

• 研究论文 •

甲氨基阿维菌素苯甲酸盐在水稻环境中的 残留及消解动态

张侃侃, 胡德禹*, 张钰萍, 卢平, 曾松,
宋宝安, 黄荣茂, 郭晴晴

(贵州大学 精细化工研究开发中心/绿色农药与农业生物工程国家重点实验室培育基地/教育部重点实验室, 贵阳 550025)

摘要: 采用高效液相色谱-紫外检测器(HPLC-UV)测定了甲氨基阿维菌素苯甲酸盐在水稻植株、稻米、稻田水样及土壤中的消解动态和最终残留。水稻、稻米和土壤样品用丙酮-水(7:3 体积比)提取, 水样用二氯甲烷提取, 经液液萃取净化, HPLC-UV 检测, 外标法定量。结果表明: 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐在田水中的添加水平为 0.050~1.0 mg/kg 时, 回收率为 88.44%~94.10%, 相对标准偏差(RSD)为 3.09%~10.57%; 在植株、稻米和土壤中的添加水平在 0.10~1.0 mg/kg 时, 回收率分别为 86.29%~101.1%, 84.49%~105.5% 和 88.69%~93.27%, RSD 分别为 11.28%~13.68%, 2.62%~6.73% 和 6.72%~8.89%; 在稻米中的检出限为 0.018 mg/kg, 定量限为 0.061 mg/kg。在植株、水样和土壤中的半衰期分别为 1.52~1.61, 1.93~2.04 和 2.01~2.14 d。施药浓度为推荐剂量, 最多 4 次, 最后一次施药距采收的间隔期为 7 d 时, 稻米中甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的残留量均低于最低检出浓度。

关键词: 甲氨基阿维菌素苯甲酸; 水稻; 残留; 消解动态

DOI: 10.3969/j.issn.1008-7303.2010.02.13

中图分类号: O657.72; TQ450.263

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2010)02-0190-05

Residue and decline study of emamectin benzoate in rice field

ZHANG Kan-kan, HU De-yu*, ZHANG Yu-ping, LU Ping, ZENG Song,
SONG Bao-an, HUANG Rong-mao, GUO Qing-qing

(Research and Development Center for Fine Chemicals, State Key Laboratory Breeding Base of
Green Pesticide and Agricultural Bioengineering, Key Laboratory of Green Pesticide and Agricultural
Bioengineering, Ministry of Education, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract The residual dynamics and final residues of emamectin benzoate in paddy, rice, water and soil samples were determined by high performance liquid chromatography equipped with ultraviolet detector(HPLC-UV). Water samples were extracted with methylene chloride and other samples were extracted with acetone/water (7:3 V/V), the extracts were cleaned up by liquid-liquid extraction. Under the fortified level 0.050 to 1.0 mg/kg, the recovery ranged from 88.44% to 94.10% for water, 86.29% to 101.1% for paddy, 84.49% to 105.5% for rice, 88.69% to 93.27% for soil with the

收稿日期: 2009-12-02 修回日期: 2010-04-23

作者简介: 张侃侃(1984-), 男, 河南周口人, 博士研究生; * 通讯作者(Author for correspondence): 胡德禹(1965-), 女, 贵州遵义人, 研究员, 主要从事农药分析研究, 电话: 0851-3620521, E-mail: fcc_dyhu@gzu.edu.cn

基金项目: 农业部药检所农药登记残留项目(2008P500)。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

relative standard deviations of 3.09% to 10.57%, 11.28% to 13.68%, 2.62% to 6.73% and 6.72% to 8.89%, respectively. The limit of detection of the method was 0.018 mg/kg, the limit of quantification was 0.061 mg/kg for rice. The half-life of emamectin benzoate was 1.52 to 1.61 days in paddy, 1.93 to 2.04 days in water and 2.01 to 2.14 days in soil, respectively. When sprayed for 4 successive times at application rate of 750 g/hm², at interval time of 7 d after the last application, the final residues of emamectin benzoate in rice were lower than LOQ.

Key words emamectin benzoate; rice; residue; field residue decline study

甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(以下简称甲维盐)是一种高效、广谱、无公害的生物源杀虫剂,其对甜菜夜蛾、小菜蛾、菜青虫、棉铃虫、斜纹夜蛾、稻纵卷叶螟、水稻二化螟的防治效果明显优于阿维菌素,而毒性远低于阿维菌素^[1-5]。目前对甲维盐的检测方法主要有高效液相色谱紫外检测法(HPLC-UV)^[6-8]、高效液相色谱荧光检测法(HPLC-FLD)^[9]及酶联免疫技术^[10]。王小丽等^[11]报道了甲维盐在黄瓜及土壤中的半衰期分别为0.1~0.6 d和0.6~1.5 d。最终残留试验中,在黄瓜中未检出该药。有关施用甲维盐后其在稻田环境中的残留消解动态及其分析方法目前尚未见报道。

甲维盐与N-甲基咪唑和三氟乙酸酐可发生衍生化反应,生成一种具有荧光吸收特性的物质,可使用HPLC-FLD检测,方法灵敏度较高^[12-13]。笔者采用HPLC-UV法测定了甲维盐在水稻植株上的残留,虽然紫外检测器的灵敏度较低,但其噪音低,线性范围宽,对环境温度、流动相组成变化和流速波动不太敏感,稳定性优于荧光检测器,而且用紫外检测器检测不需进行样品的衍生化,提取和净化方法都较简单。笔者在确定残留分析方法的基础上,于2009年在贵州、广西和黑龙江3省3地进行了该农药在水稻植株和稻田环境中的残留消解动态及最终残留试验研究。现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与药剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪,带紫外检测器(美国安捷伦公司),BUCHI-210型旋转蒸发仪(瑞士BUCHI公司),QL-901型涡旋混合器(江苏海门市麒麟医用仪器厂)。

甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(emamectin benzoate)标准品(纯度97.6%)及2%甲氨基阿维菌素苯甲酸盐乳油,均由广西田园生化有限公

司提供。甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 田间试验 2%甲维盐乳油在水稻上的推荐使用剂量为345~750 g/hm²(有效成分6.9~15.0 g/hm²),田间试验按《NY/T 788—2004标准农药残留试验准则》设计,每个小区的面积为30 m²,每处理设3个重复,小区间设保护行,同时设空白对照区。最终残留试验在大田分蘖后进行第1次施药,每隔7 d喷施1次,共喷施4次;消解动态试验在水稻孕穗期喷施1次。

1.2.2 消解动态试验

1.2.2.1 土壤中消解动态试验 选用一块空白地(30 m²),用2%甲维盐乳油以推荐使用高剂量的2倍,即1500 g/hm²(有效成分30.0 g/hm²)喷施水面,分别于最后一次施药后0, 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21 d用土壤取样器于0~10 cm深随机取土样(10点以上)1 kg以上;多点取水样2 L以上,混匀后取1 L,用定量滤纸过滤;样品直接用于分析或于-20℃冰柜中保存待测。

1.2.2.2 植株中消解动态试验 于水稻孕穗期用2%甲维盐乳油以1500 g/hm²喷施全株,分别于最后一次施药后0, 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21 d随机采样,水稻植株取土表上的去根全株1 kg以上,样品直接用于分析或于-20℃冰柜中保存待测。

1.2.3 最终残留试验 2009年于大田分蘖期用2%甲维盐乳油按推荐使用高剂量,即750 g/hm²和推荐使用高剂量的1.5倍,即1125 g/hm²两个剂量分别喷药3或4次,施药间隔期为7 d。分别于距末次施药7, 14, 21 d随机采集晒干后的稻草1 kg以上,籽粒2 kg以上;随机取0~15 cm深土样1 kg以上。样品直接分析或于-20℃冰柜中保存待测。

1.3 分析方法

1.3.1 样品提取和净化

1.3.1.1 田水样品 准确量取已制备的水样20 mL于已盛有10 mL饱和氯化钠溶液的250 mL分液漏斗中,加入20 mL二氯甲烷萃取2 min,静

置,收集有机相。水相再用 20 mL 二氯甲烷萃取,合并有机相,在旋转蒸发仪上浓缩至近干,用甲醇定容到 2 mL,待 HPLC 测定。

1.3.1.2 植株、稻米样品 准确称取已制备的植株(稻米)样品 10 g 于 250 mL 具塞三角瓶中,加入 100 mL 丙酮-水 (体积比 7:3) 的混合提取剂^[7],振荡提取 1 h 抽滤,用 20 mL 上述提取剂淋洗残渣,合并滤液,浓缩去除丙酮。将浓缩液转移至 250 mL 分液漏斗中,加入 20 mL 饱和氯化钠水溶液,用 30 mL \times 3 正己烷萃取,水相用 40 mL \times 2 二氯甲烷萃取^[8],合并有机相,在旋转蒸发仪上浓缩至近干,用甲醇定容至 2 mL,待 HPLC 检测。

1.3.1.3 土壤样品 准确称取已制备的土壤样品 20 g 于 250 mL 具塞三角瓶中,加入 50 mL 丙酮-水 (体积比 7:3) 的混合提取剂,振荡提取 1 h 抽滤,用 10 mL 上述提取剂淋洗残渣,合并滤液,浓缩去除丙酮。将浓缩液转移至 250 mL 分液漏斗中,加入 20 mL 饱和氯化钠水溶液,用 30 mL \times 2 二氯甲烷萃取,合并有机相,在旋转蒸发仪上浓缩至近干,用甲醇定容至 2 mL,待 HPLC 检测^[10]。

1.3.2 高效液相色谱检测条件 Lichrospher C₁₈ 反相色谱柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为甲醇-0.1% 三乙胺水溶液 (体积比 90:10); 流速 1.00 mL/min; 检测波长 254 nm; 进样量 20.0 μ L。

1.3.3 标准曲线的绘制 采用外标法定量。以甲醇为溶剂,先将已配制的质量浓度为 360.0 mg/L 的母液稀释成质量浓度为 36.0 mg/L 的标准溶液,再将其稀释成质量浓度为 0.050 0.50 1.20 2.40 和 7.20 mg/L 的一系列标准工作溶液,在上述色谱条件下进行测定。以峰面积 y 为纵坐标,质量浓度 x 为横坐标,绘制标准曲线。其线性方程为 $y = 22.606x + 0.5866$ 相关系数 (R^2) 为 0.999 9。甲维盐在 0.050~7.20 mg/L 范围内线性关系良好。

2 结果与分析

方法的灵敏度用检出限衡量。分别取稻米空白样品和添加水平为 0.1 mg/kg 的样品,用 1.3.1 节的方法处理后测定,信噪比 SN 为 16.4,计算其方法检出限为 0.018 mg/kg,定量限为 0.061 mg/kg。相关色谱图见图 1~图 3。

2.1 添加回收率

在制备好的空白样品中,添加一定量的甲维盐标准品,添加水平分别为 0.050 或 0.10, 0.50, 1.0 mg/kg。按 1.3 节方法对样品进行提取、净化,

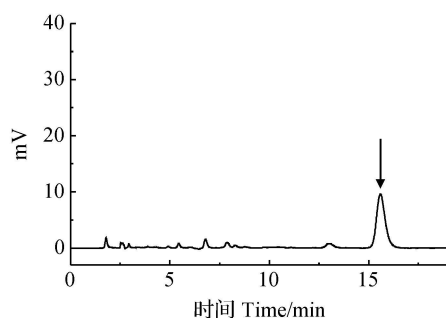


图 1 甲维盐标准品色谱图

Fig 1 Standard chromatogram of emamectin benzoate

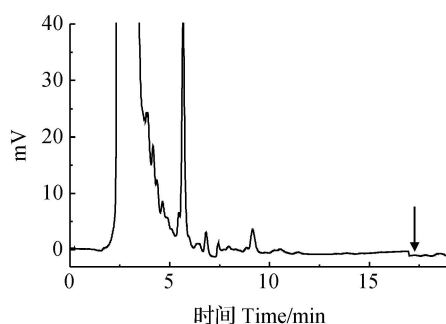


图 2 稻米空白色谱图

Fig 2 Chromatogram of control rice

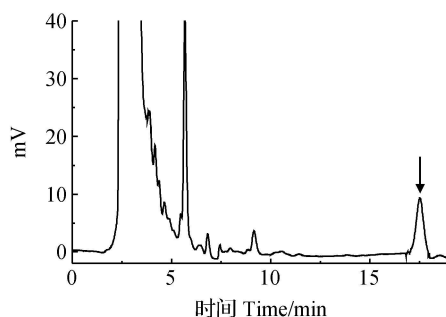


图 3 稻米添加色谱图 (1.0 mg/kg)

Fig 3 Chromatogram of fortified recovery of emamectin benzoate in rice (1.0 mg/kg)

用 HPLC 测定回收率。每个浓度重复 5 次。结果 (见表 1) 表明, 平均回收率在 84.49%~105.5% 之间, 相对标准偏差 (RSD) 在 2.62%~13.68% 之间, 符合农药残留分析标准要求。

2.2 消解动态试验结果

甲维盐在贵州省贵阳市、广西省南宁市以及黑龙江省哈尔滨市 3 地水稻植株、稻田水样、稻田土壤中的消解动态方程、相关系数及半衰期见表 2。

表 1 甲维盐在田水、水稻植株、稻米和土壤中的添加回收率

Table 1 Recovery of emamectin benzoate in water, paddy, rice and soil fortified with emamectin benzoate								
添加水平 Fortified level /(mg/kg)	平均回收率 Average recovery /%				相对标准偏差 RSD /%			
	田水	水稻植株	稻米	土壤	田水	水稻植株	稻米	土壤
	Water	Paddy	Rice	Soil	Water	Paddy	Rice	Soil
1.0	94.10	86.29	105.5	89.29	3.09	11.28	6.73	8.71
0.50	93.12	100.3	84.49	93.27	7.53	12.41	2.62	8.89
0.10	—	101.1	101.5	88.69	—	13.68	6.20	6.72
0.050	88.44	—	—	—	10.57	—	—	—

注: — 表示未做样品在该添加水平时的回收率试验。
Note: — indicated that without making the recovery test of the sample in this fortified level.

表 2 甲维盐在水稻植株、田水和土壤中的消解动态方程、相关系数及半衰期

Table 2 The decline dynamics equation, correlation coefficient and half-life of emamectin benzoate in paddy, rice, water and soils				
地点 Area	样品 Samples	消解动态方程 $c_t = c_0 \cdot e^{-kt}$	相关系数 (R ²) Correlation coefficient	半衰期 /d Half-life
贵阳 Guiyang	植株 Paddy	$c_t = 3.0860e^{-0.4313t}$	0.9835	1.61
	水样 Water	$c_t = 1.3663e^{-0.3515t}$	0.9980	2.04
	土样 Soil	$c_t = 1.6368e^{-0.3346t}$	0.9579	2.14
南宁 Nanning	植株 Paddy	$c_t = 4.2126e^{-0.4563t}$	0.9849	1.52
	水样 Water	$c_t = 1.5235e^{-0.3688t}$	0.9841	1.93
	土样 Soil	$c_t = 2.2986e^{-0.3413t}$	0.9392	2.01
哈尔滨 Harbin	植株 Paddy	$c_t = 3.6690e^{-0.4399t}$	0.9866	1.58
	水样 Water	$c_t = 1.4294e^{-0.3571t}$	0.9926	1.94
	土样 Soil	$c_t = 1.7906e^{-0.3461t}$	0.9807	2.04

从表 2 数据可以看出, 甲维盐在 3 个供试地点的水稻植株、稻田水和土壤中的半衰期均小于 2.1 d, 即其在整个水稻环境中的消解速度都较快; 在稻田施药后 1 d, 在植株上已经消解了 40% 以上, 在稻田水中消解率在 30% 左右, 在土壤中消解率低于 20%, 说明甲维盐在植株中消解最快, 在稻田水中次之, 在土壤中消解最慢。土壤中农药的消解受土壤理化性质、土壤微生物等因素的影响。孔德洋等^[14]研究发现: 甲维盐在土壤中的微生物降解

受土壤有机质的影响, 有机质含量越高越有利于微生物降解; 其在偏碱性土壤中的降解速率比在偏酸性土壤中的快。而从土壤基本性质 (表 3) 可以看出: 哈尔滨的土壤为碱性, 其对供试药剂的降解速率较快; 贵州的土壤有机质含量较高, 其微生物降解速率较快; 南宁土壤的 pH 值和有机质含量均为中等, 受两种因素共同作用, 其降解速率也较快。因此甲维盐在供试 3 地土壤中的消解动态趋势差别不大。

表 3 土壤样品的基本理化性质

Table 3 Physical and chemical property of soils				
地区 Area	土壤类型 Agrotype	pH 值 pH value	有机质质量分数 /% Organic material	阳离子交换量 /(cmol/kg) Cation exchange capacity
贵阳 Guiyang	红壤 Red soil	5.5	10.1	18.6
南宁 Nanning	砖红壤 Laterite	6.5	8.6	11.4
哈尔滨 Harbin	黑土 Black soil	8.5	6.3	24.3

2.3 最终残留试验

在末次施药后间隔 7、14、21 d 采集样品, 检测结果表明, 推荐使用高剂量和推荐使用高剂量的 1.5 倍两个处理中, 甲维盐在供试 3 地的水稻植株、

稻米和稻壳中均为未检出, 但是, 由于土壤对甲维盐具有吸附作用, 在末次施药后间隔 7 d 的土壤样品中检出了甲维盐, 残留量在 0.10~0.15 mg/kg 之间, 且施药次数多、药剂浓度高的处理残留量较高,

间隔 14 21 d 的土壤样品中未检出甲维盐残留。

3 讨论

采用 HPLC-UV 测定了甲氨基阿维菌素苯甲酸盐在水稻植株、田水和土壤中的消解动态和在水稻植株、稻米和土壤中的最终残留,检测方法简便、准确。结果表明,甲维盐在稻米中的定量限为 0.061 mg/kg,检出限为 0.018 mg/kg。在水稻植株、稻米、田水和土壤中的平均添加回收率在 84.49%~105.5% 之间,RSD 在 2.62%~13.68% 之间,均符合农药残留分析试验要求。

甲维盐在供试 3 地的水稻植株、水样和土壤中的半衰期分别为 1.52~1.61 d、1.93~2.04 d 和 2.01~2.14 d。以推荐使用高剂量和推荐使用高剂量的 1.5 倍剂量施药,施药 3 次或 4 次,距末次施药后间隔 7, 14, 21 d 采收的稻米中均未检出甲维盐残留。

紫外检测方法较衍生-荧光检测方法存在灵敏度低的缺点,目前我国尚未规定甲维盐在稻米中的最大残留限量(MRL 值),本方法中甲维盐在稻米中的最低添加水平为 0.10 mg/kg。如果甲维盐在稻米中的 MRL 值低于 0.10 mg/kg,作者所建立检测方法的灵敏度则达不到要求。不过紫外检测甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的方法仍能为以后从事该药残留分析的人员提供参考和借鉴。

参考文献:

- [1] BIFu-chun(毕富春), XU Feng-bo(徐凤波). 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐研究概述[J]. Pestic Sci Adm in (农药科学与管理), 2002, 23(3): 31-33.
- [2] WEI Fang-lin(魏方林), ZHU Jin-wen(朱金文), LI Shao-nan(李少南), et al. 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐乳油对环境生物的急性毒性研究[J]. Pestic Sci Adm in (农药科学与管理), 2008, 29(3): 19-24.
- [3] XIE Yuan-lin(谢远霖). 生物杀虫剂 0.5% 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐乳油(华戎 2 号)防治蔬菜斜纹夜蛾田间药效试验[J]. Pestic Sci Adm in (农药科学与管理), 2007, 25(2): 21-22.
- [4] QIU Xue-ping(仇学平), QIU Guang-can(仇广灿), CHENG Xiao-song(成晓松), et al. 1% 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐乳油防治稻纵卷叶螟田间药效试验[J]. Pestic Sci Adm in (农药科学与管理), 2007, 28(10): 36-37.
- [5] HE Yue-ping(何月平), SHAO Zhen-nun(邵振润), CHEN Wen-ming(陈文明), et al. 防治水稻二化螟的高毒农药替代药剂的室内筛选[J]. Chinese J Rice Sci (中国水稻科学), 2008, 22(3): 313-320.
- [6] BIGuo-fu(毕国富), WU Guo-xu(吴国旭). 高效液相色谱法定量分析甲氨基阿维菌素苯甲酸盐中的甲氨基阿维菌素苯甲酸盐[J]. Pestic Sci Adm in (农药科学与管理), 2005, 26(6): 4-6.
- [7] KANG Zhan-hai(康占海), XU Yan(徐妍), CHEN Tie-chun(陈铁春), et al. 4.5% 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐·高效氯氰菊酯 ME 的高效液相色谱分析[J]. Pesticides (农药), 2007, 46(5): 328-329.
- [8] KANG Zhan-hai(康占海), LIX ing(李星), PANG Min-hao(庞民好), et al. 2% 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐微乳剂的高效液相色谱分析[J]. J. Anhui Agric Sci (安徽农业科学), 2007, 35(32): 10206, 10241.
- [9] HEASOOK K K, LOUIS S C, ALICE B, et al. Determination of an insecticide residues in the tissues of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) using HPLC with fluorescence detection[J]. J. Agric Food Chem, 2001, 49: 5294-5302.
- [10] M IKA K, H IROSHI Y, M I K K O U, et al. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for residue analysis of the insecticide an insecticide benzoate in agricultural products[J]. J. Agric Food Chem, 2009, 57: 359-364.
- [11] WANG Xiao-li(王小丽), WANG Su-li(王素丽), CHEN Zhen-shan(陈振山), et al. 黄瓜及其栽培土壤中甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的残留动态研究[J]. J. Agro-Environ Sci (农业环境科学学报), 2005, 24(Suppl): 307-310.
- [12] ZHANG Yan(张艳), WU Yin-liang(吴银良), HU Ji-ye(胡继业), et al. 高效液相色谱-荧光法测定蔬菜中残留的甲氨基阿维菌素苯甲酸盐[J]. Chromatography (色谱), 2008, 26(1): 110-112.
- [13] SUN Ming-na(孙明娜), WAN Yu(万宇), ZHU Chuan-ming(朱传明), et al. 液相色谱-荧光法测定甲氨基阿维菌素苯甲酸盐在甘蓝和土壤上的残留[J]. J. Anhui Agric Sci (安徽农业科学), 2008, 36(18): 7533-7534.
- [14] KONG De-yang(孔德洋), SHI Li-li(石利利), SHAN Zheng-jun(单正军), et al. 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的降解性研究[J]. J. Eco Rural Environ (生态与农村环境学报), 2009, 25(4): 88-91.

(责任编辑: 金淑惠)