

李丛荻, 李薇, 李莉, 等. 啞菌环胺在苹果中的残留消解及膳食风险评估[J]. 农药, 2017, 56(2): 125-128.

啞菌环胺在苹果中的残留消解及膳食风险评估

李丛荻^{1,2}, 李薇¹, 李莉¹, 汤丛峰¹, 何裕建^{2,3}, 袁龙飞¹

(1.中国科学院动物研究所 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室 北京 100101 2.中国科学院大学 化学与化工学院, 北京 101408 3.北京大学 天然药物及仿生药物国家重点实验室 北京 100191)

摘要 [目的]研究啞菌环胺在苹果中的消解动态和残留变化,评价其膳食摄入风险。[方法]样品经乙腈超声提取,固相萃取柱净化,气相色谱-质谱仪检测。[结果]在0.01~2 mg/kg的加标量范围中,平均回收率为81.0%~88.4% 相对标准偏差(RSD)为2.4%~5.5%,定量限(LOQ)为0.01 mg/kg。在北京和安徽2地半衰期分别为26、35 d 3个采收间隔期(14、21、28 d)的最终残留结果均低于国际食品法典的最大残留限量。[结论]参照国际食品法典规定的最大残留限量(MRL)标准2 mg/kg,膳食风险评估结果表明按推荐方法使用,啞菌环胺残留风险较低,间隔21 d后的苹果是相对安全的。

关键词 啞菌环胺;消解动态;残留;苹果;风险评估

中图分类号:TQ450.2 文献标志码:A 文章编号:1006-0413(2017)02-0125-04

Dissipation, Residue and Dietary Risk Assessment of Cyprodinil in Apple

LI Cong-di^{1,2}, LI Wei¹, LI Li¹, TANG Cong-feng¹, HE Yu-jian^{2,3}, YUAN Long-fei¹

(1.State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; 2.School of Chemistry and Chemical Engineering, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 101408, China; 3.State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Peking University, Beijing 100191, China)

Abstract: [Aims] The dissipation dynamic and residue of cyprodinil in apple were investigated, and the safety of application of cyprodinil on apple and dietary risk assessment was evaluated. [Methods] The samples were ultrasound-assisted extracted with acetonitrile, purified by SPE, and determined by gas chromatography-mass spectrometer. [Results] At the fortified levels of 0.01-2 mg/kg, the average recoveries ranged from 81.0 to 88.4%, with the relative standard deviations (RSD) of 2.4-5.5%. The limit of quantification (LOQ) was 0.01 mg/kg. The half-lives ($t_{1/2}$) in apple from Beijing and Anhui were 26 and 35 d, respectively. The final residues of cyprodinil in apple at 14, 21 and 28 d after the last application were lower than the MRL value set by CAC. [Conclusions] The cyprodinil residue in apple harvested at 21 d after the final application was below the maximum residue limit set by CAC (MRL, 2 mg/kg). The results of dietary risk assessment indicates that the apple is relative safe to human after the interval of 21 days by recommended method.

Key words: cyprodinil; dissipation dynamic; residue; apple; risk assessment

啞菌环胺(cyprodinil),化学名称为4-环丙基-6-甲基-N-苯基啞啉-2-胺,为啞啉胺类内吸性杀菌剂,可迅速被植物叶片吸收,具有保护、治疗、叶片穿透及根部内吸活性的功能^[1-2]。主要用于防治灰霉病、白粉病、黑星病、网斑病、颖枯病以及小麦眼、纹病等,适宜作物包括小麦、大麦、葡萄、草莓、果树、蔬菜、观赏植物等^[3-4]。目前,国际食品法典(Codex Alimentarius Commission, CAC)、欧盟规定啞菌环胺在苹果中的最大残留限量为2 mg/kg;

韩国为1 mg/kg,美国为1.7 mg/kg,日本为5 mg/kg,澳大利亚为0.05 mg/kg,国内尚未制定啞菌环胺在苹果中的最大残留限量标准。因此,通过农药田间规范残留试验研究啞菌环胺在苹果中的残留水平及消解动态对于制定我国啞菌环胺在苹果中的残留限量标准具有重要意义。

目前,国内外常用气相色谱^[5-6]、高效液相色谱^[7]、气质联用^[8-9]、液质联用^[10]等分析方法检测啞菌环胺的残留,相关研究主要集中于葡萄、草莓、人参等^[11-13],尚未见啞

收稿日期 2016-09-01,修返日期 2016-11-12

基金项目 国家自然科学基金(31501667, 21272263),国家重点研发计划子课题(2016YFD0201200, 2016YFD0201207),北京大学天然药物及仿生药物国家重点实验室开放基金(K20140204),中国科学院大学课题基金(O8JT011J01)

作者简介 李丛荻(1992—),女,硕士研究生。

通讯作者 袁龙飞(1986—),男,助理研究员,博士,主要研究方向为农药残留分析与食品安全。Tel: 010-64807261, E-mail: yuanlongfei@ioz.ac.cn。

何裕建(1963—),男,教授,博士,主要研究方向为有机与生物分析化学。Tel: 010-88256141, E-mail: heyujian@ucas.ac.cn。

菌环胺在苹果中残留水平及消解动态、膳食风险评估方面的相关报道。本文建立了一种有效测定啞菌环胺在苹果中残留量的分析方法,研究了啞菌环胺在苹果上的残留及消解变化趋势,并对可能摄入的啞菌环胺残留量进行风险评估,为制定其在苹果上的最大残留限量标准提供了科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Agilent 5977A气相色谱-质谱仪;Agilent 7890A气相色谱仪;IKA T18均质器;昆山KQ-600型超声波清洗器;EYELA OSB-2000型旋转蒸发仪;SC-3612台式低速离心机;HC-C₁₈固相萃取柱(2 g/10mL)、氨基柱(500 mg/3mL),上海安谱实验科技股份有限公司提供。

啞菌环胺标准品(纯度99%)、环氧七氯标准品(内标物,纯度99%),Dr. Ehrenstorfer GmbH公司;乙腈,色谱纯。

1.2 供试材料

供试药剂:50%啞菌环胺可湿性粉剂;试验作物:苹果(北京为富士、安徽为乔纳金、山东为红香蕉、辽宁为金冠、河南为瓦力、宁夏为红富士);试验地点:北京市昌平区、安徽省宿州市为消解动态试验基地,北京市昌平区、安徽省宿州市、山东省淄博市、河南省新乡市、宁夏回族自治区银川市、辽宁省兴城市为最终残留试验基地。

1.3 施药方法

推荐施药剂量:125~187.5 mg a.i./kg;施药方法:喷雾;施药次数:3、4次;施药间隔:10 d;安全间隔期:21 d。

1.4 田间试验设计

苹果消解动态按控制剂量稀释至187.5 mg a.i./kg于苹果生长至半大时喷雾施药1次,于施药后2 h,1、3、5、7、10、14、21、30、45 d采样。

最终残留:设2个施药剂量,低剂量按控制剂量稀释至125 mg a.i./kg,高剂量按控制剂量稀释至187.5 mg a.i./kg。各设3次和4次施药,施药间隔期为10 d,每个处理重复3次,每小区2棵树,采样时间距离最后1次喷药的间隔时间为14、21、28 d,分别采集苹果样品。另设清水空白对照。处理间设保护带。

1.5 分析方法

1.5.1 标准工作液的配制

准确称取啞菌环胺标准品,用丙酮溶解并逐级稀释配制成质量浓度为0.1、0.2、0.5、1.0、1.5、2 mg/L系列标准溶液,在下述色谱条件下进行测定。

1.5.2 提取与净化

在冷冻状态下用碎冰机粉碎苹果样品,称取20 g于100 mL离心管中,加入40 mL乙腈,用均质器在15 000 r/min

匀浆提取1 min,加入5 g氯化钠,再匀浆提取1 min,3000 r/min离心5 min,取上清液20 mL于50 mL离心管中,待净化。将HC-C₁₈柱用10 mL乙腈预淋洗后,移入20 mL提取液,并用15 mL乙腈洗脱,收集全部流出物,40 °C旋蒸浓缩至约1 mL,待进一步净化。氨基柱用4 mL乙腈-甲苯(体积比3:1)预淋洗弃去,将浓缩液转移至柱上,再每次用2 mL乙腈-甲苯(体积比3:1)3次洗涤样液瓶,并将洗涤液移入柱中;用25 mL乙腈-甲苯(体积比3:1)洗脱,收集全部流出物,40 °C旋蒸浓缩至约0.5 mL。每次加入5 mL重蒸石油醚在40 °C水浴中旋蒸,进行溶剂交换2次,蒸干,重蒸石油醚定容至1 mL,加入40 μL内标溶液,混匀,待气相色谱-质谱测定。

1.5.3 气相色谱-质谱仪色谱条件

色谱柱:DB-1701(30 m×0.25 mm×0.25 μm);色谱柱温度程序:130 °C保持1 min,再以10 °C/min升温至270 °C,保持5 min;载气:氦气(纯度≥99.999%);流量:0.738 mL/min;进样口温度:290 °C;进样量:1 μL,无分流进样;电子轰击源:70 eV;GC-MS接口温度:230 °C;选择离子检测:环氧七氯内标定量离子:353 m/z;啞菌环胺定量离子:224 m/z;定性离子:225、210 m/z。

1.6 膳食摄入风险评估

依据《中国不同人群消费膳食分组食谱》和权威参考资料中的膳食结构数据,结合规范残留试验中值,计算啞菌环胺的估算每日摄入量,计算公式如下^[14-15]:

$$NEDI = \sum [STMR_i \text{ (或 } STMR - P_i) \times F_i] / bw \quad (1)$$

式中:NEDI指国家估计每日摄入量(mg/kg bw);STMR_i为第*i*类初级食用农产品的规范试验残留中值(mg/kg);STMR-P_i为第*i*类加工食用农产品的规范试验残留中值(mg/kg);F_i为第*i*类食用农产品的消费量(kg/d);bw为人群平均体质量(kg)。

啞菌环胺的慢性摄入风险用国家估计每日摄入量占每日允许摄入量(ADI)的百分率表示,计算公式如下:

$$RQ(\%) = (NEDI/ADI) \times 100 \quad (2)$$

式中:RQ为农药的慢性膳食摄入风险商值(%);ADI为每日允许摄入量(mg/kg bw)。

当RQ≤100%时,表示慢性风险可以接受,RQ越小,风险越小;当RQ>100%时,表示有不可接受的慢性风险,RQ越大,风险越大^[16]。

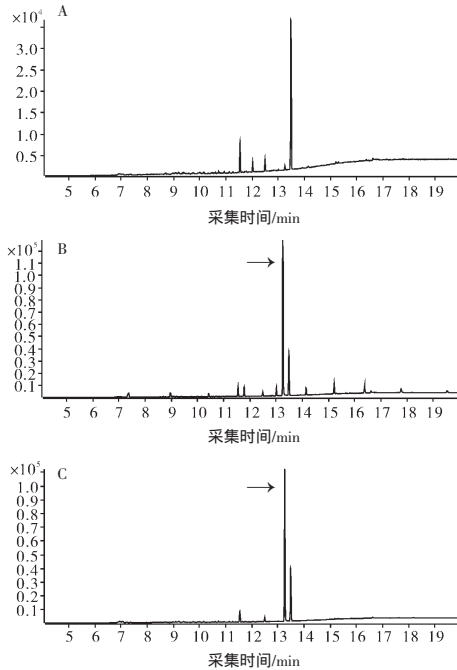
2 结果与讨论

2.1 方法线性范围、回收率和定量限

以啞菌环胺峰面积(*y*)和啞菌环胺标准溶液浓度(*x*)绘制溶剂及基质标准曲线,在0.01~5 mg/kg的线性范围内,方程为 $y = 118.22x + 1.1151$,相关系数 $r^2 = 0.9999$,呈良好的

线性关系。

分别在空白苹果样品中添加啉菌环胺标准溶液进行添加回收率试验,添加水平分别为0.01、0.1、2 mg/kg。每个水平重复5次。啉菌环胺在苹果中的平均回收率为81.0%~88.4%,相对标准偏差(RSD)为2.4%~5.5%,定量限(LOQ)为0.01 mg/kg,上述结果表明该方法具有良好的准确度和精密度^[17]。啉菌环胺的保留时间为13.25 min,其在苹果中的添加回收样品典型色谱图如图1所示;平均添加回收率及相对标准偏差结果见表1。



A为啉菌环胺苹果空白样品 B为啉菌环胺苹果基质标准品1 mg/L, C为啉菌环胺苹果添加0.1 mg/kg。

图1 啉菌环胺标准品及苹果样品色谱图

表1 苹果中啉菌环胺的添加回收率 (n=5)

| 添加水平/(mg·kg ⁻¹) | 平均回收率/% | 相对标准偏差(RSD)/% |
|-----------------------------|---------|---------------|
| 0.01 | 81.0 | 5.5 |
| 0.1 | 83.4 | 2.4 |
| 2 | 88.4 | 2.7 |

2.2 啉菌环胺在苹果中的消解动态

苹果消解动态按控制剂量稀释至187.5 mg a.i./kg,于苹果生长至半大时喷雾施药1次后,啉菌环胺逐渐消解。啉菌环胺在苹果中的消解符合一级动力学方程,拟合结果见表2。

表2 啉菌环胺在苹果中的消解动态

| 基质 | 地点 | 降解曲线(y=) | 相关系数r | 半衰期(t _{1/2})/d |
|----|----|--------------------------|---------|--------------------------|
| 苹果 | 北京 | 0.18e ^{-0.027t} | -0.9099 | 26 |
| | 安徽 | 0.38e ^{-0.020t} | -0.6332 | 35 |

动态试验结果表明,啉菌环胺的消解符合一级动力学,在北京和安徽苹果上的半衰期分别为26、35 d。已有

文献中,啉菌环胺在葡萄、人参根茎叶中的半衰期分别为12 d^[11]、人参根11.8 d、人参茎15.7 d、人参叶16.5 d^[13]。安徽与北京2地分处温带半湿润季风气候及大陆性季风气候且2地苹果品种不同(其中北京为富士、安徽为乔纳金),因此生长状况不同,啉菌环胺在2地苹果上的半衰期存在一定差异。

2.3 啉菌环胺在苹果中的最终残留

设2个施药剂量,低剂量按控制剂量稀释至125 mg a.i./kg,高剂量按控制剂量稀释至187.5 mg a.i./kg施药。各设3次和4次施药,施药间隔期为10 d,每个处理重复3次,苹果样品采样时间距离最后1次喷药的间隔时间为14、21、28 d,间隔为14 d时测得苹果上的啉菌环胺最终残留量平均值为0.03~0.78 mg/kg,21 d时为0.025~0.74 mg/kg,28 d时为0.022~0.67 mg/kg,结果见表3。

表3 苹果中啉菌环胺的最终残留量

| 采收间隔/d | 施药剂量/(mg a.i.·kg ⁻¹) | 施药次数 | 最终残留量/(mg·kg ⁻¹) | | | | | |
|--------|----------------------------------|------|------------------------------|------|-------|-------|-------|-------|
| | | | 北京 | 安徽 | 山东 | 河南 | 宁夏 | 辽宁 |
| 14 | 125 | 3 | 0.13 | 0.33 | 0.064 | 0.077 | 0.24 | 0.082 |
| | | 4 | 0.24 | 0.50 | 0.15 | 0.12 | 0.35 | 0.030 |
| | 187.5 | 3 | 0.41 | 0.56 | 0.10 | 0.17 | 0.37 | 0.037 |
| | | 4 | 0.40 | 0.78 | 0.075 | 0.26 | 0.77 | 0.060 |
| 21 | 125 | 3 | 0.22 | 0.35 | 0.047 | 0.072 | 0.088 | 0.026 |
| | | 4 | 0.25 | 0.41 | 0.085 | 0.042 | 0.31 | 0.025 |
| | 187.5 | 3 | 0.30 | 0.66 | 0.056 | 0.19 | 0.59 | 0.029 |
| | | 4 | 0.28 | 0.74 | 0.073 | 0.28 | 0.32 | 0.025 |
| 28 | 125 | 3 | 0.22 | 0.25 | 0.022 | 0.052 | 0.070 | 0.039 |
| | | 4 | 0.21 | 0.29 | 0.025 | 0.065 | 0.091 | 0.022 |
| | 187.5 | 3 | 0.28 | 0.67 | 0.061 | 0.13 | 0.32 | 0.054 |
| | | 4 | 0.30 | 0.45 | 0.056 | 0.12 | 0.32 | 0.057 |

最终残留试验结果表明,3个采收间隔期苹果中的啉菌环胺残留量均低于国际食品法典规定的最大残留限量2 mg/kg。

2.4 最终残留量的长期膳食摄入和风险评估

在推荐施药条件下,通过规范农药残留试验采收间隔21 d之后的苹果残留中值0.29 mg/kg,参考2002年中国居民营养与健康现状,我国城乡居民的水果类每日摄入量为0.0457 kg;此外,啉菌环胺登记作物包括水稻,其每日摄入量为0.2399 kg,欧盟参考限量为0.02 mg/kg,啉菌环胺的ADI值采用GB 2763—2014中的0.03 mg/kg bw^[12],我国居民的平均体重为63 kg。根据1.6中公式计算普通人群啉菌环胺的国家估算每日摄入量为0.018 mg/kg bw,占日允许摄入量的1.89%左右,认为啉菌环胺残留对一般人群健康的影响是在一个可接受的风险水平^[15]。

3 结论

本文建立了利用气相色谱-质谱仪检测分析苹果中啉菌环胺的残留方法。该方法快速简单,有良好的准确

度和精密度,可满足我国农药残留试验准则相关要求。研究了噁菌环胺在苹果中的消解动态和最终残留,为该杀菌剂膳食摄入风险评估提供相关依据。吡唑醚菌酯在北京和安徽苹果的半衰期分别为26、35 d,3个采收间隔期的最终残留结果均低于CAC的最大残留限量。膳食风险评估表示,在推荐施药条件下,采收间隔21 d之后的噁菌环胺残留对一般人群健康的影响处于可接受的风险水平。

参考文献:

- [1] FANG Chien-chung, CHEN Fei-yun, CHEN Chang-rong, *et al.* Cyprodinil as an Activator of Aryl Hydrocarbon Receptor[J]. *Toxicology*, 2013, 304: 32-40.
- [2] 李婷. 噁菌环胺标准样品的制备方法[J]. *农药*, 2013, 52(4): 268-270.
- [3] 范文玉, 马韵生. 噁菌环胺[J]. *精细与专用化学品*, 2005, 13(11): 13-14.
- [4] 沈迎春. 噁菌环胺对葡萄灰霉病室内毒力测定和田间药效试验[J]. *农药*, 2010, 49(4): 306-307.
- [5] CABRAS P, ANGIIONI A, GARAU V, *et al.* Pesticides in Fermentative Processes of Wine[J]. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 1999, 47: 3854-3857.
- [6] 潘东, 杨红, 刘贤进. 葡萄中噁菌环胺的气相色谱分析[J]. *江苏农业学报*, 2009, 25(5): 1199-1200.
- [7] 吴琨, 李振, 胡秀卿. 棉花和土壤中咯菌腈残留的分析方法[J]. *浙江农业学报*, 2004, 16(3): 159-161.
- [8] CABRAS P, ANGIIONI A, GARAU V, *et al.* Gas Chromatographic Determination of Cyprodinil, Fludioxonil, Pyrimethanil and Tebuconazole in Grapes, Must and Wine[J]. *Journal of AOAC International*, 1997, 80(4): 867-870.
- [9] OTERO R, RUIZ Y, GRANDE C, *et al.* Solid-phase Microextraction-gas Chromatographic-mass Spectrometric Method for the Determination of the Fungicides, Cyprodinil and Fludioxonil in White Wines[J]. *Journal of Chromatography A*, 2001, 942(2002): 41-52.
- [10] ROMERO R, GARRIDO A, MARTINEZ J L. Multiresidue Method for Fast Determination of Pesticides in Fruit Juices by Ultra Performance Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry[J]. *Talanta*, 2008, 76: 211-225.
- [11] 王冬兰, 简秋, 柯昌杰. 噁菌环胺在葡萄和土壤中的残留规律[J]. *江苏农业学报*, 2013, 29(6): 1463-1467.
- [12] LIU Cong-yun, WANG Su-li, LI Li, *et al.* Dissipation and Residue of Cyprodinil in Strawberry and Soil[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2010, 86: 323-325.
- [13] 崔丽丽, 高洁, 李月茹, 等. 噁菌环胺在人参根茎叶及土壤中的残留动态[J]. *农药*, 2011, 50(9): 668-671.
- [14] 中华人民共和国卫生部, 中华人民共和国农业部. GB 2763—2014. 食品安全国家标准食品中农药最大残留限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [15] 张志恒, 汤涛, 徐浩, 等. 果蔬中吡唑醚菌酯的膳食摄入风险评估[J]. *中国农业科学*, 2012, 45(10): 1982-1991.
- [16] 石凯威, 汤丛峰, 李薇, 等. 新型农药氟啶虫酰胺在苹果中的残留消解及膳食风险评估[J]. *农药*, 2015, 54(9): 674-677.
- [17] 袁龙飞, 李薇, 李莉, 等. 螺螨酯在苹果和土壤中的残留分析及消解动态研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(9): 3449-3454.

责任编辑 李新

“十三·五”期间我国纳米农药等技术将走在世界前列

中国农科院科技管理局局长梅旭荣9日预计,“十三五”时期我国纳米农药等技术将走在世界前列,智慧农业也有望实现重大突破。

经过多年建设和发展,我国农业科技实现了飞速发展,对农业发展的支撑作用不断增强,2015年农业科技贡献率已经超过56%。农业基因组学研究、抗旱作物新品种选育、绿色超级稻培育、禽流感疫苗研制等技术处于世界前列。但从全球整体来看,我国农业科技发展仍停留在少量技术领先、多数平行或略微落后于世界水平的格局,大动物育种等许多核心关键技术研发水平与发达国家差距较大。

面对我国农业发展和农民增收需要科技支撑的重大需求,中国农科院制定“十三五”科学技术发展规划,并于1月9日同时发布其实施方案,明确至“十三五”末期中国农科院将基本建成世界一流科研院所。

按照规划,“十三五”时期将建成6个以上世界级农业科学中心和30个左右国家级农业科学技术中心,攻克一批产业发展急需的重大技术难题,形成并推广应用重大新品种、新技术与新产品500项,构建综合技术生产模式30套,破解产业发展的瓶颈制约。另外,在优势特色学科领域建设50个左右开放的重大公共平台和联合实验室,建立100个左右综合性试验基地与专业性试验基地,成为国内外合作、成果试验示范的重要平台。

梅旭荣说,“十三五”时期,将重点进行农作物遗传改良和新品种培育,推动优质、安全、绿色的产业科技技术,同时在机械化发展上下功夫。还将积极发展大动物育种、健康养殖等畜牧科学技术,以及基于北斗导航的智能作业等前沿技术。