

• 研究论文 •

多菌灵在浙麦冬及其土壤中的消解动态研究

魏厚道, 林建, 王天玉, 吴加伦*

(浙江大学农药与环境毒理研究所, 浙江杭州 310029)

摘要: 为评价多菌灵在浙麦冬及其土壤中的安全性, 建立其在浙麦冬上的使用规范, 采用高效液相色谱法研究了多菌灵 50% 可湿性粉剂(WP)在浙麦冬及其土壤中的残留动态。结果表明, 多菌灵在添加水平 0.05~2.00 mg/kg 范围内的平均回收率在 84.6%~98.3% 之间, 相对标准偏差均低于 6.7%。在有效成分含量(下同)0.675和 1.000 kg/hm² 两个施药剂量下, 多菌灵 50% WP 在浙麦冬土壤中的半衰期为 5.74~7.07 d, 在茎叶上的半衰期为 3.60~5.35 d, 在根中残留量先升后降, 其半衰期为 2.01~3.60 d。多菌灵在浙麦冬及其土壤中易降解, 当施药剂量较高或原始沉积量较高时, 所对应的半衰期较短。若多菌灵在浙麦冬及其土壤中的最高残留限量推荐值为 0.1 mg/kg, 每年以 0.675 kg/hm² 的剂量喷施 2 次, 则建议安全间隔期为 15 d。

关键词: 浙麦冬; 多菌灵; 残留分析; 安全间隔期

DOI 10.3969/j.issn.1008-7303.2009.04.11

中图分类号: S481.8/0657.72

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2009)04-0467-05

Residue Decline Dynamics of Carbendazim in Radix Ophiopogonis and Soil

WEI Hou-dao, LIN Jian, WANG Tian-yu, WU Jia-lun*

(Pesticide Environmental Toxicology Research Institute, Zhejiang University, Hangzhou 310029 China)

Abstract Residue dynamics of carbendazim in Radix Ophiopogonis and cultivated soil was studied. The average recoveries of carbendazim at fortified level 0.05-2.00 mg/kg in Radix Ophiopogonis and soil were 84.6%-98.3%, with RSDs of less than 6.7%. The half lives of carbendazim were 5.74-7.07 d in the cultivated soil, 3.60-5.35 d on the leaf and 2.01-3.60 d in the roots respectively. When 0.675 kg(ai)/hm² carbendazim was sprayed twice a year, 15 days were proposed as the minimum preharvest interval of carbendazim in the Radix Ophiopogonis if 0.1 mg/kg was considered as the MRL of carbendazim in the Radix Ophiopogonis.

Key words Radix Ophiopogonis; carbendazim; residue; preharvest interval

浙麦冬, 又名余姚麦冬、(杭)寸冬, 是著名中药“浙八味”之一, 具有养阴、生津、润肺、止咳、清心、除烦之功效, 还可提高耐缺氧能力, 缓解冠心病和心绞痛, 是中医治病不可或缺的常用药。其种植期间, 黑斑病、炭疽病危害严重, 须用农药防治。

多菌灵(carbendazim), N-(2-苯并咪唑基)

氨基甲酸甲酯, 是一种广谱内吸性杀菌剂, 主要用于水果、蔬菜、中草药等的病害防治, 对子囊菌和半知菌引起的真菌性病害防治效果较好^[1], 是浙麦冬田间常用农药。多菌灵高效低毒, 残效期较长, 在水中的降解半衰期可达 6~25 周^[2], 对动、植物及人体有一定危害, 已有研究表明, 多菌灵能

收稿日期: 2009-07-10; 修回日期: 2009-09-15.

作者简介: 魏厚道(1982-), 男, 河南新野县人, 在读硕士, E-mail: weihoudao@163.com; 吴加伦(1956-), 男, 通讯作者(Author for correspondence), 浙江嘉兴人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事农药环境毒理和农药残留分析研究工作。联系电话: 0571-86971221; E-mail: jlwu@zju.edu.cn

基金项目: 浙江省社会发展项目(2008C23061).

够影响哺乳动物精母细胞的减数分裂^[3-4]。因此,国内外对多菌灵的残留及其影响越来越重视,并不断降低多菌灵的最高允许残留限量值(MRL),多菌灵在各种作物和农产品上的残留和消解动态研究也随之加强。张浩等报道,多菌灵在大豆植株及其土壤中消解缓慢,其半衰期($T_{1/2}$)分别为18.3~21.6 d和55.2~57.1 d^[5];金仁耀等报道,多菌灵在柑橘中降解较土壤中缓慢, $T_{1/2}$ 高达35 d^[6];郭瑞刚等报道,多菌灵在苹果上的 $T_{1/2}$ 为2.33~5.65 d^[7]。此外,多菌灵在茶叶、人参等作物上的残留消解研究也时有报道^[8-9],但有关其在大多数中药材包括浙麦冬上的残留研究尚未见报道。本文报道多菌灵在浙麦冬及其土壤中的残留与消解动态,旨在为浙麦冬 GAP建立和制定多菌灵安全使用标准提供相关信息和理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与药剂

FULI2200高效液相色谱仪,带紫外检测器(浙江温岭);KQ5200DE数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);高速匀浆器;DD01型中药粉碎机(浙江温岭市大德中药机械有限公司)。

试剂均为AR级,甲醇有AR级和HPLC级,其中甲醇(分析纯)、二氯甲烷、石油醚经过全玻璃蒸馏装置重蒸;无水硫酸钠经450℃灼烧4 h用前于130℃烘2 h;助滤剂545(硅藻土载体,国药集团化学试剂有限公司)。

50%多菌灵(carbendazim)可湿性粉剂(WP),四川国光农化有限公司提供;多菌灵标样100 mg/L(纯度>99%),购于中国标准技术开发公司标样部。

1.2 田间消解动态试验

分别于2008和2009年3~5月于浙江省慈溪市崇寿镇农场按照《农药残留试验准则》^[10]进行试验。设14个处理和1个空白对照,各处理小区实行两轮施药,第一轮以推荐剂量[有效成分含量(下同)0.675 kg/hm²]于黑斑病、炭疽病发病初期对所有用药小区同一天施药;第二轮分别以推荐剂量(0.675 kg/hm²)和1.5倍推荐剂量(1.000 kg/hm²)分7次施药,施药时间分别为收获期前2 h和前1、3、7、14、21、30 d。所有处理和对照各重复3次,每个小区面积约20 m²,各小区之间设保护行。

第二轮最后一次施药后,按照《农药残留试验

准则》方法采集和处理施药后当天(通常为施药后2 h药液已干)及1、3、7、14、21和30 d的浙麦冬叶、根及土壤样品。

1.3 分析方法

1.3.1 样品制备 新鲜根叶:切碎混匀;土壤:粉碎混匀;干燥根:中药粉碎机粉碎混匀,过20目(孔径0.45 mm)筛。

1.3.2 样品中多菌灵的提取

1.3.2.1 土壤 称取土壤样品20 g置于250 mL带螺纹盖的样品瓶中,加入1 g助滤剂、80 mL甲醇和10 mL 0.2 mol/L的盐酸,旋紧螺纹盖,超声提取1 h。抽滤,用50 mL甲醇洗涤残渣,合并滤液,经旋转蒸发仪减压浓缩至10 mL左右,转移到250 mL分液漏斗中,加入10 mL 0.2 mol/L的盐酸和40 mL水,混匀,再加40 mL石油醚,振荡1 min,静置。弃去有机相,水相用1 mol/L的氢氧化钠调pH至7.0,再依次用50、40、30 mL二氯甲烷萃取,经无水硫酸钠脱水,合并滤液,加1 mL乙酸乙酯减压浓缩至近干,改用氮气吹干,甲醇定容至5 mL,待HPLC检测。

1.3.2.2 浙麦冬新鲜根、叶 准确称取新鲜植物组织样品5 g置于250 mL样品瓶中,加入80 mL丙酮,在匀浆机中高速匀浆1 min,转入250 mL带罗纹盖的样品瓶,加入1 g助滤剂,旋紧罗纹盖,超声提取30 min。抽滤,用50 mL丙酮洗涤残渣,合并滤液,旋蒸浓缩至5 mL左右,转移至分液漏斗中,加入30 mL质量分数为10%的氯化钠溶液和10 mL 1 mol/L的盐酸溶液,摇匀后再加入40 mL二氯甲烷萃取至褪色(颜色深时再萃取一次),有机层用20 mL 10%的氯化钠和5 mL 1 mol/L的盐酸溶液反萃取一次。弃去有机相,酸液用2 mol/L的氢氧化钠调pH至6.5~7.0,再依次用50、40、30 mL二氯甲烷萃取,经无水硫酸钠脱水后合并,加1 mL乙酸乙酯减压浓缩至近干,改用氮气吹干,甲醇定容至5 mL,待HPLC检测。

1.3.3 液相色谱检测条件 FULI2200高效液相色谱仪,带紫外检测器;色谱柱Diamonsil(TM)C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相甲醇-水=60:40(体积比);流速1.0 mL/min;检测波长281 nm;柱温30℃;进样量10 μL。

1.3.4 标准曲线的绘制 采用外标法定量。以甲醇为溶剂,将已配制的浓度为100 mg/kg的多菌灵母液分别稀释成20、5、2、1、0.5、0.05 mg/kg的一系列标准工作溶液,采用高效液相色谱法测定。

2 结果与分析

2.1 方法的灵敏度、准确度及精确度

多菌灵在 0.05~2 mg/kg 范围内进样量与峰面积呈线性关系 (见图 1), 回归方程为 $Y = 7\,025.6x - 18\,748$ 相关系数 (R^2) 为 0.999 9。在空白根、土壤和叶中分别添加 0.05、0.5、2 mg/kg 的多菌灵标准品, 每浓度重复 3 次, 按照 1.3.2 节方法处理后测定添加回收率。结果见表 1, 其平均回收率在 84.6%~98.3% 之间, 相对标准偏差 (RSD) 均低于 6.7%, 符合农药残留分析要求。

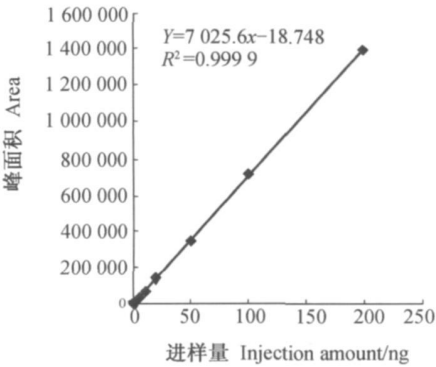


图 1 多菌灵的标准曲线
Fig. 1 Standard curve of carbendazim

表 1 多菌灵在浙麦冬及其土壤中的添加回收率

Table 1 Recovery of carbendazim in Radix Ophiopogon is and soil

样本 Sample	添加水平 Spiked level/ (mg/kg)	回收率 Recovery/%			平均回收率 Average recovery / %	相对标准偏差 RSD /%
		1	2	3		
土壤 Soil	0.05	89.7	82.7	94.0	88.8	6.5
	0.5	95.3	93.8	95.6	94.9	1.0
	2	100.3	98.1	96.7	98.3	1.8
茎叶 Leaf	0.05	79.8	83.8	90.2	84.6	6.2
	0.5	85.3	82.1	93.3	86.9	6.7
	2	96.3	98.9	93.6	96.2	2.7
根 Root	0.05	89.9	97.7	102.0	96.5	6.3
	0.5	80.4	89.3	88.7	86.1	5.8
	2	96.7	88.5	93.8	93.0	4.4

2.2 消解动态

2.2.1 多菌灵在浙麦冬土壤中的残留消解动态

由图 2 可见, 消解动态呈一级动力学特征。消解动力学参数见表 2, $T_{1/2}$ 分别为 7.07 d (0.675 kg/hm²) 和 5.74 d (1.000 kg/hm²)。试验结果表明, 高浓度处理时土壤中多菌灵的消解速率比低浓度处理的快, 差异显著, 这与土壤中微生物利用并降解农药的特点有关。Nannipieri 等^[11]报道, 微生物在残留农药浓度较低的情况下, 趋于利用其他碳源有机物, 对农药的利用效率较低, 这可能是导致低浓度处理多菌灵消解速率比较慢的原因。向月琴等^[12]报道, 多菌灵在室内土壤中的 $T_{1/2}$ 分别是 8.6 d (20 mg/kg) 和 6.8 d (4.0 mg/kg), 其降解行为与本试验类似。金仁耀等^[8]报道, 多菌灵在柑橘土壤中的 $T_{1/2}$ 分别为 2.59 d (衢州, 2002)、3.65 d (南宁, 2002) 和 13.95 d (衢州, 2003)、8.15 d (桂林, 2003)。张浩等^[9]报道, 多菌灵在大豆田间土壤中的 $T_{1/2}$ 为 55.2~57.1 d。多菌灵在土壤中

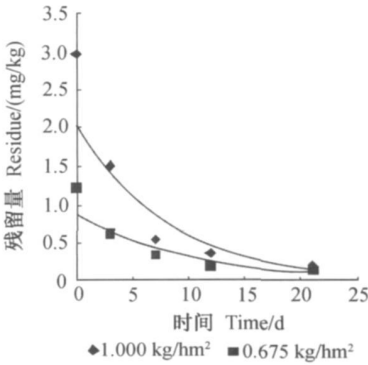


图 2 土壤中多菌灵的消解动态曲线 (2009)
Fig. 2 Decline curve of carbendazim in soil (2009)

的消解半衰期差异如此显著, 说明土壤类型、降雨量和日照等环境因素对其影响很大。

2.2.2 多菌灵在浙麦冬茎叶中的残留消解动态

由图 3 可见, 消解动态呈一级动力学特征, 其消解动力学参数见表 2。结果表明, 2008 年浙麦冬

叶片上多菌灵的初始浓度显著高于 2009 年的, 其原因是 2008 年试验田中的浙麦冬非常稀疏, 单位面积叶片上喷施的多菌灵量远大于 2009 年叶片上多菌灵的初始含量。2008、2009 年同一年试验叶片中高浓度和低浓度处理 试验结果差异不大,

但是 2008 年多菌灵在茎叶上消解较快, 半衰期明显小于相应的 2009 年, 差异达到显著水平, 这是受 2008 年试验期间多雨和其他环境因素影响的结果。

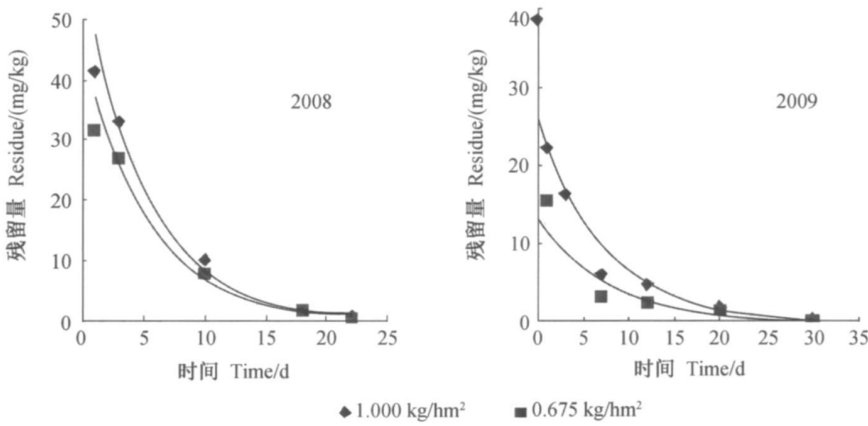


图 3 茎叶中多菌灵的消解动态曲线

Fig 3 Decline curve of carbendazim in leaf

表 2 多菌灵在浙麦冬及其土壤中的消解动态

Table 2 Decline dynamics of carbendazim in Radix Ophiopogonis and soil

样本 Sample	施药浓度 Concentration /(kg/hm ²)	消解动态方程 Decline dynamics equation	相关系数 (r) Correlation coefficient	半衰期 Half-life/d
土壤 Soil	0.675 (2009)	$c = 0.8753e^{-0.098t}$	0.9374	7.07
	1.000 (2009)	$c = 2.0371e^{-0.120t}$	0.9402	5.74
	0.675 (2008)	$c = 44.934e^{-0.188t}$	0.9960	3.68
茎叶 Leaf	1.000 (2008)	$c = 57.493e^{-0.192t}$	0.9975	3.60
	0.675 (2009)	$c = 13.243e^{-0.129t}$	0.9734	5.35
	1.000 (2009)	$c = 26.003e^{-0.137t}$	0.9852	5.03
	0.675 (2008)	$c = 5.0311e^{-0.337t}$	0.9431	2.05
	1.000 (2008)	$c = 6.0401e^{-0.345t}$	0.9433	2.01
根 Root	0.675 (2009)	$c = 1.4076e^{-0.192t}$	0.9889	3.60
	1.000 (2009)	$c = 2.5301e^{-0.207t}$	0.9956	3.34

2.2.3 多菌灵在浙麦冬鲜根中的残留消解动态
结果见图 4。根中多菌灵初始浓度接近于零, 在施药后约 2~3 d 达到最大值, 随后又快速消减, 分别在 22 d (2008)、30 d (2009) 达到可检测水平以下。根部多菌灵达到最高浓度后, 多菌灵的 $T_{1/2}$ 分别为 2.05 d (0.675 kg/hm², 2008), 2.01 d (1.000 kg/hm², 2008), 3.60 d (0.675 kg/hm², 2009) 和 3.34 d (1.000 kg/hm², 2009)。因为试验田在试验前一段时间未曾使用过多菌灵, 施药后, 需通过茎叶的运输传导及土壤吸收等才能到达根部, 所以根部的多菌灵含量需要一段时间才能达到最大值。随着农药经茎叶运输传导及土壤

吸收量的减少和降解的加速, 根部的多菌灵残留迅速减少。2008、2009 年两次试验中, 根部高低两个处理浓度的多菌灵残留变化差异均不显著。2008 年根部多菌灵的 $T_{1/2}$ 显著小于 2009 年的, 这也与 2008 年的多雨天气有关, 雨水使叶片和土壤中的农药加速流失, 其对根部的补偿量锐减, 导致多菌灵消解比无雨条件下的 2009 年快。

3 讨论

样品中多菌灵通过酸化成盐, 经液液分配净化后, 在 0.05~2.00 mg/kg 范围内平均回收率在

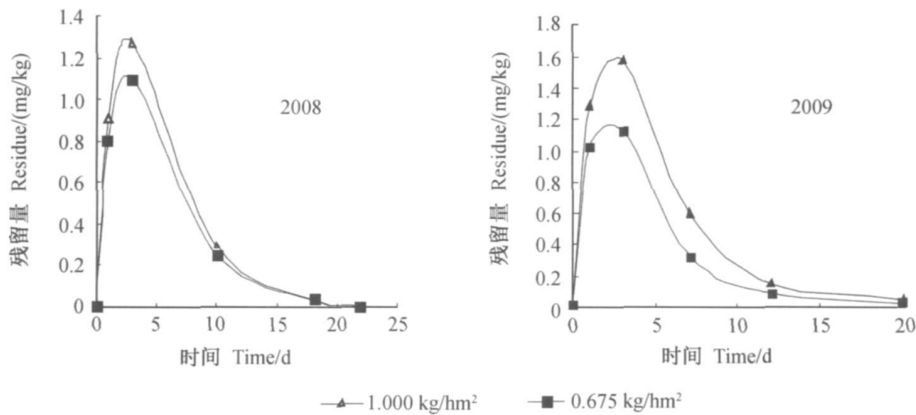


图 4 鲜根中多菌灵的消解动态曲线

Fig 4 Decline curve of carbendazim in fresh root

84.60%~98.33% 之间, RSD 低于 6.7%, 其分析方法准确可靠。2008 至 2009 两年的田间试验结果表明, 多菌灵 50% WP 在浙麦冬土壤中和茎叶上的半衰期分别为 5.74~7.07 d 和 3.60~5.35 d。多菌灵在浙麦冬根中的残留量先增后减, 在 2~3 d 达到最大值后的 $T_{1/2}$ 为 2.01~3.60 d。我国目前颁布的有关多菌灵的限量指标较多, 基本上采用了国际食品法典委员会 (CAC) 的限量标准。GB 2763-2005 对某些作物中多菌灵的 MRL 规定为: 大米、玉米、黄瓜、番茄、水果中 MRL ≥ 0.5 mg/kg, 花生、油菜籽中 MRL 为 0.1 mg/kg。欧盟 2007/12/EC 指令中对苯菌灵和多菌灵 (总量) 的限量比较严格, 指标均为 0.1 mg/kg。但多菌灵在浙麦冬等中药材上的 MRL 在国内外还未见报道。浙麦冬是我国的传统药材, 部分出口。鉴于其对病人的潜在危害及国内外相关标准, 笔者建议浙麦冬中多菌灵的 MRL 值采用比较严格的 0.1 mg/kg。本试验以多菌灵有效成分含量 0.675 和 1.000 kg/hm² 施药后 15 d 其在浙麦冬根部的残留量在 0.032~0.079 mg/kg 之间。因此, 若每年以 0.675 kg/hm² 剂量喷施 2 次, 安全间隔期为 15 d 就足以保证多菌灵在浙麦冬根中的残留量不超过 0.1 mg/kg。

致谢: 感谢慈溪市农业技术推广中心裘建荣的帮助。

参考文献:

[1] LU Qian-kai (刘乾开), ZHU Guo-nian (朱国念). Pesticide Manual (新编农药使用手册) [M]. 2nd (2版). Shanghai (上海): Shanghai Science and Technology Press (上海科学技术出版社), 1999: 309.

[2] CUPPEN J G M, VAN DEN BRINK P J CAMPS E, et al. Impact of the Fungicide Carbendazim in Fresh Water Microcosms I Water Quality Breakdown of Particulate Organic Matter and Responses of Macroinvertebrates [J]. Aquatic Toxicology, 2000, 48: 233-250.

[3] AKBARSHA M A, KADALMANI B, GRUA R, et al. Spermatotoxic Effect of Carbendazim [J]. Indian J Experimental Biol, 2001, 39: 921-924.

[4] NAKAIM, HESS R A. Effects of Carbendazim (Methyl 2-Benzimidazole Carbanate, MBC) on Meiotic Spermatocytes and Subsequent Spermatogenesis in the Rat Testis [J]. Anatomical Record, 1997, 247: 379-387.

[5] ZHANG Hao (张浩), WANG Yan (王岩), LU Zhong-bin (逯忠斌). 40% 多菌灵 SC 在大豆和土壤中的残留动态 [J]. Pesticides (农药), 2006, 10: 695-696.

[6] JIN Ren-yao (金仁耀), GUI Wen-jun (桂文君), SHOU Lin-fei (寿林飞), et al. 多菌灵在柑橘和土壤中的残留及降解动态研究 [J]. Jiangsu Agric Sci (江苏农业科学), 2005 (2): 111-114.

[7] GUO Rui-gang (郭瑞刚), FAN Chong-hui (范崇辉), ZHAO Zheng-yang (赵政阳), et al. HPLC 法对苹果中多菌灵残留及其消解动态的测定 [J]. Chinese Agric Sci Bull (中国农学通报), 2006, 22 (9): 63-65.

[8] FAN Dan (樊丹), GAN Xiao-ze (甘小泽), LU Yao-ying (卢耀英). 多菌灵在茶叶中的残留动态研究 [J]. J Agro-Environ Sci (农业环境科学学报), 2005 (Suppl): 298-300.

[9] TIAN Jin-gai (田金改), JIN Hong-yu (金红宇), PENG Fang (彭方), et al. 多菌灵在人参生长期的残留动态研究 [J]. Chinese Traditional and Herbs Drugs (中草药), 2006, 37 (9): 1413-1415.

[10] NY/T 788-2004. 农药残留试验准则 [S]. Beijing (北京): China Agriculture Press (中国农业出版社), 2004.

[11] NANNIPIERI P, BOLLAG J M. Use of Enzyme to Detoxify Pesticide Contaminated Soils and Waters [J]. J Environ Quality, 1991, 20: 510-517.

[12] XIANG Yue-qin (向月琴), GAO Chun-ming (高春明), PANG Guo-hui (庞国辉), et al. 土壤中多菌灵的降解动态及其对土壤微生物群落多样性的影响 [J]. Acta Pedologica Sinica (土壤学报), 2008, 45 (4): 699-704.

(Ed JIN SH)