

王思威, 刘艳萍, 孙海滨. 啉菌酯在荔枝上的消解动态及最终残留的研究 [J]. 福建农业学报, 2014, 29 (2): 168-171.

WANG S-W, LIU Y-P, SUN H-B. Dissipation and Terminal Residue of Azoxystrobin in Lychee Under Field Conditions [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2014, 29 (2): 168-171.

啉菌酯在荔枝上的消解动态及最终残留的研究

王思威, 刘艳萍, 孙海滨*

(广东省农业科学院植物保护研究所/广东省植物保护重点实验室, 广东 广州 510640)

摘要: 建立啉菌酯在荔枝上的残留分析方法, 并于 2011—2012 年在广州和南宁进行 $250\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 啉菌酯悬浮剂在荔枝上的田间试验, 研究其在荔枝上的消解动态和最终残留。采用甲醇提取, 弗罗里硅土和中性氧化铝柱层析净化, 气相色谱法 (ECD) 检测啉菌酯残留量。在添加水平为 0.01 、 0.1 和 $1\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 荔枝果肉、全果和果皮中平均添加回收率分别为 $83.0\% \sim 85.1\%$ 、 $83.3\% \sim 84.9\%$ 和 $80.6\% \sim 84.5\%$; 相对标准偏差分别为 $2.24\% \sim 3.88\%$ 、 $2.77\% \sim 3.84\%$ 和 $2.90\% \sim 3.68\%$; 检出限 (LOD) 为 $0.005\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 定量限 (LOQ) 为 $0.01\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。田间试验结果表明, 啉菌酯在广州和南宁荔枝中的半衰期分别为 $2.8 \sim 5.7\text{ d}$ 和 $3.5 \sim 7.2\text{ d}$, 消解迅速。 $250\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 啉菌酯悬浮剂, $200\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 施用 $3 \sim 4$ 次, 于末次施药后 7 d , 荔枝全果上残留量为 $0.01 \sim 0.16\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 果肉中残留量均小于 $0.01\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 果皮中残留量为 $0.02 \sim 0.73\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 于末次施药后 14 d , 全果残留量为 $<0.01 \sim 0.12\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 果肉中的残留量均小于 $0.01\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 果皮中的残留量为 $0.01 \sim 0.54\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全果中的最终残留量低于我国规定的 MRL 值 $0.5\text{ (mg} \cdot \text{kg}^{-1})$ 。

关键词: 啉菌酯; 荔枝; 残留

中图分类号: TQ 450.2

文献标识码: A

Dissipation and Terminal Residue of Azoxystrobin in Lychee Under Field Conditions

WANG Si-wei, LIU Yan-ping, SUN Hai-bin

(Institute of Plant Protection, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Guangdong Provincial Key Laboratory of High Technology for Plant Protection, Guangzhou, Guangdong 510640, China)

Abstract: We developed an effective method to determine the azoxystrobin residue in lychee. And field trials were designed to evaluate the dissipation and residue of azoxystrobin in lychee at Guangzhou and Nanning. The samples were extracted by methanol and detected by GC-ECD. The results showed that the average recoveries of $83.0\% \sim 85.1\%$, $83.3\% \sim 84.9\%$ and $80.6\% \sim 84.5\%$ with relative standard deviations of $2.24\% \sim 3.88\%$, $2.77\% \sim 3.84\%$ and $2.90\% \sim 3.68\%$ at the spiked level of 0.01 , 0.01 and $1\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. The limit of detection (LOD) was $0.005\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and the limit of quantification (LOQ) was $0.01\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Meanwhile, the half lives of azoxystrobin in lychee of Guangzhou and Nanning were $2.8 \sim 5.7$ days and $3.5 \sim 7.2$ days, respectively, and the terminal residue were $0.01 \sim 0.16\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $<0.01\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $0.02 \sim 0.73\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ in the whole fruit, flesh and peel at the 7 days after last application, and were $<0.01 \sim 0.12\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $<0.01\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $0.01 \sim 0.54\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ in the whole fruit, flesh and peel at the 14 days after last application. Our results suggest that the terminal residue in whole fruit are all below the maximum residue limit (MRL) set by China ($0.5\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$).

Key words: azoxystrobin; lychee; residue

啉菌酯属于甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂, 具有杀菌谱广、高效低毒、低残留等特点, 被广泛应用于防治霜疫霉病、甜瓜白粉病和梨黑星病等病害^[1]。

荔枝霜疫病是荔枝果实生长期的一种主要病害, 主要为害近成熟的果实, 亦可为害青果和叶片, 在广东、广西、福建都有发生, 可造成大量落果和烂

收稿日期: 2013-11-02 初稿; 2013-11-25 修改稿

作者简介: 王思威 (1984-), 女, 硕士, 主要从事农药残留分析与环境毒理 (E-mail: 344073564@qq.com)

* 通讯作者: 孙海滨 (1962-), 男, 研究员, 主要从事农药应用及环境安全性研究 (E-mail: sunhb@gdppri.cn)

基金项目: 广东省科技厅促进科技服务业发展专项 (2010A04031011); 农业部农药残留课题 (2011F176)

果, 并严重影响鲜果贮藏。

有关嘧菌酯的残留分析方法常用的有气相色谱法 (GC)^[1-8]、液相色谱法 (LC)^[1] 和高效液相色谱-串联质谱法 (HPLC-MS/MS)^[9] 等。关于其消解方面, 已有研究表明: 嘧菌酯在黄瓜及其土壤中的消解半衰期分别为 2.8~3.0 d 和 8.3~12.3 d^[6]; 在草莓及其土壤中的半衰期分别为 3.7~4.0 d 和 6.3~8.8 d^[3]; 在芒果和土壤中的半衰期分别为 5.8~8.8 d 和 2.3~8.3 d^[7]; 在水稻和土壤中的半衰期分别为 6.2、8.6 d^[5]; 在种植人参的土壤半衰期为 7.5~9.9 d^[8]。在荔枝中的消解情况尚未见报道。

我国制定的嘧菌酯在荔枝上的最大残留限量值 (MRL) 为 0.5 mg·kg⁻¹, 欧盟、CAC 等组织尚未制定其在荔枝上的 MRL 值。研究采用甲醇提取, 二氯甲烷液-液分配萃取, 弗罗里硅土和中性氧化铝柱层析净化, 气相色谱法 (ECD) 检测嘧菌酯残留量, 建立了检测荔枝中嘧菌酯残留的分析方法。采用该方法对 250 g·L⁻¹ 嘧菌酯悬浮剂在田间的消解动态及最终残留进行了研究。为嘧菌酯在荔枝上的合理使用提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

岛津 2010plus, 配电子捕获检测器 (ECD) (日本岛津公司); 水浴恒温振荡器 (江苏金坛市佳美仪器有限公司); 组织捣碎机 (上海标本模型厂制造); 匀浆机 (IKA-T18 型, 德国制造); 旋转蒸发仪 (无锡星海王生化设备有限公司)。

试剂: 甲醇、二氯甲烷、石油醚等均为分析纯, 中性氧化铝 (60~100 目)、弗罗里硅土 (60~100 目), 中性氧化铝和弗罗里硅土预先在 120℃ 烘箱中持续烘烤 5 h。称取 500 g 弗罗里硅土, 加入 25 mL 水进行去活处理。

嘧菌酯标准品 (纯度 99.7%), 由 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司提供。

1.2 田间试验

按我国农业部农药检定所颁布的农药残留试验准则^[10], 于 2011 年 5 月与 2012 年 5 月在广东省广州市和广西区南宁市进行。试验药剂: 供试农药为 250 g·L⁻¹ 嘧菌酯悬浮剂, 由江阴苏利化学有限公司提供。试验果树: 荔枝, 广东品种为淮荔、树龄 15~16 年; 广西品种为禾荔, 树龄 23~24 年树。

1.2.1 荔枝上消解动态试验

试验在广东省广州

市和广西区南宁市露天试验地进行, 施药剂量为有效成分 300 mg·kg⁻¹ (为最高推荐剂量的 1.5 倍), 施药时期为荔枝果实长到成熟大小一半时施药。按要求将 250 g·L⁻¹ 嘧菌酯悬浮剂兑水稀释后用背负电动式喷雾器 (GZNY-16 型) 进行喷雾施药, 均匀喷施荔枝全株至药液开始从叶片滴下为止, 用水量为 750 L·hm⁻², 施药时应保证用于动态试验的荔枝均匀着药。设置 3 个试验小区, 2 株为一小区。分别于施药后 2 h 和 1、3、5、7、10、14、21 d 采集荔枝样本。

1.2.2 最终残留试验 选择生长较为一致的荔枝树 2 株作为处理小区, 设 3 个重复。以田间试验低剂量 (为最高推荐剂量, 有效成分 200 mg·kg⁻¹)、高剂量 (为低剂量的 1.5 倍, 有效成分 300 mg·kg⁻¹) 分别施药 3、4 次, 按要求将 250 g·L⁻¹ 嘧菌酯悬浮剂兑水稀释后用背负电动式喷雾器 (GZNY-16 型) 进行喷雾施药, 均匀喷施荔枝全株至药液开始从叶片滴下为止, 用水量为 750 L·hm⁻², 施药间隔期 7~10 d。采样时间距离最后 1 次施药的间隔时间为 7、14 d。

样品处理: 荔枝全果样品, 取约 1 000 g 荔枝, 取出果核后, 将全果切碎, 混匀; 果肉样品, 取 500 g 荔枝, 剥去荔枝皮, 取出果肉和果核, 将果肉切碎混匀; 土壤样品, 从田间采集的土壤样品风干后碾碎, 筛去砂石杂物, 充分混合后, 用四分法留取样品并贮存在 -20℃ 低温冰箱中待检测。

1.3 分析方法

1.3.1 仪器检测条件 岛津 2010plus, 配电子捕获检测器 (ECD); 色谱柱为 HP-1701 (30 m × 0.53 mm, 石英交联毛细管柱); 柱温 180~260℃ 程序升温, 进样口 280℃, 检测器 300℃; 气体: 载气 (N₂), 流量控制, 总流量 25 mL·min⁻¹。嘧菌酯相对保留时间 25.7 min。

1.3.2 标准工作曲线 用乙酸乙酯配制嘧菌酯标准储备液 (1 000 mg·L⁻¹), 取适量储备液分别用乙酸乙酯稀释成 0.01、0.05、0.1、0.2、0.5、1.0 mg·kg⁻¹ 的系列标准溶液, 在上述仪器的条件下进行测定, 以峰面积对浓度作线性回归曲线, 得到嘧菌酯的线性方程为 $y = 2 \times 10^7 x + 344281$, 相关系数 R 为 0.999 6。

1.3.3 样品提取 称 20.0 g 样品 (果肉、果皮或全果) (精确到 0.1 g), 置于 250 mL 三角瓶中, 加入 60 mL 甲醇, 用高速匀质器匀质 2 min 后, 用 60 目石英砂作助滤剂抽滤, 残渣复用 30 mL 甲醇振荡提取, 抽滤, 合并抽滤液。

1.3.4 样品的净化 将抽滤液转移至 500 mL 分液漏斗中, 分别加入 100 mL 水、50 mL 饱和氯化钠溶液, 用 50 mL \times 3 次二氯甲烷萃取。萃取液经无水硫酸钠层脱水, 在 45℃ 水浴上减压浓缩近干, 待柱净化; 称取 2 g 弗罗里硅土 (5% 减活) 和 1 g 中性氧化铝装柱, 柱顶与底端各加 1.5 cm 厚的无水硫酸钠层, 用 20 mL 石油醚进行预淋洗。用少量石油醚将上述浓缩残留溶解并移入层析柱中, 用 80 mL 乙酸乙酯/石油醚 (50 : 50, v/v) 混合液洗脱, 收集; 减压浓缩至少量; 用气流吹干, 2 mL 乙酸乙酯定容, 供气相色谱测定。

2 结果与分析

2.1 添加回收率测定

在空白荔枝全果、果皮、果肉样品中添加 0.01、0.10、1.00 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的啞菌酯标准品, 每个浓度重复 5 次, 按本文所建立的方法分别进行提取和 GC-ECD 分析, 测得结果见表 1。当添加水平在 0.01~1.00 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 啞菌酯的平均回收率为 80.6%~86.8%, 相对标准偏差 (RSD) 为 2.24%~3.88%。

表 1 啞菌酯在荔枝全果和果肉中的添加回收率和检出限、定量限 ($n=5$)

Table 1 The average recoveries, RSD, LOD and LOQ of azoxystrobin in lychee ($n=5$)

| 项目 | 添加浓度/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) | 平均回收 率/% | 相对标准 偏差/% | 检出限/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) | 检出限/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) |
|----|---|-------------|--------------|--|--|
| 全果 | 0.01 | 83.3 | 3.84 | 0.005 | 0.01 |
| | 0.1 | 84.9 | 3.14 | | |
| | 1 | 84.9 | 2.77 | | |
| 果肉 | 0.01 | 84.9 | 2.73 | 0.005 | 0.01 |
| | 0.1 | 83 | 2.24 | | |
| | 1 | 85.1 | 3.88 | | |
| 果皮 | 0.01 | 80.6 | 2.90 | 0.005 | 0.01 |
| | 0.1 | 84.5 | 3.68 | | |
| | 1 | 82.4 | 3.21 | | |

2.2 方法灵敏度

灵敏度是以添加回收试验的最低添加浓度 0.01 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的色谱图中噪音信号的 10 倍确定, 得出啞菌酯在荔枝中的检出限 (LOD) ($S/N=10$) 为 0.005 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.3 啞菌酯在荔枝全果上的残留消解动态

对啞菌酯在 2011—2012 年期间广州和南宁两地的田间样品进行残留量检测, 其消解趋势如图 2

所示。啞菌酯在广州和南宁的荔枝上的消解方程分别为 $C=1.1978e^{-0.2462t}$, $C=0.6802e^{-0.1208t}$ 和 $C=1.458e^{-0.1956t}$, $C=0.3368e^{-0.0958t}$, 相关系数 R 分别为 0.968 7、0.946 5 和 0.988 0、0.976 5, 半衰期为 2.8~5.7 d 和 3.5~7.2 d。啞菌酯在两地荔枝中的残留量随着时间的延长逐渐降低, 且施药 21 d 后, 其残留量均降到 90% 以上。广州和南宁两地的原始沉积量大体相当, 分别为 0.62~1.88 和 0.46~1.57 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。啞菌酯在荔枝中的消解半衰期比在其他作物中的长, 如其在黄瓜中的半衰期为 2.8~3.0 d^[6], 在草莓中为 3.7~4.0 d^[3]。可见, 影响啞菌酯降解的因素除温度、降水量等自然条件外, 还与作物种类有关。

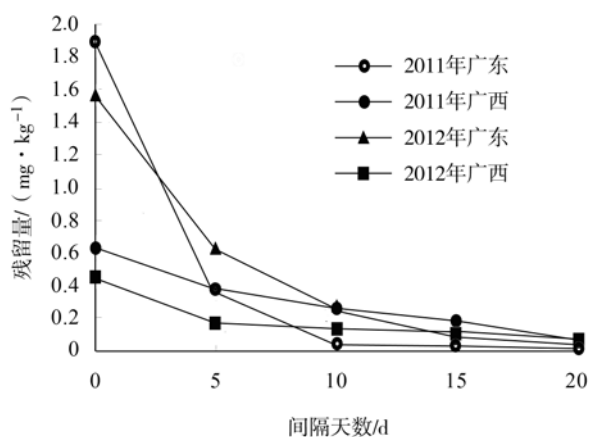


图 1 啞菌酯在广州和南宁荔枝上的消解趋势

Fig. 1 Dissipation of azoxystrobin in lychee at Guangzhou and Nanning

2.4 啞菌酯在荔枝上的最终残留量

250 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 啞菌酯悬浮剂, 低剂量 200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 施用 3~4 次, 啞菌酯在荔枝果肉中的残留量均 < 0.01 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 末次施药后 7 d, 啞菌酯在荔枝全果中的残留量为 0.01~0.16 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 果皮中残留量为 0.02~0.73 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 末次施药后 14 d, 全果残留量为 < 0.01~0.12 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 果皮中的残留量为 0.01~0.54 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (表 2)。可见, 施用啞菌酯后, 随着间隔天数的增加, 其残留量逐渐下降; 大部分农药残留于荔枝果皮中, 可能与农药本身性质有关; 啞菌酯的辛醇水分配系数 $\text{KowLog P}=2.5$ (20℃), 说明啞菌酯属于亲脂性较强的农药, 易于附着于果实的表面, 而不易迁移至果肉中。荔枝皮含有多种活性成分, 如黄酮类、酚酸类物质等, 具有较高的经济和药用价值^[11]。荔枝皮在上述功能的使用过程中, 应注意农药的残

留问题。荔枝果肉和全果中的残留量低于我国规定的啞菌酯在荔枝中的最大残留限量 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，因此，建议 $250 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 啞菌酯悬浮剂，按照推荐

剂量 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 在荔枝上施用 3~4 次，安全间隔期 14 d，使用是安全的。

表 2 啞菌酯在荔枝全果、果肉和果皮中的最终残留量

Table 2 The terminal residue of azoxystrobin in the whole, flesh and peel of lychee.

| 试验地点 | 施药次数 | 间隔天数/d | 果肉中残留量/ $(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$ | 全果中残留量/ $(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$ | 果皮中残留量/ $(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$ | 皮全果比 $C_{\text{peel}}/C_{\text{whole}}$ |
|------|------|--------|---|---|---|--|
| 广州 | 3 | 7 | <0.01 | $0.01 \sim 0.03$ | $0.02 \sim 0.12$ | $2.0 \sim 4.0$ |
| | 4 | | <0.01 | $0.01 \sim 0.05$ | $0.02 \sim 0.22$ | $2.0 \sim 4.4$ |
| | 3 | 14 | <0.01 | $<0.01 \sim 0.01$ | 0.02 | 2.0 |
| | 4 | | <0.01 | $<0.01 \sim 0.01$ | 0.02 | 2.0 |
| 南宁 | 3 | 7 | <0.01 | $0.07 \sim 0.16$ | $0.3 \sim 0.73$ | $4.3 \sim 4.6$ |
| | 4 | | <0.01 | $0.03 \sim 0.14$ | $0.11 \sim 0.63$ | $3.7 \sim 4.5$ |
| | 3 | 14 | <0.01 | $<0.01 \sim 0.06$ | $0.01 \sim 0.25$ | $1.0 \sim 4.2$ |
| | 4 | | <0.01 | $0.01 \sim 0.12$ | $0.01 \sim 0.54$ | $1.0 \sim 4.5$ |

3 结 论

本研究建立了气相色谱 (GC-ECD) 检测啞菌酯在荔枝中的残留方法，荔枝样品，含糖量较高，果皮中含有大量的色素，用 SPE 小柱易发生堵塞，笔者用传统复合层析柱，较好地去除了杂质干扰。研究结果表明，荔枝果肉中啞菌酯的添加回收率为 $83.0\% \sim 85.1\%$ ，相对标准偏差为 $2.24\% \sim 3.88\%$ ；荔枝全果中啞菌酯平均添加回收率为 $83.3\% \sim 84.9\%$ ，相对标准偏差为 $2.77\% \sim 3.84\%$ 。

残留动态结果表明，在荔枝上使用 $250 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 啞菌酯悬浮剂防治荔枝霜霉病，按 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量，施用 1 次，广州和南宁两地的啞菌酯的残留降解半衰期为 $2.8 \sim 5.7 \text{ d}$ 和 $3.5 \sim 7.2 \text{ d}$ ，表明啞菌酯属于易降解农药 ($t_{1/2} < 30 \text{ d}$)。

最终残留结果表明：按 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量，施用 3~4 次，末次施药后 7、14 d，啞菌酯在荔枝全果上的最终残留量为 $<0.01 \sim 0.16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，果肉中最终残留量均小于 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，荔枝果皮中的最终残留量为 $0.01 \sim 0.73 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。可见，啞菌酯施用后大部分残留于荔枝果皮中，在荔枝皮的使用过程中，应注意农药残留的问题。

参考文献：

- [1] 郇志博, 吕岱竹, 罗金辉. 30% 苯醚甲环唑·啞菌酯悬浮剂在香蕉和土壤中的残留分析方法研究 [J]. 热带农业科学, 2012, 32 (11): 82—86.
- [2] 孙洁, 薄海波, 韩舜愈. 果蔬中啞菌酯残留量的气相色谱分析研究 [J]. 甘肃农业大学学报, 2007, 42 (2): 112—115.
- [3] 杨振华, 魏朝俊, 贾临芳, 等. 啞菌酯在草莓与土壤中的残留动态研究 [J]. 农业环境科学学报, 2013, 32 (4): 697—700.
- [4] 殷利丹, 侯志广, 陈超, 等. 啞菌酯在大豆中的残留及消解动态 [J]. 农药学报, 2011, 13 (3): 304—309.
- [5] 谢惠, 龚道新. 啞菌酯在稻田水、土壤及水稻植株中的残留降解行为研究 [J]. 湖南农业科学 2013, (1): 80—83.
- [6] 尹丰平, 李雪生, 黄辉. 啞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(S): 590—594.
- [7] 刘艳萍, 孙海滨, 曾繁娟, 等. 啞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—107, 124.
- [8] 王思威, 侯志广, 邹静, 等. 啞菌酯在人参和土壤中的残留动态 [J]. 农药, 2010, 49 (6): 436—438.
- [9] 洪文英, 吴燕君, 章虎, 等. 啞菌酯和吡唑醚菌酯在黄瓜中的残留降解行为及安全使用技术 [J]. 浙江农业学报, 2012, 24 (3): 469—475.
- [10] 农业部农药检定所, 山西省农药重点试验室. NY/T 788-2004, 农药残留试验准则 [S]. 北京: 中华人民共和国农业部, 2004, 2—5.
- [11] 周玮婧, 吕国涵, 孙智达, 等. 荔枝皮黄酮抑菌性能及其作用机理研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2011, (23): 332—336.

(责任编辑: 黄爱萍)