

分类号_____

UDC _____

密级_____

编号_____

博士学位论文

大棚中代森锰锌、乙撑硫脲的 环境毒理研究

研究生姓名 _____ 范 志 先 _____

学 科、专 业 _____ 农 业 环 境 保 护 _____

指 导 教 师

姓 名、职 称 _____ 樊 德 方 (教授) _____

论文提交日期 _____ 一九九七年十一月 _____



浙 江 农 业 大 学
浙 江 杭 州

单 位 代 码 : 1 0 3 9 9
研 究 生 学 号 : D 9 3 2 3

大棚中代森锰锌、乙撑硫脲的 环境毒理研究

论 文 答 辩 日 期 _____

答 辩 委 员 会 主 席
(姓名、职称、单位) _____

论 文 评 阅 人
(姓名、职称、单位) _____

ENVIRONMENTAL TOXICOLOGICAL STUDY
OF
MANCOZEB & ETHYLENETHIOUREA
IN
PLASTIC HOUSE

Ph.D. candidate: Fan Zhixian
Advisor: Prof. Fan Defang

A dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for
the degree of Doctor of Philosophy

ZHEJIANG AGRICULTURAL UNIVERSITY
HANGZHOU ZHEJIANG CHINA

1997.11

前 言

塑料薄膜工业的兴起，使得塑料大棚成为提早或延后向市场供应蔬菜的重要设施园艺之一。塑料大棚是人工创造的半调控能量开放型的农业微生态系统，系统内生物构成的单纯性、高温高湿或低温高湿的生态因子决定了某些病害的严重发生和迅速流行。为保护蔬菜生产防治病害，塑料大棚已经成为用药水平最高的农业微生态环境之一。代森锰锌单剂及其混剂是塑料大棚中常用的杀菌剂，由于其降解产物乙撑硫脲的慢性毒害问题，美国环保局对包括代森锰锌在内的乙撑双二硫代氨基甲酸盐类杀菌剂进行过两次特别评审（1977~1982，1987~1992），并于1992年作出最后决定保留了代森锰锌在黄瓜上的使用。但是代森锰锌在塑料大棚环境条件下的残留和降解国内外所做的工作较少，有必要开展更加深入细致的研究工作，为制定即能实现较好经济效益又要注重社会效益和生态效益的蔬菜保护地农药合理使用准则奠定基础。

本文得到了吉林省科委青年基金和农业部农药检定所大生残留项目的资助。

摘 要

本文研究了代森锰锌(简称 MZ)及其有毒理学意义的主要降解产物乙撑硫脲(简称 ETU)在大棚黄瓜、黄瓜叶片、残株、土壤上的残留降解动态和规律。由于大棚环境的特殊性,还对比研究了 MZ、ETU 在大棚和露地黄瓜、黄瓜叶片上的残留降解动态。根据试验结果,对大棚中应用 MZ 和食用有 MZ 残留的黄瓜的安全性进行了评价。从提高 MZ 单剂稳定性,减少 ETU 形成的角度出发,研究了 MZ 单剂的降解和六种混剂中 MZ 的稳定性。

HS-GLC 是 MZ 残留分析的通用方法。通过测定密闭系统中 MZ 酸解后释放出的 CS₂ 浓度,即可间接的计算出样品中 MZ 的含量。HS-GLC 定量的理论依据为 Raoult 定律,残留分析时通过在标样反应瓶中加入 CK 样品以避免复杂的校正。影响 HS-GLC 定量的因素较多,本文对 CS₂ 的 HS-GLC 分析技术做了较详细的讨论,目的是保证测定结果的准确性。

采用 HS-GLC 分析技术测定了 MZ、ND-901 中 MZ 在大棚黄瓜、黄瓜叶片、土壤、残株上的残留动态。对大棚黄瓜分别喷施 500 倍和 250 倍的 70%MZ 可湿性粉剂药液,测出黄瓜上原始沉积量分别为 0.88~2.70mg/kg 和 1.11~3.79mg/kg,半衰期分别为 2.4~6.5d 和 2.4~10.6d;黄瓜叶片上原始沉积量分别为 148~164mg/kg 和 246~254mg/kg,半衰期分别为 12.7~16.0d 和 16.7~18.8d。大棚土壤(黑土)上的原始沉积量(施药 5 次,250 倍药液)为 3.94mg/kg,半衰期为 15.5d。越冬后的大棚土壤中未检出 MZ。大约有 10% 的 MZ 通过残株被转移到棚外的环境中,拔秧 2 个月后黄瓜残株上 MZ 残留量为 18mg/kg,7 个月后未检出。在不通风的大棚里喷洒 MZ 药液,MZ 降解生成的 CS₂ 浓度在空气中低于 0.5mg/m³。大棚中施用 MZ 混剂 ND-901,黄瓜上的 MZ 残留量低于 MZ 单剂。另外,自来水去污处理可有效地减少黄瓜上 MZ 的残留量,平均去污率 87%。

采用 HPLC-UV 分析技术测定了 ETU 在大棚黄瓜、黄瓜叶片和土壤上的残留动态。喷施 MZ 的 250 倍药液,测出黄瓜上原始沉积量为 0.174mg/kg,半衰期为 3.9d。黄瓜叶片上原始沉积量为 47.7mg/kg,半衰期为 3.8d。大棚土壤上的原始沉积量(施药 5 次,250 倍药液)为 0.069mg/kg、半衰期为 8.3d。试验结果表明,ETU 降解速率快于 MZ 降解生成 ETU 的速率。ETU 在大棚黄瓜、黄瓜叶片、土壤上都没有累积。

间隔 7d,连续三次对同一龄期,同一品种,相同的栽培管理措施的大棚和露地黄瓜分别喷施 250 倍的 MZ 药液,大棚和露地黄瓜果实上的 MZ 降解动态可分别用方程 $C_t = 1.058 e^{-0.1282t}$ 、 $C_t = 0.751 e^{-0.4689t}$ 描述,降解半衰期为 5.4d、1.4d;叶片上分别为 $C_t = 316 e^{-0.0893t}$ 、 $C_t = 74.3 e^{-0.3046t}$,降解半衰期为 7.8d、2.3d。ETU 在黄瓜上的降解动态方程为 $C_t = 0.152 e^{-0.1794t}$ 、 $C_t = 0.059 e^{-0.1366t}$;叶片上分别为 $C_t = 30.62 e^{-0.1838t}$ 、 $C_t = 6.86 e^{-0.4868t}$ 。影响

MZ 在大棚和露地黄瓜上的残留和降解的主要因素有药剂喷洒浓度、喷雾方法、温度、湿度、光照、黄瓜自身生长稀释、叶片遮挡作用。试验结果表明，MZ 的降解速率 κ ，露地黄瓜为大棚黄瓜的 2.6 倍，叶片为 7.1 倍，露地降解速度明显快于大棚。大棚的温、湿度高于露地，可见影响降解的主要因素不是温、湿度，而是光照、降雨和风等，这点说明对应用到不同生态环境中的 MZ，需要制定不同的安全使用准则。本研究结果对于应用到大棚保护地环境的其它农药品种也具有普遍意义。

使用 MZ 的 250 倍药液喷洒到大棚和露地黄瓜上，根据降解 1d 后的残留量，按照 300g/人/d 食用黄瓜计算，食用大棚黄瓜的安全系数为 10，露地黄瓜为 21；喷施 MZ 混剂 ND-901 后，食用大棚黄瓜安全系数为 12，水洗后食用安全系数提高到 83。对于 ETU 来讲食用大棚黄瓜的安全系数为 9，露地为 14。

采用 GC-MS 研究了在自然条件下贮藏 5 年的 MZ 制剂的降解。样品用甲醇抽提，测定后经联机检索解析确定了 MZ 制剂的主要降解产物和途径。MZ 的主要降解产物和途径于一般的 EBDCs 相似。MZ 的主要降解产物为 ETU、EDI、EU 等，主要的降解途径为氧化。

按照热贮藏方法(CIPAC MT46)，采用黄原酸盐法研究测定了 MZ 制剂单剂的稳定性，对 MZ + foseethyl-Al、MZ + chlorothalonil、MZ + metalaxyl、MZ + carbendazim、MZ + triadimefon 和 MZ + dimethachlon 中的 MZ 稳定性也进行了考察，还对在实验室条件下贮藏 2 年后的混剂中的 ETU 进行了测定。MZ 的热贮相对分解率为 9.3~14.3%。贮藏 2 年的 MZ 制剂中 ETU 含量为 3.96%，5 年的为 6.93%。foseethyl-Al，carbendazim 和 triadimefon 可以显著地提高 MZ 的热贮稳定性。除 MZ+dimethachlon 未测定，另外 5 种混剂贮藏 2 年后 ETU 含量为 1.91~3.11%。

根据 MZ、ETU 的毒理学研究结果，参照 MZ、ETU 在大棚黄瓜上的残留降解动态，建议在大棚环境中要限制使用 MZ，理由是大棚生产者，农事操作时接触 MZ、ETU 频繁并且剂量较高；喷施 MZ 后，食用大棚生产的黄瓜安全系数较低。

MZ 在大棚上的安全使用准则：建议使用 MZ 的混剂，不使用单剂，每季使用次数不超过 2 次，采摘安全间隔期 2d，MRL 为 0.5mg/kg(以 CS₂ 计)。大棚施药人员要加强劳动保护，穿戴防护服，施药后 24h 内禁止进入大棚。制剂宜采用真空包装。

关键词：代森锰锌，乙撑硫脲，塑料大棚，残留，降解

略 缩 词 表

略 缩 词	英 文 全 称	中文名称
ADI	acceptable daily intake	每日最大允许摄入量
a.i.	active ingredient	有效成分
CIPAC	Collaborative international pesticides analytical council limited	国际农药分析协作委员会
CV	coefficient of variation	变异系数
d	day	天
EBDCs	ethylenebisdithiocarbamates	乙撑双二硫代氨基甲酸酯类（杀菌剂）
EI	electron impact	电子轰击
EPA	Environmental Protection Agency	美国环境保护局
ETU	ethylenethiourea	乙撑硫脲
EU	ethyleneurea	乙撑脲
FDA(U.S.)	Food and Drug Administration	美国食品药品监督管理局
FAO	Food and Agriculture Organization(UNO)	联合国粮食和农业组织
GC	gas Chromatography	气相色谱（法）
GC-MS	gas Chromatography-Mass spectrograph	气质谱（联用）法
GTS	gas Tight Syringe	气密性进样器
h	hour	小时
ha	hectare	公顷
HPLC	high performance liquid chromatography	高效液相色谱（法）
HPLS-MS	high performance liquid chromatography mass spectrography	液质谱(联用)法
HS-GLC	headspace-gas liquid chromatography	顶空气液色谱法
IARC	International Agency for Research on Cancer	国际癌症研究机构
JMPR	Joint meeting of the FAO panel of experts on FAO/WHO pesticide residues in food and the environment and the WHO experts group on pesticide residues	农药残留专家联席会议
MRLs	maximum residue limits	最大允许残留限量
MS	mass spectrography	质谱法

MZ	mancozeb	代森锰锌
m/z	mass-to-charge ratio	质荷比
ND	not detected	未检出
ng	10 ⁻⁹ g	纳克
nm	10 ⁻⁹ m	纳米
NOEL	no observed effect level	无作用剂量
<i>P</i>	probability	概率
ppb	1/billion	十亿万分之一
ppm	1/million	百万分之一
PSI	pound per square inch	磅/平方英寸
PTFE	polytetrafluoroethylene	聚四氟乙烯
<i>r</i>	corelation coefficient	相关系数
<i>s</i>	standard deviation	标准偏差
<i>s</i>	second	秒
T _{1/2}	half-life	半衰期
t _{0.99}	time for 99 percent of MZ or ETU being de-graded	降解 99% 时所需的时间
TIC	total ion current chromatogram	总离子流
UV	ultraviolet spectrum	紫外光谱
WHO	World Health Organization	世界卫生组织

目 录

前言	I
摘要	III
略缩词表	V
第 1 章 引言	1
1.1 塑料大棚	1
1.1.1 塑料大棚发展简史	1
1.1.2 塑料大棚生态环境的特点	2
1.1.3 大棚黄瓜	2
1.1.4 制定蔬菜保护地农药合理使用准则是当务之急	3
1.2 EBDCs 杀菌剂与 MZ	3
1.2.1 MZ 的开发、登记和管理情况	4
1.2.2 MZ 的理化特性	5
1.2.3 MZ 的光谱特征	5
1.2.4 MZ 的毒理学研究进展	6
1.3 ETU	10
1.3.1 基本情况	10
1.3.2 理化特性	10
1.3.3 光谱特征	10
1.3.4 ETU 的毒理学研究进展	12
第 2 章 MZ 的 HS-GLC 残留分析技术	19
2.1 材料与方法	19
2.1.1 仪器和试剂	19
2.1.2 试验内容	20
2.2 结果与分析	21
2.2.1 CS ₂ 的 HS-GLC 定量的理论基础	21
2.2.2 顶空反应瓶及瓶盖干扰的测定结果	22
2.2.3 采样后间隔不同时间进样测定结果	22
2.2.4 不同采样方式的测定结果	23
2.2.5 不同进样器及温度变化对测定结果的影响	24
2.2.6 CS ₂ 母液配制和贮藏试验结果	25
2.2.7 MZ 标准悬浮液均匀性的测定结果	27
2.2.8 MZ 转化为 CS ₂ 的转化率的测定结果	27

2.3 讨论	27
第 3 章 MZ 在大棚黄瓜、叶片及残株上的残留和降解	29
3.1 材料与方法	29
3.1.1 田间试验	29
3.1.2 样品处理	29
3.1.3 检测条件和方法	30
3.2 结果与分析	31
3.2.1 添加回收率试验结果	31
3.2.2 MZ 在黄瓜上的残留动态	35
3.2.3 MZ 在叶片上的残留动态	35
3.2.4 残留动态曲线、回归方程及半衰期	35
3.2.5 水洗去污处理	36
3.2.6 黄瓜残株上 MZ 的消失和转移	37
3.2.7 大棚中 CS ₂ 浓度的测定结果	37
3.3 讨论	37
第 4 章 MZ 在大棚土壤上的残留动态	39
4.1 材料与方法	39
4.1.1 田间试验	39
4.1.2 残留分析方法	40
4.2 结果与分析	40
4.2.1 添加回收率试验结果	40
4.2.2 MZ 在土壤上的残留动态	41
4.2.3 残留动态曲线、回归方程及半衰期	42
4.2.4 MZ 微生物降解测定结果	43
4.3 讨论	44
第 5 章 ETU 在大棚黄瓜及叶片上的残留动态	45
5.1 材料与方法	45
5.1.1 田间试验	45
5.1.2 试剂和溶液	45
5.1.3 仪器及操作条件	45
5.1.4 ETU 标准溶液的配制和标准曲线的建立	46
5.1.5 测定步骤	46
5.1.6 添加回收率试验	47
5.2 结果与分析	47
5.2.1 添加回收率试验结果	47
5.2.2 ETU 在大棚黄瓜和叶片上的残留动态	48
5.2.3 残留动态曲线、回归方程及半衰期	49

5.3 讨论	50
5.3.1 应对 ETU 的降解产物深入研究	50
5.3.2 关于 ETU 在黄瓜上的 MRL _s 建议	50
第 6 章 ETU 在大棚土壤中的残留动态	50
6.1 材料与方法	51
6.1.1 田间试验	39
6.1.2 试剂和溶液	51
6.1.3 仪器及操作条件	51
6.1.4 ETU 标准溶液的配制和标准曲线的建立	51
6.1.5 测定步骤	51
6.1.6 添加回收率试验	51
6.2 结果与分析	52
6.2.1 添加回收率试验结果	52
6.2.2 ETU 在土壤上的残留动态	52
6.2.3 残留动态曲线、回归方程及半衰期	53
6.3 讨论	54
第 7 章 大棚和露地黄瓜上的 MZ、ETU 的残留对比研究	55
7.1 材料与方法	55
7.1.1 田间试验	55
7.1.2 样品处理和检测方法	55
7.2 结果与分析	56
7.2.1 MZ 在大棚和露地黄瓜及叶片上的残留动态对比结果	56
7.2.2 ETU 在大棚和露地黄瓜及叶片上上的残留动态对比结果	57
7.2.3 影响 MZ、ETU 降解的环境因素	58
7.3 讨论	64
第 8 章 MZ 制剂的降解及六种 MZ 混剂中 MZ 的稳定性和 ETU 的含量	65
8.1 材料与方法	65
8.1.1 试剂和溶液	65
8.1.2 仪器和操作条件	65
8.1.3 试验方法	66
8.2 结果与分析	67
8.2.1 MZ 制剂降解产物的鉴定结果	67
8.2.2 热贮前后六种 MZ 混剂中的 MZ 含量测定结果	69
8.2.3 MZ 在水和三乙磷酸铝水溶液中的降解测定结果	70
8.2.4 MZ 制剂及 MZ 混剂中 ETU 的测定结果	72
8.3 讨论	73
8.3.1 关于 MZ 制剂的包装	73

8.3.2 关于 MZ 制剂中 ETU 的限量	73
8.3.3 关于 MZ 混剂和高效稳定剂的开发	73
结论	75
参考文献	77
致谢	83
ABSTRACT	85

第1章 引言

保护地蔬菜栽培面积的迅猛扩大和农药使用吨位、品种的增加，迫切地开展农药在保护地微生态环境中的毒理学研究工作。塑料大棚（以下简称大棚）是保护地蔬菜栽培的重要类型之一，MZ 是大棚常用的杀菌剂，本文以大棚主要的蔬菜种类之一黄瓜(*cucumis sativus* L.)为例，对大棚中 MZ 和 ETU 环境毒理进行了研究。本文研究结果对其它保护地类型如玻璃温室、大棚温室和日光温室等也有一定的意义。

1.1 大棚

1.1.1 塑料大棚发展简史

塑料薄膜在农业生产上的应用，约有五十多年的历史。1943 年在日本北海道用聚氯乙烯薄膜进行水稻育种获得成功，1953 年开始用聚氯乙烯薄膜进行蔬菜的早熟栽培。我国对塑料薄膜在蔬菜栽培上的应用也始于五十年代中期，六十年代初期，北京、天津、上海等城市开始应用塑料小棚种植蔬菜，六十年代末，我国第一座简易大棚在吉林省长春市郊区投入生产，占地约一亩。随后，大棚便迅速扩展到我国的许多城市。1978 年全国栽培面积 1.6 万 ha；1988 年为 12 万 ha，十年面积扩大近十倍；1995 年达 42.7 万 ha，目前大棚栽培面积仍然呈上升趋势。

大棚棚高一般 2~2.5m，宽 6~15m，棚长 40m 左右，单棚面积 300~1000m²，蔬菜生产多采用拱圆形单栋大棚^[1]（图 1.1），骨架结构已由竹木发展成为工业化生产的钢管组装式大棚。覆盖的塑料薄膜多为聚乙烯或聚氯乙烯。大棚与大棚温室的区别，在于前者棚内没有加热设施。



图 1.1 塑料大棚

Fig. 1.1 Plastic house

1.1.2 大棚生态环境的特点

蔬菜为农业生态系统中能量流动的载体之一，是人类生活必不可少的其它食物无法替代的营养物质。蔬菜大棚是人工创造的半调控能量开放型的农业微生态系统，系统内生物构成比较单纯，在温湿度、光照及土壤状况等方面都有不同于露地的特点。

大棚的热源来自太阳辐射热，棚外无覆盖物，因此棚内温度随外界昼夜交替，天气阴、晴、雨以及季节变化而变化。一般早晨日出后棚温开始上升，中午达到最高值，下午棚温下降，傍晚下降最快，夜间 11 点后温度下降渐缓，直到凌晨 4~5 点温度下降到最低点。昼夜温差有时可达 30℃。

未通风的大棚，气密性强，由于肥水等栽培管理水平较高，所以棚中空气湿度、土壤湿度都比较高，空气相对湿度经常达 80~90%，有时达 100%。棚内空气温度的变化规律是随棚温升高而相对湿度降低，随着棚温降低而相对湿度升高。通风后，相对湿度降到最低点，关闭棚门窗后，随着温度的下降，相对湿度往往达到饱和状态（温湿度变化详见第七章）。土壤由于受不到雨水的淋浴，往往造成盐分积累。

塑料薄膜新膜的可见光透过率为 85~90%，稍低于玻璃，但是它是全光谱的透光材料，紫外光能透过 50%，红外光也能透过 45%。

未通风的大棚，几乎就是一个与外界只有能量交换的封闭系统，在系统内生物单一，除常见的病害、蚜、螨外，少见其它有益生物。生物的多样性不如露地。

1.1.3 大棚黄瓜

黄瓜是世界主要的蔬菜种类，栽培面积约占全世界蔬菜收获面积的 30%，总产量约占全世界蔬菜总产量的 20%。我国是黄瓜生产的大国，以 1991 年为例，黄瓜的总产量占全世界的 30.457%。黄瓜生产除了露地栽培外，随着塑料薄膜工业的兴起和人们物质生活水平的提高，保护地黄瓜栽培已经成为可以周年均衡地向市场供应鲜瓜的重要设施园艺。大棚黄瓜栽培(图 1.2)是



图 1.2 大棚黄瓜

Fig. 1.2 Cucumbers in the plastic house

在不适宜露地栽植的季节和地区,利用特定的保护设施创造良好的小气候条件,以获取黄瓜早上市、延后上市、高产、稳产、优质和高效益的栽培方法。由于保护地黄瓜栽培具有上述的优点,所以近三十多年获得了迅猛的发展。但是,大棚高温高湿或低温高湿的环境因子促使了某些病害的严重发生和迅速流行,从而对大棚蔬菜生产构成严重威胁。目前黄瓜霜霉病、灰霉病、炭疽病是影响黄瓜稳产、高产、高效益的主要障碍之一。因此,防病治病早已成为保护地黄瓜生产的关键环节。目前,虽然在抗病品种利用和生态防治等方面做了许多研究和推广工作,但是绝大多数保护地种植者还不能脱离化学药剂防治,药剂防治仍然是必须经常采用的措施。由于大棚经济效益高,病害发生和流行对生产成败关系极大,加之病原菌抗药性的增加,使得大棚成为用药水平最高的农业微生态环境。因此,保护地生产出的蔬菜,例如黄瓜,国内外消费者食用不放心,争议较大,同时目前大棚生产上杀菌剂品种的选择、使用方法及大棚生态条件下的环境毒性、环境行为已经引起了有关科技工作者的密切关注。

1.1.4 制定蔬菜保护地农药合理使用准则是当务之急

目前各国制定的农药合理使用准则绝大多数是依据大田即非保护地的试验数据,适用作物并没有区分保护地和非保护地。如果将目前已经制定的农药合理使用准则用到大棚蔬菜上则多有不妥,其科学性、合理性、安全性值得怀疑。譬如使用药剂次数,大田一般 2~3 次;而大棚事实上 6~10 次,这样大棚产品中的农药残留量会增加,同时药剂的积累,降解和运转的关系就会复杂。安全间隔期大田蔬菜一般 7d;而保护地蔬菜,上市采摘频繁(如黄瓜通常隔日一次);大棚环境条件不同于露地,除了生物因素之外,还有光照、风、雨水冲刷和温、湿度等因子,这就决定了农药在露地和大棚中残留降解的差异。由此可见大棚蔬菜生产的特殊性,对大棚中使用农药安全要求的严格性,微量药剂通过生食或熟食大棚蔬菜直接进入人体的明显性,促使我们应当开展工作,制定出即能实现较好经济效益,又能注重社会效益、生态效益的蔬菜保护地农药合理使用准则。

1.2 EBDC_s 杀菌剂与 MZ

有机硫杀菌剂是 20 世纪 40 年代发展起来的,大量广泛应用的取代铜制剂的保护性杀菌剂。乙撑双二硫代氨基甲酸盐(EBDC_s)类杀菌剂则是其中一类杀菌谱广的叶面喷洒剂,它用于防治世界上七十多种作物上的 400 种左右的病原体。根据 FAO 生产年鉴统计数据表明:EBDC_s 经历了两起两落的发展过程,目前处于相对稳定或者缓慢下降时期。1973 年,几个代表性的使用 EBDC_s 的大国使用量有效成分达到约 5 万吨,出现第一个高峰期。当七十年代初期将 EBDC_s 类杀菌剂与具有慢性毒害的 ETU 联系起来以后,1976 年使

用量大减下降到约 2 万吨。EBDC 类杀菌剂在 1977~1982 年受到了 EPA 的第一次评审, 评审结果认为: 还没有足够的有关人体摄入的资料来说明需要特别管理措施以减少对人的慢性危害。但是要求注意安全间隔期以及穿戴防护用具以减少各种危害。此后 EBDC_s 的使用量又有所回升, 1978 年为 3.5 万吨。随着 EBDC_s 的使用量在全世界的增加及对 EBDC_s 和 ETU 毒理学研究的深入, 特别是 ETU 慢性毒害“三致”的严重性, EPA 决定于 1987~1992 年对 EBDC_s 进行第二次特别评审。从此 EBDC_s 的使用量全世界又开始逐年呈下降趋势。我国正是在上述背景下, 将 EBDC_s 类中的 MZ 列为化工部“七五”攻关项目, 由沈阳化工研究院承担技术开发, 1990 年通过化工部鉴定后, 当时生产发展很快, 生产厂家全国约 20 家, 年产量有效成分约 5000 吨, 相当于美国目前的年总用量。EPA 在第二次特别评审过程中, 花费了大量的人力物力, 仅市场菜篮子调查一项, 取样 5700 个(包括鲜黄瓜、鲜番茄), 为时一年耗资 1000 万美元, 其中 80% 的样品没有测出残留量。EPA 权衡后终于在 1992 年 4 月作出最后决定: 撤消 11 种作物上的登记使用, 而保留在 45 种食用作物上的登记, 其中保留了 MZ 在黄瓜上的使用。

1.2.1 MZ 的开发、登记和管理情况

MZ 由 Rohm & Haas Company USA 于 1961 年用可溶性锌盐 (ZnCl_2 、 ZnSO_4) 处理代森锰后得到的产品, 该公司称“MZ 是锌离子与代森锰的配位络合物”, 并且特别指出它不是代森锰与代森锌的物理混和物。英国植物保护协会的农药手册中也将 MZ 定义为“代森锰与锌在水条件下生成的一种络合物”。

由于 MZ 药效高、稳定性好、药害轻等优点逐渐成为 EBDC_s 类的代表性品种。MZ 及其混剂是防治大棚蔬菜病害的常用药剂。国内 MZ 已在番茄上获准登记防治早疫病; 在黄瓜上虽然没有登记, 但是它的混剂如杀毒矾(8% 噁霜灵+56% MZ)、甲霜灵锰锌(10% 甲霜灵+48% MZ) 却获得登记防治霜霉病。

EPA 第二次特别评审的结果要求生产和使用 MZ 的人员要穿戴防护服, 施药的环境要求 24h 内禁止进入^[2]。用 MZ 处理过的作物区建立 24h 进入安全间隔时间是必要的, 原因是被处理过的作物表面有大量的 MZ 残留, 再者 MZ 的主要降解产物 ETU 已经被证明为有明确毒理效应。考虑到庭园使用时很少有人穿戴防护用具, 因此取消了 EBDC_s 在庭园上的应用。EPA 还要求生产厂家要重新设计标签, 并在这些杀菌剂包装用品上注明“小心”两个字。



为强峰。与文献^[4]基本相符,与 SADTLER 代森锰的红外谱图(1968 年)也无大的差异(MZ 为 Rohm & Haas Company USA 的分析标准样品,81.2%)。

1.2.3.2 MZ 的 X 射线衍射图

MZ 的 X 射线衍射(图 1.4)特征: $d=3.03\text{\AA}$, $4.84\text{\AA}$, $6.55\text{\AA}$, $8.05\text{\AA}$, $6.98\text{\AA}$ 强峰^[4]。

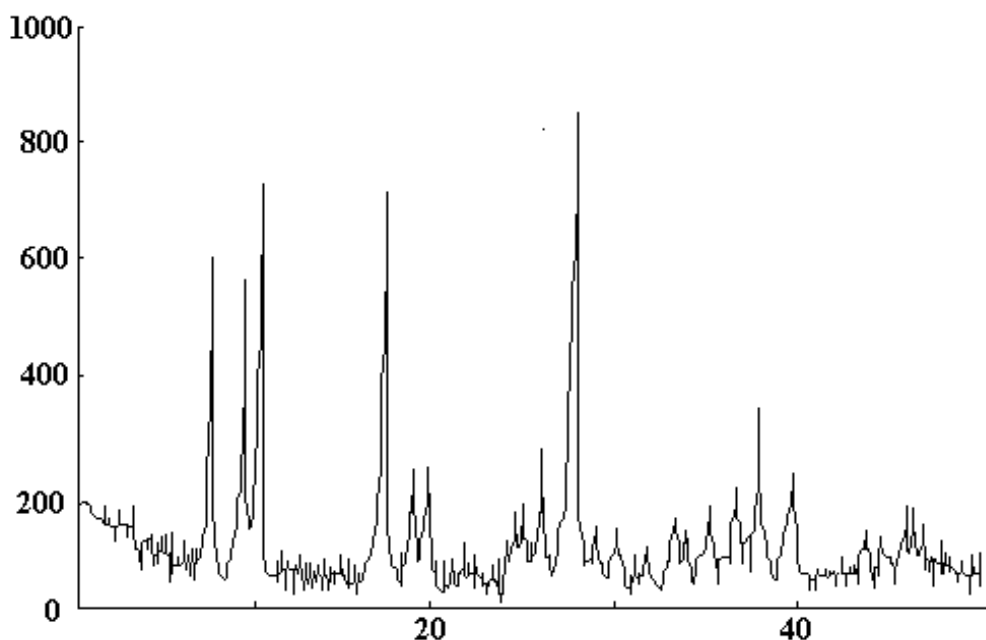


图 1.4 MZ 的 X 射线衍射图

Fig. 1.4 x-ray diffract spectra of mancozeb (From reference 4)

1.2.4 MZ 的毒理学研究进展

1.2.4.1 毒性

1.2.4.1.1 急性毒性 MZ 对哺乳动物低毒^[5],大鼠急性口服毒性 LD_{50} 4500~11200mg/kg,兔子急性经皮毒性 LD_{50} 5000~15000mg/kg。以喷雾或喷粉形式使用 MZ 时,接触药剂的主要途径是皮肤和吸入。对皮肤和呼吸道粘膜有中度刺激,中毒症状主要包括打喷嚏、瘙痒、喉咙痒、咳嗽、鼻炎、喉炎和支气管炎。现在还没有更多的证据表明 MZ 有神经毒性,如对神经组织的破坏或行为改变。然而 MZ 可部分化学降解和代谢生成对神经系统有损伤的神经毒素 CS_2 。

1.2.4.1.2 慢性毒性 通过长期的饲喂试验表明,对大白鼠的 NOEL 为 5mg/kg^[6]。对狗二年的饲喂 MZ 的试验的剂量分别为 0, 0.625, 2.5 和 25mg/kg,试验结果表明,两个高剂量组可观察到对碘吸收的降低,而 0.625mg/kg 剂量组没有观察到与对照组有什么不同。

1.2.4.1.3 对繁殖的影响 大鼠三代繁殖试验表明 MZ 的剂量水平在 50mg/kg 时,生育力有所下降,但是没有观察到胚胎毒性和致畸效应。在另

一项研究中,通过吸入方式对妊娠的母鼠给药,只有当 MZ 达到 $55\text{mg}/\text{m}^3$ 的情况下,可观察到对幼仔和母鼠的毒性。

1.2.4.1.4 对致畸的影响 在大鼠三代的繁殖试验中,剂量为 MZ $50\text{mg}/\text{kg}$,没有观察到致畸的效应。给妊娠 11d 的母鼠 MZ 剂量水平 $1320\text{mg}/\text{kg}$ 时,可以观察到中枢神经系统,眼睛、耳和骨骼系统发育的不正常。当使怀孕的大鼠吸入 MZ $0.017\text{mg}/\text{L}$ 时,没有观察到致畸性。Ghate 发现 MZ 能导致蛙胚致畸,产生大的波状脊索^[6]。

1.2.4.1.5 致突变性 MZ 的致突变性试验数据尚不完整,但通常被认为与代森锰相似,Ames 试验结果阴性。

1.2.4.1.6 致癌性 目前尚无 MZ 致癌性的报道,但是 MZ 被认为是一种癌变增强剂^[7]。

1.2.4.1.7 对器官的毒性 一些研究表明,大剂量饲喂 EBDCs 杀菌剂 24h 后,就可以测量出对碘吸收明显减少。对器官的毒性主要是甲状腺肿大。

1.2.4.1.8 在人体和动物体内的归宿 MZ 在哺乳动物组织中降解成为 ETU,这种代谢物可使试验动物产生甲状腺肿和癌变。进入消化道内的 MZ,可迅速地被吸收,分布到不同的靶标器官,大约 96h 内全部排泻掉,ETU 是 MZ 主要的代谢产物。

总之,根据目前的动物毒性试验结果,MZ 还不能被划归为致癌剂、致突变剂、致畸剂和繁殖抑制剂^[9]。

1.2.4.2 生态效应

1.2.4.2.1 对鸟的影响 从急性毒性角度讲,MZ 对鸟微毒,对北美鹌鹑和野鸭的 $\text{LD}_{50} > 10000\text{mg}/\text{kg}$,对欧洲麻雀 LD_{50} $3000 \sim 6000\text{mg}/\text{kg}$ 。在苹果及马铃薯上反复施用 MZ,能影响鸟类的繁殖^[8]。

1.2.4.2.2 对水生生物及其它非靶标生物的影响 一般来讲,MZ 对鱼和水生无脊椎动物有毒^[9]。对热水性鱼类表现高毒,对冷水性鱼类表现至少为中毒。对小龙虾的 $72\text{hLC}_{50} > 40\text{mg}/\text{kg}$;对蝌蚪的 48hLC_{50} $3.5\text{mg}/\text{kg}$ 。由于 MZ 在水中降解迅速,因此在鱼和水生生物体内不会造成生物累积。MZ 对蚯蚓微毒,比正常田间用药量高 50~100 倍也没有观察到其毒性,以至于无法测定 LD_{50} 。MZ 对蜜蜂(急性毒性每只蜂 100mg)和赤眼蜂无毒。有益的节肢动物仅捕食性螨类对 MZ 较敏感,在常用的 62 种农药中,MZ 属于对天敌毒性较低的一种农药^[10]。

1.2.4.2.3 对土壤微生物群落的影响 当田间使用 MZ 的剂量范围从正常用量到 10 倍正常用量之间时,MZ 能使减少土壤生物的种群数量,并使土壤硝化作用降低。这种变化是暂时的,大约三个月内就能恢复正常^[9]。

1.2.4.3 环境归宿

MZ 在有空气、水分存在时或在土壤和生物系统中,通常不稳定,能迅速的降解生成 ETU 等一系列降解产物,ETU 是降解链上的重要产物^[11]。EBDCs 首先化学氧化降解产生 ETD,由 ETD 降解生成 ETU 和 ETM。在 MZ 中 ETD 含量大约为 0.02%,ETM 为 0.85~2.19%,关于 ETM 的结构和它

能否降解生成 ETU 还有不同的争议^[12~14]。1960 年, Sato 和 Tomizawa 首先用同位素标记代森锌, 研究在植物中归宿时发现了黄瓜植株萃取液中有两个新的带标记的化合物, 通过薄层色谱证实其中之一为 ETU^[15]。采用同位素标记的方法, 证实了 MZ 在茄子上的主要降解产物为 EU, ETU 的含量包括来自 MZ 形成的量和自身降解成为 EU 的量^[16]。MZ 加热贮藏后, 与代森锌、代森锰比较起来生成的 ETU 少, 不同生产厂家的 MZ 热贮 39d 后 ETU 的含量相差 46.3 倍, 最高含量达 10.5%^[17]。有关降解的途径和产物见图 1.5^[18]。

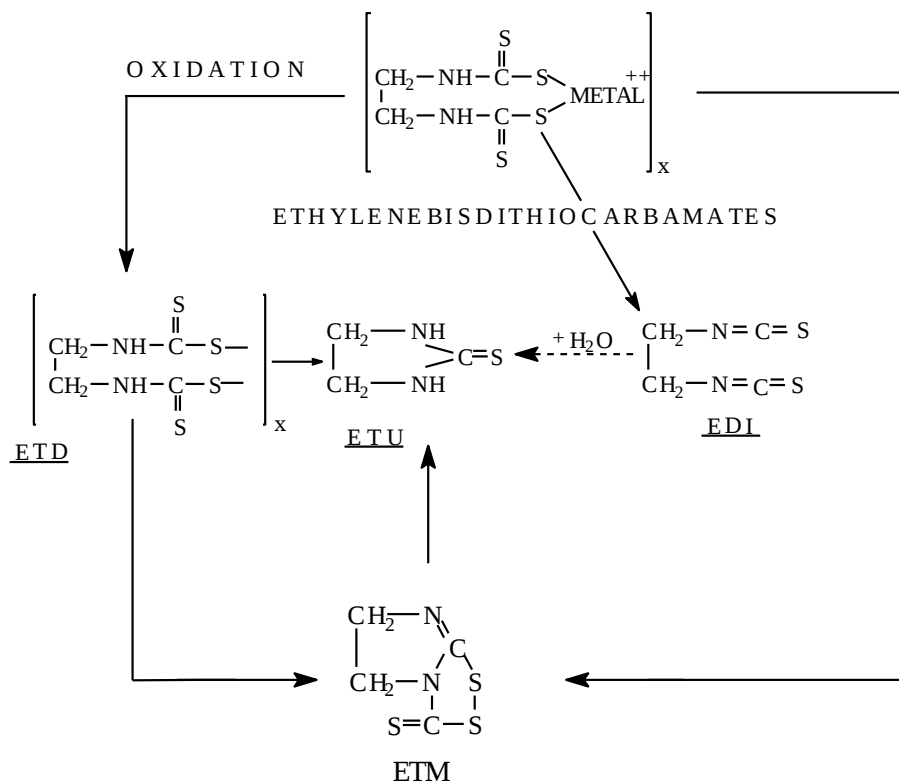


图 1.5 MZ 的降解产物和途径(虚线表示可能的反应)

Fig.1.5 The degradation products and pathways of MZ
(Dashed line indicates proposed reaction)

1.2.4.3.1 在土壤中的降解 MZ 在土壤中迅速降解, 没有残效, 不会被土壤颗粒吸附。在壤土中淋溶<10cm。降解半衰期, 在 Immokalee 细砂中仅 3d, 在田间土壤中通常为 4~8 周。它很容易被土壤微生物降解。

1.2.4.3.2 在水中的化学降解 MZ 在无菌水(pH5~7)中降解的半衰期<1d。当 pH5~9 时, MZ 在水中半衰期为 1~2d。在水中的光解产物主要是 ETU。

1.2.4.3.3 在植物体上的降解 将 MZ 直接应用到植物体上, 它不能够被植物吸收, 也很少产生药害。只有法国矮化万寿菊在正常田间用量时有毒, 甜瓜, 蔓越桔在花粉发芽时对 MZ 敏感。另外, 洋葱细胞用 MZ 处理后也可以观察到对遗传的影响。残存在作物或蔬菜表面上的 MZ, 烹饪过程中也同在

环境中降解一样会产生更多的 ETU^[19~20]。EBDCs 转化成为 ETU 一般可达 16~23%^[18]。

1.2.4.4 MZ 残留分析方法及残留状况

1.2.4.4.1 MZ 的残留分析方法 检测 EBDCs 杀菌剂的残留分析方法主要有分光光度法^[5-6,21~22]；高效液相色谱法^[23~24]；原子吸收分光光度法^[25~26]；同位素示踪法^[16,27]；气相色谱法和顶空气相色谱法^[28~34]，McLeod 等在 1969 年首次报道了应用顶空分析技术测定 EBDCs 杀菌剂。这种方法经过反复协作研究，已经公认为成熟的残留分析方法^[29]。顶空气相色谱分析是指对液体或固体样品中挥发性组分的蒸气相进行气相色谱分析的一种间接测定方法，它是在化学平衡、热力平衡、相平衡、压力平衡的条件下，被分析的组分和样品共存于同一个密闭系统中进行的^[35]。采用顶空技术测定作物、蔬菜、食品的 MZ 方法报道较多，而用于环境样品如土壤分析报道较少。

1.2.4.4.2 MZ 的残留水平及状况 MZ 只有叶面保护作用，施用浓度一般用制剂的 300~500 倍药液进行喷雾。因此叶面、植株和土壤上的原始沉积量较高，一般可达几个到几十个 ppm(mg/kg)^[33~34,36~42]。MZ 施用作物上还有一个问题，就是收获的蔬菜中锰的含量提高了。用含 MZ 制剂 0.5% 药液对番茄施药三次，对照叶片上锰的含量 40mg/kg，而用 MZ 处理为 520mg/kg，果实对照 0.056mg/kg，施药的 0.088mg/kg（食品中锰的推荐摄入量为 0.20mg/100g）^[43]。

在 FDA（1985~1991）定期残留监测中，没有检测出 EBDCs 总残留量超标的样品，发现的样品和水平：苹果为 10/2464，最高含量 3.0ppm（EPA 允许 7ppm），香蕉为 2/72，最高含量 2.9ppm（EPA 允许 4ppm）^[44]。但在另一项调查中，未洗的 12 个菠菜样品中含 5.2~80mg/kg（以代森锰计）^[45]。澳大利亚悉尼市场上 30% 的样品中能检出 EBDC 的残留，但同样的样品中检不出 ETU（检出限为 0.01mg/kg）^[46]。

田间施药和工作现场环境污染情况。在田间施药 4h，操作人员吸入的剂量平均 EBDCs 为 1.8μg/kg^[47]。在防治马铃薯晚疫病的现场，配制和喷雾时空气中 MZ 含量平均为 0.22mg/m³^[26]。在生产 MZ 的包装车间空气中 MZ 的含量为 0.042~1.78mg/m³^[30]。

1.3 ETU

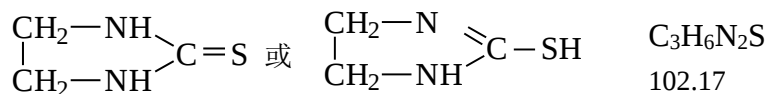
1.3.1 基本情况

ETU 是众所周知的应用了近半个世纪的 EBDCs 杀菌剂中所含杂质，又是其在生物体内的代谢物和环境中的降解产物。EBDCs 制剂在贮藏过程中会产生 ETU^[17]，被 EBDCs 污染的农产品在加工和烹饪过程中也会产生

ETU^[19~20]，ETU 除来源于 EBDCs 外，它又是普通化工原料。主要用于电镀业、染料、药品、合成树脂和通用型氯丁橡胶硫化促进剂(NA-22)^[48]，我国现在年产量为 60~70 吨，生产厂家为沈阳东北助剂总厂。

1.3.2 理化特性

ETU 的化学名称为四氢咪唑-2-硫酮，中文名称为乙撑硫脲，化学结构式、分子式和分子量为：



ETU 纯品为白色晶体，无气味，味道苦，熔点 203~204℃，在通常的条件下稳定。对光较敏感。溶解度：水 30℃时，2%；60℃时，9%；90℃时，44%。二甲基亚砷 $\geq 100\text{mg/ml}$ ，18℃^[49]。95%乙醇、丙酮 1~5mg/ml，18℃。微溶于乙醇、乙酸、石油醚。可溶于甲醇、吡啶、乙二醇。几乎不溶于乙醚、氯仿、苯。分配系数 0.66。闪点 252℃，可燃。蒸气压 $<133\text{Pa}$ 。

1.3.3 光谱特征

1.3.3.1 ETU 的紫外光谱

2μg/ml 水溶液，1cm 比色皿， λ_{max} 232nm， $\epsilon = 1.64 \times 10^2$ 。ETU 为 Rohm & Haas Company USA 的分析标准样品，97.2%。

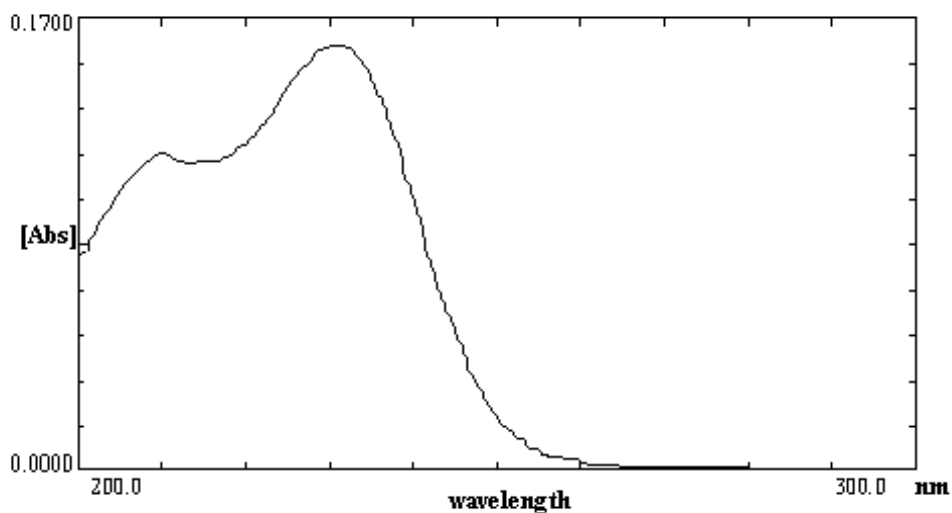


图 1.6 ETU 的紫外光谱图

Fig. 1.6 UV spectra of ETU

1.3.3.2 ETU 的红外光谱

ETU 的红外光谱(图 1.7)特征: $\bar{\nu}=1519.5\text{cm}^{-1}$, 1205.0cm^{-1} , 920.0cm^{-1} , 591.7cm^{-1} 为强峰。与 SADTLER 的标准红外谱图(1968 年)相同。样品同 1.3.3.1。

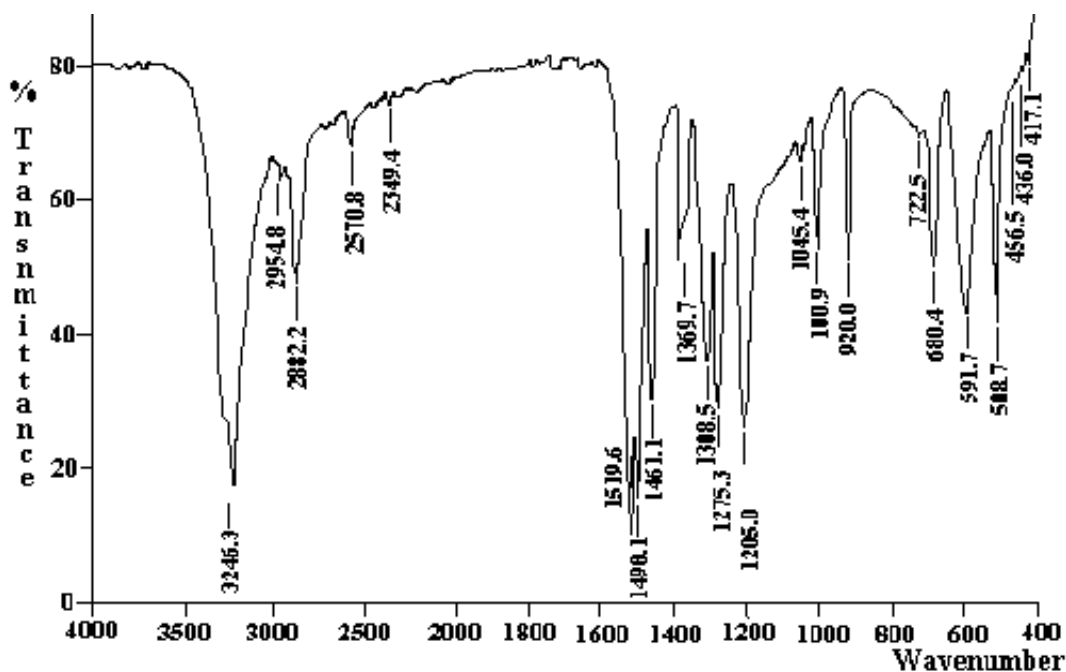


图 1.7 ETU 的红外光谱图

Fig. 1.7 IR spectra of ETU

1.3.3.3 ETU 的核磁共振波谱

ETU 的核磁共振波谱(图 1.8)特征:

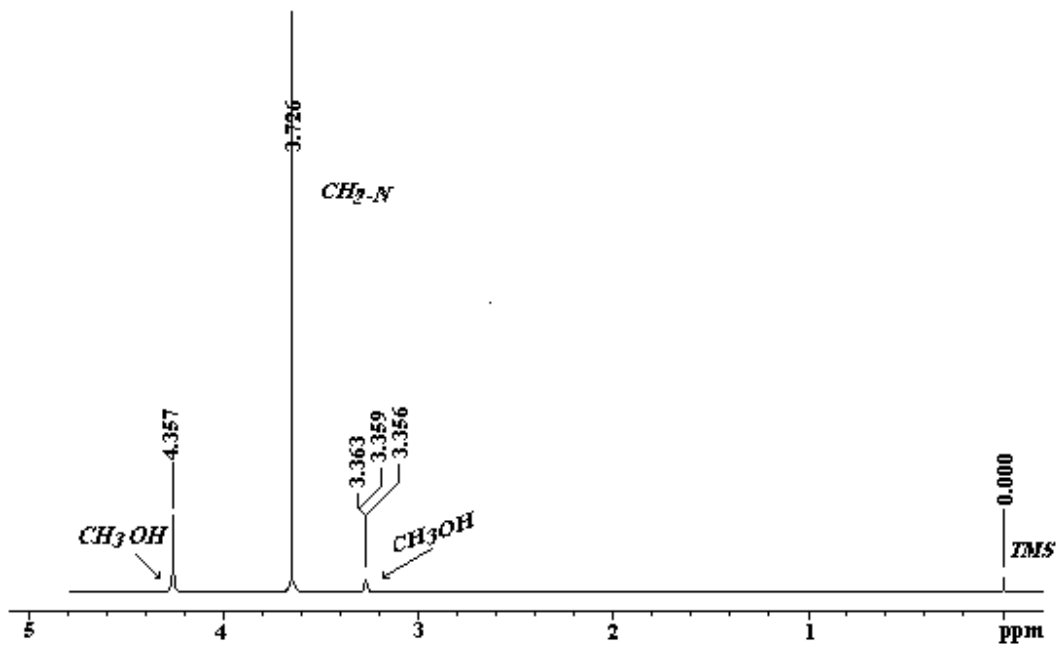


图 1.8 ETU 在氘代甲醇中的 ^1H -NMR

Fig1.8 ^1H -NMR spectra of ETU in CD_3OD

1.3.4 ETU 的毒理学研究进展

1.3.4.1 毒性

1.3.4.1.1 急性毒性 ETU 急性毒性较低, LD_{50} 大白鼠雄性 1832mg/kg, 雌性 545mg/kg; 成年的小白鼠 4000mg/kg^[6,50]。高剂量接触时能使鼻子、喉咙和肺部发炎, 对眼睛和皮肤也有刺激作用。中毒症状可导致出汗、恶心、心率加快和血压升高, 有时可引发肺水肿, 造成呼吸障碍^[51]。

1.3.4.1.2 慢性毒性 短期饲喂试验表明, ETU 对甲状腺功能的有害影响剂量 >25mg/kg, 对大鼠母鼠有毒的剂量为 80mg/kg, 并对出生的幼仔会产生多种有害的影响。1980 年 JMPR 确定了 ETU 对人的 ADI 值为 0.002mg/kg, 但是到了 1986 年将 ADI 改成了 TADI, 随后又撤消。

1.3.4.1.3 对致畸的影响 ETU 对供试的大鼠在离体和活体试验中都有致畸性^[6,50~53], 对大鼠胚胎发育的毒性为脑积水、体节数减少、体长降低、全身或局部水肿、畸形小头、抑制神经和神经束的形成等。当口服剂量达到 30mg/kg 时就能使大鼠胎儿 57/73 造成脑积水。但是, ETU 对怀孕小白鼠、仓鼠、豚鼠、猫不致畸或致畸症状不明显。有人分析了 ETU 能使大白鼠致畸而小白鼠不能的原因, ETU 能降低大白鼠体内氨基比林-N-脱甲基酶的活性, 但却不能影响小白鼠体内这种酶的活性; ETU 不影响大白鼠体内苯胺羟

化酶的活性，但却能提高小白鼠体内这种酶的活性两倍^[54]；还有一种可能性是小白鼠代谢 ETU 的速度比大白鼠快^[53]。1980 年，JMPR 确定了 ETU 口服致畸无作用剂量为 15mg/kg。

1.3.4.1.4 致突变性 ETU 在 Ames 试验中有弱的致突变性；在离体和活体的哺乳动物致畸试验结果阴性。

1.3.4.1.5 致癌性 ETU 是一种致癌剂，它被 IARC 分类为 2B 类致癌物^[55~56]，即可能对人类致癌。现已经证实可使试验动物产生甲状腺癌和肝癌。长期的低剂量的接触可使甲状腺肿大，功能失调，降低对碘的吸收，最后癌变。导致甲状腺癌变的剂量为 250~500ppm。

1.3.4.1.6 对器官的毒性 1948 年，Seifter 和 Enrich 就发现了 ETU 对甲状腺的影响^[57]。ETU 可使甲状腺增生变大，降低甲状腺激素水平。当剂量为 10.6~23.4mg/kg 时，就抑制甲状腺素和三碘甲状腺氨酸的分泌。

总之，ETU 对试验动物特别是对大白鼠的甲状腺有严重影响的致癌剂、致畸剂和致突变剂。

1.3.4.2 生态效应

ETU 对水生动物和陆地动物有中等的毒性。对小麦植株的无作用剂量为 100ppm。现在还十分缺乏 ETU 对鸟，动植物影响的评价数据。

1.3.4.3 环境归宿

农业环境和农产品的 ETU 污染主要来源于 EBDCs 杀菌剂的使用。ETU 的量取决于 EBDCs 杀菌剂的稳定性和贮藏的条件。ETU 不是 EBDCs 的最后降解物，但是它是相对稳定的中间体。ETU 不易水解，但是它容易被氧化成 EU。ETU 的氧化主要发生在生物系统内和光解反应过程中，特别是当光敏物质（如丙酮、核黄素等）存在时更容易发生。光氧化是沉积在植物和水表面 EBDCs 杀菌剂生成的 ETU 的主要降解过程，主要的降解产物为 EU 和甘氨酸。

1.3.4.3.1 在水中的降解 ETU 在水中相当稳定，pH5、pH 7、pH 9 三个处理，90℃，三个月，ETU 的数量基本不发生变化。可见 ETU 不易发生水解^[18,58]。

1.3.4.3.2 在土壤中的代谢 ETU 在灭菌的土壤中降解的速度比不灭菌的要慢的多。在有生物活性的土壤中，ETU 被氧化生成 CO₂ 和四种以上的降解产物。岳永德^[59~60]对 ETU 在土壤中光解研究的结果认为，土壤温度对 ETU 光解影响不大，而土壤湿度可以提高 ETU 的光解速度。

1.3.4.3.3 在植物体内的代谢 ETU 很容易被植物吸收，并可以通过木质部在植物体内传导。在植物体内的主要降解产物为 EU 和 2-咪唑啉。用 ETU 处理大豆，从初始的 20ppm 降解到 2ppm，在大田环境中需要 1d，而在温室需要 15d。

1.3.4.3.4 在动物体内的代谢 ETU 在动物体内的降解产物同在植物体内相似。ETU 的消解主要是通过尿、粪便和奶的排泄及在动物体内降解。

通过大量的研究工作证明，ETU 在环境中的降解比较容易，到目前为止，

还没有发现有生物积累现象的发生。有关 ETU 在环境中的归宿见图 1.9。

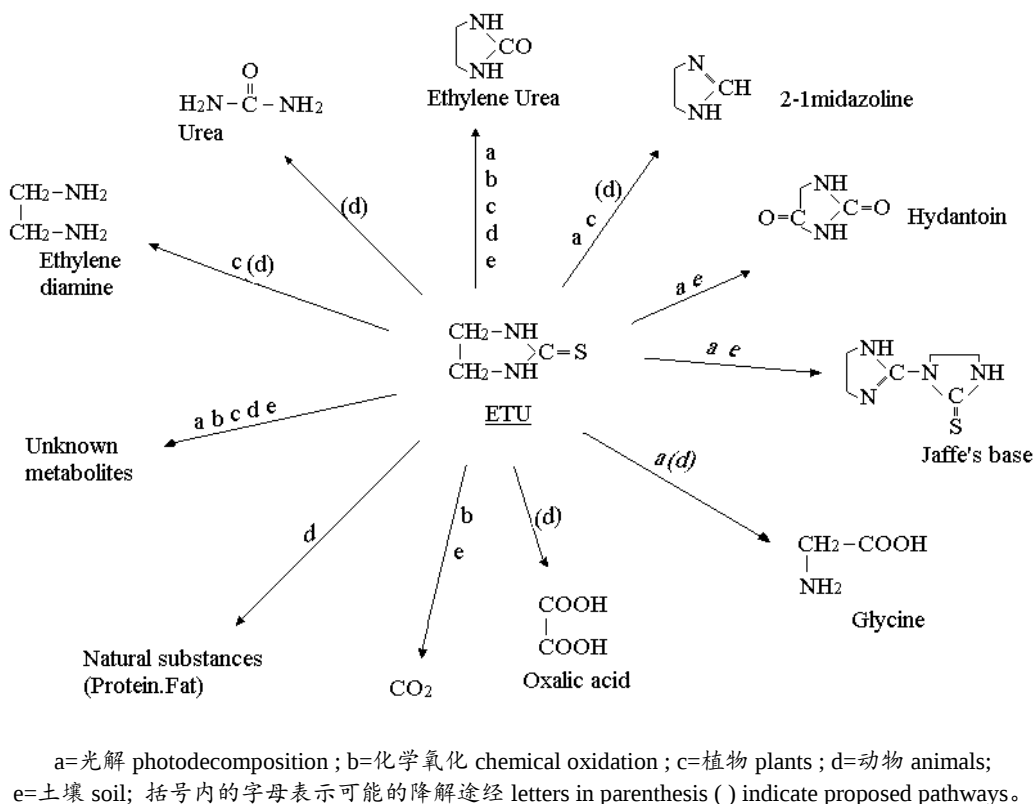


图 1.9 ETU 的降解产物和途径

Fig. 1.9 The degradation products and pathways of ETU (from reference 18)

1.3.4.4 ETU 残留分析方法及残留状况

1.3.4.4.1 ETU 的残留分析方法

Bottomley P. *et al.* 综述了公开发表的 ETU 残留检测方法,特别是对 GLC 和 HPLC 法作了详尽的讨论^[61]。其它检测方法,如早期的 TLC 已经被 GLC 和 HPLC 所代替;逆同位素稀释法,阴极射线极谱法、液闪烁计数法等虽有报道,但应用较少。

GLC 方法

1970~1980 年, GLC 广泛用于 ETU 的残留分析,因为它有较高的灵敏度并且可以应用多种检测器(如 ECD, FID, FPD, AFID 等)。GLC 可以分为衍生法和非衍生法,色谱柱上可分为填充色谱柱和毛细管色谱柱。

非衍生法

填充柱 Bontoyan WR *et al.* 使用 GLC-TCD 对 EBDCs 中的 ETU 进行了检测,检出限大约为 0.1%,显然这种方法太不灵敏,无法用于残留分析^[17]。当采用 GLC 直接分析 ETU 时,涉及到一个问题是 EBDCs 转化成为 ETU 的问题,使得 ETU 的测定结果偏高。尽管这些问题引起了注意,但事实上都

没有很好的解决。

毛细管柱 Hirvi T *et al.* 报道了采用毛细管色谱柱直接分析 ETU。对固定相 FFAP、Carbowax 20M、OV-17、OV-101 和检测器 FID、ECD-Ni⁶³ 和氮磷检测器都进行了研究^[62]。Nitz S. *et al.* 也采用了毛细管色谱法测定了啤酒、啤酒花和葡萄中的 ETU^[63~64]。

衍生法

填充柱 大多数研究工作者都感到直接用 GLC 分析 ETU 的困难, 因此对其衍生进行了大量的卓有成效的研究^[65~67]。通常将 ETU 衍生成 S-苯基-ETU、S-丁基-ETU、N,N-双(三甲基硅) ETU、N-三氟乙酰-S-苯基-ETU 进行测定。衍生后的优点是灵敏度高, 不存在拖尾问题。缺点是衍生需要特殊的试剂, 还要花费大量时间, 由于操作步骤增多, 造成错误的机率增大。另外衍生的效率和是否完全也是个问题。通常在一种样品上建立的方法不能在另一种样品上重现。

HPLC 方法

Marshall WD 应用 HPLC 研究了 EBDCs 的热解问题, 同时对 ETU 进行了检测^[68]。在残留测定方面, 首先由 Onley *et al.* 建立了一个分析方法, 其中的许多程序沿用至今^[69]。Krause RT *et al.* 报道了采用 HPLC-EC 检测 ETU 的技术^[70]。其出发点是紫外检测器缺乏足够的选择性。滴汞电极和玻璃电极虽然有非常好的选择性, 但其灵敏度相当的低。EC 检测器配 Au/Hg 工作电极和 Ag/AgCl 参比电极能较好的解决了选择性和灵敏度问题。其检出极限可达 2ppb($\mu\text{g}/\text{kg}$)。用 CN、C₈、C₁₈ 柱分离 ETU 其柱效相当, 用 10%乙腈水溶液, 保留时间分别为 153、139 和 133S。用 C₈ 柱、流动相为 100%水、其流出时间 278S。另外柱温对保留时间和峰高的影响也进行了测定。提高柱温、峰高增加, 保留时间降低。60℃柱温峰高比 35℃时增加三倍, 此时峰形和相对保留时间变化最小, 并证实在酸性条件下, C₈ 柱较耐用。

Krause RT 详细研究了采用 HPLC-EC 法测定食品中的 ETU 方法^[71]。在萃取溶剂选择上, 以水+甲醇+氯化钠(或乙酸钠)为最好, 优于单用水、甲醇或水+甲醇。因为该萃取溶剂能够减少脂溶性物质(如叶绿素 a、叶绿素 b, 胡萝卜素、脂肪和蜡)的提取, 从而有利于净化。对于萃取液的 pH 值来讲, 以 pH 7~9 为宜, 偏酸则影响回收率, 如甜苹果酱, 用乙酸钠代替氯化钠, 可使 ETU 回收率从 10%提高到 85%。ETU 在真空旋转浓缩器上的回收率波动较大, 其主要原因是 ETU 易于同玻璃表面活性位点发生作用, 解决这一问题的措施是进行硅烷化处理。通常不硅烷化的老旋转浓缩瓶回收率平均 77% (70~81%), 新瓶平均 92% (87~95%), 而硅烷化的瓶子平均回收率 96% (94~99%)。但是硅烷化试剂只有 Surfasil 可与玻璃表面结合。另外, 整个测定过程在 4h 内完成较好, 定容液要在进样前进行过滤 (0.45 μm), 过滤后的液体应当是无色的。放置过夜的样品, ETU 明显损失, 以蘑菇样品为例, 添加 0.05ppm 过夜后平均损失 13%; 添加 0.5ppm, 平均损失 4%。添加 0.05ppm, 即使室温避光过夜后损失也为 96%, 其 ETU 在样品中的损失情

况目前还不清楚。因为含 ETU $0.025\mu\text{g/ml}$ 水样贮存在同样条件下不损失。Doerge *et al.*报道了 HPLC-PAD 测定 ETU, 这种检测器的优点不象 EC 电极那样容易中毒, 而且在使用前不需要处理^[72]。Doerge DR *et al.*和 Kurttio P *et al.*分别报道了用 PB/LC-MS 和 TSP/HPLC-MS 检测 ETU, 这些方法的使用都可提高检测方法的可信度^[73~74]。Bolzoni L *et al.*报道了采用 HPLC-5100A 型库仑检测器测定番茄酱等中的 ETU 含量, 其检测极限可达 3ppb ^[75]。在柱操作上, 推荐采用开关双柱系统, 以便一个柱子工作, 另一柱子再冲洗, 可以大大节约分析时间, 提高分析的准确度^[76]。在净化处理步骤, 采用 Sep-pak C₁₈ 可以明显地减少干扰峰的出现。

应用 GLC 直接分析 ETU 有很多的问题, 首先是 ETU 的性质(低挥发性、强极性化合物)造成色谱峰严重拖尾, 再者 EBDCs 在萃取或进样过程中的转化。现已发表的 GLC 法, 大多数是用 ETU 衍生填充柱色谱法完成的。优点是灵敏度高, 选择性好; 缺点是衍生增加了分析时间和衍生的不完全等。另外一个重要的问题是某些较好的衍生分析方法只适合特定的样品, 样品种类的变化显得衍生分析方法通用性差。某些情况下也采用毛细管气谱法分析 ETU 的衍生物。需要指出的是, 进入九十年代, 随着 HPLC 方法的发展和应用, GLC 法不论是衍生, 还是不衍生, 不论是填充柱, 还是毛细管柱, 国外已经很少有报道。

HPLC 法对于检测制剂中的 ETU 非常有效, 同时也可用于食物样品中的非衍生化分析。大多数情况下, 灵敏度低于 GLC, 同时紫外检测器的选择性也较差。但是, 近年来随着 HPLC、HPLC-MS 分析技术的不断提高, 特别是采用了 EC 检测器, 其灵敏度和选择性能都有了极大的提高, 完全可以同 GLC 相比, 因此采用 HPLC-EC 的文献增多。

1.3.4.4.2 ETU 的残留水平及污染状况

ETU 的残留和消解主要受三方面因素的制约: a. 使用前 EBDCs 类杀菌剂中 ETU 的含量; b. EBDCs 降解生成 ETU 的速率; c. ETU 降解的速率。通过大量的残留试验结果证明, 除 EBDCs 制剂外, ETU 在环境、农产品和蔬菜中的残留水平较低, 一般低于 0.1mg/kg , 绝大多数接近检测极限 0.01mg/kg ^[18], 半衰期通常 $1\sim 14\text{d}$ ^[6]。

在田间施药 4h, 操作人员吸入的剂量平均为 $0.07\mu\text{g/kg}$ ^[47]。

在 FDA 定期监测工作中(1985~1991), 发现葡萄汁中 14/120 个样品中有痕量 (0.01ppm) ETU。在 864 个婴儿食品抽样中, 发现有 7.5% 的样品中 ETU 残留水平为 $0.01\sim 0.06\text{ppm}$ ^[44]。

ETU 的水溶性较好, 通过淋溶可以进入地下水。在美国被检测的 1295 口饮用水井, 其中有一口 ETU 含量为 $16\mu\text{g/L}$ ^[2]。

MZ 在国外已有三十多年应用历史, 由于其自身的问题和降解产物 ETU 的慢性毒害问题, 前人在各个方面做了大量的工作, 但是从目前文献看关于它在大棚中的环境行为研究较少。鉴于缺乏从大棚生态环境角度出发, 评价

MZ、ETU 环境毒理的较为详细的数据，特别是在我国大棚生态环境条件下系统研究工作，为了避免它们可能产生的长期潜在危害和对大棚生态环境的影响，因此开展了这方面的研究工作。

第2章 MZ 的 HS-GLC 残留分析技术

EBDCs 杀菌剂中的重要品种 MZ 具有不溶于水和常见有机溶剂的特性, 因此残留分析通常采用间接的测定方法, HS-GLC 则是其中最常用的公认的测定方法之一^[29]。MZ 的 HS-GLC 的残留分析方法主要分为两步进行, 第一步为 MZ 转化成为 CS₂ 的方法; 第二步为 CS₂ 顶空分析方法的研究。关于第一步已经有了许多研究和报道^[5,21,28,77~79]; 但第二步至今未见分析技术细节的报道, 尽管 HS-GLC 用于 EBDC 类杀菌剂残留测定方法已经近 30 年^[28]。由于该方法为间接的测定方法, 加之采用特殊的 GLC 分析技术, 因此有必要根据研究工作者本身的试验条件和经验, 对影响测定结果准确度和精密度的诸多因子加以深入的研究, 进而掌握 HS-GLC 在 EBDC 类杀菌剂残留分析上的技术要点, 保证测定结果的准确性和重现性。

2.1 材料与方法

2.1.1 仪器和试剂

气相色谱仪: SP-501, 配双火焰光度检测器(FPD-S), CR-3A 数据处理器;

色谱柱: 2m×3mm 玻璃柱, 内装 5%SE-30+上试 101 白色酸洗担体

177~149μm(80~100 目);

温度: 柱箱 65℃, 汽化室 120℃, 检测器 150℃,

流速和压力: 柱前压 1.0, 氮气 35ml/min, 氢气 82ml/min 空气^{#1}184ml/min;

空气^{#2}92ml/min;

-600V 高压, 10²×1/4, 纸速 10×30mm/h, CS₂ 保留时间约

1.30min, 外标法定量;

普通进样器: 10μl, 25μl, 50μl, 100μl, 250μl, 500μl, 1000μl,

2000μl;

气密进样器(GTS)(SGE 公司产品): 100μl, 5ml 顶空具阀;

顶空反应瓶: 300ml 反口胶塞葡萄糖瓶; 自制 300ml 白色螺口瓶, 聚四氟乙烯(PTFE)盖, 居中内装螺旋扣压紧的气相色谱用进样隔膜垫;

超级恒温水浴; 磁力搅拌器等;

试剂和溶液^[34];

MZ 标准品: (1)81.2%(Rohm & Haas Company USA);

(2)88.6%(沈阳化工研究院);

CS₂ 标准母液: CS₂(分析纯)重蒸两次, 将其比重为 1.263 的 0.79ml(1.0000g)CS₂ 用石油醚(60~90℃)定容至 100ml, 即得 10000μg/ml 的标准母液。



图 2.1 顶空反应瓶

Fig. 2.1 Reaction flasks

2.1.2 试验内容

2.1.2.1 顶空反应瓶的选择和瓶盖的干扰测定 在相同的色谱条件下, 从顶空瓶(瓶内无裂解液, 全部为空气)中取样 100~2000μl 进样, 比较反口胶塞和 PTFE 瓶盖在测定 CS₂ 时产生的干扰。

2.1.2.2 采样后进样间隔时间的设计 温度: 20℃和 100℃, 时间间隔为采样后 5~7s(直接进样)、15s 和 30s 进样测定。反应瓶中 CS₂ 浓度为 0.0004μg/ml、0.004μg/ml、0.04μg/ml、0.4μg/ml 和 4μg/ml。

2.1.2.3 采样方式对测定结果的影响 用普通型进样器, 采样方式分三种, 一种为先吸入等同于进样量的空气, 扎入反应瓶后, 一次性缓慢将针柄提到刻度; 第二种为将进样器扎入反应瓶后, 将针柄往复抽动三次后提到刻度; 以一次提到刻度为基准, 测定三次抽动针柄后 CS₂ 的量; 第三种为进样后, 不冲洗针, 吸到上次刻度的空气后进样, 检测 CS₂ 的含量。

2.1.2.4 考察不同进样器对测定结果的影响

进样量: 普通和气密进样器为 100μl; SGE 顶空具阀进样器为 500μl, 取样后关闭阀门, 扎入气化室后再打开阀门。反应瓶的温度为 20℃、40℃、60℃、80℃和 100℃; CS₂ 的浓度为 0.04μg/ml、0.08μg/ml 和 0.16μg/ml。

2.1.2.5 CS₂ 母液的配制和贮藏

2.1.2.5.1 配制 CS₂ 母液溶剂的选择 分别对 CS₂、H₂S 和 15 种常见溶剂在同一色谱条件下进行分离。

2.1.2.5.2 CS₂ 母液的贮藏试验 将新母液分别配制成含 CS₂ 20μg/瓶、40μg/瓶、80μg/瓶, 以新配制的 CS₂ 母液为基准测定两周前配制贮藏的 CS₂ 母液的浓度。旧母液置于室内条件下保存。

2.1.2.6 MZ 标准悬浮液均匀性测定方法 称取 MZ 标准品 0.0123g 放入 250ml 烧杯中, 准确加入 100ml 水后磁力搅拌 5~10min, 即制成 MZ 标准母液。搅拌同时, 用 3 支移液管分别吸 10ml 放入 3 个 100ml 容量瓶中定容,

摇匀即得 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 标准悬浮液, 此悬浮液用于 MZ 转化率的测定和添加回收率试验。

2.1.2.7 MZ 转化率的测定 将 Rohm & Haas Company USA 的 MZ 标准品配制的标准溶液 10ml 分别加入 3 个反应瓶中, 加入裂解液^[34]后, 用装有 40 μg 和 80 μg CS_2 的反应瓶建立标准曲线, 测出其 MZ 转化成的 CS_2 浓度, 测得的浓度与理论浓度之比即为转化率。

2.2 结果与分析

2.2.1 CS_2 的 HS-GLC 定量的理论基础

MZ 在只有能量交换而没有物质交换的密闭系统(顶空反应瓶)中, 与酸作用生成 CS_2 , 这一化学反应完成时间 30min 左右。反应过程中, CS_2 无法在系统中建立平衡, 待反应完全后, CS_2 才能建立气液平衡, 建立这种平衡需 1.5~2.0h。

在顶空反应瓶这个封闭系统中建立平衡, 需满足下列条件:

- a 热平衡: 各相温度必然相等, 即 $T^\alpha = T^\beta = T^\gamma = \dots T^\pi$
- b 力平衡: 各相压力必然相等, 即 $P^\alpha = P^\beta = P^\gamma = \dots P^\pi$
- c 相平衡: 对每个组分来说, 化学位必然相等, 即

$$\begin{aligned}\mu_1^\alpha &= \mu_1^\beta = \mu_1^\gamma = \dots \mu_1^\pi \\ \mu_2^\alpha &= \mu_2^\beta = \mu_2^\gamma = \dots \mu_2^\pi \\ &\dots\dots\dots \\ \mu_k^\alpha &= \mu_k^\beta = \mu_k^\gamma = \dots \mu_k^\pi\end{aligned}$$

也就是说, 该反应瓶中的气液平衡也必定遵循相律: $f = K - \pi + 2$

在这个二元系统中, $K=2$, $\pi=2$, 则 $f=2$ 。本实验为恒温系统, 因此系统只剩下一个独立变量。如果当一个组份一定, 另一个组分和压力也相应确定, 当压力变化时, 相应的两个组份都会发生变化。由此可以看出, 整个实验中所用全部反应瓶的气密性必须一致达到要求, 否则, 有个别反应瓶发生漏气, 反应瓶内的相平衡就发生向气相增多方向的偏移, 导致测定结果偏高。相平衡是相变化的极限, 达到这个平衡后, 相间在较长时间内不会发生物质传递, 在该系统中, 压力的变化是影响这种相平衡的主要外界因素。而压力的变化主要反映了顶空反应瓶的气密性。另外, 这种相平衡需要一定的时间周期, 平衡不是瞬间就能建立起来的。

在顶空反应瓶中, 吸取顶空等份体积中的挥发性组分(i), 所测得的峰面积(F_i)与其蒸气分压(P_i)成正比。即: $F_i \sim P_i$

蒸气分压可用组分纯品蒸气压(P_{oi})、溶解组分的摩尔分数(X_i)和活度系数(γ_i)乘积来表示:

$$P_i = P_{oi} X_i \gamma_i \text{ (真实体系)}$$

当 $\gamma_i = 1$ 则 $P_i = P_{oi} X_i$ (理想体系)

此即为顶空定量分析的理论依据 Raoult 定律。

本试验的顶空反应瓶中,虽然是一个复杂的多元体系,但是可以近似看成是 CS_2 和 H_2O 的二元系统。在此系统中,由于水是大量的,其挥发能力与纯水大致相同,对于 CS_2 来讲,它的分子基本上被水分子包围,分子间的吸引力将减弱,从而体系中的 CS_2 挥发能力将比纯 CS_2 体系高得多。因此该体系 $\gamma_i > 1$ (此为推论,有待实验证实)应为正偏差系统。活度系数不单纯表现为被测组分的特性,同时还取决于组分所存在的混合液(即本试验的裂解液及样品)的组成。现已证明许多电解质盐类可以显著提高 γ_i 值。因此,采用顶空分析方法测定未知混合溶液中组分时必须加以校正,如 CS_2 的顶空分析,整个校正工作即是标品反应瓶中的介质要与样品的一致。或者校正系数近似为 1。好在采用 HS-GLC 测定黄瓜、土壤中 MZ 时,盐析效应并不十分显著。

2.2.2 顶空反应瓶及瓶盖干扰的测定结果

一般讲,反应瓶体积的选择以 100~300ml 为宜,体积小可以节省一些裂解液,体积选择应该即经济,又要能满足方法检出极限的要求。反应瓶的颜色无关紧要,白色的在操作时,容易观察到样品及溶液加入和反应后的情况。对于反应瓶的材料,一般葡萄糖瓶、血浆瓶等就会满足要求,加热后的压力不会使反应瓶炸裂,反应瓶炸裂的主要原因是温度的剧烈变化,防止炸裂可以采用先在烘箱中预热 40~60 °C 的方法解决。顶空反应瓶的关键问题是瓶盖,即要保证不漏气,又要没有干扰,最好采用 PTFE 材料,从而避免橡胶和其他塑料制品的干扰。反口胶塞(葡萄糖瓶盖)有干扰组分,其保留时间与 CS_2 相差不多,因此对测定造成干扰。在较高灵敏度的检测条件下,进样 50 μl 即可检出此干扰物。其浓度相当于 0.3mg/kg,这样就无法测出 MZ 降解低于 0.3mg/kg 后的残留动态。

2.2.3 采样后间隔不同时间进样测定结果

常规的顶空采样用开放的方式,即采样→室内放空→进样,这样有必要明确采样后进样的间隔时间对测定结果的影响。测定结果说明在 CS_2 浓度较低的情况下,进样间隔时间的长短对峰高值影响不大,而当浓度较高时这种影响就不能忽略(表 2.1)。由于采用相对的测定方法,这就要求操作者进样的间隔时间尽可能一致。

表 2.1 采样后不同间隔时间和不同温度进样测定结果
Table 2.1 The results of injecting time intervals after sample intake

采样后进样间隔时间 Intervals (s)	反应瓶的温度 Temp. of the flasks (°C)	各反应瓶中 CS ₂ 的浓度 (μg/ml) The conc. of CS ₂ in the flasks			
		0.0004	0.004	0.04	0.4
5~7	20	615	4561	712	707
	100	3273	3340	9809	5250
15	20	408	2588	591	302
	100	1299	2683	3983	1558
30	20	392	2057	461	300
	100	623	2008	2116	510

2.2.4 不同采样方式的测定结果

采样方式对测定结果影响较大,在采样过程中,如果多次往复拉动针柄,会造成 CS₂ 在进样器中的积累(表 2.2)。以一次提到位为基准同往复抽动针

表 2.2 采样方式对测定结果的影响
Table 2.2 The effect of sampling manners on the results

采样方式 Sampling manners	各反应瓶中 CS ₂ 的浓度 (μg/ml) The conc. of CS ₂ in the flasks				
	0.0004 (Sample size 2ml)	0.004 (Sample size 1ml)	0.04 (Sample size 100μl)	0.4 (Sample size 25μl)	4 (Sample size 6μl)
拉针柄缓慢 一次至刻度 Pull the plunger slowly only one time to the scale	0.80	4.00	4.00	10.0	24.0
往复抽动针 柄三次至刻度 Reciprocate the plunger three times to the scale	0.80	4.16	4.53	12.4	28.8
未冲洗针直接 吸空气至刻度 Not flush the syringe by carrier gas intake air to the scale after injection	0.80	1.85	1.97	2.90	3.80

柄三次相比,当反应瓶内 CS₂ 浓度为 0.004μg/ml 时,相对误差在 4%左右;

浓度 $0.04\mu\text{g/ml}$ 时, 约为 13%。每次进样后, 在进样器中都会残存一定量的 CS_2 , 以 $0.004\mu\text{g/ml}$ 和 $0.04\mu\text{g/ml}$ 的试样为例, 相对于一次采样到位而言, 分别残存约 31%和 33%。上述结果表明, 在采样上, 必须采用相同固定的方式, 如先吸入和进样量相同的空气, 扎入反应瓶后, 一次缓慢提到指定的刻度, 以减少 CS_2 累积造成的误差。每次进样后, 必须将进样器冲洗干净, 再采样以便提高检测的重现性。经过测定, 用气相色谱仪的另一路载气冲洗进样器 60s 后, 即使采过 $2\text{ml } 4\mu\text{g/ml}$ 的 CS_2 后, 也测不出残存的 CS_2 。

2.2.5 不同进样器及温度变化对测定结果的影响

在进样器选择上, 国外文献报道多采用气密型进样器^[28~29,31], 国内多用普通进样器^[32,34]。从表 2.3 可以看出, 同一温度、同一浓度下, 气密型进样器的峰高值显著高于普通型进样器。这一结果说明尽管

二者采样后都放空, 但是气密型进样器采样时尾端不易进空气, 而采样后进样时载气又不易将样品从尾端吹出。在 100°C 条件, $0.017\mu\text{g } \text{CS}_2/\text{ml}$ 的反应瓶, 气密型进样器和普通型进样器的变异系数分别

为 2.85%和 2.35%, 回收率分别为 97.56%和 98.47%; 反应瓶内浓度为 $0.33\mu\text{gCS}_2/\text{ml}$ 时, 各项依此为 2.30%和 2.77%, 99.88%和 104%。在进样器的选择上, 从相对量的角度考虑, 也

可以采用普通进样器, 便于清洗。温度对普通型进样器进样影响较小, 而对气密型进样器(取样后关闭阀门)影响较大。对普通型进样器影响较小的原因

表 2.3 100ml 的普通型和气密型进样器测定结果

Table 2.3 The measured values by the popular syringe and GTS respectively

反应瓶温度 Temp. of the flasks ($^\circ\text{C}$)	进样器类型 Syringe types	各反应瓶中 CS_2 的浓度($\mu\text{g/ml}$) The conc. of CS_2 in the flasks		
		0.04	0.08	0.16
20	普通 Popular	56	275	1008
	气密 GTS	98	525	2022
40	普通 Popular	66	343	1159
	气密 GTS	99	612	2225
60	普通 Popular	104	523	1558
	气密 GTS	176	793	3197
80	普通 Popular	133	676	2050
	气密 GTS	258	953	3379
100	普通 Popular	198	725	3582
	气密 GTS	301	1060	4938

表 2.4 使用具阀气密型进样器测定结果

Table 2.4 The measured values by GTS with a valve

温度($^\circ\text{C}$) Temp.	各反应瓶中 CS_2 的浓度($\mu\text{g/ml}$) The conc. of CS_2 in the flasks		
	0.04	0.08	0.16
26	46.7	189	676
40	71.0	194	1007
60	136.3	502	1664
80	268.7	888	2568

可能是采样后，每次进样器拔出反应瓶后都会迅速放空，达到平衡的缘故。而气密型具阀进样器采样的空间压力和反应瓶中相同，这一点还证明反应瓶中的 CS_2 并不是完全以气态存在反应瓶上层空间中。温度和采样重现性的关系是 100°C 时由于瓶内正压(约 88kPa)取样容易，但缺点是重现性差，容易吸收到反应瓶中的液体。在进样前手动剧烈振荡反应瓶后再采样可以避免这一现象的发生。室温测定重现性好，但分析时间会延长 3h 以上(冷却降温平衡)。特别值得提出的是，当被测样品 MZ 含量在临界值(MRLs)时，要用同一进样器采样测定，因为不同型号的或同型号不同体积的进样器采样误差很大。另外，标样和样品应交替测定，否则在较长的分析周期中也有较大的误差。

2.2.6 CS_2 母液配制和贮藏试验结果

2.2.6.1 配制 CS_2 溶剂的选择结果

对 CS_2 、 H_2S 及石油醚($60\sim 90^\circ\text{C}$)等 15 种常见溶剂在相同的色谱条件下进行了分离(表 2.5)，其目的是为了选择配制 CS_2 母液的合适溶剂。关于配制 CS_2 母液的溶剂有正己烷，丙酮、正辛烷和正丁醇等^[28~29,32~33]。

使用 FPD 时，当 CS_2 和烃类同时流出，烃类对 S_2^* 有熄灭发光的作用，从而产生一个很大的误差，降低灵敏度^[31,80]。这点在选择 CS_2 的稀释溶剂时要考虑，同时还要注意色谱柱固定液的选择，使得二者能够很好分离。本实验结果表明，选择石油醚($60\sim 90^\circ\text{C}$)作为 CS_2 的稀释溶剂较为合适，其保留时间在 CS_2 之后，能被分离开，不产生干扰。实测 26°C 饱和石油醚($60\sim 90^\circ\text{C}$)蒸气进样 $50\mu\text{l}$ ，无色谱峰出现。这个结果也同使用抗烃类干扰的检测器有关。

表 2.5 CS₂、H₂S 及各种常用溶剂的响应和分离结果
 Table 2.5 The separation and response values of carbon bisulfide hydrogen sulfide etc. popular solvents

溶剂 Solvents	第 1 个峰 Peak1		第 2 个峰 Peak2		第 3 个峰 Peak3	
	保留时间 Retention time(min)	峰高值 Peak height	保留时间 Retention time(min)	峰高值 Peak height	保留时间 Retention time(min)	峰高值 Peak height
CS ₂	0.757					
H ₂ S	0.345					
石油醚 Petroleum ether (60~90℃)	0.933	120	0.985	145	1.258	13
正己烷 n-hexane	0.765	82	1.038	93		
丙酮 Acetone	0.363		0.578	187		
甲醇 Methanol	0.377	82				
无水乙醇 Ethanol	0.365	11	0.532	95		
异丙醇 Isopropyl	0.642	88	0.578	132		
正丁醇 N-butanol	1.782	168	1.607	169		
乙酸乙酯 Acetate	1.022	152	1.082	92		
四氢呋喃 Tetrahy drofuran	1.218	169	1.227	180		
乙醚 Ethylether	0.568	100				
二氯甲烷 Didloromethane	0.655	222				
三氯甲烷 chloroform	1.000	349	1.102	253		
苯 Benzene	1.442	155	1.523	116		
甲苯 Toluol	3.063	123	3.315	124		
二甲基甲酰胺 DMF	3.85	179				

2.2.6.2 CS₂ 母液贮藏试验结果

CS₂ 母液放置时间的考察结果见表 2.6。多次测得的峰高平均值说明, 1000mg/L 的 CS₂ 母液室温下放置 2 周, 母液中的 CS₂ 逃逸不严重, 三种浓度最大相差 6.4%。这一结果说明, 将配制好的 CS₂ 母液盖好容量瓶盖, 贴上密封条, 置于冰箱的冷藏室内, 至少 2 周内不必重新配制。

表 2.6 CS₂ 母液贮藏期限的测定结果
Table 2.6 The binlife of CS₂ mother liquor in lab.

配制时间 Preparative date	CS ₂ 的浓度值(峰高值) The conc. of CS ₂ (peak height)		
	20μg/瓶	40μg/瓶	80μg/瓶
94.7.27	10640	10444	10139
	(20.1)	(40.6)	(70.9)
94.8.10	10000	10000	10000
	(19.7)	(39.9)	(76.4)

2.2.7 MZ 标准悬浮液均匀性的测定结果

当添加 MZ 100μg/瓶, 三次重复测定结果平均值为 5.80, $s = 0.1368$, $CV \% = 2.35$; 添加 MZ 50μg/瓶时, 两次平均值为 2.83, $s = 0.0569$, $CV \% = 2.01$, 说明利用磁力搅拌方式, 采用 Rohm & Haas Company USA 提供的 MZ 标准品, 制备的 MZ 悬浮液的均匀性符合要求。需要注意的是整个标准母液和标准溶液配制过程要在加酸液前 0.5h 内完成, 在 10μg/ml 的溶液中, MZ 在水中降解 $< 3\%$ ^[34]。被测国产的 MZ 标准品用此种方法制备标准溶液均匀性不符合要求, 有沉淀产生, 可能是粉粒细度不够。如果要用国产 MZ 标准品, 可选用加入滑石粉研磨后制成 MZ 标准粉的方法^[33]。

2.2.8 MZ 转化为 CS₂ 的转化率的测定结果

在反应瓶中的 CS₂ 浓度的理论值应为:

$81.2\mu\text{g (MZ)} \times 0.57^{[33,81]} \div 500 = 0.0926\text{mg/L}$, 而三次重复测定结果为 0.0962mg/L, $\text{转化率} = \frac{0.0962}{0.0926} = 103.9\%$ 。转化率高于 100% 的原因主要是由于裂解液的盐析效应产生的(当 CS₂ 浓度相同, 反应瓶溶液总体积相同, 加入 35ml 10%EDTA 溶液峰高值比加入 24ml 时高 6.26%), 转化率试验证明 HS-GLC 方法的可行性, 说明 MZ 能定量的转化成为 CS₂, 另外, 也表明可以直接采用 CS₂ 标准曲线对样品反应瓶进行定量。

2.3 讨论

在反应瓶方面应选用正规的采用 PTFE 瓶盖的 100ml~300ml 的反应瓶。在采样方式上应一次性提拉针柄到位, 进样后应冲洗残存的 CS₂ 再取样, 保证无残存的 CS₂。100℃采样时, 为避免吸入液体, 在采样前应剧烈振荡反应

瓶后再采样。采样进样完成后，要用压力计测定反应瓶内的压力，决定数据的取舍。在 CS_2 母液配制和贮藏方面，可以使用石油醚($60\sim 90^\circ\text{C}$)稀释 CS_2 ，在冰箱冷藏室内贮存的标液，2 周内不需要重新配制。在制备 MZ 标准溶液时应测定其均匀性。MZ 的 CS_2 转化率的测定是整个残留测定方法评价的重要环节。

第3章 MZ 在大棚黄瓜、叶片及残株上的残留和降解

近半个世纪以来,具有高效、广谱、经济特点的 EBDC_s 杀菌剂在全世界得到了广泛应用。MZ 是后期开发的、目前吨位较大的代表性品种之一^[52,82],现已广泛、大量地用于防治蔬菜、果树和大田作物的多种病害。在大棚黄瓜上,国内主要应用 70%MZ 可湿性粉剂、80%大生可湿性粉剂单剂;58%甲霜灵锰锌可湿性粉剂、64%杀毒矾 M8 可湿性粉剂、70%乙锰可湿性粉剂(简称 ND-901)和 72%克露可湿性粉剂等二元混配制剂防治霜霉病、炭疽病等病害。代森类杀菌剂的残留和毒性研究已有许多报道,近年来关于其使用范围以及安全性等问题再度受到关注^[83~86],MZ 在大棚黄瓜上的残留检测工作,国内外所见公开报道不多^[33]。为了明确 MZ 在大棚黄瓜上的残留动态和影响其降解的主要因素,进而为更加科学、合理、安全用药或限制其使用提供基础数据,本文分别测定了 MZ、ND-901 中 MZ 在大棚黄瓜、叶片及残株上的残留动态及大棚空气中 CS₂ 的浓度。

3.1 材料与方法

3.1.1 田间试验

试验地点:吉林农业大学农业科学研究所;

栽培品种:长春密刺(春茬)和津研 4 号(秋茬);

供试药剂:70%MZ 可湿性粉剂(南通第三化工厂);70%ND-901 可湿性粉剂(含 40%三乙膦酸铝和 30%MZ,本校加工);

施药浓度:两种药剂均为 500 倍(推荐浓度)和 250 倍液,折算成 MZ 有效成分含量单剂约为 2950g/ha(500 倍)和 5900g/ha(250 倍);ND-901 约为 1233g/ha(500 倍)和 2466.6g/ha(250 倍),采用工农-16 型喷雾器进行叶片正反面喷雾;

塑料大棚面积 1000m²,小区面积 4~14m²,各处理重复 3~5 次,栽培管理按照常规。

3.1.2 样品处理

取样间隔时间为 0、1、2、3、6 和 12d。各处理小区每次取商品瓜 3 条,四分法取样 300g 匀浆待测。每个处理小区取上、中、下位叶片各 10 片,剪碎混匀,取 150g 加水 450ml 匀浆。黄瓜拔秧后,将其按正常处理堆积,分

别于 2 个月、7 月后取样测定；在不通风的大棚中喷施 MZ 药液后，用 5ml 顶空具阀进样器取样；瓜的水洗去污处理，采用手搓洗方式，自来水冲洗 0.5min 后匀浆。

3.1.3 检测条件和方法

3.1.3.1 试剂和配制

盐酸、氯化亚锡、抗坏血酸、正丁醇、CS₂(以上均为分析纯)；

滑石粉(医用)；88.6% MZ 原粉；

CS₂ 标准母液：10000mg/L 的 CS₂ 标准母液用正丁醇定容；

MZ 标准粉：准确称取 88.6% MZ 原粉(黄原酸盐法测定含 50.80% CS₂，本方法测定含 51.99% CS₂) 23.2mg 和 20.0g 经烘干的滑石粉，充分缓慢研磨混匀；

2%氯化亚锡—盐酸溶液：称取 2g 氯化亚锡，溶于 100ml 盐酸溶液中(36%盐酸:蒸馏水=2:3 用前配制。

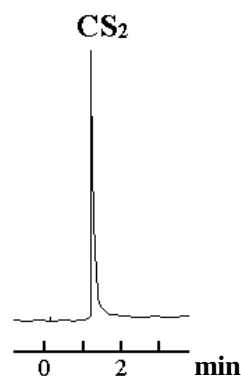


图 3.1 CS₂ 标样顶空气相色谱图

Fig. 3.1 HS-GLC chromatograms of standard CS₂

3.1.3.2 仪器、气相色谱仪及操作条件

气相色谱仪及操作条件见 2.1.1；CS₂ 标样气相色谱图见图 3.1；

600ml 医用葡萄糖瓶作反应瓶，翻口胶塞内装 11mm 色谱用硅胶垫，超级恒温水浴，恒温水浴槽，高速组织捣碎机。

3.1.3.3 CS₂ 标准曲线的建立

取 250ml 蒸馏水于反应瓶中，加盖密封后，用 10μl 进样器向瓶内注入 2、4、6、8、10μl CS₂ 标准母液。待气液平衡 2h 后，取上部空间气体，40μl 进样检测，对 CS₂ 质量(ng)和相应的峰高(mm)取双对数作标准曲线(图 3.2)。

该标准曲线方程 $\log Y = 0.1840 + 2.0248 \log X$, $r = 0.9991$ (显著水平

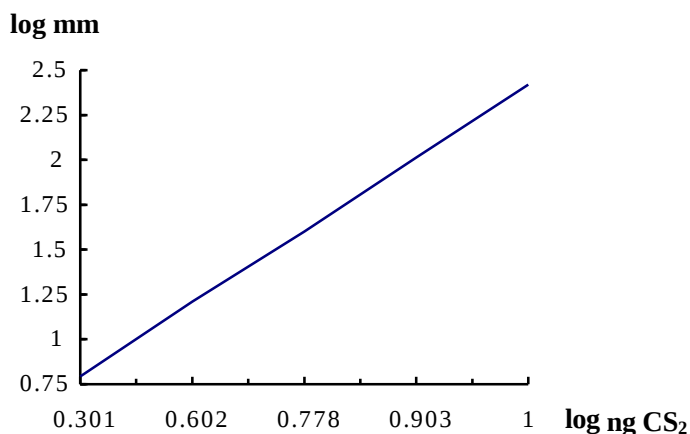


图 3.2 CS₂ 的标准曲线

Fig. 3.2 Standard curve of CS₂

$P>0.01$)。它只用于回收率试验和残留动态检测，不用于MZ酸解后计算CS₂的转化率。

3.1.3.4 样品测定步骤

分别取 100g 黄瓜样品或 10g 叶片样品(加入 90ml 蒸馏水)于反应瓶中，加抗坏血酸 0.1g 和 150ml 2%氯化亚锡—盐酸溶液后，立即加塞密封，充分振荡，将反应瓶转移到 80℃ 水浴中反应 4h，每隔 15min 振荡 1 次。反应完毕，取出反应瓶自然冷却至室温，置于超级恒温水浴中(25±1℃)0.5h，待气液平衡后用 100μl 进样器吸反应瓶上部空间气体，进行气相色谱检测。黄瓜残株测定步骤和方法参见文献^[34]。

3.1.3.5 添加回收率试验

用对照的黄瓜和叶片(未施药)做添加 MZ 标准粉回收试验，MZ 单剂添加浓度为 0.89mg a.i./kg、5.39mg a.i./kg；ND-901 混剂（以 MZ 计）为 1.18mg a.i./kg、2.36mg a.i./kg、7.07mg a.i./kg。各浓度处理 3 次重复。每一浓度处理反应瓶分为两组：一组为样品反应瓶，另一组为空白反应瓶(只加入 MZ 标准粉，不加黄瓜或叶片样品)。裂解后，气相色谱检测，得 CS₂ 峰高，进而得 CS₂ 的含量。以样品反应瓶中的 CS₂ 的含量与相应的空白反应瓶中的 CS₂ 之比计算添加回收率。若同时乘系数 0.57，MZ 添加回收率还可按下式表示：

$$\text{MZ 添加回收率}\% = \frac{\text{样品反应瓶中的MZ回收量}}{\text{空白反应瓶中的MZ添加量}}$$

3.2 结果与分析

3.2.1 添加回收率试验结果

无论高低浓度添加处理的黄瓜和叶片样品其回收率均大于80%(表3.1、图 3.3)；CS₂最小检出量为5×10⁻¹⁰g，CS₂最低检出浓度0.001mg/kg；MZ最低检出浓度0.3mg/kg，符合残留分析要求^[87]。

表 3.1 100g 黄瓜样品中 MZ 的添加回收率

Table 3.1 Recovery of mancozeb from 100g cucumbers

药剂处理 Treatments	添加 MZ 量 Fortification amount (mg a.i.)	黄 瓜 cucumber			叶 片 cucumber leaves		
		回收量 Recovery amount (mg a.i.)	回收率 Recovery (%)	CV (%)	回收量 Recovery amount (mg a.i.)	回收率 Recovery (%)	CV (%)
MZ	0.089	0.083	93.3	3.74	0.075	84.3	5.59
	0.539	0.522	96.8	0.93	0.451	83.7	2.41
ND-901	0.118	0.106	89.8	4.67	0.095	80.5	3.91
	0.236	0.198	83.9	7.07	0.191	80.9	3.83
	0.707	0.612	86.6	5.23	0.597	84.4	3.79

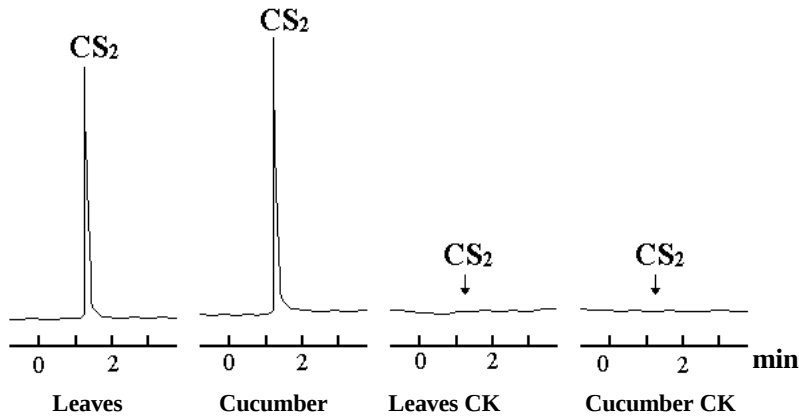


图 3.3 黄瓜和叶片中 CS₂ 顶空气相色谱分离图

Fig. 3.3 HS-GLC chromatograms of CS₂ in the cucumbers and its leaves

3.2.2 MZ 在黄瓜上的残留动态

经春秋两茬 3 次试验结果表明(表 3.2, 图 3.4、图 3.5),黄瓜生长期喷施

表 3.2 MZ 在大棚黄瓜和叶片上的残留动态

Table 3.2 The residual dynamics of mancozeb in plastic house cucumbers and its leaves

施 取 药 样 浓 间 度 隔 In- ter-va l (d)	Treat- ments	春 茬 Spring planting (1990.5.31~6.9)		春 茬 Spring planting (1990.7.7~7.19)				秋 茬 Autumn planting (1990.9.12~9.25)			
		商品黄瓜 Cucumbers		商品黄瓜 Cucumbers		叶片 Leaves		商品黄瓜 Cucumbers		叶片 Leaves	
		残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degra- da- tion(%)	残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degra- da- tion(%)	残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degra- da- tion(%)	残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degra- da- tion(%)	残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degra- da- tion(%)
500 fold	0	2.70	0	0.88	0	164	0	1.36	0	148	0
	1	1.82	32	1.16	-32	164	-0.3	1.98	-46	189	-27.6
	3	1.18(2d)	56	0.36	59	135	17.7	1.55	14	157	-6.2
	6	0.36(4d)	87	0.27	69	127	22.3	1.02	25	145	2.3
	12	0.29(8d)	89	0.11	88	98	40.4	0.48	65	86	41.8
250 fold	0	3.79	0	1.11	0	254	0	2.06	0	246	0
	1	2.88	24	1.25	-13	243	4.7	2.16	-5	271	-9.9
	3	1.97(2d)	48	0.68	39	230	9.7	1.77	14	249	-1.1
	6	1.13(4d)	70	0.27	76	204	20.0	1.16	44	187	24.2
	12	0.39(8d)	90	0.20	32	163	36.0	1.04	50	164	33.2

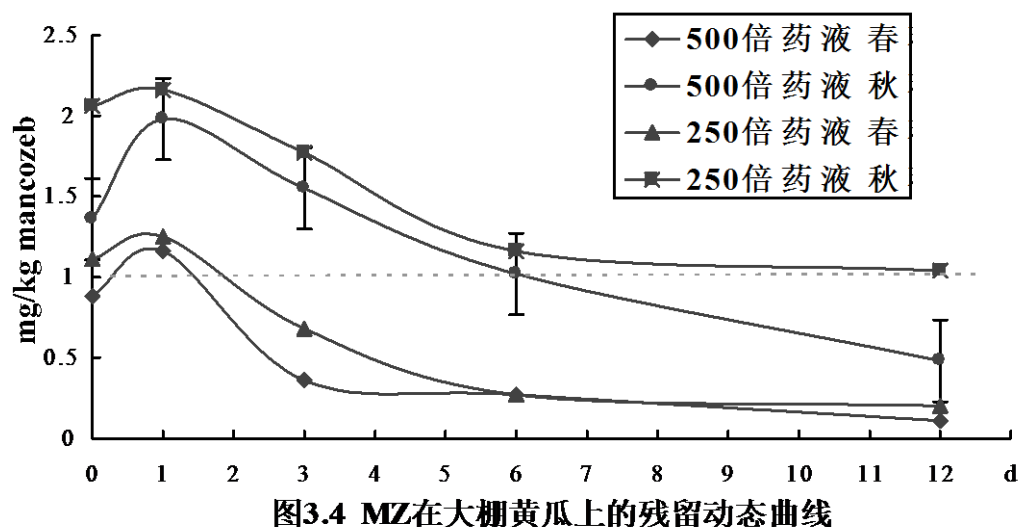


图3.4 MZ在大棚黄瓜上的残留动态曲线

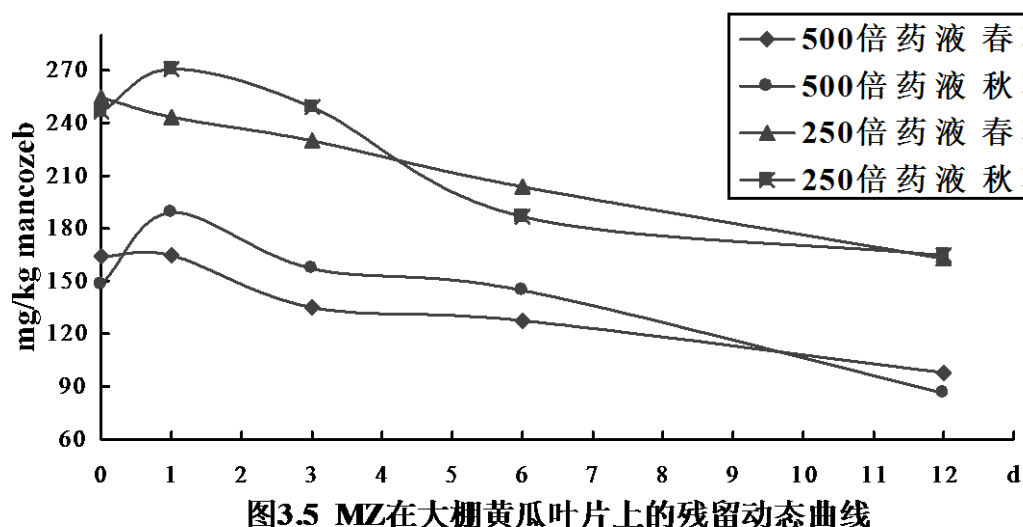


图3.5 MZ在大棚黄瓜叶片上的残留动态曲线

500 倍、250 倍的 MZ 药液，瓜上残留量分别为 0.88~2.70mg/kg、1.11~3.79mg/kg。按推荐浓度施药，须经 2~6d 降到日本规定的 MRL^[88]。其消失速度春茬大于秋茬，春茬间隔 7d 用药一次，瓜上的残留量不会有明显累积。喷施 500 倍、250 倍的 ND-901 药液，瓜上的 MZ 原始沉积量分别为 0.56mg/kg、0.79mg/kg(表 3.3，图 3.6)。尽管消失速度慢，但瓜上的药剂残留量不超过 1mg/kg。另外要说明的是瓜上的残留量还同叶片的茂密程度即遮挡作用有密切关系，叶片的茂密程度与黄瓜品种及叶片病害有关。在霜霉病大发生后用药，MZ 的残留量明显提高。MZ 在黄瓜上的消失率还与大棚

表 3.3 黄瓜上 ND-901 中 MZ 的残留动态

Table 3.3 The residual dynamics of mancozeb in ND-901 in plastic house cucumbers

施 药 浓 度 Treatments	取样间隔时间 Interval (d)	春 茬 Spring planting (1991.6.5~1991.6.17)			
		黄 瓜 Cucumbers		叶 片 Leaves	
		残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degradation(%)	残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degradation(%)
500fold	0	0.56	0	61	0
	1	0.52	7	60	1
	3	0.31	45	58	6
	6	0.09	84	22	64
	12	<0.03	98	5	91
250 fold	0	0.79	0	119	0
	1	0.82	-4	110	8
	3	0.36	54	104	13
	6	0.23	71	54	55
	12	0.03	96	28	77

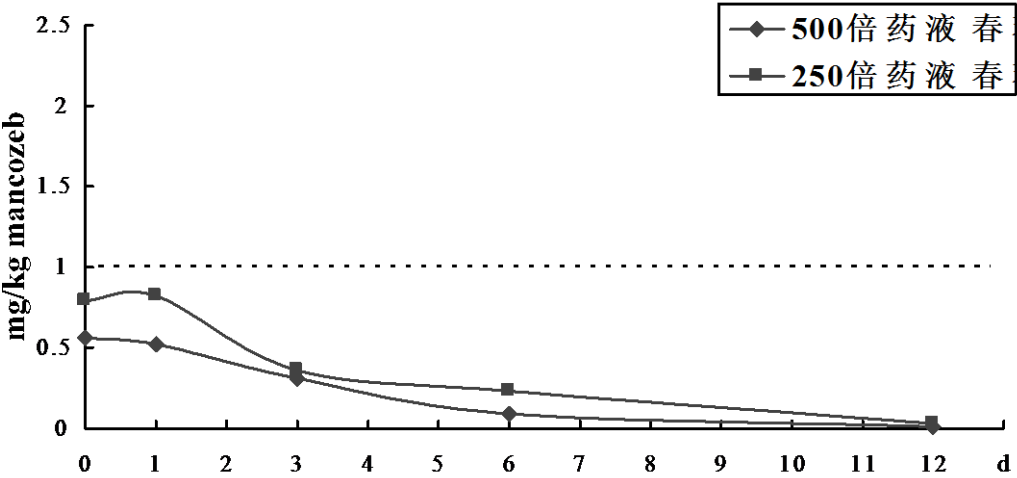


图3.6 大棚黄瓜上ND-901中 MZ的残留动态曲线

Fig. 3.6 Degradation curves of mancozeb in ND-901 on the plastic house cucumbers

环境条件下较快的黄瓜生长速率成正相关，黄瓜自身快速生长稀释 MZ 可达几倍到几十倍。黄瓜从开花、座果到采收一般 3~7d，按照推荐的施药方法很少有沉积两次药剂的可能性。从黄瓜群体角度考虑，施药后第一次采摘的黄瓜 MZ 残留量最高，下一次施药前采摘的黄瓜 MZ 残留量最低。从单剂与混剂残留量测定结果对比看出，复配药剂 ND-901 中的 MZ 残留量小于单剂，安全性有所提高。因此，在防治效果相同情况下，目前以选用 MZ 的混剂防

治黄瓜病害为宜。

从表 3.2 还可看出，施药后第一天残留量均高于原始沉积量，出现这种反常情况是取样时，瓜和叶片上药液水分没有充分挥发。这样瓜上药剂于前处理时容易损失；对于叶片，称取单位重量的叶片数会明显减少，而药剂的残留量同叶片数成显著正相关。

3.2.3 MZ 在叶片上的残留动态

春秋茬单剂两种浓度处理的叶片上 MZ 残留量(表 3.2)分别为 148~164mg/kg、246~254mg/kg、ND-901 两种浓度处理为 61mg/kg、119mg/kg。由于施药保护目标主要是叶片，因此叶片上的着药量比瓜上多 100 倍左右。这一结果比 Lehotay J *et al.*采用 HPLC-UV 测定 MZ 在温室黄瓜叶片上的残留量低^[89]。按推荐浓度间隔 7~10d 用药，叶片上的 MZ 残留量会有明显累积。

3.2.4 回归方程及半衰期

MZ 在瓜、叶片上的降解符合一级动力学反应模式 $C_t = C_0 e^{-kt}$ ，10 组方程的 r 值均大于 0.05 显著水平。从表 3.4 可以看出，推荐浓度喷施的 MZ 在瓜上的半衰期分别为 2.4、3.7d(春茬)；6.5d(秋茬)，半衰期相差较大的主要

表 3.4 MZ 在大棚黄瓜和叶片上降解动力学参数

Table 3.4 Kinetic parameter for degradation of mancozeb in the plastic house cucumbers and leaves

样品 Sample	施药浓度 Treatments	n	半衰期 (T _{1/2})(d)	t _{0.99} (d)	$C_t = C_0 e^{-kt}$		相关系数 r
					C_0	k	
春茬黄瓜 Spring planting cucumber (1990.5.31)	500fold	5	2.4	15.9	2.15	2.888×10^{-1}	-0.9253
	250fold		2.4	16.2	3.68	2.844×10^{-1}	-0.9987
春茬黄瓜 Spring planting cucumber (1990.7.7)	500fold	5	3.7	24.6	0.92	1.865×10^{-1}	-0.9507
	250fold		4.3	28.5	1.12	1.610×10^{-1}	-0.9387
秋茬黄瓜 Autumn planting cucumber (1990.9.12)	500fold	5	6.5	43.5	1.84	1.055×10^{-1}	-0.9339
	250fold		10.6	70.6	2.09	6.504×10^{-2}	-0.9349
春茬叶片 Spring planting leaves (1990.7.7)	500fold	5	16.0	105.7	164	4.345×10^{-2}	-0.9832
	250fold		18.8	124.8	254	3.683×10^{-2}	-0.9993
秋茬叶片 Autumn planting leaves (1990.9.12)	500fold	5	12.7	84.4	178	5.443×10^{-2}	-0.8947
	250fold		16.7	110.8	263	4.148×10^{-2}	-0.9338

原因之一是春茬棚中温度较高(活动积温 1990.5.31~6.13 为 214℃，7.7~7.19 为 299℃)，瓜采摘频繁，生长稀释作用明显；秋茬气温较低(活动积温

9.13~9.25 为 130℃), 瓜生长缓慢, 收瓜次数少。另外春秋光照强度上也有区别。

MZ 在叶片上半衰期均达 12d 以上, 与文献报道相吻合, MZ 在叶片上的降解途经主要为光氧化^[89]。从持效性讲, MZ 应该有较高的防病效果。生产上屡次造成防治失败的主要原因是由于黄瓜叶片的扩展, 施药后叶片逐渐扩展, 很快会出现新的易被病原侵入的裸露区(保护剂药膜破裂), 这表明防治黄瓜霜霉病等叶面病害, 每次用药浓度不宜过高(减轻对果实的污染), 而用药间隔时间不宜过长(保证药膜完整性)。总之, 除黄瓜自身迅速生长稀释外, MZ 在大棚环境条件下相对比较稳定。

3.2.5 水洗去污处理

水洗去污处理结果表明(表 3.5), 自来水冲洗是一种十分有效、简便易行的去污方法。残留在黄瓜表皮上的药剂容易被水冲洗掉。去污率为 70%~91%, 平均达 87%, 水洗后黄瓜上的 MZ 残留量会降低近一个数量级, 两种浓度处

表 3.5 大棚黄瓜水洗去污后 MZ 的残留量
Table 3.5 Residual conc. of mancozeb was decontaminated by tap water

施药浓度 Treat- ments	取样间隔时间 Interval (d)	春 茬 Spring planting (1990.7.7~7.19) Mancozeb			秋 茬 Autumn planting (1990.9.13~9.25) Mancozeb			春 茬 Spring planting (1991.6.5~6.17) Mancozeb in ND-901		
		水洗前 残留量	水洗后 残留量	去污率	水洗前 残留量	水洗后 残留量	去污率	水洗前 残留量	水洗后 残留量	去污率
		Before washing residual level (mg/kg)	After washing residual level (mg/kg)	deconta- mition rates (%)	Before washing residual level (mg/kg)	After washing residual level (mg/kg)	deconta- mition rates (%)	Before washing residual level (mg/kg)	After washing residual level (mg/kg)	deconta- mition rates (%)
500 fold	0	0.88	0.11	88	1.36	0.27	80	0.56	0.09	84
	1	1.16	0.11	91	1.98	0.25	87	0.52	0.08	85
	3	0.36	ND	—	1.55	0.27	83	0.31	0.03	90
	6	0.27	ND	—	1.02	0.18	82	0.09	0.01	89
	12	0.11	ND	—	0.48	ND	—	ND	ND	—
250 fold	0	1.11	0.11	90	2.06	0.36	83	0.79	0.10	87
	1	1.25	0.38	70	2.16	0.29	87	0.82	0.12	91
	3	0.68	0.11	84	1.77	0.30	83	0.36	0.06	83
	6	1.27	ND	—	1.16	0.20	83	0.23	0.02	91
	12	0.20	ND	—	1.04	ND	—	0.03	ND	—

理的瓜样品水洗后的 MZ 原始残留量分别为 0.11~0.27mg/kg、0.11~0.36mg/kg。春茬第 3 天水洗瓜上的残留量低于 0.1mg/kg。ND-901 处理的黄瓜样品水洗后 MZ 含量极微。水洗去污动态分析结果还表明, MZ 在黄

瓜表皮上没有渗透作用。

3.2.6 黄瓜残株上 MZ 的消失和转移

拔秧后 2 个月测定的残株上 MZ 残留量平均为 18mg/kg。越冬后，距拔秧 7 个月 MZ 残留量低于检出限。根据拔秧时叶片上 MZ 的残留量，大约有 10%（最后一次施药量）的 MZ 被转移到棚外。这表明应对黄瓜残株妥善处理，以防 MZ 及其 ETU 随着降雨产生的地表径流污染生活用水。

3.2.7 大棚中 CS₂ 浓度的测定结果

喷施 MZ 及其混剂后，能嗅到大棚内有霉臭味，考虑到 MZ 降解生成 CS₂，于是对 CS₂ 进行了测定。在不通风时，大棚中喷施药剂后，MZ 降解生成的 CS₂ 浓度在空气中低于 0.5mg/m³（允许 10mg/m³）。嗅到的有可能为硫磺。

3.3 讨论

3.3.1 顶空法测定 MZ 在黄瓜上残留动态，其显著特点是高效、简便、快速、准确、经济，检出极限、准确度和精密度符合规定^[87]。本色谱条件下能将 CS₂ 和 H₂S 分离开， $R=1.55$ (图 3.7)，从而排除 H₂S 干扰定量的可能性，经过验证，MZ 的主要降解物 ETU，在本试验条件下不产生 CS₂，因此测定的结果为 MZ 母体的残留量。

3.3.2 当前 MZ 在大棚上的安全使用准则：建议使用 MZ 的混剂，不使用单剂，

每季使用次数不超过 2 次。关于黄瓜上 MZ 的 MRL：日本规定为 1mg/kg，

FAO/WHO 在 1980~1982 年报告中公布为 0.5ppm(以 CS₂ 计)，根据我国实际情况，参考本试验结果，建议暂定 MZ 在黄瓜上最大允许残留量为 0.5mg/kg(以 CS₂ 计)，安全采摘间隔期为 2d。大棚施药人员要加强劳动保护，穿戴防护服，施药后 24h 内禁止进入大棚。

3.3.3 从长远的利益考虑，根据 MZ、ETU 的毒理研究结果，参照 MZ 在大棚黄瓜上的残留动态，建议制定法规明确限制 MZ 在大棚环境中的使用，原因是大棚生产者，农事操作时接触 MZ、ETU 频繁并且剂量较高。

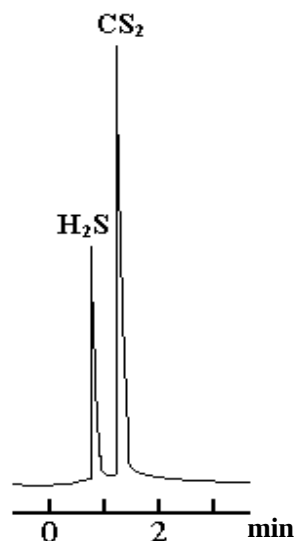


图 3.7 H₂S 和 CS₂ 顶空气相色谱分离图
Fig. 3.7 HS-GLC chromatograms of H₂S and CS₂

第4章 MZ 在大棚土壤中的残留动态

农药在土壤中的残留时间是研究农药环境行为的重要内容之一。农药停留的时间越长,造成对环境和农产品污染的可能性就越大。残存于土壤中的大量农药,其降解一般可分为自身化学降解和被动的生物降解,降解的速率主要决定于农药本身的特性,另外还受土壤—气候条件,土壤耕作制度,施肥技术等许多因素的影响。土壤微生物—细菌、真菌和放线菌等也能对农药的降解起到促进作用,它们使农药以脱卤、脱炔、水解、氧化、还原、环裂解、共轭等形式降解,从而转变成为其它物质。相反,农药对土壤微生物的种群数量和活性也会产生一定的影响。保护地栽培管理水平高,水、肥、药用量大,加之大棚位置的固定性和塑料薄膜的覆盖,大棚土壤无法受到雨水的淋溶,通常光照强度也较露地弱,致使大棚土壤板结,盐渍化日趋严重,阳离子交换能力和微生物群落活性差。MZ 在土壤上的降解虽有报道^[27,38],但是为了明确 MZ 在大棚土壤上的降解,本章采用 HS-GLC 方法对 MZ 在大棚土壤上的降解及微生物对其降解的影响进行了动态测定。

4.1 材料与方法

4.1.1 田间试验

4.1.1.1 试验设计

试验地点:吉林农业大学农业科学研究所。

大棚面积800m²,小区面积20m²,设四个处理:施药3次、5次;500倍药液(推荐浓度)和250倍药液(高浓度),各处理三次重复,随机排列。每次喷药间隔7~10d,设不施药空白对照区。

4.1.1.2 施药、采样间隔期、取样和样品处理

将80%大生M-45可湿性粉剂(Rohm & Haas Company USA)采用两次稀释法稀释后,用工农—16型喷雾器叶面喷雾。施药浓度:500倍液和250倍液,相当于施药剂量分别为推荐剂量2kg a.i./ha和高剂量4kg a.i./ha。先在施药5次小区施药2次,再于施药3次小区一同施药3次。待5次喷药雾滴干后,分别于0、1、3、7、14、28d采用5点法取样。越冬土壤于翌年春翻土整地前取样。取样后用连续四分法取200g,阴干后过333μm(40目)标准筛,称取8g土样装入反应瓶待测。

4.1.1.3 灭菌样品处理

称取灭菌和不灭菌大棚黑土各80g,摊在灭菌的白瓷盘中,各喷入5ml用无菌水配制成的MZ药液(1/10000)搅拌均匀之后分装在灭菌的容器中,共10组,瓶口用灭菌棉塞塞住,放入25℃培养箱中培养,取样间隔时间同4.1.1.2。

4.1.2 残留分析方法

4.1.2.1 试剂和溶液

盐酸、氯化亚锡、氢氧化钠、CS₂(以上均为分析纯); 10% EDTA四钠溶液; 3% 氯化亚锡-盐酸溶液;

81.2% MZ标准品和CS₂标准母液见2.1.1:

MZ标准悬浮液见2.1.2.6。

4.1.2.2 CS₂标准曲线的建立

见3.1.3.3。

4.1.2.3 仪器及操作条件

反应瓶: 300ml白色螺口瓶, PTFE盖, 居中内装螺旋扣压紧的气相色谱进样隔膜垫; 超级恒温水浴。

气相色谱仪及操作条件同2.1.1。

4.1.2.4 测定步骤

称取8.0g土样于反应瓶中, 加入24ml 10% EDTA四钠溶液和60ml 3% 氯化亚锡-盐酸溶液并迅速加盖密封, 充分振荡。将反应瓶转移到100℃水浴中反应2h, 趁热用进样器吸反应瓶上部空间气体, 进行色谱分析。

4.1.2.5 添加回收率试验

首次施药前取空白对照区土壤样本进行添加MZ标准悬浮液回收率试验, 添加浓度为0.3mg/kg和3.0mg/kg, 各处理五次重复。其它同3.1.3.5。

4.2 结果与分析

4.2.1 添加回收率试验结果

无论高低浓度添加处理的土壤样品其回收率均大于或接近于80%(表4.1); 空白土壤样品在最大进样量的条件下, 其待测组分与杂质能够分离(图

表4.1 对照土壤中的MZ添加回收率

Table 4.1 Recovery of mancozeb from soil

试样 Sample	试样量 Sample level (g)	添加药剂 Additive	添加水平 Fortification level (mg/kg)	平均回收率(%) Recovery ($\bar{X}$) $\pm$ S	变异系数 CV (%)
土壤 Soil	8	mancozeb	0.30	93.3 $\pm$ 3.18	3.41
			3.00	75.2 $\pm$ 3.78	5.02

4.1) ；CS₂最小检出量5×10⁻¹⁰g，CS₂最低检出浓度0.001mg/kg、MZ最低检出浓度为0.04mg/kg。

4.2.2 MZ 在土壤上的残留动态

施药3次和5次，250倍药液，测得大棚土壤中MZ原始沉积量(表4.2)均为3.94mg/kg，28d后的残留量分别为1.10mg/kg和1.49mg/kg。MZ在大棚土壤中降解的速率不是很快。MZ的降解速率高浓度小于低浓度，5次用药低于3次用药。依照推荐剂量，间隔7d用药，大棚土壤中的MZ没有明显的累积。对越冬后的大棚土壤测定结果表明，MZ的残留量低于本方法最低检出浓度。

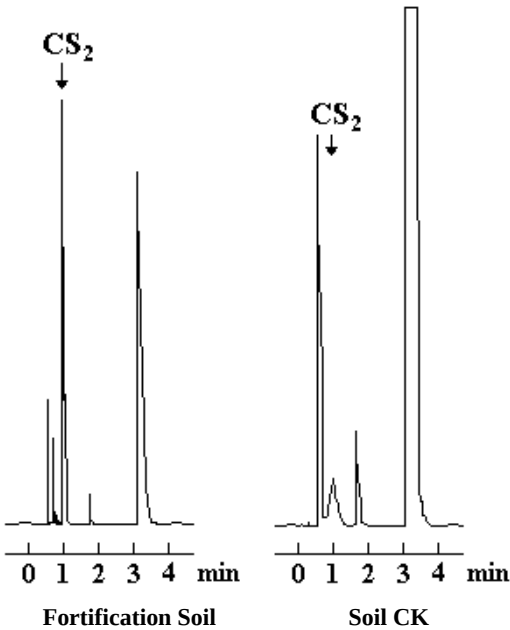


图 4.1 CS₂ 顶空气相色谱分离图
Fig. 4.1 HS-GLC chromatograms of CS₂ in the soil

表4.2 MZ在大棚土壤上的残留动态*
Table 4.2 The residual dynamics of mancozeb in plastic house soil

施药 浓度 Treatments	取样 间隔 时间 Interval (d)	施药3次 Applying three times		施药5次 Applying five times	
		残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degradation(%)	残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degradation(%)
250 fold	0	3.94(2.24)		3.94(2.25)	
	1	6.05(3.45)	-6	6.90(3.93)	-75
	3	3.86(2.20)	2	3.35(1.91)	15
	7	1.97(1.12)	50	3.27(1.86)	17
	14	1.85(1.05)	53	1.91(1.09)	52
	28	1.10(0.63)	72	1.49(0.85)	62
500 fold	0	1.27(0.72)		1.94(1.10)	
	1	1.27(0.72)	0	1.93(1.10)	0
	3	0.69(0.39)	46	1.04(0.59)	46
	7	0.63(0.36)	50	0.87(0.50)	55
	14	0.41(0.23)	68	0.38(0.22)	80
	28	0.38(0.21)	70	0.17(0.10)	91

※ 表中括号内的数字为CS₂实测值。

4.2.3 残留动态曲线、回归方程及半衰期

MZ在大棚土壤中的残留动态曲线（图4.2）符合方程 $C_t = C_0 e^{-kt}$ ，所有方程的 r 值均大于0.05显著水平。用表4.2的试验数据计算出表4.3可知，MZ在

表4.3 MZ在土壤上的降解方程(高剂量，5次)

Table 4.3 Degradation equation of mancozeb on the soil (High dose, five times)

年份 year	样品 Sample	降解方程 Equation of degradation	相关系数 r	半衰期 $T_{1/2}$ (d)	$t_{0.99}$ (d)
1995	土壤 Soil	$C_t = 4.56e^{-0.0446t}$	-0.8774	15.5	103

土壤上的半衰期为15.5d。不同施药次数与MZ的降解半衰期相关不显著，这表明用药次数不会引起施药区MZ残留量的显著增加。施药剂量与MZ的降解半衰期有一定的相关性，因此在保证防效的前提下，尽可能按推荐剂量用药。本试验结果与热酸水解溶剂吸收气相色谱法测定结果（半衰期为5.94~14.12d）^[38]和放射性同位素示踪方法测定结果（半衰期为7.6d）^[27]相比，半衰期较长，这可能与反复多次施药和大棚光照强度有关。但是根据一九八九年国家环保局发布的《化学农药环境安全评价试验准则》中规定的指标，MZ仍然属于易降解农药。

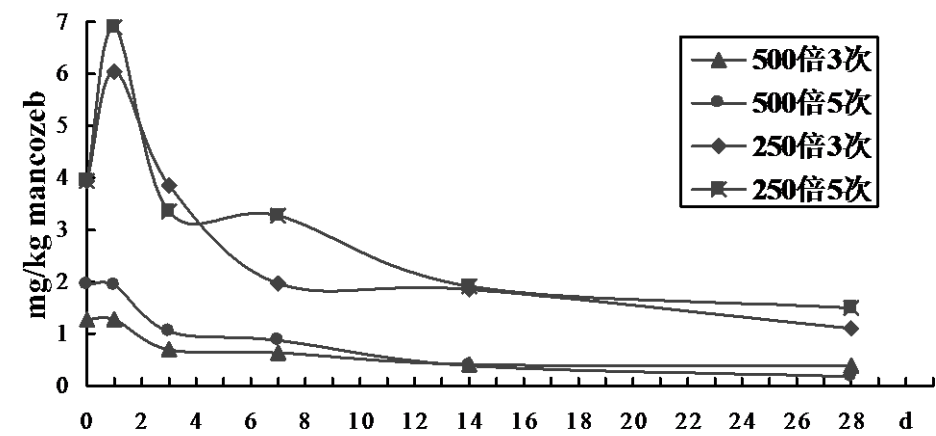


图4.2 MZ在大棚土壤上的降解动态曲线

Fig. 4.2 Degradation curves of mancozeb on the soil in the plastic house

4.2.4 MZ 微生物降解测定结果

对喷施 MZ 药液的灭菌和不灭菌的大棚土壤残留动态测定数据处理后得图 4.3 和表 4.4。这个结果表明，MZ 在大棚土壤中除化学降解光氧化外，土壤中微生物降解也起了一定作用。

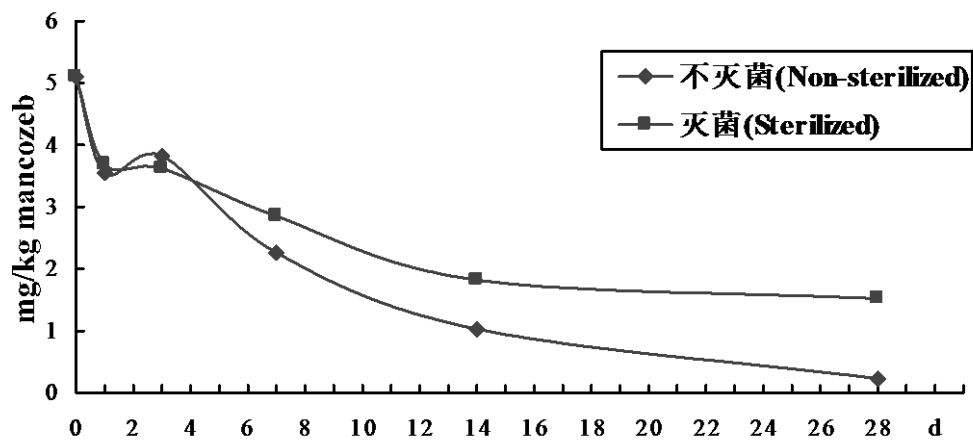


图4.3 MZ在不灭菌和灭菌大棚土壤上的降解动态曲线

Fig. 4.3 Degradation curves of mancozeb on the non-sterilized and sterilized soil in the plastic house

表 4.4 MZ 在大棚土壤上微生物降解动力学参数

Table 4.4 Kinetic parameter for degradation microbial of mancozeb on the plastic house soil

土壤样品 Soil sample	n	半衰期 (T _{1/2})(d)	t _{0.99} (d)	$C_t = C_0 e^{-kt}$		相关系数 r
				C ₀	k	
不灭菌 Non-sterilized	10	6.4	42	4.74	1.080 × 10 ⁻¹	-0.9962
灭菌 sterilized	10	17	114	4.06	4.016 × 10 ⁻²	-0.9324

4.3 讨论

在分析过程中，特别当进样体积较大时，由于 CS₂ 峰后有杂质峰，分析间隔时间一定要足够长，以免发生干扰。尽管调整了土壤称样量，裂解液的酸度和用量，土壤中添加高浓度 MZ 回收率都无法大于 80%，其原因有待深入研究。因此 HS-GLC 方法不适合于测定 MZ 高含量的土壤样品。

第5章 ETU 在大棚黄瓜及叶片上的残留动态

ETU 对大棚黄瓜的污染及叶片上残留, 源于大棚环境中喷洒了 MZ 及 MZ 的降解。关于 ETU 在环境和农产品中的残留, 已经开展了大量的研究工作^[6,18,90]。但是, ETU 在大棚黄瓜上的残留水平如何? 消涨的规律怎样? 目前尚未见公开的报道。本文采用 HPLC-UV 方法对大棚黄瓜及叶片的残留动态进行了研究。

5.1 材料与方法

5.1.1 田间试验

试验地点: 同 3.1.1。

栽培品种: 津研 4 号。

供试药剂: 80%大生可湿性粉剂。

施药处理: 250 倍药液, 叶片正反面喷雾, 间隔 7d, 连续三次施药。

小区面积 20m², 5 次重复。其它栽培管理按照常规。

5.1.2 试剂和溶液

氯化钠、氢氧化铵、乙醇、丙酮、正己烷均为分析纯; 三氯甲烷, 分析纯, 用前重蒸; 甲醇, 光谱纯; 水, 新制二次蒸馏; 5%二甲基二氯硅烷正己烷溶液; 1%和25%癸醇丙酮溶液; 淋洗液: 乙醇: 三氯甲烷 (4: 96); 氧化铝(层析用, 中性, 74~149 μ m); Celite545; 上试102白色酸洗担体(250~350 μ m); 97.2%ETU标准品(Rohm & Haas Company USA)。

5.1.3 仪器及操作条件

Waters高效液相色谱仪: 510型高压泵2台; 490型紫外检测器; 680型梯度控制器; 730型数据处理机; U6K进样器; 柱箱控制器。

色谱分析条件: 色谱柱, 不锈钢柱, 25cm(长) $\times$ 0.46cm(内径), 内装 Spherisorb 5 μ -C₁₈; 流动相为甲醇: 水=95: 5 (V/V), 真空+超声波脱气; 流速0.5ml/min; 波长233nm; 灵敏度0.02AUFS; 柱温40℃; 保留时间约8min; 进样量100 μ l。ETU标准品的液相色谱图见图5.1。

层析柱 30cm(长)×2cm(内径);
旋转蒸发器; Hamilton进样器等; 所有玻璃器皿用前经硅烷化处理。

5.1.4 ETU 标准溶液的配制和标准曲线的建立

先配制 1000 $\mu\text{g/ml}$ ETU 水溶液, 然后逐级稀释, 用于添加回收率试验和ETU标准曲线的建立。用0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 $\mu\text{g/ml}$ ETU 溶液建立标准曲线(图5.2)。该标准曲线方程为 $Y = -2.4513 + 10.5179X$, $r = 0.9998$ (显著水平 $P > 0.01$)。

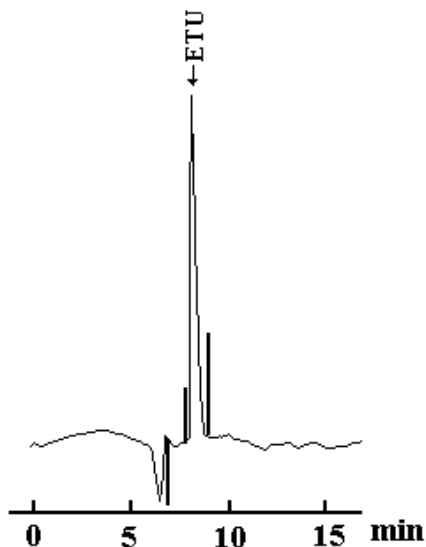


图 5.1 ETU 标样液相色谱图

Fig. 5.1 The HPLC chromatograms of standard ETU

5.1.5 测定步骤

称取50.0g黄瓜或叶片的样本于组织捣碎机缸内, 加75ml水, 捣碎后迅速用氨水调整匀浆液pH11~12, 同时加入5g氯化钠、5gCelite545和100ml乙醇, 再混和匀浆 2min 以上, 用布氏漏斗过滤, 甲醇少量分多次冲洗样品缸和布氏漏斗, 必要时调整过滤液

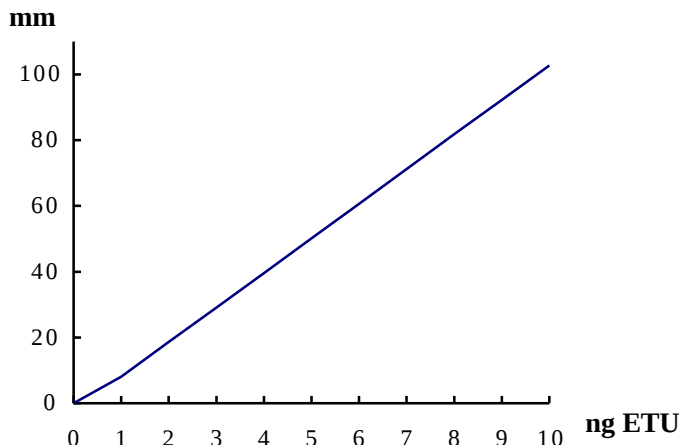


图 5.2 ETU 标准曲线

Fig. 5.2 The standard curve of ETU

pH 7~9, 定容250ml。取定容液25ml于100ml蒸发瓶中加入2滴1%癸醇丙酮溶液, 在30℃条件, 减压浓缩至约8ml, 取下往蒸发瓶中加入10g上试102白色酸洗担体, 迅速剧烈的振荡, 直到全部团块散开。向蒸发瓶内加75ml淋洗液, 摇匀后, 倒入事先准备好的氧化铝层析柱中, 净化柱内装5g已活化的氧化铝, 柱下用内装10ml水和6滴25%癸醇丙酮溶液的500ml蒸发瓶接收。待75ml淋洗液的液面接近上试102白色担体时, 再用200ml淋洗液分4次冲洗蒸发瓶和层析柱。当淋洗液自然滴干后, 按上述减压蒸馏条件浓缩淋洗液约2~3ml, 停止浓缩加水定容5ml, 待测。

5.1.6 添加回收率试验

取空白对照区黄瓜和叶片样本进行添加ETU回收率试验，两种添加浓度：黄瓜 0.04mg/kg和0.10mg/kg，叶片 0.05mg/kg和0.10mg/kg。各处理五次重复。

5.2 结果与分析

5.2.1 添加回收率试验结果

两种浓度添加处理的黄瓜和叶片的回收率结果均大于或接近于80%(表 5.1)；空白对照样品在最大进样量的条件下，其待测组分与杂质能够分离(图 5.3、图5.4)；ETU最小检出量 5×10^{-10} g；最低检出浓度：黄瓜 0.005mg/kg；叶片 0.05mg/kg。

表5.1 对照黄瓜和叶片的ETU添加回收率

Table 5.1 Recovery of ETU from cucumber and leaves

试 样 Sample	试样量 Sample level (g)	添加药剂 Additive	添加水平 Fortification level (mg/kg)	平均回收率(%) Recovery ($\bar{X}$) $\pm$ S	变异系数 CV (%)
黄 瓜 Cucumber	100	ETU	0.04	89.6 $\pm$ 10.39	11.60
			0.10	87.7 $\pm$ 6.64	7.57
叶 片 Leaves	8		0.05	86.1 $\pm$ 18.08	21.00
			0.10	76.1 $\pm$ 12.26	16.00

5.2.2 ETU 在大棚黄瓜和叶片上的残留动态

春茬试验结果表明，黄瓜生长期喷施 250 倍的 MZ 药液，瓜和叶片上的原始沉积量分别为 0.174mg/kg 和 47.7mg/kg(表 5.2)。叶片上的 ETU 残留量比黄瓜上的高 200 倍左右，主要原因是叶片上的 MZ 残留量高，又是其降解生成 ETU 的主要部位和场所。黄瓜上 ETU 残留量没有随着时间的推移，出现比原始沉积量高的反弹，表明在黄瓜上 ETU 的降解速率大于 MZ 降解生成 ETU 的速率。黄瓜自身迅速生长稀释对 ETU 的降解也有一定的影响。但是不同于 MZ 在黄瓜上的降解，这种影响可能由于 ETU 弱的移动性没有充分体现出来。叶片上的 ETU 残留量虽然很高，但是向黄瓜果实上的运转和积累性并不强。

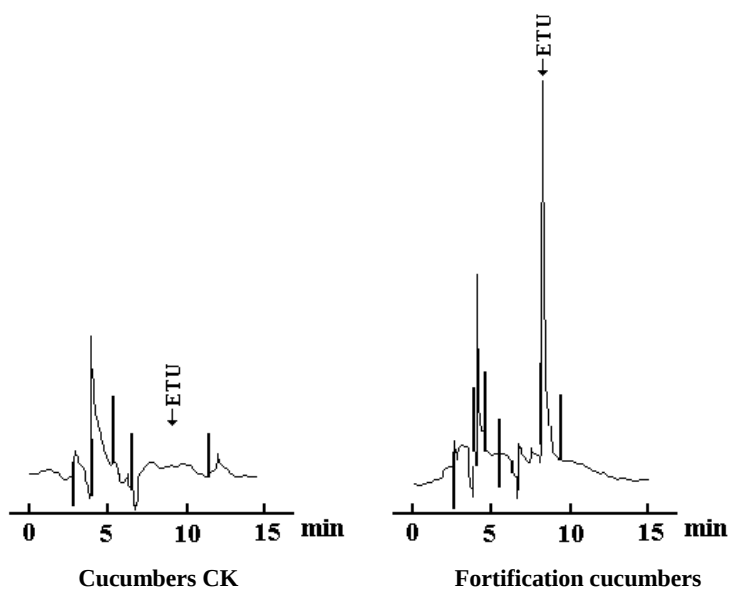


图 5.3 ETU 在黄瓜上的液相色谱分离图
Fig. 5.3 The HPLC chromatograms of ETU in the cucumbers

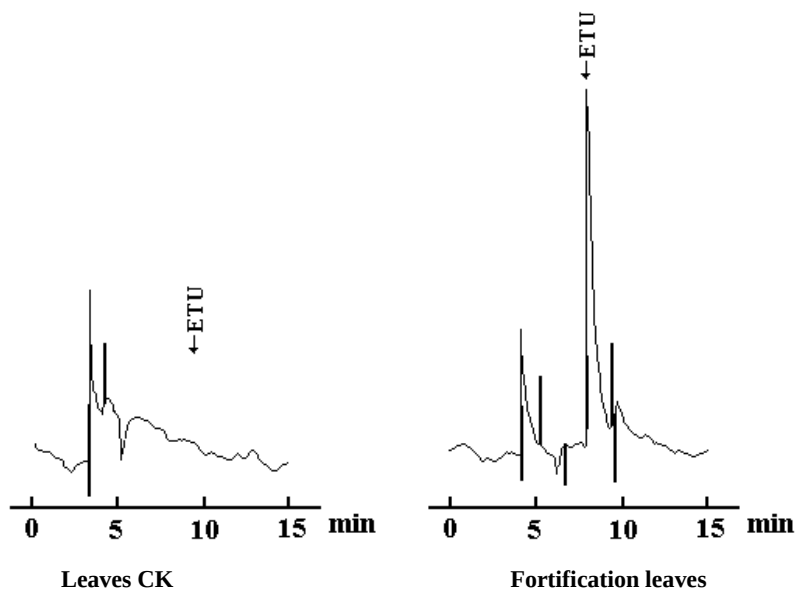


图 5.4 ETU 在叶片上的液相色谱分离图
Fig. 5.4 The HPLC chromatograms of ETU in the leaves

表5.2 ETU在大棚黄瓜和叶片上的残留动态

Table 5.2 The residual dynamics of mancozeb in plastic house cucumbers and its leaves

施药 浓度 Treatments	间隔 时间 Interval (d)	黄 瓜 Cucumbers		叶 片 Leaves	
		残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degradation(%)	残留量 Residual Level (mg/kg)	消失率 Rate of degradation(%)
250 fold	0	0.174	0	47.7	0
	1	0.088	49	26.3	45
	3	0.084	52	15.1	68
	7	0.071	59	4.2	91
	14	ND	94	3.4	93

5.2.3 残留动态曲线、回归方程及半衰期

ETU 在黄瓜、叶片上的残留动态曲线（图 5.5、图 5.6）可用方程 $C_t = C_0 e^{-kt}$ 拟合，2 组方程的 r 值均大于 0.05 显著水平。从表 5.3 可以看出，喷施高浓度的 MZ 后，黄瓜和叶片上的 ETU 半衰期均为 4d 左右。这点不同与 MZ 的降解。半衰期相近的主要原因之一是 ETU 弱的传导性。ETU 在叶片上的降解比 MZ 在叶片上快得多，这主要是由于 ETU 容易光解的缘故。相对说来，叶片采光比瓜好的多。总之，按照推荐浓度用药，由 MZ 降解生成的 ETU 不会在大棚黄瓜和叶片上累积。

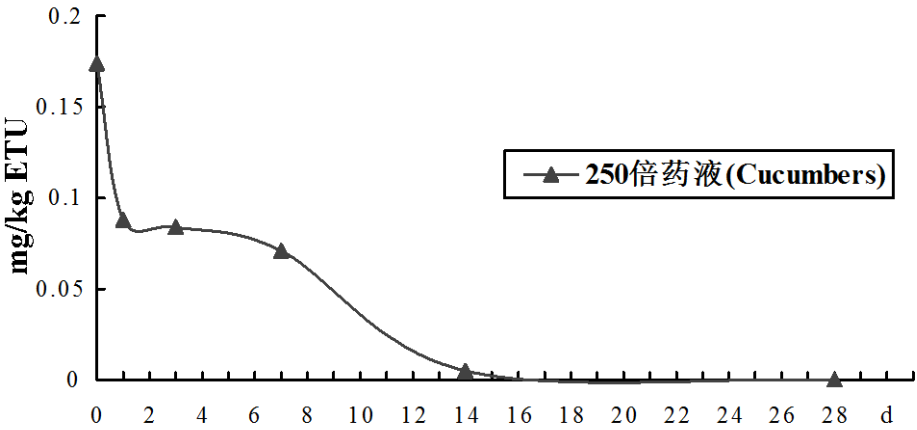


图5.5 ETU在黄瓜果实上的降解动态曲线

Fig.5.5 Degradation curve of ETU in plastic house cucumbers

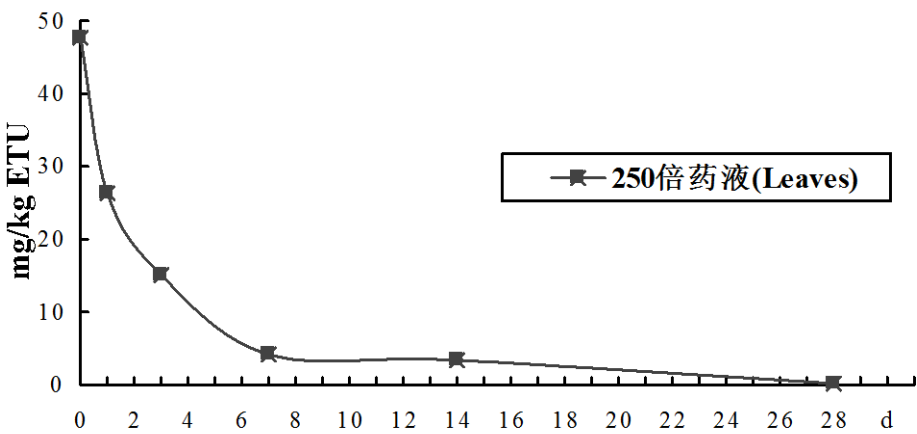


图5.6 ETU在黄瓜叶片上的降解动态曲线

Fig.5.6 Degradation curve of ETU in plastic house cucumber leaves

表 5.3 ETU 在大棚黄瓜和叶片上降解动力学参数

Table 5.3 Kinetic parameter for degradation of ETU in the plastic house cucumbers and leaves

样品	施药浓度	n	半衰期	t _{0.99}	$C_t = C_0 e^{-kt}$		相关系数
Sample	Treatments		(T _{1/2})(d)	(d)	C ₀	k	r
黄瓜(Cucumbers)	250fold	5	3.9	25.6	0.152	1.749×10 ⁻¹	-0.9507
叶 片(Leaves)			3.8	25.0	30.6	1.838×10 ⁻²	-0.9174

5.3 讨论

5.3.1 建议对 ETU 的降解产物深入研究

ETU 在黄瓜上的残留特点是低水平，降解较为迅速。但是它的降解产物毒性如何？本身硫酮式和硫醇式的生物活性有无差别尚需要深入研究。

5.3.2 关于 ETU 在黄瓜上的 MRLs 建议

随着对 ETU 毒理学的深入研究，JMPR 撤消了曾经推荐的 ETU 的 ADI 值 0.002mg/kg/d。目前 WHO 规定 ETU 的 ADI 值为 0.004mg/kg/d。各国关于 ETU 在蔬菜等农产品上的 MRLs 值相差较大^[6]，黄瓜上的 MRLs 还没有建立。考虑到大棚生产的实际情况并结合实测结果，根据 WHO 的 ADI 值，推算 ETU 在黄瓜上的 MRLs 应为 0.1mg/kg 较为合适。对所有能够带来 ETU 污染的 EBDCs 杀菌剂的使用应严格遵循有关规定。

第6章 ETU 在大棚土壤中的残留动态

ETU 作为一种普通的化工原料，对环境的污染主要是来自生产和使用 ETU 时的“三废处理”。大棚环境中的 ETU 源于使用 EBDCs 杀菌剂防治大棚蔬菜的一些叶面病害。喷洒 MZ 防治大棚黄瓜霜霉病的同时，一部分药剂会降落到大棚土壤上。在明确 MZ 在大棚土壤残留动态的基础上，有必要开展 ETU 在土壤中的残留动态研究。本文采用 HPLC-UV 法测定了大棚土壤中由于施用 MZ 而伴随的 ETU 降解动态。

6.1 材料与方法

6.1.1 田间试验

同 4.1.1.1。

6.1.2 试剂和溶液

同5.1.2。

6.1.3 仪器及操作条件

国际型振荡机；其余同5.1.3。

6.1.4 ETU 标准溶液的配制和标准曲线的建立

同5.1.4。

6.1.5 测定步骤

称取土壤样本50g于碘量瓶中，加入溶液和用品同黄瓜，振荡2h后抽滤。其他的步骤见5.1.5。

6.1.6 添加回收率试验

取空白对照区土壤样本进行添加ETU回收率试验，添加浓度：土壤 0.05mg/kg和0.10mg/kg。各处理五次重复。

6.2 结果与分析

6.2.1 添加回收率试验结果

土壤样本中两种添加水平的ETU回收率结果为82.6%~106%(表6.1, 图6.1、图6.2), 最低检出浓度为0.01mg/kg。

表6.1 对照土壤中的ETU添加回收率

Table 6.1 Recovery of ETU from soil CK

试样 Sample	试样量 Sample level (g)	添加药剂 Additive	添加水平 Fortification level (mg/kg)	平均回收率(%) Recovery ($\bar{X}$) $\pm$ S	变异系数 CV (%)
土壤 Soil	50	ETU	0.05	90.6 $\pm$ 6.37	7.03
			0.10	85.9 $\pm$ 4.31	5.02

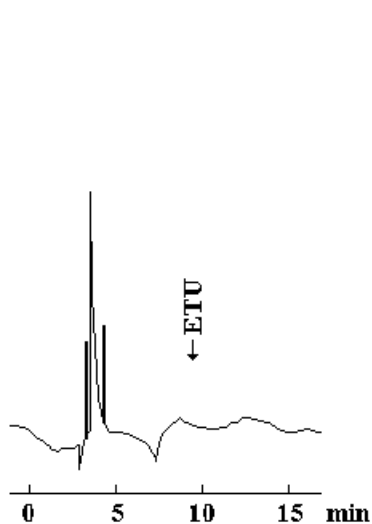


图 6.1 空白土壤液相色谱图

Fig. 6.1 HPLC chromatograms of soil CK

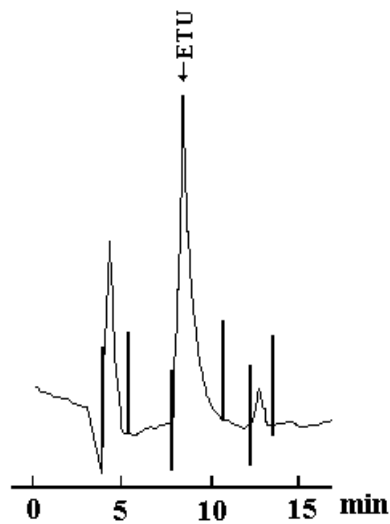


图 6.2 土壤添加液相色谱图

Fig. 6.2 HPLC chromatograms of soil fortification ETU

6.2.2 ETU 在土壤上的残留动态

ETU在大棚土壤上的原始沉积量：推荐剂量 3次、5次施药处理的分别为0.040mg/kg、0.056mg/kg；高剂量的分别为0.043 mg/kg、0.069 mg/kg。28d残留量全部低于最低检出浓度。ETU在土壤中降解较快，依照推荐剂量，间隔7d用药，土壤中的ETU没有明显的积累。

表6.2 ETU在大棚土壤上的残留动态
Table 6.2 The residual dynamics of ETU in plastic house soil

施药 浓度 Treatments	取样 间隔 时间 Interval (d)	施药3次 Applying three times		施药5次 Applying five times	
		残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degradation(%)	残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degradation(%)
250fold	0	0.070		0.069	
	1	0.086	−23	0.057	17
	3	0.011	61	0.019	72
	7	0.021	70	0.017	75
	14	0.019	74	0.012	83
	28	ND	93	ND	93
500fold	0	0.054		0.056	
	1	0.024	56	0.021	62
	3	0.019	65	0.014	75
	7	0.013	76	0.019	66
	14	0.006	89	0.006	89
	28	ND	91	ND	91

6.2.3 残留动态曲线、回归方程及半衰期

ETU在大棚土壤中的残留动态曲线(图6.3)符合方程 $C_t=C_0e^{-kt}$ ，所有方程的 r 值均大于0.05显著水平。从表6.3可以看出，大棚土壤中ETU的降解与施药浓度、施药次数无关。所有方程的半衰期相近，这表明由MZ而来的ETU是

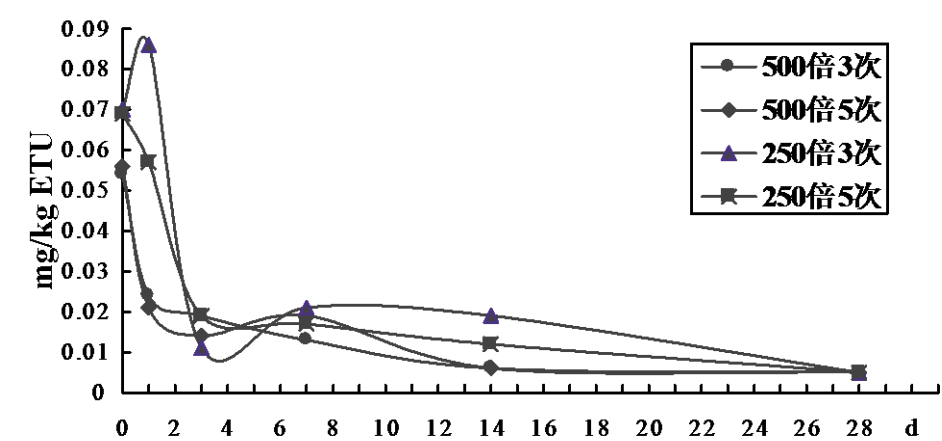


图6.3 ETU在大棚土壤上的降解动态曲线

Fig. 6.3 Degradation curves of ETU in plastic house soil

相当不稳定的。由于在残留动态监测中，未发现高于原始沉积量的峰值，因此可以推断在土壤中 ETU 的降解速率大于 MZ 降解生成 ETU 的速率。

表 6.3 ETU 在大棚土壤上降解动力学参数

Table 6.3 Kinetic parameter for degradation of ETU in the plastic house soil

样品 Sample	施药浓度 Treatments	施药次数 Applying times	半衰期 (T _{1/2})(d)	t _{0.99} (d)	$C_t = C_0 e^{-kt}$		相关系数 <i>r</i>
					<i>C</i> ₀	<i>k</i>	
土壤 Soil	250fold	3	8.6	57	0.0457	8.1×10 ⁻²	-0.7953
		5	8.3	55	0.0431	8.37×10 ⁻²	-0.9088
	500fold	3	9.4	62	0.0279	7.34×10 ⁻²	-0.8792
		5	9.9	65	0.027	7.02×10 ⁻²	-0.8444

6.3 讨论

由前文试验结果可以看出，ETU 在土壤上的降解速率大于 MZ 在土壤上的降解速率，所以 ETU 残留量并未随着 MZ 的降解生成 ETU 而呈显著增加。土壤施药次数的不同，测得的原始沉积量结果大致相同，表明由 MZ 降解而来的 ETU 在土壤中十分不稳定，施药次数没有使 ETU 产生累积。高、低剂量处理测得的 ETU 原始沉积量也都大致相同，说明了 MZ 制剂中的 ETU 含量对 ETU 原始沉积量的贡献较小，ETU 在土壤中的原始沉积量主要来源于 MZ 降解。

第7章 大棚、露地黄瓜及叶片上 MZ、ETU 的残留对比研究

随着人民生活水平的提高和不断增长的物质需求，农作物的栽培方式正悄悄地发生变革。蔬菜保护地面积的迅速增长就是范例。蔬菜露地栽培和保护地栽培是目前蔬菜栽培的两种主要方式，但是蔬菜保护地栽培是人工创造的小气候，即有利于蔬菜生长发育，同时病虫害也容易发生。目前保护地蔬菜栽培技术不断完善，管理水平不断提高，用药水平也比其它栽培作物高出很多。农药的降解和安全性，同生态环境中的各个要素密切相关，不同的生态环境条件对农药的降解产生很大的影响。因此，对于在不同生态环境中应用的同一种农药，是否要制定不同的合理使用准则，是农药环境毒理学研究的新课题，也是必须要正确对待需要及时做出回答的严峻问题。本章针对 MZ 在大棚和露地黄瓜上的应用，开展了 MZ、ETU 的残留对比研究。

7.1 材料与方法

7.1.1 田间试验

试验地点：同 3.1.1。大棚和露地直线距离 100m。

栽培品种：津研 4 号。大棚和露地同时播种，苗龄一致。露地直播，大棚采用直径 15cm 的营养钵育苗。为减少大棚环境条件对秧苗的影响，至施药前一周，移栽秧苗到大棚。

供试药剂：80%大生可湿性粉剂。

施药处理：250 倍药液，叶片正反面喷雾，大棚和露地同时施药，间隔 7d，连续三次施药。

大棚和露地小区面积均为 20m²，5 次重复。其它栽培管理按照常规。

7.1.2 样品处理和检测方法

大棚和露地同时采样，样品处理见 3.1.2 和 5.1.5。MZ 在大棚、露地黄瓜和叶片上的检测方法见 3.1.3；ETU 的检测方法见 5.1.2~5.1.6。

7.2 结果与分析

7.2.1 MZ 在大棚、露地黄瓜及叶片上的残留对比结果

采用 HS-GLC 的方法测定了 MZ 在大棚、露地黄瓜和叶片上的残留动态。对比结果见表 7.1，图 7.1、图 7.2。从试验结果可以看出，MZ 无论在大棚

表7.1 MZ在大棚和露地黄瓜上的残留动态

Table 7.1 The residual dynamics of mancozeb in the plastic house and open field cucumbers

取样 间隔 时间 Interval (d)	大 棚 Plastic house				露 地 Open field			
	黄瓜 Cucumbers		叶片 Leaves		黄瓜Cucumbers		叶片 Leaves	
	残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degradation (%)	残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degradation (%)	残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degradation (%)	残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degradation (%)
0	1.34	0	276	0	1.05	0	90.0	0
1	0.985	26	285	-3	0.471	55	113	-26
3	0.607	55	259	6	0.102	90	14.2	84
7	0.356	73	161	42	0.036	96	5.03	94
14	0.178	87	117	58	ND	97	1.54	98
28	0.031	98	23	92	ND	97	ND	99

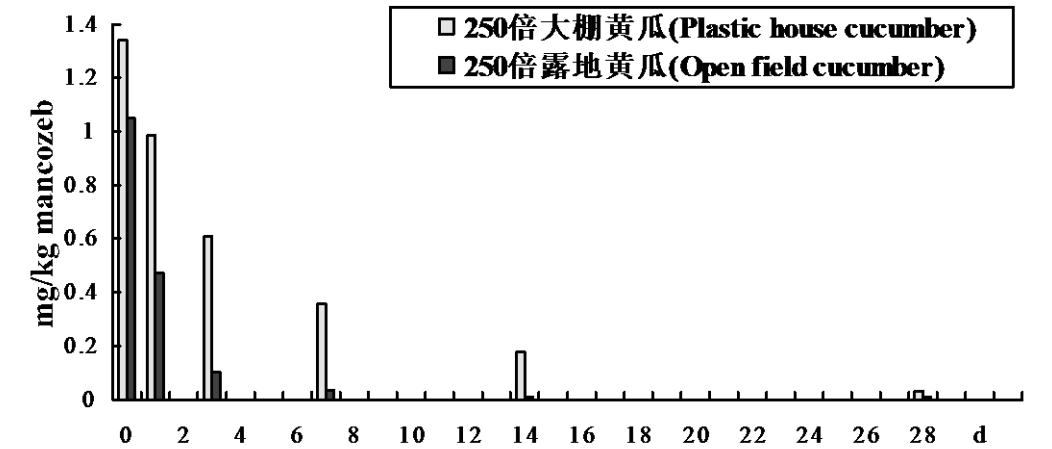


图7.1 MZ在大棚和露地黄瓜上的消解动态

Fig. 7.1 Degradation of mancozeb on the plastic house and open field cucumbers

黄瓜还是叶片上的降解速度都慢于露地。在黄瓜上，喷药1d后，MZ的降解速率大棚0.3078；露地0.8017，露地降解速率为大棚的2.6倍；喷药3d时为2.9

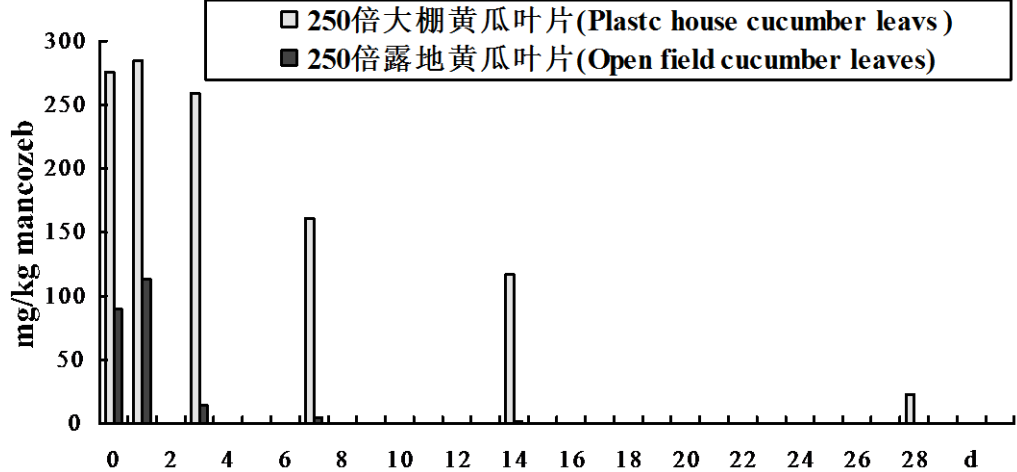


图7.2 MZ在大棚和露地黄瓜叶片上的消解动态

Fig. 7.2 Degradation of mancozeb on the plastic house and open field cucumbers leaves

倍。在叶片上，喷药 1d 后，MZ 的降解速率大棚 0.0321；露地 0.2276，露地降解速率为大棚的 7.1 倍；3d 时为 27 倍。大棚和露地黄瓜果实上的 MZ 降解动态可分别用方程 $C_t = 1.058 e^{-0.1282t}$ 、 $C_t = 0.751 e^{-0.4689t}$ 描述，降解半衰期为 5.4d、1.4d；叶片上分别为 $C_t = 316 e^{-0.0893t}$ 、 $C_t = 74.3 e^{-0.3046t}$ ，降解半衰期为 7.8d、2.3d。降解规律为 MZ 在作物上残留量越高，露地上的降解速率就越快于大棚。

7.2.2 ETU 在大棚、露地黄瓜及叶片上的残留对比结果

采用 HPLC-UV 法测定了 ETU 在大棚、露地黄瓜及叶片上的残留动态。从试验对比结果(表 7.2，图 7.3、图 7.4)可以看出，ETU 降解的大体趋势也

表7.2 ETU在大棚和露地黄瓜上的残留动态*

Table 7.2 The residual dynamics of ETU in the plastic house and open field cucumbers				
间隔 时间 Interval (d)	露 地 Open field			
	黄瓜 Cucumbers		叶片 Leaves	
	残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degradation(%)	残留量 Residual level (mg/kg)	消失率 Rate of degradation(%)
0	0.056	0	16.9	0
1	0.058	-3	6.08	64
3	0.046	17	0.312	98
7	0.016	72	0.246	98
14	ND	82	ND	99

※ ETU 在大棚黄瓜上的残留动态数据见表 5.2。

同 7.2.1。从整体来看, 大棚黄瓜上的 ETU 比露地的维持一个较高的水平。但是, ETU 在大棚黄瓜上降解速率比露地的慢, 可能与 MZ 在露地迅速降解生成大量的 ETU 有关。ETU 在黄瓜上的降解动态方程为 $C_t = 0.152 e^{-0.1794t}$ 、 $C_t = 0.059 e^{-0.1366t}$; 叶片上分别为 $C_t = 30.62 e^{-0.1838t}$ 、 $C_t = 6.86 e^{-0.4868t}$ 。

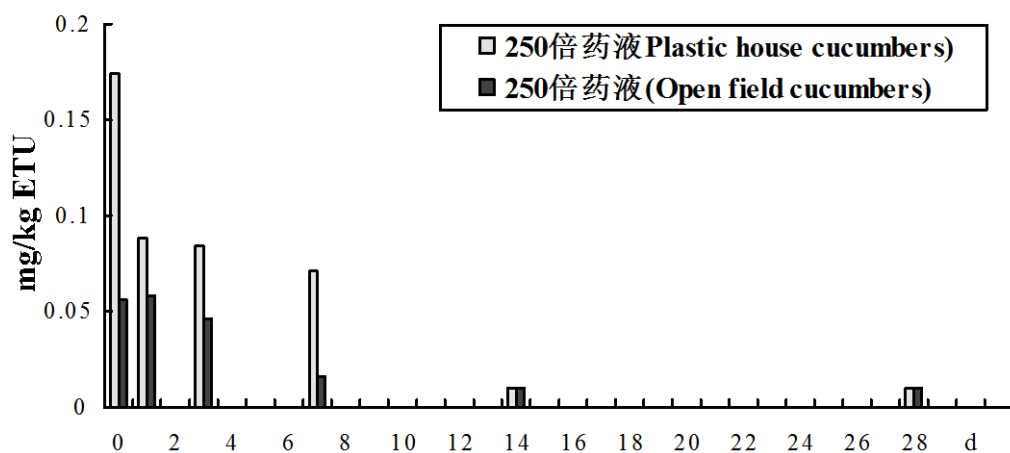


图7.3 ETU在大棚和露地黄瓜果实上的消解动态

Fig.7.3 Degradation of ETU in plastic house and open field cucumbers

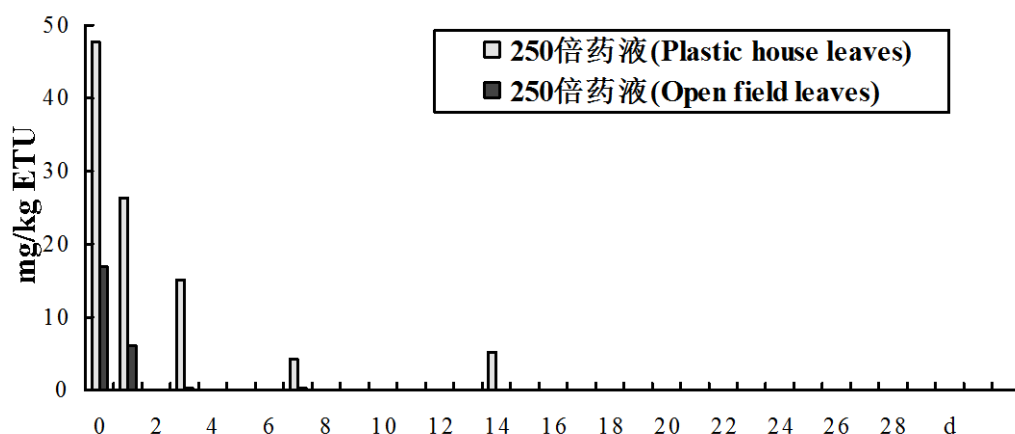


图7.4 ETU在大棚和露地黄瓜叶片上的消解动态

Fig.7.4 Degradation of ETU in plastic house and open field cucumbers leaves

7.2.3 影响 MZ、ETU 降解的主要因子分析

MZ、ETU 在大棚和露地上的降解速率明显不同, 影响降解的主要因素是什么? 是温度、湿度, 还是光强、降雨和风? 从大棚温、湿度日变化律(图 7.5、图 7.6)和两年的大棚、露地温、湿度及逐日雨量的原始记录(图

7.7~图 7.10)可以看出,大棚的温、湿度日变化规律与外界环境条件的变化有



图 7.5 大棚温度日变化规律

Fig. 7.5 The diurnal temperature variation in the plastic house

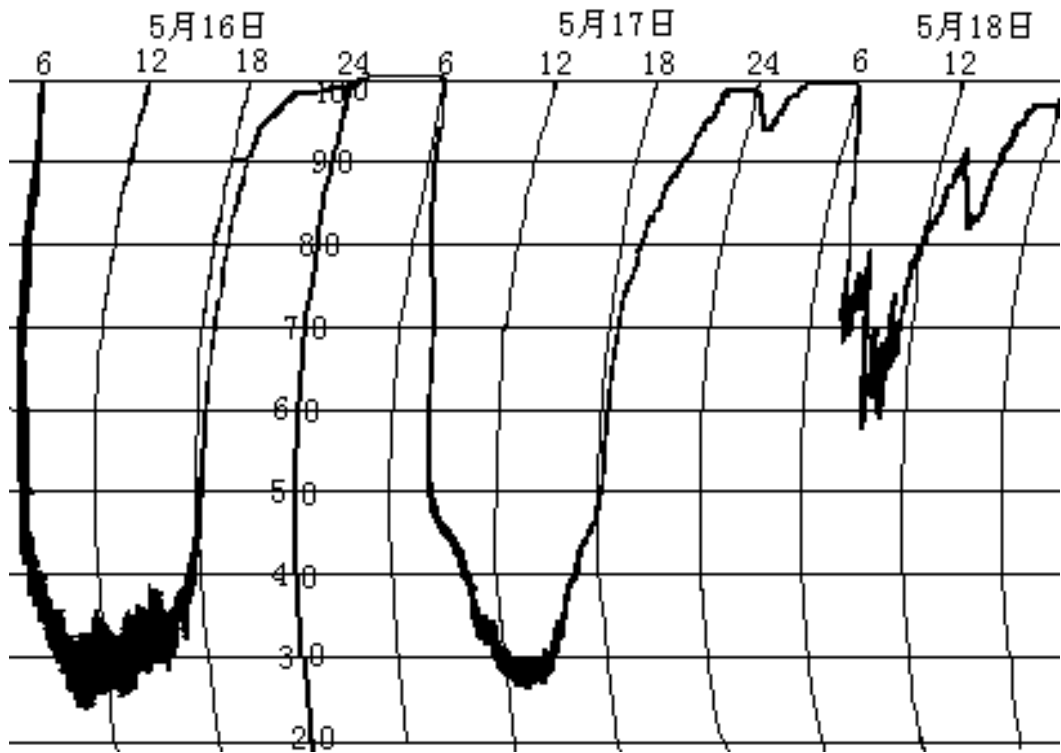


图 7.6 大棚湿度日变化规律

Fig. 7.6 The diurnal relative humidity variation in the plastic house

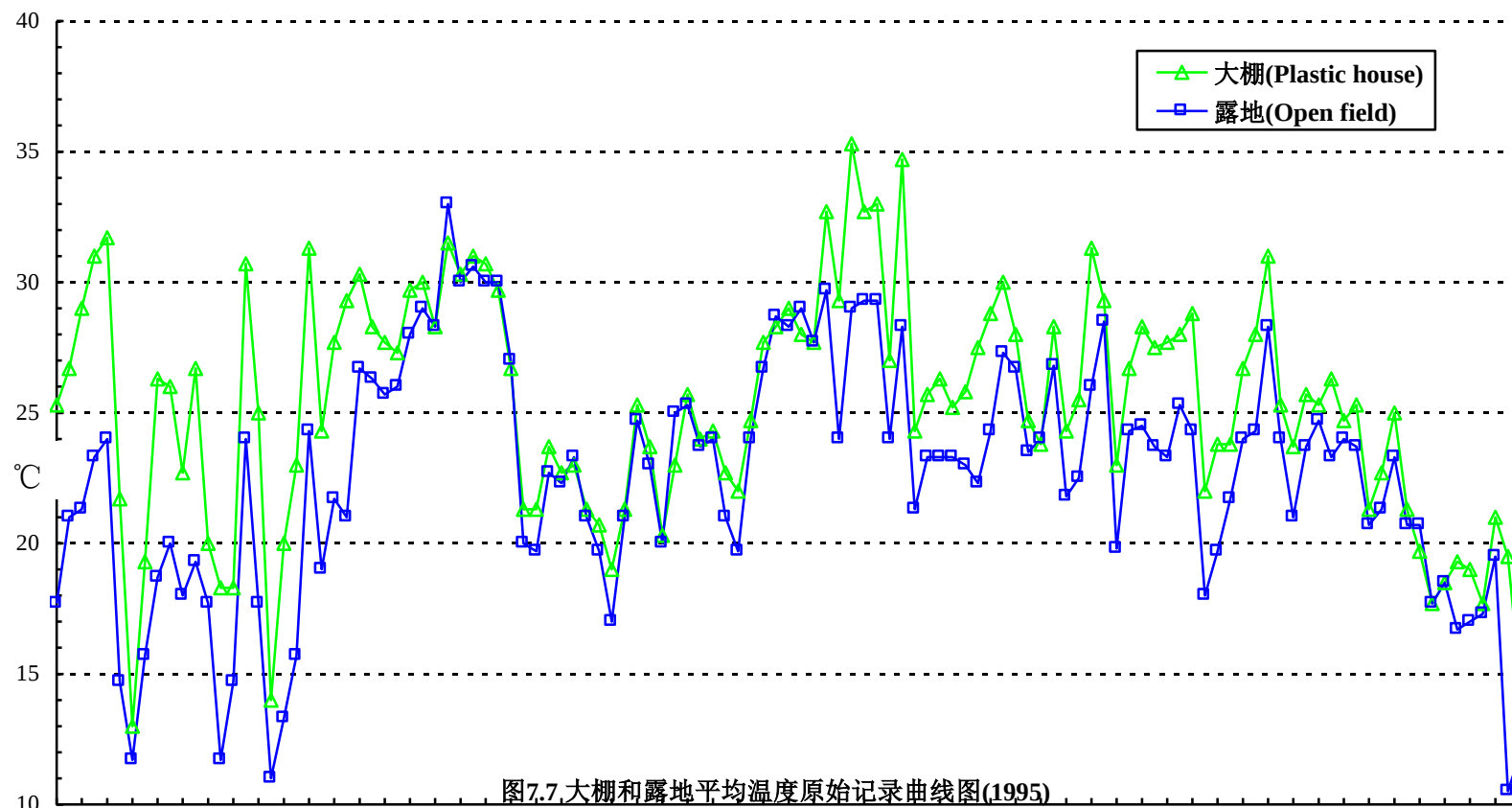


Fig. 7.7 The original records curves of average diurnal temperature on the plastic house and open field(1995).

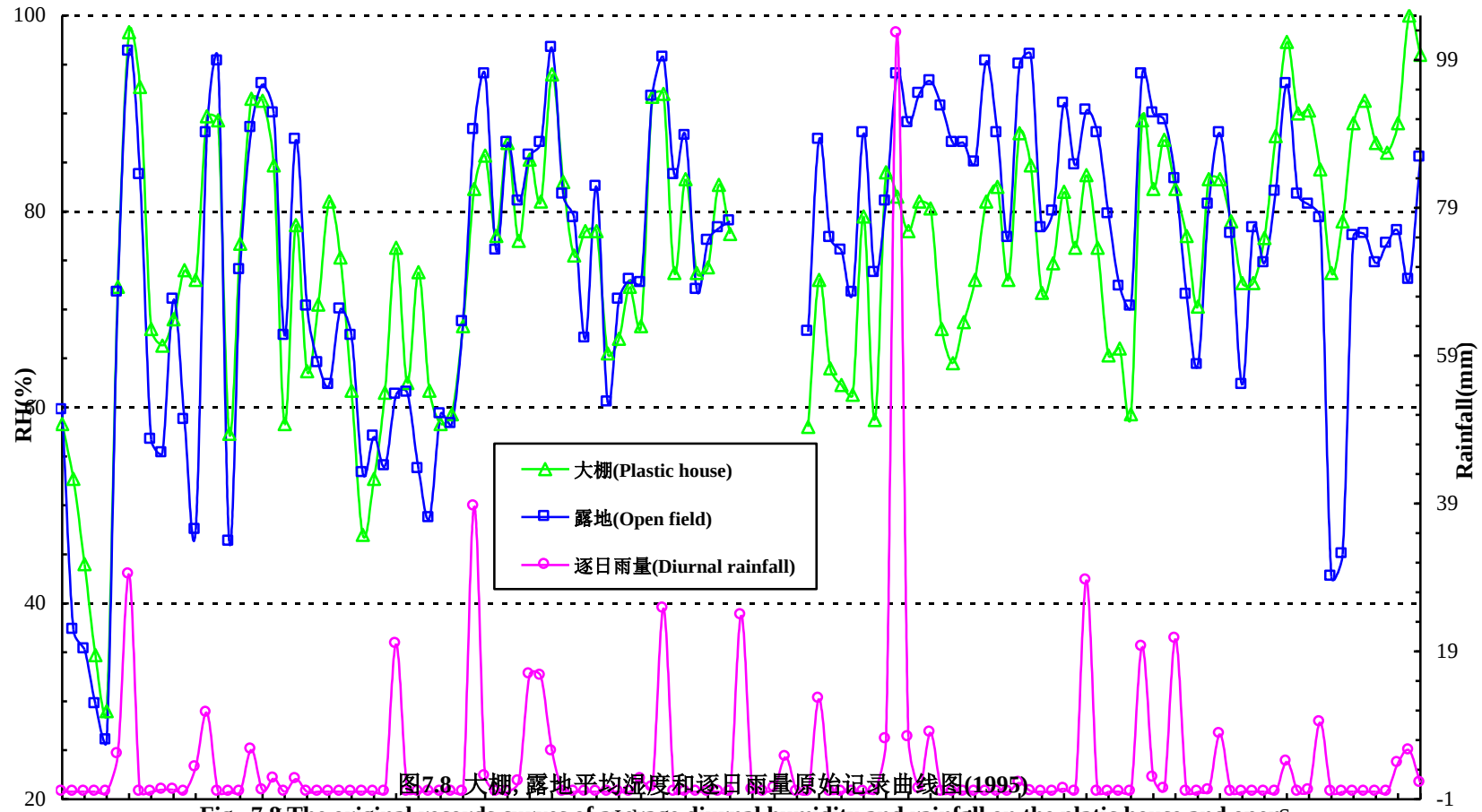


图7.8 大棚、露地平均湿度和逐日雨量原始记录曲线图(1995)
Fig. 7.8 The original records curves of average diurnal humidity and rainfall on the plastic house and open field(1995)

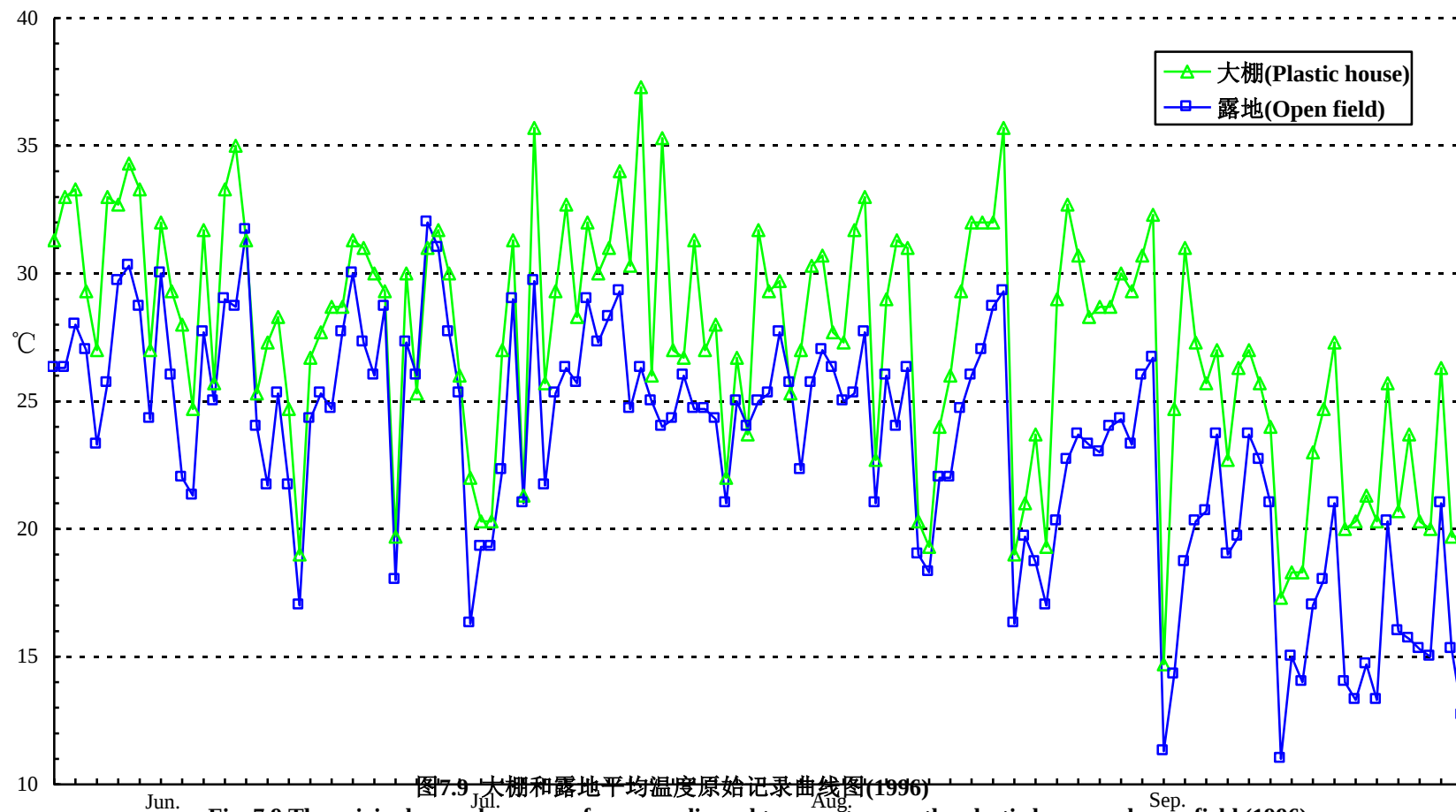
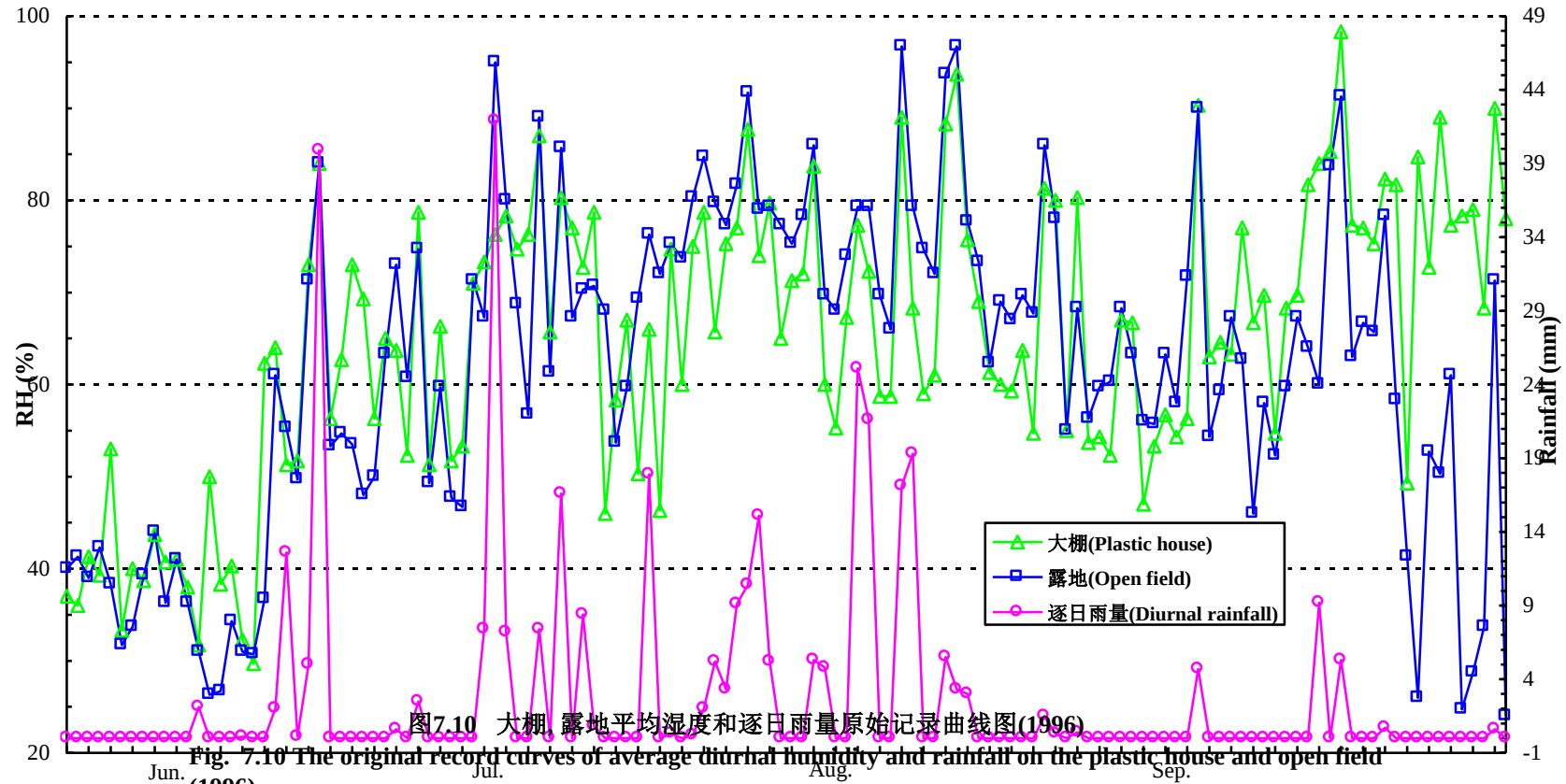


图7.9 大棚和露地平均温度原始记录曲线图(1996)
Fig. 7.9 The original records curves of average diurnal temperature on the plastic house and open field (1996)



密切的关系，但是也明显地不同于露地。通常温、湿度明显高于露地，并且变化较为剧烈。一般的规律是早春、晚秋时大棚中的温、湿度高于露地，其它时间温度大棚高于露地，湿度一般持平或大棚略低于露地。即然大棚中 MZ 降解慢于露地，可见温、湿度不是影响降解的主要因子。如果温、湿度对于 MZ 的降解是一个敏感的因子，那么大棚中 MZ 的降解速率就会高于露地。排除温、湿度因子后，还有光强、降雨和风。大棚的光照一般弱于露地一半以上，而大棚由于有棚盖，几乎无降雨的影响。风的抖动作用在 MZ 的降解消失中也有一定的作用。因此，可以推断造成 MZ、ETU 在大棚和露地上降解的差异主要因素是光强、降雨和风。其中光强直接影响光氧化降解的效率，可能是主导因子。

7.3 讨论

光照强度是造成 MZ、ETU 在大棚、露地上降解差异的主导因子，在本章中限于时间的关系仅为推论，尚有待于深入细致地研究。但是，这一研究结果表明，在不同生态环境中应用的农药的降解，与农药本身的化学特性密切相关。光敏性较强的农药应用到大棚环境中，它的稳定性相对增强。而对温度、湿度敏感的农药，在大棚环境中就容易降解。

使用 MZ 的 250 倍药液喷洒到大棚和露地黄瓜上，根据降解 1 天后的残留量，以食用黄瓜 300g/人/d 计算，食用大棚黄瓜的安全系数为 10，露地黄瓜为 21；喷施 MZ 混剂 ND-901 后，食用大棚黄瓜安全系数为 12，水洗后食用安全系数提高到 83。对于 ETU 来讲食用大棚黄瓜的安全系数为 9，露地为 14。

本章的研究结果支持同一种农药，在不同的施药环境中，应制定不同的合理使用准则，即在保护地环境中，在生产蔬菜等直接可以食用的作物上，应制定更加严格的使用准则，明确法定限制一些农药在保护地环境中禁用或限制使用，确保消费者的安全。这一点，已经在全国第十届农药残留工作会议上形成了共识。

第8章 MZ 制剂的降解及六种 MZ 混剂中 MZ 的稳定性和 ETU 的含量

MZ的稳定性较差,年分解率一般约为 12%^[91],加之降解产生ETU,因此,提高MZ的稳定性,深入研究MZ制剂的降解机理,采取措施,控制ETU少产生或不产生已经引起了人们的关注。据文献报道,将MZ与其它农药混配后是提高MZ稳定性,减少ETU产生的重要手段之一^[92],然而究竟哪些种类农药与MZ混合后能提高其稳定性,还是尚待研究的新课题。

本文采用热贮试验方法,模拟自然条件下贮藏二年的药剂分解状况,来明确并评价六种常用杀菌剂对MZ热贮稳定性的影响;采用HPLC-UV方法测定了MZ制剂和混剂中ETU的含量。这些研究工作对于丰富、发展和完善MZ混剂,充分合理发挥MZ在农业生产上的作用,同时减轻负面影响具有十分重要的意义。

8.1 材料与方法

8.1.1 试剂和溶液

70% MZ可湿性粉剂; 80%大生可湿性粉剂; 90%三乙膦酸铝原粉及 0.05%、0.10%、0.20%水溶液; 75%百菌清可湿性粉剂; 25%甲霜灵可湿性粉剂; 50%多菌灵可湿性粉剂; 15%三唑酮可湿性粉剂; 40%菌核净可湿性粉剂; 各种配比的MZ混剂(MZ + fosetyl-Al, MZ + chlorothalonil, MZ + metalaxyl, MZ + carbendazim, MZ + triadimefon, MZ + dimethachlon); 甲醇(光谱纯); ETU标准品(97.2%, Rohm & Haas Company USA); 黄原酸盐法所需试剂和溶液^[81,93~94]。

8.1.2 仪器和操作条件

VG-QUATTRO 串联质谱仪, HP5 30m×0.25mm毛细管柱, 分流比: 1:15, 进样口温度: 250℃, GC/MS接口温度: 280℃, 程序升温: 60~270℃, 15℃/min, 载气: 99.9995% N₂, 扫描速度: 1次/s, 扫描范围: 10~650aum。

Waters高效液相色谱仪(UV检测器); 色谱条件见5.1.2。标准溶液用甲醇配制, 先配制1000μg/ml ETU标准母液, 然后用稀释至0.1~10μg/ml的标准溶液至少5点建立标准曲线。进样量20μl。

超级恒温水浴; 50ml球形长颈分液漏斗; MZ测定器, 尾端采用水抽气管; 旋片式真空泵; 磁力搅拌器; 康氏电动震荡机; 电动离心机(4000转/min)。

8.1.3 试验方法

8.1.3.1 MZ制剂降解产物的鉴定

对自然状态下贮存5年的MZ制剂样品用甲醇震荡萃取,过滤后合并两次萃取液,浓缩至无沉淀物析出为止,供GC/MS检测。

8.1.3.2 六种MZ混剂的制备及热贮前后MZ含量的测定 每种MZ混剂制备400g,采用物理筛混的方法混匀,混后对均匀性进行测定。混剂中MZ的5次测定结果极差不大于1%。将每种MZ混剂一分为二,一半用于热贮;另一半置于实验室条件下贮藏两年后用于ETU的测定。采用CIPAC MT46^[95]的方法,对六种MZ混剂和70% MZ可湿性粉剂进行热贮藏试验,对试验结果进行多重比较。

8.1.3.3 MZ在水和三乙膦酸铝水溶液中的降解

8.1.3.3.1 原理 在规定条件下,磁力搅拌减压抽出 MZ 在各种三乙膦酸铝水溶液中自然降解的 CS_2 ,再采用黄原酸盐法测定该溶液中剩余的 MZ^[96],另一主要降解产物 ETU 对测定没有干扰。

8.1.3.3.2 CS_2 抽出率的测定 在反应瓶中分别加入125ml各种浓度三乙膦酸铝水溶液,10ml浓硫酸和0.01ml 或0.10ml CS_2 。装好MZ分解吸收装置,待液体加热沸腾20min,采用黄原酸盐法进行定量;取样量和方法同前,水浴20℃,减压(90kPa)磁力搅拌10min,再进行测定,记录耗碘量。并在相同条件下不加 CS_2 做空白校正, CS_2 抽出百分率等于未减压处理添加的 CS_2 耗碘量的差值,再除上未减压处理的相应的 CS_2 耗碘量。

8.1.3.3.3 在水和三乙膦酸铝水溶液中降解的测定方法 称取70%代森锰锌可湿性粉剂0.1250g于反应瓶中,加入125ml蒸馏水或相应浓度的三乙膦酸铝水溶液后摇匀,溶液放置时间为1h、6h、12h,温度为20℃、30℃。各种样品经减压磁力搅拌后定量。

8.1.3.4 MZ制剂及MZ混剂中ETU的测定

8.1.3.4.1 测定步骤 称取约 1g MZ 制剂或 MZ 混剂样品(准确至 0.0002g),置于 250ml 碘量瓶中,分两次加入 50ml 甲醇,震荡 15min,然后将其转移至离心管中,离心 5min(3000 转/min),取其上清液,定容稀释约 100 倍后立即进样。同样条件下进样标准溶液。采用外标法定量。

8.1.3.4.2 添加回收率试验方法 由于 MZ 中常含有不等量的 ETU,若用直接添加 ETU 的方法测定回收率就存在着原 ETU 含量多少不清,测定不准的问题。故首先制备基本不含 ETU 的 MZ 本底样品。方法是:称取一定量的 MZ 制剂,用甲醇反复多次萃取,弃去上清液,将粉渣风干,放入冰箱中备用,作为基本不含 ETU 的本底样品。然后准确称取上述本底样品 0.5g(准确至 0.0002g),置于 250ml 碘量瓶中,并按 8.1.2.4.1 分析本底样品中的微量的 ETU,作为本底值。同时准确称取本底样品 0.5g,置于 250ml 碘量瓶中分别地添加 30 $\mu\text{g/g}$ 和 1000 $\mu\text{g/g}$ 水平的 ETU,然后按 8.1.2.4.1 步骤测定。

$$\text{ETU 回收率 (\%)} = \frac{\text{测定量} - \text{本底量}}{\text{添加量}} \times 100$$

8.2 结果与分析

8.2.1 MZ 制剂降解产物的鉴定结果

8.2.1.1 MZ 制剂降解产物的 TIC 图和 MS 图

MZ 的甲醇提取物经 GC/MS 检测得 TIC 图（图 8.1）和质谱图(图 8.2、8.3、8.4)。峰 A、峰 B、峰 C 为 MZ 的降解产物。经联机检索，峰 A 为 EU，峰 C 为 ETU。峰 B 经文献确认为 EDI。峰 X₁、X₂ 为未知物（图 8.5、8.6）。

图 8.1 MZ 自然降解产物的总离子流图（EI）

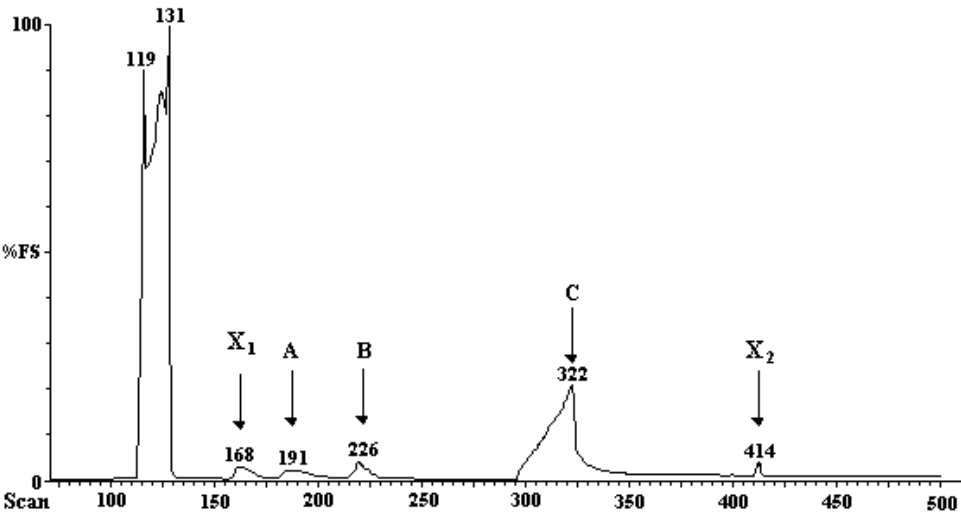


Fig. 8.1 Total ion current chromatogram(TIC) of degraded products of MZ on HP5 capillary column, obtained under EI condition

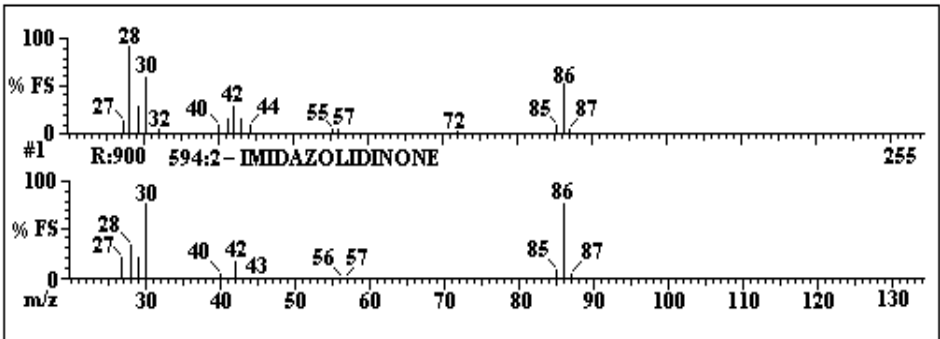


图 8.2 降解产物 A 的质谱图（EI）

Fig. 8.2 EI mass spectra of degradation A

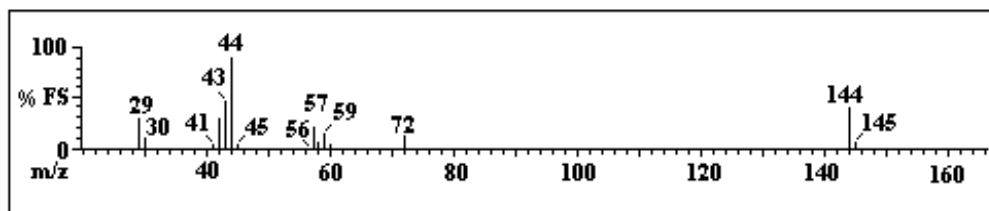


图 8.3 降解产物 B 的质谱图 (EI)

Fig. 8.3 EI mass spectra of degradation B

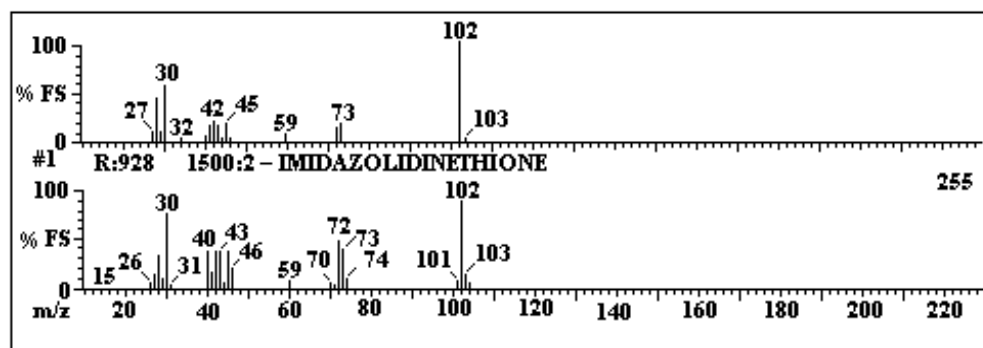
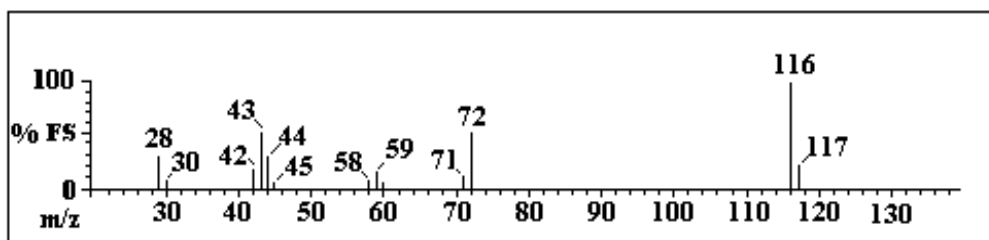
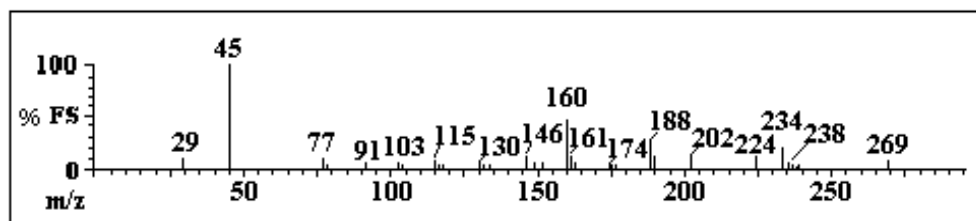


图 8.4 降解产物 C 的质谱图 (EI)

Fig. 8.4 EI mass spectra of degradation C

图 8.5 未知物 X₁ 的质谱图 (EI)Fig. 8.5 EI mass spectra of unknown compound X₁图 8.6 未知物 X₂ 的质谱图 (EI)Fig. 8.6 EI mass spectra of unknown compound X₂

8.2.1.2 MZ的降解途径

由 8.2.1.2 可知, MZ 的主要降解产物和途径与其它的 EBDCs 相似。通过 GC/MS 获得的 MZ 制剂的主要降解产物为 ETU、EDI 和 EU 等。降解的主要途径之一为氧化(图 8.7)。

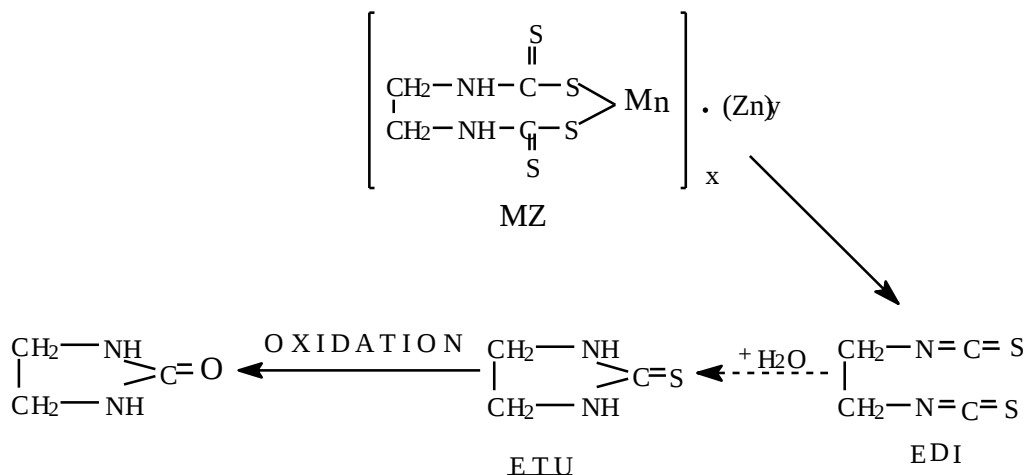


图 8.7 MZ 制剂的降解产物和途径

Fig. 8.7 The degradation products and pathways of MZ

8.2.2 热贮前后六种 MZ 混剂中的 MZ 含量测定结果

MZ测定器回收率测定结果符合要求^[81]。黄原酸盐法虽然是一种特征的化学分析方法,但是为了防止六种杀菌制剂对MZ定量分析的干扰,验证了MZ与六种杀菌剂合并后的添加回收率,结果为99.8~100.1%。这表明三乙膦酸铝、百菌清、甲霜灵、多菌灵、三唑酮和菌核净不干扰采用黄原酸盐法测定MZ的含量。六种MZ混剂的均匀性测定结果也符合要求。MZ与六种杀菌剂及不同比例混配样品中的MZ热贮前后含量变化结果见表8.1,70%代森锰锌WP热稳定性较差,与一些样品相比差异显著或极显著,相对分解率高达9.3~14.3%。从试验结果还可以看出,三乙膦酸铝在混剂中所占比例越高,MZ的相对分解率就越低。含40%、53%三乙膦酸铝的两种混剂中MZ相对分解率均低于10%。合适配比的百菌清、多菌灵、三唑酮都可以显著地提高MZ的热贮藏稳定性,但是与配比有相关性。甲霜灵混剂降低了MZ的热贮藏稳定性,其原因有待深入研究。菌核净对MZ的热贮稳定性没有影响,而且同菌核净的配比没有相关性。菌核净属于二甲酰亚胺类杀菌剂,同类其它品种与MZ混配后,其稳定性评价会有一定的借鉴作用。菌核净虽然不如三乙膦酸铝对MZ有稳定作用,但是它也没有促进MZ的分解。因此,从混剂中有效成分稳定性的角度出发,也可以加工生产MZ与菌核净的混剂来满足农业生产的需要。

表8.1 热贮前后六种MZ混剂中的MZ含量测定结果
Table 8.1 Mancozeb content data in the six mixtures by heating storage

药 剂 samples	热 贮 前		热 贮 后		相对分解率 (%) Relative rate of decomposition	差异性	
	Before heating storage		After heating storage				
	含量(%)	CV (%)	含量(%)	CV (%)			
	Percent content ($\bar{X}$) $\pm$ S		Percent content ($\bar{X}$) $\pm$ S				
MZ + fosetyl-Al							
70%MZ WP(CK)	60.27±0.62	1.03	51.66±1.11	2.12	14.3	a	A
Mixture(47%+27%)	38.22±0.51	1.33	33.80±0.82	2.41	11.6	b	AB
Mixture(35%+40%)	28.54±0.12	0.42	25.92±0.17	0.67	9.2	c	B
Mixture(23%+53%)	18.48±0.41	2.21	16.90±0.22	1.28	8.6	c	B
MZ + chlorothalonil							
Mixture(52%+19%)	42.95±0.38	0.89	36.74±0.45	1.22	14.4	a	A
Mixture(18%+56%)	14.70±1.54	10.49	12.61±0.03	0.27	14.1	a	A
70%MZ WP(CK)	59.88±0.16	0.26	53.28±0.48	0.91	10.9	a	A
Mixture(35%+38%)	27.45±0.95	3.47	25.00±1.04	4.17	8.92	b	A
MZ + metalaxyl							
Mixture(47%+8%)	38.30±0.75	1.97	29.33±0.16	0.56	23.4	a	A
Mixture(35%+13%)	26.37±0.77	2.91	20.41±0.53	2.59	22.6	a	A
Mixture(23%+17%)	17.79±0.60	3.36	15.20±0.16	1.06	14.6	b	B
70%MZ WP(CK)	62.08±0.40	0.64	55.61±1.05	0.89	10.4	c	C
MZ + carbendazim							
70%MZ WP(CK)	62.70±0.59	0.94	54.84±0.65	1.18	12.5	a	A
Mixture(47%+17%)	38.40±0.41	1.07	34.70±0.23	0.67	9.6	a	A
Mixture(23%+33%)	18.89±1.24	6.56	17.39±0.99	5.70	7.9	a	A
Mixture(35%+25%)	28.64±0.94	3.28	27.65±0.67	2.43	3.4	b	A
MZ + triadimefon							
70%MZ WP(CK)	61.66±0.78	1.26	55.9±0.57	1.02	9.3	a	A
Mixture(35%+8%)	31.25±0.57	1.81	28.46±0.57	2.00	8.9	a	A
Mixture(47%+5%)	40.17±0.74	1.85	38.24±0.14	0.38	4.8	a	A
Mixture(23%+10%)	20.85±0.40	1.91	19.92±0.75	3.79	4.5	b	A
MZ + dimethachlon							
Mixture(35%+20%)	64.65±0.0047	0.73	55.12±0.0055	0.99	14.74	a	A
Mixture(47%+13%)	65.67±0.0050	0.76	56.63±0.0058	1.02	13.77	a	A
Mixture(61%+5%)	65.86±0.0038	0.58	56.88±0.0042	0.74	13.63	a	A
70%MZ WP(CK)	65.05±0.0047	0.73	56.19±0.0003	0.05	13.62	a	A
Mixture(23%+27%)	64.90±0.0028	0.43	56.24±0.0027	0.48	13.34	a	A

8.2.3 MZ 在水和三乙膦酸铝水溶液中的降解测定结果

8.2.3.1 CS₂ 的抽出率

利用减压处理方法可除去MZ在水中的降解产物CS₂，在反应瓶中分别添加0.01ml、0.10mlCS₂，抽出率为97.5%、98.4%。应用此法测定溶液中的MZ是完全可行的，按照MZ称样量计算，最低检出分解率为1%。

8.2.3.2 MZ 在水和三乙磷酸铝水溶液中的相对分解率

各处理结果经反正弦转换，多重比较后明确了MZ相对分解率与时间、温度和三乙磷酸铝水溶液浓度之间的关系。MZ在水中容易分解，半衰期约12h，与文献报道相吻合。

8.2.3.2.1 MZ相对分解率与放置时间的关系 MZ不论在水中还是在各种浓度三乙磷酸铝水溶液中，其相对分解率与放置时间呈正相关，即放置时间愈长，分解率愈高。随着放置时间延长，各处理间测定结果差异极显著说明长时间存在溶液中的MZ容易分解。4个浓度处理，放置12h，30℃条件下，相对分解率为32.5%~51.0%（表8.2，图8.8）。

表 8.2 MZ 在水和 fosetyl-Al 水溶液中的相对分解率

Table 8.2 The relative rate of decomposition MZ in the distilled water and fosethyl-Al aqueous solution

溶液 Solution		20℃			30℃		
		1h	6h	12h	1h	6h	12h
CK Distilled water	添加量(a.i., g) Amount	0.0744	0.0768	0.0800	0.0795	0.0809	0.0822
	剩余量(a.i., g) Residual amount	0.0685	0.0623	0.0548	0.0719	0.0544	0.0403
	相对分解率 (%)	7.9	18.9	31.5	9.6	32.8	51.0
	Relative rate of decomposition						
0.05% Fosethyl-Al 水溶液	添加量(a.i., g) Amount	0.0722	0.0710	0.0724	0.0703	0.0732	0.0729
	剩余量(a.i., g) Residual amount	0.0691	0.0723	0.0583	0.0637	0.0558	0.0433
	相对分解率 (%)	4.3	12.3	19.5	9.4	23.8	40.6
	Relative rate of decomposition						
0.10% Fosethyl-Al 水溶液	添加量(a.i., g) Amount	0.0818	0.0808	0.0804	0.0794	0.0791	0.0795
	剩余量(a.i., g) Residual amount	0.0796	0.0714	0.0655	0.0717	0.0617	0.0537
	相对分解率 (%)	2.7	11.6	18.5	9.7	22.0	32.5
	Relative rate of decomposition						
0.20% Fosethyl-Al 水溶液	添加量(a.i., g) Amount	0.0725	0.0731	0.0721	0.0719	0.0732	0.0713
	剩余量(a.i., g) Residual amount	0.0662	0.0633	0.0533	0.0612	0.0499	0.0413
	相对分解率 (%)	8.7	13.4	26.1	14.9	31.8	42.1
	Relative rate of decomposition						

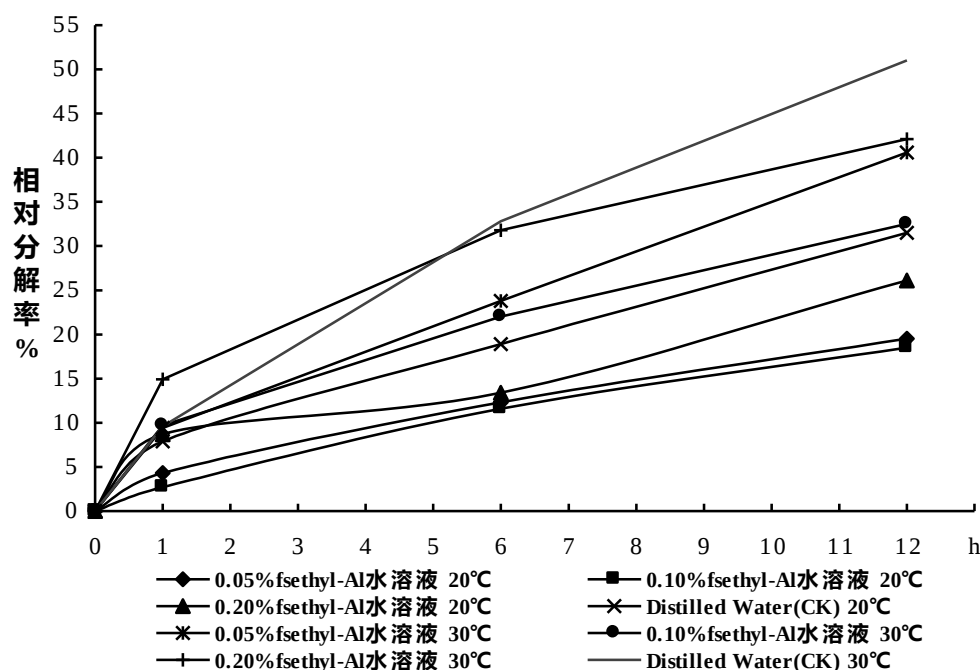


图 8.8 MZ 在水和三乙膦酸铝水溶液相对分解率变化趋势图

Fig. 8.8 Degradation curve of mancozeb in the distilled water and foseethyl-Al aqueous solution

8.2.3.2.2 MZ相对分解率与水温的关系 短时间(1h)存在于三乙膦酸铝水溶液中的MZ, 升高温度后, 相对分解率差异极显著。造成这种情况的主要原因是三乙膦酸铝中含有少量游离酸(ZBG 25008-89规定合格品酸度以 H_2SO_4 计 $\leq 0.40\%$)促进分解。这表明要选择优质三乙膦酸铝原药来配制乙代混剂, 其游离酸含量越低越好。其它处理样品, 对温度的变化也比较敏感。

8.2.3.2.3 MZ相对分解率与三乙膦酸铝浓度的关系 MZ在三乙膦酸铝水溶液中的稳定性不但没有下降, 反而显著提高。其中以0.10%为最佳, 0.05%次之。除1h、20°C和30°C的处理样品外其余的相对分解率结果与对照相比差异都显著或极显著。主要也是游离酸在起作用。从整个试验来看, 由于游离酸的影响, 三乙膦酸铝对MZ的稳定作用短时间(1h)内不很明显, 但随着放置时间的延长, 这种稳定作用就明显的表现出来了。

8.2.4 MZ 制剂及 MZ 混剂中 ETU 的测定结果

8.2.4.1 ETU 的添加回收率结果

对基本不含ETU的本底样品中分别添加 $30\mu g/g$ 和 $1000\mu g/g$ 水平的ETU标准样品。经测定 $30\mu g/g$ 水平的低浓度添加的回收率为97.7%~97.8%, $1000\mu g/g$ 水平的高浓度添加的回收率为83.9%~84.4%。结果表明采用本方

法测定样品中的 ETU 含量可行。用 HPLC 方法测定 MZ 制剂中的 ETU 的含量，不但灵敏度满足要求，同时还可避免 MZ 热解使结果偏高的问题。

8.2.4.2 各样品中ETU含量测定结果

自然状态下贮藏，新出厂的大生 MZ 制剂为 0.51%；出厂 1 年的国产 MZ 制剂中 ETU 的含量为 0.75%，2 年后为 3.96%，5 年为 6.93%。可见，随着贮藏时间的延长 ETU 的含量增加。自然条件下贮藏 2 年的 MZ 混剂中 ETU 的测定结果见表 8.3。从表中数据可以看出，MZ 混剂中 ETU 的含量与 MZ 热贮藏稳定性有一定的相关性。5 种混剂中 ETU 的含量均低于 MZ 单剂，其中含有三乙磷酸铝的混剂最低。

表8.3 MZ混剂中ETU含量测定结果
Table 8.3 ETU content data in the mixtures

药 剂 Samples	ETU含量(%) Percent content
MZ + fosetyl-Al Mixture(35%+40%)	1.91
MZ + chlorothalonil Mixture(35%+38%)	2.49
MZ + metalaxyl Mixture(35%+13%)	3.11
MZ + carbendazim Mixture(35%+25%)	2.16
MZ +triadimefon Mixture(35%+8%)	2.04
MZ	3.93

8.3 讨论

8.3.1 关于 MZ 制剂的包装

MZ 制剂目前的包装材料绝大多数为塑料薄膜，这样普通的包装，根据本章和前人的研究结果，不利于 MZ 的稳定和较长时间的贮藏。建议生产厂家采用马口铁材料包装，装药后抽真空或充氮，这样将大大提高 MZ 的稳定性，减少 ETU 的形成。

8.3.2 关于 MZ 制剂中 ETU 的限量

世界各国生产 MZ 制剂的厂家多数还未制定 MZ 制剂中 ETU 的限量，EPA 暂没有特殊要求。在欧洲，意大利规定为 0.5%。Rohm & Haas Company USA 采用的平均值为 0.6%，范围是 0~1%。ETU 既然是有害杂质，因此有必要制定最高限量，作为 MZ 制剂的技术指标，同时建立可靠的分析方法。

8.3.3 关于 MZ 混剂和高效稳定剂的开发

本章的模拟试验结果对于评价自然状态下贮藏的混剂中的MZ稳定性具有重要参考价值。甲霜灵、三唑酮制剂中有效成分含量低，还要考虑助剂对MZ稳定性的影响。通过热贮试验发现三乙磷酸铝和MZ混合后，前者对后者不但没有促进分解，反而还提高了MZ在热贮藏过程中的稳定性，试验结果

支持这两种单剂可以混配。MZ在三乙膦酸铝水溶液中的相对分解率受水中自身降解、游离酸促进分解和三乙膦酸铝稳定作用三个主要因素制约,因此表现出一个最佳浓度(0.1%)。合理配比乙代混剂中的三乙膦酸铝是MZ的稳定剂。MZ在三乙膦酸铝水溶液中的稳定程度比在水中高。除MZ和三乙膦酸铝是较好的组合外,还有百菌清、多菌灵。

现已知 MZ 的混剂有利于 MZ 的稳定和抑制 ETU 的产生(如六亚甲基四胺、半胱氨酸^[97]、铜制剂和含氮氧基团的杀菌剂^[92])。所以应根据农业生产具体情况和环境毒理的要求,加大力度开发 MZ 混剂,特别是 MZ 及 EBDCs 的高效稳定剂。

结 论

规范的 HS-GLC 方法测定 MZ 在作物上的残留,其显著特点是高效、简便、快速、准确、经济。采用 HS-GLC 分析技术明确了 MZ、ND-901 中 MZ 在大棚黄瓜、黄瓜叶片、土壤、残株上的残留动态。喷施 500 倍,250 倍 70%MZ 可湿性粉剂的药液,测出黄瓜上原始沉积量分别为 0.88~2.70mg/kg、1.11~3.79mg/kg,半衰期为 2.4~6.5d、2.4~10.6d;黄瓜叶片上原始沉积量分别为 148~164mg/kg、246~254mg/kg,半衰期为 12.7~16.0d、10.6~18.8d;大棚土壤(黑土)上的原始沉积量分别为 1.94~3.94mg/kg,半衰期为 7.9~15.5d。越冬后的大棚土壤中未检出 MZ。大约有 10%的 MZ 通过残株被转移到棚外的环境中,拔秧 2 个月后黄瓜残株上 MZ 残留量为 18mg/kg,7 个月后未检出。在不通风时,大棚中喷施药剂后,MZ 降解生成的 CS₂ 浓度在空气中低于 0.5mg/m³。大棚中施用 MZ 混剂 ND-901,黄瓜上的残留量均低于 MZ 单剂。另外,自来水去污处理可有效地减少瓜上 MZ 的残留量,平均去污率 87%。

采用 HPLC-UV 分析技术明确了 ETU 在大棚黄瓜、黄瓜叶片、土壤上的残留动态。喷施 70%MZ 可湿性粉剂的 250 倍药液,测出黄瓜上原始沉积量为 0.174mg/kg,半衰期为 3.9d。黄瓜叶片上原始沉积量为 47.7mg/kg,半衰期为 3.8d。大棚土壤上的原始沉积量为 0.069mg/kg、半衰期为 8.3d。ETU 降解速率快于 MZ 降解生成 ETU 的速率。ETU 在大棚黄瓜、黄瓜叶片、土壤上都没有累积。

影响 MZ 在大棚和露地黄瓜上的残留量和降解的因素有药剂喷洒浓度、喷雾方法、温度、湿度、光照、黄瓜自身生长稀释、叶片遮挡作用等。试验结果表明,MZ 的降解速率 k ,露地黄瓜为大棚黄瓜的 2.6 倍,叶片为 7.1 倍,露地降解速度明显快于大棚。大棚的温、湿度高于露地,可见导致降解的主要因素不是温、湿度,而是光照强度、降雨和风。

喷洒 250 倍药液的 MZ 到大棚和露地黄瓜上,根据降解 1 天后的残留量,以食用黄瓜 300g/人/d 计算,食用大棚黄瓜的安全系数为 10,露地黄瓜为 21;喷施 MZ 混剂 ND-901 后,食用大棚黄瓜安全系数为 12,水洗后食用安全系数提高到 83。对于 ETU 来讲食用大棚黄瓜的安全系数为 9,露地为 14。

采用 GC-MS 验证了在自然条件下贮藏 5 年的 MZ 制剂的降解。抽提样品经联机检索解析确证了 MZ 制剂的主要降解产物为 ETU、EDI、EU 等,主要的降解途径为氧化。MZ 可氧化为 ETU,ETU 进一步氧化成 EU。

MZ 制剂单剂的热稳定性差,多数含 MZ 的混剂热稳定性有所提高。MZ 的热贮相对分解率为 9.3~14.3%。贮藏 2 年的 MZ 制剂中 ETU 含量为 3.96%,5 年的为 6.93%。fosethyl-Al, carbendazim 和 triadimefon 可以显著地提高 MZ 的热贮稳定性。除 MZ+dimethachlon 外,另外 5 种混剂贮藏 2 年后 ETU 含量为 1.91~3.11%。

根据 MZ、ETU 的毒理研究结果,参照 MZ、ETU 在大棚黄瓜上的残留

降解动态，建议在大棚环境中要限制使用 MZ 单剂，制定不同于露地的合理使用准则，理由是大棚生产者，农事操作时接触 MZ、ETU 频繁并且剂量较高；喷施 MZ 后，食用大棚生产的黄瓜安全系数较低。

参 考 文 献

- 1 中国农业百科全书总编辑委员会蔬菜卷编辑委员会.中国农业百科全书 蔬菜卷
北京: 农业出版社,1990,264~269 页
- 2 <http://ace.orst.edu/info/extoxnet/pips/mancozeb.p93>.1997,5
- 3 Wang G J, Yin C M, Wang Y *et al*. The thermal behaviour of the
ethylenebisdithiocarbamates maneb, zineb and mancozeb.Part1.The mechanism of the
thermal decomposition. *Thermochimica Acta*,1993,220:213~227
- 4 高敬琮,王传胜,王玉卿等.乙撑双二硫代氨基甲酸锰的 X 射线衍射和红外光谱.农
药,1990,29(2):4~7
- 5 Engst R, Schnaak W. Residues of dithiocarbamate fungicides and their metabolites on
plant foods. *Residue Reviews*,1974,52:45~67
- 6 Lentza-Rizos Ch. ethylenethiourea(ETU) in relation to use of ethylenebisdithiocarba-
mate (EBDC)Fungicides. *Reviews of Environmental contamination and Toxicolo-
gy*,1990,115:1~37
- 7 Mehrotra N K, Kumar S, Shukla *et al*. Enhancement of tumor-initiating activity of
DMBA by the carbamate fungicide mancozeb. *Bull. Environ. contam. Toxicol.*,
1990,44(1):39~45
- 8 刘仲端.美国环保局对代森类杀菌剂第二次特别评审的最后决定.农药科学与管
理,1992,4:32~35
- 9 <http://infoventures.com/e-hlth/pesticide/mancozeb.Html>.1997,5
- 10 Hassan S A, Albert R, Bigler F *et al*. Results of the third joint pesticide testing
programme by the IOBC/WPRS-Working Group “Pesticides and Beneficial
Organisms” . *J. Appl. Entomol.*,1987,103(1),92~107
- 11 Marshall W D. Thermal decomposition of ethylenebisdithiocarbamate fungicides to
ethylenethiourea in aqueous media. *J. Agric. Food chem.*, 1977,25(2):357~361
- 12 Hylin J W. Oxidative decomposition of ethylene- bis- dithiocarbamates.
Bull.Environ.contam.Toxicol.,1973,10(4):227~233
- 13 Lehotay J, Holotik S, Brandsteterova E .Identification and determination of some
degradation products of mancozeb by HPLC and MS. *J. of Liquid Chromatography*.
1992,15(13):2397~2405
- 14 Benson W P, Ross R D, Chen Jo-yun T *et al*, Structure of ethylene thiuram monosulfide.
J.Assoc.Off.Anal.Chem.,1972,55(1):44~46
- 15 Vonk J W, Sijpesteijn A, Studies on the fate in plants of ethylenebisdithiocarbamate
fungicides and their decomposition products. *Ann. Appl. Biol.*,1970,65:489~496
- 16 Kumar Uday, Agarwal Hari C. Fate of [¹⁴C]mancozeb in egg plants(*solanum melongena*
L.)during summer under sub-tropical conditions. *Pestic.Sci.*,1992,36:121~125
- 17 Bontoyan W R , Looker J B. Degradation of commercial ethylene bisdithiocarbamate

- formulation to ethylenethiourea under elevated temperature and humidity. *J. Agric. Food Chem.*,1973,21(3):338~342
- 18 IUPAC. Ethylenethiourea. *Pure Appl. Chem.*,1977,49:675~689
- 19 Newsome W H, Laver G W. Effect of boiling on the formation of ethylenethiourea in zineb-treated foods. *Bull. Environ. contam. Toxicol.*,1973,10(3):151~154
- 20 Watts RR, Storherr R W, Onley J H. Effects of cooking on ethylenebisdithiocarbamate degradation to ethylenethiourea. *Bull. Environ. contam. Toxicol.*,1974,12(2):224~226
- 21 Keppel G E. modification of the carbon disulfide evolution method for dithiocarbamate residues. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*,1969,52(1):162~167
- 22 Keppel G E. Collaborative study of the determination of dithiocarbamate residues by a modified carbon disulfide evolution method. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*,1971,54(3):528~532
- 23 Gustafsson K H, Fahlgren C H. Determination of dithiocarbamate fungicides in vegetable foodstuffs by high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food chem.*,1983,31(2):461~463
- 24 Kirkbright G F, Mullins F G P. Separation of dithiocarbamates by high-performance liquid chromatography using a micellar mobile phase. *Analyst*,1984,109(4):493~496
- 25 樊德方主编. 农药残留量分析与检测. 上海: 上海科学技术出版社, 1982,1~7 页
- 26 Nilsson C, Nygren O, Sikstrom E. Determination of mancozeb in air. Occupational exposure during its Use in control of potato late blight. *Chemoshpere*,1987,16:2423~2428
- 27 张连仲 莫汉宏 施国涵等. 代森类农药的降解及其在作物-土壤系统中的残留与分布. 见: 徐晓白等编. 有毒有机物环境行为和生态毒理论文集. 北京: 中国科学技术出版社, 1990, 125~128 页
- 28 McLeod H A, McCully K A. Head space gas procedure for screening food samples for dithiocarbamate pesticide residues. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*,1969,52(3):1226~1230
- 29 Anon. Determination of residues of dithiocarbamate pesticides in foodstuffs by a headspace method. *Analyst*,1981,106(7):782~787
- 30 Maini P, Boni R. Gas chromatographic determination of dithiocarbamate fungicides in Workroom air. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*,1986,(37):931~937
- 31 McGhie T K, Holland P T. Headspace gas chromatography of carbon disulphide in the determination of dithiocarbamate fungicide residues. *Analyst*,1987,112(7):1075~1076
- 32 姚建仁, 郑永权, 焦淑贞. 蔬菜中有机硫杀菌剂残留量气相色谱检测方法. *中国农业科学*, 1989, 22(5): 76~80
- 33 范志先, 宋述尧, 张浩等. 代森锰锌和 ND-901 中代森锰锌在大棚黄瓜上残留动态研究. *中国环境科学*, 1994, 14(1): 30~36
- 34 范志先, 张浩, 许允成等. GLC-HS 测定代森锰锌在番茄果实和土壤中的残留动态. 见: 中国植物保护学会编. 植物保护研究进展论文集. 北京: 中国科学技术出版社, 1995, 370~373 页

- 35 李世壮,吴如金等译.液上气相色谱分析.上海:上海科学技术出版社,1981,1~87 页
- 36 Von Stryk F G, Jarvis W R. Residues of mancozeb, maneb and ethylenethiourea in fungicide-treated field and greenhouse tomatoes. *Can. J. Plant Sci.*,1978,58(7):623~628
- 37 Ripley B D, Cox D F. Residues of ethylenebis(dithiocarbamate)and ethylenethiourea in treated tomatoes and commercial tomato products. *J. Agric. Food Chem.*,26(5):1978, 1137~1143
- 38 高成仁 李莹 于峰.气相色谱测定代森锰锌在西红柿及土壤中的消解动态.农业环境保护,1991,10(2):68~70
- 39 Rosenberg C, Siltanen H. Residues of mancozeb and ethylenethiourea in grain samples. *Bull.Environ.contam.Toxicol.*,1979,22:475~478
- 40 Newsome W H. Residues of four ethylenebis(dithiocarbamates)and their decomposition products on field-sprayed tomatoes. *J. Agric. Food chem*,1976,24(5):999~1001
- 41 Ross R G, Wood F A, Stark R, Ethylene bisdithiocarbamate and ethylenethiourea residues in apples and apple products following sprays of mancozeb and metiram. *Can. J. Plant Sci.*,1978,58:601~604
- 42 Ripley B D, Cox D F. Wiebe J *et al.* Residues of dikar and ethylenethiourea in treated grapes and commercial grape products. *J. Agric. Food chem.*,1978,26(1):134~136
- 43 Buzasi-Gyorfi, A, Herceghalmi-Pankotai M, Pankotai-Gilinger M. Spectrochemical determination of metal content in pesticides and treated vegetables. *Microchemical Journal*,1992,46:30~35
- 44 Yess N J, Gunderson E L, Roy R R. U.S. Food and Drag Administration monitoring of pesticide residues in infant foods and adult foods eaten by infants/children. *J.Assoc.Off.Anal.Chem.*,1993,76(3):492~507
- 45 Trotter W J, John Pardue, The results and evaluation of a limited survey for ethylenebisdithiocarbamate and ethylenethiourea a residues in correlated raw and canned spinach and tomato samples. *J. of Food safety*,1982,4:59~68
- 46 Anmad V, Guo L, Mandarakas P *et al.* Determination of dithiocarbamate and its breakdown product ethylenethiourea in fruits and vegetables. *J.Assoc.Off.Anal.Chem.*, 1995,78(5):1238~1248
- 47 Kurttio P, Vartiainen T, Savolainen K. Environmental and biological monitoring of exposure to ethylenebisdithiocarbamate fungicides and ethylenethiourea. *British Journal of Industrial Medicine*,1990,47:203~206
- 48 中华人民共和国化学工业部. 中华人民共和国化工行业标准, 硫化促进剂 ETU(乙撑硫脲) HG/T 2343-92
- 49 <http://ntp-db.niehs.nih.gov/main-pages/chem-Hs.html>,1997,5
- 50 Khera K S. ethylenethiourea: a review of teratogenicity and distribution studies and an assessment of reproduction risk.. *CRC Crit. Rev. Toxicol.*,1987b,18:129~139
- 51 <http://joule.pcl.ox.ac.uk/msDs/E/Ethylenethiourea>,1997,5
- 52 王仪 郑斐能.代森类杀菌剂在国外发展的回顾与评议.农牧情报研究,1989,6:43~48

- 53 Tsuchiya T, Nakamura A, Iio T *et al.* Species differences between rats and mice in the teratogenic action of ethylenethiourea: *In vivo/in vitro* tests and teratogenic activity of sera using an embryonic cell differentiation system. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1991, 106: 1~6
- 54 Menegny A, Michalek H, Effect of zineb and its metabolite ethylenethiourea, on hepatic microsomal systems in rats and mice. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1987, 38: 862~867
- 55 Woodward K N, McDonald A, Joshi S. Ranking of chemicals for carcinogenic potency - a comparative study of 13 carcinogen in chemicals and an examination of some of the issues involved. *Carcinogenesis*, 1991, 12: 1061~1066
- 56 Graham S L, Hansen W H, Davis K J *et al.* Effects of one-year administration of ethylenethiourea upon the thyroid of the rat. *J. Agric. Food Chem.*, 1973, 21(3): 324~329
- 57 Seifter J, Ehrich W E. Goitrogenic compounds: Pharmacological and pathological effects. *J. Pharmacol. Exp. Iner.*, 1948, 92: 303~314
- 58 朱鲁生.乙撑硫脲环境毒理研究进展.环境科学进展, 1995, 3(4): 64~71
- 59 岳永德.乙撑硫脲在土壤中的光解.土壤学报, 1991, 28(2): 218~222
- 60 岳永德.乙撑硫脲在土壤中光解的影响因素.环境科学学报, 1989, 9(3): 338~345
- 61 Bottomley P, Hoodless R A, Smart N A. Review of methods for the determination of ethylenethiourea(Imidayoline-2-thione)residues. *Residue Reviews*, 1985, 95: 45~89
- 62 Hirvi T, Pyysalo H, Savolainen K. A glass capillary gas liquid chromatography method for determining ethylenethiourea without derivatization. *J. Agric. Food Chem.*, 1979, 27: 194~195
- 63 Nitz S, Moza PN, Korte F. Capillary gas liquid chromatographic method for determination of ethylenethiourea and propylenethiourea in hops, beer and grapes. *J. Agric. Food chem.*, 1982, 30: 593~596
- 64 Nitz S, Moza PN, Kokabi J *et al.* Fate of ethylenebis(dithiocarbamates)and their metabolites during the brew process. *J. Agric. Food chem.*, 1984, 32: 600~603
- 65 Onley J H, Yip G. Determination of ethylenethiourea residues in foods, using thin layer and gas chromatography. *J.Assoc.Off.Anal.Chem.*, 1971, 54: 165~169
- 66 Haines L D, Adler I L. Gas chromatographic determination of ethylenethiourea residues. *J.Assoc.Off.Anal.Chem.*, 1973, 56: 333~337
- 67 Matisov A E, Chovancov A J, Buzinkaiova T. Capillary gas chromatography of ethylenethiourea, a degradation product of ethylenebisdithiocarbamates. *J. of Chromatography*, 1984, 286: 331~337
- 68 Marshall WD. Thermal deposition of ethylenebisdithiocarbamate fungicides to ethylenethiourea in aqueous media. *J. Agric, food chem.*, 1977, 25: 357~361
- 69 Onley JH, Gjuffrida L, Ives NF *et al.* Gas liquid chromatography and liquid chromatography of ETU in fresh vegetable crops, fruits, milk and cooked foods. *J.Assoc.Off.Anal.Chem.*, 1977, 60: 1105~1110
- 70 Krause R T, Wang Y. Liquid chromatographic-electrochemical technique for

- determination of ethylenethiourea residues. *J. Liquid chromatogr*,1988,11:349~362
- 71 Krause R T. Liquid chromatographic-electrochemical determination of ethylenethiourea in food by revised official method. *J. Liquid chromatogr*,1989,72(6):975~979
 - 72 Doerge D R, Yee A B K. Liquid chromatographic determination of ethylenethiourea using pulsed amperometric detection. *J. of chromatography*,1991,586:158~160
 - 73 Doerge D R, Miles C J. Determination of ethylenethiourea in crops using particle beam liquid chromatography/mass spectrometry. *Anal. Chem.*,1991,63:1999~2001
 - 74 Kurttio P, Vartiainen T, Savolainen K. Measurement of ethylenethiourea Using thermo-spray liquid chromatography-mass spectrometry. *J. of Analytical Toxicology*,1992,16:85~87
 - 75 Bolzoni L, Sannino A, Bandini M. Determination of ethylenethiourea and propylenethiourea in tomato products and in fruit purees. *Food chemistry*, 1993,47:299~302
 - 76 Hogendoorn E A, Zoonen P V, Brinkman UATH. Column-Switching RPLC for the trace-level determination of ethylenethiourea in aqueous samples. *Chromatographia*, 1991,31(5~6):285~292
 - 77 Clarke D G, Harry Baum, Stanley E L *et al.* Determination of dithiocarbamates. *Anal. Chem.*,1951,23(12):182~1846
 - 78 Lowen W K. Determination of dithiocarbamate residues on food crops. *Anal. Chem.*, 1951,23(12):1846~1850
 - 79 Bontoyan W R. Analysis of dithiocarbamates by CS₂ evolution. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*,1965,48(3):562~564
 - 80 樊德方主编. 农药残留量分析与检测.上海: 上海科学技术出,1982,81~82 页
 - 81 范志先, 张浩, 许允成等. 黄原酸法操作条件的控制及 ND-901 混剂中代森锰锌的测定. 吉林农业大学学报,1993,15(1):58~61
 - 82 洪锡午.加强对代森类杀菌剂管理的建议.农药科学与管理,1991,(3):43~44
 - 83 庄无忌.国际关注的农药残留问题.农药译丛,1990,12(4):53~58
 - 84 朱庆华摘译.英国 ACP 谈代森类杀菌剂安全性问题.农药科学与管理.1990,(2):47
 - 85 顾宝根摘译.有关美国取消 EBDC 类杀菌剂登记的概况.农药科学与管理, 1990,(2):46
 - 86 黄蕴娴.美国对部分农药的管理动态.农药科学与管理,1990,(3):39~44
 - 87 樊德方主编. 农药残留量分析与检测.上海: 上海科学技术出版社,1982,119 页
 - 88 林郁编.农药应用大全.北京: 农业出版社,1989,519 页
 - 89 Lehotay J,Kisova D. HPLC study of mancozeb degradation on leaves. *J.Liq.Chromatogr.*,1993,16(5):1015~1022
 - 90 Lehotay J, Brandsteterova E, Oktavec D. High-performance liquid chromatographic determination of ethylenethiourea in food. *J.Liq.Chromatogr.*, 1992,15(3):525~534
 - 91 中华人民共和国化学工业部. 中华人民共和国化工行业标准, 代森锰锌可湿性粉剂 HG 2315-92

- 92 Lo Chi-Chu, Ho Ming-Hsun. Determination of imidazolidine-2-thione (ethylenethiourea) in ethylenebisdithiocarbamate formulations. *Pestic.Sci.*, 1993, 37(3): 247~251
- 93 CIPAC HANDBOOK. 1980, Vol. 1A: 1288~1295
- 94 CIPAC HANDBOOK. 1980, Vol. D: 95~97
- 95 CIPAC HANDBOOK. 1977, Vol. 1: 951~954
- 96 范志先, 张浩, 许允成等. 乙代混剂中三乙磷酸铝对代森锰锌稳定性的影响. 吉林农业大学学报, 1995, 17(3): 61~64

致 谢

在导师樊德方教授悉心关怀指导下, 本文得以圆满完成, 指导小组黄幸纾教授、陈传群教授和李玉教授给予了热情的帮助和指导。在论文完成的过程中, 吉林农业大学保护地蔬菜教研室提供了使用塑料大棚和温室的方便, 同时也得到宋述尧教授、张晓明主任的大力支持和指导。吉林农业大学测试中心提供了使用高效液相色谱仪等实验条件并得到了孙晓秋高级实验师的大力帮助。吉林农业大学农药教研室提供了许多便利条件。另外还得到了中科院长春应化所孙跃泉副研究员的大力协助, 完成 GC-MS 的测定工作。整个论文工作始终得到本所刘乾开教授、朱国念博士、吴加伦博士、李少南博士、虞云龙博士、吕斌博士的支持和关心。

此外, 还一直得到吉林农业大学孙立城教授、刘伊玲教授、张帆副研究员、张浩老师、许允成老师、王化龙老师以及叶志强、谢文明、刘兴权和李靖同学的热情帮助。

感谢范岩红、初丽伟小姐对本文的录入和精心的编排制作。

深深地感谢我的家人对我多年来学习、工作和生活上的理解、支持和关心。

值此论文完成之际, 向所有关心和支持本文工作的老师、同学和朋友们表示衷心的感谢! 向评阅、评议本文及答辩委员会的全体专家、教授致以最诚挚的谢意!

范志先

一九九七年十月三十日
于长春

ENVIRONMENTAL TOXICOLOGICAL STUDY OF MANCOZEB & ETHYLENETHIOUREA IN PLASTIC HOUSE

ABSTRACT

The residue kinetics of mancozeb and ethylenethiourea (ETU) which is a major toxicological breakdown product of mancozeb were studied on plastic house cucumber; cucumber leaves; leave stubble and soil; as well as its comparison between plastic house and open field. According to the results, the safety evaluation of mancozeb was developed used in plastic house and plastic house cucumber consumed. In order to improve the stability of mancozeb and reduce formation of ETU, the degradation of mancozeb formulation and the stability of mancozeb in six mixtures of including mancozeb were investigated.

A headspace gas chromatography (HS-GLC) is a universal method for determining mancozeb residue. Mancozeb present in the sample is converted to CS₂ during reaction with HCl/stannous chloride reagent in a sealed reaction flask. In the light of amount of CS₂, then the amount of mancozeb was calculated in the sample. It is based on Raoult Law to carry out quantitative analysis. Because many factors may affect quantitative results, calibration was usually made by CK samples. The improved method and the issues existed in the procedure were discussed in detail.

The residue dynamics of mancozeb and mancozeb in ND-901 on plastic house cucumbers were presented by GLC-HS. When 0.2% and 0.4% water suspensions of mancozeb 70 WP were applied in plastic house, residues of mancozeb on cucumbers were 0.88-2.70mg/kg and 1.11~3.79mg/kg; on the leaves were 148~164mg/kg and 246~254mg/kg ;on soil(terra nera) were 1.94mg/kg and 3.94mg/kg on hour 1 respectively. The half-life of mancozeb for the fruits leaves and the soil was 2.4~6.5 and 2.4~10.6 days; 12.7~16.0 and 10.6~18.8 days; 7.9 and 15.5 days respectively. Mancozeb on overwinter soil was not detected. About 10% mancozeb was removed to plastic house outside following the stubs. Residue of mancozeb was 18mg/kg on the stubs after 2 months;<0.03mg/kg after 7 months respectively. The concentration of CS₂ was lower 0.5mg/m³ in air of plastic house. Residue of mancozeb was lower in ND-901 than that of mancozeb 70 WP. Washing cucumbers with tap water could effectively reduce the amount of mancozeb residues; the average decontamination rate was 87%.

The dynamic of ETU residues was studied by performance liquid chromatography on plastic house cucumber, cucumber leaves and soil. When 0.4% water

suspension of mancozeb 70 WP was applied in plastic house, residue of ETU on cucumbers was 0.174mg/kg; on the leaves was 47.7mg/kg; on soil (terra nera) was 0.069mg/kg on hour 1 respectively. The half-life of ETU was 3.9days on the fruits; 3.8days on the leaves; 8.3days on the soil respectively. The results showed that the degradation rate of ETU is faster than its production rate from mancozeb. There is no accumulation of ETU residues on cucumbers, leaves and soil.

The plastic house cucumbers are the same variety, age, culture practice as open field cucumbers. When 0.4% water suspension of mancozeb 70 WP was applied in plastic house and field for three times, interval a week, the dynamics of mancozeb residues on plastic house cucumber and field cucumber fruits were described as $C_t = 1.058 e^{-0.1282t}$, $C_t = 0.751 e^{-0.4689t}$ respectively, half-lives were 5.4days, 1.4days respectively; on the leaves were $C_t = 316 e^{-0.0893t}$, $C_t = 74.3 e^{-0.3046t}$ respectively, half-lives were 7.8days, 2.3days respectively. ETU on fruits was $C_t = 0.152 e^{-0.1794t}$, $C_t = 0.059 e^{-0.1366t}$ respectively; on leaves was $C_t = 30.62 e^{-0.1838t}$, $C_t = 6.86 e^{-0.4868t}$ respectively. The disappear of mancozeb is affected in plastic house and open field by concentration of mancozeb applied, spray method, temperature, humidity, intensity of illumination, cucumber extension rate, leaves keep out mancozeb to the fruits etc. The k value of mancozeb in open field is 2.6fold of plastic house cucumber for fruits, 7.1fold for leaves. It is obvious the disappear in the field is faster. Because the temperature and humidity are usually higher the degradation of mancozeb is not decided by temperature and humidity. It is probable the major facts are rainfall, illumination, wind etc. The results support that the guideline for safety application of mancozeb in plastic house is different from in open field. The conclusion is of universal significance to other pesticides that are applied in the plastic house.

Safety coefficients of the cucumbers have been calculated by consuming 300g/person/day from the level of residue 1day. For mancozeb, safety coefficients are 10 for plastic house cucumbers, 21 for open field cucumbers, 12 for plastic house cucumbers that were applied ND-901, 83 for plastic house cucumbers washed by water respectively. ETU are 9 for plastic house cucumbers, 14 for field cucumbers respectively.

Identification of some degradation products is described by capillary gas chromatography mass spectrometry in methanol extract of mancozeb 70 WP after storing 5 years in the laboratory. Through analyzing and comparing the obtained mass spectra with the standard mass spectra could identify the degradation products and then determine the proposed degradation pathways. The results showed that the degradation products and pathways were very similar to other ethylenedisithiocarbamate fungicides. The degradation products of mancozeb detected in the formulation include ETU, EU (2-imidazolidinone) and EDI (eth-

ylenediisothio-

cyanate). Mancozeb is degraded primarily by oxidative reaction.

The stability of mancozeb and the level of ETU were detected *via* the xanthated method and HPLC-UV in mancozeb and its mixtures (mancozeb + fosetyl-Al, mancozeb + chlorothalonil, mancozeb + metalaxyl, mancozeb + carbendazim, mancozeb + triadimefon, mancozeb + dimethachlon) by CIPAC MT46. The relative rate of decomposition of mancozeb was 9.3~14.3%. The level of ETU was 3.9% for 2 years, 6.9% for 5 years in the formulation. Fosetyl-Al, carbendazim and triadimefon may enhance stability of mancozeb by heating. Except mancozeb + dimethachlon, the levels of ETU in five mixtures were 1.91~3.11% after storing 2 years. Fosetyl-Al may significantly reduce formation of ETU in mancozeb formulation.

According to the toxicity and residue dynamics of mancozeb and ETU, application of mancozeb will be restricted in plastic house, because the fungicide and its metabolite on crops may present a great deal of residue and workers expose frequently during farming season, at the same time safety coefficient on cucumbers is lower after spraying mancozeb in the plastic house.

The guideline for safety application of mancozeb in plastic house ought to be made. It is suggested that mixed preparations of mancozeb is better than mancozeb, apply no more than twice every season, preharvest interval 2 days, MRL 0.5mg/kg (calculated as CS₂) for mancozeb. Protective clothing should be worn during mixing, loading, application and early reentry into treated plastic house. A 24h reentry interval is required in mancozeb-treated plastic house for workers. It is better to store the preparations by vacuumed containers.

Key Words: Mancozeb, Ethylenethiourea, Plastic house, Residue, Degradation

