

QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定 葡萄中 100 种农药及其代谢物

苏漪玲^{1,2}, 吴延灿^{1,2}, 戚传勇^{1*}, 操海群², 檀根甲², 董玉平¹, 师焕芝¹

(1. 合肥市农产品质量检验中心, 合肥 230091; 2. 安徽农业大学植物保护学院, 合肥 230036)

摘要: **目的** 建立 QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定葡萄中多菌灵等 100 种农药及其代谢物的分析方法。**方法** 样品采用 1% 乙酸乙腈涡旋振荡提取, 离心后取上清液用 N-丙基乙二胺 (N-propylethylenediamine, PSA) 粉末分散固相萃取净化, 样品经 BEH-C₁₈ 超高效液相色谱柱分离后, 在电喷雾正离子 (electrospray ionization, ESI+) 模式下, 通过多反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM) 模式测定, 以基质匹配校准曲线外标法进行定量分析。**结果** 100 种农药及其代谢物在 1~100 μg/L 范围内线性关系良好, 相关系数 (r^2) 均大于 0.9984; 100 种农药及代谢物的平均回收率在 77.6%~118.4% 之间, 相对标准偏差为 0.3%~28.9%, 符合农药多残留分析的要求。**结论** 本方法简单、灵敏, 适用于葡萄中 100 种农药及其代谢物的准确测定。

关键词: QuEChERS; 超高效液相色谱-串联质谱法; 葡萄; 农药残留; 代谢物

Determination of 100 kinds of pesticides and their metabolites in grapes by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

SU Yi-Ling^{1,2}, WU Yan-Can^{1,2}, QI Chuan-Yong^{1*}, CAO Hai-Qun², TAN Gen-Jia²,
DONG Yu-Ping¹, SHI Huan-Zhi¹

(1. Hefei Inspection Center for Agricultural Products Quality, Hefei 230091, China;
2. College of Plant Protection, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

ABSTRACT: Objective To establish an analytical method for the determination of carbendazim and other 100 kinds of pesticides and their metabolites including carbendazim in grape by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The samples were extracted with 1% acetonitrile acetate by vortex oscillation, and the supernatant after centrifugation was purified by N-propylethylenediamine (PSA) powder dispersion solid-phase extraction. After the samples were separated by BEH-C₁₈ ultra-performance liquid chromatographic column, the samples were collected under the electrospray ionization (ESI+) mode, quantitation was performed using a matrix-matched calibration curve external standard, as determined by multiple reaction monitoring (MRM) mode. **Results** The linear relationships were good in the range of 1-100 μg/L, and the correlation

基金项目: 合肥市农产品质量安全体系首席专家工作室项目

Fund: Supported by the Hefei Chief Expert Workshop of Agricultural Products Quality and Safety Program

*通信作者: 戚传勇, 研究员, 主要研究方向为农产品质量与安全。E-mail: qichuan@126.com

*Corresponding author: QI Chuan-Yong, Professor, Director of Agricultural Products Quality Inspection Center of Hefei City, Anhui Province, Hefei 230091, China. E-mail: qichuan@126.com

coefficients (r^2) were greater than 0.9984. The average recoveries of the 100 kinds of pesticides and their metabolites were 77.6%–118.4%, and the relative standard deviations were 0.3%–28.9%, which met the requirements of multi-residue analysis of pesticides. **Conclusion** This method is simple, sensitive and suitable for the accurate determination of 100 kinds of pesticides and their metabolites in grapes.

KEY WORDS: QuEChERS; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; grapes; pesticide residue; metabolites

0 引言

葡萄是深受我国消费者喜爱的水果品种之一, 不仅可以直接食用, 还可以制成葡萄干或酿造葡萄酒。我国是世界上葡萄产量最高的国家^[1], 在葡萄的生产过程中, 灰霉病、霜霉病、白粉病^[2-3]、蚜虫、蓟马^[4]等病虫害发生较多, 需要施用农药加以控制, 容易导致葡萄农药残留甚至超标问题^[5-6], 从而危害广大消费者身体健康。近年来, 我国关于葡萄产品上农药残留限量标准的制定日益严格, GB 2763—2019《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》中更是规定了葡萄上 165 种农药的最大残留限量值 (maximum residue limit, MRL), 因此急需建立一种准确、快速、高效的检测技术来应对葡萄中农药多残留分析, 从而有效地对葡萄的农药残留问题实现监管。

葡萄基质相对简单, 主要是以葡萄糖、果酸等为主, 因此结合质谱分析方法时, 不需要十分复杂的前处理, 就可以获得比较干净的待测样品。然而在 GB 2763—2019 中, 针对葡萄的农药项目所推荐的液相色谱-质谱联用检测方法, 主要是以 GB/T 20769—2008《水果和蔬菜中 450 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》为主, 该方法采用匀浆提取结合 Carbon-NH₂ 固相萃取法, 虽然净化结果更加理想, 但是这种方法复杂耗时、试剂消耗大、结果稳定性差、对操作人员水平要求也较高, 并且啉虫脒、多菌灵等部分农药基质效应还强于采用 QuEChERS 方法^[7], 因此不适用于葡萄中农药多残留分析的风险评估任务。一些学者也对葡萄上农药多残留分析方法进行了报道, 主要以气相色谱-串联质谱检测方法^[8-9]和液相色谱-串联质谱检测方法^[10-15]为主。本研究采用 QuEChERS 前处理方法结合超高效液相色谱-串联质谱法 (ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS) 检测, 建立葡萄中 100 种农药及其代谢物快速、准确的分析方法, 涵盖了 91 种农药母体, 以及 GB 2763—2019 中要求检测的 9 种代谢物, 为葡萄质量安全风险评估提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

ACQUITY UPLC-Xevo TQ 超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱仪、ACQUITY BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×

100 mm, 1.7 μm)(美国 Waters 公司); WIGGENS-VB424 多位脉冲涡旋振荡器 (北京桑翌实验仪器研究所); Hettich ROTINA380 离心机 (德国 Hettich Zentrifugen 公司)。

100 种农药及其代谢物标准品溶液 (1000 mg/L, 农业部环境保护科研监测所); 乙腈、甲酸 (色谱纯, 美国 Tedia 公司); 乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶 (primary secondary amine, PSA) 粉末、无水硫酸镁、乙酸钠 (分析纯, 上海安谱公司); 疏水性聚四氟乙烯 (poly tetra fluoro ethylene, PTFE) (0.22 μm, 上海安谱公司); 实验用水为密理博 (Milli-Q) 超纯水系统制备。

供试葡萄样品采集于合肥及周边农贸市场, 样品经打碎机均质后, 保存于 -26 °C 冰柜。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液配制

分别准确量取 0.1 mL 多菌灵等 100 种农药及其代谢物标准品于 10 mL 容量瓶中, 配制成 10 mg/L 的标准混合储备溶液。逐级稀释配制成 0.1、0.05、0.01、0.005、0.001 mg/L 的一系列标准工作溶液, 充分摇匀后, 于 4 °C 冰箱储存备用。

1.2.2 样品前处理

准确称取 10 g (精确至 0.01 g) 均质葡萄样品于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 乙腈 (含 1% 乙酸) 溶液和 3 颗玻璃弹珠, 涡旋提取 2 min 后, 放入冷冻室冷冻 15 min 后, 再加入混合萃取填料 (1 g 乙酸钠和 4 g 无水硫酸镁), 手摇振荡混匀, 4000 r/min 离心 3 min, 吸取 4 mL 上清液至 15 mL 离心管中 (预先加入 0.25 g PSA 和 0.75 g 无水硫酸镁), 涡旋 30 s, 4000 r/min 离心 3 min 后, 吸取 1 mL 左右上清液, 过 0.22 μm 疏水性 PTFE 滤膜后, 待测。

1.2.3 液相色谱-串联质谱条件

(1) 液相色谱条件

ACQUITY BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相: 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B); 流速: 0.4 mL/min; 柱温: 40 °C; 进样量: 3 μL; 梯度洗脱程序: 0~0.25 min, 90% A; 0.25~12.00 min, 90%~5% A; 12.01~13.50 min, 5% A; 13.51~15.00 min, 90% A。

(2) 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源 (electrospray ionization, ESI+); 毛细管电压: 3.5 kV; 离子源温度: 150 °C; 脱溶剂气温度: 500 °C; 脱溶剂气流量: 900 L/h; 锥孔反吹气流量: 50 L/h; 扫描模式: 多反应监测模式 (multiple reaction monitoring, MRM)。100 种化合物的详细质谱条件见表 1。

表1 100种化合物的保留时间、质谱条件和最大残留限量值(葡萄)

Table 1 Retention time, mass spectrum conditions and maximum residue limits (MRL) values of 100 kinds of compounds (grapes)

编号	化合物	保留时间/min	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	锥孔电压/V	碰撞能/V	MRL/(mg/kg)
1	灭多威	1.79	163.0	88.0*, 106.0	17	10, 10	0.2
2	二苯胺	7.24	170.0	93.0*, 92.0	29	24, 18	/
3	多菌灵	1.42	192.1	160.1*, 132.1	24	18, 28	3
4	异丙威	5.44	194.1	95.1*, 137.1	15	14, 8	/
5	霜脲脲	3.29	199.0	128.0*, 111.0	14	8, 18	/
6	嘧霉胺	4.57	200.0	107.0*, 82.0	42	24, 24	4
7	甲萘威	4.93	202.0	145.0*, 117.0	19	22, 28	/
8	噻菌灵	1.61	202.0	175.0*, 131.0	42	25, 30	5
9	涕灭威亚砷	1.16	207.0	89.0*, 132.0	13	14, 10	/
10	仲丁威	6.21	208.0	94.9*, 152.0	13	14, 8	/
11	涕灭威	3.69	213.0	89.0*, 116.0	24	16, 12	0.02
12	氯苯胺灵	6.89	214.1	172.0*, 154.0	9	8, 18	/
13	敌敌畏	4.25	221.0	109.0*, 79.0	23	22, 34	0.2
14	克百威	4.64	222.1	165.1*, 123.0	25	16, 16	0.02
15	涕灭威砷	1.57	223.0	86.0*, 148.0	22	14, 10	/
16	久效磷	1.76	224.1	127.1*, 98.1	15	16, 12	0.03
17	噻菌环胺	5.94	226.0	108.0*, 93.0	47	25, 33	20
18	灭虫威	6.22	226.0	169.0*, 121.0	19	10, 22	/
19	莠灭净	4.33	228.1	186.1*, 68.1	32	18, 36	/
20	乐果	2.89	230.1	199.0*, 125.0	12	10, 20	/
21	百治磷	2.08	238.0	193.0*, 112.0	17	10, 10	/
22	3-羟基克百威	2.67	238.0	163.0*, 181.0	25	16, 10	/
23	抗蚜威	2.55	239.1	72.0*, 182.1	25	18, 15	1
24	扑草净	5.21	242.0	158.0*, 200.1	26	25, 17	/
25	灭线磷	6.85	243.2	131.0*, 97.0	18	31, 20	0.02
26	地虫磷	8.31	247.1	137.0*, 109.0	15	10, 20	/
27	氯吡啶	5.01	248.1	93.0*, 129.0	25	35, 15	0.05
28	吡虫啉	2.74	256.1	209.1*, 175.1	23	15, 20	1
29	敌百虫	2.46	257.0	109.0*, 79.0	22	18, 30	0.2
30	甲拌磷	8.48	261.0	75.0*, 97.0	14	10, 28	0.01
31	硫线磷	4.25	271.1	159.0*, 131.0	16	16, 22	0.02
32	甲拌磷亚砷	5.04	277.0	96.9*, 143.0	15	32, 20	/
33	倍硫磷	8.04	279.0	169.0*, 105.0	30	18, 28	0.05
34	甲霜灵	5.32	280.1	220.1*, 192.1	15	13, 17	1
35	二甲戊灵	9.62	282.2	212.2*, 194.1	12	10, 17	/
36	戊菌唑	7.28	284.0	159.0*, 70.1	25	34, 16	0.2
37	异丙甲草胺	7.28	284.1	252.1*, 176.1	17	15, 25	
38	特丁硫磷	9.42	289.0	103.0*, 57.2	12	8, 22	0.01*
39	腈菌唑	6.73	289.1	125.1*, 70.2	25	32, 18	1
40	水胺硫磷	7.18	291.1	231.1*, 121.1	12	13, 30	0.05
41	稻瘟灵	7.18	291.1	188.8*, 230.9	17	22, 12	/
42	噻虫嗪	2.16	292.0	211.0*, 181.0	18	12, 24	/
43	甲拌磷砷	6.03	293.0	96.9*, 115	15	30, 24	/
44	三唑酮	6.77	294.1	197.2*, 69.3	22	15, 20	0.3
45	多效唑	6.13	294.1	70.2*, 125.1	27	20, 38	/
46	倍硫磷亚砷	4.76	295.0	109.0*, 280.0	29	32, 18	/
47	三唑醇	6.18	296.1	70.2*, 99.1	12	10, 15	0.3
48	啶硫磷	7.78	299.0	162.9*, 96.9	15	24, 30	/
49	辛硫磷	8.53	299.0	129.0*, 153.0	12	13, 7	0.05

表 1(续)

编号	化合物	保留时间/min	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	锥孔电压/V	碰撞能/V	MRL/(mg/kg)
50	磷胺	3.94	300.1	174.1*, 127.1	17	14, 25	0.05
51	杀扑磷	6.18	303.0	145.0*, 85.1	10	10, 20	0.05
52	四螨嗪	8.33	303.0	138.0*, 102.0	19	22, 35	2
53	苯线磷	6.72	304.1	217.1*, 202.1	27	24, 36	0.02
54	特丁硫磷亚砷	6.02	305.0	187.0*, 97.0	10	11, 40	/
55	二嗪磷	8.19	305.1	169.0*, 96.9	20	22, 35	/
56	甲基嘧啶磷	8.16	306.1	108.1*, 164.1	25	32, 22	/
57	戊唑醇	7.08	308.0	70.1*, 125.0	31	22, 40	2
58	灭幼脲	7.41	309.0	138.8, 155.8*	22	26, 18	/
59	除虫脲	7.15	311.0	157.9*, 140.9	20	14, 36	/
60	倍硫磷砷	5.66	311.0	125.0*, 109.0	29	22, 28	/
61	己唑醇	7.32	314.0	70.1*, 159.0	31	22, 28	0.1
62	异唑磷	7.63	314.0	120.0*, 162.1	17	28, 16	/
63	三唑磷	7.27	314.1	161.9*, 118.9	22	18, 35	/
64	氟硅唑	7.14	316.0	165.0*, 247.0	27	28, 18	/
65	谷硫磷	6.26	318.0	261.0*, 160.0	12	8, 8	/
66	亚胺硫磷	6.46	318.0(340.0)	160.1*(214.1)	20, 30	14, 14	10
67	特丁硫磷砷	6.89	321.0	171.0*, 97.0	19	12, 40	/
68	稻丰散	8.11	321.0	135.0*, 163.0	9	20, 12	/
69	甲基毒死蜱	8.52	321.8	125.0*, 289.9	23	20, 16	/
70	治螟磷	8.44	323.0	97.0*, 171.0	17	32, 15	0.01
71	烯唑醇	7.54	326.1	70.2*, 159.0	37	25, 34	0.2
72	苯霜灵	7.86	326.1	148.0*, 91.0	17	20, 34	0.3
73	氟环唑	6.77	330.0	101.0*, 121.0	25	50, 22	0.5
74	异菌脲	7.29	330.0	244.7*, 288.0	12	16, 15	10
75	马拉硫磷	7.18	331.0	127.0*, 79.0	18	12, 40	8
76	氯苯嘧啶醇	6.56	331.0	268.0*, 81.0	37	22, 34	0.3
77	苯酰菌胺	8.15	336.0	159.0*, 187.1	27	38, 25	5
78	腈苯唑	7.25	337.0	125.0*, 70.1	29	36, 20	1
79	联苯三唑醇	7.38	338.1	99.1*, 70.1	12	16, 8	/
80	丙环唑	7.51	342.0	159.0*, 69.0	37	34, 22	/
81	甲基硫菌灵	4.42	343.0	151.0*, 93.0	19	22, 46	3
82	毒死蜱	9.64	349.9	97.0*, 198.0	27	32, 20	0.5
83	噻螨酮	9.63	350.1	168.1*, 228.1	21	26, 14	1
84	哒螨灵	10.43	365.1	147.1*, 309.1	19	24, 12	/
85	伏杀硫磷	8.56	367.9	110.9*, 181.9	12	42, 14	/
86	四氟醚唑	6.99	372.0	159.0*, 70.1	32	30, 20	/
87	丙溴磷	8.79	372.9	302.6*, 127.9	25	20, 40	/
88	咪鲜胺	6.76	376.0	308.0*, 266.0	20	15, 15	2
89	丁硫克百威	11.45	381.0	118.0*, 76.0	31	21, 34	/
90	吡唑醚菌酯	8.29	388.1	163.0*, 193.9	20	25, 12	2
91	啉菌酯	6.28	404.0	372.0*, 329.0	17	15, 30	5
92	苯醚甲环唑	8.01	406.0	251.1*, 111.1	37	25, 60	0.5
93	肟菌酯	8.88	409.0	145.0*, 186.0	25	40, 16	3
94	唑螨酯	9.81	422.2	366.1*, 138.1	23	15, 32	/
95	氟虫脲	7.88	437.0	368.1*, 255.0	32	16, 34	0.02
96	氟虫脲	9.69	489.1	158.0*, 141.0	31	22, 46	/
97	氟啶脲	10.02	539.8	382.9*, 158.0	33	20, 20	/
98	阿维菌素	10.42	895.2	751.3*, 327.2	84	40, 50	/
99	烯酰吗啉	6.28	388.1	165.0*, 300.9	30	30, 20	5
100	甲氧菊酯	10.34	350.1	125.0*, 97.0	15	14, 34	5

注: *代表定量离子; “/”代表未查询到。

2 结果与分析

2.1 色谱、质谱条件优化

本研究选择了分析极性农药常用的 BEH-C₁₈ 色谱柱, 结合快速高分离效率的超高效液相色谱柱^[16], 可以在更短的时间内获得更好的分离度, 从而极大程度缩短分析时间^[17]。同时, 对比了几种常用的流动相体系, 在综合比较了柱压、响应和分离度后, 选择含 0.1% 甲酸水溶液和乙腈作为流动相。结果显示, 在 15 min 的分析时间内, 100 种化合物在多通道模式下可以获得较好的分离。基质混合标准溶液的总离子流图见图 1。

配制 1 mg/L 各目标化合物单一标准溶液, 通过优化锥孔电压以及碰撞能等质谱条件, 以获得目标化合物最优响应, 优化后的离子对、锥孔电压、碰撞能等信息如表 1 所示。

2.2 前处理条件优化

本研究以 AOAC 2007.01^[18] 标准方法为基础加以调整。提取方面, 加入 3 颗玻璃弹珠, 采用多位脉冲涡旋振荡, 能够极大程度提高提取强度和效率, 可以在 2 min 内实现 20 个样品同时提取; 冷冻保存 15 min, 可以极大程度改善由于萃取填料放热导致的部分农药热解, 造成回收率较低的问题。净化方面, 考虑到葡萄基质相对简单, 脂肪、

色素等杂质含量低, 因此纯化管中没有加入十八烷基键合硅胶(C₁₈)和石墨化碳黑等净化填料。阴性葡萄样品按上述方法提取净化后, 杂质干扰小。

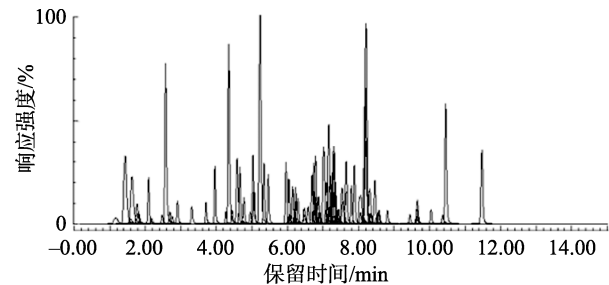


图 1 基质混合标准溶液(100 µg/L)的 UPLC-MS/MS 总离子流图
Fig.1 UPLC-MS/MS total ion chromatograms of mixed standard solution (100 µg/L)

2.3 方法的线性范围及检出限

本研究配制了 100 种农药及其代谢物的基质匹配标准溶液, 以目标组分的峰面积(Y)对相应的质量浓度(X, µg/L)绘制标准曲线, 结果见表 2。由表 2 可知, 各种农药质量浓度在 1~100 µg/L 线性范围内具有较好的线性关系, 相关系数(r^2)均大于 0.9984。以最小添加回收浓度作为方法的定量限(limit of quantitation, LOQ), 在上述条件下, 多菌灵等 100 种化合物的定量限均为 0.01 mg/kg。

表 2 葡萄基质中 100 种化合物的线性范围、线性方程、决定系数、基质效应($n=3$)、回收率以及精密度($n=5$)

Table 2 Linear ranges, linear regression equations, correlation coefficients, matrix effect factor ($n=3$), recoveries and RSDs ($n=5$) for 100 kinds of analytes in grapes

编号	线性方程	相关系数 (r^2)	基质效应($n=3$)		回收率/%			相对标准偏差/%		
			MEF*	RSD%	0.01 mg/kg	0.05 mg/kg	0.10 mg/kg	0.01 mg/kg	0.05 mg/kg	0.10 mg/kg
1	$Y=562.4X+555.9$	0.9989	1.03	3.9	115.6	107.6	107.6	3.9	3.0	2.1
2	$Y=1967.9X-424.6$	0.9992	1.18	12.0	92.4	92.6	92.6	4.9	2.5	1.0
3	$Y=6165.3X+3441.5$	1.0000	2.15	1.3	98.4	91.1	89.6	1.7	3.2	1.9
4	$Y=1934.7X+150.4$	1.0000	1.12	8.5	102.8	99.0	100.4	2.6	2.6	1.1
5	$Y=703.6X-326.6$	0.9998	1.12	6.6	103.6	100.3	98.8	1.6	1.8	1.2
6	$Y=3080.9X+148.3$	1.0000	1.15	7.9	103.6	94.0	99.9	2.1	2.5	1.0
7	$Y=561.5X-44.5$	0.9998	1.12	7.4	105.2	102.4	102.5	1.0	3.1	2.4
8	$Y=3116.3X+172.0$	1.0000	3.35	4.1	92.0	86.2	87.2	1.5	3.0	1.2
9	$Y=516.0X+289.1$	0.9996	1.00	1.0	94.4	91.9	90.4	3.5	2.0	1.9
10	$Y=1624.4X-377.3$	1.0000	1.11	10.1	105.6	99.0	100.0	2.1	2.4	1.9
11	$Y=844.2X+1238.4$	0.9984	1.08	5.9	116.4	107.8	105.0	1.4	2.2	1.6
12	$Y=400.2X-421.8$	0.9986	1.12	11.2	99.2	93.3	98.6	7.8	2.9	1.2
13	$Y=538.3X-91.9$	1.0000	1.07	6.0	105.6	101.5	103.0	4.3	2.0	2.0
14	$Y=2268.7X+813.1$	0.9999	1.13	7.1	107.6	101.0	102.8	1.6	3.1	1.8
15	$Y=207.7X+45.6$	0.9999	0.97	0.5	93.0	96.7	91.9	13.4	2.6	2.6

表 2(续)

编号	线性方程	相关系数(r^2)	基质效应($n=3$)		回收率/%			相对标准偏差/%		
			MEF*	RSD%	0.01 mg/kg	0.05 mg/kg	0.10 mg/kg	0.01 mg/kg	0.05 mg/kg	0.10 mg/kg
16	$Y=1061.4X+566.4$	0.9999	1.06	2.0	104.0	94.5	93.2	3.3	2.0	1.7
17	$Y=1636.0X-657.9$	0.9998	1.21	9.4	95.6	95.0	92.5	3.7	1.8	1.6
18	$Y=1089.9X-122.2$	1.0000	1.13	10.0	97.6	98.2	96.1	3.7	1.8	0.7
19	$Y=8464.5X-1244.2$	1.0000	1.16	7.3	100.0	96.9	93.7	1.4	0.8	1.0
20	$Y=750.0X+383.9$	0.9997	1.06	4.7	102.8	95.4	94.9	5.3	3.0	1.2
21	$Y=1361X-354.5$	1.0000	1.03	1.4	98.8	93.9	94.4	1.8	3.0	0.9
22	$Y=413.9X+39.3$	0.9999	1.06	4.4	97.6	94.6	94.2	4.2	3.1	2.6
23	$Y=6564.8X-574.8$	1.0000	1.06	4.7	103.6	99.1	101.1	1.6	1.9	1.4
24	$Y=11052.0X-1139.8$	1.0000	1.14	8.0	102.8	99.5	97.3	1.1	0.7	0.8
25	$Y=1080.4X+133.7$	0.9997	1.12	6.7	98.8	95.0	98.8	3.1	2.4	1.4
26	$Y=505.4X-195.4$	1.0000	1.19	16.0	90.4	92.2	90.9	11.6	2.6	2.3
27	$Y=1659.0X-243.5$	1.0000	1.64	6.4	82.0	79.8	79.9	2.4	2.5	1.3
28	$Y=222.1X-53.8$	0.9999	1.09	3.8	96.0	93.8	94.1	3.3	3.2	3.3
29	$Y=420.5X-104.5$	0.9999	1.07	3.6	92.4	85.9	87.6	1.8	3.1	2.0
30	$Y=392.2X-225.7$	0.9998	1.21	9.1	93.2	91.2	91.3	10.4	1.8	3.1
31	$Y=3536.5X+1188.8$	0.9999	1.13	8.9	104.8	97.5	96.6	2.9	4.0	1.6
32	$Y=1246.9X+172.8$	1.0000	1.13	6.3	105.2	102.2	102.7	2.6	2.4	0.3
33	$Y=430.0X-148.4$	0.9999	1.18	10.2	88.8	91.4	91.4	12.9	4.8	3.7
34	$Y=2187.1X+328.9$	1.0000	1.10	6.1	104.0	97.9	97.2	2.7	3.2	1.6
35	$Y=1019.1X-7.9$	1.0000	1.20	12.0	96.0	92.7	90.9	7.4	3.9	1.0
36	$Y=3196.6X+476.8$	1.0000	1.21	9.1	104.0	102.6	101.0	4.3	1.3	1.0
37	$Y=2890.8X-1307.2$	0.9995	1.12	10.0	104.8	94.6	94.4	4.4	2.7	1.0
38	$Y=383.5X-167.9$	0.9998	1.18	15.1	98.4	91.4	93.7	3.9	4.3	2.2
39	$Y=1048.0X-706.0$	0.9997	1.18	10.8	96.8	101.8	98.3	3.1	1.6	0.7
40	$Y=1346.4X+313.6$	0.9999	1.14	9.8	96.8	98.3	91.0	10.5	2.1	3.3
41	$Y=2366.6X+286.7$	1.0000	1.15	10.0	109.6	102.6	97.9	6.0	1.8	2.4
42	$Y=206.9X-51.3$	1.0000	1.07	2.3	95.2	90.5	88.6	4.4	5.5	3.0
43	$Y=350.0X-52.8$	0.9998	1.15	10.1	104.8	102.6	107.6	3.5	2.6	2.6
44	$Y=1606.2X-1177.4$	0.9997	1.18	10.2	101.2	92.6	93.0	4.1	2.6	1.9
45	$Y=1596.9X+130.9$	1.0000	1.17	9.2	95.2	89.6	86.4	5.7	3.6	3.2
46	$Y=872.1X-207.01$	0.9999	1.12	6.4	105.2	102.1	102.4	3.4	3.3	1.3
47	$Y=383.95X-85.639$	1.0000	1.15	8.6	97.2	87.3	77.6	8.4	2.8	3.0
48	$Y=1585.4X-384.26$	1.0000	1.16	9.8	97.2	96.0	97.6	3.4	2.4	2.4
49	$Y=522.77X-198.34$	1.0000	1.19	12.9	98.0	93.2	89.4	7.1	1.9	2.6
50	$Y=1508.6X-88.784$	1.0000	1.07	4.2	102.0	97.3	95.3	2.0	3.1	2.2
51	$Y=616.14X-175.43$	1.0000	1.12	13.3	99.2	95.4	92.5	6.6	3.8	2.3
52	$Y=553.34X-69.146$	0.9997	1.18	12.7	106.0	98.1	91.1	7.1	3.0	3.0
53	$Y=2590X-1778.4$	0.9996	1.13	7.1	95.2	91.9	93.2	3.2	2.4	2.2
54	$Y=1536.5X+42.967$	1.0000	1.09	8.9	101.2	93.4	93.7	4.6	2.1	2.3
55	$Y=10798X-106.45$	1.0000	1.06	8.5	102.8	95.5	97.6	3.2	1.9	1.3
56	$Y=5559.4X-380.64$	0.9998	1.17	12.1	104.8	99.7	103.4	5.5	1.8	1.1

表2(续)

编号	线性方程	相关系数 (r^2)	基质效应($n=3$)		回收率/%			相对标准偏差/%		
			MEF*	RSD%	0.01 mg/kg	0.05 mg/kg	0.10 mg/kg	0.01 mg/kg	0.05 mg/kg	0.10 mg/kg
57	$Y=3072.1X+564.76$	0.9998	1.17	5.9	98.4	92.7	93.0	2.6	3.0	2.3
58	$Y=664.36X-136.66$	0.9997	1.17	16.0	104.8	90.4	93.8	7.9	1.9	2.3
59	$Y=837.29X-360.32$	0.9996	1.17	14.0	94.0	89.4	92.0	7.5	4.9	3.6
60	$Y=174.63X-142.21$	0.9986	1.15	9.9	105.2	95.0	98.6	8.0	5.0	2.8
61	$Y=2200.8X-887.35$	0.9998	1.20	9.2	98.8	94.7	94.2	4.2	0.9	2.1
62	$Y=2483.9X-58.253$	1.0000	1.15	11.0	110.0	100.1	101.2	5.0	2.2	1.8
63	$Y=4139X-227.03$	1.0000	1.14	11.2	100.4	92.4	94.5	3.6	1.5	2.0
64	$Y=4396.7X+1394.1$	0.9993	1.22	9.3	105.6	100.2	97.8	4.9	1.2	1.3
65	$Y=104.69X+38.699$	0.9991	1.68	12.3	82.8	102.2	103.6	10.4	5.7	6.8
66	$Y=963.22X-608.93$	0.9997	1.18	10.1	105.2	99.5	102.2	5.5	2.7	1.9
67	$Y=467.01X+30.173$	0.9996	1.12	10.0	85.6	91.4	89.6	13.2	3.7	3.2
68	$Y=249.13X-221.72$	0.9989	1.23	14.9	96.4	91.9	92.8	24.0	8.8	3.4
69	$Y=196.57X+69.965$	0.9993	1.19	18.7	90.4	88.9	89.4	28.9	7.8	6.1
70	$Y=1889.5X-183.49$	1.0000	1.17	15.0	98.4	93.5	99.4	4.4	2.1	2.5
71	$Y=1287X-750.41$	1.0000	1.20	9.5	96.0	90.0	84.0	6.8	2.9	2.7
72	$Y=2565.2X-366.06$	0.9998	1.13	11.2	101.6	97.4	91.6	3.8	1.4	1.4
73	$Y=1418.9X-430.13$	0.9999	1.21	10.0	104.8	98.5	100.8	4.6	1.2	1.9
74	$Y=196.51X-105.06$	0.9999	1.15	8.4	103.2	91.5	94.8	20.4	6.8	5.8
75	$Y=724.25X+121.43$	1.0000	1.13	10.1	110.0	96.2	97.3	11.7	5.8	2.0
76	$Y=659.05X-289.45$	0.9995	1.19	8.9	90.8	89.4	91.6	8.6	3.7	1.6
77	$Y=109.52X-82.006$	0.9987	1.21	12.0	100.4	97.9	95.7	28.6	4.5	13.8
78	$Y=2482.3X-1240.6$	0.9996	1.19	11.3	101.2	97.8	101.6	3.0	3.1	1.9
79	$Y=691.02X-46.518$	0.9999	1.17	8.0	101.0	93.8	94.1	10.3	3.4	1.9
80	$Y=3081.1X-2248.8$	0.9995	1.19	8.1	102.0	97.7	101.4	3.7	1.8	1.3
81	$Y=645.77X-22.502$	0.9999	1.06	6.3	84.0	79.0	86.1	6.7	2.8	2.0
82	$Y=288.71X-36.231$	0.9998	1.22	14.3	100.0	98.0	101.3	11.3	4.5	2.5
83	$Y=920.64X-211.74$	0.9999	1.21	11.8	99.2	96.3	100.9	2.7	2.1	2.4
84	$Y=4788.2X+2345.2$	0.9999	1.18	12.1	102.4	99.0	98.9	2.1	2.2	1.5
85	$Y=433.72X-326.05$	0.9997	1.21	13.9	88.4	98.7	104.0	9.8	2.1	3.7
86	$Y=4899.1X-748.55$	0.9999	1.19	10.2	101.6	101.0	100.6	2.6	1.6	1.4
87	$Y=604.37X-85.077$	0.9998	1.17	9.6	101.2	93.4	93.6	1.8	2.7	1.3
88	$Y=1319X-980.9$	0.9992	1.22	10.0	95.6	92.6	94.6	3.7	4.0	0.9
89	$Y=2436.9X+2256.3$	0.9994	1.07	12.1	95.2	92.7	88.2	1.9	5.0	2.2
90	$Y=1449.7X+2112.5$	0.9999	1.16	12.2	118.4	102.6	93.7	10.6	6.6	1.5
91	$Y=2139.1X+715.59$	1.0000	1.12	9.6	103.6	93.0	90.3	3.4	4.6	3.4
92	$Y=2876.2X+464.69$	0.9999	1.45	11.1	101.2	93.0	94.4	3.8	2.9	2.8
93	$Y=2209.5X+1381.3$	0.9999	1.16	12.2	106.0	101.1	95.6	2.7	1.6	1.6
94	$Y=8812.1X-1583.5$	0.9999	1.17	13.0	100.8	96.2	96.6	3.0	3.2	2.0
95	$Y=88.266X-199.4$	0.9992	1.30	12.8	89.6	91.6	95.0	15.2	5.6	7.2
96	$Y=962.37X-50.009$	0.9997	1.22	14.0	101.6	99.0	99.3	3.5	4.1	1.0
97	$Y=483.32X+113.5$	0.9999	1.23	14.7	102.8	96.6	97.5	2.2	2.8	1.7
98	$Y=85.053X-59.094$	0.9999	1.12	8.8	106.4	93.3	81.9	9.5	2.8	2.6
99	$Y=766.17X-197.19$	1.0000	1.11	8.2	104.4	96.8	101.4	4.6	2.2	2.7
100	$Y=500.26X-150.59$	0.9999	1.16	14.1	97.6	97.1	97.2	4.9	3.0	1.6

注: *MEF=Cm/Cs, MEF: 基质效应因子(matix effect factor); Cm: 空白基质中目标化合物的浓度; Cs: 溶剂中目标化合物的浓度。

2.4 回收率及精密度实验

向不含待测农药的葡萄样品中加入 100 种化合物的标准溶液, 分别制备成 0.01、0.05、0.10 mg/kg 3 种浓度的添加样品, 每个浓度 5 个平行。按 1.2.2 方法进行前处理, 并采用基质匹配标准溶液外标法定量。结果见表 2, 100 种化合物的回收率均在 77.6%~118.4%之间, 相对标准偏差为 0.3%~28.9%, 满足农药多残留分析的要求。同时, 方法最低添加浓度 0.01 mg/kg, 符合 GB 2763—2019 中对葡萄最大残留限量值的严格要求。

2.5 基质效应

在农药残留前处理后依然保留在分析液中的其他物质, 可能会对目标化合物的响应产生很大影响^[19]。因此, 本研究还对基质效应进行了考察, 用乙腈和不含目标化合物的葡萄样品提取液配制等浓度的标液, 各连续进样 3 针。结果显示, 灭多威等 81 种化合物表现为弱基质效应 ($0.8 \leq \text{MEF} \leq 1.2$), 啉菌环胺等 15 种化合物表现为中等强度基质效应 ($0.5 < \text{MEF} < 0.8$ 或 $1.2 < \text{MEF} < 1.5$), 多菌灵等 4 种化合物表现为强基质效应 ($\text{MEF} \leq 0.5$ 或 $1.5 \leq \text{MEF}$)。为保证检测结果的准确度, 在实际样品的检测过程中, 当检测多菌灵等 19 种化合物时, 为了消除基质效应对检测结果的影响, 需要使用基质匹配标准溶液定量。

2.6 实际样品测定

对 2020 年度检测的 564 件葡萄样品的测定结果进行了分析, 其中啉菌酯(87.9%)、苯醚甲环唑(76.8%)、多菌灵(72.7%)、啉霉胺(69.7%)、吡唑醚菌酯(67.4%)、戊唑醇(66.0%)、啉酰菌胺(60.5%)、烯酰吗啉(54.8%)、肟菌酯(48.9%) 9 种农药检出率较高, 这 9 种农药也是葡萄生产栽培过程中用于防治霜霉病、白粉病、炭疽病、灰霉病等常见病害的主要登记农药品种^[20], 检出率高的农药均为杀菌剂也符合葡萄生产过程中病害重于虫害的实际情况。

3 结 论

本研究采用 QuEChERS 前处理技术, 与超高效液相色谱-串联质谱法相结合, 建立了葡萄中 100 种农药及其代谢物的准确、快速、高效的分析方法, 适用于葡萄产品的监测工作, 具有较高的实际应用价值。564 件实际样品的检测结果显示, 我国葡萄产品的农药残留问题比较突出, 需要在加强监管的同时, 调整生产模式, 科学合理地使用农药。

参考文献

- [1] 张正炜, 陈秀, 黄兰淇, 等. 我国葡萄农药登记现状及绿色食品生产适用分析[J]. 中国果树, 2020, (2): 126–129.
ZHANG ZW, CHEN X, HUANG LQ, *et al.* Current situation of grape pesticide registration in China and application analysis of green food

production [J]. China Fruits, 2020, (2): 126–129.

- [2] 李红阳, 陈志谊, 周加春, 等. 设施栽培葡萄田间及保鲜期主要病害的发生与危害[J]. 现代农业科技, 2010, (20): 187–189, 191.
LI HY, CHEN ZY, ZHOU JC, *et al.* Occurrence and harm of main diseases in the field and fresh-keeping period of protected grapes [J]. Mod Agric Sci Technol, 2010, (20): 187–189, 191.
- [3] 杨璐嘉, 初炳瑶, 邓杰, 等. 宁夏葡萄霜霉病菌致病型鉴定及葡萄品种抗性评价[J]. 植物保护学报, 2020, 47(6): 1321–1332.
YANG LJ, CHU BY, DENG J, *et al.* Pathotype identification of downy mildew pathogen *Plasmopara viticola* and evaluation of variety resistance in Ningxia [J]. Acta Phytophy Sin, 2020, 47(6): 1321–1332.
- [4] 段盼, 杜飞, 胡昌雄, 等. 避雨栽培葡萄上蓟马发生动态及常用杀虫剂对优势种的毒力测定[J]. 植物保护, 2021, 47(1): 265–272.
DUAN P, DU F, HU CX, *et al.* Dynamics of thrips on grapes in rain-shelter cultivation greenhouse and toxicity of commonly used insecticides against dominant thrip species [J]. Plant Prot, 2021, 47(1): 265–272.
- [5] BAKIRCI GT, HISIL Y. Fast and simple extraction of pesticide residues in selected fruits and vegetables using tetrafluoroethane and toluene followed by ultrahigh-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Food Chem, 2012, 135(3): 1901–1913.
- [6] 赵珊珊, 李敏敏, 肖欧丽, 等. 葡萄及其制品中农药残留现状及检测方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(18): 6639–6655.
ZHAO SS, LI MM, XIAO OL, *et al.* Research progress on the status and detection methods of pesticide residues in grapes and their products [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(18): 6639–6655.
- [7] 王娇, 齐沛沛, 刘之炜, 等. 液相色谱-串联质谱法分析葡萄中农药残留的基质效应评价[J]. 浙江农业科学, 2018, 59(10): 1750–1753, 1759.
WANG J, QI PP, LIU ZW, *et al.* Evaluation of matrix effect on the analysis of pesticide residues in grapes by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Zhejiang Agric Sci, 2018, 59(10): 1750–1753, 1759.
- [8] 孟志娟, 孙文毅, 赵丽敏, 等. 气相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱快速筛查农产品中 70 种农药残留[J]. 分析化学, 2019, 47(8): 1227–1243.
MENG ZJ, SUN WY, ZHAO LM, *et al.* Rapid screening of 70 kinds of pesticide residues in agricultural products by gas chromatography-electrostatic field orbit trap high resolution mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2019, 47(8): 1227–1243.
- [9] 田菲菲, 张曦, 马金凤, 等. 气相色谱-串联质谱法同时分析葡萄基质中 196 种农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(3): 1069–1081.
TIAN FF, ZHANG X, MA JF, *et al.* Simultaneous analysis of 196 pesticide residues in grape matrix using gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(3): 1069–1081.
- [10] 兰岚, 周恒, 李雯婷, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定葡萄中 388 种农药残留[J]. 食品工业科技, 2019, 40(21): 256–261, 267.
LAN L, ZHOU H, LI WT, *et al.* Determination of 388 kinds of pesticide residues in grape by QuEChERS/UPLC-MS/MS [J]. Sci Technol Food Ind, 2019, 40(21): 256–261, 267.
- [11] 陈勇达, 张嘉坤, 郑振山, 等. 吡唑醚菌酯、氟霜唑在葡萄中的残留及消解规律研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(6): 1758–1765.
CHEN YD, ZHANG JK, ZHENG ZS, *et al.* Residue and decline dynamics of pyraclostrobin and cyazofamid in grape [J]. J Food Saf Qual, 2020,

- 11(6): 1758–1765.
- [12] ZHANG XZ, ZHAO YC, CUI XY, *et al.* Application and enantiomeric residue determination of diniconazole in tea and grape and apple by supercritical fluid chromatography coupled with quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1581–1582: 144–155.
- [13] KASPERKIEWICZ A, PAWLISZYN J. Multiresidue pesticide quantitation in multiple fruit matrices via automated coated blade spray and liquid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2021, 339: 127815.
- [14] GOLGE, OZGUR, KABAK, *et al.* Pesticide residues in table grapes and exposure assessment [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(7): 1701–1713.
- [15] SCHUSTEROVA D, HAJLSLOVA J, KOCOUREK V, *et al.* Pesticide residues and their metabolites in grapes and wines from conventional and organic farming system [J]. *Foods*, 2021, 10(2): 307.
- [16] 绳慧珊, 张新忠, 王新茹, 等. 飞行时间质谱技术在水果、蔬菜与茶叶中农药残留分析中的应用[J]. *分析测试学报*, 2018, 37(2): 139–153.
SHENG HS, ZHANG XZ, WANG XR, *et al.* Applications of time of flight mass spectrometry in analysis on pesticide residues in fruits, vegetables and tea [J]. *J Instrum Anal*, 2018, 37(2): 139–153.
- [17] 吴延灿, 戚传勇, 操海群, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定香菇中 56 种农药残留[J]. *农药学报*, 2018, 20(1): 58–66.
WU YC, QI CY, CAO HQ, *et al.* Determination of 56 pesticides in *Lentinus edodes* using QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Pestic Sci*, 2018, 20(1): 58–66.
- [18] LEHOTAY S. AOAC official method 2007.01 pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate [J]. *J AOAC Int*, 2007, 90(2): 485–520.
- [19] TAYLOR PJ. Matrix effects: The Achilles heel of quantitative high performance liquid chromatography electrospray-tandem mass spectrometry [J]. *Clin Biochem*, 2005, 38: 328–334.
- [20] 中国农药信息网. 农药登记查询[EB/OL]. <http://www.chinapesticide.org.cn/hysj/index.jhtml> [2021-03-02].
China Pesticide information network. Pesticide registration data [EB/OL]. <http://www.chinapesticide.org.cn/hysj/index.jhtml> [2021-03-02].

(责任编辑: 张晓寒 郑丽)

作者简介



苏漪玲, 助理农艺师, 主要研究方向为农产品质量与安全。

E-mail: 673794615@qq.com



戚传勇, 研究员, 主要研究方向为农产品质量与安全。

E-mail: qichuany@126.com