

· 研究论文 ·

## 浸果处理后苯醚甲环唑在柑橘 贮藏过程中残留量的变化

王 军<sup>1,2</sup>, 温家钧<sup>1</sup>, 花日茂<sup>\*2</sup>, 汤 峰<sup>2</sup>, 边侠玲<sup>1</sup>, 岳永德<sup>3</sup>

(1. 安徽省化工研究院, 合肥 230041; 2 安徽农业大学 资源与环境学院, 合肥 230036;  
3. 国际竹藤网络中心, 北京 100102)

**摘 要:**研究了贮藏期间柑橘中苯醚甲环唑残留量变化与浸果处理药液浓度、贮藏温度和贮藏时间的关系, 以及果实不同部位残留水平的差异。柑橘经苯醚甲环唑药液浸泡处理后在常温或低温条件下贮藏, 定期取样用丙酮-石油醚(3:1, 体积比)提取, 气相色谱测定。当添加浓度范围为 0.05~5.0 mg/kg 时, 本方法回收率在 81.9%~91.4% 之间, 相对标准偏差为 5.3%~17.5%, 最低检出浓度为 0.02 mg/kg。试验结果表明: 柑橘中苯醚甲环唑残留水平与药液浓度呈正相关; 低温贮藏下柑橘对苯醚甲环唑的吸收低于常温; 苯醚甲环唑的残留水平随贮藏时间的延长而下降; 橘皮中苯醚甲环唑的残留明显高于橘肉。建议 10% 苯醚甲环唑水分散粒剂的使用浓度为 100 mg/L, 其贮藏安全间隔期为 21 d。

**关键词:**柑橘; 贮藏; 苯醚甲环唑; 残留量; 气相色谱

DOI: 10.3969/j.issn.1008-7303.2009.03.010

中图分类号: S481.8; O657.71

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2009)03-0341-05

## Change of Difenconazole Residue Levels in Citrus During Storage after Soaking

WANG Jun<sup>1,2</sup>, WEN Jia-jun<sup>1</sup>, HUA Ri-mao<sup>\*2</sup>, TANG Feng<sup>2</sup>, BIAN Xia-ling<sup>1</sup>, YUE Yong-de<sup>3</sup>

(1. The Academic of Anhui Chemical Institute, Hefei 230041; 2 Resource and Environment College of Anhui Agricultural University, Hefei 230036; 3. International Network Center for Bamboo and Rattan, Beijing 100102)

**Abstract:** The residue levels of difenconazole in citrus were studied during storage at different conditions, including preserving temperature, storing time, the concentration of difenconazole and the position of citrus. The whole fruits were stored at room temperature or at low temperature after treatment with soaking in difenconazole solution. Difenconazole residue in citrus was extracted with acetone-petroleum, and determined by gas chromatography (GC). At a concentration range of 0.05~5.0 mg/kg, the recoveries and relative standard deviation were found to be 81.9%~91.4%, 5.3%~17.5% respectively, and the limit of detection (LOD) was 0.02 mg/kg. The result showed that the residue levels of difenconazole related to the concentration of difenconazole. It is noted that difenconazole residue may be absorbed less in citrus at low temperature compared with room temperature. In the meantime, residue of difenconazole was declined gradually with the storage time, with higher residue

收稿日期: 2008-12-31; 修回日期: 2009-03-11.

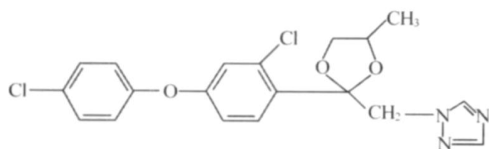
作者简介: 王军 (1974-), 男, 安徽萧县人, 硕士研究生, 工程师, 主要从事农药残留与环境毒理研究, E-mail: wangjunnongcan@126.com; \*通讯作者 (A author for correspondence): 花日茂 (1961-), 男, 安徽无为, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为农药残留与环境毒理. 联系电话: 0551-5786320; E-mail: rimao@ahau.edu.cn

基金项目: 农业部农药残留资助项目.

in peel than in pulp. It is proposed that 10% WG difenoconazole may be used for citrus storage treatment at a concentration of 100 mg/L, with PHI of at least 21 days

**Key words:** citrus; storage; difenoconazole; residue; gas chromatography

苯醚甲环唑 (difenoconazole) 是由瑞士先正达公司最初开发生产的一种内吸性广谱杀菌剂。化学名称为顺,反-3-氯-4-[4-甲基-2-(1H-1,2,4-三唑-1-基-甲基)-1,3-二噁戊烷-2-基]苯基-4-氯苯基醚,分子式为  $C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$ ; 相对分子质量 406.27, 化学结构式如下:



苯醚甲环唑属三唑类杀菌剂,是甾醇脱甲基化抑制剂,对柑橘生长期疮痂病及贮藏期炭疽病,以及多种蔬菜和果树的叶斑病、白粉病及黑星病具有持久保护和较好的治疗效果。原药为无色固体,熔点 76,沸点 220 /4 Pa, 20 时蒸气压为 120 nPa,水中溶解度为 3.3 mg/L (20),易溶于有机溶剂。低毒,大鼠急性经口  $LD_{50}$  值为 1453 mg/kg,兔急性经皮  $LD_{50} > 2010$  mg/kg<sup>[1-3]</sup>。

柑橘贮藏过程中主要发生 20 多种病害,其中主要的传染性病害有青霉病、绿霉病、黑腐病、焦腐病、炭疽病等,生理病害有水肿病、褐斑病等<sup>[4]</sup>,因此,不可避免地需大量使用防腐性杀菌剂。近年来,由于防腐剂品种的统一性及使用过程中所产生的抗药性问题,促使了更加有效的防腐剂新品种的出现。而作为对传染性病原菌具有持久保护和治疗作用的苯醚甲环唑,目前已尝试用于柑橘贮藏过程中发生的某些病害,特别是炭疽病的防治。但有关苯醚甲环唑在柑橘中的残留分析方法及其在柑橘上使用后的残留降解规律,目前国内外尚无相关报道。笔者采用气相色谱分析方法对此进行了探讨,结果报道如下。

## 1 材料与方 法

### 1.1 主要仪器与试剂

气相色谱仪:GC-14C(日本岛津公司)带 ECD ( $Ni^{63}$ ) 检测器;HP-5 大口径毛细管色谱柱 (5 m × 0.53 mm × 2.65 μm); ZK 高速自控组织捣碎机 (江苏省盐城市龙冈医疗器械厂) 等。

10% 苯醚甲环唑水分散粒剂 (商品名:思科,绩溪农华生物科技有限公司提供); 苯醚甲环唑 (difenoconazole) 标准品,纯度 98.0%,江苏丰登农药有限公司提供;试剂为分析纯或色谱纯。

### 1.2 样品处理及制备

目前尚未查到柑橘贮藏过程苯醚甲环唑浸果处理的推荐使用浓度,故参照我国规定的柑橘生长期苯醚甲环唑防治疮痂病的推荐使用浓度 (有效成分) 50 ~ 100 mg/L。本试验采用 10% 苯醚甲环唑水分散粒剂,用水作为分散介质相应配成 1000 mg/L (推荐高浓度)、500 mg/L (推荐低浓度) 和 100 mg/L (推荐高浓度乘以安全系数 1/10) 3 种制剂浓度药液,于供试柑橘采摘当天,分别浸果 3 min,取出自然晾干,装入聚乙烯薄膜袋内并扎口,一部分置于 0 ~ 5 冰箱中低温贮藏,另一部分置于室内常温下 (15 ~ 20) 贮藏,分别于处理后 0、7、14、21、28 d 取样,取样间隔为 7 d。

每次每个处理取 3 个平行样品,每个平行随机抽取 5 个果实,制备相应橘皮、橘肉和全果样品,切碎,混匀,按四分法留样;每个平行样品取 20 g,用铝箔密封包装后,在 -20 冰柜中保存备用。以同时采摘、未经药剂浸泡的柑橘作对照。

### 1.3 样品前处理

1.3.1 提取 分别取 20.0 g 橘皮、橘肉或全果样品,加入 100 mL 丙酮-石油醚 (3:1, 体积比,下同) 混合液,高速匀浆提取 2 min,抽滤,滤渣用 30 mL 丙酮-石油醚混合液分 2 次冲洗,合并滤液于锥形瓶中,于旋转蒸发器上减压蒸除丙酮-石油醚,水相待萃取。

1.3.2 净化 将上述浓缩液转移至 250 mL 分液漏斗中,加饱和氯化钠水溶液 50 mL,用二氯甲烷 120 mL 分 3 次萃取,合并有机相于锥形瓶中,于 45 水浴中旋转浓缩至 1 mL 左右,氮吹仪吹干,待柱层析净化。

先往层析柱内加 10 mL 石油醚,然后依次加入 2 cm 厚无水硫酸钠、5 g 弗罗里硅土活性炭 (10:1, 质量比)、2 cm 厚无水硫酸钠。将石油醚放至与无水硫酸钠层相平,将 1 mL 上述提取液转移至层析柱中,用 30 mL 石油醚-乙醚混合液

(1:1, 体积比)分3次洗涤锥形瓶并转入层析柱中,收集淋洗液,浓缩至2 mL左右,氮吹仪吹干。正己烷定容(橘皮样品定容至5 mL,橘肉至1 mL,全果至2 mL),待气相色谱测定。

#### 1.4 色谱分析条件

检测器温度 300 ;汽化室温度 280 ;初始柱温 160 ,以 20 /m in 升至 255 ,保留 15 m in;载气为高纯氮气;柱压 25 kPa,尾吹 26 mL /m in;衰减 1;电流 0.5 nA。在此条件下,苯醚甲环唑的保留时间为 5.1 m in。

#### 1.5 标准曲线的制作

准确称取一定量的苯醚甲环唑标准品,用正己烷配制成一系列不同浓度的标准溶液,按上述气相色谱 ECD 条件检测。其标准溶液的进样量与峰面积呈良好线性相关,所得回归方程为  $Y = 125\ 642x - 31\ 976$ ,  $R^2 = 0.996\ 5$  (图 1)。

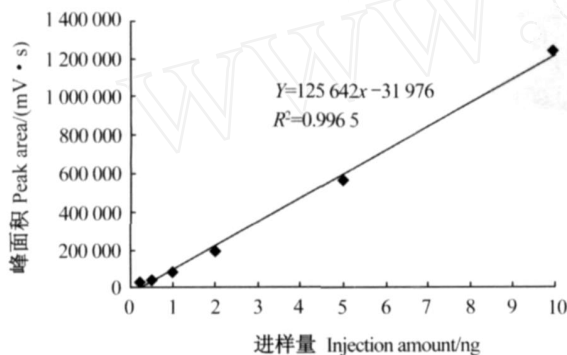


图 1 苯醚甲环唑标准工作曲线

Fig. 1 Standard curve of difenoconazole

## 2 结果与分析

### 2.1 方法的灵敏度、准确性及精密度

仪器的最小检出量为  $3 \times 10^{-11}$  g,方法的最低检测浓度为 0.02 mg/kg。橘皮、橘肉和全果空白样品中,分别添加浓度为 0.05、0.5、5.0 mg/kg 的苯醚甲环唑标准品后,按上述方法测定回收率,结果均满足残留试验要求(见表 1)。

### 2.2 不同浓度药液处理对样品中苯醚甲环唑残留量的影响

100、500、1 000 mg/L 3种不同浓度药液处理后 0~28 d,无论常温还是低温贮存,橘皮、橘肉和全果中苯醚甲环唑残留量均随药液浓度加大而增加。例如,3种不同浓度药液处理后常温下贮藏 0 d,橘皮中苯醚甲环唑残留量分别为 2.22、3.88

和 5.03 mg/kg,第 14 d 苯醚甲环唑残留量分别为 1.18、2.69 和 3.66 mg/kg;3种不同浓度药液处理后常温下贮藏 0 d,全果中苯醚甲环唑残留量分别为 0.60、1.08 和 1.41 mg/kg,第 14 d 苯醚甲环唑残留量分别为 0.38、0.80 和 1.15 mg/kg。且苯醚甲环唑从橘皮渗透到橘肉中的量亦随着药液浓度的加大而增加,并随时间延长渗透速度逐渐减缓。可见,橘皮、橘肉和全果中苯醚甲环唑残留量与药液处理浓度呈正相关(见表 2)。

### 2.3 不同贮藏温度对样品中苯醚甲环唑残留量的影响

3种不同浓度药液处理后,随着贮藏时间的延长,常温和低温两种条件下,橘皮和全果中苯醚甲环唑的残留量均呈现下降趋势,但同期样品中常温贮藏组的残留量明显低于低温组;橘肉中苯醚甲环唑残留量均呈现出先上升后下降的变化趋势,且常温贮藏组残留量上升幅度和下降幅度亦大于低温组。可见,同期制备的柑橘样品,低温贮藏组苯醚甲环唑残留量略高于常温条件下,但两者差异并不显著(见表 2 和图 2)。

### 2.4 不同贮藏时间对样品中苯醚甲环唑残留量的影响

随着贮藏时间的延长,各处理中,橘皮中苯醚甲环唑残留水平呈总体下降趋势,第一周内下降迅速,之后 3 周内下降趋势逐渐减缓。全果中苯醚甲环唑残留水平亦呈总体下降趋势,但下降趋势较橘皮略显平缓。橘肉中苯醚甲环唑残留量呈现先上升后下降的变化趋势:第一周内迅速上升,第二周内各处理呈现出上升和下降并存现象,第三周之后各处理均表现出下降趋势(图 2)。

### 2.5 橘皮与橘肉中苯醚甲环唑的残留量分布

不同浓度药液处理后的柑橘样品,在常温或低温条件下贮藏,苯醚甲环唑残留量自橘皮至内部橘肉均呈现明显递减规律。同一时期制备的样品,橘皮中苯醚甲环唑的残留量远高于橘肉,如常温下贮藏第 21 d,1 000 mg/L 药液处理的样品,橘皮中苯醚甲环唑的残留量为 2.52 mg/kg,橘肉中仅为 0.25 mg/kg,两者相差一个数量级左右。橘皮中苯醚甲环唑残留水平随贮藏时间推移呈陡然下降趋势,而橘肉中则呈现为先上升后下降,这表明柑橘由外至内对苯醚甲环唑的吸收需要一个缓慢的过程(见表 2 和图 2)。

表 1 苯醚甲环唑标准品在橘皮、橘肉和全果中的添加回收率

Table 1 Recoveries of difenoconazole from citrus peel, pulp and whole citrus

样品 Samples	添加浓度 Fortification level /(mg/kg)	回收率 Recovery (%)					平均值 Average recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%)
		1	2	3	4	5		
橘皮 Peel	5.0	95.5	90.0	97.4	87.5	86.5	91.4	5.3
	0.5	76.6	85.2	73.8	91.7	82.0	81.9	8.7
	0.05	75.5	80.1	71.6	98.5	104.8	86.1	17.1
橘肉 Pulp	5.0	91.5	89.2	86.5	81.8	96.1	89.1	6.1
	0.5	78.5	85.5	77.5	91.3	84.1	83.4	6.8
	0.05	69.2	98.3	88.1	107.3	77.6	88.1	17.5
全果 Whole citrus	5.0	93.4	87.7	91.5	85.0	77.9	87.1	7.0
	0.5	94.1	72.3	79.0	96.8	73.1	83.1	14.0
	0.05	106.6	71.5	92.8	86.4	73.5	86.2	16.8

表 2 浸果处理后橘皮、橘肉和全果中苯醚甲环唑残留量

Table 2 The residue of difenoconazole in peel, pulp and whole citrus after soaking

贮藏温度 Storing temperature	药液浓度 Concentration /(mg/L)	研究对象 Object of study	苯醚甲环唑残留量 Residue of difenoconazole / (mg/kg)				
			取样距药液处理间隔时间 Sampling time				
			0 d	7 d	14 d	21 d	28 d
低温 Low temperature (0~5 )	100	橘皮 Peel	2.44	2.08	1.60	1.21	0.76
		橘肉 Pulp	0.02	0.09	0.06	0.05	0.04
		全果 Whole citrus	0.65	0.61	0.46	0.35	0.23
	500	橘皮 Peel	3.56	3.37	3.06	2.60	1.38
		橘肉 Pulp	0.08	0.13	0.21	0.11	0.09
		全果 Whole citrus	0.98	0.97	0.95	0.76	0.42
	1 000	橘皮 Peel	5.33	4.47	3.81	3.57	1.91
		橘肉 Pulp	0.10	0.23	0.27	0.19	0.19
		全果 Whole citrus	1.46	1.33	1.19	1.07	0.63
常温 Room temperature (15~20 )	100	橘皮 Peel	2.22	1.64	1.18	0.74	0.32
		橘肉 Pulp	0.03	0.20	0.10	0.09	0.03
		全果 Whole citrus	0.60	0.57	0.38	0.26	0.10
	500	橘皮 Peel	3.88	3.30	2.69	1.64	0.95
		橘肉 Pulp	0.10	0.26	0.13	0.10	0.08
		全果 Whole citrus	1.08	1.05	0.80	0.50	0.31
	1 000	橘皮 Peel	5.03	3.96	3.66	2.52	1.53
		橘肉 Pulp	0.13	0.27	0.27	0.25	0.20
		全果 Whole citrus	1.41	1.23	1.15	0.84	0.54

### 3 结论与讨论

经不同浓度药液处理后,柑橘中苯醚甲环唑残留量不同,药液浓度愈高,残留量亦愈高;随贮藏时间延长,不同温度下橘皮和全果样品中苯醚甲环唑残留量呈总体下降趋势,橘肉中则表现为先上升后下降的过程,低温贮藏组橘肉对苯醚甲环唑的吸收低于常温组;不同浓度药液处理、不同温度条件下

贮藏的样品,橘皮层苯醚甲环唑残留量远高于橘肉层。我国目前尚未规定柑橘中苯醚甲环唑的 MRL 值,参照粮农组织和世界卫生组织农药残留联席会议(JM PR)推荐的苯醚甲环唑在仁果类水果中的 MRL 值为 0.5 mg/kg,暂以此为依据,本研究用 100 mg/L 浓度药液处理的柑橘样品贮藏至 14 d 时,全果和橘肉中苯醚甲环唑的残留量均低于 0.5 mg/kg。为安全起见并兼顾贮藏效果,建议

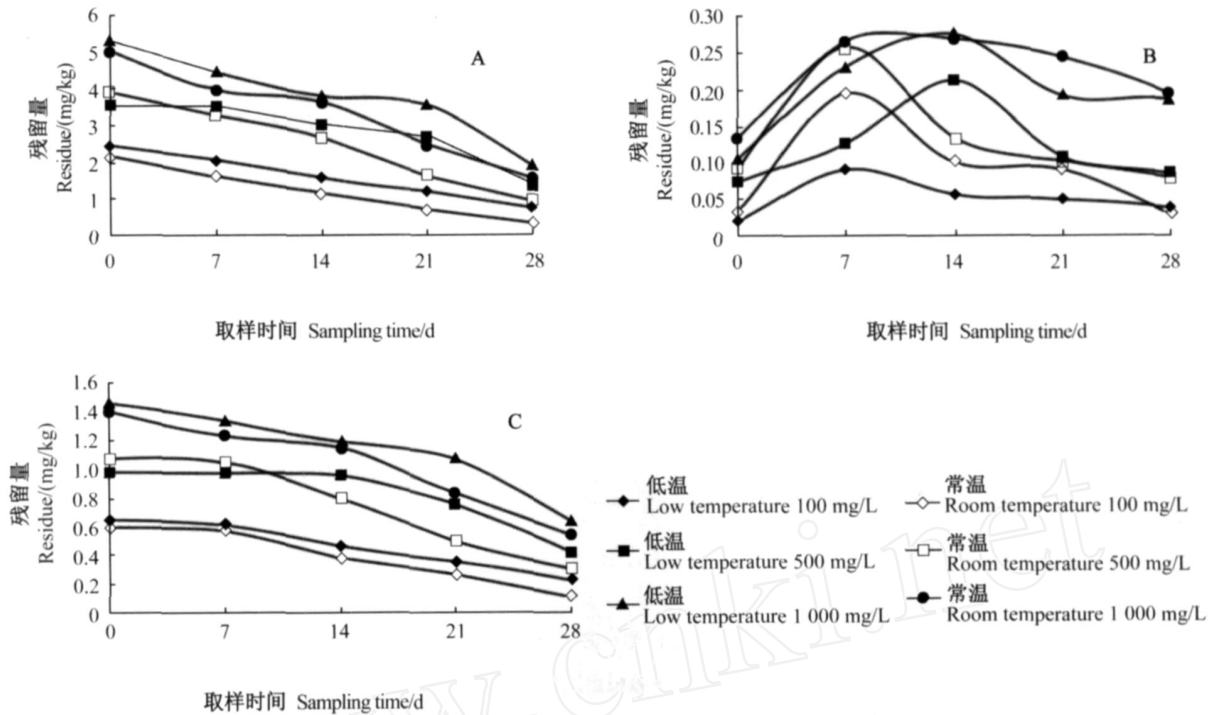


图 2 柑橘中苯醚甲环唑残留量的变化

Fig 2 The change of difenoconazole residue levels in citrus

A. 橘皮 Peel B. 橘肉 Pulp C. 全果 Whole citrus

10% 苯醚甲环唑水分散粒剂在柑橘浸果时的使用浓度为 100 mg/L, 贮藏安全间隔期为 21 d。

贮藏温度、时间及农药本身的稳定性是柑橘贮藏过程中农药残留量降低的关键因素。温度对农药消解的作用是多方面的, 可能影响到挥发、生物降解和化学降解等途径<sup>[5,6]</sup>。温度升高有利于农药的化学反应, 可加快农药的化学降解, 也会影响植物酶系对农药的分解活性和效率<sup>[5,7]</sup>。然而在诸多的影响因素中, 最为本质的还是农药本身, 可以说农药的理化性质决定了农药的去向<sup>[7,8]</sup>。因此, 柑橘贮藏过程中苯醚甲环唑残留量的变化是多种因素综合作用的结果, 其他影响因素尚需进一步研究确定。

### 参考文献:

- [1] XIONG Chuan-wu (熊传武), WAN Yu (万宇), WANG Jun (王军), et al Analytical Method Manual of Pesticide Residue, Vol 3 (农药残留量实用检测方法手册, 第三卷) [M]. Beijing (北京): Agricultural Press of China (中国农业出版社), 2005: 252-255.
- [2] LI Hai-hua (李海华), LIAO Fu-guang (廖福广), WANG Peng (王鹏), et al 杀菌剂苯醚甲环唑的制备 [J]. J Beijing Institute Tech (北京理工大学学报), 2006, 26 (4): 365-368.
- [3] WANG Z H, YANG T, QIN D M, et al Determination and Dynamics of Difenconazole Residues in Chinese Cabbage and Soil [J]. Chinese Chemical Letters, 2008, 19: 969-972.
- [4] HUANG Zhen-dong (黄振东), CHEN Guo-qing (陈国庆), PU Zhan-yao (浦占涛). 柑橘贮藏过程主要病害的发生规律及防治对策 [J]. Zhejiang Citrus (浙江柑橘), 2006, 23 (3): 20-23.
- [5] YU Qin (庾琴), QIN Shu (秦曙), WANG Xia (王霞), et al 温度、光照及生物因子对啉虫脒和吡虫啉在油菜叶面消解的影响 [J]. Chin J Pestic Sci (农药学报), 2006, 8 (2): 147-151.
- [6] BANERJEE K, OULKAR D P, PATIL S H, et al Degradation Kinetics and Safety Evaluation of Tetraconazole and Difenconazole Residues in Grape [J]. Pest Management Science, 2008, 64 (3): 283-289.
- [7] YUAN Yu-wei (袁玉伟). 加工过程对农产品中农药残留的影响 [J]. Standard of Agricultural Quality (农业质量标准), 2003, (6): 38-41.
- [8] YANG Tong (杨桐), WANG Zhi-hua (王志华), JI Ying (季颖). Study on Determination and Dynamics of Difenconazole Residues in Chinese Cabbage, Kidney Bean, Grape and Soil (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]. Beijing (北京): Beijing Univ Chem Tech (北京化工大学), 2008: 1-49.

(Ed. TANG J)