1。

## 2.3 提取溶剂的选择

农药残留检测中常用的提取溶剂有乙腈、丙酮和乙酸乙酯等。蔬菜、水果作为含水量较高的农产品, 乙腈相较于乙酸乙酯和丙酮对果蔬基质中的农药有更强的选择性, 不易提取出多余的杂质, 且较易通过盐析与基质中的水分分离<sup>[24]</sup>。因此本研究比较了乙腈、丙酮和乙酸乙酯 3 种有机试剂的均质提取效果<sup>[25]</sup>。结果表明, 丙酮、乙酸乙酯回收率均在 60%~80% 之间, 而乙腈的平均回收率均能达到 85% 以上, 查阅相关文献报道, 丙酮和乙酸乙酯提取色素和杂质较乙腈严重, 从而影响样品的净化效果<sup>[26]</sup>, 因此, 本研究选择乙腈作为提取溶剂。

## 2.4 净化条件的优化

QuEChERS 净化中常用的吸附剂主要有 PSA、MgSO<sub>4</sub>、C<sub>18</sub>、GCB 等<sup>[27]</sup>。PSA 是一种弱阴离子交换吸附剂, 能有效去除某些基质中特有的极性杂质, 如微量色素、糖和有机酸等。而 C<sub>18</sub> 是一种反相吸附材料, 能有效去除脂类、胆固醇和亲脂化合物<sup>[28]</sup>。其中 MgSO<sub>4</sub> 能有效去除提取液中的少量水分, 从而使各目标化合物不被 PSA 粉末吸附, 从而降低串联质谱检测过程中的基质干扰<sup>[29]</sup>。考虑到果蔬样品基质的复杂性, 本研究首先选取 3 种不同添加量的净化填料, 以 QuEChERS 净化填料 1 (1200 mg MgSO<sub>4</sub>+400 mg PSA)、QuEChERS 净化填料 2 (1200 mg MgSO<sub>4</sub>+400 mg C<sub>18</sub>)、QuEChERS 净化填料 3 (1200 mg MgSO<sub>4</sub>+200 mg PSA+200 mg C<sub>18</sub>) 进行 20 μg/kg 加标回收实验, 通过对比回收率结果判断净化效果<sup>[30]</sup>。由图 2 可知, C<sub>18</sub> 相较于 PSA 的回收率低, 12 种新烟碱类化合物经 QuEChERS 净化填料 1 的回收率在 80.95%~110.35%, 净化



注: 1: 呋虫胺; 2: 烯啶虫胺; 3: 氟啶虫酰胺; 4: 噻虫嗪; 5: 环氧虫啶; 6: 噻虫胺; 7: 吡虫啉; 8: 氯噻啉;  
9: 啶虫脒; 10: 噻虫啉; 11: 氟啶虫胺腈; 12: 啶虫啉。

图 1 12 种新烟碱类混合对照品 MRM 模式下总离子流色谱图

Fig.1 Total ions chromatograph of 12 kinds of neonicotinoids in MRM mode

效果较好, 填料 2 的回收率在 67.25%~102.41%, 填料 3 的回收率为 77.02%~105.80%, 由此可见, 各目标物质在 400 mg PSA 下更稳定, 净化效果最佳, 回收率最高。因此, 选用 1200 mg  $MgSO_4$  和 400 mg PSA 作为 QuEChERS 填料。

鉴于果蔬基质复杂, 青菜、菠菜、韭菜、葡萄等含有大量的色素, 易对部分农药产生干扰, 造成烯啶虫胺、氟啶虫胺胍、环氧虫啉等部分目标化合物的回收率不佳, 影响检测结果的准确性。查阅文献可知, GCB 具有吸附色素和甾醇类等非极性干扰物的效果<sup>[27]</sup>, 因此, 需要加入 GCB

去除色素干扰, 保护色谱柱的同时, 达到最佳净化条件的目的。因此, 本研究考察了不同添加量的 GCB 对果蔬中多种新烟碱类农药的影响研究。对比加入 10、30 和 50 mg 的 GCB 的加标回收率, 结果见图 3。10 mg 的 GCB 对于大部分的烟碱类化合物有较好的净化效果, 但对于氯噻啉、环氧虫啉、啶虫脒的净化效果不佳; 30 mg 的 GCB 回收率在 87.60%~98.70%, 净化效果较好; 随着 GCB 使用量的增多, 噻虫啉、啶虫脒、氯噻啉等目标物受到干扰, 造成目标化合物回收率降低。因此, 本研究选择 30 mg 的 GCB 进行净化。

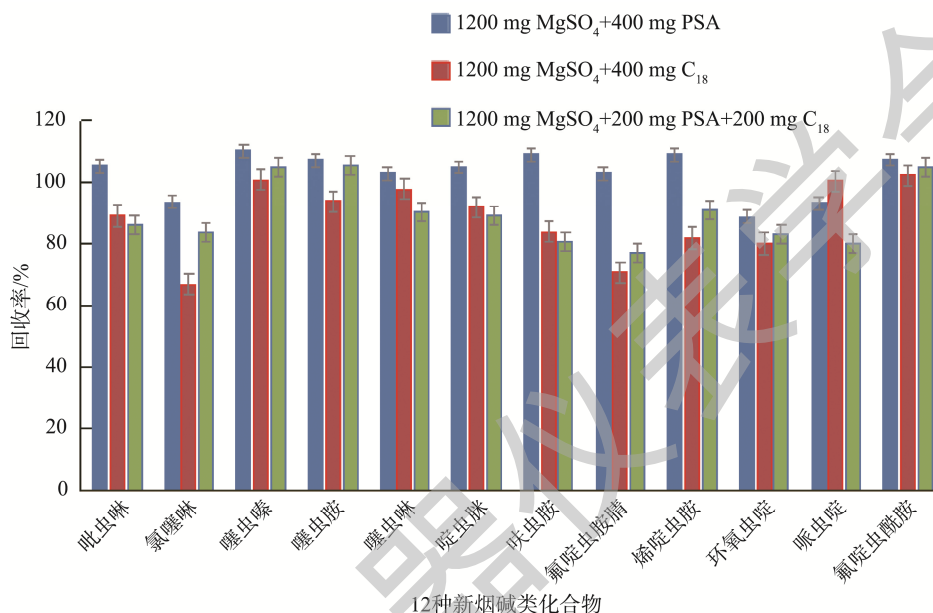


图 2 QuEChERS 填料对 12 种新烟碱类化合物回收率的影响( $n=3$ )

Fig.2 Effects of QuEChERS fillers on the recoveries of 12 kinds of neonicotinoids ( $n=3$ )

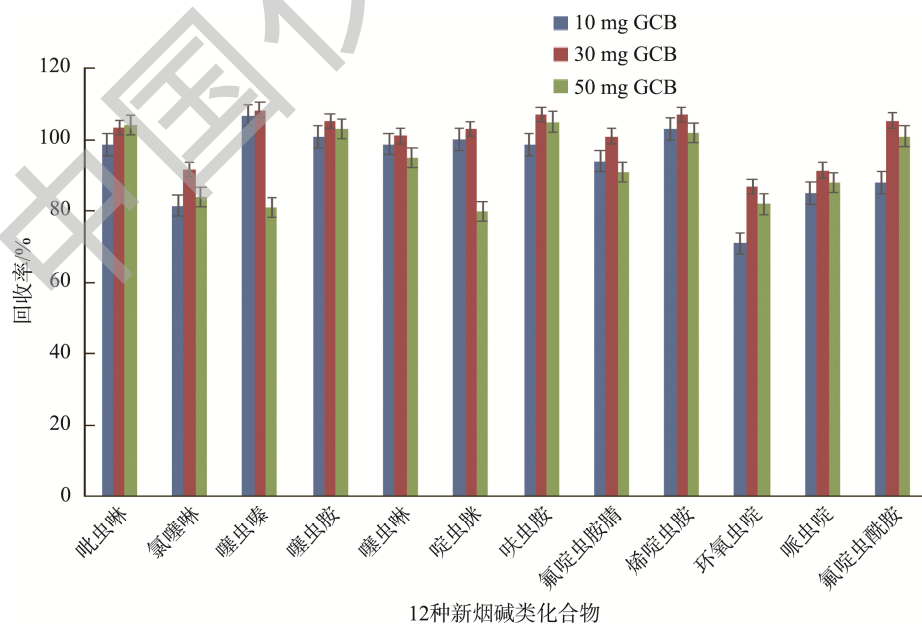


图 3 不同添加量的 GCB 对 12 种新烟碱类化合物回收率的影响( $n=3$ )

Fig.3 Effects of different amounts of GCB on recoveries of 12 kinds of neonicotinoids ( $n=3$ )

## 2.5 基质效应的评价

基质效应(matrix effect, ME)是指样品基质中某些共提取物组分对待测物浓度或质量测定准确度的影响, 会影响农药残留检测的准确性, 因此需要评估基质效应, 并采取有效措施降低基质效应, 提高分析可靠性<sup>[27]</sup>。本研究采用标准曲线法评估 6 种基质的基质效应, 即基质标准曲线拟合的线性方程斜率与溶剂标准曲线线性方程斜率比。其中,  $|ME| > 50\%$  为强基质效应;  $20\% \leq |ME| \leq 50\%$  为中等基质效应;  $|ME| < 20\%$  为弱基质效应。结果见表 3, 不同的果蔬由于本身基质的复杂性, 对各个目标物的基质效应存在差异, 表现出强基质效应的农药比例最高, 为 41.67%, 其中香蕉和芹菜的基质效应占比最高, 分别为 75.00% 和 66.67%; 中等基质效应的占比为 38.89%, 其中韭菜和苹果表现出中等基质效应农药的比例分别为 58.33% 和 50.00%; 表现为弱基质效应的农药为 19.44%。从化合物的种类基质效应可以看出, 同一目标化合物在不同的果蔬基质中的基质效应也存在明显的差异: 强基质效应的占比最高的是噻虫胺, 为 16.67%, 其次是吡虫啉和氯噻啉, 均为 13.33%; 中等基质效应占比最高的是噻虫啉和烯啶虫胺, 分别为 21.43% 和 14.29%; 弱基质效应中噻虫啉、啉虫脒、呋虫胺和啉虫啉的占比均为 21.43%, 氟啶虫胺腈和环氧虫啉占比均为 14.29%。基于此, 本方法在样品检测中应采用基质匹配曲线以补偿基质效应的影响, 提高分析检测的可靠性。

表 3 12 种新烟碱类农药在 6 种基质中的基质效应  
Table 3 Matrix effects of 12 kinds of neonicotinoid pesticides in 6 substrates

化合物名称	基质效应/%					
	苹果	火龙果	香蕉	青菜	芹菜	韭菜
吡虫啉	59.95	38.04	76.32	69.08	83.38	45.76
氯噻啉	49.21	49.31	81.55	57.42	88.38	51.40
噻虫啉	8.62	8.05	63.23	28.99	65.07	10.44
噻虫胺	51.00	55.03	77.40	76.63	81.27	37.70
噻虫啉	32.43	46.93	34.52	40.20	36.49	36.46
啉虫脒	36.89	6.35	54.50	5.37	64.10	8.76
呋虫胺	5.04	12.09	49.03	17.36	68.14	29.92
氟啶虫胺腈	1.86	8.54	62.77	55.35	62.66	20.99
烯啶虫胺	38.00	36.21	76.65	47.34	75.17	28.16
环氧虫啉	12.51	122.96	36.30	4.37	24.25	135.71
啉虫啉	31.66	64.57	28.38	17.09	24.66	71.69
氟啶虫酰胺	33.78	54.96	75.30	40.28	80.07	42.19

## 2.6 线性范围和检出限、定量限

采用基质匹配标准曲线外标法定量, 以各目标物的峰面积作为纵坐标(Y), 相对应的质量浓度作为横坐标(X, ng/mL), 在 0.05~200.00 ng/mL 线性范围, 绘制标准曲线并建立线性方程, 结果见表 4。在线性范围内的各组分目标物相关系数( $r^2$ )为 0.9976~0.9999, 线性关系良好。以

3 倍基线噪声(S/N)所对应的待测物质量浓度为该方法的检出限(limit of detection, LOD), 以 10 倍基线噪声(S/N)所对应的待测物质量浓度为本方法的定量限(limit of quantitation, LOQ)<sup>[23]</sup>, 各农药的 LOD 为 0.02~0.26  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 低于 DB34/T 3303—2018《药食两用花卉原料中 8 种新烟碱类农药残留的测定 液相色谱串联质谱法》的 LOD (0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )及王霞等<sup>[31]</sup>建立的蔬菜中 10 种新烟碱类检测方法的 LOD (0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), 表明本方法灵敏度较高。

表 4 12 种新烟碱类农药的线性方程、检出限和定量限( $n=6$ )  
Table 4 Linear equations, limit of detection and limit of quantitation of 12 neonicotinoid pesticides ( $n=6$ )

化合物名称	线性方程	检出限 /( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	定量限 /( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
吡虫啉	$Y=16137.70X+54947.19$	0.07	0.22
氯噻啉	$Y=18402.56X+72184.40$	0.04	0.13
噻虫啉	$Y=29293.98X+110626.77$	0.02	0.07
噻虫胺	$Y=15751.19X+96533.86$	0.02	0.07
噻虫啉	$Y=51579.99X+136920.73$	0.03	0.11
啉虫脒	$Y=41080.50X+162877.69$	0.02	0.07
呋虫胺	$Y=12394.61X+49520.30$	0.07	0.22
氟啶虫胺腈	$Y=2688.45X+10387.43$	0.17	0.55
烯啶虫胺	$Y=23889.68X-56620.17$	0.03	0.11
环氧虫啉	$Y=1138.59X+1283.85$	0.02	0.07
啉虫啉	$Y=6166.97X+4584.33$	0.02	0.07
氟啶虫酰胺	$Y=1268.87X+2340.73$	0.26	0.86

## 2.7 方法准确度及精密度

在基质样品中分别加入低、中、高 3 个不同浓度的混合标准溶液。结果见表 5, 12 种新烟碱类农药的平均加标回收率为 88.90%~118.00%, 相对标准偏差为 1.55%~6.12%, 表明本方法具有可靠的准确度和精密度, 能满足果蔬中 12 种新烟碱类的定量要求。

## 2.8 实际样品检测

采用本方法对 80 批次果蔬样品进行测定。检测结果见表 6, 吡虫啉在香蕉、大白菜、葡萄、菠菜、青菜中均有检出; 噻虫啉在香蕉、火龙果、葡萄和青菜中有检出; 噻虫胺仅在香蕉中有检出; 啉虫脒在草莓、苹果、韭菜、大白菜、火龙果、芹菜中均有检出, 且韭菜中啉虫脒含量相对较高, 其余 8 种农药均未检出。参考 GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》可知, 香蕉中吡虫啉和噻虫胺存在超标现象, 其中, 吡虫啉最高检出值达 0.166 mg/kg, 是限量标准(0.05 mg/kg)的 3.32 倍, 噻虫啉最高检出值达 0.139 mg/kg, 是限量标准(0.02 mg/kg)的 6.95 倍, 其余检出农药均未超标。表明果蔬中新烟碱类农药残留较为普遍, 有必要其他种类的果蔬产品进行监测, 也表明本方法适用于果蔬中 12 种新烟碱类农药残留的同时检测。

表 5 12 种新烟碱类农药的回收率和相对标准偏差( $n=6$ )  
Table 5 Recoveries and relative standard deviations of 12 kinds of neonicotinoids ( $n=6$ )

化合物名称	2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$		20 $\mu\text{g}/\text{kg}$		50 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
	平均回收率/%	RSDs/%	平均回收率/%	RSDs/%	平均回收率/%	RSDs/%
吡虫啉	105.37	4.31	96.21	3.35	106.80	3.44
氯噻啉	93.67	2.31	101.03	1.55	99.00	3.27
噻虫嗪	110.35	1.94	118.00	2.31	104.25	2.67
噻虫胺	107.25	4.56	92.45	2.11	102.00	2.76
噻虫啉	103.04	1.66	109.11	3.46	101.70	1.99
啶虫脒	105.11	2.11	108.36	2.08	113.21	3.01
呋虫胺	109.09	3.22	102.08	4.11	105.35	2.14
氟啶虫胺腈	103.00	1.85	111.34	3.45	106.17	4.13
烯啶虫胺	109.11	4.56	106.28	4.21	101.45	5.11
环氧虫啉	88.90	5.67	90.00	6.12	95.11	3.21
啶虫啉	93.45	2.15	95.16	2.17	103.13	3.09
氟啶虫酰胺	107.41	4.16	109.45	3.66	115.21	2.76

表 6 实际样品中 12 种新烟碱类化合物的检测结果( $\text{mg}/\text{kg}$ )  
Table 6 Results of 12 kinds of neonicotinoids in actual samples ( $\text{mg}/\text{kg}$ )

样品名称	检验项目			
	吡虫啉	噻虫嗪	噻虫胺	啶虫脒
香蕉	0.058±0.090	0.013±0.004	0.021±0.027	ND
草莓	ND	ND	ND	0.036±0.020
苹果	ND	ND	ND	0.020±0.009
韭菜	ND	ND	ND	0.22±0.69
大白菜	0.059±0.081	ND	ND	0.021
火龙果	ND	0.055	ND	0.018±0.038
葡萄	0.088±0.078	0.027	ND	ND
菠菜	0.048±0.013	ND	ND	ND
青菜	0.036±0.045	0.043±0.096	ND	ND
芹菜	ND	ND	ND	0.050

注: ND 表示未检出; 部分样品只有 1 批次检出, 故只有单个数据。

## 2.9 与国家标准方法对比

分别选取苹果、火龙果、韭菜等 6 种基质样品, 将本研究方法与 GB 23200.121—2021 进行比较, 结果如表 7 所示。在香蕉、苹果、火龙果等低色素样品基质中, 本研究建立的方法的回收率为 91.98%~106.87%, RSDs 为 1.28%~4.32%, 标准方法的回收率为 90.66%~105.82%, RSDs 为 2.01%~6.21%, 两种方法的回收率和 RSDs 差别不大; 但在青菜、芹菜、韭菜、菠菜、黑葡萄等高色素样品中, 本研究建立方法的回收率为 88.22%~108.21%, RSDs 为 1.29%~6.21%, 标准方法的回收率为 82.15%~109.24%, RSD 为 4.27%~9.31%, 表明本方法对于高色素果蔬样品检测准确性不输于现有的标准, 灵敏度也较好, 且比现有国家标准方法多了啶虫脒、环氧虫啉、呋虫胺 3 种新兴的烟碱类农药, 前处理步骤快速、简便且成本较低, 可应用于大批量样品日常检测分析。

表 7 本方法与 GB 23200.121—2021 比对结果( $n=6$ )  
Table 7 Comparison results of this method with GB 23200.121—2021 ( $n=6$ )

样品	色素含量	理论值/ ( $\text{mg}/\text{kg}$ )	本方法		GB 23200.121—2021	
			回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%
苹果	低	0.020	92.57~103.58	1.28~4.32	93.01~103.24	2.57~4.05
火龙果		0.020	93.27~104.66	2.15~3.99	92.11~105.29	3.17~4.32
香蕉		0.020	91.98~106.87	2.55~4.02	90.66~105.82	1.97~3.99
青菜		0.020	89.11~108.21	2.01~6.21	85.31~106.25	4.27~8.78
芹菜	高	0.020	88.22~105.69	3.05~5.69	83.26~106.97	5.96~8.21
菠菜		0.020	88.59~103.22	2.59~5.21	82.18~99.21	4.39~7.11
黑葡萄		0.020	91.32~104.36	1.29~4.33	82.97~102.54	3.89~6.87
韭菜		0.020	89.33~106.95	3.51~6.11	82.15~109.24	5.25~9.31

### 3 结 论

本研究基于 QuEChERS 前处理技术结合 UPLC-MS/MS 建立了同时检测果蔬中 12 种新烟碱类农药的分析方法, 采用乙腈作为提取溶液, 采用 1200 mg MgSO<sub>4</sub>、400 mg PSA 和 30 mg GCB 的 QuEChERS 基质分散净化剂对高色素的果蔬基质杂质进行有效净化, 降低其基质效应, 避免了传统样品前处理存在的操作烦琐、溶剂用量大、耗时长等不足。与现有标准方法相比, 本研究所建立的方法具有快速、选择性好、重复性好和准确性优、基质适用性强等优点, 且比传统标准方法在检测种类上增加了啉虫脒、环氧虫脒、啉虫脒 3 种新烟碱类农药, 适用于果蔬中 12 种新烟碱类农药的快速检测和精准定量分析, 为果蔬新烟碱类农药残留快速检测及确证分析提供技术支持。

### 参考文献

- [1] 王霞, 张小刚, 丰东升, 等. 农产品中新烟碱类农药前处理和检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(8): 2462-2468.  
WANG X, ZHANG XG, FENG DS, *et al.* Research progress on pretreatment and detection technology of neonicotinoid pesticides in agricultural products [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(8): 2462-2468.
- [2] US. Environmental Protection Agency. Pollinator protection: Schedule for review of neonicotinoid pesticides [Z].
- [3] 陶燕. 基于代谢组学的新烟碱类杀虫剂吡虫啉的人体暴露特征研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019.  
TAO Y. Exposure characteristics of neonicotinoid imidacloprid towards human body based on metabolomics [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2019.
- [4] 张琪, 赵成, 卢晓霞, 等. 新烟碱类杀虫剂对非靶标生物毒性效应的研究进展[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(1): 56-71.  
ZHANG Q, ZHAO C, LU XX, *et al.* Advances in research on toxic effects of neonicotinoid insecticides on non-target organisms [J]. *Asian J Ecotox*, 2020, 15(1): 56-71.
- [5] 谭颖, 张琪, 赵成, 等. 蔬菜水果中的新烟碱类农药残留量与人群膳食暴露健康风险评估[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(6): 67-81.  
TAN Y, ZHANG Q, ZHAO C, *et al.* Residues of neonicotinoid pesticides in vegetables and fruit and health risk assessment of human exposure via food intake [J]. *Asian J Ecotox*, 2016, 11(6): 67-81.
- [6] 李田田, 郑珊珊, 王晶, 等. 新烟碱类农药的污染现状及转化行为研究进展[J]. 生态毒理学报, 2018, 13(4): 9-21.  
LI TT, ZHENG SS, WANG J, *et al.* A review on occurrence and transformation behaviors of neonicotinoid pesticides [J]. *Asian J Ecotox*, 2018, 13(4): 9-21.
- [7] 段丽芳. 欧盟通过决议禁止新烟碱类农药噻虫胺、吡虫啉及噻虫嗪的户外使用[J]. 农药科学与管理, 2018, 39(5): 29.  
DUAN LF. EU set to completely ban outdoor use of three neonicotinoid insecticides [J]. *Pestic Sci Admin*, 2018, 39(5): 29.
- [8] 潘永波, 张艳玲. 气相色谱法测定香蕉中的噻嗪酮和吡虫啉[J]. 农药, 2013, 52(12): 903-904.  
PAN YB, ZHANG YL. Gas chromatography method for determination of buprofezin and imidacloprid in bananas [J]. *Agrochemicals*, 2013, 52(12): 903-904.
- [9] 李广领, 姜金庆, 王自良, 等. 气相色谱法检测卷心菜中啉虫脒和吡虫啉残留[J]. 西北农业学报, 2010, 19(9): 71-74.  
LI GL, JIANG JQ, WANG ZL, *et al.* Determination of acetamiprid and imidacloprid residue in cabbage by gas chromatography [J]. *Acta Agric Boreali-Occidentalis Sin*, 2010, 19(9): 71-74.
- [10] HUI D, WANG RY, WEI L, *et al.* A spherical metal-organic coordination polymer for the microextraction of neonicotinoid insecticides prior to their determination by HPLC [J]. *Microchim Acta*, 2019, 186(2): 1-8.
- [11] 侯如燕, 卞红正, 赵秀霞, 等. 固相萃取-液相色谱测定复杂基质蔬菜中 9 种烟碱类残留[J]. 分析测试学报, 2011, 30(1): 58-63.  
HOU RY, BIAN HZ, ZHAO XX, *et al.* Determination of nicotinoid residues in complicated matrix vegetables by solid phase extraction and HPLC method [J]. *J Instrum Anal*, 2011, 30(1): 58-63.
- [12] 段丽村, 徐芳, 夏清海, 等. QuEChERS-高效液相色谱法测定云南省食用花卉中 4 种烟碱农药残留[J]. 现代预防医学, 2016, 43(20): 3780-3784.  
DUAN LC, XU F, XIA QH, *et al.* Determination of 4 neonicotinoid pesticides residues in edible flowers in Yunnan by QuEChERS-HPLC [J]. *Mod Prev Med*, 2016, 43(20): 3780-3784.
- [13] 卢海博, 魏东, 王素利, 等. 分散固相萃取结合 HPLC 法测定张杂谷中新烟碱类杀虫剂的残留[J]. 农药, 2018, 57(7): 511-515.  
LU HB, WEI D, WANG SL, *et al.* Determination of neonicotinoid insecticides in hybrid millet using dispersive solid-phase extraction and HPLC [J]. *Agrochemicals*, 2018, 57(7): 511-515.
- [14] 郑娣, 叶延东, 鲁芳. 气相色谱-三重四级杆串联质谱法测定茶叶中啉虫威、溴虫脒、啉虫脒残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(12): 4919-4924.  
ZHENG D, YE YD, LU F. Determination of indoxacarb, chlorfenapyr and acetamiprid residues in tea by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(12): 4919-4924.
- [15] GAWEL M, KILJANEK T, NIEWIADOWSKA A, *et al.* Determination of neonicotinoids and 199 other pesticide residues in honey by liquid and gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2019, 282: 36-47.
- [16] FANG L, LIN C, WANG LP, *et al.* Determination of fipronil and its metabolite residues in leafy vegetables by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Anhui Agric Sci*, 2020, 48(17): 206-209.
- [17] LI XT, CHEN JH, HE XP, *et al.* Simultaneous determination of neonicotinoids and fipronil and its metabolites in environmental water from coastal bay using disk-based solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chemosphere*, 2019, 234: 224-231.
- [18] MA LF, WANG YF, LI HP, *et al.* Development of QuEChERS-DLLME method for determination of neonicotinoid pesticide residues in grains by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2020, 331: 127190.
- [19] 吴洁珊, 林俊燕, 倪清泉, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定中草药中多种新烟碱类农药的残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(12): 4003-4008.  
WU JS, LIN JY, NI QQ, *et al.* Determination of residues of various neonicotinoid insecticides in Chinese herbal medicine by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(12): 4003-4008.
- [20] 乐渊, 邓正敏, 刘春华, 等. 多壁碳纳米管净化-超高效液相色谱串联



- 质谱法测定香蕉中 8 种新烟碱类杀虫剂[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(4): 181-186.
- LE Y, DENG ZM, LIU CH, *et al.* Determination of 8 neonicotinoid insecticides in banana by multi-wall carbon nanotube purification and ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2020, 48(4): 181-186.
- [21] 杨冰鑫, 时玲, 李先江, 等. 改进的 QuEChERS 方法结合超高效液相色谱-串联质谱测定大白菜中 8 种新烟碱残留[C]. 中国食品科学技术学会. 中国食品科学技术学会第十八届年会摘要集, 2022.
- YANG BX, SHI L, LI XJ, *et al.* Determination of 8 neonicotinoids in Chinese cabbage by modified QuEChERS method combined with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [C]. Chinese Society of Food Science and Technology. Abstract Collection of 18th Annual Meeting of Chinese Society of Food Science and Technology, 2022.
- [22] 张伟来, 郭宏. QuEChERS 样品前处理-超高效液相色谱三重四级杆质谱联用法同时测定蔬菜中 6 种新烟碱类杀虫剂残留[J]. 口岸卫生控制, 2017, 22(3): 20-22.
- ZHANG WL, GUO H. QuEChERS sample pretreatment and ultra high performance liquid chromatography with triple quadrupole mass spectrometry for simultaneous determination of six neonicotinoid insecticides residues in vegetables [J]. *Port Health Control*, 2017, 22(3): 20-22.
- [23] 缪丹旎, 张宾, 周勇, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测茶制品中非法添加 13 种抗风湿类药物[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(11): 3557-3563.
- MIAO DN, ZHANG B, ZHOU Y, *et al.* Determination of 13 illegal antirheumatic drugs in tea products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(11): 3557-3563.
- [24] 高阳, 徐应明, 孙扬, 等. QuEChERS 提取法在农产品农药残留检测中的应用进展[J]. 农业资源与环境学报, 2014, 31(2): 110-117.
- GAO Y, XU YM, SUN Y, *et al.* Application of QuEChERS extraction method in the determination of pesticide residues in agricultural products [J]. *J Agric Resour Environ*, 2014, 31(2): 110-117.
- [25] 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.
- ZENG Y, LANG H, YANG QH, *et al.* Determination of 79 pesticide residues in tea by solid phase extraction with GC/LC-MS/MS [J]. *Sci Tea*, 2019, 39(5): 576-586.
- [26] 颜鸿飞, 李拥军, 王美玲, 等. 微波辅助萃取-分散固相萃取-气相色谱质谱法测定茶叶中 23 种农药残留[J]. 分析测试技术与仪器, 2013, 19(4): 206-213.
- YAN HF, LI YJ, WANG ML, *et al.* Residual analysis of 23 pesticides in tea by microwave assisted extraction /dispersive solid phase extraction purification and gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Anal Test Technol Instrum*, 2013, 19(4): 206-213.
- [27] 魏玉霞, 王芳, 任武洁, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定果蔬中 10 种农药残留及基质效应考察[J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(24): 2989-2992.
- WEI YX, WANG F, REN WJ, *et al.* Determination of 10 pesticide residues and matrix effects in fruits and vegetables by QuEChERS-ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Health Lab*, 2021, 31(24): 2989-2992.
- [28] 门雪, 吴兴强, 仝凯旋, 等. 改进的 QuEChERS 法结合液相色谱-高分辨质谱筛查热带水果中 33 种新烟碱类杀虫剂及杀菌剂[J]. 分析测试学报, 2022, 41(6): 820-826.
- MEN X, WU XQ, TONG KX, *et al.* Screening of 33 neonicotinoid insecticides and fungicides in tropical fruits by modified QuEChERS method combined with liquid chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2022, 41(6): 820-826.
- [29] 李司棋. 稻虾综合种养模式下吡虫啉及其代谢物的安全性评价[D]. 武汉: 华中农业大学, 2020.
- LI SQ. Safety evaluation of imidacloprid and its metabolites under integrated cultivation of rice and shrimp [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020.
- [30] 蒋玲波, 高卓瑶, 唐雷鸣, 等. QuEChERS 技术结合气相色谱-串联质谱法同时测定水产品中 10 种亚硝胺[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(1): 27-33.
- JIANG LB, GAO ZY, TANG LM, *et al.* Simultaneous determination of 10 nitrosamines in aquatic products by QuEChERS technique and gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(1): 27-33.
- [31] 王霞, 张维谊, 王敏, 等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定蔬菜中 10 种新烟碱类农药残留[J/OL]. 分析试验室: 1-10. [2023-04-13]. DOI: 10.13595/j.cnki.issn1000-0720.2022.050704
- WANG X, ZHANG WY, WANG M, *et al.* Simultaneous determination of 10 neonicotinoid pesticide residues in vegetables by dispersed solid phase extraction-ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J/OL]. *Chin J Anal Lab*: 1-10. [2023-04-13]. DOI: 10.13595/j.cnki.issn1000-0720.2022.050704

(责任编辑: 郑丽 韩晓红)

## 作者简介



黄丁宁, 硕士, 助理工程师, 主要研究方向为食品、保健食品质量分析和检测。  
E-mail: 935833740@qq.com



缪丹旎, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品科学、色谱分析。  
E-mail: 826293071@qq.com