

周悦,孙慧,李欣,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定马铃薯中噁唑菌酮、氰霜唑及其代谢物 CCIM 的残留量[J].江苏农业科学,2020,48(17):206-210.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.17.041

# 超高效液相色谱-串联质谱法测定马铃薯中噁唑菌酮、氰霜唑及其代谢物 CCIM 的残留量

周悦,孙慧,李欣,王远,王洪庆,龙惊惊,丁琦,张璋

(沈阳化工研究院有限公司,辽宁沈阳 110021)

**摘要:**采用超高效液相色谱-串联质谱法同时测定马铃薯中噁唑菌酮、氰霜唑及其代谢物 CCIM 的含量,样品经含 0.1% 乙酸的乙腈溶液振荡提取,离心过滤后上机检测。结果显示,噁唑菌酮在 0.002 0 mg/L ~ 0.100 0 mg/L 的浓度之间线性关系良好, $r^2 \geq 0.998 6$ ;氰霜唑及其代谢物 CCIM 在 0.000 2 mg/L ~ 0.010 0 mg/L 的浓度之间线性关系良好, $r^2 \geq 0.996 8$ 。上述农药在马铃薯中的平均回收率在 76.4% ~ 95.9% 之间,相对标准偏差(RSD)在 0.91% ~ 5.62% 之间,定量限在 0.01 ~ 0.02 mg/kg 之间。该方法简单、快速、准确性好、灵敏度高,能够满足马铃薯中噁唑菌酮、氰霜唑及其代谢物 CCIM 残留量的检测要求。

**关键词:**噁唑菌酮;氰霜唑;CCIM;马铃薯;超高效液相色谱-串联质谱法

**中图分类号:** S482.2;S481+.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)17-0206-04

噁唑菌酮是一种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂,对防治各种霜霉病、黑斑病、晚疫病效果显著<sup>[1-3]</sup>。氰霜唑是一种新型环境保护型的苯并磺胺咪唑类杀菌剂,对疫霉菌、腐霉菌等卵菌纲病原菌具有很高的活性<sup>[4-5]</sup>。由于氰霜唑在与其他杀菌剂共同施用,具有无交叉抗性的特点,可以与噁唑菌酮制成混剂,这种混剂对于治疗马铃薯晚疫病和霜霉病效果显著<sup>[6]</sup>。在 2014—2018 年间,噁唑菌酮和氰霜唑分别作为有效成分以不同剂型在我国马铃薯病虫害防治上登记的数量分别为 7、23 个<sup>[7]</sup>。然而,氰霜唑在使用后会迅速分解成 4-氯-5-(4-甲基)-1H-咪唑-2-腈(CCIM)、4-氯-5-(4-甲基)-1H-咪唑-2-羧酸(CCTA)、4-氯-5-(4-甲基)-1H-咪唑-2-甲酰胺(CCIM-AM)等多个代谢产物。其中 CCIM 作为主要降解产物,比氰霜唑具有更高的毒性<sup>[5]</sup>。

目前,国内外尚未有文献报道能同时检测马铃薯中噁唑菌酮、氰霜唑、CCIM 残留量的分析方法。本研究采用超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)法建立同时测定马铃薯中噁唑菌酮、氰霜唑及其代谢物 CCIM 含量的分析方法。在样品前处理过程中,经过反复试验、对比回收率,确立马铃薯样品用含 0.1% 乙酸的乙腈振荡提取,离心过滤后直接经 UPLC-MS/MS 检测的方法,较传统 QuEChERS 方法更加简捷、经济、高效。本研究方法在覆盖 2 个数量级的线性范围内<sup>[8]</sup>,线性关系良好,并得到较高的准确度和精密度。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

主要的试验仪器有 PerkinElmer Qsight 超高效液相色谱仪-串联三重四级杆质谱仪(珀金埃尔默仪器有限公司)、梅特勒-托利多 PB-10pH 计、梅特勒-托利多 XS205DU 型分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]、美的 WBL25B36 榨汁机(美的公司)、Sigma 3K15 高速冷冻离心机(日本 Sigma 公司)、ZWY-211C 恒温培养振荡器(上海智城分析仪器制造有限公司)。

主要的试验试剂有哇哈哈纯净水,甲醇、乙腈(色谱级,美国 Fisher 公司),甲酸(色谱级,Acros

收稿日期:2019-10-30

基金项目:国家重点研发计划(编号:2017YFD0800702)。

作者简介:周悦(1990—),女,辽宁沈阳人,助理工程师,主要从事分析检测研究。E-mail:zhouyue3@sinochem.com。

通信作者:王远,硕士,教授级高级工程师,硕士生导师,主要从事化学品分析检测研究,E-mail:wangyuan@sinochem.com;丁琦,硕士,教授级高级工程师,主要从事农药残留和环境毒理学研究,E-mail:dingqi@sinochem.com。

Organics 公司),乙酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司),农药标准品:氰霜唑、CCIM、噁唑菌酮[国家农药质量监督检验中心(沈阳)],*N*-丙基乙二胺(PSA)固相吸附剂 40 ~ 60  $\mu\text{m}$ 、 $\text{C}_{18}$  净化剂(Agela Technologies)。

## 1.2 试验方法

1.2.1 标准溶液的配制 将标准溶液经乙腈逐级稀释,配制成 100、10、1 mg/L 的标准溶液储备液,将浓度为 1 mg/L 的储备液分别用乙腈(含 0.1% 乙酸)和空白基质稀释,噁唑菌酮配制成 0.002 0、0.005 0、0.010 0、0.020 0、0.050 0、0.100 0 mg/L 系列浓度的工作溶液;氰霜唑和 CCIM 配制成 0.000 2、0.000 5、0.001 0、0.002 0、0.005 0、0.010 0、0.020 0 mg/L 系列浓度的混合作溶液。

1.2.2 样品前处理 采用改进后的 QuEChERS 方法:称取( $10 \pm 0.05$ ) g 经榨汁机搅碎后的马铃薯样品置于三角瓶中,加入 50 mL 乙腈(含 1% 乙酸),180 r/min 振荡 30 min 后,加入 6 g 氯化钠振荡 2 min,盐析,以 5 000 r/min 的转速离心 5 min,取 2.0 mL 上层清液直接过 3 次 0.22  $\mu\text{m}$  的有机系滤膜,UPLC-MS/MS 检测。

1.2.3 仪器条件 色谱条件:色谱柱 Phenomenex Kinetex 2.6  $\mu\text{m}$ , $\text{C}_{18}$ (100 mm $\times$ 4.6 mm),柱温为 40  $^{\circ}\text{C}$ ,流速为 0.6 mL/min,进样量为 10  $\mu\text{L}$ ,流动相为 A 相:水(含 0.1% 甲酸),B 相:乙腈。洗脱条件见表 1。

表 1 液相洗脱条件

时间 (min)	流速 (mL/min)	乙腈 (%)	水(含 0.1% 甲酸) (%)
0	0.6	80	20
0.5	0.6	80	20
3.0	0.6	95	5
3.5	0.6	95	5
4.0	0.6	80	20
5.0	0.6	80	20

质谱条件:采用 ESI 电喷雾离子源,正离子模式,三重四级杆质量检测器。离子化电压为 5 800 V,离子源温度为 400  $^{\circ}\text{C}$ ,反吹干燥器流速为 100  $\mu\text{L}/\text{min}$ ,雾化气流速为 180  $\mu\text{L}/\text{min}$ ,质谱接口加热温度 HSID 为 300  $^{\circ}\text{C}$ ,真空室入口电压为 10 V,利用质谱自带的多反应监测模式(multiple reaction monitoring,简称 MRM)优化功能,获得不同离子对的碰撞室入口电压和碰撞能 2 个参数。3 种农药的定性/定量离子对如表 2。

表 2 质谱多重反应监测

名称	保留时间 (min)	定性离子对 ( $m/z$ )	定量离子对 ( $m/z$ )
噁唑菌酮	2.52	397/168	397/261
氰霜唑	2.43	325/217	325/108
CCIM	2.03	218/183	218/139

注: $m/z$  表示质荷比。

1.2.4 测定方法 按“1.2.3”节的仪器条件,待仪器基线稳定后,连续注入数针标样溶液,直至相邻 2 针峰面积相对变化小于 1.5% 后,采用标准曲线、测试样品、标准曲线的顺序进行测定。同时,作溶剂空白和基质空白对照,按照标准曲线的线性方程对测试样品进行外标定量,色谱结果如图 1 所示。

## 2 结果与分析

### 2.1 马铃薯样品前处理方法的选择

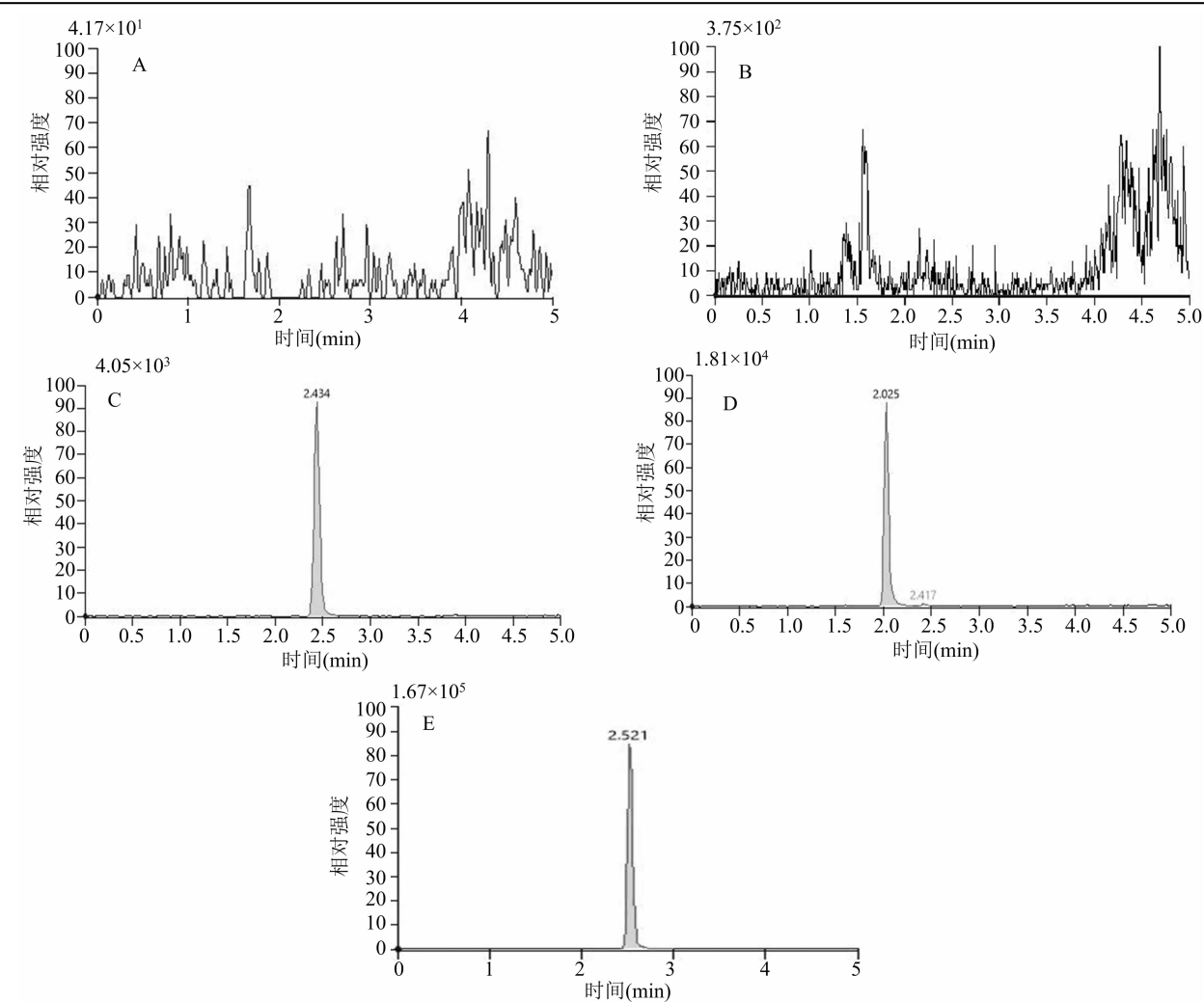
2.1.1 提取溶剂的选择 分别选取乙腈、甲醇、乙腈+0.1% 乙酸、甲醇+0.1% 乙酸等 4 种溶剂进行提取,发现采用甲醇、甲醇+0.1% 乙酸 2 种溶剂时,振荡、盐析后,分层不明显,上层提取液混浊。采用乙腈作为提取溶剂时,氰霜唑、CCIM、噁唑菌酮的平均回收率分别为 84.9%、87.2%、70.5%;用乙腈+0.1% 乙酸作为提取溶剂,氰霜唑、CCIM、噁唑菌酮的平均回收率分别为 88.4%、90.0%、76.2%,因此本研究选用乙腈+0.1% 乙酸作为提取溶剂。

2.1.2 净化剂的选择 QuEChERS 方法常用的净化剂包括 GCB、 $\text{MgSO}_4$ 、PSA、 $\text{C}_{18}$  等吸附填料<sup>[9-11]</sup>,通常 PSA 用于去除极性的有机酸、一些糖类、脂类; $\text{MgSO}_4$  用于去除水分;GCB 用于去除色素、如叶绿素,但对平面结构药物会有吸附; $\text{C}_{18}$  用于去除脂类和固醇、类胡萝卜素等。本研究分别考察 PSA 和  $\text{C}_{18}$  组合添加、单独添加、不添加对回收率的影响,结果发现,PSA 和  $\text{C}_{18}$  均对噁唑菌酮的回收率影响较大,回收率降低,怀疑与化合物分子结构有关<sup>[12-15]</sup>。

而当不添加任何净化剂时,氰霜唑、CCIM、噁唑菌酮均能得到较好的回收率,且目标物并未受到基质中杂质的干扰,具体参见图 2 至图 4。因此,本研究采用盐析分层后,不经净化,采用直接过滤的方式进行 UPLC-MS/MS 检测,此法更加经济、快捷、高效。

### 2.2 方法的线性相关性、基质效应评价

分别以噁唑菌酮、氰霜唑、CCIM 标液的质量浓度(mg/L)对响应值(峰面积)进行线性回归,采用  $1/x^2$  加权,得出线性回归方程。基质效应评价按照



A—溶剂空白；B—马铃薯基质空白；C—氟霜唑色谱图（0.000 2 mg/L）；D—CCIM 色谱图（0.000 2 mg/L）；E—噁唑菌酮色谱图（0.002 0 mg/L）

图1 空白溶剂、空白基质；噁唑菌酮、氟霜唑、CCIM 在马铃薯中的色谱结果

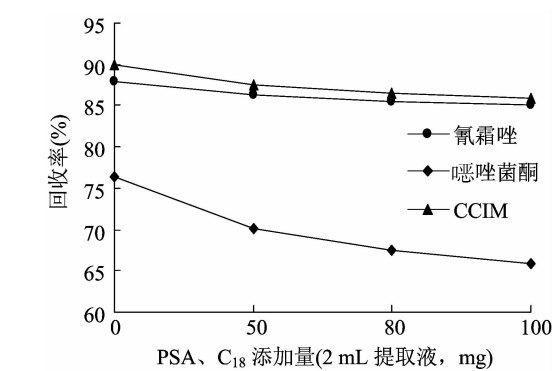


图2 PSA、C<sub>18</sub> 组合添加对回收率的影响

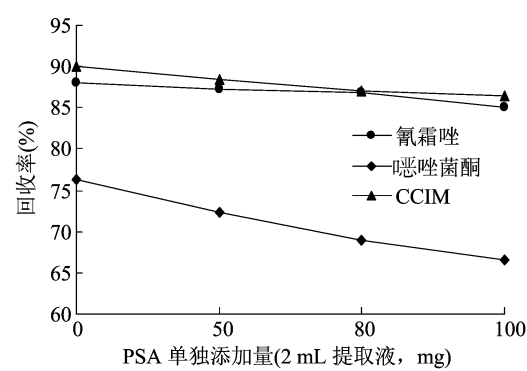
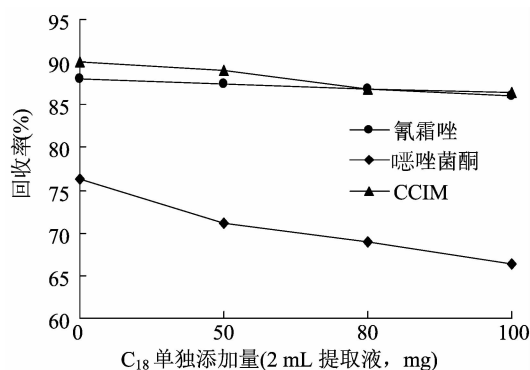


图3 PSA 单独添加对回收率的影响

纯溶剂标准溶液、基质标准溶液的顺序进行检测拟合标准曲线方程。其中,噁唑菌酮在纯溶剂中的曲线方程为  $y = 553.760\,00x - 191.996\,17, r^2 = 0.998\,7$  ( $n = 6$ );在马铃薯基质中的曲线方程为  $y = 467.000\,00x - 260.444\,61, r^2 = 0.998\,6$  ( $n = 6$ );基质效应  $ME\% = (553.76 - 467.00)/553.76 \times 100\% =$

15.67%;氟霜唑在纯溶剂中的曲线方程为  $y = 9\,930x - 217, r^2 = 0.999\,2$  ( $n = 7$ );在马铃薯基质中的曲线方程为  $y = 8\,715x - 118, r^2 = 0.996\,8$  ( $n = 7$ ),基质效应  $ME\% = (9\,930 - 8\,715)/8\,715 \times 100\% = 13.94\%$ ;代谢物 CCIM 在纯溶剂中的曲线方程为  $y = 34\,302x - 15, r^2 = 0.996\,4$ ;在马铃薯基质中的曲

图4 C<sub>18</sub>单独添加对回收率的影响

线方程为  $y = 30\ 036x - 216$ ,  $r^2 = 0.998\ 6$ ; CCIM 基质

表3 添加回收率及相对标准偏差试验结果

药品名称	添加浓度 (mg/kg)	回收率 (%)				相对标准偏差 (%)
		1	2	3	平均	
噁唑菌酮	0.02	74.8	80.8	76.3	77.3	3.91
	0.05 (MRL)	75.0	81.2	73.0	76.4	5.62
	0.50	79.1	74.7	75.9	76.6	2.99
氟霜唑	0.01	91.0	89.4	89.9	89.8	0.91
	0.02 (MRL)	84.2	87.3	83.1	84.9	2.57
	0.20	86.1	88.0	89.2	87.8	1.78
CCIM	0.01	91.1	91.2	93.4	91.9	1.41
	0.02 (MRL)	91.6	90.4	87.0	89.7	2.66
	0.20	95.2	94.5	98.1	95.9	1.99

## 2.4 方法的定量限

以最小添加浓度作为方法的定量限、噁唑菌酮在马铃薯中的 LOQ 为 0.02 mg/kg; 氟霜唑、CCIM 在马铃薯中的 LOQ 为 0.01 mg/kg。本试验所测溶剂空白、马铃薯空白样品在目标物出峰区间的信号均小于 LOQ 水平响应的 30%。

## 3 结论

本研究开发的方法,线性相关性、准确度、精密度、专属性 LOQ 的检测结果均达到指标。该方法简洁、高效,具有较高的灵敏度和良好的精密度等特点,能满足国内外相关农药最大残留量的标准要求,适合推广。

### 参考文献:

- [1] 梁林,李文平,刘伟. 噁唑菌酮在马铃薯和土壤中的残留分析及消解动态研究[J]. 农药科学与管理, 2017, 38(3): 34-37.
- [2] 李文燕,刘洪涛,庞国勋,等. 杀真菌剂噁唑菌酮的合成[J]. 河北师范大学学报(自然科学版), 2016, 40(6): 523-525.
- [3] Sternberg J A, Geffken D, Adams J B, et al. Famoxadone: the discovery and optimisation of a new agricultural fungicide[J]. Pest

效应  $ME\% = (34\ 302 - 30\ 036) / 30\ 036 \times 100\% = 14.20\%$ 。上述结果表明,3种农药在线性范围内,响应值与其质量浓度之间线性关系良好,且未见明显的基质效应。本研究采用基质配制工作溶液。

### 2.3 添加回收率及重复性

本试验设置3个添加水平,每个添加水平作3组平行试验,相应的回收率及相对标准偏差(relative standard deviation,简称 RSD)结果如表3所示。由表3可知,3种农药平均回收率在 76.4%~95.9% 之间,相对标准偏差在 0.91%~5.62% 之间。

Management Science, 2001, 57(2): 143-152.

- [4] Camara A, Martinez G, Cermen S, et al. Influence of fungicide residues and *in vitro* gastrointestinal digestion on total antioxidant capacity and phenolic fraction of Graciano and Tempranillo red wines [J]. Journal of Environmental Science and Health, Part B, 2019, 54(12): 942-947.
- [5] Zhang P F, Guan A Y, Xia X L, et al. Design, synthesis, and structure-activity relationship of new arylpyrazole pyrimidine ether derivatives as fungicides [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(43): 11893-11900.
- [6] 李改云,梁庆丰. 64%噁唑菌酮·氟霜唑水分散粒剂的气相色谱分析[J]. 世界农药, 2017, 39(6): 54-55, 61.
- [7] 梁宏杰,吕和平,吴雁斌,等. 2014—2018 年我国马铃薯病虫害防治农药登记现状分析[J]. 甘肃农业科技, 2019(8): 65-72.
- [8] 中华人民共和国农业农村部. 农作物中农药残留试验准则: NY/T 788—2018[S]. 北京: 中国农业出版社, 2018: 5-8.
- [9] Xian Z, Mobley N, Zhang J G, et al. Analysis of agricultural residues on tea using d-SPE sample preparation with GC-NCI-MS and UHPLC-MS/MS[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(22): 11553-11560.
- [10] Pouech C, Tournier M, Quignot N, et al. Multi-residue analysis of free and conjugated hormones and endocrine disruptors in rat testis by QuEChERS-based extraction and LC-MS/MS[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2012, 402(9): 2777-2788.

林炎娟,周丹蓉,姜翠翠,等. 不同薄膜包装对芙蓉李采后贮藏品质的影响[J]. 江苏农业科学,2020,48(17):210-214.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.17.042

# 不同薄膜包装对芙蓉李采后贮藏品质的影响

林炎娟,周丹蓉,姜翠翠,梁华伟,方智振,潘少霖,叶新福

(福建省农业科学院果树研究所,福建福州 350013)

**摘要:**为探讨不同薄膜包装对芙蓉李采后贮藏品质的影响,进行 3 种薄膜(厚度为 0.006 mm 保鲜袋、厚度为 0.06 mm 密实袋和厚度为 0.04 mm 气调袋)的包装和不包装处理,4 ℃低温贮藏 60 d,分析贮藏期间果实、果肉硬度以及可溶性固形物、可溶性糖、可滴定酸、丙二醛含量和总抗氧化能力变化情况。结果表明,与对照相比,密实袋可有效抑制芙蓉李整果果实和果肉的硬度下降,3 种薄膜包装处理降低了果实可溶性固形物和可滴定酸含量,提高了果实总抗氧化能力,对可溶性糖含量无显著影响,仅密实袋和气调袋可在贮藏后期减缓丙二醛含量的积累。

**关键词:**芙蓉李;采后;薄膜包装;低温;贮藏品质

**中图分类号:** TS255.3      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1002-1302(2020)17-0210-05

芙蓉李是福建省李树主栽品种,果实成熟时口味酸甜,色泽艳丽,且营养丰富,富含有多种氨基酸、维生素、矿物质和蛋白质等,具有生津开胃、醒酒解渴、增进食欲等功效<sup>[1-2]</sup>,可供鲜食与加工,深受消费者青睐。但芙蓉李属呼吸跃变型果实,采收时又值高温季节,采后生理代谢旺盛,极易软化,常温下会很快腐烂变质,较不耐贮运<sup>[3]</sup>,且采收期短,上市时间短,亦不宜远距离销售,进一步制约着鲜食市场的推广和发展。为了延缓果实采后品质劣变,采取适当的采后处理方法,可有效维持果实新鲜品质,降低采后损失。自发气调包装(modified atmosphere packaged, MAP)是一种有效的采后保鲜处理手段,利用果实自身呼吸特性及薄膜的选择性

气体渗透改变袋内气体比例,实现高二氧化碳和低氧气的袋内微环境,从而降低果实呼吸速率,延迟果实成熟衰老,有效抑制乙烯释放和延缓果实软化等<sup>[4-6]</sup>;同时能在袋内产生高湿环境,降低水分损失<sup>[7]</sup>,进而提高水果贮藏保鲜期和货架期;另外包装材料方便易得、操作简便、无毒害、成本低,还可防止果实交叉感染,具有广泛的市场应用基础和优势。目前,对苹果<sup>[8]</sup>、梨<sup>[9]</sup>、香蕉<sup>[10]</sup>、李<sup>[11]</sup>和西番莲<sup>[12]</sup>等均有较多的相关应用研究。自发气调包装技术的成功应用关键在于袋内气体渗透平衡时果实能进行正常有氧呼吸,不发生二氧化碳伤害<sup>[13]</sup>,但不同包装材料对气体的选择渗透特性不同,不同果实的呼吸特性和贮藏特性亦有所差异,所以针对不同果实的具体品种和贮藏条件需挑选合适的薄膜包装材料。此外,温度是影响贮藏保鲜的第一要素,有研究发现,低温与薄膜包装之间具有较好的协同作用<sup>[14]</sup>,可有效提高果实保鲜效果。因此,本试验研究不同薄膜包装结合低温处理对芙蓉李采后贮藏品质的影响,以期为芙蓉李果实采后自发气调包装的生产应用提供理论依据和技术参考。

收稿日期:2019-11-12

基金项目:福建省属公益类科研院所基本科研专项(编号:2018R1013-4)。

作者简介:林炎娟(1990—),女,福建漳州人,硕士,研究实习员,主要从事果品保鲜与加工研究。E-mail:linyanjuan916@126.com。

通信作者:叶新福,博士,研究员,主要从事品质遗传育种研究。E-mail:yexinfu@126.com。

[11] Núñez O, Gallart - Ayala H, Ferrer I, et al. Strategies for the multi - residue analysis of 100 pesticides by liquid chromatography - triple quadrupole mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1249(1): 164 - 180.

[12] 陈士恒, 史晓梅, 吕岳文, 等. QuEChERS - 超高效液相色谱 - 串联四级杆质谱法快速检测番茄酱中 19 种常见农药残留量 [J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(4): 1128 - 1136.

[13] 尹 怡, 赵 城, 余 权, 等. 改良 QuEChERS 法与 LC - MS/MS

联用测定水产品中 13 种农药残留 [J]. 中国食品学报, 2019, 19(11): 255 - 260.

[14] 张爱娟, 梁 林, 马新刚, 等. 高效液相色谱串联质谱法快速检测大白菜中氟霜唑及其代谢物和氟啶胺的残留 [J]. 农药科学与管理, 2018, 39(11): 48 - 53.

[15] 赵民娟, 郭虹娜, 邵 华, 等. 高效液相色谱 - 串联质谱法测定黄瓜与土壤中烯酰吗啉和氟霜唑及其代谢物的残留量 [J]. 分析测试学报, 2018, 37(11): 1316 - 1321.