

QuEChERS 结合高效液相色谱-串联质谱同时测定荔枝龙眼中 3 种农药及代谢物残留

王思威^{1,2}, 王潇楠¹, 常虹¹, 孙海滨^{1*}, 刘艳萍^{1*}

(1. 广东省农业科学院植物保护研究所, 广东省植物保护新技术重点实验室, 广东广州 510640)

(2. 华南农业大学广东省昆虫行为调控工程技术研究中心, 广东广州 510642)

摘要: 建立一种 QuEChERS 前处理方法结合高效液相色谱-串联质谱 (high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS) 技术同时检测荔枝龙眼基质中苯醚甲环唑、氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺及代谢物 J9Z38 残留量的分析方法。荔枝龙眼基质样品采用乙腈作为提取溶剂, 利用 50 mg 十八烷基键合硅胶 (C₁₈)、50 mg N-丙基乙二胺 (PSA) 和 10 mg 纳米氧化锆 (Nano-ZrO₂) 3 种吸附剂联合净化, 用 75 mm InfinityLab Poroshell 120 SB-C18 色谱柱进行分离, 并以 0.1% (体积分数) 甲酸水溶液-乙腈为流动相进行梯度洗脱, 多反应离子监测模式 (MRM) 扫描, 以基质匹配标准溶液进行定量分析。结果显示: 4 种目标化合物在 1~100 μg/kg 质量浓度范围内线性相关系数为 0.9896~0.9999, 定量限 (LOQ) 为 0.10~10 μg/kg。荔枝龙眼中 4 种目标分析物的加标回收率为 82.48%~99.17%, 日内和日间相对标准偏差分别为 4.11%~7.77%、6.10%~13.27%。本方法具有易于操作、简便快速和灵敏度高优势, 可应用于荔枝龙眼实际样品中苯醚甲环唑、氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺及代谢物 J9Z38 残留的同时检测分析。

关键词: QuEChERS, HPLC-MS/MS, 苯醚甲环唑, 氯虫苯甲酰胺, 溴氰虫酰胺及代谢物 J9Z38

文章编号: 1673-9078(2022)05-286-295

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.5.0901

Simultaneous Determination of Three Pesticides and Their Metabolite Residues in Litchi and Longan by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry with QuEChERS

WANG Siwei^{1,2}, WANG Xiaonan¹, CHANG Hong¹, SUN Haibin^{1*}, LIU Yanping^{1*}

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of High Technology for Plant Protection, Institute of Plant Protection, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China) (2. Guangdong Engineering Research Center for Insect Behavior Regulation, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: An analytical method was established for the determination of difenoconazole, chlorantraniliprole, cyantraniliprole and their metabolite J9Z38 residues in litchi and longan by QuEChERS pretreatment method with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) technique. Residues in litchi and longan samples were extracted with acetonitrile, purified with 50 mg C₁₈, 50 mg 引文格式:

王思威,王潇楠,常虹,等.QuEChERS 结合高效液相色谱-串联质谱同时测定荔枝龙眼中 3 种农药及代谢物残留[J].现代食品科技,2022,38(5):286-295

WANG Siwei, WANG Xiaonan, CHANG Hong, et al. Simultaneous determination of three pesticides and their metabolite residues in litchi and longan by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with QuEChERS [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(5): 286-295

收稿日期: 2021-08-16

基金项目: 广东省乡村振兴战略专项项目 (403-2018-XMZC-0002-90); 广州市科技计划项目 (202102080338); 国家荔枝龙眼产业技术体系项目 (CARS-32-15); 广东省农业科学院院长基金项目 (201929; 202026)

作者简介: 王思威 (1984-), 女, 在读博士, 副研究员, 研究方向: 农产品质量安全与果品营养品质评价, E-mail: 344073564@qq.com

通讯作者: 孙海滨 (1962-), 男, 本科, 研究员, 研究方向: 农药应用及残留分析, E-mail: sunhb@gdppri.cn; 共同通讯作者: 刘艳萍 (1972-), 女, 博士研究生, 研究员, 研究方向: 农药残留行为, E-mail: liuliuy@tom.com

PSA, and 10 mg Nano-ZrO₂, and then detected by HPLC-MS/MS with separation column of 75 mm InfinityLab Poroshell 120 SB-C18, and 0.1% formic acid-acetonitrile as mobile phase with gradient elution under multi-reactive ion monitoring (MRM) and quantified by external matrix-matched standard. Good linearities for the four analytes in the range of 1~100 µg/kg were obtained and the correlation coefficients (r^2) were from 0.9896 to 0.9999. The limits of quantitation (LOQs) were among 0.10 to 10 µg/kg. The recoveries in the litchi and longan were ranged from 82.48% to 99.17%, the intra-day precisions and inter-day precisions were 4.11%~7.77% and 6.10%~13.27%, respectively. The developed method have several advantages: easy to operate, simple and rapid, and high sensitivity. The method can be used for monitoring of difenoconazole, chlorantranilprole, cyantranilprole and their metabolite J9Z38 in real litchi and longan samples.

Key words: QuEChERS; HPLC-MS/MS; difenoconazole; chlorantranilprole; cyantranilprole and its metabolite J9Z38

荔枝和龙眼均是我国南方特色经济水果, 中国也是荔枝龙眼年产量最大的国家^[1,2]。荔枝以富含丰富的维生素、多糖、黄酮等营养和功能成分著称^[3]; 龙眼以富含多酚类和黄酮类物质, 而被誉为“第七类营养素”^[4,5]。目前我国荔枝和龙眼上登记农药种类极少, 荔枝登记有效成分 48 种(杀虫剂 10 种, 杀菌剂 23 种, 除草剂 1 种, 植物生长调节剂 14 种), 龙眼仅登记 6 种有效成分(杀虫剂 2 种, 杀菌剂 1 种, 植物生长调节剂 3 种)^[6]。苯醚甲环唑属于三唑类杀菌剂, 具有内吸性, 麦角甾醇生物合成抑制剂, 具有很好保护和治疗作用^[7], 在荔枝上已登记, 是防治炭疽病的主要药剂; 氯虫苯甲酰胺是美国杜邦公司开发的首个具有新型邻酰胺基苯甲酰胺类化学结构的广谱杀虫剂^[8], 溴氰虫酰胺是杜邦公司开发的第二代鱼尼丁受体抑制剂类杀虫剂^[9], 溴氰虫酰胺未在荔枝龙眼上登记, 但在生产中多用来防治荔枝蒂蛀虫等虫害。由于荔枝龙眼上已登记的农药数量极少, 农药大剂量、多频次的使用导致荔枝龙眼园中病虫害抗性提高^[10,11]; 荔枝龙眼上农药不规范使用, 不仅可引起果品中农药残留污染、超标问题, 同时也对环境生物产生毒害, 导致对蜜蜂、家蚕等的毒性为中毒或高毒^[12,13]。由此引起的果品质量安全问题和环境问题值得关注。

截至 2021 年 8 月, 关于苯醚甲环唑的检测分析方法有气相色谱法 (GC-ECD)、液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS)^[14,15], 前处理方法主要有玻璃层析柱净化、SPE 柱净化、QuEChERS 净化等^[16-18]; 氯虫苯甲酰胺和溴氰虫酰胺母体的检测方法有液相色谱法 (HPLC)、气相色谱-串联质谱法 (GC-MS) 和液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS), 前处理方法包含 SPE 净化和 QuEChERS 净化等^[19-24]; 溴氰虫酰胺代谢物 J9Z38 的检测方法为 LC-MS/MS^[25]。填充柱和固相萃取小柱净化需要大量的有机溶剂, 费时且操作繁琐。QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) 法具有简便、快速、廉价、高效、实用性强等优势, 且有机溶剂用量少, 并可根据不同样品基质选择吸附剂种类来消除杂质干扰, 是当前常用的净化

手段^[26,27]。LC-MS/MS 方法灵敏度高, 适用性强, 分析时间短, 且可同时实现定性定量检测, 适于普及和推广^[28]。由于上述 3 种农药及代谢物未见在荔枝龙眼同时检测分析方法报道, 通过建立荔枝龙眼中苯醚甲环唑、氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺及代谢物 J9Z38 的分析方法, 可为 3 种农药的膳食暴露风险评价和对环境指示生物的风险评估提供数据支撑。

本研究采用 QuEChERS 前处理方法净化样品, HPLC-MS/MS 作为检测仪器同时分析荔枝龙眼中苯醚甲环唑、氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺及代谢物 J9Z38 残留, 该方法具有较高灵敏度和良好准确度, 且操作简便快速, 能够满足分析检测要求, 填补了荔枝龙眼 3 种农药及代谢物同时检测分析的空缺, 为荔枝龙眼中药残留安全性分析评价提供依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

岛津 8045 三重四级杆质谱仪, (配电喷雾离子源 ESI), 日本岛津公司; 岛津 LC-20A 高效液相色谱仪, 日本岛津公司; Milli-Q 超纯水机, 美国 Millipore 公司; GTR22-1 离心机, 北京时代北利离心机有限公司; XW-80A 涡旋仪, 上海精科有限公司。

乙腈和甲醇(色谱纯), 美国 Fisher 公司; 甲酸(色谱纯), 美国 Fluka 公司; 无水硫酸镁、氯化钠, 国药集团化学试剂有限公司; 十八烷基键合硅胶吸附剂 (C₁₈) 和 N-丙基乙二胺吸附剂 (PSA), 均购自上海安谱实验科技股份有限公司; 纳米氧化锆, 上海阿拉丁生物科技有限公司; 多壁碳纳米管 (multi-walled carbon nanotubes, 纯度 95%, 长度 10~30 µm, 粒径 8 nm), 南京先丰纳米材料科技有限公司。标准品: 苯醚甲环唑标准品纯度为 99.9%, 德国 Ehrenstorfer GmbH 公司; 氯虫苯甲酰胺标准品纯度为 97.8%, 德国 Ehrenstorfer GmbH 公司; 溴氰虫酰胺标准品纯度为 98.0%, 加拿大 Toronto Research Chemicals 公司; 溴氰虫酰胺代谢物 J9Z38 标准品纯度为 97.8%, 杭州创

引化工科技有限公司。

1.2 标准溶液的配制

标准储备溶液：分别准确称取苯醚甲环唑、氯虫苯甲酰胺和溴氰虫酰胺及代谢物 J9Z38 标准品各 10 mg（精确至 0.1 mg）至 4 个 10 mL 容量瓶中，分别加入乙腈溶解，定容至刻度，摇匀，配制成 1000 mg/L 的标准储备溶液，在 4 °C 冰箱中避光保存，待用。

混合标准溶液：分别准确吸取 1 mL 的苯醚甲环唑、氯虫苯甲酰胺和溴氰虫酰胺及代谢物 J9Z38 的上述标准储备溶液于同一 10 mL 容量瓶中，用乙腈定容至刻度，配制成 100 mg/L 的混合标准溶液，密封后 4 °C 冰箱中避光保存，有效期 6 个月。

1.3 样品前处理

将荔枝或龙眼样品切碎，然后匀浆，形成均一的试样。分别准确称取荔枝和龙眼全果试样各 10 g（精确至 0.01 g），加入 50 mL 离心管中，用 10 mL 乙腈

进行提取，涡旋 1 min，加入 2 g 无水硫酸镁和 1 g 氯化钠，剧烈振荡，再涡旋 1 min，然后以 5000 r/min 离心 2 min。取 2 mL 上清液，加入装有 0.3 g 无水硫酸镁、0.010 g Nano-ZrO₂、0.050 g PSA 和 0.050 g C₁₈ 的离心管中，剧烈振荡，涡旋 1 min，以 10000 r/min 离心 5 min。取上清液过 0.22 μm 有机滤膜，待 HPLC-MS/MS 检测。

1.4 色谱-质谱条件

色谱条件：安捷伦 InfinityLab Poroshell 120 SB-C18 色谱柱（75 mm×2.1 mm，2.7 μm）；柱温为 35 °C；进样量为 5 μL；流速为 0.3 mL/min；流动相 A（0.1% 甲酸水溶液），B（乙腈），进行梯度洗脱，具体程序为：0~2 min 80% A~5% A，2~3.5 min 5% A，3.5~4.5 min 20% A，4.5~6 min 20% A。

质谱条件：离子源为 ESI⁺；扫描模式为 MRM 模式；接口温度：300 °C；DL 温度：250 °C；加热块温度：400 °C；接口电压：4000 V；雾化气流量：3.0 L/min；干燥气和加热气流量：10.0 L/min。其它质谱参数见表 1。

表 1 苯醚甲环唑、氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺及代谢物 J9Z38 的质谱参数

Table 1 Mass spectra parameters of difenoconazole, chlorantraniliprole, cyantraniliprole and its metabolite

Compound	Parent ion (<i>m/z</i>)	Product ion (<i>m/z</i>)	Collision Energy /V	Q1 Pre deviation /V	Q3 Pre deviation /V	Retention time /min
Difenoconazole	406.1	251.0*, 337.0	-26, -18	-12, -19	-30, -24	3.59
Chlorantraniliprole	484.0	285.9*, 453.35	-12, -14	-23, -18	-29, -23	2.97
Cyantraniliprole	475.31	285.95*, 444.1	-10, -19	-30, -24	-15, -18	3.33
Metabolite J9Z38	457.1	299.0*, 188.0	-27, -35	-20, -17	-26, -14	3.42

注：*quantitative ion.

2 结果与讨论

2.1 前处理条件的优化

2.1.1 提取溶剂的选择

目前，查阅大量文献报道，发现 QuEChERS 前处理方法中最常用的有机提取溶剂为丙酮、乙酸乙酯和乙腈。丙酮在没有非极性溶剂存在的条件下，不能与水进行分离，而且丙酮容易将基质中的色素等杂质提取，共萃取现象极其严重^[29]；乙酸乙酯在提取极性农药时提取效率较低，且易发生乳化现象；乙腈易与水分离，且提取的杂质相对较少，是目前 QuEChERS 方法中最常用的提取溶剂^[30]，因此，本试验选择乙腈作为提取溶剂。

2.1.2 吸附剂的选择和用量

探讨了 QuEChERS 前处理方法中常用净化剂（Nano-ZrO₂、PSA、C₁₈、GCB、MWCNTs）对苯醚甲环唑、氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺及代谢物 J9Z38 的

吸附效果及回收率的影响，结果见图 1。通过查阅大量文献^[26,27,31,32]，发现 MWCNTs 对农药的吸附性较强，用量一般在 5~10 mg 范围，GCB、PSA、C₁₈ 等的用量一般为 50 mg，因此，本试验参照文献用量进行。结果显示：当 MWCNTs 用量在 5~10 mg 范围时，4 种目标化合物的回收率在 1.43%~25.71%，其中对溴氰虫酰胺代谢物 J9Z38 的吸附最严重；50 mg GCB 吸附剂对 4 种目标化合物的回收率也均较低（17.11%~35.94%），因此不宜采用；50 mg PSA、50 mg C₁₈ 和 20 mg Nano-ZrO₂ 3 种单一吸附剂，对 4 种目标化合物的回收率均较好，均在 90% 以上。

荔枝龙眼的基质较复杂，单一吸附剂对共提取杂质的净化效果远弱于混合吸附剂，因此考虑选择 PSA、C₁₈ 和 Nano-ZrO₂ 不同吸附剂的组合，C₁₈ 吸附剂具有比表面积大、吸附能力强等优势，可去除基质中的脂肪、脂类等非极性干扰物；PSA 属于弱阴离子交换填料，可有效去除基质中脂肪酸、色素、糖类等物质；纳米氧化锆（Nano-ZrO₂）具有比表面积大、吸附容量大等优点，

是近年来常用的净化剂。上述吸附剂组合可较好的去除样品中色素、糖等干扰杂质。在吸附剂选择试验结果基础上,考察组合 I (50 mg PSA+20 mg Nano-ZrO₂), 组合 II (50 mg C₁₈+20 mg Nano-ZrO₂), 组合 III (50 mg PSA+50 mg C₁₈+20 mg Nano-ZrO₂) 和组合 IV (50 mg PSA+50 mg C₁₈+10 mg Nano-ZrO₂) 等 4 种吸附剂组合对上述 4 种化合物的回收率情况, 结果见图 2、表 2。实验结果表明, 上述复配组合 I -IV 均可满足实验回收率要求, 回收率在 85.81%~105.73%。综合考虑实验成本、净化效果等因素, 最终选择组合 IV 50 mg C₁₈+50 mg PSA+10 mg Nano-ZrO₂ 作为复配吸附净化剂用于荔枝和龙眼样品基质净化。文献中有关上述 4 种目标化合物的吸附剂选择有香蕉基质用 PSA+C₁₈ 联合净化^[29]、梨基质未经净化直接进样^[33]、蔬菜基质用 PSA 单一吸附剂净化^[19]、水果基质用 PSA+C₁₈+硅藻土联合净化^[20]等报道, 由于不同基质的杂质情况不同, 如梨和香蕉基质相对较简单, 主要为水分和糖分等, 色素干扰较少, 净化步骤可省略; 但部分水果和蔬菜的基质相对较复杂, 尤其是大量色素等共萃取杂质的存在, 可严重干扰目标物的定量分析, 因此其净化步骤尤为重要, 可直接影响目标分析物的准确度和灵敏度。

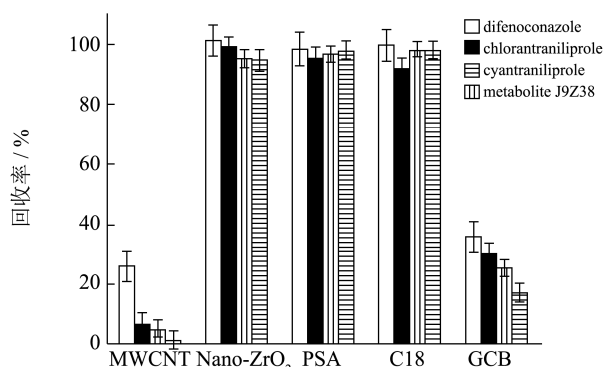


图 1 5 种不同吸附剂对 4 种目标化合物的吸附效率

Fig.1 Absorption efficiency of five different adsorbent for four

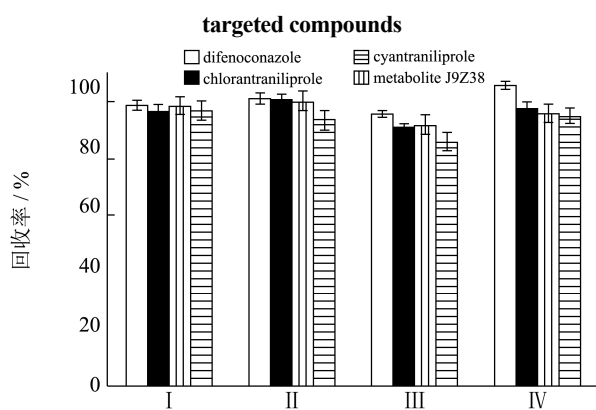


图 2 4 种不同吸附剂组合对 4 种目标化合物的吸附效率

Fig.2 Absorption efficiency of four different adsorbent combination for four targeted compounds

表 2 四种吸附剂组合对目标化合物回收率的显著性分析

Table 2 Analysis of Significant of four adsorption combination to targeted compounds

Pesticide	Recoveries/%			
	I	II	III	IV
Difenoconazole	0.99±3.64 ^a	1.01±2.62 ^a	0.95±8.36 ^a	1.06±9.57 ^a
Chlorantraniliprole	0.97±4.72 ^a	1.00±5.29 ^b	0.90±5.88 ^a	0.98±3.06 ^a
Cyantraniliprole	0.98±2.70 ^a	1.00±2.00 ^a	0.92±7.84 ^a	0.96±6.25 ^a
Metabolite J9Z38	0.99±3.67 ^a	1.01±2.65 ^a	0.95±8.39 ^a	1.06±9.60 ^a

注: 根据 Tukey's HSD 测试, a 和 b 表示存在显著差异 ($p < 0.05$)。

2.2 色谱柱的选择

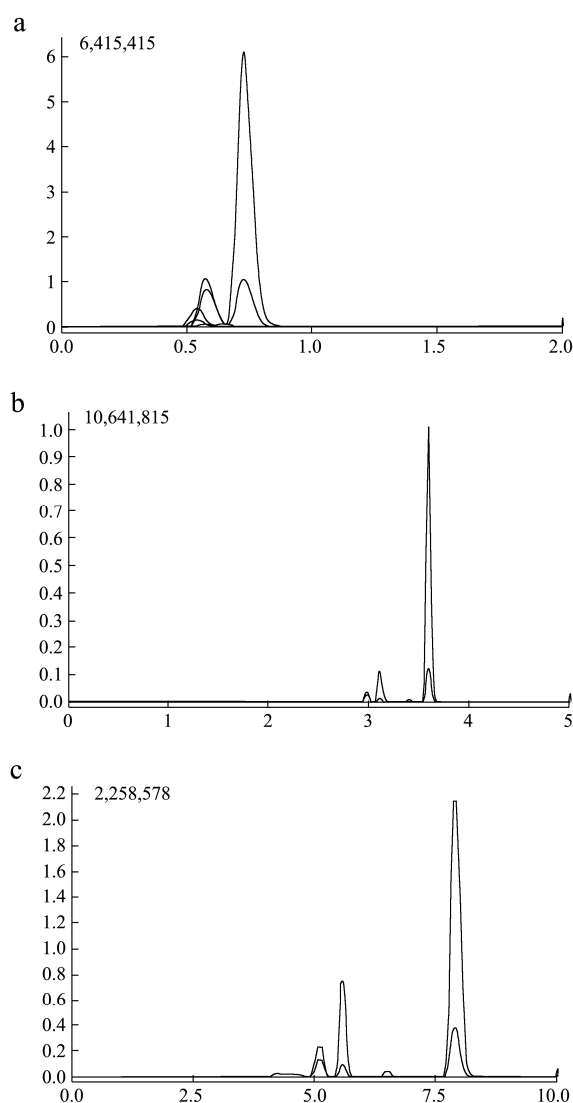


图 3 3 种不同色谱柱对目标化合物的分离色谱图

Fig.3 Chromatogram of four targeted compounds separated by three different columns

比较了 3 种不同长度色谱柱对 4 种目标物的分离效果。A (Shim-pack GIST-HP C18, 50 mm)、B

(InfinityLab Poroshell C18, 75 mm)和 C(Poroshell-120 EC-C₁₈, 150 mm), 谱图见图3。其中色谱柱 A 的分析时间较短, 但对目标农药的响应值及峰型对称性略差; 色谱柱 C 属于长柱, 目标分析物的出峰时间相对较长, 且有拖尾现象, 影响定量结果; 色谱柱 B 分析时间略长于 A 柱, 但明显短于 C 柱, 目标物的响应值和峰型均较好。因此, 选择 InfinityLab Poroshell C18 作为本试验的色谱分离柱。

2.3 流动相的选择

选用 2.2 中 75 mm 色谱分离柱, 探讨甲醇-0.1%甲酸水溶液、乙腈-0.1%甲酸水溶液、甲醇-水溶液、乙腈-水溶液等 4 种流动相组合对目标化合物的分离度和响

应强度的影响。结果显示: 有机相选用甲醇时, 苯醚甲环唑存在峰型不对称、峰展宽等问题, 且响应强度较乙腈低; 流动相选用乙腈时, 通过在水相中加入 0.1% 甲酸, 可促进[M+H]⁺离子峰的形成, 提高目标物的分析灵敏度, 尤其提高了峰型对称性。因此, 本研究的色谱流动相选用乙腈-0.1%甲酸水系。

2.4 流动相等度洗脱和梯度洗脱比较

选用乙腈-0.1%甲酸水系作为流动相, 探讨了等度洗脱和梯度洗脱对目标化合物分离度和响应值的影响, 见图4。结果显示梯度洗脱不仅提高了 4 种目标农药的响应值, 而且峰型十分对称, 可有效将杂质与目标化合物分离, 提高定量结果的准确度。

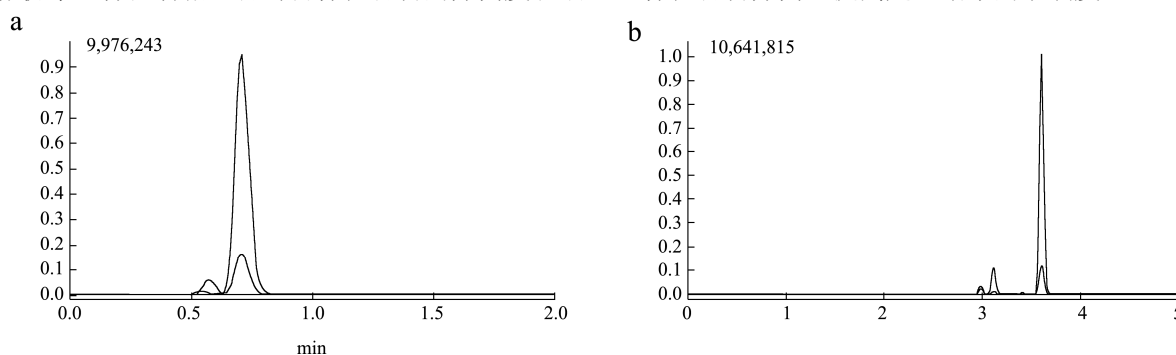
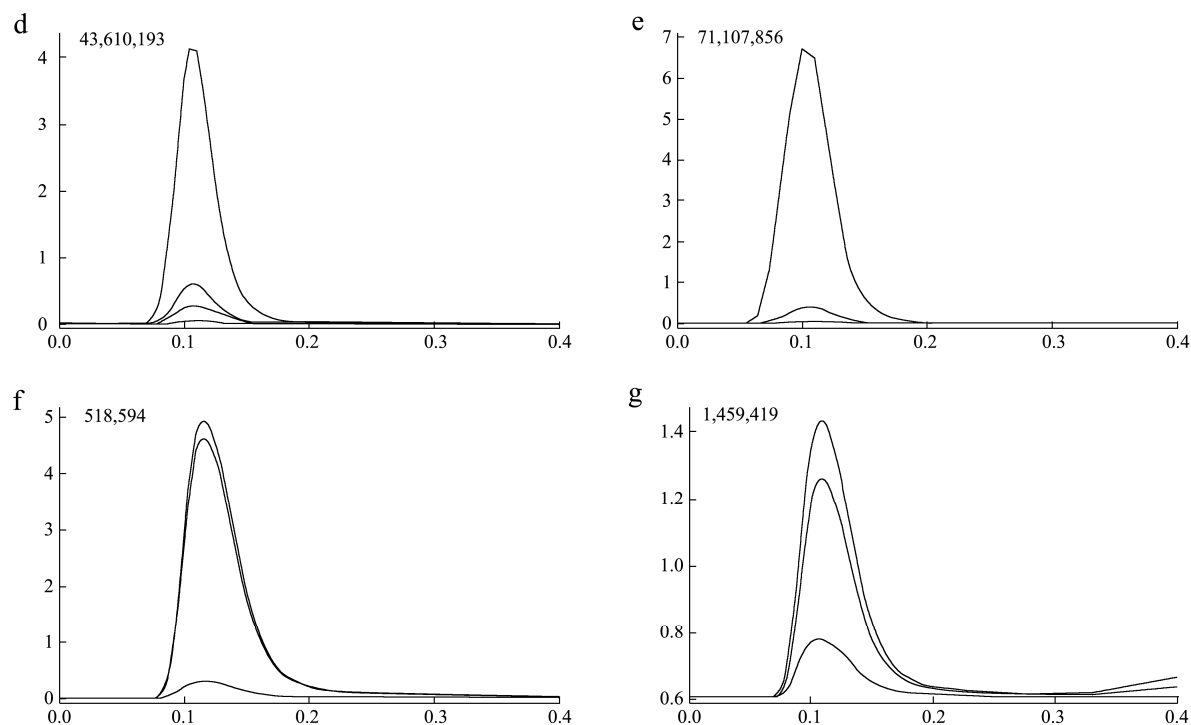


图4 流动相等度洗脱(a)和梯度洗脱(b)对目标化合物的分离色谱图

Fig.4 Chromatogram of four targeted compounds separated by the isocratic elution (a) and gradient elution (b) of mobile phase



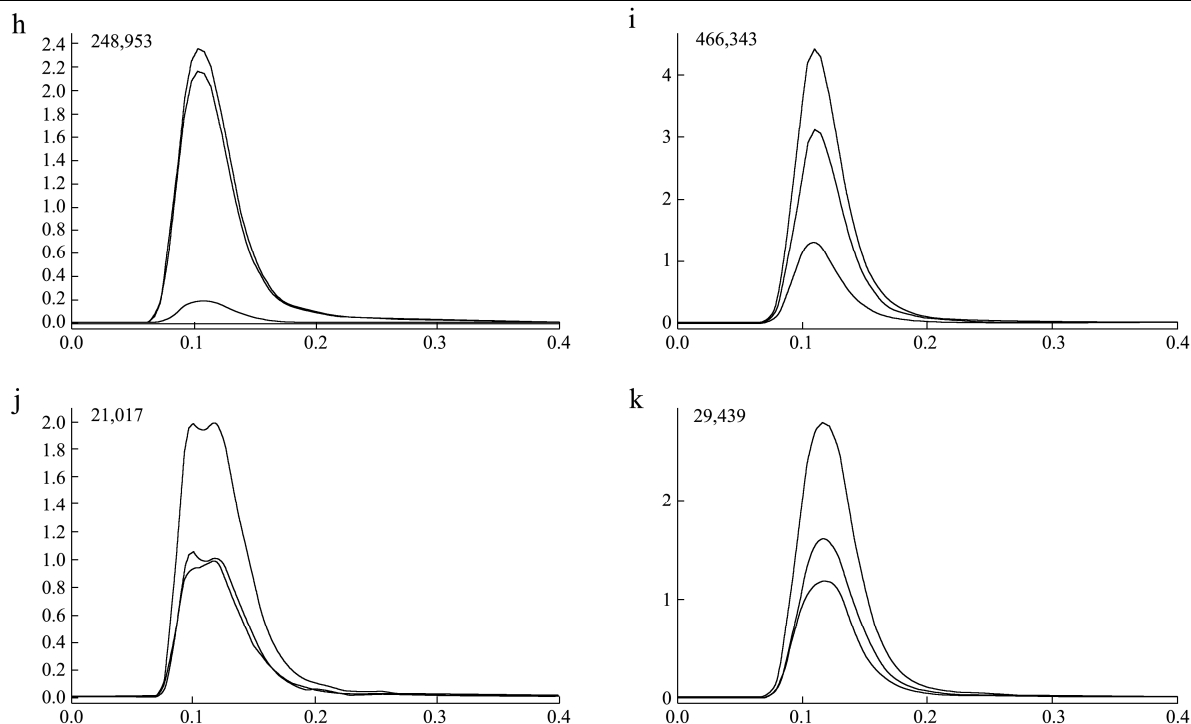


图5 苯醚甲环唑(d/e)、氯虫苯甲酰胺(f/g)、溴氰虫酰胺(h/i)、代谢物 J9Z38(j/k) 优化前后质谱图

Fig.5 Mass spectra of difenoconazole (d/e), chlorantraniliprole (f/g), cyantraniliprole (h/i), metabolite J9Z38 (j/k) before and after optimization

表3 苯醚甲环唑、氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺及代谢物 J9Z38 在荔枝龙眼中的加标回收率、相对标准偏差、检出限、定量限等参数

Table 3 Matrix effect, recoveries, RSDs, LOD, LOQ and other parameters of difenoconazole, chlorantraniliprole, cyantraniliprole and its metabolite J9Z38 in litchi and longan samples (n=5)

Compound	Sample	Spiked/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Recovery/ %	RSDa/ %	RSDr/ %	LOD/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LOQ/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Linear equation	Matrix effect/%
difenoconazole	Litchi	10, 50, 100	83.80, 90.76, 94.36	4.11, 6.09, 4.89	6.83, 13.27, 7.15	0.03	0.1	$y=1.39 \times 10^8 x + 132133$	-55.82
	Longan	10, 50, 100	89.77, 97.15, 96.18	4.96, 4.16, 5.38	8.77, 6.10, 8.28	0.06	0.2	$y=1.00 \times 10^8 x + 2.0 \times 10^7$	-48.2
chlorantraniliprole	Litchi	10, 50, 100	85.28, 92.73, 92.82	5.83, 6.32, 4.74	6.59, 9.99, 9.35	0.3	1	$y=1.45 \times 10^7 x + 190031$	-58.44
	Longan	10, 50, 100	82.48, 94.77, 93.72	4.26, 6.14, 7.01	7.76, 7.46, 11.26	0.3	1	$y=2.00 \times 10^7 x + 14557.3$	-42.63
cyantraniliprole	Litchi	10, 50, 100	85.00, 96.38, 99.17	4.68, 6.08, 4.65	8.46, 8.61, 9.19	0.3	1	$y=2.38 \times 10^6 x + 685.684$	-65.42
	Longan	10, 50, 100	83.80, 91.18, 98.93	5.17, 6.66, 5.64	9.15, 8.79, 8.50	0.3	1	$y=3.98 \times 10^6 x - 3974.61$	-43.01
Metabolite J9Z38	Litchi	10, 50, 100	84.82, 88.85, 94.62	4.25, 5.56, 7.77	7.44, 8.76, 8.43	0.3	10	$y=3.61 \times 10^5 x + 908.734$	-79.12
	Longan	10, 50, 100	85.73, 96.18, 98.03	5.19, 7.55, 4.66	11.05, 8.86, 7.05	0.3	10	$y=1.62 \times 10^6 x + 3504.66$	-33.54

注: RSDa: intra-day precisions; RSDr: inter-day precisions.

2.5 质谱条件的优化

通过查阅大量文献,明确了4种目标化合物在正离子模式下分析。为提高目标化合物的离子化效率,对源内参数开展了优化实验,相关色谱图见图5。在正离子模式下,对化合物进行全扫描分析,一级质谱扫描可获取 $[M+H]^+$ 分子离子,以此来确定目标分析物的母离子;然后再进行产物离子扫描,获取产物离子,最后在MRM模式下对4种目标化合物的CE、Q1 Pre偏差、Q3 Pre偏差等参数进行优化,优化后的色谱图不论是峰型对称性还是响应值均好于优化前。

2.6 基质效应

基质效应(ME)是液质分析定量结果准确性的最重要影响因素。本试验采用下式计算基质效应: $ME(\%) = [(m_{\text{matrix}}/m_{\text{solvent}}) - 1] \times 100\%$,其中 m_{matrix} 为基质匹配标准曲线的斜率, m_{solvent} 为纯溶剂标准曲线的斜率。当ME为正值时,表示存在基质增强效应,基质可提高目标物效应;ME为负值时,表示存在基质抑制效应,基质可降低目标物效应;ME=0时,表示不存在基质效应。表3实验结果表明,苯醚甲环唑、氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺及其代谢物在荔枝龙眼中均存在基质抑制作用,基质效应值在-79.12%~-33.54%,本实验采用基质匹配标准溶液来校正基质效应。

2.7 方法学评价

2.7.1 线性范围、检出限与定量限

在1~100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度范围内,以基质匹配标准溶液的质量浓度(x , $\mu\text{g}/\text{L}$)为横坐标,其所对应的目标化合物的响应值(y)为纵坐标作图,得到苯醚甲环唑、氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺及代谢物J9Z38的基质匹配标准溶液线性方程,线性相关系数(r^2)均大于0.99。根据欧盟文件SANTE/11813/2017规定,当最小添加水平回收率满足70%~120%及相对标准偏差 $\leq 20\%$ 时,定量限(LOQ)可以为最小添加水平。本方法对苯醚甲环唑的LOQ为0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,低于稻米^[34](10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、梨^[33](10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)和香蕉^[29](40 $\mu\text{g}/\text{kg}$)中的报道值;氯虫苯甲酰胺LOQ为1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,均低于茶叶^[35](5 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、水果^[31](17.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$)等基质中的报道值;溴氰虫酰胺LOQ分别为1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,均低于南瓜^[36](10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、蓝莓^[24](6 $\mu\text{g}/\text{kg}$)等基质中的报道值,说明本文建立的分析方法具有较低的灵敏度,可适用于荔枝龙眼样品的痕量分析。

2.7.2 回收率与精密度

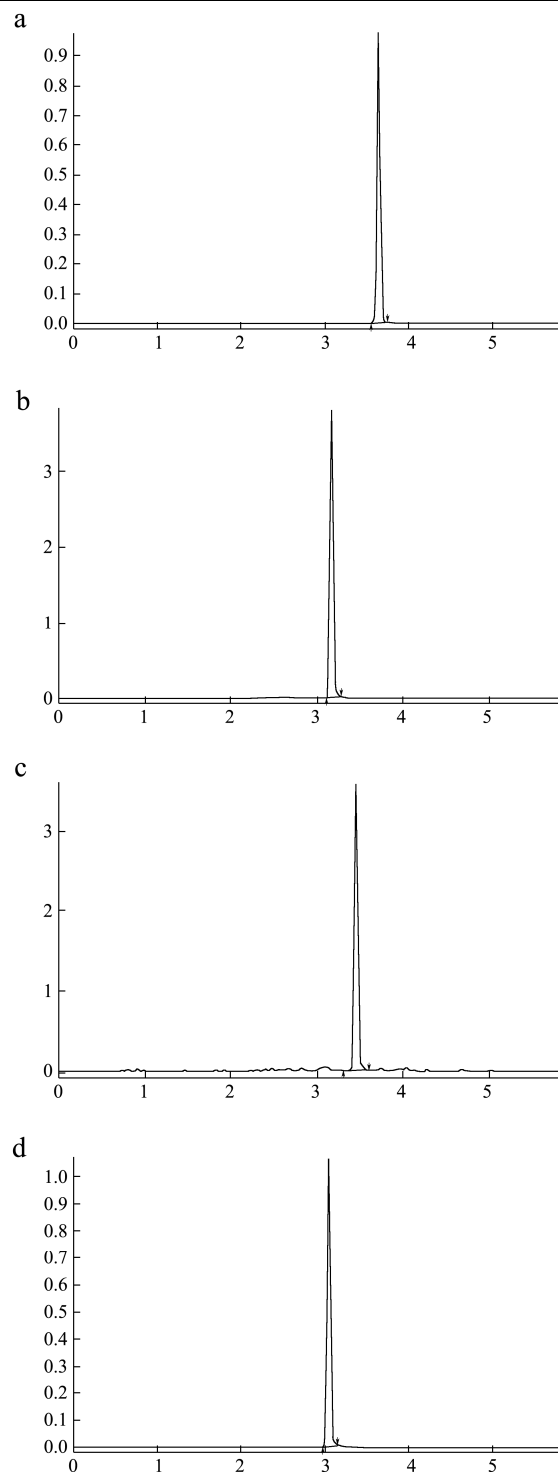


图6 荔枝空白样品加标(50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)的色谱图

Fig.6 Chromatograms of litchi blank sample spiked standard solution (50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

注: a: difenoconazole spiked in litchi; b: chlorantraniliprole spiked in litchi; c: cyantraniliprole spiked in litchi; d: metabolite spiked in litchi.

在荔枝龙眼的空白样品中分别添加10、50、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3个浓度水平的4种目标物混合标准溶液,每个

加标水平重复 5 次, 并作空白对照, 具体结果见表 3。4 种目标物在荔枝龙眼中的加标回收率为 82.48%~99.17%, 日间和日内相对标准偏差 (RSD) 分别为 4.11%~7.77%和 6.10%~13.27%。荔枝空白样品加标的

色谱图见图 6。本方法具有较高的回收率和良好的精密度, 可满足荔枝和龙眼样品检测要求。

2.8 方法的应用

表 4 4 种目标分析物在荔枝龙眼实际样品中的残留量 (mg/kg)

Matrix and MRLs	difenoconazole	chlorantraniliprole	cyantraniliprole	metabolite J9Z38
litchi	ND~0.458	ND~0.019	ND	ND
longan	0.02~0.16	0.02~0.03	ND	ND
MRLs in litchi	0.5	-	-	-
MRLs in longan	-	-	-	-

注: ND-not detected.

采用本方法对市场随机购买的 20 份荔枝龙眼样品进行检测, 具体结果见表 4。苯醚甲环唑和氯虫苯甲酰胺在荔枝龙眼中有检出, 溴氰虫酰胺及代谢物 J9Z38 的残留量均未检出。仅苯醚甲环唑在荔枝上有最大残留限量值 (MRLs) [37], 所测实际样品中苯醚甲环唑残留量低于 MRLs。

3 结论

本文建立了 QuEChERS 结合 HPLC-MS/MS 同时测定苯醚甲环唑、氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺及代谢物 J9Z38 在荔枝龙眼基质中的检测方法, 该方法有较好的检测灵敏度和准确度。样品前处理过程操作简便, 回收率高, 检出限低, 满足定性和定量要求, 适用于荔枝龙眼中苯醚甲环唑、氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺及代谢物 J9Z38 定性定量分析要求, 可为上述农药在荔枝龙眼中的风险监控提供有效的技术支持。

参考文献

- [1] 齐文娥, 陈厚彬, 李伟文, 等. 中国荔枝产业发展现状、趋势与建议[J]. 广东农业科学, 2016, 43(6): 173-179
QI Wene, CHEN Houbin, LI Weiwen, et al. Development situation, trend and suggestions of Chinese litchi industry [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2016, 43(6): 173-179
- [2] 郝娟, 董丽红, 池建伟, 等. 龙眼的健康功效及其健康食品开发的进展[J]. 现代食品科技, 2021, 37(8): 340-349
HAO Juan, DONG Lihong, CHI Jianwei, et al. Health effect of longan and its present situation and prospect of healthy [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(8): 340-349
- [3] LI Peiyuan, HUO Lini, SU Wei, et al. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity and phenolic content of *Pouzolzia zeylanica* [J]. Journal of the Serbian Chemical Society, 2011, 76(5): 709-717
- [4] DU Qizhen, XU Yuanjin, LU Lei, et al. Antioxidant

- constituents in the fruits of *Luffa cylindrica* (L.) [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(12): 4186-4190
- [5] Dewanto Veronica, WU Xianzhong, Adom Kafui K, et al. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(10): 3010-3014
- [6] 中国农药信息网 [DB/OL]. [2021-12-31]. <http://www.chinapesticide.org.cn/hysj/index.jhtml>
China Pesticide Information Network [DB/OL]. [2021-12-31]. <http://www.chinapesticide.org.cn/hysj/index.jhtml>
- [7] 吴燕, 马小龙, 李瑞, 等. 苯醚甲环唑在枸杞上残留消解和最终残留状态分析[J]. 宁夏农林科技, 2020, 61(11): 38-40
WU Yan, MA Xiaolong, LI Rui, et al. Residues and dissipation dynamics and final residual state of difenoconazole in *Lycium barbarum* L. [J]. Ningxia Journal of Agri and Fores Sci & Tech, 2020, 61(11): 38-40
- [8] 郑雪松, 赖添财, 时立波, 等. 双酰胺类杀虫剂应用现状[J]. 农药, 2012, 51(8): 554-557, 580
ZHENG Xuesong, LAI Tiancai, SHI Libo, et al. Current situation on application of novel diamide insecticides [J]. Agrochemicals, 2012, 51(8): 554-557, 580
- [9] 杨桂秋, 黄琦, 陈霖, 等. 新型杀虫剂溴氰虫酰胺研究概述[J]. 世界农药, 2012, 34(6): 19-21
YANG Guiqiu, HUANG Qi, CHEN Lin, et al. Summary of a nevolpesticide cyantraniliprole [J]. World Pestic, 2012, 34(6): 19-21
- [10] 鲁勇, 彭李亚, 王春会, 等. 深圳地区荔枝主要病虫害绿色防控技术研究[J]. 中国南方果树, 2015, 44(4): 117-118
LU Yong, PENG Liya, WANG Chunhui, et al. Study on green control technology of main litchi diseases and pests in Shenzhen [J]. South China Fruits, 2015, 44 (4): 117-118
- [11] 廖世纯, 黎柳锋, 王凤英, 等. 13 种杀虫剂对荔枝蛀蒂虫成虫触杀效果测定[J]. 南方农业学报, 2014, 45(12): 2172-2176

- LIAO Shichun, LI Liufeng, WANG Fengying, et al. Control effect of 13 insecticides against the adult of *Conopomorpha sinensis* Bradley [J]. Journal of Southern Agriculture, 2014, 45(12): 2172-2176
- [12] HAN Wensu, WANG Yajun, GAO Jinglin, et al. Acute toxicity and sublethal effects of myclobutanil on respiration, flight and detoxification enzymes in *Apiscerana cerana* [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2018, 147: 133-138
- [13] CHEN Jian, LU Zhengting, LI Mengxue, et al. The mechanism of sublethal chlorantraniliprole exposure causing silkworm pupation metamorphosis defects [J]. Pest Management Science, 2020, 76(8): 2838-2845
- [14] ZHENG Qun, QIN Deqiang, YANG Liupeng, et al. Dissipation and distribution of difenoconazole in bananas and risk assessment of dietary intake [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2020, 27(13): 1-10
- [15] DONG Maofeng, MA Lin, ZHAN Xiuping, et al. Dissipation rates and residue levels of diflubenzuron and difenoconazole on peaches and dietary risk assessment [J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2019, 18: 104447-104450
- [16] 殷超,陈荣玲,鹿毅.气相色谱-质谱法测定葡萄中苯醚甲环唑的不确定度评定[J].食品安全质量检测学报,2020,11(18): 6412-6416
- YIN Chao, CHEN Rongling, LU Yi. Uncertainty evaluation for the determination of difenoconazole in grape by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(18): 6412-6416
- [17] 杨庆喜,刘娜,张双,等.QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法测定榛子中 4 种农药的残留[J].农药学报,2018,20(6): 776-782
- YANG Xiqing, LIU Na, ZHANG Shuang, et al. Determination of 4 pesticide residues in hazelnut by modified QuEChERS method using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2018, 20(6): 776-782
- [18] 赵方方,张月,乐渊,等.氟唑菌酰胺和苯醚甲环唑在香蕉上的残留分析及膳食风险评估[J].热带作物学报,2021,42(5):1448-1454
- ZHAO Fangfang, ZHANG Yue, LE Yuan, et al. Residue analysis and dietary risk assessment of pydiflumetofen and difenoconazole in banana [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2021, 42(5): 1448-1454
- [19] 吴春霞,张秋萍,许红睿,等.QuEChERS-超高效液相色谱-串联三重四级杆质谱联用法快速测定蔬菜中吡虫啉等四种杀虫剂残留[J].食品安全质量检测学报,2020,11(3):909-914
- WU Chunxia, ZHANG Qiuping, XU Hongrui, et al. Rapid determination of 4 pesticide residues in vegetables by QuEChERS and ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(3): 909-914
- [20] 杨松,王瑶,禾丽菲,等.QuEChERS-气相色谱-串联质谱法分析鲜茶叶中 6 种杀虫剂的残留及消解动态[J].分析试验室, 2019,38(12):1459-1464
- YANG Song, WANG Yao, HE Lifei, et al. Residue and dissipation dynamics of six insecticides in fresh tea by QuEChERS gas chromatography tandem mass spectrometry [J]. Journal of Analysis Laboratory, 2019, 38(12): 1459-1464
- [21] 韩帅兵,张耀中,于淼,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定水中双酰胺类杀虫剂的残留量[J].农药科学与管理,2021, 42(2):38-43
- HAN Shuaibing, ZHANG Yaozhong, YU Miao, et al. Determination of diamide insecticides residues in water by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Pesticide Science and Administration, 2021, 42(2): 38-43
- [22] 何家国,杜鑫,周凤蓉,等.超高效液相色谱-串联质谱法同时测定柑橘中 6 种农药残留[J].农药科学与管理,2021,42(5): 35-44
- HE Jianguo, DU Xin, ZHOU Fengrong, et al. Simultaneous determination of 6 pesticide residues in citrus by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Pesticide Science and Administration, 2021, 42(5): 35-44
- [23] 史梦竹,李建宇,刘文静,等.6 种杀虫剂在上海青中的残留消解动态及膳食风险评估[J].食品安全质量检测学报,2021, 12(2):646-652
- SHI Mengzhu, LI Jianyu, LIU Wenjing, et al. Residue dynamics and dietary intake risk assessment of 6 kinds of pesticides in *Brassica rapa* var. *Chinensis* [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(2): 646-652
- [24] 毕思远,曹涛,朱志强,等.SPE-HPLC/MS 法监测蓝莓等浆果中氟啶虫酰胺和溴氰虫酰胺残留[J].食品工业,2020,41(9): 289-292
- BI Siyuan, CAO Tao, ZHU Zhiqiang, et al. SPE-HPLC/MS method for detection of flonicamid and cyantraniliprole pesticides residues in blueberry and other berries [J]. The Food Industry, 2020, 41(9): 289-292
- [25] 丁金凤,徐春梅,张薇,等.QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定玉米植株和土壤中溴氰虫酰胺及其代谢物残留[J].农药学报,2018,20(1):83-89
- DING Jinfeng, XU Chunmei, ZHANG Wei, et al. QuEChERS-ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for determination of bromfenoxycarbonyl residues in corn plants and soil [J]. Journal of Pesticide Science, 2018, 20(1): 83-89

- DING Jinfeng, XU Chunmei, ZHANG Wei, et al. Determination of cyantraniliprole and its metabolite in maize plant and soil by QuEChERS and ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2018, 20(1): 83-89
- [26] DONG Hao, XIAN Yanping, LI Haixia, et al. Analysis of heterocyclic aromatic amine profiles in Chinese traditional bacon and sausage based on ultrahigh-performance liquid chromatograph-quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry (UHPLC-Q-Orbitrap-HRMS) [J]. Food Chemistry, 2020, 310: 125937
- [27] Gago-Ferrero Pablo, Bletsou Anna A, Damalas Dimitrios E, et al. Wide-scope target screening of & 2000 emerging contaminants in wastewater samples with UPLC-Q-ToF-HRMS/MS and smart evaluation of its performance through the validation of 195 selected representative analytes [J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 387: 121712
- [28] 刘敏敏,谢晓霞,陈俏,等.液相色谱-质谱联用法(HPLC-MS/MS)快速测定凉茶中的5种罂粟壳类生物碱[J].食品工业科技,2021,42(23):266-272
- LIU Minmin, XIE Xiaoxia, CHEN Qiao, et al. Rapid determination of five alkaloids in poppy shell in herbal tea by HPLC-MS/MS [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(23): 266-272
- [29] 周旻,何秀芬,董存柱,等.苯醚甲环唑和噻呋酰胺在香蕉上的残留消解及膳食风险评估[J].热带作物学报,2020,43(3): 596-602
- ZHOU Min, HE Xiufen, DONG Cunzhu, et al. Dissipation, residues and dietary risk assessment of difenoconazole and thifluzamide in banana [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2020, 43(3): 596-602
- [30] LU Zhou, ZHANG Zhongbei, FANG Nan, et al. Simultaneous determination of five diamide insecticides in food matrices using carbon nanotube multiplug filtration cleanup and ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(39): 10977-10983
- [31] 梁秀美,张维一,张微,等.QuEChERS-HPLC-MS/MS同时测定水果中38种农药的残留量[J].食品科学,2020,41(8):288-296
- LIANG Xiumei, ZHANG Weiyi, ZHANG Wei, et al. Simultaneous determination of residues of 38 pesticides in fruits by QuEChERS combined with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Science, 2020, 41(8): 288-296
- [32] 孙强,李玉博,温广月,等.分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定农产品中乙拌磷及其代谢物[J].色谱,2022, 40(2):130-138
- SUN Qiang, LI Yubo, WEN Guangyue, et al. Determination of disulfoton and its metabolites in agricultural products by dispersive solid phase extraction-ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2022, 40(2): 130-138
- [33] 毛江胜,陈子雷,李慧冬,等.毒死蜱、吡虫啉、螺虫乙酯及其代谢物和苯醚甲环唑在梨中的残留消解动态[J].农药学报,2019,21(3):395-400
- MAO Jiangsheng, CHEN Zilei, LI Huidong, et al. Residues and dissipation dynamics of chlorpyrifos, imidacloprid, spirotetramat and its metabolites, difenoconazole in pear [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2019, 21(3): 395-400
- [34] 胡秀卿,张昌朋,俞建忠,等.稻米中苯醚甲环唑残留及其膳食摄入风险评估[J].浙江农业科学,2019,60(10):1873-1876, 1881
- HU Xiuqing, ZHANG Changpeng, YU Jianzhong, et al. Residue of difenoconazole in rice and risk assessment of dietary intake [J]. Zhejiang Agricultural Science, 2019, 60(10): 1873-1876, 1881
- [35] 何宗桃,肖成忠,邓军.UPLC-MS/MS法测定青钱柳茶中5种农药残留量[J].湖南农业科学,2020,5:72-74,77
- HE Zongtao, XIAO Chengzhong, DENG Jun. Determination of 5 kinds of pesticide residues in *Cyclocarya paliurus* drink by UPLC-MS/MS [J]. Hunan Agricultural Science, 2020, 5: 72-74, 77
- [36] 李安英,张少军,陈勇达,等.溴氰虫酰胺和吡蚜酮在南瓜中的残留消解动态[J].中国蔬菜,2021,1:79-83
- LI Anying, ZHANG Shaojun, CHEN Yongda, et al. Residues and digestion dynamics of cyantraniliprole and pymetrozine in pumpkin [J]. China Vegetables, 2021, 1: 79-83
- [37] GB 2763-2021,食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S]
- GB 2763-2021, National food safety standard - Maximum residue limits for pesticides in food [S]