

· 研究论文 ·

## 啞菌酯在大豆中的残留及消解动态

殷利丹, 侯志广, 陈超, 吉慧敏, 魏小虎, 逯忠斌, 王岩\*

(吉林农业大学 资源与环境学院, 长春 130118)

**摘要:**建立了大豆中啞菌酯残留的气相色谱测定方法,并研究了其在植株和大豆籽粒中的消解动态和最终残留。样品经乙腈提取,弗罗里硅土玻璃层析柱净化,通过气相色谱-电子捕获检测器(GC-ECD)测定。结果表明,在0.025、0.25、2.0 mg/kg 3个添加水平下,啞菌酯的平均回收率为93.4%~101.1%,相对标准偏差(RSD)为1.2%~7.5%;最小检出量为 $1 \times 10^{-12}$  g,最低检测浓度为0.025 mg/kg。施药剂量为推荐剂量的1.5倍(有效成分337.5 g/hm<sup>2</sup>)时,啞菌酯在大豆植株中的半衰期为0.8~3.6 d。在225、337.5 g/hm<sup>2</sup>剂量下施药3~4次,测得收获期大豆中啞菌酯的残留量均低于国际食品法典委员会(CAC)规定的最大残留限量(MRL) 0.5 mg/kg。按照推荐剂量225 g/hm<sup>2</sup>处理,建议我国啞菌酯在大豆上的MRL值可暂定为0.5 mg/kg,安全间隔期为14 d,施药次数不超过3次。

**关键词:**啞菌酯;大豆;残留;气相色谱

DOI: 10.3969/j.issn.1008-7303.2011.03.16

中图分类号:TQ450.263

文献标志码:A

文章编号:1008-7303(2011)03-0304-06

## Residues and decline study of azoxystrobin in soybean

YIN Li-dan, HOU Zhi-guang, CHEN Chao, JI Hui-min,  
WEI Xiao-hu, LU Zhong-bin, WANG Yan\*

(College of Resource and Environmental Science, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

**Abstract:** A gas chromatography method was developed for determining azoxystrobin residues in soybean. The samples were extracted with acetonitrile and cleaned up by glass column chromatography with Florisil and determined by gas chromatograph with electronic capture detector(GC-ECD). Results showed that the fortified concentration of azoxystrobin from 0.1 mg/kg to 2.0 mg/kg, the ranges of average recoveries and coefficient variation of the method were 93.4% to 101.1%, 1.2% to 7.5% respectively. The limit of detection was estimated to be  $1 \times 10^{-12}$  g and the limit of quantification was 0.025 mg/kg. With high dosage 337.5 g a. i. /ha, the half-life of azoxystrobin was 0.8 to 3.6 days in the soybean plant. Soybean plant was treated for three and four times with the dosages of 225 g a. i. /ha and 337.5 g a. i. /ha, the results revealed that the azoxystrobin residues in soybean were all below the MRL of CAC (0.5 mg/kg). Recommended dosage 225 g a. i. /ha of azoxystrobin 25% SC was suggested to apply in soybean, the MRL of azoxystrobin in soybean may be suggested to set at 0.5 mg/kg. It's recommended that the preharvest interval of azoxystrobin in soybean set at 14 days,

收稿日期:2010-10-16;修回日期:2010-12-11.

作者简介:殷利丹(1982-),女,吉林省农安人,在读硕士, E-mail: danliyin@163.com; \*通讯作者(Author for correspondence):王岩(1962-),男,吉林长春人,硕士,副教授,主要从事农药合成与创制研究,电话:0431-84510942, E-mail: wy62@163.com

基金项目:农业部农药残留课题(2008F200)资助。

the maximum application times below three.

**Key words:** azoxystrobin; soybean; residue; gas chromatography

嘧菌酯(azoxystrobin)属于甲氧基丙烯酸酯类<sup>[1]</sup>杀菌剂,具有广谱、高效、安全等特点<sup>[2]</sup>。有关嘧菌酯及其类似物在豆类、苹果、甜瓜、人参等中的残留分析方法国内外已有一些报道,如:气相色谱-电子捕获检测器(GC-ECD)<sup>[3-6]</sup>、气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术<sup>[7-8]</sup>、液相色谱-二极管阵列检测器(LC-DAD)技术<sup>[9]</sup>、胶束电动色谱分析<sup>[10]</sup>、气相色谱-氮磷检测器(GC-NPD)<sup>[11]</sup>及高效液相色谱-质谱法(HPLC-MS)<sup>[12]</sup>等多种检测方法。这些方法中的待测样品大多为水溶性的,虽然采用乙酸乙酯-正己烷的混合溶液(体积比,1:1)提取有利于待测物的富集,但仍需进行净化处理;质谱联用技术虽可定性,且定量准确,但价格昂贵,不宜在普通实验室推广使用。目前尚未见有关嘧菌酯在大豆中的残留消解动态及其分析方法的报道。本研究采用乙腈提取,佛罗里硅土玻璃层析柱净化,通过GC-ECD技术建立了植株和大豆籽粒中嘧菌酯残留的分析方法。并于2008和2009年在吉林、山东和黑龙江大豆主产区进行了2年3地的田间试验,采用所建立方法测定了嘧菌酯在植株中的消解动态和在大豆籽粒中的最终残留量。现将结果报道如下。

## 1 材料与方 法

### 1.1 仪器和试剂

HP6890 气相色谱仪配  $\mu$ -ECD 检测器(美国 Agilent 公司生产);DS-4 型组织捣碎机;SHZ-88 型水浴恒温振荡器;KQ-250DE 型超声波清洗器。嘧菌酯(azoxystrobin)标准品,纯度 99.7%,先正达(中国)投资有限公司提供;25% 嘧菌酯悬浮剂(azoxystrobin 250 SC),先正达(苏州)作物保护有限公司提供。助滤剂为进口分装,其余试剂均为分析纯。

### 1.2 试验方法

1.2.1 嘧菌酯在大豆植株中的消解动态试验 试验分别在吉林省长春市吉林农业大学试验站、山东省济南市和黑龙江海伦市进行。采用 25% 嘧菌酯悬浮剂,施药剂量为有效成分 337.5 g/hm<sup>2</sup>(推荐剂量的 1.5 倍),每公顷用水量 600 kg,以不施药区为空白对照,试验小区面积为 30 m<sup>2</sup>,每个处理设 3 个重复。于大豆锈病发病初期使用 WS-16 型背负式手动喷雾器,采用扇形雾喷头将供试药液均匀喷洒

于大豆茎叶表面,分别于施药后 0、1、3、5、7、14、20、30、40、60 d 和收获期按每小区 5 点法采集处理组和对照组的大豆植株全株样品,于 -20 °C 冰箱中保存。

1.2.2 嘧菌酯在大豆籽粒中的最终残留试验 采用 25% 嘧菌酯悬浮剂,分别设高剂量(337.5 g/hm<sup>2</sup>)、推荐剂量(225 g/hm<sup>2</sup>)和不加药剂(空白)3 个处理,小区面积 30 m<sup>2</sup>,3 次重复,于大豆锈病发病初期均匀喷药 3~4 次,每次施药间隔 7 d,分别于末次施药后 10、14、18、22 d 时采集大豆籽粒样品,测定其最终残留量。

### 1.3 分析方法

#### 1.3.1 样品提取和净化

1.3.1.1 样品提取 称取剪碎的大豆植株样品 20.0 g 于组织捣碎机中,加入 80 mL 乙腈,高速匀浆提取 3 min;再称取粉碎的大豆籽粒样品 20.0 g,加入 20 mL 蒸馏水和 80 mL 乙腈,在恒温水浴振荡器上振荡 60 min。分别将植株和籽粒样品提取液在铺有助滤剂的布氏漏斗中减压抽滤,收集 90~100 mL 滤液到装有 7 g 氯化钠的 100 mL 具塞量筒中,加塞后剧烈振荡 1 min,室温下静置 60 min 以上,待净化。

1.3.1.2 样品净化 从静置后的具塞量筒中分别吸取 8 mL 上层乙腈溶液于 100 mL 烧杯中,在 80 °C 恒温水浴条件下向烧杯中缓缓通入氮气或空气,使溶剂蒸发至近干。加入 2 mL 正己烷,盖上铝箔,待柱层析。在 Florisil 玻璃层析柱中自下而上依次装填 1 cm 无水硫酸钠、4 g 佛罗里硅土、0.2 g 活性炭和 1 cm 无水硫酸钠,用 15 mL 正己烷-丙酮(4:1,体积比)溶液预淋洗,用 15 mL 正己烷平衡,待液面接近上层无水硫酸钠底部时,立刻加入上述两种样品溶液,用 20 mL 正己烷-丙酮(1:4,体积比)溶液洗脱,弃去前 15 mL,再用 70 mL 相同的淋洗液洗脱,收集全部洗脱液,浓缩后于 80 °C 水浴上用氮气吹至近干,以正己烷定容至 2 mL,待 GC-ECD 分析。

1.3.2 气相色谱检测条件 色谱柱:安捷伦 HP-5 毛细管柱(30.0 m × 0.32 mm × 0.25  $\mu$ m),进样口温度 280 °C,检测器(ECD)温度 300 °C,载气为 N<sub>2</sub>,载气流速 2.0 mL/min;程序升温(初始 100 °C 保持 10 min,25 °C/min 升至 200 °C 保持 10 min,再以 10 °C/min 升至 260 °C,保持 20 min),尾吹气流量 60.0 mL/min;进样体积为 1  $\mu$ L。

### 1.4 标准曲线的绘制

准确称取一定量的嘧菌酯标准品,用丙酮配制成 1 000 mg/L 的母液,试验时再用丙酮稀释成质量浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 mg/L 的标准溶液,进气相色谱分析。以进样量为横坐标、峰面积为纵坐标绘制标准曲线,求得回归方程。

### 1.5 添加回收率测定

取空白对照区的大豆植株 20 g、籽粒 20 g 进行嘧菌酯添加回收率试验,设 0.025、0.25、2.0 mg/kg 3 个添加水平,5 次重复,按照 1.3.1 节方法进行样品提取、净化后,用气相色谱测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 方法的线性范围

外标法定量分析结果表明,嘧菌酯的质量浓度在 0.1 ~ 2.0 mg/L 范围内,其回归方程为  $Y = 213\,407x - 6\,854.3$ ,相关系数  $r = 0.999\,9$ ,峰面积与进样量具有良好的线性相关。

### 2.2 精密度和准确度

从表 1 数据可以看出,嘧菌酯在 0.025 ~ 2.0 mg/kg 的添加水平下,平均回收率在 93.4% ~ 101.1% 之间,相对标准偏差(RSD)在 1.2% ~ 7.5% 之间。从色谱图(图 1)可以看出,该方法对嘧菌酯具有良好的分离效果,灵敏度和准确性均符合农药残留分析试验的要求。

表 1 嘧菌酯在大豆植株和大豆籽粒中的添加回收率

Table 1 Recoveries of azoxystrobin in plant and soybean sample

样品 Sample	添加水平 Fortified level/(mg/kg)	平均回收率 Average recovery /%	相对标准偏差 RSD /%
植株 Plant	0.025	93.4	7.5
	0.25	101.1	5.7
	2.0	94.7	2.1
大豆 Soybean	0.025	88.4	7.2
	0.25	93.6	1.2
	2.0	93.8	4.3

### 2.3 嘧菌酯在大豆植株中的消解动态

从 2 年 3 地的试验数据(表 2 和表 3)可以看出:施药 14 d 后,嘧菌酯在大豆植株中的消解率即达 90% 以上,其消解动态符合一级动力学方程  $C_t = C_0 e^{-kt}$ 。经对数转换及回归分析,嘧菌酯在植株中的消解半衰期为 0.8 ~ 3.6 d,属于易降解农药( $t_{1/2} < 30$  d)。

### 2.4 嘧菌酯在大豆籽粒中的最终残留

采用不同施药剂量及施药次数,于施药后不同

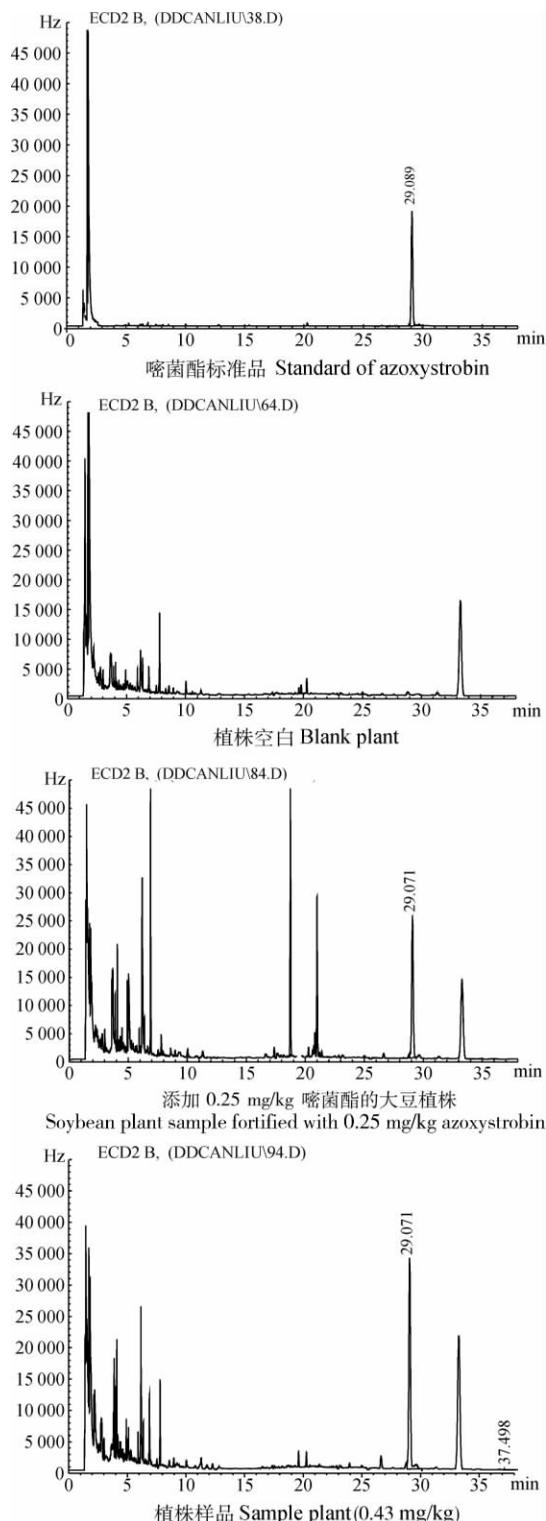


图 1 嘧菌酯色谱图

Fig. 1 The chromatogram of azoxystrobin

时期采集大豆籽粒样品,最终残留量测定结果(见表 4)表明,收获期大豆籽粒中的最终残留量均低于 0.3 mg/kg。

表2 嘧菌酯在大豆植株中的消解动态(2008年)  
Table 2 Decline of azoxystrobin in plant(2008)

采样时间 Sampling time/d	吉林 Jilin		山东 Shandong		黑龙江 Heilongjiang	
	残留量 Residues/ (mg/kg)	消解率 Degradation rate/%	残留量 Residues/ (mg/kg)	消解率 Degradation rate/%	残留量 Residues/ (mg/kg)	消解率 Degradation rate/%
0	71.0	—	50.2	—	64.2	—
1	44.0	38.0	36.6	27.1	41.2	35.8
3	38.9	45.2	20.9	58.4	20.1	68.7
5	12.5	82.4	10.5	79.1	10.6	83.5
7	6.2	91.3	4.4	91.2	5.8	91.0
14	1.4	98.0	1.2	97.6	2.0	96.9
20	0.16	99.8	0.18	99.6	0.43	99.3
30	0.080	99.9	0.060	99.9	0.12	99.8
40	<0.025	—	<0.025	—	<0.025	—
60	<0.025	—	<0.025	—	<0.025	—
消解方程 $C_t$	$C_t = 50.080e^{-0.2409t}$		$C_t = 36.061e^{-0.2330t}$		$C_t = 38.795e^{-0.2067t}$	
相关系数 $r$	0.9779		0.9861		0.9865	
半衰期 $t_{1/2}/d$	1.4		1.6		0.9	

表3 嘧菌酯在大豆植株中的消解动态(2009年)  
Table 3 Decline of azoxystrobin in plant(2009)

采样时间 Sampling time/d	吉林 Jilin		山东 Shandong		黑龙江 Heilongjiang	
	残留量 Residues/ (mg/kg)	消解率 Degradation rate/%	残留量 Residues/ (mg/kg)	消解率 Degradation rate/%	残留量 Residues/ (mg/kg)	消解率 Degradation rate/%
0	45.9	—	92.8	—	73.6	—
1	35.8	22.0	72.6	21.8	45.5	38.2
3	9.5	79.3	59.3	36.1	23.5	68.1
5	3.4	92.6	48.1	48.2	12.0	83.7
7	1.1	97.6	14.4	84.5	5.8	92.1
14	0.19	99.6	2.5	97.3	1.4	98.1
20	0.17	99.6	0.090	99.9	0.12	99.8
30	0.12	99.7	0.070	99.9	0.080	99.9
40	0.030	99.9	<0.025	—	<0.025	—
60	<0.025	—	<0.025	—	<0.025	—
消解方程 $C_t$	$C_t = 12.177e^{-0.1715t}$		$C_t = 104.28e^{-0.2736t}$		$C_t = 44.919e^{-0.2404t}$	
相关系数 $r$	0.9086		0.9692		0.9734	
半衰期 $t_{1/2}/d$	3.7		3.0		0.8	

表 4 嘧菌酯在大豆籽粒中的最终残留量  
Table 4 The final residues of azoxystrobin in soybean

施药量 Dosage/ (g/hm <sup>2</sup> )	施药次数 Times	间隔天数 Interval/days	残留量 Residues/(mg/kg)						
			2008			2009			
			吉林 Jilin	山东 Shandong	黑龙江 Heilongjiang	吉林 Jilin	山东 Shandong	黑龙江 Heilongjiang	
225	3	10	0.29	0.26	0.24	0.24	0.28	0.29	
		14	0.25	0.21	0.22	0.10	0.11	0.11	
		18	0.20	0.19	0.20	0.16	0.20	0.10	
		22	0.10	0.14	0.14	0.15	0.11	0.07	
	4	10	0.29	0.25	0.28	0.26	0.13	0.25	
		14	0.24	0.21	0.17	0.14	0.12	0.16	
		18	0.12	0.19	0.15	0.23	0.12	0.14	
		22	0.10	0.11	0.15	0.15	0.12	0.12	
	337.5	3	10	0.28	0.29	0.30	0.26	0.22	0.29
			14	0.27	0.21	0.18	0.16	0.12	0.26
			18	0.19	0.19	0.11	0.16	0.12	0.22
			22	0.11	0.11	0.10	0.15	0.12	0.13
4		10	0.26	0.30	0.30	0.27	0.29	0.28	
		14	0.27	0.26	0.18	0.23	0.16	0.25	
		18	0.19	0.20	0.15	0.13	0.14	0.14	
		22	0.12	0.15	0.12	0.15	0.12	0.11	

### 3 小结与讨论

目前已报道的嘧菌酯的检测方法前处理过程繁琐,费用较高,采用质谱操作难度较大。本研究方法将样品用乙腈提取后,无需液-液分配,净化后直接用气相色谱测定,前处理过程简单,重现性好,且费用较低,适合于作为一种常规的残留检测方法。

采用所建方法测定的嘧菌酯在大豆中的消解动态和最终残留结果表明:其在大豆植株中的平均添加回收率在 93.4% ~ 101.1% 之间, RSD 在 2.1% ~ 7.5% 之间,符合农药残留分析试验要求;最小检出量(LOD)为  $1 \times 10^{-12}$  g (进样量 1  $\mu$ L),在植株和籽粒中的最低检测浓度(LOQ)均为 0.025 mg/kg;嘧菌酯在供试 3 地植株中的半衰期为 0.8 ~ 3.6 d。使用推荐剂量和高剂量处理,待大豆成熟后,测得籽粒中嘧菌酯的残留量中值为 0.20 mg/kg,最高残留量为 0.27 mg/kg。目前我国尚未制定嘧菌酯在大豆中的 MRL 值,CAC、欧盟和日本规定嘧菌酯在大豆中的 MRL 值分别为 0.5 mg/kg<sup>[13]</sup> 和 0.3 mg/kg<sup>[14]</sup>。充分考虑法典 Codex 以及其他国家的 MRL 标准,建议我国可暂定嘧菌酯在大豆中的 MRL 值为 0.5 mg/kg,安全间隔期为 14 d,嘧菌酯悬浮剂在大豆上的有效使用剂量不得高于 225 g/hm<sup>2</sup>,施药不

超过 3 次。嘧菌酯每日允许摄入量 ADI 值为 0.2 mg/kg b. w.<sup>[15]</sup> 结合我国农药登记情况和居民的人均膳食结构,普通人群嘧菌酯的长期理论最大摄入量是 0.32 mg,占日允许摄入量的 2.6%<sup>[16]</sup>,本研究中拟推荐的 MRL 值不会对一般人群健康产生不可接受的风险。

### 参考文献:

- [1] MARGOT P, HUGGEN BERGER F, AMREIN J, et al. CGA279202: A new broad-spectrum strobilurin fungicide [C]// Brighton Crop Protection Conference on Pests and Disease. Brighton, UK, 1998: 375 - 382.
- [2] YAN Xiao-jing(闫晓静), JIN Shu-hui(金淑惠), WANG Dao-quan(王道全). Strobilurin 类杀菌剂作用靶标的研究进展 [J]. *Chin J Pestic Sci* (农药学学报), 2006, 8(4): 299 - 305.
- [3] PARK Y S, EI-ATY A E A, CHOI J H, et al. Pesticide multiresidue analysis in *Panax ginseng* (C. A. Meyer) by solid-phase extraction and gas chromatography with electron capture and nitrogen-phosphorus detection [J]. *Biomed Chromatogr*, 2007, 21: 29 - 39.
- [4] BO Hai-bo(薄海波), BI Yang(毕扬), CHEN Li-ren(陈立仁). 气相色谱法测定甜瓜和苹果中嘧菌酯残留 [J]. *Chinese J Anal Chem* (分析化学), 2005, 33(5): 695 - 698.
- [5] BO Hai-bo(薄海波), SUN Jie(孙洁). 气相色谱法检测西红柿和白梨中嘧菌酯残留 [J]. *Food Research and Development* (食

- 品研究与开发) 2008 29(3): 113-115.
- [6] ZHANG Hao(张浩) ZHANG Tai-cheng(张太成) ,LU Zhong-bin(逯忠斌) ,*et al.* 25% 啉菌酯悬浮剂在平菇中的残留量[J]. *Agrochemicals(农药)* 2008 47(12): 905-906.
- [7] ADALBERTO M F, FILHOFANIO N S, PEDRO A P P. Development, validation and application of a method based on DI-SPME and GC-MS for determination of pesticides of different chemical groups in surface and groundwater samples [J]. *Microchem J* 2010 96(1): 139-145.
- [8] PILAR V, NELSON M C, NATALIA C, *et al.* Liquid-liquid microextraction methods based on ultrasound-assisted emulsification and single-drop coupled to gas chromatography-mass spectrometry for determining strobilurin and oxazole fungicides in juices and fruits [J]. *J Chromatogr A* 2010, 1217(42): 6569-6577.
- [9] NATALIA C, PILAR V, NEREA A, *et al.* Stir bar sorptive extraction coupled to liquid chromatography for the analysis of strobilurin fungicides in fruit samples [J]. *J Chromatogr A* 2010, 1217(27): 4529-4534.
- [10] LIDIA M R, JAVIER H B, TERESA M B, *et al.* Solid-phase microextraction and sample stacking micellar electrokinetic chromatography for the analysis of pesticide residues in red wines [J]. *Food Chem* 2008, 111(3): 764-770.
- [11] DING Rui-yan(丁蕊艳) ,LI Hui-dong(李慧冬) ,DU Hong-xia(杜红霞) *et al.* 气相色谱法测定啉菌酯在黄瓜中的残留量[J]. *Chemical Analysis and Meterage(化学分析计量)* 2006, 15(6): 76-77.
- [12] WU Ying-xuan(吴映璇) ,LIN Feng(林峰) ,LIN Hai-dan(林海丹) *et al.* 豆类中啉菌酯残留量的高效液相色谱-串联质谱法测定[J]. *J Instrum Anal(分析测试学报)* 2009, 28(5): 617-620.
- [13] ZHUANG Wu-ji(庄无忌). Limited Regulation of Pesticide Residue in International Food and Feeds(国际食品饲料中农药残留限量法规[M]). Beijing(北京), Chemical Industry Press(化学工业出版社) 2010, Vol. I: 159; Vol. III: 177.
- [14] ZHANG Zhi-heng(张志恒). The Reasonable Use Standard of Pesticide and the Highest Standard for Residue Limits(农药合理使用规范和最高残留限量标准[M]). Heilongjiang(黑龙江): Chemical Industry Press(化学工业出版社) 2007: 185.
- [15] ZHUANG Wu-ji(庄无忌). Limited Regulation of Pesticide Residue in International Food and Feeds(国际食品饲料中农药残留限量法规[M]). Beijing(北京), Chemical Industry Press(化学工业出版社) 2010, Vol. I: 160.
- [16] Institute of Quality Standards and Testing Technology for Agro-products Chinese Academy of Agricultural Science(中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所). Risk Assessment for Quality and Safety of Agro-foods-principles Methodologies and Applications(农产品质量安全风险评估-原理、方法和应用[M]). Beijing(北京): Standards Press of China(中国标准出版社) 2007: 307-308.

(责任编辑: 金淑惠)

## · 公 告 ·

据“武汉大学中国科学评价研究中心”发布的公告,《农药学学报》在第二届中国学术期刊评价中被评为“RCCSE 中国核心学术期刊(A)”。

此次由中国科教评价网和中国科学评价研究中心共同推出的 2011 年期刊评价首次增加了扩展核心期刊,共评选出权威期刊(A+) 312 种,核心期刊(A) 961 种,扩展核心期刊(A-) 653 种,准核心期刊(B+) 1 291 种,一般期刊(B) 1 903 种,较差期刊(C) 1 280 种。评价期刊总数达到 6 400 种。

《农药学学报》编辑部  
2011 年 5 月