

DOI: 10.20098/j.cnki.1001-5132.2023.0236

吡唑醚菌酯和啮菌酯在铁皮石斛中的残留及其对黄酮含量的影响

雷 圆^{1,2}, 张昌朋², 孙凤婷², 叶 会², 陆兰菲², 赵学平², 曾小群^{1*}

(1. 宁波大学 食品与药学学院, 浙江 宁波 315832;

2. 浙江省农业科学院 农产品质量安全与营养研究所, 浙江 杭州 310021)

摘要: 为了解吡唑醚菌酯和啮菌酯在铁皮石斛中的残留动态及吡唑醚菌酯和啮菌酯对铁皮石斛中黄酮含量的影响, 通过盆栽试验, 设置了吡唑醚菌酯推荐低剂量(T1)、吡唑醚菌酯推荐高剂量(T2)、啮菌酯推荐低剂量(T3)、啮菌酯推荐高剂量(T4)和空白对照(CK)5个处理, 采用 QuEChERS-液相色谱-串联质谱法和紫外分光光度计检测法, 测定铁皮石斛中吡唑醚菌酯和啮菌酯的残留量和黄酮含量。结果表明: (1)建立的方法准确度及灵敏度良好, 平均回收率为 88.85%~117.50%, 相对标准偏差为 1.75%~13.92%, 满足铁皮石斛中吡唑醚菌酯和啮菌酯残留检测要求。 (2)通过盆栽试验发现, 吡唑醚菌酯和啮菌酯在铁皮石斛中消解速率较慢, 半衰期分别为 110.45~145.45 d 和 68.42~170.39 d。90 d 时, T1 和 T2 处理组在铁皮石斛中消解率和残留量分别为 45.65%、5.23 mg·kg⁻¹ 和 40.70%、7.65 mg·kg⁻¹; T3 和 T4 处理组在铁皮石斛中消解率和残留量分别为 61.23%、2.51 mg·kg⁻¹ 和 36.56%、5.50 mg·kg⁻¹。 (3)通过对 90 d 铁皮石斛样品中黄酮含量的检测发现, 吡唑醚菌酯和啮菌酯处理在短时间内可显著提高铁皮石斛中黄酮含量, 随着时间延长黄酮含量趋于稳定。

关键词: 吡唑醚菌酯; 啮菌酯; 铁皮石斛; 残留; 黄酮含量

中图分类号: S481+.8; S567.23 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-5132 (2023) 04-0097-07

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)为兰科石斛属多年生草本植物, 被奉为“中华九大仙草”之首, 同时被列入《中华人民共和国药典》^[1], 具有滋阴降火、补益脾胃、降血糖、抗肿瘤、提高免疫力等诸多功效^[2-4], 为浙江省道地药材。野生铁皮石斛由于苛刻的生长环境(空气湿度大于 80%、温度大于 0℃等条件)数量稀少^[5], 难以满足日益增长的需求, 人工栽培应运而生。铁皮石斛的人工栽培主要集中在浙江省, 在栽培过程中易遭受炭疽病、白绢病、叶斑病等病害^[6], 对铁皮石斛的产量和营养品质影响严重。

黄酮是评价铁皮石斛营养品质的主要指标之

一, 它是天然活性成分或生物活性物质中广泛存在的结构, 具有抗菌、抗氧化、抗炎、抗衰老等功效^[7]。Loo 等^[8]的体外分批发酵实验发现, 地奥司明、香叶木素和木犀草素等黄酮类化合物与纤维素结合时对肠道菌群相对丰度的调节具有协同效应, 表明黄酮类物质具有调节肠道健康的功能。通过实时荧光定量手段发现, 2 种黄酮物质(五甲氧基黄酮和三甲氧基黄酮)作用于脂肪细胞后减少了细胞中脂质和甘油三酯的积累, 表明黄酮类物质具有抗肥胖的活性^[9]。有研究发现^[10], 淡竹叶(*Lophatherum gracile*)中富含的黄酮 C-糖苷可减弱炎症反应、抑制 SARS-CoV-2 的复制, 说明天然产物中的黄酮类

收稿日期: 2023-02-22. 宁波大学学报(理工版)网址: <http://journal.lg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32072195)。

第一作者: 雷圆(1999-), 女, 河南信阳人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 食品安全. E-mail: lei yuan76541@163.com

*通信作者: 曾小群(1982-), 女, 四川仁寿人, 教授, 主要研究方向: 食品安全等. E-mail: zxqun3447@126.com

物质可以预防或治疗 SARS-CoV-2 感染. 因此, 研究铁皮石斛中黄酮含量对评价其营养品质具有重要意义.

有研究表明, 农药不仅能防治病虫害保障作物产量, 还能影响作物生理, 促进作物体内营养成分的生成. Li 等^[11]研究发现, 吡唑醚菌酯对大豆根和叶中的类黄酮含量及苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性均有促进作用; Mohamed 等^[12]研究发现, 使用杀菌剂(Rizolex T、Mon-cut 和 Tondro)可以增强棉花中类黄酮的合成, 进而增强作物的抗氧化防御机制; Liu 等^[13]研究发现, 杀菌剂三环唑显著影响 6 种脂肪酸代谢途径(53.9%), 导致饱和脂肪酸(棕榈酸和硬脂酸)的下降和不饱和脂肪酸(亚麻酸和十八碳二烯酸)的增加. 目前农药在铁皮石斛上的研究多集中在分析方法、消解动态以及膳食风险评估等方面, 而农药对铁皮石斛中黄酮含量的影响研究鲜见报道.

铁皮石斛在人工栽培条件下病害严重, 使用杀菌剂是防治各类病害、提高其产量的重要手段之一, 吡唑醚菌酯和咪菌酯是铁皮石斛上常用杀菌剂. 目前, 吡唑醚菌酯已在我国石斛上登记, 用于防治炭疽病; 咪菌酯在《铁皮石斛病虫害综合防治规范》^[14]中推荐用于防治铁皮石斛叶斑病.

本文以铁皮石斛为研究对象, 根据推荐剂量设计 4 种不同有效剂量的室内盆栽试验, 以探究吡唑醚菌酯和咪菌酯在铁皮石斛中应用后的残留情况, 及其对铁皮石斛中黄酮含量的影响, 以期对吡唑醚菌酯和咪菌酯在铁皮石斛实际生产中的安全应用提供参考.

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Waters UPLC/XEVO TQ-XS 高效液相色谱质谱联用仪(美国 Waters 公司); 紫外分光光度计(日本岛津公司); NMSG-12 多管漩涡混合器(泰州诺米医疗科技有限公司); 5430R 台式离心机(德国 Eppendorf 公司); R201B 旋转蒸发器(上海申胜生物技术有限公司); 电子天平(奥豪斯常州仪器有限公司).

铁皮石斛(浙江红杆)购于杭州莱钡特生物科技有限公司; 吡唑醚菌酯标准品(99%)、咪菌酯标准品(98.7%)购于上海安谱实验科技股份有限公司;

芦丁标准品(95%)购于上海源叶生物科技有限公司; 25%吡唑醚菌酯悬浮剂、25%咪菌酯悬浮剂购于盐城利民农化有限公司; NaNO_2 购于杭州高晶细化工有限公司; $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (99%)购于上海麦克林生化科技有限公司; NaOH 购于兰溪市屹达化工试剂有限公司; 甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)购于德国默克股份有限公司; 乙腈(分析纯)、氯化钠(分析纯)购于上海凌峰化学试剂有限公司; 甲酸(色谱纯)购于美国 Anaqua Chemicals 公司; 纯净水购于杭州娃哈哈集团有限公司; Agela Cleanert MAS-Q 净化管购于天津博纳艾杰尔科技有限公司.

1.2 盆栽试验

选取 3 年生铁皮石斛为研究对象进行盆栽试验, 盆栽放置于通风良好的棚内, 为避免阳光直射, 棚外围绕一圈黑色遮阳网. 试验于 2022 年 6 月进行, 供试药剂分别为 25%吡唑醚菌酯悬浮剂和 25%咪菌酯悬浮剂, 共设 5 个处理. T1: 吡唑醚菌酯推荐低剂量, 有效成分为 $225.0 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$; T2: 吡唑醚菌酯推荐高剂量, 有效成分为 $337.5 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$; T3: 咪菌酯推荐低剂量, 有效成分为 $84.4 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$; T4: 咪菌酯推荐高剂量, 有效成分为 $112.5 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$; T5: 清水. 每个处理均重复 3 次, 施药方式为茎叶喷雾, 施药次数为 3 次, 每次施药间隔 7 d, 末次施药后分别于 2 h 和 5、10、20、30、60、90 d 取样, 保留铁皮石斛茎. 采样后一式两份, 一份 -20°C 保存用于检测残留; 另一份 60°C 烘干用于检测黄酮含量.

1.3 农药残留分析

1.3.1 残留样品的提取与净化

准确称取铁皮石斛鲜样 2.0 g, 放于 50 mL 离心管中, 加 5 mL 水、10 mL 乙腈, 于 20°C $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡提取 15 min, 加入 5 g 氯化钠, 涡旋 1 min, 于 $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 3 min, 待净化. 量取 1.5 mL 待净化上清液, 加入 2 mL Agela Cleanert MAS-Q 净化管中(内含 C_{18} 50 mg、PSA 50 mg、 MgSO_4 150 mg), 涡旋 1 min, 于 $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 3 min, 取上清液, 过 $0.22 \mu\text{m}$ 有机滤膜, 待测.

1.3.2 仪器条件

液相色谱条件: 采用 ACQUITY UPLC BEH C_{18} (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μm)色谱柱, 柱温 40°C , 流动相 A 为乙腈, B 为 0.1%甲酸水溶液, 流速为 $0.2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样体积为 2 μL , 洗脱程序为等

度洗脱, A 相比比例 90%, B 相比比例 10%, 持续 3 min.

质谱条件: 采用 ESI⁺电离方式, 质谱多反应监测(MRM), 毛细管电压 2.5 kV、脱溶剂温度 400 ℃、脱溶剂气流量 800 L·h⁻¹, 吡唑醚菌酯和啉菌酯的监测离子对相关参数见表 1.

表 1 吡唑醚菌酯和啉菌酯的质谱参数

农药	母离子	子离子	碰撞能量/eV	碎裂电压/V	保留时间/min
吡唑醚菌酯	388.01	194.02 ^①	18	12	1.45
	388.01	163.05	18	28	
啉菌酯	404.10	344.10 ^①	18	20	1.24
	404.10	372.10	18	30	

注: ①为定量离子.

1.3.3 基质标准溶液的配制及基质标准曲线绘制

称取吡唑醚菌酯标准物质 0.050 5 g 溶于乙腈中, 定容至 50 mL, 配制成 1 000 mg·L⁻¹ 的标准储备液 A; 称取啉菌酯标准物质 0.050 7 g 溶于乙腈中, 定容至 50 mL, 配制成 1 000 mg·L⁻¹ 的标准储备液 B. 分别量取一定量的储备液 A、B, 用乙腈逐级稀释成质量浓度为 0.000 1、0.001、0.005、0.01、0.05、0.1 mg·L⁻¹ 的系列标准溶液, 绘制溶剂标准曲线; 再用铁皮石斛空白基质提取液逐步稀释成 0.000 1、0.001、0.005、0.01、0.05、0.1 mg·L⁻¹ 的基质标准溶液(现配现用), 绘制基质标准曲线, 用以评价基质效应. 经计算, 得出吡唑醚菌酯和啉菌酯在铁皮石斛中存在基质抑制. 为准确定量农药含量, 采用基质标准曲线计算样品浓度(外标法定量).

1.3.4 添加回收实验

在空白铁皮石斛基质中分别添加质量浓度为 0.001、0.01、0.5 mg·kg⁻¹ 吡唑醚菌酯和 0.005、0.05、0.5 mg·kg⁻¹ 啉菌酯, 同步设置不加药的空白组, 每个处理重复 5 次. 加药混匀后静置 30 min, 使目标物与铁皮石斛充分吸收. 按上述方法进行样品前处理和测定, 分别计算平均添加回收率和相对标准偏差(RSDs).

1.4 黄酮测定方法

1.4.1 标准曲线绘制

分别量取 0、1、2、3、4、5、6 mL 质量浓度为 200 mg·L⁻¹ 芦丁标准储备溶液, 加纯水定容至 10 mL, 稀释成质量浓度为 0、20、40、60、80、100、120 mg·L⁻¹ 的芦丁标准溶液. 依次量取上述不同质

量浓度的芦丁标准溶液 2 mL 于 10 mL 试管中, 加入 0.3 mL 亚硝酸钠(质量分数 5%), 涡旋混匀, 静置 6 min; 再加入 0.3 mL 硝酸铝(质量分数 10%), 涡旋混匀, 静置 6 min; 再加入 4 mL NaOH 溶液(质量分数 4%), 涡旋混匀, 以空白样品显色液作为空白调零, 于 510 nm 处测定吸光度, 绘制标准曲线. 芦丁在质量浓度 0~120 mg·L⁻¹ 与吸光度呈良好线性关系, 回归方程 $y=0.0042x+0.0066$, $R^2=0.9988$.

1.4.2 黄酮的提取与测定

准确称取铁皮石斛干样 0.20 g, 于 15 mL 离心管中, 加入 8 mL 75% 乙腈, 于 180 r·min⁻¹ 下涡旋振荡 5 min, 超声提取 30 min, 并于 5 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 得上清液备用. 按 1.4.1 节中方法, 于波长 510 nm 处测定其吸光度值, 并根据标准曲线计算黄酮含量.

1.5 数据处理

根据式(1)计算样品的基质效应.

$$E_{ME} = B / A, \quad (1)$$

式中: E_{ME} 为基质效应; A 为溶剂标准曲线斜率; B 为基质标准曲线斜率. 若 $E_{ME} < 0.8$, 基质抑制; 若 $E_{ME} > 1.2$, 基质抑制; 若 $0.8 \leq E_{ME} \leq 1.2$, 则基质效应温和^[15].

吡唑醚菌酯和啉菌酯在铁皮石斛中的残留量随时间变化, 可用一级动力学方程(式(2))表示, 半衰期($T_{1/2}$)由式(3)表示^[16]:

$$C_t = C_0 e^{-kt}, \quad (2)$$

$$T_{1/2} = \ln(2) / k, \quad (3)$$

式中: C_0 为施药后 2 h 的原始沉积量, mg·kg⁻¹; C_t 为时间 t 时农药的残留量, mg·kg⁻¹; k 为降解速率常数; t 为降解时间.

使用 SPSS 25.0 软件进行方差及相关性分析, 并基于 0.05 概率水平的最小显著性(LSD)检验比较各处理的平均值; 单因素方差分析(ANOVA)用于评价不同推荐剂量吡唑醚菌酯和啉菌酯对黄酮含量的影响. 试验结果为 3 次重复的平均值. 采用 Origin 2018 软件制图, Excel 进行一级动力学方程拟合消解曲线.

2 结果与讨论

2.1 残留分析方法的线性范围、准确度和精密度

考虑到基质效应的影响, 采用基质标准曲线

定量(表 2)。结果表明:吡唑醚菌酯和嘧菌酯在 0.000 1~0.1 mg·L⁻¹ 范围内线性良好(R^2 在 0.994 9~0.999 9 之间)。根据本文所用方法,吡唑醚菌酯和嘧菌酯的检出限(LOD)均为 0.000 1 mg·L⁻¹,定量限(LOQ)分别为 0.001、0.005 mg·kg⁻¹,表明该方法具有较高的灵敏度。

加标回收实验结果表明(表 2),添加水平为 0.001、0.01、0.5 mg·kg⁻¹ 时,吡唑醚菌酯在铁皮石斛中的平均回收率为 88.85%~95.13%,RSDs 为 5.48%~13.92%;添加水平为 0.005、0.05、0.5 mg·kg⁻¹ 时,嘧菌酯在铁皮石斛中的平均回收率为 96.94%~117.50%,RSDs 为 1.75%~7.12%。结果均符合农药残留添加回收试验的分析要求。

2.2 吡唑醚菌酯和嘧菌酯在铁皮石斛中的残留

对铁皮石斛不同取样时间(2 h 和 5、10、20、30、60、90 d)样品中的吡唑醚菌酯和嘧菌酯的残留水平进行分析,结果表明(表 3),T1 和 T2 处理组在铁皮石斛中的原始沉积量分别为 9.62、12.90 mg·kg⁻¹,90 d 内分别降解了 45.65%、40.70%,结果与文献[17]报道的吡唑醚菌酯在铁皮石斛中的消

解动态一致。T3 和 T4 处理组在铁皮石斛中的原始沉积量分别为 6.48、8.67 mg·kg⁻¹,90 d 内分别降解了 61.23%、36.56%。不同剂量吡唑醚菌酯和嘧菌酯处理组在铁皮石斛中的消解均表现出先慢后快的特性,其中不同剂量嘧菌酯处理组降解率差异显著($P=0.0003$),表明农药在铁皮石斛上的降解存在农药种类和剂量的差异。经数据拟合发现,T1、T2、T3、T4 组在铁皮石斛中的残留动态均符合一级动力学方程,消解曲线分别为 $C_t=8.8539e^{-0.006t}$ ($R^2=0.9261$)、 $C_t=11.8550e^{-0.005t}$ ($R^2=0.8718$)、 $C_t=6.5394e^{-0.01t}$ ($R^2=0.9634$)、 $C_t=8.0210e^{-0.004t}$ ($R^2=0.8454$);消解半衰期分别为 110.45、145.45、68.42、170.39 d。有研究报道,吡唑醚菌酯在金银花、桃、大白菜上的半衰期分别为 2.1~4.3 d^[18]、7.9~13.9 d^[19],以及 2.97、3.34 d^[20];嘧菌酯在辣椒、水稻、枇杷中的半衰期分别为 5.2~13.1 d^[21]、3.6~8.7 d^[22]、7.9~12.2 d^[23]。而吡唑醚菌酯和嘧菌酯在铁皮石斛中的半衰期远大于上述作物中的半衰期,其原因可能是:(1)室内种植的铁皮石斛受光照、降水等影响较小;(2)铁皮石斛为多年生植物,90 d 的观察时间短,生长稀释作

表 2 吡唑醚菌酯和嘧菌酯在铁皮石斛中检测结果

农药	添加水平/ (mg·kg ⁻¹)	回收 率/%	相对标准 偏差/%	基质标线性方程	R^2	基质 效应	LOD/ (mg·L ⁻¹)	LOQ/ (mg·kg ⁻¹)
吡唑醚菌酯	0.001	88.85	13.92	$y=16284610.19x+$	0.998 9	0.58	0.000 1	0.001
	0.01	89.71	5.53	961703.61				
	0.5	95.13	5.48					
嘧菌酯	0.005	117.50	7.12	$y=3956119.30x+$	0.999 9	0.52	0.000 1	0.005
	0.05	110.80	3.85	22562.97				
	0.5	96.94	1.75					

表 3 不同剂量吡唑醚菌酯和嘧菌酯在铁皮石斛中的残留量和消解率

采样 时间	T1		T2		T3		T4	
	残留量/ (mg·kg ⁻¹)	消解率/ %	残留量/ (mg·kg ⁻¹)	消解率/ %	残留量/ (mg·kg ⁻¹)	消解/ 率%	残留量/ (mg·kg ⁻¹)	消解率/ %
2 h	9.62±0.81	—	12.90±0.76	—	6.48±0.10	—	8.67±0.45	—
5 d	8.05±0.40	16.32	10.65±0.61	17.44	5.84±0.37	10.00	7.85±0.50	9.46
10 d	8.27±0.51	14.03	11.30±0.26	12.40	6.28±0.44	3.08	7.05±0.45	18.69
20 d	7.75±0.44	19.44	10.75±0.60	16.67	5.48±0.37	15.42	7.25±0.55	16.38
30 d	7.39±0.58	23.18	10.05±0.24	22.09	4.59±0.48	29.23	7.16±0.38	17.42
60 d	5.77±0.46	40.06	9.20±0.10	28.68	3.85±0.33	40.62	6.50±0.08	25.03
90 d	5.23±0.86	45.65	7.65±0.83	40.70	2.51±0.21	61.23	5.50±0.75	36.56

注:“—”表示无消解率。

表4 喷施不同剂量吡唑醚菌酯和啞菌酯对铁皮石斛中黄酮含量的影响

采样时间	T1	T2	T3	T4	CK
2 h	(2.79±0.06) ^a	(2.73±0.07) ^a	(2.73±0.05) ^a	(2.65±0.06) ^a	(2.35±0.05) ^b
5 d	(2.86±0.09) ^a	(2.99±0.10) ^a	(2.97±0.12) ^a	(2.69±0.07) ^b	(2.89±0.09) ^a
10 d	(2.87±0.06) ^b	(2.93±0.05) ^b	(2.89±0.08) ^b	(3.63±0.08) ^a	(2.63±0.02) ^c
20 d	(3.25±0.12) ^a	(3.19±0.21) ^a	(3.01±0.12) ^b	(3.07±0.04) ^a	(2.58±0.09) ^c
30 d	(3.38±0.14) ^a	(3.46±0.12) ^a	(3.59±0.05) ^a	(3.55±0.07) ^a	(2.93±0.12) ^b
60 d	(3.99±0.04) ^a	(3.60±0.14) ^b	(3.53±0.06) ^b	(3.56±0.15) ^b	(3.21±0.07) ^c
90 d	(3.92±0.06) ^{ab}	(4.10±0.16) ^{ab}	(3.78±0.10) ^b	(4.22±0.10) ^a	(3.92±0.13) ^{ab}

注: 同行中不同小写字母表示在 $P<0.05$ 水平差异显著。

用弱等。

2.3 吡唑醚菌酯和啞菌酯对铁皮石斛中黄酮含量的影响

在铁皮石斛中施用不同推荐剂量吡唑醚菌酯和啞菌酯后其黄酮含量存在一定差异(表4)。在所有处理中, 铁皮石斛中黄酮含量均随采收期延长呈升高趋势, 并于90 d达到最大值(T1组为60 d达到最大值)。2 h时各组黄酮含量分别为: 2.35 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (CK)、2.79 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (T1)、2.73 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (T2)、2.73 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (T3)、2.65 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (T4)。由表4可知, 在2 h时4个处理组中的黄酮含量均显著高于对照组($P<0.05$), 表明茎叶喷施吡唑醚菌酯和啞菌酯2 h后能够显著提高铁皮石斛中的黄酮含量。在10、20、30、60 d时, 4个处理组中的铁皮石斛黄酮含量均显著高于对照组($P<0.05$), 表明随着采收时间延长(60 d), 4个处理组仍能显著提高铁皮石斛中黄酮含量。90 d时, 各组黄酮含量分别为: 3.92 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (CK)、3.92 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (T1)、4.10 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (T2)、3.78 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (T3)、4.22 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (T4), 4个处理组中黄酮含量与对照组无显著差异($P>0.05$), 表明当采收时间延长至90 d时, 吡唑醚菌酯和啞菌酯处理组与对照组中黄酮含量趋于一致。原因可能是铁皮石斛用增加体内黄酮化合物的方式防御农药胁迫, 随着胁迫时间的延长黄酮含量趋于稳定^[24]。

T1组与T2组相比, 60 d时T2组中黄酮含量显著高于T1组, 其余采收时间(2 h和5、10、20、30、90 d)T1组与T2组黄酮含量无显著差异。T3组与T4组相比, 在10、20、90 d时, T3组中黄酮含量显著高于T4组, 表明黄酮含量与农药种类、农药剂量等有关。

图1为吡唑醚菌酯和啞菌酯处理组与对照组的

黄酮含量对比。由图1可知, CK组数据分布靠下, 跨度较广, 说明黄酮含量偏低, 但增长率较大。T3组数据分布较为集中, 表明黄酮增长率低; T1组分布较为分散, 表明黄酮增长率较大; T2组和T4组中数据分布更为分散, 且分散情况与CK组类似, 说明高剂量处理组(T2、T4)与对照组的黄酮引发机制相似, 而低剂量处理组(T1、T3)可能有更复杂的机制反应。作物品质的形成是极其复杂的代谢过程, 当前对品质的研究主要集中在生理生化的代谢指标, 对具体的代谢过程尚缺乏清晰认识。近年来, 为揭示作物品质的形成机理, 代谢组学成为品质分析的新手段, 并已取得重大突破^[25]。本研究着重关注了吡唑醚菌酯和啞菌酯对铁皮石斛中黄酮含量的影响, 其中的影响机理仍未知, 尚需借助代谢组学等手段进一步探究。

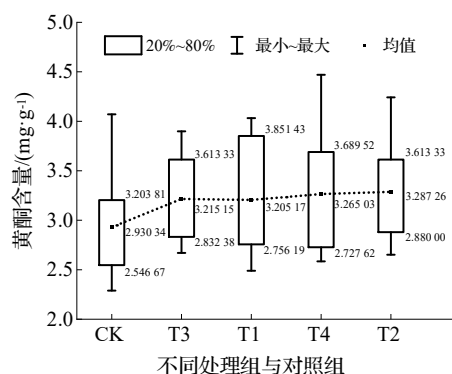


图1 吡唑醚菌酯和啞菌酯处理组与对照组黄酮含量对比

3 结论

(1)建立了快速、简便检测铁皮石斛中吡唑醚菌酯和啞菌酯残留的分析方法。样品经乙腈提取, QuEChERS净化后, 采用LC-MS/MS检测, 并利用该方法进行了盆栽试验样品的残留量测定。结果

表明,在 $0.001\sim 0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 范围内,吡唑醚菌酯在铁皮石斛中的平均回收率为 $88.85\%\sim 95.13\%$, RSDs 为 $5.53\%\sim 13.92\%$; 在 $0.005\sim 0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 范围内,啞菌酯在铁皮石斛中的平均回收率为 $96.94\%\sim 117.50\%$, RSDs 为 $1.75\%\sim 7.12\%$. 吡唑醚菌酯和啞菌酯 LOQ 分别为 0.001 、 $0.005\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 满足残留检测需要.

(2) 25%吡唑醚菌酯悬浮剂以 T1 组(有效成分 $225.0\text{ g}\cdot\text{hm}^{-2}$ 和 T2 组(有效成分 $337.5\text{ g}\cdot\text{hm}^{-2}$ 施药 3 次, 25%啞菌酯悬浮剂以 T3 组(有效成分 $84.4\text{ g}\cdot\text{hm}^{-2}$ 和 T4 组(有效成分 $112.5\text{ g}\cdot\text{hm}^{-2}$) 施药 3 次, 施药间隔期 7 d. 残留动态结果表明: T1 组和 T2 组吡唑醚菌酯在铁皮石斛中的原始沉积量分别为 9.62 、 $12.90\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 90 d 时分别消解了 45.65% 、 40.70% , 半衰期分别为 110.45 、 145.45 d ; T3 组和 T4 组啞菌酯在铁皮石斛中的原始沉积量分别为 6.48 、 $8.67\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 90 d 时分别消解了 61.23% 、 36.56% , 半衰期分别为 68.42 、 170.39 d .

(3) 利用紫外分光光度计和亚硝酸钠-氯化铝法检测残留实验样品中黄酮含量的变化发现, 在 2 h 和 10、20、30、60 d 时, 相比于对照组, T1、T2、T3、T4 处理组均显著提高了铁皮石斛中黄酮含量, 90 d 时处理组与对照组中黄酮含量差异不显著. 表明短时间内 T1、T2、T3、T4 处理组可显著提高铁皮石斛中黄酮含量, 但随着时间延长黄酮含量趋于稳定.

上述结果可为吡唑醚菌酯和啞菌酯在铁皮石斛中的合理使用及对其品质的影响提供理论依据.

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [2] Guo L H, Qi J X, Du D, et al. Current advances of *Dendrobium officinale* polysaccharides in dermatology: A literature review[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2020, 58(1): 664-673.
- [3] Liang J, Li H L, Chen J Q, et al. *Dendrobium officinale* polysaccharides alleviate colon tumorigenesis via restoring intestinal barrier function and enhancing anti-tumor immune response[J]. *Pharmacological Research*, 2019, 148:104417.
- [4] Xie S Z, Liu B, Zhang D D, et al. Intestinal immunomodulating activity and structural characterization of a new polysaccharide from stems of *Dendrobium officinale*[J]. *Food & Function*, 2016, 7(6):2789-2799.
- [5] 陈心启, 吉占和. 中国兰花全书[M]. 北京: 中国林业出版社, 1998:153.
- [6] 卢振辉, 李明焱, 王伟杰, 等. 铁皮石斛主要病虫害及其非化学农药防治[J]. *浙江农业科学*, 2016, 57(1): 123-126.
- [7] 施雅娜, 伍振煌, 王俊龙. 植物黄酮类化合物的提取工艺、生物活性功能及在畜禽生产中应用研究进展[J]. *饲料研究*, 2022, 45(11):128-133.
- [8] Loo Y T, Howell K, Suleria H, et al. Flavones interact with fiber to affect fecal bacterial communities *in vitro*[J]. *Food Chemistry*, 2023, 404:134721.
- [9] Ahmad B, Friar E P, Taylor E, et al. Anti-pancreatic lipase and anti-adipogenic effects of 5, 7, 3', 4', 5'-pentamethoxy and 6, 2', 4'-trimethoxy flavone - An *in vitro* study[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2023, 938:175445.
- [10] Chen Y L, Chen C Y, Lai K H, et al. Anti-inflammatory and antiviral activities of flavone C-glycosides of *Lophatherum gracile* for COVID-19[J]. *Journal of Functional Foods*, 2023, 101:105407.
- [11] Li P L, Sun P Y, Li D, et al. Evaluation of pyraclostrobin as an ingredient for soybean seed treatment by analyzing its accumulation - Dissipation kinetics, plant-growth activation, and protection against *Phytophthora sojae*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(43): 11928-11938.
- [12] Mohamed H I, Akladios S A. Changes in antioxidants potential, secondary metabolites and plant hormones induced by different fungicides treatment in cotton plants[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2017, 142:117-122.
- [13] Liu N, Zhu L Z. Metabolomic and transcriptomic investigation of metabolic perturbations in *Oryza sativa* L. triggered by three pesticides[J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(10):6115-6124.
- [14] T/ZNZ 006—2018. 铁皮石斛病虫害综合防治规范[S].
- [15] Li Y J, Xu J B, Zhao X P, et al. The dissipation behavior, household processing factor and risk assessment for cyenopyrafen residues in strawberry and mandarin fruits [J]. *Food Chemistry*, 2021, 359:129925.
- [16] Song L, Zhong Z Z, Han Y T, et al. Dissipation of sixteen pesticide residues from various applications of commercial formulations on strawberry and their risk assessment under greenhouse conditions[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 188:109842.
- [17] 许振岚, 陈丽萍, 徐明飞, 等. 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[J]. 农药学学报, 2018, 20(2):223-231.
- [18] 王俊晓, 安莉, 马欢, 等. 25%吡唑醚菌酯悬浮剂在金银花上的残留行为及膳食风险评估[J]. 现代农药, 2022, 21(4):43-47.
- [19] 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]. 农药学学报, 2023, 25(1):184-192.
- [20] 张少军, 郑振山, 陈勇达, 等. 杀菌剂吡唑醚菌酯在大白菜上的残留动态[J]. 中国蔬菜, 2011(18):77-80.
- [21] 郭紫兰, 陈武瑛, 张德咏, 等. 啞菌酯在辣椒和土壤中的残留检测方法及其消解规律[J]. 农药, 2017, 56(4): 273-275; 282.
- [22] 陈国峰, 刘峰, 张晓波, 等. 苯醚甲环唑和啞菌酯在水稻中的残留消解动态及残留分析[J]. 中国稻米, 2016, 22(4):56-61.
- [23] 徐永, 梁赤周, 虞淼, 等. 啞菌酯在枇杷中残留及消解动态[J]. 农药科学与管理, 2017, 38(11):28-34.
- [24] 周明, 沈勇根, 朱丽琴, 等. 植物黄酮化合物生物合成、积累及调控的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(18):216-221.
- [25] Wang M R, Tian Q X, Li H X, et al. Visualization and metabolome for the migration and distribution behavior of pesticides residue in after-ripening of banana[J]. Journal of Hazardous Materials, 2023, 446:130665.

Residues of pyraclostrobin and azoxystrobin in *Dendrobium officinale* Kimura et Migo and their effects on flavonoid contents

LEI Yuan^{1,2}, ZHANG Changpeng², SUN Fengting², YE Hui², LU Lanfei²,
ZHAO Xueping², ZENG Xiaoqun^{1*}

(1.College of Food and Pharmaceutical Sciences, Ningbo University, Ningbo 315832, China;

2.Institute of Agro-products Safety and Nutrition, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

Abstract: The present study was designed to study the residual dynamics of pyraclostrobin and azoxystrobin in *Dendrobium officinale* Kimura et Migo. In order to determine the effects of pyraclostrobin and azoxystrobin on flavonoid contents in this plant, five treatments were set up: pyraclostrobin recommended low dose (T1), pyraclostrobin recommended high dose (T2), azoxystrobin recommended low dose (T3), azoxystrobin recommended high dose (T4), and control check (CK). QuEChERS-liquid chromatography-mass spectrometry and ultraviolet spectrophotometry were used to detect pyraclostrobin and azoxystrobin residues, as well as flavonoid contents. The results showed that the average recoveries (88.85%–117.50%) and relative standard deviations (1.75%–13.92%) of pyraclostrobin and azoxystrobin in *Dendrobium officinale* Kimura et Migo were in line with residual requirements, within the range of spiked levels. Furthermore, potted experiment showed that pyraclostrobin and azoxystrobin had a slower digestion rate in *Dendrobium officinale* Kimura et Migo, with half-lives ranging from 110.45–145.45 d and 68.42–170.39 d respectively. At 90 d, the digestion rates and residues in the recommended low dose (T1) and high dose (T2) of pyraclostrobin treatment groups were 45.65%, 5.23 mg·kg⁻¹ and 40.70%, 7.65 mg·kg⁻¹ respectively. The digestion rates and residues in the recommended low dose (T3) and high dose (T4) of azoxystrobin treatment groups were 61.23%, 2.51 mg·kg⁻¹, and 36.56%, 5.50 mg·kg⁻¹ respectively. Through the detection of flavonoid contents in 90 d *Dendrobium officinale* Kimura et Migo samples, pyraclostrobin and azoxystrobin significantly increased the flavonoid contents in a short period. In contrast, the flavonoid contents appeared to be stable with the extension of time.

Key words: pyraclostrobin; azoxystrobin; *Dendrobium officinale* Kimura et Migo; residue; flavonoid contents

(责任编辑 史小丽)