不同清洗和储藏方式下戊唑醇在黄瓜中的残留变化

刘 娜[1,2]， 潘兴鲁[2]， 程 功[3]， 白雪松[3]， 纪明山[3*]， 张志宏[1*]

（1. 沈阳农业大学园艺学院，辽宁省草莓育种与优质栽培重点实验室，沈阳 110866；
2. 中国农业科学院植物保护研究所，北京 100193；3. 沈阳农业大学植物保护学院，沈阳 110866）

摘要 以田间施药后的黄瓜为研究对象，模拟家庭清洗和储藏方式，利用液相色谱串联三重四级杆质谱(ultra performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry，UPLC-MS/MS)对不同清洗和储藏方式下黄瓜中的戊唑醇残留进行测定，旨在探究从田间到餐桌，鲜食黄瓜时农药残留的去除方法，为膳食风险评估提供理论参考。结果表明，在不同的清洗方式下清洗 15 min 后，黄瓜中戊唑醇的去除率达到 31.82%～78.79%。其中 5%乙酸溶液对戊唑醇去除效果最佳。室温 22℃时放置 48 h 戊唑醇去除率达到 67.42%。超声波清洗 15 min 后戊唑醇的去除率为 76.51%。

关键词 戊唑醇； 黄瓜； 清洗； 储藏

中图分类号： S 481.8 **文献标识码：** A **DOI：** 10.16688/j.zwbh.2017408

Effects of various washing and storage methods on tebuconazole residues in raw cucumber

LIU Na[1,2]， PAN Xinglu[2]， CHENG Gong[3]， BAI Xuesong[3]， JI Mingshan[3]， ZHANG Zhihong[1]

（1. *College of Horticulture*，*Shenyang Agricultural University*，*Liaoning Key Laboratory of Strawberry Breeding and Cultivation*，*Shenyang* 110866，*China*；2. *Institute of Plant Protection*，*Chinese Academy of Agricultural Sciences*，*Beijing* 100193，*China*；3. *College of Plant Protection*，*Shenyang Agricultural University*，*Shenyang* 110866，*China*）

Abstract Cucumber was sprayed with tebuconazole to quantify the effects of household washing and storage on the pesticide residues. The effects of various washing and storage methods on tebuconazole residue levels in raw cucumber were assessed. The residues were determined by ultra performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) after each processing treatment. Tebuconazole reduced by 31.82%－78.79% after washing with different methods for 15 min. 5% acetic acid solution caused the greatest loss in tebuconazole among the detergent solutions. Storage at 22℃ for 48 h caused pesticides reduction by 67.42%. Ultrasonic cleaning for 15 min reduced pesticides by 76.51%.

Key words tebuconazole； cucumber； washing； storage

为了防治病虫害，在蔬菜和水果上农药的使用越来越广泛[1]。然而农药的不当使用给人们的健康带来了潜在威胁，食品安全问题近年来越来越受到关注。特别是农药残留问题成为人们对水果和蔬菜最关注的问题之一[2]。有研究表明在鲜食食品和加工食品中均有农药残留。然而，一些研究表明，在蔬菜和水果的加工过程中可以明显减少农药残留量[3-5]。如 Kiris 等研究发现自来水清洗可以明显减少橄榄中的农药残留[6]。因此，有必要研究食品在加工过程中的农药残留变化。

黄瓜是全世界广泛种植和消费的蔬菜之一，也是人们最喜欢的食物之一。通常人们食用黄瓜时选择鲜食、沙拉或者烹炒。清洗是家庭处理食用蔬菜的首要步骤，可以简单地用自来水清洗，也可以用化学洗涤剂处理[7]。有研究表明清洗过程可以有效减少农药残留量。Chai 等研究表明清洗可以减少黄瓜和草莓中有机磷和有机氯农药的残留量，而乙酸溶液是最有效的去除方法，可以降解 44%～70%的农药残留量[8]。

戊唑醇是三唑类广谱杀菌剂之一，在蔬菜、水果和谷物中广泛使用。该药在世界杀菌剂销量中位居

收稿日期： 2017－10－25 **修订日期：** 2017－11－23
基金项目： 中国博士后科学基金(2017M611266)
* 通信作者 E-mail：jimingshan@163.com；zhang_sau@163.com

前十。然而戊唑醇对水生生物和鱼有毒[9]。而且由于戊唑醇对大鼠具有明显的毒性和生殖影响[10],美国环保署(EPA)已经将其分级为“潜在人类致癌物”。Sancho 等研究发现斑马鱼短期暴露于戊唑醇中可引起生理障碍[11]。因此,为了减少戊唑醇给人类带来的健康风险,迫切需要研究戊唑醇在黄瓜清洗过程中的农药残留变化。本试验以田间施药后的黄瓜为研究对象,利用液相色谱串联三重四级杆质谱检测手段,对不同清洗和储藏方式下黄瓜中的戊唑醇农药残留进行测定,旨在探究从田间到餐桌,鲜食黄瓜时农药残留的去除方法,为今后的膳食风险评估提供理论参考。

1　材料与方法

1.1　主要试剂与仪器设备

戊唑醇标准品,纯度 95.6%,拜耳作物科学(中国)有限公司;乙腈和甲醇(色谱纯)、甲酸(液相色谱-质谱级),美国 Thermo Fisher 公司;氯化钠和无水硫酸镁(分析纯),国药化学试剂厂;吸附剂 *N*-丙基乙二胺(*N*-propylethylenediamine,PSA;40～60 μm)和石墨化炭黑(graphitized carbon black,GCB;120～400 目),天津博纳艾杰尔公司。试验用水由 Millipore 纯水机制备。

G501A 型电子天平,江苏常熟衡器厂;氮气吹干仪,美国 Organomation 公司;KQ-500 型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;TG16-WS 台式高速离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司;XW-80A 漩涡混合器,上海恒勤仪器设备有限公司;RE-2000 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;0.22 μm Filter Unit 滤膜,MILLEX-GV;医用无菌注射器,上海治宇医疗器械有限公司;超高效液相色谱串联三重四级杆质谱(ACQUITY UPLC-TQD),Waters 公司。

1.2　田间施药

田间施药试验设在北京,黄瓜品种为‘俊优 1 号’,选择之前没有喷过戊唑醇的温室大棚划分小区,设 3 个重复(施药)小区及空白对照小区,每小区 30 m^2。根据 OECD 对农产品加工试验要求[12],在黄瓜成熟期前 10 d 喷药 2 次,施药量为 5 倍推荐剂量,即采用 430 g/L 戊唑醇悬浮剂 270 mL/hm^2 进行喷雾处理。施药时间为 2016 年 10 月 17 号和 24 号,最后一次施药后 3 d 取样。所有黄瓜样品用自封袋装好运回实验室,于当天进行加工试验,将清洗后的样品放置在－20℃冰柜中待测。

1.3　不同清洗方式对黄瓜中农药残留的影响

1.3.1　试验设置

模拟家庭处理方式,采用 2%和 5%的次氯酸钠、氯化钠、乙酸和碳酸氢钠溶液,洗洁剂和清水分别浸泡清洗 5、10 和 15 min,其中化学试剂浸泡后再用清水洗 1 次约 2 min。将黄瓜去皮,测定皮中农药残留。另外设置超声清洗方式,在超声波仪中放入清水,将黄瓜置于其中分别清洗 5、10 及 15 min。

1.3.2　残留检测

1.3.2.1　标准溶液的配制

准确称取 10.0 mg(精确到 0.1 mg)戊唑醇标准品,用色谱纯乙腈定容至 100 mL 容量瓶中,配制成 100 μg/mL 的标准溶液,4℃冰箱冷藏保存,有效期为 6 个月。

1.3.2.2　样品的前处理

将黄瓜打碎,称取 10.0 g 置于 50 mL 离心管中,加入 10.0 mL 分析纯乙腈,涡旋 3 min,加入 1 g NaCl,4 g 无水 $MgSO_4$ 再涡旋 1 min,然后离心 5 min,取上清液 1.5 mL 加入到 2.5 mL 离心管中(内含 40 mg PSA＋10 mg GCB＋150 mg 无水硫酸镁),再涡旋 1 min,然后离心 5 min,上清液过 0.22 μm 有机滤膜至进样小瓶,待测。

1.3.2.3　色谱条件

色谱柱:ACQUITY UPLC BEH C18 柱(Waters 公司,2.1 mm×100 mm,1.7 μm);柱温 45℃;进样量 3 μL;流动相:A 为色谱甲醇;B 为超纯水;流速 0.3 mL/min。洗脱梯度见表 1。

表 1　梯度洗脱程序

Table 1　Gradient elution program

时间/min Time	体积分数/% Volume fraction	
	甲醇(A) Methanol(A)	超纯水(B) Ultrapure water(B)
0.0	10	90
1.5	90	10
2.5	90	10
2.6	10	90
4.0	10	90

1.3.2.4　质谱条件

使用多反应监测模式(MRM)的电喷雾电离源正离子模式(ESI^+),雾化气体为高纯氮气(99.95%),反应气体为高纯(99.99%)氩(Ar),流量 0.15 mL/min。大气压强 3.2×10^{-3} mPa;毛细管电压 3.0 kV;离子源温度 120℃;锥孔反吹气 50 L/h;去溶剂气温度 350℃;去溶剂气流量 600 L/h;锥孔电压 45 V;碰撞能量 25 eV,其他参数见表 2。

表 2 戊唑醇质谱检测参数[1)]

Table 2 Mass spectrometry parameters for determination of tebuconazole

母离子(m/z) Precursor ion	子离子(m/z) Qualifier ion	锥孔电压/V Cone voltage	碰撞能量/eV Collision energy
308	70*	30	20
308	125	30	25

1) * 定量离子。

* Quantification ion.

1.4 不同储藏方式对黄瓜中农药残留的影响

将黄瓜样品分装后储藏在 4℃冰箱和室温(22℃)下 12、24 及 48 h 时取样检测,检测方法同 1.3。

1.5 添加回收试验

添加回收试验是为了验证试验方法的可靠性及精确性。选取 3 个添加水平(10、100、500 μg/kg),每个添加水平 5 个重复,连续测定 3 d。戊唑醇在三个添加水平中的平均回收率为 71.5%~99.1%,日间及日内 RSD 为 3.4%到 10.8%。为了避免基质效应,试验采用外标法基质标准曲线(10~1 000 μg/kg)矫正样品浓度。

1.6 数据分析

所有试验均至少设置 3 个重复。数据用 SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA),邓肯氏(Duncan)新复极差法进行处理之间的差异比较。计算戊唑醇在黄瓜上的降解率。降解率=(未清洗样品中的残留量-清洗后的残留量)/未清洗样品中的残留量。

2 结果与分析

2.1 清洗方式对黄瓜中农药残留降解的影响

清洗是食品加工过程中的第一步。传统的蔬菜清洗方式可以去除蔬菜上的污垢及部分农药残留[13]。不同清洗方式下戊唑醇在黄瓜中的残留量见表 3。清水和不同浓度的化学试剂均能减少戊唑醇在黄瓜上的残留量。其中,自来水清洗 15 min 可以去除 51.52%戊唑醇残留量。但方差分析结果表明,清水清洗在所有处理中不是最有效的。在清洗过程中不同浓度化学试剂的降解效果见图 1。在所有处理中,5%乙酸溶液清洗 15 min 时降解戊唑醇残留效果最明显,达到 78.79%。残留农药的去除率随着清洗时间的延长而增加。用高浓度溶液清洗比低浓度溶液清洗去除效果好。

喷施戊唑醇时首先接触的是黄瓜皮,结果显示通过去皮处理能去除 50%戊唑醇残留量。因此,去皮或者清洗均能去除黄瓜中戊唑醇的残留量。

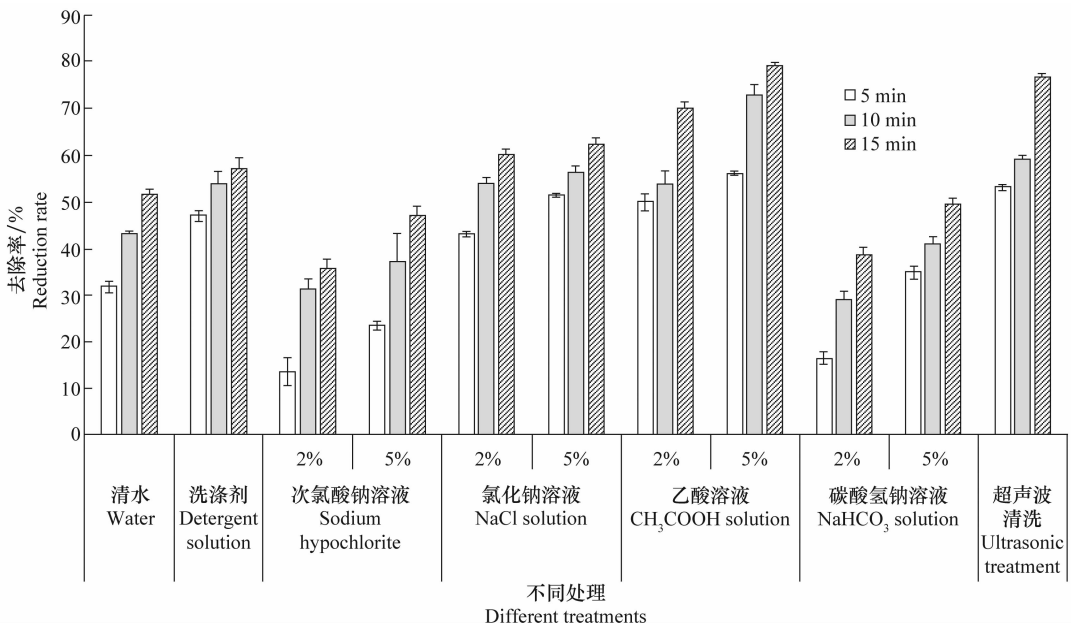

图 1 不同清洗方式对黄瓜上农药残留的影响

Fig. 1 Effect of washing methods on pesticide residues in cucumber

2.2 储藏方式对黄瓜中农药残留降解的影响

将黄瓜放置到 4℃冰箱和室温 22℃下储藏 12 h 和 48 h 后的农药残留降解量见表 4。在 4℃下储藏 48 h 时戊唑醇在黄瓜中降解 55.3%,而在室温储藏下 48 h 时降解 67.42%。

表 3　不同清洗方式处理后戊唑醇在黄瓜中的残留[1)]

Table 3　Effect of washing methods on tebuconazole residues in cucumber

处理 Treatment	时间 Time					
	5 min		10 min		15 min	
	浓度/mg·kg^{-1} Concentration	去除率/% Reduction rate	浓度/mg·kg^{-1} Concentration	去除率/% Reduction rate	浓度/mg·kg^{-1} Concentration	去除率/% Reduction rate
未清洗全果 Spiked sample	(1.32±0.019)a					
去皮 Peeling	(0.66±0.006)k	50.00				
清水 Tap water	(0.90±0.011)g	31.82	(0.75±0.007)i	43.18	(0.64±0.010)l	51.52
洗涤剂 Detergent solution	(0.70±0.011)j	46.97	(0.61±0.027)l	53.79	(0.57±0.025)m	56.82
2%次氯酸钠溶液 2% Sodium hypochlorite	(1.14±0.031)b	13.64	(0.91±0.025)f	31.06	(0.85±0.021)h	35.61
5%次氯酸钠溶液 5% Sodium hypochlorite	(1.01±0.009)d	23.48	(0.83±0.060)h	37.12	(0.70±0.021)j	46.97
2%氯化钠溶液 2% NaCl solution	(0.75±0.006)i	43.18	(0.61±0.014)l	53.79	(0.53±0.015)n	59.85
5%氯化钠溶液 5% NaCl solution	(0.64±0.003)l	51.52	(0.58±0.015)m	56.06	(0.50±0.015)o	62.12
2%乙酸溶液 2% CH_3COOH solution	(0.66±0.018)k	50.00	(0.61±0.030)l	53.79	(0.40±0.015)p	69.70
5%乙酸溶液 5% CH_3COOH solution	(0.58±0.002)m	56.06	(0.36±0.023)q	72.73	(0.28±0.010)s	78.79
2%碳酸氢钠溶液 2% $NaHCO_3$ solution	(1.10±0.013)c	16.67	(0.94±0.021)e	28.79	(0.81±0.015)h	38.64
5%碳酸氢钠溶液 5% $NaHCO_3$ solution	(0.86±0.014)h	34.85	(0.78±0.018)i	40.91	(0.67±0.017)k	49.24
超声波清洗 Ultrasonic treatment	(0.62±0.004)l	53.03	(0.54±0.007)n	59.09	(0.31±0.010)r	76.51

1) 浓度均为平均浓度±标准误差；数据后不同字母代表差异显著($P<0.05$)。下同。

Concentrations are given as means±SE; Values with different letters are significantly different ($P<0.05$). The same below.

2.3　超声波清洗对黄瓜中农药残留降解的影响

将黄瓜放入超声波仪中分别清洗 5、10 及 15 min 对戊唑醇的降解有一定的效果(表 3)。超声波清洗 15 min 对农药残留去除效果最佳。随着超声波处理时间的增加,戊唑醇在黄瓜中的降解率提高。超声波清洗黄瓜 15 min 比单独用清水洗 15 min 对戊唑醇的降解率高,降解率达到 76.51%。因此,超声波清洗是有效去除黄瓜中的农药残留的手段之一。

表 4　储藏方式对黄瓜中农药残留的影响

Table 4　Effect of storage on pesticide residues in cucumber

温度/℃ Temperature	12 h		24 h		48 h	
	浓度 Concentration	降解率/% Reduction rate	浓度 Concentration	降解率/% Reduction rate	浓度 Concentration	降解率/% Reduction rate
4	(1.10±0.024)a	16.67	(0.88±0.007)b	33.33	(0.59±0.009)c	55.30
22	(0.89±0.005)b	32.58	(0.80±0.011)b	39.40	(0.43±0.026)d	67.42

3　结论与讨论

清洗作为家庭处理食用蔬菜、水果的首要步骤至关重要,能有效去除蔬菜、水果中的农药残留。本研究探讨了不同清洗方式和储藏方式对鲜食黄瓜中农药残留的影响。清水清洗在所有处理中不是最有效的,这与 Liang 等和 Zhang 等的结果一致[14-15],可能因为戊唑醇在水中溶解度很低,常温 20℃ 时在水中溶解度为 30 mg/L[16]。本研究表明不同化学试剂浸泡清洗、超声波清洗及低温或常温储藏均能在一定程度上去除农药残留。且 5%乙酸溶液清洗 15 min对戊唑醇去除效果最佳。Soliman 等研究也表明乙酸溶液对有机磷和有机氯农药在马铃薯块茎上的残留去除效果最好[17]。Abou-Arab 研究发现在去除农药残留方面乙酸溶液比 NaCl 溶液效果好[1]。洗涤对残留农药的去除效果不仅取决于农药在水中的溶解度,而且与残留的位置、残留时间以及洗涤的温度和方式有关[18]。清洗在降低农产品农药残留水平方面受到诸多因素的影响。其影响因素大多分为两类,一类与农药的理化性质有关,如农药的辛醇-水分配系数(K_{ow})、溶解度等;另一类与清洗液的理化性质有关,如清洗的温度、pH 等[19]。另外超声波清洗也是去除农药残留的有效手段。超声波清洗能降解黄瓜中的农药残留是因为空泡在水体中能产生许多气泡[20]。这些气泡的增长,扩大并且定期暴发,会以冲击波的形式产生机械能,使其分布在黄瓜上不对称表面毛孔中[21]。毛春玲等以平菇为介质,研究了贮藏法、紫外照射法、超声波处理、臭氧处理和降解酶 5 种不同方法对甲氰菊酯、高效氯氟氰菊酯和吡唑醚菌酯三种农药残留的去除效果,研究结果表明超声处理对三种农药的去除效果最佳,去除率达到 79.5%～88.1%[22]。程璨等研究也发现超声波清洗对于叶类菠菜、小白菜和茄果类青椒的农药残留去除效果较好[23]。同时去皮也能去除黄瓜中的农药残留。Boulaid 等研究发现在去皮后的番茄中检测不到啶斑肟和四溴菊酯[4]。Liu 等的

研究表明去皮可以去除番茄上 84.2%的甲基硫菌灵及 87.3%的多菌灵[24]。本试验对储藏方式的研究表明,4℃低温下,农药降解最慢。研究结果与 Liang 等的结果相似,Liang 等研究发现 25℃下黄瓜储藏 48 h,有机磷农药降解 71.6%～90.2%[14]。农药会随着温度的升高和时间的增长而降解加快。Kontou等的研究表明代森锰在番茄中 5℃条件下储藏 6 周没有明显的降解[25]。本文结果表明,清洗对于去除黄瓜上的农药残留有较好的作用。低温储藏下农药降解最慢。

参考文献

[1] ABOU-ARAB A A K. Behavior of pesticides in tomatoes during commercial and home preparation[J]. Food Chemistry, 1999, 65(4): 509-514.

[2] KEIKOTLHAILE B M, SPANOGHE P, STEURBAUT W. Effects of food processing on pesticide residues in fruits and vegetables: a meta-analysis approach[J]. Food and Chemical Toxicology, 2010, 48(1): 1-6.

[3] LI Yuncheng, JIAO Bining, ZHAO Qiyang, et al. Effect of commercial processing on pesticide residues in orange products [J]. European Food Research and Technology, 2012, 234(3): 449-456.

[4] BOULAID M, AGUILERA A, CAMACHO F, et al. Effect of household processing and unit-to-unit variability of pyrifenox, pyridaben, and tralomethrin residues in tomatoes [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2005, 53(10): 4054-4058.

[5] RANDHAWA M, ANJUM F M, AHMED A, et al. Removal of endosulfan residues from vegetables by household processing [J]. Journal of Scientific and Industrial Research, 2007, 66(10): 849-852.

[6] KIRIS S, VELIOGLU Y S. Reduction in pesticide residue levels in olives by ozonated and tap water treatments and their transfer into olive oil[J]. Food Additives and Contaminants Part A: Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment, 2016, 33(1): 128-136.

[7] KROL W J, ARSENAULT T L, PYLYPIW H M, et al. Reduction of pesticide residues on produce by rinsing [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2000, 48(10): 4666-4670.

[8] CHAI M K, TAN G H. Headspace solid-phase microextraction for the evaluation of pesticide residue contents in cucumber and strawberry after washing treatment[J]. Food Chemistry, 2010, 123(3): 760-764.

[9] LI Yuanbo, DONG Fengshou, LIU Xingang, et al. Enantioselective determination of triazole fungicide tebuconazole in vegetables, fruits, soil and water by chiral liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Journal of Separation Science, 2012, 35: 206-215.

[10] YU Liang, CHEN Mengli, LIU Yihua, et al. Thyroid endocrine disruption in zebrafish larvae following exposure to hexaconazole and tebuconazole [J]. Aquatic Toxicology, 2013, 138: 35-42.

[11] SANCHO E, VILLARROEL M J, FERNANDEZ C, et al. Short-term exposure to sublethal tebuconazole induces physiological impairment in male zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2010, 73(3): 370-376.

[12] Guidance document on pesticide residue analytical methods [R]// OECD, ENV/JM/MONO. Series on Testing and Assessment-Number 72: Series on pesticides number 39. OECD Environment, Health and Safety Publications, 2007.

[13] SATPATHY G, TYAGI Y K, GUPTA R K. Removal of organophosphorus (OP) pesticide residues from vegetables using washing solutions and boiling [J]. Journal of Agricultural Science, 2012, 4(2): 69-78.

[14] LIANG Y, WANG W, SHEN Y, et al. Effects of home preparation on organophosphorus pesticide residues in raw cucumber [J]. Food Chemistry, 2012, 133(3): 636-640.

[15] ZHANG Zhiyong, LIU Xianjin, HONG Xiaoyue. Effects of home preparation on pesticide residues in cabbage[J]. Food Control, 2007, 18(12): 1484-1487.

[16] BALMAS V, DELOGU G, SPOSITO S, et al. Use of a complexation of tebuconazole with β-cyclodextrin for controlling foot and crown rot of durum wheat incited by *Fusarium culmorum* [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2006, 54: 480-484.

[17] SOLOMAN K M. Changes in concentration of pesticide residues in potatoes during washing and home preparation [J]. Food and Chemical Toxicology, 2001, 39: 887-891.

[18] 曹鹏英,韩丽君,潘灿平,等. 农产品加工过程对农药残留去除的影响[J]. 农药,2007,46(2):121-124.

[19] 王平,孟志远,陈小军,等. 不同清洗和加工方式对苹果中残留吡虫啉的去除效果[J]. 食品科学,2016,37(2):58-62.

[20] MASON T J, LORIMER J P. Applied sonochemistry: the uses of power ultrasound in chemistry and processing [M]. Germany: Wiley-VCH 2002.

[21] LOZOWICKA B, JANKOWSKA M, HRYNKO I, et al. Removal of 16 pesticide residues from strawberries by washing with tap and ozone water, ultrasonic cleaning and boiling [J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2016, 188(1): 51.

[22] 毛春玲,刘萌萌,侯志飞,等. 平菇中三种农药去除方法研究[J]. 食品研究与开发,2014,35(15):27-30.

[23] 程璨,赵迪,何天宇,等. 超声波清洗对不同蔬菜中农药残留的去除效果探究[J]. 中国农学通报,2017,33(2):132-137.

[24] LIU Na, DONG Fengshou, LIU Xingang, et al. Effect of household canning on the distribution and reduction of thiophanate-methyl and its metabolite carbendazim residues in tomato [J]. Food Control, 2014, 43: 115-120.

[25] KONTOU S, TSIPI D, TZIA C. Stability of the dithiocarbamate pesticide maneb in tomato homogenates during cold storage and thermal processing [J]. Food Additives and Contaminants, 2004, 21(11): 1083-1089.

(责任编辑:杨明丽)