

• 研究论文 •

20% 高渗乙蒜素乳油在水稻植株、稻米、稻壳、稻田水及土壤中的残留检测及消解动态

王海萍, 杨仁斌*, 余佳荣, 郑立国, 刘平

(湖南农业大学 农业环境保护研究所, 长沙 410128)

摘要: 研究了 20% 高渗乙蒜素乳油在水稻植株、稻米、稻壳、稻田水和土壤中的残留分析方法及消解动态。样品采用二氯甲烷提取, 液液分配净化, 气相色谱 (GC-ECD) 测定。结果表明: 乙蒜素在稻田水样中的平均添加回收率为 85.3%~89.1%, 相对标准偏差 (RSD) 为 4.3%~6.3%; 在植株中的平均添加回收率为 87.0%~90.3%, 相对标准偏差为 2.6%~4.9%; 在土壤中的平均添加回收率为 90.3%~95.4%, 相对标准偏差为 3.0%~7.4%。乙蒜素的最小检出量为 2.0×10^{-11} g 水样、土样、植株 (以及稻米和稻壳) 中乙蒜素的最低检测浓度分别为 0.002, 0.01, 0.02 mg/kg。湖南、天津、浙江、湖北 4 地的残留消解动态试验结果表明: 20% 高渗乙蒜素乳油在稻田水样和水稻植株中的半衰期分别是 0.3~1.1 d 和 1.4~2.1 d。至水稻收获时, 在稻田土壤、稻米和稻壳中均未检出乙蒜素残留, 建议我国对乙蒜素在水稻中的最大允许残留限量 (MRL) 值可暂定为 0.05 mg/kg。

关键词: 乙蒜素; 水稻; 残留; 气相色谱

中图分类号: O657.71 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2008)04-0455-05

The Residue and Field Residue Decline Study of 20% Hypertonic Ethylicin EC in Plant Rice, Rice Hull, Paddy Water and Soil

WANG Hai-ping, YANG Ren-bin*, SHE Jia-rong, ZHENG Li-guo, LU Ping
(Institute of Agro-Environment Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract Analytical method and field residue decline study of 20% hypertonic ethylicin EC in plant rice, rice hull, paddy water and soil was reported. Samples were extracted with dichloromethane and the extracts were purified on liquid-liquid partition, followed by gas chromatography (GC-ECD) determination. The recovery was from 85.3%~89.1% for the paddy water, 87.0%~90.3% for the plant, 90.3%~95.4% for the soil with relative standard deviation (RSD) of 4.3%~6.3%, 2.6%~4.9% and 3.0%~7.4% respectively. The limit of detection (LOD) was 2.0×10^{-11} g. The limit of quantification (LOQ) was 0.002 mg/kg for paddy water, 0.01 mg/kg for soil and 0.02 mg/kg for plant (rice and rice hull). The results of field residue decline study of 20% hypertonic ethylicin EC in rice in Hunan, Tianjin, Zhejiang, Hubei showed that the half-life of hypertonic ethylicin was 0.3~1.1 days in paddy water and 1.4~2.1 days in plant respectively. Non-detectable residue was found in soil, rice and rice hull at harvest time. 0.05 mg/kg was setting for recommended maximum residue limit (MRL) for ethylicin in rice.

收稿日期: 2008-05-27 修回日期: 2008-09-17
作者简介: 王海萍 (1983-), 女, 湖南永州人, 在读硕士研究生, E-mail: whp1000@yahoo.cn * 通讯作者 (Author for correspondence): 杨仁斌 (1948-), 男, 湖南株洲人, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为环境污染物及检测技术、农业环境污染治理、农药残留检测技术。联系电话: 0731-4617809; E-mail: yrb4806@yahoo.com.cn
基金项目: 农业部农药残留项目 (NC0700031).

Key words ethylcin, rice, residue, gas chromatography

乙蒜素是我国自主研发的有机硫类杀菌剂,

作用机理是其分子结构中的 $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{S}-\text{S}- \end{array}$ 基团与菌体中含 $-\text{SH}$ 基的物质反应, 从而抑制菌体正常代谢^[1, 2]。可用于水稻、棉花、油菜、甘薯、黄瓜等作物上, 防治枯萎病、霜霉病、角斑病等病害^[2~4]。相关报道显示, 乙蒜素复配的杀菌剂已得到很好应用, 如乙蒜素三唑酮混剂可抵御病菌的入侵和扩展, 对植物具有保护和治疗作用^[5~9]。

目前, 以正十四烷为内标, 用带 FID 检测器的气相色谱法对乙蒜素进行分离和定量, 可较好地分析测定乙蒜素原药样品中的有效成分^[10~11]。但有关乙蒜素施用后在水稻植株、稻米、稻壳、稻田水和土壤中的残留消解动态及分析方法的研究, 国内外尚未见报道。为了评价其在水稻上使用后的环境安全性, 笔者以外标法定量, 样品经二氯甲烷提取、液液分配净化, 采用带 ECD 检测器的气相色谱法对水稻植株、稻米、稻壳、稻田水和土壤中残留的乙蒜素进行了检测分析, 并采用该方法, 在湖南长沙、天津、浙江杭州、湖北荆门 4 地进行了田间残留消解动态研究。

1 材料与方 法

1.1 仪器与药剂

HP6890 型气相色谱仪 (带 ECD 检测器及化学工作站), RE-52 型旋转蒸发器 (上海青浦沪西仪器厂), HY-Z 型调速多用振荡器。

纯度为 99.8% 的乙蒜素 (ethylcin) 标准品 (农业部农药检定所), 20% 高渗乙蒜素乳油 (EC, 大连木春农药厂), 其他试剂均为分析纯。

1.2 田间试验

1.2.1 消解动态试验 20% 高渗乙蒜素乳油推荐使用剂量为 $1.425 \text{ g}/\text{hm}^2$ (有效成分 $285 \text{ g}/\text{hm}^2$) 对水 750 L 后喷雾施药。消解动态试验按 2 倍使用剂量 (高剂量), 即 $2.850 \text{ g}/\text{hm}^2$ (有效成分为 $570 \text{ g}/\text{hm}^2$) 对水 750 L, 在水稻移栽后 7~10 d 喷雾施药。试验小区设 3 个重复, 于施药后 1 h 及 1、3、5、7、10、14、21、28、35 d 分别随机多点采样。植株和土壤样品剪碎或混匀后用四分法留样 1 kg, 稻田水样用定性快速滤纸过滤后留样 2 L 左右。分别测定样品中乙蒜素的残留量。

1.2.2 最终残留试验 选择未施用过乙蒜素的稻田, 根据水稻品种和预测的成熟期确定施药时

间, 田间设置 2 个施药剂量 (推荐使用剂量和高剂量), 2 种施药次数 (3 次和 4 次, 施药间隔期为 7 d), 3 种采样间隔期 (最后一次施药距水稻收获期分别为 10、20、30 d) 及对照共 13 个处理。除对照外各试验小区设 3 个重复。于水稻成熟后采集植株样品, 晒干并分开稻秆 (取稻秆样品 0.5 kg 左右) 与稻谷 (取 1.0 kg 左右)。稻秆切碎混匀留样; 稻谷脱壳后分别收集稻米和谷壳, 磨碎过 0.45 mm 孔径分样筛后分别留样 0.5 和 0.2 kg, 取土壤样品混匀后用四分法留样 1 kg。

1.3 分析方法

1.3.1 样品提取

水样: 准确量取 100 mL 水样放入已盛有 30 mL pH=3 的缓冲溶液 (0.2 mol/L 的磷酸氢二钠 20.55 mL + 0.1 mol/L 的柠檬酸 79.45 mL, 稀释至 100 mL) 的 500 mL 分液漏斗中, 加入 30 mL 二氯甲烷振荡萃取 2 min, 静置, 收集有机相。水相再分别用 20 mL $\times$ 2 二氯甲烷萃取, 合并二氯甲烷萃取液, 在旋转蒸发器上浓缩至近干, 用乙酸乙酯定容至 10 mL, 待测。

植株及稻米、稻壳、稻秆样品: 准确称取 10 g 样品于 250 mL 的具塞三角瓶中, 各加入 60、40、40、150 mL 二氯甲烷, 于 25℃ 下恒温振荡提取 1 h, 抽滤, 用 30 mL 二氯甲烷分 3 次淋洗滤渣, 合并抽滤液, 在旋转蒸发器上浓缩至近干, 用乙酸乙酯定容至 10 mL, 待测。

土壤样品: 称取 20 g 土壤样品于研钵中, 加入适量无水硫酸钠混匀研细后置于 250 mL 的具塞三角瓶中, 加入 40 mL 二氯甲烷于 30℃ 下恒温振荡提取 1 h, 抽滤, 用 30 mL 二氯甲烷分 3 次淋洗滤渣, 合并抽滤液, 在旋转蒸发器上浓缩至近干, 用乙酸乙酯定容至 10 mL, 待测。

1.3.2 标准溶液的配制 称取 0.05 g 乙蒜素标准品, 用乙酸乙酯定容至 10 mL, 配制成 50 mg/L 的母液, 再用梯度稀释法配成 10、5、2、1、0.5、0.2、0.1、0.05、0.02 mg/L 的系列标准溶液。

1.3.3 气相色谱测定条件 DB-FFAP 型色谱柱 (5% Phenyl Methyl Siloxane, 30.0 m $\times$ 360 μm $\times$ 0.25 μm); 进样口温度 230℃, 检测器温度 285℃, 炉温 200℃。流动相为 N_2 , 流速 0.7 mL/min, 补偿 N_2 流速 70.0 mL/min, 进样量 1 μL 。

在上述色谱条件下, 溶剂乙酸乙酯和乙蒜素的相对保留时间分别为 2.85 和 3.35 min (见图 1)。

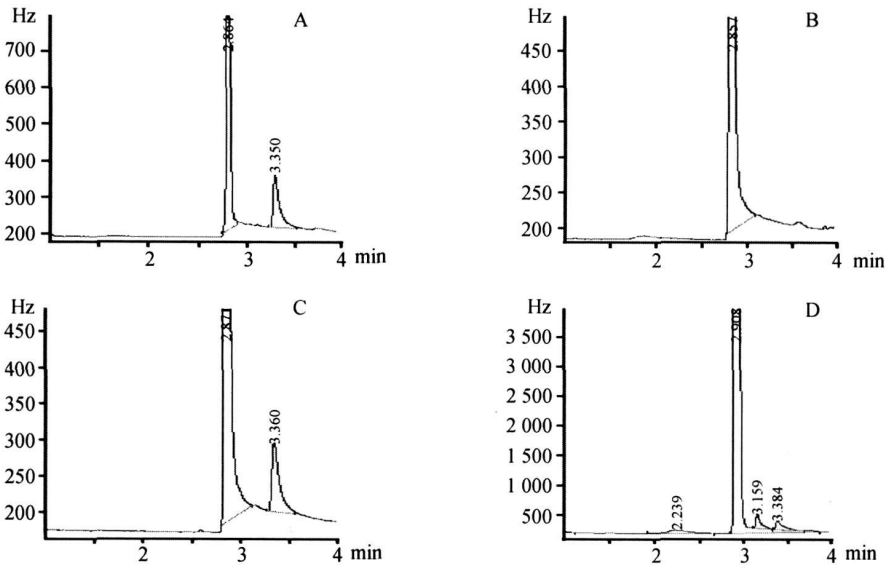


图 1 乙蒜素气相色谱图

Fig 1 Chromatograms of ethylin

(A)标样溶液 Standard solution (B)空白 Blank
(C)0.05 mg/kg添加水样 Fortified level of 0.05 mg/kg in water (D)植株样品 Plant sample

2 结果与分析

2.1 结果与计算

外标法定量,乙蒜素峰面积(y)与浓度(x)在0.02~1 ng范围内呈良好线性相关,线性回归方程为 $y = 1\,619.7x + 6\,386.5$ 相关系数 $R^2 = 0.9957$

2.2 方法的灵敏度、准确性与精密度

在上述色谱条件下,乙蒜素的最小检出量为 2×10^{-11} g 水样、土样、植株(以及稻米和稻壳)中乙蒜素的最低检测浓度分别为0.002、0.01、0.02 mg/kg。用未施用过乙蒜素的空白对照水稻试验地的水样、植株和土壤样品进行乙蒜素3个添加水平(分别为0.02、0.05、0.5 mg/kg)的添加回收率实验。由结果可知,乙蒜素在稻田水样中

的平均添加回收率为85.3%~89.1%,相对标准偏差为4.3%~6.3%;在植株中的平均添加回收率为87.0%~90.3%,相对标准偏差为2.6%~4.9%;在土壤中的平均添加回收率为90.3%~95.4%,相对标准偏差为3.0%~7.4%。方法的准确性、灵敏度及精密度均符合残留分析的要求。

2.3 乙蒜素的田间残留消解动态

试验结果表明,在供试4地的稻田土壤中均未检出乙蒜素残留;施药10 d后,在水稻植株中均未检出乙蒜素;施药5 d后,在稻田水样中均未检出乙蒜素。表明乙蒜素在稻田水样和水稻植株中消解都较快。其消解动态方程和半衰期见表1,消解曲线见图2(A、B)。

表 1 乙蒜素在稻田水和水稻植株中的消解动态方程和半衰期

地点 Places	样品 Sample	消解动态方程 Depletion dynamic equation	相关系数 Correlation coefficient R^2	半衰期 /d Half-life
长沙 Changsha	稻田水 Paddy water	$c_t = 0.0233e^{-0.7793t}$	0.8944	0.82
	植株 Plant	$c_t = 0.5468e^{-0.3100t}$	0.9878	2.06
天津 Tianjin	稻田水 Paddy water	$c_t = 0.0522e^{-0.9222t}$	0.9483	0.69
	植株 Plant	$c_t = 0.3818e^{-0.3909t}$	0.9630	1.64
荆门 Jingmen	稻田水 Paddy water	$c_t = 0.0253e^{-2.0154t}$	0.9951	0.32
	植株 Plant	$c_t = 0.3770e^{-0.4571t}$	0.9845	1.40
杭州 Hangzhou	稻田水 Paddy water	$c_t = 0.0302e^{-0.5665t}$	0.9604	1.13
	植株 Plant	$c_t = 0.6826e^{-0.3071t}$	0.9650	2.08

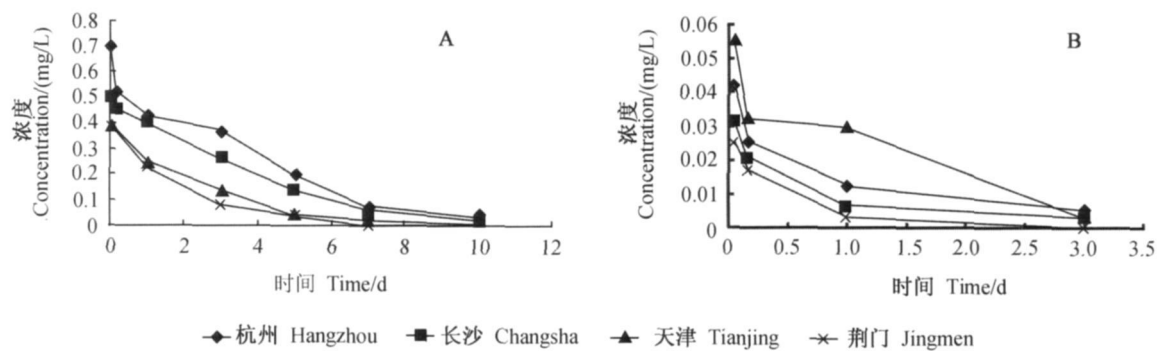


图 2 乙蒜素在水稻植株 (A)和稻田水 (B)中的降解曲线
Fig. 2 Field residue decline curve of ethylin in plant (A) and paddy water (B) of Changsha, Tianjin, Hangzhou and Jingmen

2.4 最终残留量 出乙蒜素残留; 稻田土壤、稻秆中乙蒜素的残留量
至水稻成熟时, 在 4 地的稻米和稻壳中均未检出 见表 2

表 2 乙蒜素在 4 地稻田土壤及水稻植株中的最终残留量
Table 2 Final residue of ethylin in soil and plant of Changsha, Tianjin, Hangzhou and Jingmen

施药剂量 Dose/(g/hm ²)	施药次数 The number of application	取样地点 Sampling locations	最后一次施药距水稻收获期 The last application from the rice harvest period /d	残留量 Residue/(mg/kg)	
				稻田土壤 Soil	水稻植株 Plant
1 425(a. i 285 g/hm ²)	3	长沙 Changsha	10	ND	ND
		天津 Tianjin	10	ND	0.037
		荆门 Jingmen	10	ND	ND
		杭州 Hangzhou	10	0.023	ND
	4	长沙 Changsha	10	ND	ND
		天津 Tianjin	10	ND	0.044
		荆门 Jingmen	10	0.038	ND
		杭州 Hangzhou	10	0.034	0.030
2 850(a. i 570 g/hm ²)	3	长沙 Changsha	20	ND	ND
			10	ND	0.064
		天津 Tianjin	20	ND	ND
			10	ND	0.091
		荆门 Jingmen	20	ND	ND
			10	0.033	0.134
		杭州 Hangzhou	20	ND	0.025
			10	0.028	0.119
	4	长沙 Changsha	20	ND	0.064
			10	ND	0.332
		天津 Tianjin	20	ND	ND
			10	ND	0.141
		荆门 Jingmen	20	ND	ND
			10	0.056	0.201
		杭州 Hangzhou	20	ND	0.036
			10	0.049	0.276

注: 施药时间 根据水稻品种和预测的成熟期确定。ND 表示未检出 ($\leq$ LOQ)。
Note: The application time in accordance with rice varieties and the forecast of maturity determine. ND means not detectable ($\leq$ LOQ).
© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3 小结与讨论

(1)采用二氯甲烷提取, 气相色谱 (GC-ECD) 法测定, 外标法定量, 研究了乙蒜素在水稻植株、稻米、稻壳、稻田水和土壤中的残留分析方法。结果表明: 乙蒜素的最小检出量为 2×10^{-11} g 水样、土样、植株 (以及稻米和稻壳) 中乙蒜素的最低检测浓度分别为 0.002、0.01、0.02 mg/kg。

(2)消解动态试验结果表明, 水稻生长条件不同对乙蒜素在水样、植株中的残留具有极显著的影响, 相同生长条件下乙蒜素在水样和植株中的残留也存在差异。乙蒜素在水样和水稻植株中降解均较快, 半衰期分别是 0.3~1.1 d 和 1.4~2.1 d。

(3)目前, 我国和 FAO/WHO 等均尚未制定乙蒜素在水稻上的最大允许残留限量 (MRL) 值。参考我国和欧盟推荐的其他低毒喷雾杀菌剂在水稻上的 MRL 值, 如多菌灵 (有效成分为 750 g/hm^2) 分别为 2 mg/kg (中国)、0.1 mg/kg (欧盟), 甲基硫菌灵 (有效成分为 $750 \sim 1500 \text{ g/hm}^2$) 分别为 0.1 mg/kg (中国)、0.1 mg/kg (欧盟)^[12], 建议我国对乙蒜素在水稻中的 MRL 值可暂定为 0.05 mg/kg。最终残留试验结果表明, 根据水稻品种和预测的成熟期确定施药时间, 用 20% 高渗乙蒜素乳油按推荐剂量对水稻植株最多施药 4 次, 至水稻成熟时, 所收获的稻米是安全的 ($< 0.05 \text{ mg/kg}$)。

参考文献:

[1] WANG Huan-min (王焕民). New Pesticide Manual (新编农药手册) [M]. Beijing (北京): China Agriculture Press (中国农业出版社), 1997: 280.

[2] ZHANG Hui-chun (张惠淳), YANG Jin-chen (杨金琛),

WANG Li-shi (王立石), et al. 乙蒜素乳油防治黄瓜细菌性角斑病 [J]. Jilin Vegetable (吉林蔬菜), 2007, 25(2): 40-41.

[3] ZHAO Yong-jing (赵永敬), ZHANG Wei (张伟), SUN Li-ming (孙立明), et al. 群科 (80% 乙蒜素乳油) 防治水稻病害试验研究 [J]. Reclaiming and Rice Cultivation (垦殖与稻作), 2006, (3): 51-52.

[4] LI Chun-xiao (李春晓), WEI Xiang-xian (韦相贤). 20% 高渗乙蒜素乳油防治水稻穗颈瘟田间药效试验 [J]. Guangxi Plant Protection (广西植保), 2007, 20(4): 19-20.

[5] SHANG Hong-sheng (商鸿生), ZHANG Ping (张萍), HAO Ping-q (郝平琦). 三唑酮防治小麦霉叶枯病的研究 [J]. J North West Sci-Tech Univ Agric Forestry (Natural Science Edition) (西北农业大学学报, 自然科学版), 1991, 7(Suppl): 71-74.

[6] BUCHENAUER H, ROHNER E. Effect of Triadimenol and Triadimenol on Growth of Various Plant Species as well as on Gibberellin Content and Senescence in Shoots of Barley [J]. Pest Biochem Physiol, 1981, 15: 58-70.

[7] U. S. National Library of Medicine, Hazardous Substances Databank [DB]. Bethesda MD, 1995: 8-17.

[8] KIDD H. The Agrochemicals Handbook Third Edition [M]. Royal Society of Chemistry Cambridge, U.K., 1991: 8-7.

[9] SHI Guo-an (史国安), YANG Zhen-shen (杨振申), JING Jia-hai (荆家海). 三唑酮对烟草幼苗叶片蒸腾和光合的影响 [J]. J North China Agric (华北农学报), 1990 (Suppl): 119-123.

[10] CAO Ying (曹颖). 80% 乙蒜素乳油的气相色谱分析 [J]. Pestic Sci Admin (农药科学与管理), 2007, 25(1): 7-8.

[11] HUO Hong-wei (霍红伟), CHEN Zeng-liang (陈增良). 4% 乙蒜素原药样品的气相色谱定量分析 [J]. J Anhui Agric Sci (安徽农业科学), 2007, 35(26): 8087-8091.

[12] ZHANG Zhi-heng (张志恒). Regulation on the Rational Use of Pesticides and Maximum Residue Limits Standards (农药合理使用规范和最高残留限量标准) [M]. Beijing (北京): Chemical Industry Press (化学工业出版社), 2007: 41-47, 119-121.

(Ed. TANG J)

《农药学学报》2007 年文献评价计量指标 (二)

2007 年载文量	总被引频次	影响因子	5 年影响因子	即年指标	他引总引比	被引期刊数	被引半衰期	基金论文比	Web 即年下载率
78	538	0.781	0.932	0.167	0.88	190	4.8	0.81	44.5

摘自中国学术期刊 (光盘版) 电子杂志社、中国科学文献计量评价研究中心 2008 年版中国学术期刊综合引证年度报告 (6500 种期刊)。