

石榴、石榴籽及土壤中苯醚甲环唑及嘧菌酯残留量的气相色谱分析

王素琴, 王玉萍, 于福利

(陕西省农药管理检定所, 陕西 西安 710003)

Determination of Difenoconazole and Azoxystrobin Residue in Pomegranate, Pomegranate Seeds and Soil by Gas Chromatography

Wang Suqin, Wang Yuping, Yu Fuli (Institute for the Control of Agrochemicals of Shaanxi Province, Xi'an 710003, China)

Abstract: To promote the safe production, a study was conducted to establish an analytic method to determine the residues of difenoconazole and azoxystrobin in pomegranate, pomegranate seed and soil. The pesticides were extracted from samples with acetonitrile and purified by Florisil solid phase extraction cartridge. The pesticides were determined by GC-ECD. Recoveries of azoxystrobin ranged from 84.9% to 116.3% with the coefficients of variation from 1.5% to 6.5%. Recoveries of difenoconazole ranged from 84.5% to 110.2% with the coefficients of variation from 1.5% to 6.3%. Limit of detection was 0.02mg/kg. The method was fast, simple, accurate and had a good repeatability.

Key words: pomegranate; pomegranate seed; soil; difenoconazole; azoxystrobin; residue

摘要: 系统地研究苯醚甲环唑及嘧菌酯在石榴、石榴籽及土壤中的残留量, 促进安全生产。采用乙腈提取, 固相萃取法净化土壤、石榴和石榴籽, 通过气相色谱-ECD对其中的苯醚甲环唑和嘧菌酯残留进行测定。嘧菌酯的添加回收率在84.9%~116.3%之间, 相对标准偏差在1.5%~6.5%之间; 苯醚甲环唑的添加回收率在84.5%~110.2%之间, 相对标准偏差在1.5%~6.3%之间, 最低检出浓度均为0.02mg/kg。方法简便、快速、准确度高、精密度好。

关键词: 石榴; 石榴籽; 土壤; 苯醚甲环唑; 嘧菌酯; 残留量

中图分类号: S482.2; S481+8; O657.7+1 文献标识码: A 文章编号: 1002-5480 (2015)10-28-05

嘧菌酯是一种新的甲氧基丙烯酸酯类抗菌剂, 能有效防治白粉病和霜霉病, 其抑菌活性高, 对人类和环境的毒性相对较低, 已广泛应用于谷物、果蔬等作物的病害防治与储藏保鲜^[1]。苯醚甲环唑是一种三唑类治疗型杀菌剂, 具有

内吸性强, 杀菌谱广, 持效期长等特点, 主要通过抑制麦角甾醇的生物合成干扰病菌的正常生长, 对多种蔬菜和果树的叶斑病、白粉病、锈病及黑星病都具有良好的防治效果^[2-4]。由于苯醚甲环唑和嘧菌酯杀菌机制完全不同, 将他

收稿日期: 2015-09-30

作者简介: 王素琴, 女, 主要从事农药质量与残留检测工作。联系电话: 029-87310136; E-mail: wangsuqin1982@163.com。

们合理混配使用, 在生产上不仅可以提高防治效果, 降低抗药性, 而且能减少用药量和防治成本^[5]。目前, 国内郁志博等利用固相萃取法和GC-NPD法测定香蕉及土壤中苯醚甲环唑和嘧菌酯两种农药的残留量^[6], 但是针对苯甲·嘧菌酯双组份在石榴和土壤中残留检测方法的研究仍为空白。本论文中作者采用乙腈提取, 固相萃取法净化石榴、石榴籽及土壤, GC-ECD测定, 方法简便、快速, 净化效果好, 各项技术指标均满足残留检测的要求。

1 实验部分

1.1 主要仪器 气相色谱仪, GC-2010 Plus, ECD检测器; 电子天平; 匀浆机; 离心机; 氮吹仪; Rtx-1柱毛细色谱柱; 弗罗里硅土柱及各种玻璃器皿。

1.2 主要试剂 丙酮、乙腈、正己烷均为色谱纯试剂; 氯化钠、碳酸钠为分析纯; 淋洗液: 丙酮/正己烷 (2/8, V/V); 苯醚甲环唑标准品: 99.1%, 国家农药质量监督检验中心 (北京); 嘧菌酯标准品: 99.0%, 国家农药质量监督检验中心 (北京)。

1.3 样品前处理

1.3.1 试样制备 石榴样品用四分法用食物料理机将样品打碎, 于-20℃低温保存; 土壤样品除去杂草、砂石, 混匀, 于-20℃低温保存; 石榴样品剥皮粉碎, 于-20℃低温保存。

1.3.2 样品的提取 石榴、石榴籽: 称取石榴、石榴籽样品12.5g于100mL离心管中, 加入25.0mL乙腈, 高速匀浆1min, 加4.0g无水氯化钠

漩涡混合1min, 2 500r/min离心5min, 静置1h。取上清液5.00mL置于20mL刻度试管中, 于70℃下通氮气蒸发近干, 加2.50mL淋洗液盖上塞子, 待净化。

土壤: 称取土壤样品12.5g, 视土壤含水量再加入5.0~10.0mL水、25.0mL乙腈、4.0g无水氯化钠于100mL离心管中漩涡混合1min, 振荡器上振荡7h, 静置过夜。2 500r/min离心5min, 静置1h。取上清液5.00mL置于20mL刻度试管中, 于70℃下通氮气蒸发近干, 加2.50mL正己烷盖上塞子, 待净化。

1.3.3 样品的净化 将弗罗里硅土柱依次用5.0mL淋洗液、5.0mL正己烷预淋洗、条件化, 当溶剂液面到达柱吸附层表面时, 立即倒入上述待净化溶液。用20mL刻度试管接收洗脱液, 用5.0mL淋洗液淋洗刻度试管, 并重复1次。将盛有淋洗液的刻度试管置于氮吹仪上, 在水浴温度50℃下通氮气蒸发近干, 用正己烷 (其中石榴籽、石榴用淋洗液) 定容至2.5mL, 在混合器上混匀, 移入样品瓶中, 待测。

1.4 实验条件 色谱柱: Rtx-1柱, 30m×530μm×1.0μm; 进样口温度: 280℃, 不分流模式; 载气流速 (N₂): 67.0mL/min; 升温程序: 起始温度200℃保持3min, 以15℃/min升到250℃, 保持11min, 再以15℃/min升到280℃, 保持4min; 检测器温度: 290℃; 进样体积: 0.2μL。

按照以上色谱条件, 对混合标准溶液和样品等体积进样, 测定结果用面积外标法定量。苯醚甲环唑和嘧菌酯相关色谱图 (图1~4)。

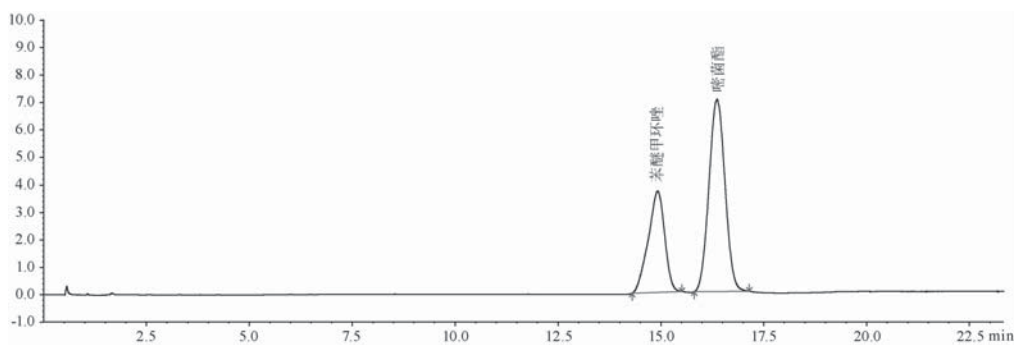


图1 苯醚甲环唑和嘧菌酯标样色谱图

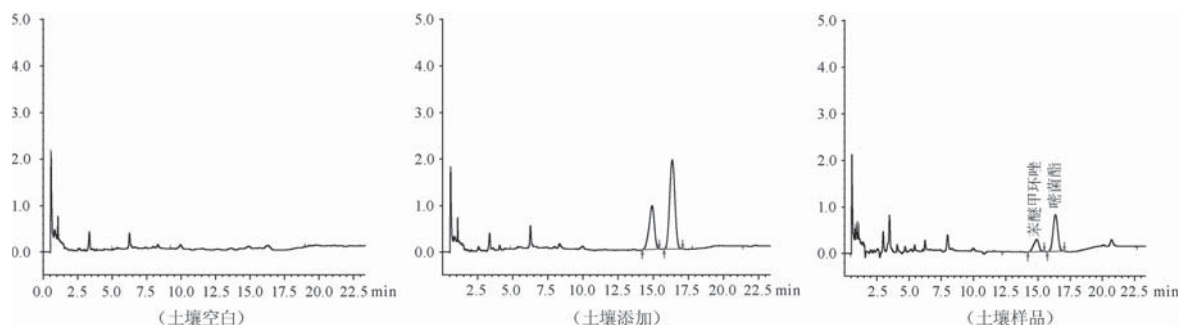


图2 土壤样品、空白及添加色谱图

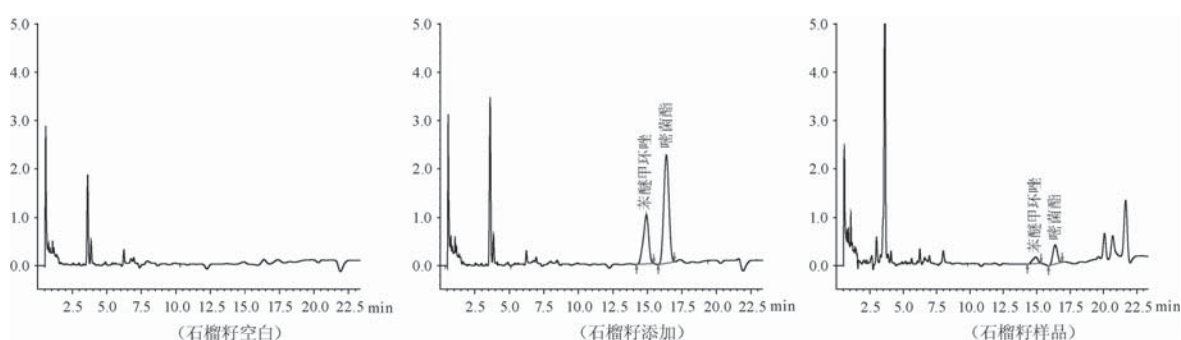


图3 石榴籽样品、空白及添加色谱图

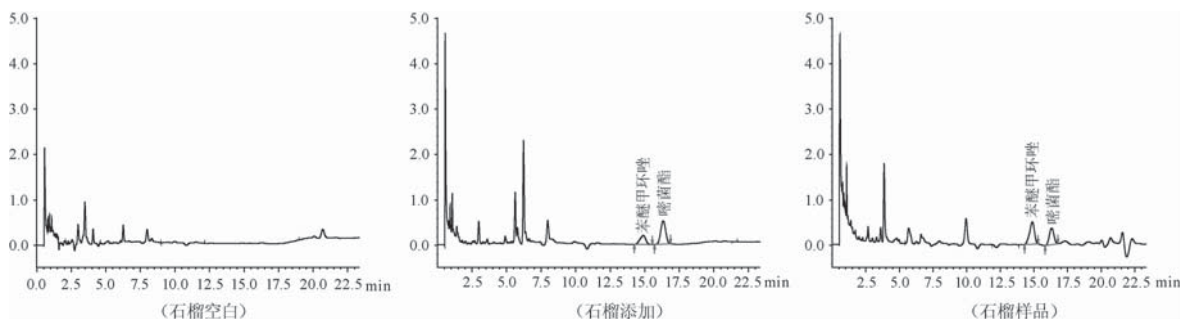


图4 石榴样品、空白及添加色谱图

2 结果与讨论

2.1 样品的前处理方法 试验对比了3种比例淋洗液(丙酮/正己烷=1/9; 2/8; 3/7)对加标空白样品的净化效果,试验结果表明:当比例为1/9时,啞菌酯的添加回收率偏低;当比例为3/7时,样品基质干扰较大;只有选择比例为2/8时,既保证了苯醚甲环唑和啞菌酯两种农药的添加回收率,也有效消除了样品基质干扰。且由于石榴和石榴籽样品中含有少量油性物质,在待

净化和待检测前加入的溶剂均为淋洗液,而非正己烷,以免造成油性物质包裹待测农药而造成样品添加回收率偏低。

2.2 标准曲线 将100.0mg/L的苯醚甲环唑和啞菌酯混合标准溶液用淋洗液逐级稀释,配成由0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、4.0mg/L浓度组成的混合标准工作液,在上述气相色谱条件下进行测定,以苯醚甲环唑、啞菌酯标准溶液浓度为横坐标,峰面积为纵坐标作标准曲线。

苯醚甲环唑标样的线性方程为： $Y=481\ 664X+40\ 600$ ，相关系数为： $R=0.998\ 3$ ；嘧菌酯标样的线性方程为： $Y=848\ 679X+96\ 341$ ，相关系数为： $R=0.998\ 56$ ；其中 Y 为峰面积， X 为标准溶液浓度。

2.3 添加回收率 在石榴、石榴籽和土壤空白样品中，添加混合标液浓度分别为0.02、0.1、0.5mg/kg（样品添加前采用1.3前处理方法处理，

经检查确证其不含所测农药），放置2 h后，提取、检测。嘧菌酯的添加回收率在84.9%~116.3%之间，相对标准偏差在1.5%~6.5%之间，样品添加回收率及相对标准偏差（表1）；苯醚甲环唑的添加回收率在84.5%~110.2%之间，相对标准偏差在1.5%~6.3%之间，样品添加回收率及相对标准偏差（表2）；均符合农药残留分析方法的要求。

表1 土壤、石榴和石榴籽中嘧菌酯的添加回收率

基质	添加浓度 (mg/kg)	回收率 (%)					平均值	RSD (%)
		1	2	3	4	5		
土壤	0.02	112.7	108.0	106.5	108.7	103.3	107.8	3.2
	0.1	116.3	107.6	106.0	104.3	113.0	109.4	4.6
	0.5	85.2	84.9	87.2	86.2	87.9	86.3	1.5
石榴	0.02	93.6	101.2	96.2	98.0	99.1	97.6	2.9
	0.1	115.2	107.2	107.7	100.7	97.5	105.6	6.5
	0.5	87.9	89.5	87.5	85.5	89.6	88.0	1.9
石榴籽	0.02	109.5	106.5	95.8	97.2	99.5	101.7	5.9
	0.1	116.3	106.3	113.1	110.7	101.2	109.5	5.4
	0.5	90.7	92.4	95.7	92.8	95.8	93.5	2.3

表2 土壤、石榴和石榴籽中苯醚甲环唑的添加回收率

基质	添加浓度 (mg/kg)	回收率 (%)					平均值	RSD (%)
		1	2	3	4	5		
土壤	0.02	91.8	90.9	94.0	95.5	97.2	93.9	2.8
	0.1	88.0	91.7	89.6	90.9	92.6	90.6	2.0
	0.5	84.6	92.0	89.3	94.8	93.1	90.8	4.4
石榴	0.02	89.6	88.1	94.1	84.5	99.4	91.1	6.3
	0.1	89.7	88.8	90.6	91.4	92.3	90.6	1.5
	0.5	96.1	95.1	93.8	92.7	97.2	95.0	1.9
石榴籽	0.02	98.3	100.5	104.2	95.8	110.2	101.8	5.5
	0.1	92.5	88.3	93.8	86.3	97.3	91.7	4.8
	0.5	85.1	91.7	88.9	95.8	99.0	92.1	6.0

2.4 最小检出量和最低检出浓度 仪器对苯醚甲环唑和嘧菌酯的最低检出量均为0.004ng, 根据添加回收率实验, 在上述色谱条件下苯醚甲环唑和嘧菌酯在石榴、石榴籽和土壤中的最低检出浓度均为0.02mg/kg。

3 结论

本文采用石榴、石榴籽和土壤样品, 用乙腈提取, 固相萃取法净化石榴、石榴籽及土壤, GC-ECD测定, 建立了石榴、石榴籽和土壤中苯醚甲环唑和嘧菌酯残留量的前处理方法和气相色谱检测条件, 并对方法的回收率、精密度进行探讨。嘧菌酯在石榴、石榴籽和土壤中3个添加浓度的回收率在84.9%~116.3%之间, 相对标准偏差在1.5%~6.5%之间; 苯醚甲环唑石榴、石榴籽和土壤中3个添加浓度的回收率在84.5%~110.2%之间, 相对标准偏差在1.5%~6.3%之间, 符合农药残留分析方法的要求, 具有可行性。

参考文献

- [1] 薄海波, 毕阳, 陈立仁. 气相色谱法测定甜瓜和苹果中嘧菌酯残留[J]. 分析化学研究简报, 2005, 33(5): 695-698.
- [2] 张雪燕, 吴文锐, 毛佳, 等. 气相色谱法测定三七中苯醚甲环唑残留量[J]. 湖南农业大学学报, 2010, 36(2): 229-232.
- [3] 孙龙彩, 陈瑶. 10%苯醚甲环唑水分散粒剂防治葡萄黑痘病田间药效试验[J]. 现代农业科技, 2008, 37(9): 72-78.
- [4] 候生英, 王爱玲, 张贵. 3%苯醚甲环唑悬浮种衣剂防治小麦全蚀病试验[J]. 植物保护, 2005, 31(5): 88-90.
- [5] 朱春晖, 罗香文, 张战泓, 等. 嘧菌酯与苯醚甲环唑混用防治西瓜炭疽病、枯萎病及对西瓜品质的改善[J]. 植物保护学报, 2006, 33(4): 407-411.
- [6] 邹志博, 吕岱竹, 罗金辉. 30%苯醚甲环唑·嘧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.

(上接第21页)

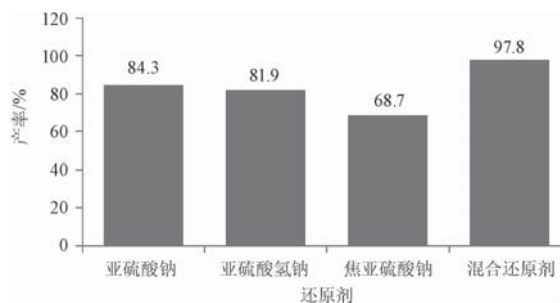


图1 还原剂对收率的影响

4 结论

本文研究了对氯苯胂盐酸盐的合成条件, 并对其工艺条件进行了优化。经过反复的试验及分析得出最优化的反应条件为 $n_{(\text{对氯苯胂})} : n_{(\text{亚硝酸钠})} : n_{(\text{盐酸})} : n_{(\text{亚硫酸氢钠})} : n_{(\text{氢氧化钠})} = 1 : 1.03 : 2.5 : 3 : 2$, 滴加温度 40°C 、还原温度 80°C 、水解温度 80°C , 还原反应2h、水解反应2h的情况下, 运用混合还原剂 ($n_{\text{亚硫酸钠}} : n_{\text{亚硫酸氢钠}} : n_{\text{焦亚硫酸钠}} = 1 : 1 : 2$), 反应收率最高。而且该工艺相对其他工艺反应条件温和、易于操控和检测且原材料易得, 适合工业化推广。

参考文献

- [1] 江程, 尤启东, 阮秀琴, 等. 对氯苯胂盐酸盐的简便合成[J]. 中国医药工业杂志, 2005, 5(3): 137-138.
- [2] 潘富友, 杨健国, 梁定华, 等. 对氯苯胂盐酸盐的合成工艺[J]. 应用化学, 2001, 12(3): 1001-1004.
- [3] 金戈, 郑威, 马珂, 等. 正交试验法优选盐酸对氯苯胂的合成工艺[J]. 华西药学杂志, 2002, 17(1): 358-359.
- [4] 李心琮, 雷军, 袁华, 喻宗沅. 对氯苯胂、对甲基苯胂盐酸盐的合成和HPLC检测[J]. 化学与生物工程, 2003, 20(5): 64-65.
- [5] Wood K.A., et al. Novel P - methoxyacrylates of the 9-methoxystrobilurin and oudemansin classes produced by the basidiomycete *Favolaschia pustulosa* [J]. Journal of Natural Products, 1996, 59(7): 646-649.
- [6] Beautement K., et al. Fungicidal 3-methoxyacrylates: From natural products to novel synthetic agricultural fungicides[J]. Pesticide Science, 1991, 31(4): 499-519.
- [7] Bartlett D.W., et al. The strobilurin fungicides[J]. Pest Management Science, 2002, 58(7): 649-662.
- [8] Mali R.J., et al. Water-mediated one-pot synthetic route for pyrazolo [3,4-b] quinolines[J]. Tetrahedron Letters, 2010, 51(1): 3980-3982.