

文章编号: 1009-6094(2010)06-0022-04

10%噻吩磺隆可湿性粉剂在小麦和土壤中的残留动态研究*

赵佳, 杨仁斌, 罗惠莉, 唐贞, 祁礼
(湖南农业大学农业环境保护所, 长沙 410128)

摘要: 为了解噻吩磺隆使用后在小麦及其环境中的残留情况, 采取振荡提取、固相萃取净化和高效液相色谱残留检测方法, 测定了田间施药条件下噻吩磺隆在小麦植株和土壤中的消解动态及其最终残留情况。结果表明, 噻吩磺隆峰面积与质量浓度在 0.012 53 ~ 5.025 mg/L 范围内呈线性关系, 相关系数达 0.999 7。在土壤、小麦植株和籽粒上该农药的平均回收率分别为 87.57% ~ 90.70%、89.39% ~ 95.90%、84.17% ~ 89.32%, 满足残留检测的要求。田间试验结果表明: 噻吩磺隆在小麦植株和土壤中的半衰期分别为 4.62 ~ 5.33 d 和 7.70 ~ 9.90 d; 按推荐剂量施药, 成熟时收获的小麦籽粒中噻吩磺隆的残留量均为未检出。研究表明, 该药属易分解农药 ($T_d < 30$ d), 按推荐使用剂量使用是安全的。

关键词: 农药学; 残留动态; 噻吩磺隆; 小麦; 土壤; 高效液相色谱

中图分类号: X592

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6094.2010.06.006

0 引言

噻吩磺隆 (Thifensulfuron methyl), 化学名称为 3-(4-甲基-6-甲基-1,3,5-三嗪-2-氨基甲酰氨基磺酰基)噻吩-2-羧酸。噻吩磺隆是一种新型磺酰胺类除草剂, 由于其低残留、对哺乳动物低毒性等特点, 在世界各国得到了应用^[1]。Brown 等^[2]对噻吩磺隆在大豆上的残留和代谢途径进行了详细的研究。Stry 等^[3]应用液相色谱-质谱法测定了噻吩磺隆和苯磺隆在棉花上的残留。国内对噻吩磺隆在农作物上的残留消解研究集中于大豆^[4]、花生^[5]、玉米^[6]等作物, 有关其在小麦上的田间消解动态和最终残留情况研究并不多见。

欧盟和美国制定的在大豆中噻吩磺隆最高残留限量 (Maximum Residue Limit, MRL) 分别为 0.05 mg/kg 和 0.1 mg/kg^[7], 本文暂以 0.05 mg/kg 作为噻吩磺隆在小麦籽粒中的 MRL 值。在参照文献^[5]的基础上提取土壤、小麦植株、籽粒中的噻吩磺隆并与样品溶出物进行分离, 采用高效液相色谱的方法测定其在小麦和土壤中的消解动态及最终的残留状况, 以期制定噻吩磺隆在小麦中的合理使用准则及开展安全性评价提供依据。

1 材料与方法

1.1 田间试验

10%噻吩磺隆可湿性粉剂, 农业部农药检定所; 试验作物为冬小麦。

试验时间: 2007年6月—2008年11月。试验地点: 湖南长沙湖南农业大学试验场, 山东曲阜曲阜师范大学试验基地。试验均设空白对照区、高剂量试验区、低剂量试验区、消解动

态试验区。

1.2 消解动态试验

小麦苗期按高剂量施药, 用 10%噻吩磺隆可湿性粉剂 337.5 g/hm² (有效成分 33.75 g/hm²) 兑水 600 L 稀释后封闭式喷雾施药 1 次。于施药后 1/24 d、1 d、2 d、3 d、5 d、7 d、14 d、21 d、28 d、35 d, 在小区内随机取小麦植株地上部分 (全株) 1 kg 以上; 土壤用土壤采样器随机取 0 ~ 10 cm 深土样 (10 点以上) 1 kg 以上。所采样品用塑料袋密封迅速运回实验室处理, 分别测定样品中噻吩磺隆的残留量。样品不能立即处理时, 贮藏在 -20 °C 冰箱中。根据测定结果提出噻吩磺隆在小麦植株、土壤中的降解模式和半衰期。

1.3 最终残留试验

最终残留试验在小麦拔节期进行施药, 试验设推荐使用剂量、高剂量和对照 3 个处理。推荐使用剂量用 10%噻吩磺隆可湿性粉剂按 225 g/hm² (有效成分 22.5 g/hm²) 兑水 600 L 稀释, 于小麦拔节期对小麦植株喷雾施药 1 次; 高剂量用 10%噻吩磺隆可湿性粉剂按 337.5 g/hm² (有效成分 33.75 g/hm²) 兑水 600 L 稀释, 于小麦拔节期对小麦植株喷雾施药 1 次; 对照区不施药。各处理重复 3 次。待小麦成熟时, 各小区内随机取小麦植株 (地上部分全株) 若干 (晒干后能保证取籽粒 1 kg 以上, 麦秆 0.5 kg 以上), 麦田土壤用土壤取样器随机取 0 ~ 15 cm 深土样 (10 点以上) 1 kg 以上。所采样品用塑料袋密封迅速运回实验室处理, 分别测定样品中噻吩磺隆的残留量。样品不能立即处理时, 贮藏在 -20 °C 冰箱中。

1.4 检测方法

1.4.1 药品与试剂

噻吩磺隆标准品, 纯度为 95%, 农业部农药检定所提供。用万分之一分析天平称取 0.100 5 g 噻吩磺隆标准品, 用色谱甲醇定容至 100 mL, 得到噻吩磺隆质量浓度为 1.005 g/L 标准储备液。保存于 0 ~ 4 °C 冰箱中, 用时稀释至相应浓度。甲醇、二氯甲烷、磷酸氢二钾、氯化钠、十二烷基磺酸钠、无水硫酸钠等均为分析纯。中性 Al₂O₃ (色谱层析用, 0.15 ~ 0.2 mm), 130 °C 灼烧 3 h, 冷却后加 6% 双蒸水 (100 g 氧化铝加入 6 mL 双蒸水) 脱活, 拌匀平衡 24 h 后, 置于干燥箱中备用。

1.4.2 仪器与设备

HP-1100 型高效液相色谱仪, 美国 HP 公司产品, 带紫外检测器; HH-2 恒温水浴锅, 江苏金坛顺华仪器有限公司; RE-201D 旋转蒸发器, 上海科兴仪器有限公司; HY-Z 型调速多用振荡器, 江苏金坛恒丰仪器有限公司; 布氏漏斗, 玻璃层析柱等。

1.5 样品的制备

土壤样品: 试验小区采回的土壤样品, 去除植物根系及砾石等非土壤成分, 四分法留样约 500 g, 过 0.83 mm 筛后制成待分析样品贮于洁净的玻璃瓶中 (称取 2 份测定含水率)。

小麦植株样品: 试验小区内采回的小麦鲜植株样品, 四分法留样约 200 g, 切碎后 (对已经开始拔节的小麦植株, 将茎叶分别称重, 算出茎叶重量比, 将茎叶分别切碎, 按茎叶重量比称取测定样品) 测定样品中噻吩磺隆的残留量。

小麦籽粒样品: 试验小区内采回的成熟小麦植株样品, 分别晒干脱粒, 取小麦籽粒 1 kg, 稻秆 0.5 kg。将小麦籽粒用粉碎机 (带 0.45 mm 筛孔) 粉碎后制成粗面粉样品贮于洁净的玻璃瓶中待测。

* 收稿日期: 2010-02-05

作者简介: 赵佳, 讲师, 从事环境污染物监测及技术研究, wuhanzhj@126.com。

1.6 分析步骤

1.6.1 提取方法

土壤和小麦籽粒样品:准确称取(20.0±0.1)g待测的土壤干样(或粗面粉)于250 mL具塞三角瓶中,加入50 mL二氯甲烷于恒温(25℃)振荡器振荡提取40 min,减压抽滤过滤,得噻吩磺隆的待净化提取液。

植株样品:准确称取处理后的植株鲜样(10.0±0.1)g,置于250 mL具塞三角瓶中,加入100 mL 0.02 mol/L的K₂HPO₄,恒温(25℃)振荡提取40 min,减压抽滤过滤,得噻吩磺隆的待净化提取液。

1.6.2 净化方法

土壤和小麦籽粒样品:将提取液在旋转蒸发器(40℃)上浓缩至近干,色谱甲醇定容,待高效液相色谱仪测定。

植株样品:将抽滤后的滤液转到250 mL分液漏斗中,用磷酸调节滤液pH值至3左右,加入5 g氯化钠并使溶解,加入2.5 mL 4%十二烷基磺酸钠水溶液(质量分数),用二氯甲烷萃取两次(50 mL,30 mL),合并下层二氯甲烷相。将合并后的二氯甲烷在旋转蒸发器上(40℃)浓缩至近0.5 mL。取长25 cm,内径1 cm玻璃层析柱,加入少量玻璃棉于底部,自下而上装入2~3 cm厚的无水硫酸钠,4 g中性Al₂O₃,再加上2~3 cm厚的无水硫酸钠。用10 mL二氯甲烷预淋洗,弃去预淋洗液,将待净化的样品转移到柱中,用80 mL二氯甲烷甲醇混合液(V:V=1:1)淋洗,收集淋洗液于250 mL三角瓶中,在旋转蒸发器上(40℃)浓缩近干,用色谱甲醇定容,待液相色谱测定。

1.6.3 液相色谱测定条件

HP-1100型高效液相色谱仪(带紫外检测器和化学工作站),色谱柱为ODS柱(4.0 mm×25 cm×10 μm),流动相为V(甲醇):V(水)(乙酸调水pH值至3.0)=60:40,流速为0.6 mL/min,λ=254 nm, T=30℃。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线

将1.005 g/L噻吩磺隆标准储备液稀释,分别制成0.012 53 mg/L、0.025 13 mg/L、0.010 05 mg/L、0.502 5 mg/L、5.025 mg/L的噻吩磺隆甲醇标准系列溶液,在高效液相色谱上检测,进样20 μL,以峰面积为纵坐标,噻吩磺隆质量浓度为横坐标绘制标准曲线。噻吩磺隆峰面积(y)与质量浓度(x)

在所选浓度范围内呈线性关系,线性相关方程为 $y = 2.115 + 49.083x$,相关系数达0.999 7。在上述色谱条件下,仪器对噻吩磺隆的最低检测质量浓度为0.142 5 mg/L,最小检出量为 2.85×10^{-9} g。其色谱图见图1。

2.2 添加回收

准确度及精密度采用添加回收率和变异系数来表示。在制备好的空白土壤、植株和籽粒样品中添加定量的噻吩磺隆标准溶液(质量比范围为0.050~5.0 mg/kg)。按上述分析方法测定回收率,测定结果见表1。

2.3 消解动态试验结果

两地样品测定的结果列于表2。从表2可以看出,噻吩磺隆的原始沉积量在长沙地区土壤和植株中分别为0.145 4 mg/kg和1.364 mg/kg;在2007年山东地区土壤和植株中分别为0.194 3 mg/kg和1.668 mg/kg;在2008年山东地区土壤和植株中分别为0.205 5 mg/kg和2.284 mg/kg。随着时间的延长,噻吩磺隆的残留量逐渐下降。两地的消解状况表明,施药后间隔时间与植株及土壤中的残留量成指数关系。残留动态曲线符合方程 $C_t = C_0 e^{-kt}$ 。其中, C_t 为施药后间隔 t 天植株和土壤中农药残留量, C_0 为施药后的原始沉积量, k 为消解速率常数。

将表2数据进行统计分析,得到噻吩磺隆在土壤和植株中残留量的消解动态回归曲线方程,分别列于表3。麦田土壤中,噻吩磺隆在长沙和山东的半衰期为7.70~9.90 d,35 d后均未有噻吩磺隆检出;小麦植株中的噻吩磺隆半衰期为5.33 d(长沙)、4.95 d(山东2007)和4.62 d(山东2008),35 d后均未有噻吩磺隆检出。

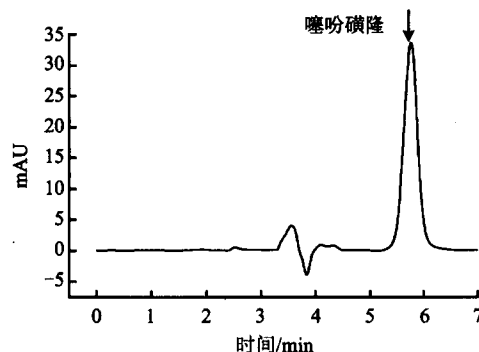


图1 0.502 5 mg/L噻吩磺隆色谱图

Fig.1 Chromatogram of 0.502 5 mg/L thifensulfuron methyl

表1 添加回收率及变异系数

Table 1 Recoveries and coefficients of variation for thifensulfuron methyl in samples

样品名称	添加量/(mg·kg ⁻¹)	回收率/%			平均回收率/%	变异系数 C.V./%
		1	2	3		
土壤样品	0.050	91.03	82.73	88.94	87.57	4.32
	0.50	87.07	95.52	89.47	90.70	4.36
	5.0	81.30	87.18	97.61	88.71	8.26
植株样品	0.050	92.14	105.95	86.34	94.81	10.07
	0.50	89.64	100.66	97.39	95.90	5.66
	5.0	86.19	91.53	90.44	89.39	2.82
小麦籽粒样品	0.050	87.83	85.00	79.68	84.17	4.14
	0.50	88.36	82.16	84.49	85.00	3.13
	5.0	86.51	90.02	91.44%	89.32	2.54

2.4 10%噻吩磺隆可湿性粉剂在麦田土壤、小麦植株和小麦籽粒中的最终残留测定结果

2007—2008年山东和湖南两地的田间试验及室内分析测试结果表明：按推荐使用剂量 225 g/hm² (有效成分 22.5 g/hm²) 兑水 600 L 稀释,于小麦拔节期对小麦植株喷雾施药 1 次,在最终残留检测中,麦田土壤、小麦植株和籽粒中均未检出噻吩磺隆残留;按高剂量 337.5 g/hm² (有效成分 33.75 g/hm²) 兑水 600 L 稀释,于小麦拔节期对小麦植株喷雾施药 1 次,麦田土壤、小麦植株和小麦籽粒中均未检出噻吩磺隆。最终残留测定结果见表 4。

3 结论

在小麦上使用 10%噻吩磺隆可湿性粉,消解动态试验结果表明,噻吩磺隆在小麦土壤中的半衰期为 7.70 ~ 9.90 d,在植株上的半衰期为 4.62 ~ 5.33 d,属于易降解农药 ($T_d < 30$ d)。

在小麦三叶至拔节期,将 10%噻吩磺隆可湿性粉剂 225 g/hm² (有效成分 22.5 g/hm²) 兑水 600 L 稀释,对小麦植株喷雾施药 1 次,小麦成熟时,收获的小麦籽粒中噻吩磺隆的残留

量均为未检出。表明 10%噻吩磺隆可湿性粉剂按推荐剂量使用是安全的。

References(参考文献):

[1] BROWN H M, WITTENBACH V A, FORNEY D R, et al. Basis for soybean tolerance to thifensulfuron methyl[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1990, 37(3): 303 - 313.
 [2] HUGH M, BROWN, LENA B, et al. Metabolic pathways and residue levels of thifensulfuron methyl in soybeans[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1993, 41: 1724 - 1738.
 [3] STRY J J, AMOO J S, GEORGE SW, et al. Coupling of size-exclusion chromatography to liquid chromatography/mass spectrometry for determination of trace levels of thifensulfuron-methyl and tribenuron-methyl in cottonseed and cotton gin trash [J]. *Journal AOAC International*, 2000, 83: 651 - 659.
 [4] QI Yan(祁彦), LI Shujuan(李淑娟), ZHAN Chunrui(占春瑞), et al. Simultaneous determination of sulfonylurea herbicides residues in soybeans by high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学)*, 2004, 32(11): 1421 - 1425.

表 2 噻吩磺隆在麦田土壤和小麦植株中的降解动态试验结果

Table 2 Degradation dynamics of thifensulfuron methyl in soil and wheat-straw

取样时间 (施药后天数)	噻吩磺隆残留量/(mg·kg ⁻¹)					
	长沙		山东(2007年)		山东(2008年)	
	麦田土壤	小麦植株	麦田土壤	小麦植株	麦田土壤	小麦植株
0*	0.145 4	1.364	0.194 3	1.668	0.205 5	2.284
1	0.128 3	1.003	0.153 2	1.414	0.185 1	2.011
2	0.100 2	1.126	0.108 2	1.080	0.162 4	1.296
3	0.095 89	0.744 3	0.097 21	0.716 9	0.128 6	0.862 9
5	0.072 07	0.632 7	0.086 72	0.468 8	0.085 97	0.713 7
7	0.054 70	0.483 2	0.065 18	0.218 3	0.078 36	0.309 5
14	0.049 90	0.152 2	0.052 39	0.1051	0.061 15	0.117 7
21	0.026 67	0.061 42	0.033 65	0.054 79	0.041 08	0.049 49
28	0.007 393	0.043 31	LOD	0.036 71	LOD	LOD
35	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD	LOD

注: 1) * 指施药后 1 h 取样; 2) 土壤中噻吩磺隆的残留量以烘干土重计; 3) 小麦植株中的噻吩磺隆的残留量以鲜重计。

表 3 噻吩磺隆在土壤和小麦植株中的降解动态动力学方程式

Table 3 Regression equations of degradation dynamic and half lives of thifensulfuron methyl in soil and wheat-straw

样品类型	降解动力学方程式	相关系数(r)	降解半衰期/d
麦田土壤	长沙	$y = 0.131e^{-0.09x}$	0.941 2
	山东(2007)	$y = 0.147e^{-0.08x}$	0.927 3
	山东(2008)	$y = 0.169e^{-0.07x}$	0.887 5
小麦植株	长沙	$y = 1.201e^{-0.13x}$	0.979 3
	山东(2007)	$y = 1.176e^{-0.14x}$	0.925 8
	山东(2008)	$y = 1.599e^{-0.15x}$	0.946 9

表 4 噻吩磺隆在麦田土壤、小麦中的最终残留试验结果

Table 4 Final residues of thifensulfuron methyl in soil and wheat

样品来源	样品中的残留量/(mg·kg ⁻¹)								
	麦田土壤			小麦植株			小麦籽粒		
	湖南	山东(2007)	山东(2008)	湖南	山东(2007)	山东(2008)	湖南	山东(2007)	山东(2008)
对照	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
推荐剂量	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
高剂量	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

- [5] NIE Siqiao(聂思桥), CHEN Jiuxing(陈九星), WU Zhihua(吴志华), et al. Analytical method for residue determination of thifensulfuron in peanut[J]. *Agrochemicals*(农药), 2007, 46(9): 625-627.
- [6] CUI Xin(崔昕), ZHANG Wei(张微), WEI Changgui(魏昌贵), et al. Residue analysis of thifensulfuron-methyl and the residue dynamics in corn field[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*(农药学报), 2007, 9(3): 291-296.
- [7] DENG Jinbao(邓金保). Review of sulfonylurea herbicides[J]. *World Pesticides*(世界农药), 2003, 25(3): 24-29.

Residue dynamics of 10% thifensulfuron methyl in wheat and soil

ZHAO Jia, YANG Ren-bin, LUO Hui-li, TANG Zhen, QI Li

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

Abstract: This paper is aimed to evaluate the safety level of thifensulfuron methyl by analyzing its residue after applied to the wheat field. Oscillation extraction, solid-phase extraction and high performance liquid chromatographic (HPLC) have been used in the residue analysis. The pesticide residual concentration and its dynamics and residues in wheat and soil were evaluated. Linear range of thifensulfuron methyl was within 0.012 53 - 5.025 mg/L and the correlation coefficient was 0.999 7. The pre-treatment method of soil, wheat plant and grain were different. The average recoveries of thifensulfuron in soil, wheat plant and grain were 87.57% - 90.70%, 89.39% - 95.90% and 84.17% - 89.32% respectively. These results showed that the method has met the requirement of pesticide residue analysis. Field trials were conducted in Changsha and Qufu. With the time increasing, thifensulfuron-methyl residues gradually declined. The degradation was in accordance with the regression equation. When the applied herbicide concentration was 33.75 g/hm², the degradation dynamic equation was respectively $y = 0.131e^{-0.09x}$ and $y = 1.201e^{-0.13x}$ in the soil and wheat plant in Changsha. The half-time for each of them was 7.70 and 5.33 respectively. The degradation dynamic equation were $y = 0.147e^{-0.08x}$ (2007) and $y = 0.169e^{-0.07x}$ (2008) in Qufu's soil. On the other hand, the degradation dynamic equation for pesticides in soil were $y = 1.176e^{-0.14x}$ (2007) and $y = 1.599e^{-0.15x}$ (2008). When the wheat-straw was treated by thifensulfuron methyl wettable powder at 225 g/hm²(effective ingredient is 22.5 g/hm²), the residue in kernel was undetected. The result implied that thifensulfuron methyl belongs to non-persistent pesticides ($T_d < 30$ d). Applying thifensulfuron methyl at recommendatory dosage is environmentally secured in China.

Key words: pesticide science; residue dynamics; thifensulfuron methyl; wheat; soil; high performance liquid chromatography

CLC number: X592 **Document code:** A

Article ID: 1009-6094(2010)06-0022-04

文章编号: 1009-6094(2010)06-0025-05

PAHs 污染农田土壤联合生物修复技术研究*

王洪^{1,2}, 孙铁珩^{1,2,3}, 李海波², 胡筱敏¹

(1 东北大学资源与土木工程学院, 沈阳 110001;

2 区域污染环境生态修复教育部重点实验室(沈阳大学), 沈阳 110044; 3 中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016)

摘要: 以我国典型污水灌溉区——沈抚污灌区农田土壤为研究对象, 采用植物修复并辅以高效微生物菌剂、污泥发酵肥等方式对 PAHs 污染农田土壤进行了植物-微生物联合生物修复的初步研究。结果表明, 采用玉米、大豆、蓖麻、苜蓿与高效微生物菌剂联合修复 PAHs 效果可达到 36.3%、44.1%、36.8% 和 48.3%, 比单纯的植物修复显著增高了 15% - 18%; 施加污泥发酵肥进一步提高了生态修复效率, 其中苜蓿的联合修复效率最好, 达到 61.1%。同时, 联合生物修复对高环 PAHs 的去除也有明显的效果。修复后农作物的 PAHs 质量比在安全范围内; 土壤微生物数量明显增加, 微生物群落中的 PAHs 降解细菌和真菌分别增加了 3 和 1 个数量级。

关键词: 环境工程学; 污染修复; PAHs; 微生物菌剂; 植物修复

中图分类号: X53 **文献标识码:** A

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6094.2010.06.007

0 引言

多环芳烃(PAHs)污染是最常见的有机污染之一, 具有强烈致癌、致畸、致突变作用。由于其具有低溶解性和较强的憎水性, 很容易分配到土壤有机质中^[1], 土壤已成为 PAHs 的重要归宿, 承担着其 90% 以上的环境负荷^[2]。PAHs 进入土壤后可通过挥发、迁移及食物链等进入其他环境介质和生物体, 从而给人类健康带来风险。因此, 对 PAHs 污染土壤的修复非常重要和迫切。

对于治理局部性、高浓度多环芳烃污染, 传统的物理、化学等方法可发挥一定作用, 但对于大面积农田污染, 这些方法在经济上难以承受, 技术可操作性差, 可能存在二次污染等问题^[3-4]。生物修复技术具有节省能源, 操作简单, 不会带来二次污染等优点, 近年来, 被广泛应用于 PAHs 污染土壤的修复过程中^[5-6]。强化微生物修复、接种丛枝菌根联合植物修复、加入外源菌种等强化措施均能促进生物修复的效果^[5-7]。但目前大多研究集中在室内外的盆栽试验, 将 PAHs 污染物添加到土壤中进行模拟研究, 新添加污染物浓度通常远高于土壤 PAHs 浓度, 修复环境与实际污染区域相差甚远。因此, 原位修复是 PAHs 污染土壤生物修复应用的重要方向。张晶等^[8]开展了以轮作方式为手段的植物原位修复 PAHs 污染土壤研究, 更多的原位研究鲜有报道。为此, 本文以多年 PAHs 污染农田土壤为对象, 采用植物-微生物联合修复方法, 开展

* 收稿日期: 2010-02-02

作者简介: 王洪, 讲师, 博士研究生, 从事土壤和水污染修复研究; 李海波(通信作者), 教授, 从事环境介质生态修复研究, iamh@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目(50908151); 国家高新技术研究发展计划项目(2007AA061101)