

形成有发芽能力的成熟种子,种子的成熟过程不只是在形态上发生很大变化,而且在生理生化上也发生剧烈变化。对桔梗种子成熟过程中生理变化的研究表明,桔梗种子成熟过程是一个生理特性逐步变化的过程;种子发育期,电导率逐渐下降,细胞膜完整性趋于完善,膜的选择透性也不断提高;此时 POD 活性先平缓下降,而后逐渐升高直到种子完全成熟,之后又下降;而 MDA 的量随着种子的成熟老化有一个逐步积累的过程。值得注意的是,当种子发育到开花后的第 61 天时,其总体生理性能达到最佳状态,保护酶活性最高可有效消除自由基对种子造成的伤害,细胞膜完整性最好,可有效防止由于细胞内容物的大量外渗而引起的种子带菌,此时种子活力和发芽率也达到最高值,之后随着种子的田间腐蚀老化,各项指标迅速劣变,因此认为开花后 61 d 收获的种子其性能达到最佳状态。

严一字^[10]等研究了桔梗种子成熟过程中千粒质量、成熟度变化及与发芽率的关系后认为,千粒质量最大时的种子发芽率也最高,这一结论与笔者的研究结果不符,可能是由于研究中所用材料不同引起的。本研究表明随着种子不断成熟千粒质量不断增加,开花后 55 d 达到最大,但此时种子发芽率仅为 53.0%,而桔梗的最高发芽率出现在开花后的第 61 天;开花后 55~61 d 千粒质量开始逐渐下降,但发芽率却迅速上升,61 d 时达到最大为 93.3%。这种现象提示桔梗种子达到形态成熟后,在其内部可能还需经历一个复杂的生理后熟过程,才能达到种子的完全成熟,完成生理后熟作用的时间在开花后

55~61 d,完成这一过程约需 6 d。

种子千粒质量在开花后 55 d 达到最大之后开始下降,千粒质量下降的原因可能与桔梗种子的生理后熟作用有关,种子后熟作用发生在秋季,此时气候已由暖入寒,季节变化引起桔梗物质生产逐渐减慢、生长停止,地上部分开始变黄枯萎,而此时储存在植株中的有机物质主要流向桔梗的主要代谢库根部,而不是种子;另一方面,种子后熟过程中呼吸作用急剧加强,种子贮存物被大量消耗而使种子变轻,造成千粒质量下降。

参考文献:

- [1] 刘自刚,张雁. KH_2PO_4 和青霉素对桔梗种子发芽的影响 [J]. 种子, 2007, 26(11): 71-72
- [2] 朱玉灵,吴涛. 桔梗外植体的离体培养和植株再生 [J]. 安徽农业科学, 2000, 28(1): 93-94
- [3] 李合生,孙群,赵世杰,等. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京:高等教育出版社, 2001
- [4] 胡根海,喻树迅,范术丽,等. 陆地棉超氧化物歧化酶基因的克隆与烟草转化 [J]. 西北植物学报, 2007, 27(11): 2169-2174
- [5] Wang X F, Jing X M, Lin J, et al. Studies on membrane function and sugar components of ultradried seeds [J]. Acta Bot Sin, 2003, 45(1): 23-31
- [6] 韩胜芳,邓若磊,徐海荣,等. 缺磷条件下不同磷效率水稻品种光合特性和细胞保护酶活性 [J]. 应用生态学报, 2007, 18(11): 2462-2467
- [7] 孙红梅,辛霞,林坚,等. 温度对玉米种子贮藏最适含水量的影响 [J]. 中国农业科学, 2004, 37(5): 656-662
- [8] Xiong L M, Zhu J K. Regulation of abscisic acid biosynthesis [J]. Plant Physiol, 2003, 133(2): 29-36
- [9] 江萍,王小平,王雪莲,等. 高温胁迫对文冠果保护酶系统酶活性的影响研究 [J]. 北方园艺, 2008, 21(1): 28-32
- [10] 严一字,吴基日,吴松权,等. 桔梗种子成熟天数与成熟度及发芽率的关系 [J]. 延边大学农学学报, 2005, 27(4): 244-248

啶虫脒在枸杞中的残留动态分析

周峰¹,于晶¹,李卫建²,陈君^{1*},徐荣^{*}

(1 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所,北京 100193; 2 农业部环境质量监督检验测试中心,天津 300191)

摘要:目的 研究啶虫脒在枸杞中的残留动态。方法 采用气相色谱法,样品经乙腈提取,弗罗里矽色谱柱净化,采用 HP-5 柱,载气为氮气,体积流量 1 mL/min;进样口温度 200 ℃、柱温 180 ℃、检测器 320 ℃。结果 样品的添加回收率为 89.5%~93.5%,RSD 为 2.19%。啶虫脒在枸杞中的半衰期为 2.16 d,施药 14 d 后残留量降至 9.3 μg/kg,最终残留在 4.0 μg/kg 以下。结论 在正常喷药浓度的加倍剂量 1 000 倍条件下,根据不同标准,枸杞的安全采收间隔期为 5~9 d 以上。

关键词:啶虫脒;枸杞;残留动态;气相色谱法

* 收稿日期: 2008-05-28

基金项目: 科研院所社会公益研究专项(2004DIB1J039)

作者简介: 周峰(1984—),男,中国医学科学院药用植物研究所 06 级硕士研究生,研究方向为药用植物栽培与保护。

Tel: (010) 62820904 E-mail: feng5412@126.com

* 通讯作者 陈君 Tel: (010) 62899731 E-mail: junzichen@263.com

中图分类号: R286 02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)02-0303-03

枸杞为茄科植物宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的成熟果实。由于枸杞的果、叶、枝梢鲜嫩, 营养丰富, 因此易遭受多种病虫害危害, 其中尤以枸杞蚜虫危害为甚, 严重时可使枸杞减产 50% 以上, 给杞农造成巨大的经济损失^[1]。目前, 啶虫脒已被广泛用来防治果树和蔬菜上的蚜虫^[2~4], 但用于防治枸杞蚜虫及其在枸杞上的安全使用研究却未见报道。笔者于 2006 年 6 月在宁夏枸杞产区, 利用啶虫脒对枸杞蚜虫进行防治。为了评价该农药的使用对枸杞采收的安全性等问题, 本研究采用气相色谱法对啶虫脒在枸杞中的残留动态进行了研究, 旨在为枸杞的安全生产提供科学依据, 同时对制定啶虫脒在枸杞害虫防治中的安全采收间隔期也具有重要的指导意义。

1 仪器与试剂

Agilent 5890 气相色谱仪(配有 μ ECD 检测器), 匀浆机, 氮吹仪、旋涡混合器。

啶虫脒对照品: 质量分数 99.8% (农业部农药检定所); 乙腈、丙酮、醋酸乙酯、甲醇、氯化钠均为分析纯; 弗罗里矽 (Florisil) 固相萃取柱 (6 mL, 1 000 mg)。

2 田间试验材料与方法

2.1 试验药剂: 3% 啶虫脒乳油 (EC, 日本曹达株式会社)。

2.2 试验地点及材料: 宁夏永宁, 4 年生枸杞 (中国医学科学院药用植物研究所陈君研究员鉴定)。

2.3 试验器具: 鑫达 3WBS-16 背负式手动喷雾器 (台州市路桥福达喷雾器厂)。

2.4 防治对象: 枸杞蚜 (*Ap his sp.*)。

2.5 小区设计: 3% 啶虫脒乳油正常浓度的加倍剂量 1 000 倍和清水空白对照 2 个处理, 每处理 3 个重复, 共 6 个小区, 每小区 6 株, 随机排列, 小区间设保护行。

2.6 施药方法: 田间喷雾施药, 时间为 2006 年 6 月 21 日上午 9:00~10:00, 对小区内枸杞按设计浓度均匀喷药。

2.7 采样: 采用一次施药多次采样的方法, 分别于当天 (施药后 1~2 h), 1、3、5、7、10、14、21 d 后取成熟果实, 每株按东西南北、上中下均匀采样, 每小区采枸杞鲜果约 400 g, -20 °C 低温冰箱保存。

3 分析方法与结果

3.1 气相色谱条件: 色谱柱为 HP-5 柱 (30 m ×

0.25 mm × 0.25 μ m); 载气: 氮气, 体积流量: 1 mL/min; 尾吹: 氮气, 体积流量: 60 mL/min; 分流比: 10:1, 进样量: 1 μ L; 进样口温度: 200 °C; 检测器: 320 °C; 柱温: 180 °C, 保持 2 min, 以 15 °C/min 升至 280 °C, 保持 10 min, 最小检出量为 4.0 pg; 最小检出质量浓度为 4 μ g/L。在此条件下的色谱图见图 1。

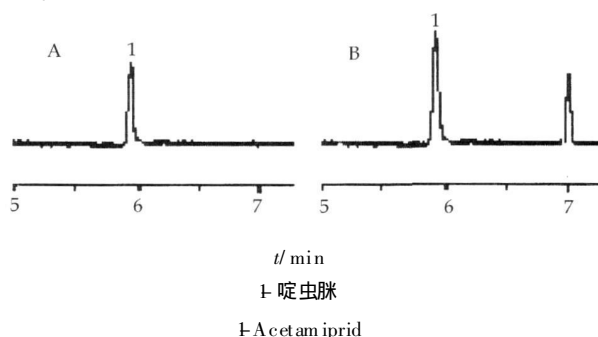


图 1 啶虫脒对照品(A)及枸杞施药样品(B)气相色谱图
Fig 1 GC Chromatograms of Acetamiprid reference substance (A) and *L. barbarum* fruits (B)

3.2 样品制备: 从 -20 °C 低温冰箱中取出枸杞样品, 鲜样捣碎备用。

3.3 供试品溶液的制备: 准备称取 25.0 g 样品, 加入 50.0 mL 乙腈, 在匀浆机中高速匀浆 2 min 后用滤纸滤过, 滤液收集到装有 5~7 g 氯化钠的 100 mL 具塞量筒中, 盖上塞子, 剧烈震荡 5 min, 在室温下静置 30 min, 使乙腈相和水相分层; 吸取 10.0 mL 上层滤液放入 150 mL 的烧杯中, 80 °C 氮吹近干, 用 5.0 mL 丙酮溶解; 将弗罗里矽柱用 5.0 mL 丙酮-醋酸乙酯 (2:1) 预淋条件化, 将上述提取液加入柱中, 依次用丙酮-醋酸乙酯 (2:1) 40 mL、丙酮-甲醇 (1:1) 10 mL 洗脱, 收集洗脱液, 浓缩至近干, 用丙酮准确定容至 5.0 mL, 在旋涡混合器上混匀, 供色谱测定。

3.4 对照品溶液的制备: 精密称取啶虫脒对照品 1.0 mg, 加丙酮溶解并定容至 10 mL, 摇匀, 制成质量浓度为 100.0 mg/L 的对照品储备液。从中精密吸取 0.1 mL, 置于 50 mL 量瓶中, 加丙酮稀释至刻度, 摇匀, 配制成 0.2 mg/L 对照品溶液。

3.5 标准曲线的绘制: 将上述对照品储备液用丙酮稀释, 配制 0.50、0.20、0.10、0.04、0.008 mg/L 的对照品溶液系列, 进样 20 μ L 测定, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得标准曲线方程为 $Y = 99183X - 340.73$, $r = 0.9998$, 表明啶虫脒质量

浓度在 0.008~0.5 mg/L 与峰面积有良好的线性关系。

3.6 精密度试验: 在上述色谱条件下, 精密吸取 0.2 mg/L 啶虫脒对照品溶液 20 μ L, 连续进样 5 次, 记录峰面积值, 其 RSD 为 1.09%。

3.7 重现性试验: 精密称取第 5 天样品 5 份, 按供试品溶液的制备方法制备, 依上述色谱条件进行测定, 结果样品中啶虫脒的平均残留为 0.1889 mg/kg, RSD 为 1.97%。

3.8 稳定性试验: 将第 5 天样品的供试品溶液置室温下, 依建立的色谱条件, 分别于样品处理后 0、2、4、8 h 时进样测定。结果显示, 供试品溶液在室温下 8 h 内测定结果稳定, 啶虫脒色谱峰面积 RSD 为 1.55%。

3.9 加样回收率试验: 称取 20 g 空白样品于三角瓶中, 加入 1.0 mg/L 的啶虫脒对照品液, 制成 0.2 mg/kg 的样品, 按 3.3 方法进行处理分析, 结果表明, 枸杞中啶虫脒的平均回收率为 91.5%, RSD 为 2.19% ($n=3$), 符合农药残留分析要求。

3.10 样品残留动态分析: 对采回的 8 批样品(空白对照样品与施药样品)按 3.3 方法进行处理分析, 残留动态曲线见图 2。对残留动态数据进行回归处理, 残留动态曲线符合一级动力学方程, 3% 啶虫脒乳油在枸杞中的残留动态方程为: $C_t = 0.9097 e^{-0.3215t}$ ($r = 0.9911$), $t_{0.5} = 2.1559$ d, $t_{0.9} = 7.1646$ d; 施药后 2 h 的原始沉淀量为 0.7417 mg/kg, 14 d 后残留量为 9.3 μ g/kg, 21 d 后未检出。

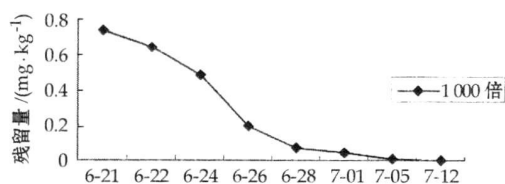


图 2 啶虫脒在枸杞中的消解动态

Fig 2 Residue trends of Acetamiprid in *L. barbarum* fruits

4 讨论

4.1 枸杞中含有大量糖分和油类, 提取液极易产生乳化现象, 加入适量氯化钠, 再进行萃取, 可以有效地防止乳化现象的产生^[5]; 考虑到枸杞中其他成分对分离效果的影响, 在萃取之后又采用过弗罗里砂柱进行净化, 从而得到理想的分离效果。

4.2 枸杞是中华人民共和国卫生部第一批公布的

药食同源品种, 除了作为中药材使用外, 枸杞还被加工成药酒、鲜果汁等食品和保健品。目前关于啶虫脒在枸杞上最大残留限量(MRLs)的研究还很少, 粮农组织/世界卫生组织及我国尚未制定啶虫脒在枸杞上的 MRLs, 日本的肯列表也未对啶虫脒的 MRLs 制定相关标准, 美国、加拿大和欧盟等国家只规定了啶虫脒在水果蔬菜等食品中的 MRLs, 韩国(2006 年 9 月)规定啶虫脒在中药材黄芪和红花上的 MRLs 为 0.1 mg/kg, 孙楠等^[6]参照加拿大健康部有害物管理协调局(PMRA)所规定的啶虫脒在可食用菊花叶上的最大残留限量, 将金银花的 MRLs 定为 3 mg/kg, 但黄芪是根类药材, 红花和金银花则是花类药材, 而枸杞则是果实类药材。枸杞和葡萄都属于浆果, 且均可以加工成酒类和果汁, 具有相似的食用方法, 参照加拿大 PMRA(2005 年 7 月)在葡萄上的 MRLs 为 0.2 mg/kg, 代入上式枸杞残留动态方程中, 得出在正常喷药浓度的加倍剂量 1 000 倍条件下, 采收离施药间隔为 5 d 以上, 收获的枸杞是安全的。参照美国(G/SPS/N/USA/1434/Add 1, 2008 年 1 月)规定啶虫脒在矮树浆果亚组上的 MRLs 为 0.06 mg/kg, 安全间隔期为 9 d 以上。枸杞如果作为饮片泡水, 可以参考欧盟茶叶委员会(ETC, 2007 年 3 月)制定的啶虫脒在茶叶上的 MRLs 为 0.1 mg/kg, 安全间隔期为 7 d 以上。

4.3 采用气相色谱法测定枸杞中啶虫脒的残留量, 回收率高, 保留时间较短, 分离效果好, 各项指标符合农药残留分析的要求, 适用于枸杞中啶虫脒残留的检测和枸杞质量的评价。啶虫脒在枸杞中的残留动态分析为枸杞的安全生产及评价啶虫脒的安全性提供科学依据, 对制定啶虫脒在枸杞中的安全采收间隔期也具有重要的指导意义。

参考文献:

- [1] 陈君, 程惠珍, 张建文, 等. 宁夏枸杞害虫及天敌种类的发生规律调查[J]. 中药材, 2003, 26(6): 391-394
- [2] 安传信, 王永娟. 5% 啶虫脒可湿性粉剂防治苹果黄蚜和绵蚜的效果[J]. 落叶果树, 2006(4): 40-41
- [3] 段婷婷, 李凤良. 3% 啶虫脒乳油防治黄瓜蚜虫药效试验[J]. 农药, 2006, 45(6): 414-415
- [4] 李儒海, 褚世海, 朱文达. 啶虫脒防治柑桔蚜虫的田间药效试验[J]. 农药, 2002, 41(10): 28
- [5] 陈美艳, 于晶, 陈君, 等. 吡虫啉在枸杞中的残留动态研究[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(2): 227-230
- [6] 孙楠, 薛健. 金银花规范化种植中农药啶虫脒安全使用标准的研究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(9): 2089-2090