

嘧菌酯在草莓与土壤中的残留动态研究

杨振华, 魏朝俊, 贾临芳, 梁 丹, 赵建庄*

(北京农学院农产品有害微生物及农残安全检测与控制北京市重点实验室, 北京 102206)

摘 要:通过田间试验和气相色谱法研究了嘧菌酯悬浮剂在草莓和土壤中的消解动态和最终残留特性。结果表明:草莓和土壤中嘧菌酯添加浓度在 $0.05\sim 1.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 范围内,回收率为 $97.16\%\sim 99.78\%$,变异系数为 $1.89\%\sim 3.67\%$,最小定量限(LOQ)均为 $0.02\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;不同施药浓度 $[225, 450\text{ g}(\text{a.i.})\cdot\text{hm}^{-2}]$ 时,嘧菌酯在草莓和土壤中的消解半衰期分别为 $3.66\sim 3.96\text{ d}$ 和 $6.31\sim 8.79\text{ d}$;嘧菌酯悬浮剂($250\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)在草莓上的使用剂量为 $225\text{ g}(\text{a.i.})\cdot\text{hm}^{-2}$,间隔 7 d 施药次数不超过 3 次时,草莓中嘧菌酯的最终残留量为 $0.17\sim 0.20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,小于欧美与日本等国规定的最大残留限量(MRL) $1.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

关键词:嘧菌酯;草莓;残留动态;气相色谱

中图分类号:X592 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)04-0697-04 doi:10.11654/jaes.2013.04.006

Residual Dynamics of Azoxystrobin in Strawberry and Soil

YANG Zhen-hua, WEI Chao-jun, JIA Lin-fang, LIANG Dan, ZHAO Jian-zhuang*

(Beijing Key Laboratory of Safety and Control on Harmful Microbes and Pesticide Residue in Agricultural Products, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

Abstract:Field trial and gas chromatography were carried out to study residual decline and final residues of azoxystrobin in the strawberry and soil. The results showed that when the added concentration of azoxystrobin ranged from $0.05\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ to $1.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, the recoveries changed from 97.16% to 99.78% , and the coefficients of variation varied from 1.89% to 3.67% . Meanwhile, the limit determination of azoxystrobin was $0.02\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. The half-lives of azoxystrobin was 3.66 days to 3.96 days in strawberry and 6.31 days to 8.79 days in soil, respectively. The final residue of azoxystrobin ($250\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) SC was $0.17\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ to $0.20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ when used in strawberry with the frequency of administration was not more than 3 times, interval of 7 days, and it was less than $1.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ that the Maximum Residue Limits(MRL) of the U.S., Europe, Japan and other countries.

Keywords: azoxystrobin; strawberry; residual decline; GC

嘧菌酯(Azoxystrobin),化学名为:(E)-{2-[6-(2-氰基苯氧基)嘧啶-4-氧基]苯基}-3-甲氧基丙烯酸酯,是一种新的甲氧基丙烯酸酯类抗菌剂,具有杀菌

谱广、活性高、持效期长、毒性低,对非靶标生物安全的特点,是具有广阔应用前景的杀菌剂新品种^[1]。该药进入病菌细胞内,与线粒体上细胞色素 cytb 的 Qo 部位结合,阻断细胞色素 b 和细胞色素 c1 之间的电子传递,抑制能量合成,对几乎所有的真菌病害,如白粉病、锈病、颖枯病、网斑病、霜霉病、稻瘟病等均有良好的活性,可用于防治草莓白粉病和炭疽病^[2-3]。

目前,国内外关于嘧菌酯在葡萄、石榴、柑橘、大豆、人参等作物上的残留研究已有较多报道^[4-12]。为进一步阐明嘧菌酯在草莓上的残留及消解动态,进行了 $250\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 嘧菌酯悬浮剂在草莓和土壤中的消解动态及最终残留特性研究,并分析了嘧菌酯使用后对草莓的食用安全性,为该药在草莓上的安全使用提供依据。

收稿日期:2012-10-18

基金项目:农产品加工及贮藏工程北京市重点建设学科(PXM2009-014207-078172);北京市属高等学校人才强教深化计划-学术创新人才(PHR201006124);科研平台-科技创新-农产品安全与农药残留分析创新平台建设;北京市属高等学校人才强教深化计划(PHR201108278);首都农产品安全产业技术研究院成果转化项目(PXM2012-014207-000019);北京市教委科技面上项目(KM201210020014);北京市优秀人才培养项目(2010D005021000005)

作者简介:杨振华(1988—),男,山东梁山人,硕士,从事农药残留研究。E-mail: yzhua1234@126.com

* 通信作者:赵建庄 E-mail: zhaojianzhuang@263.net

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试农药

250 g·L⁻¹ 啉菌酯悬浮剂,先正达(苏州)作物保护有限公司提供;100 mg·L⁻¹ 啉菌酯标准品,由农业部环境保护科研监测所提供。

1.1.2 主要仪器与设备

Agilent 6890N 气相色谱仪,配电子捕获检测器(μ -ECD)(美国 Agilent 公司);Kubota6200 型离心机(日本 Kubota 公司);SC-8L-150 型数控固相萃取仪(广州智真生物科技有限公司);KQ-600 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Laborota4001 型旋转蒸发仪(德国 Heidolph 公司);FW-100 型高速组织粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);移液枪(德国 Eppendorf 公司);XW-80A 型涡旋振荡器(上海青浦沪西仪器厂);SHB-III 型循环水式多用真空泵(郑州长城仪器厂);SANYO 超低温冰箱(-80℃);其他玻璃仪器。

1.1.3 供试作物

草莓,为设施温室栽培;田间试验地点:北京昌平北农科技园永业研发基地。

1.1.4 试剂

无水硫酸钠:于 350℃灼烧 4 h 后备用;氯化钠(分析纯,北京化学试剂公司);正己烷、丙酮为色谱纯(Tedia, Fairfield, OH, USA);乙腈为分析纯(北京化学试剂公司);Florisisil 固相萃取柱:1000 mg·6 mL⁻¹(美国 Agilent 公司)。

1.2 田间试验方法

1.2.1 消解动态试验

(1) 啉菌酯在草莓上的消解动态试验

设置推荐浓度 225 g(ai)·hm⁻² 和加倍浓度 450 g(ai)·hm⁻² 两个浓度处理,每个浓度 3 个重复小区,每小区面积 30 m²。按照一次施药多次取样的方法,将混匀药剂于草莓全株均匀喷施,以植株表面湿润并有药液滴下为准,施药量为药剂兑水 16 L·666.7 m⁻²。施药后 2 h 和 1、3、5、7、14、21 d 随机采集草莓果实样品,每次采集草莓约 1 kg,密封于惰性塑料袋中,贮藏于-80℃冰箱中待测。

(2) 啉菌酯在土壤中的消解动态试验

另选一块表面平整的地块(无草莓种植),对土壤表面均匀喷施,进行土壤残留动态试验。药液浓度分别为 225、450 g(ai)·hm⁻²,施药量为药剂兑水 16 L·

666.7 m⁻²,施药后 2 h 和 1、3、5、7、14、21、28 d 随机采集土壤(0~10 cm 深)样品,每次采集土壤样品约 1 kg,过 0.8 mm 筛,密封于惰性塑料袋中,贮藏于-80℃冰箱中待测。

1.2.2 最终残留试验

试验地点和施药剂量同消解动态试验,分别设置两个施药浓度 225、450 g(ai)·hm⁻²,每个浓度 3 次重复,每隔 7 d 施药 1 次,连续施药 3 次,末次施药后的第 7、14 d 分别采集草莓和土壤样品,置于-80℃冰箱中待测。

1.3 草莓与土壤中啉菌酯残留分析方法

1.3.1 样品提取和净化

(1) 草莓样品:称取 20.0 g 已匀浆的均质草莓试样于 250 mL 锥形瓶中,加入 50.0 mL 乙腈和 15.0 mL 蒸馏水,超声提取 1 h,抽滤至 100 mL 具塞量筒(量筒内预先加入 10.0 g 氯化钠)中,涡旋振荡 1 min 后静置 1 h,待乙腈相和水相完全分离。吸取 10.0 mL 乙腈相于 15 mL 离心管(离心管内预先加入 3 g 无水硫酸钠)中,6000 r·min⁻¹ 离心 5 min 后吸取 5.0 mL 乙腈相于 25 mL 圆底烧瓶中,旋转蒸发至 1.0 mL 左右,待过柱净化。

取 Florisisil 固相萃取柱,分别用 3.0 mL 正己烷和 3.0 mL 正己烷/丙酮(80:20)预淋洗柱子,待液面降至柱顶部时,将上述待净化溶液转移至柱中,弃去预淋洗液后,用 5.0 mL 正己烷/丙酮(80:20)洗脱净化柱两次,收集洗脱液于 25 mL 圆底烧瓶中,50℃旋转蒸发近干,正己烷定容至 1.0 mL,待测。

(2) 土壤样品:称取 20 g 均匀粉碎且过 0.8 mm 筛的土壤样品于 250 mL 锥形瓶中,后续方法同草莓样品。

1.3.2 色谱条件

色谱柱:HP-5 毛细管柱(30 m×0.32 mm i.d.×0.25 μ m)

柱温:初始温度 170℃,以 20℃·min⁻¹ 速率升至 270℃,保持 10 min。进样口温度 280℃,检测器温度 300℃,载气为 N₂,恒流模式,流速 2.0 mL·min⁻¹,尾吹 N₂ 为 40.0 mL·min⁻¹;进样量为 1 μ L,不分流进样。

上述色谱条件下,啉菌酯的保留时间为 12.21 min。

2 结果与讨论

2.1 工作曲线、准确度及最小定量限

上述色谱条件下,测定啉菌酯标准溶液(0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mg·L⁻¹),以啉菌酯浓度为横坐标,色谱峰面积为纵坐标线性拟合,得工作曲线方程为:

$$y=25\ 033.31x-342.95(R^2=0.999\ 9,n=5)$$

由此可见,在 0.1~5.0 mg·L⁻¹ 范围内,啞菌酯浓度与峰面积呈良好的线性关系。

取空白草莓与土壤样品,进行添加回收率试验,添加浓度为 0.05、0.5、1.0 mg·kg⁻¹,每个浓度 5 个平行,结果见表 1。由表 1 可知,草莓中啞菌酯的平均回收率为 97.16%~98.96%,变异系数为 1.89%~2.54%;土壤中啞菌酯的平均回收率为 97.38%~99.78%,变异系数为 2.72%~3.67%。

啞菌酯的最低检出量为 2.0×10⁻¹² g,草莓和土壤中的最低检出浓度均为 0.01 mg·kg⁻¹(S/N=3),最小定量限(LOQ)为 0.02 mg·kg⁻¹。

2.2 啞菌酯在草莓和土壤中的消解动态

啞菌酯在草莓和土壤中的消解动态曲线见图 1、图 2。可以看出,在草莓和土壤中,随着时间的延长,啞菌酯残留量均逐渐下降,消解动态曲线基本符合一级

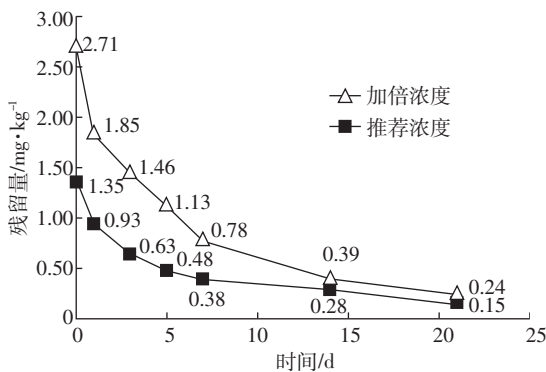


图 1 啞菌酯在草莓中的消解动态

Figure 1 Residual dynamics of azoxystrobin in strawberry

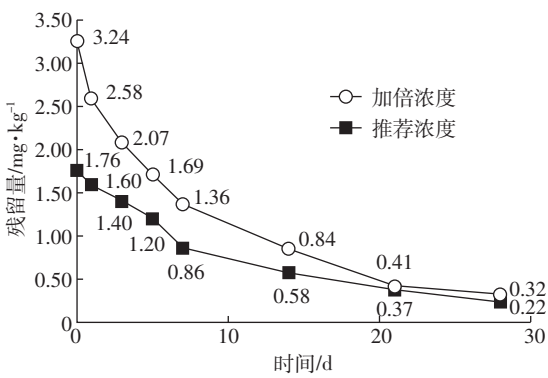


图 2 啞菌酯在土壤中的消解动态

Figure 2 Residual dynamics of azoxystrobin in soil

反应动力学方程: $C_t=C_0e^{-kt}$ (式中 C_0 为施药后的初始残留量, k 为消解速率常数, t 为施药后的天数, C_t 为施药后 t 时刻的残留量),具体结果见表 2。由表 2 可知,在草莓中,啞菌酯加倍浓度 450 g(ai)·hm⁻² 和推荐浓度 225 g(ai)·hm⁻² 的原始积累量分别为 2.71、1.35 mg·kg⁻¹,施药 7 d 后二者均消解 70%以上,施药 14 d 后二者均消解 80%以上,消解速率基本一致,半衰期分别为 3.96 d 和 3.66 d。

在土壤中,啞菌酯加倍浓度[(450 g(ai)·hm⁻²)]和推荐浓度[225 g(ai)·hm⁻²]的原始积累量分别为 3.24、1.76 mg·kg⁻¹,施药 7 d 后消解量均低于 60%,施药后 14 d 加倍浓度消解 74%,推荐浓度消解 67%,其半衰期分别为 6.31 d 和 8.79 d,而消解 90%二者则分别需要 30.54 d 和 25.95 d。啞菌酯的消解速率,除受其自身结构和理化性质影响外,还与气候条件,如降雨、光

表 1 啞菌酯在草莓和土壤中的添加回收率

Table 1 The recoveries of azoxystrobin in strawberry and soil

样品名称	添加浓度/ mg·kg ⁻¹	回收率/%					平均	变异系数/%
		I	II	III	IV	V		
草莓	0.05	97.31	98.55	101.69	95.30	99.82	98.56	2.40
	0.5	99.83	100.99	101.30	97.29	95.39	98.96	2.54
	1.0	97.48	98.57	95.78	99.24	94.75	97.16	1.89
土壤	0.05	95.71	103.74	97.71	102.48	99.27	99.78	3.32
	0.5	95.43	103.38	94.51	97.61	100.37	98.26	3.67
	1.0	101.47	94.57	98.57	96.44	95.85	97.38	2.72

表 2 啞菌酯在草莓和土壤中的消解方程

Table 2 Degradation equations of azoxystrobin in strawberry and soil

样品名称	施药浓度/g(ai)·hm ⁻²	原始沉积量/mg·kg ⁻¹	动力学方程	R ²	半衰期/d
草莓	225	1.35	$C=0.949\ 5e^{-0.093t}$	0.912\ 0	$DT_{1/2}=3.66$
	450	2.71	$C=2.092\ 4e^{-0.110t}$	0.962\ 3	$DT_{1/2}=3.96$
土壤	225	1.76	$C=1.687\ 0e^{-0.074t}$	0.992\ 1	$DT_{1/2}=8.79$
	450	3.24	$C=2.719\ 9e^{-0.082t}$	0.978\ 2	$DT_{1/2}=6.31$

照、气温等因素有关,田间试验时间为4—5月,室内平均温度约为 $(25\pm 10)^{\circ}\text{C}$,平均湿度为 $(30\pm 10)\%$,适宜的温湿度环境导致其降解速率较快。

2.3 嘧菌酯在草莓和土壤中的最终残留

嘧菌酯在草莓和土壤中的最终残留测定结果见表3。两种施药剂量各连续施药3次,末次施药后7、14 d的采样检测结果表明,草莓中嘧菌酯平均残留量分别为 $0.20\sim 0.54$ 、 $0.17\sim 0.25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,土壤中的平均残留量分别为 $0.67\sim 0.96$ 、 $0.48\sim 0.59\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,草莓与土壤中的嘧菌酯的最终残留量与施药浓度明显正相关。

我国尚未制定草莓中嘧菌酯的最大残留限量(MRL),欧美与日本等国规定的最大残留限量如下:美国 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,日本和巴西 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,欧盟、德国、荷兰、英国 $2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,朝鲜为 $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[13]。本研究结果表明,以 $225\text{ g}(\text{ai})\cdot\text{hm}^{-2}$ 的剂量,每隔7 d施药1次,连续施药3次,末次施药后7~14 d草莓中嘧菌酯的残留量小于 $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,可确保草莓食用的安全性。

表3 嘧菌酯在草莓和土壤中的最终残留量

Table 3 Residual amount of azoxystrobin in strawberry and soil

样品名称	施药浓度/ $\text{g}(\text{ai})\cdot\text{hm}^{-2}$	平均残留量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
		施药后7 d	施药后14 d
草莓	225	0.20	0.17
	450	0.54	0.25
土壤	225	0.67	0.48
	450	0.96	0.59

3 结论

采用田间试验与气相色谱法研究了嘧菌酯在草莓与土壤中的残留规律。结果表明,嘧菌酯在草莓中的消解半衰期为 $3.66\sim 3.96\text{ d}$,在土壤中的半衰期为 $6.31\sim 8.79\text{ d}$;嘧菌酯悬浮剂($250\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)在草莓上的使用剂量为 $225\text{ g}(\text{ai})\cdot\text{hm}^{-2}$,间隔7 d施药次数不超过3次时,草莓中嘧菌酯的最终残留量为 $0.17\sim 0.20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,小于欧美与日本等国规定的最大残留限量(MRL) $1.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

参考文献:

- [1] Environmental Protection Agency (EPA) of USA. Rules and Regulations: Azoxystrobin. Federal Register; 2003, 68 (117): 36480–36487 [EB/OL]. <http://www.epa.gov/fedrgstr/Strobinuriln>.
- [2] Pest Management Regulatory Agency, Health Canada. Regulation Note:

- Section 17 Temporary Registrations: REG 2000–15 Azoxystrobin [EB/OL]. <http://www.hc-sc.gc.ca/pmra-arla/english/pdf/reg/reg2000-15-e.pdf>.
- [3] 刘 竹. 25%嘧菌酯悬浮剂防治草莓炭疽病田间效果研究[J]. 现代农业科技, 2012, 9: 170–171.
- LIU Zhu. Control effect of azoxystrobin 25% SC against strawberry anthracnose[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2012, 9: 170–171.
- [4] Sagar C Utture, Kaushik Banerjee, Soma Dasgupta, et al. Dissipation and distribution behavior of azoxystrobin, carbendazim, and difenoconazole in pomegranate fruits[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59: 7866–7873.
- [5] Mika Kondo, Kazuyuki Tsuzuki, Hiroshi Hamada, et al. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for residue analysis of the fungicide azoxystrobin in agricultural products[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60: 904–911.
- [6] Vijay Tularam Gajbhiye, Suman Gupta, Irani Mukherjee, et al. Persistence of azoxystrobin in/on grapes and soil in different grapes growing areas of India[J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2011, 86: 90–94.
- [7] Wei Li, Yi-Jun Wu, Dong-Mei Qin, et al. A method for quantifying azoxystrobin residues in grapes and soil using GC with electron capture detection[J]. *Chromatographia*, 2008, 67: 761–766.
- [8] Chaido Lentza-rizos, Elizabeth J, et al. Residues of azoxystrobin from grapes to raisins[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54: 138–141.
- [9] 殷利丹, 侯志广, 陈 超, 等. 嘧菌酯在大豆中的残留及消解动态[J]. 农药学报, 2011, 13(3): 304–309.
- YIN Li-dan, HOU Zhi-guang, CHEN Chao, et al. Residues and decline study of azoxystrobin in soybean[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2011, 13(3): 304–309.
- [10] 韩 波, 姚安庆, 吴慧明, 等. 嘧菌酯在柑橘和土壤中残留动态[J]. 农药, 2009, 48(12): 899–911.
- HAN Bo, YAO An-qing, WU Hui-ming, et al. Degradation of azoxystrobin residue in orange and soil [J]. *Agrochemicals*, 2009, 48(12): 899–911.
- [11] 王思威, 侯志广, 邹 静, 等. 嘧菌酯在人参和土壤中的残留动态[J]. 农药, 2010, 49(6): 436–438.
- WANG Si-wei, HOU Zhi-guang, ZOU Jing, et al. Residual decline of azoxystrobin 25% SC in ginseng environment [J]. *Agrochemicals*, 2010, 49(6): 436–438.
- [12] 刘艳萍, 孙海滨, 曾繁娟, 等. 嘧菌酯在芒果和土壤上残留动态分析[J]. 广东农业科学, 2010, 10: 106–108.
- LIU Yan-ping, SUN Hai-bin, ZENG Fan-juan, et al. Study on residual dynamics of azoxystrobin in mango and soil[J]. *Journal of Guangdong Agricultural Science*, 2010, 10: 106–108.
- [13] 潘灿平. 最新农药残留限量标准手册[M]. 北京: 中国计量出版社, 2006: 311–314.
- PAN Can-ping. The latest standard manual of pesticide residue limits [M]. Beijing: China Metrology Publishing House, 2006: 311–314.