

◆ 残留与环境 ◆

戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯在青花椒中的 残留行为

杨双昱¹, 何志强¹, 曾全¹, 肖银波¹, 王新¹, 杨莉^{2*}

(1. 四川省林业科学研究院森林保护研究所, 成都 610081; 2. 西华师范大学生命科学学院, 四川南充 637009)

摘要:戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯是青花椒生产中常用的杀菌剂,为评价这3种杀菌剂在青花椒中的残留消解行为,本文建立了超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)残留分析方法。通过田间试验,对青花椒叶片和果实中戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯的残留量进行了测定。结果表明,在0.01~0.5 mg/L范围内,戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯的峰面积与其质量浓度之间呈良好的线性关系($R^2 \geq 0.99$)。在0.02~1.00 mg/kg添加水平下,3种杀菌剂的平均回收率为89.1%~95.4%,相对标准偏差(RSD)为1.7%~5.1%,定量限(LOQ)均为0.02 mg/kg。戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯的降解动态均符合一级动力学方程,半衰期为3.4~4.4 d,且在果实中的残留水平低于在叶片中。在本研究施药剂量下,青花椒果实中戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯的残留量均达到最低定量限,普通人群可安全食用。以上结果可为制定青花椒的农药残留限量标准提供参考依据。

关键词:戊唑醇、肟菌酯、吡唑醚菌酯、青花椒、残留

中图分类号:TQ 450.7 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2022.03.012

Residual Behavior of Tebuconazole, Trifloxystrobin and Pyraclostrobin in *Zanthoxylum schinifolium*

YANG Shuangyu¹, HE Zhiqiang¹, ZENG Quan¹, XIAO Yinbo¹, WANG Xin¹, YANG Li^{2*}

(1. Institute of Forest Protection, Sichuan Academy of Forestry, Chengdu 610081, China; 2. College of Science, China West Normal University, Sichuan Nanchong 637009, China)

Abstract: Tebuconazole, trifloxystrobin and pyraclostrobin were commonly used fungicides in the production of *Z. schinifolium*. In order to evaluate the residual behavior of these three fungicides in *Z. schinifolium*, the method of ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) for residual analysis was established. The residues of tebuconazole, trifloxystrobin and pyraclostrobin in leaves and fruits of *Z. schinifolium* were determined by field experiments. The results showed that there was good linear relationship ($R^2 \geq 0.99$) between the peak areas of tebuconazole, trifloxystrobin, pyraclostrobin in the range of 0.01-0.5 mg/L. At the spiking levels of 0.02-1.00 mg/kg, the average recoveries of these three fungicides were 89.1%-95.4%, and relative standard deviations (RSD) were 1.7%-5.1%. The limits of quantitation (LOQ) were 0.02 mg/kg. The degradation behavior of tebuconazole, trifloxystrobin and pyraclostrobin were all in accordance with the first-order kinetic equation, and half-lives were 3.4-4.4 d with lower residue levels in fruits than those in leaves. Based on selected application dosage, the residues of tebuconazole, trifloxystrobin and pyraclostrobin in fruits all reached LOQ level, indicating that fruits of *Z. schinifolium* were safe for the general population. The findings could provide reference for formulating pesticide residue limit standard of *Z. schinifolium*.

Key words: tebuconazole; trifloxystrobin; pyraclostrobin; *Zanthoxylum schinifolium*; residue

收稿日期:2022-03-07

基金项目:四川省科学技术厅重点研发项目“四川省主要花椒品种花椒锈病发生流行规律及绿色防治研究”(2019YFN0028)

作者简介:杨双昱(1988—),女,甘肃两当人,硕士,工程师,主要从事植物病理学研究。yangshuangyu09@163.com

通信作者:杨莉(1982—),女,四川甘洛人,博士,副研究员,主要从事植物病理学研究。51943884@qq.com

花椒是我国西南地区最主要的经济作物之一,随着花椒产业的快速发展,种植面积也随之加大,然而花椒锈病的发生愈加严重,造成严重减产^[1]。戊唑醇、肟菌酯、吡唑醚菌酯是高效、广谱、低毒杀菌剂,被广泛用于农作物病害的防治^[2-4]。上述几种农药复配使用能有效扩展杀菌谱和减小抗药性的产生^[5-8],如杨双昱等^[9]使用戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯复配防治花椒锈病,其作用效果明显。目前,国内外已有关于戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯在水稻^[10-11]、小麦^[12]、玉米^[13]、核桃^[14]、西瓜^[15]、茶叶^[16]、番茄^[17]、苹果^[18]等的分析方法和残留行为的报道,但在青花椒叶片和果实中的残留行为和安全性研究尚未见报道。

本研究利用75%肟菌·戊唑醇水分散粒剂(WG)和30%唑醚·戊唑醇悬浮剂(SC)的复配混合方式喷施青花椒叶片和果实,初步探讨了戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯在叶片和果实中的残留行为,并通过测定可食部位中目标农药的残留量评价其安全性,旨在为制定青花椒的农药残留限量标准提供数据支持和科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验地点与材料

试验地点:四川省资阳市乐至县孔雀乡马鞍山村花椒基地;试验材料:九叶青花椒(树龄为7年)。

1.2 试剂与仪器

75%肟菌·戊唑醇WG(肟菌酯25%,戊唑醇50%),拜耳作物科学(中国)有限公司;30%唑醚·戊唑醇SC(吡唑醚菌酯10%,戊唑醇20%),陕西上格之路生物科学有限公司;戊唑醇、肟菌酯、吡唑醚菌酯的标准品(纯度≥98%),德国Dr. Ehrenstorfer公司;甲醇、乙腈均为色谱纯,德国默克公司;甲酸(色谱纯),上海安谱实验科技股份有限公司;氯化钠(分析纯),四川西陇化工有限公司;超纯水,实验室自备。

超高效液相色谱-串联质谱仪,配电喷雾电离源(ESD,美国沃特世公司;JA3003分析天平,上海精密科学仪器有限公司;T18 ULTRA-TURRAX高速匀浆机,德国IKA公司;Neofuge 18R高速离心机,香港力康生物医疗科技控股集团;Milli-Q超纯水仪、0.22 μm有机系滤膜,美国安捷伦公司。

1.3 田间试验处理

将75%肟菌·戊唑醇WG 3 000倍液和30%唑醚·戊唑醇SC 1 500倍液稀释混合后,每棵树每次喷药750 mL,每次施药间隔期为7 d,共计施药3次,施药方式为叶面喷雾。对青花椒园进行常规田间管理,

椒园行距和株距为3 m×3 m,每1 100棵/hm²,施药面积为1 000 m²。在第3次施药后2 h,1、3、5、7、14、21、30 d采集青花椒的叶片或果实。

1.4 分析方法

1.4.1 样品前处理

各称取5.00 g均质青花椒叶片和果实的样品分别置于50 mL离心管中,加入10 mL乙腈匀浆2 min,随后加入3~5 g氯化钠,于8 000 r/min下离心5 min,吸取1 mL上清液,加入1 mL甲醇-水(50:50,V/V),过0.22 μm有机滤膜,待测。

1.4.2 标准溶液配制

准确称取一定量标准品,用乙腈溶解并定容于50 mL容量瓶中至刻度,制备成质量浓度约为1 000 mg/L母液。分别将青花椒叶片和果实提取液逐级稀释至0.01、0.02、0.10、0.20、0.50 mg/L,制备成系列基质标准溶液,待测。

1.4.3 仪器条件

色谱条件。液相色谱柱:Acquity UPLC BEH C₁₈(100 mm×2.1 mm,1.7 μm);进样量:1 μl;柱温:30℃;流速:0.30 mL/min。梯度洗脱条件见表1。

表 1 梯度洗脱条件

时间/min	流速/(mL·min ⁻¹)	0.01%甲酸水/%	甲醇/%
0.0	0.3	90	10
1.0	0.3	80	20
3.0	0.3	20	80
6.0	0.3	10	90
7.0	0.3	10	90
7.1	0.3	90	10
9.0	0.3	90	10

质谱条件。扫描方式:电喷雾离子源ESI⁺;毛细管电压:3.0 kV;锥孔电压:30 V;离子源温度:150℃;脱溶剂温度:500℃;脱溶剂气流量:850 L/h;锥孔气流量:50 L/h;多反应监测模式(MRM),见表2。

表 2 多反应监测模式测定参数

化合物	定性离子对 (m/z)	定量离子对 (m/z)	锥孔电压/ V	碰撞能/ eV
戊唑醇	308.2/151	308.2/125	38	32
			38	26
肟菌酯	409/186	409/145	28	40
			28	16
吡唑醚菌酯	388.2/194.1	388.2/163.2	24	24
			24	12

1.5 数据处理

采用一级动力学方程,按式(1)分析青花椒叶片

和果实中的农药残留消解情况,采用式(2) 计算所试药剂的半衰期。

$$C_t=C_0 e^{-kt}$$

(1)

$$t_{1/2}=\ln 2 / k$$

(2)

式中: C_t 为施药后第 t d 的农药残留量,mg/kg; C_0 为原始沉积量,mg/kg; k 为降解速率常数; t 为施药后时间,d。

2 结果与分析

2.1 方法验证

如表3所示,在0.01~0.5 mg/L范围内,3个目标化合物在青花椒叶片或果实基质提取液中的峰面积(y)与其进样质量浓度(x)间的线性关系良好,相关系数(R^2)均大于0.99。

表 3 目标化合物的线性方程和相关系数			
化合物	基质	线性方程	R^2
戊唑醇	青花椒叶片	$y=264\ 420x+10\ 176$	0.995 3
	青花椒果实	$y=205\ 190x+1\ 096$	0.997 6
肟菌酯	青花椒叶片	$y=439\ 097x+53\ 783$	0.995 5
	青花椒果实	$y=309\ 226x+36\ 109$	0.997 3
吡唑醚菌酯	青花椒叶片	$y=702\ 002x+60\ 290$	0.997 0
	青花椒果实	$y=705\ 368x+36\ 701$	0.999 5

如表4所示,当青花椒叶片中的添加水平为0.02、0.50、1.00 mg/kg时,平均回收率为90.4%~95.3%,相对标准偏差(RSD)为2.6%~5.1%;当青花椒果实中的添加水平为0.02、0.10、0.50 mg/kg时,平均回收率为89.1%~95.4%,RSD值为1.7%~4.7%。建立的分析方法灵敏度、重复性等均可以满足农药残留检测要求^[14]。典型色谱见图1。

表 4 目标化合物在不同样品中的添加回收率试验结果 ($n=5$)

	添加水平/(mg·kg ⁻¹)	戊唑醇		肟菌酯		吡唑醚菌酯	
		平均回收率	RSD/%	平均回收率	RSD/%	平均回收率	RSD/%
青花椒叶片	0.02	91.0	5.1	90.4	2.6	92.9	3.2
	0.50	93.1	3.8	92.7	3.9	94.1	3.3
	1.00	95.3	4.0	93.9	4.1	93.4	3.3
青花椒果实	0.02	90.9	2.5	89.1	4.7	91.1	3.2
	0.10	92.3	2.9	94.0	3.5	94.8	1.9
	0.50	95.4	1.7	90.3	3.2	94.1	2.1

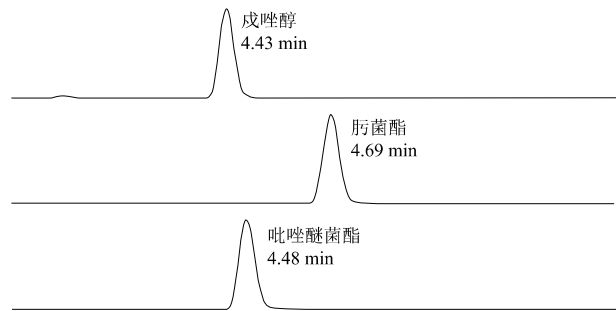


图 1 戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯定量离子色谱图

2.2 戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯在青花椒叶片及果实中的消解

在第3次施药后,以不同时间段青花椒叶片和果实中戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯的残留量作消解动态曲线,得出3种有效成分的残留量随时间增加而降低并最终趋于稳定。戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯的消解符合一级动力学方程。其中,戊唑醇的半衰期为3.8~4.4 d;肟菌酯的半衰期为3.4~3.9 d,吡唑醚菌酯的半衰期为4.1~4.4 d(表5)。

表 5 戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯在青花椒叶片和果实中的消解动态

	喷药量/mL	戊唑醇				肟菌酯				吡唑醚菌酯			
		一级动力学方程	R^2	半衰期/d		一级动力学方程	R^2	半衰期/d		一级动力学方程	R^2	半衰期/d	
青花椒叶片	750	$C_t=10.34e^{-0.16t}$	0.96	4.4		$C_t=2.22e^{-0.18t}$	0.97	3.9		$C_t=1.42e^{-0.16t}$	0.96	4.4	
青花椒果实	750	$C_t=0.97e^{-0.18t}$	0.98	3.8		$C_t=0.12e^{-0.20t}$	0.95	3.4		$C_t=0.19e^{-0.17t}$	0.93	4.1	

结合图2和图3可知,青花椒叶片和果实中戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯的残留量均在施药21 d后开始趋于稳定,3种药剂在青花椒叶片中的残留量大于在果实中。青花椒果实中戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯的最终残留量均达到最低定量限0.02 mg/kg。

3 结 论

本研究采用超高效液相色谱-串联质谱残留分析方法检测了青花椒叶片和果实中戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯的残留量,该方法的灵敏度和准确度

达到农药残留检测要求。在本研究施药剂量下,青花椒果实中戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯的残留量均达到最低定量限0.02 mg/kg。虽然我国GB 2763—2021《食品安全国家标准食品中农药最大残留限量》中目前并没有明确规定3种有效成分在花椒叶片和果实中的最大残留限量,但参照本次试验结果,可初步判断青花椒果实中的残留量达到标准要求,处于可接受的安全水平。

此外,结合本团队先前的药效试验^[9]和本次残留试验结果,推荐将75%肟菌·戊唑醇WG(3 000倍液)与30%唑醚·戊唑醇SC(1 500倍液)混合后,采用每棵树每次用药量750 mL(树龄7年),以叶面喷雾方式(施药隔期7 d)进行青花椒锈病的防治。

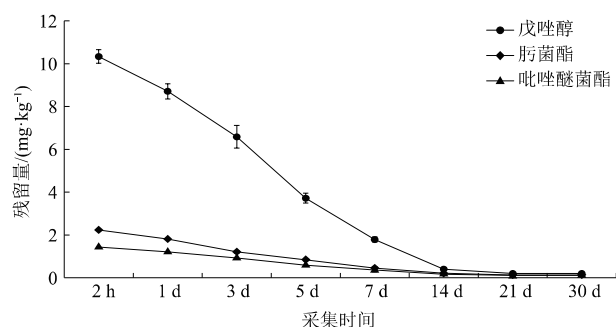


图2 叶片中戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯的消解动态曲线

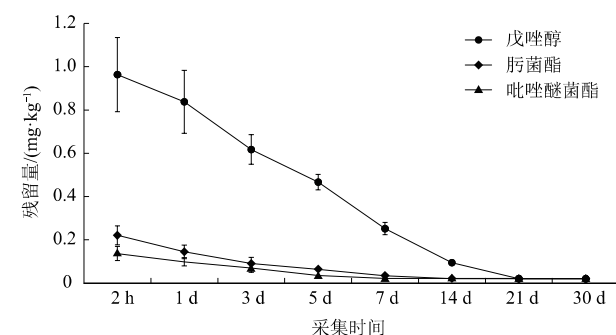


图3 果实中戊唑醇、肟菌酯和吡唑醚菌酯的消解动态曲线

参考文献

- [1] 岳晓丽, 曹支敏. 陕西省花椒锈病寄主抗病性调查[J]. 中国森林病虫, 2010, 29(129): 19-21.
- [2] 华乃震. 杀菌剂戊唑醇的剂型与应用[J]. 农药, 2013, 52(11): 781-786; 809.
- [3] 思彬彬, 杨卓. 甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂作用机理研究进展[J].

世界农药, 2007, 29(6): 5-9.

- [4] 杨丽娟, 柏亚罗. 甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂: 吡唑醚菌酯[J]. 现代农药, 2012, 11(4): 46-50.
- [5] 卓德元, 白雪峰. 75%肟菌酯·戊唑醇水分散粒剂防控玉米大斑病效果研究[J]. 现代农业科技, 2015(17): 148; 150.
- [6] 刁亚梅, 周明国, 王建新, 等. 48%氟烯菌酯·戊唑醇悬浮剂防治小麦赤霉病的开发[J]. 农药, 2012, 51(5): 375-376; 384.
- [7] 宋晓兵, 彭埃天, 凌金锋, 等. 75%肟菌酯·戊唑醇水分散粒剂防治香蕉黑星病的应用效果[J]. 植物保护, 2012, 38(6): 178-180; 185.
- [8] 兰杰, 梁博, 单忠刚, 等. 20%烯肟菌胺·戊唑醇悬浮剂防治稻瘟病田间试验[J]. 农药, 2010, 49(11): 842-843.
- [9] 杨双昱, 杨莉, 曾全, 等. 四川省花椒锈病发病规律及药剂防治研究[J]. 四川林业科技, 2022, 43(2): 138-144.
- [10] 傅强, 聂思桥, 任竞, 等. 戊唑醇和肟菌酯在水稻植株、土壤和田水中的残留分析[J]. 农药, 2015, 54(6): 425-427; 441.
- [11] 郭明程, 郑尊涛, 聂东兴, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定肟菌酯和戊唑醇在稻田中的残留[J]. 农药科学与管理, 2020, 41(1): 29-33; 53.
- [12] FENG Y Z, QI X X, WANG X Yu, et al. Residue dissipation and dietary risk assessment of trifloxystrobin, trifloxystrobin acid, and tebuconazole in wheat under field conditions[J]. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2020, 102(7): 1598-1612.
- [13] 齐艳丽, 李晋栋, 高婧, 等. 戊唑醇及吡唑醚菌酯在玉米上的残留行为及风险评估[J]. 农药学报, 2020, 22(1): 115-121.
- [14] 魏进, 张盈, 曾雪, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速检测核桃中戊唑醇、肟菌酯及肟菌酸残留[J]. 植物保护, 2021, 47(4): 134-140.
- [15] KANG D, ZHANG H Z, CHEN Y L, et al. Simultaneous determination of difenoconazole, trifloxystrobin and its metabolite trifloxystrobin acid residues in watermelon under field conditions by GC-MS/MS[J]. Biomedical Chromatography Bmc, 2017, 31(11): 3987.
- [16] MARIAPPAN P, MANTHIRACHALAM D, CHELLAMUTHU S, et al. Dissipation kinetics, safety evaluation of tebuconazole and trifloxystrobin in tea under tropical field condition[J]. Food Additives and Contaminants Part A, 2017, 34(12): 2155-2163.
- [17] SHARMA K K, TRIPATHY V, RAO C S, et al. Persistence, dissipation, and risk assessment of a combination formulation of trifloxystrobin and tebuconazole fungicides in/on tomato[J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2019, 108: 104471.
- [13] 梁亚杰, 李晓梅, 许春琦, 等. 戊唑醇和吡唑醚菌酯在苹果中的残留行为及膳食暴露风险评估[J]. 果树学报, 2021, 38(5): 771-781.

(责任编辑:高蕾)

欢迎订阅《现代农药》(双月刊) 定价:120元/年

编辑部电话:025-86581148 传真:025-86581147 联系人:靳红华