

• 专栏 •

# 苯醚甲环唑在茶叶中的残留量及其在茶汤中的浸出动态研究

王 军<sup>1</sup>, 刘丰茂<sup>2</sup>, 温家钧<sup>1</sup>, 边侠玲<sup>1</sup>

(1. 安徽省化工研究院, 合肥 230041; 2. 中国农业大学 理学院, 北京 100193)

**摘 要:** 采用气相色谱-电子捕获检测器 (GC-ECD) 对田间采集的茶叶样品中的苯醚甲环唑残留量进行了测定, 同时对泡茶后茶汤中苯醚甲环唑的浸出动态进行了研究。结果表明: 苯醚甲环唑 10% 水分散粒剂分别按有效成分 100 和 150 mg/kg 于茶叶炭疽病发生初期施药 2~3 次, 距末次施药后间隔 5 d 采样, 成茶中苯醚甲环唑的残留量低于最大残留限量 (MRL) 值 10.0 mg/kg。茶汤中苯醚甲环唑残留量及浸出率随冲泡次数的增加逐渐下降, 4 次冲泡的总浸出率为 19.6%~21.8%, 人体摄入的苯醚甲环唑残留量占每日允许摄入量 (ADI) 的 9.0%。

**关键词:** 苯醚甲环唑; 茶叶; 残留; 茶汤; 浸出率

DOI 10.3969/j.issn.1008-7303.2010.03.11

中图分类号: O657.7; X836

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2010)03-0299-04

## Study on residue of difenoconazole in tea and its transfer from made tea to infusion

WANG Jun<sup>1</sup>, LU Feng-mao<sup>2</sup>, WEN Jia-jun<sup>1</sup>, BIAN Xia-ling<sup>1</sup>

(1. The Academic of Anhui Chemical Institute, Hefei 230041, China;

2. College of Science, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

**Abstract** A field experiment was conducted to reveal residue of difenoconazole in made tea determined by gas chromatography (GC-ECD). Furthermore, the dissolution dynamic of difenoconazole from tea infusion were studied. Results showed that when the tea was sprayed 2 to 3 times with 100 and 150 a.i mg/kg difenoconazole 10% WG at the initial stage of anthracnose of tea with pre-harvest intervals (PHI) of 5 d, residue of difenoconazole in made tea was lower than 10.0 mg/kg (MRL proposed). The dissolution ratio was declined with the increasing of dunking number. There's low level of difenoconazole residue in the infusion of tea with only 19.6% to 21.8% was entered the infusion after 4 total times. The estimated intake of difenoconazole is shown to be 9.0 percentage of Acceptable Daily Intake (ADI).

**Key words** difenoconazole; tea residue; tea infusion; dissolution ratio

苯醚甲环唑 (difenoconazole) 属三唑类杀菌剂, 唑-1-基甲基), 1, 3-二噁戊烷-2-甲基]苯基-4-氯苯基  
化学名称为顺, 反-3-氯-4-[4-甲基-2-(H-1, 2, 4-三 醚, 化学结构式如 (I) 所示<sup>[1-2]</sup>, 是甾醇脱甲基化抑

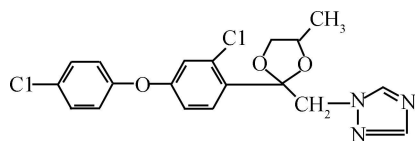
收稿日期: 2010-06-28 修回日期: 2010-08-26

作者简介: 王军 (1974-), 男, 安徽萧县人, \* 通讯作者 (A author for correspondence): 硕士, 工程师, 主要从事农药残留分析及农产品质量安全研究工作, 电话: 0551-5854938 E-mail wangjunnongcan@126.com

基金项目: 农业部农药残留试验资助项目。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

制剂,对茶叶炭疽病具有很好的防治效果。



(I)

茶叶历史悠久、营养丰富,已成为仅次于碳酸饮料和饮用水的世界第三大饮料,也是我国人民的传统饮品,具有抗癌、抗氧化、降脂、降压等多种功效<sup>[3-4]</sup>。茶叶生长过程中的常见病害有茶炭疽病、芽枯病、轮斑病、茶饼病、云纹叶枯病等<sup>[1]</sup>,不可避免地需使用杀菌剂进行防治。作为对传染性病原菌具有持久保护和治疗作用的苯醚甲环唑,现已广泛用于茶树某些病害,特别是炭疽病的防治。而有关苯醚甲环唑在茶叶中的残留情况,以及其在泡茶过程中的浸出率研究,目前国内外尚未见相关报道。笔者采用气相色谱-电子捕获检测器对田间采集的茶叶样品中的苯醚甲环唑残留量进行了测定,并对其在茶汤中的浸出动态进行了研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

药剂及试剂:苯醚甲环唑(difenoconazole)标准品,纯度98.0%(江苏丰登农药有限公司),苯醚甲环唑10%水分散粒剂(WG)(绩溪农华生物科技有限公司)。中性氧化铝于400℃灼烧4h加质量分数5%的水脱活(国药集团化学试剂有限公司);无水硫酸钠于550℃灼烧4h备用(上海中试化工总公司)。其余试剂均为分析纯。

茶叶品名:炒青绿茶。

### 1.2 主要仪器

GC-14C气相色谱仪(带ECD检测器,日本岛津公司);ZFQ-85A型旋转蒸发仪(郑州长城科工贸有限公司);ZK高速自控组织捣碎机(江苏省盐城市龙冈医疗器械厂)。

### 1.3 田间试验设计

在安徽省歙县和湖南省长沙市两地选择长势均匀的茶园,于2008年5月上旬茶叶炭疽病发生初期,采用工农-16型手动背负式喷雾器分别向叶面喷施有效成分质量分数为100和150mg/kg的苯醚甲环唑10%WG(推荐最高施药量为100mg/kg),施药2~3次(推荐施药次数为2次),每次施药间隔为10d。喷施药液量视茶树植株大小,每公顷用药液量为825kg,以液滴向下滴落为止。最后1次

施药后3、5、7d分别采集茶叶鲜叶一芽二、三叶,并按常规方法加工为成茶(炒青绿茶),待测。每小区30m<sup>2</sup>,每个处理3次重复,并设空白对照。

### 1.4 成茶中苯醚甲环唑残留的浸出实验

选用上述田间试验中距最后1次施药间隔3d的茶叶,取苯醚甲环唑残留量最高和最低的成茶样品进行冲泡实验。各称取5g茶样,用250mL100℃的水冲泡(茶水质量比为1:50),第一次冲泡30min后滤出茶汤,再加入250mL100℃的水,依次冲泡4次,分别测定4次冲泡茶汤中苯醚甲环唑的含量。每个处理3次重复,并设空白对照。

### 1.5 分析方法

#### 1.5.1 提取

成茶样品:称取5g茶叶样品置于高速组织捣碎匀浆机中,加入100mL丙酮-石油醚(3:1,体积比)混合液,于10000r/min下高速匀浆2~3min,经布氏漏斗减压抽滤,滤渣用30mL丙酮-石油醚(3:1,体积比)洗涤,合并滤液于旋转蒸发仪上减压浓缩后,待净化。

茶汤样品:将每次冲泡的茶汤全部转移至500mL分液漏斗中,加饱和氯化钠水溶液50mL,用40mL×3二氯甲烷萃取。有机相于40℃减压浓缩至1mL,待净化。

1.5.2 净化 玻璃层析柱(30cm×1.2cm)内预先加入10mL石油醚,然后依次加入2cm厚无水硫酸钠、5g中性氧化铝、2cm厚无水硫酸钠。将石油醚放至与无水硫酸钠层相平,用20mL石油醚-乙醚(1:1,体积比)转移样品,再用20mL石油醚-乙醚(1:1,体积比)洗涤2次。收集淋洗液,浓缩至1mL左右,氮吹仪吹干。用正己烷定容至2mL,供气相色谱(ECD)测定。

1.5.3 气相色谱检测条件 GC-14C气相色谱仪[带ECD检测器];HP-5大口径毛细管色谱柱(5m×0.53mm×2.65μm);检测器温度:270℃,汽化室温度:250℃,柱温:230℃(恒温);载气:高纯N<sub>2</sub>;柱压:27kPa;尾吹:8mL/min;衰减:2;电流:0.5nA;保留时间:4.5min。

## 2 结果与分析

### 2.1 标准曲线

用不同浓度的苯醚甲环唑正己烷溶液进样测定,得到进样量与峰面积的关系曲线<sup>[5]</sup>,所得回归方程为 $y = 125.642x - 319.76$ ,  $R^2 = 0.9965$ (见图2)。

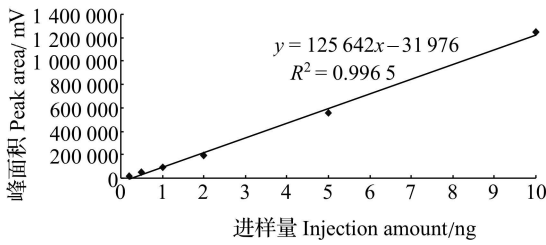


图 2 苯醚甲环唑标准工作曲线

Fig 2 Standard curve of difenoconazole

2.2 方法的灵敏度、准确性及精密度

方法的最小检出量为  $5 \times 10^{-11}$  g 成茶中最低检测浓度为 0.02 mg/kg 茶汤中最低检测浓度为 0.4 μg/L。在未施过苯醚甲环唑的对照成茶和茶汤中分别添加不同浓度的苯醚甲环唑标准溶液, 添加回收率测定结果见表 1。苯醚甲环唑在成茶中的平均添加回收率为 78.4% ~ 92.1%, 相对标准偏差为 3.3% ~ 8.6%; 在茶汤中的平均添加回收率为 78.6% ~ 84.1%, 相对标准偏差为 7.6% ~ 13.2%。

表 1 苯醚甲环唑标准品在成茶和茶汤中的添加回收率

Table 1 Recoveries of difenoconazole from made tea and tea infusion

样品 Samples	添加水平 Fortified level/(mg/kg)	回收率 Recovery/%					平均值 Average recovery/%	相对标准偏差 RSD/%
		1	2	3	4	5		
成茶 Made tea	2.00	92.0	93.3	89.5	96.5	89.0	92.1	3.3
	0.20	86.4	95.5	77.1	87.6	91.5	87.6	7.8
	0.02	80.7	73.4	78.4	88.4	71.3	78.4	8.6
茶汤 Tea infusion	2.00	85.7	94.0	88.2	79.3	75.9	84.6	7.6
	0.20	72.5	74.4	93.9	85.5	66.7	78.6	12.4
	0.02	75.3	81.6	101.5	70.8	91.5	84.1	13.2

2.3 苯醚甲环唑在成茶中的残留量

结果见表 2。可以看出, 采收期距最后 1 次施药间隔 5 d 以上, 成茶中苯醚甲环唑的残留量均低于 10.0 mg/kg。

2.4 苯醚甲环唑在茶汤中的浸出动态

冲泡次数对茶汤中苯醚甲环唑含量和浸出率的影响见表 3。从中可以看出, 随着冲泡次数的增加, 茶汤中苯醚甲环唑含量和浸出率不断下降, 茶渣中苯醚甲环唑残留量也逐渐降低。4 次冲泡的总浸出率为 19.6% ~ 21.8%。

3 结论与讨论

田间残留试验表明, 在距最后 1 次施药后不同

间隔时间所采鲜叶加工的成茶中, 苯醚甲环唑残留水平与采样间隔期的延长呈负相关<sup>[6]</sup>。而本试验结果表明, 间隔 5 d 以后所采收的茶叶样品, 成茶中苯醚甲环唑残留量均低于 10.0 mg/kg [目前我国推荐苯醚甲环唑在茶叶上的最大残留限量 (MRL) 值与日本规定的 MRL 值相同, 均为 10.0 mg/kg]。

苯醚甲环唑在茶汤中的浸出试验表明: 茶水比例 (质量比) 一定时, 适当增加冲泡次数, 茶汤中苯醚甲环唑的含量和浸出率不断下降, 苯醚甲环唑总浸出率不断提高; 冲泡次数增加到 3~4 次, 浸出率和总浸出率变化已不明显。在上述不同冲泡次数条件下, 茶叶中的苯醚甲环唑通过泡茶进入茶汤的量是很少的, 茶汤中苯醚甲环唑的残留量远低于茶叶

表 2 10% 苯醚甲环唑水分散粒剂在成茶中的残留量

Table 2 Final residues of difenoconazole 10% WG in made tea

试验地点 Trail area	施药浓度 Concentration, a.i./ (mg/kg)	施药次数 Spraying times	苯醚甲环唑残留量 Residue of difenoconazole/(mg/kg)			
			3 d	5 d	7 d	
歙县 Shexian	100	2	5.33	1.59	0.81	
		3	5.12	2.01	0.94	
	150	2	13.56	3.52	1.26	
		3	16.17	4.77	1.84	
	长沙 Changsha	100	2	5.36	2.82	1.00
			3	8.15	3.25	0.86
150		2	11.28	5.77	1.75	
		3	17.31	4.39	2.04	

表 3 不同冲泡次数对茶汤中苯醚甲环唑含量和浸出率的影响  
Table 3 Dissolution ratio and contain of difenoconazole in tea infusion were influenced by different dunking times

成茶中苯醚甲环唑残留量 Residue level of difenoconazole in made tea/(mg/kg)	冲泡次数 Dunking times	茶汤中苯醚甲环唑残留量 Residue level of difenoconazole in soup of tea/(μg/L)	浸出率 Dissolution ratio/%
17.31	第 1 次 The first time	30.47	8.8
	第 2 次 The second time	18.20	5.3
	第 3 次 The third time	10.15	2.9
	第 4 次 The fourth time	8.86	2.6
	总计 Total	67.86	19.6
5.12	第 1 次 The first time	11.29	11.0
	第 2 次 The second time	6.30	6.1
	第 3 次 The third time	2.81	2.7
	第 4 次 The fourth time	2.02	2.0
	总计 Total	22.42	21.8

中的残留量。4次冲泡后茶汤中苯醚甲环唑的总浸出率仅为 19.6% ~ 21.8%。以苯醚甲环唑残留量分别为 17.31和 5.12 mg/kg 的两份样品泡茶为例,假设按每人每天喝茶最大量为 15 g (世界茶叶人均消费量最高国家为英国,每人每天饮茶 13 g)计算,茶汤中苯醚甲环唑的残留量按冲泡 4 次的总量计算,则通过饮茶进入人体的最大量为:  $15 \text{ g} \times 17.31 \text{ mg/kg} \times 21.8\% = 0.057 \text{ mg}$ 。苯醚甲环唑的每日允许摄入量 (ADI) 值为  $0.01 \text{ mg/kg}$ 。按体重 63 kg 计算,在没有其他苯醚甲环唑膳食来源的情况下,其最小安全系数 =  $0.01 \text{ mg/kg} \times 63 \text{ kg} \div 0.057 \text{ mg} = 11.1$ 。进入人体的苯醚甲环唑残留量占 ADI 的百分比为  $\leq 0.057 \text{ mg} \div 63 \text{ kg} \div 0.01 \text{ mg/kg} = 9.0\%$ 。因此可以认为,在上述试验药剂处理条件及茶叶冲泡方式下,饮茶是安全的<sup>[7-11]</sup>。

结合苯醚甲环唑的 ADI 值为  $0.01 \text{ mg/kg}$  (体重 63 kg) 和我国近期规定的 MRL 值  $10.0 \text{ mg/kg}$  建议 10% 苯醚甲环唑水分散粒剂在进行茶树叶面喷雾时,最高施药量为  $100 \text{ mg/kg}$  (有效成分),最多施药 2 次,采收安全间隔期为 5 d。

谨以此文敬贺钱传范教授八十华诞!

## 参考文献:

- [1] YU Y-jun(虞轶俊), SHI De(施德), DAIDE-jiang(戴德江), et al. Pesticide was Put into Totally (农药应用大全) [M]. Beijing(北京): Agricultural Press of China(中国农业出版社), 2008: 239-240.
- [2] LI Hai-hua(李海华), NIAO Fu-guang(廖福广), WANG Peng(王鹏), et al. 杀菌剂苯醚甲环唑的制备 [J]. J Beijing Institute Tech(北京理工大学学报), 2006, 26(4): 365-368.
- [3] HU Ying-fen(胡迎芬), HANG Hu(杭瑚). 饮茶方式对茶汤有效成分含量的影响 [J]. Study and Research (研究与探讨), 2002, 23(2): 18-20.
- [4] WANG Ying-hua(王银华), LI Kai(李凯), WANG Jin-shu(王金戌), et al. 茶叶硒含量测定及影响富硒茶硒浸出率的因素 [J]. J Hebei Univ Sci Tech(河北科技大学学报), 2006, 27(2): 143-145.
- [5] WANG Jun(王军), WEN Jia-jun(温家钧), HUA Ri-mao(花日茂), et al. 浸果处理后苯醚甲环唑在柑橘贮藏过程中残留量的变化 [J]. Chin J Pestic Sci(农药学报), 2009, 11(3): 341-345.
- [6] WANG Jun(王军), WEN Jia-jun(温家钧), BIAN Xia-ling(边侠玲), et al. 柑橘和土壤中苯醚甲环唑残留动态研究及安全性评价 [J]. Southwest China J Agric Sci(西南农业学报), 2009, 22(3): 644-647.
- [7] BANERJEE K, OULKAR D P, PATIL S H, et al. Degradation kinetics and safety evaluation of tetraconazole and difenoconazole residues in grape [J]. Pest Management Science, 2008, 64(3): 283-289.
- [8] CHEN Zong-mao(陈宗懋). 茶叶的安全质量和清洁化生产 [J]. Tea of Guangdong(广东茶叶), 2005 (Suppl1): 2-4.
- [9] WU Xue-yuan(吴雪原), YUE Yong-de(岳永德), HUANG Guan-sheng(黄冠胜), et al. 氟戊菊酯在茶叶和茶汤中的残留动态及最大残留限量评价 [J]. Acta Laser Biology Sinica(激光生物学报), 2007, 16(4): 470-474.
- [10] XIANG Li(项丽), TANG Feng(汤锋), YUE Yong-de(岳永德). Study on pesticide residue and safety evaluation in soup of tea(茶汤中农药残留及其安全性评估研究) [D]. Hefei(合肥): Anhui University of Agricultural Technology(安徽农业大学), 2005: 1-61.
- [11] TANG Fu-bing(汤富彬), CHEN Zong-mao(陈宗懋), LIU Guang-ming(刘光明), et al. 八氯二丙醚在茶汤中的浸出研究 [J]. Tea of China(中国茶叶), 2006(3): 19-20.

(责任编辑: 唐静)