

# 香蕉和土壤中戊唑醇的残留分析<sup>①</sup>

赵方方, 林靖凌, 葛会林

中国热带农业科学院分析测试中心/海南省热带果蔬产品质量安全重点实验室, 海口 571101

**摘要:** 建立了戊唑醇在香蕉全蕉、蕉肉及土壤中的残留分析方法, 测定了戊唑醇在香蕉及土壤中的残留动态及最终残留。试样经乙腈提取, Carbon/NH<sub>2</sub> 固相萃取柱净化后, HPLC 测定, 并于云南、海南两地进行了田间试验。在 0.025~0.2 mg/kg 添加范围内, 戊唑醇在香蕉果、肉、土中的平均回收率为 80%~107%, 变异系数为 0.7%~3.3%; 方法最小检出量为  $2 \times 10^{-10}$  g, 最低检出浓度为 0.025 mg/kg。戊唑醇在云南和海南两地香蕉中的半衰期分别为 16.3 d, 16.9 d, 在土壤中的半衰期分别为 16.3 d, 19.1 d。施药后 60, 75 d 收获的香蕉中戊唑醇残留量均低于 0.05 mg/kg。

**关键词:** 戊唑醇; 香蕉; 土壤; 液相色谱; 消解; 残留

**中图分类号:** S481<sup>+</sup>.8

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1673-9868(2014)10-0019-05

戊唑醇(Tebuconazole)是一种三唑类杀菌剂, 它能有效防治多种作物的各类锈病及白粉病等病害<sup>[1-3]</sup>, 在我国现已广泛应用于香蕉、小麦、蔬菜、苹果等农作物上的病害防治。随戊唑醇的应用带来的在作物及土壤中的残留及安全性已受到广泛关注<sup>[4-6]</sup>。

目前, 关于农药残留检测方法主要采用高效液相色谱法(HPLC)<sup>[7-9]</sup>、气相色谱法(GC)<sup>[10-11]</sup>、气相色谱-质谱联用法(GC-MS)<sup>[12-13]</sup>和高效液相色谱-质谱法(LC-MS)<sup>[14-15]</sup>。其中, GC-MS 或 LC-MS 法因其价格昂贵, 设备投资大等特点使其应用受到一定限制。本研究建立了 HPLC 测定戊唑醇在香蕉全蕉、蕉肉及土壤中的残留分析方法, 样品经乙腈提取, Carbon/NH<sub>2</sub> 固相萃取柱净化, HPLC 测定, 并于云南和海南两地进行了田间试验, 旨在为评价戊唑醇在香蕉上的安全使用提供依据, 以确保该药的科学合理使用, 同时也对戊唑醇在香蕉上的农药登记提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

Waters 液相色谱仪(2695 紫外检测器); T18 高速分散均质机(德国 IKA 集团); R-210 旋转蒸发仪(瑞士 Buchi 公司); Agilent Bond Elut Carbon/NH<sub>2</sub> 固相萃取柱(500 mg/6 mL); 微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器有限公司); 戊唑醇标准品(国家农药质量监督检验中心, 纯度 96.6%); 甲醇(分析纯、色谱纯); 乙腈、二氯甲烷(分析纯); 氯化钠(140 °C 烘烤 4 h)。试验药剂: 戊唑醇水分散粒剂。

田间试验香蕉品种: 海南为泰国香蕉, 试验地点为海口市; 云南为巴西香蕉, 试验地点为玉溪市。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 田间试验设计

##### 1.2.1.1 消解动态试验

本试验采用一次施药多次取样方式进行。在香蕉生长状态 BBCH 编号为 70 时以 337.5 g a.i./hm<sup>2</sup> (1.5 倍推荐剂量)对香蕉及土壤各均匀喷雾 1 次, 对照区施以清水, 香蕉每小区 3 株(土壤每小区 20 m<sup>2</sup>), 3 次重复, 药后 2 h, 1 d, 3 d, 7 d, 14 d, 21 d, 28 d, 35 d, 42 d, 60 d 取样品待测。

① 收稿日期: 2014-02-02

基金项目: 海南省自然科学基金项目(311060)基金资助。

作者简介: 赵方方(1987-), 女, 山东济宁人, 实习研究员, 硕士, 主要从事农药残留方向的研究。

### 1.2.1.2 最终残留试验

在香蕉生长状态 BBCH 编号分别为 65,69,71,72 时以 225 g a.i./hm<sup>2</sup>(推荐剂量)、337.5 g a.i./hm<sup>2</sup>(1.5 倍推荐剂量)施药 3,4 次,施药间隔 10 d. 对照区施以清水,每小区 3 株香蕉,3 次重复,末次施药后间隔 45,60,75 d 分别采集全蕉、蕉肉和土壤样品待测.

### 1.2.1.3 样品的制备

(1) 随机采集香蕉树上(不同方向及上、中、下、里、外等不同部位)12 条以上已着药的香蕉个体,对香蕉计数和称量后,将全蕉匀浆混匀(蕉肉:用刀具和刮刀取出蕉肉匀浆),四分法缩分后取 250 g 样品,−20 ℃ 冰箱冷冻保存.

(2) 土壤样品采用棋盘式选择 6~12 个点,每点以往复旋转的方式将土钻压入 15 cm 深度采集土壤,每个重复采集样本 1~2 kg,将土壤样品碾碎后过筛,充分混匀后,四分法分取 200 g 样品,−20 ℃ 冰箱冷冻保存.

## 1.2.2 样品分析

### 1.2.2.1 提 取

香蕉样品:分别称取全蕉和蕉肉样品 20.0 g 置于烧杯中,加 40.0 mL 乙腈,2 000 r/min 匀浆 2 min,过滤,滤液收集到预装有 5~7 g 氯化钠的 100 mL 具塞量筒内,剧烈震荡 2 min,室温下静置 30 min;分层后移取上清液 10 mL 至 100 mL 圆底烧瓶中蒸发至干,加入 5.0 mL 二氯甲烷-甲醇(95:5 V/V)溶解混匀,待净化.

土壤样品:称取 20.0 g 样品,置于 200 mL 具塞塑料瓶中,加 40.0 mL 乙腈,在往复式振荡器上振荡提取 30 min,过滤,收集滤液于具塞量筒内,其余步骤同上.

### 1.2.2.2 净 化

5.0 mL 二氯甲烷-甲醇(95:5 V/V)预淋洗 Carbon/NH<sub>2</sub> 固相萃取小柱,当液面到达柱吸附层表面时,立即倒入待净化溶液,用 100 mL 圆底烧瓶收集;用 5.0 mL 二氯甲烷-甲醇(95:5 V/V)冲洗圆底烧瓶残留物后淋洗 Carbon/NH<sub>2</sub> 小柱,重复 3 次.收集液旋转蒸发至干,2.5 mL 色谱甲醇定容,经滤膜(0.22 μm)过滤后待测.

### 1.2.2.3 检测条件

液相色谱分析柱:Sunfire™ C18 (4.6 mm×150 mm, 5 μm);分析条件:波长 220 nm;柱温 40 ℃;流动相:乙腈-水(50:50 V/V);流速:1 mL/min;进样量 10 μL;保留时间 10.13 min.

## 2 结果与分析

### 2.1 标准曲线及线性范围

在上述检测条件下,戊唑醇标准样品(1 μg/mL)的液相色谱图见图 1. 图 1 表明,戊唑醇保留时间为 10.13 min. 用甲醇配制成 100 μg/mL 戊唑醇标准贮备液,逐级稀释成 0.025,0.05,0.1,0.5,1 μg/mL 标准溶液,采用外标法定量,以峰面积对浓度绘制标准曲线. 结果表明戊唑醇在 0.025~1 μg/mL 的范围内线性良好,回归方程为:  $y=21\,514x-99.497$ , 相关系数为 0.999 9(图 2).

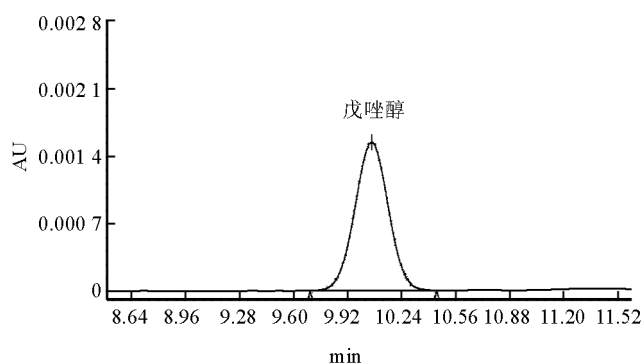


图 1 戊唑醇标准溶液色谱图

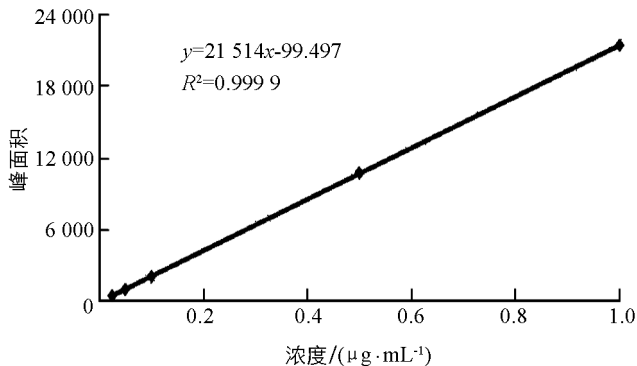


图 2 戊唑醇标准曲线

2.2 方法准确度、精密度及灵敏度

2.2.1 准确度及精密度

在香蕉全蕉、蕉肉和土壤空白样品中添加一定体积的戊唑醇标准溶液, 按上述方法测定回收率, 同时做空白对照. 添加浓度及测定结果见表 1. 从表 1 可知, 3 个添加水平在香蕉全蕉中平均回收率为 98%~104%, 相对标准偏差为 1.1%~2.7%, 在蕉肉中平均回收率为 80%~92%, 相对标准偏差为 0.7%~3.3%, 在土壤中平均回收率为 104%~107%, 相对标准偏差为 1.6%~2.4%. 回收率以及相对标准偏差均在农药残留试验准则允许范围内<sup>[16]</sup>, 方法的重复性好, 可满足残留分析的要求.

表 1 香蕉全蕉、蕉肉和土壤样品中添加戊唑醇的回收率及相对标准偏差 (n=5)

| 样品名称 | 添加浓度<br>(mg·kg <sup>-1</sup> ) | 回 收 率/% |       |       |       |       |       | 相对标准偏差<br>/% |
|------|--------------------------------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------|
|      |                                | I       | II    | III   | IV    | V     | 平均    |              |
| 全蕉   | 0.025                          | 105.9   | 105.9 | 100.0 | 103.9 | 101.9 | 103.5 | 2.5          |
|      | 0.05                           | 97.0    | 103.0 | 104.0 | 101.8 | 100.0 | 101.2 | 2.7          |
|      | 0.2                            | 98.7    | 98.7  | 98.9  | 96.2  | 98.0  | 98.1  | 1.1          |
| 蕉肉   | 0.025                          | 94.0    | 85.9  | 91.9  | 92.0  | 90.0  | 90.8  | 3.3          |
|      | 0.05                           | 80.9    | 80.9  | 81.0  | 77.8  | 80.9  | 80.3  | 1.7          |
|      | 0.2                            | 90.5    | 92.3  | 91.5  | 91.9  | 91.7  | 91.5  | 0.7          |
| 土壤   | 0.025                          | 107.1   | 104.9 | 107.1 | 102.5 | 107.1 | 105.7 | 1.8          |
|      | 0.05                           | 104.5   | 106.7 | 110.1 | 109.1 | 104.4 | 107.0 | 2.4          |
|      | 0.2                            | 101.0   | 104.8 | 105.4 | 103.7 | 104.2 | 103.8 | 1.6          |

2.2.2 方法灵敏度

方法的灵敏度采用最小检出量和最低检出浓度来表示. 最小检出量: 2×10<sup>-10</sup> g, 香蕉全蕉、蕉肉及土壤中最低检出浓度均为: 0.025 mg/kg, 方法灵敏度符合戊唑醇农药残留量分析要求.

2.3 戊唑醇在香蕉和土壤中的消解动态

按照 1.2.1.1 与 1.2.1.2 方法进行施药, 同步采集香蕉和土壤样品, 进行残留量测定, 云南和海南两地的戊唑醇降解曲线见图 3. 从图中可以看出, 消解规律符合一级动力学模型, 在香蕉中的消解动态方程分别为: 云南:  $C=1.195e^{-0.0426t}$ , ( $R^2=0.9756$ ),  $T_{1/2}=16.3$  d; 海南:  $C=0.5212e^{-0.0409t}$ , ( $R^2=0.8967$ ),  $T_{1/2}=16.9$  d; 在土壤中的回归方程分别为: 云南:  $C=3.9429e^{-0.0426t}$ , ( $R^2=0.9401$ ),  $T_{1/2}=16.3$  d; 海南:  $C=9.431e^{-0.0363t}$ , ( $R^2=0.9587$ ),  $T_{1/2}=19.1$  d. 施药后 60 d, 戊唑醇在云南、海南两地香蕉上的降解率分别为 90.5%和 94.2%, 其半衰期为 16.4 d 和 16.8 d. 在土壤中施药后 60 d 的降解率分别为 92.1%和 90.2%, 其半衰期为 16.3 d 和 19.1 d.

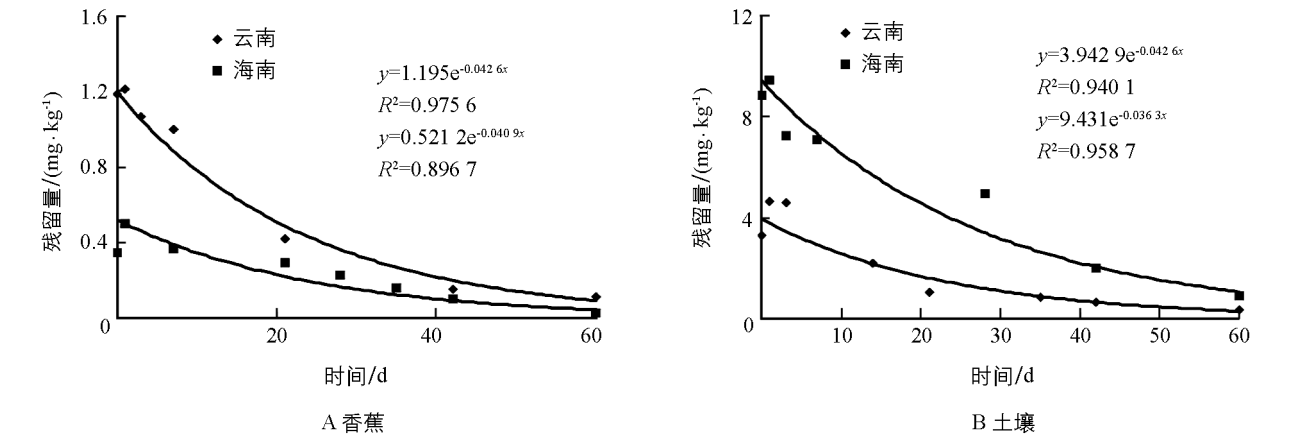


图 3 戊唑醇在香蕉及土壤中的消解曲线

2.4 戊唑醇在香蕉和土壤中的最终残留

按照本试验设计, 分别对处理区内的香蕉和土壤进行 3 次和 4 次喷药, 间隔 10 d, 在最后一次喷药后 45, 60, 75 d 采样检测残留量, 所测结果见表 2 和表 3. 从表 2, 3 可知, 戊唑醇在云南香蕉及蕉肉中的残留量分别为: 在最后 1 次施药后 45 d 时为 0~0.028 mg/kg 之间; 60 d 时为 0~0.041 mg/kg; 75 d 时为 0~0.034 mg/kg. 戊唑醇在海南香蕉及蕉肉中的残留量分别为: 在最后 1 次施药后 45 d 时为 0~

0.100 mg/kg 之间; 60 d 时为 0~0.043 mg/kg; 75 d 时为 0~0.046 mg/kg.

在距最后 1 次施药后的第 60,75 d 或以后收获香蕉, 此时香蕉及蕉肉中戊唑醇的残留量均未超过 0.05 mg/kg(GB 2763-2005 中规定戊唑醇在香蕉中的最大允许残留限量为 0.050 mg/kg). 即收获香蕉时距末次喷药 60,75 d 均为安全.

表 2 戊唑醇在香蕉、蕉肉和土壤中的最终残留量(云南)

| 样品名称 | 喷药量<br>/(g a.i./hm <sup>2</sup> ) | 喷药间隔<br>/d | 喷药次数 | 残留浓度/(mg·kg <sup>-1</sup> ) |       |       |
|------|-----------------------------------|------------|------|-----------------------------|-------|-------|
|      |                                   |            |      | 45                          | 60    | 75    |
| 果    | 225                               | 10         | 3    | ND                          | ND    | 0.034 |
|      | 225                               | 10         | 4    | ND                          | 0.03  | ND    |
|      | 337.5                             | 10         | 3    | ND                          | 0.041 | 0.026 |
|      | 337.5                             | 10         | 4    | 0.028                       | 0.039 | 0.031 |
| 肉    | 225                               | 10         | 3    | ND                          | ND    | ND    |
|      | 225                               | 10         | 4    | ND                          | ND    | ND    |
|      | 337.5                             | 10         | 3    | ND                          | ND    | ND    |
|      | 337.5                             | 10         | 4    | ND                          | ND    | ND    |
| 土    | 225                               | 10         | 3    | 0.204                       | 0.198 | 0.220 |
|      | 225                               | 10         | 4    | 0.356                       | 0.311 | 0.298 |
|      | 337.5                             | 10         | 3    | 0.627                       | 0.997 | 1.011 |
|      | 337.5                             | 10         | 4    | 0.712                       | 0.346 | 0.466 |

注: ND 为低于最低检测浓度.

表 3 戊唑醇在香蕉、蕉肉和土壤中的最终残留量(海南)

| 样品名称 | 喷药量<br>/(g a.i./hm <sup>2</sup> ) | 喷药间隔<br>/d | 喷药次数 | 残留浓度/(mg·kg <sup>-1</sup> ) |       |       |
|------|-----------------------------------|------------|------|-----------------------------|-------|-------|
|      |                                   |            |      | 45                          | 60    | 75    |
| 果    | 225                               | 10         | 3    | 0.04                        | 0.028 | 0.046 |
|      | 225                               | 10         | 4    | ND                          | 0.037 | ND    |
|      | 337.5                             | 10         | 3    | 0.100                       | 0.043 | 0.028 |
|      | 337.5                             | 10         | 4    | 0.080                       | 0.039 | 0.038 |
| 肉    | 225                               | 10         | 3    | ND                          | ND    | ND    |
|      | 225                               | 10         | 4    | ND                          | ND    | ND    |
|      | 337.5                             | 10         | 3    | ND                          | ND    | ND    |
|      | 337.5                             | 10         | 4    | ND                          | ND    | ND    |
| 土    | 225                               | 10         | 3    | 0.267                       | 0.601 | 0.308 |
|      | 225                               | 10         | 4    | 0.369                       | 0.654 | 0.413 |
|      | 337.5                             | 10         | 3    | 0.991                       | 1.795 | 0.221 |
|      | 337.5                             | 10         | 4    | 1.049                       | 1.344 | 0.471 |

注: ND 为低于最低检测浓度.

3 结 论

建立了戊唑醇在香蕉果全蕉、蕉肉及土壤中的残留分析方法, 方法的灵敏度、精密度和回收率等方面均符合农药残留分析的要求. 戊唑醇在云南和海南两地香蕉中的半衰期分别为 16.3 d 和 16.9 d, 在土壤中的半衰期分别为 16.3 d 和 19.1 d. 在云南和海南两地的最终残留结果表明, 按推荐剂量和 1.5 倍推荐剂量, 对香蕉进行 3 次和 4 次喷药, 末次施药后 60 d 和 75 d 采样, 在香蕉及蕉肉中戊唑醇的残留量均小于 0.05 mg/kg. (GB 2763-2005 中规定戊唑醇在香蕉中的最大允许残留限量(MRL)为 0.050 mg/kg). 该方法准确度高, 灵敏度高, 线性良好; 残留动态试验为戊唑醇在香蕉上的合理安全使用提供了科学依据.

参考文献:

[1] 曲健禄, 李晓军, 张 勇, 等. 戊唑醇对苹果斑点落叶病菌及轮纹病菌的毒力和药效评价 [J]. 农药学学报, 2007, 9(2): 149—152.

[2] 张昌朋, 赵 华, 蔡晓明, 等. 戊唑醇在水稻中的残留分析方法及消解动态 [J]. 农药, 2012, 51(9): 675—677.

[3] 孙 慧, 侯志广, 钱永盛, 等. 大豆中戊唑醇的气相色谱分析方法研究 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(15): 9029—9030.

[4] 王继军, 黄土忠, 陈志永, 等. 戊唑醇 25% 可湿性粉剂在花生和土壤中的残留动态研究 [J]. 中国农学通报, 2009, 25(17): 255—259.

[5] 罗雪婷, 吴 迪, 潘洪吉, 等. 气相色谱法测定梨和土壤中戊唑醇的残留消解动态 [J]. 农药, 2012, 51(5): 366—368.

[6] 韩丙军, 林靖凌, 张 月, 等. 气相色谱法测定香蕉和土壤中的脞菌酯及其代谢物与戊唑醇残留 [J]. 农药, 2012, 51(11): 816—817.

[7] 余 晟, 黄克靖, 余 萌, 等. 固相萃取-高效液相色谱法同时检测水样中戊唑醇、乙霉威、晴菌唑、精甲霜灵和扑草净 5 种农药残留 [J]. 分析化学, 2012, 40(7): 1065—1070.

[8] 李金萍. 15. 5% 丙环·戊唑醇水乳剂的高效液相色谱法测定 [J]. 现代农药, 2012, 11(5): 26—27.

[9] 钱 坤, 杨 倩, 郭艳珍, 等. 5% 丙环唑·阿维菌素微乳剂高效液相分析方法研究 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2013, 35(1): 119—122.

[10] 吴进龙, 季 颖, 傅桂平, 等. 75% 脞菌酯·戊唑醇 WG 气相色谱分析 [J]. 农药, 2009, 48(7): 498—499.

[11] 贺红周, 赵 毅, 李 伟, 等. 农药助剂中苯及五种苯系物的气相色谱分析 [J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2012, 37(7): 130—134.

[12] KASTANIAS M A, CHRYSAYI-TOKOUSBALIDES M, COWARD S, et al. Residue Evaluation of the Azole Fungicides Prochloraz and Tebuconazole in the White Mushroom Agaricus Bisporus [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2006, 77(1): 149—154.

[13] 游明华, 孙广大, 陈 猛, 等. 环境水样中 9 种三唑类农药的固相萃取-气相色谱-质谱分析 [J]. 色谱, 2008, 26(6): 704—708.

[14] 章 勇, 张蓓蓓, 赵永刚. 超高效液相色谱/串联质谱法测定水中戊唑醇 [J]. 广州化工, 2012, 40(17): 90—92.

[15] 肖 颖, 彭敬东, 张 晶, 等. 分散固相萃取分散液微萃取高效液相色谱/质谱法测定荔枝或香蕉中的三唑类农药残留 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2013, 35(5): 102—106.

[16] 中华人民共和国农业部. NY/T 788-2004 农药残留试验准则 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2004: 5.

Analysis of Tebuconazole Residue in Banana and Soil

ZHAO Fang-fang, LIN Jing-ling, GE Hui-lin

Analysis & Testing Center, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences/Hainan Provincial Key Laboratory of Quality and Safety for Tropical Fruits and Vegetables, Haikou 571101, China

**Abstract:** A method for the determination of tebuconazole residues in banana fruit and flesh and in soil was established, with which the residue dynamics of tebuconazole and its final residue in banana and soil were determined. The samples were extracted with acetonitrile and purified with a Carbon/NH<sub>2</sub> SPE column, and then tebuconazole in them was determined by HPLC (high performance liquid chromatography). Two field experiments were conducted in Yunnan and Hainan. The average recoveries of tebuconazole in banana fruit and flesh and soil were found in the range of 80%~107% at the three spray levels from 0.025 to 0.2 mg/kg, the relative standard deviation being 0.7%~3.3%, the lowest detection limit of instrument for tebuconazole being  $2\times10^{-10}$  g and the limit of quantitation being 0.025 mg/kg. The field experiment results demonstrated that the half-life of tebuconazole in banana was 16.3 d in Yunnan and 16.9 d in Hainan, and its half-life in soil was 16.3 d in Yunnan and 19.1 d in Hainan. The residue of tebuconazole was <0.05 mg/kg in banana harvested 60 and 75 d after pesticide spray. The method showed high accuracy, high sensitivity and good linearity in this study, and is recommended for the work of evaluating the safety and rationality of tebuconazole application in banana production.

**Key words:** tebuconazole; banana; soil; HPLC; degradation; residue

