

# 杀菌剂嘧菌酯的多种色谱分析方法研究

梅丽芸<sup>1\*</sup>, 吴琼<sup>2</sup>, 徐守明<sup>1</sup>, 靳文<sup>1</sup>, 刘倩倩<sup>1</sup>, 邓梦雪<sup>1</sup>

(1.安徽省化工研究院, 安徽合肥 230041;

2.合肥海关技术中心, 食品安全分析与检测安徽省重点实验室, 安徽合肥 230022)

**摘要:**建立了4种检测嘧菌酯含量的色谱分析法, 包括液相色谱-二极管阵列法(LC-DAD)、液相色谱-质谱法(LC-MS)、气相色谱-氢火焰离子化法(GC-FID)、气相色谱-质谱法(GC-MS)。通过优化定性、定量分析条件进行各种方法的精密度和准确度测定, 根据出峰时间、峰型、线性范围、精密度、准确度等指标得出各种方法的优缺点。结果表明, LC-MS和GC-MS选择性更好、灵敏度更高、对杂质的抗干扰性更强, 而LC-DAD和GC-FID的线性关系更好、精确度和准确度更高。

**关键词:** 嘧菌酯; 色谱分析; 质谱检测; 准确度; 精密度

中图分类号: O657.7; TQ455

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2024)S1-0363-05

DOI: 10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2024.S1.066

## Study on multiple chromatographic analysis methods for azoxystrobin fungicide

MEI Li-yun<sup>1\*</sup>, WU Qiong<sup>2</sup>, XU Shou-ming<sup>1</sup>, JIN Wen<sup>1</sup>, LIU Qian-qian<sup>1</sup>, DENG Meng-xue<sup>1</sup>

(1. Anhui Research Institute of Chemical Industry, Hefei 230041, China; 2. Anhui Provincial Key Laboratory of Analysis and Detection for Food Safety, Technology Center of Hefei Customs District, Hefei 230022, China)

**Abstract:** Four kinds of chromatographic analysis methods are established for detecting the content of azoxystrobin, including liquid chromatography-diode array (LC-DAD), liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), gas chromatography-hydrogen flame ionization (GC-FID), and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The precision and accuracy of these methods are determined through optimizing the qualitative and quantitative analysis conditions. The advantages and disadvantages of various methods are identified through indicators such as peaking time, peak shape, linear range, precision, and accuracy. Results show that LC-MS and GC-MS methods have better selectivity, higher sensitivity and better anti-interference to impurities, while LC-DAD and GC-FID methods show better linear relationship, higher precision and higher accuracy.

**Key words:** azoxystrobin; chromatographic analysis; mass-spectrometry detection; accuracy; precision

嘧菌酯((E)-{2-[6-(2-氰基苯氧基)嘧啶-4-氧基]苯基}-3-甲氧基丙烯酸甲酯(Azoxystrobin)是一种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂, 具有杀菌广谱、活性高、持效期长、毒性低、对非靶标生物安全的特点<sup>[1]</sup>。嘧菌酯的杀菌原理为其能够阻断细胞色素 b 和细胞色素 c1 之间的电子传递, 抑制能量合成, 从而使细菌死亡<sup>[2]</sup>。据统计, 截至 2023 年 7 月, 嘧菌酯原药登记 77 个, 制剂 517 个, 广泛用于谷物、水稻、葡萄、马铃薯、蔬菜、咖啡、柑橘、香蕉、桃、梨、草坪等众多作物, 几乎可防治所有病害<sup>[3]</sup>。嘧菌酯的结构式如图 1 所示。

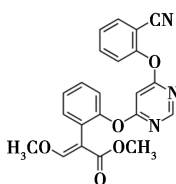


图 1 嘧菌酯的结构式

选择适宜的嘧菌酯检测方法是农药原药研发、生产、制剂研发与生产、农药残留检测等必不可少的手段。目前关于嘧菌酯原药、制剂、残留的分析检测方法主要有气相色谱-氮磷法(GC-NPD)<sup>[4]</sup>、气相色谱-质谱法(GC-MS)<sup>[5]</sup>、气相色谱串联质谱法(GC-MS/MS)<sup>[6]</sup>、液相色谱-紫外法(LC-UV)<sup>[7-8]</sup>、液相色谱-质谱法(LC-MS)<sup>[9]</sup>、液相色谱串联质谱法(LC-MS/MS)<sup>[10]</sup>等。除色谱分析外还有胶体金免疫层析等方法应用于样品中嘧菌酯的残留检测<sup>[11]</sup>。

气相色谱串联质谱法(GC-MS/MS)<sup>[12-13]</sup>、液相色谱串联质谱法(LC-MS/MS)<sup>[14]</sup>、免疫层析等方法主要应用于样品中嘧菌酯的残留分析, 而在制剂产品以及原药产品的分析检测中液相色谱<sup>[15-16]</sup>和气相色谱应用较为广泛。本文建立了液相色谱-二极管阵列法(LC-DAD)、液相色谱-质谱

收稿日期: 2024-01-15; 修回日期: 2024-05-22

作者简介: 梅丽芸(1990-), 女, 硕士, 工程师, 研究方向为农药化工中间体的分析检测, 通讯联系人, 1459191808@qq.com。

法(LC-MS)、气相色谱-氢火焰离子化法(GC-FID)、气相色谱-质谱法(GC-MS)等 4 种不同分析方法对噻菌酯原药进行分析。这些分析方法使用的色谱仪器广泛用于分析实验室中,通过对比 4 种分析方法的优缺点,供不同情况下分析人员根据实验室条件、按照噻菌酯分析的目标要求进行方法选择。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器

Agilent 1260 液相色谱仪配二极管阵列检测器,色谱工作站 Openlab CDS,色谱柱 Eclipse Plus C18 5  $\mu\text{m}$  4.6 $\times$ 150 mm;Agilent 1260 液相色谱仪串联质谱检测器(IQ),色谱工作站 Openlab CDS,色谱柱 Poroshell 120 EC-C18 2.7  $\mu\text{m}$  4.6 $\times$ 150 mm;Agilent 7820 气相色谱仪配氢火焰离子化检测器,色谱工作站 Openlab CDS,色谱柱 HP-1(30 m,0.25 mm,0.25  $\mu\text{m}$ );岛津气相色谱质谱联用仪 GCMS-QP2010 Ultra,色谱工作站 GC-MS solution,色谱柱 Inert Cap 17MS(30 m,0.25 mm,0.25  $\mu\text{m}$ )。

梅特勒分析天平,ME55,精确到 0.01 mg。

移液枪,Eppendorf 20~200  $\mu\text{L}$ 、100~1 000  $\mu\text{L}$ 。

### 1.2 试剂和溶液

噻菌酯原药标准品(麦克林标样,质量分数 98%)。

溶剂:甲醇(色谱纯,上海星可高纯溶剂有限公司);乙腈(色谱纯,fisher chemical);甲酸(色谱纯,麦克林)。

水(屈臣氏蒸馏水)。

### 1.3 检测条件

#### 1.3.1 液相色谱-二极管阵列法检测条件

仪器:Agilent 1260 液相色谱仪配二极管阵列检测器(DAD)。检测条件为色谱柱:Eclipse Plus C18 5  $\mu\text{m}$  4.6 $\times$ 150 mm;流动相:甲醇:0.1%甲酸水溶液=60:40(v/v);流量:1 mL/min;柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ ;检测波长 250 nm;进样量:5  $\mu\text{L}$ 。

#### 1.3.2 液相色谱-质谱法检测条件

仪器:Agilent 1260-IQ 联用仪。检测条件为色谱柱:Poroshell 120 EC-C18,2.7  $\mu\text{m}$ ,3.0 $\times$ 150 mm;流量 0.4 mL/min;流动相:乙腈:0.1%甲酸水溶液=55:45;柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ ;进样量:2  $\mu\text{L}$ ;采用 ESI 正离子模式,选择离子 SIM 模式,定量离子为 404  $m/z$ 。碎裂电压 70 V;干燥气温度 325 $^{\circ}\text{C}$ ;干燥气流量 11 mL/min;毛细管电压 3 500 V;雾化器压力 50 psi。

#### 1.3.3 气相色谱-氢火焰离子化法检测条件

仪器:Agilent 7820 配氢火焰离子化检测器(FID)。进样量:5  $\mu\text{L}$ ;进样口:300 $^{\circ}\text{C}$ ;分流比 5:1;色谱柱型号:HP-1(30 m,0.25 mm,0.25  $\mu\text{m}$ );色谱柱流量:1.5 mL/min(载气为高纯氮气);恒定流量;柱温:220 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min,20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  上升至 300 $^{\circ}\text{C}$ ,保持 5 min。氢火焰离子化检测器(FID)的检测条件:温度:300 $^{\circ}\text{C}$ ;空气流量:300 mL/min;氢气流量:40 mL/min;尾吹气流量(高纯氮气):20 mL/min。

#### 1.3.4 气相色谱-质谱法检测条件

仪器:岛津气质联用仪 GCMS-QP2010 Ultra。进样量:2  $\mu\text{L}$ ;进样口:300 $^{\circ}\text{C}$ ;不分流进样;色谱柱型号:Inert Cap 17MS(30 m,0.25 mm,0.25  $\mu\text{m}$ );色谱柱流量:0.64 mL/min(载气为高纯氮气);恒定流量;柱温:280 $^{\circ}\text{C}$ 保持 5 min,20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  上升至 300 $^{\circ}\text{C}$ 保持 20 min。质谱的检测条件:离子源温度:290 $^{\circ}\text{C}$ ,接口温度:290 $^{\circ}\text{C}$ ,检测器电压:相对调谐结果 0.2 kV;选择离子 SIM 模式,定量离子为 344  $m/z$ 。

### 1.4 检测步骤

#### 1.4.1 标准溶液的配制

称取噻菌酯 12.0 mg 左右(精确至 0.000 1 g),置于 10 mL 的容量瓶中,用色谱级乙腈稀释至刻度,配制成 1.2 g/L 的噻菌酯标准储备溶液。

分别移取 0.01 mL、0.05 mL、0.10 mL、0.2 mL、0.5 mL、1 mL、2 mL、5 mL 噻菌酯标准储备溶液于 10 mL 容量瓶内,配制成一系列浓度的标准溶液。液相色谱-二极管阵列法和气相色谱-氢火焰离子化法标准曲线选用标准品的浓度范围为 10~1 200 mg/L;液相色谱-质谱法标准曲线选用标准品的浓度范围为 1~120 mg/L,气相色谱-质谱法标准曲线选用标准品的浓度范围为 1~240 mg/L。

#### 1.4.2 试样溶液的配制

称取试样 5.0 mg(精确到 0.000 1 g),置于 10 mL 的容量瓶中,用色谱级乙腈稀释至刻度,摇匀后待测。

#### 1.4.3 测定

在上述色谱操作条件下,待仪器基线稳定后连续注入数针标样溶液,待相邻两针的相对响应值变化小于 1.5%时,将待测样品直接取方法体积进样。

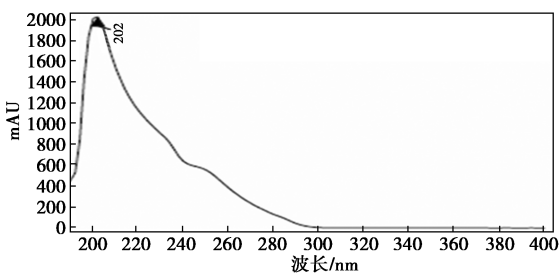
#### 1.4.4 计算

将测得的 2 针试样溶液噻菌酯峰面积进行平均,得到的峰面积值按照不同方法的线性方程计算得到试样中噻菌酯浓度,从而得到噻菌酯的质量分数。

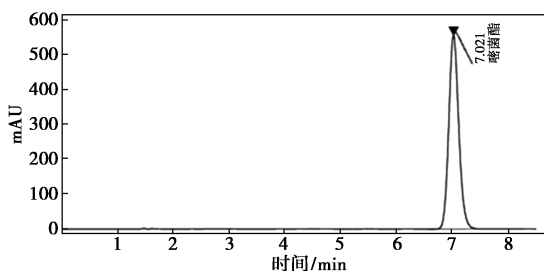
## 2 结果与讨论

### 2.1 液相色谱-二极管阵列法检测条件的选择

通过 Agilent 1260 液相色谱仪的光谱数据采集功能,获得啉菌酯的 3D-UV 波长扫描图,啉菌酯的 3D-UV 波长扫描图及液相色谱图见图 2。从图 2 (a) 中可以看到,啉菌酯的最大吸收波长在 202 nm 处,此后波长吸收不断下降。为了尽可能减少干扰,将检测波长定为 250 nm。通过对比甲醇/水、乙腈/水等体系,选择甲醇-0.1%甲酸水溶液为流动相,不断调整甲醇与 0.1%甲酸水溶液的体积比来优化啉菌酯的出峰时间。最终按照 1.3.1 的条件进行检测得到啉菌酯的出峰时间为 7.02 min。由于液相色谱-二极管阵列法和液相色谱-紫外吸收法原理一致,当检测波长确定后,2 种方法可以相互替代,本文不再将液相色谱-二极管阵列法和液相色谱-紫外吸收法进行方法的对比。



(a) 3D-UV 波长扫描图



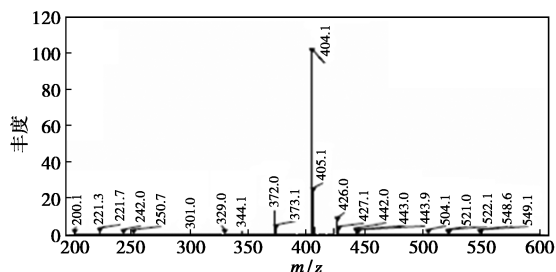
(b) 液相色谱图

图 2 啉菌酯的 3D-UV 波长扫描图和液相色谱图

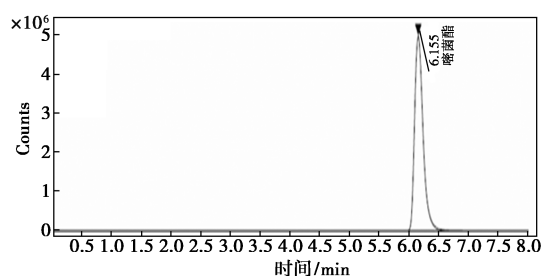
### 2.2 液相色谱-质谱法检测条件的选择

啉菌酯的相对分子质量为 403.388,使用安捷伦 Agilent 1260-IQ 联用仪进行分子量的检测,为促进啉菌酯质子化,故液相色谱-质谱法采用乙腈-0.1%甲酸水溶液体系,采用 1.3.2 中色谱条件检测;采用 ESI 正离子模式扫描,扫描范围 200~600  $m/z$ 。测出样品的  $m/z$  为 404.1(如图 3 所示),符合母离子  $M+H$  的出峰原理,与文献描述的一致<sup>[17]</sup>。色谱条件不变,质谱采用选择离子(SIM)模式,定量

离子为 404  $m/z$ ,通过优化毛细管电压、碎裂电压等条件,最终按照 1.3.2 的条件进行检测,啉菌酯的出峰时间为 6.15 min。



(a) 质谱图



(b) 选择离子流程图

图 3 啉菌酯的质谱图和选择离子流程图(液质联用)

### 2.3 气相色谱-氢火焰离子化法检测条件的选择

由于氢火焰离子化检测器(FID)为实验室内气相色谱最通用的检测器以及实验室内现有条件,故本文采用气相色谱-氢火焰离子化法检测啉菌酯。在参考文献的基础上,对比不同的气相色谱柱 HP-1、HP-5、DB-17、DB-WAX 等,发现 HP-1 的色谱柱出峰更快,对样品中杂质的分离能力更好,再通过不断优化柱温以及进样口温度等条件,最终选择 1.3.3 的条件进行检测,啉菌酯的出峰时间为 7.94 min,此时啉菌酯和样品中的杂质已经达到完全分离。啉菌酯的气相色谱图见图 4。

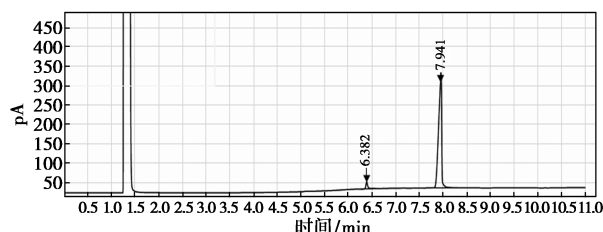
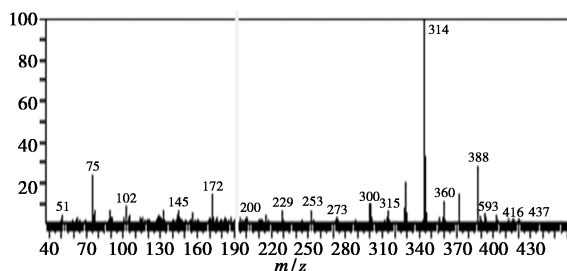


图 4 啉菌酯的气相色谱图

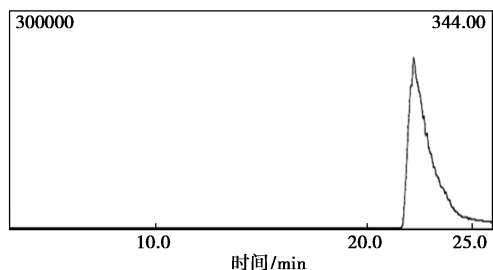
### 2.4 气相色谱-质谱法检测条件的选择

啉菌酯的相对分子质量为 403.388,使用岛津气质联用仪 GCMS-QP2010 Ultra,选用 SCAN 模式进行分子量的扫描(扫描范围为 50~450  $m/z$ ),根据现有色谱柱及 GC-FID 优化方法选用 Inert Cap 17MS

毛细管色谱柱,得到噻菌酯的碎裂质谱图,其中碎片离子 344  $m/z$  的丰度最大,与文献描述的一致<sup>[18]</sup>。色谱条件不变,质谱采用选择离子(SIM)模式,定量离子为 344  $m/z$ ,最终按照 1.3.4 的条件进行检测,噻菌酯的出峰时间为 22.18 min。噻菌酯的质谱图见图 5。



(a) 质谱图

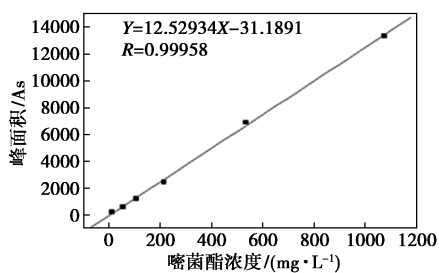


(b) 选择离子流程图

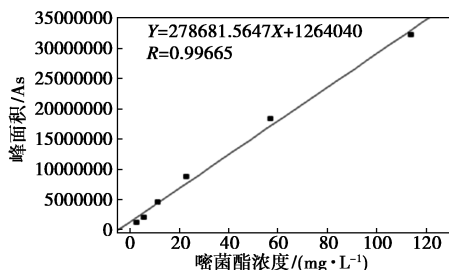
图 5 噻菌酯的质谱图和选择离子流程图  
(气质联用)

### 2.5 标准曲线的建立

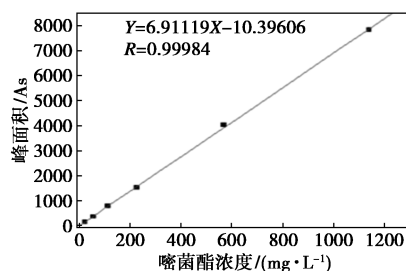
采用外标法,以噻菌酯的浓度比为横坐标、峰面积为纵坐标绘制标准曲线。噻菌酯的标准曲线图见图 6。



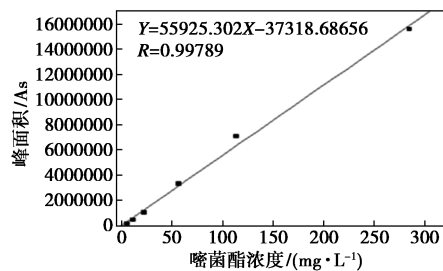
(a) 液相色谱-二极管阵列法



(b) 液相色谱-质谱法



(c) 气相色谱-氢火焰离子化法



(d) 气相色谱-质谱法

图 6 噻菌酯的标准曲线图

对比不同分析方法,其中液相色谱-二极管阵列法在 10~1 200 mg/L 浓度范围内线性回归方程为  $Y=12.52934X-31.1891$ ,相关系数  $R=0.99958$ ;液相色谱-质谱法在 1~120 mg/L 浓度范围内线性回归方程为  $Y=278681.5647X+1264040$ ,相关系数  $R=0.99665$ ;气相色谱-氢火焰离子化法在 10~1 200 mg/L 浓度范围内线性回归方程为  $Y=6.91119X-10.39606$ ,相关系数  $R=0.99984$ ;气相色谱-质谱法在 5~240 mg/L 浓度范围内线性回归方程为  $Y=55925.302X-37318.68656$ ,相关系数  $R=0.99789$ 。

### 2.6 精密度的测定

在上述操作条件下,分别用 4 种方法对同一样品进行 5 次平行测定(液相色谱-质谱法和气相色谱-质谱法为同一样品稀释 50 倍后检测),测定结果见表 1。

表 1 噻菌酯分析方法的精密度测定结果 %

方法名称	测定次数					平均值	标准偏差	变异系数
	1	2	3	4	5			
HPLC-DAD	71.08	71.25	71.19	71.02	71.22	71.15	0.087	0.123
HPLC-MS	71.94	72.01	72.49	71.98	73.86	72.86	0.73	1.002
GC-FID	70.99	70.98	71.27	71.56	71.24	71.21	0.214	0.301
GC-MS	70.76	71.53	72.23	71.94	73.33	71.96	0.85	1.18

### 2.7 准确度的测定

称取已知含量的噻菌酯试样,分别加入一定量

的啉菌酯标准品,在上述色谱条件下进行分析,用上述4种方法测定啉菌酯的回收率(液相色谱-质谱法和气相色谱-质谱法为同一样品稀释50倍后检测),测定结果见表2。

表2 啉菌酯分析方法准确度测定结果

方法名称	编号	已知量/ mg	添加量/ mg	实测量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%
HPLC-DAD	1	1.16	1.14	2.31	100.87	101.09
	2	1.16	2.28	3.52	103.51	
	3	1.16	4.56	5.67	98.90	
HPLC-MS	1	1.16	1.14	2.38	107.02	105.26
	2	1.16	2.28	3.71	111.84	
	3	1.16	4.56	5.42	96.92	
GC-FID	1	1.16	1.14	2.25	95.61	98.17
	2	1.16	2.28	3.40	98.25	
	3	1.16	4.56	5.75	100.66	
GC-MS	1	1.16	1.14	2.39	107.89	101.97
	2	1.16	2.28	3.31	94.30	
	3	1.16	4.56	5.89	103.73	

### 3 结论

采用4种色谱分析的外标法对合成或制剂样品中啉菌酯的含量进行测定,适合样品量较高时的分析测定。4种方法样品均不经预处理可直接进样测定。液相色谱-质谱法和气相色谱-质谱法选择性更好、灵敏度更高、对杂质的抗干扰性更强,而液相色谱-二极管阵列法和气相色谱-氢火焰离子化法的线性关系更好、精确度和准确度更高。分析人员可根据自己实验室条件以及样品检测要求合理选择合适的方法,为啉菌酯的合成工艺和制剂产品研发提供反应过程监测和成品质量控制的方法。

### 参考文献

- [1] 朱卫刚,胡伟群,刘燕君,等.新型杀菌剂啉菌酯对葡萄霜霉病室内生物活性评价[J].中国南方果树,2011,40(4):80-81.
- [2] 陈瑾,吴如建,胡涵青,等.6种啉菌酯复配剂对水稻纹枯病的防治效果[J].中国农学通报,2023,29(18):162-167.
- [3] 钱虹,张翼翮.50%啉菌酯水分散粒剂高效液相色谱分析方法[J].农药,2013,52(6):423-424.
- [4] 邹志博,吕岱竹,罗金辉.30%苯醚甲环唑·啉菌酯悬浮剂在香蕉和土壤中的残留分析方法研究[J].热带农业科学,2012,32(11):82-86.
- [5] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.GB 23200.46—2016食品中啉菌胺、啉菌胺、腈菌唑、啉菌酯残留量的测定气相色谱质谱法[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [6] 梁少东,伍国怡,张铨.QuEChERS-GC-MS/MS测定茶叶中吡唑啉菌酯、啉菌酯的残留量[J].广州化工,2022,50(10):77-79.
- [7] 郑育新.对单个啉菌酯样品分析方法改进[J].江西化工,2020,(1):92-94.
- [8] 孙钰洁,颜明.28%三环唑·啉菌酯悬浮剂的高效液相色谱分析[J].世界农药,2022,44(3):57-60.
- [9] 陈海燕,陶文波,丁克鸿.液质联用分析啉菌酯合成中的副反应[J].农药,2016,55(10):725-728.
- [10] 马增辉等.高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中啉菌酯残留[J].食品安全导刊,2021,(23):71-72.
- [11] 贾惠言,吴银良.柑橘中农药多残留检测方法比对分析[J].浙江农业科学,2022,63(6):1345-1350.
- [12] 杨彬,吴伟,石俊永.气相色谱质谱法检测灌溉地表水中5种杀菌剂残留[J].中国测试,2021,47(7):60-63.
- [13] 唐澈,郭自国,周天明.气相色谱-串联质谱法同时测定水果蔬菜中的四种农药残留[J].中南农业科技,2023,44(5):61-63.
- [14] 马新刚,张爱娟,梁林,等.HPLC-MS/MS法检测葡萄中啉菌酯的残留[J].现代农药,2020,19(1):44-45.
- [15] 常海龙,王龙,卞传飞,等.45%苯并烯氟菌唑·啉菌酯WG的高效液相色谱分析方法[J].应用化工,2023,52(1):300-302.
- [16] 刘雪芬,陈梦露,潘光飞,等.19%丙环·啉菌酯悬浮剂高效液相色谱分析方法研究[J].精细化工中间体,2021,51(6):73-76.
- [17] 马秀珍.液质联用检测番茄中的啉菌酯[J].青海农技推广,2021,(3):56-58.
- [18] 胡文.气相色谱串联质谱法测定茶叶中啉菌酯的残留量[J].广东茶叶,2018,(2):11-13.■

### 我国制造业领域外资准入限制措施实现“清零”

经党中央、国务院同意,国家发展改革委、商务部于9月8日全文发布《外商投资准入特别管理措施(负面清单)(2024年版)》,自2024年11月1日起施行。

2024年版全国外资准入负面清单限制措施由31条减至29条,制造业领域外资准入限制措施实现“清零”。《外商投资准入特别管理措施(负面清单)(2021年版)》同时废止。

国家发展改革委有关负责人介绍,发布实施2024年版全国外资准入负面清单,是建设更高水平开放型经济新体

制的重要举措,也展示了我国坚定不移推动投资自由化便利化的决心和推动全球开放合作的担当。

国家发展改革委将会同商务部等部门、各地区,深入实施准入前国民待遇加负面清单管理制度,落实好2024年版全国外资准入负面清单,确保新开放措施及时落地。对负面清单之外的领域,按照内外资一致原则管理,给予外商投资企业国民待遇。同时,坚持统筹开放和安全,扎实做好风险防控工作。

(新华网)