

芒果不同喷药期多菌灵残留量的测定

林玲^{1,2}, 杨春亮^{1,2*}, 查玉兵^{1,2}, 郭宏斌^{1,2}, 曾绍东^{1,2}, 曾日中³ (1. 中国热带农业科学院农产品加工研究所, 广东湛江 524001; 2. 农业部农产品加工质量安全风险评估实验室(湛江), 广东湛江 524001; 3. 中国热带农业科学院橡胶研究所, 海南儋州 571737)

摘要 [目的]建立一种测定芒果果实中多菌灵残留量的高效液相色谱法。[方法]利用高效液相色谱法测定芒果不同喷药时间多菌灵的残留量,外标法定量。[结果]多菌灵农药残留较高,且基本上呈施药后间隔期越短,农药残留越高的趋势。采前7 d多菌灵农药残留达到1.20 mg/kg,间隔期7~30 d多菌灵残留介于0.09~1.20 mg/kg,采前35 d多菌灵残留量为未检出。多菌灵的检出限为0.02 mg/kg,平均回收率在85%~105%,相对标准偏差小于4%。[结论]该方法准确、操作简便、灵敏度高,能满足农药残留分析要求。

关键词 高效液相色谱;多菌灵;芒果

中图分类号 S481+.8 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)27-113-02

Determination of Carbendazim Residue of Different Interval in Mango Fruit by HPLC

LIN Ling^{1,2}, YANG Chun-liang^{1,2*}, ZHA Yu-bing^{1,2} et al (1. Agriculture Products Processing Research Institute, CATAS, Zhanjiang, Guangdong 524001; 2. Laboratory of Agricultural Products Processing Quality and Safety Risk Evaluation, Ministry of Agriculture, Zhanjiang, Guangdong 524001)

Abstract [Objective] The aim was to establish a determination of Carbendazim residue in mango fruit by HPLC. [Method] The Carbendazim residue of different interval in mango fruit was determined by HPLC and external standard method. [Result] There was higher Carbendazim residue in mango fruit, furthermore the shorter spraying interval was, the higher Carbendazim residue was. The residue of Carbendazim reached 1.20 mg/kg in 7 days before harvest; the residues of Carbendazim were between 0.09 mg/kg and 1.20 mg/kg during the interval from 7 days to 30 days; carbendazim residue was not detected in 35 days before harvest. Under the selected conditions, the limit of Carbendazim detection was 0.02 mg/kg, and the average recoveries were 85%–105%, and relative standard deviation was less than 4%. [Conclusion] The method was accurate, simple and sensitive, and could satisfy the demand of pesticide residue analysis.

Key words HPLC; Carbendazim; Mango fruit

芒果是继香蕉之后的世界第二大热带水果,有“热带果王”的美称。截至2009年底,我国芒果栽培总面积达13.11万hm²,产量达89.41万t,种植面积和产量逐年增长。我国已成为世界芒果主产国之一,主要分布在海南、广东、广西、云南、四川攀枝花、福建等地区,是我国热区农民的重要经济来源之一。芒果在田间生长及采后贮运过程中遭受着多种病虫害。迄今为止,国内外已报道可危害芒果的病害就有50多种^[1]。其中,炭疽病是其发生最普遍、危害最严重的一种病害,主要为害芒果叶片、嫩梢、花序和果实。同时,由于其病原菌具有潜伏侵染的特性,会从开花期、幼果期侵入,在侵染果实的过程中以侵染性菌丝体、附着胞和(或)侵入钉等侵染结构在果实表面或表皮内处于潜伏状态,在果实的表面上没有任何病害迹象,至果实贮运期,随着果实的后熟,侵染结构又恢复活动,使果实迅速腐烂,甚至整个果实失去食用价值,造成严重的经济损失。

多菌灵是一种高效、低毒、广谱内吸性苯并咪唑类杀菌剂,兼具防治两重作用,是用于防治炭疽病的理想药剂^[2]。除了农药对病虫害的防治效果外,农药的安全使用问题也日益得到人们的关注,目前,国内外已制定多种农产品中多菌灵残留限量标准,欧盟许多国家和我国相继对蔬菜、水果中的多菌灵最高残留限量进行了规定^[3]。测定多菌灵残留量

的常用检测方法主要有高效液相色谱法和高效液相色谱法-质谱联用法,样品主要集中在蔬菜、水果、茶叶、药材等方面^[4-8]。关于多菌灵在芒果上的残留检测方面的研究目前未见报道。为了对多菌灵在芒果上的安全间隔期进行合理评价,笔者利用高效液相色谱法对芒果不同喷药时间多菌灵的残留量进行了测定,以期在生产上合理施用多菌灵农药提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 99.8%多菌灵标准品,乙腈、甲醇均为色谱纯,二氯甲烷、氯化钠等均为分析纯。50%多菌灵可湿性粉剂:按其说明书介绍的大田施用浓度配制药液。

1.2 方法

1.2.1 溶液的配制。

1.2.1.1 甲醇+二氯甲烷溶液(5+95)。量取5.00 ml甲醇和95.00 ml二氯甲烷,混匀后备用。

1.2.1.2 多菌灵标准储备液。称取10.0 mg多菌灵标准品于25.00 ml容量瓶中,用甲醇溶解并定容,配制成浓度为0.400 mg/ml的标准储备液,于4℃下避光保存。

1.2.1.3 多菌灵标准工作液。量取适量多菌灵标准储备液,用甲醇稀释成适当浓度的多菌灵标准工作液。

1.2.1.4 离子对试剂。吸取7.00 ml磷酸于200.00 ml水中,加入1.0 g 癸烷磺酸钠,溶解,再加入10.00 ml三乙胺,稀释至1 000 ml。

1.2.2 芒果田间喷雾处理。试验地点设在中国热带农业科学院南亚热带作物研究所,选择一片5年以上树龄长势均匀的地块,田间各项管理采用统一标准控制。试验设5个处理,每个处理5棵树,分别于采前35、30、25、20、15、7 d进行

基金项目 中国热带农业科学院橡胶研究所基本科研业务费专项(1630022013007);国家农产品质量安全风险评估项目(GJFP2015012)。

作者简介 林玲(1978-),女,海南海口人,副研究员,硕士,从事农药残留检测技术研究。*通讯作者,研究员,硕士,从事农产品质量安全研究。

收稿日期 2015-07-30

喷雾处理,喷药时间设在 09:00~11:00,天气为晴天,气温为 25~33℃,药剂为 50% 多菌灵可湿性粉剂 1 000 倍稀释液,用小型手提式喷雾器将配制好的药剂均匀喷布于供试植株果实上,果实收获时,对每个采前间隔期均随机取 5 个果实进行残留检测。

1.2.3 样品的提取与净化。参考农业行业标准 NY/T 1680-2009^[9]和 NY/T 761-2008^[10]并稍做修改。

1.2.3.1 提取。称取 5.0 g 打浆均匀的果肉,加入 20.00 ml 乙腈,加 7.0 g 氯化钠,涡旋混合 2 min,于 10 000 r/min 转速下离心 8 min,吸取 5.00 ml 乙腈离心液放入烧杯中,于 80℃ 水浴中加热氮吹,将乙腈蒸发近干,加入 2.00 ml 甲醇+二氯甲烷(5+95)溶解残渣,待净化。

1.2.3.2 净化。将氨基柱用 4.00 ml 甲醇+二氯甲烷(5+95)预洗后立即加入“1.2.3.1”待净化液,收集洗脱液,再加入 2.00 ml 甲醇+二氯甲烷(5+95)溶解残渣后过柱,并重复 1 次,将收集的洗脱液置于氮吹仪上,氮吹蒸发至近干,用甲醇定容至 2.00 ml,混匀后用 0.22 μm 滤膜过滤,待测。

1.2.4 色谱条件。Symmetry C₁₈ 250.0 mm×4.6 mm 色谱柱,柱温:30℃,Waters2996 二极管阵列检测器,检测波长为 275 nm,流动相比比例为甲醇-水(40:60,V/V),流速为 1.0 ml/min。

1.2.5 检测波长的选择。取浓度为 0.80 μg/ml 的多菌灵标准溶液,用二极管阵列检测器在 190~500 nm 波长范围内进行扫描,确定最佳检测波长。

1.2.6 流动相的选择。比较甲醇-离子对试剂和甲醇-水 2 种流动相组成对目标物色谱峰峰形和分离度的影响,确定最适宜的流动相。

1.2.7 方法的线性关系和相关性。对浓度为 0.1、0.4、1.0、2.0、4.0 μg/ml 的多菌灵标准溶液进样,以质量浓度(*X*)和其对应的峰面积(*Y*)进行线性回归,确定方法的准确度和相关系数。

1.2.8 精密度、回收率和最低检出限。取芒果对照空白样品分别添加 3 个浓度水平的多菌灵标准溶液,使样品添加浓度分别为 0.2、0.5 和 1.0 mg/kg,按“1.2.3”步骤处理,每个浓度做 3 个平行测定,根据测定结果计算回收率和相对标准偏差(*RSD*),以 3 倍信噪比计算最低检出限。

2 结果与分析

2.1 检测波长的确定 按“1.2.5”的方法对 190~500 nm 波长范围内进行全扫描,发现多菌灵在 275 nm 处有最大吸收,且基线噪音相对较小,色谱峰的信噪比更理想。因此,选择 275 nm 作为检测波长。

2.2 流动相的确定 结果表明,在甲醇-水体积比为 40:60 的色谱条件下,目标峰分离效果最好,基线较平稳,且噪音干扰小,杂质峰与多菌灵的峰能完全分开。而采用甲醇-离子对试剂做流动相,目标峰也能分离,但离子对试剂不稳定,峰有拖尾,基线噪声大,所以选择甲醇-水做流动相。

2.3 方法的相关性评价 结果表明,多菌灵在 0.10~4.00 μg/ml 范围内呈线性相关。线性方程为 $Y=1\,344X-1\,125$,

相关系数(*r*)等于 0.999 2,表明线性关系良好,可满足定量分析的需要。

2.4 精密度、回收率和最低检出限 标准、样品加标色谱分别见图 1、图 2。由表 1 可知,多菌灵回收率为 85%~105%,相对标准偏差为 1.0%~3.9%。多菌灵的最低检出限为 0.02 mg/kg。

表 1 样品回收率与精密度测定结果(*n*=3)

多菌灵浓度//mg/kg	平均回收率//%	相对标准偏差//%
0.2	85	3.9
0.5	98	1.0
1.0	105	1.7

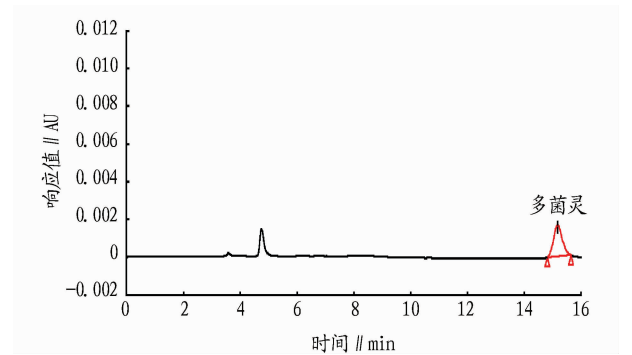


图 1 多菌灵标准色谱(0.80 μg/ml)

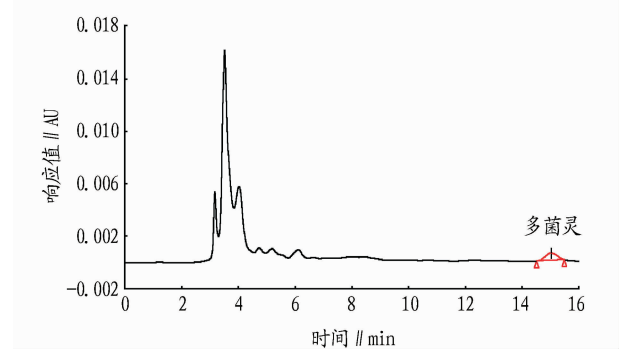


图 2 样品添加色谱

2.5 多菌灵在芒果果实上的残留量 结果表明,多菌灵在芒果上的残留较明显。采前 7 d 多菌灵农药残留最高,达到 1.20 mg/kg,采前 35 d 多菌灵农药残留量没有检出,采前 15~30 d 多菌灵残留介于 0.09~1.20 mg/kg,果实收获时农药残留量随着间隔期的变化总体上呈现施药后间隔期越短农药残留越高的趋势。

3 讨论

随着热带水果产业的快速发展,尤其是热带大宗水果大面积的栽培,其病虫害问题日益严重。而化学防治是病虫害防治的一项重要手段,然而有些杀虫、杀菌剂农药的不合理使用或滥用农药不仅起不到防治病虫害的目的,还会对环境造成污染等问题。因此,人们对某种农药进行药效筛选、毒性测定的同时,还需要对其在某种水果或其他作物上的安全间隔期进行研究,以免造成农产品农药残留超标,危害人类身体健康。

2.4 不同基质对生根的影响 表 4 为不同育苗基质对扦插成活率的影响。从中可以看出不同育苗基质条件下,无论是一年生,还是两年生枝条,不同育苗基质扦插成活率从大到小依次为沙壤土、壤土 + 有机肥(3:1)、泥炭土、珍珠岩,各处理后的成活率间均存在显著或极显著差异。与其他几种基质相比,采取沙壤土作为唐棣扦插育苗基质可以有效提高扦插成活率,其中唐棣硬枝扦插成活率一年生枝条 77.67%、两年生枝条 87.32%。用壤土 + 有机肥(3:1)、泥炭土作基质也可以提高插穗的成活率,但是成活率较低。而用珍珠岩作基质,插穗全部干枯死亡。综上所述,沙壤土适合作为唐棣扦插育苗基质。

表 4 不同育苗基质对扦插成活率的影响 %		
育苗基质	一年生枝条	两年生枝条
泥炭土	23.91Ac	33.54Cc
珍珠岩	0Dd	0Dd
壤土 + 有机肥(3:1)	67.58Bb	79.13Bb
沙壤土	77.67Aa	87.32Aa

3 结论

该研究结果表明,唐棣两年生枝条扦插成活率明显高于一年生枝条;在 ABT 生根粉不同浓度及不同时间对扦插成

活率的影响试验中,当 ABT 浓度为 75 μg/g,浸泡时间为 4 h 时,对两年生插穗效果最好,成活率为 85.57%;在促进唐棣扦插成活率中,根宝 3 号比 ABT 效果更好,成活率为 92.33%;不同基质对生根的影响试验结果表明,沙壤土适合作为唐棣扦插育苗基质。

参考文献

[1] 中国树木志编辑委员会. 中国树木志[M]. 北京:中国林业出版社, 1985.

[2] 步兆军,郭浩,陈国山,等. 高钙植物桉叶唐棣[J]. 植物杂志,2002(5): 18.

[3] 林宝山,尼尔森. 唐棣的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2002,38(6):589.

[4] 陈国山,郭浩,步兆东,等. 桉叶唐棣引种栽培试验初报[J]. 水土保持科技情报,2004(4):13-14.

[5] 郭浩,张俊佩,步兆东,等. 半干旱地区桉叶唐棣 7 个品种引种试验[J]. 中国果树,2005(2):27-29.

[6] 朱惠娟. 浅谈桉叶唐棣引种试验[J]. 内蒙古林业调查设计,2008(6):65-66.

[7] 步兆东. 桉叶唐棣育苗技术及 1 年生播种苗生长规律[J]. 辽宁林业科技,2003(1):18-19.

[8] LAVOLA A, TITTO R J, KARJALAINEN R. Saskatoon (*Amelanchier alnifolia* Nutt.) as a source of bioactive phytochemicals[J]. *Planta Med*, 2011, 77(12):1356.

[9] 步兆东. 桉叶唐棣营养钵播种育苗试验初报[J]. 落叶果树,2002(3):7-9.

(上接第 114 页)

该研究采用 Waters 高效液相色谱法分析芒果果实中多菌灵的残留量,使用甲醇-水为流动相,添加回收率为 85%~105%,最低检出限为 0.02 mg/kg。该方法准确、操作简便,灵敏度高,能满足农药残留分析要求。

刘承兰等^[11]采用丙酮提取芦笋样品中的多菌灵和吡虫啉农药残留,用石油醚和二氯甲烷萃取 3 次,合并萃取液,蒸干,甲醇定容。该法步骤较繁琐,耗费时间长,提取溶剂用量大,色谱条件流动相甲醇-水体积比为 40:60,与该研究所建立的色谱流动相相似。李海飞等^[12]用高效液相色谱法快速测定水果中的 3 种苯并咪唑类杀菌剂(多菌灵、噻菌灵和甲基硫菌灵)残留量,用乙腈提取,样品提取、色谱流动相与该试验条件相似,但检测波长为 285 nm。NY/T 761-2008^[10]蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定的前处理与该方法的前处理基本一致,只是该方法的操作更加简单,且该方法的色谱条件也更加优化,又相对环保。精密度高、稳定性好,回收率较高,说明该研究的数据准确、可靠,可用于分析芒果等水果中多菌灵的残留量。

国家标准 GB 2763-2014^[13] 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量规定多菌灵农药在芒果中残留最大限量为 0.50 mg/kg, CAC 对芒果的规定为 2.00 mg/kg, 而欧盟则规定为 0.10 mg/kg。参照上述标准,该研究在采前 7 d 处理的多菌灵最大残留量为 1.20 mg/kg, 采前 30 d 处理的多菌灵残留量为 0.09 mg/kg, 低于国际上要求较严格的欧盟标准。

可见,多菌灵杀菌剂在芒果上的降解速度慢,安全间隔期较长,根据检测结果,考虑到该药剂的毒性,建议多菌灵在芒果上的安全使用时间是采前 30 d 施用,使该药物残留降到最低。该研究结果为指导芒果生产中合理、安全地施用多菌灵农药提供了参考。

参考文献

[1] 吉家乐. 海南芒果主要病虫害及其防治[J]. 现代农业科技,2007(20): 100-101.

[2] 陈业渊,李绍鹏,高爱平,等. 无公害食品芒果生产技术规程:NY/T 5025-2001[S]. 北京:中国标准出版社,2001.

[3] 邹冬梅,吕岱竹,王明月,等. 我国芒果农药最大残留限量制定及农药残留现状分析[J]. 中国热带农业,2012,45(2):16-19.

[4] 陈莹,丛佩华,聂继云,等. 分散固相萃取-高效液相色谱法测定水果中多菌灵和噻菌灵[J]. 果树学报,2008,25(5):769-773.

[5] 吴刚,吴俭俭,赵珊红,等. 加速溶剂萃取-固相萃取结合液相色谱分析茶叶中多菌灵残留量[J]. 中国食品学报,2008,8(4):165-168.

[6] 吴永江,朱炜,程翼宇. 液-质联用法测定铁皮石斛和西洋参制剂中多菌灵残留[J]. 分析化学,2006,34(2):235-238.

[7] 金仁耀,桂文君,寿林飞,等. 多菌灵在柑橘和土壤中的残留及降解动态研究[J]. 江苏农业科学,2005(2):111-113.

[8] 王登飞,陈练洪,游俊,等. 固相萃取-HPLC 法同时测定果蔬中多菌灵和噻菌灵残留量[J]. 农药,2008,47(6):443-447.

[9] 牟仁祥,陈铭学,曹赵云,等. 蔬菜水果中多菌灵等 4 种苯并咪唑类农药残留量的测定:NY/T 1680-2009[S]. 北京:中国农业出版社,2009.

[10] 刘潇威,买光照,李凌云,等. 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定:NY/T 761-2008[S]. 北京:中国农业出版社,2008.

[11] 刘承兰,刘丰茂,李莉,等. 高效液相色谱法测定芦笋中多菌灵和吡虫啉残留[J]. 农药学报,2004,6(4):93-96.

[12] 李海飞,李静,徐国锋,等. 高效液相色谱快速测定水果中 3 种苯并咪唑类杀菌剂[J]. 现代农业科技,2009(1):114-116.

[13] 国家卫生和计划生育委员会,农业部. 食品中农药最大残留限量:GB2763-2014[S]. 北京:中国标准出版社,2014.