

香蕉中咪鲜胺的消解动态及安全性评价

袁小雅¹, 彭梓^{1*}, 周慧平¹, 刘琛²

(1. 湖南出入境检验检疫局检验检疫技术中心, 国家食品安全检测重点实验室, 食品安全科学技术湖南省重点实验室, 长沙 410004; 2. 韶山出入境检验检疫局, 湘潭 411202)

摘要: **目的** 建立基质分散固相萃取-液相色谱-串联质谱法快速检测香蕉中咪鲜胺及其代谢产物 2,4,6-三氯苯酚残留量的方法, 检测香蕉果皮和果肉里的残留量。**方法** 用浓度为 50 mg/L 咪鲜胺溶液处理香蕉 5 min, 置于 15 °C 下贮藏后, 用基质分散固相萃取-液相色谱-串联质谱法检测残留量后进行消解动态分析。**结果** 果皮中咪鲜胺消解动态方程式为 $C=35.492e^{-0.0648t}$, $r^2=0.9505$, 残留半衰期 $T_{1/2}$ 为 10.7 d。果肉中咪鲜胺消解动态方程式为 $C=20.212e^{-0.0711t}$, $r^2=0.9922$, 残留半衰期 $T_{1/2}$ 为 9.7 d。**结论** 香蕉中咪鲜胺残留尽管符合我国国家规定的限量标准, 但对幼儿存在不安全隐患。

关键词: 香蕉; 咪鲜胺; 2,4,6-三氯苯酚; 消解动态; 安全性评价

Degradation dynamics and safety evaluation of prochloraz in banana

YUAN Xiao-Ya¹, PENG Zi^{1*}, ZHOU Hui-Ping¹, LIU Chen²

(1. Technology Center of Hunan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, State Key Laboratory of Food Safety Testing, Hunan Key Laboratory of Food Safety Science & Technology, Changsha 410004, China;
2. Shaoshan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shaoshan 411202, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the rapid determination of prochloraz and its metabolites 2,4,6-trichlorophenol in banana by matrix dispersion solid phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The bananas were treated by 50 mg/L prochloraz and dipped 5 min, then storage at 15 °C. Degradation dynamic was analyzed after the determination of residue by matrix dispersion solid phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Results** The degradation dynamics equation of prochloraz in banana peel and pulp were $C=35.492e^{-0.0648t}$ and $C=20.212e^{-0.0711t}$. The linear correlation coefficients were: $r^2=0.9509$, $r^2=0.9922$. Half-life residues ($T_{1/2}$) were 10.7 d and 9.7 d. **Conclusion** Although the prochloraz residues in banana can meet the restrictions imposed by our national standards, there are also potential risk for children.

KEY WORDS: banana; prochloraz; 2,4,6-trichlorophenol; degradation dynamics; safety evaluation

1 引言

咪鲜胺(prochloraz)是英国 Boots 公司于 1974 年首次合成的一种广谱高效咪唑类杀菌剂, 同时具有防腐和保鲜作用, 被广泛用于香蕉、柑橘等水果的采

后贮存、运输过程中^[1-6]。咪鲜胺在香蕉上用于浸果保鲜贮藏, 可防治香蕉炭疽病及冠腐病。我国和日本规定香蕉中咪鲜胺最大残留限量为 5 mg/kg, 欧盟规定为 0.05 mg/kg^[7-9]。咪鲜胺在一定条件下可代谢为 2,4,6-三氯苯酚, 2,4,6-三氯苯酚毒性高, 生物降解性

*通讯作者: 彭梓, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: pz_penny81@aliyun.com

*Corresponding author: PENG Zi, Senior Engineer, Hunan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Changsha 410004, China. E-mail: pz_penny81@aliyun.com

差,易造成严重的环境污染,并被疑为强致癌物^[10]。联合国粮农组织/世界卫生组织(FAO/WHO)食品法典委员会(CCPR)规定咪鲜胺在作物上的最高残留限量包括咪鲜胺及其代谢物残留量的总和。

随着咪鲜胺使用范围和用量的增大,其在香蕉内的蓄积残留量可能会超过限量标准。消解曲线是评价残留行为的有效工具^[11,12],同时消解曲线也可以用来估算残留水平增长到最大残留量所需的时间。本研究用 50 mg/L 咪鲜胺溶液浸泡处理香蕉 5 min,以期研究在贮藏期内,香蕉中咪鲜胺及其代谢产物 2,4,6-三氯苯酚的消解动态规律。

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 试验材料

香蕉,购于海南省八所香蕉出口基地,采后未经任何药剂处理的果实。

2.1.2 仪器与试剂

仪器: Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司); API 4000 型串联质谱仪(美国 Applied Biosystems 公司); SK-1 型快速混匀器(常州澳华仪器有限公司); YAMATO SA200 型振荡器(日本 Yamato 公司); Sigma 2-16P 型高速离心机(德国 Sigma 公司)。

N-丙基乙二胺(PSA)固相吸附剂、十八烷基硅烷键合硅胶(ODS)固相吸附剂、端基封尾和石墨化炭黑(GCB)固相吸附剂(北京艾杰尔有限公司),粒径均在 40~60 μm 之间。甲醇、乙腈为色谱纯(德国 Merck 公司);其余试剂均为分析纯,试验用水为超纯水;50%施保功可湿性粉剂(德国拜耳作物科学公司)。

2.2 方法

2.2.1 仪器工作条件

色谱条件 Agilent Eclipse AAA 色谱柱(150

mm \times 4.6 mm, 3.5 μm); 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 流动相 A 为水, B 为乙腈; 流量 0.5 mL/min, 进样体积 20 μL 。梯度洗脱程序: 0~5 min, B 由 20%升至 100%, 保持 3 min; 8.1~15 min, B 由 100%降至 20%。

质谱条件电喷雾离子源,正、负离子模式,电喷雾电压 4500 V,离子源温度 500 $^{\circ}\text{C}$,多反应监测;工作气体为高纯氮气,碰撞气压力 27.58 kPa,气帘气压力 68.95 kPa,雾化气压力 344.75 kPa,辅助气压力 413.7 kPa。咪鲜胺和 2,4,6-三氯苯酚的定性/定量对、碰撞电压及去簇电压等其他质谱条件见表 1(表中*为定量离子)。

2.2.2 样品处理方法

将香蕉浸泡于浓度为 50 mg/L 的施保功溶液中,5 min 后捞出沥干,置于 15 $^{\circ}\text{C}$ 下贮存。定期取样,将果皮与果肉分离,分别用组织捣碎机粉碎混匀样品,待测。

2.2.3 检测方法

称取经捣碎的香蕉皮或香蕉肉试样 5.00 g 于 50 mL 具塞离心管中,加入水 3 mL,氯化钠 2 g,涡旋混匀后,加入乙酸-乙腈(2:98, V:V)混合液 10 mL,振荡提取 10 min,以 6000 r/min 转速离心 5 min,取上清液于浓缩管中,重复提取 1 次,合并提取液,在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下氮气吹至 10 mL 以下,取 5.00 mL 上清液于具塞离心管中加入无水硫酸镁 1 g、N-丙基乙二胺固相吸附剂 100 mg 和十八烷基硅烷键合硅胶固相吸附剂 100 mg,剧烈振荡 1 min,充分混匀后,以 6000 r/min 转速离心 5 min,取上清液过 0.45 μm 有机滤膜,按仪器工作条件进行测定。

2.2.4 添加回收与仪器精密度实验

在空白香蕉肉和香蕉皮样品中,定量加入不同浓度水平的混合标样溶液,进行添加回收实验,平行测定 6 次,计算平均回收率和相对标准偏差。见表 2。

表 1 质谱分析条件

Table 1 Conditions of MS analysis

化合物	保留时间/min	分子式	质荷比 m/z		去簇电压/eV	碰撞电压/eV
			母离子	子离子		
2,4,6-三氯苯酚	9.22	$\text{C}_6\text{H}_3\text{Cl}_3\text{O}$	196.8	161.3*	-70	-30
				95.2		-47
咪鲜胺	9.55	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{O}_2$	376.2	308.3*	68	17
				266.2		23

*为定量离子

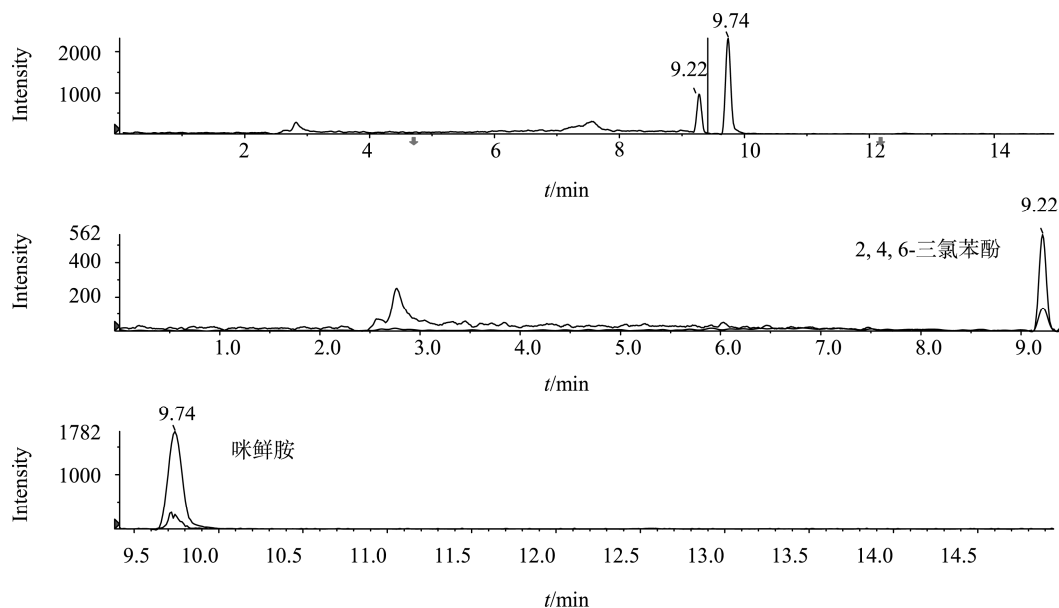


图 1 咪鲜胺和 2,4,6-三氯苯酚标准溶液的提取离子叠加色谱图

Fig. 1 Extraction current chromatograms of prochloraz and 2,4,6-trichlorophenol standards

表 2 香蕉肉和香蕉皮中咪鲜胺和 2,4,6-三氯苯酚的平均回收率和方差

Table 2 Average recovery and precisions (RSD) of prochloraz and 2,4,6-trichlorophenol in banana pulp and banana peel

	添加量(μg/kg)	香蕉皮		香蕉肉	
		平均回收率(%)	RSD(n=6)	平均回收率(%)	RSD(n=6)
咪鲜胺	0.1	94.5	7.0	90.3	6.0
	10	106.0	4.8	103.3	8.5
	50	104.6	3.3	94.5	5.1
	5000	98.4	2.4	95.3	1.9
2,4,6-三氯苯酚	5	95.2	8.4	85.5	9.6
	10	101.4	5.2	92.4	5.3
	50	99.8	3.6	91.1	5.1

2.2.5 消解动态分析方法

采用 Sigamaplot 8.0 软件进行数据分析, 将检测数据用 Excel 2003 作图并得出消解动态方程。

2.2.6 安全性评价

采用“阈效应”和接触评定^[13-15]角度对咪鲜胺保鲜的安全性进行评价。对于“阈效应”而言, 当接触量低于或等于 ADI 时, 就认为是可以接受的接触水平^[16]。一般以占 ADI 的百分数来表示风险的大小, 即%ADI。香蕉中咪鲜胺的接触主要是摄入接触。由(1)式、(2)式和(3)式计算得出结果。

$$\text{日公斤体重摄入量} = \frac{\text{最大残留量} \times \text{日使用量}}{\text{体重}} \quad (1)$$

$$\text{风险系数} = \frac{\text{日公斤体重摄入量}}{ADI} \quad (2)$$

$$\text{儿童保护系数} = \text{风险系数} \times \text{倍数} \quad (3)$$

(1)式中最大残留量(mg/kg)为市场上香蕉中咪鲜胺残留的最高含量; 日食用量(kg)为假定成人日食用香蕉的重量。

3 结果与分析

3.1 咪鲜胺的消解动态

由表 2 可知, 处理后第 1 d, 咪鲜胺残留主要集中在果皮中, 残留量达到最高值 39.22 μg/kg。随着贮

藏时间的延长,果肉中的咪鲜胺含量呈明显上升趋势,表明蕉皮中残留一部分渗透进入果肉中,果肉上残留量达最高值是在第7 d,为13.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。10 d后,受环境和果实生理生化的影响,香蕉果皮和果肉中咪鲜胺含量均表现为下降。但随着贮藏时间的延长,经香蕉皮逐渐渗透到香蕉内部并积累

表2 15 $^{\circ}\text{C}$ 下贮藏香蕉果肉中咪鲜胺残留量和消解率
Table 2 Residues and digestion rate of prochloraz in banana storage at 15 $^{\circ}\text{C}$

采样 天数(d)	香蕉皮		香蕉肉	
	残留量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	消解率 (%)	残留量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	消解率 (%)
1	39.22	—	7.85	—
7	24.3	38.0	13.7	—
10	19.26	50.9	9.42	31.2
15	12.14	69.0	7.05	48.5
20	8.05	79.4	4.36	68.2
25	6.38	83.7	3.48	74.6
30	4.04	89.7	2.32	83.1
40	3.72	90.5	1.25	90.0

在40 d贮藏期内,均未检测到2,4,6-三氯苯酚残留,这与彭亮航^[17]的结果相同。并且与韩丙军^[18]在研究睛菌唑在香蕉上的降解时得出的香蕉果肉中含量在2 h到10 d内呈上升趋势的结论相同。

依据咪鲜胺40 d内的残留量做消解曲线进行分析。图2~3为咪鲜胺残留量随着贮藏时间的增加而消解的线性图。图中虚线为指数降解标准曲线,将此两条线拟合,经回归计算可知,咪鲜胺在香蕉中遵循指数型降解规律。其回归方程为:果皮 $C=35.492e^{-0.0648t}$, $r^2=0.9505$, 半衰期 $T_{1/2}=10.7$ d; 果肉 $C=20.212e^{-0.0711t}$, $r^2=0.9922$, 半衰期 $T_{1/2}=9.7$ d。符合一级动力学反应模式。

3.2 香蕉中咪鲜胺残留的安全性评价

根据我国相关标准的规定,咪鲜胺每日允许摄入量(ADI)为0.01 mg/kg。经检测,市场购买香蕉中的咪鲜胺的最高残留量为0.5 mg/kg。依据公式计算可知:虽然市场购买的香蕉中咪鲜胺的含量远低于我国限量标准中要求的5 mg/kg^[19],但仍然存在风险。

依据美国食品质量保护法的规定,为更好地保护婴儿和儿童,在风险系数上还需要增加一个食品保护系数(FQPA factor)^[20]。美国环保局(EPA)可以根

据各农药的特性及所获得毒理学数据的完整性和可靠性,增加10倍或10倍以下的FQPA系数。若按系数10来计算10 kg体重婴幼儿日食用0.2 kg和0.5 kg的香蕉,其中咪鲜胺含量对人体的风险系数如表3所示。

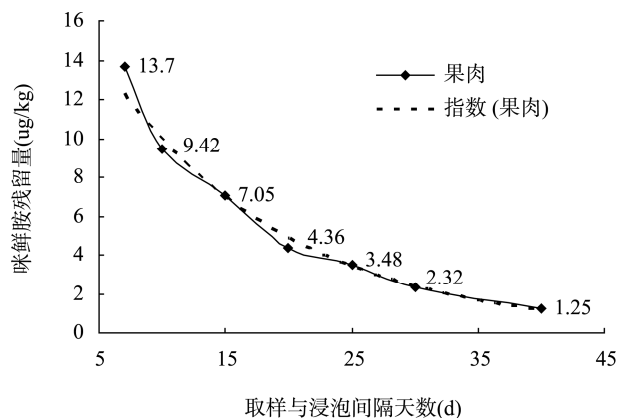


图2 15 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏条件下香蕉果肉中咪鲜胺消解图

Fig. 2 Degradation dynamics of prochloraz in banana pulp storage at 15 $^{\circ}\text{C}$

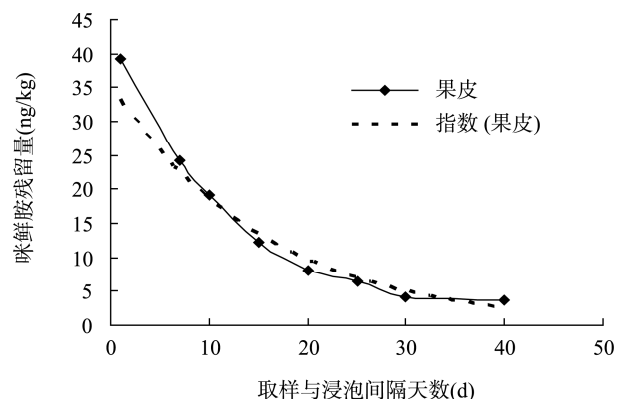


图3 15 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏条件下香蕉果皮中咪鲜胺消解图

Fig. 3 Degradation dynamics of prochloraz in banana peel storage at 15 $^{\circ}\text{C}$

表3 香蕉中咪鲜胺残留量的风险系数

Table 3 Risk coefficient of prochloraz residue in banana

成人/儿童	FQPA 系数	日食用量 (kg)	体重 (kg)	风险系数 (%)
成人	-	0.5	50	50
		1	50	100
儿童	10	0.2	10	1000
		0.5	10	2500

结果表明, 儿童食用等量的香蕉, 其中的咪鲜胺对人体的风险是成人的 50 倍。

4 结 论

此方法各项条件良好, 实验重复性强, 回收率及精密度均符合农药残留分析要求。本研究用 50 mg/L 的咪鲜胺浸泡 5 min 处理香蕉, 置于 15 °C 下贮藏, 7 d 后香蕉果肉中咪鲜胺残留小于 13.7 μg/kg, 整果咪鲜胺残留量小于 38 μg/kg。

我国农药安全使用准则中, 咪鲜胺水乳剂在香蕉上的推荐使用浓度为 250~500 mg/L, 安全间隔期为 7 d。从市场的咪鲜胺残留量的检测结果来看, 虽符合我国国家规定的限量标准, 但对儿童存在安全隐患。

参考文献

- [1] 吴志华, 龚道鑫, 汪传刚. 咪鲜胺及其制剂在六种水稻土中的吸附[J]. 农药学学报, 2006, 8(1): 46-50.
Wu ZH, Gong DX, Wang CG, *et al.* Adsorption of prochloraz and its formulation in six kinds of paddy soil [J]. *Chin J Pestic Sci*, 2006, 8(1): 46-50.
- [2] 司乃国, 姚凤兰. 咪鲜胺的抗菌作用及应用[J]. 植物保护, 1999, 25(2): 37-39.
Si NG, Yao FL. The antibacterial effect and application of prochloraz [J]. *Plant Protect*, 1999, 25(2): 37-39.
- [3] 陈平, 柳训才. 咪鲜胺的应用概况及其残留检测研究[J]. 湖北农业科学, 2007, 46(3): 478-480.
Chen P, Liu XC. Study on the application of prochloraz and its residue detection [J]. *Hubei Agric Sci*, 2007, 46(3): 478-480.
- [4] 罗逢健, 楼正云, 汤富彬, 等. 咪鲜胺及其代谢产物在柑桔中的残留检测方法及其动态研究[J]. 分析测试学报, 2010, (29): 730-734.
Luo FJ, Lou ZY, Tang FB, *et al.* Residue determination and dynamic research of prochloraz and its metabolite in orange [J]. *J Instrum Anal*, 2010, (29): 730-734.
- [5] 陈振东, 郑涛, 林秀香. 香蕉采后生理及贮藏保鲜研究综述[J]. 中国农学通报, 2013, 29(7): 61-64.
Chen ZD, Zheng T, Lin XX. Summary on physiology, biochemistry and storage for postharvest banana fruit [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 2010, (29): 730-734.
- [6] 高苏娟, 谭文兴, 陈俊卫, 等. 施保功、扑海因和热处理对紫金春甜桔采后贮藏效果的影响[J]. 广东农业科学, 2012, (19): 87-89.
Gao SJ, Tan WX, Chen JW, *et al.* Effects of Sorgon, Rovral and heat treatment on the post-harvest storage of Chuntian tangerine [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2012, (19): 87-89.
- [7] 张明静, 陈丽. 蒜薹微型节能冷库保鲜技术[J]. 天津农药科学, 2004, (1): 49-50.
Zhang MJ, Chen L. Postharvest technique of garlic stem in mini cold storage room [J]. *Tianjin Agric Sci*, 2004, (1): 49-50.
- [8] 李玉萍, 方佳, 梁伟红, 等. 我国香蕉农药残留标准与国外标准的比较分析[J]. 中国标准化, 2006, (7): 27-29.
Li YP, Fang J, Liang WH, *et al.* Comparison and analysis of the standards of pesticide residues in China and foreign countries [J]. *China Standard*, 2006, (7): 27-29.
- [9] 李玉萍, 方佳. 日本“肯定列表”制度中香蕉农药残留限量标准分析及对策研究[J]. 热带农药工程, 2009, (1): 9-14.
Li YP, Fang J. Analysis and countermeasure research on the standards for banana pesticides residue limits in the positive list system of Japan [J]. *Trop Agric Eng*, 2009, (1): 9-14.
- [10] 石小琼, 曹雨馨, 马景蕃. 官溪蜜柚气调保鲜贮藏条件优化研究[J]. 食品工业科技, 2006, (9): 161-163.
Shi XQ, Cao YX, Ma JF. Study on optimization of air conditioning and storage conditions on Guanxi pomelo [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2006, (9): 161-163.
- [11] 孙慧. 戊唑醇的气相色谱分析方法及其在大豆和土壤中消解动态的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2011.
Sun H. The research on degradation dynamics of tebuconazole in soybean and soil by gas chromatography analyzing method [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2011.
- [12] 刘艳萍. 香蕉国际贸易中 4 种特殊杀菌剂的残留及风险评估研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
Liu YP. Studies on residue and risk assessments of four fungicides in international trade of banana [D]. Beijing: China Agriculture University, 2014.
- [13] Purchase IFH. Risk assessment principles and consequences [J]. *Pure Appl Chem*, 2000, 72(6): 1051-1056.
- [14] World Health Organization. Methods of assessing risk to health from exposure to hazards released from landfills [C]. Copenhagen, Denmark: WHO Regional Office for Europe, 2000.
- [15] 袁玉伟, 王强, 朱加虹, 等. 食品中农药残留的风险评估研究进展[J]. 浙江农业学报, 2011, 23(2): 394-399.
Yuan YW, Wang Q, Zhu JH, *et al.* Review on the risk assessment for pesticide residue in foods [J]. *Acta Agric Zhejiangensis*, 2011, 23(2): 394-399.
- [16] USEPA. Memorandum: Office of pesticide programs reference dose tracking report, in memorandum [C]. Washington: EPA's office of Pesticide Programs, 1997.
- [17] 彭亮航. 咪鲜胺在柑桔和土壤中的残留动态研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2010.

- Peng LH. Studies on residual determination and degradation of prochloraz on orange and in soil [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2010.
- [18] 韩丙军, 汤建彪, 彭黎旭, 等. 腈菌唑在香蕉上的降解残留研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(增刊): 197-220.
- Han BJ, Tang JB, Peng LX, *et al.* Degradation of myclobutanil residue in banana [J]. J Agro-Environ Sci, 2007, 26(Suppl): 197-220.
- [19] 柳训才, 沈敏, 李胜清, 等. 咪鲜胺及其代谢产物 2,4,6-三氯苯酚在蘑菇及土壤中的残留动态[J]. 农药学学报, 2009, 11(3): 362-366.
- Liu XC, Shen M, Li SQ, *et al.* Residue dynamics of prochloraz and its meabolite 2,4,6-Trichlorophenol in mushroom and soil [J]. Chin J Pestic Sci, 2009, 11(3): 362-366.
- [20] 张存政, 刘贤进, 吴长付, 等. 农药残留风险评估研究进展[J].

江苏农业学报, 2010, 26(6): 1424-1428.

Zhang CZ, Liu XJ, Wu CF, *et al.* Advances in risk assessment of pesticide residue [J]. Jiangsu J Agric Sci, 2009, 11(3): 362-366.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



袁小雅, 助理工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: libby_yz@163.com



彭梓, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: pz_penny81@aliyun.com