

乙嘧酚在黄瓜和土壤中的消解动态研究

王蒙岑, 吴慧明, 秦 丽, 朱国念

(浙江大学农药与环境毒理研究所, 浙江 杭州 310029)

摘 要:利用高效液相色谱仪及田间试验方法,建立了乙嘧酚在黄瓜和土壤中的残留分析方法,研究了乙嘧酚在黄瓜和土壤中的残留消解动态,对影响残留分析方法的主要参数进行了优化。黄瓜和土壤样品分别用乙腈和丙酮提取,硅胶柱净化,高效液相色谱仪二极管阵列检测器检测,外标法定量。结果表明,该方法的最小检出量为 3.5×10^{-10} g,在黄瓜和土壤中的最低检测浓度分别为 0.010 和 0.005 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。乙嘧酚的平均添加回收率为 80.5%~103.1%,变异系数为 2.10%~3.74%。消解动态试验表明,乙嘧酚的残留量随时间延长而降低,消解动态曲线符合一级动力学方程,在黄瓜和土壤中的半衰期分别为 3.5 和 9.9 d,属于易降解性农药化合物。乙嘧酚在黄瓜中消解速率高于其在土壤中的消解速率,这可能是由于黄瓜生长稀释作用导致的。

关键词:乙嘧酚;黄瓜;土壤;残留;消解动态

中图分类号:X592 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2009)11-2412-05

Degradation Dynamics of Ethirimol in Cucumber and Soil

WANG Meng-cen, WU Hui-ming, QIN Li, ZHU Guo-nian

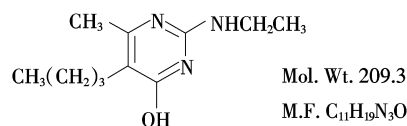
(Institute of Pesticide and Environmental Toxicology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: A simple, reliable and accurate method has been developed to determine ethirimol residue in cucumber and soil, and the degradation dynamics of ethirimol in cucumber and soil were studied. Parameters, affecting the performance of analysis such as absorption wavelength, mobile phase, amount of water added into soil and clean-up procedure, were studied and optimized. Under the optimum conditions of analysis (Cucumber and soil samples were extracted by acetonitrile and acetone, respectively; then, the extracted solution was cleaned up by silica gel cartridge and analyzed by HPLC equipped with DAD; finally, the residual content was quantified by ESTD), the performance of the method was evaluated. The results showed the limit of detection of the method was 3.5×10^{-10} g, and the limit of quantification in cucumber and soil were 0.010 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and 0.005 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively. Average fortified recovery of the method varied from 80.5% to 103.1% with the relative standard deviation varying from 2.10% to 3.74%. Furthermore, the degradation dynamics indicated ethirimol degraded along prolongation of time, the curve of degradation dynamics accorded with the first-order kinetics equation, and the half-lives of ethirimol in cucumber and soil were 3.5 day and 9.9 day, respectively. The degradation rate of ethirimol in cucumber was faster than that in soil, which probably resulted from the dilution effect of cucumber's growth. To sum up, ethirimol should be classified as easily degradable agrochemical and the gained parameters of degradation dynamics provided scientific basis for the safety evaluation on ethirimol.

Keywords: ethirimol; cucumber; soil; residue; degradation dynamics

乙嘧酚(ethirimol),化学名称为 5-丁基-2-乙基氨基-4-羟基-6-甲基嘧啶,为杂环类内吸性杀菌剂,具有良好的杀菌防病效果^[1]。主要用于防治大麦、小麦、燕麦等禾谷类作物白粉病,也可防治葫芦科等作物白粉病。作拌种处理时经根部吸收可保护整株作物;茎叶喷雾处理时经茎部吸收传导,可防止病害蔓

延到新叶。龙梦玲等^[2]毒力测定试验表明,乙嘧酚对香蕉褐缘灰斑病菌的生长具有较好的抑制作用。陈永兵等^[3]研究表明,在黄瓜白粉病发病初期喷洒 25% 乙嘧酚悬浮剂 800~1 200 倍液,可有效控制白粉病蔓延,并取得较好防效。其化学结构如下:



收稿日期:2009-03-23

作者简介:王蒙岑(1984—),男,山东莒县人,硕士研究生,主要从事农药残留分析方面的研究。E-mail:wmctz@163.com.

通讯作者:朱国念 E-mail:zhugn@zju.edu.cn

目前国内尚未制定黄瓜中乙嘧酚残留限量标准,且乙嘧酚的残留分析方法也未见文献报道。本文研究建立了乙嘧酚在黄瓜和土壤中的残留分析方法,该方法简便、快速,净化效果良好,准确度、精密度和灵敏度均达到农药残留分析的要求。并研究了25%乙嘧酚悬浮剂在黄瓜和土壤中的消解动态,为对其进行安全性评价提供了科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

25%乙嘧酚悬浮剂(浙江禾益农化有限公司),供试作物为黄瓜,试验地点为浙江诸暨市陆家农业示范区,田间土壤为黄红壤,pH为6.5。

1.2 田间消解动态试验

设1个处理,重复3次,每个小区(重复)30 m²,设不施药区为空白对照。施药前在黄瓜上挂标记牌,在黄瓜幼果期施药(数量为取样量的2~3倍)。25%乙嘧酚悬浮剂用水稀释400倍,每公顷兑水量为900 L,喷雾施药1次,施药后0(2 h以内)、1、3、5、7、10、14、21、28 d采样,每小区按东、西、南、北、中不同方位随机取样,黄瓜和土壤(0~10 cm)样品均不得少于1 kg,采集样品后标记并称重。

1.3 样品前处理

黄瓜样品用捣碎机捣碎混匀,取250 g备用;土壤样品去除残枝和碎石等杂物,晾干后过1 mm筛,用四分法取约250 g。处理后的样品均置于-20℃低温下贮存待测。

1.4 分析方法

1.4.1 仪器设备

安捷伦1100液相色谱仪(DAD检测器,自动进样器,柱恒温箱);大型冷冻恒温振荡器(DHZ-DA型);旋转蒸发器(上海荣生,RE-2000);循环水式真空泵(SHB-Ⅲ型);氮吹仪(N-EVAP 11型);高速匀浆机(IKA,T18 Basic);玻璃层析柱;分液漏斗、容量瓶等。

1.4.2 试剂

乙嘧酚标准品(纯度98.8%);丙酮、乙腈、氯化钠、二氯甲烷、石油醚、无水硫酸钠(经350℃灼烧4 h备用)、硫酸镁、硅胶(经200℃活化2 h,于干燥器中冷却后,5%重蒸馏水脱活备用)均为AR级;甲醇为HPLC级;洗脱液:石油醚-丙酮(1:1,V/V)。

1.4.3 样品提取与净化^[4-8]

黄瓜:在离心瓶中称取20 g样品,准确加入60

mL乙腈,在匀浆机中高速匀浆2 min后,在大型冷冻恒温振荡器上振荡60 min(速度为160 r·min⁻¹),再离心3 min(速度为3 000 r·min⁻¹),将上清液过滤至100 mL的具塞量筒中,加入5 g氯化钠和8 g硫酸镁,剧烈摇动1 min,静置15 min待水和乙腈分层,取30 mL上层乙腈液于150 mL平底烧瓶中,40℃下浓缩近干,N₂吹干后加入5 mL洗脱液,待净化。

土壤:称取20 g土样于具塞三角瓶中,加入20 mL重蒸馏水浸泡30 min后,加入80 mL丙酮,在大型冷冻恒温振荡器上振荡60 min(160 r·min⁻¹),用布氏漏斗抽滤。滤渣用40 mL丙酮振荡30 min再提取一次,抽滤,合并滤液至250 mL平底烧瓶中,40℃水浴浓缩至约20 mL。将20 mL提取液转移至500 mL分液漏斗中并加入50 mL 10% NaCl溶液,用二氯甲烷萃取2次,每次50 mL,每次剧烈振摇1 min,静置15 min,过无水硫酸钠收集下层二氯甲烷于平底烧瓶中,40℃水浴浓缩近干,N₂吹干后,甲醇定容至2 mL,待检测。

净化:称取1 g硅胶于100 mL烧杯中,加入20 mL石油醚,形成悬浮液,在1 cm直径的玻璃柱下端加入1 cm的无水硫酸钠,再将硅胶悬浮液转移入层析柱中,上端加1 cm无水硫酸钠,弃去20 mL石油醚。将待净化的溶液上柱,并用5 mL洗脱液洗涤烧瓶上柱,再用30 mL洗脱液洗脱农药,收集流出液于100 mL梨形瓶中,40℃下浓缩近干,N₂吹干后,甲醇定容至2 mL,待检测。

1.4.4 液相色谱分析条件

色谱柱为依利特 ODS2-C18 柱(4.6 mm i.d.×250 mm,5 μm),流动相为水:甲醇=15:85(V/V),检测波长300 nm,流速0.8 mL·min⁻¹,柱温35℃,进样体积20 μL。

1.4.5 标准曲线制作

精确称取乙嘧酚标准品以丙酮溶解定容至50 mL,配成标准母液,用甲醇逐级稀释配成由0.05、0.2、0.5、1、2、5 mg·L⁻¹组成的标准工作液。按照上述分析条件检测,以进样浓度为X轴,峰面积为Y轴得到标准工作曲线。

1.4.6 结果计算

采用外标法定量^[9]。样品回收率用单点校正法定量,样品消解动态用外标法(标准曲线法)定量。样品残留量按照以下公式进行计算。

$$\text{残留量}(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}) = \frac{\text{进样样品检出量}(\text{mg}) \times \text{定容体积}(\text{L})}{\text{进样量}(\text{L}) \times \text{样品质量}(\text{kg})}$$

2 结果与分析

2.1 方法灵敏度及线性范围

在本研究的色谱条件下,仪器的最小检出量为 3.5×10^{-10} g,方法的最低检测浓度黄瓜中为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,土壤中为 $0.005 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。在 $0.05 \sim 5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内得到的标准曲线方程为

$$Y = 144.86X + 2.6721 \text{ (相关系数 } r = 0.9996 \text{)}.$$

这表明,乙嘧酚在 $0.05 \sim 5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内的仪器响应值与浓度呈良好线性关系(图 1)。

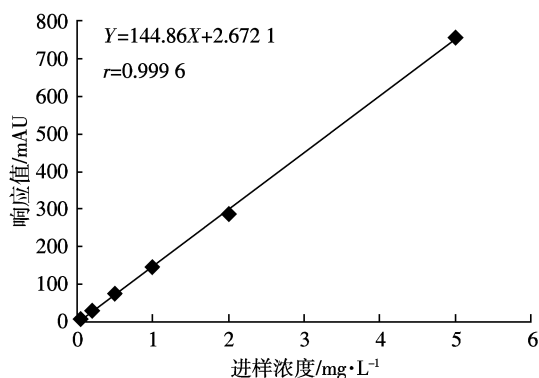


图 1 乙嘧酚的标准曲线

Figure 1 Standard curve of ethirimol analyzed by HPLC

2.2 添加回收率

取空白土壤、黄瓜样品,添加一系列浓度的乙嘧酚标准溶液进行回收率试验(表 1),每个浓度处理重复 5 次,测定方法回收率。结果表明:乙嘧酚在土壤中的回收率为 $80.5\% \sim 97.5\%$,变异系数为 $2.10\% \sim 3.14\%$;在黄瓜中的回收率为 $80.7\% \sim 103.1\%$,变异系数为 $2.68\% \sim 3.74\%$ 。该方法的准确度和精密度较好,符合残留分析要求。

2.3 液相色谱图

从各色谱图(图 2~图 6)可见,乙嘧酚的相对保留

时间约 6.1 min,标样峰形对称且响应值高。各样品中的目标峰出峰情况基本一致,平行性较好。杂质峰与目标峰已实现较好的分离,未对目标物分析造成干扰。

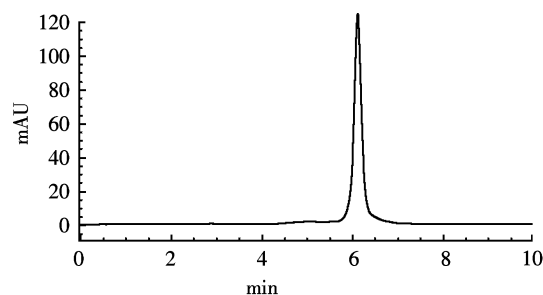


图 2 乙嘧酚标准样品色谱图

Figure 2 Chromatogram of ethirimol standard sample

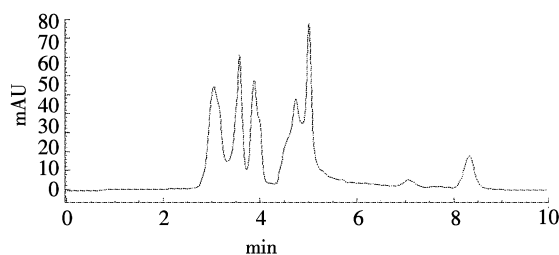


图 3 黄瓜空白样品色谱图

Figure 3 Chromatogram of blank cucumber sample

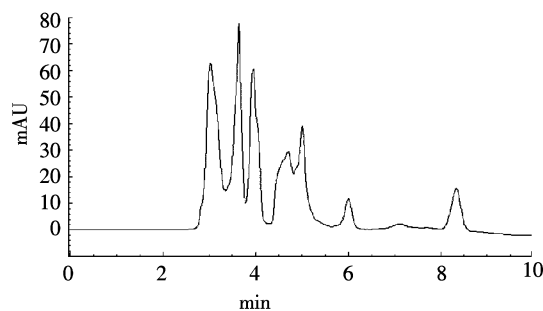


图 4 黄瓜样品色谱图

Figure 4 Chromatogram of ethirimol in cucumber sample

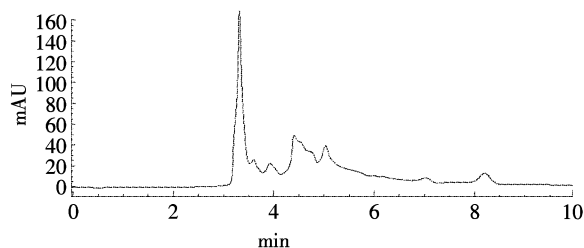


图 5 土壤空白样品色谱图

Figure 5 Chromatogram of blank soil sample

表 1 乙嘧酚在黄瓜和土壤中的添加回收率

Table 1 Fortified recovery of the method for ethirimol residue in cucumber and soil

样品	添加浓度/ mg·kg ⁻¹	回收率/%						变异系 数/%
		I	II	III	IV	V	平均	
黄瓜	1	96.3	103.1	101.7	99.6	98.7	99.9	2.68
	0.2	98.2	97.0	93.1	95.2	102.5	97.2	3.45
	0.01	80.7	83.3	86.6	82.8	89.1	84.5	3.74
土壤	1	89.9	95.1	94.8	93.0	97.5	94.1	2.90
	0.2	88.6	87.2	88.1	89.0	92.3	89.0	2.10
	0.005	80.5	81.7	86.9	85.2	82.9	83.4	3.14

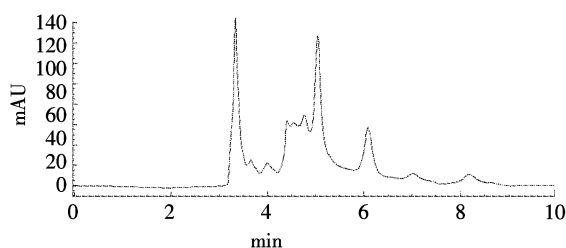


图 6 土壤样品色谱图

Figure 6 Chromatogram of ethirimol in soil sample

2.4 消解动态

乙嘧酚在黄瓜中和土壤中的残留量随时间延长而逐渐降低。施药后间隔的时间与黄瓜和土壤中的残留量成指数关系,消解动态曲线(图 7)符合一级动力学方程。消解动态方程按公式 $C_t = C_0 e^{-kt}$ 计算,半衰期按公式 $T_{1/2} = \ln 2/k$ 计算。式中: C_t 为 t 时刻乙嘧酚的残留量; C_0 为乙嘧酚的原始沉积量; k 为消解速率常数; t 为消解时间; $T_{1/2}$ 为半衰期。

通过对试验的数据(表 2)分析,乙嘧酚在黄瓜中和土壤中的消解动态方程如下:

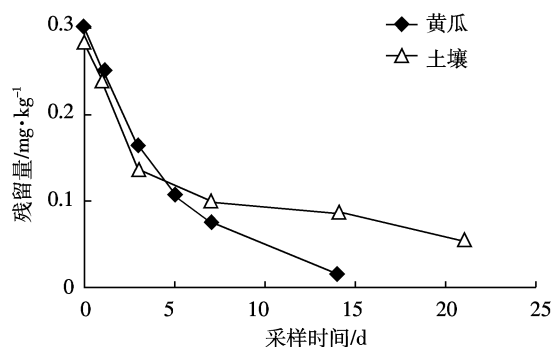


图 7 乙嘧酚在黄瓜和土壤中的消解动态曲线

Figure 7 Curve of degradation dynamics of ethirimol in cucumber and soil

表 2 乙嘧酚在黄瓜和土壤中的消解动态

Table 2 Degradation dynamics of ethirimol in cucumber and soil

取样时间/d	残留量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	
	黄瓜	土壤
0	0.302	0.285
1	0.252	0.240
3	0.166	0.138
5	0.109	—
7	0.077	0.100
14	0.017	0.087
21	ND	0.055

注:表中数据为 5 次测定的平均值,—表示未检测,ND 表示未检出。

黄瓜 $C_t = 0.308e^{-0.20t}$, $T_{1/2} = 3.5$ d, 相关系数 $r = 0.9995$

土壤 $C_t = 0.220e^{-0.07t}$, $T_{1/2} = 9.9$ d, 相关系数 $r = 0.9322$

3 结论与讨论

在选择乙嘧酚的最佳吸收波长时,利用二极管阵列检测器对乙嘧酚标样进行全波长扫描^[10]。从乙嘧酚全波长吸收光谱图(图 8)发现,乙嘧酚在 190~400 nm 之间存在两个吸收峰,虽然在 225 nm 波长时吸收值达到 430 mAU,但在该波长下杂质的吸收值也较高,基线噪声较大,对目标峰造成极大干扰,影响了分析的灵敏度,因此选择 300 nm 作为乙嘧酚的最佳吸收波长。

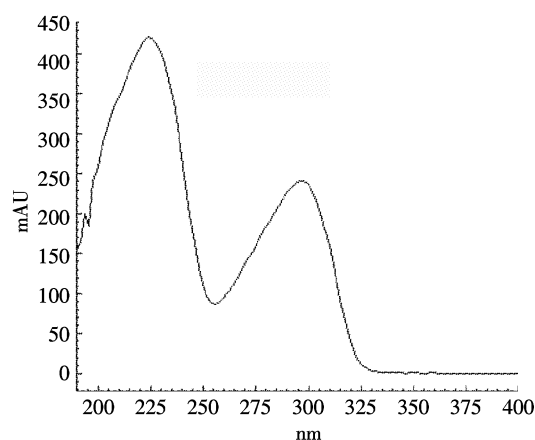


图 8 全波长扫描模式下乙嘧酚的吸收光谱图

Figure 8 Absorption spectrum of ethirimol in full-wavelength scan mode

在选择流动相时,为确保乙嘧酚和杂质的完全分离,分别用水-甲醇、水-乙腈作为流动相,进行多种配比试验,结果表明,在水-甲醇 = 15:85 (V/V) 的条件下,可以较好分离目标峰和杂质峰,且基线平稳,峰形对称。

土壤样品的添加回收率研究(表 3)发现,加入重蒸馏水浸泡土壤样品对添加回收率会产生影响。在 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 添加浓度下:直接加入丙酮提取、加入 10 mL 重蒸馏水浸泡 30 min 后提取、加入 20 mL 重蒸馏水浸泡 30 min 后提取以及直接加入丙酮提取、加入 10 mL 重蒸馏水浸泡 30 min 后提取,回收率分别为 79.8% 和 82.5%,加入 20 mL 重蒸馏水浸泡 30 min 后提取的平均回收率可达到 89.0%。经单因素方差分析和 F 检验表明,各处理组的回收率之间有极显著差异 ($P < 0.01$)。该结果提示,在提取土壤样品中乙嘧酚残留时,加入 20 mL 的重蒸馏水浸泡 30 min 可显著提高回收率。这表明土壤加入重蒸馏水的浸泡,可能减

表 3 土壤中的加水量对添加回收率的影响

Table 3 Influence on fortified recovery of amount of water added into soil

处理	回收率/%					平均
	I	II	III	IV	V	
不加水直接提取	77.5	79.9	81.2	78.6	81.8	79.8
加入 10 mL 重蒸馏水	79.4	85.0	83.9	82.6	81.7	82.5
加入 20 mL 重蒸馏水	88.6	87.2	88.1	89.0	92.3	89.0

弱了土壤对农药的吸附,从而使回收率得到了提高。

在柱层析净化中,比较了没有脱活的硅胶、含水 5%和 10%硅胶的净化能力。没有脱活的硅胶,杂质较少但乙嘧酚回收率极低,这可能由于未脱活硅胶吸附能力较强,杂质和乙嘧酚均被牢固吸附于硅胶上;含水 10%硅胶,乙嘧酚与杂质均能被洗脱下来,但部分杂质与乙嘧酚出峰重叠,这对分析造成极大干扰;含水 5%硅胶,乙嘧酚也能被完全洗脱且回收率较高,而且杂质峰与目标峰能较好分离。

通过在空白样品中添加一系列浓度的标样进行添加回收率试验,测得该方法的添加回收率范围在 83.4%~99.9%,变异系数小于 3.74%,该方法的最小检出量为 3.5×10^{-10} g,在黄瓜和土壤中的最低检测浓度分别为 0.01 和 $0.005 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。以上结果均满足农药残留分析的要求^[11],为检测乙嘧酚在黄瓜和土壤中的残留量提供了一个简便、可靠、准确的分析方法。

消解动态研究表明,乙嘧酚在黄瓜中和土壤中的残留量随时间延长而逐渐降低,消解动态曲线符合一级动力学方程。乙嘧酚在黄瓜中半衰期为 3.5 d,施药后 14 d 的残留量仅为原始沉积量的 5.63%,消解率达到了 94.37%;乙嘧酚在土壤中的半衰期为 9.9 d,施药后 14 d 的残留量为原始沉积量的 30.5%,消解率为 69.5%,施药后 21 d 的消解率也仅为 80.7%。比较乙嘧酚在土壤和黄瓜中的消解动态,在黄瓜中消解速率高于其在土壤中的消解速率,这是由于乙嘧酚在土壤中具有一定的持留期,而黄瓜生长迅速产生生长稀释作用,可能导致了消解较快。综合考虑消解动态的参数,表明乙嘧酚在黄瓜和土壤中消解较快,属易降解性农药化合物。

参考文献:

[1] 浙江禾益农化有限公司. 乙嘧酚-25%乙嘧酚悬浮剂[J]. 农药科学与

管理, 2008, 29(3):58.

Zhejiang Heyi Pesticide&Chemical co., Ltd. 25% ethirimol suspension concentrate[J]. *Pesticide Science and Administration*, 2008, 29(3):58.

[2] 陈永兵, 蓝海姑. 25%粉星水悬浮剂防治黄瓜白粉病药效试验研究[J]. 上海农业科技, 2006(1):110-111.

CHEN Yong-bing, LAN Hai-gu. Study on efficacy of 25% ethirimol suspension concentrate against powdery mildew of cucumber[J]. *Shanghai Agricultural Science and Technology*, 2006(1):110-111.

[3] 龙梦玲, 岑贞陆, 黄思良, 等. 乙嘧酚 SC 对香蕉褐缘灰斑病菌的室内毒力测定[J]. 广西植保, 2005, 18(2):3-4.

LONG Meng-ling, CEN Zhen-lu, HUANG Si-liang, et al. Toxicity tests of ethirimol SC to the pathogens of banana Sigatoka leaf spot disease[J]. *Guangxi Plant Protection*, 2005, 18(2):3-4.

[4] 尹丰平, 李雪生, 黄辉晔. 噻菌酯在黄瓜和土壤中的残留消解动态及最终残留研究[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(增刊):590-594.

YIN Feng-ping, LI Xue-sheng, HUANG Hui-ye. Residual dynamics and final residues of azoxystrobin in cucumber and soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(sup):590-594.

[5] 麦燕玲, 刘红梅, 刘承兰, 等. 溴虫腈在黄瓜和莴菜中的残留动态研究[J]. 华南农业大学学报, 2007, 28(1):68.

MAI Yan-ling, LIU Hong-mei, LIU Cheng-lan, et al. Study on residue dynamics of chlorfenapyr in cucumber and amaranth[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2007, 28(1):68.

[6] 唐俊, 汤锋, 操海群, 等. 啉酰菌胺在黄瓜和土壤中残留分析方法研究[J]. 安徽农业大学学报, 2008, 35(4):550-554.

TANG Jun, TANG Feng, CAO Hai-qun, et al. Analytical method of boscalid residue in cucumber and soil[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2008, 35(4):550-554.

[7] 徐伟松, 李畅方, 何强, 等. 烯酰吗啉在黄瓜和土壤中的残留量及消解动态研究[J]. 农药科学与管理, 2008, 29(3):15-16.

XU Wei-song, LI Chang-fang, HE-Qiang, et al. Study on residue and dynamic degradation of dimethomorph in cucumber and soil [J]. *Pesticide Science and Administration*, 2008, 29(3):15-16.

[8] Torres C M, Picó Y, Mañes J. Determination of pesticide residues in fruit and vegetables[J]. *Journal of Chromatography A*, 1996(754):301-331.

[9] 朱国念. 农药残留快速检测技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 59-61.

ZHU Guo-nian. Technology for rapid detection of pesticide residues[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2008: 59-61.

[10] Amadeo R Fernandez-Alba, Antonio Valverde, Ana Agütera, et al. Determination of imidacloprid in vegetables by high-performance liquid chromatography with diode-array detection[J]. *Journal of Chromatography A*, 1996(721):97-105.

[11] 樊德方. 农药残留量分析与检测[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982.

FAN De-fang. Pesticide residues analysis and detection[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1982.