毒性与残留

氯吡脲在葡萄中的残留分析方法及消解动态

孙大利[1],郑尊涛[2],叶火春[1],刘承兰[1]
(1.华南农业大学 天然农药与化学生物学教育部重点实验室,广州 510642; 2.农业部 农药检定所,北京 100125)

摘要:[方法]葡萄样品中的氯吡脲使用含1%乙酸的乙腈提取,*N*–丙基乙二胺(PSA)吸附剂净化,高效液相色谱–紫外检测器(HPLC–UV)检测;使用所建方法测定了氯吡脲在北京、杭州两地葡萄上的消解动态。**[结果]**氯吡脲的最低检出限为0.003 mg/kg,在葡萄中的添加回收率为95%~104%,变异系数为1.0%~1.8%;在北京和杭州两地,氯吡脲在葡萄上的半衰期分别为11.6、23.1 d。**[结论]**氯吡脲在葡萄中半衰期比在其他基质中更长。

关键词:氯吡脲;葡萄;残留分析;消解动态
中图分类号:TQ450.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1006-0413(2011)10-0751-03

Residue Determination and Degradation Dynamics of Forchlorfenuron in Grape

SUN Da-li[1], ZHENG Zun-tao[2], YE Huo-chun[1], LIU Cheng-lan[1]
(1.Key Laboratory of Natural Pesticide and Chemical Biology, Ministry of Education, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2.Institute for Pesticide Control, Ministry of Agriculture, Beijing 100125, China)

Abstract: [Methods] Forchlorfenuron in grape samples was extracted with acetronitrile containing acetic acid 1%, cleaned up by PSA adsorbent and detected by HPLC with UV detector. Residue dynamics in grape were studied by this method in Beijing and Hangzhou. **[Results]** The results showed that the limit of detection of forcholorfenuron was 0.003 mg/kg and the recoveries ranged from 95 to 104% with coefficient of variation 1.0-1.8%. The half-lives of forcholorfenuron were 11.6 and 23.1 d in Beijing and Hangzhou, respectively. **[Conclusions]** Half-lives of forcholorfenuron in grape were relatively longer than that in other matrix.

Key words: forchlorfenuron; grape; residue analysis; degradation dynamics

氯吡脲(forchlorfenuron)化学名称为1–(2–氯–4–吡啶)–3–苯基脲,属苯脲类细胞分裂素。近年来,植物生长调节剂作为外源激素被越来越广泛的用于农业生产,并为农业生产带来了巨大的经济效益。氯吡脲作为一种新型高效植物生长调节剂,其生长促进作用效果优异,被广泛应用于果树、蔬菜、粮食作物等,我国已在猕猴桃、甜瓜等作物上获得登记,目前其使用范围还有进一步扩大的趋势。但人体摄入量过多必然危害健康,美国环保署在《农药毒性确认和管理》第5版13章指出:长期接触氯吡脲会引起体内蛋白质代谢的紊乱、轻度的肺气肿和体形消瘦等[1-3]。

目前,有关氯吡脲在水果及蔬菜如猕猴桃、黄瓜、西瓜等的残留检测及其消解动态已有研究报道[4-6];侯玉茹等[7]建立了葡萄中氯吡脲残留的固相萃取–高效液相色谱检测方法。但有关氯吡脲在葡萄上的消解动态还未见报道,本文基于QuEChERS方法[8],用酸性乙腈作为提取剂、*N*–丙基乙二胺(PSA)作为吸附剂净化,建立了葡萄中氯吡脲残留的高效液相色谱紫外检测(HPLC–UV)方法,并于2010年在北京、杭州两地同时进行了氯吡脲在葡萄上的残留动态试验,为制定氯吡脲在葡萄上安全使用标准提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Agilent 1200型高效液相色谱仪(美国Agilent公司,配紫外检测器),QL–901型涡旋混合器(江苏海门市其林贝尔仪器制造有限公司),KQ–600型超声波清洗器(昆山市超声仪器公司),OSB–2000型旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司),TDL–40B型离心机(江苏瑞江离心机厂),PICO–17型离心机(美国Thermo Fisher科技公司)。氯吡脲标准品(纯度99%,德国Augsburg公司),*N*–丙基乙二胺(PSA)、C_{18}、石墨化炭黑(GCB)(美国Agilent公司),乙腈为色谱纯,其他试剂为分析纯。

1.2 田间试验方法

分别在北京、杭州两地进行田间消解试验,按照1次施药多次取样的方法进行。在葡萄籽粒生长至半果大时,将0.1%氯吡脲可溶液剂60 mg/kg(制剂用量)对水稀释,浸泡果穗1次。每次处理设3次重复,小区面积30 m^2,设空白对照区。于施药后2 h,1、3、5、7、10、14、21、30、45 d,采集葡萄样本。取样方法:用随机方法在试验小区内上、下、左、右

收稿日期:2011–07–08,**修返日期:**2011–08–19
作者简介:孙大利(1985—),女,四川内江人,硕士研究生,研究方向为农药残留分析。E-mail:taiwaniana@163.com。
通讯作者:刘承兰,副教授,研究方向为农产品安全。Tel:020-85284925,E-mail:liuchenglan@scau.edu.cn。

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

不同部位采集6~8串(不少于1 kg)生长正常的果实。四分法处理样品,用匀浆机捣碎成浆液,混合均匀后,分取150 g样品装入封口袋中,放于–20 ℃低温冰柜中待测。

1.3 分析方法

1.3.1 标准溶液

称取一定量氯吡脲标准品于25 mL容量瓶中,乙腈溶解,配制质量浓度1 000 mg/L母液。并稀释成相应的标准工作液,于4 ℃条件下保存。

1.3.2 样品前处理

准确称取10 g葡萄样品置于50 mL塑料离心管中,加入2.5 mL蒸馏水,再准确加入10 mL含1%乙酸的乙腈(100 mL乙腈中加入1 mL乙酸),超声提取20 min。加入氯化钠6 g,涡旋1 min,3 000 r/min离心5 min,取上清液1 mL加入含有100 mg PSA的1.5 mL离心管中,涡旋1 min,10 000 r/min离心3 min,取上清液过0.22 μm有机滤膜,待HPLC检测。

1.3.3 HPLC检测条件

色谱柱:Agilent HC–C_{18}柱(5 μm × 4.6 mm × 250 mm);流动相:0.002 mol/L磷酸水溶液–乙腈,梯度洗脱(见表1);进样体积20 μL;检测波长265 nm;外标法定量;氯吡脲的相对保留时间6.28 min。

表1 高效液相色谱梯度洗脱条件

时间/min	0.002 mol/L磷酸水溶液–乙腈体积比	流速/(mL·min^{-1})
0	60 : 40	0.8
7	60 : 40	0.8
8	95 : 5	1.0
20	60 : 40	0.8

2 结果与分析

2.1 样品前处理条件的建立

采用改进的QuEChERS方法提取葡萄中的氯吡脲。QuEChERS方法在提取过程中使用无水硫酸镁除去乙腈中的少量水分,但无水硫酸镁的加入会释放热量而导致部分不稳定的农药降解。因此不采用加入无水硫酸镁,仅使用氯化钠促进水和乙腈分层,同样取得了较好的提取效果。

同时,研究了不同用量的PSA、C_{18}和GCB作为吸附剂的净化效果及对目标农药氯吡脲(质量分数为0.05 mg/kg)的吸附能力。从表2可以看出:GCB对于氯吡脲的吸附最强,PSA次之;而C_{18}对氯吡脲的吸附能力较弱,回收率较高,但是在葡萄样品中不能很好的去除杂质的干扰。用PSA能够较好的去除样品中杂质的干扰,但对氯吡脲也有一定的吸附作用,且随着吸附剂用量的增加回收率降低。然而发现在样品测定中,用含有1%的酸性乙腈提取,可明显降低PSA对氯吡脲的吸附能力,且能很好的净化样品中的色素、脂类等杂质(见图1)。因此,最终确定使用含有1%的酸性乙腈提取,PSA作为吸附剂,用量为100 mg。

表2 不同吸附剂吸附对标样吸附比较

吸附剂/mg	回收率/%		
	PSA	C_{18}	GCB
10	80	106	18
20	63	109	10
50	54	108	6
100	47	93	1
150	35	93	2

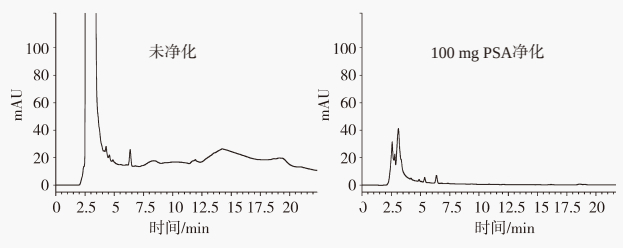

图1 葡萄空白样品未净化与100 mg PSA净化色谱图

2.2 方法准确度与精密度

取空白葡萄全果样品,添加3个质量分数(添加水平分别为0.01、0.05、1.00 mg/kg)的氯吡脲标准溶液,每个添加水平重复5次,按上述所建方法进行测定及计算回收率和变异系数,结果见表3。当添加水平为0.01~1.00 mg/kg时,方法回收率为95%~104%,相对标准偏差为1.0%~1.8%。说明该方法的准确度和精密度较好,符合农药残留的检测要求。

表3 氯吡脲在葡萄中的添加回收率

添加水平/(mg·kg^{-1})	平均回收率/%	相对标准偏差/%
0.01	95	1.4
0.05	102	1.0
1.00	104	1.8

2.3 最小检出限与定量限

在确定最佳条件下,用乙腈配制一系列不同质量分数的标准溶液进行测定,以进样质量分数为x轴、响应值为y轴,得标准工作曲线。结果表明:在0.01~2 mg/kg线性范围内,氯吡脲线性方程为y=189x+4.546,r^2为0.999 4。该方法在葡萄中的检测限(LOD)和定量限(LOQ)分别以3倍、10倍信噪比(S/N)计算,可得LOD为0.003 mg/kg,LOQ为0.01 mg/kg。

2.4 消解动态

氯吡脲在葡萄中消解动态见图2。北京地区葡萄中氯吡脲的原始附着量为1.04 mg/kg,消解方程为C_t=0.5532e$^{-0.063t}$,r^2=0.917 2,$t_{1/2}$=11.6 d;杭州地区葡萄中氯吡脲的原始附着量为0.80 mg/kg,消解方程为C_t=0.794 8e$^{-0.034 3t}$,

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

r^2=0.943 4,$t_{1/2}$ =23.1 d。

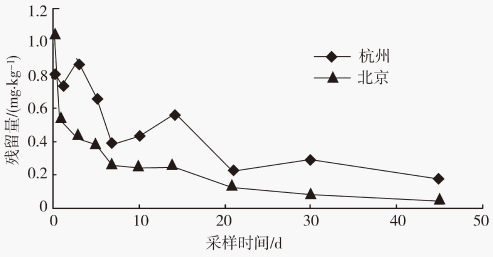

图2 氯吡脲在葡萄中的消解动态曲线

3 结论

本研究改进了QuEChERS前处理条件,采用酸性乙腈提取葡萄中的氯吡脲农药,PSA吸附剂净化,高效液相色谱–紫外检测器检测,所建方法具有快速、简便、节约溶剂的特点,灵敏度、准确度和精密度都符合农药残留分析的要求,可以为农产品中氯吡脲残留检测提供参考。

田间试验结果表明:氯吡脲在葡萄中的半衰期分别为11.6 d(北京)、23.1 d(杭州),与在猕猴桃(半衰期为4.8~8.4 d)[5]、西瓜(半衰期为1.2~1.67 d)中[7]相比,半衰期相对较长,主要原因可能与试验期间降雨量的大小与次数、光照条件等环境因素有关。

参考文献:

[1] 张卫炜, 杨永珍. 氯吡脲的研究及应用进展[J]. 农药科学与管理, 2006, 27(5): 36-40.
[2] 孙瑞红, 李爱华, 张仁军. 集中生长调节剂在果树上的使用技术[J]. 落叶果树, 2007(2): 47-49.
[3] 李瑞娟, 于建垒, 宋国春. 氯吡脲的环境行为及其安全性的研究进展[J]. 农药, 2008, 47(4): 240-243.
[4] 李瑞娟, 于建垒, 宋国春, 等. 氯吡脲在猕猴桃和土中的消解动态和残留测定[J]. 山东农业科学, 2009(2): 78-80, 83.
[5] 李佳, 龚道新. 氯吡脲在土壤和黄瓜中的残留分析[J]. 湖南农业科学, 2010(5): 84-87.
[6] 陈长龙, 李建中, 王会利, 等. 氯吡脲在土壤和西瓜中的残留分析[J]. 环境化学, 2006, 25(6): 789-792.
[7] 侯玉茹, 杨媛, 石磊, 等. 固相萃取–高效液相色谱法检测葡萄中氯吡脲的研究[J]. 食品科技, 2011, 36(1): 255-258.
[8] 赵祥梅, 董英, 王和生. QuEChERS法在农产品农药残留物检测中的应用研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(5): 952-954.

责任编辑:李新

(上接第744页)

由表3可知:蓄积毒性试验组与空白对照组对比中,ACP存在显著差异(0.01<*P*<0.05),这说明三氟氯氰菊酯对小鼠肝脏中ACP有一定的影响,且随剂量的增加成剂量–反应关系,少量三氟氯氰菊酯的加入可导致肝炎,随着加入量的增加,临床上可引发前列腺癌[7],特别是有转移时,血清酸性磷酸酶可明显增高,导致变形性骨髓炎、原发性骨肿瘤、甲状腺功能亢进、白血病、乳腺癌、心肌梗死、肝炎、肝硬化等[8];AKP不存在显著差异(*P*>0.05),这说明三氟氯氰菊酯对小鼠肝脏中AKP无明显的量效反应关系,虽随剂量的增加成剂量–反应关系,但对肝功能影响较小;LDH存在显著差异(0.01<*P*<0.05),这说明三氟氯氰菊酯对小鼠肝脏中乳酸脱氢酶有一定影响,且随剂量的增加成剂量–反应关系,但在临床上没有影响;SOD存在显著差异(0.01<*P*<0.05),这说明三氟氯氰菊酯对小鼠肝脏中SOD有一定的影响,且随剂量的增加成剂量–反应关系,有一定的抗衰老、抗疲劳以及清除自由基的作用;GSH–PX存在极显著差异(*P*<0.01),这说明三氟氯氰菊酯对小鼠肝脏中谷胱甘肽过氧化物酶有严重的影响,且随剂量的增加成剂量–反应关系,可清除在细胞呼吸代谢过程中产生的过氧化物和羟自由基[9],从而减轻细胞膜多不饱和脂肪酸的过氧化作用,随着三氟氯氰菊酯的加入对肝脏和肝功能有实质性损伤。

4 结论

通过本试验研究,表明三氟氯氰菊酯为明显蓄积物质,且对小鼠肝、肾有严重损伤。

参考文献:

[1] 张桥. 卫生毒理学基础[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2000(3): 125-127.
[2] 刘宁, 沈明浩. 食品毒理学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005.
[3] 周立国. 药物毒理学[M]. 湖北: 湖北科技出版社, 2001, 23(2): 98-120.
[4] 沈建忠. 动物毒理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 227-236.
[5] 李海燕, 金向群, 邸琳, 等. 黄芩苷预防对乙酰酰氨基酚所致小鼠肝损伤的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(5): 50-51.
[6] 邹爱平. 654–2和多巴胺对大鼠肾脏微循环作用的比较[J]. 中国病理生理杂志, 1991, 7(6): 569-571.
[7] 张宝旭, 贾凤兰, 阮明. 对乙酰氨基酚诱发小鼠肝毒性机制的实验研究[J]. 卫生毒理学杂志, 2003, 17(1): 31.
[8] 刘平, 袁继丽, 倪力强. 重视中药的肝损伤问题[J]. 中国新药与临床杂志, 2007, 26(5): 388-392.
[9] 刘梅, 夏鑫华, 张志敏, 等. 丹参素、原儿茶醛、咖啡酸和丹酚酸B体外抗氧化活性比较研究[J]. 中药材, 2009, 32(2): 265-267.

责任编辑:李新

德国爆发玉米切根虫

德国玉米委员会DMK(German maize committee)发布报告称,该国Rhineland-Palatinate州发生首起西部玉米切根虫爆发事件,同时黑森州也发布报告称发生50起切根虫爆发事件,在Baden-Wuerttemberg州和Bavaria州也分别发生6000、143起,并且这两州的虫害还在以比以往更快的速度扩大。在德国首次爆发玉米切根虫虫害还是在2007年。(ZP)

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net