



白术规范化种植中农药多菌灵安全使用标准的研究

林建¹, 魏厚道¹, 王天玉¹, 吴加伦^{1*}, 薛健²

(1. 浙江大学 农药与环境毒理研究所, 浙江 杭州 310029;

2. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193)

[摘要] 目的:研究了多菌灵在白术根、土壤中的残留消解动态,并对其安全使用标准进行了讨论。方法:采用甲醇提取,液液分配净化,高效液相色谱分析。结果:不同添加浓度下回收率为86.1%~98.3%,RSD 1.0%~6.5%,满足农药残留检测要求。田间试验分别用推荐剂量(0.675 kg a. i. · hm⁻²)和1.5倍推荐剂量(1.000 kg a. i. · hm⁻²)进行处理,2年两地结果表明,多菌灵50% WP在白术土壤中的半衰期为6.51~7.98 d,在根中残留趋势为先升后降,半衰期为4.51~6.50 d,初加工后干样多菌灵的残留量为0.042~0.433 mg · kg⁻¹,明显高于加工前新鲜样品残留量。结论:如果多菌灵在白术及其土壤中的MRL(最大残留限量)值推荐为0.2 mg · kg⁻¹,建议按照常规剂量(0.675 kg a. i. · hm⁻²)每年喷施2次,白术上最后一次使用多菌灵距收获的安全间隔期可考虑暂定为21 d。

[关键词] 白术;多菌灵;消解;安全间隔期

白术,是著名的中药“浙八味”之一,具有健脾益气,燥湿利水,止汗,安胎等功效,用于脾虚食少,腹胀泄泻,痰饮眩悸,水肿,自汗,胎动不安等症,是中医治病的常用药。种植期间,立枯病、根腐病、白绢病、斑枯病及锈病危害严重,种植者常采用农药多菌灵进行病害防治。

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,对子囊菌、担子菌以及半知菌类中的大多数病原菌都较好的防治效果^[1],广泛用于水果、蔬菜、中草药等的病害防治。多菌灵高效低毒,残效期较长,对动、植物及人体有一定危害,已有研究表明,多菌灵能够影响哺乳动物精母细胞的减数分裂^[2-3]。因此,国内外越来越重视多菌灵的残留及其对环境的影响,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。樊丹等报道,多菌灵在茶叶和土壤中的降解半衰期分别为5.3,5.9 d^[4];吴剑威等报道,多菌灵

在中药大青叶中的降解半衰期为2.92~2.74 d^[5]。此外,多菌灵在大豆、柑橘等上面的残留消解研究也时有报道^[6-7],对其安全科学使用提出了一些合理化建议。但多菌灵在白术上的残留动态还未见报道。本文报道多菌灵在白术及其土壤中的残留与消解动态,旨在为白术GAP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

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;旋转蒸发器(R-201型);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(60~90℃)经过全玻璃蒸馏装置重蒸;无水硫酸钠经450℃灼烧4h,用前130℃烘2h;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(四川国光农化有限公司);多菌灵对照品100 mg · kg⁻¹(纯度>99%),购于中国标准技术开发公司标样部。

2 方法

2.1 田间消解动态试验

本试验于2008年9月25日—11月10日在浙

[稿件编号] 20091219008

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09502-027);浙江省社会发展项目(2008C23061)

[通信作者] *吴加伦,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,Tel:(0571)86971221,E-mail:jlwu@zju.edu.cn



江磐安县新渥镇、2009 年 9 月 27 日—11 月 12 日在浙江磐安县道地产区新渥、缙云县白竹乡两镇进行, 试验分 2 个小区, 每小区面积约 30 m²。试验设施药剂量为 0.675 kg a. i. · hm⁻² (推荐剂量) 和 1.000 kg a. i. · hm⁻² (1.5 倍剂量) 2 个处理, 50% 多菌灵可湿性粉剂兑水后, 用背负式手动喷雾器均匀喷洒。每小区施药 2 次, 第 1 次以 0.675 kg a. i. · hm⁻² (推荐剂量) 在距离白术收获时间大约 45 d 普施所有用药小区, 第 2 次施药距离收获大约 30 d, 以 0.675, 1.000 kg a. i. · hm⁻² 分别对 2 个小区施药, 并每间隔 2 h, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 30 d 进行取样。按照《农药残留试验准则》进行采样和样品处理^[8]。数据经 DPS 统计软件分析。

2.2 最终残留试验及初加工后样品检测

试验将施药后 21, 30 d 样品残留量作为最终残留结果。初加工方法采用生切片后晒干。

2.3 样品制备

新鲜根切碎混匀, 土壤自然风干后过 20 目筛, 干燥根中药粉碎机粉碎混匀。

称取土壤样品 20.0 g, 置于 250 mL 带螺纹盖样品瓶中, 加入约 1.0 g 助滤剂、80 mL 甲醇和 0.2 mol · L⁻¹ 的盐酸 10 mL, 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, 经旋转蒸发器减压浓缩至 10 mL 左右, 转移到 250 mL 分液漏斗中, 加入 0.2 mol · L⁻¹ 的盐酸 10 mL 和 40 mL 水, 混匀, 再加 40 mL 石油醚, 震荡 1 min, 静置, 弃去有机相, 水相用 1 mol · L⁻¹ 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。

准确称取新鲜白术根样品 5.0 g, 置于 250 mL 样品瓶中, 加入 80 mL 甲醇, 在匀浆机中高速匀浆

1 min, 转移入 250 mL 带罗纹盖样品瓶, 加入约 1.0 g 助滤剂, 旋紧罗纹盖, 超声提取 30 min, 抽滤, 用 50 mL 甲醇洗残渣, 合并滤液, 经旋转蒸发器浓缩约至 5 mL 左右, 转移至分液漏斗中, 加入 30 mL 10% 的氯化钠溶液和 1 mol · L⁻¹ 的盐酸溶液 10 mL, 摇匀后再加入 40 mL 二氯甲烷萃取至褪色 (颜色深时再萃取 1 次), 有机层用 20 mL 10% 的氯化钠溶液和 1 mol · L⁻¹ 的盐酸溶液 5 mL 反萃取 1 次, 弃去有机相, 酸液用 2 mol · L⁻¹ 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, 经无水硫酸钠脱水干燥后合并, 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。

2.4 多菌灵的液相色谱检测条件

FL 2200 高效液相色谱仪带紫外检测器; Diamonsil(TM) C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 甲醇-水 (60:40), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 281 nm, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。

2.5 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⁻¹ 的多菌灵母液稀释成 20, 5, 2, 1, 0.5, 0.05 mg · kg⁻¹ 的一系列标准工作溶液, 采用高效液相色谱法测定。

3 结果与分析

3.1 方法灵敏度、准确度及精确度

多菌灵在绝对进样量 0.05 ~ 20 ng 进样量与峰面积呈线性关系, 回归方程为 $Y = 75\ 735X - 11\ 396$, 相关系数 r 为 0.999 5。在空白根、土壤中分别添加 0.05, 0.50, 2.00 mg · kg⁻¹ 的多菌灵对照品, 每个浓度 3 次重复, 按照 2.3 的方法处理后测定添加回收率, 见表 1, 其平均回收率 86.1% ~ 98.3%, RSD 均低于 6.5%, 符合农药残留分析的要求。

表 1 多菌灵在白术及其土壤中的添加回收率

样本	加入量 /mg · kg ⁻¹	回收率/%			平均回收率 /%	RSD /%
		1	2	3		
土壤	0.05	89.7	82.7	94.0	88.8	6.5
	0.50	95.3	93.8	95.6	94.9	1.0
	2.00	100.3	98.1	96.7	98.3	1.8
根	0.05	89.9	97.7	102.0	96.5	6.3
	0.50	80.4	89.3	88.7	86.1	5.8
	2.00	96.7	88.5	93.8	93.0	4.4

3.2 消解动态

3.2.1 多菌灵在白术土壤中的消解动态 多菌灵在白术土壤中消解动态呈一级动力学特征,见图1~3,消解动力学参数见表2。试验结果表明,土壤中高浓度处理多菌灵消解速度快于低浓度处理,差异显著。这与土壤中微生物利用并降解农药的特点有关。向月琴等^[9]报道,多菌灵在室内土壤中的降解半衰期为8.6 d($2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)和6.8 d($4.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),降解行为与本试验类似。Nannipieri等^[10]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。任晓萍等^[11]对桃中多菌灵残留降解研究表明,如果以推荐剂量施药,多菌灵的半衰期为4.54 d;2倍于推荐浓度施药后,半衰期为6.70 d。张浩等^[6]报道,多菌灵在大豆田间土壤中的消解半衰期为55.2~57.1 d。多菌灵在土壤中的消解半衰期差异如此显著,说明多菌灵在土壤中的降解受土壤类型、降雨量和日照等环境因素影响很大。

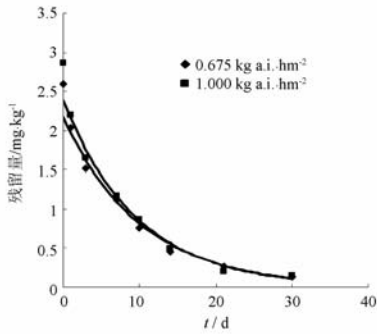


图1 土壤中多菌灵消解动态曲线(2008 新渥)

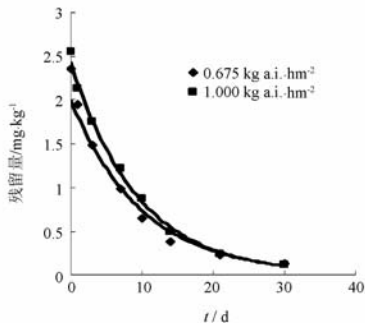


图2 土壤中多菌灵消解动态曲线(2009 新渥)

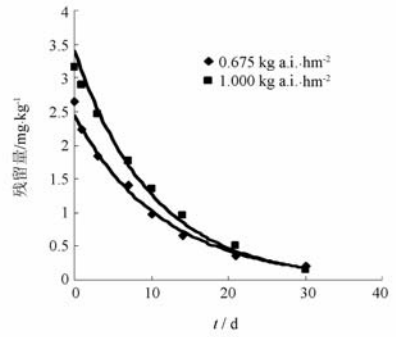


图3 土壤中多菌灵消解动态曲线(2009 白竹)

3.2.2 多菌灵在白术鲜根中的残留降解动态 消解动态结果见图4~6,消解动力学参数见表2。施药后2 h根中多菌灵浓度接近于0,施药后2~3 d后达到最大值,随后快速消解,距最后一次施药30 d左右残留量降至最低。根部多菌灵达到最高浓度后,多菌灵半衰期分别为4.51 d($0.675 \text{ kg a. i.} \cdot \text{hm}^{-2}$, 2008年新渥),4.57 d($1.000 \text{ kg a. i.} \cdot \text{hm}^{-2}$, 2008年新渥),4.76 d($0.675 \text{ kg a. i.} \cdot \text{hm}^{-2}$, 2009年新渥),5.02 d($1.000 \text{ kg a. i.} \cdot \text{hm}^{-2}$, 2009年新渥),5.85 d($0.675 \text{ kg a. i.} \cdot \text{hm}^{-2}$, 2009年白竹),6.50 d($1.000 \text{ kg a. i.} \cdot \text{hm}^{-2}$, 2009年白竹)。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。白竹地区的白术中多菌灵初始浓度高于新渥地区,是由于白竹地区的植株相对矮小且稀疏,矮小的植株人工喷药时喷头容易位于植株的顶部,能较多的将农药喷洒在目标物上,种植稀疏使得农药更容易进入土壤富集,使得白竹地区多菌灵的降解半衰期长于新渥地区,且差异显著。

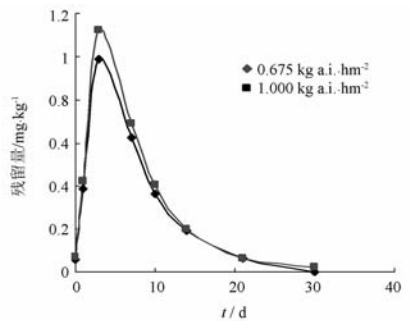


图4 白术根中多菌灵消解动态曲线(2008 新渥)

表2 多菌灵在白术及其土壤中的消解动态方程

部位	施药剂量/ kg a. i. · hm ⁻²	消解动态方程	r	半衰期/d
土壤	0.675(2008 新渥)	$Y = 2.1678e^{-0.0977x}$	0.9947	7.09 ± 0.14
	1.000(2008 新渥)	$Y = 2.3885e^{-0.1031x}$	0.9870	6.72 ± 0.11
	0.675(2009 新渥)	$Y = 1.988e^{-0.0994x}$	0.9890	6.97 ± 0.09
	1.000(2009 新渥)	$Y = 2.4209e^{-0.1064x}$	0.9978	6.51 ± 0.09
	0.675(2009 白竹)	$Y = 2.4423e^{-0.0868x}$	0.9966	7.98 ± 0.11
	1.000(2009 白竹)	$Y = 3.4076e^{-0.0985x}$	0.9943	7.03 ± 0.07
根	0.675(2008 新渥)	$Y = 1.68e^{-0.1537x}$	0.9986	4.51 ± 0.04
	1.000(2008 新渥)	$Y = 1.7971e^{-0.1518x}$	0.9958	4.57 ± 0.05
	0.675(2009 新渥)	$Y = 1.7721e^{-0.1457x}$	0.9970	4.76 ± 0.04
	1.000(2009 新渥)	$Y = 1.781e^{-0.1381x}$	0.9959	5.02 ± 0.07
	0.675(2009 白竹)	$Y = 1.8839e^{-0.184x}$	0.9872	5.85 ± 0.06
	1.000(2009 白竹)	$Y = 1.7236e^{-0.1066x}$	0.9963	6.50 ± 0.09

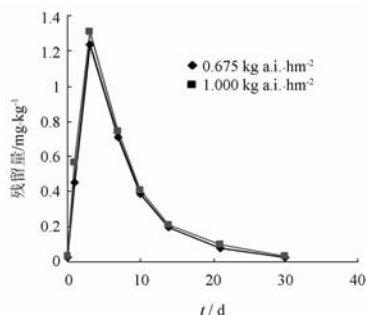


图5 白术根中多菌灵消解动态曲线(2009 新渥)

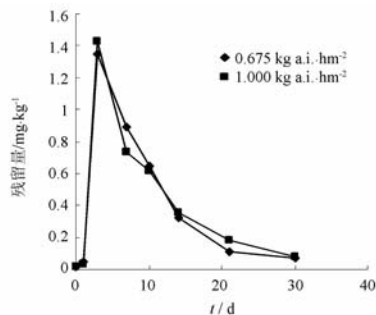


图6 白术根多菌灵消解动态曲线(2009 白竹)

3.2.3 多菌灵在白术中的最终残留量 2年两地的试验结果表明,多菌灵50% WP在白术土壤中的半衰期为6.51~7.98 d,在根中残留趋势为先升后降,半衰期为4.51~6.50 d,说明多菌灵属于易分解类农药($t_{1/2} < 30$ d)。新鲜白术根中的

最终残留量为0.021~0.178 mg · kg⁻¹,初加工后干样中的多菌灵残留量为0.042~0.433 mg · kg⁻¹,明显高于加工前新鲜样品残留量。并且显示初加工过程对多菌灵残留降解影响不大,见表3。

表3 多菌灵在白术中的最终残留量($\bar{x} \pm s, n = 3$)

施药剂量(有效成分) /kg a. i. · hm ⁻²	种植时间地点 /d	收获间隔期 /d	白术根残留量 /mg · kg ⁻¹	初加工后干样残留量 /mg · kg ⁻¹
0.675	2008 新渥	21	0.065 ± 0.006	0.188 ± 0.009
		30	ND	0.042 ± 0.003
	2009 新渥	21	0.078 ± 0.009	0.201 ± 0.017
		30	0.025 ± 0.004	0.089 ± 0.008
	2009 白竹	21	0.114 ± 0.007	0.245 ± 0.012
		30	0.067 ± 0.005	0.213 ± 0.008
1.000	2008 新渥	21	0.064 ± 0.003	0.147 ± 0.008
		30	0.021 ± 0.003	0.069 ± 0.004
	2009 新渥	21	0.098 ± 0.005	0.264 ± 0.013
		30	0.031 ± 0.002	0.174 ± 0.008
	2009 白竹	21	0.178 ± 0.006	0.433 ± 0.014
		30	0.075 ± 0.004	0.124 ± 0.007

注:ND. 残留量低于方法最低检测浓度。



4 讨论

目前,我国除了六氯化苯、DDT、五氯硝基苯等农药已在部分药材上建立了最大残留限量标准外^[12],其他农药在中药材中的最大残留限量标准还未见报道。欧盟指令 93/58/EEC 规定多菌灵在茶叶中的 MRL 为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,加拿大规定黄瓜、西葫芦蔬菜中的多菌灵残留量不超过 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,FAO/WHO 规定多菌灵在小麦的最高残留限量为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,我国标准 GB2763-2005 规定,大米、玉米、黄瓜、番茄、水果中多菌灵的最高残留限量标准为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,花生、油菜籽中为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。我国尚未规定多菌灵在白术中的最大残留限量标准。结合试验结果,笔者建议如果新鲜白术药材中多菌灵 MRL 为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,施药剂量为 $0.675 \text{ kg a. i.} \cdot \text{hm}^{-2}$,那么最后一次施药和收获时间的安全间隔期可定为 21 d,初加工方法会对农药多菌灵形成相对浓缩,造成残留量升高,因此对成品白术药材中的多菌灵 MRL 值要适当提高,按照本试验结果,白术成品中多菌灵 MRL 值可推荐为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

[参考文献]

[1] 刘乾开,朱国念. 新编农药使用手册[M]. 2版. 上海:上海科学技术出版社,1999:309.

[2] Akbarsha ma, Kadalmani B, Giriya R, et al. Spermatotoxic effect of carbendazim[J]. Indian J Exp Biol, 2001, 39: 921.

[3] Nakai M, Hess R A. Effects of carbendazim(methyl 2-benzimidazole carbamate; mbc) on meiotic spermatocytes and subsequent spermatogenesis in the rat testis [J]. Anat Rec, 1997, 247: 379.

[4] 樊丹,甘小泽,卢耀英. 多菌灵在茶叶中的残留动态研究[J]. 农业环境科学学报,2005,Z1:298.

[5] 吴剑威,杨美华,陈建民,等. 多菌灵在大青叶中降解残留动态的研究[J]. 江苏农业科学,2008,5:267.

[6] 张浩,王岩,逯忠斌,等. 40%多菌灵 SC 在大豆和土壤中的残留动态[J]. 农药,2006,10:695.

[7] 金仁耀,桂文君,寿林飞,等. 多菌灵在柑橘和土壤中的残留及降解动态研究[J]. 江苏农业科学,2005, 2:111.

[8] NY/T 788-2004. 农药残留试验准则[S]. 北京:中国农业出版社, 2004.

[9] 向月琴,高春明,庞国辉,等. 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]. 土壤学报. 2008,4: 699.

[10] Nannipieri P, Bollag J M. Use of enzyme to detoxify pesticide contaminated soils and waters [J]. J Environ Qual, 1991, 20: 510.

[11] 任晓萍,余向阳,蔺经,等. 桃中多菌灵残留动态和最终残留分析 [J]. 江苏农业学报. 2009,25(3):665.

[12] 中国药典. 一部[S]. 2005.

Safe use of carbendazim in GAP of *Atractylodes macrocephala*

LIN Jian¹, WEI Houdao¹, WANG Tianyu¹, WU Jialun^{1*}, Xue Jian²

(1. Pesticide Environmental Toxicology Research Institute, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China;

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

[Abstract] **Objective:** To study the residue of in roots of *Atractylodes macrocephala* and in soil. **Method:** Samples were extracted with methanol. The extracts were cleaned up by liquid-liquid extraction and detected by HPLC. **Result:** Repeatability and accuracy of the method was verified by fortified recovery at 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ levels. Average recovery were 86.1%-98.3% and RSD were 1.0%-6.5% in root and soil. *A. macrocephala* was treated with two dosage of carbendazim during growing. Results of field test showed that the half lives of carbendazim were 6.51-7.98 d in cultivated soil, 4.51-6.50 d in roots, separately. After sample was preliminarily processed, the residue of dried samples was 0.042-0.433 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, higher than the fresh samples. **Conclusion:** If 0.2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ is recommended as the MRL (maximum residues limited) of carbendazim in the roots of *A. macrocephala*, it is suggested that the dose of 0.675 $\text{kg a. i.} \cdot \text{hm}^{-2}$ carbendazim is sprayed twice a year, and carbendazim should not be used within 21 days before the harvest.

[Key words] large-head atractylodes rhizome; carbendazim; dissipation dynamic; pre-harvest interval

doi: 10.4268/cjcm20101305

[责任编辑 吕冬梅]