

QuEChERS-液相色谱-串联质谱法测定大米中 14种琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂残留量

李巧莲¹, 袁 帅¹, 罗景阳¹, 蒋孝妍², 王岩松^{1*}, 李 娇¹, 刘 鑫¹, 张承昕¹, 李志远³

(1. 沈阳市食品药品检验所, 沈阳 110124; 2. 沈阳农业大学食品学院, 沈阳 110866;

3. 上海爱博才思分析仪器贸易有限公司, 北京 100015)

摘 要: **目的** 建立 QuEChERS-液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)测定大米中 14 种琥珀酸脱氢酶抑制剂(succinate dehydrogenase inhibitor, SDHI)类杀菌剂(氟吡菌酰胺、吡唑菌胺、萎锈灵、联苯吡菌胺、吡唑萘菌胺、氟唑环菌胺、氟唑菌苯胺、氟苯吡菌胺、呋吡菌胺、氟酰胺、氟啶酰菌胺、氟吡菌酰胺-苯甲酰胺、甲呋酰胺、噻呋酰胺)残留的分析方法。**方法** 样品经乙腈提取后, 用 QuEChERS 法净化浓缩, Symmetry C₁₈ 色谱柱(150 mm×2.1 mm, 3.5 μm)分离, 在碰撞能量为(35±15) eV 条件下, 采用多级反应监测触发增强子离子扫描模式(multiple reaction monitoring-information dependent acquisition-enhanced product ion, MRM-IDA-EPI)进行定性分析并建立增强子离子扫描谱库, LC-MS/MS 外标法定量。**结果** 该方法具有较高的灵敏度, 14 种 SDHI 类杀菌剂的定量限为 0.10 μg/kg; 在 0.05~5.00 μg/L 质量浓度范围, 线性相关系数大于等于 0.99936, 平均回收率在 82.5%~108.3%之间, 相对标准偏差在 2.1%~11.9%之间。**结论** 该方法前处理过程简便、灵敏度高, 通过谱库比对, 定性准确性大大提高, 适用于大米中 SDHI 类杀菌剂残留的定性定量分析。

关键词: QuEChERS; 液相色谱-串联质谱法; 琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂; 多级反应监测触发增强子离子扫描模式; 大米

Determination of 14 kinds of succinate dehydrogenase inhibitor fungicides in rice by QuEChERS-liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LI Qiao-Lian¹, YUAN Shuai¹, LUO Jing-Yang¹, JIANG Xiao-Yan², WANG Yan-Song^{1*},
LI Jiao¹, LIU Xin¹, ZHANG Cheng-Xin¹, LI Zhi-Yuan³

(1. Shenyang Food and Drug Inspection Institute, Shenyang 110124, China; 2. College of Food Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China; 3. Shanghai AB Sciex Analytical Instrument Trading Co., Ltd., Beijing 100015, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 14 kinds of succinate dehydrogenase inhibitor (SDHI) fungicides (fluopyram, penthiopyrad, carboxin, bixafen, isopyrazam, sedaxane, penflufen, fluxapyroxad, furametpyr, flutolanil, fluopicolide, fluopyram-benzamide, fenfuram, thifluzamide) in rice by

基金项目: 国家市场监督管理总局科技计划项目(2020MK134)

Fund: Supported by the Science and Technology Program of the State General Administration of Market Supervision and Administration (2020MK134)

***通信作者:** 王岩松, 高级工程师, 主要研究方向为食品中多种有机污染物检测方法研究。E-mail: wys5715@126.com

***Corresponding author:** WANG Yan-Song, Senior Engineer, Shenyang Food and Drug Inspection Institute, Shenyang 110124, China. E-mail: wys5715@126.com

QuEChERS-liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Methods** After extracted by acetonitrile, the samples were purified and concentrated by QuEChERS method, separated by Symmetry C₁₈ column (150 mm×2.1 mm, 3.5 μm), under the condition of collision energy of (35±15) eV, qualitative and quantitative analysis were carried out using predictive multiple reaction monitoring-information dependent acquisition-enhanced product ion (MRM-IDA-EPI) scanning, and the enhanced product ion spectrum library was established and quantified by LC-MS/MS with external standard method. **Results** The method had high sensitivity, the limits of quantification of 14 kinds of SDHI fungicides were 0.10 μg/kg, and the linear correlation coefficients were greater than or equal to 0.99936 respectively in the mass concentration range of 0.05–5.00 μg/L. The average recoveries were 82.5% to 108.3%, and the relative standard deviations were 2.1%–11.9%. **Conclusion** This method is pretreatment process simple and sensitive, through the comparison of spectrum library, and greatly improves the qualitative accuracy, this method suitable for qualitative and quantitative analysis of SDHI bactericide residues in rice.

KEY WORDS: QuEChERS; liquid chromatography-tandem mass spectrometry; succinate dehydrogenase inhibitor fungicides; multiple reaction monitoring-information dependent acquisition-enhanced product ion; rice

0 引言

琥珀酸脱氢酶抑制剂(succinate dehydrogenase inhibitor, SDHI)是继三唑类和甲氧基丙烯酸酯类之后的第三大类杀菌剂。SDHI 类杀菌剂主要化学结构包含羧酸片段、酰胺键和胺片段^[1-2], 是一类通过抑制病原菌的呼吸链电子传递系统, 阻断能量代谢, 从而抑制病原菌的生长, 导致其死亡的杀菌剂^[3-6]。SDHI 类杀菌剂可用于防治多种农作物的真菌病害, 如小麦锈病、小麦白粉病、水稻纹枯病和玉米赤霉病等^[7-8]。随着杀菌剂使用的日益广泛, 杀菌剂的残留对农产品质量安全造成的影响备受关注。本方法对大米中 14 种 SDHI 类杀菌剂残留量进行研究, 其中氟唑菌苯胺、吡唑菌胺、氟啶酰菌胺和氟吡菌酰胺-苯甲酰胺在 GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》中未制定最大残留限量, 而氟吡菌酰胺、吡唑菌胺、联苯吡菌胺、吡唑萘菌胺、氟唑环菌胺和氟苯吡菌胺仅提供了临时限量并且无国家标准检测方法; GB 23200.9—2016《食品安全国家标准 粮谷中 475 种农药及相关化学品残留量测定 气相色谱-质谱法》中仅涉及了噁唑酰胺、萎锈灵、甲唑酰胺和氟酰胺 4 种 SDHI 类杀菌剂, 但是定量限较高, 无法实现大米中多种 SDHI 类杀菌剂残留痕量分析的目的。因此, 有必要建立大米中 SDHI 类杀菌剂检测标准方法, 为部分杀菌剂残留量的监测提供科学准确的技术手段, 通过数据积累和分析为残留限量的制定提供参考依据。

分散固相萃取方法(quick, easy, cheap, effective, rugged and safe, QuEChERS)于 2003 年由美国 Steven 提出^[9], 是一种快速、简捷、廉价、有效、可靠、安全的前处理方法, 已经广泛应用于食品中农兽药残留的检测^[10-14]。目前可购买的 QuEChERS 净化管是针对果蔬和肉制品配比的净化剂, 无法满足本研究的需要。目前国内外报道的 SDHI 类杀菌剂

的检测方法有气相色谱法^[15]、气相色谱-串联质谱法^[16-20]、液相色谱法^[21]和液相色谱-串联质谱法^[22-25]等。研究者多采用液相色谱-串联质谱法探索果蔬中的杀菌剂残留量^[26-28], 关于大米的研究^[29-30]较少, 且气相色谱法、气相色谱-串联质谱法和液相色谱法皆存在一些局限性, 所制定的杀菌剂定量限较高, 无法实现痕量定性分析。

为排除基质干扰, 提高检测准确性, 降低假阳性和假阴性的误判几率, 本研究采用自制 QuEChERS 净化管前处理方法与液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)技术结合, 利用质谱线性离子阱, 通过多级反应监测触发增强子离子扫描模式(multiple reaction monitoring-information dependent acquisition-enhanced product ion, MRM-IDA-EPI)采集模式建立增强子离子扫描(enhanced product ion, EPI)谱库, 进行谱库对比^[31], 同时分析大米中 14 种 SDHI 类杀菌剂的残留量, 为大米中 SDHI 类杀菌剂的使用、监管提供技术及数据支持。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与材料

QTRAP 4500 串联质谱仪(美国应用生物系统公司); LC 20A 液相色谱仪(日本岛津公司); BS244S 电子天平(感量 0.001 g, 德国赛多利斯科学仪器有限公司); BJ-1000A 多功能粉碎机(德清拜杰电器有限公司); MS200 多管涡旋混匀仪(杭州瑞诚仪器有限公司); H1750R 离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司); Milli-Q 型超纯水系统(美国 Millipore 公司); 0.22 μm 有机相滤膜(上海安谱实验科技股份有限公司); Symmetry C₁₈ 色谱柱(150 mm×2.1 mm, 3.5 μm)(美国 Waters 公司)。

标准物质氟吡菌酰胺、吡唑菌胺、萎锈灵、联苯吡菌

胺、吡唑萘菌胺、氟苯吡菌胺、呋吡菌胺、氟酰胺、氟吡菌酰胺-苯甲酰胺(纯度≥99.9%, 德国 DR.Ehrenstorfer 公司); 氟唑环菌胺(1000 μg/mL, 北京 Bepure 公司); 氟唑菌苯胺(100 μg/mL, 天津阿尔塔公司); 氟啶酰菌胺、噁唑酰菌胺(纯度≥99.8%)、甲呋酰胺(1000 μg/mL)、无水硫酸镁(MgSO₄)、乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶(primary secondary amine, PSA)、石墨化碳黑(graphitized carbon black, GCB)、HC-C₁₈ 超洁净填料(上海安谱实验科技股份有限公司); 甲醇、乙腈(色谱纯, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 甲酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 实验室用水为高纯水。

样品购自沈阳市超市。

1.2 实验方法

1.2.1 样品前处理

用粉碎机将 500 g 大米样品打磨成粉, 过 425 μm 的标准网筛, 得到均质样品后称量。

称取 5.00 g 样品于 50 mL 尖底离心管中, 加入 10 mL 乙腈, 1800 r/min 涡旋提取 5 min, 1000 r/min 离心 3 min, 取上清液。重复上述提取过程一次, 合并混匀上清液。取出 4 mL 上清液于 15 mL 尖底离心管中, 分别加入 1000 mg 无水 MgSO₄、200 mg PSA、50 mg HC-C₁₈、20 mg GCB, 1800 r/min 涡旋净化 5 min, 1000 r/min 离心 3 min, 取 2 mL 上清液氮吹近干, 加入 1 mL 乙腈, 经 0.22 μm 有机相滤膜过滤, 待测。若阳性样品浓度超出线性范围则用乙腈稀释后再测。

1.2.2 标准溶液的配制

分别准确称取氟吡菌酰胺、吡唑萘菌胺、萎锈灵、联苯吡菌胺、吡唑萘菌胺、氟苯吡菌胺、呋吡菌胺、氟酰胺、

氟吡菌酰胺-苯甲酰胺、氟啶酰菌胺、噁唑酰菌胺标准物质 0.0100 g, 置于 100 mL 容量瓶中, 甲醇溶解定容, 混匀, 配制成 100 μg/mL 的标准储备溶液, -18 °C 避光保存。精密量取 11 种 SDHI 类杀菌剂标准储备溶液 100.0 μL、氟唑菌苯胺标准溶液 100.0 μL 和氟唑环菌胺、甲呋酰胺标准溶液 10.0 μL, 置于 100 mL 容量瓶中, 甲醇定容, 配制成 100 ng/mL 混合中间溶液, -18 °C 避光保存。

1.2.3 液相色谱条件

Symmetry C₁₈ 色谱柱(150 mm×2.1 mm, 3.5 μm); 流动相 A 为 0.1% 的甲酸水, B 为甲醇; 线性梯度洗脱程序: 0~1 min 为 10% B, 1~3 min 由 10% B 变为 75% B, 3~9 min 由 75% B 变为 95% B, 9~10 min 保持 95% B, 10~11 min 由 95% B 变为 10% B, 11~12 min 保持 10% B。流速: 0.4 mL/min; 柱温: 40 °C; 进样体积 10 μL。

1.2.4 质谱条件

电喷雾离子源(electron spray ionization, ESI), 正负离子同时扫描; 电喷雾电压(ionspray voltage, IS): 5500 V 和 -4500 V; 雾化气压力: 65 psi (1 psi=6894.76 Pa); 气帘气压力: 30 psi; 辅助气压力: 65 psi; 离子源温度: 650 °C。碰撞气体在多级反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式下设定为中等, 在 EPI 模式下设定为高级, 当 MRM 信号大于信息相关采集(information dependent acquisition, IDA)设定的阈值 10000 cps 时同时启动线性离子阱的 EPI 功能。EPI 扫描参数: 扫描范围为 50~600 Da, 扫描速率为 10000 amu/s, 碰撞能量为(35±15) eV。定性离子对、定量离子对、碰撞气能量(collision energy, CE)及去簇电压(decustering potential, DP)见表 1。

表 1 14 种杀菌剂的质谱参数
Table 1 MS/MS parameters of 14 kinds of fungicides

序号	化合物	CAS	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	去簇电压/V	碰撞气能量/eV
1	氟吡菌酰胺	658066-35-4	397.2	208.0*, 173.1	80	30.0, 38.0
2	吡唑萘菌胺	183675-82-3	360.1	276.1*, 256.1	85	21.0, 29.0
3	萎锈灵	5234-68-4	236.1	143.0*, 208.1	85	23.0, 21.0
4	联苯吡菌胺	581809-46-3	414.2	394.0*, 266.0	95	22.0, 38.0
5	吡唑萘菌胺	881685-58-1	360.3	244.0*, 258.1	104	36.0, 29.0
6	氟唑环菌胺	874967-67-6	332.1	159.0*, 292.2	90	31.0, 17.0
7	氟唑菌苯胺	494793-67-8	318.2	234.1*, 141.1	110	23.0, 43.0
8	氟苯吡菌胺	907204-31-3	382.1	341.9*, 361.9	85	29.7, 20.3
9	呋吡菌胺	123572-88-3	334.1	290.0*, 315.9	90	24.2, 22.2
10	氟酰胺	66332-96-5	323.9	261.8*, 282.0	75	27.5, 20.0
11	氟啶酰菌胺	239110-15-7	385.0	174.7*, 367.0	77	32.8, 22.7
12	氟吡菌酰胺-苯甲酰胺	360-64-5	189.8	170.0*, 150.0	34	14.8, 20.0
13	甲呋酰胺	24691-80-3	202.0	109.0*, 120.0	70	28.9, 21.7
14	噁唑酰菌胺	130000-40-7	526.6	165.9*, 359.6	-82.6	-29.1, -23.4

注: *为定量离子。

1.2.5 数据处理

采集到的数据使用 Sciex OS 进行定性定量分析; 样品分析时, 每个化合物以其 EPI 谱图在谱库检索中的匹配度进行定性; 以基质匹配曲线定量。

2 结果与分析

2.1 液相色谱条件的优化

本研究比较了乙腈-水和甲醇-水为流动相对 14 种化合物的分离效果的影响。以甲醇为有机相时, 14 种化合物均获得较好的色谱峰, 峰形尖锐对称, 出峰附近未出现明显的干扰峰, 且质谱响应较高。进一步考察了在水相中添加不同比例的甲酸(0、0.1%、0.2%、0.3%和 0.5%)对质谱信号的影响。蠕动泵直接注射 14 种化合物混合中间液, 流速为 10 $\mu\text{L}/\text{min}$, 同时加载流速 0.4 mL/min 的初始比例流动相。实验结果表明, 水相中添加 0.1% 甲酸时, 大部分化合物

质谱信号明显增加。但是随着甲酸比例的增大, 噻唑酰胺的质谱信号呈明显下降趋势。因为正离子扫描时, 酸性条件下化合物易于获取一个 H^+ 形成 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 的分子离子峰, 而噻唑酰胺为负离子扫描, H^+ 过多会抑制噻唑酰胺的质谱响应。因此综合考虑, 实验选用甲醇-0.1% 甲酸水作为流动相。优化流动相的比例, 14 种化合物在 12 min 内出峰效果良好。图 1 为空白大米中添加多种杀菌剂的 MRM 色谱图(0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。

2.2 质谱条件的优化

本研究尝试正负离子扫描方式确定化合物的分子离子峰, 其中 13 种化合物正离子扫描出现了明显的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 分子离子峰, 噻唑酰胺在负离子全扫描时出现了明显的 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 分子离子峰。因此本研究选择正负离子同时扫描的方式。通过调节碰撞能 CE 打碎母离子, 形成子离子碎片, 子离子扫描确定化合物的子离子碎片。选择丰度最高、干扰最小的子离子与母离子组成定量离子对。根据欧盟

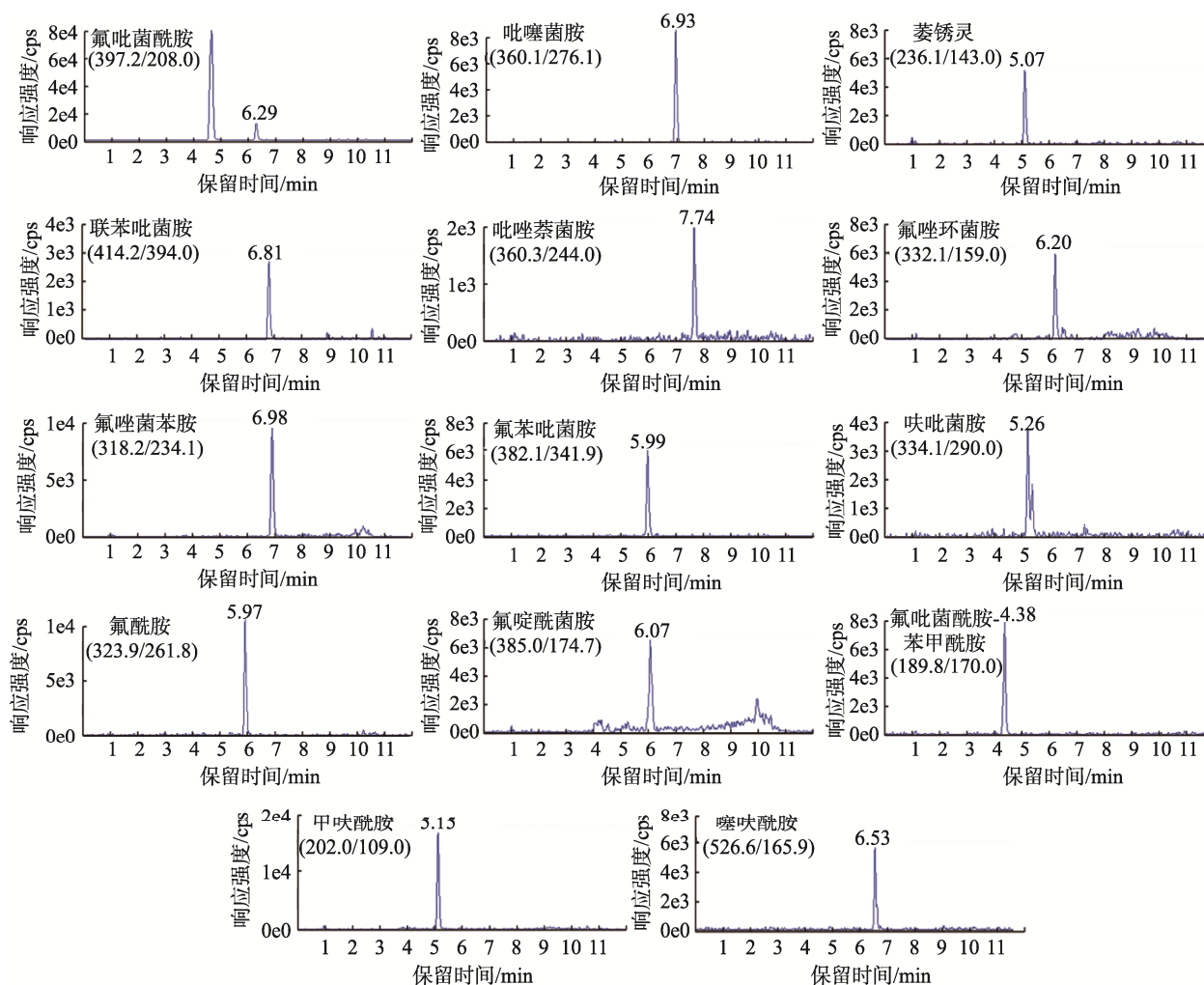


图 1 14 种杀菌剂 MRM 色谱图(0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

Fig.1 MRM chromatograms of 14 kinds of fungicides (0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

2020/657/EC 法案的规定, 母离子鉴别点数为 1, 子离子鉴别点数为 1.5, 低分辨质谱确证识别点数至少为 4, 本实验每种化合物选择 1 个母离子和 2 个子离子, 识别点即满足检测要求。优化各离子对的质谱参数碰撞能、去簇电压、雾化气压力、辅助气压力、离子源温度等。化合物的最佳质谱条件见表 1。

本研究采用 MRM-IDA-EPI 采集模式, 设定 IDA 阈值 10000 cps, MRM 信号高于阈值, 触发 EPI 扫描, 在线采集

EPI 图谱, 建立 EPI 谱图库, 用于阳性样品的定性及化合物的结构分析。该扫描模式具有 MRM 灵敏度高、选择性强、定量精准的优点, 同时又增强了目标化合物的定性和结构解析功能, 减少分析步骤, 缩短分析时间。设定碰撞能量范围, 比较碰撞能(30±10)、(30±15)、(30±20)、(35±10)、(35±15)、(35±20) eV 的条件, 其中当碰撞能量为(35±15) eV 时, 获得 14 种杀菌剂的最佳 EPI 谱图, 并建立谱库。图 2 为谱图库中 14 种杀菌剂的 EPI 谱图。

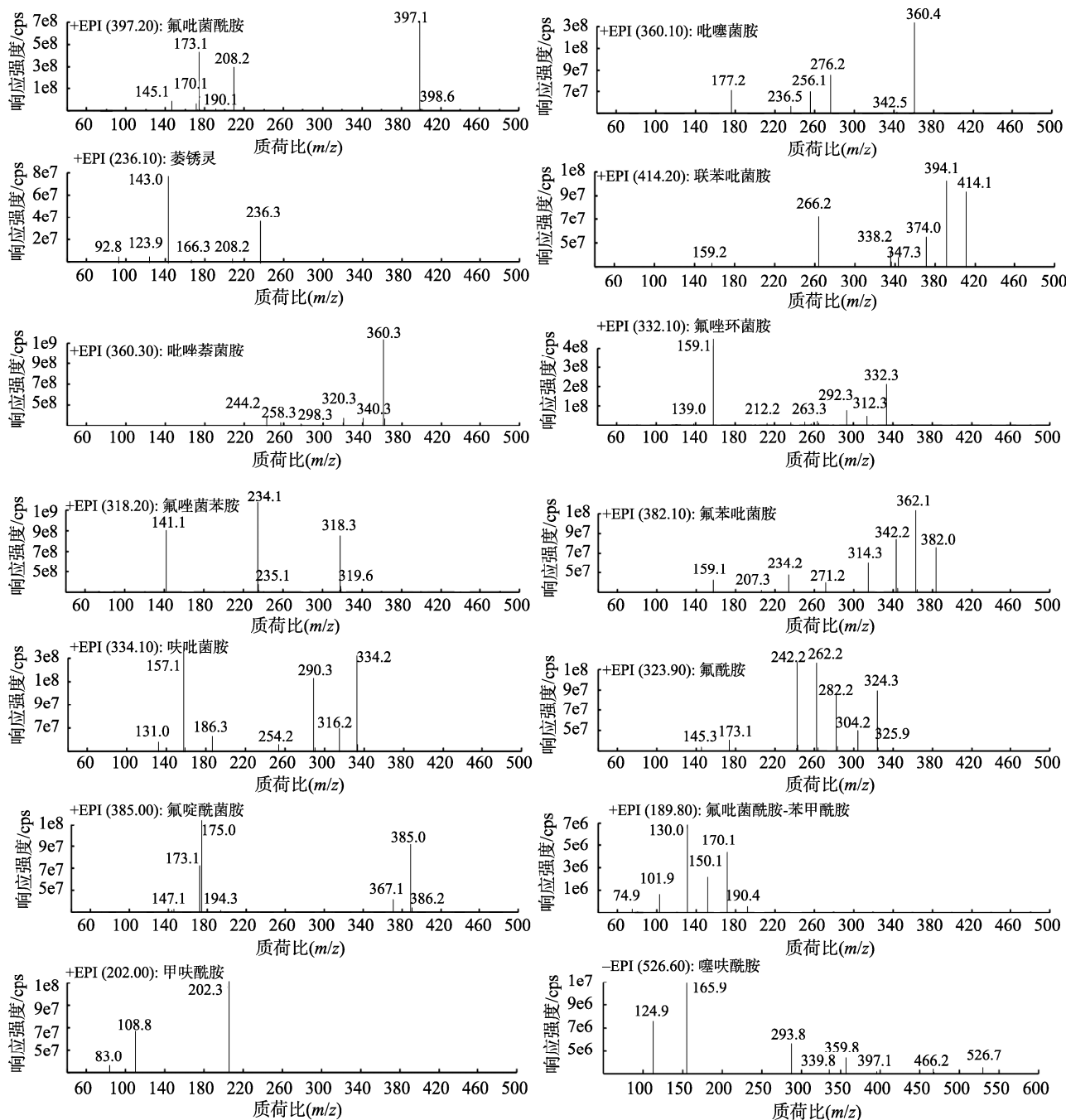


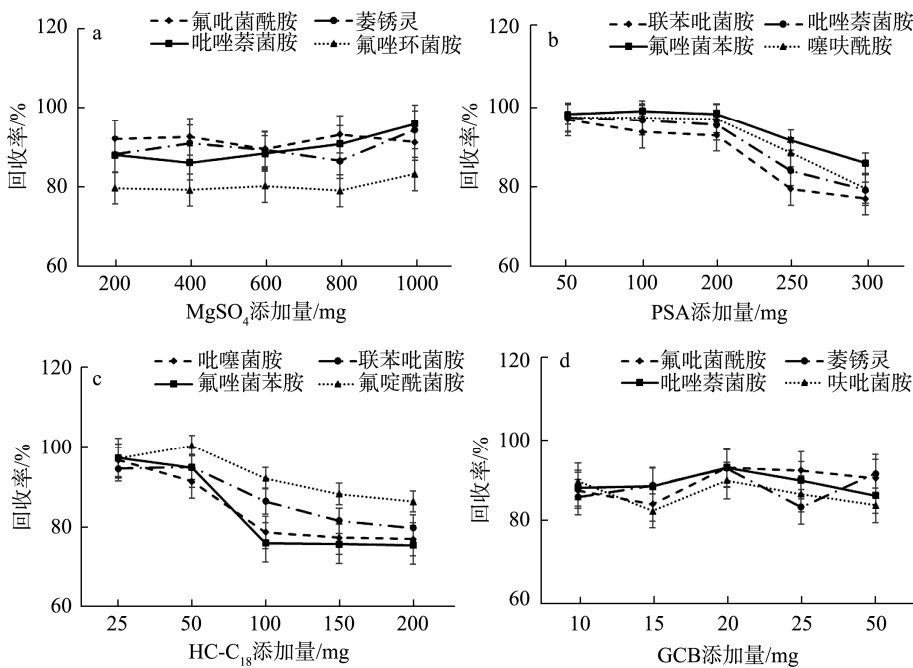
图 2 谱图库中 14 种杀菌剂的 EPI 谱图

Fig.2 EPI spectra of 14 kinds of fungicides in the spectrum library

2.3 QuEChERS 条件的优化

研究选择脱水剂无水 MgSO_4 和净化剂 PSA、 HC-C_{18} 、GCB 对基质进行除水净化。其中无水 MgSO_4 用于吸附试样中的少量水分, PSA 用于吸附有机酸、脂肪酸、糖类, HC-C_{18} 用于吸附脂类等非极性干扰物, GCB 能除去色素和固醇类物质的干扰。采用交叉优化法进行优化, 考察净化剂用量对 14 种化合物回收率的影响。称取空白大米基质 5.00 g, 添加一定量的 14 种化合物混合中间液, 使其浓度为 $0.5\text{ }\mu\text{g/kg}$, 按照 1.2.1 步骤前处理, 取 4 组 15 mL 的尖底离心管, 每组 5 个。无水 MgSO_4 的质量分别为 200、400、600、800、1000 mg, 如图 3a 所示无水 MgSO_4 的添加量对化合物回收率无明显影响, 研究选择了添加量为 1000 mg;

保持无水 MgSO_4 添加量为 1000 mg, PSA 的量分别为 50、100、200、250、300 mg, 如图 3b 所示, PSA 添加量为 250 mg 时回收率下降趋势明显, 为最大程度地去除基质中的干扰物, 选择 PSA 的添加量为 200 mg; 保持无水 MgSO_4 和 PSA 两两不变, 改变 HC-C_{18} 的添加量(25、50、100、150、200 mg), 如图 3c 所示, 当添加量为 100 mg 时回收率急剧下降, 对化合物吸附明显, 因此选择 HC-C_{18} 的添加量为 50 mg; 保持无水 MgSO_4 、PSA 和 HC-C_{18} 的量不变, 添加不同量的 GCB, 如图 3d 所示, GCB 的添加量为 20 mg 时测得的化合物回收率较高。综上所述, 确定无水 MgSO_4 、PSA、 HC-C_{18} 和 GCB 的添加量分别为 1000、200、50 和 20 mg。



注: a: 净化填料为 MgSO_4 ; b: 净化填料为 MgSO_4 +PSA; c: 净化填料为 MgSO_4 +PSA+ HC-C_{18} ; d: 净化填料为 MgSO_4 +PSA+ HC-C_{18} +GCB。

图 3 4 种净化填料用量对化合物回收率的影响($n=3$)

Fig.3 Effects of 4 kinds of purification materials on the recoveries of compound ($n=3$)

2.4 方法学验证

2.4.1 检出限、定量限与线性范围

在空白大米基质中添加 $0.05\text{ }\mu\text{g/kg}$ 的 14 种化合物, 经 1.2.1 步骤前处理后 LC-MS/MS 测定, 信噪比 S/N 均大于 3, 确定 14 种化合物的检出限为 $0.05\text{ }\mu\text{g/kg}$; 添加浓度为 $0.1\text{ }\mu\text{g/kg}$, 信噪比 S/N 均大于 10, 确定定量限为 $0.10\text{ }\mu\text{g/kg}$ 。

在大米基质中添加不同量的 14 种化合物混合中间液使其质量浓度分别为 0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、5.00 $\mu\text{g/L}$, 按 1.2.1 步骤进行操作。以质量浓度为横坐标(X , $\mu\text{g/L}$), 相应的峰面积比值为纵坐标(Y), 绘制基质标准曲线, 如表 2 所示。在 0.05~5.00 $\mu\text{g/L}$ 的质量浓度范围内, 线性相关系数 $r\geq 0.99936$, 线性关系良好。

表 2 标准曲线
Table 2 Standard curves

序号	化合物	线性方程
1	氟吡菌酰胺	$Y=1.00226e5X+202.60899$
2	吡唑萘菌胺	$Y=1.21148e5X+1509.28875$
3	萎锈灵	$Y=4.05502e4X-27.64755$
4	联苯吡菌胺	$Y=1.29504e5X+2154.79075$
5	吡唑萘菌胺	$Y=2.16646e5X-18042.34686$
6	氟唑环菌胺	$Y=6.40236e4X-4024.74915$
7	氟唑菌苯胺	$Y=29773.35357X-2706.31473$
8	氟苯吡菌胺	$Y=1.41087e5X+2491.83568$
9	吡唑菌酰胺	$Y=4.21850e4X+2686.55750$

表 2(续)

序号	化合物	线性方程
10	氟酰胺	$Y=6.34089e4X-1906.38001$
11	氟啶酰菌胺	$Y=4.93626e4X-2766.62707$
12	氟吡菌酰胺-苯甲酰胺	$Y=7.49787e4X+7430.57357$
13	甲咪酰胺	$Y=7.95181e4X-4797.97148$
14	噻呋酰胺	$Y=1.09400e5X+2640.11014$

2.4.2 回收率与精密度

称取空白大米基质 5.00 g, 添加一定量的 14 种化合物混合中间液, 使其浓度为 0.1、0.2 和 0.5 μg/kg, 按 1.2.1 步骤进行操作, 每个浓度进行 6 次重复测定, 如表 3 所示, 平均回收率为 82.5%~108.3%, 相对标准偏差 (relative

standard deviations, RSDs) 为 2.1%~11.9%, 表明该实验方法具有较好的准确度和精密度。

2.4.3 实际样品检测

应用本研究建立的方法对 20 批次大米样品进行了检测, 结果 12 批次样品中噻呋酰胺有不同程度的检出, 含量在 0.05~0.40 μg/kg 之间, 其余 13 种杀菌剂未检出。目前 GB 23200.9—2016 中噻呋酰胺的定量限为 0.2000 mg/kg, 如按照 GB 23200.9—2016 对上述 12 批次大米进行检测, 将无法有效监测噻呋酰胺的风险。将上述 12 批次样品的 EPI 谱图进行谱库检索, 噻呋酰胺的匹配度(Purity 值)均高于 90%, 图 4 为 14 号大米噻呋酰胺的 MRM 色谱图及谱库比匹配图。

表 3 回收率和精密度实验结果(n=6)
Table 3 Experimental results of recoveries and precision tests (n=6)

序号	化合物	添加水平(0.1 μg/kg)		添加水平(0.2 μg/kg)		添加水平(0.5 μg/kg)	
		平均回收率/%	RSDs/%	平均回收率/%	RSDs/%	平均回收率/%	RSDs/%
1	氟吡菌酰胺	90.0	7.9	97.5	5.7	99.7	4.3
2	吡噻菌胺	85.5	7.5	94.5	3.7	90.4	3.1
3	萎锈灵	103.8	10.8	108.2	4.2	100.0	4.0
4	联苯吡菌胺	90.7	6.3	95.8	2.1	89.3	4.5
5	吡唑萘菌胺	87.8	11.9	96.0	7.2	95.9	4.4
6	氟唑环菌胺	89.1	7.0	100.9	2.6	98.4	5.0
7	氟唑菌苯胺	85.5	9.3	89.1	7.8	82.5	3.3
8	氟苯吡菌胺	92.9	6.9	100.2	7.1	94.7	5.1
9	呋吡菌胺	96.7	3.9	105.5	6.6	107.2	3.9
10	氟酰胺	92.0	5.8	101.9	2.2	93.2	7.0
11	氟啶酰菌胺	91.6	5.9	102.8	3.5	97.8	3.0
12	氟吡菌酰胺-苯甲酰胺	102.5	4.3	107.1	3.3	106.1	3.0
13	甲咪酰胺	98.7	7.6	102.5	3.3	96.5	2.1
14	噻呋酰胺	108.3	9.2	107.2	6.2	86.9	5.8

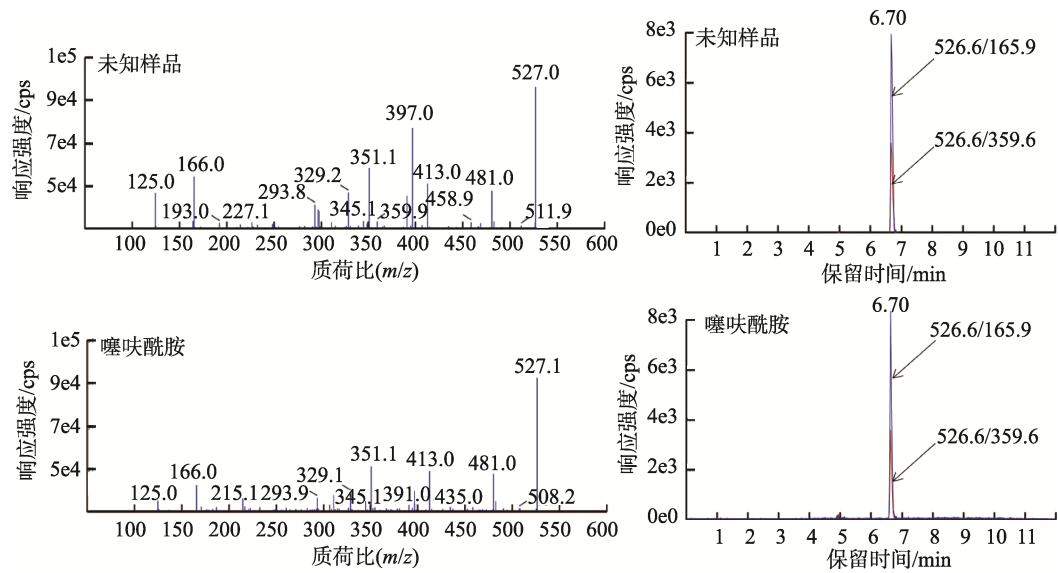


图 4 14 号大米噻呋酰胺的 MRM 色谱图及谱库比匹配图

Fig.4 MRM chromatograms and matching graph of spectral library comparison of tiofurohamide in rice sample No.14

3 结 论

本研究应用优化的 QuEChERS 技术结合液相色谱-串联质谱法建立了大米中 14 种 SDHI 类杀菌剂残留量的检测方法。此方法具有前处理过程简便、灵敏度高、线性关系良好、方法定量限低、准确度和精密度高等特点,同时建立 EPI 谱库比对,大大降低了样品基质和化合物同分异构体对分析的干扰,获得准确的定性定量信息,能有效应用于大米中常见 SDHI 类杀菌剂的检测,为残留限量的制定提供数据支持,为粮食安全提供科学准确的检测手段。

参考文献

- [1] 党铭铭, 刘民华, 刘爱萍, 等. 琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂的最新研究进展[J]. 农药, 2020, 59(6): 391–396.
DANG MM, LIU MH, LIU AIP, *et al.* The latest research progress of succinate dehydrogenase inhibitor fungicides [J]. Agrochemicals, 2020, 59(6): 391–396.
- [2] 唐建刚, 高履桐, 黄泽扬. 琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂专利技术综述[J]. 河南科技, 2021, 762(21): 116–119.
TANG JG, GAO LT, HUANG YY. Summary of patented technology of succinate dehydrogenase inhibitor fungicides [J]. Henan Sci Technol, 2021, 762(21): 116–119.
- [3] STEINHAEUER D, SALAT M, FREY R, *et al.* A dispensable paralog of succinate dehydrogenase subunit C mediates standing resistance towards a subclass of SDHI fungicides in *Zymoseptoria tritici* [J]. PLoS Pathog, 2019, 15(12): e1007780.
- [4] YANG D, ZHAO B, FAN Z, *et al.* Synthesis and biological activity of novel succinate dehydrogenase inhibitor derivatives as potent fungicide candidates [J]. J Agric Food Chem, 2019, 67(47): 13185–13194.
- [5] HUANG XP, LUO J, LI BX, *et al.* Bioactivity, physiological characteristics and efficacy of the SDHI fungicide pydiflumetofen against *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Pestic Biochem Physiol, 2019, 160: 70–78.
- [6] OLIVEIRA MS, CORDOVA LG, PERES NA. Efficacy and baseline sensitivity of succinate-dehydrogenase-inhibitor fungicides for management of colletotrichum crown rot of strawberry [J]. Plant Dis, 2020, 104(11): 2860–2865.
- [7] 魏阁, 高梦琪, 朱晓磊, 等. 靶向琥珀酸脱氢酶的酰胺类杀菌剂的研究进展[J]. 农药学报, 2019, 21(5-6): 673–680.
WEI G, GAO MQ, ZHU XL, *et al.* Research progress on carboxamide fungicides targeting succinate dehydrogenase [J]. Chin J Pestic Sci, 2019, 21(5-6): 673–680.
- [8] LIMA RC, TEIXEIRA PH, SOUSA LRV, *et al.* Integration of partial resistance, plant density and use of fungicide for management of white mould in common bean [J]. Plant Pathol, 2019, 68(3): 481–491.
- [9] ANASTASSIADESS M, LEHOTAY SJ, STAJNBAHER D, *et al.* Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for determination of pesticide residues in produce [J]. J AOAC Int, 2003, 86(2): 412–431.
- [10] YANG Y, LIN GB, LIU LJ, *et al.* Rapid determination of multi-antibiotic residues in honey based on modified QuEChERS method coupled with UPLC-MS/MS [J]. Food Chem, 2022, 374: 131733.
- [11] 邵丽, 董耀, 王晓, 等. QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法快速测定鸡肉中 36 种兽药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(14): 5561–5567.
SHAO L, DONG Y, WANG X, *et al.* Rapid detection of 36 kinds of veterinary drug residues in chicken by QuEChERS-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(14): 5561–5567.
- [12] 魏进, 张盈, 王洪瑶, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时检测大米中 5 种农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(5): 1783–1788.
WEI J, ZHANG Y, WANG HY, *et al.* Simultaneous determination of 5 kinds of pesticide residues in rice by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(5): 1783–1788.
- [13] BISWAS S, BANERJEE T, HARSHANG T, *et al.* Development of a QuEChERS-LCMS/MS method for simultaneous estimation of tebuconazole and chlormequat chloride in wheat crop [J]. J Environ Sci Health B, 2021, 56(3): 212–221.
- [14] 夏虹, 彭茂民, 刘丽. QuEChERS-超高效液相色谱串联质谱法同时测定芒果中 18 种农药残留[J]. 食品科技, 2021, 46(7): 301–306.
XIA H, PENG MM, LIU L. Determination of eighteen pesticide residues in mango using QuEChERS method coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Sci Technol, 2021, 46(7): 301–306.
- [15] 郑振山, 陈勇达, 张少军, 等. 气相色谱法测定黄瓜中吡啶萘菌胺及其代谢物[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(2): 540–544.
ZHENG ZS, CHEN YD, ZHANG SJ, *et al.* Determination of isopyrazam residues and its degradation products in cucumber by gas chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(2): 540–544.
- [16] 毕思远, 曹涛, 朱志强, 等. QuEChERS-气相色谱-串联质谱法测定葡萄等浆果中 7 种酰胺类杀菌剂残留量[J]. 理化检验(化学分册), 2020, 56(9): 955–959.
BI SY, CAO T, ZHU ZQ, *et al.* QuEChERS-GC-MS/MS determination of residual amount of 7 amide fungicides in berries [J]. Phys Test Chem Anal Part B, 2020, 56(9): 955–959.
- [17] 李皓. QuEChERS-气相色谱/质谱法检测香椿等芽菜类蔬菜中 5 种酰胺类杀菌剂残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(17): 5878–5883.
LI H. Determination of 5 kinds of amides in vegetables such as Toona by QuEChERS-gas chromatography/mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(17): 5878–5883.
- [18] 邓永丽, 李福敏, 邵林, 等. QuEChERS-气相色谱-质谱法测定大米中的 10 种酰胺类除草剂残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(17): 4706–4710.
DENG YL, LI FM, SHAO L, *et al.* Simultaneous determination of 10 kinds of amide herbicide residues in rice by QuEChERS with gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(17): 4706–4710.
- [19] 沈伟健, 吴斌, 王红, 等. 气相色谱-负化学电离质谱法测定食用植物油中 5 种酰胺类农药残留[J]. 色谱, 2019, 37(1): 27–31.
SHEN WJ, WU B, WANG H, *et al.* Determination of five acylpyrazole pesticide residues in edible vegetable oils using gas chromatography negative chemical ionization-mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2019, 37(1): 27–31.

- [20] 智沈伟, 赵尔成, 李兴海, 等. 气相色谱-串联质谱法测定西瓜和黄瓜中吡唑萘菌胺及其代谢物残留[J]. 农药学报, 2018, 20(2): 217–222.
ZHI SW, ZHAO EC, LI XH, *et al.* Determination of isopyrazam and its metabolites residues in watermelon and cucumber by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Pestic Sci, 2018, 20(2): 217–222.
- [21] DONG FS, CHEN X, XU J, *et al.* Enantioseparation and determination of the chiral fungicide furametpyr enantiomers in rice, soil, and water by high-performance liquid chromatography [J]. Chirality, 2013, 25(12): 904–909.
- [22] 龚蕾, 黄薇, 韩智, 等. QuEChERS-UPLC-MS/MS 测定果蔬中18种琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂[J]. 食品科学, 2021, 42(18): 261–268.
GONG L, HUANG H, HAN Z, *et al.* Determination of 18 succinate dehydrogenase inhibitor fungicides in foods by modified QuEChERS extraction coupled with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2021, 42(18): 261–268.
- [23] 乐渊, 刘春华, 尹桂豪, 等. 多壁碳纳米管滤过型净化-超高效液相色谱-串联质谱法测定香蕉中氟唑菌酰胺和吡唑萘菌胺残留[J]. 分析科学学报, 2020, 36(6): 874–878.
LE Y, LIU CH, YIN GH, *et al.* Determination of fluxapyroxad and pyraclostrobin residues in banana by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with multiplug filtration clean up with multiwalled carbon nanotubes [J]. J Anal Sci, 2020, 36(6): 874–878.
- [24] 杨欢, 孙伟华, 曹赵云, 等. 改良 QuEChERS 方法快速测定果蔬中8种新型琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂[J]. 色谱, 2016, 34(11): 1070–1076.
YANG H, SUN WH, CAO ZY, *et al.* Determination of eight novel succinate dehydrogenase inhibitor fungicides in vegetables and fruits by modified QuEChERS [J]. Chin J Chromatogr, 2016, 34(11): 1070–1076.
- [25] 陆静, 朱绍华, 付善良, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定植物油中吡唑萘菌胺残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(18): 7261–7266.
LU J, ZHU SH, FU SL, *et al.* Determination of penthiopyrad in vegetable oil by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(18): 7261–7266.
- [26] 孙亚米, 吕燕, 吴银良. 液相色谱-串联质谱法快速测定果蔬中16种新型酰胺类杀菌剂残留量[J]. 食品科学, 2015, 36(12): 230–236.
SUN YM, LV Y, WU YL. Fast simultaneous determination of sixteen novel amide fungicides in vegetables and fruits by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2015, 36(12): 230–236.
- [27] FT A, CQ A, JING LA, *et al.* Development of a fast multi-residue method for the determination of succinate dehydrogenase inhibitor fungicides in cereals, vegetables and fruits by modified QuEChERS and UHPLC-MS/MS [J]. J Chromatogr B, 2020, 1152: 122261.
- [28] 江伊彤, 张佳铭, 陈定宁, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测柑橘中的氟唑菌酰胺残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(14): 5513–5518.
JIANG YT, ZHANG JM, CHEN DN, *et al.* Determination of fluxapyroxad residues in citrus by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(14): 5513–5518.
- [29] 崔春艳, 张红医, 吴兴强, 等. 分散固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定谷物、蔬菜、水果中27种新型杀菌剂[J]. 色谱, 2017, 35(5): 487–494.
CUI CY, ZHANG HY, WU XQ, *et al.* Determination of 27 new fungicides in cereals, vegetables and fruits by dispersive solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2017, 35(5): 487–494.
- [30] 马婧玮, 周玲, 叶融, 等. QuEChERS/高效液相色谱-串联质谱法测定小麦中萎锈灵残留量[J]. 环境化学, 2016, 35(1): 35–41.
MA JW, ZHOU L, YE R, *et al.* Determination of carboxin residues in wheat by QuEChERS/high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Environ Chem, 2016, 35(1): 35–41.
- [31] 崔利辉, 李璐琦, 李国秀, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定牛肉中9种 β -受体激动剂[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(12): 4858–4866.
CUI LH, LI LQ, LI GX, *et al.* Determination of 9 kinds of β -agonists in beef by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(12): 4858–4866.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



李巧莲, 工程师, 主要研究方向为食品药品质量安全检测。
E-mail: qiaolian1028@163.com



王岩松, 高级工程师, 主要研究方向为食品中多种有机污染物检测方法研究。
E-mail: wys5715@126.com