

doi: 10.12452/j.fxcsxb.26021004

超高效液相色谱-串联质谱法测定铁皮石斛中氯氟醚菌唑及其4种代谢物残留

严铁¹, 赵炎^{2,3}, 王亚如^{2,4}, 王雅琪², 王祥云⁵, 罗逢健², 王敏^{1,3},
崔新仪^{3*}, 张新忠^{2,4*}

(1. 浙江省植保检疫与农药管理总站, 浙江 杭州 310020; 2. 中国农业科学院茶叶研究所, 茶树种质创新与资源利用全国重点实验室, 浙江 杭州 310008; 3. 天津农学院 园艺园林学院, 天津 300384; 4. 杭州华谱农业科技有限公司, 浙江 杭州 310008; 5. 浙江省农业科学研究院农产品质量安全与营养研究所, 农产品质量安全全国重点实验室, 浙江 杭州 310022)

摘要: 通过比较不同提取溶剂、净化填料组合及定容溶剂比例的色谱响应差异, 建立了铁皮石斛鲜叶和鲜茎中氯氟醚菌唑及其4种代谢物(1, 2, 4-三氮唑、三唑乙酸、三唑丙氨酸和三唑丙酸)的残留分析方法, 并成功用于田间实际样品检测。样品经2%甲酸乙腈提取, 盐析处理后, 采用C₁₈、GCB与MgSO₄混合填料净化过滤, 浓缩近干后用乙腈-5 mmol/L乙酸铵水溶液(体积比1:1)定容, 通过HSS T₃色谱柱实现目标物分离, 采用超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)检测, 基质外标法定量。结果显示: 氯氟醚菌唑在0.005~2 mg/L、代谢物在0.05~5 mg/L范围内, 不同基质标准曲线的相关系数(r^2)均不小于0.9910; 低、中、高3个添加水平下, 平均回收率为73.1%~107%, 相对标准偏差(RSD)为1.9%~10%; 除4种代谢物在鲜茎中的定量下限(LOQ)为0.1 mg/kg外, 其余LOQ均为0.01 mg/kg。大棚试验中, 铁皮石斛喷施400 g/L氯氟醚菌唑·吡唑醚菌酯悬浮剂后, 氯氟醚菌唑在鲜叶和鲜茎中消解均符合方程 $C=69.6417e^{-0.093t}$ ($r^2=0.9832$, 半衰期7.45 d)和 $C=30.86463e^{-0.052t}$ ($r^2=0.9053$, 半衰期13.33 d)。该方法准确、灵敏、可靠, 满足残留分析的技术要求, 可用于铁皮石斛实际样品中氯氟醚菌唑及其代谢物的残留检测。

关键词: 铁皮石斛; 农药残留; 氯氟醚菌唑; 代谢物; 超高效液相色谱-串联质谱法

中图分类号: O657.7; S481 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)06-0001-09

Residue Analysis of Mefentrifluconazole and Its Four Metabolites in *Dendrobium officinale* by Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

YAN Tie¹, ZHAO Yan^{2,3}, WANG Ya-ru^{2,4}, WANG Ya-qi², WANG Xiang-yun⁵, LUO Feng-jian²,
WANG Min^{1,3}, CUI Xin-yi^{3*}, ZHANG Xin-zhong^{2,4*}

(1. Zhejiang Provincial Plant Protection, Quarantine and Pesticide Management Station, Hangzhou 310020, China; 2. National Key Laboratory for Tea Plant Germplasm Innovation and Resource Utilization, Tea Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310008, China; 3. College of Horticulture and Gardening, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China; 4. Hangzhou Hope Agricultural Technology Co., Ltd, Hangzhou 310008, China; 5. State Key Laboratory for Quality and Safety of Agro-products, Institute of Agro-product Safety and Nutrition, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310022, China)

Abstract: In this study, a validated residue analysis method was established for the simultaneous determination of mefentrifluconazole and its four primary metabolites (1, 2, 4-triazole, triazoleacetic acid, triazolealanine, and triazolepropionic acid) in fresh leaves and stems of *Dendrobium officinale*. Method optimization involved systematic comparison of extraction solvents, purification sorbent combinations, and chromatographic responses of reconstitution solvents. The optimized procedure was successfully applied to field samples, verifying its practical applicability. Specifically, samples

收稿日期: 2026-02-10; 修回日期: 2026-04-13

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ASTIP-TRI); 浙江省农业重大技术协同推广计划(330000260130318023014)

* 通讯作者: 崔新仪, 博士, 副教授, 研究方向: 农产品质量安全与植物保护研究, E-mail: xycui@tjau.edu.cn;
张新忠, 博士, 研究员, 研究方向: 农产品质量安全与植物保护研究, E-mail: zxz.1982@163.com

were extracted with 2% formic acid-acetonitrile solution, followed by salting-out phase separation, purified using a mixed sorbent (C_{18} , GCB, and $MgSO_4$), filtered, concentrated to near dryness, and reconstituted in acetonitrile-5 mmol/L ammonium acetate solution (1:1, volume ratio) for instrumental analysis. Separation was achieved on a HSS T_3 column, and quantification was performed via ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) using the matrix-matched external standard method. For matrix-matched standards, the linear correlation coefficients (r^2) of mefentrifluconazole at 0.005-2 mg/L and its metabolites at 0.05-5 mg/L all exceeded 0.991 0. At three spiked levels (low, medium, high), average recoveries ranged from 73.1% to 107%, with relative standard deviations (RSDs) of 1.9%-10%, and the limits of quantification (LOQs) were 0.01 mg/kg except for the four metabolites in fresh stems (0.10 mg/kg). After greenhouse application of 400 g/L mefentrifluconazole·pyraclostrobin suspension concentrate on *Dendrobium officinale*, the dissipation of mefentrifluconazole in fresh leaves and stems followed first-order kinetics, with regression equations of $C=69.6417e^{-0.093t}$ ($r^2=0.9832$, half-life=7.45 days) and $C=30.86463e^{-0.052t}$ ($r^2=0.9053$, half-life=13.33 days), respectively. These results confirm that the developed method is accurate, sensitive, and reliable for routine residue analysis, and can be effectively utilized for the real sample determination of mefentrifluconazole and its metabolites in *Dendrobium officinale*.

Key words: *Dendrobium officinale*; pesticide residue; mefentrifluconazole; metabolites; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

氯氟醚菌唑(MFZ)是巴斯夫在2019年推出的首款异丙醇-三唑类杀菌剂^[1],作为一种甾醇生物合成中 C^{14} -脱甲基化抑制剂,其作用机制为通过阻止病菌细胞膜中麦角甾醇的生物合成,改变其生物结构,抑制细胞生长,最终实现抑菌杀菌效果^[2]。氯氟醚菌唑具有生物活性强、环境选择性优异的特点,即使在短时降雨等不利天气条件下施药,仍能保持良好杀菌效能^[3]。目前,氯氟醚菌唑已在全球范围内用于60多种大田作物、经济作物及特种作物的病害防治^[4],在我国已登记用于黄瓜、三七和小麦等22种作物。然而,现有国内外相关分析研究多集中于氯氟醚菌唑原药及制剂层面,分析对象主要为小麦、水稻等粮食作物^[5-6]、黄瓜、马铃薯、香蕉和芒果等果蔬^[7-10]以及鸡肉、猪肉等肉制品^[11],常用分析方法包括液相色谱-串联质谱法^[5-11]、气相色谱-质谱法^[12]等,针对其代谢物的残留分析研究较为匮乏。

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)作为兰科石斛属名贵中药材,具有益胃生津、滋阴清热的功效^[13],被誉为“救命仙草”“药中黄金”^[14]。作为多年生附生型草本植物,铁皮石斛适宜生长在阴凉潮湿、半阴半阳的环境中^[15],导致其极易遭受病虫害侵袭,其中由病原菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 引发的叶部炭疽病,发病率可达25%~75%^[16]。该病原菌对新型农药氯氟醚菌唑敏感^[17],因此氯氟醚菌唑可作为防治铁皮石斛叶部炭疽病的优选药剂,且能有效降低病菌对现有农药的抗性风险。欧洲食品安全局(EFSA)明确指出,植物源食品中氯氟醚菌唑的残留风险评估需同时包含母体化合物及三唑丙氨酸、三唑丙酸、三唑乙酸、1,2,4-三氮唑4种代谢物^[18]。氯氟醚菌唑属于低等毒性杀菌剂,其每日允许摄入量(ADI)为0.035 mg/kg bw/day,急性参考剂量(ARfD)为0.15 mg/kg bw;代谢物中,除三唑丙氨酸外,其余3种均表现出不同程度的经口毒性^[19]。目前已建立母体化合物与代谢物独立评估的完整毒理学评价体系,数据证实授权用途下其三唑衍生物代谢物(TDMs)的暴露量低于安全阈值^[20]。对映体研究显示,氯氟醚菌唑R-体具有高效低毒特性,而S-体对非靶标水生生物的毒性较高^[21];同时相关研究表明,氯氟醚菌唑对哺乳动物、蜜蜂等生物安全性优异、毒性较低,无急性及长期毒性风险,突破了传统三唑类杀菌剂对人体与动物的潜在危害局限^[22],为农药研发提供了重要指导。然而,现有氯氟醚菌唑残留风险评估研究均未涉及上述4种代谢物,且对铁皮石斛这一药食同源中药材的专项残留分析方法尚未建立。

基于此,本文采用超高效液相色谱-串联质谱技术,建立了铁皮石斛鲜叶与鲜茎中氯氟醚菌唑及其4种代谢物的残留分析方法,并用于田间实际样品测定,可为铁皮石斛生长过程中氯氟醚菌唑的降解代谢研究、中药材质量安全及其他农产品中该类物质的残留风险评估提供技术参考。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

UPLC/Quattro Premier XE 超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪(美国 Waters 公司), 配有 ESI 源、MassLynx 4.1 工作站; 0.000 1 g 和 0.01 g 电子分析天平(美国 Mettler Toledo 公司); 高速离心机(德国 Sigma 公司); DFT-200 食品粉碎机(温岭市林大机械有限公司); R-210 BUCHI 旋转蒸发仪(瑞士 BUCHI Labortechnik A G 公司); KQ-250DB 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); T18 均质器(德国 IKA 公司); Vortex-2 涡旋混合器(美国 Scientific 公司); 0.22 μm Filter Unit 滤膜(天津博纳艾杰尔科技有限公司); 2 mL 进样瓶(浙江宁波哈迈仪器科技有限公司)。

1.2 样品与试剂

无水硫酸镁、氯化钠(分析纯, 上海试四赫维化工有限公司); 甲酸、乙酸、乙酸铵(色谱纯, 上海安谱实验科技股份有限公司); 乙腈、甲醇(色谱纯, 德国 Merck 公司); 石墨炭黑(GCB, 120~140 目)、十八烷基硅烷(C_{18} , 40~60 μm)(天津博纳艾杰尔科技有限公司); 纳米氧化锆(ZrO_2 , 20~40 nm)(江苏先丰纳米材料科技有限公司); 多壁碳纳米管(MWCNT, >95%, 5~10 nm I. D., 10~20 nm O. D., 10~30 μm L.)上海麦克林生化科技股份有限公司); 纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

氯氟醚菌唑(MFZ, $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{O}_2$, CAS No.: 1417782-03-6, 纯度 > 98.5%): 上海安谱瑾世标准技术有限公司产品; 1, 2, 4-三氮唑(TRZ, 纯度 > 99.0%)标准品: 常州坛墨质检科技股份有限公司产品; 三唑丙氨酸(TA, 纯度 > 99.2%)、三唑丙酸(TLA, 纯度 > 99.0%)和三唑乙酸(TAA, 纯度 > 98.0%): 天津阿尔塔科技有限公司产品; 400 g/L 氯氟醚菌唑·吡唑醚菌酯(1:1)悬浮剂: PD20190264, 美国巴斯夫公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 样品处理 铁皮石斛鲜叶或茎磨碎后, 称取 2.00 g(精确至 ± 0.01 g)至 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 的 2% 甲酸乙腈, 涡旋混匀 1~2 min 后均质 20 s; 加入 0.80 g 氯化钠, 涡旋混匀 1~2 min, 再以 3 000 r/min 振荡 5 min, 随后以 7 500 r/min 离心 5 min; 吸取 6.0 mL 上清液至含有 30 mg C_{18} 、100 mg MgSO_4 和 15 mg GCB 的 10 mL 离心管中, 涡旋混匀 1 min, 以 7 500 r/min 离心 5 min, 过膜至 10 mL 离心管; 分取 5.0 mL 上清液至 50 mL 鸡心瓶中, 40 $^{\circ}\text{C}$ 下旋转蒸发近干后, 加入 1.0 mL 乙腈-5 mmol/L 乙酸铵水溶液(1:1, 体积比)超声辅助溶解后, 过 0.22 μm 有机微孔尼龙滤膜至进样瓶中, 采用 UPLC-MS/MS 测定, 基质外标法定量。

1.3.2 实验条件 色谱条件: 色谱柱: ACQUITY UPLC[®] HSS T3(1.8 μm , 2.1 mm \times 100 mm); 柱温: 45 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 5 μL ; 流动相: A 为 0.015% 甲酸乙腈, B 为 5 mmol/L 乙酸铵水溶液。梯度洗脱程序: 0~2.0 min, 5% A; 2.0~2.5 min, 5%~70% A; 2.5~3.0 min, 70%~98% A; 3.0~6.0 min, 98% A; 6.0~6.5 min, 98%~5% A; 6.5~9.0 min, 5% A; 流速: 0.25 mL/min。

质谱条件: 电喷雾正电离多反应监测(ESI⁺-MRM)模式; 毛细管电压为 3.5 kV; 离子源温度为 150 $^{\circ}\text{C}$; 脱溶剂气(N_2)温度和流速分别为 350 $^{\circ}\text{C}$ 和 700 L/h; 碰撞气(Ar)流速为 0.30 mL/min; 锥孔反吹气(N_2)流速为 60 L/h; 倍增电压为 650 V; 母离子驻留时间为 0.1 s, 氯氟醚菌唑及其代谢物的保留时间和其他质谱参数见表 1。

表 1 氯氟醚菌唑及其代谢物的质谱参数和保留时间

Table 1 Retention time and parameters of mass spectrometric analysis for mefenfluconazole and its metabolites

Compound	Parent ion(m/z)	Daughter ion(m/z)	Voltage/V	Collision energy/eV	Retention time/min
MFZ(氯氟醚菌唑)	398.1	70.2*, 182.1	30	20, 30	4.51
TRZ(1, 2, 4-三氮唑)	70.1	43.1, 70.1*	35	25, 5	1.36
TAA(三唑乙酸)	128.1	70.2*, 82.1	30	15, 25	1.12
TA(三唑丙氨酸)	157.1	84.1, 111.2*	20	20, 15	1.09
TLA(三唑丙酸)	158.1	70.2*, 112.2	30	15, 15	1.14

*: quantitative ion

1.4 标准曲线与基质效应

分别称取一定量的氯氟醚菌唑及其代谢物标准品于 25 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解配制成 200 mg/L

的标准储备液, $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。将标准储备液用甲醇稀释成 20 mg/L 混合标准溶液, 采用定容溶剂以及经过“1.3”方法处理后得到的铁皮石斛鲜叶和鲜茎基质配制 0.005 、 0.010 、 0.050 、 0.10 、 0.50 、 1.0 、 2.0 、 5.0 mg/L 系列标准溶液, 每个浓度平行测定 3 次, 以质量浓度为横坐标(x), 峰面积平均值为纵坐标(y), 得到氯氟醚菌唑及代谢物的不同基质标准曲线和线性相关系数。

基质效应(ME)为(基质标准曲线的斜率/溶剂标准曲线的斜率-1) $\times 100\%$; 若 $\text{ME} > 0$, 表明存在基质增强效应; 若 $\text{ME} < 0$, 则表明存在基质减弱效应; 若 $\text{ME} \approx 0$ 表明基质对响应影响较小^[23]。

1.5 加标回收率、精密度与方法定量下限

称取 $(2.00 \pm 0.01)\text{ g}$ 铁皮石斛鲜叶和鲜茎空白样品, 添加 0.01 、 0.1 、 1 mg/kg 3 个浓度水平的混合标准溶液, 涡旋混匀后, 放置 2 h 以更接近实际样品情况, 按照“1.3 方法”进行提取净化, 每个浓度重复 6 次; 同时用经处理得到的空白铁皮石斛鲜叶和鲜茎样品溶液定容, 配制相应浓度的基质标准溶液, 计算加标回收率(RSD)、相对标准偏差和定量限(LOQ)。

1.6 实际样品分析

2025 年 6 月 6 日~6 月 20 日, 在浙江省金华市婺城区安地镇仙源山铁皮石斛基地, 选取种植大棚中长势较好的铁皮石斛地块两块, 每块面积 50 m^2 , 其中一块按照制剂 19.375 克/亩 剂量喷施 400 g/L 的氯氟醚菌唑·吡唑醚菌酯悬浮剂, 药后分别间隔 2 h、1、3、5、7、14 d 后, 按照 15 点法剪取铁皮石斛鲜叶、鲜茎各 200 g , 分别测定氯氟醚菌唑及其代谢物残留量; 另外一块作为空白对照。药前采样经测定不含氯氟醚菌唑及其代谢物残留。

2 结果与讨论

2.1 色谱-质谱条件优化

为提升分析方法的灵敏度和准确性, 以 2 mg/L 混合标准溶液为对象, 采用电喷雾电离正负两种模式进行全扫描获得一级质谱图。结果显示, 氯氟醚菌唑及其 4 种代谢物在 ESI^+ 模式下的响应强度显著高于 ESI^- 模式, 其准分子离子峰(母离子, $[\text{M}+\text{H}]^+$)分别为 m/z 70.1、128.1、157.1、158.1 和 398.1 (见表 1)。随后, 从 5 V 到 50 V 逐步改变电喷雾锥孔电压, 确定各母离子获得最佳响应的锥孔电压值(见表 1); 在此基础上, 对准分子离子峰(母离子)进行不同碰撞能量下的子离子扫描, 选择响应信号稳定且强度较高的子离子分别作为定量离子与定性离子, 最终确定 ESI^+ -MRM 模式下的最佳碰撞能量。氯氟醚菌唑及其 4 种代谢物的二级质谱图见图 1, 质谱优化参数见表 2。

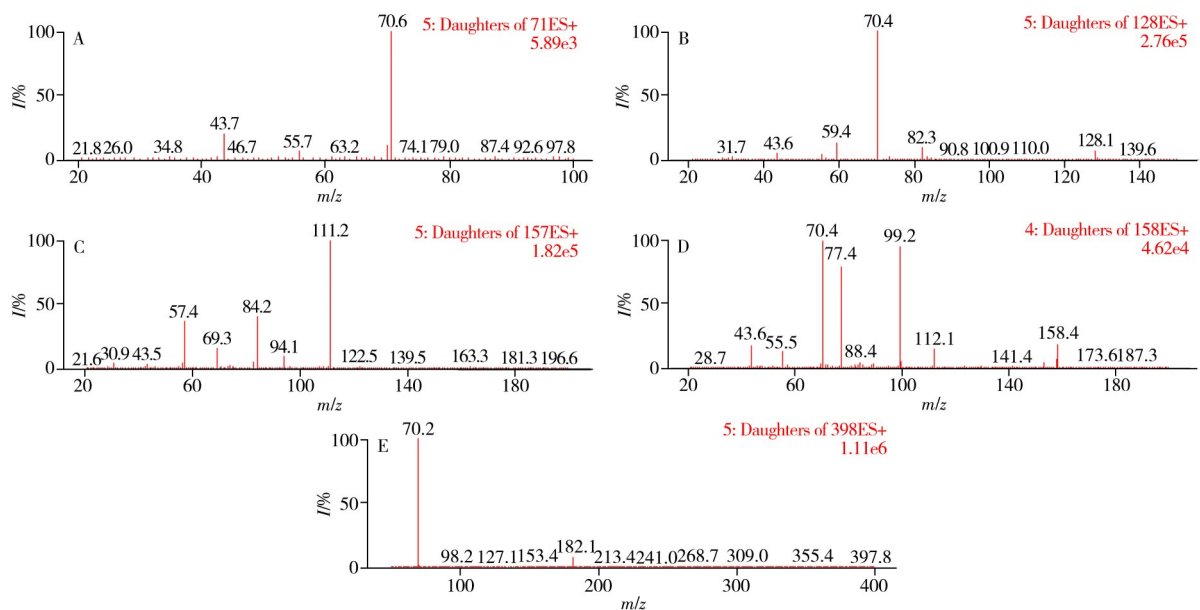


图 1 氯氟醚菌唑及其代谢物的二级质谱裂解图

Fig. 1 Fragmentation mass spectra of mefenfluconazole and its metabolites

A. TRZ; B. TAA; C. TA; D. TLA; E. MFZ

流动相的合理选择对目标化合物的色谱分离起着决定性作用。为提升化合物离子效率并优化色谱峰形, 通常需在流动相中加入适量改性剂: 甲酸可有效减少目标物与色谱柱固定相之间的次级相互作用, 抑制峰拖尾现象; 乙酸铵则能构建稳定的缓冲体系, 保证保留时间的重现性。因此, 考察了以5 mmol/L 乙酸铵水溶液为水相, 分别以不同pH值的乙腈(纯乙腈、0.1%甲酸乙腈、0.01%甲酸乙腈、0.0015%甲酸乙腈以及0.002%甲酸乙腈)为有机相时, 不同流动相体系对氯氟醚菌唑及其4种代谢物分离效果与响应值的影响。综合分离度、峰形及响应强度等指标, 确定最优流动相体系为0.015%甲酸乙腈和5 mmol/L 乙酸铵水溶液, 对应的色谱梯度洗脱程序如“1.3.2”所示。

2.2 前处理方法的优化

2.2.1 提取溶剂 农药残留分析时, 选择合适的提取溶剂对完全提取复杂基质中的目标分析物至关重要, 其提取效果直接体现在提取回收率与净化效果。乙腈作为 QuEChERS 方法的常用提取溶剂, 具有可溶解多种极性与非极性农药、能与水混溶且易通过盐析实现分层的优势^[24]。近年来, 农药代谢物因可能存在毒性增强的特性, 且其理化性质常与母体化合物存在显著差异, 使其残留研究日益受到关注, 但也增加了提取与净化过程的难度^[25]。针对不同样品类型与目标分析物的特性, 通常需在乙腈中加入适量甲酸或氨水以提高目标化合物的提取效率, 进而提升分析方法的回收率。以2.0 g 铁皮石斛鲜叶添加样品为研究对象, 考察了10 mL 8种不同酸碱度的提取溶剂对氯氟醚菌唑及4种代谢物回收率的影响, 包括纯乙腈(ACN)、5种酸化乙腈(含1%、2%、4%、6%和10%的甲酸)及2种碱化乙腈(含5%、10%的氨水)。图2数据表明: 不同提取溶剂体系下差异显著, 代谢物(TAA、TA和TLA)在纯乙腈或碱化乙腈体系中的回收率为32.6%~62.7%(其中纯乙腈提取TLA的回收率除外), 均未达到残留分析方法的要求, 说明中性或碱性提取液对铁皮石斛基质中目标化合物的提取效果影响较大; 而采用酸化乙腈提取时, 氯氟醚菌唑及其4种代谢物的回收率随提取液酸度升高呈现先上升后下降的变化趋势。最终确定最优提取溶剂为2%甲酸乙腈, 在此条件下目标化合物的回收率为79.6%~116%, 满足残留分析的技术标准。

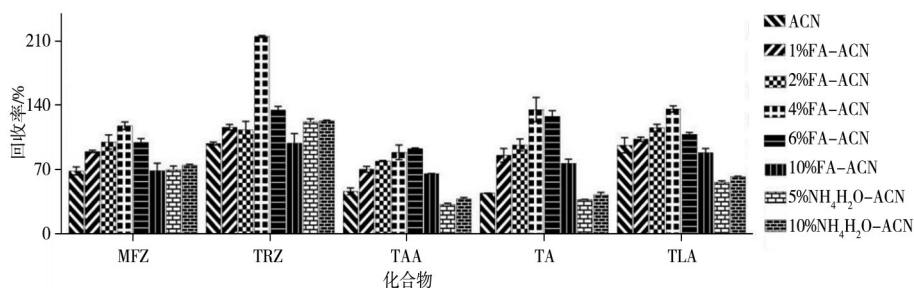


图2 不同酸碱度溶剂对氯氟醚菌唑及其代谢物提取回收率的影响

Fig. 2 Effects of different pH solvents on the extraction recoveries for mefenflupropyl and its metabolites

2.2.2 净化填料 净化填料是决定 QuEChERS 方法净化效能和检测准确性的关键因素, 需同时满足对基质中干扰物质的强吸附能力, 并保证待测目标物获得可接受的回收率。本研究使用1.5 mL 铁皮石斛鲜叶提取上清液, 考察了不同C₁₈填料用量对氯氟醚菌唑及其4种代谢物净化吸附效果的影响。结果显示, 随着填料用量的增加, 待测化合物的回收率逐步下降, 而提取液颜色差异不显著, 表明单一C₁₈填料无法完全吸附去除基质中的色素类干扰物, 难以达到最佳净化效果。

在此基础上, 选取10 mg C₁₈与GCB、MWCNT、ZrO₂进行组合净化实验, 5种目标化合物的回收率及基质效应见图3。实验发现, 氧化铝与多壁碳纳米管的引入均对代谢物三唑丙氨酸产生强吸附作用, 导致其回收率显著降低。综合氯氟醚菌唑及其4种代谢物的回收率与样品净化效果, 初步确定10 mg C₁₈与5.0 mg GCB组合填料净化, 目标化合物的回收率为69.5%~108%。考虑到铁皮石斛鲜叶与鲜茎样品的基质差异及后续浓缩要求, 确定优化净化方案为: 采用30 mg C₁₈、15 mg GCB与100 mg MgSO₄填料组合, 对6.0 mL未浓缩的基质提取液进行净化处理, 净化效果对比见图3C。该填料组合可有效平衡目标物回收率与基质干扰去除效率。

2.2.3 定容及进样溶液 铁皮石斛基质复杂, 富含多种营养成分及次生代谢产物^[25], 而氯氟醚菌唑的4种代谢物均为小分子化合物, 水溶性强。直接采用乙腈定容容易产生显著溶剂效应, 导致目标化合

物的色谱峰形畸变、响应强度下降。因此,本研究采用乙腈-乙酸铵水溶液体系定容,以缓解流动相及基质对代谢物峰形与响应的影响。考察了乙腈与 5 mmol/L 乙酸铵水溶液不同体积比(10:0、9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9和0:10)定容对 1 mg/L 溶剂标样进样响应及峰形的影响,结果显示,乙腈与 5 mmol/L 乙酸铵水溶液为 5:5 定容时,目标化合物的色谱峰形和响应最优(图 4)。

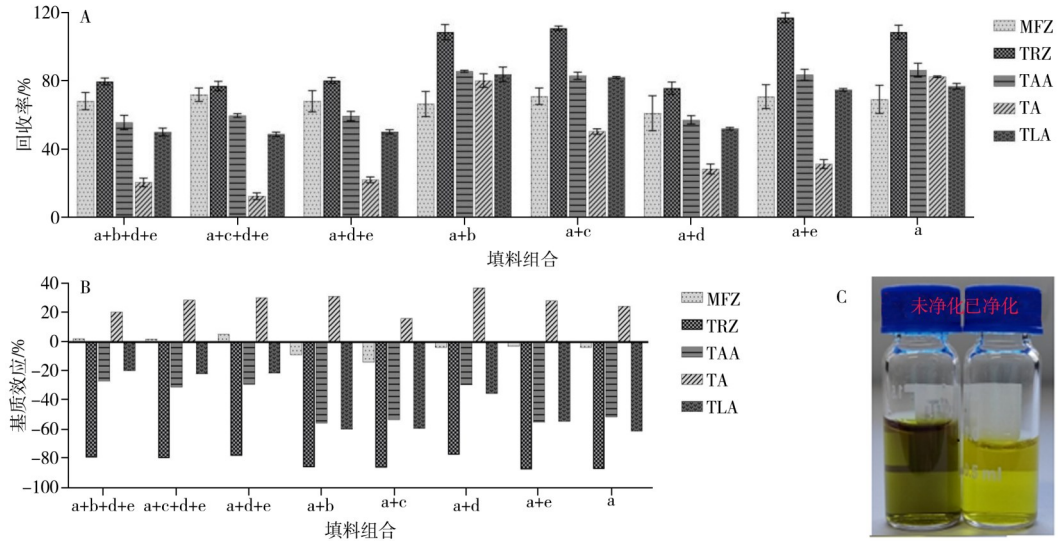


图 3 不同填料组合对氯氟醚菌唑及其代谢物回收率(A)和基质效应(B)的影响及最优填料组合净化效果(C)

Fig. 3 The effects of different adsorbents combinations on the recoveries(A) and matrix effects(B) for mefenitruconazole and its metabolites, and the purification effects(C) of optimal adsorbents combination

a. 10 mg C_{18} ; b. 5 mg GCB; c. 10 mg MWCNT; d. 50 mg $MgSO_4$; e. 5 mg ZrO_2 .

2.3 标准曲线与基质效应

在优化条件下,测定 0.005 0、0.010、0.050、0.10、0.50、1.0、2.0、5.0 mg/L 的氯氟醚菌唑及其 4 种代谢物的溶剂、鲜叶和鲜茎基质标准溶液,得到线性方程和相关系数(见表 2)。结果表明,各基质中氯氟醚菌唑(线性范围为 0.005~2.0 mg/L)及其代谢物(线性范围为 0.05~5.0 mg/L)线性关系良好,相关系数(r^2)不小于 0.991 0,符合残留分析要求。铁皮石斛鲜叶和鲜茎样品经净化后仍存在基质抑制效应,基质效应(ME)为-83%~-46%,因此实际样品需采用基质标准外标法定量;氯氟醚菌唑的检出限(LOD)为 0.002 mg/L,其代谢物的 LOD 为 0.01 mg/L。

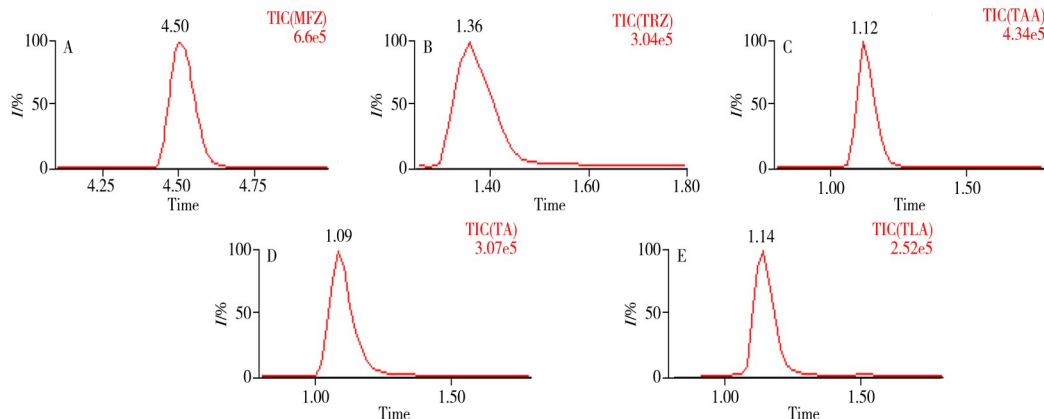


图 4 氯氟醚菌唑及其 4 种代谢物的色谱图

Fig. 4 Chromatograms of mefenitruconazole and its four metabolites

A. MFZ; B. TRZ; C. TAA; D. TA; E. TLA

2.4 方法回收率、精密度和定量下限

按照“1.5”进行添加回收率实验,方法的回收率、精密度和定量下限结果见表 3。氯氟醚菌唑及其 4 种代谢物在铁皮石斛鲜叶和鲜茎中的平均回收率为 73.1%~107%,RSD 为 1.9%~10%;除代谢物在

鲜茎中的LOQ为0.1 mg/kg外, 其余均为0.01 mg/kg。该方法满足残留分析要求。

表2 不同基质中氯氟醚菌唑及其代谢物的线性方程、相关系数、基质效应和检出限

Table 2 The linear equations, correlation coefficients, matrix effects and limits of detection for mefentrifluconazole and its metabolites in different matrices

Analyte	Matrix	Linear range/(mg·L ⁻¹)	Linear equation	r ²	ME/%	LOD/(mg·L ⁻¹)
MFZ	溶剂	0.005 0~2.0	y=477 451x+19 909	0.991 0	-	0.002
	鲜叶		y=156 120x+7 783.6	0.999 9	-67	
	鲜茎		y=214 640x-2 315.5	0.998 6	-55	
TRZ	溶剂	0.050~5.0	y=44 649x+1 330.3	0.999 0	-	0.01
	鲜叶		y=24 206x+13 331	0.999 4	-46	
	鲜茎		y=18 971x+21 863	0.998 0	-58	
TAA	溶剂	0.050~5.0	y=15 943x-986.7	0.997 2	-	0.01
	鲜叶		y=4 575.9x+27.637	0.998 7	-71	
	鲜茎		y=4 325.9x+448.95	0.999 4	-73	
TA	溶剂	0.050~5.0	y=26 697x+326.43	0.999 9	-	0.01
	鲜叶		y=4 413.5x+1 173.3	0.998 7	-83	
TLA	溶剂	0.050~5.0	y=11 476x-372.45	0.999 5	-	0.01
	鲜叶		y=2 161.6x+41.827	0.999 7	-81	
	鲜茎		y=2 673x+38.302	0.999 8	-77	

表3 不同基质中氯氟醚菌唑及其代谢物的平均回收率、相对标准偏差和定量下限

Table 3 Average recoveries, relative standard deviations and limits of quantitation of mefentrifluconazole and its metabolites in different matrices

Analyte	Matrix	Added/(mg·kg ⁻¹)	Average recovery/(n=6)	RSD/%	LOQ/(mg·kg ⁻¹)
MFZ	鲜叶	1	82.1±5.1	6.2	0.01
		0.1	97.5±4.8	4.9	
		0.01	91.8±7.2	7.8	
	鲜茎	1	86.2±5.4	6.3	0.01
		0.1	80.6±8.4	10	
		0.01	83.9±2.8	3.4	
TRZ	鲜叶	1	98.2±1.9	2.0	0.01
		0.1	99.6±7.1	7.1	
		0.01	105±3.1	3.0	
	鲜茎	1	89.5±5.7	6.4	0.10
		0.1	89.3±3.0	3.4	
		0.01	73.1±3.6	4.9	
TAA	鲜叶	1	73.1±3.6	4.9	0.01
		0.1	85.2±6.3	7.4	
		0.01	97.4±4.0	4.2	
	鲜茎	1	89.2±5.7	2.4	0.10
		0.1	85.1±2.1	6.6	
		0.01	75.5±6.1	8.1	
TA	鲜叶	1	75.5±6.1	8.1	0.01
		0.1	83.4±5.2	6.2	
		0.01	85.6±5.1	6.0	
	鲜茎	1	73.4±1.8	2.3	0.10
		0.1	88.8±1.5	1.7	
		0.01	90.2±4.0	4.4	
TLA	鲜叶	1	107±10	9.5	0.01
		0.1	83.6±9.1	11	
		0.01	94.2±4.0	4.2	
	鲜茎	1	76.4±5.1	6.6	0.10
		0.1	90.2±4.0	4.4	
		0.01	90.2±4.0	4.4	

2.5 实际样品测定结果

采用本方法对“1.6”获得的铁皮石斛鲜叶与鲜茎样品进行提取分析, 结果见图5和表4。田间按剂量喷施氯氟醚菌唑于铁皮石斛植株后, 其在鲜叶上的消解曲线方程为 $C=69.6417e^{-0.093t}$, $r^2=0.9832$, 半衰期为7.45 d; 在鲜茎上的消解曲线方程为 $C=30.86463e^{-0.052t}$, $r^2=0.9053$ 和, 半衰期为13.33 d; 田间消解样品中未检出4种代谢物。氯氟醚菌唑在铁皮石斛鲜茎中残留呈先升后降趋势, 可能因施药时主要受药在鲜叶上, 氯氟醚菌唑被叶片内吸传导到茎上, 导致消解前期茎中氯氟醚菌唑残留量增加。随着铁皮石斛生长, 茎内和鲜叶中的氯氟醚菌唑逐渐降解, 残留量降低, 最终表现出氯氟醚菌唑在鲜茎上的半衰期略长于鲜叶。

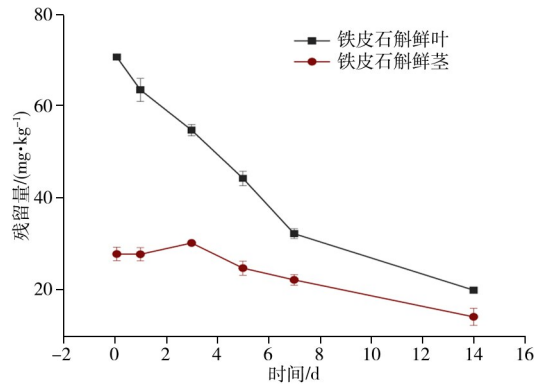


图 5 氯氟醚菌唑在铁皮石斛鲜叶和鲜茎中的消解动态

Fig. 5 Dissipation dynamics of *Dendrobium officinale* in fresh leaves and fresh stems

表 4 氯氟醚菌唑在铁皮石斛鲜叶和鲜茎的残留量(mg/kg, n=3)

Table 4 Residue levels of mefenfluconazole in fresh leaves and fresh stems of *Dendrobium officinale*(mg/kg, n=3)

Time/d	Fresh leaf		Fresh stem	
	Residue \pm SD/(mg \cdot kg $^{-1}$)	Decomposition rate/%	Residue \pm SD/(mg \cdot kg $^{-1}$)	Decomposition rate/%
0(2 h)	70.69 \pm 0.26	/	27.86 \pm 1.45	/
1	63.55 \pm 2.50	10.10	27.78 \pm 1.42	0.021
3	54.78 \pm 1.22	22.51	30.24 \pm 0.18	/
5	44.31 \pm 1.57	37.32	24.77 \pm 1.55	11.09
7	32.32 \pm 1.07	54.28	22.22 \pm 1.51	25.38
14	19.98 \pm 0.21	71.74	14.18 \pm 1.85	49.10

3 结 论

本研究建立了铁皮石斛鲜叶与鲜茎中氯氟醚菌唑及其代谢物残留的分析方法。样品采用2%甲酸乙腈溶液提取,经C₁₈、GCB和MgSO₄组合填料净化,分取上清液浓缩近干,采用乙腈-5 mmol/L乙酸铵水溶液溶解定容,通过HSS T3色谱柱实现目标物分离,UPLC-MS/MS测定,基质外标法定量分析。方法学验证结果表明,该方法满足残留分析的技术要求,适用于田间样品检测。应用该方法分析大棚铁皮石斛施用氯氟醚菌唑后的样品,测得其在鲜叶和鲜茎中的半衰期分别为7.45 d和13.33 d。该方法前处理操作简单、灵敏度高且分析高效,为氯氟醚菌唑及其代谢物残留检测提供了技术支撑,并为科学指导氯氟醚菌唑的田间喷施及安全风险评估奠定了基础。

参考文献:

- [1] Tesh S A, Tesh J M, Fegert I, Buesen R, Schneider S, Mentzel T, van Ravenzwaay B, Stinchcombe S. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **2019**, 106: 152-168.
- [2] Lichtemberg P S F, Luo Y, Morales R G, Muehlmann-Fischer J M, Michailides T J, May De Mio L L. *Phytopathology*, **2017**, 107: 1507-1514.
- [3] Werner A. *Agrarzeitung*, **2019**, 17: 11-12.
- [4] Zhang Z G, Zhang K Z, Zheng X D, He X H, Kong L L, Lin N. *Mod. Agrochem.*(张志刚, 张奎祚, 郑晓迪, 何喜红, 孔令乐, 林楠. 现代农药), **2019**, 4: 24-26, 34.
- [5] Guo Y J, Sun G Y, Feng X X, Dong F S, Zheng Y Q, Wu X H. *Agrochemicals*(郭亚静, 孙桂艳, 冯晓晓, 董丰收, 郑永权, 吴小虎. 农药), **2025**, 64(1): 34-39.
- [6] Zhang B B, Pan X L, Yang Y, Dong F S, Xu J, Wu X H, Zheng Y Q. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **2023**, 250: 114482.
- [7] Liu R R, Guo Q, Liu H J, Wu X H, Xu J, Pan X L, Dong F S, Zheng Y Q. *Plant Prot.*(刘荣荣, 郭庆, 刘慧君, 吴小虎, 徐军, 潘兴鲁, 董丰收, 郑永权. 植物保护), **2024**, 50(1): 225-231.
- [8] Zhang X F, Liu H J, Zheng X D, Han H B, Li W J, Wang Q Y, Zhao Q H, Zhang N, Hou Z G, Lu Z B. *Agrochemicals*(张雪峰, 刘涵菊, 郑晓东, 韩宏博, 李万金, 汪庆屹, 赵庆慧, 张宁, 侯志广, 逯忠斌. 农药), **2023**, 62(7): 510-516.
- [9] Wang S W, Wang X N, Chang H, Liu Y P. *Chin. J. Pestic. Sci.*(王思威, 王潇楠, 常虹, 刘艳萍. 农药学报), **2024**, 26(1): 203-210.

- [10] Zhou R H, Yang L, Liao C X, Chen X Y, Yang X, Long Z H, Su Q. *Agrochemicals*(周冉豪, 杨浪, 廖朝选, 陈旭银, 杨雪, 龙昭航, 粟钦. 农药), **2023**, 62(3): 190-193.
- [11] Zhang Y, Wu X H, Li X B, Duan T T, Xu J, Liu X G, Guo L Y, Zheng Y Q. *Food. Addit. Contam. A*, **2019**, 36(9): 1348-1357.
- [12] Huang Y H, Pan Y F, Fang C J, Yu X W, Zhu H N. *Fujian. Anal. Test.* (黄艺辉, 潘迎芬, 方成俊, 余晓薇, 朱惠娜. 福建分析测试), **2025**, 34(1): 8-15, 23.
- [13] Pharmacopoeia Commission of the People's Republic of China. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Vol.1)*. Beijing: China Medical Science Press(国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 第一部. 北京: 中国医学科技出版社), **2020**, 295-296.
- [14] Li L, Deng X L, Zhao X B, Zeng Y, Ouyang D S. *Oncol. Pharm.* (李玲, 邓晓兰, 赵兴兵, 曾勇, 欧阳冬生. 肿瘤药理学), **2011**, 1(2): 90-94.
15 Zheng Y Q, Zeng H T, Yu J, Wang X Q, Yu J B. *World Sci. Technol.-Mod. Tradit. Chin. Med.* (郑亚倩, 曾慧婷, 余灵, 王小青, 虞金宝. 世界科学技术-中医药现代化), **2024**, 26(2): 502-510.
- [16] Zhao L L, Wang G R, Shen W D, Sun C, Shen X L, Qiu C Y, Wang X, Shen Y P, Lou B G. *Plant Prot.* (赵玲琳, 王国荣, 沈伟东, 孙超, 沈肖玲, 邱春英, 王翔, 沈益平, 楼兵干. 植物保护), **2018**, 44(6): 185-190.
- [17] Ishii H, Watanabe H, Yamaoka Y, Schnabel G. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **2022**, 182: 105049.
- [18] EFSA (European Food Safety Authority). *EFSA. J.*, **2018**, 16(7): 5379.
- [19] JMPR (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues). Pesticide Residues in Food-2008: Part II-Toxicological. *JMPR*, **2010**: 479-484.
- [20] Cai Y X, Xiao Z J, Tong L Y, Li G R, Mao Z Y, Jin M Y, Zhou Z X. *Chin. J. Anal. Lab.* (蔡雨芯, 肖昭竞, 童兰艳, 李根容, 毛子钰, 金梦瑶, 周朝旭. 分析实验室), **2025**, 44(11): 1673-1680.
- [21] Zhang P, Sun X H, Zhong Y R, Kong L R, Wu Q Q, Shi H Y, Wang M H. *Chin. J. Anal. Chem.* (张苹, 孙晓芳, 钟言茹, 孔令茹, 吴琦琦, 施海燕, 王鸣华. 分析化学), **2023**, 51(10): 1632-1650.
- [22] Liu Z Q, Hu X, Yuan L F, Zhu G Y, Li L, Li W, Cheng Y P, Chen Z L. *Agrochemicals*(刘子琪, 呼啸, 袁龙飞, 朱光艳, 李莉, 李薇, 程有普, 陈增龙. 农药), **2021**, 60(3): 211-214.
- [23] Liu F M, Pan C P, Qian C F. *Principles and Methods of Pesticide Residue Analysis (2nd ed)*. Beijing: Chemical Industry Press(刘丰茂, 潘灿平, 钱传范. 农药残留分析原理与方法(第二版). 北京: 化学工业出版社), **2021**.
- [24] Jiang S F, He Y, Li B, Zhang X Z, Han B J. *J. Instrum. Anal.* (蒋舒帆, 何燕, 李备, 张新忠, 韩丙军. 分析测试学报), **2024**, 43(2): 278-284.
- [25] Sun H, Hu Q, Jin H, Wang Y Z. *Chin. J. Exp. Tradit. Med. Form.* (孙恒, 胡强, 金航, 王元忠. 中国实验方剂学杂志), **2017**, 23(11): 225-234.

(责任编辑: 丁 岩)