

吡虫啉在化橘红果中的残留动态研究*

乔海莉¹, 李少南², 陈君^{1**}, 陈荣敏³, 覃蓉敏³,
徐常青¹, 于晶¹, 徐荣¹, 李向明³, 程惠珍¹

(1. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193; 2. 浙江大学农药与环境毒理研究所, 杭州 310029;
3. 化州市绿色生命有限公司, 化州 525100)

摘要 目的: 研究低毒内吸性杀虫剂吡虫啉在化橘红果实中的残留动态。方法: 在化橘红采果前期, 树干基部注射吡虫啉可溶性溶液, 施药后定期采集化橘红果实, 采用高效液相色谱法测定果实中吡虫啉的残留量。结果: 以每厘米树干胸径注入 0.8 mL 吡虫啉药剂后, 化橘红果实中的农药残留量始终保持在很低的水平; 以每厘米树干胸径注入 1.5 mL 吡虫啉药剂后, 前 7 d 果实中的农药残留量一直在很低的水平, 7 d 后迅速上升, 14 d 时达到高峰, 之后逐渐下降, 30 d 降至 0.835 mg · kg⁻¹, 低于国内和国际上吡虫啉在柑橘类成果中最大残留限量(MRLs ≤ 1 mg · kg⁻¹)。以施用 1.5 mL · cm⁻¹ 吡虫啉药剂对化橘红蛀茎害虫的防治效果最佳。结论: 在化橘红果实采收期前 30 d, 以每厘米树干胸径注入 1.5 mL 吡虫啉药液, 能有效地防治化橘红蛀茎害虫, 且果实中的农药残留量始终在安全范围内。

关键词: 药材; 芸香料; 吡虫啉; 化橘红; 高效液相色谱法; 残留动态

中图分类号: R917 **文献标识码:** A **文章编号:** 0254 - 1793(2011)06 - 1050 - 04

Residue trend of imidacloprid in fruits of *Citrus grandis**

QIAO Hai - li¹, LI Shao - nan², CHEN Jun^{1**}, CHEN Rong - min³, QIN Rong - min³,
XU Chang - qing¹, YU Jing¹, XU Rong¹, LI Xiang - ming³, CHENG Hui - zhen¹

(1. The Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China;
2. Institute of Pesticide and Environmental Toxicology, Zhejiang University, Hangzhou Zhejiang, 310029, China;
3. Huazhou Green Co. Ltd, Huazhou Guangdong 525100, China)

Abstract Objective: To study on residue trend of imidacloprid in fruits of *Citrus grandis*. **Methods:** It was examined by high performance liquid chromatography (HPLC) after trunk injection. **Results:** The residue of imidacloprid remained a low period in fruits of *C. grandis* after injection with 0.8 mL · cm⁻¹ diluted of imidacloprid. When the trunk was injected with 1.5 mL · cm⁻¹ diluted of imidacloprid, the residue level of imidacloprid in fruits increased on the 7th day immediately. And the peak level was detected on the 14th day after the treatment. The level of imidacloprid in fruits was 0.835 mg · kg⁻¹ in the 30th day, which was lower than MRLs (1 mg · kg⁻¹). **Conclusions:** When imidacloprid through trunk injection was applied to control bore pests of *C. grandis*, which was diluted with 1.5 mL · cm⁻¹, the safe interval period was more than 30 d.

Key words: medicinal materials; Rutaceae; imidacloprid; *Citrus grandis*; HPLC; residue trend

化橘红为芸香科植物化州柚 *Citrus grandis* ‘Tomentosa’ 和柚 *Citrus grandis* (L.) Osbeck. 的未成熟或近成熟的干燥外层果皮, 是我国广东特有的道地药材, 为“十大广药”之一, 具有散寒、利气、消痰的功效^[1]。近年来, 随着化橘红种植规模的扩大及

种植年限的增加, 钻蛀性害虫的发生及危害日渐严重。目前危害化橘红的钻蛀性害虫有星天牛 *Anoplophora chinensis*、褐天牛 *Nadezhdiella cantori*、光盾绿天牛 *Chelidonium argentatum*、溜皮虫 *Agrilus* sp.、爆皮虫 *Agrilus auriventris* 和曲牙土天牛 *Dorystenes*

* 国家科技部“十一五”科技支撑项目(2006BAI09B04)

** 通讯作者 Tel: (010) 62899731; E-mail: junzichen@263.net

hydropicus^[2~4]。这些害虫均以其幼虫蛀食化橘红的主干、枝条和根部,使其根茎完全被蛀空,从而导致化橘红整株枯死。由于钻蛀性害虫的为害场所隐蔽,造成防治难度极大。

树干打孔注药是1种较为理想的、环境相容性好的农药使用技术,对危害树木的多种钻蛀、食叶、枝梢害虫等具有良好的防治作用,目前该技术已在林木害虫防治中取得了理想的效果^[5]。吡虫啉是1种硝基亚甲基类内吸杀虫剂,具有广谱杀虫活性,且毒性低、持效期长,对鞘翅目、双翅目和鳞翅目害虫有很好的防治效果^[6],已成为树干注药防治林木害虫的首选药剂^[5]。本文采用树干打孔注入吡虫啉药剂的方法,防治化橘红钻蛀性害虫^[7~11]。用高效液相色谱法对吡虫啉在化橘红果中的残留动态进行了研究,为防治化橘红钻蛀性害虫的农药安全使用提供科学依据。

1 田间试验材料与方法

参照《中华人民共和国农业行业标准(农药残留试验准则)》设计本试验^[12]。

1.1 试验地点 广东化州绿色生命有限公司的化橘红种植基地。

1.2 试验材料 2000年种植的采用高空压条法繁殖的定植苗,现已结果,品种为正毛品系。

1.3 试验药剂 60%吡虫啉可溶性液剂,又名康福多(青岛艾路可生物科技有限公司)。

1.4 防治对象 化橘红蛀茎害虫。

1.5 施药方法 于2009年5月11日化橘红采果前期,在化橘红种植基地选择生长相对一致的化橘红结果树,按树干胸径每厘米的注药量为0.8,1.5 mL 2个浓度和清水空白对照,在树干基部注射60%吡虫啉可溶性药液(唐光辉,2008)。每个浓度的药剂设3次重复,对照重复2次,共施药8株树。

1.6 采样 采用一次施药多次采样的方法,分别于施药当天(施药后2 h)及施药后1,3,7,14,21,30 d后取化橘红鲜果,每个浓度的施药树按东、西、南、北、中不同方位分别随机采摘鲜果6个, -20℃冷冻保存待测。

2 仪器与试剂

DIONEX U-3000 高效液相色谱仪; Kultima-rax 高速匀质机为德国 IKA 公司产品; N-EVAPTM 111 氮吹仪为美国 Organomation Associates Inc. 产品。

吡虫啉(imidacloprid)标准品:纯度99.8%(农业部农药检定所提供)。

液相色谱用的流动相乙腈(色谱纯)为 Sigma-Aldrich 公司产品; 甲醇、石油醚、二氯甲烷、氯化钠(140℃下烘烤4 h)、无水硫酸钠(300℃下烘2 h)均为国产分析纯。

3 方法与结果

3.1 样品处理

提取:取冷冻的化橘红鲜果样品,用刀具切碎,放入组织捣碎机匀浆。精确称量20 g 样品加入乙腈50 mL,匀浆2 min,抽滤,滤液移至具塞量筒中,加入氯化钠10 g,剧烈震荡1 min,静置15 min,取上清液(乙腈相)20 mL至150 mL 平底烧瓶中,45℃水浴浓缩近干。

净化:①用甲醇5 mL、石油醚5 mL 润洗 C₁₈ 小柱;②用二氯甲烷2 mL、石油醚3 mL 洗涤平底烧瓶,将洗涤液转移至小柱上,再用石油醚10 mL 分3次洗涤平底烧瓶,再将洗涤液转移至小柱,弃去淋出液;③乙酸乙酯10 mL 洗脱,收集淋洗液,40℃水浴氮气吹干,用色谱级乙腈定容2 mL,过0.45 μm 滤膜,待测。

3.2 液相色谱条件

液相色谱柱:伊利特 C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 柱温:30℃; 流动相:0.2% 磷酸(A) - 甲醇(B) 梯度洗脱:0~10 min,流动相 A 由80%→40%, 流动相 B 由20%→60%; 10~15 min,流动相 A 由40%→10%, 流动相 B 由60%→90%; 15~20 min, 流动相 A 由10%→10%, 流动相 B 由90%→90%; 20~20.01 min 流动相 A 由10%→80%; 流动相 B 由90%→20%; 20.01~28 min,流动相 A 由80%→80%; 流动相 B 由20%→20%。

流速 0.8 mL·min⁻¹; 检测波长:268 nm; 进样量 20 μL; 定量方法:外标法(峰面积)。相对保留时间:约12.2 min。在最佳实验条件下,本试验方法线性范围最小检出量为 2×10⁻⁹ g; 最小检出浓度为 0.01 mg·kg⁻¹,完全符合吡虫啉残留分析要求。在此条件下的液相色谱图见图1。

3.3 标准曲线的绘制 取吡虫啉标准储备液,用色谱甲醇稀释配制成2.0,1.5,1.0,0.5,0.1 mg·L⁻¹ 的系列标准溶液,进样20 μL 测定,建立吡虫啉浓度与峰面积的回归方程。以标准溶液浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,以线性模型为模板建立回归方程,得标准曲线方程为:

$$Y = 62178X + 184.87 \quad r = 0.9989$$

吡虫啉浓度在0.1~2 mg·L⁻¹ 范围内与峰面积有良好的线性关系。

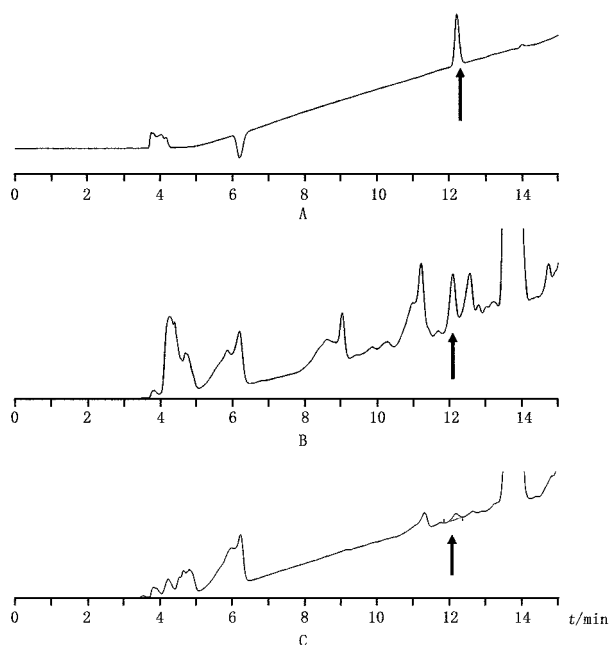


图1 对照品(A)、施药样品(B)、未施药样品(C)色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of imidacloprid reference substance (A), sample (B) and blank sample (C)

3.4 添加回收率试验 称取空白样品 20.0 g 于平底烧瓶中,分别加入 0.100,1.00,10.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的吡虫啉标准溶液,制成吡虫啉含量分别为 0.050,0.50,2.50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的样品,按上述方法进行样品前处理和农药残留分析,结果见表1。化橘红中化橘红的添加回收率在 81.5% ~ 106.5% 之间,RSD 介于 13.31% ~ 3.45% 之间,符合农药残留分析要求。

表1 吡虫啉在化橘红果实中的添加回收率
Tab 1 Fortified recoveries of imidacloprid in fruits of *Citrus grandis*

添加量 (added amount) $/\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	回收率(recovery) /%			平均回收率 (average recovery) /%	RSD /%
	I	II	III		
0.050	81.5	106.5	93.7	93.9	13.31
0.500	84.6	95.4	99.5	93.2	8.26
2.5000	94.7	90.3	88.6	91.2	3.45

3.5 残留动态分析

对采回样品按照上述方法进行处理分析,结果见表2。

树干注药后,吡虫啉可通过树干内的输导组织传导到树冠部位^[5]。测定结果显示,因施药浓度的不同,吡虫啉在化橘红果实中的残留量存在一定的差异。以每厘米树干胸径注入 1.5 mL 药液后,前 7 d 化橘红果实中的农药残留量一直在很低的水平,

表2 吡虫啉在化橘红果实中的残留动态
Tab 2 Residue trend of imidacloprid in fruits of *C. grandis*

采样日期 (date of sampling) /month/date	采样间隔期 (sampling interval) /d	残留量(residue amount) $\pm$ 标准偏差(STDEV) $/\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	
		0.8 mL $\cdot \text{cm}^{-1}$	1.5 mL $\cdot \text{cm}^{-1}$
5.11	0	0.100 $\pm$ 0.0339	0.312 $\pm$ 0.2213
5.12	1	0.191 $\pm$ 0.0023	0.200 $\pm$ 0.0090
5.14	3	0.191 $\pm$ 0.0018	0.230 $\pm$ 0.0175
5.18	7	0.193 $\pm$ 0.0076	0.251 $\pm$ 0.0060
5.25	14	0.110 $\pm$ 0.0092	2.681 $\pm$ 0.0537
6.2	21	0.174 $\pm$ 0.0099	2.106 $\pm$ 0.6780
6.10	30	0.275 $\pm$ 0.0042	0.836 $\pm$ 0.0125

为 0.200 ~ 0.251 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,第 7 d 后迅速上升,在 14 d 时达到高峰,为 2.681 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,之后迅速下降,30 d 时降至 0.835 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,降解动态曲线不符合一级动力学方程。而以每厘米树干胸径施用 0.8 mL 的药液后,在检测期内,吡虫啉在化橘红果实中的含量始终维持在较低的水平,且明显低于施用量为 1.5 mL $\cdot \text{cm}^{-1}$ 的处理结果。

4 结论与讨论

4.1 目前对吡虫啉喷施后在中药材中的残留动态研究较多^[3,14],而对木本药材树干基部施药后农药在植株内的残留研究少见报道。唐光辉等^[5]研究发现采用打孔注药法在树干基部施用吡虫啉,10 d 后吡虫啉在树叶中的残留量达到高峰,25 d 后吡虫啉在树皮中的残留量达到高峰,之后其含量均逐渐降低。许志春等^[6]研究发现在树干基部注入吡虫啉,施药后 5 d 左右吡虫啉在树干木质部中的残留量最高,10 d 左右杨树主干及侧枝韧皮部中吡虫啉的持留量达最大值,而杨树下部叶片中吡虫啉的持留量在施药后第 20 d 达到最大。本研究结果也显示了树干注药后,药剂在树体内的残留动态规律。即施药后化橘红果实中的农药残留在施药后一段时间后会达到最大值,之后便逐渐降解。由此可见,通过树干基部注药方式施药后,药剂在树体内有 1 个吸收和传导的过程,而并非迅速达到果实。

4.2 利用树干注射施药技术防治林木害虫时,一般在当年害虫发生期注药 1 次便可取得良好的防治效果^[5]。本试验已测得使用不同剂量吡虫啉药剂,均可控制化橘红蛀茎害虫——星天牛的危害,但以每厘米树干胸径注入 1.5 mL 药剂,1 d 后对星天牛的防治效果可达 100%,而施药浓度为 0.8 mL $\cdot \text{cm}^{-1}$ 的处理,施药后很久才可对星天牛起到较好的防治结果。

在评价药剂对害虫防治效果的同时,必须考虑药剂在化橘红果实中的残留问题。本研究中采用每厘米树干胸径注入 0.8 mL 的吡虫啉药液,发现吡虫啉在化橘红果实中的残留量始终保持在很低的水平(0.100~0.275 mg·kg⁻¹)。采用每厘米树干胸径注入 1.5 mL 的吡虫啉药液后,吡虫啉在化橘红果实中的残留高峰为 14 d,之后逐步降低。注药 30 d 后,化橘红果实中的残留量为 0.836 mg·kg⁻¹。参照我国 2008 年实施的《农产品中农药最大残留限量》(NY1500.1.1~1500.30.4-2007) 和国际食品法典委员会制定的吡虫啉在柑橘类成果中的最大残留限量 MRLs 为 1 mg·kg⁻¹ [5,16],综合对害虫的防治效果,得出在化橘红树干基部,采用每厘米树干胸径打孔注入 1.5 mL 的吡虫啉药液条件下,采收距离施药间隔 30 d 以上,收获化橘红果实是安全的。

4.3 化橘红是以干燥的外果皮或果实入药,鲜果采摘后需进行高温加工,在加工过程中吡虫啉的降解状况如何?有待进一步的研究测定。

参考文献

- 1 ChP(中国药典). 2005. Vol I (一部):51
- 2 CHEN Rong-min(陈荣敏), CHEN Jun(陈君), YU Jing(于晶), et al. Investigation of species of the pests and natural enemies in *Citrus grandis*(化橘红害虫及天敌种类调查). *J Chin Med Mater*(中药材), 2008, 31(11):1615
- 3 QIN Rong-min(覃蓉敏), CHEN Jun(陈君), YU Jing(于晶), et al. Primary studies on biological characteristics of *Dorystenes hydropicus*(化橘红害虫曲牙土天牛生物学特性初步研究). *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2008, 33(24):2887
- 4 ZHOU Du-hua(周杜花), CHEN Jun(陈君), CHEN Rong-min(陈荣敏), et al. Effect of different treatment on the spawned egg of *Anoplophora chinensis* damaged *Citrus grandis*(不同处理对化州柚害虫星天牛产卵的影响). *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2009, 34(3):10
- 5 TANG Guang-hui(唐光辉), SUN Ping-ping(孙平平), ZHAI Mei-zhi(翟梅枝), et al. Distribution of imidacloprid in walnut tissues after trunk injection(树干注药后吡虫啉在核桃组织中的分布动态研究). *Chin J Pest Sci*(农药学学报), 2008, 10(2):232
- 6 XU Zhi-chun(许志春), TIAN Hai-yan(田海燕), CHEN Xue-ying(陈学英), et al. Dynamics of imidacloprid residue levels in poplar(吡虫啉在杨树中持留量的动态变化研究). *J Beijing Forest Univ*(北京林业大学学报), 2004, 26(1):62
- 7 TANG Guang-hui(唐光辉), HE Jun(何军), JIANG Zhi-li(江志利), et al. The control effect of *Anoplophora glabripennis* with the liquid formulation of 14% imidacloprid + DDVP for trunk injection (14% 吡虫啉·敌敌畏注干液剂防治柳树天牛技术研究). *J Northwest A & F Univ*(Nat Sci Ed)(西北农林科技大学学报(自然科学版)), 2007, 35(1):116
- 8 LI Zhang-hai(李章海), WANG Fang-xiao(王方晓). Control effect of 1% imidacloprid lot against *Myzus persicae*(Sulzer)(1% 吡虫啉灭虫签防治烟蚜的药效试验). *Tobacco Sci Technol*(烟草科技), 2006, (3):59
- 9 SUN Pin-lei(孙品雷), CHEN Wei-min(陈为民), HUANG Zhao-gang(黄照岗), et al. Injection of imidacloprid into bamboo cavity against *Tetramesa bambusae*(吡虫啉竹腔注射防治竹泰广肩小蜂试验). *Forest Pest Dis*(中国森林病虫), 2005, 24(1):20
- 10 BAO Yu-yuan(鲍玉院), FAN Yue-qiu(范月秋), MU Xiao-hua(慕晓华). Control method of leaf-eating insects in Poplar by trunk-injection with imidacloprid into the tree(树干注射吡虫啉防治杨树食叶害虫试验). *Practic Forest Technol*(林业实用技术), 2005(7):26
- 11 ZHANG Xin-cai(张新才), LI Gui-ting(李桂亭), HONG Jia-bao(洪家保). The effects of the larvae of *Anoplophora glabripennis*(Motschulsky) with stem injection of imidacloprid(注干法施用吡虫啉对光肩星天牛幼虫的防治效果). *J Nanjing Forest Univ*(南京林业大学学报), 2005, 29(4):41
- 12 Ministry of Agriculture of People's Republic of China(中华人民共和国农业部). Industry criteria of agriculture of PRC: Guideline on pesticide residue trials(中华人民共和国农业行业标准:农药残留试验准则). *Agric Quality Stand*(农业质量标准), 2004, 4:29
- 13 CHEN Mei-yan(陈美艳), YU Jing(于晶), CHEN Jun(陈君), et al. Study on residue trends of imidacloprid in *Lycium barbarum* L.(吡虫啉在枸杞中的残留动态研究). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2008, 28(2):227
- 14 CHEN Mei-yan(陈美艳), YU Jing(于晶), LI Kun-tong(李昆同), et al. Study on residue trend of imidacloprid in *Flos Lonicerae Japonicae*(吡虫啉在金银花中的残留动态研究). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2008, 28(3):421
- 15 Ministry of Agriculture of People's Republic of China(中华人民共和国农业部). Industry criteria of agriculture of PRC: Maximum residue limits for pesticides in farm produce(中华人民共和国农业行业标准:农产品中农药最大残留限量). *Agric Quality Stand*(农业质量标准), 2008, 4:39
- 16 Codex Alimentarius Commission. Pesticide Residues in Food: Maximum Residue Limits; Extraneous Maximum Residue Limits [EB/OL]. FAO/WHO Food standards Codex alimentarius, 2009-02-03

(本文于 2010 年 9 月 27 日收到)