

## 叶菌唑在小麦中的残留消解及膳食风险评价

石凯威<sup>1,2</sup>, 汤丛峰<sup>2</sup>, 李莉<sup>2</sup>, 刘丰茂<sup>\*1</sup>

(1. 中国农业大学 理学院, 北京 100193; 2. 中国科学院 动物研究所,  
农业虫害鼠害综合治理国家重点实验室, 北京 100101)

**摘要:** 为评价叶菌唑在小麦中的残留行为及其产生的膳食摄入风险, 于北京、安徽及黑龙江进行了1年3地田间试验, 建立了叶菌唑在小麦中的残留分析方法, 并对我国不同人群的膳食暴露风险进行了评价。样品用乙腈提取, 经 Florisil 固相萃取柱净化, 气相色谱-氮磷检测器(GC-NPD)检测, 外标法定量。结果表明: 在0.02~10 mg/kg的添加水平下, 叶菌唑在小麦籽粒和植株中的平均回收率在81%~101%之间, 相对标准偏差(RSD)在2.1%~9.1%之间; 其在小麦籽粒和植株中的定量限(LOQ)分别为0.02和0.04 mg/kg。叶菌唑在小麦植株中的消解符合一级动力学方程, 半衰期为4.9~7.3 d。收获时小麦籽粒中叶菌唑的最大残留量为0.037 mg/kg, 低于美国和欧盟设定的最大残留限量(MRL) 0.15 mg/kg。针对我国不同人群的膳食摄入及风险评估暴露, 风险商值(RQ)在0.001~0.002之间, 表明叶菌唑在小麦中的膳食摄入风险较低。

**关键词:** 叶菌唑; 小麦; 消解动态; 残留; 风险评价

中图分类号: S481.8; X592 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2015)03-0307-06

## Dissipation, residues and risk assessment of metconazole in wheat

Shi Kaiwei<sup>1,2</sup>, Tang Congfeng<sup>2</sup>, Li Li<sup>2</sup>, Liu Fengmao<sup>\*1</sup>

(1. College of Science, China Agricultural University, Beijing 100193, China;  
2. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology,  
Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

**Abstract:** In order to evaluate the residue behavior and dietary intake risk of metconazole applied to wheat, the residual trial of metconazole in wheat were carried out in Beijing, Anhui and Heilongjiang provinces. A new method was developed to determine the residue of metconazole in wheat. The risk assessment to different populations based on data of terminal residues in wheat was investigated. The samples were extracted with acetonitrile, purified by florisil SPE column, and determined by gas chromatography coupled with nitrogen phosphorus detector (NPD). At fortified levels of 0.02–10 mg/kg, recoveries of metconazole in wheat and straw were between 81%–101%, with RSD of 2.14%–9.10%. The limits of quantification (LOQs) were 0.02 mg/kg in grain, 0.04 mg/kg in straw. The results indicated that the dissipation of metconazole in straw fitted to the first order kinetics with half-lives of 4.9–7.3 days. At harvest period, the highest residue of metconazole in grain was 0.037 mg/kg, which was lower than the maximum residue limit (MRL, 0.15 mg/kg) set by the United States and European Union. The risk quotients (RQs) were between 0.001–0.002 for

收稿日期: 2015-01-26; 录用日期: 2015-03-12

作者简介: 石凯威, 男, 硕士研究生; \* 刘丰茂, 通信作者(Author for correspondence), 博士, 教授, 主要研究方向为农药残留分析和农产品安全 E-mail: lfm2000@cau.edu.cn

different populations in China, which indicated its low risk in wheat.

**Keywords:** metconazole; wheat; dissipation; residue; risk assessment

叶菌唑(metconazole)又称羟菌唑,化学名称为(1*RS*,5*RS*;1*RS*,5*SR*)-5-(4-氯苄基)-2,2-二甲基-1-(1*H*-1,2,4-三唑-1-基甲基)环戊醇,是日本吴羽化学公司于20世纪90年代初开发的新型三唑类广谱内吸性杀菌剂,可有效防治小麦赤霉病、小麦白粉病以及小麦锈病等禾谷类作物病害<sup>[1]</sup>。目前,叶菌唑在美国、欧盟以及日本等国家和地区已有登记使用,其在小麦上的最大残留限量(MRL)分别为0.15、0.15和0.2 mg/kg,但在我国尚未得到推广,也尚未制定MRL标准。

目前,国内外有关叶菌唑的报道多为其毒力测定及合成工艺研究<sup>[2]</sup>,也有一些关于叶菌唑在肉类<sup>[2]</sup>、中草药<sup>[3]</sup>、水果<sup>[4]</sup>和谷物<sup>[5-7]</sup>基质中的残留检测方法的相关报道,主要包括气相色谱-质谱法(GC-MS)<sup>[2-3,5]</sup>、气相色谱-串联质谱法(GC-MS/MS)<sup>[7]</sup>以及高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)<sup>[4,6]</sup>等,但尚未见叶菌唑在小麦中的残留行为及其膳食暴露风险评估方面的研究报道。本研究建立了叶菌唑的气相色谱-氮磷检测器(GC-NPD)分析方法,并基于此方法研究了其在小麦中的残留及消解变化趋势,针对所得残留结果进行了膳食暴露风险评价,以期为我国小麦中叶菌唑的合理使用及MRL标准的制定提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 仪器与药 剂

Agilent 7890A 气相色谱仪,配有氮磷检测器及自动进样器(美国 Agilent 公司);KQ-600 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);SC-3612 台式低速离心机(安徽中佳科学仪器有限公司);EYELA OSB-2000 旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司);AL204-IC  $d=0.001$  g 天平,SPN202F  $d=0.01$  天平(梅特勒-托利多称重设备系统有限公司);CNW-CA3755 弗罗里硅土固相萃取柱(1 g/6 mL,由上海安谱科学仪器有限公司提供)。

叶菌唑(metconazole)标准品(纯度 99.5%),由 Dr. Ehrenstorfer GmbH 提供;50% 叶菌唑水分散剂(metconazole 500WDG)。所用试剂均为市售分析纯(石油醚经重蒸后使用)。

### 1.2 分析方 法

#### 1.2.1 样品的提取

麦粒:称取 10 g 经研磨成粉的麦粒样品(精确到 0.01 g)于 50 mL 具塞离心管内,加入 20 mL 乙腈,振荡 1 min 后超声提取 15 min。加入 6 g 氯化钠,剧烈摇动 1 min,3 000 r/min 离心 5 min。取上清液 10 mL 在 100 mL 茄形瓶中,35 °C 下旋转蒸发至近干,待净化。

麦秆:称取 5 g 经切碎的麦秆样品(精确到 0.01 g)于 200 mL 玻璃瓶内,加入 10 mL 蒸馏水和 40 mL 乙腈,摇匀后超声提取 15 min。过滤至事先称有 6 g 氯化钠的 50 mL 具塞离心管中,剧烈摇动 1 min,3 000 r/min 离心 5 min。取上清液 20 mL 于 100 mL 茄形瓶中,35 °C 下旋转蒸发至近干,待净化。

1.2.2 样品净化 采用弗罗里硅土固相萃取柱净化,先用 5 mL  $V(\text{丙酮}):V(\text{石油醚})=10:90$  混合溶剂活化萃取柱,弃去;再用 10 mL 上述混合溶剂分两次将待净化残渣溶解上样,最后用 20 mL 相同混合溶剂分 4 次洗脱。收集洗脱液共 30 mL,35 °C 下旋转蒸发至近干,用 2.5 mL 丙酮溶解待色谱分析。

1.2.3 GC-NPD 检测条件 Agilent HP-5 气相色谱柱(30 m  $\times$  0.32 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m);升温程序:120 °C,保持 1 min,以 25 °C/min 的速率升温至 280 °C,保持 5 min。进样口温度 280 °C;载气为高纯氮气,流速 3 mL/min;检测器温度 340 °C;氢气流量 3 mL/min,空气流量 60 mL/min;进样量 2  $\mu$ L;不分流进样。在此条件下,叶菌唑的保留时间为 7.65 min。

1.2.4 标准曲线绘制 采用外标法定量。称取叶菌唑标准品 0.027 0 g(精确至 0.000 1 g)于 25 mL 容量瓶中,用丙酮溶解并配制成 1 074.6  $\mu$ g/mL 的母液,采用梯度稀释法用丙酮稀释成 5、2.5、1、0.5、0.25、0.1 和 0.04  $\mu$ g/mL 的叶菌唑系列标准工作溶液,在 1.2.3 节所述色谱条件下测定。以样品质量浓度( $x$ ,  $\mu$ g/L)为横坐标,峰面积( $y$ )为纵坐标,绘制标准曲线。

1.2.5 添加回收试验 在空白麦粒和麦秆中添加一定量的叶菌唑标准溶液。添加水平覆盖实际样品中叶菌唑的残留浓度范围:麦粒中为 0.02、0.15 和 1 mg/kg,麦秆中为 0.04、0.15、5 和 10 mg/kg,每个水平 5 次重复,按本研究所建立的方法进行提取、净化及 GC-NPD 分析,计算平均回收率和相对标准偏差(RSD)。

### 1.3 田间试验

试验地点为北京市通州区、安徽省宿州市及黑龙江省哈尔滨市。小区面积为 30 m<sup>2</sup>, 各处理均设 3 次重复, 小区间设置保护行, 同时设空白对照区。各小区种植条件一致。50% 叶菌唑水分散粒剂在小麦上的推荐使用剂量(有效成分)为 45~90 g/hm<sup>2</sup>。

1.3.1 消解动态试验 选择未施用过叶菌唑的小麦田, 以推荐使用高剂量的 2 倍(有效成分 180 g/hm<sup>2</sup>) 于麦苗返青至拔节期喷雾施药 1 次。于施药后 2 h 及 1、3、5、7、10、14、21、30、45 d 采集地表以上的全株 1 kg 以上, 切碎后混匀, -20 °C 冰箱中贮存待测。

#### 1.4 膳食摄入风险评价

膳食暴露量和风险评价结果分别由公式(1)和(2)计算得出。

$$EED = (CRL \times F_i) / bw \quad (1)$$

$$RQ = EED / ADI \quad (2)$$

式中: *EED* (estimated exposure dose) 为估计暴露量, mg/kg bw; *CRL* (calculated residue level) 为理论残留量, mg/kg; *F<sub>i</sub>* (food intake) 为食物摄入量, kg; *bw* 为体重, kg; *RQ* (risk quotient) 为风险商值; *ADI* (acceptable daily intake) 为每日允许摄入量, mg/kg bw。当 *RQ* > 1 时, 表示存在不可接受的较大风险, 数值越大, 风险越大; 当 *RQ* < 1 时, 表示风险是可接受的, 数值越小, 风险越小<sup>[8]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 方法的线性范围、检出限及定量限

外标法定量分析结果表明, 在 0.04~10 mg/L

的范围内, 叶菌唑的峰面积 (*y*) 与质量浓度 (*x*, mg/L) 间呈良好线性关系, 回归方程为  $y = 70.7218x - 0.9253$ , 相关系数  $r = 0.9996$ 。按照 3 倍信噪比计算, 叶菌唑在麦粒和麦秆中检出限 (LOD) 分别为 0.005 和 0.01 mg/kg。其在麦粒和麦秆中的定量限 (LOQ) 则分别为 0.02 和 0.04 mg/kg。

### 2.2 方法的准确度和精密度

添加回收试验结果(表 1)表明: 在不同添加水平范围内(添加水平覆盖实际样品中叶菌唑含量范围), 叶菌唑在麦粒和麦秆中的平均回收率在 81%~101% 之间, *RSD* 在 2.1%~9.1% 之间。准确度和精密度均符合农药残留分析标准要求。典型色谱图如图 1 所示, 目标峰附近无杂质峰, 净化效果较好

表 1 叶菌唑在不同样品中的平均添加回收率 ( $n=5$ )

Table 1 Recoveries of metconazole in different samples at different levels ( $n=5$ )

样本 Samples	添加水平 Spiked level/ (mg/kg)	平均回收率 Average recovery /%	相对 标准偏差 RSD /%
麦粒 Wheat grain	0.02	98	5.5
	0.15	92	6.6
	1	94	9.1
麦秆 Wheat straw	0.04	97	6.4
	0.15	81	4.4
	5	94	4.7
	10	101	2.1

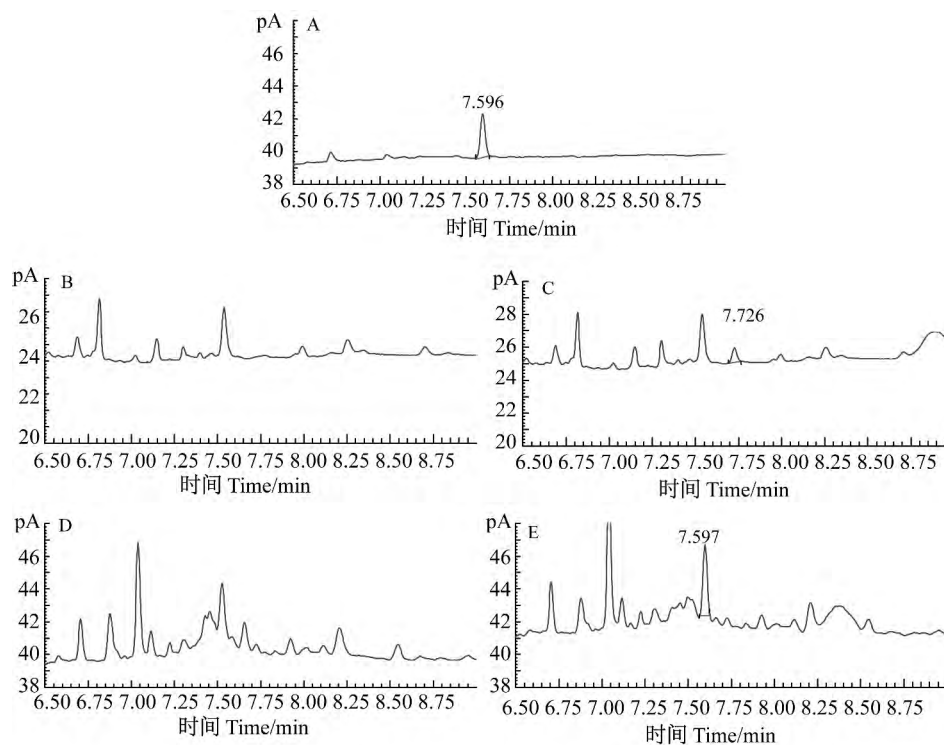
### 2.3 消解动态

北京、安徽和黑龙江 3 地的消解动态试验结果(表 2)表明: 叶菌唑在小麦植株中的消解规律符合一级动力学方程, 其在小麦植株中的半衰期为 4.9~7.3 d。黑龙江样品药后 10 d 的消解率为 86%, 安徽和北京两地样品 7 d 消解率达 90% 以上, 3 地消解趋势基本一致, 消解速率较快。

表 2 叶菌唑在小麦植株中的消解动态

Table 2 Dissipation of metconazole in wheat straw

试验地 Location	消解动态方程 Dynamics equation	相关系数( <i>r</i> ) Correlation coefficient	半衰期 Half-life/d
北京 Beijing	$c_t = 1.4986e^{-0.1110t}$	-0.9198	6.2
安徽 Anhui province	$c_t = 1.5407e^{0.0948t}$	-0.8623	7.3
黑龙江 Heilongjiang province	$c_t = 6.5464e^{0.1422t}$	-0.9892	4.9



A. 叶菌唑标样(0.04 mg/L); B. 麦秆空白样品; C. 麦秆添加样品(0.04 mg/kg); D. 麦粒空白样品; E. 麦粒添加样品(0.02 mg/kg)。  
A. Standard of metconazole (0.04 mg/L); B. Blank of wheat straw; C. Wheat straw sample with 0.04 mg/kg metconazole;  
D. Blank of wheat grain; E. Wheat grain sample with 0.02 mg/kg metconazole.

图 1 叶菌唑标准品和麦秆及麦粒样品色谱图

Fig. 1 Chromatogram of metconazole standard and difference sample of wheat straw and wheat grain

## 2.4 最终残留

结果见表 3。距最后一次施药间隔 14 d 采样测定麦粒中叶菌唑的残留量  $< 0.02 \sim 0.037$  mg/kg; 间隔 21 d 时, 残留量  $< 0.02 \sim 0.024$  mg/kg; 间隔

28 d 时, 残留量  $< 0.02 \sim 0.022$  mg/kg。叶菌唑在小麦籽粒中的残留量随采收间隔期的延长而减少, 间隔 14 d 时残留中值 (STMR) 为 0.02 mg/kg。

表 3 叶菌唑在麦粒中的最终残留量

Table 3 The terminal residues of metconazole in grain

试验地 Location	施药剂量(有效成分) Dosage, a. i. / (g/hm <sup>2</sup> )	施药次数 Times	最终残留量 Terminal residue/(mg/kg)		
			14 d	21 d	28 d
北京 Beijing	90	2	$< 0.02$	$< 0.02$	$< 0.02$
		3	0.021	$< 0.02$	$< 0.02$
	135	2	$< 0.02$	0.020	0.022
		3	$< 0.02$	0.024	$< 0.02$
安徽 Anhui province	90	2	$< 0.02$	$< 0.02$	$< 0.02$
		3	0.037	$< 0.02$	$< 0.02$
	135	2	$< 0.02$	$< 0.02$	$< 0.02$
		3	$< 0.02$	$< 0.02$	$< 0.02$
黑龙江 Heilongjiang province	90	2	$< 0.02$	$< 0.02$	$< 0.02$
		3	$< 0.02$	$< 0.02$	$< 0.02$
	135	2	$< 0.02$	$< 0.02$	$< 0.02$
		3	$< 0.02$	$< 0.02$	$< 0.02$

## 2.5 膳食暴露和风险评价

根据膳食摄入结构和所得最终残留结果,可计算出不同人群的膳食摄入暴露量,从而进行风险评估<sup>[9-10]</sup>。不同国家和不同年龄组成均可导致膳食摄入结构的差异,因此,针对我国膳食结构进行的风险评估是必要的。根据相关标准规定,叶菌唑的 *ADI* 为 0.048 mg/kg bw<sup>[11]</sup>,理论残留量 *CRL* 以残留中值 0.02 mg/kg 计,根据公式(1)和(2)计算估计暴

露量和风险商值。叶菌唑在我国仍未得到登记推广,因此本评价仅针对与小麦相关的面粉及制品。我国不同人群(年龄和性别)中面粉及制品的平均摄入量( $F_i$ )、估计暴露量(*EED*)和风险商值(*RQ*)见表4。

膳食暴露结果显示,对于不同年龄段及性别人群,风险商值为 0.001~0.002,远小于 1,其膳食暴露风险较低,处于可接受的安全水平。

表4 我国不同人群对面粉及其制品平均摄入量、估计暴露量和风险商值

Table 4 Average intake of wheat, *EED* and *RQ* for different population in China

年龄 Age	性别 Sex	体重 <sup>[12]</sup> Body weight/kg	面粉及制品平均摄入量 <sup>[13]</sup> Average intake of wheat product/(g/d)	估计暴露量 <i>EED</i> /(mg/kg bw)	风险商值 <i>RQ</i>
2~3	男 Male	13.2	65.7	0.100	0.002
	女 Female	12.3	53.9	0.088	0.002
4~6	男 Male	16.8	81.8	0.097	0.002
	女 Female	16.2	84.0	0.104	0.002
7~10	男 Male	22.9	99.7	0.087	0.002
	女 Female	21.7	99.7	0.092	0.002
11~13	男 Male	34.1	126.0	0.074	0.002
	女 Female	34.0	117.1	0.069	0.001
14~17	男 Male	46.7	151.8	0.065	0.001
	女 Female	45.2	134.8	0.060	0.001
18~29	男 Male	58.4	175.5	0.060	0.001
	女 Female	52.1	133.1	0.051	0.001
30~44	男 Male	64.9	166.8	0.051	0.001
	女 Female	55.7	136.7	0.049	0.001
45~59	男 Male	63.1	159.2	0.050	0.001
	女 Female	57.0	133.5	0.047	0.001
60~69	男 Male	61.5	151.5	0.049	0.001
	女 Female	54.3	122.7	0.045	0.001
>70	男 Male	58.5	123.6	0.042	0.001
	女 Female	51.0	95.4	0.037	0.001

## 3 结论

本研究建立了叶菌唑在小麦中的残留分析方法,该方法重现性好、灵敏度高,准确度和精密度符合农药残留分析标准要求。

消解动态试验结果表明,叶菌唑在小麦植株中的消解速率较快,半衰期为 4.9~7.3 d。最终残留试验结果表明,采用 50% 叶菌唑水分散粒剂按推荐使用高剂量(有效成分 90 g/hm<sup>2</sup>)及其 1.5 倍剂量(有效成分 135 g/hm<sup>2</sup>)处理,收获的小麦籽粒中叶菌唑的最高残留量为 0.037 mg/kg,均

低于美国及欧盟规定的叶菌唑在小麦上的最大残留限量(0.15 mg/kg)。

膳食摄入风险评价结果表明,叶菌唑在小麦中的残留风险较低,该结果可为我国相关 MRL 标准的建立提供参考。但值得注意的是,由于叶菌唑在我国尚未得到登记推广,本研究仅考虑了摄入面粉及制品对我国居民健康状况的影响,对蔬菜、水果、油料作物等尚未涉及,因此如果考虑到叶菌唑逐步在中国登记,其风险尚需进一步确定。此外,制定农药 MRL 标准及进行风险评估需要足够和具有充分代表性试验点的残留数据,而本文数据仅来源于典

型代表地区的1年3地试验结果,在数据量上有所不足,因此还需增加不同年度、不同生态环境以及不同生产方式条件下的残留试验数据,方可评估制定出合理的MRL标准。

### 参考文献(Reference):

- [1] 邬柏春,冯化成. 三唑类杀菌剂种菌唑和叶菌唑[J]. 世界农药, 2001, 23(3): 52-53.  
Wu Bochun, Feng Huacheng. Triazole fungicides ipconazole and metconazole [J]. *World Pestic*, 2001, 23(3): 52-53. (in Chinese)
- [2] Konwick B J, Garrison A W, Avants J K, et al. Bioaccumulation and biotransformation of chiral triazole fungicides in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2006, 80(4): 372-381.
- [3] Nguyen T D, Lee K J, Lee M H, et al. A multiresidue method for the determination 234 pesticides in Korean herbs using gas chromatography mass spectrometry [J]. *Microchem J*, 2010, 95(1): 43-49.
- [4] Nguyen T D, Han E M, Seo M S, et al. A multi-residue method for the determination of 203 pesticides in rice paddies using gas chromatography/mass spectrometry [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 619(1): 67-74.
- [5] Lozano A, Rajski L, Uclés S, et al. Evaluation of zirconium dioxide-based sorbents to decrease the matrix effect in avocado and almond multiresidue pesticide analysis followed by gas chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2014, 118: 68-83.
- [6] Pizzutti I R, de Kok A, Zanella R, et al. Method validation for the analysis of 169 pesticides in soya grain, without clean up, by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using positive and negative electrospray ionization [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1142(2): 123-136.
- [7] Walorczyk S. Development of a multi-residue method for the determination of pesticides in cereals and dry animal feed using gas chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry II. Improvement and extension to new analytes [J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1208(1/2): 202-214.
- [8] 中国农业科学院农业产品质量标准与检测技术研究所. 农产品质量安全风险评估: 原理、方法和应用[M]. 北京: 中国标准出版社, 2007.  
Institute of Quality Standards and Testing Technology for Agro-products Chinese Academy of Agricultural Science. Risk assessment for quality and safety of agro-foods: principles methodologies and applications [M]. Beijing: Standards Press of China, 2007. (in Chinese)
- [9] Tsakiris I N, Goumenou M, Tzatzaraki MN, et al. Risk assessment for children exposed to DDT residues in various milk types from the Greek market [J]. *Food Chem Toxicol*, 2015, 75, 156-165.
- [10] FAO/WHO, Food Standards Programme, Codex Alimentarius Commission. Report of 45th session of the codex committee on pesticides residues[R]. 2008.
- [11] Tomlin C D S. The e-Pesticide Manual[CP/DK]. Version 5.0, 2009-2010, British Crop Production Council.
- [12] 张志恒,袁玉伟,郑蔚然,等. 三唑磷残留的膳食摄入与风险评估[J]. 农药学学报, 2011, 13(5): 485-495.  
Zhang Zhiheng, Yuan Yuwei, Zheng Weiran, et al. Dietary intake and its risk assessment of triazophos residue [J]. *Chin J Pestic Sci*, 2011, 13(5): 485-495. (in Chinese)
- [13] 金水高. 中国居民营养与健康状况调查报告之十: 2002年营养与健康状况数据集[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.  
Jin Shuigao. The tenth report of nutrition and health status for China residents: nutrition and health status of annual 2002 [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008. (in Chinese)

(责任编辑: 金淑惠)