

青枯灵 20%WP 在水稻上残留行为的研究

赵卫星, 杨仁斌, 龚道新, 邹雅竹, 李彦文

(湖南农业大学农业环境保护研究所, 湖南 长沙 410128)

摘要:借助高效液相色谱梯度淋洗分析技术,研究了青枯灵在水稻中的降解与残留行为。结果表明,青枯灵在水稻植株、土壤和稻田水中的降解符合一级化学反应动力学方程 $C_t=C_0e^{-kt}$ 。青枯灵在水稻植株中的降解半衰期为 2.3~2.6 d,在土壤中的降解半衰期为 4.4~4.5 d,在稻田水中为 0.9~1.0 d。青枯灵 20%WP 按推荐剂量和高剂量施于水稻田后,在水稻中的残留情况表现为明显的接触性残留,其残留分布情况为:稻壳>稻草>糙米>稻田土壤。建议将青枯灵在水稻糙米中的 MRL 值暂定为 0.3 mg·kg⁻¹。建议在水稻生长期,用青枯灵 20%WP 按推荐剂量喷雾防治病害,最多施药 3 次,且最后 1 次施药距收获 20 d 以上,这样收获的水稻食用是安全的。

关键词:青枯灵; 水稻; 残留; 动态; 行为

中图分类号:X592 文献标识码:A 文章编号:1672-2043(2005)05-1022-05

Residue and Fate of Qingkuling 20% WP in Rice

ZHAO Wei-xing, YANG Ren-bin, GONG Dao-xin, ZOU Ya-zhu, LI Yan-wen

(Institute of Agro-Environmental Protection ,Hunan Agricultural University ,Changsha 410128, China)

Abstract: Residue and behavior of qingkuling in rice was studied by washing-gradient of liquid chromatography. The results indicated that degradation of qingkuling in plant, soil, paddy water samples was accordance with the one-level dynamic equation $C_t=C_0e^{-kt}$ with correlation coefficients from 0.812 5 to 0.993 4. The half life of qingkuling in paddy soil was found to be from 4.4 to 4.5 days, while in plant was from 2.3 days to 2.6 days, in paddy water was from 0.9 to 1.0 days, respectively. The degradation speed was in an order: paddy water> plant> soil. Residue distribution order of qingkuling in paddy environment was: hull> stalk > rice > soil after application according to recommended dosage and high dosage of qingkuling 20% WP. Residue and behavior of Qingkuling in rice reflected that it was an obvious contacting residue regulation process. The MRL of Qingkuling in rice may be suggested to be 0.3 mg·kg⁻¹ temporarily after two-year continuous study testified in Changsha. Just in order to prevent from diseases and pests, recommended dosage of qingkuling 20% WP were applied to the rice environment during the growth period of rice with 3 application times mostly and 20 days intervals between the last application and harvest time. After that the rice harvested was edible safely.

Keywords: qingkuling; rice; residue; dynamic; behavior

青枯灵原药及青枯灵 20%WP 系有机硫杀菌剂,其有效成分与叶枯灵的有效成分相同。纯品为白色结晶固体,熔点 145 ℃~146 ℃,易溶于二甲亚砜,溶于三氯甲烷、丙酮、二氯甲烷,微溶于甲醇,难溶于石油醚、正己烷、水等。属中等毒性,大鼠经口 LD₅₀ 分别为

109.7 和 132 mg·kg⁻¹,对大鼠无明显蓄积作用;对 DNA 无损伤作用,无致癌致畸作用,对大鼠亚慢性毒性的最大无作用剂量为 3.6 mg·kg⁻¹[1,2]。目前国内大多集中在毒理、动物体内残留代谢方面的研究[3-12],而残留分析方法虽有报道[13],但在水稻环境中的残留行为未见报道。田间试验表明其对水稻白叶枯病具有良好的防治效果。

本研究的目的是为指导青枯灵的安全合理使用、保证农产品消费的安全性以及为制定青枯灵在水稻上安全合理使用标准提供科学依据。

收稿日期:2004-11-29

基金项目:农业部下达科研课题的一部分(2002051)

作者简介:赵卫星(1978—),男,湖南农业大学硕士研究生,研究方向为环境污染物检测及技术。E-mail:zhysh1018@yahoo.com.cn

联系人:杨仁斌 E-mail:yrb@hunau.net

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试农药

青枯灵 20%WP, 浙江省温州市鹿城植保化学有限公司提供。

1.1.2 供试作物

晚稻(中优 402), 生长于湖南农业大学教学试验基地。

1.1.3 仪器设备与试剂

仪器: HP-1100 型高效液相色谱仪(美国惠普公司生产, 带紫外检测器), K-D 浓缩器, 旋转蒸发器, 玻璃层析柱(直径 1.5 cm×20 cm), 分液漏斗(250 mL、500 mL), 石英双蒸馏水器。

试剂: 三氯甲烷、甲醇、氯化钠、无水硫酸钠等均为分析纯; 色谱甲醇(HPLC 级); 弗罗里硅土(Florisil)经 650 ℃烘 4 h, 5%双蒸馏水脱活^[4]; 青枯灵标准样品纯度 99.4%, 浙江省温州市鹿城植保化学有限公司提供。

Florisil 柱: 2.0 cm 厚无水硫酸钠+4.0 g Florisil 硅土+2.0 cm 厚无水硫酸钠。用 30 mL 三氯甲烷和甲醇混合液(1:1, V/V)预淋洗, 备用。

1.2 试验设计

1.2.1 青枯灵在水稻、土壤、稻田水中的降解动态

水稻移栽 2 周后, 用青枯灵 20%WP 4 500 g·hm⁻², 兑水 750 L(有效浓度 1 200 mg·L⁻¹)均匀喷施水稻植株(每小区面积 67 m², 重复 3 次), 施药后 2 h 和 1、2、3、5、7、14、21、28 d 按对角线法分别采集稻田水 2 000 mL、植株和稻田土壤各约 1 kg 样品。

1.2.2 青枯灵在水稻、土壤中的最终残留试验

于水稻生长期, 在稻田设置试验小区(每小区 67 m², 重复 3 次, 同时设不施药对照区), 施药剂量为 2 种: 推荐剂量区为青枯灵 20%WP 2 250 g·hm⁻², 兑水 750 L(有效浓度为 600 mg·L⁻¹); 高剂量区为青枯灵 20%WP 4 500 g·hm⁻², 兑水 750 L(有效浓度为 1 200 mg·L⁻¹)。施药 2 次和 3 次, 每次施药间隔 10 d, 施药安全间隔期(即最后一次施药距收获的天数)为 20 d 和 30 d。按时收割水稻和采集耕作层(0~15 cm)土壤样品。

1.3 试验步骤

1.3.1 样品的制备

稻田水: 用定性滤纸过滤, 立即分析测定。

土壤: 去掉砂石和植物残体, 用四分法缩分, 粉碎

后过 20 目筛, 立即分析测定。

水稻植株、稻草、稻壳、糙米: 水稻植株、稻草切碎, 立即分析测定; 稻谷脱壳后分别粉碎糙米和稻壳, 过 20 目筛, 立即分析测定。

1.3.2 分析步骤

稻田水: 准确量取 100 mL 稻田水置于 500 mL 分液漏斗中, 加入 30 mL 10%氯化钠溶液。依次用 40、30、20 mL 三氯甲烷萃取, 合并萃取液浓缩至约 1 mL, 再用氮气流吹至近干, 色谱甲醇定容, 待测。

土壤、水稻植株、稻草、稻壳、糙米: 准确称取土壤样品 20 g(水稻植株 20 g, 糙米 20 g, 稻草、稻壳样品 10 g)置于 250 mL 具塞三角烧瓶中, 加入 80 mL 甲醇与水(1:1, V/V)混合液(稻草中加入 130 mL), 恒温振荡提取 2 h, 减压抽滤, 用甲醇与水(1:1, V/V)混合液多次洗涤残渣, 合并滤液于 500 mL 分液漏斗中, 加入 30 mL 10%氯化钠溶液(稻草用 20%氯化钠溶液), 依次用 40、30、20 mL 三氯甲烷萃取。合并萃取液浓缩至约 1 mL, 将其转移至 Florisil 柱中, 用三氯甲烷: 甲醇混合液(1:1, V/V)淋洗, 收集淋洗液 65 mL, 浓缩至约 1 mL, 用氮气流吹至近干, 色谱甲醇定容, 待测。

1.3.3 液相色谱测定条件

HP-1100 型液相色谱仪(美国惠普公司生产, 带紫外检测器), ODS 柱(4.0 mm×25 cm×10 μm), 检测波长 281 nm, 流动相为甲醇与水混合液(用磷酸调节 pH 值为 3), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 37 ℃。

HPLC 测定条件①(水稻植株、稻草、稻壳样品采用的梯度淋洗检测条件): 甲醇: 水(30:70, V/V), 保持 6 min; 甲醇: 水(40:60, V/V), 保持 4 min; 甲醇: 水(50:50, V/V), 保持 4 min; 共运行 14 min。青枯灵保留时间 10.81 min。

HPLC 测定条件②(稻田水、土壤、糙米样品采用的梯度淋洗检测条件): 甲醇: 水(30:70, V/V), 保持 3 min; 甲醇: 水(70:30, V/V), 保持 5 min; 共运行 8 min。青枯灵保留时间 6.50 min。

青枯灵在各类样品中的色谱图见图 1。

1.3.4 最小检出量

在 HPLC 测定条件①下, 青枯灵最小检出量为 2.06×10⁻¹⁰g; 在 HPLC 测定条件②下, 青枯灵最小检出量为 1.82×10⁻¹⁰g。

1.3.5 青枯灵在各类样品中的最小检出浓度

青枯灵在稻田水、土壤、糙米、稻壳、稻草、水稻植株的最小检出浓度分别为: 0.001、0.005、0.01、0.03、0.03、0.03 mg·L⁻¹。

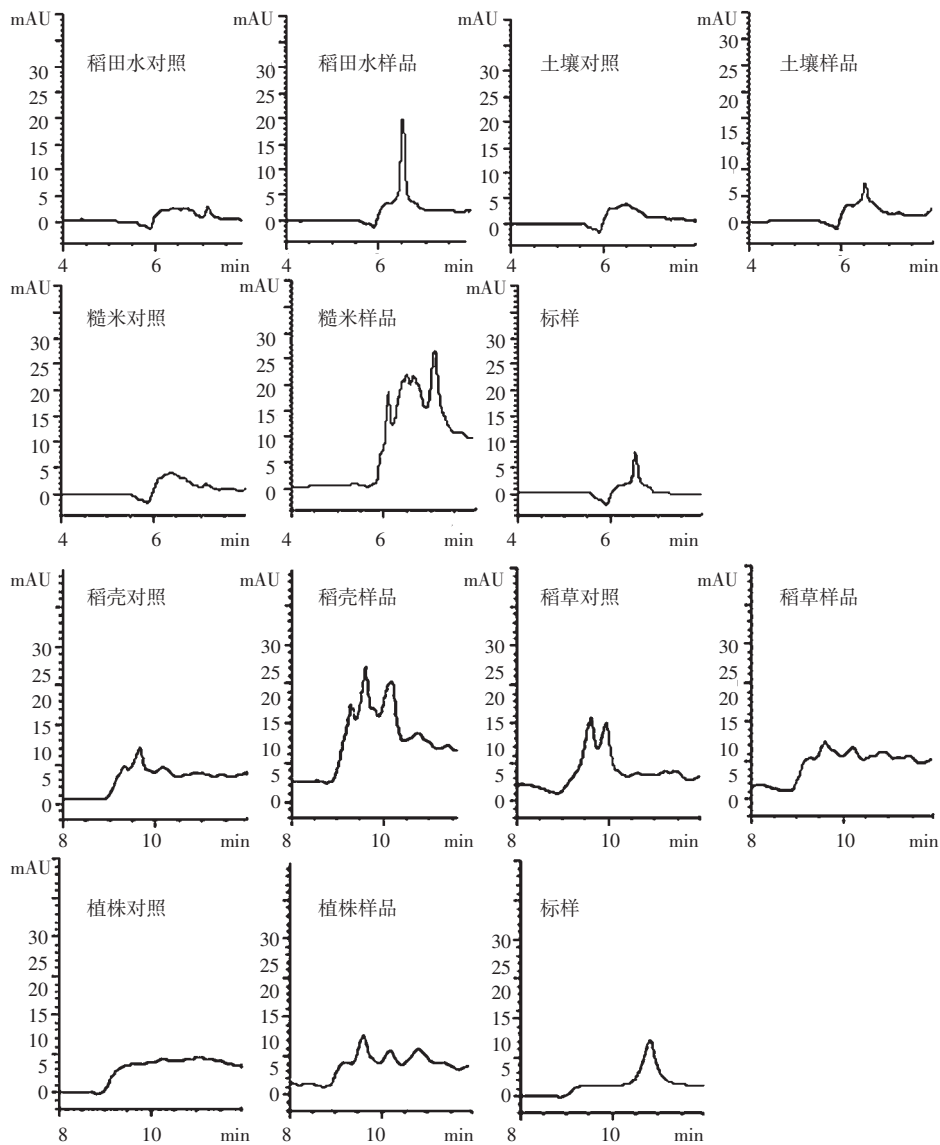


图 1 青枯灵在水稻样品中的色谱图

Figure 1 Chromatograms of Qingkuling in rice samples

2 结果与分析

2.1 青枯灵在稻田水、稻田土壤和水稻植株中的消解动态结果

在水稻移栽 2 周后, 用青枯灵 20%WP 4 500 g·hm⁻² 兑水 750 L(有效浓度 1 200 mg·L⁻¹) 均匀喷施水稻植株(施药 1 次), 青枯灵在稻田水、稻田土壤和水稻植株中消解动态及消解方程分别见表 1 和表 2。

结果表明, 青枯灵在稻田水、稻田土壤和水稻植株的降解符合一级化学反应动力学方程式 $C_t = C_0 \cdot e^{-kt}$, 其在稻田水中半衰期 2002 年为 0.9 d, 2003 年为 1.0 d; 在稻田土壤中分别为 4.4 d 和 4.5 d; 在水稻植株中

分别为 2.6 d 和 2.3 d。

2.2 青枯灵在糙米、稻壳、稻草、土壤中的最终残留测定结果

用青枯灵 20%WP 按推荐剂量和高剂量喷雾处理后, 青枯灵在糙米、稻壳、稻草和稻田土壤中的最终残留测定结果见表 3。

从表 3 可以看出: 按推荐剂量处理, 2002—2003 年在湖南连续 2 年试验, 青枯灵残留量在糙米为未检出, 稻壳中为未检出~0.460 2 mg·kg⁻¹, 稻草中为未检出~0.047 7 mg·kg⁻¹, 土壤中为未检出; 按高剂量处理, 2002—2003 年在湖南连续两年试验, 青枯灵残留量在糙米中为未检出~0.038 1 mg·kg⁻¹, 稻壳中为未检

表 1 青枯灵在稻田水、稻田土壤、水稻植株中的消解动态结果

Table 1 Dynamic degradation of Qingkluling in paddy water, soil and plant tissue

采样时间 (施药后天数/d)	2002 年样品残留量/mg · kg ⁻¹			2003 年样品残留量/mg · kg ⁻¹		
	稻田水	稻田土壤	水稻植株	稻田水	稻田土壤	水稻植株
0.08※	0.596 3	0.071 0	1.214 0	0.212 5	0.088 9	2.196 9
1	0.287 9	0.051 2	0.813 4	0.096 5	0.079 0	1.437 0
2	0.005 2	0.042 7	0.418 7	0.047 3	0.071 2	0.925 2
3	0.004 8	0.034 2	0.247 2	0.012 2	0.066 0	0.202 3
5	0.004 6	0.027 2	0.075 3	0.003 7	0.047 3	0.103 6
7	0.002 4	0.021 7	0.054 1	0.002 3	0.029 8	0.066 1
14	LOD	0.007 0	0.030 5	LOD	0.007 2	0.031 7
21	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD
28	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD

注:LOD 表示低于方法的最小检出浓度;表中数据为 3 次重复的平均值。

表 2 青枯灵在稻田水、稻田土壤、水稻植株的消解方程和半衰期

Table 2 Degradation equation and half lives of Qingkuling in paddy water, soil and plant tissues

时间与地点	样品名称	消解方程	相关系数 <i>r</i>	半衰期/d
2002 年长沙	稻田水	$y=0.184\ 1e^{-0.755\ 6x}$	0.812 5	0.9
	稻田土壤	$y=0.061\ 3e^{-0.156x}$	0.993 4	4.4
	水稻植株	$y=0.681\ 4e^{-0.267\ 7x}$	0.903 9	2.6
2003 年长沙	稻田水	$y=0.168\ 5e^{-0.685\ 6x}$	0.975 2	1.0
	稻田土壤	$y=0.095\ 0e^{-0.153x}$	0.983 8	4.5
	水稻植株	$y=1.138\ 4e^{-0.307\ 6x}$	0.892 4	2.3

表 3 青枯灵在水稻上的最终残留结果

Table 3 Final residue results of Qingkuling in rice tissues and seeds

施药剂量 (青枯灵 20%WP)	施药次数	安全间 隔期/d	2002 年样品中的残留量/mg · kg ⁻¹				2003 年样品中的残留量/mg · kg ⁻¹			
			糙米	稻壳	稻草	稻田土壤	糙米	稻壳	稻草	稻田土壤
推荐剂量 (2 250 g · hm ⁻²)	2	30	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD
		20	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	0.3220	LOD	LOD
	3	30	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD
		20	LOD	0.089 4	LOD	LOD	LOD	0.460 2	0.047 7	LOD
高剂量 (4 500 g · hm ⁻²)	2	30	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD
		20	0.010 7	0.328 7	LOD	LOD	LOD	0.889 9	0.338 8	LOD
	3	30	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD
		20	0.013 7	0.744 4	0.222 8	LOD	0.038 1	1.244 0	0.756 1	LOD
对照	—	30	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD
		20	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD

注:LOD 表示低于方法的最小检出浓度;表中数据为 3 次重复的平均值。

出~1.244 0 mg · kg⁻¹, 稻草中为未检出~0.756 1 mg · kg⁻¹,土壤中为未检出。

2.3 分析

我国及 FAO/WHO 尚未制定青枯灵的 ADI 值及在糙米中的 MRL 值。据报道,青枯灵对大鼠亚慢性毒性的最大无作用剂量为 3.6 mg · kg⁻¹, 设安全系数为 1 000,由此可推算青枯灵的 ADI 值应为 0.003 6 mg · kg⁻¹ · d⁻¹,根据 ADI 值与 MRL 的换算公式

$MRL=EW/SFC=(ADI\times W)/FC^{[15]}$

式中:*E* 为最大无作用剂量,为 3.6 mg · kg⁻¹; *W* 为平均人均体重,65 kg; *S* 为安全系数,10~1 000; *F* 为每人每日食品总量,为 1.21 kg; *C* 为食品因子,该食品在食品总量中所占的比例,为 70%)。

可推算出青枯灵在糙米中的 MRL 值为 0.28 mg · kg⁻¹. 建议我国青枯灵在糙米中的 MRL 值暂定为 0.3 mg · kg⁻¹. 本试验连续 2 年在湖南长沙的自然条件下,在水稻生长期用青枯灵 20%WP 按推荐剂量和高剂量喷雾施药,最多施药 3 次。最后 1 次施药距收获的

天数为 20 d 和 30 d,收获的水稻糙米中青枯灵的残留量均远低于 0.3 mg·kg⁻¹。

3 讨论

从图 1 可知,糙米和稻壳样品的色谱峰并不好,原因是糙米和稻壳中的杂质及其他一些成分并未能很好地去掉,虽然检测时采用了液相色谱梯度淋洗,杂质也相应出峰,但对测定无影响。青枯灵在稻田水、土壤、植株中的动态降解中,在水中的降解最快,植株次之,土壤最慢,可能是因为:水体中存在的有机质、腐殖质起到了很好的降解催化作用;太阳光的照射加速了青枯灵在植株中的降解;在土壤中则存在多种土壤酶,而某些土壤酶却减缓了青枯灵的降解。具体原因还需要进一步的研究证实。

4 结论

根据本试验结果建议在水稻生长期,用青枯灵 20%WP 按推荐剂量 2 250 g·hm⁻² 兑水 750 L,喷雾防治病害,最多施药 3 次,最后 1 次施药距收获 20 d 以上,收获的水稻食用是安全的。

参考文献:

[1] 何 明,张成琬,罗显芝.新杀菌剂叶枯灵防治水稻白叶枯病研究[J].植物保护学报,1990,17(1):83-87.

[2] 孙锦铃,朱振华,曾祥贵,等. 新农药叶枯灵的毒性研究[J]. 重庆环境科学,1989,11(6):11-15.

[3] 王 宇,李正化,高 宁.气相色谱-质谱联机分离鉴定叶枯灵的代谢物[J].现代预防医学,1992,19(4):193-194.

[4] 高 宁,孙棉龄,王 宇.大鼠肝灌流中叶枯灵及其代谢产物的高效液相色谱测定方法研究[J].中国环境科学,1992,12(3):231-235.

[5] 高 宁,孙棉龄,王 宇.叶枯灵在大鼠体内的代谢研究[J].中华预防医学杂志,1992,26(2):70-73.

[6] 高 宁,孙棉龄,王 宇.体外代谢系统中叶枯灵及其代谢产物的 HPLC 测定方法研究[J].重庆环境科学,1992,14(2):1-5,14.

[7] 叶利民,王 宇,李章万.傅里叶变换红外差示光谱对农药叶枯灵的超微量样品鉴定[J].分析化学,1991,19(4),446-448.

[8] 王 宇,李正化,高 宁.叶枯灵在大鼠尿内的代谢产物分析[J].中国药理学与毒理学杂志,1992,6(4):301-304.

[9] 朱钦德,游心涛,杨卫东.兔血中叶枯灵的代谢产物的分离和鉴定[J].华西药学杂志,1991,6(4):189-191.

[10] 王 宇,李正化,高 宁.高效液相色谱测定尿中叶枯灵及其代谢产物[J].现代预防医学,1993,20(2):102-104.

[11] 朱振华,高 宁,何建邯,等.农药叶枯灵对大鼠离体灌流肝的影响[J].卫生毒理学杂志,1991,5(2):113-114.

[12] 王 宇,李正化,高 宁.尿中叶枯灵及其代谢物的分析及代谢研究[J].中华劳动卫生职业病杂志,1993,11(4):223-225.

[13] 孙爱民,杨卫东,薄 丽,等.地面水中叶枯灵的高效液相色谱测定[J].四川环境,1995,14(2):55-56.

[14] 樊德方.农药残留量分析与检测[M].上海:上海科技出版社,1982.18-20.

[15] 徐晓白,戴树桂,黄玉瑶.典型化学污染物在环境中的变化及生态效应[M].北京:科学出版社,1998.347-348.