

丙酯草醚在油菜和土壤中的残留动态研究

张少军^{1,2}, 杨更亮^{1,3}, 陈勇达², 郑振山², 王莉², 钱训²

(1.河北大学药学院, 河北 保定 071002; 2.河北省农林科学院遗传生理研究所, 河北 石家庄 050051; 3.中国科学院化学研究所分子科学中心, 北京 100080)

摘要:利用自行探索的液相色谱紫外检测方法研究了除草剂丙酯草醚在河北、湖北两地油菜和油菜田土壤中的残留规律。结果表明,该方法丙酯草醚最低检出浓度为 $0.006 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 添加浓度在 $0.01 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 范围内,回收率为 $81.0\% \sim 95.7\%$, 变异系数为 $1.56\% \sim 5.19\%$ 。丙酯草醚在河北、湖北两地油菜中的消解动态方程分别为 $C=2.56e^{-0.0903T}$ 和 $C=2.56e^{-0.115T}$, 在土壤中的消解动态方程分别为 $C=0.232e^{-0.0568T}$ 和 $C=2.01e^{-0.0639T}$, 在两地油菜中的半衰期分别为 7.67 d 和 6.05 d, 在两地土壤中的半衰期分别为 12.2 d 和 10.9 d。10%丙酯草醚悬浮剂用于油菜田除草, 施药剂量有效成分为 $45 \sim 60 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$, 施药 1 次, 收获期油菜籽及油菜植株中丙酯草醚残留量低于 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 土壤中丙酯草醚残留量低于 $0.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

关键词:丙酯草醚; 残留; 油菜; 土壤

中图分类号: X592 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2009)05-1037-05

Pyribambenz-propyl Residue Dynamics in Rape and Soil

ZHANG Shao-jun^{1,2}, YANG Geng-liang^{1,3}, CHEN Yong-da², ZHENG Zhen-shan², WANG Li², QIAN Xun²

(1.College of Pharmacy, Hebei University, Baoding 071002, China; 2.Institute of Genetics and Physiology, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050051, China; 3.Center for Molecular Science, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

Abstract: A method was developed to probe the residue dynamics of pyribambenz-propyl and its final residue state in rape and soil in Hebei and Hubei provinces of China. The samples of rape plant and soil were extracted with acetone, while the rapeseed was extracted with acetonitrile. The extracts were separated with methylene dichloride by liquid-liquid extraction and cleaned up with silica gel cartridges. A HPLC-UV detection was used to determine the residue of pyribambenz-propyl. The separation was carried out on a Hypersil XDB-C₁₈ column with a mobile phase of methanol/water (90:10) at a flow rate of $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. The detection wavelength was 305 nm. The limit of determination was $0.006 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. When the added concentration of pyribambenz-propyl ranged from $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ to $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, the recoveries changed from 81.0% to 95.7%, and the coefficients of variation varied from 1.56% to 5.19%. The results indicated that, the kinetic equations of pyribambenz-propyl degradation in rape plant were $C=2.56e^{-0.0903T}$ and $C=2.56e^{-0.115T}$ in Hebei and Hubei and the half lives were 7.67 d and 6.05 d, the kinetic equations of pyribambenz-propyl degradation in soil were $C=0.232e^{-0.0568T}$ and $C=2.01e^{-0.0639T}$ in Hebei and Hubei and the half lives were 12.2 d and 10.9 d, respectively. According to the research, when pyribambenz-propyl 10% aqueous suspension concentrate was applied one time to control the weeds in rape fields with the dosages of active ingredient of $45 \sim 60 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$, the final residues of pyribambenz-propyl in rapeseed and rape plant were less than $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, and the final residues in soil were less than $0.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Keywords: pyribambenz-propyl; residues; rape; soil

丙酯草醚是我国一种具有自主知识产权的新型化学除草剂, 具有高效、低毒、环境相容性好等优点, 其先导结构 2-嘧啶氧基-N-芳基苄胺类化合物(见图

1)具有国际原创性^[1], 已申请并获得了包括欧盟和美国在内的多个国家和地区的专利授权^[2-4]。丙酯草醚属于乙酰乳酸合成酶(ALS)抑制剂, 该药剂在植物体内主要通过根茎吸收并传导, 同时抑制缬氨酸、亮氨酸与异亮氨酸 3 种支链氨基酸的生物合成, 使植物蛋白质合成受到破坏, 细胞分裂受阻, 最终导致敏感植物生长受到抑制而死亡^[5]。丙酯草醚用于油菜田杂草防治, 具有杀草谱广和持效期长等优点, 对看麦娘、日本

收稿日期: 2008-08-28

基金项目: 国家自然科学基金(Nos20375010); 中国科学院“百人计划”项目; 农业部农药残留试验项目

作者简介: 张少军(1963—), 男, 河北定州人, 博士研究生, 研究员, 主要从事农药残留分析研究工作。E-mail: zhangshj601@sina.com

责任作者: 杨更亮 E-mail: ygl@mail.hbu.edu.cn

看麦娘、牛繁缕、小藜、蔊草、硬草、早熟禾、棒头草、刺果毛茛和荠菜等 10 种杂草的防效在 80% 以上^[6]。丙酯草醚原药毒性较低,大鼠(雌性)90 d 喂养无作用剂量为 $(76.55 \pm 4.4) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。目前国内外没有关于丙酯草醚残留分析方法的报道,国外文献对与其结构相近农药残留分析方法的报道显示,该类结构的化合物采用的前处理和仪器测定方法不尽相同^[7-17]。本研究根据丙酯草醚自身的理化性质,开发了样品经丙酮和乙腈提取,采用液相色谱紫外检测法测定丙酯草醚残留量的方法。该方法灵敏度、准确度和精确度都符合农药残留试验准则^[18]要求,在国内外属于首创性研究,为研究丙酯草醚在油菜及土壤中的残留行为提供了有效分析方法。本文依据残留实验结果,提出了丙酯草醚在油菜上的安全合理使用方法和最高残留限量(MRL)建议。

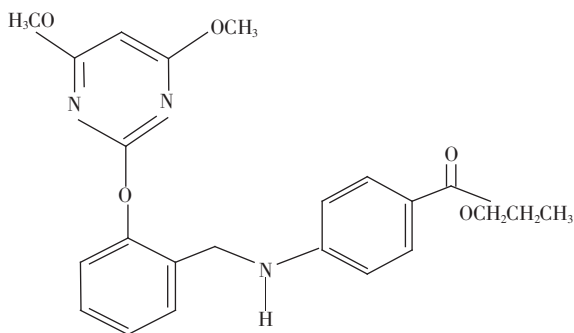


图 1 丙酯草醚

Figure 1 Pyribambenz-propyl

1 材料与方法

1.1 试验材料

河北试验点土壤类型属于石灰性褐土, pH 7.9, 油菜品种为豫油 2 号; 湖北试验点为黄棕壤土, pH 6.2, 油菜品种为中油杂 2 号。10% 丙酯草醚悬浮剂, 浙江省化工研究院、中科院上海有机化学研究所提供; 丙酯草醚标准品(99.5%), 浙江省化工研究院、中科院上海有机化学研究所提供; 硅胶柱: 120 mm×10 mm 玻璃柱, 下塞脱脂棉, 1 g 硅胶, 加 8 mL 正己烷调匀后湿法装柱, 上部以 1 cm 厚无水硫酸钠封顶, 用 5 mL 正己烷预淋。Agilent 1100 液相色谱仪, 带可变波长紫外检测器和色谱工作站。

1.2 试验方法

1.2.1 田间试验设计

10% 丙酯草醚悬浮剂在油菜上的消解动态试验: 试验设在河北省石家庄市和湖北省武汉市。设 3 个重

复小区, 每小区面积 30 m²。在油菜移栽活棵后施药, 对油菜进行喷雾, 应保证试验区油菜均匀受药, 施药剂量为有效成分 180 g·hm⁻²。施药后 1 h、1、3、7、14、21、30、45 d 随机采集油菜样品, 重量不少于 1 kg, 剪成 1 cm 碎段, 混匀缩分后贮存于-20 °C 冰柜内待测。

10% 丙酯草醚悬浮剂在土壤中的消解动态试验: 在试验地块附近另选一块表面平整、墒情适中的地块, 与油菜上消解动态试验同时施药, 对土壤表面喷雾, 施药剂量为有效成分 600 g·hm⁻², 施药后 1 h、1、3、7、14、21、30、45 d 随机采集土壤(0~10 cm 深)样品, 每次取样不少于 10 个点, 重量不少于 1 kg, 过 20 目筛, 混匀缩分后贮存于-20 °C 冰柜内待测。

10% 丙酯草醚悬浮剂在油菜和土壤中的最终残留量试验: 设两个施药剂量, 分别为有效成分 60 g·hm⁻² 和 90 g·hm⁻², 每个施药剂量设 3 个重复小区, 每小区面积为 30 m², 小区之间设保护行, 在油菜移栽活棵后一次施药, 应保证整个试验区均匀受药。在收获期分别采集油菜植株、油菜籽和土壤样品, 混匀缩分后贮存于-20 °C 冰柜内待测。

1.2.2 样品前处理

1.2.2.1 样品提取

50 g 土壤样品, 加入 80 mL 丙酮/水(2:1)浸泡提取 4 h, 超声波振荡 5 min, 抽滤, 用 30 mL 丙酮/水(2:1)洗滤渣, 合并提取液, 在 50 °C 下减压蒸除丙酮, 加入 50 mL 5% 氯化钠溶液, 用 30 mL×3 二氯甲烷萃取, 萃取液过无水硫酸钠柱脱水后减压蒸干。加 3 mL 正己烷溶解残留物, 待柱层析净化。

50 g 经粉碎的植株样品, 加入 80 mL 丙酮/水(2:1)匀浆提取, 抽滤。以下步骤同土壤样品。

50 g 经粉碎的油菜籽样品, 用 80 mL 乙腈匀浆提取(或浸泡 4 h, 超声波振荡 15 min), 抽滤, 用 30 mL 乙腈洗滤渣。用 30 mL×2 石油醚分配, 弃去醚相。乙腈相过无水硫酸钠柱脱水, 在 50 °C 下减压蒸干。加 3 mL 正己烷溶解残留物, 待柱层析净化。

1.2.2.2 样品净化

硅胶柱用 5 mL 正己烷预淋, 待液面降至硅胶顶部时, 将残留物上柱, 再用 1 mL 正己烷洗涤容器后上柱, 弃去淋出液, 依次用淋洗剂 A (甲苯/正己烷 65:35)、B (甲苯)、C (甲苯/丙酮 95:5) 各 3 mL 洗涤容器后上柱, 淋完后再各用 6 mL 淋洗剂分两次洗涤容器后上柱, 收集 C 组分淋出液, 定容至 10 mL。吸取 2 mL 置于 5 mL 试管中, 用氮气吹干, 用甲醇定容至 1 mL 用以 HPLC 测定。

1.2.3 色谱检测条件

色谱柱: Hypersil XDB-C₁₈, 4.0×250 mm, 5 μm; 流动相: 甲醇/水, 90:10; 流量: 0.8 mL·min⁻¹; 检测波长: 305 nm; 柱温: 30 ℃; 进样量: 5 μL。

在上述条件下, 丙酯草醚的保留时间为 5.8 min。

2 结果与分析

2.1 丙酯草醚残留分析方法

在上述色谱条件下, 测定丙酯草醚的标准系列溶液, 以峰面积对进样量作图, 绘制丙酯草醚的标准工作曲线, 在 0~50 ng 的进样范围内工作曲线线性良好, 其回归方程为 $y=5.1987x^{-0.2041}$, 相关系数 $r^2=0.9998$ 。该方法最小检出量为 2.5×10^{-10} g, 最低检出浓度为 $0.006\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。取空白油菜植株、油菜籽和土壤样品, 做添加回收率试验, 添加浓度为 0.01、0.1 和 $1.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 每个浓度做 3 个平行试验, 试验结果表明丙酯草醚的回收率在 81.0%~95.7% 之间, 变异系数在 1.56%~5.19% 之间(见表 1)。丙酯草醚的液相色谱谱图见图 2~图 5。从样品谱图看出, 该方法对丙酯草醚具有良好的分离效果, 灵敏度和准确度均符合农药残留试验准则要求, 可以用于丙酯草醚在油菜及土壤中的残留分析测定。

表 1 丙酯草醚在油菜和土壤中的添加回收率

Table 1 The recoveries of pyribambenz-propyl in rape and soil

样品名称	添加浓度/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	回收率/%				变异系数/ %
		I	II	III	平均	
油菜籽	0.01	80.9	79.5	82.6	81.0	1.56
	0.1	92.5	87.2	89.7	89.8	2.41
	1.0	87.2	84.9	83.5	85.2	1.79
植株	0.01	86.8	82.6	83.4	84.3	2.16
	0.1	96.2	87.6	85.4	89.7	5.19
	1.0	87.8	88.1	91	89.0	1.62
土壤	0.01	97.7	87.3	91.7	92.2	4.62
	0.1	93.5	95.1	98.6	95.7	2.48
	1.0	89.2	87	92.4	89.5	2.22

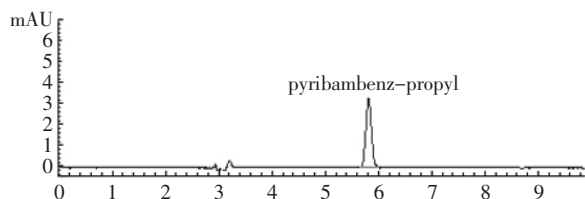


图 2 丙酯草醚标样色谱图($1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

Figure 2 Chromatograph of pyribambenz-propyl standard

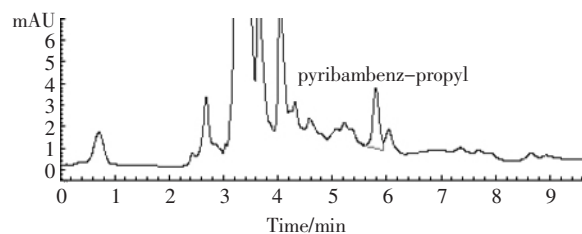


图 3 油菜植株添加样品色谱图

Figure 3 Chromatograph of spiked rape plant sample

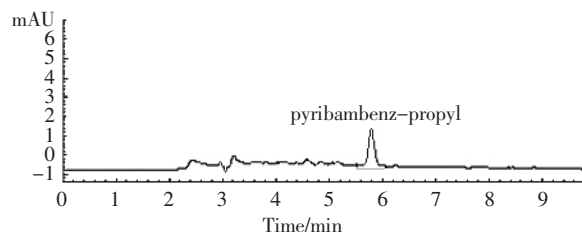


图 4 土壤添加样品色谱图

Figure 4 Chromatograph of spiked soil sample

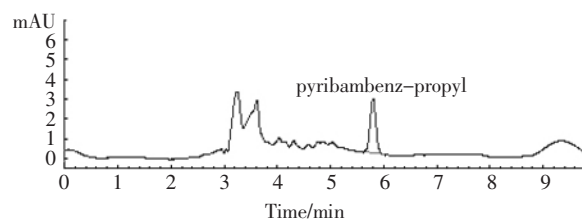


图 5 油菜籽添加样品色谱图

Figure 5 Chromatograph of spiked rapeseed sample

2.2 丙酯草醚在油菜和土壤中的消解动态规律

依据上述残留分析方法, 对河北和湖北两地的消解动态试验样品进行了分析测定, 测定结果见表 2 和

表 2 丙酯草醚在油菜植株中的消解动态

Table 2 The dynamic degradation of pyribambenz-propyl in rape plant

距施药天数/d	河北		湖北	
	残留量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	消解率/%	残留量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	消解率/%
0	4.81	—	3.40	—
1	2.75	42.8	3.24	4.70
3	2.03	57.8	3.02	11.2
7	0.542	88.7	1.21	64.4
14	0.492	89.8	0.388	88.6
21	0.450	90.6	0.125	96.3
30	0.260	94.6	0.013	99.6
45	0.040	99.2	0.070	97.9
$C=2.56e^{-0.0903T}$			$C=2.56e^{-0.115T}$	
消解方程	$r=-0.9484$		$r=-0.8815$	
	$T_{1/2}=7.67\text{ d}$		$T_{1/2}=6.05\text{ d}$	

表 3 丙酯草醚在土壤中的消解动态
Table 3 The dynamic degradation of pyribambenz-propyl in soil

距施药时间/d	河北		湖北	
	残留量/mg·kg ⁻¹	消解率/%	残留量/mg·kg ⁻¹	消解率/%
0	0.315	—	2.85	—
1	0.203	35.6	2.12	25.6
3	0.196	37.8	1.56	45.3
7	0.149	52.7	1.50	47.4
14	0.082	74.0	0.674	76.4
21	0.068	78.4	0.322	88.7
30	0.042	86.7	0.201	92.9
45	0.020	93.7	0.193	93.2
消解方程	$C=0.232e^{-0.0568T}$		$C=2.01e^{-0.0639T}$	
	$r=-0.9853$		$r=-0.9450$	
	$T_{1/2}=12.2\text{ d}$		$T_{1/2}=10.9\text{ d}$	

表 3。河北试验点施药当日丙酯草醚在油菜植株上的原始沉积量为 4.81 mg·kg⁻¹, 残留量按动态方程 $C=2.56e^{-0.0903T}$ 降解, 相关系数 $r=-0.9484$, 半衰期为 7.67 d; 在土壤中的原始沉积量为 0.315 mg·kg⁻¹, 残留量按动态方程 $C=0.232e^{-0.0568T}$ 降解, $r=-0.9853$, 半衰期为 12.2 d。湖北试验点施药当日丙酯草醚在油菜植株上的原始沉积量为 3.40 mg·kg⁻¹, 残留量按 $C=2.56e^{-0.115T}$ 降解, 相关系数 $r=-0.8815$, 半衰期为 6.05 d; 在土壤中的原始沉积量为 2.85 mg·kg⁻¹, 残留量按 $C=2.01e^{-0.0639T}$ 降解, 相关系数 $r=-0.9450$, 半衰期为 10.9 d。从两地的实验结果看出, 丙酯草醚属于易降解的农药, 两地油菜植株和土壤中的消解速率相比, 湖北一地的消解速率稍快, 与当地高温多雨等因素有关。

2.3 丙酯草醚在油菜和土壤中的最终残留

依据上述残留分析方法, 对河北和湖北两地的最终残留样品进行了分析测定, 测定结果见表 4。按推荐剂量有效成分 60 g·hm⁻² 和加强剂量有效成分 90 g·hm⁻², 于油菜移栽活棵后 1 次施药, 收获期油菜籽及植株中丙酯草醚残留量均在 0.01 mg·kg⁻¹ 以下, 土壤中丙酯草醚残留量在 0.02 mg·kg⁻¹ 以下。

表 4 丙酯草醚在油菜和土壤中的最终残留量
Table 4 The final residues of pyribambenz-propyl in rape and soil

施药剂量/ g·hm ⁻²	残留量/mg·kg ⁻¹					
	河北			湖北		
	植株	菜籽	土壤	植株	菜籽	土壤
60	ND	ND	ND	ND	ND	ND
90	ND	ND	ND	ND	ND	ND
60	ND	ND	ND	ND	ND	ND
90	ND	ND	0.018	ND	0.007	ND

3 结论

试验采用液相色谱紫外检测法测定油菜及土壤中丙酯草醚的残留量, 方法灵敏度和准确度等指标均符合农药残留试验准则要求, 且操作简单, 检测成本低。目前, 国内外尚未制定丙酯草醚在油菜籽中的残留限量, 韩国规定嘧啶类除草剂在油菜籽中的残留限量为 2~5 mg·kg⁻¹, 根据丙酯草醚的毒力测定数据, 建议将丙酯草醚在油菜籽中的 MRL 值定为 2 mg·kg⁻¹。根据试验结果, 10%丙酯草醚悬浮剂用于油菜田, 主要防治看麦娘、日本看麦娘, 兼防繁缕、雀舌草等其他越冬阔叶杂草, 施药剂量有效成分为 45~60 g·hm⁻², 在油菜移栽活棵后喷施, 施药 1 次, 收获期油菜籽中丙酯草醚残留量在 0.01 mg·kg⁻¹ 以下, 食用安全。

参考文献:

[1] 唐庆红, 陈 杰, 吕 龙. 新型高效油菜田除草剂丙酯草醚的创制研究[J]. 农药, 2005, 44(11):496-502.
TANG Qing-hong, CHEN Jie, LU Long. An innovative research for novel rape herbicide ZJ0273[J]. *Pesticides*, 2005, 44(11):496-502.

[2] LU L, Chen J, Wu J, et al. New 2-Pyrimidinyl-oxy-n-aryl-benzylamine derivatives, their processes and uses; EP, 1327629[P]. 2007-11-14.

[3] LU L, Chen J, Wu J, et al. 2-Pyrimidinyl-oxy-n-aryl-benzylamine derivatives, their processes and uses; US, 6800590[P]. 2004-10-5.

[4] 吕 龙, 吴 军, 陈 杰, 等. 2-嘧啶氧基苄基取代苯基胺类衍生物: ZL, 00130735. 5[P]. 2002-05-15.
LU Long, WU Jun, CHEN Jie, et al. 2-Pyrimidinyl-oxy-n-aryl-benzylamine derivatives; ZL, 00130735. 5[P]. 2002-05-15.

[5] 陈 杰, 袁 军, 刘继东, 等. 新型除草剂丙酯草醚的作用机理[J]. 植物保护学报, 2005, 32(1):48-52.
CHEN Jie, YUAN Jun, LIU Ji-dong, et al. Mechanism of action of the novel herbicide ZJ0273[J]. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2005, 32(1):48-52.

[6] 唐庆红, 陈 杰, 沈国辉, 等. 油菜田新型除草剂丙酯草醚的应用技术[J]. 植物保护学报, 2006, 33(3):328-332.
TANG Qing-hong, CHEN Jie, SHEN Guo-hui, et al. Research on application techniques for a novel herbicide 10% ZJ0273 EC on transplanted rapeseed[J]. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2006, 33(3):328-332.

[7] Fischer A J, Bayer D E, Carriere M D, et al. Mechanisms of resistance to bispyribac-sodium in *anechinochloa phyllopogon* accession[J]. *Pestic Biochem Phys*, 2000, 68(3):156-165.

[8] Hirahara Y, Kimura M, Inoue T, et al. Validation of multiresidue screening methods for the determination of 186 pesticides in 11 agricultural products using gas chromatography (GC)[J]. *J Health Sci*, 2005, 51(5):617-627.

[9] Kim B H, Kim H J, Ok J H, et al. Analysis of a new herbicide(Pyribenzoxim)residues in soil using direct extract injection HPLC with column switching[J]. *J Liq Chromatogr R T*, 2001, 24(5):669-678.

- [10] Kim B H, Ok J H. Liquid chromatographic determination of novel aminithiazolecarboxamide fungicide residues in soil and crops using on-line solid-phase extraction[J]. *J Chromatogr Sci*, 2004, 42(7):366-370.
- [11] Lagan A, Fago G, Marino A, et al. Liquid chromatography mass spectrometry tandem for multiresidue determination of selected post-emergence herbicides after soil column extraction[J]. *Anal Chim Acta*, 2000, 415(1-2):41-56.
- [12] Liu K H, Moon J K, Sung H J, et al. In vivo pharmacokinetics of pyribenzoxim in rats[J]. *Pest Manag Sci*, 2001, 57(12):1155-1160.
- [13] Maycock R, Hastings M, Portwood D. Ultra-trace analysis of metasulam, a new triazolopyrimidine herbicide, in soil using LC-UV and TSP-LC-MS[J]. *Int J Environ An Ch*, 1995, 58(1):93-101.
- [14] Okihashi M, Takatori S, Kitagawa Y, et al. Simultaneous analysis of 260 pesticide residues in agricultural products by gas chromatography/triple quadrupole mass spectrometry[J]. *J Aoc Int*, 2007, 90(4):1165-1179.
- [15] Ono Y, Yamagami T, Nishina T, et al. Pesticide multiresidue analysis of 303 compounds using supercritical fluid extraction[J]. *Anal Sci*, 2006, 22(11):1473-1476.
- [16] Pirard C, Widart J, Nguyen B K, et al. Development and validation of a multi-residue method for pesticide determination in honey using on-column liquid-liquid extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1152(1-2):116-123.
- [17] Rodríguez-Delgado M Á, Hernández-Borges J. Rapid analysis of triazolopyrimidine sulfoanilide herbicides in waters and soils by high-performance liquid chromatography with UV detection using a C₁₈ Monolithic Column[J]. *J Sep Sci*, 2007, 30(1):8-14.
- [18] 刘光学, 乔雄梧, 陶传江, 等. NY/T 788—2004 农药残留试验准则[S]. 北京:中国农业出版社, 2004.
- LIU Guang-xue, QIAO Xiong-wu, TAO Chuan-jiang, et al. NY/T 788—2004 Guideline on pesticide residue trials[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2004.