

GC-ECD 法测定不同基质中异菌脲的残留

潘 虎^{1,2}, 蒲继锋¹, 代艳娜¹, 张一帆¹, 次 顿¹, 白军平¹, 杨晓凤³, 田 云²

(1. 西藏自治区农牧科学院农业质量标准与检测研究所, 拉萨 850032; 2. 湖南农业大学生物科学技术学院, 长沙 410128; 3. 四川省农业科学院分析测试中心, 成都 610066)

摘 要:建立气相色谱法测定土壤、蔬菜和 MSM 培养基中异菌脲的残留分析方法。样品用乙腈振荡、超声波提取, 上清液经 Carbon/NH₂ 固相萃取柱净化, 采用 HP-5 毛细管色谱柱程序升温分离, 选择电子捕获检测器(ECD)测定。在本试验条件下, 异菌脲分离效果良好, 其保留时间为 8.263 min, 相关系数 r 值为 0.993 4~0.999 8, 回收率为 87.6%~113.4%, RSD 值为 3.2%~6.8%, 检出限为 0.001 mg/kg。该方法快速、准确, 适合多种基质样品中异菌脲的残留定量检测要求。

关键词:异菌脲; 气相色谱法; 土壤; 蔬菜; MSM 培养基

中图分类号: X592

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2022)04-0127-03

Determination of Iprodione Residue in Different Matrix by GC-ECD Method

PAN Hu^{1,2}, PU Jifeng¹, DAI Yanna¹, ZHANG Yifan¹, CI Dun¹, BAI Junping¹, YANG Xiaofeng³, TIAN Yun²

(1. *Institute of Agricultural Product Quality Standard and Testing Research, Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Lhasa 850032*; 2. *College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128*; 3. *Testing Center of Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China*)

Abstract: A method based on gas chromatographic method was established to detect iprodione in soil, vegetables and MSM culture medium. Iprodione in samples were extracted with acetonitrile by shocks and ultrasound, then cleaned up using Carbon/NH₂ SPE column, finally separated on a HP-5 column with temperature programming, and detected by electronic capture detector. Iprodione could be completely separated under this condition of GC-ECD, its retention time was 8.263 min, the correlation coefficient r value was 0.9934~0.9998, the recovery of the method were 87.6%~113.4%, the relative standard deviations were 3.2%~6.8%, and the detection limits of this method were 0.001 mg/kg. This method was rapid, accurate and it could be applied to detection of iprodione in multiple matrix.

Key words: Iprodione; Gas chromatographic method; Soil; Vegetable; MSM culture medium

异菌脲(Iprodione)又名扑海因, 是一种高效广谱的二甲酰亚胺类(DCs)触杀型杀菌剂, 可有效抑制真菌孢子萌发及菌丝生长, 兼具保护和治疗作用^[1], 对其作用机制目前尚不完全清楚, DCs类杀菌剂可抑制蛋白激酶, 控制细胞内信号, 破坏真菌细胞膜结构^[2]。目前, 异菌脲主要用于葡萄、草莓灰霉病, 马铃薯早疫病、黑斑病及番茄落叶病与斑点病等真菌病害的防治, 可有效控制对苯并咪唑类和麦角甾醇抑制类药剂产生抗性的真菌病害^[3]。异菌脲在果蔬及土壤中半衰期较长,

消解速度较慢, 易导致其在果蔬上残留量不断增加^[4]。我国 2016 年制定的食品农药最大残留限量标准规定蔬菜和水果异菌脲的最大残留限量值(MRLs)为 2~10 mg/kg^[5]; 日本、美国和欧盟也制定了其在水果、蔬菜和粮食中的最大残留限量值, 并对其残留量进行监测; 2016 年加拿大称根据现有标签使用, 异菌脲对人类健康造成的风险已不符合标准, 因此加拿大有害生物管理局(PMRA)建议取消杀菌剂异菌脲的所有用途, 并已开始拟禁用异菌脲, 异菌脲属高风险农药种类。

近年来, 西藏地区设施蔬菜种植中异菌脲的市场需求量不断增加, 大面积和连续使用致使其在土壤中残留量过高, 不仅对环境造成污染, 而且会造成蔬菜产品中农药残留量升高, 通过生物富集作用给我区蔬菜质量安全和人民身体健康带来较大隐患。微生物降解以其高效、无二次污染

收稿日期: 2019-09-16

基金项目: 国家自然科学基金(32060025); 西藏自治区自然科学基金[XZ2019ZRG-79(Z)]; 湖南农业大学“双一流”建设项目(SYL201802002)

作者简介: 潘 虎(1986-), 男, 副研究员, 在读博士, 主要从事农产品质量安全研究工作。

等特点,逐渐成为消除蔬菜等作物中异菌脉残留的主要手段, *Arthrobacter* sp. MA6^[6]、*Pseudomonas fluorescens*、*Pseudomonas* sp.、*P. paucimobilis*^[7]、*Zygosaccharomyces rouxii* DBVPG 6399^[8]、*Arthrobacter* sp. CQH^[9]和 *Microbacterium* sp. YJN-G^[10]等菌株具有较好的异菌脉降解效果。这些微生物的分离主要以无机盐培养基(MSM)富集筛选为主,研究MSM培养基中异菌脉的残留降解规律对异菌脉降解微生物降解效果的准确判定具有重要意义。本文以西藏地区土壤、蔬菜、MSM培养基为研究对象,建立一种适用于多种基质中异菌脉残留的GC-ECD检测分析方法,为异菌脉在不同基质样品中的残留降解规律研究提供快速、准确的检测方法。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

仪器与耗材:气相色谱仪(安捷伦6890N)、旋转蒸发仪(瑞士R-215型)、色谱柱(Agilent HP-5毛细管色谱柱)、Carbon/NH₂复合柱(Agilent公司)。

试剂:异菌脉标准品(纯度:1 000 mg/L)购于农业农村部环境质量监督检验测试中心(天津);乙腈、丙酮、甲苯、正己烷(纯度:99.99%色谱纯)购于赛默飞世尔科技公司;氯化钠等无机盐试剂(纯度:99.99%分析纯)购于成都市科龙化工试剂厂。

样品:土壤、番茄、普通白菜、豇豆样品采集于西藏自治区拉萨市堆龙德庆区羊达蔬菜种植专业合作社,MSM培养基:NH₄NO₃ 1.0 g, KH₂PO₄ 0.5 g, K₂HPO₄ 1.5 g, NaCl 1.0 g, MgSO₄·7H₂O 0.2 g, CaCl₂·2H₂O 0.25 g, FeCl₂·4H₂O 3.5 g, ZnSO₄·7H₂O 0.2 g, pH 7.0,用水定容至1 000 mL。

1.2 标准溶液的配制

异菌脉标准储备溶液:将农药标准品分别用正己烷配制成100 mg/L标准溶液,-20℃储藏备用。异菌脉标准工作溶液:将农药标准储备溶液用正己烷配制成10 mg/L标样,将上述标样用正己烷稀释成所需系列标准工作液(0.02、0.05、0.1、0.2、0.5 mg/L)。

1.3 样品预处理

称取25 g蔬菜、MSM培养基或者土壤(10 g土样+15 mL纯净水)样品,加入50 mL乙腈和5~7 g NaCl于180 r/min条件下震荡0.5 h,超声提取5 min,定量滤纸过滤后摇匀静置分层,5 mL乙腈+甲苯(3+1)预淋洗Carbon/NH₂复合柱后吸取10 mL上清液过Carbon/NH₂复合柱,5 mL乙腈+甲苯

(3+1)润洗SPE小柱3次,滤液旋转蒸发后用正己烷+丙酮(9+1)定容至5 mL,上机待测^[11]。

1.4 气相色谱条件

色谱柱为HP-5毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.45 μm);载气为氦气(纯度为99.999%),流速为3.0 mL/min;分流模式(分流比为10:1);进样量1 μL;进样口温度为280℃;升温程序如下:初始柱温为150℃,以15℃/min的速率升至210℃,以10℃/min的速率升至260℃,最后以20℃/min的速率升至300℃保持6 min;检测器温度为330℃;检测器为电子捕获检测器(ECD)^[12]。

2 结果与分析

2.1 标准色谱图

在选择GC-ECD条件下,异菌脉分离效果良好,未出现杂质干扰峰,表明本检测方法的气相色谱条件合理可行,异菌脉的保留时间为8.263 min(图1)。

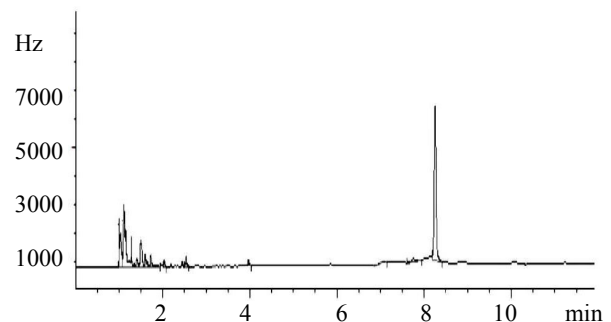


图1 异菌脉标准色谱图(0.5 mg/L)

2.2 方法的线性范围、相关系数及检出限

分别在土壤、蔬菜(番茄)和MSM培养基中加入质量浓度为0.02、0.05、0.1、0.2、0.5 mg/L的异菌脉标准工作液进行ECD测定,以异菌脉的质量浓度C(mg/L)为横坐标(X轴),峰面积A为纵坐标

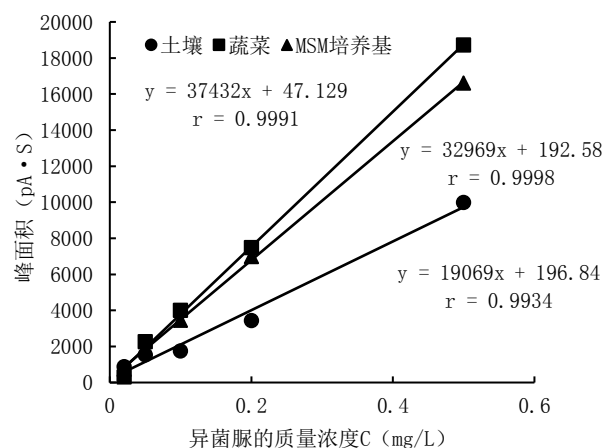


图2 异菌脉在不同基质中的线性方程

(Y轴)得到线性方程。由图2可以看出,标准曲线在0.02~0.5 mg/L范围内呈现良好的线性关系,异菌脲在土壤中线性方程为 $Y=19\,069X+196.84$, $r=0.993\,4$;在MSM培养基中的线性方程为 $Y=32\,969X+192.58$, $r=0.999\,8$;在蔬菜中的线性方程为 $Y=37\,432X+47.129$, $r=0.999\,1$ 。本试验条件可满足异菌脲的仪器分析相关要求,按照3倍信噪比计算本方法的检测限为0.001 mg/kg。

2.3 方法的精密度和准确度

在土壤、MSM培养基、番茄、普通白菜、豇豆样品中添加0.1 mg/L和0.4 mg/L的异菌脲标准工作液进行回收率试验($n=3$),得到平均回收率和相对标准偏差(RSD)。结果表明异菌脲平均回收率为87.6%~113.4%,RSD值为3.2%~6.8%(见表1),本方法适用于土壤、蔬菜和MSM培养基等不同基质中异菌脲的残留分析。

表1 异菌脲在不同基质中的回收率和
相对偏差($n=3$) %

基质	异菌脲			
	添加水平1(0.1 mg/L)		添加水平2(0.4 mg/L)	
	平均回收率	RSD	平均回收率	RSD
土壤	112.3	4.8	109.7	5.7
MSM培养基	113.4	5.3	105.9	6.3
番茄	107.8	3.6	87.6	4.7
普通白菜	104.9	5.8	110.4	6.8
豇豆	94.3	3.2	105.6	5.2

3 结 论

目前,报道的异菌脲检测方法主要有气相色谱法^[13]、高效液相色谱法^[14]、气相色谱-质谱法^[13]和液相色谱-质谱法^[15],这些方法主要以蔬菜、土壤等基质为研究对象,以MSM为研究基质的异菌脲气相色谱法检测方法未见报道。本研究采用震荡、超声波提取结合石墨化炭黑-氨基固相萃取前处理技术来提取、净化、富集土壤、蔬菜和MSM培养基样品中异菌脲残留组分,建立快速的异菌脲GC-ECD分析方法。该方法提取效率高、净化效果好、灵敏度和准确度较高,适用于多种基质

样品中异菌脲的残留定量检测。

参考文献:

- [1] 沈群超,陆 宏,周 利,等.异菌脲在大棚青菜上的降解动态及最终残留研究[J].江苏农业科学,2008(2):245-247.
- [2] 任 璐,韩巨才,刘慧平.番茄早疫病菌对异菌脲的敏感基线及其抗性突变体的生物学特性[J].农药学报,2010,12(2):155-160.
- [3] 邵 燕,王良贵,韦祥庆.异菌脲在大白菜和土壤中的残留消解动态[J].浙江农业科学,2017,58(8):1425-1428.
- [4] Loutfy N, Malhat F, Kamel E, et al. Residual pattern and dietary intake of iprodione on grapes under egyptian field conditions: a prelude to risk assessment profile [J]. Human Ecol Risk Assess, 2015, 21 (1): 265-279.
- [5] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,中华人民共和国农业部,国家食品药品监督管理总局.GB 2763-2016 食品中农药最大残留限量[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [6] Athiel P, Alfizarmercader C, Vega D, et al. Degradation of iprodione by a soil *Arthrobacter*-like strain[J]. Appl Environ Microbiol,1995,61(9): 3216-3220.
- [7] Mercadier C, Vega D, Bastide J. Iprodione degradation by isolated soil microorganisms [J]. FEMS Microbiol Ecol, 1997, 23 (3): 207-215.
- [8] Claudia Z, Gianluigi C, Laura C, et al. Biodegradation of the fungicide iprodione by *Zygosaccharomyces rouxii* strain DBVPG 6399 [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54: 4734-4739.
- [9] 曹 礼,舒润东,石文红,等.一株降解异菌脲菌株的鉴定及响应面分析法优化其培养条件[J].食品工业科技,2017,38(6):168-173,178.
- [10] 杨正中,吴 广,金 文,等.异菌脲降解菌YJN-G的分离、鉴定及降解特性[J].应用与环境生物学报,2017,23(1):164-168.
- [11] 潘浦群,肖真民,韩永忠,等.玉米田土壤中阿特拉津和乙草胺的测定[J].吉林农业科学,2012,37(1):44-45.
- [12] 王士杰,李如升,赵 权,等.人参有机氯农药残留研究[J].东北农业科学,2016,41(5):92-96.
- [13] 成云峰.温室番茄中噁唑菌酮、咪唑菌酮、环酰菌胺及异菌脲残留的检测[J].世界农药,2013,35(1):40-42,62.
- [14] 潘 城,胡朝阳,吴 凌,等.高效液相色谱法测定蔬菜中异菌脲残留量的不确定度分析[J].食品科学,2017,38(24):235-240.
- [15] 梁 林,张爱娟,潘金菊,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定黄瓜及番茄中异菌脲残留[J].农药科学与管理,2014,35(4):45-48.

(责任编辑:王 昱)