

咪鲜胺在鸭梨果体上的残留分析与降解动态研究

李天秀^{1,2}, 王跃进², 刘波², 高希武¹

(1 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100094; 2 中国检验检疫科学研究院, 北京 100092)

摘要:采用固相萃取-HPLC检测方法快速检测咪鲜胺及其代谢物2,4,6-三氯苯酚在鸭梨上的残留. 结果表明:咪鲜胺与2,4,6-三氯苯酚在0.5~100.0 mg/kg范围内在梨皮和梨肉上添加回收率均为90%以上;鸭梨经咪鲜胺40、50℃处理较0℃处理后在梨皮上的残留量显著升高,在梨肉上的残留量微有上升. 另外,鸭梨的残留咪鲜胺在储存过程中逐步降解,常温储存较低温储存降解速度显著加快,其残留代谢物主要集中于果皮,而果肉部分残留极少.

关键词:固相萃取; HPLC; 咪鲜胺; 2,4,6-三氯苯酚; 鸭梨

中图分类号: S481.8

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2010)02-0036-04

Residual Detection and Degradation Dynamics of Prochloraz in Ya Pear

LI Tian-xiu^{1,2}, WANG Yue-jin², LIU Bo², GAO Xi-wu¹

(1 College of Agricultural and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

2 Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100092, China)

Abstract: The residue and degradation of prochloraz in Ya pear were investigated by solid phase extraction-high performance liquid chromatography (SPE-HPLC). The results showed that: the recoveries of prochloraz and 2,4,6-TCP in Ya pear sample were all above 90% at the 0.5–100.0 mg/kg level. The residue of prochloraz in the peel of Ya pear were significantly increased after treatment at 40 and 50℃ compared with 0℃, slightly increased in the pear pulp. Moreover, the results of degradation dynamic of prochloraz residue indicated that the residue was mostly left in the pear peel, and the metabolic rate of prochloraz stored in normal environment was more rapid than that in low-temperature storage.

Key words: solid phase extraction (SPE); high performance liquid chromatography (HPLC); prochloraz; 2,4,6-TCP; Ya pear

25%的咪鲜胺乳油(Prochloraz)(1-[N-丙基-N-2(2,4,6-三氯苯氧基)乙基-甲酰胺基]-咪唑)又称施保克、菌百克、使百克、扑霉灵,是英国Boots公司(现在的德国艾格福公司)于1974年合成,1977年推向市场的一种咪唑类广谱杀菌剂,它通过抑制甾醇的生物合成而发挥作用,使菌体细胞膜的功能受到破坏,最终导致细胞死亡^[1]. 主要用作水果、蔬菜采收后的保鲜剂、防腐剂. 咪鲜胺本身属低毒农药;主要代谢产物有BTS44595、BTS44596和BTS45186等^[2].

近年国内外对咪鲜胺的残留检测涉及水果、蔬菜、水稻、小麦等多种作物,主要停留在对样品单点时间的残留检测上^[3-7]. 关于咪鲜胺在作物上的动态研究国外鲜见报道,国内仅2007年龚道新等^[2]对田间水稻上的咪鲜胺残留动态有所研究. 然而,咪鲜胺的最终代谢物BTS45186——2,4,6-三氯苯酚(以下简称三氯苯酚)毒性高毒,其急性毒性约为咪鲜胺的4倍^[2]. 因此,了解咪鲜胺在作物上的降解动态显得尤为重要. 本文选择鸭梨作为试果,研究咪鲜胺及其代谢物在鸭梨果体上的残留动态.

收稿日期:2008-12-26

作者简介:李天秀(1984—),女,硕士;通信作者:王跃进(1961—),男,研究员,E-mail:wangyuejin@263.net.cn

基金项目:国家质检总局课题“河北鸭梨检疫除害处理技术的研究”(2005IK074)

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

北京市场上挑选刚从河北冷库中运回的鸭梨,要求大小适中、无机械伤、外观无病虫害、果表黄亮. 25%咪鲜胺乳油,购自江苏辉丰农化股份有限公司;甲醇,乙腈,均为色谱纯;正己烷,分析纯;咪鲜胺标准品($w = 95.6\%$),三氯苯酚标准品(2,4,6-trichlorophenol, $w = 99\%$),均为 Lancaster synthesis. 0.45 μm 水膜、油膜. SPE 小柱: C_{18} , 100 mg/mL.

1.2 试验仪器

Agilent 1200 液相色谱仪,带二极管阵列检测器 DAD; 12 管防交叉污染固相萃取装置(美国 Supelco); MS2 涡旋混和器(德国 IKA); PT-2100 高速组织匀浆器(瑞士 Kinematica); 50 μL 进样针; 万分之一天平; 食物搅拌机; 钟型真空抽滤装置.

1.3 残留试验

将 25% 的咪鲜胺乳油稀释成 75、150、300 和 600 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 浸泡处理鸭梨如表 1 所示. 由于刚出库的鸭梨较凉, 0 $^{\circ}\text{C}$ 浸泡鸭梨在 0 $^{\circ}\text{C}$ 条件下放置 12 h 后再处理; 40、50 $^{\circ}\text{C}$ 浸泡的鸭梨在 25 $^{\circ}\text{C}$ 室温下放置 12 h 后再处理. 各处理在浸泡相应时间后捞出、沥干, 在通风处自然风干, 检测其残留状况.

试验数据采用 DPS 统计软件进行方差分析.

表 1 咪鲜胺处理鸭梨残留检测试验设计

Tab. 1 Experimental design of residue detection on Ya pear after treating with prochloraz

处理 编号	t/min	$\theta/^{\circ}\text{C}$	$\rho(\text{咪鲜胺})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	处理 编号	t/min	$\theta/^{\circ}\text{C}$	$\rho(\text{咪鲜胺})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$
1	10	0	75	9	40	0	75
2	10	0	150	10	40	0	150
3	10	0	300	11	40	0	300
4	10	0	600	12	40	0	600
5	10	40	75	13	40	40	75
6	10	40	150	14	40	40	150
7	10	50	75	15	40	50	75
8	10	50	150	16	40	50	150

1.4 降解动态试验

鸭梨在常温下放置 12 h 后处理. 将 25% 的咪鲜胺乳油稀释至 150 和 200 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下, 分别浸泡鸭梨 15 和 10 min, 捞出在通风处晾干, 恒温箱保存(从室温每日降 1 $^{\circ}\text{C}$, 达 4 $^{\circ}\text{C}$ 时长期保存). 处理后第 0、1、3、7、15、30、45 和 60 d 检测咪鲜胺及其代谢物三氯苯酚的残留.

1.5 添加回收率

考虑到将要检测高浓度咪鲜胺和三氯苯酚, 而 100 mg C_{18} 小柱的吸附能力有限, 且处理后农药在梨果上的代谢情况的不确定因素, 把咪鲜胺、三氯苯酚混合溶液按 0.5、5、100 mg/kg 3 个质量比水平添加在梨皮、梨果样品基质上进行回收试验($n = 5$), 不同基质下每个质量比设 1 个空白, 采用外标法定量, 计算回收率及变异系数.

1.6 样品处理

1.6.1 样品前处理 梨皮: 取 5g 捣碎的梨皮样品(距果表小于 1 mm 处果皮)于订制试管中, 加入 5 mL 乙腈, 5 mL 正己烷, 用高速匀浆器在 9 500 r/min 下匀浆至梨皮全部成糊状, 震荡 10 min. 过 0.45 μm 油膜, 取适量乙腈冲洗试管及残渣过滤, 收集滤液于 15 mL 刻度离心管中. 过滤后滤液震荡 0.3 min, 静置至少 1 h, 除去正己烷层.

梨肉: 取 5 g 捣碎的梨肉样品(为去果皮后果肉, 由外至近果心处横向截取)于订制试管中, 加入 5 mL 乙腈, 匀浆、过滤、收集滤液同梨皮.

1.6.2 样品净化 滤液震荡均匀, 取 1/5 滤液离心后转至 50 mL 烧杯中, 以 $V(\text{滤液}): V(\text{二次蒸馏水}) = 10:90$ 稀释后摇匀, 过已活化 C_{18} 柱(甲醇、乙腈、蒸馏水先后 1 mL 过柱), 抽滤完后, 用 1 mL 蒸馏水过柱, 弃去流出液, 空抽几分钟除去柱中水分, 用甲醇洗脱, 洗脱液定容至 1 mL, 准备过液相.

1.7 色谱条件

色谱柱: ZORBAX Eclipse XDB- C_{18} : 4.6 mm \times 150 mm, 填充物粒径 5 μm (Agilent); 流动相: $V(\text{甲醇}): V(\text{水}) = 70:30$; 流速 1 mL/min; 柱温: 20 $^{\circ}\text{C}$; 满环进样, 20 μL ; 三氯苯酚、咪鲜胺检测波长均为 210 nm, 无参比波长, 保留时间分别为 5.3 和 13.5 min.

2 结果与分析

2.1 标准曲线

以甲醇为溶剂, 按 $m(\text{三氯苯酚}): m(\text{咪鲜胺}) = 1:1$ 比例制成 100 mg/L 的三氯苯酚和咪鲜胺混合液. 将混合液梯度稀释为 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 和 100.0 mg/L 系列质量浓度, 甲醇为溶剂. 50 μL 进样针满环进样(进样量 20 μL), 所得数据利用化学工作站以外标法(ESTD)定量做回归曲线方程, 三氯苯酚和咪鲜胺的回归曲线方程分别为 $y = 82.29x + 20.95$ 和 $y = 61.73x + 13.59$ (其中, x 为进样量, y 为峰面积), 线性范围均为 0.5 ~ 100.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 相关系数均为 0.998 5.

2.2 添加回收率

图 1 为梨皮、梨肉空白样品和加标样品按 1.6.2

处理后的色谱图,通过比较可见,样品处理十分干净,不需要进一步净化.

设保留时间前后 0.5 min 为噪音范围,测出样品

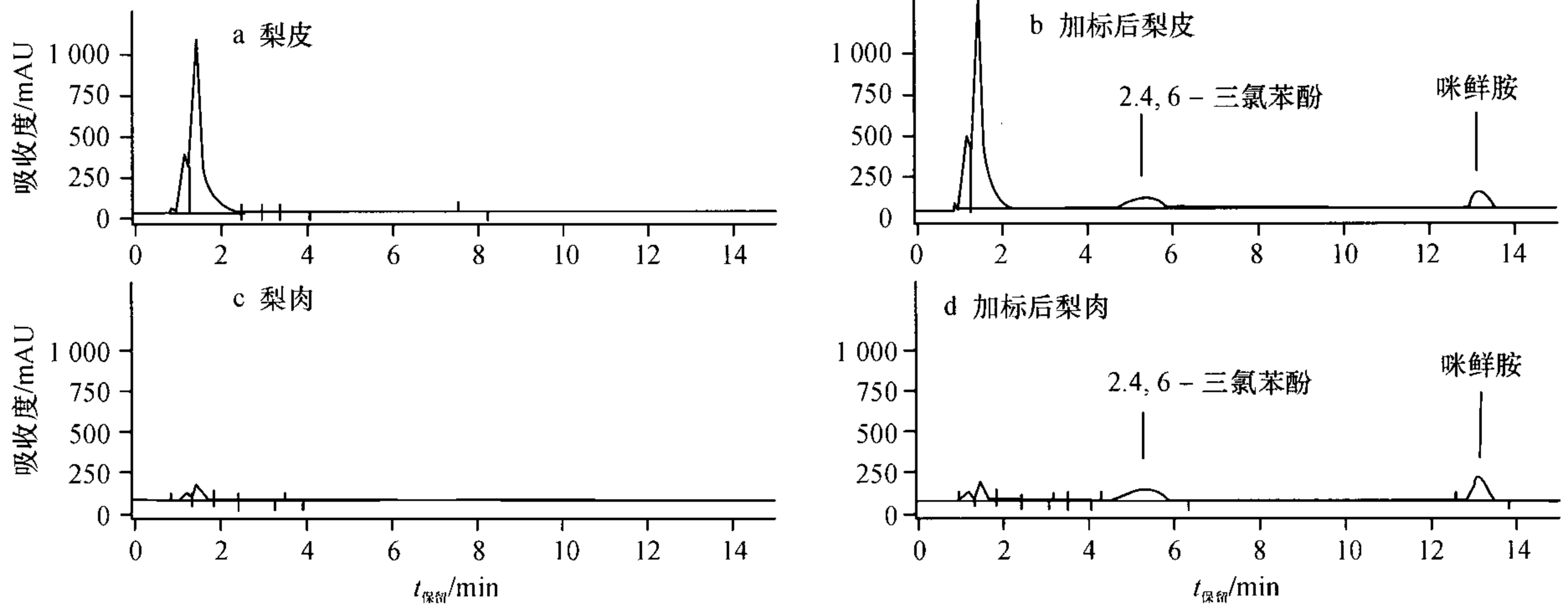


图1 梨果样品处理净化后色谱图

Fig.1 Liquid chromatography of pear sample

表2 咪鲜胺及其代谢物 2,4,6-三氯苯酚在梨果中的添加回收率、最低检出限和定量限

Tab.2 Mean recoveries, LOD and LOQ of prochloraz and its metabolite, 2,4,6-trichlorophenol, in pear

药剂	添加量/ (mg · kg ⁻¹)	回收率 ¹⁾ /%		最低检出限/ (mg · L ⁻¹)	最低定量限/ (mg · L ⁻¹)
		梨皮	梨肉		
三氯苯酚	0.5	91.7 ± 8.8	100.5 ± 4.9	0.18	0.59
	5.0	98.8 ± 3.0	99.5 ± 5.6		
	100.0	114.7 ± 10.9	102.7 ± 5.5		
咪鲜胺	0.5	97.9 ± 2.9	101.2 ± 7.4	0.12	0.41
	5.0	101.9 ± 1.9	100.4 ± 2.9		
	100.0	117.2 ± 10.2	102.8 ± 3.4		

1) $\bar{x} \pm SD, n = 5$.

2.3 咪鲜胺及代谢物三氯苯酚在鸭梨上的残留状况

试验表明,咪鲜胺在鸭梨表皮的残留量随药剂浓度、浸泡温度、浸泡时间的增加而提高(表3). DPS 方差分析结果显示,浸泡时间和浸泡温度对梨皮咪鲜胺残留量影响差异极显著,显著水平分别为 0.004 7和0.005 3. 从 10 ~ 40 min, 3 种温度浸泡后咪鲜胺的残留量均提高了 100% 以上,最高达到 300% (50 °C, 75 mg/L 浸泡处理). 咪鲜胺代谢物三氯苯酚在梨皮上的残留量受浸泡时间、浸泡温度、药剂浓度影响的显著水平分别为 0.1343、0.7993、0.3282,影响不显著.

如表3所示,咪鲜胺及其代谢物三氯苯酚在鸭梨梨肉中的残留量随着药剂浓度、浸泡温度、浸泡时间的增加微有上升,在 5% 水平上无显著差异. 40 和 50 °C 处理后的鸭梨果肉中三氯苯酚的残留量较高,

添加浓度的最低检出限 ($S/N = 3$) 和最低定量限 ($S/N = 10$), 三氯苯酚、咪鲜胺在不同添加级别下回收率及最低检出限结果见表2.

可能是高温使梨皮的气孔打开,药剂更容易渗透到果肉所致.

表3 综合处理后咪鲜胺及 2,4,6-三氯苯酚在梨果上的残留量

Tab.3 Residue of prochloraz and 2,4,6-trichlorophenol on pear after treatment

ρ (咪鲜胺)/ (mg · L ⁻¹)	θ / °C	t / min	残留量 ¹⁾ /(mg · kg ⁻¹)			
			咪鲜胺		2,4,6-三氯苯酚	
			梨皮	梨肉	梨皮	梨肉
75	0	10	5.65	-	0.77	-
		40	17.80	-	-	-
		40	106.20	0.38	1.30	-
	50	10	50.55	0.28	0.50	0.50
		40	201.10	0.36	1.23	0.50
		40	132.05	0.45	1.60	1.40
150	0	10	9.66	-	-	-
		40	25.55	-	0.51	-
		40	60.20	0.39	1.30	-
300	0	10	16.99	0.35	0.50	0.60
		40	29.30	0.25	0.50	-
		40	205.61	0.60	1.35	1.60
600	0	10	17.16	0.13	0.70	-
		40	36.00	-	1.36	0.50

1) “-”表示检出量低于检出限或未检出.

2.4 咪鲜胺及代谢物三氯苯酚在鸭梨上的降解动态

残留检测结果显示,咪鲜胺及其代谢物三氯苯

酚主要存在于梨皮,浸入果肉部分极少.低温储存鸭梨的药剂代谢速度十分缓慢,2个月后咪鲜胺 150 和 200 mg/kg 处理量分别最高代谢 20.7% 和 40.4%,又放置室温下 7 d 后检测,代谢最高达 30.9% 和 28.8%.具体结果见表 4.

表 4 咪鲜胺在梨果上的降解代谢残留状况

Tab. 4 Degradation dynamic of prochloraz residue on pear

ρ (咪鲜胺)/ (mg·L ⁻¹)	$t_{\text{浸泡后}}^{1)}/$ d	残留量 ²⁾ /(mg·kg ⁻¹)			
		咪鲜胺		2,4,6-三氯苯酚	
		梨皮	梨肉	梨皮	梨肉
150	0	80.325	0.685	-	-
	1	76.275	0.570	-	0.045
	3	75.555	0.760	-	-
	7	71.265	1.240	-	0.085
	15	70.865	2.090	-	-
	30	69.595	2.305	-	-
	45	66.510	2.020	-	0.350
	60	63.785	1.885	-	-
200	0	73.800	0.385	0.225	-
	1	72.805	0.705	-	0.230
	3	67.970	1.000	-	-
	7	67.530	1.705	-	0.150
	15	62.355	1.933	-	-
	30	56.675	1.765	-	-
	45	55.825	1.550	-	0.050
	60	49.775	1.985	-	-
	67	45.065	2.400	5.770	-

1)67 d 指浸泡后恒温箱 4 ℃ 保存 60 d,再室温下放置 7 d;

2)“-”表示检出量低于检出限或未检出.

3 结论

咪鲜胺浸泡鸭梨后,主要残留于果表.经咪鲜胺低温(0 ℃)浸泡后的鸭梨咪鲜胺残留量较低,咪鲜胺 600 mg/L 浸泡 40 min 后,咪鲜胺及其代谢物三氯苯酚在果表也仅分别残留 36.00 和 1.36 mg/kg,果肉中的残留量也极少.相比较而言,经咪鲜胺高温浸泡后果皮的咪鲜胺残留量就高了很多,最短时间(10 min)、最低质量浓度(150 mg/L)处理的咪鲜胺也会残留超过 50 mg/kg.从不同处理的残留量可以看出,处理温度是影响鸭梨果体上咪鲜胺残留的主要因素,显著水平达到 0.0047,在高温下,咪鲜胺更易溶解于浸泡的鸭梨果体上.以 75~150 mg/L 咪鲜胺在 40 ℃ 下浸泡鸭梨试验中,残留量随着浓度的增加明

显上升,而且已超过残留限量数百倍,更高浓度的处理将会伤害鸭梨品质.建议咪鲜胺温水浸泡鸭梨在 150 mg/L 左右即可.50 ℃ 150 mg/L 咪鲜胺浸泡 10~40 min,三氯苯酚残留量不增反减,可能是鸭梨的个体差异和环境因素的不确定性所致,需进一步试验证明.

另外,经 150 mg/L 15 min 和 200 mg/L 10 min 咪鲜胺热水(40 ℃)浸泡后的鸭梨表皮咪鲜胺残留量在储存过程中逐步降解,其中有少量的咪鲜胺逐步浸入果肉,并部分降解为三氯苯酚.常温储存较低温储存降解速度显著加快,2个月的储藏期和 7 d 的货架期后的最低咪鲜胺残留量为 45.065 mg/kg,尚未能代谢至欧盟对水果规定的最高残留限量值(MRL)^[8-9].

参考文献:

- [1] 朱永和,王振荣,李布青.农药大典[M].北京:中国三峡出版社,2006:264.
- [2] 龚道新,樊德方,杨仁斌,等.咪鲜胺及其主要代谢物的紫外光谱吸收特征和对蝌蚪急性毒性的研究[J].农业环境科学学报,2003,22(6):749-753.
- [3] PAOLI M, BARBINA M, DAMIANO V, et al. Simplified determination of combined residues of prochloraz and its metabolites in vegetable, fruit and wheat samples by gas chromatography[J]. Journal of Chromatography, 1997, 765:127-131.
- [4] 汪传刚,龚道新,邹雅竹,等. HPLC 法检测咪鲜胺及其主要代谢物在稻田水土中的残留[J].农业环境科学学报,2006,25(4):1024-1028.
- [5] 郭筠,莫汉宏,安凤春,等.咪鲜胺及其代谢物在黄瓜和土壤中残留的分析方法[J].环境化学,2004,23(6):704-706.
- [6] 韩丽君,钱传范,江才鑫,等.咪鲜胺及其代谢物在水稻中的残留检测方法及其动态[J].农药学学报,2005,7(1):54-58.
- [7] 李兴红,张桃芝.柑橘上施保克及其降解产物的 GC 快速检测[J].华中师范大学学报,2001,12(35):438-440.
- [8] 黄冠胜. WTO/TBT-SPS 中国国家咨询点报告(第 11 号):食品中农药兽药最大残留限量手册[S].北京:国家质量监督检验检疫总局标准法规中心,2002.
- [9] 黄冠胜. WTO/TBT-SPS 中国国家咨询点报告(第 12 号):欧盟、比利时、法国、德国、荷兰、英国、瑞士、澳大利亚、新西兰、美国、日本、马来西亚、新加坡、韩国、台湾农药残留限量汇编[G].北京:国家质量监督检验检疫总局标准法规中心,2002.

【责任编辑 李晓卉】