

果蔬中烯酰吗啉基质效应的研究

林涛^{1,2}, 樊建麟¹, 黎其万¹, 李彦刚¹, 杨东顺^{1*}

- (1. 云南省农业科学院质量标准与检测技术研究所, 昆明 650223;
2. 农业部农产品质量安全风险评估实验室(昆明), 昆明 650223)

摘要: **目的** 研究烯酰吗啉在橙子和芹菜中的基质效应, 以准确测定橙子和芹菜中的烯酰吗啉。**方法** 利用超高效液相色谱-串联质谱法进行测定。橙子和芹菜样品利用乙腈提取后直接进样分析, 并采用正离子多反应监测模式, 外标法定量, 比较了甲醇-水、甲醇-0.1%(V:V)甲酸水溶液、甲醇-1 mmol/L 乙酸铵水溶液 3 种流动相组成对烯酰吗啉基质效应的影响情况。同时也比较了纯甲醇溶剂和样品空白基质配制的标准对烯酰吗啉基质效应的影响。**结果** 利用样品空白基质配制的标准能够有效地抑制烯酰吗啉的基质效应, 而测定橙子和芹菜基质中烯酰吗啉时, 使用甲醇-0.1%(V:V)甲酸水溶液作为流动相, 可在一定程度上抑制烯酰吗啉的基质效应。**结论** 本方法快速简便, 为烯酰吗啉在其他果蔬中的基质效应研究提供参考。**关键词:** 橙子; 芹菜; 烯酰吗啉; 基质效应

Study on the matrix effects of dimethomorph in fruits and vegetables

LIN Tao^{1,2}, FAN Jian-Lin¹, LI Qi-Wan¹, LI Yan-Gang¹, YANG Dong-Shun^{1*}

- (1. Institute of Agriculture Quality Standards & Testing Technique, Yunnan Academy of Agricultural Science, Kunming 650223, China; 2. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Agro-products (Kunming), Ministry of Agriculture, Kunming 650223, China)

ABSTRACT: Objective To increase the accuracy of dimethomorph detection in orange and celery by studying the matrix effect. **Methods** The detection were conducted on an ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, the effect of 3 kinds of mobile phases including methanol-water, methanol-0.1% (V:V) formic acid solution and methanol-1 mmol/L ammonium acetate solution on the matrix effects were compared. Dimethomorph in orange and celery samples was extracted by acetonitrile. Positive ion mode and multiple reaction monitoring were used in the analysis and external standard method was used for quantification. Also, the effect of preparation methods of standard solutions including diluted with methanol and blank matrix were studied. **Results** The matrix effects of dimethomorph were effectively inhibited when the standard solution was diluted with blank matrix, and the matrix effects of dimethomorph were partly inhibited when the mobile phase was methanol-0.1%(V:V) formic acid solution in determination of dimethomorph in oranges and celery. **Conclusions** This method is simple and fast, which can provide a reference for the study of matrix effects of dimethomorph in other fruits and vegetables.

KEY WORDS: orange; celery; dimethomorph; matrix effect

基金项目: 2015 年国家农产品质量安全风险评估项目(GJFP2015001)

Fund: Supported by Risk Assessment of National Agricultural Product Quality in 2015 (GJFP2015001)

*通讯作者: 杨东顺, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量安全与风险评估。E-mail: dongshunyang2015@126.com

*Corresponding author: YANG Dong-Shun, Associate Researcher, Institute of Agriculture Quality Standards & Testing Technique, Yunnan Academy of Agricultural Science, No. 9, Xueyun Road, Wuhua District, Kunming 650223, China. E-mail: dongshunyang2015@126.com

1 引言

烯酰吗啉是近年来普遍使用的低毒杀菌剂,可以破坏病菌细胞壁膜的形成,从而引起孢子囊壁分解而死亡^[1]。烯酰吗啉的内吸性较强,可通过根部施药而进入植株的各个部位^[2-3],其化学结构如图1所示。

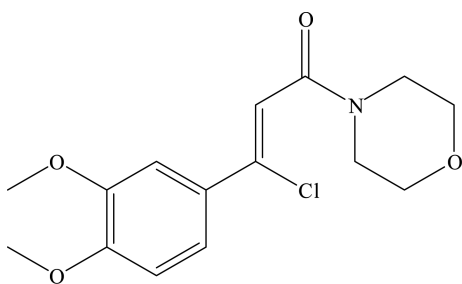


图1 烯酰吗啉的化学结构

Fig. 1 The chemical structure of dimethomorph

近年来,烯酰吗啉被广泛应用于水果和蔬菜的种植中,具有较高的检出率。虽然烯酰吗啉毒性相对较低(大鼠急性经口 $LD_{50} > 3900$ mg/kg),但其残留仍会对人体造成危害,如对人的皮肤和眼睛具有刺激性^[4]。根据我国最新的农药残留限量标准(GB 2763-2014)^[5]规定,烯酰吗啉在瓜类蔬菜和瓜果类水果中的最大残留限量为0.5 mg/kg。目前,烯酰吗啉的测定方法主要有液相色谱法^[6]、气相色谱法^[7]、液相色谱-串联质谱法^[8,9]和气相色谱-串联质谱法^[10,11]等。

基质效应是一种在质谱分析中经常出现的现象,其发生的主要原因是样品基质中的干扰物质影响目标化合物的离子化效率和强度,使其增强或减弱^[12]。使用液质联用方法时,抑制基质效应可以有效提高分析的准确度。烯酰吗啉在多种果蔬基质中都存在基质效应^[13,14]。特别是在利用串联质谱对烯酰吗啉进行测定时,其基质效应比较严重,常常影响检测结果的准确性。因此,如何有效地抑制基质效应,建立烯酰吗啉的快速准确的测定方法十分重要。本研究选取橙子和芹菜作为典型的水果和蔬菜基质,利用超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱法,对烯酰吗啉在不同流动相体系和不同的标准稀释液时的基质效应进行系统的研究,初步探讨抑制烯酰吗啉在果蔬中的基质效应的方法。

2 材料与方方法

2.1 仪器与试剂

API4000 三重四极杆质谱仪(美国 AB 公司); 1290 超高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); ZORBAX RRHD 2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm 色谱柱(美国 Agilent 公司); T18 ULTRA-TURRAX 高速匀浆机(德国 IKA 集团); AE100 电子分析天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司)。

甲醇(色谱纯,德国 Merck 公司); 乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司); 纯净水(杭州娃哈哈公司); 烯酰吗啉标准品(1000 mg/L, 农业部环境保护科研检测所); 橙子和芹菜(购于当地农贸市场)。

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液配制

用移液管吸取适量烯酰吗啉标准溶液,用甲醇稀释成 40 μg/mL 的标准储备液。再准确量取一定体积的烯酰吗啉标准储备溶液,用甲醇定容得到一定浓度的标准溶液,于 -20 °C 下保存。

2.2.2 样品处理

分别称取 25 g 经粉碎混匀后的橙子和芹菜样品于 150 mL 的三角瓶中,加入乙腈 50 mL,高速匀浆 2 min 后,收集滤液至装有 6.0 ~ 8.0 g NaCl 的 200 mL 具塞量筒中,剧烈振荡 1 min 后,于室温下静置 1 h,再吸取 1.0 mL 上清液过 0.22 μm 滤膜,待分析。

2.2.3 色谱条件

以甲醇和水作为流动相,洗脱步骤如表 1 所示,柱温: 35 °C; 流速: 0.2 mL/min; 进样量: 1 μL。

表1 梯度洗脱参数
Table 1 Gradient elution parameters

时间/min	水/%	甲醇/%
0	95	5
5	10	90
8	10	90
8.1	95	5
10	95	5

2.2.4 质谱条件

参照文献^[15]的方法,采用正离子模式,烯酰吗啉的母离子质荷比(m/z)为 388.2,子离子分别为 301.1 和 165.2,解簇电压为 66 V,碰撞电压分别为 25 V 和 45 V。

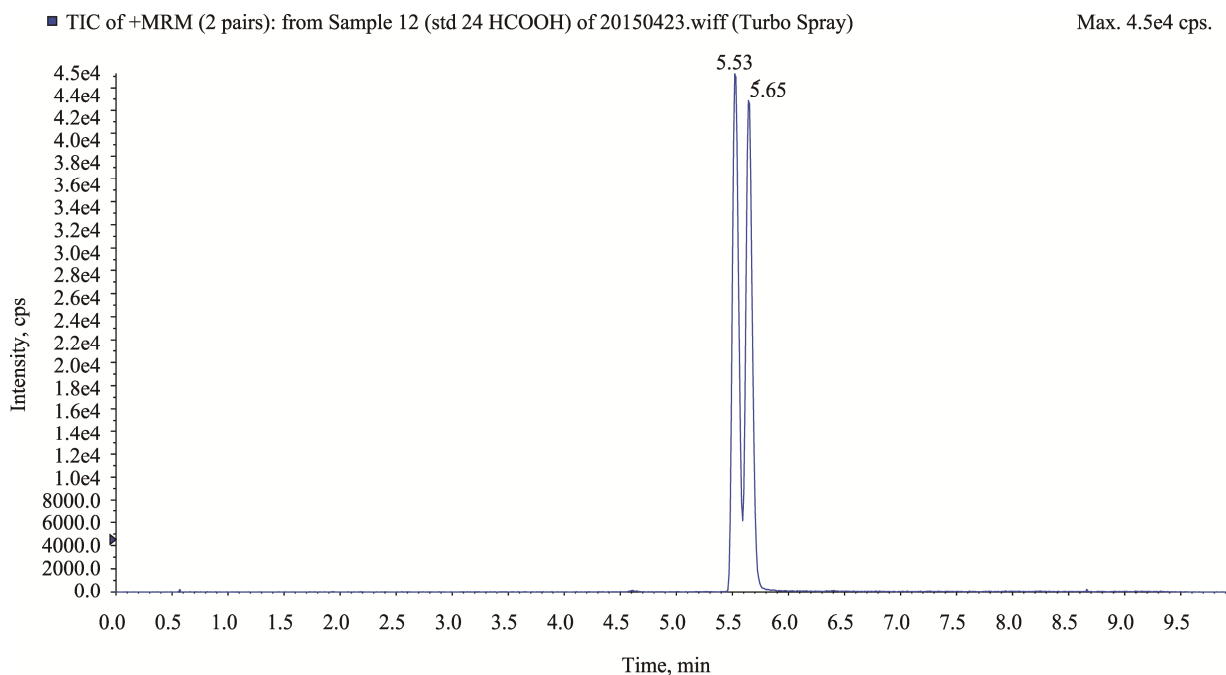


图 2 烯酰吗啉的色谱图

Fig. 2 The chromatogram of dimethomorph

3 结果与分析

3.1 仪器条件的优化

烯酰吗啉的结构中含有一个双键, 一般情况下, 烯酰吗啉都是以顺反异构体的混合物形式存在的。因此, 在液相分析中, 烯酰吗啉都是以 2 个色谱峰的形式存在。烯酰吗啉的极性适中, 因此采用常规的甲醇-水混合流动相体系能够对烯酰吗啉进行较好的分离, 由于本实验中采用的是较高灵敏度的串联质谱法, 在分析过程中一般不需要色谱峰达到基线分离。故为了达到快速测定的目的, 实验中烯酰吗啉的色谱峰未完全基线分离。烯酰吗啉的色谱图如图 2 所示。

3.2 基质效应的分析

本研究中对于橙子和芹菜都采用 0.1 mg/kg 的加标浓度, 首先研究纯甲醇稀释的烯酰吗啉标准溶液对基质效应的影响。用甲醇将烯酰吗啉稀释至指定浓度, 分别利用甲醇-水、甲醇-0.1%(V:V)甲酸水溶液、甲醇-1 mmol/L 乙酸铵水溶液作为流动相, 考察橙子和芹菜的基质效应情况。如图 3 所示, 当利用甲醇-水作为流动相时, 可以发现橙子具有较强的基质减弱现象, 而芹菜具有较强的基质增强现象; 当采用甲醇-0.1%(V:V)甲酸水溶液和甲醇-1 mmol/L 乙酸铵水

溶液作为流动相时, 橙子中烯酰吗啉的回收达到 80%左右。说明流动相中加入一定量的甲酸或者乙酸铵可以抑制橙子的基质效应, 但是并不能抑制烯酰吗啉在芹菜中的基质效应。

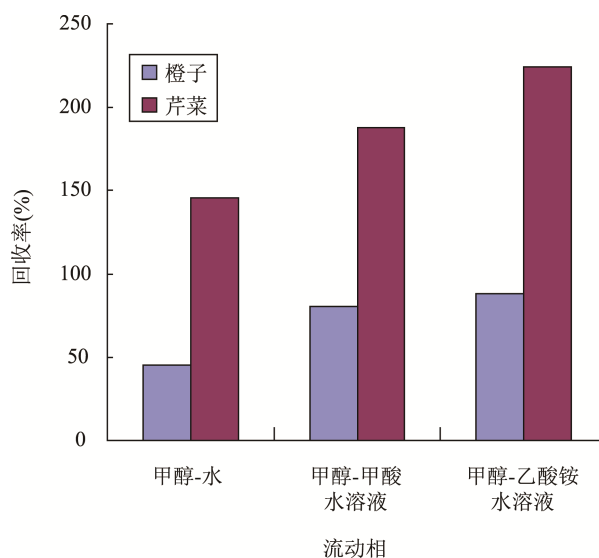


图 3 橙子和芹菜在不同流动相中的基质效应(甲醇稀释的标准)

Fig. 3 The matrix effects in orange and celery with different mobile phases (The standard solution was diluted with methanol)

另一方面,本试验又采用空白的橙子和芹菜提取溶液来稀释烯酰吗啉标准溶液,同样采用上述的3种流动相,考察橙子和芹菜的基质效应情况,结果如图4所示。当烯酰吗啉的标准溶液分别采用橙子和芹菜的空白基质稀释时,能够明显的抑制其基质效应;但是在甲醇-1 mmol/L 乙酸铵水溶液流动相体系中,烯酰吗啉在芹菜中的基质效应仍然明显。

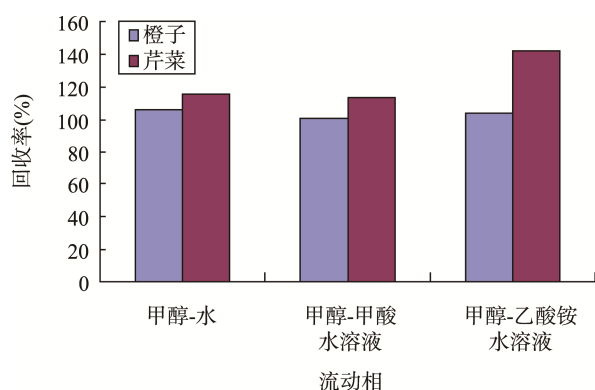


图4 橙子和芹菜在不同流动相中的基质效应(空白基质稀释的标准)

Fig. 4 The matrix effects in orange and celery with different mobile phases (The standard solution was diluted with blank matrix)

4 结论与讨论

通过上述的实验可发现,采用空白基质稀释标准,可以明显地抑制烯酰吗啉在橙子和芹菜中的基质效应,这与文献报道的结论相似^[13]。但是烯酰吗啉在其他果蔬样品中的基质效应还有待于进一步的研究。

根据本实验的研究结果,在测定果蔬基质中烯酰吗啉时,建议使用甲醇-甲酸水溶液作为流动相,这在一定程度上可以抑制烯酰吗啉的基质效应。但是对于一些碱性的果蔬样品,如卷心菜、柿子、黄瓜、胡萝卜等,由于其提取液呈现碱性,可能会与甲酸发生酸碱中和反应,其效果有待于进一步的研究。

基质干扰的强度与果蔬本身的酸碱性、成分等密切相关,如葱蒜类的蔬菜基质干扰较为严重,而茄果类的蔬菜和瓜果类水果的基质干扰总体上较小。此外,基质效应还与测定仪器、测定条件等多种因素密切相关。因此,针对不同的果蔬样品,可能需要采用不同的前处理方法,不同的净化条件和不同的仪器测定条件,才能有效地抑制其基质效应,以快速准确地测

定果蔬中的烯酰吗啉残留。

参考文献

- [1] 王岩,姚威风,梁爽,等.甘蓝和土壤中吡唑醚菌酯·烯酰吗啉残留分析[J].农药,2011,50(1):46-47.
Wang Y, Yao WF, Liang S, *et al.* Residues determination of pyraclostrobin-dimethomorph in cabbage and soil [J]. Pesticides, 2011, 50(1): 46-47.
- [2] Kuhn PJ, Pitt D, Lee SA, *et al.* Effects of dimethomorph on the morphology and ultrastructure of phytophthora [J]. Mycological Res, 1991, 95(3): 333-340.
- [3] Cohen Y, Baider A, Cohen BH. Dimethomorph activity against oomycete fungal plant pathogens [J]. Phytopathology, 1995, 85(12): 1500-1506.
- [4] Rekanović E, Potočnik I, Milijašević-Marčić S, *et al.* Toxicity of metalaxyl, azoxystrobin, dimethomorph, cymoxanil, zoxamide and mancozeb to *Phytophthora infestans* isolates from Serbia [J]. J Environ Sci Health, Part B, 2012, 47(5): 403-409.
- [5] GB 2763-2014. 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S].
GB 2763-2014. National food safety standard-Maximum residue limits for pesticides in food[S].
- [6] 朴秀英,陶传江,姜辉,等.烯酰吗啉顺反异构体在土壤中的降解动态研究[J].农药学报,2011,13(2):169-173.
Pu XY, Tao CJ, Jiang H, *et al.* Study on degradation dynamics of Z-and E-isomers of dimethomorph in soils [J]. Chin J Pestic Sci, 2011, 13(2): 169-173.
- [7] Liang H, Li L, Li W, *et al.* Dissipation and residue of dimethomorph in pepper and soil under field conditions[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2011, 74(5): 1331-1335.
- [8] Sannino A, Bolzoni L, Bandini M. Application of liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry to the determination of a new generation of pesticides in processed fruits and vegetables [J]. J Chromatogr A, 2004, 1036(2): 161-169.
- [9] Kujawski MW, Bargańska Ż, Marciniak K, *et al.* Determining pesticide contamination in honey by LC-ESI-MS/MS-comparison of pesticide recoveries of two liquid-liquid extraction based approaches [J]. LWT- Food Sci Technol, 2014, 56(2): 517-523.
- [10] Hengel MJ, Shibamoto T. Gas chromatographic-mass spectrometric method for the analysis of dimethomorph fungicide in dried hops [J]. J Agric Food Chem, 2000, 48(12): 5824-5828.
- [11] Páleníková A, Martínez-Domínguez G, Arrebola FJ, *et al.*

- Multifamily determination of pesticide residues in soya-based nutraceutical products by GC/MS-MS [J]. *Food Chem*, 2015, 173: 796-807.
- [12] Matuszewski B, Constanzer M, Chavez-Eng C. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS [J]. *Anal Chem*, 2003, 75(13): 3019-3030.
- [13] 丁力平, 蔡春平, 王丹红. 改进的 QuEChERS-气相色谱-质谱联用法测定蔬菜中的氟吗啉和烯酰吗啉残留 [J]. *色谱*, 2014, 32(8): 849-854.
- Ding LP, Cai CP, Wang DH. Determination of flumorph and dimethomorph residues in vegetables by improved QuEChERS-gas chromatog [J]. *Chin J Chromatogr*, 2014, 32(8): 849-854.
- [14] 陈士恒, 史晓梅, 吕岳文, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联四极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.
- Chen SH, Shi XM, Lv YW, *et al.* Simultaneous determination of 19 common pesticides residues in tomato paste by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Safe Qual*, 2015, 6(4): 1128-1136.
- [15] 林涛, 汪禄祥, 杨东顺, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定蔬菜水果中的 40 种农药残留[J]. *分析实验室*, 2014, 33(10): 1165-1170.
- Lin T, Wang LX, Yang DS, *et al.* Determination of 40 pesticide residues in vegetables and fruits by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Lab*, 2014, 33(10): 1165-1170.

(责任编辑: 卢 忆)

作者简介



林 涛, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为农产品质量安全与风险评估。
E-mail: lintaoanj@126.com



杨东顺, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量安全与分析检测。
E-mail: dongshunyang2015@126.com