

秦旭, 徐应明, 赵立杰, 等. 抑霉唑在苹果、土壤中的残留及消解动态[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(4): 294–296.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.106

抑霉唑在苹果、土壤中的残留及消解动态

秦旭, 徐应明, 赵立杰, 孙扬, 梁学峰, 王林, 孙约兵

(农业部环境保护科研监测所/农业部产地环境质量重点实验室/天津市农业环境与农产品安全重点实验室, 天津 300191)

摘要:由乙酸乙酯、正己烷混合提取液(体积比 1:1)提取样品, 用气相色谱-电子捕获检测器(GC-ECD)检测, 测定抑霉唑在苹果、土壤中的残留、消解动态及最终残留量。结果表明, 当样品中添加水平为 0.005~2 mg/kg 时, 平均回收率为 90.1%~98.8%, 相对标准差(RSD)为 2.51%~8.52%; 抑霉唑的最小检出量为 0.002 ng, 最低检出浓度为 0.005 mg/kg。田间残留试验结果表明, 抑霉唑在苹果、土壤中消解较快, 半衰期分别为 10.2~14.8、8.0~14.2 d, 施药后 35 d 的消解率均在 90% 以上, 属于易降解农药; 10% 抑霉唑水乳剂按推荐剂量 500 倍稀释液和 1.5 倍推荐剂量 333 倍稀释液兑水喷雾施药 3~4 次, 在距最后 1 次施药 7、14、21 d 时, 抑霉唑在苹果中的残留量均低于国家标准。

关键词:抑霉唑; 苹果; 残留; 消解动态; 气相色谱

中图分类号: S481+.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)04-0294-02

抑霉唑是由比利时 Janssen 公司在 1973 年开发出来的一种内吸性广谱杀菌剂和果品防腐保鲜剂^[1], 化学名称为 1-[2-(2,4-二氯苯基)-2-(烯丙氧基)乙基]-1H-咪唑。抑霉唑纯品为浅黄色至棕色结晶体, 熔点 52.6℃, 沸点 >340℃, 蒸气压 0.158 MPa(26℃), 溶于庚烷、石油醚, 在烯酸、碱中稳定, 285℃ 以下稳定。抑霉唑溶解度在水中为 0.18 g/L(pH 值 7.6, 20℃), 在丙酮、二氯甲烷、乙醇、甲醇、异丙醇、二甲苯、甲苯、苯中均大于 500 g/L(20℃), 在己烷中为 19 g/L(20℃)。该农药对侵袭水果、蔬菜、观赏植物的许多真菌病害都有防效, 尤其是对长蠕孢属、镰孢属、壳针孢属真菌具有高活性。对柑橘、香蕉、苹果等水果喷施或浸渍抑霉唑, 能防治收获后水果的腐烂^[2]。国内外对水果中抑霉唑的检测方法已有报道, 但有关其在水果中降解和残留情况的报道较少, 只有高智席等检测了其在红毛丹中的消解动态^[3], 武婷等检测了其在梨中的消解动态^[4], 李振等检测了其在柑橘中的消解动态和最终残留情况^[5], 但其在苹果中的降解和残留情况尚未见报道。本研究通过简单可靠的前处理方法, 使用外标法定量、气相色谱-电子捕获检测器(GC-ECD)测定抑霉唑在苹果、土壤中的消解动态和最终残留情况, 以期为该农药在苹果上的合理使用提供依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

仪器: Agilent 7890A 型气相色谱仪(美国安捷伦科技公司), 带电子捕获检测器。Heidolph Laborota 4000 型旋转蒸发器(德国海道尔夫公司); T-25 basic Ultra-turrax 型高速植

物组织捣碎机(德国 IKA 公司); MILLI-Q 型超纯水仪(美国 Millipore 公司); SL-302 电子天平(上海民桥精密科学仪器有限公司); SHZ-D(Ⅲ)型循环水式真空泵(河南巩义市予华仪器有限公司)及抽滤装置等。

试剂: 乙酸乙酯、正己烷、丙酮、无水硫酸钠均为分析纯; 100 mg/L 抑霉唑标准品(天津市东方绿色技术发展公司), 10% 抑霉唑水乳剂(陕西美邦农药有限公司)。

1.2 田间试验

2010 年分别在天津市西青区、山东省烟台市、陕西省咸阳市的苹果园施用 10% 抑霉唑水乳剂进行田间试验, 小区间设保护行, 同时设空白对照。

1.2.1 苹果消解动态试验 在供试苹果园设 3 个重复小区, 每小区 3 棵果树, 施药剂量为 333 倍稀释液, 在苹果生长中期进行全株均匀喷药 1 次, 直至苹果果实和树叶有液滴滴下时停止喷药。施药后 2 h、1 d、3 d、7 d、14 d、21 d、28 d、35 d 对每个处理区以随机多点方式采集苹果样品 1 kg, 切碎混匀, 四分法处理后取 250 g 样品存放于 -20℃ 冰柜中保存待测。

1.2.2 土壤消解动态试验 在供试果园附近选择 10 m² 地块, 单独施药。施药剂量为 333 倍稀释液, 喷雾器兑水 1 L, 将药液全部喷施于地表。距施药后 2 h、1 d、3 d、7 d、14 d、21 d、28 d、35 d 以五点法采集 0~10 cm 深的土壤样品 1 kg, 四分法处理后取 250 g 样品存放于 -20℃ 冰柜中保存待测。

1.2.3 最终残留试验 设置 2 个施药剂量, 分别为推荐剂量 500 倍稀释液和 1.5 倍推荐剂量 333 倍稀释液, 每个剂量各设 3、4 次施药处理, 每个处理设 3 个重复小区, 每个小区 3 棵苹果树。2 次施药间隔为 10 d, 在苹果生长中期开始第 1 次施药, 直至苹果树叶有液滴滴下时停止喷药。距最后 1 次施药处理 7、14、21 d 对每小区以随机多点方式采集苹果和 0~15 cm 深的土壤样品, 样品处理方法同消解动态试验。

1.3 分析方法

1.3.1 前处理方法 称取 20 g 苹果样品置于烧杯中, 加入 80 mL 乙酸乙酯、正己烷混合提取液(体积比 1:1), 用高速植物组织捣碎机匀浆 1 min 后抽滤, 用 50 mL 上述混合提取液洗

收稿日期: 2014-05-12

基金项目: 农业部农药残留试验项目(编号: 2010F199)。

作者简介: 秦旭(1982—), 男, 吉林公主岭人, 硕士, 助理研究员, 从事农药分析技术与残留污染行为研究。Tel: (022) 23618071; E-mail: qinxu621@163.com。

通信作者: 徐应明, 博士, 研究员, 从事环境污染化学与污染控制技术研究。Tel: (022) 23618060; E-mail: ymxu1999@126.com。

涤滤渣;合并提取液并用无水硫酸钠脱水,减压浓缩至干,用 5 mL 丙酮定容待测。称取 20 g 土壤样品置于磨口带塞三角烧瓶中,加入 50 mL 乙酸乙酯、正己烷混合提取液(体积比 1:1),振荡提取 30 min 后抽滤,用 30 mL 丙酮洗涤滤渣;合并提取液于平底烧瓶中,减压浓缩至干,用 5 mL 丙酮定容待测。

1.3.2 气相色谱检测条件 进样口温度 290 ℃;进样量 1 μL,不分流进样;HP5-MS 毛细管柱(30 m × 320 μm × 0.25 μm);载气为高纯氮气,流速为 2 mL/min;程序升温:起始温度 120 ℃,保持 1 min,以 10 ℃/min 升温至 280 ℃;检测器温度 300 ℃。在此条件下,抑霉唑保留时间约 12.8 min。

2 结果与分析

2.1 线性范围

采用外标法定量,分别用丙酮配制一系列抑霉唑标准溶液(0.002、0.010、0.020、0.100、0.200、0.500、1.000、2.000、8.000 mg/L),在色谱条件下测定,得出抑霉唑的最小检出量为 0.002 ng,线性回归方程为 $y = 234.4 \times 10^8 x + 7.782 \times 10^8$, $r = 0.999\ 6$,可见抑霉唑在该浓度区间内有良好的线性关系。

2.2 该方法的准确度、精密度、灵敏度

分别称取空白对照的苹果样品和土壤样品,分别向其中添加适量的抑霉唑标准溶液,通过添加回收试验得出使用该 方法抑霉唑在苹果和土壤中的最低检出浓度(LOQ)均为 0.005 mg/kg。当抑霉唑的添加水平分别为 2.000、0.050、0.005 mg/kg 时,其在苹果和土壤中的平均添加回收率为 90.1%~98.7%,相对标准差(RSD)为 2.51%~8.52%,完全满足农药残留分析方法的要求^[6](表 1)。

表 1 抑霉唑在苹果和土壤中的添加回收率

样品	抑霉唑添加浓度 (mg/kg)	回收率(%)						RSD (%)
		重复 1	重复 2	重复 3	重复 4	重复 5	平均	
土壤	0.005	98.1	86.7	88.1	92.6	92.4	91.6	4.88
	0.050	92.9	88.7	85.4	89.5	94.2	90.1	3.90
	2.000	96.0	96.9	97.6	92.9	92.3	95.1	2.51
苹果	0.005	96.9	99.8	81.0	85.7	91.2	90.9	8.52
	0.050	101.8	92.6	91.7	92.3	90.4	93.8	4.87
	2.000	96.9	100.1	106.8	95.0	95.0	98.8	5.04

2.3 消解动态试验结果

由图 1、图 2、表 2 可见,在天津市试验点,抑霉唑在苹果和土壤中的原始沉积量分别为 0.346、2.023 mg/kg,残留量均随时间推移逐渐下降,施药后 35 d 的消解率均在 91% 以上,在苹果和土壤中的残留消解半衰期分别为 10.2、8.0 d;在山东省试验点,抑霉唑在苹果和土壤中的原始沉积量分别为 0.180、0.311 mg/kg,残留量均随时间推移逐渐下降,施药后 35 d 的消解率均在 90% 以上,在苹果和土壤中的残留消解半衰期分别为 10.2、10.5 d;在陕西省试验点,抑霉唑在苹果和土壤中的原始沉积量分别为 0.352、0.030 mg/kg,残留量均随时间推移逐渐下降,施药后 35 d 的消解率均在 90% 以上,在苹果和土壤中的残留消解半衰期分别为 14.8、14.2 d。

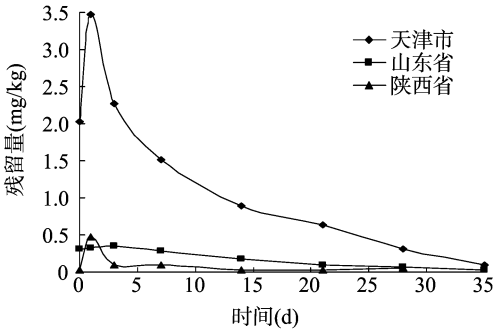


图2 抑霉唑在土壤中的消解动态

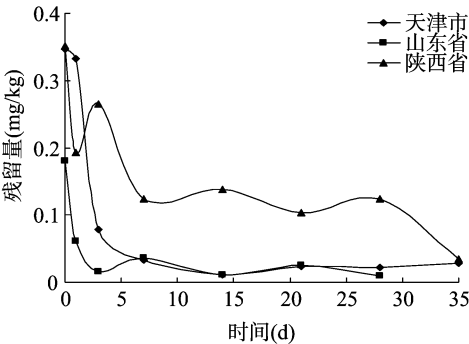


图1 抑霉唑在苹果中的消解动态

从消解动态试验结果可以看出,天津市、山东省、陕西省试验点抑霉唑在苹果、土壤中的消解速率均呈现依次变慢的趋势,这可能是由 3 地所处的地理位置不同而导致的气候差异所致。

2.4 最终残留试验结果

10% 抑霉唑水乳剂在苹果上的施药剂量分别为低剂量

表 2 抑霉唑在苹果、土壤中的消解动力学参数

样品	试验地点	动力学方程	相关系数 (r)	半衰期 (d)
苹果	天津市	$C_t = 0.130\ 3e^{-0.068t}$	0.700 9	10.2
	山东省	$C_t = 0.059\ 4e^{-0.068t}$	0.707 8	10.2
	陕西省	$C_t = 0.261\ 5e^{-0.047t}$	0.872 5	14.8
土壤	天津市	$C_t = 2.941\ 3e^{-0.087t}$	0.976 4	8.0
	山东省	$C_t = 0.386\ 5e^{-0.066t}$	0.983 5	10.5
	陕西省	$C_t = 0.104\ 8e^{-0.049t}$	0.496 5	14.2

500 倍稀释液和高剂量 333 倍稀释液,在苹果生长中期开始第 1 次施药,各设 3、4 次施药处理区,2 次施药间隔为 10 d。距最后 1 次施药 7、14、21 d 时,抑霉唑在苹果中的最终残留量低于 0.361 mg/kg;在距最后 1 次施药 14 d 时,抑霉唑在苹果中的最终残留量低于 0.185 mg/kg;在距最后 1 次施药 21 d 时,抑霉唑在苹果中的最终残留量低于 0.153 mg/kg。距最后 1 次施药 7 d 时,抑霉唑在土壤中的最终残留量为 0.093~1.779、0.020~1.625、0.032~0.823 mg/kg。

李乃伟,束晓春,彭 峰. 紫杉醇提取方法和曼地亚红豆杉 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 江苏农业科学,2015,43(4):296-298.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.107

紫杉醇提取方法和曼地亚红豆杉 HPLC 指纹图谱的研究

李乃伟,束晓春,彭 峰

(江苏省中国科学院植物研究所/南京中山植物园,江苏南京 210014)

摘要:为考察不同提取方法和 HPLC 检测方法对紫杉醇 HPLC 检测图谱的影响,采用 4 种不同提取方法对曼地亚红豆杉枝叶中的紫杉醇进行粗提,并通过 3 种不同的 HPLC 检测方法对粗提物进行了检测。通过 HPLC 检测图谱的比较,确立了曼地亚红豆杉枝叶中紫杉醇的粗提方法和 HPLC 检测方法。色谱条件:色谱柱为 Curosil-PFP 分析柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);检测波长为 227 nm;流动相为乙腈-水溶液梯度洗脱;流速 2.6 mL/min;分析时间 70 min;柱温为 30 ℃。

关键词:紫杉醇;提取方法;HPLC 检测;曼地亚红豆杉

中图分类号:R284.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)04-0296-03

紫杉醇是红豆杉属(*Taxus*)植物特有的药物成分,在植物体中含量很低,并与多种类似物共存,而且提取时常带有很多色素、树脂等杂质。得率高、重复性好的提取方法和高效液相色谱(HPLC)检测方法,是进行紫杉醇含量调控研究的首要条件。目前,已有很多关于紫杉醇提取纯化的报道^[1-4],然而,这些方法适用于检测纯度较高的紫杉醇成品和半成品,在产业化生产中应用时存在一定缺陷。国内紫杉醇提取往往采用粗提方法,而不采用成本太高的工艺程序。笔者比较了不同提取方法和不同色谱条件对紫杉醇粗提液 HPLC 检测的影响,以期筛选一种简便提取、精确检测紫杉醇的方法。

收稿日期:2014-05-11

基金项目:江苏省农业科技自主创新基金[编号:CX(12)2014]。

作者简介:李乃伟(1983—),男,山东聊城人,硕士,助理研究员,主要从事生物技术研究。E-mail:linaiwei8828@163.com。

3 结论与讨论

本研究采用乙酸乙酯、正己烷混合溶液提取和气相色谱-电子捕获检测器进行检测,方法简单快捷、灵敏度高、重现性好。在天津市西青区、山东省烟台市、陕西省咸阳市开展 10% 抑霉唑水乳剂在苹果中的残留消解动态试验,结果表明抑霉唑在苹果和土壤中的消解半衰期分别为 10.2~14.8、8.0~14.2 d。按照《化学农药环境安全评价试验准则》的评价标准^[7],抑霉唑在苹果、土壤中均属于易降解农药。

按照田间试验设计方案可知,10% 抑霉唑水乳剂在苹果上的施药剂量分别为低剂量 500 倍稀释液和高剂量 333 倍稀释液,在苹果生长中期开始第 1 次施药,各设 3、4 次施药处理区,2 次施药间隔为 10 d,距最后 1 次施药 7、14、21 d 分别采集苹果样品进行残留分析测定,结果表明,抑霉唑在苹果中的最高残留量为 0.361 mg/kg。GB 2763—2014《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》规定,抑霉唑在苹果中的最大残留限量为 5 mg/kg。参照上述标准可知,2010 年在天津市、山东省、陕西省试验点最终残留的试验结果表明抑霉唑

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为江苏省中科院植物所(南京中山植物园)实验苗圃内引种栽培的曼地亚红豆杉。11 月取样,采取当年生枝条,置于 40 ℃ 烘箱 7 d。烘干后粉碎,置于干燥器中密闭保存。

1.2 药品与试剂

紫杉醇提取所用试剂均为分析纯,HPLC 检测所用紫杉醇对照品购自安徽尔塔医药科技有限公司。标准品用甲醇溶解,配成浓度为 0.12 mg/mL 的溶液。

1.3 提取方法

采用 4 种不同方法提取样品材料中的紫杉醇。(1)精确称取样品 5 g,甲醇回流(70 ℃)提取 3 次:第 1 次,100 mL 甲醇,2 h;第 2 次,50 mL 甲醇,1 h;第 3 次,50 mL 甲醇,1 h。将

在苹果中的残留是安全的,并推荐 10% 抑霉唑水乳剂在苹果上的安全间隔期为 7 d。

参考文献:

- [1] 刘尚钟,陈馥衡,李增民. 抑霉唑的合成研究[J]. 农药,1995,34(10):13-14.
- [2] 张敏恒. 新编农药商品手册[M]. 北京:化学工业出版社,2006:610-611.
- [3] 高智席,江忠远,李新发,等. 固相萃取-反相高效液相色谱法测定红毛丹中抑霉唑的残留动态[J]. 食品科学,2012,33(8):188-190.
- [4] 武 婷,刘 波,李 楠. 杀菌剂抑霉唑在梨子中残留动态分析[J]. 分析实验室,2007,26(9):81-83.
- [5] 李 振,叶兴祥,包环玉. 抑霉唑和双胍辛胺在浙江柑桔中的降解与残留[J]. 浙江农业学报,2000,12(6):397-399.
- [6] 农业部农药检定所. NY/T 788—2004 农药残留试验准则[S]. 北京:农业出版社,2004.
- [7] 国家环保局. 化学农药环境安全评价试验准则(续)[J]. 农药科学与管理,1990(4):4-9,3.