

液相色谱 – 串联质谱法测定植物源性产品中 5 个酰胺类杀菌剂残留

祝子铜¹, 雷美康¹, 许源¹, 黄超群², 陈瑶³, 韩超³

(1. 衢州出入境检验检疫局综合技术服务中心, 衢州 324003; 2. 浙江省检验检疫科学技术研究院, 杭州 310016;

3. 温州出入境检验检疫局, 温州 325027)

摘要 目的: 建立液相色谱 – 串联质谱法测定植物源性产品中 5 个酰胺类杀菌剂 (双炔酰菌胺、噻唑菌胺、吡唑啉菌胺、硅噻菌胺、吡唑啉菌胺) 的含量。**方法:** 样品用 1% 甲酸乙腈溶液进行提取, 经无水硫酸镁、*N*-丙基乙二胺 (PSA)、石墨化炭黑 (GCB) 分散萃取净化, 采用 Accucore XL C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 4.0 μm) 分离, 以甲醇 (A) 和 0.1% 甲酸水溶液 (B) 为流动相进行梯度洗脱 (0~1.0 min, 45%A; 1.0~3.0 min, 45%A → 80%A; 3.0~8.0 min, 80%A → 95%A; 8.0~12.0 min, 95%A; 12.0~13.0 min, 95%A → 45%A; 13.0~17.0 min, 45%A), 流速为 0.4 mL · min⁻¹。质谱采用多反应监测正离子扫描模式, 基质匹配标准曲线定量。**结果:** 测定结果显示, 在草莓、白菜等水果蔬菜中未检测到酰胺类杀菌剂; 在葡萄中有检出酰胺类杀菌剂, 检测结果均符合欧盟等法规要求。5 个酰胺类杀菌剂标准曲线线性良好, 相关系数在 0.993 7~0.999 6。5 个酰胺类杀菌剂检出下限为 3.0 μg · kg⁻¹, 定量下限为 10.0 μg · kg⁻¹。对 6 种植物源性产品进行 10.0、20.0 和 100.0 μg · kg⁻¹ 3 个水平加标回收试验, 平均回收率范围为 76.3%~117.1%, RSD 为 0.70%~14.3%。**结论:** 该方法能满足国内外标准法规对植物源性产品中 5 个酰胺类杀菌剂残留限量的检测要求。

关键词: 植物源性产品; 酰胺类杀菌剂; 液相色谱 – 串联质谱; 双炔酰菌胺; 噻唑菌胺; 吡唑啉菌胺; 硅噻菌胺; 吡唑啉菌胺

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2018) 09-1579-08

doi: 10.16155/j.0254-1793.2018.09.16

Determination of five amide fungicides in plant-derived product by liquid chromatography – tandem mass spectrometry

ZHU Zi-tong¹, LEI Mei-kang¹, XU Yuan¹, HUANG Chao-qun²,
CHEN Yao³, HAN Chao³

(1. Comprehensive Technology Center of Quzhou Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Quzhou 324003, China;

2. Zhejiang Academy of Science and Technology for Inspection and Quarantine, Hangzhou 310016, China;

3. Wenzhou Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Wenzhou 325027, China)

Abstract objective: To develop a method for simultaneously determination of 5 amide fungicides (mandipropamid; ethaboxam; amisulbrom; silthiopham; penthiopyrad) in plant-derived product using liquid chromatography – tandem mass spectrometry. **Methods:** Sample was extracted with 1% formic acid in acetonitrile and purified by Quercers

第一作者 Tel: (0570) 8758833; E-mail: zzt1124@163.com

method with magnesium sulfate, PSA, GCB. The Accucore XL C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 4.0 μm) was adopted with the mobile phase consisting of methanol (A)–0.1% formic acid solution (B) with gradient elution (0–1.0 min, 45%A, 55%B; 1.0–3.0 min, 45%A → 80%A, 55%B → 20%B; 3.0–8.0 min, 80%A → 95%A, 20%B → 5%B; 8.0–12.0 min, 95%A, 5%B; 12.0–13.0 min, 95%A → 45%A, 5%B → 55%B; 13.0–17.0 min, 45%A, 55%B) at a flow rate of 0.4 mL · min⁻¹. Mass spectrometer was operated in the positive ion mode using select reaction monitoring. Matrix-matched calibration curve was used for quantitative analysis. **Results:** Five amide fungicides were not detected in strawberry and cabbage. Amide fungicides were detected in grape. The results of the test meet the requirements of the European Union regulations. The linearity of the calibration curve was from 2.0 to 60.0 ng · mL⁻¹ with correlation coefficient of 0.993 7–0.999 6. The limit of detection in the method was 3.0 μg · kg⁻¹. The average recovery of amide fungicides at three levels of 10.0, 20.0 and 100.0 μg · kg⁻¹ were in the range of 76.3%–117.1% with the RSDs of 0.7%–14.3%. **Conclusion:** This method complied with domestic and foreign laws and regulations for five amide fungicides in plant-derived product.

Keywords: plant-derived product; amide fungicides; high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry (HPLC–MS/MS); mandipropamid; ethaboxam; amisulborem; silthiopham; penthiopyrad

酰胺类杀菌剂是近几年国外公司开发的用于防治卵菌纲病害的药物,主要有双炔酰菌胺、噁唑菌胺、吡唑菌胺、硅噁菌胺和吡唑菌胺等。这些新型杀菌剂的特点是作用机理独特,与甲霜灵等杀菌剂无交互抗性,活性高、持效期长、安全性高。尽管新型酰胺类杀菌剂属于低毒类农药,但是随着这些新型酰胺类杀菌剂的登记、推广和使用,该类农药残留问题也逐渐被人们所关注,欧盟、美国等发达国家和地区以及我国标准和法规对该类农药制定了最高残留限量^[1-3]。欧盟规定硅噁菌胺在桔子、苹果、番茄等水果和蔬菜中的最大残留限量为 0.01 mg · kg⁻¹; 双炔酰菌胺在桔子、苹果、番茄等水果和蔬菜中的最大残留限量为 0.01 mg · kg⁻¹; 吡唑菌胺在桔子、苹果、番茄等水果和蔬菜中的最大残留限量分别为 0.01、0.5、0.05 mg · kg⁻¹; 我国最新颁布的食品安全国家标准 GB 2763–2016《食品中农药最大残留限量》规定了结球甘蓝、花椰菜等蔬菜中的双炔酰菌胺最大残留限量分别为 3、2 mg · kg⁻¹。随着这些法规的实施,我国农产品出口遭遇了新一轮的技术壁垒,为了应对国外的技术壁垒,急需建立同时检测植物源性产品中多种酰胺类杀菌剂的分析方法。

目前国内外公开报道的新型酰胺类杀菌剂分析手段主要有免疫分析法、气相色谱法、液相色谱法、气相色谱–质谱法、液相色谱–质谱联用法^[4-11]。免疫分析法、气相色谱法和液相色谱法存在着特异性低、定性不够准确、灵敏度低等缺点,而液相色谱–质谱

联用法具有定性准确,灵敏度高,已经被广泛应用于农药、兽药残留领域的定性、定量等确证检测工作中。目前未查阅到同时检测上述 5 个酰胺类杀菌剂的文獻报道。为满足实际检测工作需要,本文建立液相色谱–串联质谱法同时测定植物源性产品中 5 个酰胺类杀菌剂的残留量,该方法能满足进出口植物源性产品中 5 个酰胺类杀菌剂的分析要求。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

TSQ VANTAGE 液相色谱–串联质谱仪配有电喷雾离子源(赛默飞世尔科技有限公司);离心机:转速 ≥ 8 000 r · min⁻¹(赛默飞世尔科技有限公司);高速匀浆机(IKA 公司);MS3 basic 漩涡振荡器(IKA 公司);超纯水仪(ELGA 公司);分析天平(梅特勒–托利多公司,万分之一)。

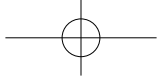
1.2 材料与试剂

乙腈、冰乙酸、甲酸、氯化钠、甲醇(色谱纯,赛默飞世尔科技有限公司);基质分散固相萃取剂:4 g 无水硫酸镁,1 g 氯化钠,1 g 柠檬酸钠和 0.5 g 柠檬酸氢二钠;基质分散固相净化剂:150 mg 无水硫酸镁,25 mg PSA,75 mg GCB;0.22 mm 有机滤膜;超纯水(由超纯水仪制得)。标准物质:双炔酰菌胺、噁唑菌胺、吡唑菌胺、硅噁菌胺、吡唑菌胺(纯度 >98.0%,Dr 公司)。

2 试验条件与方法

2.1 标准溶液的制备

标准储备液:分别精密称取适量的双炔酰菌胺、



噻唑菌胺、吡唑啉菌胺、硅噻菌胺、吡噻菌胺标准物质,用乙腈溶解并定容,配制成 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准储备液。在 -18°C 冰箱保存。

混合标准中间液:分别准确移取适量标准储备液,用甲醇逐级稀释成 $10.0 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合标准中间液。

基质标准工作液:准确移取混合标准中间液适量,用空白样品基质溶液配制成浓度为 2.0、5.0、10.0、20.0、40.0、60.0 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合标准工作液,现配现用。

2.2 样品前处理方法

称取试样 10 g(精确到 0.01 g)置于 50 mL 离心管中,加入 1% 乙酸乙腈溶液 20 mL,均质提取 1 min,加入无水硫酸镁 4 g,氯化钠 1 g,柠檬酸钠 1 g 和柠檬酸氢二钠 0.5 g,涡旋 1 min,于 $8\,000 \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,待净化。

取上述提取液 2 mL 至基质分散固相净化剂

(150 mg 无水硫酸镁, 25 mg PSA, 75 mg GCB) 中,涡旋混匀 1 min,于 $8\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min。取上清液 0.5 mL,加水 0.5 mL,涡旋混匀,过 $0.22 \text{ } \mu\text{m}$ 滤膜,供液相色谱-串联质谱仪测定。

2.3 液相色谱条件

色谱柱: Accucore XL C_{18} ($4.6 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$, $4.0 \text{ } \mu\text{m}$); 甲醇(A)和 0.1% 甲酸水溶液(B)为流动相;柱温 40°C ; 进样量 $10 \text{ } \mu\text{L}$; 液梯度洗脱(0~1.0 min, 45%A; 1.0~3.0 min, 45%A $\rightarrow$ 80%A; 3.0~8.0 min, 80%A $\rightarrow$ 95%A; 8.0~12.0 min, 95%A; 12.0~13.0 min, 95%A $\rightarrow$ 45%A; 13.0~17.0 min, 45%A); 流速: $0.4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

2.4 质谱参数

离子源:电喷雾离子化(ESI)正离子模式;电喷雾电压:3 kV;鞘气压力:137.9 kPa;毛细管温度: 275°C ;干燥气流速: $2.67 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$;干燥气温度: 20°C ;多反应监测(MRM)扫描采集参数见表 1。

表 1 酰胺类杀菌剂质谱采集参数

Tab. 1 The optimized spectrometric parameters for amide fungicides

药物 (drug)	母离子 (precursor ion) m/z	子离子 (product ion) m/z	驻留时间 (dwell time) /ms	去簇电压 (s-lens) /V	碰撞能量 (collision energy) /V
双炔酰菌胺(mandipropamid)	412.0	328.0*	20	88	14
	412.0	124.9	20	88	35
噻唑菌胺(ethaboxam)	321.0	183.0*	20	96	22
	321.0	200.0	20	96	26
吡唑啉菌胺(amsulborum)	466.0	226.7*	20	81	22
	466.0	148.1	20	81	46
硅噻菌胺(silthiopham)	268.0	138.9*	20	82	19
	268.0	73.0	20	82	32
吡噻菌胺(penthiopyrad)	360.0	176.9*	20	82	35
	360.0	275.9	20	82	14

注(note):带*为定量离子(quantitative ion)

3 方法学考察

3.1 标准曲线和定量下限

取“2.1”项下方法制备好的基质标准工作液,以“2.3”和“2.4”项下的条件进行测定,记录目标分析物的峰面积,以各目标分析物的浓度(X)为横坐标,以目标分析物的峰面积(Y)为纵坐标,进行回归分析。5个酰胺类杀菌剂在 $2.0 \sim 60.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系。

该方法的检出下限和定量下限由空白样品添加

目标分析物进行回收实验获得,按“2.2”项下的条件进行处理,“2.3”和“2.4”项下的条件进行测定,以 3 倍信噪比($S/N > 3$)为检出下限、10 倍信噪比($S/N > 10$)为定量下限。结果见表 2。

3.2 回收率

选用空白白菜、芹菜、番茄等为样品基质,添加不同量的酰胺类杀菌剂标准溶液,加标水平分别为 10.0、20.0、100.0 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,每个添加水平均做 6 个平行样,其结果见表 3。

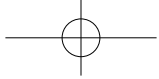


表 2 白菜基质 5 种酰胺类杀菌剂的线性数据及定量下限

Tab. 2 Linear test results and LOQ of five amide fungicides for cabbage matrix

分析物 (analyte)	线性方程 (linear equation)	r^2	线性范围 (linear range) ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	LOQ/($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
双炔酰菌胺 (mandipropamid)	$Y=4.642 \times 10^4 X+4.975 \times 10^3$	0.993 7	2.0~60.0	10.0
噻唑菌胺 (ethaboxam)	$Y=1.024 \times 10^5 X+8.408 \times 10^3$	0.999 6	2.0~60.0	10.0
吡唑磺菌胺 (amisulborem)	$Y=1.220 \times 10^3 X+71.60$	0.995 7	2.0~60.0	10.0
硅噻菌胺 (silthiopham)	$Y=8.797 \times 10^4 X+9.002 \times 10^3$	0.998 4	2.0~60.0	10.0
吡噻菌胺 (penthiopyrad)	$Y=9.405 \times 10^4 X+5.681 \times 10^3$	0.999 4	2.0~60.0	10.0

表 3 回收率与精密度试验结果 ($n=6$)

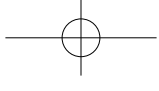
Tab. 3 Recovery and precision for 6 replicate determination

基质 (matrix)	添加量 (added)/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	双炔酰菌胺 (mandipropamid)		噻唑菌胺 (ethaboxam)		吡唑磺菌胺 (amisulborem)		硅噻菌胺 (silthiopham)		吡噻菌胺 (penthiopyrad)	
		平均 回收率 (average recovery)	RSD/%	平均 回收率 (average recovery)	RSD/%	平均 回收率 (average recovery)	RSD/%	平均 回收率 (average recovery)	RSD/%	平均 回收率 (average recovery)	RSD/%
		/%		/%		/%		/%		/%	
葡萄 (grape)	10.0	98.5	4.9	99.8	1.7	85.5	14.3	100.5	4.4	104.3	5.2
	20.0	109.3	3.7	92.8	4.6	90.4	3.7	103.8	3.6	104.8	1.8
	100.0	117.1	2.6	104.2	1.6	106.9	1.0	108.2	2.8	108.0	2.2
白菜 (cabbage)	10.0	80.2	2.4	89.7	4.6	90.3	4.4	93.5	2.8	89.8	1.6
	20.0	78.1	1.3	90.3	1.9	76.3	6.6	90.8	2.9	86.1	2.1
	100.0	79.9	4.3	90.9	3.1	79.6	7.1	89.8	2.6	88.1	4.9
芹菜 (celery)	10.0	94.3	6.3	95.5	4.2	85.8	10.9	96.5	3.9	97.7	3.7
	20.0	91.7	6.8	92.5	2.0	90.5	7.2	95.8	3.3	95.2	3.0
	100.0	94.1	1.7	91.4	3.1	92.3	4.9	94.6	1.7	93.9	2.2
黄瓜 (cucumber)	10.0	109.7	2.7	96.2	3.5	106.3	8.7	109.0	4.3	107.5	3.3
	20.0	101.1	1.2	95.6	1.9	102.7	4.6	104.4	2.4	102.8	1.4
	100.0	105.3	2.0	99.3	0.7	101.0	3.1	103.1	1.7	104.6	2.1
番茄 (tomato)	10.0	107.7	5.5	103.7	3.0	91.3	6.4	102.3	3.2	103.7	5.7
	20.0	103.6	1.8	98.4	0.9	85.9	8.0	98.6	3.0	99.0	2.0
	100.0	98.6	0.8	101.9	1.1	95.5	3.2	98.5	1.2	97.8	1.5
草莓 (strawberry)	10.0	116.0	6.9	112.3	2.3	113.7	6.7	111.0	4.1	111.7	5.5
	20.0	103.5	3.3	106.4	3.5	103.3	3.5	101.8	2.3	102.4	1.9
	100.0	103.7	1.9	102.9	1.3	103.5	1.6	98.9	1.8	101.5	0.7

3.3 方法基质效应

取空白白菜基质样品,按“2.2”项下方法制得空白基质溶液,用空白基质溶液将混合标准中间液稀释至 2.0、5.0、10.0、20.0、40.0、60.0 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$,制成基质标准工作液。另取混合标准中间液,用甲醇-水(1:1)

稀释,制成质量浓度为 2.0、5.0、10.0、20.0、40.0、60.0 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的纯溶剂标准工作液。将上述 2 种工作液分别进样,绘制标准曲线。分别使用 2 条标准曲线对不同添加浓度的白菜基质加标样品进行校正。回收率数据见表 4,从表 4 可以得出,使用纯溶剂标准曲线进



行校准,除硅噻菌胺回收率能够达到 70% 以上外,其他 4 个酰胺类杀菌剂回收率基本上低于 70%;而使用基质标准曲线进行校正,5 个酰胺类杀菌剂回收率在 71.0%~95.0%。经过前处理后的样品存在着较明

显的基质抑制效应,使用基质曲线进行定量能够有效地降低基质效应的影响,定量结果更加准确可靠。因此,本研究使用基质标准曲线进行定量。表 4 为纯溶剂标准曲线和白菜基质标准曲线校准后回收率数据。

表 4 纯溶剂标准曲线和白菜基质标准曲线校准后回收率数据 (n=6)

Tab. 4 Recovery rate of pure calibration and cabbage matrix-matched calibration for 6 replicate determination

水平 (level) ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	回收率范围 (recovery range) /%									
	纯溶剂标准曲线 (pure calibration)					基质标准曲线 (matrix-matched calibration)				
	双炔酰 菌胺 (mandipro- pamid)	噻唑菌胺 (etha- boxam)	吲唑磺 菌胺 (amisul- borum)	硅噻菌胺 Silthio- pham	吡噻菌胺 (penthio- pyrad)	双炔酰 菌胺 (mandipro- pamid)	噻唑菌胺 (etha- boxam)	吲唑磺 菌胺 (amisul- borum)	硅噻菌胺 (silthio- pham)	吡噻菌胺 (penthio- pyrad)
10.0	37.2~41.2	65.2~69.2	58.0~62.4	75.6~83.6	48.8~50.8	78.0~83.0	84.0~95.0	84.0~95.0	90.0~98.0	87.0~91.0
20.0	49.6~52.0	69.8~73.4	51.6~58.8	81.0~85.5	55.2~56.8	76.5~79.5	88.5~92.5	71.0~82.5	87.5~94.5	84.5~88.5
100.0	61.3~67.9	73.4~79.6	56.2~67.3	85.5~92.3	62.2~70.4	77.3~85.1	87.0~94.4	72.8~86.9	86.3~93.0	83.9~94.5

4 讨论

4.1 液相色谱条件的选择

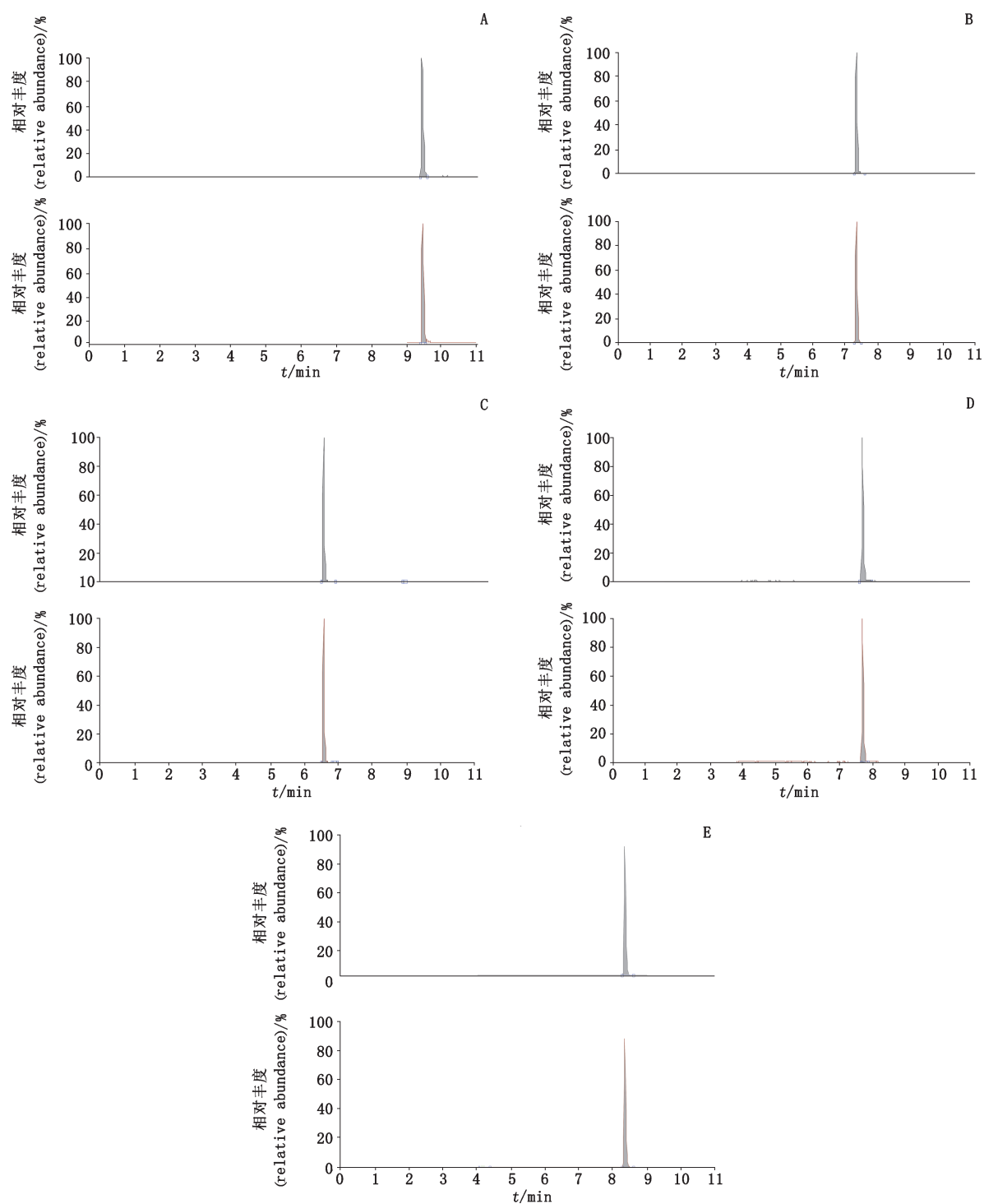
色谱柱的选择:通过查阅文献资料及对 5 个酰胺类杀菌剂结构与性质进行分析,5 个酰胺类杀菌剂是中等到偏弱极性化合物^[12],在 C_{18} 反相色谱柱上有着较强的保留。对不同型号的 C_{18} 柱 (Accucore XL C_{18} , 150 mm $\times$ 4.6 mm, 4 μm ; Eclipse plus C_{18} , 100 mm $\times$ 2.1 mm, 3.5 μm ; Hypersil gold C_{18} , 50 mm $\times$ 2.1 mm, 1.9 μm) 进行了对比,上述 3 款色谱柱对目标化合物都能很好地保留,且大部分分析物能够达到基线分离,但是 Hypersil gold C_{18} 柱和 Eclipse plus C_{18} 柱由于柱长短,无法将分析物与样品基质有效分离,导致分析物受基质抑制较严重,综合考量,最终选择保留时间较长、能够实现分析物与基质分离的 Accucore XL C_{18} 柱作为分析用色谱柱。

流动相的选择:目标化合物采用 MRM 正离子扫描模式,有机相常选用乙腈、甲醇溶液,水相通常使用甲酸水、乙酸铵水溶液或两者的混合溶液。通过实验对比,尝试了甲醇-水、甲醇-0.1% 甲酸水溶液、乙腈-水、乙腈-0.1% 甲酸水溶液的流动相系统,双炔酰菌胺、噻唑菌胺、硅噻菌胺、吡噻菌胺使用上述流动相体系都有很强的响应,其中吲唑磺菌胺由于本身结构特殊,可以在正离子和负离子模式下离子化,在 2 种离子化模式下响应较其他 4 种酰胺类杀菌剂低,而使用甲醇-0.1% 甲酸水溶液作为流动相能够提高吲唑磺菌胺的在正源模式下的响应强度。因此,本方法

选择甲醇-0.1% 甲酸水溶液为流动相。优化后色谱的条件见“2.3”项下液相色谱条件。

4.2 质谱参数的建立

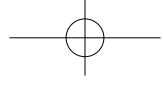
本实验参照国内外的文献报道,采用 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 待测化合物的标准溶液,分别以流动注射的方式进行母离子全扫描,确定每个农药的母离子质量数。双炔酰菌胺、噻唑菌胺、硅噻菌胺、吡噻菌胺在正源模式下进行优化,确定母离子。根据文献报道,吲唑磺菌胺可以在正源和负源模式下离子化,且吲唑磺菌胺其结构式含有 1 个溴元素,同位素丰度比接近 1/1,在同一离子化模式下存在响应一致的同位素峰,分别对其进行正源模式和负源模式优化,优化后发现正源模式下信号较好,正源模式下母离子分别为 m/z 466.0、468.0。对 2 个母离子分别进行子离子优化,根据优化结果, m/z 466.0 作为母离子确定的离子对信号较强且相对稳定,因此,选择 m/z 466.0 作为母离子。确定好母离子后,分别对喷雾电压、蒸发温度、毛细管温度、蒸发气体流速、辅助气流速进行优化,根据文献报道,吲唑磺菌胺易发生源内裂解^[13],因此,喷雾电压、蒸发温度设置较低。然后分别对 5 个酰胺类杀菌剂进行子离子及碰撞能量优化,选择 2 个特征子离子,选择信噪比大、峰形好、干扰小的离子作为定量离子,另一个离子为定性离子,建立 MRM 模式。5 个酰胺类杀菌剂的详细质谱参数如表 2 所示。优化后的条件见“2.4”项下质谱参数。图 1 为 5 个酰胺类杀菌剂基质标准溶液在 MRM 模式下采集到的色谱图 (浓度为 0.01 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。



A. 吡唑磺菌胺 (amisulborum) B. 双炔酰菌胺 (mandipropamid) C. 噻唑菌胺 (ethaboxam) D. 硅噻菌胺 (silthiopham) E. 吡噻菌胺 (penthiopyrad)

图 1 5 个酰胺类杀菌剂多反应监测色谱图 ($0.01 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)

Fig. 1 Multiple reaction monitoring chromatography of five amide fungicides standard solution



4.3 提取条件的选择

本研究使用 Quechers 法进行萃取, Quechers 法常用的提取试剂有乙腈、1% 乙酸乙腈等^[10-11]。实验比较了乙腈、1% 乙酸乙腈的提取效果, 发现采用 1% 乙酸乙腈的提取效果较好, 发现采用 1% 乙酸乙腈作为提取试剂。Quechers 萃取包中含有氯化钠和无水硫酸镁, 均能促使水相与有机相分离。其中氯化钠利用盐析原理使乙腈相与水相分离, 无水硫酸镁以结晶的方式吸水, 水相因被吸附而迅速减少。本研究采用 4 g 无水硫酸镁, 1 g 氯化钠, 1 g 柠檬酸钠和 0.5 g 柠檬酸氢二钠, 然后均质 1 min, 在无水硫酸镁吸附一部分水相的同时, 剩余少量的水利用氯化钠的盐析作用与有机相分离。无水硫酸镁与氯化钠混合后不易板结, 既能提高农药组分的萃取率, 又不会产生局部过热的现象。确定后的提取条件见“2.2”项。

4.4 净化条件的选择

良好的样品净化能够有效地去除基质干扰组分, 可以很好地降低基质效应^[14-16]。Quechers 法因其简单、快速等特点而广泛用于农残分析。双快酰菌胺、噻唑菌胺、硅噻菌胺、吡唑菌胺、吡唑磺菌胺的极性相对较弱, 通过查找文献, 主要的净化方式有 Sep-pack Vac 复合固相萃取柱、GCB 柱、Florisil 柱、NH₂ 柱净化, 用 ODS C₁₈-N、PSA 等进行分散净化。本研究比较了 Florisil 柱和 C₁₈ 柱, 150 mg 无水硫酸镁、25 mg PSA、25 mg GCB, 150 mg 无水硫酸镁、25 mg PSA、75 mg GCB 等几种净化方法, 发现 Florisil、C₁₈ 固相萃取柱可有效去除基质, 但是 Florisil 对于深色果蔬色素的净化效果较差。C₁₈ 固相萃取柱对吡唑磺菌胺吸附很强, 洗脱剂很难将吡唑磺菌胺完全洗脱下来, 导致吡唑磺菌胺回收率偏低。因此, 本研究选用净化效果更好的 150 mg 无水硫酸镁、25 mg PSA、75 mg GCB 尺寸样品进行净化。

5 实际样品测定

采用本研究建立的分析方法, 对从市场上购买的草莓、葡萄、芹菜、白菜、黄瓜、番茄、梨、生菜等样品进行测定, 在葡萄中有检出酰胺类杀菌剂, 检出结果均符合欧盟等国家和国内法规要求。

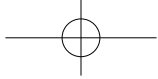
6 结论

本研究建立了液相色谱-串联质谱法测定植物源性产品中 5 个酰胺类杀菌剂残留量的分析方法, 该方法采用 1% 乙酸乙腈并结合 Quechers 法(4 g 无水硫酸镁, 1 g 氯化钠, 1 g 柠檬酸钠和 0.5 g 柠檬酸氢二

钠)进行提取, 使用 150 mg 无水硫酸镁、25 mg PSA、75 mg GCB 进行净化, 该方法具有快速、灵敏度高、定性和定量结果准确等优点, 能够满足国内外法规中对该类药物的限量要求。

参考文献

- [1] Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council of 23 February 2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC [EB/OL]. <http://ec.europa.eu/transparency/regdoc/rep/1/2006/EN/1-2006-908-EN-F1-1.Pdf>.
- [2] Commission Regulation (EU) No 737/2014 of 24 June 2014 amending Annexes II and III to Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council as regards maximum residue levels for 2-phenylphenol, chlormequat, cyflufenamid, cyfluthrin, dicamba, fluopicolide, flutriafol, fosetyl, indoxacarb, isoprothiolane, mandipropamid, metaldehyde, metconazole, phosmet, picloram, propyzamide, pyriproxyfen, saflufenacil, spinosad and trifloxystrobin in or on certain products [EB/OL]. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX:32014R0703>
- [3] GB 2763-2016 食品安全国家标准食品中农药最大残留限量 [S]. 2016
GB 2763-2016 National Food Safety Standard—Maximum Residue Limits for Pesticides in Food [S]. 2016
- [4] 张群, 吴南村, 刘春华. GPC 净化联合 GC-MS/MS 测定番石榴中 2 种杀菌剂残留 [J]. 现代农药, 2016, 15(5): 42
ZHANG Q, WU NC, LIU CH. Determination of triadimefon and procyimdone residues in guava by GPC-GC-MS/MS [J]. Mod Agrochem, 2016, 15(5): 42
- [5] 吴岩, 康庆贺, 刘永. 凝胶渗透色谱与固相萃取净化-气相色谱-质谱法测定粮谷中酰胺类除草剂残留量 [J]. 理化检验-化学分册, 2010, 46(9): 1066
WU Y, KANG QH, LIU Y. GC-MS determination of residual acetanilide herbicides in cereals after purification with gel permeation chromatography and solid-phase extraction [J]. PTCA (PART B: CHEM. ANAL), 2010, 46(9): 1066
- [6] WU YL, CHEN RX, ZHU Y, et al. Simultaneous determination of sixteen amide fungicides in vegetables and fruits by dispersive solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2015, 989: 11
- [7] 周杨全, 徐金丽, 徐光军, 等. 液相色谱-串联质谱法检测吡唑磺菌胺在烟叶的残留及消解动态 [J]. 农药学报, 2015, 17(5): 585
ZHOU YQ, XU JL, XU GJ, et al. Residue and dissipation of amisulbrom in tobacco leaves by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Pest Sci, 2015, 17(5): 585
- [8] 崔淑华, 徐美玲, 钱家亮, 等. 液相色谱-串联质谱法测定果蔬中 4 种新型卵菌纲杀菌剂残留 [J]. 分析化学, 2011, 39(12): 1836



- CUI SH, XU ML, QIAN JL, *et al.* Determination of new type of 4 bactericides used for control of oomycete diseases residues in fruits and vegetables by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2011, 39(12): 1836
- [9] 柳茵, 张亚莲, 丁涛, 等. 高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱用于葡萄酒中 111 种农药残留的定性筛查与定量分析[J]. *分析测试学报*, 2014, 33(5): 489
- LIU H, ZHANG YL, DING T, *et al.* Screening and quantification of 111 pesticide residues in wines by high performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2014, 33(5): 489
- [10] 秋山 由美, 松岡 智郁. ポジティブリスト制度施行後に残留基準が新設された 12 農薬への多成分一斉分析法の適用[J]. 兵庫県立健康生活科学研究所健康科学研究センター研究報告 第 1 号, 2010: 38
- [11] 高阳, 徐应明, 孙杨, 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
- GAO Y, XU YM, SUN Y, *et al.* Research progress of quechers extraction method in pesticide residues determination in agricultural products [J]. *J Agr Resources Environ*, 2014, 31(2): 110
- [12] 陈小龙, 李正翔, 曹赵云, 等. 液相色谱-串联质谱法测定蔬菜和水果中 6 种新型酰胺类杀菌剂的残留量[J]. *色谱*, 2013, 31(10): 954
- CHEN XL, LI ZX, CAO ZY, *et al.* Determination of six novel amide fungicides in vegetables and fruits by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2013, 31(10): 954
- [13] LEE HM, PARK SS, LIM MS, *et al.* Multiresidue analysis of pesticides in agricultural products by a liquid chromatography/tandem mass spectrometry based method [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2013, 22(5): 1205
- [14] 曲斌. Quechers 在动物源性食品兽药残留检测中的研究进展[J]. *食品科学*, 2013, 34(5): 327
- QU B. Advances in application of Quechers for detection of veterinary drug residues in animal-derived foods [J]. *Food Sci*, 2013, 34(5): 327
- [15] 贾彦波, 王清清, 宋海峰. 高效液相色谱-串联质谱法 (HPLC-MSⁿ) 分析生物样品时的基质效应研究[J]. *农药学报*, 2011, 35(2): 149
- JIA YB, WANG QQ, SONG HF. Matrix effects derived from using high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry in biosamples [J]. *Mil Med Sci*, 2011, 35(2): 149
- [16] LI F, ZHAO ZL, SHEN CH, *et al.* Elimination of matrix effects during analysis of perfluorinated acids in solid samples by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Cent South Univ*, 2012, 189: 2886

(本文于 2017 年 12 月 6 日收到)