

◆ 残留与环境 ◆

吡唑醚菌酯在冬枣中的残留消解及膳食风险评估

陈勇达, 张嘉坤, 李丽梅, 郑振山, 钱训*

(河北省农林科学院生物技术与食品科学研究所, 石家庄 050051)

摘要:2021—2022年在河北黄骅开展了250 g/L吡唑醚菌酯乳油在冬枣中的规范残留田间试验,样品采用QuEChERS法净化,气相色谱-电子捕获检测器检测分析,得出吡唑醚菌酯在冬枣中的残留消解规律,并对其进行膳食风险评估。2年残留消解试验结果显示,吡唑醚菌酯在冬枣中的半衰期分别为9.86、11.8 d,消解规律符合一级动力学方程;最终残留试验结果显示,末次药后14~28 d,吡唑醚菌酯残留量为0.297~0.684 mg/kg,其中,末次药后21 d的残留试验中值为0.432 mg/kg。膳食风险评估得出风险商为0.62%,膳食摄入风险可接受。建议250 g/L吡唑醚菌酯乳油在冬枣上使用剂量为3 000~4 000倍液,每季最多施药3次,施药间隔期7 d,安全间隔期21 d。

关键词:吡唑醚菌酯;冬枣;残留量;消解规律;安全间隔期;风险评估

中图分类号:TQ 450.2⁺6 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2024.04.010

Residue degradation and dietary risk assessment of pyraclostrobin in winter jujube

CHEN Yongda, ZHANG Jiakun, LI Limei, ZHENG Zhenshan, QIAN Xun*

(Institute of Biotechnology and Food Science, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050051, China)

Abstract: The standardized residual field trials of pyraclostrobin 250 g/L EC in winter jujube were carried out in Huanghua, in 2021-2022. The samples were extracted and purified by QuEChERS, and detected by GC-ECD. Then the residue degradation rule of pyraclostrobin in winter jujube was obtained, and the dietary risk assessment was conducted. The residue degradation tests showed that the half-lives of pyraclostrobin in winter jujube were 9.86 d, 11.80 d, and the degradation dynamics accorded with the first-order reaction dynamic equations. The final residues were 0.297-0.684 mg/kg, at the 14-28 d after the last dose. The STMR of the 21 d was 0.432 mg/kg and the risk quotient was 0.62%, the dietary risk of pyraclostrobin was acceptable. It was suggested that pyraclostrobin 250 g/L EC was used in winter jujube with a dose of 3 000-4 000 times, the maximum application time was 3, the application interval was 7 d, and the pre-harvest interval was 21 d.

Key words: pyraclostrobin; winter jujube; residue; degradation; pre-harvest interval; dietary risk assessment

河北省黄骅市是我国冬枣的主产区,黄骅冬枣为中国国家地理标志产品^[1]。经过20多年发展,黄骅冬枣种植规模目前达到0.73万hm²,黄骅市农业部门预测冬枣单产在2.25万kg/hm²,将实现超10亿元产

值,冬枣产业对河北黄骅地方经济影响巨大^[2]。病害一直是影响冬枣健康发展的重要因素,常见冬枣病害有炭疽病、褐斑病、黑斑病、锈病、叶斑病等。吡唑醚菌酯对上述病害均有一定防效,在冬枣上大量

收稿日期:2024-01-17;修回日期:2024-07-17

基金项目:河北省重点研发计划项目(21326803D)

作者简介:陈勇达,男,副研究员,主要从事农药残留试验和农产品质量安全研究工作。E-mail: yongdachen@126.com

通信作者:钱训,副研究员,主要研究方向为农药分析和农产品质量安全。E-mail: xunqian196805@sina.com

使用^[3-7]。

吡唑醚菌酯(pyraclostrobin)又称唑菌胺酯,商品名凯润、百泰等。其化学名称为*N*-[2-[1-(4-氯苯基)-1*H*-吡唑-3-基氧甲基]苯基](*N*-甲氧基)氨基甲酸甲酯,结构式如图1所示。吡唑醚菌酯为兼具吡唑结构的甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂,目前已登记用于100多种作物。吡唑醚菌酯广谱、高效,毒性低,对非靶标生物安全,对使用者和环境均安全友好,是甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂中具有较好市场前景的重要产品^[8]。

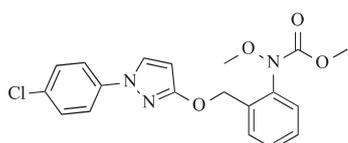


图1 吡唑醚菌酯的结构式

目前,吡唑醚菌酯在我国枣树上的登记产品较少,仅有3个产品,其中,包括1个单剂(250 g/L吡唑醚菌酯乳油),2个复配产品(16%二氧·吡唑酯WG、60%唑醚·代森联WG),防治对象均为枣树炭疽病⁹。实际调研中发现,吡唑醚菌酯已在生产中广泛用于防治枣树多种病害。我国国家标准《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》(GB 2763—2021)^[10]中规定,吡唑醚菌酯在鲜枣中的最大残留限量(MRL)为1 mg/kg。因此,研究吡唑醚菌酯在冬枣中的残留消解规律、最终残留量,评估膳食风险,对制定吡唑醚菌酯在冬枣上的安全合理使用准则具有重要的指导意义。

本研究建立了QuEChERS方法进行前处理,采用气相色谱仪-电子捕获检测器检测冬枣中吡唑醚菌酯的残留。按照良好实验室规范(good laboratory practice, GLP)田间试验管理要求,2021—2022年开展了250 g/L吡唑醚菌酯乳油在河北黄骅冬枣上的田间试验,对冬枣中吡唑醚菌酯消解代谢规律、最终残留进行了研究,为防治冬枣多种病害,合理安全使用吡唑醚菌酯,提供科学依据。

1 试验部分

1.1 材料与试剂

250 g/L吡唑醚菌酯乳油,上海绿泽生物科技有限责任公司;吡唑醚菌酯标准品(质量分数99%),沈阳化工研究院有限公司;乙腈、乙酸乙酯(色谱纯),德国默克公司;甲酸(色谱纯),天津市光复精细化工研究所;石墨化炭黑(GCB)、无水硫酸镁、氯化钠

(分析纯),天津市永大化学试剂有限公司;*N*-丙基乙二胺(PSA,分析纯),天津欧姆尼基因科技有限公司;本试验中所用的冬枣样品来自河北省黄骅市旧城镇冬枣基地。

1.2 仪器与设备

GC-2010 Plus气相色谱仪带电子捕获检测器(ECD),岛津公司;DT5-2离心机,北京时代北利离心机有限公司;UMV-2多功能漩涡混合器,北京优晟联合科技有限公司;YP502N电子天平(精密度0.01 g),上海精密科学仪器有限公司;AP250D电子分析天平(精密度0.01 mg),美国奥豪斯公司。

1.3 试验方法

1.3.1 田间试验

根据《农作物中农药残留试验准则》(NY/T 788—2018)要求设计田间试验方案^[11]。试验设置1个处理小区、1个空白小区,每小区至少4株冬枣树。按照标签提供的信息,250 g/L吡唑醚菌酯乳油残留试验施药剂量设为83.3 mg/kg(3 000倍液),施药3次,施药间隔7 d,于病害发生初期施药,末次施药后1、3、7、14、21、28、45 d分别采集冬枣样品。残留消解试验与最终残留试验同时在处理小区进行,上述样品作为残留消解样品处理,其中14、21、28 d样品兼做最终残留量检测样品,用于安全性评价。

田间取样方法:样品采摘时先取对照区样品,样品应为去除果柄的整个果实;采用随机的方法在试验小区内从不少于4株枣树上采摘至少1 kg样品。田间样品采集后在8 h内运回实验室。

实验室样品制备方法:样品运回实验室后去除枣核,并记录全果重与枣核重;果肉混合均匀打浆,四分法取样,分别取2份各150 g的样品(1份待检、1份备检),塑料盒密封包装,贴好标签,-18℃以下低温冰柜保存待测。

1.3.2 样品提取与净化

称取10 g试样(精确至0.01 g)于50 mL塑料离心管中,加入10 mL乙腈、4 g硫酸镁、1 g氯化钠、1 g柠檬酸钠、0.5 g柠檬酸氢二钠及1颗陶瓷均质子,盖上离心管盖,剧烈振荡1 min后4 200 r/min离心5 min。吸取一定量上清液至内含除水剂和净化材料的塑料离心管中(1 mL提取液使用150 mg无水硫酸镁、25 mg PSA、2 mg GCB),涡旋混匀1 min,4 200 r/min离心5 min。吸取上清液1 mL,氮气吹干,加入乙酸乙酯进行溶剂置换,过微孔滤膜待测。

1.3.3 仪器测定条件

色谱柱:RTX-1(30 m×0.25 mm,0.25 μm);进

样口温度：250℃；柱温：120℃（保持 1 min），以 25℃/min 升至 260℃（保持 11 min），20℃/min 升至 280℃（保持 5.0 min）；检测器温度：300℃；载气：N₂，99.999%；流速：1 mL/min；尾吹：30 mL/min；分流比：10：1；进样量：1.0 μL；外标法定量。在此条件下，吡唑醚菌酯保留时间约为 14.2 min。

1.3.4 标样溶液配制

用精密度为万分之一的天平称量吡唑醚菌酯标准品于 100 mL 容量瓶中，乙酸乙酯定容制成 100 mg/L 的母液，用加液枪、容量瓶转移并依次稀释制备 10.0、1.0、0.5、0.1、0.05、0.02、0.01 mg/L 系列梯度标样溶液。

1.3.5 膳食风险评估

在毒理学和残留化学评估的基础上，估算吡唑醚菌酯在冬枣中长期膳食摄入风险。按照公式 (1) 估算每日摄入量 (NEDI, mg/kg)^[12]，按照公式 (2) 计算风险商 (RQ, risk quotient)。

$$NEDI = \frac{\sum (STMR \times Fi)}{bw} \quad (1)$$

$$RQ/\% = \frac{NEDI}{ADI} \times 100 \quad (2)$$

式中：STMR 为规范残留试验中值 (mg/kg)；bw 为我国普通人群人均体重，按 63 kg 计；Fi 为我国居民每日枣膳食消费量，以 0.027 kg 计；ADI 为每日允许摄入量 (mg/kg)。

当 RQ ≤ 100% 时，表示长期膳食摄入风险在可接受范围；RQ > 100% 时，则表示存在不可接受的长期膳食摄入风险^[13-15]。

2 结果与分析

2.1 提取净化方法的选择

枣中吡唑醚菌酯的前处理方法主要有 3 种：采用乙腈提取，佛罗里硅土净化，液相色谱紫外检测器检测^[16]；QuEChERS 方法提取、净化，液相色谱三重四级杆质谱检测^[17-18]；QuEChERS 方法提取、净化，气相色谱三重四级杆质谱检测^[19]。经比较，第 1 种方法灵敏度偏低，最低检测浓度有 0.1 mg/kg，且液相色谱紫外检测器在实际使用中易受到其他杂质干扰，检测目标物与杂质很难有效分离；第 2、3 种方法存在使用成本偏高的缺点。综合上述方法，本研究采用 QuEChERS 方法提取、净化，GC-ECD 检测，既保证了样品净化效果又提高了检测灵敏度。

2.2 线性关系

按照 1.3.3、1.3.4 进行吡唑醚菌酯梯度标样溶液

配制以及检测。以进样质量浓度 (mg/L) 对峰面积 (mAu) 进行作图，绘制吡唑醚菌酯的标准工作曲线 (图 2)。得出方法的线性方程 $y = 536\ 340x - 2\ 789.3$ ，相关系数 $R^2 = 0.999\ 5$ 。

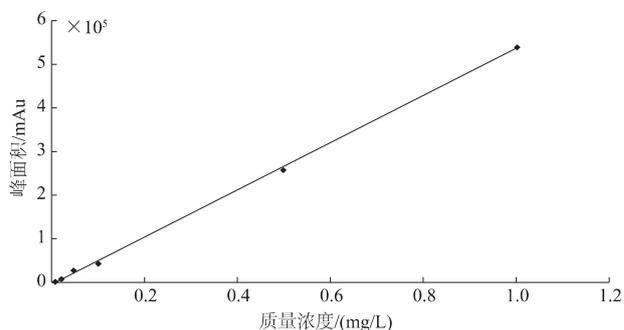


图 2 吡唑醚菌酯的标准工作曲线

2.3 添加回收率试验

因吡唑醚菌酯在鲜枣中的 MRL 为 1 mg/kg，结合方法线性，确定添加回收率试验中吡唑醚菌酯在冬枣中的添加质量分数分别为 0.02、0.20、1.00、5.00 mg/kg。结果显示：吡唑醚菌酯的回收率为 81%~106%，相对标准偏差 (RSD) 为 3.6%~6.4%，见表 1。

表 1 吡唑醚菌酯在冬枣中的添加回收率 (n=5)

添加质量分数/(mg/kg)	平均回收率/%	RSD/%
0.02	103	4.0
0.20	89	6.4
1.00	106	4.3
5.00	81	3.6

上述 4 个质量分数的吡唑醚菌酯在冬枣中添加回收率的准确度和精密度均满足《农作物中农药残留试验准则》(NY/T 788—2018) 的要求^[1]。吡唑醚菌酯标准品、冬枣空白样品、冬枣加标样品、冬枣样品典型谱图详见图 3~图 6。

上述试验确定吡唑醚菌酯在冬枣中的最低检测浓度为 0.02 mg/kg。

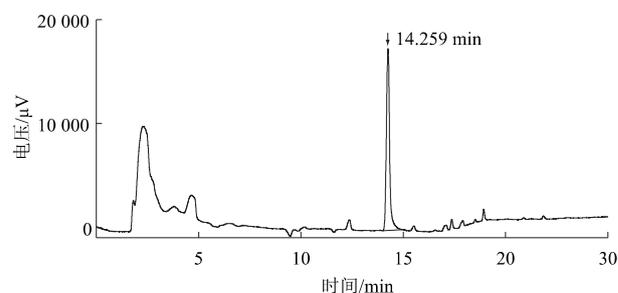


图 3 吡唑醚菌酯标样 (0.5 mg/L) 谱图

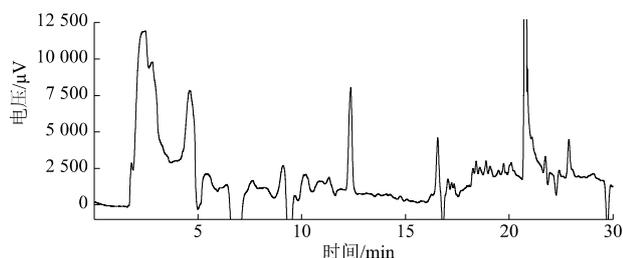


图4 冬枣空白样品谱图

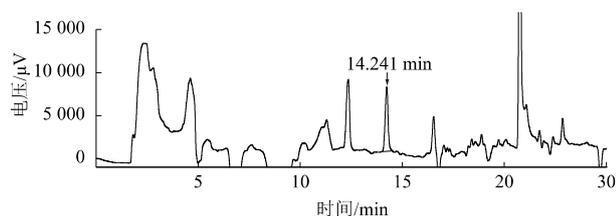


图5 冬枣添加样品(0.2 mg/kg)谱图

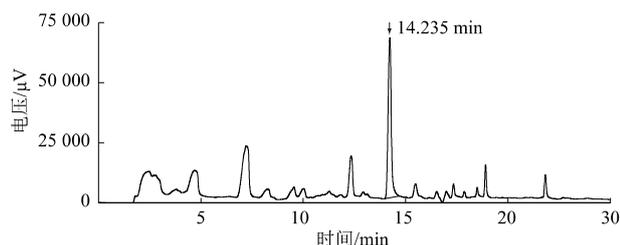


图6 冬枣样品谱图

2.4 残留检测结果

2.4.1 残留消解试验结果

通过检测2021—2022年黄骅冬枣样品,得到2年吡唑醚菌酯在冬枣中残留消解数据以及最终残留量数据,详见表2。

表2 吡唑醚菌酯在黄骅冬枣中残留消解情况

采样时间/d	2021年		2022年	
	残留量/(mg/kg)	降解率/%	残留量/(mg/kg)	降解率/%
0	3.860		2.940	
1	3.460	10	2.470	16
3	2.800	27	2.270	23
7	0.998	74	1.290	56
14	0.608	84	0.684	77
21	0.488	87	0.370	87
28	0.297	92	0.363	88
45	0.175	95	0.241	92
回归方程	$C=2.65e^{-0.0703t}$		$C=2.19e^{-0.0589t}$	
半衰期/d	9.86		11.80	
R^2	0.9418		0.9393	

2021年,吡唑醚菌酯在冬枣中的消解方程为 $C=2.65e^{-0.0703t}$,半衰期为9.86 d;2022年,消解方程为 $C=2.19e^{-0.0589t}$,半衰期为11.80 d。综合来看,吡唑醚菌酯在冬枣中降解较慢。

2.4.2 最终残留试验结果

最终残留试验结果见表3。由表可知,残留量为0.292~0.721 mg/kg,其中,14 d的残留量最高值(HR)为0.721 mg/kg,接近吡唑醚菌酯在鲜枣中的MRL,21、28 d的残留量均小于MRL。考虑到吡唑醚菌酯在冬枣中降解较慢,故吡唑醚菌酯在冬枣上的安全间隔期定为21 d,其残留试验中值为0.432 mg/kg。

表3 吡唑醚菌酯在黄骅冬枣中最终残留数据

采样时间	残留量/(mg/kg)		STMR/(mg/kg)	HR/(mg/kg)
	2021年	2022年		
药后14 d	<u>0.655</u> 、0.561	0.721、 <u>0.647</u>	0.651	0.721
药后21 d	0.495、 <u>0.481</u>	<u>0.382</u> 、0.358	0.432	0.495
药后28 d	<u>0.302</u> 、0.292	0.368、 <u>0.358</u>	0.330	0.368

注:下划线数据用于计算STMR。

2.4.3 吡唑醚菌酯在冬枣中膳食风险评估

将试验中21 d安全间隔期的残留中值0.432 mg/kg代入公式(1),计算得出NEDI为0.185 μg/kg,风险商RQ为0.62%。这与吡唑醚菌酯在其他水果中膳食风险评估的风险商RQ结果接近。朱卫芳等^[15]研究显示,蓝莓中吡唑醚菌酯残留对各消费人群的长期膳食摄入RQ<0.1%;林永熙等^[18]研究得出,桃中吡唑醚菌酯残留量的膳食摄入RQ为0.02%;欧将等^[14]研究得出,葡萄中吡唑醚菌酯残留量的膳食摄入RQ为0.036%。研究显示,普通人群食用冬枣等水果后,吡唑醚菌酯的长期膳食摄入风险较低。

3 结论

首次建立了吡唑醚菌酯在冬枣中的残留检测方法,采用QuEChERS法提取、净化,GC-ECD检测。方法简便、可行,灵敏度高,准确度、精密度均满足试验要求,且大大降低了试验运行成本。经过在黄骅冬枣主产区的试验,最终确立250 g/L吡唑醚菌酯乳油防治冬枣炭疽病科学合理使用准则,即采用3 000~4 000倍液施药,每季最多施药3次,施药间隔7 d,于病害发生初期施药,冬枣安全间隔期为21 d。

在此基础上开展的吡唑醚菌酯在冬枣中的膳食风险评估结果显示,对普通人群,吡唑醚菌酯的估算每日摄入量(NEDI)为0.185 μg/kg,风险商RQ为0.62%。吡唑醚菌酯对一般人群健康不会产生不可接受的风险,但在防治冬枣病害中仍需要严格按照标签规定的施药浓度、次数进行,并严格遵守农药使用安全间隔期。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 地理标志产品 黄骅冬枣: GB/T 18740—2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [2] 戴绍志, 王雅楠. 沧州渤海新区黄骅市: 700年古贡冬枣园迎丰收[DB/OL]. (2023-09-23) [2024-01-08]. http://cangzhou.hebnews.cn/2023-09/23/content_9074154.htm.
- [3] 何永波, 王海燕, 秦国杰, 等. 枣炭疽病菌鉴定及9种杀菌剂对其菌丝生长的影响[J]. 中国果树, 2018(1): 32-35.
- [4] 万素梅, 毛廷勇, 李燕芳, 等. 一种红枣黑斑病的防治方法: ZL, 202010596664.4[P]. 2022-03-18.
- [5] 陈文杰, 陈辉煌, 古丽齐曼·阿布都热合曼, 等. 10种杀菌剂防治骏枣褐斑病田间试验[J]. 中国森林病虫, 2013, 32(4): 39-42.
- [6] 张战利, 王家哲, 洪波, 等. 9种杀菌剂对枣树锈病的室内毒力及田间防效[J]. 陕西农业科学, 2022, 68(9): 10-13.
- [7] 陆德玲, 张耀中, 黄延昌, 等. 两种药剂对冬枣叶斑病的室内毒力和田间防效研究[J]. 落叶果树, 2019, 51(6): 41-43.
- [8] 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): 46-47.
- [9] 农业农村部农药检定所. 农药登记信息[DB/OL]. [2024-01-09]. <http://www.chinapesticide.org.cn/zwb/dataCenter>.
- [10] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 中华人民共和国农业农村部, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量: GB 2763—2021 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2021.
- [11] 中华人民共和国农业农村部. 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.
- [12] 毛江胜, 陈子雷, 郭长英, 等. 不同采收期及贮藏条件下冬枣中54种农药的筛查、残留消解动态与膳食风险评估[J]. 农药学报, 2021, 23(2): 383-384.
- [13] 苏龙, 龚道新, 赵佳, 等. 高效氯氟菊酯在甘蓝中的残留行为及膳食风险评估[J]. 食品科学, 2022, 43(1): 152-153.
- [14] 欧将, 梁骥, 宋强勇, 等. 氟吡菌酰胺和吡唑醚菌酯在葡萄上的残留及膳食风险评估[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(1): 32-33.
- [15] 朱卫芳, 黄兰淇, 张颂函, 等. 25%吡唑醚菌酯悬浮剂在蓝莓中的残留行为及膳食风险评估[J]. 农药科学与管理, 2023, 44(1): 50-51.
- [16] 兰丰, 周先学, 李晓亮, 等. 二氰蒽醌和吡唑醚菌酯在枣中的残留及消解动态[J]. 农药学报, 2015, 17(6): 706-714.
- [17] 李萌, 汪红, 马婧玮, 等. 水果中吡唑醚菌酯残留量检测及膳食摄入风险评估[J]. 中国果树, 2023(4): 107-113.
- [18] 林永熙, 程海燕, 李栋, 等. 吡唑醚菌酯和戊唑醇在桃中的残留与膳食风险评估[J]. 农药学报, 2023, 25(1): 184-192.
- [19] 喻茹敏, 路彩红, 徐玲英, 等. GC-MS/MS法测定草莓中吡唑醚菌酯残留量及安全评价[J]. 植物保护, 2021, 47(4): 141-143.

(编辑: 顾林玲)

(上接第 40 页)

表 2 反应条件对偶联反应的影响

$n(3,4\text{-二氯苯胺}) : n(4\text{-氟苯胺})$	通入空气温度/ $^{\circ}\text{C}$	反应时长/h	邻二氯苯质量分数/%	收率(以3,4-二氯苯胺计)/%
1.0 : 1.0	25~30	72	25.2	50.3
1.0 : 1.5	25~30	65	16.0	66.3
1.0 : 1.5	55~60	60	16.5	70.3
1.0 : 1.5	70~75	30	14.6	73.2
1.0 : 2.0	70~75	25	8.5	81.2
1.0 : 2.0	80~85	20	8.3	80.3
1.0 : 3.0	70~75	20	5.5	82.1

3 结论

本文介绍的合成路线以3,4-二氯苯胺为起始原料, 经重氮化、亚硫酸钠还原得到3,4-二氯苯肼, 简单处理后与4-氟苯胺在碱性条件下通入空气偶联得到目标产物2-(3,4-二氯苯基)-4-氟苯胺, 产品质量分数在90%以上。该路线选用的原料价廉易得, 操作简单, 反应条件温和, 对环境友好, 适合工业化生产。

参考文献

- [1] GOOBEN J, RODRIGUEZ N, LINDER C, et al. Synthesis of 2-substituted biaryls via Cu/Pd-catalyzed decarboxylative cross-coupling of 2-substituted potassium benzoates: 4-methyl-2-nitrophenyl and 2-acetyl-4'-methylbiphenyl[J]. Organic Syntheses, 2008, 85: 196-208.
- [2] MENDENHALL G D, SMITH P A S. 2-Nitrocarbazole[J]. Organic Syntheses, 1966, 46: 85.
- [3] INTRIERI D, MARIANI M, CASELLI A, et al. [Ru(TPP)CO]-catalysed intramolecular benzylic C-H bond amination, affording phenanthridine and dihydrophenanthridine derivatives[J]. Chemistry, 2012, 18(34): 10487-10490.
- [4] JORGES W, HEINRICH J D, LANTZSCH R. Methods for the manufacture of biphenyl amines: US, 2008194835A1[P]. 2008-08-14.
- [5] ULLAH E, MCNULTY J, ROBERTSON A. Highly chemoselective mono-suzuki arylation reactions on all three dichlorobenzene isomers and applications development[J]. Eur J Org Chem, 2012, 11: 2127-2131.
- [6] 周浩杰, 金玲, 朱爱林. 一种联苯的制备方法: ZL, 201711445924.2[P]. 2018-05-18.
- [7] 范晨, 孙军, 孙小丽, 等. 一种联苯吡菌胺的合成方法: ZL, 201910551960.X[P]. 2019-08-13.
- [8] HOFMANN J, JASCH H, HEINRICH M R, et al. Oxidative radical arylation of anilines with arylhydrazines and dioxygen from air[J]. J Org Chem, 2014, 79(5): 2314-2320.

(编辑: 顾林玲)