

# QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时快速检测果蔬中35种甲氧基丙烯酸酯类和三唑类杀菌剂的残留量

许秀敏<sup>1\*</sup>, 龙朝阳<sup>1</sup>, 黄伟雄<sup>1</sup>, 岳亚军<sup>2</sup>, 吕芬<sup>1</sup>, 黄湘东<sup>1</sup>, 刘锐<sup>1</sup>

(1. 广东省疾病预防控制中心, 广州 511430; 2. 深圳罗湖区疾病预防控制中心, 深圳 518001)

**摘要: 目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法同时快速测定水果蔬菜中35种甲氧基丙烯酸酯类和三唑类杀菌剂残留量的分析方法。**方法** 样品用乙腈提取及QuEChERS方法净化, 制得含有残留杀菌剂的上清液。采用Waters ACQUITY HSS T3 C<sub>18</sub>柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)以0.2%甲酸溶液-乙腈作为流动相进行梯度洗脱, 质谱(ESI+)电喷雾正离子模式电离, 采用多离子检测模式对35种杀菌剂的定量离子和定性离子进行监测。**结果** 在1.0~50 μg/L的浓度范围内35种杀菌剂线性关系良好, 相关系数 $r^2$ 为0.9990~0.9997; 在5.0、50、100 μg/kg添加水平的回收率为61.8%~125%, 方法检出限为0.3~0.5 μg/kg, 定量限为1.0~1.5 μg/kg。**结论** 该方法快速、环境友好、准确、灵敏, 适合水果蔬菜甲氧基丙烯酸酯类和三唑类杀菌剂残留的检测。

**关键词:** 甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂; 三唑类杀菌剂; 残留; QuEChERS; 超高效液相色谱-串联质谱法; 果蔬

## Simultaneous determination for 35 kinds of strobilurin fungicides and triazole fungicide in fruit and vegetable by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

XU Xiu-Min<sup>1\*</sup>, LONG Chao-Yang<sup>1</sup>, HUANG Wei-Xiong<sup>1</sup>, YUE Ya-Jun<sup>2</sup>, LV Fen<sup>1</sup>, HUANG Xiang-Dong<sup>1</sup>, LIU Rui<sup>1</sup>

(1. Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou 511430, China; 2. Luohu Center for Disease Control and Prevention, Shenzhen 518001, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a fast method for simultaneous determination of 35 kinds of strobilurin fungicides and triazole fungicide in fruits and vegetables by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** The fungicides residues were extracted from the samples by acetonitrile and cleaned-up with QuEChERS, and then eluted by a column of Waters ACQUITY HSS T3 C<sub>18</sub> (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) with the gradient elution of acetonitrile(A) and 0.2% formic acid solution(B). Mass spectrometry (ESI+) electrospray positive ion mode ionization was performed with multi-ion detection mode (MRM) to monitor quantitative and qualitative ions of 35 kinds of fungicides. **Results** Under the optimal experimental conditions, 35

基金项目: 广东省医学科学技术研究基金项目(B2016032)

Fund: Supported by the Guangdong Provincial Medicine Science and Technology Plan (B2016032)

\*通讯作者: 许秀敏, 硕士, 副主任技师, 主要研究方向为食品安全与风险评估。E-mail: 48546862@qq.com

\*Corresponding author: XU Xiu-Min, Master, Associate Senior Technician, Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention, No.160, Qunxian Road, Panyu District, Guangzhou 511430, China. E-mail: 48546862@qq.com

kinds of fungicides had good linearity in the range of 1.0-50  $\mu\text{g/L}$  with correlation coefficients ( $r^2$ ) of 0.9990-0.9997. The recoveries were ranged from 61.8%-125% for the 35 kinds of fungicides residues with 3 spiked levels of 5.0, 50 and 100  $\mu\text{g/kg}$ , and the limits of detection(LOD) and limits of quantitation(LOQ) were 0.3-0.5  $\mu\text{g/kg}$  and 1.0-1.5  $\mu\text{g/kg}$ , respectively. **Conclusion** The established method is fast, environmental friendly with high sensitivity and good reproducibility, which is suitable for the determination of the residual content of 35 kinds of strobilurin fungicides and triazole fungicides in fruits and vegetables.

**KEY WORDS:** strobilurin fungicides; triazole fungicides; residues; QuEChERS; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; fruit and vegetable

## 1 引言

目前,大量使用的杀菌剂对环境和食品的威胁是世界共同面临的问题,至 2013 年底,我国有 6959 个杀菌剂产品在有效登记期内,占全球农药市场 26% 的份额<sup>[1]</sup>。GB 2763-2016《食品中农药最大残留限量》<sup>[2]</sup>规定了水果、蔬菜、谷物等 28 类食品 433 种农药 4140 项最大残留量。其中甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂和三唑类杀菌剂因其显著的效果在杀菌剂市场中占据主导地位,常用于蔬菜水果的病害防治,其对环境和食品的污染问题在世界范围内也越来越突出,已经给人类的生存和发展造成了危害<sup>[3-5]</sup>。欧盟等区域组织制定严格的标准残留限量,把水果蔬菜中的甲氧基丙烯酸酯类和三唑类杀菌剂残留制定在非常低的浓度水平,而现阶段我国农产品中此 2 大类杀菌剂在水果蔬菜中的残留状况尚不清楚<sup>[6-8]</sup>,如三唑醇在欧盟食品中农兽药残留限量标准<sup>[8]</sup>对 120 多种水果蔬菜做出了限量标准,其中茄果类和瓜类限量值为 0.1 mg/kg。在 GB 2763-2016 中蔬菜仅对茄果类、瓜类、朝鲜蓟做了限量标准,水果对苹果、草莓、香蕉、菠萝、瓜果类做了限量标准,其中茄果类限量值为 1 mg/kg,瓜类限量值为 0.2 mg/kg。近来国家加强了水果蔬菜中杀菌剂的监测和风险评估,2016 年开展了水果蔬菜中 12 种杀菌剂的监测,并逐年扩大监测杀菌剂种类,农药残留检测技术和标准是保证食品安全的重要支撑,只有积极采用先进检测技术,才能真正确保人类食品的安全消费。因此开发品种和用量均占市场份额最大的甲氧基丙烯酸酯类和三唑类杀菌剂残留量的检测方法具有重要意义。

随着现代分析化学技术的提高,农药残留检测也有了迅速的发展,农药残留检测主要采用气相色谱串联质谱法、液相色谱-串联质谱法等<sup>[9-15]</sup>。杀菌剂前处理技术主要包括固相萃取、固相微萃取、凝胶色谱及 QuEChERS 等<sup>[15-21]</sup>。目前,QuEChERS(quick, easy, cheap, effective, rugged, safe)前处理技术结合超高效液相色谱-串联质谱是杀菌剂多残留快速分析的发展趋势。超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)是一种高效率、高特异性和高

灵敏度的普适性方法,最明显的优势是能大大缩短仪器分析时间;文献报道<sup>[17-22]</sup>在样品前处理和仪器条件选择上各有优缺点,但缺少对同类杀菌剂高通量的检测方法,同时检测甲氧基丙烯酸酯类和三唑类杀菌剂的最大施用量的方法研究较少。

本研究拟采用 QuEChERS 前处理样品,采用超高效液相色谱质谱技术检测分析甲氧基丙烯酸酯类和三唑类 35 种杀菌剂的残留,以期实现样品的大批量快速检测,为监测蔬菜水果中的杀菌剂残留提供方法支持,减少因甲氧基丙烯酸酯类和三唑类杀菌剂残留带来的食品安全问题。

## 2 材料与方法

### 2.1 仪器与试剂

API QTRAP 5500 四级杆串联质谱联用仪(美国 AB SCIEX 公司); Shimadzu 20ADXR UPLC 超高效液相色谱仪(日本岛津公司); Waters ACQUITY HSS T3 C<sub>18</sub> 柱(2.1 mm×100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ , 美国 Waters 公司); A lIegra X-22R 高速冷冻离心机(美国 Beckman Coulter 公司); 3k15 型离心机(德国 Sigma 公司); Ultra-Tyrax T25 型匀质器(德国 IKA 公司); XS-205DU 天平(瑞士梅特勒-托利多公司); Milli-Q 超纯水机(美国 Millipore 公司); 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤器(上海安谱科技实验室有限公司)。

乙腈、甲酸(色谱纯,美国安谱公司); QuEChERS 试剂管(2 mL, 含 PSA 50 mg、C<sub>18</sub> EC 50 mg、石墨碳黑 7.5 mg、无水硫酸镁 150 mg, 美国 Agilent 公司); 实验室用水为 Milli-Q 超纯水。

甲氧基丙烯酸类杀菌剂标准品: 嘧菌酯、嘧菌胺、氟嘧菌酯、嘧霉胺、(E)-苯氧菌胺、啉氧菌酯、克百敏、肟菌酯、苯氧菌酯、烯酰吗啉(纯度 $\geq$ 97.0%, 德国 Dr.Ehrenstorfer 公司); 三唑类杀菌剂标准品: 氧环唑、糠菌唑、环丙唑醇、苯醚甲环唑、烯唑醇、氟环唑、腈苯唑、氟唑唑、氟硅唑、粉唑醇、己唑醇、种菌唑、叶菌唑、腈菌唑、戊菌唑、丙环唑、丙硫菌唑、硅氟唑、戊唑醇、氟醚唑、三唑醇、三唑酮、灭菌唑、别脱他、酰胺唑(纯度 $\geq$ 97.0%, 德国 Dr.Ehrenstorfer 公司)。

## 2.2 实验方法

### 2.2.1 溶液配制

标准溶液配制: 分别精密称取35种杀菌剂各10 mg, 置10 mL量瓶中, 用乙腈溶解并稀释至刻度, 配制成1.0 mg/mL标准品储备溶液, 保存于-20 °C冰箱中; 精确吸取1.00 mL上述标准品储备溶液至100 mL容量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 得到10 mg/L混合标准使用液, 保存于-20 °C冰箱中, 有效期1月。

0.2%甲酸水溶液: 取2 mL甲酸于1 L容量瓶中, 定容至1 L。

### 2.2.2 样品前处理

#### (1) 采样和试样制备

参考GB 2763-2016《食品中农药最大残留限量》样品前处理方法对样品进行前处理, 取可食部分切碎, 混匀密封, 作为样品标明标记, 避光备用。

#### (2) 提取

称取上述制备好的样品约5.00 g于50 mL离心管中, 加入10 mL乙腈并旋上瓶盖, 振荡涡旋1 min, 15000 r/min离心3 min, 上清液备用。

#### (3) 净化

取1.0 mL上清液加入QuEChERS试剂管中, 涡旋振荡混匀1 min, 并15000 r/min离心3 min。吸取上清液过0.22 μm滤膜, 供UPLC-MS/MS进样分析。

### 2.2.3 液相色谱-串联质谱条件

#### (1) 液相色谱条件

采用Waters ACQUITY HSS T3 C<sub>18</sub>柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 流动相A为0.2%甲酸水溶液, B为乙腈; 进样体积: 5 μL; 流速: 0.30 mL/min; 液相色谱梯度洗脱程序: 0~8.0 min, 45%~70% B; 8.0~9.0 min, 70%~95% B; 9.0~10.0 min, 95% B; 10.1~13.0 min, 95%~45% B。

#### (2) 质谱条件

离子源: 电喷雾电离ESI(+), 喷雾电压5500 V; 入口电压10 V; 帘气25 L/min; 源内气50 L/min; 辅助气50 L/min; 碰撞气流速高等; 离子源温度450 °C; 驻留时间100 ms; 采用多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)方式定量, 利用保留时间和定性与定量离子丰度比值进行定性。

## 3 结果与分析

### 3.1 质谱条件确定

将35种200 μg/L的甲氧基丙烯酸酯类和三唑类杀菌剂标准溶液, 在正离子模式下进行全扫描, 确定化合物的母离子, 选取丰度较强、干扰较小的2个子离子作为定性和定量离子, 优化后的35种甲氧基丙烯酸酯类和三唑类杀菌剂质谱参数见表1。

表1 35种杀菌剂质谱参数  
Table 1 Chromatogram parameters of 35 kinds of fungicides

编号	组分	保留时间/min	母离子/(m/z)	子离子/(m/z)	碰撞能量/V	去簇电压/V
1	糠菌唑 bromuconazole	5.16/5.80	377.5	159.1*	26	100
				70.0	60	100
2	氟硅唑 flusilazole	6.00	317.7	165.1*	36	100
				249.2	24	100
3	丙环唑 propiconazole	6.78	342.1	159.1*	40	85
				205.1	24	40
4	腈苯唑 fenbuconazole	6.22	336.6	194.1*	24	80
				125.0	33	80
5	氟嘧菌酯 fluoxastrobin	6.89	459.2	188.1*	43	53
				306.1	43	53
6	氟啶唑 fluquinconazole	5.87	376.2	349.1*	36	100
				108.1	24	100
7	粉唑醇 flutriafol	2.87	302.6	70.0*	19	65
				123.0	35	65
8	己唑醇 hexaconazole	6.18	315.6	70.0*	23	70
				161.1	37	70
9	酰胺唑 imibenconazole	9.54	412.9	125.1*	32	60
				344.1	22	48
10	啉氧菌酯 picoxystrobin	7.94	368.9	146.1*	27	60
				206.1	12	60

续表 1

编号	组分	保留时间/min	母离子/(m/z)	子离子/(m/z)	碰撞能量/V	去簇电压/V	
11	腈菌唑	myclobutanil	5.30	288.6	70.0*	21	85
					125.0	45	85
12	丙硫菌唑	prothioconazole	6.69	344.0	125.1*	41	60
					154.0	39	60
13	百克敏	pyraclostrobin	8.68	387.6	133.0*	45	40
					163.1	30	56
14	烯唑醇	diniconazole	6.75	327.1	70.0*	66	80
					159.1	42	75
15	氟环唑	epoxiconazole	5.50	330.2	101.0*	90	140
					121.0	62	180
16	氧环唑	azaconazole	3.21	301.5	161.0*	36	90
					233.0	24	90
17	啉菌酯	azoxystrobin	5.80	404.7	330.1*	40	70
					345.0	32	60
18	别脱他	bitertanol	6.27	338.2	70.0*	50	60
					269.0	30	60
19	环丙唑醇	cyproconazole	4.70	292.7	70.0*	21	80
					125.0	34	80
20	硅氟唑	simeconazole	5.02	294.6	70.0*	20	70
					135.0	30	78
21	氟醚唑	tetraconazole	5.70	373.2	160.0*	47	100
					70.0	25	80
22	三唑醇	trialinenol	4.27	296.5	70.0*	40	60
					99.0	19	50
23	肟菌酯	trifloxystrobin	9.64	408.8	206.1*	18	30
					186.0	45	70
24	戊菌唑	penconazole	6.28	285.5	70.0*	20	80
					161.0	40	70
25	叶菌唑	metconazole	6.44	321	70.0*	68	75
					125.0	57	90
26	(E)-苯氧菌胺	(E)-metominogrrbin	4.07	285.7	167.2*	39	60
					140.0	58	50
27	灭菌唑	triticonazole	4.62	318.7	70.1*	50	60
					125.1	40	55
28	种菌唑	ipconazole	7.83	334.8	70.1*	65	80
					125.2	55	80
29	苯氧菌酯	kresoxim-methyl	7.72	314.6	116.0*	19	45
					223.0	19	62
30	啉菌胺	mepanipyrim	6.00	223.5	77.0*	56	124
					205.0	45	123
31	戊唑醇	tebuconazole	5.80	308.2	70.0*	24	40
					125.0	54	81
32	三唑酮	triadimefon	5.59	294.1	197.3*	20	80
					255.0	15	80
33	苯醚甲环唑	difenoconazole	7.63	406.1	251.2*	27	100
					337.3	23	200
34	烯酰吗啉	dimethomorph	9.97/4.21	388.3	301.1*	27	100
					165.1	42	100
35	啉霉胺	pyrimethanil	2.83	200	107.3*	37	60
					168.3	38	60

注: \*为定量离子

## 3.2 条件优化

### 3.2.1 净化条件的选择

水果和蔬菜基质复杂, 在杀菌剂提取时, 常伴有色素和糖类等共提取物, 容易产生干扰和基质效应, 通过查文献<sup>[15-21]</sup>和实验比较样品前处理技术, 发现固相萃取法操作步骤繁琐耗时长, 凝胶渗透色谱需要较多的仪器设备。而采用 QuEChERS 试剂管净化样品, 提取液乙腈用量 10 mL, 减少环境污染、节约经济成本; 单个样品前处理时间小于 15 min, 能有效去除极性有机酸、脂类、糖类、蛋白质、类胡萝卜素和叶绿素等, 结果回收率满意, 且操作快速、简便、廉价、高效、可靠、安全。故选择 QuEChERS 试剂管净化样品。

### 3.2.2 色谱条件的选择

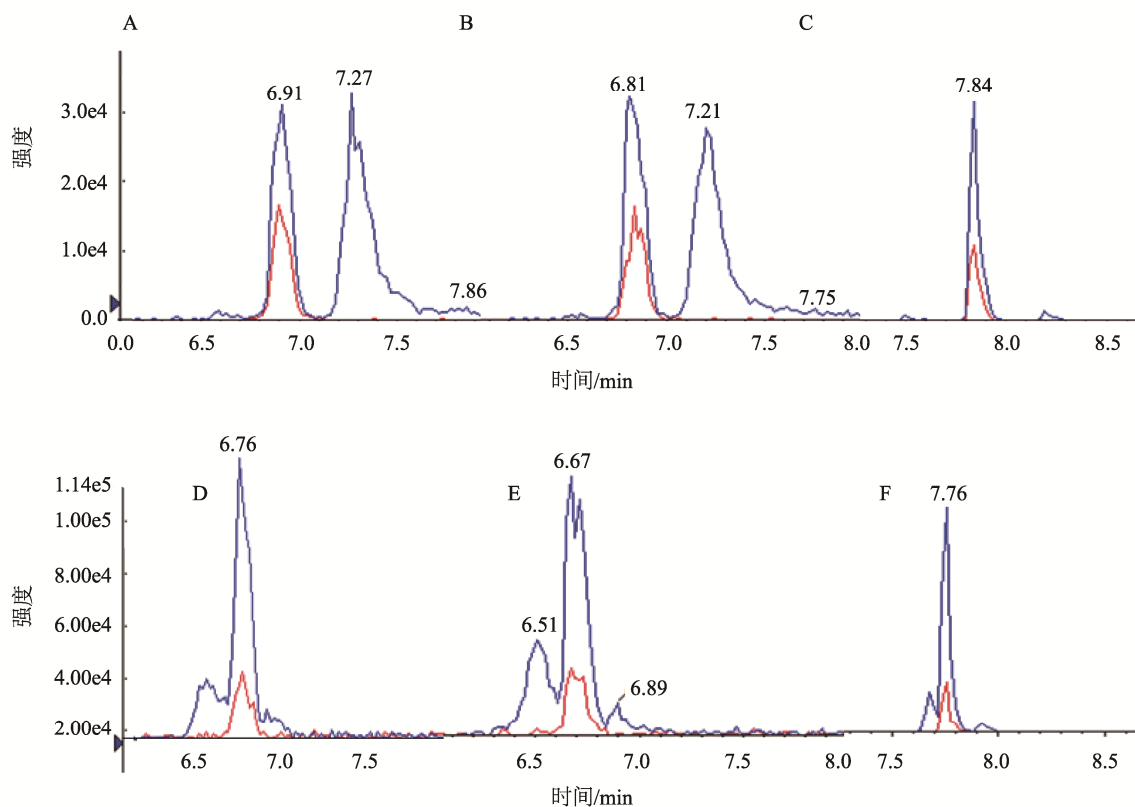
色谱柱的选择: 在相同的流动相条件下比较了 Supeco C<sub>18</sub> 柱(2.1 mm×150 mm, 1.8 μm)、BEN-Hilic 柱(2.1 mm I.D.×100 mmL, 1.7 μm)、Waters ACQUITY HSS T3 C<sub>18</sub> 柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm), Supeco C<sub>18</sub> 柱和 BEN-Hilic 柱的色谱图部分峰形欠佳, 见图 1。如腈菌唑出现双峰, 三唑醇出现明显的肩峰, 三唑醇响应值不高等问题, 而 T3 柱的

35 种杀菌剂色谱峰峰形好, 分离度良好, 响应值高, 故采用 HSS T3 C<sub>18</sub> 柱。

流动相的选择: 比较 0.05 mol/L 甲酸铵-乙腈体系、0.05 mol/L 甲酸-甲醇体系、0.2 mol/L 甲酸水-乙腈体系进行洗脱, 经过比较 0.2 mol/L 甲酸水-乙腈体系梯度洗脱分离效果好, 糠菌唑和烯酰吗啉为双峰。优化后 35 种甲氧基丙烯酸酯类和三唑 XIC 色谱图见图 2。

## 3.3 方法线性范围、检出限、定量限及回收率

在仪器最佳工作条件下, 按照优化后的前处理方法处理, 用 1.0、2.5、5.0、10、20、25 和 50 μg/kg 混合标准溶液上机检测, 以各杀菌剂目标物的色谱峰面积为纵坐标, 各杀菌剂目标物的浓度为横坐标绘制标准工作曲线, 外标法定量。以 3 倍信噪比(*S/N*)计算检出限(limit of detection, LOD), 以 10 倍信噪比(*S/N*)计算定量限(limit of quantification, LOQ)。线性方程及相关系数、检出限、定量限及平均回收率见表 2。以空白水果蔬菜为样品, 5.0、500 和 100 mg/kg 3 个水平下加标, 每个浓度水平分析 6 次, 进行回收率和精密度实验, 结果见表 3。



注: A. 腈菌唑 Supeco C<sub>18</sub> 柱; B. 腈菌唑 BEN-Hilic 柱; C. 腈菌唑 HSS T3 C<sub>18</sub> 柱; D. 三唑醇 Supeco C<sub>18</sub> 柱; E. 三唑醇 BEN-Hilic 柱; F. 三唑醇 HSS T3 C<sub>18</sub> 柱

图 1 腈菌唑和三唑醇在 3 种色谱柱的色谱图

Fig.1 Chromatograms of myclobutanil and trialinolol by 3 kinds of columns

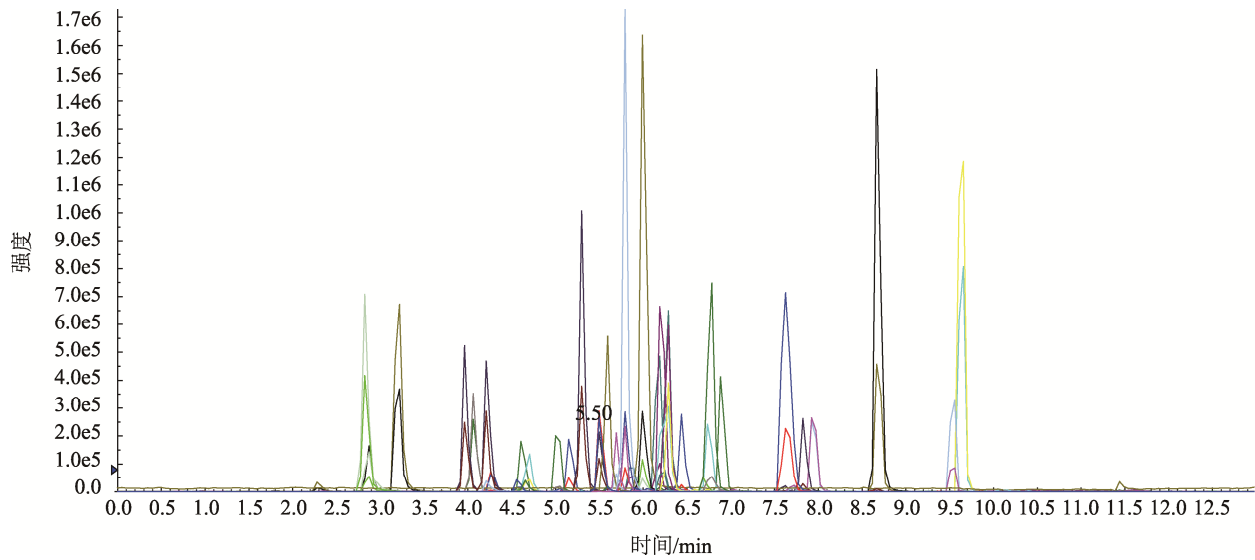


图2 35种杀菌剂 XIC 色谱图

Fig.2 XIC chromatograms of 35 kinds of fungicides

表2 35种杀菌剂的标准曲线、相关系数、检出限、定量限(n=6)

Table 2 Standard curve, correlation coefficient, LOD, LOQ and recoveries of 35 kinds of fungicides (n=6)

编号	组分	线性范围/( $\mu\text{g/L}$ )	回归方程	相关系数/ $r^2$	检出限/( $\mu\text{g/kg}$ )	定量限/( $\mu\text{g/kg}$ )
1	糠菌唑	1~50	$Y=4.53 \times 10^4 X - 7.87 \times 10^3$	0.9990	0.3	1.0
2	氟硅唑	1~50	$Y=1.47 \times 10^4 X + 3.99 \times 10^3$	0.9990	0.3	1.0
3	丙环唑	1~50	$Y=2.52 \times 10^5 X + 3.89 \times 10^4$	0.9995	0.3	1.0
4	腈苯唑	1~50	$Y=1.1 \times 10^5 X + 1.79 \times 10^4$	0.9995	0.3	1.0
5	氟嘧菌酯	1~50	$Y=2.54 \times 10^5 X + 6.6 \times 10^4$	0.9997	0.3	1.0
6	氟唑唑	1~50	$Y=3.79 \times 10^4 X + 752$	0.9990	0.3	1.0
7	粉唑醇	1~50	$Y=1.83 \times 10^5 X - 2.58 \times 10^3$	0.9990	0.3	1.0
8	己唑醇	1~50	$Y=7.24 \times 10^4 X + 5.75 \times 10^4$	0.9990	0.3	1.0
9	酰胺唑	1~50	$Y=1.44 \times 10^5 X + 2.2 \times 10^4$	0.9990	0.3	1.0
10	啶氧菌酯	1~50	$Y=2.01 \times 10^5 X + 5.31 \times 10^4$	0.9990	0.3	1.0
11	腈菌唑	1~50	$Y=7.85 \times 10^4 X + 2.19 \times 10^5$	0.9990	0.3	1.0
12	丙硫菌唑	1~50	$Y=1.33 \times 10^4 X + 1.57 \times 10^3$	0.9991	0.3	1.0
13	百克敏	1~50	$Y=1.2 \times 10^5 X - 1.72 \times 10^4$	0.9992	0.3	1.0
14	烯唑醇	1~50	$Y=2.33 \times 10^4 X + 5.8 \times 10^3$	0.9992	0.3	1.0
15	氟环唑	1~50	$Y=8.09 \times 10^4 X + 1.17 \times 10^5$	0.9990	0.3	1.0
16	氧环唑	1~50	$Y=1.65 \times 10^5 X - 4.66 \times 10^4$	0.9994	0.3	1.0
17	嘧菌酯	1~50	$Y=1.1 \times 10^5 X + 1.79 \times 10^4$	0.9990	0.3	1.0
18	别脱他	1~50	$Y=6.77 \times 10^4 X + 2.77 \times 10^4$	0.9993	0.3	1.0
19	环丙唑醇	1~50	$Y=3.53 \times 10^4 X + 2.2 \times 10^4$	0.9994	0.3	1.0
20	硅氟唑	1~50	$Y=3.48 \times 10^4 X + 427$	0.9995	0.3	1.0
21	氟醚唑	1~50	$Y=2.6 \times 10^4 X + 6.55 \times 10^4$	0.9992	0.3	1.0
22	三唑醇	1~50	$Y=1.96 \times 10^4 X + 2.82 \times 10^4$	0.9990	0.3	1.0
23	肟菌酯	1~50	$Y=6.38 \times 10^5 X + 1.17 \times 10^6$	0.9991	0.3	1.0
24	戊菌唑	1~50	$Y=4.09 \times 10^4 X + 3.8 \times 10^3$	0.9995	0.3	1.0
25	叶菌唑	1~50	$Y=6.82 \times 10^4 X - 1.12 \times 10^4$	0.9993	0.3	1.0
26	(E)-苯氧菌胺	1~50	$Y=8.63 \times 10^5 X + 8.26 \times 10^5$	0.9990	0.3	1.0

续表2

编号	组分	线性范围/( $\mu\text{g/L}$ )	回归方程	相关系数/ $r^2$	检出限/( $\mu\text{g/kg}$ )	定量限/( $\mu\text{g/kg}$ )
27	灭菌唑	1~50	$Y=4.82\times 10^5 X+2.14\times 10^5$	0.9993	0.3	1.0
28	种菌唑	1~50	$Y=6.27\times 10^4 X+2.17\times 10^5$	0.9990	0.3	1.0
29	苯氧菌酯	1~50	$Y=4.37\times 10^3 X+1.02\times 10^3$	0.9991	0.5	1.5
30	嘧菌胺	1~50	$Y=6.24\times 10^4 X+1.44\times 10^5$	0.9992	0.5	1.5
31	戊唑醇	1~50	$Y=1.98\times 10^5 X-2.91\times 10^4$	0.9992	0.3	1.0
32	三唑酮	1~50	$Y=2.29\times 10^5 X+3.17\times 10^4$	0.9995	0.3	1.0
33	苯醚甲环唑	1~50	$Y=4.16\times 10^5 X+3.53\times 10^4$	0.9990	0.3	1.0
34	烯酰吗啉	1~50	$Y=4.07\times 10^5 X+2.14\times 10^5$	0.9990	0.3	1.0
35	嘧霉胺	1~50	$Y=2.21\times 10^5 X-5.04\times 10^4$	0.9995	0.3	1.0

表3 35种杀菌剂的加标回收率和精密度( $n=6$ )Table 3 Recoveries and RSDs of 35 kinds of fungicides ( $n=6$ )

编号	组分	5.0 $\mu\text{g/kg}$		50 $\mu\text{g/kg}$		100 $\mu\text{g/kg}$	
		平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%
1	糠菌唑	110	0.2	107	2.6	94.6	2.2
2	氟硅唑	121	0.2	111	6.2	94.1	2.7
3	丙环唑	113	0.4	101	1.1	97.5	1.0
4	腈苯唑	90.8	0.3	85.2	1.2	91.3	1.3
5	氟嘧菌酯	108	0.3	103	2.8	94.9	1.6
6	氟唑唑	95.3	0.3	92.6	0.4	94.1	2.7
7	粉唑醇	119	0.2	118	2.8	97.6	1.1
8	己唑醇	118	0.2	116	1.2	95.8	1.3
9	酰胺唑	66.2	0.2	71.1	0.5	65.5	1.5
10	啉氧菌酯	108	0.1	108	5.4	97.9	3.3
11	腈菌唑	118	0.08	118	2.0	94.6	1.9
12	丙硫菌唑	102	0.7	98.6	1.7	98.4	1.8
13	百克敏	73.8	0.2	70.6	4.2	85.3	1.0
14	烯唑醇	80.4	0.1	91.0	0.3	92.1	2.4
15	氟环唑	85.2	0.3	84.2	2.0	87.9	0.6
16	氧环唑	122	0.03	120	2.2	95.4	2.6
17	嘧菌酯	105	0.4	103	1.2	97.5	3.1
18	别脱他	102	0.4	101	5.4	100	1.8
19	环丙唑醇	123	0.1	118	2.8	97.6	1.1
20	硅氟唑	127	0.5	108	6.5	102	3.1
21	氟醚唑	116	0.4	99.1	1.6	99.8	1.9
22	三唑醇	112	0.2	96.6	1.2	97.8	1.6
23	肟菌酯	95.3	0.5	94.6	1.7	94.2	2.8
24	戊菌唑	125	0.4	101	3.7	98.6	1.5
25	叶菌唑	102	0.2	102	2.2	99.5	0.8
26	(E)-苯氧菌胺	123	0.1	111	5.2	95.8	0.5
27	灭菌唑	76.2	0.2	99	1.8	96.3	1.2
28	种菌唑	102	0.5	100	1.7	93.5	1.3
29	苯氧菌酯	111	0.7	95.7	4.2	95.6	1.2
30	嘧菌胺	94.9	0.1	95.9	2.2	94.3	0.8
31	戊唑醇	98.1	0.4	98.7	2.0	96.6	0.6
32	三唑酮	122	0.2	99.9	2.5	98.1	1.4
33	苯醚甲环唑	88.2	0.1	88.7	2.7	86.6	1.6
34	烯酰吗啉	85.4	1.6	70.0	5.4	88.4	1.1
35	嘧霉胺	61.8	0.1	63.7	1.7	70.0	1.9

### 3.4 实际样品测定

用本方法对 2017 年广东省内包括广州等的 9 个市售水果包括苹果、柑橘、梨、桃、香蕉、蓝莓、草莓、葡萄、猕猴桃共 289 份, 11 种蔬菜包括油麦菜、芹菜、菜心、卷心菜、香菜、白菜、西兰花、荷兰豆、山药、豇豆、姜共 215 份样品进行部分杀菌剂检测, 水果和蔬菜样品中丙环唑检出率分别为 2.8% 和 27.0%, 浓度范围分别为 0.0050~0.28 mg/kg 和 0.0043~8.80 mg/kg; 苯醚甲环唑检出率分别为 7.3% 和 23.7%, 浓度范围分别为 0.0040~0.29 mg/kg 和 0.0040~4.68 mg/kg; 啉霉胺检出率分别为 8.7% 和

6.0%, 浓度范围分别为 0.0040~0.86 mg/kg 和 0.0045~0.105 mg/kg; 三唑酮检出率分别为 1.0% 和 1.4%, 浓度范围分别为 0.0090~0.014 mg/kg 和 0.0076~0.025 mg/kg; 戊唑醇检出率分别为 6.2% 和 17.7%, 浓度范围分别为 0.0041~0.302 mg/kg 和 0.0040~5.77 mg/kg; 烯酰吗啉检出率分别为 6.9% 和 47.0%, 浓度范围分别为 0.0040~0.14 mg/kg 和 0.0041~8.95 mg/kg。本研究以 2017 的蔬菜样品检测结果与 2018 发表的两篇文献方法<sup>[9,23]</sup>的蔬菜检测样结果相比较, 结果见表 4, 本研究蔬菜中杀菌剂的检出率水平大部分与其他方法基本接近。

表 4 本研究与文献实测蔬菜样品检出率  
Table 4 Relevance ratio of fungicides in vegetables by different methods

样品类型	样品数量/份	丙环唑检出率/%	苯醚甲环唑检出率/%	啉霉胺检出率/%	三唑酮检出率/%	戊唑醇检出率/%	烯酰吗啉检出率/%
文献 <sup>[8]</sup>	228	6.1	14.0	5.2	0.88	7.9	10.5
文献 <sup>[23]</sup>	40	16.7	13.0	6.7	0	13.3	20.0
本研究	215	27.0	23.7	6.0	1.4	17.7	47.0

## 4 结论

通过对 QuEChERS 前处理方法中的萃取剂种类选择, 净化剂 PSA、C<sub>18</sub>、GCB 种类和用量的选择, 优化超高效液相色谱-串联质谱最佳条件, 建立 QuEChERS-液相色谱串联质谱用于蔬菜水果中甲氧基丙烯酸酯类和三唑类 35 种杀菌剂的高通量、快速分析的方法。该方法具有高通量、基体干扰少、萃取效率高、分析快、操作简便、溶剂用量少、成本低廉等优点, 满足当今发展对食品中残留检测的高通量、高效率的要求。对保护人民群众身体健康、维护食品安全具有重要的意义。

### 参考文献

- [1] 杨吉春, 关爱莹, 杨帆, 等. 国内外杀菌剂进展[J]. 现代农药, 2015, 14(5): 1-9.  
Yang JC, Guan AY, Yang F, et al. Progress of fungicides in China and abroad [J]. Mod Agrochem, 2015, 14(5): 1-9.
- [2] GB 2763-2016 食品中农药最大残留限量[S].  
GB 2763-2016 Maximum residue limits for pesticides in food [S].
- [3] 任书瑶. 蔬菜中农药残留的种类、危害及应对措施[J]. 现代农业科技, 2015, (4): 282-284.  
Ren SY. Types, hazards and countermeasures of pesticide residues in vegetables [J]. Mod Agric Sci Technol, 2015, (4): 282-284.
- [4] 宋卫国, 李宝聚, 赵志辉, 等. 杀菌剂安全风险及解决途径[J]. 中国蔬菜, 2008, (9): 1-4.  
Song WG, Li BJ, Zhao ZH, et al. Safety risk and solutions of fungicides [J]. China Veget, 2008, (9): 1-4.
- [5] 陆丹, 杨秀鸿, 吴军, 等. 啉霉胺原药毒理学安全性评价[J]. 毒理学杂

志, 2013, 27(4): 316-318.

Lu D, Yang XH, Wu J, et al. Toxicological safety evaluation of the original isopyrazam [J]. J Toxicol, 2013, 27(4): 316-318.

- [6] 宋稳成, 单炜力, 叶纪明, 等. 国内外农药最大残留限量标准现状与发展趋势[J]. 药理学, 2009, 11(4): 414-420.  
Song WC, Shan WL, Ye JM, et al. Present situation and development trend of MRLs for pesticides in and outside China [J]. Chin J Pestic Sci, 2009, 11(4): 414-420.
- [7] 陈宗懋. 食品中农药残留检测发展的新趋势[J]. 农产品质量与安全, 2010, (1): 9-12.  
Chen ZM. Research progress on methods for detection of pesticide residues in food [J]. Qual Saf Agro-Prod, 2010, (1): 9-12.
- [8] 欧盟食品中兽药残留限量标准[S].  
EU veterinary drug residue limits for food [S].
- [9] 师真, 陈俊秀, 李旭, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中 13 种氨基甲酸酯类农药和杀菌剂残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(20): 5438-5443.  
Shi Z, Chen JX, Li X, et al. Determination of 13 kinds of carbamate pesticides and fungicides in vegetables by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(20): 5438-5443.
- [10] GBT 5009.218-2008 水果和蔬菜中多种农药残留量的测定[S].  
GBT 5009.218-2008 Determination of multi pesticide residues in fruits and vegetables [S].
- [11] 宋鑫, 杭学宇, 王芹, 等. 蔬菜和水果中杀菌剂的高效液相色谱-串联质谱检测法[J]. 职业与健康, 2018, 34(1): 44-47.  
Song X, Hang XY, Wang Q, et al. Determination of microbicides in vegetables and fruits by LC-MS/MS [J]. Occup Health, 2018, 34(1): 44-47.
- [12] GB/T 20769-2008 水果和蔬菜中 450 种农药及相关化学品残留的测定



- 液相色谱-串联质谱法[S].  
GB/T 20769-2008 Determination of 450 pesticides and related chemicals residues in fruits and vegetables LC-MS-MS method [S].
- [13] 王菲,李彤,马辰.超高效液相色谱-串联质谱法测定中药材中三唑类杀菌剂及三嗪类除草剂的残留量[J].色谱,2013,31(3):191-199.  
Wang F, Li T, Ma C. Determination of triazole fungicide and triazine herbicide residues in Chinese herbs by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2013, 31(3): 191-199.
- [14] 黄超群,丁慧瑛,朱晓雨,等.液相色谱-串联质谱法同时测定蔬菜中7种三唑醇类杀菌剂的残留量[J].分析测试学报,2011,30(6):656-660.  
Huang CQ, Ding HY, Zhu XY, *et al.* Simultaneous determination of 7 triazole alcohol fungicides in vegetables by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Instru Anal, 2011, 30(6): 656-660.
- [15] 沈伟健,余可垚,桂茜雯,等.分散固相萃取-气相色谱-串联质谱法测定蔬菜中107种农药的残留量[J].色谱,2009,27(4):391-400.  
Shen WJ, Yu KY, Gui QW, *et al.* Determination of 107 pesticide residues in vegetables using off-line dispersive solid-phase extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2009, 27(4): 391-400.
- [16] 陈达捷,张志刚,周昱,等.串联固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定食品中嘧啶胺类杀菌剂残留[J].色谱,2012,30(9):896-902.  
Chen DJ, Zhang ZG, Zhou Y, *et al.* Determination of fungicide anilinopyrimidine residues in food by series solid phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2012, 30(9): 896-902.
- [17] 贾楠.凝胶渗透色谱气相色谱串联质谱法测定农产品中三唑类杀菌剂残留的研究[D].郑州:郑州大学,2013.  
Jia N. The Study on the determination of 18 triazole fungicide residues in agricultural products by GPC-GC-MSMS [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2013.
- [18] Urairat K, Steven JL, Shui M, *et al.* High throughput analysis of 150 pesticides in fruits and vegetables using QuEChERS and low-pressure gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2010, 1217(43): 6692-6703.
- [19] 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, Su Y, *et al.* Research progress of QuEChERS extraction method in pesticide residues determination in agricultural products [J]. J Agric Resour Environ, 2014, 31(2): 110-117.
- [20] 王建忠,郭春景,李娜,等.改进的 QuEChERS 方法结合 UPLC-MS/MS 同时快速检测 8 种蔬菜中 77 种农药残留[J].江苏农业科学,2014,(4):248-252.  
Wang JZ, Guo CJ, Li N, *et al.* Determination of 77 fungicides in 8 kinds vegetables by improved QuEChERS and UPLC-MS/MS [J]. Jiangsu Agric Sci, 2014, (4): 248-252.
- [21] 乐渊,刘春华,黎舒怀,等. QuEChERS 净化-超高效液相色谱-串联质谱测定芒果中 3 种杀菌剂残留[J].农药学学报,2015,17(6):723-728.  
Le Y, Liu CH, Li SH, *et al.* Determination of three fungicides in mango using QuEChERS method and ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Pestic Sci, 2015, 17(6): 723-728.
- [22] 郭春景,王建忠,郝晓莉.利用 QuEChERS-UPLC-MS/MS 法测定甘蓝、草莓中 7 种农药残留的实验条件优化探索[J].质谱学报,2013,34(2):121-127.  
Guo CJ, Wang JZ, He XL. The condition optimization determination of multi-residue of pesticides in cabbage and strawberry by QuEChERS-uplc-MS/MS [J]. J Chin Mass Spectrom Soc MAR, 2013, 34(2): 121-127.
- [23] 许欣欣,王冰,陈慧玲,等.超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水果蔬菜中 11 种杀菌剂[J].食品安全质量检测学报,2018,9(1):141-148.  
Xu XX, Wang B, Chen HL, *et al.* Simultaneous determination of 11 kinds of fungicides in fruit and vegetable by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(1): 141-148.

(责任编辑:苏笑芳)

## 作者简介



许秀敏,硕士,副主任技师,主要研究方向为食品安全与风险评估。  
E-mail: 48546862@qq.com