

赵方方, 张月, 吕岱竹, 等. 苯醚甲环唑在芒果中的消解动态[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(5): 1177-1181.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2016.05.035

苯醚甲环唑在芒果中的消解动态

赵方方, 张月, 吕岱竹, 谢德芳

(中国热带农业科学院分析测试中心/海南省热带果蔬产品质量安全重点实验室, 海南 海口 571101)

摘要: 为建立苯醚甲环唑在芒果全果和果肉中的残留分析方法, 分析测定了其在云南、海南两地芒果中的残留动态。采用 UPLC-MS/MS 检测, 建立苯醚甲环唑在芒果全果和果肉中的残留分析方法, 测定苯醚甲环唑在云南、海南两地芒果中的残留动态及最终残留。选择乙腈作为提取剂, 优化去簇电压为 125.9 V, 碰撞能量为 32.98 V。在 0.010~0.100 mg/kg 添加范围内, 苯醚甲环唑在芒果全果和果肉中的平均回收率为 79%~95%, 变异系数为 4.4%~8.6%, 方法检出限为 0.001 mg/kg, 定量限为 0.005 mg/kg。苯醚甲环唑在云南和海南两地芒果中的半衰期分别为 13.2 d、10.6 d, 施药后 21 d、28 d、35 d 收获的芒果中苯醚甲环唑残留量均低于 0.070 mg/kg, 低于国家标准限定的残留值。该方法准确度高, 灵敏度高, 线性良好, 可以用于芒果上苯醚甲环唑的残留检测。

关键词: 苯醚甲环唑; 芒果; 超高效液相色谱-串联质谱; 消解; 残留

中图分类号: S667.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2016)05-1177-05

Degradation dynamics of difenoconazole in mango

ZHAO Fang-fang, ZHANG Yue, LYU Dai-zhu, XIE De-fang

(Analysis & Testing Center, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences/Hainan Provincial Key Laboratory of Quality and Safety for Tropical Fruits and Vegetables, Haikou 571101, China)

Abstract: A method in which acetonitrile was selected as extraction agent, declustering potential voltage was optimized to 125.9 V, and collision energy was set at 32.98 V, was developed for the determination of difenoconazole residue in mango fruit and flesh by UPLC-MS/MS. Difenoconazole residues in the mango from Yunnan and Hainan were detected. The recoveries of difenoconazole in mango fruit and flesh ranged from 79% to 95% at three spike levels from 0.010 mg/kg to 0.100 mg/kg, with the relative standard deviations of 4.4% to 8.6%. The lowest detection limit for difenoconazole was 0.001 mg/kg, and the limit of quantification was 0.005 mg/kg. The half-lives of mango were 13.2 d in Yunnan, and 10.6 d in Hainan, respectively. The residue of difenoconazole was less than 0.07 mg/kg in mango 21 d, 28 d and 35 d post application. The method shows high accuracy, high sensitivity and good linearity for the detection of difenoconazole residue.

Key words: difenoconazole; mango; UPLC-MS/MS; degradation; residue

苯醚甲环唑(Difenoconazole)是一种三唑类杀菌剂^[1-2], 具有杀菌范围广, 内吸性强等特点, 现已

广泛应用于蔬菜、豆类、水果等作物上的真菌病害防治, 且具有较好的防治效果^[3-5]。但由于该药直接喷洒于果实表面, 经食用后直接进入人体, 严重危害人体健康^[6]。中国规定苯醚甲环唑在芒果中的 MRL(最大残留限量)要低于 0.070 mg/kg(GB 2763-2014)。

目前, 苯醚甲环唑的测定主要采用液相色谱法^[7-8]、气相色谱法^[9-10]、气相色谱-质谱联用法^[11]

收稿日期: 2016-01-25

基金项目: 农业部农药残留试验项目(2014F417); 国家农产品质量安全风险评估计划项目(GJFP2015001)

作者简介: 赵方方(1987-), 女, 山东邹城人, 硕士, 助理研究员, 主要从事农药残留检测与农产品质量安全研究。(Tel) 18876175372; (E-mail) zhaofangfang@163.com。

和液相色谱-串联质谱法^[12-13]。其中,色谱质谱联用法因具有快捷、准确度高、灵敏度高等特点,越来越受到检测分析人员的青睐。但是由于苯醚甲环唑沸点较高,采用气相色谱-质谱联用法测定时需要较高温度(300 ℃左右)才能出峰,易产生严重的柱流失现象,导致灵敏度较差^[14]。同时,目前关于苯醚甲环唑的研究主要集中在香蕉^[15-16]、苹果^[2]、芹菜^[1]、西瓜^[17]等作物上,而在芒果中的残留消解行为尚未见文献报道。鉴于此,本研究建立了苯醚甲环唑在芒果中残留及消解动态的超高效液相色谱-串联质谱分析方法,并在云南和海南两地进行了田间试验,以期评价苯醚甲环唑在芒果上的安全使用,为该药的科学合理使用提供理论依据,同时也为苯醚甲环唑在芒果上的农药登记提供重要参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

超高效液相色谱-串联质谱仪(美国 AB SCIEX 公司),T18 高速均质机(德国 IKA 集团),Hitachi 高速冷冻离心机 Himac CR 22N(日立),PSA 离心管:900 mg MgSO₄+150 mg PSA(Waters 沃特世),苯醚甲环唑标准品(德国 Dr.Eh-renstorfer GmbH 公司),甲醇、乙腈、二氯甲烷、丙酮均为色谱纯,氯化钠(140 ℃烘烤 4 h)。试验药剂:30%苯醚甲环唑悬浮剂。田间试验芒果品种:海南台农芒,云南象牙芒。海南试验地点:海口市;云南试验点:昆明市。标准储备液:准确称取苯醚甲环唑标准品 0.01 g 于 10 ml 容量瓶中,用甲醇溶解定容至 1 000 μg/ml,0~4 ℃保存。

1.2 试验方法

1.2.1 样品分析 准确称取 10.0 g 待测试样于 50 ml 离心管中,加入 20 ml 乙腈丙酮、二氯甲烷,匀浆 2 min,8 000 r/min 离心 5 min,取上清液 20 ml 倒入 50 ml 离心管中(预先加入 10.0 g 烧过的 NaCl),漩涡混匀 1 min,8 000 r/min 离心 5 min。取上清液 10 ml 加入到装有 PSA 和无水 MgSO₄ 的离心管中,漩涡混匀 1 min,8 000 r/min 离心 5 min,取上清液 5 ml,过 0.22 μm 有机相滤膜,UPLC-MS/MS 测定。

1.2.2 色谱-质谱检测条件

1.2.2.1 色谱条件 液相色谱柱:ACQUITY UPLC® BEH C18 (2.1 mm×100.0 mm, 1.7 μm);

柱温 35 ℃;流动相:乙腈-水;流速:0.25 ml/min;进样量 5 μl。梯度洗脱程序见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program of the mobile phase

时间(min)	乙腈:水(体积比)
0	10:90
3.0	90:10
5.0	90:10
5.2	10:90
7.0	10:90

1.2.2.2 质谱条件 质谱条件:电喷雾正离子模式扫描(ESI⁺),多反应监测(MRM)。喷雾电压 5 500 V,喷雾针温度 650 ℃,雾化气压 3.79×10⁵ Pa,辅助加热气压 3.79×10⁵ Pa,气帘气压 1.38×10⁵ Pa,碰撞气压 4.14×10⁴ Pa。射入电压 10 V。监测离子母离子(406.3)、定量离子 251.0、定性离子 337.0。对去簇电压和碰撞能量进行优化。

1.2.3 准确度和精密度的测定 量取一定体积的苯醚甲环唑标准溶液加入芒果全果和果肉空白样品中,制得对应质量浓度分别为 0.010 mg/kg、0.050 mg/kg、0.100 mg/kg 的 3 个添加水平,按方法 1.2.1 进行样品前处理,按方法 1.2.2 条件进行检测,每个添加水平试验 5 次,计算回收率及相对标准偏差(表 2)。

1.2.4 田间试验设计

1.2.4.1 消解动态试验 采取一次施药多次取样的方式进行试验。以推荐剂量(250 mg/kg, a.i)的 1.5 倍对芒果均匀喷雾 1 次,芒果每小区喷 3 株,3 次重复,对照喷施清水,施药后 0 d、1 d、3 d、7 d、14 d、21 d、28 d、42 d、60 d 取样待测。

1.2.4.2 最终残留试验 以推荐剂量(250 mg/kg, a.i)、1.5 倍推荐剂量(375 mg/kg, a.i)分别施药 3 次、4 次,施药间隔 10 d。每小区喷 3 株芒果,3 次重复,对照区喷施清水,末次施药后 21 d、28 d、35 d 分别采集全果和果肉样品待测。

1.2.4.3 样品的制备 随机采集芒果树上不同方向及上、中、下、里、外等不同部位已着药的芒果个体,计数和称质量后,将全果匀浆混匀(果肉:用刀具和刮刀取出果肉匀浆),四分法缩分后取 250 g 样品,于-20 ℃冰箱冷冻保存。

表2 芒果全果及果肉样品中添加苯醚甲环唑的回收率及相对标准偏差 ($n=5$)Table 2 Recoveries and RSD of difenoconazole spiked in the whole fruit and flesh ($n=5$)

样品名称	苯醚甲环唑添加浓度 (mg/kg)	回收率 (%)						变异系数 (%)
		I	II	III	IV	V	平均	
全果	0.01	91	93	93	95	84	91	4.5
	0.05	99	100	97	91	91	95	4.4
	0.10	87	89	99	97	92	93	5.5
果肉	0.01	82	72	86	82	71	79	8.6
	0.05	79	85	74	83	83	81	5.4
	0.10	88	88	94	98	105	95	7.3

2 结果与分析

2.1 提取条件的选择

苯醚甲环唑易溶于有机溶剂,实验室常用的乙腈、丙酮和二氯甲烷3种溶剂对苯醚甲环唑都有一

定的提取效率。但由于二氯甲烷沸点较低,对环境 and 实验人员影响较大;丙酮毒性低,但共萃物较多,因此,选择乙腈作为提取溶剂。

2.2 检测条件的选择

苯醚甲环唑是极性较强的物质,适合采用反相液相色谱分离。本研究采用 ACQUITY UPLC® BEH C18 柱进行检测;对影响定量离子响应值和灵敏度的关键质谱参数去簇电压和碰撞能量进行优化(图1),固定碰撞能量调整去簇电压时,当去簇电压为 125.9 V 时,离子响应值最大,灵敏度最高。此时固定去簇电压为 125.9 V,调整碰撞能量,使得离子的响应值最大,当碰撞能量为 32.98 V 时,定量离子获得较强的分子离子峰强度,再增加碰撞能量未见明显增加,所以选择去簇电压为 125.9 V,碰撞能量为 32.98 V 为定量离子的最佳质谱参数。此时目标物在 4.05 min 出峰,保留时间适中,峰形及分离度良好。苯醚甲环唑基质标准溶液(0.050 $\mu\text{g/ml}$)优化后的总离子流及定量离子流见图2。

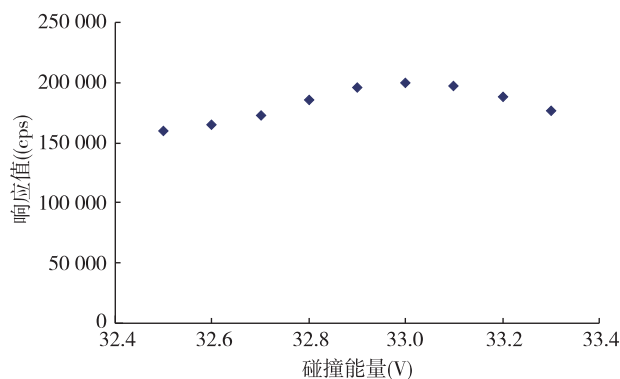
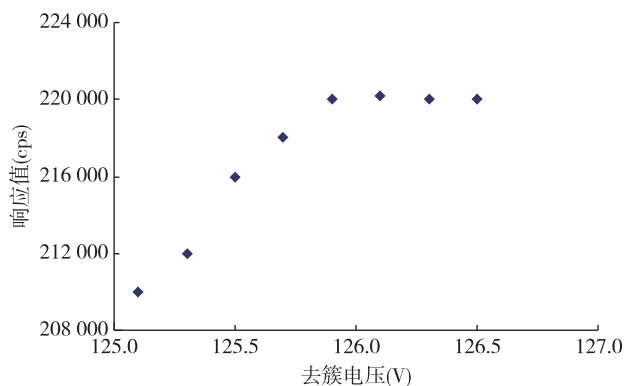


图1 去簇电压(左)和碰撞能量(右)的优化

Fig.1 The optimization of the declustering potential voltage (left) and the collision energy (right)

2.3 标准曲线及线性范围

在质量浓度为 0.005 ~ 0.050 $\mu\text{g/ml}$ 时,以峰面积 Y 为纵坐标,以相应标准液的质量浓度 x ($\mu\text{g/ml}$) 为横坐标绘制标准曲线。苯醚甲环唑标准曲线回归方程为: $Y = 2e + 7x + 20\,025$, 相关系数为 0.996 7。

2.4 方法准确度、精密度及灵敏度

2.4.1 准确度及精密度 由表3可知,3个添加水平在芒果全果中平均回收率为 91% ~ 95%, 变异系数为 4.4% ~ 5.5%, 在果肉中平均回收率为 79% ~ 95%, 变异系数为 5.4% ~ 8.6%。回收率以及相对

标准偏差均在农药残留试验准则允许范围内^[18]。方法的重复性好,可满足残留分析的要求。

2.4.2 灵敏度 在芒果空白样品中添加一定量的苯醚甲环唑标准溶液,提取定量离子流色谱图,以3倍信噪比时所对应的样品质量浓度计算,苯醚甲环唑方法检出限为 0.001 mg/kg;按10倍信噪比时所对应的样品质量浓度计算,芒果中苯醚甲环唑方法定量限为 0.005 mg/kg,灵敏度符合苯醚甲环唑农药残留量分析要求。

2.5 苯醚甲环唑在芒果中的消解动态

按照方法 1.2.4.1 进行施药,同步采集样品进行

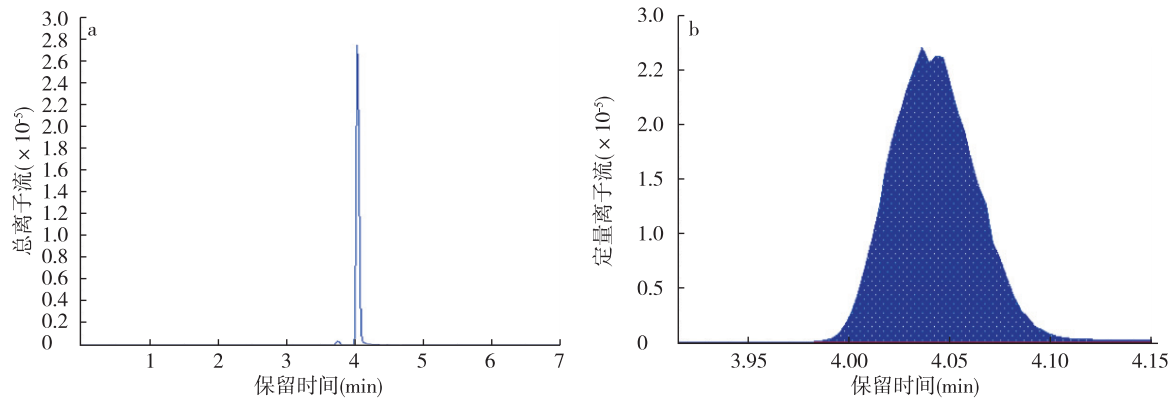


图2 苯醚甲环唑标准品的总离子流图(左)及定量离子流图(右)
Fig.2 Total ion (left) and quantitative ion chromatogram (right) of difenoconazole

测定,云南和海南两地的苯醚甲环唑降解曲线见图3。从图3中可以看出,苯醚甲环唑在芒果中的消解规律符合一级动力学模型,云南芒果为 $Y=0.499\ 9e^{-0.052\ 6x}$, $R^2=0.844\ 0$, $T_{1/2}=13.2\ d$;海南芒果为 $Y=0.572\ 0e^{-0.065\ 1x}$, $R^2=0.867\ 0$, $T_{1/2}=10.6\ d$ 。施药后60 d,苯醚甲环唑在云南、海南两地芒果上的降解率分别为97.5%和99.0%(表3)。

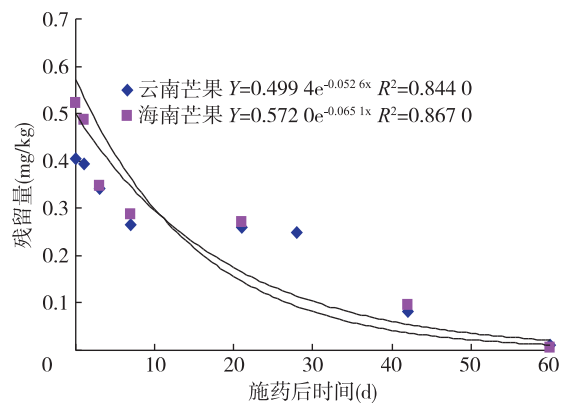


图3 苯醚甲环唑在芒果中的消解曲线
Fig.3 Degradation curve of difenoconazole in mango

2.6 苯醚甲环唑在芒果全果和果肉中的最终残留
芒果全果和果肉中苯醚甲环唑的最终残留量见表4和表5。由表4可知,在最后1次施药后21 d、28 d和35 d时,苯醚甲环唑在云南芒果和海南芒果全果及果肉中的残留量均小于0.070 mg/kg,而GB 2763-2014中规定苯醚甲环唑在芒果中的最大残留限量为0.070 mg/kg,因此收获芒果时距末次喷药21 d、28 d、35 d均安全。

表3 苯醚甲环唑在芒果中的消解动态
Table 3 The difenoconazole residue detected in mango

时间 (d)	云南芒果		海南芒果	
	残留量 (mg/kg)	消解率 (%)	残留量 (mg/kg)	消解率 (%)
0	0.406	0	0.521	0
1	0.395	2.7	0.488	6.3
3	0.342	15.8	0.346	33.6
7	0.266	34.5	0.287	44.9
14	0.050	/	0.467	/
21	0.259	36.2	0.270	48.2
28	0.250	38.4	0.273	/
42	0.081	80.0	0.096	81.6
60	0.010	97.5	0.005	99.0

/表示舍弃的数值。
表4 苯醚甲环唑在云南芒果全果和果肉中的最终残留量
Table 4 The difenoconazole residue in the whole Yunnan mango fruit and flesh

样品	喷药量 (mg/kg, a.i)	喷药 次数	残留浓度(mg/kg)		
			21 d	28 d	35 d
全果	250	3	ND	ND	ND
	250	4	ND	ND	ND
	375	3	0.034 0	0.015 0	0.034 0
	375	4	0.051 0	0.043 0	0.067 0
果肉	250	3	ND	ND	ND
	250	4	ND	ND	ND
	375	3	0.002 0	0.000 4	0.000 3
	375	4	0.001 0	0.003 0	0.001 0

ND为未检出。

表 5 苯醚甲环唑在海南芒果全果和果肉中的最终残留量

Table 5 The difenoconazole residue in the whole Hainan mango fruit and flesh

样品	喷药量 (mg/kg, a.i)	喷药 次数	残留浓度 (mg/kg)		
			21 d	28 d	35 d
全果	250	3	ND	ND	ND
	250	4	ND	ND	ND
	375	3	0.030	0.051	0.023
	375	4	0.039	0.042	0.025
果肉	250	3	ND	ND	ND
	250	4	ND	ND	ND
	375	3	0.010	0.008	ND
	375	4	0.007	0.010	ND

ND 为未检出。

3 结 论

本研究通过对检测条件的优化,建立了芒果全果和果肉中苯醚甲环唑残留及消解动态的超高效液相色谱-串联质谱检测方法。选择乙腈作为提取溶剂,在饱和 NaCl 溶液的存在的前提下可增强其离子化效应,使其与水更好更快分层,同时也使农药目标物更完全地溶于乙腈中,除去溶于水的一部分干扰杂质。

在设定的色谱质谱条件下,样品的方法检出限为 0.001 mg/kg,样品平均添加回收率为 79%~95%,变异系数为 4.4%~8.6%,方法的灵敏度、精密度和回收率均符合农药残留分析的要求。参照国家芒果中苯醚甲环唑的残留限量标准,本方法完全适用于芒果中苯醚甲环唑残留分析。

苯醚甲环唑在云南和海南两地芒果中的半衰期分别为 13.2 d 和 10.6 d。在云南和海南两地芒果中的最终残留结果表明,按推荐剂量和 1.5 倍推荐剂量,对芒果进行 3 次和 4 次喷药,末次施药后 21 d、28 d、35 d 采样,在芒果及果肉中苯醚甲环唑的残留量均小于 0.070 mg/kg。

参考文献:

- [1] 初春,王志华,秦冬梅,等.苯醚甲环唑在芹菜及其土壤中的残留测定和消解动态研究[J].中国科学:化学,2011,41(1):129-135.
- [2] 仇微.苯醚甲环唑在苹果果实及土壤中的残留分析[D].保定:河北农业大学,2013.
- [3] 刘纲华.苯醚甲环唑在几种果蔬中的残留降解行为研究[D].长沙:湖南农业大学,2012.
- [4] 杨敬辉,陈宏州,肖婷,等.14种杀菌剂对葡萄炭疽病菌的毒力测定[J].江苏农业科学,2014,42(12):163-166.
- [5] 杨桐.苯醚甲环唑在大白菜、菜豆、葡萄及土壤中的残留测定和消解动态研究[D].北京:北京化工大学,2008.
- [6] 潘晓威,谢艳丽,张宇,等.气相色谱法测定芒果中的苯醚甲环唑残留[J].广东农业科学,2014(3):112-114.
- [7] 王二琼.30%苯醚甲环唑·丙环唑乳油的反相高效液相色谱测定[J].安徽化工,2014,40(6):81-83.
- [8] 周凌云,王素芬.高效液相色谱法测定废水中苯醚甲环唑的含量[J].光谱实验室,2010,27(6):2211-2214.
- [9] 殷德荣,冯德富,钟国海,等.GC-μECD测定鲜食毛豆中苯醚甲环唑残留的研究[J].中国卫生检验杂志,2014,24(4):481-482.
- [10] 吴曼,陈九星,付启明,等.气相色谱法测定芦笋及其土壤中的苯醚甲环唑残留量[J].精细化工中间体,2009,39(6):71-76.
- [11] 薄海波.水果和蔬菜中苯醚甲环唑残留量的气相色谱-串联质谱测定方法研究[J].青海师范大学学报(自然科学版),2014,30(1):56-59,66.
- [12] 安晶晶,刘新刚,董丰收,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定土壤、蔬菜及水果中苯醚甲环唑和丙环唑残留[J].农药,2009,48(7):506-508.
- [13] 张新忠,罗逢健,陈宗懋,等.超高效液相色谱串联质谱法测定茶叶、茶汤和土壤中氟环唑、茚虫威和苯醚甲环唑残留[J].分析化学,2013,41(2):215-222.
- [14] 王远,邢丽杰,郝家勇,等.高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中苯醚甲环唑的残留量[J].食品科学,2011,32(18):296-299.
- [15] 张学强,陈歆,韩丙军.气相色谱法测定香蕉和土壤中苯醚甲环唑残留[J].热带农业科学,2011,31(7):60-62,92.
- [16] 韩丙军,林靖凌,何秀芬.不同剂型苯醚甲环唑在香蕉中的残留消解动态[J].江苏农业科学,2015,43(3):279-280,304.
- [17] 王华栋,陈锦辉. SPE-GC/ECD测定西瓜中的苯醚甲环唑残留[J].安徽农业科学,2009,37(28):13448-13449.
- [18] 农药残留试验准则:NY/T 788-2004[S].

(责任编辑:陈海霞)