

离子色谱法检测香蕉中乙烯利的残留降解动态*

尚政¹, 张宇¹, 王明月³, 王萌², 章程辉¹

1(海南大学 食品学院 海南 海口 570228) 2(海南大学 环境与植物保护学院 海南 海口 570228)

3(中国热带农业科学院农产品加工研究所 农业部食品质量监督检验测试中心(湛江) 广东 湛江 524001)

摘要 文中采用离子色谱,并使用新的前处理过程,得出乙烯利在香蕉中的残留消解完全符合一级反应动力学方程式。乙烯利在香蕉鲜果上的半衰期为 1.4~3.2 d,按推荐剂量施用的情况下,乙烯利在不同成熟度的香蕉全果中的最小残留为:7 成熟,14.796 mg/kg。在不同成熟度的香蕉果肉中的最小残留为未检出。根据数据体现以及各个国家的 MRL 值作为参考,建议我国乙烯利在香蕉中最大残留限量(MRL 值)推荐值为 2 mg/g。

关键词 乙烯利,香蕉,残留动态,最高残留限量

乙烯利(ethephon)又称乙烯磷,学名 2-氯乙烯磷酸,为有机化合物,纯品为白色针状结晶,工业品为淡棕色液体,易溶于水、甲醇、丙酮、乙二醇、丙二醇,微溶于甲苯,不溶于石油醚,是一种低毒性的植物生长调节剂,具有促进果实成熟、刺激伤流、调节性别转化等。在农业生产实际中,对于外运的水果,为便于运输,在成熟前收获,采用少量、低浓度乙烯利催熟是常用的方法。适量的乙烯利处理也有积极意义,会使得接近成熟的水果加快成熟,一般不会对人体造成危害^[1-3]。

香蕉是我国重要的消费水果。香蕉由于其产地及运输销售原因,需要在上市前进行催熟,乙烯利在香蕉催熟产业上应用相当广泛且技术成熟,但是其残留情况在我国未见相关研究报告,并且目前我国对于该农药在香蕉上的残留限量也没有具体标准^[4-6]。为了进一步摸清乙烯利在香蕉中的残留动态情况,确定该农药在香蕉上的使用剂量、安全采收间隔期等,笔者于 2012 年 11 月至 2013 年 4 月在湛江对乙烯利在香蕉上进行了消解动态和最终残留量试验,以期科学评价乙烯利在香蕉上应用的残留风险及制定最大残留限量标准提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验时间与地点

催熟保藏实验在中国热带农业科学院农产品加工研究所进行。

第一作者:硕士研究生(章程辉研究员为通讯作者)。

* 国家科技支撑计划课题(No. 2012BAK01B05);海南省重点项目(No. ZDXM20120001)

收稿日期:2013-11-01 改回日期:2014-05-12

残留检测是在广东省湛江市农业部食品质量监督检验测试中心(湛江)进行。

时间为 2012 年 11 月至 2013 年 4 月。

1.2 实验材料

40% 乙烯利水剂,上海华谊集团华原化工有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 实验设计

1.3.1.1 消解动态试验

在香蕉收获期间,从批发市场购买七成成熟的香蕉,除去烂果、病果及表皮受损的果实,然后选择大小均一的果实分成小束,依据农业行业标准 NY/T 788-2004,用高剂量 1 500 mg/kg(267 倍 40% 乙烯利水剂)浓度的药液浸果 30 s,取出后自然晾干,然后再用大塑料袋包装,分自然和冷藏 2 种条件(常温 22 ℃和低温 16 ℃,相对湿度 80%~90%)进行贮藏。采样间隔期分别为施药后 1(即原始沉积量)、6、12 h、1、2、3、5、7、10、14、21、28、35 d 等(视腐烂程度确定最后一次取样时间)。测定部位为全蕉样品。

1.3.1.2 最终残留试验

在香蕉收获期间,从批发市场购买 7 成熟、8 成熟、9 成熟香蕉果实,除去烂果、病果及表皮受损的果实,然后选择大小均一的果实分成小束,依据农业行业标准 NY/T 788-2004,分别用低剂量(400 倍 1 000 mg/kg)和高剂量(267 倍 1 500 mg/kg)浸果,30 s,取出后自然晾干,然后再用大塑料袋包装,分自然和冷藏 2 种条件(常温 22 ℃和低温 16 ℃,相对湿度 80%~90%)进行贮藏。采样间隔期分别为香蕉刚成熟和最佳食用期,测定部位为全蕉样品和果肉。

1.3.1.3 采样方法

残留动态样品:采集香蕉样本,每个重复采集1 kg香蕉,不少于6条,切碎。用四分法缩分,分取200 g样品2份,分别装入封口样品容器中,贴好标签,放入-20℃低温冰柜中贮存。每次取样后分别取均匀的3~4条香蕉,称取果皮和果肉的重量,并记录。同时取对照样品。

最终残留量采样:采集香蕉样本,每个重复采集1 kg香蕉,不少于6条,一半计数并称量后,切碎,用四分法缩分,分取200 g样品2份,另一半计数并称量后,分别收集果皮。收集果肉,称其质量后切碎,用四分法缩分,分取200 g样品2份,分别装入封口样品容器中,贴好标签,放入-20℃低温冰柜中贮存。同时取对照样品。

1.3.2 检测方法

1.3.2.1 试验仪器

离子色谱仪:瑞士万通882离子色谱仪(配备858自动进样器);高速冷冻离心机,组织捣碎机、氮吹仪、快速混匀器;色谱柱:Metrosep A Supp 4(250 mm×4.0 mm)。

1.3.2.2 实验试剂

乙烯利标准品(Sigma-Aldrich);甲酸;丙酮;三氟乙酸;甲醇;石墨化碳黑柱(250 mg/6 mL)和离子交换柱固相萃取柱(100 mg/6 mL);超纯水(电阻率18.2 MΩ·cm)。

1.3.2.3 乙烯利的残留检测

样品提取净化:称取5.0 g左右的香蕉样品,置于离心管中,加入20 mL 1%甲酸-丙酮溶液,涡旋震荡1 min,以4℃ 10 000 r/min离心20 min,将上清液转移至50 mL塑料容量瓶中,合并上清液并定容至50 mL。分取10 mL提取液在40℃水浴中氮吹,除去大量丙酮后,加入5 mL水,待净化。石墨化碳柱先用3 mL甲醇,3 mL水活化;将待净化溶液上样,接收流出液;用2 mL甲醇冲洗石墨化碳柱,同时接收洗脱液,与流出液合并,待进一步净化。离子交换柱先用5 mL甲醇,5 mL水活化;将上一步待净化溶液上样,用5 mL水、5 mL甲醇淋洗,再用10 mL 1% TFA-丙酮溶液洗脱,收集,缓慢氮吹至近干,用超纯水定容至10 mL,待测。

离子色谱测定:色谱柱为Metrosep A Supp 4(250 mm×4.0 mm);检测器为离子色谱仪自带的电脑检测器;流动相为1.8 mmol Na₂CO₃+1.7 mmol NaHCO₃,流速为1 mL/min;进样量为20 μL。保留时间为13.20 min^[7-16]。

2 结果与分析

2.1 检测方法的验证

2.1.1 标准曲线

采用外标法峰面积定量。用超纯水配制500 mg/L乙烯利标准贮备液,用超纯水逐级稀释成1、5、10、20、50 mg/L标准溶液,进样量20 μL,在1.3.2条件下,注射标准工作系列溶液,绘制乙烯利标准曲线,得回归方程为 $Y = -0.0365466 + 1.25844E-3X$, $r^2 = 0.9991$,证明在试验条件范围内仪器响应信号与乙烯利的浓度成良好的线性关系;标准品谱图见图1。

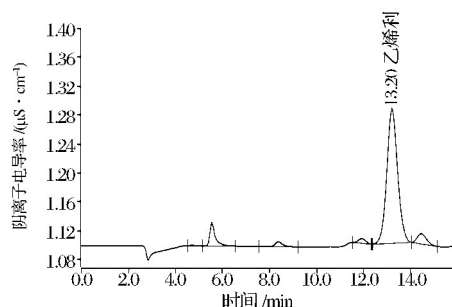


图1 乙烯利标准工作液谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of ethephon standard solution

2.1.2 方法最低检出限(LOD)和方法定量限(LOQ)、最小检出量

本方法对乙烯利的最低检出限0.03 kg/kg,方法定量限为0.1 mg/kg,最小检出量为0.2 ng/kg。

2.1.3 添加回收率与相对标准偏差

取空白对照区的香蕉样品做添加回收率试验,添加浓度分别为0.02、0.2、2 mg/kg,每个浓度做5个平行试验,试验结果见表1,从试验结果可知,该方法的准确度和精密度符合残留试验准则要求。

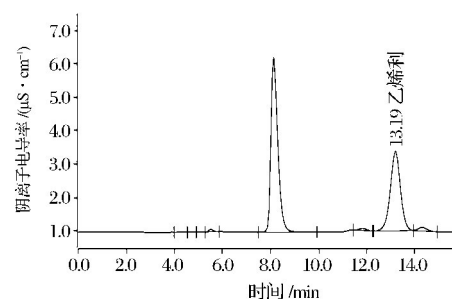


图2 香蕉全蕉样品工作液谱图

Fig. 2 chromatogram of banana whole fruit

2.1.5 残留量计算公式

$$X_i = \frac{c_i \times V_0 \times V_1 \times 1\,000}{m \times V_2 \times 1\,000}$$

式中: X_i 样品中的乙烯利残留量, mg/kg; c_i 样品上机溶液浓度, mg/L; V_0 提取溶剂体积, mL; V_1 样

品定容的体积, mL; V_2 分取体积, mL; m 样品质量, g(以鲜重计)。

表 1 40% 乙烯利水剂在香蕉中的添加回收率
Table 1 Recoveries of 40% ethephon in banana

	添加浓度/ (mg · kg ⁻¹)	回收率/%					平均回收率/ %	相对标准偏差 (RSD) /%
		重复 1	重复 2	重复 3	重复 4	重复 5		
全蕉	0.02	87	80	79	82	90	84	4.7
	0.2	82	79	75	85	77	80	4.0
	2	88	82	79	86	84	84	3.5
蕉肉	0.02	79	78	78	85	76	79	3.4
	0.2	75	82	86	84	82	82	4.1
	2	78	83	80	80	82	81	1.9

2.2 乙烯利在香蕉中的消解动态

(1) 储藏温度为 22 °C 条件下, 施药后 1 h 乙烯利在香蕉上原始沉积量为 172.47 mg/kg, 残留量按 $C = 147.91e^{-0.4888x}$ 降解; 半衰期为 1.4 d。结果详见表 2 和图 3。

表 2 40% 乙烯利水剂在香蕉中的消解动态(22 °C)
Table 2 degradation dynamics of 40% ethephon water-based in banana(22 °C)

间隔时间/d	香蕉	
	残留量/(mg · kg ⁻¹)	消解率/%
0	172.47	-
0.25	123.24	28.5
0.5	72.47	58
1	85.62	50.4
2	53.8	68.8
3	36.54	78.8
5	47.67	72.4
7	1.94	98.9
回归方程	$C = 147.91e^{-0.4888x}$	
r^2	0.7905	
$T_{1/2}/d$	1.4	

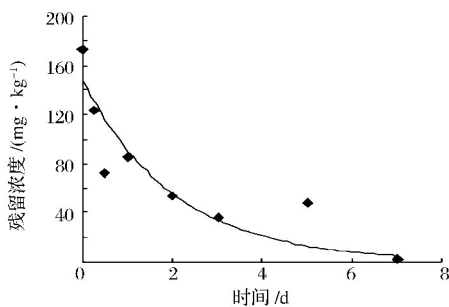


图 3 40% 乙烯利水剂在香蕉上消解曲线(22 °C)

Fig. 3 degradation curve of 40% ethephon water-based in banana(22 °C)

贮藏温度为 16 °C 条件下, 施药后 1 h 乙烯利在香蕉上原始沉积量为 216.15 mg/kg, 残留量按 $C = 193.74e^{-0.2159x}$ 降解; 半衰期为 3.2 d。结果详见表 3 和图 4。

表 3 40% 乙烯利水剂在香蕉中的消解动态(16 °C)
Table 3 degradation dynamics of 40% ethephon water-based in banana(16 °C)

间隔时间/d	香蕉	
	残留量/(mg · kg ⁻¹)	消解率/%
0	216.15	-
0.25	223.26	-
0.5	162.24	24.9
1	158.62	26.6
2	98.79	54.3
3	56.02	74.1
5	87.44	59.5
7	35.26	83.7
10	44.48	79.4
14	10.26	95.3
21	1.57	99.1
回归方程	$C = 193.74e^{-0.2159x}$	
r^2	0.949	
$T_{1/2}/d$	3.2	

(2) 试验结果表明: 乙烯利在香蕉上施药后, 在两个不同温度下的残留消解都完全符合一级反应动力学方程式, 半衰期为 1.4 d 和 3.2 d。施药后, 乙烯利的残留消解速率很快, 22 °C 条件下第 7 d 消解近 99%, 16 °C 条件下第 14 d 消解 95.3%

(3) 果肉的硬度是香蕉品质判定的重要指标^[17-18]。对 2 种温度下贮藏的香蕉进行感官测定, 22 °C 条件下香蕉果肉硬度从最初的 9.63 kg/cm² 下降至 2.26 kg/cm²; 16 °C 条件下香蕉果肉硬度从最初的 9.26 kg/cm² 下降至 1.95 kg/cm²。表明果实已经成熟

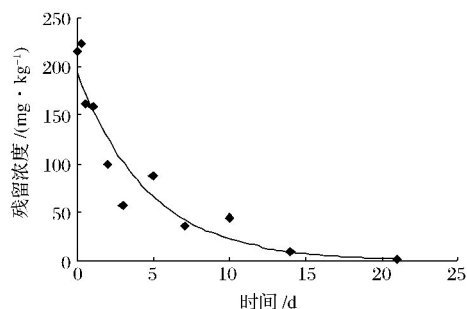


图4 40% 乙烯利水剂在香蕉上消解曲线(16 °C)

Fig. 4 degradation curve of 40% ethephon water-based in banana(16 °C)

软化,并且香蕉果皮无腐烂黑斑,色泽好,完全可食用。

(4) 不同贮藏温度条件下,乙烯利在香蕉中的消解半衰期存在一定差异。温度越高,乙烯利的降解速度越快;乙烯利容易分解,随着贮藏时间在香蕉中的残留量会下降。由于采用浸果方式施药,故全蕉乙烯利的残留量比蕉肉中高。

2.3 乙烯利在香蕉中的最终残留量

(1) 香蕉中最终残留实验结果表明:40% 乙烯利水剂以施药剂量 1 000、1 500 mg/kg,分别施药 1 次,储藏温度为 22 °C 条件下,七成熟香蕉全蕉中乙烯利的最高残留量 82.217 mg/kg,最低残留量为 15.768 mg/kg,蕉肉中乙烯利的最高残留量 42.6 mg/kg,最低残留量为 0 mg/kg;八成熟香蕉全蕉中乙烯利的最高残留量 61.983 mg/kg,最低残留量为 23.036 mg/kg,蕉肉中乙烯利的最高残留量 51.425 mg/kg,最低残留量为 1.363 mg/kg;九成成熟香蕉全蕉中乙烯利的最高残留量 82.0 mg/kg,最低残留量为 27.333 mg/kg,蕉肉中乙烯利的最高残留量 61.833 mg/kg,最低残留量为 0.258 mg/kg;储藏温度为 16 °C 条件下,七成熟香蕉全蕉中乙烯利的最高残留量 108.223 mg/kg,最低残留量为 14.796 mg/kg,蕉肉中乙烯利的最高残留量 53.945 mg/kg,最低残留量为 0 mg/kg;八成熟香蕉全蕉中乙烯利的最高残留量 127.137 mg/kg,最低残留量为 33.46 mg/kg,蕉肉中乙烯利的最高残留量 49.961 mg/kg,最低残留量 1.86 mg/kg;九成成熟香蕉刚全蕉中乙烯利的最高残留量 92.319 mg/kg,最低残留量为 20.251 mg/kg,蕉肉中乙烯利的最高残留量 61.079 mg/kg,最低残留量为 1.449 mg/kg;由此得出,在 2 种催熟温度下,1 000 mg/kg 的喷药浓度时,七、八、九成成熟的香蕉用来催熟都是安全的,1500 mg/kg 的喷药浓度时,七成熟的香蕉用来催

熟是安全的;总体可看出,七成熟的香蕉用来催熟是最安全的。结果详见表 4 和表 5。

表 4 40% 乙烯利水剂的最终残留测定结果(22 °C)

Table 4 The final residual determination results of 40% ethephon water-based(22 °C)

样品名称	成熟度/ %	喷药浓度/ (mg · kg ⁻¹)	残留浓度/(mg · kg ⁻¹)	
			刚成熟	最佳食用期
香蕉全蕉	70	1 000	38.908	15.768
	80	1 000	53.06	23.036
	90	1 000	65.05	27.333
	70	1 500	82.217	20.087
	80	1 500	61.983	32.07
	90	1 500	82	41.264
香蕉蕉肉	70	1 000	9.546	-
	80	1 000	27.311	1.363
	90	1 000	10.979	0.258
	70	1 500	42.6	1.681
	80	1 500	51.425	6.659
	90	1 500	61.833	3.45

(2) 以上试验结果表明,施药剂量越大残留量越大,随着时间的推移,乙烯利残留量总体呈下降趋势。此外还可看出,乙烯利在香蕉蕉肉中的残留量比其在香蕉全蕉中的残留量低。在各种施药因子中,施用的原始浓度对其在不同时间的残留浓度有较大关系,但并不是全部正相关关系,这可能还受到浸泡效果,香蕉个体差异等因素的影响。

表 5 40% 乙烯利水剂的最终残留测定结果
(储藏温度为 16 °C)

Table 5 The final residual determination results of 40% ethephon water-based(16 °C)

样品名称	成熟度/ %	喷药浓度/ (mg · kg ⁻¹)	残留浓度/(mg · kg ⁻¹)	
			刚成熟	最佳食用期
香蕉全蕉	70	1 000	65.135	14.796
	80	1 000	77.012	33.46
	90	1 000	85.674	20.251
	70	1 500	108.223	54.335
	80	1 500	127.137	45.044
	90	1 500	92.319	33.303
香蕉蕉肉	70	1 000	15.288	-
	80	1 000	7.777	1.86
	90	1 000	34.348	1.449
	70	1 500	53.945	1.365
	80	1 500	49.961	15.648
	90	1 500	61.079	5.595

3 结论

目前我国对于乙烯利在香蕉中的最高残留限量还未有明确规定量,只是宽泛的规定在热带水果中的

限量不得超过 2 mg/kg,日本具体规定了乙烯利在香蕉中的最大残留量为 2 mg/kg,而根据上述的实验结果来看 2 种浓度的施药剂量在香蕉果肉上的残留基本上都低于 2 mg/kg,参考人体每日允许摄入的乙烯利的量(ADI)为 0.05 mg/kg 体重,以及中国居民每天摄入香蕉的量,建议将 MRL 值定在 2 mg/kg,并且根据实验结果,建议乙烯利在香蕉催熟的合理使用方法为 1 000 mg/kg 的乙烯利水剂进行浸泡催熟 22 ℃时施药与食用间隔期为 7 d。16 ℃时施药与食用间隔期为 18~21 d。从各个国家对于乙烯利在香蕉中的最大残留限量标准来看,此药按照建议的使用方法来处理香蕉是安全的。

参 考 文 献

- [1] 刘乾开,朱国念. 新编农药使用手册[M]. 上海: 上海科技出版社,1999: 591.
- [2] 叶钟音. 现代农药应用技术全书[M]. 北京: 中国农业出版社,2002: 462.
- [3] 周继汤. 新编农药使用手册[M]. 哈尔滨: 黑龙江科技出版社,1998: 431.
- [4] 李仁茂,陈蓉,肖志成. 粤西地区四种香蕉皮的成分分析[J]. 湛江师范学院学报,2001,22(6): 42-45.
- [5] 王建立,管正学,张学予. 香蕉资源的加工利用研究[J]. 资源科学,1995(1): 57-62.
- [6] 贾冬英,李尧,姚开,等. 香蕉皮中多酚的提取工艺条件研究[J]. 四川大学学报,2005,37(6): 53-55.
- [7] 中华人民共和国农业行业标准. NY/T 788-2004. 农药残留实验准则[S].
- [8] 周艳明,牛森,许仁骥. 水果、蔬菜中乙烯利残留量的检测方法[J]. 食品科学,2006,27(3): 176-178.
- [9] 郭潇,孙昌梅,田益玲,等. 乙烯利在果蔬中残留量的快速检测方法[J]. 食品研究与开发,2008,(2): 116-118.
- [10] 颜金良,王立. 离子色谱法快速测定瓜果中乙烯利含量研究[J]. 中国卫生检验杂志,2008,(8): 1544-1545.
- [11] 李丽华,郑玲. 固相微萃取-气相色谱联用技术测定芒果原浆中乙烯利的残留量[J]. 分析实验室,2007(26): 287-289.
- [12] 储晓刚,雍炜,蔡慧霞,等. 用顶空气相色谱法快速测定浓缩菠萝汁中乙烯利的残留量[J]. 色谱,2001,19(3): 286-288.
- [13] 中华人民共和国农业部. NY/T1016-2006. 水果蔬菜中乙烯利残留量的测定-气相色谱法[S].
- [14] 曾素香,张碧秋. 利用气相色谱仪及气体采样快速检测农产品中益收生长素残留量[J]. 药物食品分析(台湾),2000(3): 213-217.
- [15] Shigeyuki T. New method for ethephon((2-chlorethyl) phosphonic acid) residue analysis and detection of residual in the fruit and vegetables of western Japan[J]. J Agric Food Chem,2002,50: 7515-7519.
- [16] Marin J M, Pozo O J, Beltran J, et al. An ion-pairing liquid chromatography/tandem mass spectrometric method for the determination of ethephon residues in vegetables[J]. Rapid Commun Mass Spectrom 2006,20(3): 419-426.
- [17] 张昭其,庞学群. 南方水果贮藏保鲜技术[M]. 南宁: 广西科学技术出版社,1998: 24-32.
- [18] 陈维信,苏美霞,王振永,等. 香蕉催熟生理和技术研究[J]. 华南农业大学学报,1993,14(2): 102-106.

Determination of ethephon residue degradation dynamics in banana by ion chromatography

SHANG Zheng¹, ZHANG Yu², WANG Ming-yue³, WANG Meng², ZHANG Cheng-hui¹

1(College of Food Science and Technology, Hainan University, Haikou 570228, China)

2(College of Environment and Plant Protection, Hainan University, Haikou 57028, Hainan, China)

3(Center For Food Quality Supervision & Testing(Zhanjiang) Ministry of Agriculture, Institute of Agricultural Products Processing, Chinese Academic of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang 524001, China)

ABSTRACT To evaluate residues dynamics of ethephon in banana, field test for ethephon residue in banana was conducted in Zhanjiang City, Guangdong Province. This experiment adopted the high ion chromatography and the new pretreatment process. The residues and degradation dynamics of ethephon in banana conformed completely to the equation of first-class reaction kinetic. the half-life of degradation for ethephon was 1.4~3.2 d in banana. According to the recommended dosage, the lowest residue in 70% mature banana whole fruit was 14.796 mg/kg, the lowest in banana pulp was undetected. Considered the data and MRL from all over the earth, this paper suggested that the maximum recommended residue limit was 2 mg/kg in banana.

Key words ethephon, banana, residue dynamics, maximum residue limit