

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2023.03.021

毛静春, 伍旭东, 罗发美, 等. QuEChERS-液相色谱-串联质谱法测定生咖啡中 19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂残留[J]. 粮油食品科技, 2023, 31(3): 159-167.

MAO J C, WU X D, LUO F M, et al. Determination of 19 succinate dehydrogenase inhibitor fungicides pesticide residues in green coffee by quechers-liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2023, 31(3): 159-167.

# QuEChERS-液相色谱-串联质谱法 测定生咖啡中 19 种琥珀酸脱氢酶 抑制剂类杀菌剂残留

毛静春<sup>1</sup>, 伍旭东<sup>1</sup>, 罗发美<sup>1</sup>, 周琴<sup>1</sup>, 蒲泓君<sup>1</sup>, 邓洪燕<sup>1</sup>, 程龙<sup>2</sup>

(1. 普洱市质量技术监督综合检测中心, 云南 普洱 665000;  
2. 上海爱博才思分析仪器贸易有限公司, 上海 200335)

**摘要:** 本研究旨在建立 QuEChERS 前处理技术结合液相色谱串联质谱仪 (LC-MS/MS) 同时测定生咖啡中 19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂 (Succinate dehydrogenase inhibitor) 杀菌剂残留量的分析方法。生咖啡粉末样品经乙腈均值提取, 采用无水硫酸镁、PSA、C18 净化剂净化, 经液相色谱-串联质谱仪在正离子模式下扫描分析 19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂残留, 通过空白基质匹配标准溶液外标法定量。19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂在 1~100 ng/mL 范围内呈良好线性关系 ( $r > 0.995$ ), 在 0.01、0.05 和 0.1 mg/kg 的加标水平下, 平均回收率为 79.6%~109.4%, 相对标准偏差 (relative standard deviations, RSD,  $n=6$ ) 为 1.4%~9.7%, 方法检出限为 0.51~4.60  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该方法具有良好的线性关系, 准确度和精密度均满足定量分析的要求, 适用于生咖啡中 19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂农药残留的定量分析。

**关键词:** QuEChERS 技术; 液相色谱-串联质谱; 生咖啡; 琥珀酸脱氢酶抑制剂杀菌剂

中图分类号: TS201.6 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2023)03-0159-09

## Determination of 19 Succinate Dehydrogenase Inhibitor Fungicides Pesticide Residues in Green Coffee by Quechers-Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry

MAO Jing-chun<sup>1</sup>, WU Xu-dong<sup>1</sup>, LUO Fa-mei<sup>1</sup>, ZHOU Qin<sup>1</sup>,  
PU Hong-jun<sup>1</sup>, DENG Hong-yan<sup>1</sup>, CHENG Long<sup>2</sup>

(1. Pu, Er Comprehensive Technical Testing Center, Pu'er, Yunnan 665000, China;  
2. SCIEX Analytical Instrument Trading Co., Ltd, Shanghai 200335, China)

**Abstract:** This study establishes an analytical method for simultaneous determination of 19 Succinate

收稿日期: 2022-12-03

基金项目: 云南省乡村振兴科技专项-服务型科技特派员 (202104BK091091)

Supported by: The Yunnan Province Rural Revitalization Science and Technology Special Project-Special Commissioner for Service Oriented Science and Technology (202104BK091091)

作者简介: 毛静春, 女, 1990 年出生, 硕士, 工程师, 研究方向为植物源性食品中农药残留。E-mail: 1028526736@qq.com.

dehydrogenase inhibitor fungicides pesticide residues in Green coffee by QuEChERS-Liquid chromatography tandem mass spectrometry. The Green coffee powder samples were extracted with acetonitrile by Homogenizer, the supernatant were purified by Magnesium sulfate anhydrous, PSA and C18, liquid chromatography - tandem mass spectrometry were used for analyzing 19 Succinate dehydrogenase inhibitor fungicides pesticide residues at positive ion mode. The results showed that the calibration curves of 19 targets showed good linearity with correlation coefficients of above 0.995 0 in the range of 1~100 ng/mL, the recoveries of 19 pesticides were 79.6%~109.4% and the relative standard deviations(RSD,  $n=6$ ) were in the range of 1.4%~9.7% at spiked levels of 0.01、0.05 and 0.1 mg/kg. Limit of quantitation (LOQ) of all the tested pesticides were 0.51~4.60  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . This method has good linear relations, excellent stable and sensitive, accuracy and precision meet the requirement of quantitative analysis, it is suitable for quantitative analysis of 19 Succinate dehydrogenase inhibitor fungicides pesticide residues in Green coffee.

**Key words:** the QuEChERS technology; liquid chromatography tandem mass spectrometry; green coffee; succinate dehydrogenase inhibitor fungicides

琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂, 也称 SDHI 杀菌剂, 是一类通过抑制病原菌内的琥珀酸脱氢酶活性, 阻碍呼吸作用, 从而抑制病原菌生长的新型杀菌剂<sup>[1-2]</sup>。自 1969 年 Uniroyal 公司首次推出 SDHI 型杀菌剂萎锈灵后<sup>[3]</sup>, 由于这类杀菌剂作用机制新颖、药效强、作用持久、增产效果显著, 市场上推出的新一代琥珀酸脱氢酶抑制剂杀菌剂产品层出不穷, 但未对该类杀菌剂进行单独归类, 直到 2009 年<sup>[4]</sup>, 国际杀菌剂抗性行动委员会 (FRAC) 根据作用机理将此类杀菌剂单独归为一类, 自此琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂成为继甲氧基丙烯酸酯类和三唑类杀菌剂的第三大类杀菌剂种类。近年来随着琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂产品的不断研发, 其国际杀菌剂市场上的销售额迅速增长, 据统计<sup>[5-7]</sup>, 2009 年到 2019 年间, 该类杀菌剂市场销售额在全球杀菌剂市场销售的占比从 3.7% 提升至 12.7%, 与此同时其在作物中的残留及对人类健康和环境的毒害<sup>[8-9]</sup>也越来越为人们所关注, 因此, 建立食品中 SDHI 杀菌剂残留快速检验方法, 对人类健康和该类杀菌剂的发展具有重要意义。

基于液相色谱串联质谱仪的高灵敏度、高特异性和高通量性, 目前, 部分食品中 SDHI 杀菌剂残留的检测方法主要采用液相色谱串联质谱仪 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)。龚蕾等<sup>[10]</sup>建立改进的 QuEChERS

提取和净化方法, 结合超高效液相色谱-串联质谱法测定果蔬中 18 种琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂; 李巧莲等<sup>[11]</sup>以 QuEChERS 为前处理方法, 采用液相色谱-串联质谱仪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) 对大米中 14 种琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂进行定性分析, 并建立增强子离子扫描谱库; 杨欢等<sup>[12]</sup>经电喷雾正/负双离子扫描、多反应监测模式建立改良 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; Abad-Fuentes A 等<sup>[13]</sup>建立 QuEChERS-液相色谱串联质谱对苹果、草莓、土豆和菠菜中 7 种琥珀酸脱氢酶抑制剂杀菌剂残留量的分析方法。当前对 SDHI 杀菌剂残留测定方法的研究基质主要为粮食、水果和蔬菜, 对咖啡基质的研究未见报道, 因此本文建立 QuEChERS 结合液相色谱串联质谱 (LC-MS/MS) 同时测定生咖啡中 19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂农药残留的检测方法, 通过方法验证对所建立方法正确度和精密度进行考察, 以期为生咖啡产品质量安全提供有力的技术保障。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂杀菌剂单标标准品: 萎锈灵 (100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、氧化萎锈灵 (1 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、

灭锈胺 (100 μg/mL)、麦锈灵 (100 μg/mL)、氟酰胺 (100 μg/mL)、甲呋酰胺 (100 μg/mL)、吡啶菌胺 (100 μg/mL)、噻呋酰胺 (100 μg/mL)、啶酰菌胺 (100 μg/mL)、吡噻菌胺 (100 μg/mL)、吡唑萘菌胺 (100 μg/mL)、氟唑菌酰胺 (1 000 μg/mL)、联苯吡菌胺 (100 μg/mL)、氟唑环菌胺 (100 μg/mL)、氟唑菌苯胺 (1 000 μg/mL)、氟吡菌酰胺 (100 μg/mL)、苯并烯氟菌唑 (100 μg/mL)、异丙噻菌胺 (1 000 μg/mL)、氟唑菌酰胺 (100 μg/mL)：购自天津阿尔塔科技有限公司。

乙腈、甲醇为色谱纯：美国 J.T.Baker 公司；甲酸（纯度 88%）：上海阿拉丁生化科技股份有限公司；N-丙基乙二胺（PSA）吸附剂、十八烷基键合硅胶吸附剂（C18）：美国安捷伦科技有限公司；无水硫酸镁：天津市风船化学试剂科技有限公司。

空白基质生咖啡豆：爱侬咖啡生豆，品种为卡蒂姆。咖啡种植地为爱侬曼中田咖啡庄园，该庄园目前已通过欧盟和中国有机认证。

25 个待测样品为随机从普洱市市场上购买卡蒂姆生咖啡豆。

## 1.2 仪器设备

AB SCIEX 3500 三重四级杆液质联用仪：美国 AB SCIEX 公司；3K15 台式高速冷冻离心机：德国 sigma 公司；EVAP 112 氮吹仪：美国 Organomation 公司；移液枪 20 μL、200 μL 和 1 mL：德国艾本德公司；AL204 电子天平：德国梅特勒公司；AS-30600BDT 超声波清洗仪：天津奥特赛恩斯仪器有限公司；VORTEX 2 涡旋混匀器：德国艾卡公司；KL-RO-20 超纯水机：台湾艾科；有机相滤膜：0.22 μm，天津市津腾实验设备有限公司；孔径 0.25 mm 标准检验筛：英国 Endecotts；ZM200 超离心研磨仪：德国莱驰。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 标准溶液配置

19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂杀菌剂单标标准储备溶液：分别准确移取 1 mL 或 0.1 mL 浓度为 100 μg/mL、1 000 μg/mL 单标标准品于 10 mL 容

量瓶中，加入甲醇溶解并定容至刻度（当农药溶剂为正己烷时，先缓慢氮吹净干后再溶解定容），分别配置浓度为 10 μg/mL 的单标标准储备液，标准储备溶液避光 0~4 °C 保存，供各分析物质寻找定量定性离子和优化质谱条件用。

混合标准储备液：各取 1 mL 单标标准储备液于 10 mL 容量瓶中，配置浓度为 1 μg/mL 的混合标准储备液，标准储备溶液避光 0~4 °C 保存，混合标准储备液供定量分析使用。

基质混合标准工作溶液：参照 1.3.2 样品前处理法分别处理 6 个咖啡基质空白样，往已处理完的咖啡基质空白样中依次加入 1、5、10、20、50、100 μL 混合标准储备液，在常温下氮气缓缓吹至净干，加入 1 mL 定溶液（体积比 2 : 8 乙腈和 0.1% 甲酸水）定容混匀，过 0.22 μm 微孔滤膜（尼龙）装瓶，配置系列基质混合标准工作溶液，具体浓度见表 3 方法线性范围和检出限。

### 1.3.2 样品前处理

用超离心研磨仪将 1 000 g 生咖啡豆样品打磨成粉，粉末过标准检验筛（孔径：0.25 mm），未通过筛网的粉末再次进行研磨，直至所有的粉末都通过筛网。将已过筛的粉末样品混合均匀，平铺成圆形，分成四等分，取相对的两份混合，然后再平分，混合后所得粉末样即为待测样。

称 2 g 生咖啡粉末样置于 50 mL 聚乙烯离心管中，加入 20 mL 乙腈，用均质器均质 2 min，4 000 r/min 离心 2 min，取 10 mL 上清液转移至置有吸附剂（1.2 g MgSO<sub>4</sub>、0.4 g PSA 和 0.4 g C18）的 15 mL 离心管中，分别混匀 1 min，4 000 rpm 转速下离心 10 min，准确移取 5 mL 上清液于玻璃试管中，置于 50 °C 水浴氮吹仪中用氮气缓缓浓缩至净干，加 1 mL 定溶液（体积比 2 : 8=乙腈 : 0.1% 甲酸水）定容，过 0.22 μm 有机滤膜待测定。

### 1.3.3 色谱-质谱条件

色谱条件：流动相 A 相为 0.1% 甲酸水，流动相 B 相为乙腈；色谱柱：Phenomenex Kinetex C18，2.6 μm，50 mm×3 mm（内径）；柱温：40 °C；进样量：10 μL；梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序  
Table 1 The procedure of gradient elution

步骤	总时间/ min	流速/ ( $\mu\text{L}/\text{min}$ )	A 相(0.1%甲酸水)/ %	B 相(乙腈)/ %
1	0	300	95	5
2	6	300	5	95
3	8	300	5	95
4	8.1	300	95	5
5	10	300	95	5

质谱条件：电离源模式：电喷雾离子化（正离子模式）；雾化气：氮气；雾化气压力：45 psi；助加热气压力（GS2）：50 psi；电喷雾电压：5 500 V；离子源温度：550  $^{\circ}\text{C}$ 。

### 1.4 数据分析

基质因子 MF(Matrix Factor)的计算公式如式 1:

$$MF = \frac{C_M}{C_P} \quad (1)$$

式中： $C_M$  为基质背景下的浓度； $C_P$  为纯溶剂背景下的浓度

## 2 结果与讨论

### 2.1 前处理条件的选择

前处理中目标分析物提取溶剂的选择主要考虑待测样品的性质和农药的极性两个因素。首先考虑琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂的分子结构，该类杀菌剂化学结构中主要包含羧酸基团、酰胺基团和胺基，大多数元素中还含有氟元素<sup>[14]</sup>，分子结构上有极性基团易溶于极性溶剂而被提取，宜选择极性较强的溶剂作为提取溶剂。其次生咖啡相较于其他植物源性产品其基质较为复杂，所含油脂含量较高<sup>[15]</sup>，不宜采用弱极性溶剂进行提取。因此实验采用极性溶剂乙腈作为提取液，保证目标分析物提取彻底的同时减少提取过程中引入的杂质，降低净化的成本。

目前，在咖啡农药残留测定分析中，常用的净化方法为凝胶渗透色谱仪（GPC）净化，采用该净化技术能很好去除提取物中的脂肪，但净化过程中耗费大量有机溶剂且耗时长，因此本研究采用 QuEChERS 技术净化提取液，QuEChERS 净化技术中常见的净化吸附剂主要有 N-丙基乙二

胺（PSA）、十八烷基硅烷（C18）和石墨化炭黑三种，其中 PSA 主要去除净化液中的脂肪酸、有机酸、极性色素及糖类，C18 对非极性物质和油脂有较好的吸附能力，GCB 能有效去除甾醇和色素，但其对类平面结构化合物具有极强的吸附性。石墨化炭黑表面的碳原子都是  $\text{SP}^2$  杂化呈六边形结构，对含有平面共轭芳香环的琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂具有极强的吸附性，因此本研究在前处理吸附剂的选择中不采用石墨化炭黑吸附剂。生咖啡豆中油脂含量较高，实验分别比较了在无水  $\text{MgSO}_4$ (1.2 g)、PSA(0.4 g)用量固定时，C18 用量梯度变化为 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.8 和 1 g 对净化效果和加标回收的影响，结果显示：当 C18 净化剂用量低于 0.2 g 时，净化液氮吹浓缩后玻璃试管底部有明显脂肪层，表明 C18 用量低于 0.2 g 时对提取液中油脂的吸附去除效果较差；当 C18 用量超过 0.4 g 时，随着 C18 含量的增加，吡噻菌胺回收率依次为 79.8%、70.5%、64.9%和 52.1%，表明当 C18 用量超过 0.4 g 时其对吡噻菌胺也有较大程度的吸附，因此本研究所选用吸附剂和对应的用量分别为无水  $\text{MgSO}_4$ (1.2 g)、PSA(0.4 g)、C18(0.4 g)。

### 2.2 仪器分析参数

将体积浓度为 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂杀菌剂农药单标分别通过质谱所配的外置进样泵以 7  $\mu\text{L}/\text{min}$  流速往质谱仪中进样。母离子优化：在 Q1 正离子模式下扫描，扫描质量范围为 100~M+30 Da(M 代表分析目标物相对分子质量)，记录母离子质核比；子离子优化：在 product ion (MS2) 模式下扫描，扫描范围为 50~母离子 Da，确定响应最强的 2~3 个子离子；去簇电压（DP）和碰撞电压（CE）优化：在 MRM 模式下分别输入已确定的母离子和对应的子离子，扫描优化，以响应最高值为优化的电压值。将 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的基质标准溶液通过所建立的方法扫描，剔除存在基质干扰而不出峰的离子对，最终确定质谱最佳测定参数。表 2 为 19 种农药在串联质谱上的检测参数。

表 2 19 种农药 LC-MS/MS 检测参数

Table 2 LC-MS/MS parameters for 19 succinate dehydrogenase inhibitor fungicides

序号	中文名称	英文名称	保留时间/min	定量离子对	CE/eV	DP/V	定性离子对	CE/eV	DP/V
1	萎锈灵	Carboxin	4.86	236.1 > 142.9	22	65	236.1 > 86.9	32	65
2	氧化萎锈灵	oxyCarboxin	3.94	268.1 > 174.9	20	75	268.1 > 146.9	32	75
3	灭锈胺	Mepronil	5.70	270.1 > 119	32	110	270.1 > 228	21	110
4	麦锈灵	benodanil	5.09	324 > 231	30	80	324 > 203	50	80
5	氟酰胺	Flutolanil	5.66	324.1 > 262.1	25	70	324.1 > 242.1	33	70
6	甲咪酰胺	fenfuram	4.89	202.1 > 108.9	27	80	202.1 > 83	20	80
7	呋吡菌胺	furametpyr	5.17	334.1 > 156.9	36	125	334.1 > 290	22	125
8	噻唑酰胺	thifluzamide	5.92	528.8 > 148	39	115	528.8 > 168	35	115
9	啶酰菌胺	Boscalid	4.91	343.1 > 307	28	105	343.1 > 272	42	105
10	吡噻菌胺	penthiopyrad	6.11	360.2 > 255.9	30	105	360.2 > 276	18	105
11	吡唑萘菌胺	isopyrazam	6.40	360.1 > 244.1	32	110	360.1 > 320.1	31	110
12	氟唑菌酰胺	fluxapyroxad	5.68	382.1 > 342.1	29	71	382.1 > 314	36	71
13	联苯吡菌胺	bixafen	5.20	414 > 266	33	85	414 > 394	20	85
14	氟唑环菌胺	sedaxane	5.77	332.1 > 159	26	89	332.1 > 292.1	20	89
15	氟唑菌苯胺	penflufen	6.11	318.1 > 141.1	40	95	318.1 > 234.1	23	95
16	氟吡菌酰胺	fluopyram	5.81	397 > 208	31	76	397 > 145	74	76
17	苯并烯氟菌唑	benzovindiflupyr	6.15	398.1 > 286.1	40	100	398.1 > 342	26	100
18	异丙噻菌胺	isofetamid	5.85	360.1 > 125	39	70	360.1 > 210.1	15	70
19	氟唑菌酰胺羧胺	pydiflumetofen	6.36	426 > 406	19	85	426 > 192.9	40	85

分别考察了甲醇-0.1%甲酸水和乙腈-0.1%甲酸水作为流动相,对 19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂基质标品的分析响应效果。结果表明,以甲醇-0.1%甲酸水为流动相时,除氟唑菌酰胺羧胺外,其余 18

种目标分析物的响应均比以乙腈-0.1%甲酸水为流动相弱,因此选择乙腈-0.1%甲酸水为流动相,图 1 为 19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂农药基质标准溶液的总离子流色谱图。

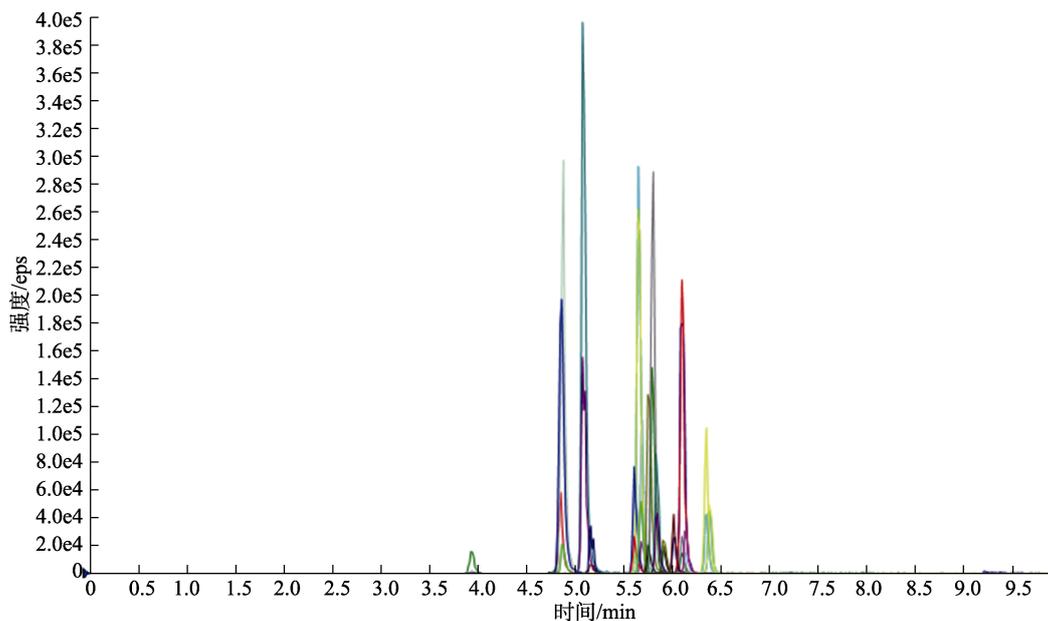


图 1 19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂基质标准溶液的总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of 19 succinate dehydrogenase inhibitor fungicides matrix standards



表 3 19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂线性回归方程、相关系数和检出限

Table 3 Regression equations, correlation coefficients and LOD of succinate dehydrogenase inhibitor fungicides

序号	中文名称	英文名称	线性范围/(ng/mL)	校准曲线	相关系数	检出限/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	定量限/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
1	萎锈灵	Carboxin	1~100	$A=14\ 805C-10\ 631$	0.995 7	1.17	3.51
2	氧化萎锈灵	oxyCarboxin	1~100	$A=1\ 502C-1\ 274$	0.998 8	1.55	4.65
3	灭锈胺	Mepronil	1~100	$A=7\ 124C-351$	0.997 6	1.45	4.35
4	麦锈灵	benodanil	1~100	$A=23\ 939C-10\ 445$	0.997 7	1.16	3.48
5	氟酰胺	Flutolanil	1~100	$A=16\ 117C-5\ 054$	0.995 6	0.84	2.52
6	甲呋酰胺	fenfuram	1~100	$A=17\ 005C-9\ 771$	0.998 7	0.93	2.79
7	呋吡菌胺	furametpyr	1~100	$A=2\ 003C-801$	0.996 1	2.11	6.33
8	噻呋酰胺	thifluzamide	1~100	$A=1\ 352C-1\ 624$	0.995 3	2.74	8.22
9	啶酰菌胺	Boscalid	1~100	$A=5\ 054C-7\ 053$	0.997 3	0.95	2.85
10	吡噻菌胺	penthiopyrad	1~100	$A=986C-166$	0.996 3	0.88	2.64
11	吡唑萘菌胺	isopyrazam	1~100	$A=2\ 683C+1\ 090$	0.995 8	1.74	5.22
12	氟唑菌酰胺	fluxapyroxad	1~100	$A=4\ 340C+945$	0.998 1	0.84	2.52
13	联苯吡菌胺	bixafen	1~100	$A=2\ 043C-2\ 661$	0.997 3	0.52	1.56
14	氟唑环菌胺	sedaxane	1~100	$A=8\ 482C+3\ 223$	0.998 1	1.14	3.42
15	氟唑菌苯胺	penflufen	1~100	$A=13\ 621C-6\ 524$	0.999 1	0.51	1.53
16	氟吡菌酰胺	fluopyram	1~100	$A=10\ 422C-11\ 201$	0.995 0	0.67	2.01
17	苯并烯氟菌唑	benzovindiflupyr	1~100	$A=839C+1\ 512$	0.999 7	4.60	13.8
18	异丙噻菌胺	isofetamid	1~100	$A=4\ 402C+13\ 425$	0.996 4	1.59	4.77
19	氟唑菌酰胺	pydiflumetofen	1~100	$A=2\ 621C+1\ 783$	0.997 8	2.24	6.72

由表 3 可知：19 种农药在各自质量浓度范围内线性关系良好，相关系数  $R^2$  在 0.995 6~0.999 7 之间，方法最小检出限范围为 0.51~4.60  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限范围为 1.53~13.8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 2.5 方法的正确度和精密度

在生咖啡空白基质中分别加入 3 个水平的混

合标准品，静置 30 min，使生咖啡与标准品充分接触后，按 1.3.2 中的方法提取、净化并检测，每个添加水平进行 6 次平行实验，计算各农药的平均回收率和相对标准偏差（relative standard deviation, RSD），以考察方法的正确度和精密度，具体结果见表 4。

表 4 生咖啡中 19 种农药加标回收率及其相对标准偏差 ( $n=6$ )Table 4 Average recovery and relative standard deviation of 19 pesticides in green coffee ( $n=6$ )

序号	中文名称	英文名称	加标 0.01 mg/kg		加标 0.05 mg/kg		加标 0.1 mg/kg	
			Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD
1	萎锈灵	Carboxin	79.6	6.1	91.6	4.3	96.8	9.5
2	氧化萎锈灵	oxyCarboxin	90.8	3.5	99.1	7.6	102.3	7.1
3	灭锈胺	Mepronil	92.1	5.2	92.5	6.9	97.4	3.4
4	麦锈灵	benodanil	102.1	1.8	107.6	3.7	96.5	5.7
5	氟酰胺	Flutolanil	89.2	4.9	104.2	1.4	98.5	6.6
6	甲呋酰胺	fenfuram	90.8	8.1	91.3	7.4	89.6	8.3
7	呋吡菌胺	furametpyr	103.2	4.3	107.8	5.6	102.9	8.1
8	噻呋酰胺	thifluzamide	101.6	5.2	106.6	7.6	99.7	5.9
9	啶酰菌胺	Boscalid	90.4	8.5	97.1	9.7	87.6	7.5
10	吡噻菌胺	penthiopyrad	91.2	3.1	88.6	4.8	97.2	4.9
11	吡唑萘菌胺	isopyrazam	107.5	1.7	98.3	5.9	106.4	6.4
12	氟唑菌酰胺	fluxapyroxad	101.5	3.8	110.2	1.6	108.9	5.4
13	联苯吡菌胺	bixafen	90.5	7.5	96.6	3.5	103.6	2.5
14	氟唑环菌胺	sedaxane	93.5	6.7	108	7.9	102.7	7.4

续表 4

序号	中文名称	英文名称	加标 0.01 mg/kg		加标 0.05 mg/kg		加标 0.1 mg/kg	
			Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD
15	氟唑菌苯胺	penflufen	96.8	3.9	108.6	4.1	103.8	8.1
16	氟吡菌酰胺	fluopyram	84.2	2.7	96.5	1.5	101.7	3.7
17	苯并烯氟菌唑	benzovindiflupyr	90.1	4.2	105.8	6.2	103.1	5.3
18	异丙唑菌胺	isofetamid	85.6	5.0	93.2	4.9	97.1	3.9
19	氟唑菌酰胺	pydiflumetofen	95.2	4.4	106.8	8.3	109.4	2.7

由表 4 可知：在不同加标水平下，19 种农药的平均回收率为 79.6%~109.4%，相对偏差 (RSD) 为 1.4%~9.7%，回收率满足中华人民共和国农业部 2386 公告《农药残留检测方法国家标准编制指南》附录 A 植物源性食品中农药残留检测方法编制技术正确度和精密度要求：当加标量在 0.001~0.01 mg/kg 时，回收率范围为 60%~120%，实验室内相对标准偏差小于等于 32%；当加标量在 0.01~0.1 mg/kg 时，回收率范围为 70%~120%，实验室内相对标准偏差小于等于 22%；加标量介于 0.1~1 mg/kg 时回收率范围为 70%~110%，相对标准偏差小于 18%。实验数据满足要求，表明该方法适用于咖啡中 19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂杀菌剂的残留分析。

### 2.6 实际样品测定

从普洱市咖啡店随机购买卡蒂姆生咖啡豆样品 25 批次，采用本文建立的前处理方法和仪器参数分析 19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂杀菌剂残留量，结果未发现上述 19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂的阳性样品。

### 3 结论

本研究建立了 QuEChERS 结合液相色谱串联质谱法同时测定生咖啡中 19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂残留的检测方法，通过系列方法验证实验，结果表明 19 种目标化合物在 1~100 ng/mL 浓度范围内线性关系良好，相关系数大于 0.995，在 0.01~0.1 mg/kg 的加标水平下，平均回收率为 79.6%~109.4%，相对标准偏差 (RSD, n=6) 为 1.4%~9.7%，方法检出限为 0.51~4.60 μg/kg。该方法具有操作简便、试剂耗用量小、分析时间短、高灵敏度和高准确性等特点，满足生咖啡中 19 种琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂残留的准确定量。

### 参考文献：

- [1] 党铭铭, 刘民华, 柳爱平, 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 M M, LIU M H, LIU A P, et al. The latest research progress of succinate dehydrogenase inhibitor fungicides[J]. Agrochemicals, 2020, 59(6): 391-396.
- [2] OLIVEIRA M S, CORDOVA L G, PERES N A. 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.
- [3] MATSSON M, HEDERSTEDT L. The carboxin-binding site on paracoccus denitrificans succinate: quinone reductase identified by mutations[J]. J Bioenerg Biomembr, 2001, 33(2): 90-105.
- [4] IMRAN M, ALI E F, HASSAN S, et al. Characterization and sensitivity of Botrytis cinerea to benzimidazole and succinate dehydrogenase inhibitors fungicides, and illustration of the resistance profile[J]. Australasian Plant Pathology, 2021, 50(6): 589-601.
- [5] 唐建刚, 高履桐, 黄洋扬. 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, 755(21): 116-119.  
TAN J G, GAO L T, HUANG Y Y. Summary of patented technology of succinate dehydrogenase inhibitor fungicides[J]. Henan Science and Technology, 2021, 755(21): 116-119.
- [6] 赵平, 白雪婧, 邓云艳, 等. 琥珀酸脱氢酶抑制剂(SDHI)类杀菌剂抗性机制研究进展[J]. 农药, 2022, 61(6): 391-395.  
ZHAO P, BAI X J, DENG Y Y, et al. Research progress on resistance mechanism of succinate dehydrogenase inhibitor(SDHI) fungicides[J]. AGROCHEMICALS, 2022, 61(6): 391-395.
- [7] 毛玉帅, 段亚冰, 周明国. 琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂抗性研究进展[J]. 农药学报, 2022, 24(5): 937-948.  
MAO Y S, DUAN Y B, ZHOU M G. Research progress of the resistance to succinate dehydrogenase inhibitors[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2022, 24(5): 937-948.
- [8] 李红, 敬同坊, 李同宾, 等. 琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂水生生态毒理学研究进展[J]. 农药学报, 2021, 23(3): 446-455.  
LI H, JING T F, LI T B, et al. Research progress on ecotoxicological effects of succinic dehydrogenase inhibiting fungicides on aquatic organisms[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2021, 23(3): 446-455.

- [9] 姚鸿州. 三种琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂对斑马鱼的毒性效应研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2019.  
YAO H Z. Toxic effects of three succinate dehydrogenase inhibitor fungicides on zebrafish[D]. Hanzhou: Zhejiang University of Technology, 2019.
- [10] 龚蕾, 黄徽, 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 Science, 2021, 42(18): 261-268.
- [11] 李巧莲, 袁帅, 罗景阳, 等. 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[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(9): 2855-2863.  
LI Q L, YUAN S, LUO J Y, et al. Determination of 14 kinds of succinate dehydrogenase inhibitor fungicides in rice by QuEChERS-liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2022, 13(9): 2855-2863.
- [12] 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 W H, CAO Z Y, et al. Determination of eight novel succinate dehydrogenase inhibitor fungicides in vegetables by modified QuEChERS[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2016, 34(11): 1070-1076.
- [13] ABAD-FUENTES A, CEBALLOS-ALCANTARILLA E, MERCADER J V, et al. Determination of succinate-dehydrogenase-inhibitor fungicide residues in fruits and vegetables by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Analytical and bioanalytical chemistry, 2015, 407: 4207-4211.
- [14] 仇是胜, 柏亚罗. 琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂的研发进展(I)[J]. 现代农药, 2014, 13(6): 1-7.  
QIU S S, BAI Y L. Progress on research and development of succinate dehydrogenase inhibitor fungicides (I)[J]. Modern Agrochemicals, 2014, 13(6): 1-7.
- [15] 李学俊, 崔文锐, 杜华波, 等. 小粒种咖啡的主要成分及功能分析[J]. 热带农业科学, 2016, 36(6): 71-75.  
LI X J, CUI W R, DU H B, et al. Analysis on major components and function of coffee arabica[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2016, 36(6): 71-75.
- [16] KEBARLE P, TANG L. From ions in solution to ions in the gas phase- the mechanism of electrospray mass spectrometry[J]. Anal Chem, 1993, 65(22): 972A-986A.
- [17] MATUSZEWSKI B K, CONSTANZER M L, CHAVEZ -ENG C M. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS[J]. Anal Chem, 2003, 75: 3019-3030.
- [18] RAPOSO F, BARCELÓ D. Challenges and strategies of matrix effects using chromatography-mass spectrometry. An overview from research versus regulatory viewpoints[J]. Trends in Analytical Chemistry, 2020, 134: 116068.
- [19] NASIRI A, JAHANI R, MOKHTARI S, et al. Overview, consequences, and strategies for overcoming matrix effects in LC-MS analysis: a critical review[J]. The Analyst, 2021, 146(20): 6049-6063.
- [20] HEWAVITHARANA A K, TAN S K, SHAW P N. Strategies for the detection and elimination of matrix effects in quantitative LC-MS analysis[J]. LC-GC North America, 2014, 32(1): 54-64.
- [21] 张虹艳, 邱国玉, 吴福祥, 等. 组织研磨-QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法测定动物源食品中磺胺类药物残留以及基质效应的研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(10): 259-270.  
ZHANG H Y, QIU G Y, WU F X, et al. Determination of sulfonamides in animal-originated foods by grinder QuEChERS high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and research on matrix effects[J]. Science an Technology of Food Industry, 2020, 41(10): 259-270. 

备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lyspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。