

吴静娜, 韦璐阳, 邓有展, 等. 抑霉唑、咪鲜胺及其代谢物在荔枝贮藏保鲜中的残留动态及安全评价 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(10): 234–241. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080056

WU Jingna, WEI Luyang, DENG Youzhan, et al. Residual Dynamics and Safety Assessment of Imazalil, Prochloraz and Their Metabolites During Fresh-keeping Storage of Litchi[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(10): 234–241. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080056

· 食品安全 ·

抑霉唑、咪鲜胺及其代谢物在荔枝贮藏保鲜中的残留动态及安全评价

吴静娜, 韦璐阳, 邓有展, 时鹏涛, 李今朝, 杨秀娟*

(广西壮族自治区亚热带作物研究所, 农业农村部农产品质量安全风险评估实验室(南宁),
农业农村部亚热带果品蔬菜质量监督检验测试中心, 农业农村部亚热带果品蔬菜质量
安全控制重点实验室, 广西南宁 530001)

摘要: 为评估抑霉唑和咪鲜胺在荔枝全果、果皮和果肉的残留情况及膳食风险, 本研究建立了同时测定抑霉唑、咪鲜胺及其代谢物含量的气相色谱-串联质谱法。该方法检测抑霉唑、咪鲜胺、咪唑乙醇和 2,4,6-三氯苯酚的方法检出限 (LOD) 分别为 2.0、3.0、6.0、0.3 $\mu\text{g/kg}$; 定量限 (LOQ) 分别为 6.0、10.0、20.0、1.0 $\mu\text{g/kg}$; 在荔枝全果、果皮和果肉中的添加回收率为 78.9%~107%, RSD 为 2.6%~5.8%。保鲜实验结果表明, 抑霉唑、咪鲜胺浸果浓度越高残留量越高, 残留物随贮藏时间延长由果皮逐渐迁移到果肉中。全果和果皮中抑霉唑、咪鲜胺的残留量随贮藏时间延长不断降低, 果肉则于浸泡后第 7 d 达到最大值再逐渐消解。代谢咪唑乙醇和 2,4,6-三氯苯酚随着贮藏时间增加不断升高。用质量浓度为 500 mg/L 的抑霉唑、咪鲜胺溶液分别浸泡保鲜, 安全间隔期 14 d 内荔枝咪鲜胺的慢性、急性膳食摄入风险在可接受的范围内。

关键词: 抑霉唑, 咪鲜胺, 咪唑乙醇, 2,4,6-三氯苯酚, 残留动态, 膳食风险, 荔枝

中图分类号: TS255.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)10-0234-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080056

本文网刊:



Residual Dynamics and Safety Assessment of Imazalil, Prochloraz and Their Metabolites During Fresh-keeping Storage of Litchi

WU Jingna, WEI Luyang, DENG Youzhan, SHI Pengtao, LI Jinzhao, YANG Xiujuan*

(Guangxi Subtropical Crops Research Institute, Laboratory of Quality Risk Assessment for Agro-products (Nanning),
Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Quality Supervision and Testing Center of Subtropical Fruit and Vegetable,
Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Key Laboratory of Quality and Safety Control for Subtropical Fruit and
Vegetable, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanning 530001, China)

Abstract: In order to evaluate the dietary risk of imazalil and prochloraz residues in whole fruit, peel and pulp of litchi, this study reported a gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) to determine the residue of imazalil, prochloraz and their metabolites simultaneously. The limit of detection and limit of quantitation of this method were 2.0 and 6.0 $\mu\text{g/kg}$ for imazalil, 3.0 and 10.0 $\mu\text{g/kg}$ for prochloraz, 6.0 and 20.0 $\mu\text{g/kg}$ for imidazole ethanol, as well as 0.3 and 1.0 $\mu\text{g/kg}$ for 2,4,6-trichlorophenol, respectively. The average recoveries in whole fruit, peel and pulp of litchi were 78.9%~107%. The relative standard deviation (RSD) ranges from 2.6% to 5.8%. The results of preservation showed that the higher the concentration of imazalil and prochloraz the higher the residual amount. The residue gradually migrated from peel to pulp with the increases in storage time. After freshness processing, the residues of imazalil and prochloraz in whole

收稿日期: 2023-07-10

基金项目: 国家农产品质量安全风险评估项目 (GJFP20210503)。

作者简介: 吴静娜 (1984-), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 农产品质量安全及风险评估, E-mail: 175161969@qq.com。

* 通信作者: 杨秀娟 (1982-), 女, 硕士, 高级农艺师, 研究方向: 农产品质量安全及风险评估, E-mail: 108856406@qq.com。

fruit and peel decreased, while the pulp increased to the maximum value on the 7th day, and then gradually decreased. Imidazole ethanol and 2,4,6-trichlorophenol increased with the increase of storage time. The risk of chronic and acute dietary intake within 14 days of safe interval was within acceptable range.

Key words: imazalil; prochloraz; imidazole ethanol; 2,4,6-trichlorophenol; residual dynamics; dietary risk; litchi

荔枝长时间保存和长距离运输一直是个未解的难题。荔枝在常温不做任何保鲜处理情况下,不超过 3 d 将褐变腐烂,较短的保鲜期也限制了荔枝的远距离运输、销售和消费^[1]。有研究表明,通过蛋白类多糖膜^[2]、改性微球^[3]和改性气调包装^[4]等物理方式可以适当延长荔枝保鲜期。但实际生产中,由于缺乏完善的采收、贮藏以及运输保鲜体系^[5],大部分远销的荔枝保鲜仍然依靠化学保鲜方法为主或冷链辅助运输,在此过程中使用的保鲜剂种类、剂量及其在贮藏环节的污染水平仍缺乏数据支撑。

咪鲜胺是一种广谱、高效、低毒的新型咪唑类杀菌剂,对青霉病^[6]、炭疽病^[7-9]、褐腐病^[10]等水果贮藏期病害有明显的防治效果。抑霉唑是一种内吸性杀菌剂,对侵袭水果和蔬菜的许多真菌病害都有防效,能减缓、防治采后水果腐烂^[11]。咪鲜胺在环境中的最终代谢产物为 2,4,6-三氯苯酚,它是美国环保署列出的 2B 类致癌物之一^[12],生物降解性差,易造成环境污染,对人体健康存在潜在威胁。抑霉唑主要代谢产物为咪唑乙醇,属于刺激性的有害化合物,吞食有害。抑霉唑和咪鲜胺是农业行业标准 NY/T 1530-2007《龙眼、荔枝产后贮运保鲜技术规程》^[13]中规定的保鲜用药,其中抑霉唑未在荔枝上登记,而登记用药咪鲜胺在荔枝上的用法仅为采收前喷施使用。邓义才等^[14]研究了多菌灵、抑霉唑、咪鲜胺三种杀菌剂在荔枝贮藏过程中的残留动态,发现质量安全风险随着浸泡浓度增大而增大。李奕星等^[15]发现芥末精油微胶囊结合咪鲜胺比单独使用微胶囊更能改善荔枝的贮藏品质。目前,抑霉唑和咪鲜胺在水果上的保鲜应用研究主要集中于防治机理^[16]、贮藏效果^[17-18]、消解动态及风险评估^[19-22]等,咪鲜胺和抑霉唑及其代谢产物在荔枝贮藏过程中的消解转化情况和健康风险评价尚未见系统报道。我国国家标准 GB2763-2021^[23]规定了咪鲜胺的总量包括咪鲜胺及 2,4,6-三氯苯酚,暂未对抑霉唑及其代谢物总量作出明确规定,这与美国要求的抑霉唑残留量包括抑霉唑及其代谢物的总和尚有差异,国内涉及抑霉唑代谢产物咪唑乙醇的分析检测方法也鲜有报道。因此,亟需建立检测方法用于开展荔枝保鲜剂残留、消解动态及摄入风险研究。

抑霉唑和咪鲜胺常用的检测方法有液相色谱法^[24]、液相色谱-串联质谱法^[25-26]、气相色谱-串联质谱法^[27-28]。本研究采用 GC-MS/MS 技术,建立同时测定抑霉唑、咪鲜胺、咪唑乙醇和 2,4,6-三氯苯酚的分析方法,阐述其在荔枝保鲜中的残留规律及代谢产物积累情况,明确膳食风险隐患,为荔枝保鲜安全合

理使用农药提供依据,也为建立完善的荔枝贮运保鲜体系提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

桂味荔枝 广西钦州市灵山县新光农场提供,2022 年 6 月采收,八成熟;咪鲜胺乳油 250 g/L,苏州福美实植物保护剂有限公司;抑霉唑水乳剂 有效成分 20%,江苏剑牌农化股份有限公司;咪鲜胺、抑霉唑标准品 100 mg/L,国家环境保护监测研究中心;2,4,6-三氯苯酚、咪唑乙醇标准品 100 mg/L,天津阿尔塔科技有限公司;乙腈、乙酸乙酯 色谱纯,美国赛默飞公司。

TRACE1300-TSQ9000 气相色谱-质谱仪 配有电子轰击(EI)离子源及 Chromeleon 7.0 分析软件,美国 Thermo Scientific 公司;SIGMA-3K30 型冷冻离心机 德国 Sigma 希格玛离心机公司;氮吹仪 美国 Organomation 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 荔枝中抑霉唑、咪鲜胺、咪唑乙醇和 2,4,6-三氯苯酚的消解残留试验 试验参照 NY/T 788-2018《农药残留试验准则》^[29]进行。

1.2.1.1 预冷 选择成熟度约 8 成熟的桂味荔枝,于晴天清晨采收后立即运回实验室,选择无机械伤害的果实,剪枝保留果蒂。采用冰水快速预冷,将荔枝浸泡于冰水 2 min 后捞出沥干水分,以排除果实自身带来的田间热和呼吸热^[30]。

1.2.1.2 残留动态试验 共设空白(清水浸泡),250、500 mg/L 咪鲜胺,250、500 mg/L 抑霉唑 5 个处理组,每个处理设 3 个重复。其中,250 mg/L 参考柑橘浸果保鲜推荐低剂量;500 mg/L 为推荐高剂量,也是 NY/T 1530-2008^[13]规定的荔枝防腐处理浓度。将预冷沥干水分的荔枝果实,分别按上述处理浓度浸果 1 min 后晾干果实^[13],再用聚乙烯薄膜袋按采样间隔期分装;然后放入温度为 3~5 ℃,湿度为 80%~90%的冷藏库中贮藏。采样期设置为:2 h、1、3、5、7、14、21、30、35、40 d。取样时按果皮、果肉和全果(去核,计算时将果核重量折算成全果)分别制样,切碎匀浆装入聚乙烯塑料瓶,于-20 ℃冷冻贮存,待测。

1.2.1.3 最终残留试验 试验共设 250、500 mg/L 咪鲜胺浸泡 1 次和 250、500 mg/L 抑霉唑浸泡 1 次 4 个处理,每次浸果时间为 1 min,每个处理设 3 个重复。处理后的果实用聚乙烯薄膜袋按设置的采样间隔期分装并贴上标签,放入温度为 3~5 ℃、湿度为 80%~90%的冷藏库中贮藏。分别于 14、21 和 30 d

采集荔枝样品,测定农药残留量。样品制备方法与消解动态试验相同。

1.2.2 检测方法

1.2.2.1 样品预处理 分别称取 10.0 g 荔枝全果、果皮和果肉样品于塑料离心管中,加入 10 mL 乙腈和萃取盐包,加入陶瓷质子振荡 1 min,于 4200 r/min 离心 5 min。吸取 6.0 mL 上清液加到内含 900 mg 硫酸镁及 150 mg PSA 的离心管中,涡旋混匀后 4200 r/min 离心 5 min,准确吸取 2.0 mL 上清液于试管中,40 ℃ 水浴氮吹至近干。加入 1.0 mL 乙酸乙酯复溶,过 22 μm 有机滤膜后转移至进样瓶,待气相色谱-质谱测定。

1.2.2.2 气相色谱-三重四级杆串联质谱检测条件 色谱条件:色谱柱:赛默飞 TG-5SILMS(30 m×0.25 mm,0.25 μm);进样口温度 220 ℃;载气:高纯氦气,流速 1.0 mL/min;不分流进样。升温程序:初始温度 80 ℃,保持 2.2 min;以 30 ℃/min 升至 250 ℃,保持 1.0 min;以 10 ℃/min 升至 280 ℃,保持 8.0 min。

质谱条件:离子源:电子轰击(EI);电子能量 70 eV;质谱传输线温度 280 ℃,离子源温度 290 ℃;选择反应监测扫描模式(SRM),溶剂延迟 5 min,质谱检测参数见表 1。

表 1 农药质谱参数

Table 1 Mass spectrometric parameters for pesticides

农药	保留时间 (min)	定量离子对	定性离子对	碰撞能量 (eV)
抑霉唑	9.77	172.8-109.0	174.7-147.0	26,16
咪鲜胺	12.72	180.1-138.1	310.0-70.1	10,15
咪唑乙醇	9.94	175.1-111.0	221.2-203.1	10,10
2,4,6-三氯苯酚	6.34	198.0-97.0	132.0-97.0	10,28

1.2.3 标准曲线绘制 将质量浓度为 100 mg/L 的抑霉唑、咪鲜胺、咪唑乙醇和 2,4,6-三氯苯酚标准溶液用乙酸乙酯逐级稀释,分别配制成质量浓度为 0.01、0.05、0.10、0.25、0.50 和 1.00 mg/L 的标准工作溶液。按 1.2.2.2 仪器条件进行测定,以三种农药标准溶液的质量浓度(x)对峰面积(y)绘制标准曲线。

1.2.4 添加回收试验 称取 3 份(每份 10.0 g)经测试不含供试农药的荔枝果皮、果肉和全果空白试样,分别添加抑霉唑、咪鲜胺、咪唑乙醇和 2,4,6-三氯苯酚混合标准溶液,添加水平为:0.01、0.10、1.00 mg/kg,每个添加水平平行测定 5 次,混匀静置 30 min 后,按照 1.2.2.1 的方法提取、净化、定容,用 GC-MS/MS 测定,计算回收率及相对标准偏差。

1.2.5 膳食摄入风险评估

1.2.5.1 慢性膳食暴露风险 慢性膳食暴露风险 %ADI 按公式(1)计算,当 %ADI ≤ 100% 时,表示风险可以接受;当 %ADI > 100% 时,表示有不可接受的风险。

$$\%ADI = \frac{STMR \times F}{bw \times ADI} \times 100 \quad \text{式 (1)}$$

式中:%ADI 为农药慢性膳食暴露风险(mg/kg bw);STMR 为试验中获得的荔枝农药残留中值(supervised trials median residues, STMR)(mg/kg);bw(body weight)为人群平均体重(kg),取 60 kg;F 参考中国城市居民水果每日摄入量,取 49.0 g^[31],中国 18 岁以上成年人平均体重为 64.3 kg^[32],咪鲜胺 ADI 值为 0.01 mg/kg bw,抑霉唑 ADI 值为 0.03 mg/kg bw^[23]。

1.2.5.2 急性膳食暴露风险 急性膳食暴露风险 %ARfD 按公式(2)计算,当 %ARfD ≤ 100% 时,表示风险可以接受;当 %ARfD > 100% 时,表示有不可接受的风险。

$$\%ARfD = \frac{[U \times HR \times v + (LP - U) \times HR]}{bw \times ARfD} \times 100 \quad \text{式 (2)}$$

式中:U 为荔枝可食部分,取值 16.4 g,3 岁以上普通人群荔枝大份餐 LP 为 263.95 g,数据采用世界卫生组织(WHO)相关数据库膳食数据表格 IESTI calculation16 中的泰国数据^[33];HR 为农药最高残留量(highest residue, HR)(mg/kg);变异因子 v 取 3;ARfD 为急性参考剂量,其中咪鲜胺 ARfD 值为 0.1 mg/kg,抑霉唑 ARfD 值为 0.05 mg/kg^[34]。

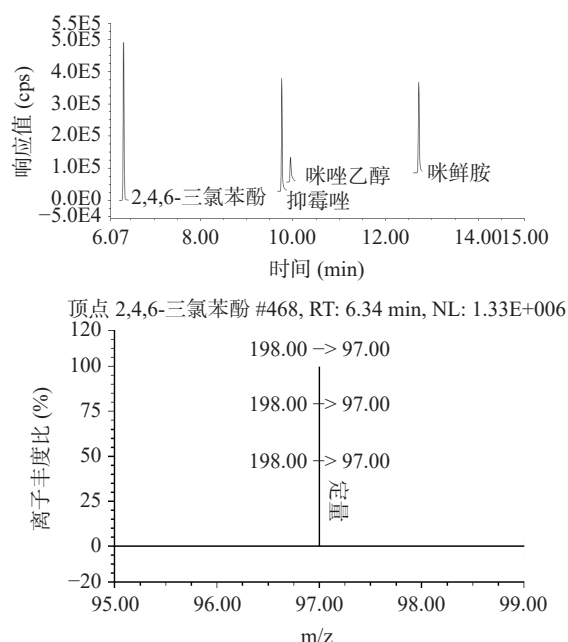
1.3 数据处理

使用 Chromeleon 7.0 软件采集数据及定量分析,采用 Microsoft Office Excel 2019 和 Origin 2021 进行统计学分析和图形绘制,结果以平均数表示。

2 结果与分析

2.1 检测方法确证

在 0.01~1.0 mg/L 标样范围内,抑霉唑、咪鲜胺及其代谢物的质量浓度与其峰面积线性关系良好,标



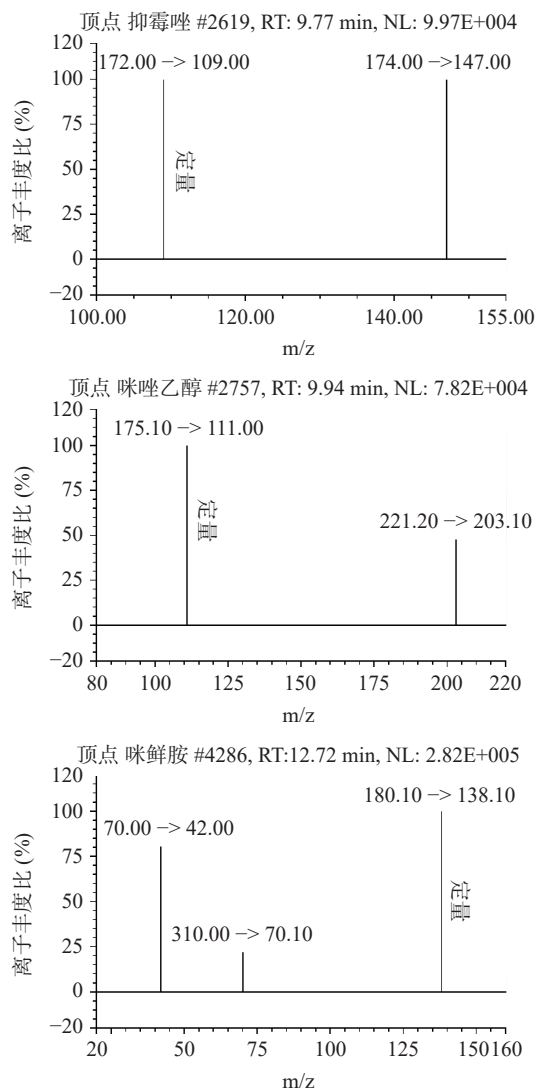


图 1 抑霉唑、咪鲜胺、咪唑乙醇和 2,4,6-三氯苯酚标准溶液色谱-质谱图

Fig.1 Chromatography-mass spectrometry of standard solution of imazalil, prochloraz, imidazole ethanol and 2,4,6-trichlorophenol

样色谱质谱图见图 1。线性方程回归方程分别为: 咪鲜胺 $Y=49219X+914.97$, $r=0.9972$; 2,4,6-三氯苯酚

$Y=172047X+1441.3$, $r=0.9978$; 抑霉唑 $Y=120875X+346.78$, $r=0.9993$; 咪唑乙醇 $Y=55445X-465.66$, $r=0.9971$ 。

在空白荔枝全果、果皮和果肉样品中添加 3 个水平浓度的标准溶液, 每个添加水平 5 个重复。采用基质匹配标准曲线降低基质效应。通过样品加标逐级稀释的方法信噪比为 3 时, 确定检出限(limit of detection, LOD), 信噪比为 10 时确定定量限(limit of quantitation, LOQ)。抑霉唑、咪鲜胺、咪唑乙醇和 2,4,6-三氯苯酚的 LOD 分别为 2.0、3.0、6.0、0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$; LOQ 分别为 6.0、10.0、20.0、1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。抑霉唑回收率为 88.2%~102%, RSD 为 2.7%~5.5%; 咪鲜胺回收率为 81.9%~95.0%, RSD 为 2.6%~5.2%; 咪唑乙醇回收率为 78.9%~107%; RSD 为 3.7%~5.8%; 2,4,6-三氯苯酚回收率为 91.1%~107%; RSD 为 2.6%~5.5%; 回收率、精密度均符合农药残留试验准则^[29]的要求, 结果见表 2。

2.2 抑霉唑和咪鲜胺在荔枝全果、果皮和果肉的原始沉积量

荔枝采用抑霉唑和咪鲜胺保鲜剂各浸泡 1 min, 取出自然晾干 2 h 后取样测定^[13]。浸泡浓度与其在荔枝全果、果皮和果肉中的原始沉积量如表 3 所示。荔枝果皮粗糙容易附着农药, 保鲜剂浓度越高, 果皮农药附着量越大, 相应的全果和果皮的沉积量也越高, 此时果肉中农药残留未检出, 但随着时间延长, 果皮上残留的农药会逐渐渗透到果肉中, 这与邓义才等^[14]的研究结果相似。因此, 在保证保鲜效果的同时, 选择合适的浸泡浓度是非常必要的。

2.3 抑霉唑和咪鲜胺在荔枝中的消解动态

按照 1.2.1.2 开展消解残留试验, 监测抑霉唑、咪鲜胺及代谢物咪唑乙醇、2,4,6-三氯苯酚在保鲜贮藏过程中的残留消解动态, 消解动态见图 2 和图 3, 消解方程及半衰期见表 4, 表中咪鲜胺含量为咪鲜胺及其含有 2,4,6-三氯苯酚部分的代谢产物之和^[23]。

表 2 抑霉唑和咪鲜胺及其代谢物在荔枝全果、果皮、果肉中的添加回收率(n=5)

Table 2 Recovery rates of imazalil, prochloraz and their metabolites in whole fruit, peel and pulp of litchi (n=5)

农药	样品	添加水平(mg/kg)	回收率(%)	相对标准偏差RSD(%)
抑霉唑	全果	0.01、0.10、1.00	88.2±3.92、97.8±3.47、90.4±4.04	4.4、3.5、4.5
	果皮	0.01、0.10、1.00	92.4±3.48、97.1±2.65、102±5.06	3.8、2.7、4.9
	果肉	0.01、0.10、1.00	93.1±3.80、97.9±3.07、100±5.52	4.1、3.1、5.5
咪鲜胺	全果	0.01、0.10、1.00	81.9±4.10、95.0±4.96、91.3±2.99	5.0、5.2、3.3
	果皮	0.01、0.10、1.00	86.0±2.77、91.5±2.80、93.1±3.62	3.2、3.1、3.9
	果肉	0.01、0.10、1.00	83.5±2.95、92.7±3.76、91.1±2.36	3.5、4.0、2.6
咪唑乙醇	全果	0.01、0.10、1.00	105±3.92、80.3±4.62、78.9±3.89	3.7、5.8、4.9
	果皮	0.01、0.10、1.00	107±5.30、98.2±4.00、90.6±5.17	5.0、4.1、5.7
	果肉	0.01、0.10、1.00	98.6±5.04、89.4±3.33、90.0±5.09	5.1、5.6、3.7
2,4,6-三氯苯酚	全果	0.01、0.10、1.00	91.1±2.36、99.0±3.09、95.9±3.73	2.6、3.1、3.9
	果皮	0.01、0.10、1.00	103±4.64、100±5.51、92.8±2.42	4.5、5.5、2.6
	果肉	0.01、0.10、1.00	102±3.67、97.0±3.12、107±5.29	3.6、3.2、4.9

表 3 浸泡浓度对荔枝全果、果皮和果肉沉积量的影响
Table 3 Effects of soaking concentration on whole fruit, peel and pulp deposition of litchi

农药	浸泡浓度 (mg/L)	全果沉积量 (mg/kg)	果皮沉积量 (mg/kg)	果肉沉积量 (mg/kg)
抑霉唑	250	7.832±0.62	23.26±1.14	ND
	500	11.05±1.14	25.24±0.97	ND
咪鲜胺	250	6.424±0.41	8.072±0.17	ND
	500	8.867±0.59	13.59±1.28	ND

注: ND为未检出。

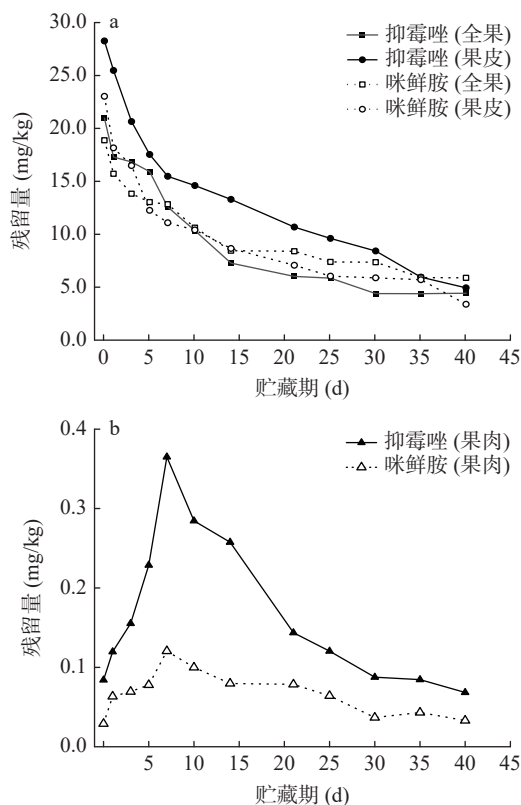


图 2 抑霉唑和咪鲜胺在荔枝全果、果皮和果肉中的残留动态

Fig.2 Residual dynamics of imazalil and prochloraz in whole fruit, peel and flesh of litchi

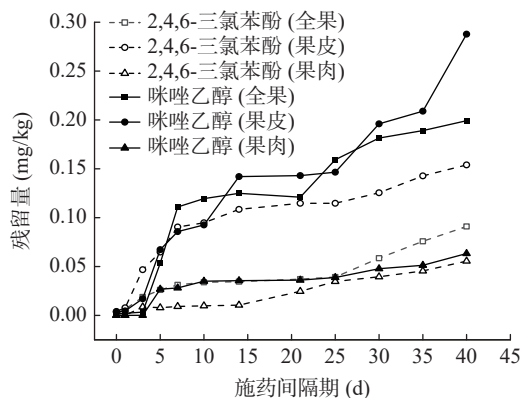


图 3 咪唑乙醇和 2,4,6-三氯苯酚在荔枝全果、果皮和果肉中的残留动态

Fig.3 Residual dynamics of imidazole ethanol and 2,4,6-trichlorophenol in whole fruit, peel and flesh of litchi

由表 4 中数据可知, 抑霉唑在荔枝全果和果肉的半衰期均比咪鲜胺短, 在果肉中消解得最快; 而咪鲜胺

在荔枝果皮和果肉的半衰期接近, 在全果中的半衰期最长。

表 4 抑霉唑和咪鲜胺在荔枝中的消解方程及半衰期
Table 4 Digestion equation and half-life of imazalil and prochloraz in litchi

农药	消解部位	消解动态方程	相关系数R	半衰期(d)
抑霉唑	全果	$y=17.301e^{-0.041x}$	0.9701	16.9
	果皮	$y=23.672e^{-0.038x}$	0.9654	18.2
	果肉	$y=0.4843e^{-0.052x}$	0.9808	13.3
咪鲜胺	全果	$y=15.275e^{-0.027x}$	0.9500	25.7
	果皮	$y=17.173e^{-0.039x}$	0.9381	17.8
	果肉	$y=0.1511e^{-0.038x}$	0.9700	18.2

由图 2a 可知, 消解全过程中果皮和全果的农药残留量远高于果肉。抑霉唑和咪鲜胺在全果和果皮中的残留浓度均随时间延长不断下降, 咪鲜胺在 14 d 前下降趋势较快, 14 d 后趋于平缓; 全果中的抑霉唑残留量从 25 d 后下降速率开始减慢, 而在果皮中一直保持较快的下降趋势, 这可能是由于附着在果皮上的抑霉唑更容易转化为咪唑乙醇。由于果皮上附着的农药会不断向果肉迁移渗透, 因此果肉中抑霉唑和咪鲜胺残留量的变化则是先随储存时间不断升高, 如图 2b 所示, 果肉中两种保鲜剂均于第 7 d 达到残留峰值后再随时间不断降低。

两种保鲜剂的代谢物在荔枝全果、果皮和果肉中残留情况如图 3 所示。咪唑乙醇和 2,4,6-三氯苯酚的含量在 0~40 d 的贮藏期呈不断上升的趋势, 说明这两种代谢物在荔枝果实不同部位均有积累现象。咪唑乙醇在全果、果皮和果肉的积累量比 2,4,6-三氯苯酚高, 这可能是由于内吸性农药抑霉唑比咪唑类农药咪鲜胺更容易吸附渗透在荔枝上, 原始沉积量大造成的, 也可能是由于抑霉唑转化成咪唑乙醇的转化率更高造成的。

2.4 抑霉唑和咪鲜胺在荔枝中的最终残留

按照 1.2.1.3 开展最终残留试验, 设置 14、21 和 30 d 间隔期进行采样测定最终残留试验, 35 d 时, 荔枝果肉自溶现象严重、已经开始变质腐烂, 因此为了更加合理地对膳食风险进行评估, 试验仅列出 30 d 前的数据, 结果见表 5。残留量数据分别为残留中值 STMR 和最大残留量 HR。

2.5 膳食风险评估

对荔枝的可食部分果肉进行风险评估。本着风险最大化原则, 采用浸泡后贮藏 14 d 的抑霉唑和咪鲜胺的数据进行膳食风险评估, 其中 2,4,6-三氯苯酚残留量按 2,4,6-三氯苯酚与咪鲜胺的分子质量比 197.5:376.8 换算成咪鲜胺。荔枝果肉中抑霉唑和咪鲜胺的慢性膳食暴露评估和急性膳食暴露评估见表 6。慢性膳食风险值 %ADI 和急性膳食风险值 %ARfD 均小于 100, 在可接受范围之内, 说明膳食风险较低, 处于安全水平。

表 5 抑霉唑和咪鲜胺及其代谢物在荔枝全果、果皮和果肉中的最终残留
Table 5 Final residues of imazalil and prochloraz and their metabolites in whole fruit, peel and pulp of litchi

农药	浸泡浓度 (mg/L)	14 d			21 d			30 d		
		全果 STMR/HR (mg/kg)	果皮 STMR/HR (mg/kg)	果肉 STMR/HR (mg/kg)	全果 STMR/HR (mg/kg)	果皮 STMR/HR (mg/kg)	果肉 STMR/HR (mg/kg)	全果 STMR/HR (mg/kg)	果皮 STMR/HR (mg/kg)	果肉 STMR/HR (mg/kg)
抑霉唑	250	4.65/5.28	8.45/9.98	0.13/0.15	3.33/3.85	7.12/7.87	0.089/0.093	3.45/3.88	4.13/4.62	0.072/0.073
	500	6.01/6.45	10.98/11.34	0.18/0.20	4.13/4.71	8.44/8.94	0.11/0.12	4.58/4.74	4.97/5.25	0.094/0.096
咪鲜胺	250	5.89/6.20	7.23/7.70	0.086/0.090	4.99/5.15	6.46/6.74	0.038/0.042	2.67/2.96	5.01/5.39	0.036/0.030
	500	6.77/7.19	8.83/9.26	0.089/0.10	5.56/5.98	7.87/8.11	0.042/0.048	3.16/3.44	6.23/6.48	0.034/0.043
咪唑乙醇	250	0.10/0.12	0.12/0.14	0.036/0.036	0.17/0.18	0.18/0.20	0.044/0.048	0.19/0.20	0.26/0.29	0.060/0.063
	500	0.17/0.18	0.16/0.18	0.053/0.056	0.25/0.28	0.29/0.31	0.079/0.085	0.26/0.28	0.39/0.43	0.068/0.082
2,4,6-三氯苯酚	250	0.036/0.037	0.11/0.12	0.020/0.025	0.054/0.059	0.11/0.12	0.035/0.040	0.087/0.091	0.14/0.15	0.052/0.056
	500	0.057/0.064	0.15/0.16	0.031/0.036	0.098/0.10	0.19/0.20	0.084/0.090	0.13/0.14	0.18/0.23	0.068/0.080

表 6 抑霉唑和咪鲜胺在荔枝果肉中的膳食风险评估
Table 6 Dietary risk assessment of imazalil and prochloraz in litchi pulp

农药	浸泡浓度(mg/L)	ADI	ARfD	平均体重(kg)	日均消费量(g/d)	消费大份餐(g)	STMR/HR(mg/kg)	%ADI	%ARfD
抑霉唑	250	0.03	0.05	64.3	49.0	263.95	0.13/0.15	0.33	1.38
	500						0.18/0.20	0.45	1.85
咪鲜胺	250	0.01	0.10	64.3	49.0	263.95	0.19/0.19	1.44	0.89
	500						0.28/0.29	2.10	1.34

3 讨论与结论

本实验采用 QuEChERS 前处理技术建立了 GC-MS/MS 法同时测定荔枝中抑霉唑、咪鲜胺及代谢物咪唑乙醇、2,4,6-三氯苯酚的方法,在荔枝全果、果皮和果肉不同基质中的检出限、线性范围、精密度及添加回收均能满足准确定量分析的要求。

浸果保鲜剂浓度对荔枝全果、果皮和果肉的原始沉积量起主导作用,浓度越高、沉积量越大,沉积农药随着保鲜时间的延长,会逐渐渗透到果肉中,导致食用安全风险增加,因此,需要选择合理、适宜的浸果浓度进行荔枝保鲜。抑霉唑和咪鲜胺在荔枝全果、果皮和果肉中的消解均符合一级动力学方程,在实验的贮藏期内,它们的代谢物均随着时间延长不断累积,全果和果皮中的积累速度高于果肉。抑霉唑在荔枝各部位的半衰期为果皮<全果<果肉,咪鲜胺则为果皮~果肉<全果。对浸泡后 14 d 荔枝果肉中的抑霉唑和咪鲜胺进行摄入风险评估发现,2 种浓度浸泡处理后,果肉的慢性和急性膳食摄入风险均在可接受范围内。荔枝的贮藏期远不如柑橘的贮藏期长,即使在 30 d 内,代谢物在此贮藏期内的积累还不足以产生食用安全风险。但目前抑霉唑仍未在荔枝上登记,咪鲜胺虽然是荔枝登记用药,但仅用于种植时期,喷雾用药尚未有浸果保鲜用法,因此建议加快推进荔枝保鲜用药安全性评估及农药登记,完善用药安全间隔期,为合理规范杀菌剂的使用提供科学依据。此外,抑霉唑代谢咪唑乙醇的手性差异^[35]可能产生危害风险、积累部位、毒性等差异,只有进一步开展相关研究,通过结合化学、生物学等技术,才能更真实、准确地评价抑霉唑对环境与健康的风险。

distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

[1] QI L N, LI T, ZHOU L H, et al. Survey of sulfur dioxide residues in litchi preservation process in Hainan province[J]. *Applied Mechanics and Materials*, 2015, 3744(713-715): 2585–2590.

[2] GENG C, LIU X Y, MA J L, et al. High strength, controlled release of curcumin-loaded ZIF-8/chitosan/zein film with excellence gas barrier and antibacterial activity for litchi preservation[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2023, 306(15): 120612.

[3] MA J J, ZHOU Z Q, LI K, et al. A gas-permeation controllable packaging membrane with porous microspheres as gas "Switches" for efficient preservation of litchi[J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2021, 69(35): 10281–10291.

[4] MO F, LIN B F, LAI F J, et al. A green modified microsphere of chitosan encapsulating dimethyl fumarate and cross-linked by vanillin and its application for litchi preservation[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2016, 55(16): 4490–4498.

[5] 朱建华, 李鸿莉, 秦献泉, 等. 广西荔枝龙眼品种发展历程与展望[J]. *广西农学报*, 2021, 36(5): 80–83. [ZHU J H, LI H L, QIN X Q, et al. Development course and prospect of litchi and longan cultivars in Guangxi[J]. *Journal of Guangxi Agriculture*, 2021, 36(5): 80–83.]

[6] KELLERMAN M, JOUBERT J, ERASMUS A, et al. The effect of temperature, exposure time and pH on imazalil residue loading and green mould control on citrus through dip application[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2016, 121: 159–164.

[7] OBIANOM C, SIVAKUMAR D. Differential response to combined prochloraz and thyme oil drench treatment in avocados against the control of anthracnose and stem-end rot[J]. *Phytoparasitica*, 2018, 46(3): 273–281.

[8] 马桂梅, 普继雄, 孙秀梅, 等. 葡萄炭疽病防治药剂的筛选和残留安全性评价[J]. *中国果树*, 2022(8): 44–46, 49. [MA G M,

- PU J X, SUN X M, et al. Screening and residual safety evaluation of grape anthracnose control[J]. China Fruits, 2022(8): 44-46,49.]
- [9] 王美玉, 冀志蕊, 王娜, 等. 苹果炭疽叶枯病菌对3种杀菌剂的敏感性分析[J]. 果树学报, 2018, 35(4): 458-468. [WANG M Y, JI Z R, WANG N, et al. Detection of the sensitivity of *Colletotrichum gloeosporioides* to three fungicides[J]. China Fruits, 2018, 35(4): 458-468.]
- [10] 刘萍, 何建军, 阳廷密, 等. 6种常见杀菌剂用于沙糖桔采后保鲜的效果及其残留[J]. 中国南方果树, 2019, 48(6): 7-11. [LIU P, HE J J, YANG T M, et al. Effect of six fungicides for postharvest fresh keeping of Shatangju fruits and their residual[J]. South China Fruits, 2019, 48(6): 7-11.]
- [11] 徐玮. 抑霉唑硫酸盐对柑橘保鲜期病害的防效研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2019. [XU W. The control effect of imazalil sulfate on citrus storage diseases[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2019.]
- [12] United States Environmental Protection Agency (EPA). Integrated Risk Information System (IRIS): IRIS assessments[EB/OL]. (1990-06-01) [2023-07-18]. https://iris.epa.gov/ChemicalLanding/&substance_nmbr=122.
- [13] 中华人民共和国农业农村部. NY/T 1530-2007 龙眼、荔枝产后贮运保鲜技术规程[S]. 北京: 中国农业出版社, 2007. [Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. NY/T 1530-2007 Technical regulation for storage and transportation of longyan and litchi after harvest[S]. Beijing: China Agricultural Press, 2007.]
- [14] 邓义才, 骆冲, 马镭, 等. 杀菌剂在荔枝贮藏过程中的残留动态及安全管控研究[J]. 农产品质量与安全, 2018(4): 81-84. [DENG Y C, LUO C, MA K, et al. Study on residual dynamics and safety control of fungicides in litchi storage[J]. Quality and Safety of Agro-Products, 2018(4): 81-84.]
- [15] 李奕星, 李芬芳, 陈娇, 等. 芥末精油微胶囊结合咪鲜胺处理对荔枝贮藏品质的影响[J]. 海南师范大学学报(自然科学版), 2020, 33(1): 58-63. [LI Y X, LI F F, CHEN J, et al. Effects of mustard essential oil microencapsulation combined with prochloraz treatments on quality of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit during storage[J]. Journal of Hainan Normal University (Natural Science), 2020, 33(1): 58-63.]
- [16] 蒲占滑, 黄振东, 胡秀荣, 等. 浙江省柑橘黑点病菌对代森锰锌、咪鲜胺、王铜、啉菌酯和甲基硫菌灵的敏感性[J]. 中国农学通报, 2019, 35(32): 115-120. [PU Z X, HUANG Z D, HU X R, et al. Sensitivity of *diaporthe citri* to mancozeb, prochloraz, copper oxychloride, azoxystrobin and thiophanate-methyl in Zhejiang[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2019, 35(32): 115-120.]
- [17] 赵杰, 陈宣明, 遇露, 等. 唑胺菌酯与咪鲜胺混剂对柑橘炭疽病的药效试验[J]. 农药, 2016, 55(4): 290-291,303. [ZHAO J, CHEN X M, YU L, et al. The efficacy of mixture of pyrametostrobin and prochloraz against citrus anthracnose[J]. Agrochemicals, 2016, 55(4): 290-291,303.]
- [18] 李鸿筠, 姚廷山, 王联英, 等. 5种药剂对柑橘贮藏病害的防控效果评价[J]. 食品工业科技, 2014, 35(11): 319-323. [LI H Y, YAO T S, WANG L Y, et al. Evaluation on the control effect of 5 fungicides against citrus storage diseases[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(11): 319-323.]
- [19] TIAN F J, QIAO C K, WANG C X, et al. Dissipation behavior of prochloraz and its metabolites in grape under open-field, storage and the wine-making process[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2022, 114: 104846.
- [20] 苏德森, 郑云云, 陈自强, 等. 咪鲜胺及其代谢物2,4,6-三氯苯酚在金柑防腐保鲜贮藏中的残留动态及风险评估[J]. 食品科学, 2021, 42(14): 315-319. [SU D S, ZHENG Y Y, CHEN Z Q, et al. Residual dynamics and risk assessment of dietary exposure to prochloraz and its metabolite 2,4,6-trichlorophenol in kumquats treated with prochloraz during storage[J]. Food Science, 2021, 42(14): 315-319.]
- [21] FANG Q K, YAO G Y, SHI Y H, et al. Residue dynamics and risk assessment of prochloraz and its metabolite 2,4,6-trichlorophenol in apple[J]. Molecules, 2017, 22(10): 1780-1783.
- [22] 谢莉, 罗焘, 许让伟, 等. 柑橘果实贮藏期咪鲜胺和抑霉唑残留量的动态变化[J]. 华中农业大学学报, 2016, 35(1): 17-23. [XIE L, LUO T, XU R W, et al. Dynamic analyses of prochloraz and imazalil residues in citrus during fruit storage[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2016, 35(1): 17-23.]
- [23] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 中华人民共和国农业农村部, 国家市场监督管理总局. GB 2763-2021 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S]. 北京: 中国农业出版社, 2021. [National Health Commission of the People's Republic of China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, State Administration for Market Regulation. GB 2763-2021 National food safety standard. Maximum residue limits for pesticides in food[S]. Beijing: China Agricultural Press, 2021.]
- [24] 白亮, 马超, 赵宜君, 等. 40% 脲菌酯·咪鲜胺水乳剂高效液相色谱分析[J]. 农药, 2023, 62(4): 260-262. [BAI L, MA C, ZHAO Y J, et al. HPLC analysis of prochloraz·trifloxystrobin 40% EW[J]. Agrochemicals, 2023, 62(4): 260-262.]
- [25] FU Y, WANG Q S, ZHANG L, et al. Simultaneous determination of prochloraz and three metabolites in fruits and vegetables by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)[J]. Analytical Letters, 2020, 53(3): 355-370.
- [26] LI R N, DONG F S, XU J, et al. Enantioseparation of imazalil and monitoring of its enantioselective degradation in apples and soils using ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(16): 3259-3267.
- [27] 陈阳. 全自动快速溶剂提取联合 GC-MS/MS 法同时测定农作物土壤中 5 种炭疽病常用农药[J]. 中国测试, 2022, 48(4): 73-76,109. [CHEN Y. Simultaneous determination of five common anthracis pesticides in crop soil by automatic rapid solvent extraction combined with GC-MS/MS[J]. China Measurement & Test, 2022, 48(4): 73-76,109.]
- [28] YAREN D, AYBUKE G, BERFIN M, et al. A novel and rapid extraction protocol for sensitive and accurate determination of prochloraz in orange juice samples: Vortex-assisted spraying-based fine droplet formation liquid-phase microextraction before gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Mass Spectrometry, 2020, 55(10).
- [29] 中华人民共和国农业农村部. NY/T 788-2018 农药残留试验准则[S]. 北京: 中国农业出版社, 2018. [Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. NY/T 788-2018 Guideline for the testing of pesticide residues in crops[S]. Beijing: China Agricultural Press, 2018.]
- [30] 李家庆. 果蔬保鲜手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社,

2003; 363. [LI J Q. Fruit and vegetable preservation manual[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2003; 363.]

[31] 赵丽云, 丁钢强, 赵文华. 2015-2017 年中国居民营养与健康状况监测报告[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2022. [ZHAO L Y, DING G Q, ZHAO W H. Monitoring report on nutrition and health status of Chinese residents of 2015 to 2017[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2022.]

[32] 国家疾病预防控制中心. 中国居民营养与慢性病状况报告(2020 年)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2021. [National Bureau of Disease Control and Prevention. Report on Nutrition and Chronic Diseases in China (2020)[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2021.]

[33] WHO. Global Environment Monitoring System (GEMS/

food)[EB/OL]. (2019-3-26)[2023-3-20]. https://cdn.who.int/media/docs/default-source/food-safety/gems-food/iesti_calculation21_data-overview.xlsx?sfvrsn=ec9f2eb1_7.

[34] 宋稳成. JMPR 评估农药 ADI 和 ARfD 清单[J]. 农药科学与管理, 2009, 30(8): 12-17. [SONG W C. JMPR assessment of ADI and ARfD lists of pesticides[J]. Pesticide Science and Administration, 2009, 30(8): 12-17.]

[35] 姚周麟, 章虎, 吴韶辉, 等. 抑霉唑手性异构体及其代谢物在柑橘贮藏中的选择性行为[J]. 农药学报, 2022, 24(1): 142-151.

[YAO Z L, ZHANG H, WU S H, et al. Selective behavior of imazalil enantiomers and its metabolites in citrus storage[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2022, 24(1): 142-151.]