

毒性与残留

苹果和甜瓜中嘧菌酯残留量测定及其在贮藏期间变化的研究

薄海波^{1,2}, 毕阳³, 马凌云³, 陈立仁¹

(¹中国科学院兰州化学物理研究所, 兰州 730000; ²青海出入境检验检疫局综合技术中心, 西宁 810000; ³甘肃农业大学食品科学与工程学院, 兰州 730100)

摘要 研究苹果和甜瓜中嘧菌酯残留吸收与贮藏温度、储存时间的关系, 以及果实不同部位残留水平差异。苹果和甜瓜经嘧菌酯溶液浸泡处理后在室温或冷藏条件下储存, 定期用50:50/乙酸乙酯:环己烷超声波萃取, 气相色谱-氮磷检测器(GC-NPD)测定残留水平。回收率均在85%~104%之间, 最低检出限为0.001mg/kg; 瓜果可食用部分嘧菌酯残留水平低于0.1mg/kg; 瓜果低温贮藏对嘧菌酯的吸收低于室温; 嘧菌酯残留水平随着贮藏时间的延长而下降; 果皮处残留水平明显高于内部果肉。

关键词 嘧菌酯, 残留水平变化, 苹果, 甜瓜

中图分类号: TQ455.4 文献标识码: A 文章编号: 1006-0413(2005)01-028-03

Determination and Change During Storage of Azoxystrobin Residue Levels in Muskmelon and Apple after a Dip Treatment

BO Hai-Bo^{1,2}, BI Yang³, MA Ling-Yun³, CHEN Li-Ren¹

(¹Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Science, Lanzhou 730000, China; ²Qinghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Xining 810000, China; ³College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: To study the indication of the effectiveness, residue uptake, and persistence of when stored at room temperature or at 0 ~ 4 °C in the management of postharvest decay in apple and melon. The residue levels in apple and muskmelon treated with azoxystrobin were studied by extraction with ethyl acetate/cyclohexane and determination by gas chromatography (GC) with nitrogen/phosphorous (NP-) detection. The recoveries were in the range of 85% ~ 104% from fortified samples, and the limit of detection (LODs) was 0.001mg/kg. The residue levels in both fruit was below 0.1mg/kg, which was much lower than the tolerance level fixed for tomato (0.2mg/kg) in the United States and for peaches (0.8mg/kg) in Canada. The residue levels showed less during storage at low temperature. The residue levels reduced slowly along with the storage time. In peel the residue levels were higher than that in pulp.

Key words: azoxystrobin, residue level change, apple, muskmelon

嘧菌酯(azoxystrobin)是上世纪90年代末开发成功的一种新的甲氧基丙烯酸类广谱抗真菌剂。化学名称:(E)-2-[2-[6-(2-氰基苯氧基)嘧啶-4-基氧]苯基]-3-甲氧基丙烯酸甲酯。分子式:C₂₂H₁₇N₃O₅, CAS号:131860-33-8; 结构式见图1。

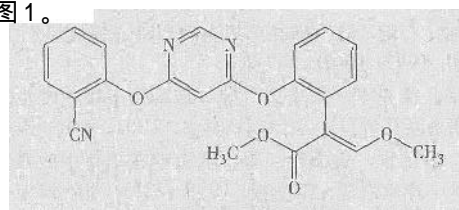


图1 嘧菌酯结构式

由于嘧菌酯抑菌活性高, 与其它化学杀菌剂无交互抗性, 对人类和环境的毒性相对较低^[1,2], 所以自问世以来在各国农药市场所占份额迅速扩大, 已成为广泛应用于谷物、果蔬等作物田间病害防治及贮藏期间防腐保鲜的主要杀菌剂。目前以嘧菌酯为活性成分的产品已经在43个国家的30多种作物上获准登记, 1999年英国捷利康公司以嘧菌酯为商品

名在我国获准行政保护, 并于2001年被我国农业部列入推荐应用于无公害蔬菜的农药目录。在美国环保局(EPA)的登记文件^[1]和加拿大农药管理注册机构(PMRA)的临时登记备忘录^[3]中, 以及欧盟^[4]等国政府机构的相关文件中, 均规定了嘧菌酯在多类农产品中的残留限量(各国对不同产品限量要求不同, 大多在0.0025~0.05之间)。我国目前处于引进和推广使用初期, 对嘧菌酯残留的研究尚属空白。近年来, 我国农产品、食品出口屡屡遭遇国外绿色壁垒, 主要原因之一就是农残检测技术水平和标准未与国外完全同步。为避免我国农产品、食品出口在嘧菌酯残留问题上再次陷于被动局面, 开展嘧菌酯残留研究十分必要。

有关嘧菌酯在谷类、苹果、葡萄和葡萄柚等中的残留已有报道, 但尚未见有关甜瓜方面的资料。测定方法主要有气相色谱-氮磷检测法(GC-NPD)^[5,6]、气相色谱-电子捕获检测法(GC-ECD)^[7]、气相色谱-质谱检测法(GC-MSD)^[8,9]和液相色谱-紫外检测法(HPLC-

收稿日期: 2004-04-12 修返日期: 2004-06-26

作者简介: 薄海波(1962-), 女, 黑龙江哈尔滨人, 高级工程师, 中科院在读博士, 从事食品安全与质量分析研究。电话: 13309700009, 传真: 0971-8247496, E-mail: boh1212@sohu.com

UVD)。本文采用气相色谱-氮磷检测(GC-NPD)分析方法,对苹果和甜瓜中的啞菌酯残留吸收及其在贮藏期间的变化规律进行了研究。

1 材料与方 法

1.1 仪器、试剂和样品

仪器:安捷伦 GC 6890N 型气相色谱仪(带氮磷检测器 NPD)、微量注射器、超声波振荡器、快速混匀器、旋转薄膜蒸发仪、离心机。标样:啞菌酯标准品,纯度 99.5%(澳大利亚 CSIRO 提供),标准储备液:精密称取标准品 0.1000g,用丙酮溶解定容于 100ml 容量瓶(1000mg/L),0~4℃ 保存。试剂:正己烷、二氯甲烷、丙酮、环己烷、乙腈、乙酸乙酯和氯化钠均为国产分析纯试剂,有机溶剂使用前重蒸馏。供试苹果(品种为金冠),2003 年 9 月采自甘肃省景泰县条山农场,供试甜瓜(品种为银帝),2003 年 7 月采自甘肃省民勤县泉山镇。

1.2 色谱分析条件

色谱柱:Agilent HP-5 毛细管柱(30m × 0.32mm × 0.25 μm);程序升温:初温 180℃ (保持 2min),30℃ /min 至 280℃ (保持 8min),30℃ /min 至 300℃ (保持 5min);S/SL 进样口:温度 300℃,不分流;手动进样,进样量:1.0μl;载气:高纯 N₂(99.999%),流量 1.8 ml/min。NPD:温度 300℃,铷珠 3.0~3.5amps(随铷珠状态变化自动调节),尾吹:N₂(23ml/min),空气:60ml/min,H₂:2.0ml/min(0~3.5min H₂关闭)。

1.3 方法

1.3.1 样品处理及制备

供试苹果采摘当天用 100mg/L 的啞菌酯溶液浸泡 2min 后自然风干,纸箱包装后分别在室温(15~25℃)和低温(0~4℃)下贮藏待用。每 10d 制备 1 次样品,共制备 4 次。供试甜瓜采摘当天用 100、200、400mg/L 的啞菌酯溶液中分别浸泡 2min 后自然风干,在室温下贮藏待用。每 7d 制备 1 次测试用样品,共制备 4 次。以同时采摘的、未经浸泡的苹果和甜瓜作对照样品。

样品制备:随机抽取 3 个果实,削皮(厚度约 1mm)另放,果皮:切碎,混匀;果肉:用打孔器在中部打孔取出柱状组织,留取可食用部分果肉,切细、混匀。按四分法分样后,称取每份 10.0g,用铝箔密封包装后,在 -80℃ 冰箱中保存备用。每次制 3 个平行样品。

1.3.2 提取

准确称取 10.0g 样品放入 50ml 具塞离心管,加 2.0g 氯化钠,20ml 50/50/乙酸乙酯-环己烷,用高速组织捣碎机打成浆状,超声波萃取 10min,以 3000rpm 离心 10min,上清液移出另放,残渣加 10ml 50/50/乙酸乙酯-环己

烷重复提取 1 次,合并上清液,用定性滤纸在布氏漏斗上抽滤,滤液用旋转薄膜蒸发器在 50℃ 蒸发近干,用 1.0ml 丙酮溶解,用 0.45 μm 孔径的针筒式微孔过滤膜过滤,供色谱分析用。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线及最低检出限

配制浓度为 0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、1.0mg/L 的啞菌酯标准系列溶液,在上述色谱条件下进行 2 次平行测定,以峰面积(平均值)为纵坐标,浓度为横坐标分别进行线性回归,回归方程为 $A=226.41C-0.87$,在 0.005~1.0mg/L 范围内,啞菌酯浓度(C_{AZX})与色谱峰面积(A)有良好线性关系,校正系数为 0.9998。

按 3 倍噪音计算,方法最低检出浓度为 0.01mg/L。由于在样品处理过程中,10.0g 样品的最终定容体积为 1.0ml,相当于每 L 溶液含 10.0kg 样品。所以,本方法最低检出限(L_{0D},mk/kg)=最低检出浓度(mg/L)÷10.0(kg/L)=0.01 mg/L ÷ 10.0 kg/L=0.001 mg/kg。由此表明,本方法适用于痕量啞菌酯的定量分析。

2.2 提取条件选择

文献中不同的样品提取方法不同,有乙酸乙酯-环己烷(50/50)^[4]、二氯甲烷-丙酮(70/30)^[5]和乙腈-水(90/10)^[7]等用于提取不同样品中的啞菌酯。本文实验对比了 3 种混合溶剂对苹果、甜瓜样品的提取效果。结果显示,乙腈-水提取甜瓜时乳化现象较严重,不易分层,二氯甲烷-丙酮提取杂质峰多,乙酸乙酯-环己烷提取苹果和甜瓜的回收率都比较高而且稳定。实验还比较了用乙酸乙酯-环己烷在超声波振荡器和快速混匀器上提取不同时间的提取效果。超声波提取仅用 10min,即可获得稳定、满意的回收率。

因为氮磷检测器是选择性检测器,谱图中未出现干扰峰,所以样品提取液不需要净化。为保持色谱系统清洁,每天更换进样口衬管内的去活石英棉。

2.3 色谱分析

在上述色谱分析条件下进样测定样品溶液,啞菌酯峰形良好,无干扰峰,图 2、图 3 分别为苹果和甜瓜样品色谱图。

2.4 回收率测定

测定啞菌酯在空白的苹果和甜瓜样品中 4 个添加水平的回收率(%),结果显示,苹果和甜瓜中啞菌酯回收率均在 85%~104% 之间(表 1)。

2.5 贮藏期间样品中啞菌酯的变化

苹果:随着贮藏时间的延长,常温下储藏的苹果果肉中,啞菌酯残留水平均呈先上升,后下降的变化趋势。低温条件下储藏的苹果果肉中,啞菌酯的残留

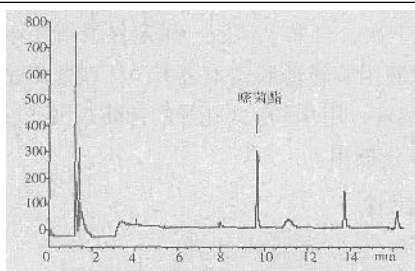


图2 苹果样品溶液的色谱图

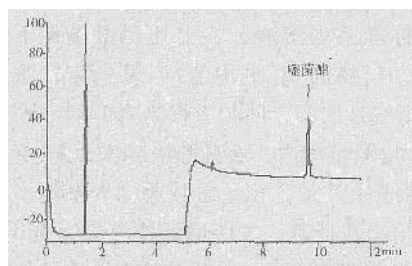


图3 甜瓜样品溶液的色谱图

水平远远低于同步制备的在室温条件下的样品,如贮藏第15d时两者相差接近一个数量级(见表2)。

甜瓜:随着常温贮藏时间的延长,甜瓜皮中的啞菌酯残留水平呈总体下降的变化趋势。第一星期内,瓜皮上啞菌酯残留水平快速下降,后来三星期内下降趋

表1加标样品中啞菌酯的回收率

加标水平 (mg/kg)	回收率(%)	
	苹果	甜瓜
0.02	102.3	90.5
0.05	89.7	89.9
0.10	93.4	85.8
0.50	98.1	104.0

势逐渐减缓。不同浓度啞菌酯溶液浸泡的甜瓜样品第7d时瓜肉中的残留水平无明显差别。详细数据见表3。

2.6 苹果果皮与不同部位果肉啞菌酯残留量分布

常温贮藏的苹果样品中,啞菌酯残留自表皮至内部果肉明显递减。浅表层啞菌酯残留水平随储藏时间呈直线下降趋势,深层则先升后降(见图4),这说明苹果对啞菌酯的吸收是一个较缓慢的过程。另外,果皮中的啞菌酯残留测定结果是皮下浅表层(厚度3mm)果肉和皮下深层(厚度20mm)果肉啞菌酯残留的9倍和16倍。

3 结论

在本文处理条件下用啞菌酯溶液浸泡过的苹果和甜瓜,果(瓜)肉中啞菌酯残留水平很低,均小于0.1mg/kg,远远低于美国对西红柿(0.2mg/kg)^[1]和加拿大对桃(0.8mg/kg)^[2]的残留限量要求;在低温下储藏,苹果对啞菌酯的吸收低于在常温下的吸收;随着储藏时间的延长,不同温度下储藏的样品中啞菌酯残留水平呈总体下降趋势;(4)浅表层残留水平远高于较深层。

参考文献

[1] Environmental Protection Agency (EPA) of USA. Rules and

表2 苹果果肉样品中的啞菌酯残留量(mg/kg)

贮藏时间 (d)	贮藏温度(°C)	
	室温(15~25)	低温(0~4)
5	0.0038	未检出
15	0.073	0.0084
25	0.039	0.0079
35	0.0021	0.0029

表3 甜瓜皮和瓜肉中的啞菌酯残留量(mg/kg)

贮藏时间 (d)		浸泡浓度(mg/L)		
		100	200	400
果皮	7	22.2	23.9	37.9
	14	0.35	0.60	0.78
	21	0.41	0.67	0.42
	28	0.10	0.46	0.26
7	果肉	0.027	0.031	0.035

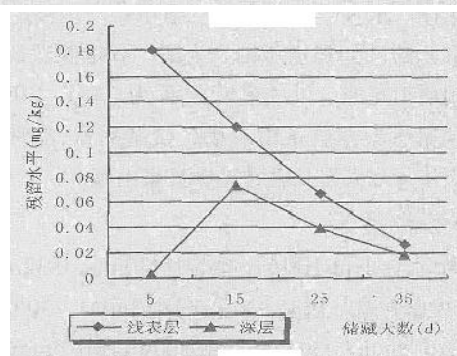


图4 苹果不同部位果肉中啞菌酯残留变化

- Regulations: Azoxystrobin. Federal Register: 2003, 68(117): 36480-36487 [EB/OL]. <http://www.epa.gov/fedrgstr>
- [2] 朱志念, 王力钟, 张弘, 等. 4种Strobilurin类杀菌剂防治小麦白粉病的活性研究[J]. 农药, 2004, 43(8): 370-371
- [3] Pest Management Regulatory Agency, Health Canada. Regulation Note: Section 17 Temporary Registrations: REG 2000-15 Azoxystrobin [EB/OL]. <http://www.hc-sc.gc.ca/pmra-arla/english/pdf/reg/reg2000-15-e.pdf>
- [4] EU Directorate General for Agriculture, DG VI-B-II-I, Review report for the active substance azoxystrobin, 1998, Document 7581/VI/97-Rev. 5 [EB/OL]. http://europa.eu.int/comm/food/fs/ph_ps/pro/eva/newactive/list2_en.htm
- [5] Christensen HB, Granby K. Method validation for strobilurin fungicides in cereals and fruit [J]. Food Additives & Contaminants, 2001, 18(10): 866-874
- [6] Cabras P, Angioni A, Garau V L, et al. Gas chromatographic determination of azoxystrobin, fluazinam, kresoxim-methyl, mepanipyrim, and tetraconazole in grapes, must, and wine [J]. J AOAC Int, 1998, 81(6): 1185-1189
- [7] Giza I, Sztwiertnia U. Gas chromatographic determination of azoxystrobin and teflorxystrobin residues in apple [J]. Acta Chromatographica, 2003, 13: 226-228
- [8] Burke S R, Sapiets A. Enforcement Method for the Determination of Residues of ICIA5504 and R230310 in Grain and Grapes for EPA Confirmation. Laboratory Project ID: RAM 243/04 [EB/OL]. <http://www.epa.gov/fedrgstr/EPA-PEST>
- [9] Schirra M, Cabras P, Angioni A, et al. Residue Levels and Storage Decay Control in CV. Star Ruby Grapefruit after Dip Treatment with Azoxystrobin [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50: 1461-1464

责任编辑:夏彩云