

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2020.03.010

HPLC-MS/MS 法对琯溪蜜柚中吡唑醚菌酯 残留的测定及套袋对残留量的影响

蔡恩兴
漳州市农业检验监测中心, 福建 漳州 363000

摘要:【目的】明确吡唑醚菌酯在琯溪蜜柚上使用的安全性以及套袋对残留量的影响,对其残留消解动态进行研究。【方法】通过田间试验,在蜜柚上进行施药,设置 2 种施药剂量,分套袋和无套袋 2 种处理,利用高效液相色谱-串联质谱法进行残留检测。【结果】吡唑醚菌酯在 1~500 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内线性关系良好($r^2=0.9993$),检出限为 0.7 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。在 2、50、1000 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 添加水平下,吡唑醚菌酯的平均回收率为 83.8%~105.8%,相对标准偏差(RSD)为 2.9%~9.1%,该方法能够满足检测要求。吡唑醚菌酯在蜜柚中的残留消解动态符合一级动力学方程,套袋处理的半衰期($T_{1/2}$)为 5.10~5.26 d,无套袋处理的 $T_{1/2}$ 为 4.48~4.79 d。【结论】吡唑醚菌酯套袋处理的半衰期略长于无套袋处理的半衰期,但施药后 65 d 在蜜柚中均没有检出吡唑醚菌酯残留。



开放科学标识码
(OSID 码)

关键词: 吡唑醚菌酯; 高效液相色谱-串联质谱; 琯溪蜜柚; 套袋; 残留

Determination of pyraclostrobin residue in *Citrus maxima* by HPLC-MS/MS and bagging effect on the residues

CAI Enxing
Zhangzhou Agricultural Test and Inspection Centre, Zhangzhou, Fujian 363000, China

Abstract: 【Aim】 In order to identify the safety of pyraclostrobin in *Citrus maxima* and the effect of bagging on pesticide residues, a study on the residual degradation dynamics of pyraclostrobin was conducted. 【Method】 Pyraclostrobin was sprayed on *C. maxima* at two dosages with bagging and no-bagging in a field experiment, and then residues were determined by HPLC-MS/MS. 【Result】 Results showed a good linear relationship ($r^2=0.9993$) in the concentration range of 1~500 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ for pyraclostrobin, the detection limit of pyraclostrobin was 0.7 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. When the spiked levels were 2, 50 and 1000 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, the average recovery rates of pyraclostrobin varied between 83.8% and 105.8%, with relative standard deviation (RSD) ranging from 2.9% to 9.1%. Therefore, the method met the detection requirement. The residual degradation dynamics of pyraclostrobin followed the first-order kinetic equation. The half-life ($T_{1/2}$) of pyraclostrobin was 5.10~5.26 d in the bagging treatment, and 4.48~4.79 d in the no-bagging. 【Conclusion】 The half-life ($T_{1/2}$) of pyraclostrobin was slightly longer in the bagging treatment, the residues of pyraclostrobin in *C. maxima* were all not detected after 65 days.

Key words: pyraclostrobin; HPLC-MS/MS; *Citrus maxima*; bagging; residue

吡唑醚菌酯是一种新型甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂(由晓和井乐刚,2015),因其杀菌谱广、杀菌活性高、内吸性强(张梅凤和吕秀亭,2012),对植物病害有较好的防治效果(杨丽娟和柏亚罗,2012)。琯溪蜜柚 *Citrus maxima* (Burm.) Merr. cv. Guanxiyou 是福建平和的主要经济作物,经济效益较高。近年来,随着蜜柚种植规模的不断扩大及单一化种植,蜜柚上的病害发生也日益突出,影响到蜜柚的品质

收稿日期(Received): 2020-03-25 接受日期(Accepted): 2020-06-09

基金项目: 2018 年漳州市自然科学基金项目(ZZ2018J30)

作者简介: 蔡恩兴,男,高级农艺师。研究方向: 农产品质量安全检测

* 通信作者(Author for correspondence), E-mail: caiex@126.com

和产量。吡唑醚菌酯作为蜜柚病害防治的主要农药品种之一,被当地果农广泛使用。

目前对吡唑醚菌酯的检测方法和残留代谢的研究主要集中在葡萄(李瑞娟等,2010)、芒果(刘艳萍等,2016)、苹果(兰丰等,2018)、辣椒(高志文等,2011)、铁皮石斛(许振岚等,2018)、花生(Zhang *et al.*, 2012)、草莓(杨霄鸿等,2018)、香蕉(赵方方等,2015)等作物上,对蜜柚等柑橘类水果的研究报道较少。刘军等(2014)、李福琴等(2017)分别建立了检测柑橘中吡唑醚菌酯残留量的方法,Lesueur *et al.* (2008)采用高效液相色谱-质谱联用(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)方法测定柠檬中吡唑醚菌酯等多种农药残留,但是当前尚没有吡唑醚菌酯在蜜柚上的残留检测方法及残留动态相关研究的报道。

水果套袋因具有减少病虫害(王建武等,2003)、提高果实品质(刘建海等,2003;蔺经等,2009)、降低农药残留(陈合等,2006;刘蕾庆等,2011)等优点而被广泛推行。然而套袋对吡唑醚菌酯在蜜柚中的残留影响并未见相关报道。因此,本研究通过试验,确立高效液相色谱-串联质谱(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)快速检测方法,对吡唑醚菌酯在蜜柚上的残留动态进行分析,同时研究套袋

和无套袋 2 种处理对蜜柚中吡唑醚菌酯残留量的影响,旨在明晰吡唑醚菌酯使用的安全性及套袋对农药残留及其消解规律的影响,为果农合理使用农药及蜜柚产业化发展提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器设备

供试作物:琯溪蜜柚。

试验材料:250 g · L⁻¹吡唑醚菌酯乳油;吡唑醚菌酯标准品(纯度 99.4%,沈阳化工研究院);乙腈、甲醇、甲酸(均为色谱纯);无水 MgSO₄、NaCl(均为分析纯);N-丙基乙二胺(PSA,德国 CNW)。

仪器设备:T-18 basic ULTRA TURRAX 高速匀浆机(IKA,德国);3-18K 高速离心机(Sigma,德国);DIONEX Ultimate 3000-Thermo TSQ Quantum Ultra EMR 高效液相色谱-串联质谱联用仪(ThermoFisher,美国)。

1.2 试验设计

田间试验于漳州市平和县小溪镇厝丘村蜜柚园中进行。参照 NY/T 788—2004(中华人民共和国农业部,2004)设计田间试验,试验共设 4 个处理:2 种施药剂量(表 1),施药后设套袋和无套袋 2 种处理。每处理重复 3 次,每个处理选取 6 株蜜柚;设清水喷雾的无套袋处理为空白对照(CK)。

表 1 吡唑醚菌酯在蜜柚上的施药及套袋处理
Table 1 Spraying and bagging treatments of pyraclostrobin in *C. maxima* ‘Guanxi miyou’

处理 Treatment	施药剂量 Spraying dosage	
	稀释倍数/倍 Dilution factor	有效成分 Active ingredient content /(mg · L ⁻¹)
推荐施药剂量+套袋处理 Recommended dosage+bagging treatment	2000	125
加倍施药剂量+套袋处理 Double dosage+bagging treatment	1000	250
推荐施药剂量+无套袋处理 Recommended dosage+no-bagging treatment	2000	125
加倍施药剂量+无套袋处理 Double dosage+no-bagging treatment	1000	250

2018 年 7 月 8 日,按常规方法对蜜柚整株进行均匀喷施农药(此时蜜柚已谢花约 90 d),采用 1 次施药多次采样的方法,施药后 2 d 内无降雨过程。施药后待蜜柚果实表面的药液完全干燥才进行套袋处理。采样时间分别为施药后约 2 h(0 d,此时果实表面药液已干),1、3、7、15 和 30 d;取距地面约 1.4 m 处树体中部位置,随机对称各采摘一个果实。采摘的蜜柚封装于塑料袋中,及时带回实验室用匀浆机匀浆后分装入洁净容器中冷冻保存,并进行检测。

1.3 分析方法

1.3.1 提取与净化 参考蔡恩兴(2017)建立的 QuEChERS 方法:称取搅碎均匀的蜜柚全果样品 10 g(精确至 0.01 g)于 50 mL 离心管中,加入 20.0 mL 乙腈、4.0 g 无水 MgSO₄ 和 1.0 g NaCl,用高速匀浆机匀浆 2 min,4500 r · min⁻¹离心 5 min,取上清液 2.0 mL 转移至装有 0.10 g PSA 和 0.30 g 无水MgSO₄离心管中,涡旋 1 min,过 0.22 μm 有机滤膜供 HPLC-MS/MS 检测。

1.3.2 检测条件 色谱柱:Atlantis T3 Column(100

mm×2.1 mm×3 μm);流动相 A 为 0.1 % 甲酸水溶液,流动相 B 为甲醇;流速 0.25 mL · min⁻¹;进样量为 2 μL;保留时间为 6.55 min;流动相采用梯度洗脱,具体见表 2。

质谱条件:电喷雾正离子源 (ESI⁺);离子喷雾电压 4000 V;雾化温度 270 ℃;鞘气 (N₂) 流速为 3.62 L · min⁻¹,辅助气 (N₂) 流速为 5.38 L · min⁻¹,碰撞气 (Ar) 0.2 Pa。

表 2 梯度洗脱条件
Table 2 Gradient elution conditions

时间 Time/ min	流速 Flow/ (mL · min ⁻¹)	流动相 A:0.1% 甲酸水溶液 Eluent A: 0.1% formic acid solution/%	流动相 B:甲醇 Eluent B: methyl alcohol/%
0.00	0.25	95	5
1.00	0.25	95	5
3.50	0.25	5	95
8.49	0.25	5	95
8.50	0.25	95	5
10.00	0.25	95	5

2 结果与分析

2.1 质谱条件的优化

选择电离 (ESI⁺) 模式,通过定量环进样对吡唑醚菌酯质谱检测参数进行优化。通过全扫描确定 388 m · z⁻¹ 为其母离子,选择反应监测 (SRM 模式) 进行二级质谱自动优化,分析其质谱图及碰撞能量,最终确定吡唑醚菌酯的质谱检测参数 (表 3)。

表 3 质谱检测参数
Table 3 Parameters of mass spectrometry

母离子 Parent ion/(m · z ⁻¹)	子离子 Daughter ion/(m · z ⁻¹)	碰撞能量 Collision energy/eV
388	194 *	12
	163	23

* 为定量离子。
* Quantitative ion .

2.2 线性关系和检出限

前处理采用 QuEChERS 方法,用提取净化得到的空白蜜柚基质配制标准工作溶液并进样分析,以吡唑醚菌酯色谱图峰面积为纵坐标、对应的质量浓度为横坐标绘制标准曲线。吡唑醚菌酯的标准曲线方程为 $y = 60533x + 148670$, 相关系数 (r^2) 为 0.9993, 表明在 1~500 μg · L⁻¹ 浓度范围内线性关系良好,以 3 和 10 倍信噪比计算检出限和定量限,吡唑醚菌酯的检出限和定量限分别为 0.7 和 2 μg · kg⁻¹。图 1 为

蜜柚中吡唑醚菌酯的 SRM 色谱图。

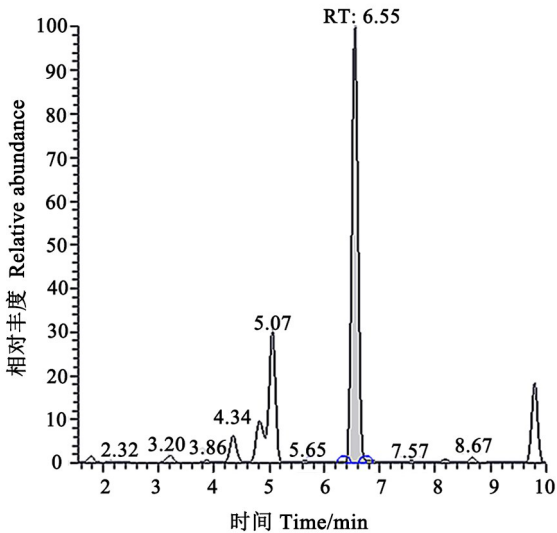


图 1 蜜柚中吡唑醚菌酯的 SRM 色谱图
Fig.1 SRM chromatogram of pyraclostrobin in
C. maxima ‘Guanxi miyou’

2.3 添加回收试验

称取蜜柚空白样品进行添加回收试验,分别加入 3 个水平 (2、50 和 1000 μg · kg⁻¹) 的吡唑醚菌酯标准工作溶液,每个水平重复 5 次。按上述方法进行前处理和上机测定,试验平均回收率为 83.8%~105.8%,相对标准偏差为 2.9%~9.1%,由此表明,该方法测定吡唑醚菌酯残留准确度和精密度均较好,符合农药残留分析的要求 (中华人民共和国农业部,2004)。

2.4 残留动态及消解规律

2.4.1 残留动态 对吡唑醚菌酯在蜜柚中的残留动态进行分析测定 (表 4), 2 种施药剂量处理的原始沉积量存在一定差异,推荐剂量 (2000 倍液) 处理在蜜柚上的原始沉积量为 0.5619~0.5952 mg · kg⁻¹,而加倍剂量 (1000 倍液) 处理为 1.0732~1.1586 mg · kg⁻¹。

在施药后 1、3、7、15 和 30 d 分别进行采样检测,套袋处理的消解率分别为 27.1%~27.3%、45.3%~50.8%、71.8%、90.1%~91.9% 和 98.3%~98.4%,而无套袋处理的消解率分别为 14.4%~16.9%、47.0%~54.1%、73.5%~80.0%、91.2%~93.6% 和 98.8%~99.0%。在同样的施药剂量和采摘时间下,套袋处理的消解率略低于无套袋处理 (1 d 的结果反过来),但在施药后 30 d,4 种处理的消解率均大于 98%,最终趋于一致。

表 4 吡唑醚菌酯在蜜柚中的残留消解动态

Table 4 Residual degradation dynamics of pyraclostrobin in *C. maxima* ‘Guanxi miyou’

施药后天数 The day after spraying/d	A		B		C		D	
	残留量 Residue/ (mg · kg ⁻¹)	消解率 Decline rate/%	残留量 Residue/ (mg · kg ⁻¹)	消解率 Decline rate/%	残留量 Residue/ (mg · kg ⁻¹)	消解率 Decline rate/%	残留量 Residue/ (mg · kg ⁻¹)	消解率 Decline rate/%
0	0.5952	—	1.1586	—	0.5619	—	1.0732	—
1	0.4341	27.1	0.8423	27.3	0.4812	14.4	0.8922	16.9
3	0.2928	50.8	0.6339	45.3	0.2581	54.1	0.5686	47.0
7	0.1681	71.8	0.3263	71.8	0.1487	73.5	0.2142	80.0
15	0.0590	90.1	0.0942	91.9	0.0492	91.2	0.0692	93.6
30	0.0102	98.3	0.0189	98.4	0.0068	98.8	0.0103	99.0

A: 推荐施药剂量+套袋处理; B: 加倍施药剂量+套袋处理; C: 推荐施药剂量+无套袋处理; D: 加倍施药剂量+无套袋处理。
A: Recommended dosage+bagging treatment; B: Double dosage+bagging treatment; C: Recommended dosage+no-bagging treatment; D: Double dosage+no-bagging treatment.

2.4.2 消解动态及最终残留 经过回归分析,吡唑醚菌酯的残留消解动态(表 5)符合一级动力学方程。套袋处理的半衰期($T_{1/2}$)为 5.10~5.26 d,消解 99%所需要的时间($T_{0.99}$)为 33.8~34.9 d;无套袋处理的 $T_{1/2}$ 为 4.48~4.79 d, $T_{0.99}$ 为 29.7~31.8 d。相同施药剂量,套袋处理的半衰期略长于无套袋的半衰

期。吡唑醚菌酯在蜜柚中的 4 种处理,相关系数(r)在 0.9918~0.9957 之间,消解系数(k)在 0.1317~0.1546 之间,说明吡唑醚菌酯在蜜柚上半衰期相对较短。施药后 65 d(此时蜜柚已成熟)测定吡唑醚菌酯的最终残留量,结果(表 5)显示 4 种不同处理均未检出吡唑醚菌酯残留。

表 5 吡唑醚菌酯在蜜柚中的消解动态方程

Table 5 Degradation dynamics equation of pyraclostrobin in *C. maxima* ‘Guanxi miyou’

供试处理 Treatment	消解动态 Degradation dynamics		$T_{1/2}$ /d	$T_{0.99}$ /d	65 d 后残留量 The residue after 65 days/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
	动力学方程 Dynamics equation	相关系数(r) Correlation coefficient			
A	$C=0.4797 \cdot e^{-0.1317t}$	0.9957	5.26	34.9	ND
B	$C=0.9476 \cdot e^{-0.1359t}$	0.9938	5.10	33.8	ND
C	$C=0.4750 \cdot e^{-0.1447t}$	0.9955	4.79	31.8	ND
D	$C=0.8840 \cdot e^{-0.1546t}$	0.9918	4.48	29.7	ND

“ND”:未检出;检出限:0.7 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。A:推荐施药剂量+套袋处理;B:加倍施药剂量+套袋处理;C:推荐施药剂量+无套袋处理;D:加倍施药剂量+无套袋处理。
"ND": Not detected; The limit of detection: 0.7 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. A: Recommended dosage+bagging treatment; B: Double dosage+bagging treatment; C: Recommended dosage+no-bagging treatment; D: Double dosage+no-bagging treatment.

3 讨论

本试验建立了高效液相色谱-串联质谱测定蜜柚中吡唑醚菌酯残留量分析方法,其中样品前处理采用 QuEChERS 方法,同时优化了 HPLC-MS/MS 的相关参数。该分析方法操作简单,灵敏度较高,检出限为 0.7 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,定量限为 2 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,添加回收率为 83.8%~105.8%,相对标准偏差为 2.9%~9.1%,适用于蜜柚中吡唑醚菌酯的残留测定。

吡唑醚菌酯在蜜柚中的残留消解动态符合一级动力学方程,套袋处理的消解半衰期为 5.10~5.26 d,无套袋处理的消解半衰期为 4.48~4.79 d;相同施药剂量下,套袋处理的半衰期略长于无套袋的半衰期,这可能与套袋后可以减少果实受外界环

境影响有关,如光照、雨淋等(王建武等,2003),减缓农药的残留消解。吡唑醚菌酯在葡萄(李瑞娟等,2010)、辣椒(高志文等,2011)、草莓(杨霄鸿等,2018)和杧果(刘艳萍等,2016)植株中的残留消解半衰期分别为 2.9~4.7、3.7~3.8、5.2~10.8 和 8.0~11.0 d,而在苹果(兰丰等,2018)、香蕉(赵方方等,2015)和铁皮石斛(许振岚等,2018)中的消解半衰期则较长,分别为 13.5~23.6、16.7~17.2 和 38.1 d,这说明在不同植株间吡唑醚菌酯残留消解存在差异,上述植株除铁皮石斛外,其他消解半衰期均小于 30 d。

GB 2763—2019《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》(中华人民共和国国家卫生健康委员会等,2019)规定吡唑醚菌酯在蜜柚上的最大

残留限量 (maximum residue limit, MRL) 为 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 按照这个 MRL 计算, 吡唑醚菌酯在蜜柚上的使用无安全间隔期问题。本研究的套袋方式与其他研究有所不同, 已有的研究 (陈合等, 2006; 刘建海等, 2003; 刘蕾庆等, 2012) 采用先套袋再多次施药, 本研究结合当地蜜柚病虫害防治方式, 采用 1 次施药多次采样检测的方法。先充分施药再进行套袋, 不仅可以加快蜜柚果实转色上市, 还可以减少农药的使用, 确保吡唑醚菌酯在蜜柚上使用具有安全性。

参考文献

- 蔡恩兴, 2017. 高效液相色谱-串联质谱法测定水果蔬菜中烯肟菌胺残留. 热带作物学报, 38(10): 1963-1968.
- 陈合, 李祥, 李利军, 2006. 套袋对苹果果实重金属及农药残留的影响. 农业工程学报, 22(1): 189-191.
- 高志文, 孙扬, 徐应明, 孙有光, 秦旭, 2011. 土壤和辣椒中吡唑醚菌酯的残留检测与消解动态研究. 安全与环境学报, 11(4): 22-26.
- 兰丰, 周先学, 李晓亮, 王志新, 段小娜, 鹿泽启, 姜蔚, 刘传德, 2018. 二氰蒽醌和吡唑醚菌酯在苹果中的残留及消解动态. 农药学学报, 20(4): 540-544.
- 李福琴, 石丽红, 王飞, 孙财远, 康嶙, 张钰萍, 陈冷竹, 胡德禹, 2017. QuEChERS-液相色谱-串联质谱法同时检测土壤和柑橘中吡唑醚菌酯、甲基硫菌灵及其代谢物多菌灵的残留. 色谱, 35(6): 620-626.
- 李瑞娟, 于建垒, 宋国春, 马惠, 2010. 60% 唑醚·代森联水分散粒剂中吡唑醚菌酯在葡萄和土壤中的残留分析. 环境化学, 29(4): 619-622.
- 蔺经, 李晓刚, 杨青松, 常有宏, 2009. 两种套袋方式对翠冠梨果实品质、农药残留及贮藏的影响. 江苏农业学报, 25(1): 174-176.
- 刘军, 张仙, 沈菁, 祁志红, 2014. 液相色谱-质谱法对柑橘中吡唑醚菌酯残留的检测. 湖北农业科学, 53(19): 4698-4700.
- 刘建海, 李丙智, 张林森, 栾东珍, 李亚绒, 雷延明, 2003. 套袋对红富士苹果果实品质和农药残留的影响. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 31(S1): 16-18, 21.
- 刘蕾庆, 焦自高, 艾希珍, 王崇启, 董玉梅, 肖守华, 2011. 套袋对厚皮甜瓜果实农药残留的影响. 山东农业科学(7): 49-51.
- 刘艳萍, 王思威, 孙海滨, 2016. 田间条件下氟唑菌酰胺和吡唑醚菌酯在芒果上的残留及消解动态. 农药学学报, 18(4): 509-515.
- 中华人民共和国农业部, 2004. 农药残留试验准则: NY/T 788—2004. 北京: 中国农业出版社.
- 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, 2019. 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量: GB 2763—2019. 北京: 中国农业出版社.
- 王建武, 陈厚彬, 周强, 张新明, 2003. 套袋对荔枝果实质量和农药残留的影响. 应用生态学报, 14(5): 710-712.
- 许振岚, 陈丽萍, 徐明飞, 蒋一之, 虞铁俊, 王强, 赵学平, 2018. 氯虫苯甲酰胺和吡唑醚菌酯在铁皮石斛中的残留及消解动态. 农药学学报, 20(2): 223-231.
- 杨丽娟, 柏亚罗, 2012. 甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂——吡唑醚菌酯. 现代农药, 11(4): 46-50, 56.
- 杨霄鸿, 赵楠楠, 赵文文, 刘慧君, 金芬, 贾明宏, 2018. 38% 唑醚·啉酰菌悬浮剂在草莓和土壤中的残留及消解动态. 农药学学报, 20(1): 67-74.
- 由晓, 井乐刚, 2015. 吡唑醚菌酯残留分析研究进展. 食品安全质量检测学报, 6(3): 863-871.
- 赵方方, 张月, 吕岱竹, 谢德芳, 2015. 香蕉和土壤中吡唑醚菌酯的残留分析. 热带作物学报, 36(9): 1694-1700.
- 张梅凤, 吕秀亭, 2012. 2011 年—2015 年专利到期的农药品种之吡唑醚菌酯. 今日农药(8): 36-38.
- LESUEUR C, KNITTL P, GARTNER M, MENTLER A, FU-ERHACKER M, 2008. Analysis of 140 pesticides from conventional farming foodstuff samples after extraction with the modified QuEChERS method. Food Control, 19(9): 906-914.
- ZHANG F Z, WANG L, ZHOU L, WU D, PAN H J, PAN C P, 2012. Residue dynamics of pyraclostrobin in peanut and field soil by QuEChERS and LC-MS/MS. Ecotoxicology and Environmental Safety, 78: 116-122.

(责任编辑: 郑姗姗)