

固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定美国进口水果中 15 种高风险农药及助剂残留

兰 丰¹, 李晓亮¹, 段小娜¹, 姜 蔚¹, 臧宏伟¹, 刘传德¹,
周先学¹, 鹿泽启¹, 王志新^{*1}, 华则科², 王添翼²

(1. 山东省烟台市农业科学研究院/农业农村部果品质量安全风险评估实验室(烟台), 山东 烟台 265500;

2. 莱阳市农业技术推广中心, 山东 莱阳 265200)

摘 要: 建立了固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱 (SPE-UPLC-MS/MS) 测定美国进口水果中 15 种高风险农药及助剂 (乙酰甲胺磷、灭多威、噻虫嗪、噻菌、啉虫脒、西玛津、啞霉胺、咯菌腈、啉酰菌胺、甲氧虫酰肼、腈菌唑、环酰菌胺、四氟醚唑、增效醚、毒死蜱) 残留量的分析方法。样品经破壁机匀浆, 乙腈涡旋提取, 氨基固相萃取柱净化, 岛津 Shim-pack XR-ODS 色谱柱分离 (75 mm × 2.0 mm, 1.6 μm)。采用电喷雾离子源多反应监测模式进行质谱检测, 外标法定量。在 0.001~0.5 mg/L 范围内, 15 种农药及助剂的质量浓度与对应的峰面积间线性关系良好, $R^2 \geq 0.9995$ 。以梨、葡萄和苹果 3 种基质为例验证了方法的准确度和精密度。结果表明: 在 0.005~0.5 mg/kg 添加水平下, 15 种农药及助剂的平均回收率在 80%~115% 之间, 相对标准偏差在 5.5%~16% 之间, 定量限为 0.005~0.01 mg/kg。该方法简便、快速、可靠, 适用于同时测定水果中上述 15 种农药及助剂残留。

关键词: 固相萃取; 超高效液相色谱-串联质谱; 进口水果; 高风险农药; 助剂; 最大残留限量

中图分类号: S481.8; O657.63; TQ450.263

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2019)04-0475-08

Determination of 15 high-risk pesticide and adjuvant residues in fruits from USA by solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LAN Feng¹, LI Xiaoliang¹, DUAN Xiaona¹, JIANG Wei¹, ZANG Hongwei¹, LIU Chuande¹,
ZHOU Xianxue¹, LU Zeqi¹, WANG Zhixin^{*1}, HUA Zeke², WANG Tianyi²

(1. Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Fruit (Yantai), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Yantai Academy of Agricultural Sciences in Shandong Province, Yantai 265500, Shandong Province, China; 2. Agricultural Technology Promotion Center of Laiyang, Laiyang 265200, Shandong Province, China)

Abstract: A method was developed for the quantitative determination of 15 high-risk pesticide and adjuvant (acephate, methomyl, thiamethoxam, thiabendazole, acetamiprid, simazine, pyrimethanil, fludioxonil, boscalid, methoxyfenozide, myclobutanil, fenhexamid, tetraconazole, piperonyl butoxide,

收稿日期: 2019-02-14; 录用日期: 2019-05-08.

基金项目: 国家农产品质量安全风险评估项目 (GJFP2019011); 山东省农业科学院农业科技创新工程: 山东省主要农产品质量安全风险评估与控制技术研究 (GXGC2016B17).

作者简介: 兰丰, 男, 农艺师, 研究方向为农产品质量安全与风险评估, E-mail: lanfeng9527@163.com; *王志新, 通信作者 (Author for correspondence), 男, 高级农艺师, 研究方向为农产品质量安全与风险评估, E-mail: 343684502@163.com

chlorpyrifos) residues by SPE-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (SPE-UPLC-MS/MS). The samples were homogenized, extracted with acetonitrile, and cleaned-up by amino solid phase extraction column. The separation was performed on a Shimadzu Shim-pack XR-ODS column (75 mm × 2.0 mm, 1.6 μm). The compounds were identified by MS/MS and multiple reaction monitoring (MRM) mode, and quantified by external standard method. The linearities of 15 pesticides and adjuvants were in the concentration range of 0.001-0.5 mg/L, with the correlation coefficients higher than 0.999 5. At the fortified levels from 0.005 mg/kg to 0.5 mg/kg in pear, grape and apple, the average recoveries of all 15 pesticides and adjuvants ranged from 80% to 115% with the relative standard deviations varied from 5.5% to 16%. The limits of quantification (LOQs) of the analytes were ranged from 0.005 to 0.01 mg/kg. This method is simple, rapid, accurate and therefore, suitable for the confirmation and quantification of the 15 pesticides and adjuvants in fruits.

Keywords: solid phase extraction; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS); imported fruits; high-risk pesticides; adjuvant; maximum residue limit (MRL)

随着国内水果消费结构升级和消费偏好多样性发展,对进口水果的需求和消费越来越大,不断推动水果进口量的增加^[1-2],而进口水果质量安全问题引起了研究者的关注。2006年天津出入境检验检疫局公布了进口水果质量安全存在7大问题,其中就包括农药残留和二氧化硫超标^[3];2011年山东检验检疫局检出进境冷冻水果多菌灵超标^[4];2017年深圳检验检疫局检进出口水果多菌灵和二氧化硫超标^[5]。中国农业农村部农产品质量安全监管局在2017年开展的果品质量安全风险评估专项中也包括进口水果的风险评估。美国是世界第五大水果生产国,也是世界主要水果出口国^[6]。中国水果进口量的增长很大一部分来自美国。鉴于美国与中国在地理环境及气候方面差异,水果栽培管理和农药使用种类及水平有很大不同,因此,监测和评估美国水果的质量应重点关注美国本土使用频次高、风险较大的农药种类。在美国农业部发布的2008—2017年农药数据项目(Pesticide Data Program, PDP)报告^[7]中指出,近些年美国农药残留量超标的水果有草莓、桃、蓝莓、西瓜、苹果和梨等,涉及15种农药及助剂,包括咯菌腈、啶酰菌胺、增效醚、甲氧虫酰肼、环酰菌胺、啶虫脒、毒死蜱、腈菌唑、四氟醚唑、乙酰甲胺磷、噻虫嗪、噻菌灵、啉霉胺、西玛津和灭多威。鉴于此,中国在对美国进口水果质量安全风险监测中也应重点关注该15种高风险化合物。关于这15种化合物残留的检测涉及3个中国国家标准中的3种检测方法 & 检测器^[8-10],且每种方法的样品前处理各不相同,分析效率低。此外,环酰菌胺尚无标准检测方法。鉴

于此,本研究建立了固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定美国进口水果中15种农药及助剂的残留,有针对性地监测美国进口水果中的高风险农药,为进一步了解从美国进口水果中的农药残留动态和潜在风险,建立中国进口食品技术性贸易措施,保障中国进口水果质量和消费者安全提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

LC-MS 8040 液相色谱-串联质谱仪(日本岛津公司);SK-1 快速混匀器(常州国华电器有限公司);UMV-1 多管旋涡混匀器(青云仪器设备有限公司);HX-PB965 奥克斯破壁营养料理机(佛山市海迅电器有限公司);BL610 电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);Milli-Q 超纯水系统(德国默克集团)。

甲酸(色谱纯)购于上海阿拉丁试剂有限公司;乙酸铵(优级纯)购于天津市科密欧化学试剂有限公司;甲醇(质谱纯)购于上海安谱实验科技股份有限公司。甲氧虫酰肼(methoxyfenozide)、啶虫脒(acetamiprid)、毒死蜱(chlorpyrifos)、腈菌唑(myclobutanil)、乙酰甲胺磷(acephate)、噻虫嗪(thiamethoxam)、噻菌灵(thiabendazole)、啉霉胺(pyrimethanil)、西玛津(simazine)和灭多威(methomyl)10种农药标准溶液(100 mg/L)购于农业农村部环境保护科研监测所;增效醚(piperonyl butoxide, 100 mg/L)和四氟醚唑(tetraconazole, 100 mg/L)购于美国 o2si 标准品公司;环酰菌胺

(fenhexamid, 纯度 98.7%)、咯菌腈 (fludioxonil, 纯度 99.2%) 和啶酰菌胺 (boscalid, 纯度 98.9%) 购于德国 Dr.Ehrenstorfer 公司。氨基固相萃取柱 (500 mg/6 mL) 购于美国安捷伦公司; QuChERS 净化管购于青云实验耗材有限公司。

1.2 标准溶液配制

标准工作溶液: 准确称取适量的环酰菌胺、咯菌腈和啶酰菌胺标准品, 用甲醇溶解, 配成 100 mg/L 的标准储备液。分别准确吸取 0.5 mL 甲氧虫酰肼等 12 种标准溶液和环酰菌胺等 3 种标准储备液, 用甲醇稀释并定容至 10 mL, 得到质量浓度为 5.0 mg/L 的 15 种化合物的混合标准储备液。将上述混合标准储备液, 用甲醇逐级稀释成 0.5、0.1、0.05、0.01、0.005 和 0.001 mg/L 的系列混合标准工作液。

基质匹配标准溶液: 用经提取、净化后获得的梨、葡萄和苹果空白基质溶液, 分别将 5.0 mg/L 混合标准储备液稀释, 配成 0.001、0.005、0.01、0.05、0.1 和 0.5 mg/L 的系列基质匹配标准溶液。

1.3 样品前处理

提取: 将样品切碎, 四分法缩分后用料理机匀浆破壁。称取经破壁后的样品 10.00 g 于 50 mL 离心管中, 加入 10.0 mL 乙腈, 漩涡提取 10 min; 加入 5~7 g 氯化钠, 涡旋提取 2 min, 于 3 000 r/min

下离心 5 min; 吸取 5 mL 上清液于 100 mL 烧杯中, 置于 80 °C 水浴锅中加热, 并缓慢通入氮气流, 蒸发至近干; 加入 2 mL $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{甲醇})=95:5$, 待净化。

净化: 将氨基固相萃取柱用 4.0 mL $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{甲醇})=95:5$ 预淋洗活化后, 加入待净化液, 用 10.0 mL $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{甲醇})=95:5$ 分 2 次洗脱; 收集全部洗脱液, 于 50 °C 氮吹蒸发至近干; 加入 2.5 mL $V(\text{甲醇}):V(\text{水})=4:1$ 溶解, 过 0.22 μm 尼龙滤膜, 待测。

1.4 检测条件

色谱条件: Shim-pack XR-ODS 色谱柱 (75 mm \times 2.0 mm, 1.6 μm); 柱温 40 °C; 进样量 1 μL 。流动相 A 相为含 2 mmol/L 乙酸铵和体积分数 0.05% 的甲酸水溶液, B 相为甲醇; 流速 0.4 mL/min。梯度洗脱程序: 10% B, 保持 1.0 min; 5.0 min 内调整为 60% B; 5 min 内调整为 95% B, 保持 3 min; 1.5 min 内调整为 10% B, 保持 2 min。

质谱条件: ESI 源; 正/负离子全扫描; 多反应监测 (MRM) 模式; DL 管温度 250 °C; 加热模块温度 400 °C; 干燥气流速 15 L/min; 碰撞气压力 230 kPa。优化的离子对、碰撞能量等信息详见表 1。

1.5 基质效应

采用公式 $M_E = B/A \times 100\%$ 评价基质效应。其

表 1 15 种化合物的质谱参数

Table 1 MS parameters of the 15 compounds

| 化合物 Compound | 保留时间 Retention time/min | 前体离子 Precursor ion, m/z | 产物离子 Product ion, m/z | Q1电压 Q1 voltage/V | 碰撞能量 CE/eV | Q3电压 Q3 voltage/V |
|--------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|----------------------|---------------|----------------------|
| 乙酰甲胺磷 acephate | 2.3 | 184.0 | 143.0 [*] /95.1 | -19/-19 | -11/-25 | -26/-16 |
| 灭多威 methomyl | 4.0 | 163.1 | 88.1 [*] /106.1 | -30/-30 | -9/-12 | -15/-18 |
| 噻虫嗪 thiamethoxam | 4.2 | 292.0 | 211.2 [*] /181.1 | -19/-19 | -13/-23 | -20/-16 |
| 噻菌灵 thiabendazole | 4.4 | 202.1 | 175.1 [*] /131.1 | -30/-30 | -26/-33 | -30/-22 |
| 啶虫脒 acetamiprid | 5.2 | 223.1 | 126.2 [*] /90.2 | -25/-25 | -19/-37 | -23/-15 |
| 西玛津 simazine | 6.6 | 201.7 | 132.0 [*] /124.2 | -23/-23 | -18/-17 | -23/-22 |
| 嘧霉胺 pyrimethanil | 7.9 | 200.1 | 107.0 [*] /168.1 | -30/-30 | -25/-29 | -19/-30 |
| 咯菌腈 fludioxonil | 8.1 | 247.0 | 180.2 [*] /126.2 | 26/17 | 27/30 | 18/23 |
| 啶酰菌胺 boscalid | 8.2 | 343.0 | 307.1 [*] /140.1 | -16/-16 | -20/-20 | -30/-24 |
| 甲氧虫酰肼 methoxyfenozide | 8.3 | 368.9 | 149.1 [*] /312.8 | -25/-18 | -18/-9 | -27/-19 |
| 腈菌唑 myclobutanil | 8.4 | 289.1 | 70.1 [*] /125.1 | -30/-30 | -18/-30 | -27/-20 |
| 环酰菌胺 fenhexamid | 8.6 | 302.1 | 97.3 [*] /55.3 | -15/-15 | -26/-41 | -16/-19 |
| 四氟醚唑 tetraconazole | 8.7 | 371.8 | 159.0 [*] /70.1 | -17/-17 | -31/-23 | -28/-25 |
| 增效醚 piperonyl butoxide | 10.2 | 356.1 | 177.3 [*] /119.3 | -18/-18 | -14/-35 | -30/-20 |
| 毒死蜱 chlorpyrifos | 10.4 | 351.7 | 199.9 [*] /97.0 | -24/-16 | -19/-32 | -18/-16 |

*定量离子。

Quantitative ion.

中： A 和 B 分别表示纯溶剂配制标准溶液曲线和基质匹配标准溶液曲线的斜率。当 M_E 在 80%~120% 之间表明基质效应不明显，当 M_E 在 50%~80% 和 120%~150% 之间时，需要考虑消除基质效应^[11]。本研究使用 0.16 μm 粒径超高效液相色谱柱，通过减缓流动相变化梯度（见 1.4 节）和进样 1 μL 的方式，分别考察 15 种化合物在梨、葡萄和苹果 3 种基质中的基质效应。

2 结果与讨论

2.1 色谱与质谱条件优化

在 m/z 50~500 范围内，采用正/负离子全扫描，单针进样，通过质荷比和各化合物的相对分子质量确定 15 种化合物的前体离子为：除了咯菌腈和增效醚前体离子峰为 $[M - H]^-$ 和 $[M + \text{NH}_4]^+$ 外，其余化合物的前体离子峰均为 $[M + H]^+$ 。在子离子扫描模式下，对前体离子进行打碎扫描，找到 2 个响应值较强的子离子作为定量离子和定性离子。在多反应监测 (MRM) 模式下，以确定的前体离子、定量离子和定性离子为基础，优化 Q1 电压、碰撞能和 Q3 电压，优化结果见表 1。

15 种化合物中除咯菌腈是在负离子模式下采集外，其余 14 种均在正离子模式下采集，因此，首选甲醇和甲酸水体系。由于甲酸浓度太高会降低咯菌腈的灵敏度，故选用体积分数为 0.05% 的低浓度甲酸水溶液。此外，增效醚的前体离子峰为 $[M + \text{NH}_4]^+$ ，在流动相中加入实验室常用的 2 mmol/L

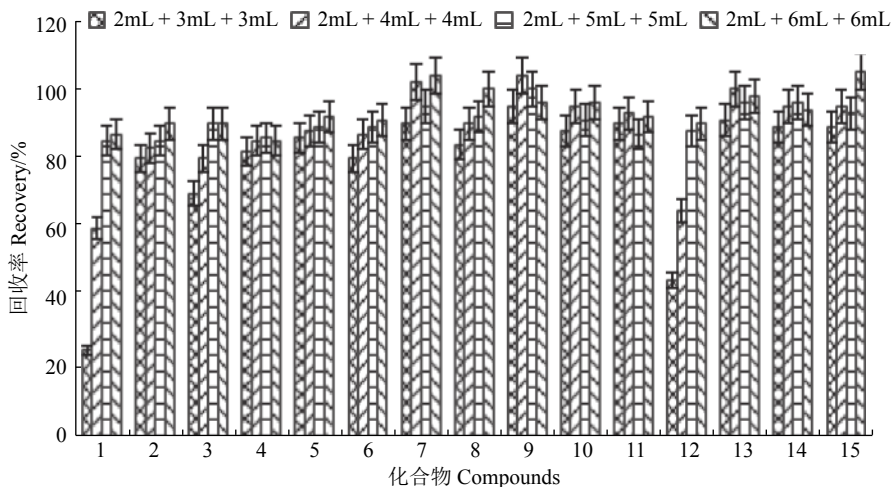
乙酸铵，可使增效醚产生稳定持续的加氨峰，同时有利于其他化合物的电离。利用实验室常用的柱效较高的 Shim-pack XR-ODS 色谱柱，在上述色谱条件下梯度洗脱，15 种化合物在 11 min 内可有效分离，同时具有较好的灵敏度。

2.2 净化方法的确定

液相色谱-串联质谱法测定农药残留常用 QuChERS 和氨基固相萃取 2 种前处理净化方式。其中，QuChERS 法简便、快速，而氨基固相萃取则在 GB/T 20769 中推荐使用。两者均是实验室常用的净化方式。因此，对比了这 2 种处理对 15 种化合物回收率的影响。结果显示：使用 QuChERS 净化管后，噻菌灵的回收率仅为 10%，远低于氨基固相萃取柱的回收率，这主要与 QuChERS 净化管中的石墨化碳黑 (GCB) 的吸附有关。QuChERS 法净化常存在基质效应^[12-16]，需要使用基质匹配标准溶液来校准消除，而实际检测过程需要根据产品的种类分别配制不同的基质匹配标准溶液，该过程操作繁琐，效率低。采用氨基固相萃取柱的净化效果和回收率均优于 QuChERS 前处理，因此选用氨基固相萃取柱作为净化方法。通过优化洗脱体积，确定较佳的洗脱体积为 12 mL (2 mL + 5 mL + 5 mL)，分 3 次洗脱。不同洗脱体积下 15 种化合物回收率见图 1。

2.3 基质效应和线性范围

从表 2 可知：15 种化合物在 3 种水果中的 M_E 为 80%~105%，基质效应不明显，可以忽略。



1 乙酰甲胺磷 acephate; 2 灭多威 methomyl; 3 噻虫嗪 thiamethoxam; 4 噻菌灵 thiabendazole; 5 啶虫脒 acetamiprid; 6 西玛津 simazine; 7 噻霉胺 pyrimethanil; 8 咯菌腈 fludioxonil; 9 啶酰菌胺 boscalid; 10 甲氧虫酰肼 methoxyfenozide; 11 腈菌唑 myclobutanil; 12 环酰菌胺 fenhexamid; 13 四氟醚唑 tetraconazole; 14 增效醚 piperonyl butoxide; 15 毒死蜱 chlorpyrifos.

图 1 不同洗脱体积下 15 种化合物回收率 (添加水平: 0.05 mg/kg)

Fig. 1 The recoveries of 15 compounds using different amount of solvent (spiked level: 0.05 mg/kg)

表 2 15 种化合物的线性范围和基质效应

Table 2 Linear ranges and matrix effects of 15 compounds

| 化合物 Compound | 线性范围 Linear range/(mg/L) | 基质 Matrix | R^2 | 线性方程 Linear equation | 基质效应 $M_E/\%$ |
|--------------------------|-----------------------------|--------------|---------|--------------------------------|------------------|
| 乙酰甲胺磷 acephate | 0.001~0.5 | 梨 Pear | 0.999 9 | $y = 11\ 121\ 100x - 15\ 911$ | 92 |
| | | 葡萄 Grape | 0.999 7 | $y = 10\ 837\ 600x + 3\ 870$ | 87 |
| | | 苹果 Apple | 0.999 8 | $y = 9\ 975\ 860x - 5\ 897$ | 80 |
| 灭多威 methomyl | 0.001~0.5 | 梨 Pear | 0.999 9 | $y = 11\ 845\ 600x - 25\ 080$ | 92 |
| | | 葡萄 Grape | 0.999 8 | $y = 10\ 355\ 000x + 58\ 557$ | 80 |
| | | 苹果 Apple | 0.999 8 | $y = 10\ 925\ 700x + 5\ 479$ | 88 |
| 噻虫嗪 thiamethoxam | 0.001~0.5 | 梨 Pear | 0.999 9 | $y = 10\ 038\ 500x - 14\ 674$ | 92 |
| | | 葡萄 Grape | 0.999 8 | $y = 9\ 892\ 650x + 9\ 625$ | 91 |
| | | 苹果 Apple | 0.999 6 | $y = 10\ 555\ 500x + 57\ 302$ | 96 |
| 噻菌灵 hiabendazole | 0.001~0.5 | 梨 Pear | 0.999 7 | $y = 10\ 465\ 000x - 15\ 025$ | 92 |
| | | 葡萄 Grape | 0.999 9 | $y = 10\ 632\ 400x - 3\ 167$ | 93 |
| | | 苹果 Apple | 0.999 8 | $y = 10\ 137\ 300x + 4\ 238$ | 89 |
| 啶虫脒 cetamiprid | 0.001~0.5 | 梨 Pear | 0.999 9 | $y = 47\ 146\ 900x - 93\ 862$ | 94 |
| | | 葡萄 Grape | 0.999 8 | $y = 48\ 173\ 000x - 49\ 333$ | 96 |
| | | 苹果 Apple | 0.999 7 | $y = 49\ 692\ 600x + 18\ 832$ | 99 |
| 西玛津 imazine | 0.001~0.5 | 梨 Pear | 0.999 5 | $y = 5\ 442\ 790x - 13\ 651$ | 95 |
| | | 葡萄 Grape | 0.999 6 | $y = 5\ 072\ 340x - 73\ 854$ | 88 |
| | | 苹果 Apple | 0.999 5 | $y = 5\ 141\ 880x - 48\ 825$ | 89 |
| 啉霉胺 yrimethanil | 0.001~0.5 | 梨 Pear | 0.999 9 | $y = 9\ 717\ 130x - 21\ 462$ | 95 |
| | | 葡萄 Grape | 1.000 0 | $y = 9\ 517\ 180x + 46\ 193$ | 93 |
| | | 苹果 Apple | 1.000 0 | $y = 10\ 056\ 700x - 6\ 602$ | 99 |
| 咯菌腈 ludioxonil | 0.001~0.5 | 梨 Pear | 0.999 9 | $y = 1\ 126\ 110x - 1\ 407$ | 97 |
| | | 葡萄 Grape | 0.999 6 | $y = 1\ 045\ 250x + 4\ 486$ | 90 |
| | | 苹果 Apple | 1.000 0 | $y = 1\ 077\ 250x + 2\ 491$ | 96 |
| 啶酰菌胺 oscalid | 0.001~0.5 | 梨 Pear | 0.999 8 | $y = 8\ 113\ 960x - 27\ 799$ | 101 |
| | | 葡萄 Grape | 0.999 8 | $y = 7\ 783\ 810x - 4\ 558$ | 97 |
| | | 苹果 Apple | 0.999 7 | $y = 7\ 979\ 930x - 17\ 006$ | 99 |
| 甲氧虫酰肼 ethoxyfenozide | 0.001~0.5 | 梨 Pear | 0.999 6 | $y = 59\ 708\ 800x - 216\ 301$ | 101 |
| | | 葡萄 Grape | 1.000 0 | $y = 56\ 459\ 100x + 39\ 039$ | 96 |
| | | 苹果 Apple | 1.000 0 | $y = 54\ 243\ 100x - 22\ 716$ | 92 |
| 腈菌唑 yclobutanil | 0.001~0.5 | 梨 Pear | 0.999 8 | $y = 7\ 023\ 700x - 18\ 491$ | 98 |
| | | 葡萄 Grape | 1.000 0 | $y = 6\ 863\ 800x + 52\ 731$ | 96 |
| | | 苹果 Apple | 1.000 0 | $y = 7\ 266\ 040x + 4\ 501$ | 101 |
| 环酰菌胺 enhexamid | 0.001~0.5 | 梨 Pear | 1.000 0 | $y = 1\ 953\ 250x - 5\ 518$ | 105 |
| | | 葡萄 Grape | 1.000 0 | $y = 1\ 763\ 870x + 7\ 813$ | 95 |
| | | 苹果 Apple | 0.999 8 | $y = 1\ 890\ 780x - 8\ 024$ | 102 |
| 四氟醚唑 etraconazole | 0.001~0.5 | 梨 Pear | 0.999 8 | $y = 10\ 781\ 700x - 31\ 841$ | 102 |
| | | 葡萄 Grape | 0.999 8 | $y = 11\ 096\ 600x + 21\ 816$ | 105 |
| | | 苹果 Apple | 1.000 0 | $y = 10\ 941\ 500x - 1\ 222$ | 103 |
| 增效醚 iperonyl butoxide | 0.001~0.5 | 梨 Pear | 0.999 9 | $y = 84\ 544\ 700x - 308\ 796$ | 101 |
| | | 葡萄 Grape | 1.000 0 | $y = 84\ 928\ 700x + 11\ 321$ | 102 |
| | | 苹果 Apple | 0.999 8 | $y = 87\ 325\ 200x + 51\ 740$ | 105 |
| 毒死蜱 hlorpyrifos | 0.001~0.5 | 梨 Pear | 1.000 0 | $y = 9\ 351\ 830x - 28\ 731$ | 104 |
| | | 葡萄 Grape | 1.000 0 | $y = 9\ 023\ 450x + 9\ 996$ | 101 |
| | | 苹果 Apple | 0.999 9 | $y = 8\ 872\ 050x + 29\ 904$ | 99 |

以化合物的质量浓度 (x , mg/L) 为横坐标, 峰面积 (y) 为纵坐标得到线性方程。在 0.001~0.5 mg/L 范围内 15 种化合物的线性关系良好, $R^2 \geq 0.9995$ (表 2)。

2.4 方法的准确度、精密度和定量限

选取不含目标化合物的葡萄、梨和苹果空白样品, 通过添加回收试验考察了方法的准确度和精密度 ($n = 5$)。结果 (表 3) 表明: 环酰菌胺在 0.01、0.05 和 0.5 mg/kg 添加水平下, 其余化合物

在 0.005、0.05 和 0.5 mg/kg 添加水平下, 其平均回收率在 80%~115% 之间, 相对标准偏差在 5.5%~16% 之间, 可以满足农药残留分析的要求^[17]。根据添加回收试验确定环酰菌胺的定量限 (LOQ) 为 0.01 mg/kg, 其余化合物的 LOQ 为 0.005 mg/kg。

2.5 实际样品测定

采用本研究建立的方法, 对采自超市中标有美国进口字样的 20 份水果 (包括美国姬娜苹果、美国红蛇果、美国红皮梨和美国红提) 进行了这

表 3 15 种化合物在不同基质中的添加回收率和相对标准偏差 (RSD)

Table 3 Recoveries and relative standard deviations of 15 compounds in different matrixes

| 化合物 Compound | 添加水平 Spiked level/(mg/kg) | 梨 Pear | | 葡萄 Grape | | 苹果 Apple | |
|--------------------------|------------------------------|------------|-------|------------|-------|------------|-------|
| | | Recovery/% | RSD/% | Recovery/% | RSD/% | Recovery/% | RSD/% |
| 乙酰甲胺磷 acephate | 0.005 | 87 | 7.2 | 89 | 7.9 | 80 | 10 |
| | 0.05 | 80 | 10 | 85 | 11 | 86 | 8.5 |
| | 0.5 | 83 | 8.6 | 81 | 8.4 | 84 | 9.6 |
| 灭多威 methomyl | 0.005 | 91 | 7.7 | 102 | 8.0 | 96 | 8.2 |
| | 0.05 | 85 | 6.9 | 83 | 6.6 | 87 | 9.1 |
| | 0.5 | 89 | 8.4 | 97 | 5.8 | 102 | 7.2 |
| 噻虫嗪 thiamethoxam | 0.005 | 80 | 11 | 108 | 8.6 | 81 | 7.5 |
| | 0.05 | 82 | 11 | 81 | 7.8 | 85 | 5.6 |
| | 0.5 | 83 | 12 | 86 | 8.9 | 80 | 9.0 |
| 噻菌灵 thiabendazole | 0.005 | 85 | 12 | 104 | 7.2 | 109 | 8.3 |
| | 0.05 | 80 | 7.5 | 84 | 8.6 | 89 | 8.8 |
| | 0.5 | 84 | 12 | 83 | 10 | 83 | 8.5 |
| 啶虫脒 acetamiprid | 0.005 | 103 | 10 | 80 | 8.9 | 85 | 9.3 |
| | 0.05 | 96 | 9.5 | 85 | 12 | 96 | 7.4 |
| | 0.5 | 81 | 14 | 84 | 8.5 | 80 | 6.1 |
| 西玛津 simazine | 0.005 | 109 | 9.2 | 85 | 9.1 | 81 | 8.0 |
| | 0.05 | 81 | 7.4 | 86 | 7.1 | 89 | 8.6 |
| | 0.5 | 86 | 8.9 | 92 | 10 | 88 | 9.6 |
| 啉霉胺 pyrimethanil | 0.005 | 110 | 6.5 | 87 | 5.8 | 88 | 6.7 |
| | 0.05 | 105 | 7.6 | 85 | 7.1 | 104 | 5.4 |
| | 0.5 | 87 | 8.5 | 88 | 7.5 | 93 | 8.1 |
| 咯菌腈 fludioxonil | 0.005 | 96 | 7.1 | 88 | 6.8 | 80 | 10 |
| | 0.05 | 81 | 8.9 | 85 | 8.0 | 106 | 12 |
| | 0.5 | 85 | 6.7 | 84 | 8.7 | 98 | 9.4 |
| 啶酰菌胺 boscalid | 0.005 | 88 | 6.4 | 89 | 5.9 | 83 | 8.4 |
| | 0.05 | 85 | 10 | 96 | 9.6 | 109 | 8.6 |
| | 0.5 | 86 | 7.5 | 99 | 7.7 | 84 | 12 |
| 甲氧虫酰肼 methoxyfenozide | 0.005 | 82 | 15 | 85 | 10 | 91 | 15 |
| | 0.05 | 81 | 11 | 83 | 6.8 | 85 | 7.4 |
| | 0.5 | 98 | 8.7 | 106 | 9.1 | 82 | 14 |
| 腈菌唑 myclobutanil | 0.005 | 90 | 6.9 | 85 | 9.4 | 87 | 12 |
| | 0.05 | 94 | 7.8 | 93 | 8.4 | 90 | 8.6 |
| | 0.5 | 88 | 10 | 91 | 8.6 | 92 | 9.1 |
| 环酰菌胺 fenhexamid | 0.01 | 92 | 5.5 | 93 | 6.2 | 92 | 7.1 |
| | 0.05 | 84 | 8.9 | 86 | 9.6 | 90 | 6.8 |
| | 0.5 | 89 | 7.6 | 88 | 11 | 86 | 8.2 |

续表 3

Table 3 (Continued)

| 化合物 Compound | 添加水平 Spiked level/(mg/kg) | 梨 Pear | | 葡萄 Grape | | 苹果 Apple | |
|---------------------------|------------------------------|------------|-------|------------|-------|------------|-------|
| | | Recovery/% | RSD/% | Recovery/% | RSD/% | Recovery/% | RSD/% |
| 四氟醚唑 tetraconazole | 0.005 | 91 | 8.8 | 93 | 6.7 | 88 | 8.5 |
| | 0.05 | 86 | 12 | 80 | 14 | 81 | 10 |
| | 0.5 | 84 | 14 | 83 | 8.2 | 86 | 7.6 |
| 增效醚 piperonyl butoxide | 0.005 | 89 | 16 | 87 | 9.1 | 102 | 11 |
| | 0.05 | 112 | 10 | 115 | 6.7 | 107 | 6.8 |
| | 0.5 | 90 | 8.4 | 105 | 8.3 | 89 | 7.6 |
| 毒死蜱 chlorpyrifos | 0.005 | 87 | 7.4 | 85 | 10 | 87 | 8.9 |
| | 0.05 | 91 | 9.7 | 94 | 6.2 | 92 | 6.9 |
| | 0.5 | 90 | 9.6 | 92 | 10 | 91 | 7.7 |

15 种化合物残留的分析。结果显示: 有 5 份样品检出咯菌腈、嘧霉胺、噻菌灵、啶酰菌胺和环酰菌胺(表 4), 但其残留量均未超过中国^[18]和美国^[19]制定的最大残留限量(MRL)标准。由于中国尚未制定咯菌腈和环酰菌胺在苹果和梨上的 MRL 值, 从保护消费者安全和制定技术性贸易措施的

角度, 中国应尽快制定这些农药的 MRL 值。另外, 本研究中虽然仅列出了 15 种高风险农药及助剂, 但在后续的研究和风险评估中需要将高风险化合物的代谢物一并考虑, 如乙酰甲胺磷代谢物甲胺磷、毒死蜱代谢物甲基毒死蜱等。

表 4 美国进口水果中 15 种化合物检出情况

Table 4 The residues of 15 compounds in fruits imported from the USA

| 化合物 Compound | 残留量 Residues/(mg/kg) | | | | | MRL/(mg/kg) | | |
|----------------------|-------------------------------|--------------------|--------------------|-----------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | 红蛇果 Red delicious apple | 姬娜苹果 Gala apple | 姬娜苹果 Gala apple | 红皮梨 Red pear | 红提 Red globe grape | 葡萄 Grape | 苹果 Apple | 梨 Pear |
| 咯菌腈 fludioxonil | 0.36 | <LOQ | <LOQ | 0.12 | 0.017 | 3.0* | 5.0* | 5.0* |
| 嘧霉胺 pyrimethanil | <LOQ | 0.96 | 0.53 | <LOQ | 0.047 | 4.0 [#] /3.0* | 7.0 [#] /15* | 1.0 [#] /15* |
| 噻菌灵 thiabendazole | 0.97 | <LOQ | 0.010 | 0.65 | <LOQ | 5.0* | 3.0 [#] /5.0* | 3.0 [#] /5.0* |
| 啶酰菌胺 boscalid | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.098 | 5.0 [#] /4.5* | 2.0 [#] /3.0* | 3.0* |
| 环酰菌胺 fenhexamid | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0.054 | 15 [#] /4.0* | 10* | — |

注: * 表示中国制定的 MRL 值; * 表示美国制定的 MRL 值。

Note: [#] The MRL values of China. * The MRL values of the USA.

3 结论

对美国近 10 年来发布的农药数据项目报告进行分析和研判, 根据农药残留超标情况和检出率, 筛选出需重点关注的 15 种高风险农药及助剂。通过优化色谱-质谱检测条件及样品前处理方法, 建立了 SPE-UPLC-MS/MS 法测定美国进口水果中 15 种高风险化合物残留。该方法采用了净化效果较好的氨基固相萃取柱, 确定了较佳的洗脱梯度, 减少了进样体积, 降低了基质效应, 避免了繁杂的基质匹配标准溶液过程。该方法简便、快速, 灵敏度高, 准确度和精密度均能达到农药残留检测的要求, 可用于水果中该 15 种农药及助

剂残留的批量检测。

参考文献 (References):

- [1] 楼军文. 中国水果进出口检验检疫技术性贸易措施研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
LOU J W. Research on technical measures to trade for inspection and quarantine of fruit import-export of China[D]. Beijing: China Agricultural University, 2005.
- [2] 孙佳佳. 中国苹果进口贸易研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014.
SUN J J. China apple import[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2014.
- [3] 中国轻工业信息网. 中国进口水果存在七大问题[EB/OL]. (2006-03-09)[2018-04-27]. <http://news.21food.cn/9/68378.html>
China Light Industry Information Network. There are seven major

- problems with imported fruits[EB/OL].(2006-03-09)[2018-04-27].<http://news.21food.cn/9/68378.html>
- [4] 山东检验检疫局. 警惕进境冷冻水果农药残留超标[EB/OL].(2011-08-30)[2018-04-27].<http://www.foodmate.net/foodsafety/briefing/165480.html>
Shandong Inspection and Quarantine Bureau. Be wary of excessive pesticide residues in imported frozen fruits[EB/OL].(2011-08-30)[2018-04-27].<http://www.foodmate.net/foodsafety/briefing/165480.html>
- [5] 深圳特区报. 泰国龙眼菲律宾香蕉检出农残超标[EB/OL].(2017-02-05)[2018-04-27].http://news.ifeng.com/a/20170205/50650460_0.shtml
Shenzhen Daily. Pesticide residues in longgan from Thailand and bananas from Philippines exceed the standard[EB/OL].(2017-02-05)[2018-04-27].http://news.ifeng.com/a/20170205/50650460_0.shtml
- [6] 陈丽, 胡进. 从中美水果贸易看中国水果产业存在的问题及对策[J]. 长江大学学报(自然科学版): 农学卷, 2009, 6(1): 88-90.
CHEN L, HU J. Problems and countermeasures in the study of Chinese fruit industry from Sino-US fruit trade[J]. J Yangtze Univ(Nat Sci Ed): Agric Sci Vol, 2009, 6(1): 88-90.
- [7] United States Department of Agriculture. Pesticide data program databases[DB/OL]. [2018-12-20]. <https://www.ams.usda.gov/datasets/pdp/pdpdata>
- [8] 食品安全国家标准 水果和蔬菜中500种农药及相关化学品残留量的测定气相色谱-质谱法: GB 23200.8—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
National food safety standard-Determination of 500 pesticides and related chemicals residues in fruits and vegetables gas chromatography-mass spectrometry: GB 23200.8—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016.
- [9] 食品安全国家标准 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: GB/T 20769—2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
National food safety standard-Determination of 450 pesticides and related chemicals residues in fruits and vegetables-LC-MS-MS method: GB/T 20769—2008[S]. Beijing: Standards Press of China, 2009
- [10] 食品安全国家标准 蔬菜和水果中有机磷、有机磷、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定: NY/T 761—2008[S]. 北京: 中国农业出版社, 2008.
National food safety standard-Pesticide multiresidue screen methods for determination of organophosphorus pesticides, organochlorine pesticides, pyrethroid pesticides and carbamate pesticides in vegetables and fruits: NY/T 761—2008[S]. Beijing: China Agricultural Press, 2008.
- [11] TAYLOR P J. Matrix effects: the Achilles heel of quantitative high-performance liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry[J]. *Clin Biochem*, 2005, 38(4): 328-334.
- [12] 王纯强, 钱永忠, 章程辉, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-QDa质谱法快速测定白菜与油菜中15种氨基甲酸酯类农药及代谢物残留[J]. 农药学报, 2018, 20(4): 459-467.
WANG C Q, QIAN Y Z, ZHANG C H, et al. Residue determination of 15 carbamates and their metabolites in Chinese cabbages and pakchoi by QuEChERS-ultra high performance liquid chromatography-QDa mass spectrometry[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2018, 20(4): 459-467.
- [13] CHAMBERS E, WAGROWSKI-DIEHL D M, LU Z L, et al. Systematic and comprehensive strategy for reducing matrix effects in LC/MS/MS analyses[J]. *J Chromatogr B*, 2007, 852(1-2): 22-34.
- [14] BOURDAT-DESCHAMPS M, LEANG S, BERNET N, et al. Multi-residue analysis of pharmaceuticals in aqueous environmental samples by online solid-phase extraction-ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Optimisation and matrix effects reduction by quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction[J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1349: 11-23.
- [15] 李福琴, 石丽红, 王飞, 等. QuEChERS-液相色谱-串联质谱法同时检测土壤和柑橘中吡啶醚菌酯、甲基硫菌灵及其代谢物多菌灵的残留[J]. 色谱, 2017, 35(6): 620-626.
LI F Q, SHI L H, WANG F, et al. Simultaneous determination of pyraclostrobin and thiophanate-methyl and its metabolite carbendazim residues in soil and *Citrus* by QuEChERS-liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chin J Chromatogr*, 2017, 35(6): 620-626.
- [16] 卢平, 李静, 陈玉玲, 等. 芹菜中的乐果及氧乐果的LC-MS/MS测定方法及风险分析[J]. 贵州大学学报(自然科学版), 2017, 34(3): 21-24.
LU P, LI J, CHEN Y L, et al. Determination and risk assessment of dimethoate and its metabolite in celery using liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *J Guizhou Univ (Nat Sci Ed)*, 2017, 34(3): 21-24.
- [17] 农作物中农药残留试验准则: NY/T 788—2018[S]. 北京: 中国农业出版社, 2018.
Guideline for the testing of pesticide residues in crops: NY/T 788—2018[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2018.
- [18] 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量: GB 2763—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
National food safety standard-Maximum residue limits for pesticides in food: GB 2763—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016.
- [19] Code of Federal Regulations. Tolerances and exemptions from tolerances for pesticide chemicals in food[EB/OL]. [2019-05-06]. <https://www.ecfr.gov/cgi-bin/retrieveECFR?gp=&SIDe305b8bc9acc58c8bad03793e6fc2c0&mctrue&nsp40.26.180.c&rSUBPART&tyH TML>

(责任编辑: 曲来娥)