超高效液相色谱-串联质谱法快速分析氰霜唑及其代谢物 CCIM 在水果中的残留

符灵梅， 王玉健*， 徐 莉， 纪少凡
（海口海关技术中心，海南 海口 570311）

摘要： 为评价氰霜唑及其主要代谢物 4-氯-5-(4-甲苯基)-1H-咪唑-2-腈(CCIM)在水果中的安全性，建立了同时检测氰霜唑及其代谢物 CCIM 的高效液相色谱-串联质谱法。待测样品采用含体积分数 1.0%乙酸的乙腈溶液提取，经十八烷基硅烷键合相(C_{18})粉末和弗罗里硅土粉末净化后，以 Capcell PAK C_{18} 色谱柱(150 mm×2.0 mm，5 μm)进行 UPLC 分离，采用质谱多重反应监测模式(MRM)进行测定。结果表明，氰霜唑和 CCIM 在 0.001~0.040 μg/mL 时，质量浓度与峰面积呈良好的线性关系(R≥0.999 3)，在 0.004~0.080 mg/kg 添加水平内，氰霜唑和 CCIM 回收率分别为 80.71%~103.27%和 76.62%~100.20%；相对标准偏差分别为 4.14%~11.15%和 3.24%~11.16%，检出限和定量限分别为 0.001 5~0.003 8 mg/kg 和 0.003 0~0.007 9 mg/kg。该方法简单快速、分析时间短、灵敏度及准确度高，能够满足快速定性、定量检测水果样品中氰霜唑及 CCIM 的残留量。

关键词： 超高效液相色谱-串联质谱法；氰霜唑；农药残留
中图分类号：S 481.8　**文章编号：**1673-1689(2022)09-0093-11　**DOI：**10.3969/j.issn. 1673-1689.2022.09.011

Rapid Analysis of Cyazofamid and CCIM Residues in Fruits by Ultra-High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry

FU Lingmei， *WANG Yujian**， *XU Li*， *JI Shaofan*
（Technology Center of Haikou Customs, Haikou 570311, China）

Abstract: A high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) method was established for the simultaneous determination of cyazofamid and its major metabolite 4-chloro-5-(4-methylphenyl)-1H-imidazol-2-nitrile (CCIM) to evaluate their safety in fruits. The sample was extracted with acetonitrile containing 1.0% acetate acid and purified with octadecylsilane bonded phase (C_{18}) powder and Florisil powder. Then the UPLC separation of sample was performed on Capcell PAK C_{18} column (150 mm×2.0 mm, 5 μm) and determined with multiple reaction monitoring mode (MRM) through HPLC-MS/MS. The results showed good linear relationships between the peak areas and the mass concentrations for both cyazofamid and CCIM in the range of 0.001~0.040 μg/mL (R≥0.999 3). When the spiked levels were between 0.004~0.080 mg/kg, the recoveries of cyazofamid and CCIM were in the range of 80.71%~103.27% and 76.62%~100.20%,

收稿日期： 2021-03-29
基金项目： 海南省重点研发计划项目(ZDYF2019106)；海关技术规范计划项目(2019B111)。
* **通信作者：** 王玉健(1979—)，女，博士，研究员，主要从事食品中有毒有害物残留检测研究。E-mail：wyj_success@sohu.com

respectively, and the relative standard deviations were between 4.14%~11.15% and 3.24%~11.16%, respectively. The LODs and LOQs of cyazofamid and CCIM in fruits were between 0.001 5~0.003 8 mg/kg and 0.003 0~0.007 9 mg/kg, respectively. The method was simple, rapid, high sensitivity and accurate, which could satisfy the rapid qualitative and quantitative detection of cyazofamid and CCIM residues in fruit samples.

Keywords: ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, cyazofamid, pesticide residue

氰霜唑(cyazofamid)是2000年由日本石原产业株式会社合成,并与巴斯夫共同开发的咪唑类保护性杀菌剂。氰霜唑对卵菌纲病原菌如疫霉菌、腐霉菌等具有很高的杀菌活性[1-2]。2013年,我国如东众意化工有限公司成为首家获得氰霜唑原药产品登记的企业。目前我国批准登记的作物和防治对象共9种,分别是番茄晚疫病、马铃薯晚疫病、荔枝树霜疫霉病、黄瓜霜霉病、葡萄霜霉病、观赏菊花霜霉病、蔷薇科观赏花卉霜霉病、西瓜疫病、大白菜根肿病等。氰霜唑使用后会迅速分解,CCIM是氰霜唑在植物体内的主要降解产物,比氰霜唑的毒性高[3]。两者在农副产品中残留可能会通过膳食摄入给人们带来潜在风险。因此,我国的GB 2763—2016《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》标准中规定了氰霜唑及其代谢物在葡萄、荔枝和西瓜的最大残留限量为1、0.02、0.5 mg/kg;日本对氰霜唑及其代谢物在橙、苹果、油桃和菠萝中规定的最大残留限量为5、1、1、1 mg/kg。

目前,国内外对氰霜唑的残留分析主要有LC-MS/MS法、LC-DAD法和电化学法,这些方法或者只是建立了氰霜唑母体的分析方法,或者样品前处理烦琐,有机试剂用量较大。该研究采用超高效液相色谱-串联质谱技术,并结合QuEChERS样品前处理方法,建立了同时定性、定量测定水果中氰霜唑及其代谢物CCIM残留量的分析方法,该方法前处理简单、能快速定性及定量、准确度高、重现性好,可为开展氰霜唑及其代谢物CCIM在水果中残留的监管提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

氰霜唑(纯度98.7%):Dr.Ehrenstorfer公司产品;CCIM(纯度99.9%):first standard公司产品;乙腈、乙酸、甲酸(均为色谱纯):美国Fisher公司产品;无水硫酸镁(分析纯):广州试剂有限公司产品;氯化钠(分析纯):国药集团化学试剂有限公司产品;十八烷基硅烷键合相(C_{18})、弗罗里硅土:Agilent公司产品;Milli-Q超纯水:法国Millipore公司产品。

超高效液相色谱仪(UPLC):美国WATERS公司产品;API 4000Q四极杆质谱仪(配有电喷雾离子源):美国AB公司产品;Harvard II针泵:美国Varian公司产品;MS3Basic旋涡混匀器:德国IKA公司产品;Centrifuge 5810R离心机:Eppendorf公司产品;G-285电子天平:Mettler公司产品。

1.2 样品前处理

水果样品取可食部分切碎、混匀。称取待测样品5.000 g于50 mL具塞离心管中,加入20 mL含体积分数1.0%乙酸的乙腈溶液,涡旋振荡2 min,加入4 g无水硫酸镁和1 g氯化钠,涡旋混合3 min,以9 000 r/min离心5 min,取上清液1.0 mL于玻璃离心管中,分别各加入50 mg C_{18}粉末和弗罗里硅土粉末,涡旋混合30 s,以3 000 r/min离心3 min,上清液过0.2 μm有机滤膜,待测。

1.3 仪器条件

色谱条件:色谱柱为Capcell PAK C_{18}(150 mm×2.0 mm,5 μm);流动相:A为乙腈,B为体积分数0.1%甲酸水溶液,梯度洗脱;流量:0.75 mL/min;进样量:5 μL。

质谱条件:电喷雾离子源(ESI),温度550 ℃,电压5 500 V;雾化气、气帘气、辅助气和碰撞气均为高纯氮气;正离子多反应监测(MRM)模式。

2 结果与讨论

2.1 提取溶剂的选择

根据文献报道,国内外对氰霜唑和CCIM残留的分析均采用QuEChERS前处理方法,提取溶剂采

用乙腈或含体积分数 1.0%乙酸的乙腈,均能得到较好的回收率和精密度。为比较乙腈、含乙酸乙腈的提取效果,采用标准添加法,分别用乙腈、含体积分数 1.0%乙酸的乙腈对氰霜唑和 CCIM 标准物质进行提取(加标量为 0.1 μg),计算回收率并采用 SPSS (Version 19.0) 对数据进行配对样本 T 检验 (P<0.05)分析。结果表明,使用乙腈和含体积分数 1.0%乙酸的乙腈作为提取溶剂时,氰霜唑回收率的显著性为 0.001(P<0.05),CCIM 回收率的显著性为 0.004(P<0.05),差异显著,且使用乙腈作为提取溶剂时,氰霜唑回收率为 90.1%~127.0%,RSD 为 11.67%,CCIM 回收率为 85.2%~147.0%,RSD 为 18.98%,超出 GB/T 27417—2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》对回收率的要求。使用含体积分数 1.0%乙酸的乙腈作为提取溶剂时,氰霜唑回收率为 76.4%~105.0%,RSD 为 7.28%,CCIM 回收率为 83.8%~108.0%,RSD 为 7.35%,满足 GB/T 27417—2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》的相应要求。

在 pH 为 4.90~9.56 时,酸性越强,氰霜唑在水溶液中就越稳定;随着 OH^-离子浓度升高,氰霜唑的磺酸(叔)胺基团越不稳定[4]。为考察乙酸体积分数对氰霜唑、CCIM 回收率的影响,采用标准添加法,考察体积分数分别为 0.1%、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%时乙酸乙腈溶液的提取回收率,并采用 SPSS (Version 19.0)的 Duncan 多重比较检验法进行显著性分析(P<0.05),结果见表 1。当提取液乙酸体积分数达到 1.0%后,氰霜唑和 CCIM 的平均回收率无显著性差异,因此选择提取液中乙酸体积分数为1.0%。

2.2 提取溶剂体积的选择

分别使用 5、10、15、20、25、30 mL 含乙酸体积分数 1.0%的乙腈提取 1.0 μg 氰霜唑和 CCIM 标准物质,上机进行检测,以提取液体积为横坐标,以平均回收率为纵坐标绘图,结果见图 1。提取液体积为 20 mL 时,可将 1.0 μg 氰霜唑和 CCIM 提取完全,因此选择提取液体积为 20 mL。

表 1 乙酸体积分数对氰霜唑、CCIM 回收率的影响及差异显著性分析(n=10)

Table 1 Influence of acetic acid volume fraction on the recoveries and significance analysis of cyazofamid and CCIM(n=10)

乙酸体积分数/%	氰霜唑		CCIM	
	回收率/%	平均回收率/%	回收率/%	平均回收率/%
0.1	108.00	108.13±5.50[a]	109.75	110.68±3.42[a]
	107.25		109.50	
	112.00		107.25	
	93.50		109.25	
	108.00		118.00	
	112.00		108.75	
	108.25		113.00	
	112.75		106.75	
	109.25		110.50	
	110.25		114.00	
0.5	110.50	107.63±5.09[a]	112.25	111.70±3.68[a]
	109.50		108.75	
	106.75		113.25	
	106.50		104.50	
	108.25		109.25	
	110.25		114.00	
	109.50		114.75	
	94.75		115.75	
	106.25		109.00	
	114.00		115.50	

续表 1

乙酸体积分数/%	氰霜唑		CCIM	
	回收率/%	平均回收率/%	回收率/%	平均回收率/%
1.0	103.25	96.43±6.66[b]	103.75	105.43±4.46[b]
	106.25		104.75	
	100.25		109.50	
	95.25		109.00	
	93.75		106.50	
	81.50		112.00	
	96.00		105.75	
	97.25		101.25	
	97.25		105.50	
	93.50		96.25	
1.5	97.00	96.15±5.47[b]	99.00	104.53±3.43[b]
	103.50		106.00	
	98.25		109.50	
	97.25		104.75	
	97.75		99.00	
	94.50		106.25	
	97.75		102.25	
	82.25		106.25	
	94.75		105.25	
	98.50		107.00	
2.0	106.75	94.73±7.51[b]	105.25	105.85±3.79[b]
	85.75		101.50	
	90.75		106.75	
	97.75		113.00	
	96.00		101.50	
	95.75		106.00	
	107.25		105.25	
	88.00		108.00	
	90.25		101.50	
	89.00		109.75	

注：不同字母代表差异显著(P<0.05)。

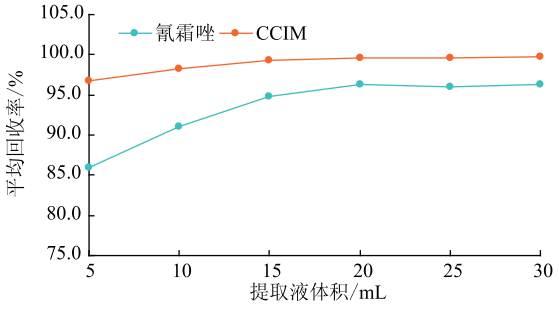


图 1 提取液体积与平均回收率关系图

Fig. 1 Diagram of extraction volume and average recovery rate

2.3 色谱条件的选择

根据文献报道，国内外对氰霜唑和 CCIM 的残留分析使用的色谱柱主要有：Phenomenex Kinetex C_{18} 柱（100 mm×2.1 mm×2.6 μm）[5]、BEH C_{18} 柱（100 mm×2.1 mm ×1.7 μm）[6]、Agilent Eclipse XDB-C_{18} 柱（150 mm×4.6 mm×5 μm）[4]、Poroshell 120 EC-C_{18} 柱（100 mm×3.0 mm×2.7 μm）[7]、XBridge-C_{18} 柱（150 mm×2.1 mm×3.5 μm）[8]、Agilent Eclipse XDB-C_{18} 柱（150 mm×2.1 mm×3.5 μm）[9]、Phenomenex Kinetex PFP 100A 柱（75 mm×4.6 mm×2.6 μm）[10]、Eclispe plus C_{18} RRHD 柱（50 mm×2.1 mm×1.8 μm）[11]、Trace

Excel 120ODSA 柱(100 mm×4.6 mm×5 μm)[12]。由以上文献可见,国内外对氰霜唑和 CCIM 的残留分析使用的色谱柱主要以 C_{18} 为填料。作者考察了 C_{18} 填料、C_8 填料、苯基柱等 3 类常见反相柱,包括 Capcell PAK C_{18} (2.0 mm×100 mm,5 μm)、Capcell PAK C_{18} (2.0 mm×150 mm,5 μm)、Thermo Accjore C_{18}(3.0 mm×150 mm,2.6 μm)、Phenomenex Kinetex XB-C_{18}(3.0 mm×150 mm,2.6 μm)、BEH C_8(2.1 mm×50 mm,1.7 μm)、Eclipse XDB-C_8 (4.6 mm×150 mm,5 μm)、Capcell PAK PFP(2.0 mm×150 mm,5 μm)等。结果发现,在表 2 中洗脱梯度下,Capcell PAK C_{18}(2.0 mm×150 mm,5 μm)分析柱分离效果优于其他反相柱。同时还分别使用甲醇、乙腈作为流动相 A,水、体积分数 0.1%甲酸水作为流动相 B,结果发现,使用乙腈作为流动相 A、体积分数 0.1%甲酸水作为流动相 B 时,较之甲醇-水、甲醇-体积分数 0.1%甲酸水和乙腈-水流动相,基线平稳,且峰形好。因此选择 Capcell PAK C_{18} 柱(2.0 mm×150 mm,5 μm)作为分析柱,乙腈作为流动相 A,体积分数 0.1%甲酸水作为流动相 B,梯度洗脱条件见表 2。在上述条件下,0.02 μg/mL 氰霜唑及其代谢物 CCIM 标准溶液的 MRM 色谱图见图 2。

表 2 流动相梯度洗脱条件

Table 2 Mobile phase gradient elution conditions

时间/min	流动相 A 体积分数/%	流动相 B 体积分数/%
0.0	10	90
0.2	80	20
1.0	95	5
3.5	95	5
4.0	10	90
5.0	10	90

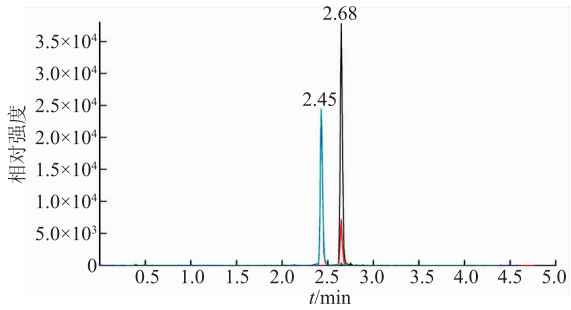


图 2 氰霜唑及其代谢物 CCIM 标准溶液的总离子流图

Fig. 2 Total ion flow diagram of cyazofamid and CCIM standard solution

2.4 质谱条件的优化及选择

将氰霜唑和 CCIM 标准品溶液采用流动注射直接进样,通过全扫描确定化合物母离子,再对母离子进行二级质谱扫描,得到碎片离子,通过优化条件,得到二级质谱图。通过 MRM 选择相对丰度较高的离子对,确定为定性、定量离子对,并优化去簇电压、碰撞电压等参数,综合考量离子丰度、背景干扰等因素,确定质谱条件见表 3,采用电喷雾离子源(ESI),温度 550 ℃,电压 5 500 V,雾化气、气帘气、辅助气和碰撞气均为高纯氮气,MRM 模式。氰霜唑和 CCIM 子离子全扫描质谱图见图 3、图 4。

表 3 离子对及相关电压参数

Table 3 Ion pairs and related voltage parameters

化合物	相对分子质量	m/z		去簇电压/V	碰撞电压/V
		母离子	子离子		
氰霜唑	324.79	325.1	108.0*	130	20
			261.1	130	15
CCIM	217.65	218.1	139.0*	150	20
			183.3	150	25

注:* 为定量离子对。

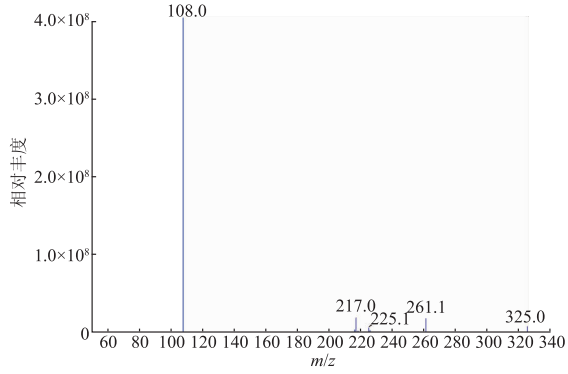


图 3 氰霜唑子离子全扫描质谱图

Fig. 3 Total scanning of ion mass -spectrogram of cyazofamid

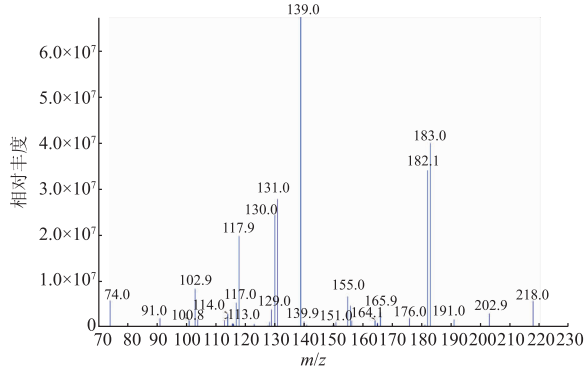


图 4 CCIM 子离子全扫描质谱图

Fig. 4 Total scanning of ion mass-spectrogram of CCIM

2.5 净化方法的选择

由于水果基质复杂,直接提取上机分析会使色素、甾醇和维生素等杂质残留于分析柱及仪器中,需采用 QuEChERS 前处理方法进一步净化[13-14]。分别添加各 50 mg 的 PSA 粉末、C_{18} 粉末、石墨化炭黑粉末、弗罗里硅土粉末于 0.010 mg/kg 氰霜唑和 CCIM 混合标准溶液中,测定其回收率。结果发现 PSA 粉末、石墨化炭黑粉末对氰霜唑和 CCIM 有吸附保留,氰霜唑和 CCIM 的回收率分别为 7.9%~29.4%和 0~35.8%;使用 C_{18} 粉末净化时,氰霜唑和 CCIM 的回收率分别为 83.2%~90.6%和 87.9%~93.5%;使用弗罗里硅土粉末净化时,氰霜唑和 CCIM 的回收率分别为 82.5%~93.2%和 89.1%~101.0%;而使用 C_{18} 粉末和弗罗里硅土粉末作为净化剂时,氰霜唑和 CCIM 的回收率分别为 88.4%~110.0%、95.2%~108.0%。由此可见,C_{18} 粉末和弗罗里硅土粉末混合使用时,净化效果较佳。因此,选择 C_{18} 粉末和弗罗里硅土粉末作为净化剂。

2.6 基质效应的评价

基质效应(MEs)评价是将在基质匹配校准中获得的斜率与在标准溶液校准中获得的斜率进行比较,并计算氰霜唑和 CCIM 的基质与溶剂的斜率比,使用以下公式计算:MEs(%)=(基质匹配校准中获得的斜率/标准溶液校准中获得的斜率-1)×100。通过比较乙腈与不同基质匹配标准溶液的基质效应(质量浓度为 0.001~0.040 μg/mL)可得,氰霜唑在葡萄、荔枝、西瓜、苹果、油桃、橙、菠萝中的 MEs 分别为 53.85%、32.74%、27.61%、3.70%、4.32%、13.68%、11.84%;CCIM 在葡萄、荔枝、西瓜、苹果、油桃、橙、菠萝中的 MEs 分别为 33.73%、40.70%、40.58%、7.75%、5.13%、2.73%、7.09%。由此可见,不同样品基质效应差异显著,因此选择基质标准曲线作为定量的校准曲线。

2.7 基质标准曲线的配制

准确吸取一定量的混合标准使用液,用空白基质提取液逐级稀释成质量浓度为 0.001、0.002、0.005、0.010、0.020、0.040 μg/mL 的基质混合标准工作溶液,供液相色谱-串联质谱联用仪测定,以定量离子峰面积为纵坐标,基质标准溶液质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。线性方程及相关系数见表 4。

表 4 氰霜唑和 CCIM 基质标准曲线的线性回归方程及相关系数

Table 4 Linear regression equation and correlation coefficient of matrix standard curves of cyazofamid and CCIM

化合物	基质提取液	回归方程	r
氰霜唑	葡萄基质提取液	$Y=1.68\times10^6X$	0.999 7
	荔枝基质提取液	$Y=2.23\times10^6X$	0.999 9
	西瓜基质提取液	$Y=1.18\times10^6X$	0.999 3
	苹果基质提取液	$Y=1.56\times10^6X$	0.999 9
	油桃基质提取液	$Y=1.33\times10^6X$	0.999 6
	橙基质提取液	$Y=3.66\times10^6X$	0.999 8
	菠萝基质提取液	$Y=5.36\times10^6X$	0.999 4
CCIM	葡萄基质提取液	$Y=1.12\times10^6X$	0.999 9
	荔枝基质提取液	$Y=1.12\times10^6X$	0.999 9
	西瓜基质提取液	$Y=6.18\times10^5X$	0.999 8
	苹果基质提取液	$Y=1.07\times10^6X$	0.999 4
	油桃基质提取液	$Y=8.50\times10^5X$	0.999 9
	橙基质提取液	$Y=6.77\times10^5X$	0.999 3
	菠萝基质提取液	$Y=1.36\times10^6X$	0.999 7

2.8 方法检出限和定量限

根据 GB/T 27417—2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》,采用空白标准偏差评估法确定方法检出限和定量限,加入最低可接受质量浓度的样品作为空白独立测定 10 次,得出结果的标准偏差(s),以(空白平均值+4.65s)作为检出限,以(空白平均值+10s)作为定量限,结果见表 5。该方法对葡萄、荔枝、西瓜、苹果、油桃、橙、菠萝的定量限满足国内外对氰霜唑及其代谢物 CCIM 的限量要求。

2.9 方法的精密度、重复性和准确度

在葡萄、荔枝、西瓜、苹果、油桃、橙、菠萝阴性样品中按照表 6 至表 12 中的添加水平添加氰霜唑

表 5　不同基质中氰霜唑和 CCIM 的检出限和定量限

Table 5　LOD and LOQ of cyazofamid and CCIM in different matrices

基质	化合物	空白平均值/(mg/kg)	最低可接受质量浓度添加水平的标准偏差	检出限/(mg/kg)	定量限/(mg/kg)
葡萄	氰霜唑	0.000 078 7	0.000 354 0	0.001 7	0.003 6
	CCIM	0.000 107 0	0.000 323 7	0.001 6	0.003 3
荔枝	氰霜唑	0.000 327 5	0.000 734 3	0.003 7	0.007 7
	CCIM	0.000 350 0	0.000 751 0	0.003 8	0.007 9
西瓜	氰霜唑	0.000 110 2	0.000 375 8	0.001 9	0.003 9
	CCIM	0.000 153 0	0.000 376 4	0.001 9	0.003 9
苹果	氰霜唑	0.000 127 7	0.000 344 4	0.001 7	0.003 6
	CCIM	0.000 096 0	0.000 362 8	0.001 8	0.003 7
油桃	氰霜唑	0.000 114 0	0.000 329 0	0.001 6	0.003 4
	CCIM	0.000 070 0	0.000 384 5	0.001 9	0.003 9
橙	氰霜唑	0.000 082 2	0.000 336 8	0.001 6	0.003 5
	CCIM	0.000 127 0	0.000 290 3	0.001 5	0.003 0
菠萝	氰霜唑	0.000 473 0	0.000 306 2	0.001 9	0.003 5
	CCIM	0.000 084 0	0.000 389 4	0.001 9	0.004 0

和 CCIM 标准溶液，每个进行 6 次平行添加回收实验,结果表明,在 0.004~0.080 mg/kg 添加水平内,氰霜唑和 CCIM 平均回收率分别为 80.71%~103.27%和 76.62%~100.20%；相对标准偏差分别为 4.14%~11.15%和 3.24%~11.16%，满足 GB/T 27417—2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》标准规定的要求。

表 6　葡萄样品添加回收率及 RSD(n=6)

Table 6　Recovery rate and RSD of grape sample(n=6)

基质	次数	添加水平/(mg/kg)	氰霜唑			CCIM		
			回收率/%	平均回收率/%	RSD/%	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
葡萄	1	0.004	103.87	98.14	9.69	93.28	96.03	8.85
	2		89.42			106.90		
	3		108.86			84.69		
	4		89.29			99.48		
	5		89.57			88.00		
	6		107.84			103.85		
	7	0.008	93.37	95.95	5.75	88.38	84.63	8.36
	8		91.39			83.40		
	9		92.88			78.90		
	10		93.38			81.90		
	11		97.84			75.87		
	12		106.84			99.35		
	13	0.040	80.11	87.62	4.89	73.12	76.62	3.24
	14		85.12			73.74		
	15		88.42			78.73		
	16		88.55			74.96		
	17		88.52			77.64		
	18		94.99			81.51		

表 7　荔枝样品添加回收率及 RSD(n=6)

Table 7　Recovery rate and RSD of lychee sample(n=6)

基质	次数	添加水平/(mg/kg)	氰霜唑			CCIM		
			回收率/%	平均回收率/%	RSD/%	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
荔枝	1	0.008	78.73	96.72	11.15	74.94	84.48	6.57
	2		103.44			93.10		
	3		103.81			86.44		
	4		90.14			81.73		
	5		94.96			89.68		
	6		109.21			81.02		
	7	0.016	78.60	93.54	10.12	72.13	79.89	6.64
	8		96.66			77.23		
	9		90.57			91.34		
	10		88.28			75.81		
	11		98.99			82.08		
	12		108.13			80.72		
	13	0.080	82.89	90.77	5.70	77.70	83.12	5.55
	14		87.23			79.38		
	15		89.45			80.07		
	16		99.64			92.83		
	17		92.83			85.77		
	18		92.57			82.99		

表 8　西瓜样品添加回收率及 RSD(n=6)

Table 8　Recovery rate and RSD of watermelon sample(n=6)

基质	次数	添加水平/(mg/kg)	氰霜唑			CCIM		
			回收率/%	平均回收率/%	RSD/%	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
西瓜	1	0.004	90.88	98.13	10.55	97.87	89.48	11.16
	2		88.15			94.55		
	3		109.89			93.71		
	4		87.20			73.73		
	5		108.77			77.14		
	6		103.89			99.89		
	7	0.008	94.39	90.43	8.10	85.90	88.60	10.03
	8		87.95			83.96		
	9		90.00			83.50		
	10		80.32			83.81		
	11		103.99			108.98		
	12		85.96			85.46		
	13	0.040	85.56	88.71	5.04	79.78	83.84	5.46
	14		88.10			86.10		
	15		86.34			78.45		
	16		85.27			81.47		
	17		98.67			93.48		
	18		88.32			83.73		

表 9　苹果样品添加回收率及 RSD(n=6)

Table 9　Recovery rate and RSD of apple sample(n=6)

基质	次数	添加水平/(mg/kg)	氰霜唑			CCIM		
			回收率/%	平均回收率/%	RSD/%	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
苹果	1	0.004	104.64	100.32	6.86	94.18	94.00	6.81
	2		87.82			84.87		
	3		105.87			95.99		
	4		101.68			104.68		
	5		97.27			88.70		
	6		104.63			95.56		
	7	0.008	99.97	97.37	5.89	72.61	84.31	7.74
	8		94.81			86.32		
	9		88.37			82.67		
	10		106.27			82.82		
	11		97.16			84.70		
	12		97.67			96.72		
	13	0.040	90.88	91.53	4.14	88.79	83.80	5.46
	14		92.47			75.23		
	15		96.97			83.98		
	16		92.16			88.67		
	17		92.47			86.68		
	18		84.23			79.44		

表 10　油桃样品添加回收率及 RSD(n=6)

Table 10　Recovery rate and RSD of nectarine sample(n=6)

基质	次数	添加水平/(mg/kg)	氰霜唑			CCIM		
			回收率/%	平均回收率/%	RSD/%	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
油桃	1	0.004	86.68	95.55	9.51	101.72	100.20	8.98
	2		109.75			90.75		
	3		101.84			107.83		
	4		90.66			87.50		
	5		85.65			108.66		
	6		98.72			104.74		
	7	0.008	103.66	101.31	5.95	102.72	95.86	8.04
	8		105.25			93.31		
	9		96.26			88.81		
	10		90.65			91.73		
	11		98.77			89.82		
	12		105.75			108.76		
	13	0.040	88.65	103.27	7.69	95.21	91.79	5.28
	14		106.75			92.18		
	15		108.73			83.39		
	16		106.88			88.40		
	17		107.86			93.18		
	18		100.75			98.38		

表 11　橙样品添加回收率及 RSD(n=6)

Table 11　Recovery rate and RSD of orange sample(n=6)

基质	次数	添加水平/(mg/kg)	氰霜唑			CCIM		
			回收率/%	平均回收率/%	RSD/%	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
橙	1	0.004	96.79	82.74	9.32	101.85	95.95	6.16
	2		72.20			90.76		
	3		88.71			103.87		
	4		79.39			95.95		
	5		85.13			95.38		
	6		74.21			87.89		
	7	0.008	82.93	80.71	8.27	104.41	92.85	8.60
	8		78.91			102.88		
	9		79.40			90.89		
	10		95.79			85.29		
	11		74.89			87.87		
	12		72.32			85.79		
	13	0.040	91.57	85.47	6.83	87.97	98.57	7.97
	14		76.58			99.45		
	15		83.57			99.17		
	16		82.05			91.04		
	17		83.66			108.94		
	18		95.40			104.88		

表 12　菠萝品添加回收率及 RSD(n=6)

Table 12　Recovery rate and RSD of pineapple sample(n=6)

基质	次数	添加水平/(mg/kg)	氰霜唑			CCIM		
			回收率/%	平均回收率/%	RSD/%	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
菠萝	1	0.004	98.34	82.94	9.13	96.44	80.53	9.03
	2		86.10			83.11		
	3		72.07			73.77		
	4		84.23			72.53		
	5		76.27			82.58		
	6		80.64			74.74		
	7	0.008	82.84	81.87	7.04	77.85	79.29	6.31
	8		81.94			74.94		
	9		76.54			83.29		
	10		94.58			90.03		
	11		74.37			76.62		
	12		80.98			72.98		
	13	0.040	81.51	84.08	6.97	87.92	82.00	5.24
	14		88.22			81.32		
	15		72.95			78.95		
	16		86.22			83.22		
	17		93.42			86.83		
	18		82.17			73.79		

3 结 语

选用 QuEChERS 前处理方法,结合超高效液相色谱–串联质谱技术,建立了同时检测葡萄、荔枝、西瓜、苹果、油桃、橙和菠萝基质样品中氰霜唑及其代谢物 CCIM 残留量的方法。该方法操作简单、快速、准确、灵敏度高、重现性好,可为农业部门、市场监管部门和第三方检测机构提供技术参考。

参考文献:

[1] CAMARA A,MARTINEZ G,CERMENO S,et al. Influence of fungicide residues and *in vitro* gastrointestinal digestion on total antioxidant capacity and phenolic fraction of Graciano and Tempranillo red wines[J]. **Journal of Environmental Science and Health**,2019,54(12):942-947.

[2] ZHANG P F,GUAN A Y,XIA X L,et al. Design,synthesis,and structure-activity relationship of new arylpyrazole pyrimidine ether derivatives as fungicides[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2019,67(43):11893-11900.

[3] Pesticides Experts Committee. Evaluation report cyazofamid[EB/OL].(2004-09-25)[2019-05-12]. http://www.fsc.jp/english/evalua tionreports/pesticide/cyazofamid_fullreport.

[4] WU S Z,YU W W,SUM C Y,et al. Simultaneous determination of residues of metalaxyl,cyazofamid and a cyazofamid metabolite in tobacco leaves and soil by liquid chromatography with tandem mass spectrometry[J]. **Biomedical Chromatography**,2018,32(4):1-6.

[5] LEE H ,KIM E ,LEE J H ,et al. Analysis of cyazofamid and its metabolite in the environmental and crop samples using LC-MS/MS[J]. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**,2014,93(5):586-590.

[6] XU Z L,ZHANG C P,YU J Z,et al. Field investigations of dissipations and residues of cyazofamid in soil and tomato:risk assessment of human exposure to cyazofamid via tomato intake[J]. **Environmental Science and Pollution Research**,2017,24(4):3483-3492.

[7] GRACIA M,ASCENSION M,ALBA M,et al. Determination of nine fungicides in grape and wine using QuEChERS extraction and LC/MS/MS analysis[J]. **Journal of AOAC International**,2015,98(6):1745-1751.

[8] 张翠芳,陈兆杰,宋世明,等. QuEChERS- 超高效液相色谱 - 串联质谱分析氰霜唑及代谢物 CCIM 在黄瓜和土壤中的残留[J]. 农药学学报,2018,20(2):204-210.

[9] 赵民娟,郭虹娜,邵华,等. 高效液相色谱 - 串联质谱法测定黄瓜与土壤中烯酰吗啉和氰霜唑及其代谢物的残留量[J]. 分析测试学报,2018,37(11):1316-1321.

[10] 朱光艳,郑尊涛,简秋,等. 氰霜唑及其代谢物在葡萄和土壤中的残留规律[J]. 农药,2015,54(6):438-441.

[11] 张爱娟,梁林,马新刚,等. 高效液相色谱串联质谱法快速检测大白菜中氰霜唑及其代谢物和氟啶胺的残留[J]. 农药科学与管理,2018,39(11):48-53.

[12] 黄雅丽,吴慧明,毛黎娟,等. 高效液相色谱法测定黄瓜和土壤中的氰霜唑残留[J]. 浙江农业学报,2005,17(1):19-22.

[13] 聂鲲.水果中 26 种有机氯及拟除虫菊酯农药残留 GC-ECD 测定[J].食品与生物技术学报,2012,31(8):885-890.

[14] 钟冬莲,刘毅华,沈丹玉,等. 固相萃取 - 液相色谱 - 电喷雾串联质谱法 测定鲜枣中 14 种农药残留[J]. 食品与生物技术学报,2015,34(7):731-737.