

液相色谱串联质谱法检测草铵膦、草甘膦及其代谢物在水和土壤中的残留

姬乐园, 王平平, 朱丽珍, 毛连纲, 张 兰, 蒋红云, 刘新刚*

(中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害综合治理全国重点实验室, 北京 100193)

摘要 利用超高效液相色谱-串联质谱仪(UHPLC-MS/MS), 结合固相萃取净化建立了在水和土壤中同时快速测定草甘膦、草铵膦及其6种代谢物的多残留分析方法。前处理采用 Oasis MCX 和 Oasis MAX 固相萃取柱提取, 2% 甲酸甲醇-水(体积比为 1:1)洗脱, 旋干后 0.1% 氨水定容, UHPLC-MS/MS 检测。方法的线性范围为 0.02~0.5 mg/L; 在水中添加水平为 0.000 1 mg/L 和 0.001 mg/L 时, 草甘膦、草铵膦及其代谢物的回收率为 72.8%~94.2%, RSD 为 2.3%~16.1%; 土壤中添加水平为 0.001 mg/kg 和 0.01 mg/kg 时, 草甘膦、草铵膦及其代谢物的回收率为 70.6%~88.5%, RSD 为 3.6%~12.8%。本方法准确、灵敏、全面, 适用于草甘膦、草铵膦及其代谢物在水土环境中的残留检测及监测。

关键词 水和土壤; 草铵膦; 草甘膦; 代谢物; UHPLC-MS/MS; 残留检测

中图分类号: S 481.8 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2023115

Determination of glufosinate-ammonium, glyphosate and their metabolites in soil and water by HPLC-MS/MS

JI Leyuan, WANG Pingping, ZHU Lizhen, MAO Liangang, ZHANG Lan, JIANG Hongyun, LIU Xingang*

(State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract An ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) combined with solid-phase extraction purification was used to establish a multi-residue analysis method for the simultaneous determination of glyphosate, glufosinate-ammonium and their six metabolites in water or soil. Oasis MCX and Oasis MAX solid phase extraction columns were used in pre-treatment, and then 2% formic acid methanol water (volume ratio of 1:1) was used for elution. The eluent collected was evaporated to dryness by a rotary evaporator and diluted with 0.1% ammonia. The linear range of the method was 0.02–0.5 mg/L. Under the spiked level of 0.000 1 and 0.001 mg/L in the purified water, the recoveries were 72.8%–94.2% and the relative standard deviations were 2.3%–16.1%, respectively. Under the spiked level of 0.001 mg/kg and 0.01 mg/kg in the soil, the recoveries were 70.6%–88.5% and the relative standard deviations were 3.6%–12.8%, respectively. The method is accurate, sensitive and comprehensive, which could be used to analyze the content of glyphosate, glufosinate-ammonium and their metabolites in low concentration samples in environmental test.

Key words water and soil; glufosinate-ammonium; glyphosate; metabolite; UHPLC-MS/MS; residue analysis

草甘膦、草铵膦分别是由原美国孟山都公司和原德国赫斯特公司开发的氨基酸类除草剂。草甘膦、草铵膦因为其高效广谱的特性, 常常被用于防除

各种常见杂草。随着耐除草剂作物的大量种植, 草甘膦、草铵膦的使用量呈现爆发式增长, 草甘膦、草铵膦已分别成为全球第一、第二大除草剂^[1]。

草铵膦的水溶性很强,易转移到水生环境中^[2],并且在水中稳定,不易被生物降解。在土壤中,草甘膦主要被降解为氨甲基膦酸(aminomethylphosphonic acid, AMPA),草铵膦可以被降解为 3-(甲基膦基)丙酸(3-methylphosphinico-propionic acid, MPP)和 2-(甲基膦基)乙酸(2-methylphosphinico-acetic acid, MPA)^[3]。草甘膦和草铵膦在施用于耐除草剂作物时,分别会产生 *N*-乙酰基-草甘膦、*N*-乙酰基-AMPA 和 *N*-乙酰草铵膦(NAG)等代谢物^[4]。根据 EFSA (European Food Safety Authority) 报告, MPP 为高流动性, MPA 为高至中等流动性,并且 MPP 有污染脆弱地区地下水的风险。MPP 和 MPA 在土壤中具有低到中等持久性。耐除草剂植物的代谢物 NAG 在土壤中的持久性很低,但是,如果种植后大部分作物留在田间,其对环境的影响就不可估计^[5-6]。受作物种植结构调整,尤其是耐除草剂作物的大面积推广的影响,草甘膦和草铵膦等除草剂的使用量会大幅度增长,其对环境的风险问题理应受到关注。

目前,关于草甘膦的研究主要集中在母体及其代谢物 AMPA,草铵膦的研究主要集中于母体和代谢产物 MPP^[7-11],对其他代谢物的分析方法研究较少。草甘膦、草铵膦类农药缺乏紫外生色基团,且含有磷酸基和氨基酸基两性基团,具有极性大、水溶性大的特性^[12],并且农药在环境介质中残留属于痕量水平,普通的气相和液相色谱分析方法很难满足分析要求,因此监测和分析这类除草剂的使用影响仍然是一项挑战。文献和标准中草甘膦、草铵膦及其代谢物的前处理方法多采用衍生化法,但衍生化法复杂且耗时费力。近年来,孙文闪等^[9-10]建立了生活饮用水和土壤中的草铵膦、草甘膦和草甘膦代谢物氨甲基膦酸的检测方法,但是缺乏对草铵膦主要代谢物的检测。平华等^[11]建立的土壤草甘膦、草铵膦及其代谢物的检测方法,定量限高且缺少对草铵膦代谢物 MPA、NAG 等的检测。目前关于水土中草甘膦、草铵膦和它们的代谢物等 8 种化合物同时测定的方法尚未见报道,本文拟利用超高效液相色谱-串联质谱结合固相萃取净化建立对上述化合物的分析方法,为研究其在水土环境的归趋行为提供可靠的技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

草甘膦标准品(纯度 99.40%),国家农药质量监督检验中心(沈阳);草甘膦代谢物 *N*-乙酰基-草甘膦标准品(纯度 99.30%)、草甘膦代谢物 AMPA 标准品(纯度 98.00%)、草甘膦代谢物 *N*-乙酰基-AMPA 标准品(纯度 96.70%)均来自天津阿尔塔科技有限公司;草铵膦标准品(纯度 98.84%),上海叶源生物科技有限公司;草铵膦代谢物 3-MPPA 标准品(纯度 99.9%),First Standard 天津阿尔塔科技有限公司;草铵膦代谢物 MPA 标准品(纯度 97.0%),加拿大 TLC 医药化工有限公司;草铵膦代谢物 NAG 标准品(纯度 92.6%),北京曼哈格生物科技有限公司。

甲醇(色谱纯),默克股份两合公司;甲酸($\geq 98\%$,色谱纯),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;Waters Oasis MAX 固相萃取柱(6 mL, 500 mg),Waters Oasis MCX 固相萃取柱(6 mL, 500 mg);纯净水,杭州娃哈哈集团有限公司。

1.2 仪器设备

超高效液相色谱仪质谱联用仪(SCIEX QTRAP 4500, SCIEX 公司);0.000 01 g 电子天平[BT25S, 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];0.01 g 电子天平(JY6002, 上海衡平仪器仪表厂);旋转蒸发仪(RV10, 德国 IKA);恒温振荡培养箱(HZQ-X100 型, 太仓豪诚实验仪器制造有限公司);高速离心机(75007211, 美国 Thermo)。

1.3 分析检测方法

1.3.1 仪器方法

色谱条件:色谱柱为 Metrosep A Supp 5 色谱柱(4.0 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m);柱温箱温度为 40℃;进样体积为 50 μ L;流动相为 200 mmol/L 碳酸氢铵含 0.1% 氨水的水溶液(A)和超纯水(B);流速 0.600 mL/min;洗脱梯度为:0 $\rightarrow$ 0.5 min, 10% A;0.5 $\rightarrow$ 1.0 min, 10% A $\rightarrow$ 40% A;1.0 $\rightarrow$ 4.0 min, 40% A $\rightarrow$ 80% A;4.0 $\rightarrow$ 5.0 min, 80% A $\rightarrow$ 82.5% A;5.0 $\rightarrow$ 6.0 min, 82.5% A $\rightarrow$ 95% A;6.0 $\rightarrow$ 7.0 min, 95% A;7.0 $\rightarrow$ 7.1 min, 95% A $\rightarrow$ 10% A;7.1 $\rightarrow$ 10.0 min, 10% A。

质谱条件:电离方式为电喷雾电离(ESI),负离子;离子源喷针电压为-4 500 V;离子源温度为

600℃;气帘气 35 L/min;离子源气 1 为 55 L/min;离子源气 2 为 45 L/min。质谱信息见表 1。

表 1 草甘膦、草铵膦及其代谢物的质谱条件¹⁾

Table 1 Mass spectrometric parameters of glyphosate, glufosinate-ammonium and their metabolites

化合物 Compound	保留时间/min Retention time	母离子 <i>m/z</i> Parent ion	子离子 <i>m/z</i> Daughter ion	去簇电压/V Declustering potential	碰撞电压/V Collision energy
草甘膦 glyphosate	4.09	167.9	62.9*,78.9	—30	—33,—53
<i>N</i> -乙酰基-草甘膦 <i>N</i> -acetyl-GLY	5.40	210.0	63.0,150.0*	—35	—40,—17
氨甲基膦酸 AMPA	3.18	109.8	63.0,79.0*	—49	—23,—37
<i>N</i> -乙酰基-氨甲基膦酸 <i>N</i> -acetyl-AMPA	4.11	152.0	63.0,110.0*	—35	—40,—20
草铵膦 glufosinate-ammonium	3.39	179.9	62.9*,84.9	—45	—59,—26
<i>N</i> -乙酰基-草铵膦 NAG	4.25	222.0	63.0,136.0*	—35	—61,—29
2-(甲基膦基)乙酸 MPA	4.31	136.9	78.1,92.9*	—46	—18,—29
3-(甲基膦基)丙酸 MPP	4.34	151.0	63.0*,133.0	—35	—47,—17

1) * 为定量离子。
* meant quantification ion pair.

1.3.2 前处理方法

取 300 mL 纯净水于 500 mL 玻璃瓶中,全部载入 MAX SPE 小柱,并用 10 mL 纯净水冲洗玻璃瓶,弃去滤液,用 5 mL 甲醇淋洗 SPE 小柱,弃去淋洗液;再用 15 mL 2%甲酸甲醇-水(体积比为 1:1)洗脱 SPE 小柱,收集洗脱液并将其 45℃ 旋转蒸发至干,1 mL 0.1%氨水定容,0.22 μm 滤膜过滤,待测。

取 40 g(精确至 0.01 g)土样于 250 mL 三角瓶中,加入 80 mL 纯净水,在恒温振荡器上振荡 60 min 后,转移至 100 mL 离心管中;置于台式高速离心机以 4 000 r/min 速度离心 5 min,取上清液 60 mL,全部载入 SPE 小柱(MCX 串联 MAX),弃去滤液后用 5 mL 甲醇淋洗 MAX SPE 小柱,弃去淋洗液;再用 15 mL 2%甲酸甲醇-水(体积比为 1:1)洗脱 SPE 小柱,收集洗脱液并将其 45℃ 旋转蒸发至干,1 mL 0.1%氨水定容,0.22 μm 滤膜过滤,待测。

1.3.3 标准曲线配制及标准曲线绘制

准确称取各标准品,并用超纯水定容,配制成质量浓度为 100 mg/L 的标准储备液。然后分别取 1 mL 上述标准储备液用超纯水定容至 10 mL 容量瓶中,配制成浓度为 10 mg/L 的草甘膦、草铵膦及其代谢物的混合标准溶液。

溶剂标准曲线:取 10 mg/L 草甘膦、草铵膦及其代谢物的混合标准溶液,用超纯水或水土基质空白提取液稀释为 0.5、0.3、0.1、0.05、0.03、0.02 mg/L 的系列标准溶液,按 1.3.1 条件进行测定。分别以草甘膦、草铵膦及其代谢物的质量浓度(mg/L)为横坐标、相应的峰面积(μVs)为纵坐标作图,绘制标准曲线。

1.3.4 基质效应

基质往往会产生基质增强或抑制的效应,从而 影响分析结果的精密度和准确性。此外,基质效应 可受不同类型的基质、农药和各种样品处理程序的 影响^[13]。按照浓度相同的基质标准溶液和溶剂标 准溶液的峰面积比值的方法对目标农药及其代谢产 物在水土中的基质效应进行评价。

1.3.5 添加回收试验

在供试纯净水和土壤中进行加标回收试验,纯 净水中草甘膦、草铵膦及其代谢物添加水平分别为 0.000 1 mg/L 和 0.001 mg/L,土壤中添加水平分 别为 0.001 mg/kg 和 0.01 mg/kg,每个浓度水平各 设 5 个重复,同时设不加药的空白对照,按上述仪器 条件和样品前处理方法进行分析检测,计算添加回 收率及相对标准偏差(RSD)。

2 结果与分析

2.1 线性范围、定量限

纯净水和土壤中草药甘膦、草铵膦及其代谢物的 线性结果见表 2,相关系数均大于 0.990。结果表 明,草甘膦、草铵膦及其代谢物在 0.02~0.5 mg/L 区间内,线性关系良好。方法的定量限低、灵敏 度高。

2.2 基质效应评价

纯净水和土壤中草药甘膦、草铵膦及其代谢物的 基质效应结果如表 2 所示,水中的基质效应为 2.4%~8.4%;土壤中的基质效应为 5.7%~ 42.0%。综合考虑,本试验使用基质标准溶液进行 定量分析,以减少基质效应的影响。

表 2 水土中草甘膦、草铵膦及其代谢物的线性相关性、基质效应和定量限

Table 2 Linear equation, matrix effects, LOQ for glyphosate, glufosinate-ammonium and their metabolites in water and soil						
基质 Matrix	化合物 Compound	线性方程 Regression equation		相关系数(R^2) Coefficient of determination	基质效应/% Matrix effect	定量限 LOQ
水 Water	草甘膦	$y = 516\,238.048\,7x + 8\,561.980\,3$		0.999 9	4.8	0.000 1 mg/L
	N-乙酰基-草甘膦	$y = 732\,867.088\,2x + 443.871\,6$		0.999 9	3.0	0.000 1 mg/L
	AMPA	$y = 740\,644.704\,7x + 545.559\,4$		0.999 6	2.4	0.000 1 mg/L
	N-乙酰基-AMPA	$y = 465\,934.413\,x + 3\,577.870\,0$		0.999 4	8.0	0.000 1 mg/L
	草铵膦	$y = 87\,201.237\,8x + 133.040\,1$		0.999 9	5.9	0.000 1 mg/L
	MPP	$y = 371\,958.032\,1x + 411.975\,2$		0.999 6	8.4	0.000 1 mg/L
	MPA	$y = 174\,044.023\,1x + 1\,212.965\,3$		0.999 7	7.1	0.000 1 mg/L
	NAG	$y = 154\,044.055\,6x + 5\,413.914\,6$		0.999 7	3.9	0.000 1 mg/L
土壤 Soil	草甘膦	$y = 646\,571.291\,5x + 9\,979.509\,5$		0.999 8	31.3	0.001 mg/kg
	N-乙酰基-草甘膦	$y = 926\,963.255\,1x + 8\,869.036\,3$		0.999 2	22.7	0.001 mg/kg
	AMPA	$y = 681\,123.022\,2x + 1\,875.486\,1$		0.999 6	5.8	0.001 mg/kg
	N-乙酰基-AMPA	$y = 293\,795.472\,1x + 1\,865.992\,3$		0.999 6	42.0	0.001 mg/kg
	草铵膦	$y = 64\,668.689\,7x + 1\,596.856\,4$		0.999 7	21.6	0.001 mg/kg
	MPP	$y = 305\,487.012\,6x + 554.756\,8$		0.999 9	9.8	0.001 mg/kg
	MPA	$y = 205\,237.531\,6x + 6\,328.821\,0$		0.999 5	12.4	0.001 mg/kg
	NAG	$y = 139\,740.237\,8x + 9\,232.815\,6$		0.999 5	5.7	0.001 mg/kg

2.3 准确度和精密度

准确度用回收率表示,精密度用相对标准偏差(RSD)表示。加标回收率试验结果见表 3。在纯净水和土壤中分别添加 2 个水平的 7 种物质的标准混合溶液,平行测定 5 次,以基质标为基准计算回收率。纯净水中添加水平为 0.000 1 mg/L 和

0.001 mg/L 时,草甘膦、草铵膦及其代谢物的回收率为 72.8%~94.2%,RSD 为 2.3%~16.1%;土壤中添加水平为 0.001 mg/kg 和 0.01 mg/kg 时,草甘膦、草铵膦及其代谢物的回收率为 70.6%~88.5%,RSD 为 3.6%~12.8%。表明该方法准确度好,精密度高。

表 3 水土中草甘膦、草铵膦及其代谢物的平均回收率和相对标准偏差

Table 3 Average recoveries and relative standard deviations for glyphosate, glufosinate-ammonium and their metabolites in water and soil

化合物 Compound	添加水平/ (mg/L) Spiked level	水 Water		添加水平/ (mg/kg) Spiked level	土壤 Soil			
					潮土 Alluvial soil		黑土 Black soil	
		平均回收率/% Average recovery rate	相对标准 偏差/% RSD		平均回收率/% Average recovery rate	相对标准 偏差/% RSD	平均回收率/% Average recovery rate	相对标准 偏差/% RSD
草甘膦 glyphosate	0.000 1	80.2	4.2	0.001	72.1	8.6	73.2	9.5
	0.001	81.5	2.3	0.01	79.6	3.7	81.5	8.9
N-乙酰基-草甘膦 N-acetyl-GLY	0.000 1	72.8	3.8	0.001	75.6	10.3	76.2	7.5
	0.001	89.2	7.5	0.01	82.3	7.5	86.5	6.8
氨基甲膦酸 AMPA	0.000 1	78.7	7.7	0.001	73.8	8.3	71.3	12.5
	0.001	85.8	7.6	0.01	80.7	4.9	83.0	6.8
N-乙酰基-氨基甲膦酸 N-acetyl-AMPA	0.000 1	79.1	3.8	0.001	77.3	11.3	76.9	10.1
	0.001	86.4	8.6	0.01	81.9	5.8	88.5	4.5
草铵膦 glufosinate-ammonium	0.000 1	92.3	11.7	0.001	71.5	12.8	74.5	11.5
	0.001	90.0	12.4	0.01	82.9	4.8	83.2	3.6
N-乙酰基-草铵膦 NAG	0.000 1	92.3	16.1	0.001	74.8	8.2	75.5	8.9
	0.001	94.2	11.4	0.01	80.0	8.4	85.6	4.5
2-(甲基膦基)乙酸 MPA	0.000 1	83.2	14.3	0.001	75.2	10.7	72.2	12.4
	0.001	85.6	10.2	0.01	77.9	7.3	79.8	8.9
3-(甲基膦基)丙酸 MPP	0.000 1	81.2	15.9	0.001	73.8	3.7	70.6	9.5
	0.001	87.9	11.2	0.01	78.2	4.9	82.0	9.2

3 结论与讨论

本研究利用超高效液相色谱-串联质谱仪,结合固相萃取净化,参照 NY/T 3151-2017《农药登记 土壤和水中化学农药分析方法建立和验证指南》^[14],建立了在水和土壤中快速同时检测草甘膦、草铵膦及其代谢物共 8 种化合物的检测方法。该方法的灵敏度、准确度和精密度、再现性等均满足农药残留分析要求。草甘膦、草铵膦及其代谢物在水中的平均回收率为 72.8%~94.2%,相对标准偏差为 2.3%~16.1%;草甘膦、草铵膦及其代谢物在土壤中的平均回收率为 70.6%~88.5%,相对标准偏差为 3.6%~12.8%。草甘膦、草铵膦及其代谢物在水中的定量限均为 0.000 1 mg/L,在土壤中的定量限均为 0.001 mg/kg。与已建立的方法相比,该方法首次将草铵膦代谢物 MPA、NAG 和草甘膦代谢物 *N*-乙酰基-草甘膦、*N*-乙酰基-AMPA 等纳入监测,为草甘膦和草铵膦在环境中的安全风险评估提供了技术方法和数据支持。

参考文献

- [1] 杨益军,张波. 2021 年全球氨基酸类除草剂发展概况和趋势综述[J]. 世界农药, 2021, 43(4): 19-34.
- [2] MOON J M, CHUN B J. Serial ammonia measurement in patients poisoned with glufosinate ammonium herbicide [J]. Human & Experimental Toxicology, 2016, 35(5): 554-561.
- [3] ZHANG Yun, WANG Kai, WU Junxue, et al. Field dissipation and storage stability of glufosinate ammonium and its metabolites in soil [J/OL]. International Journal of Analytical Chemistry, 2014; 256091. DOI: 10.1155/2014/256091.
- [4] 王琳权,王宽,李如男,等. 我国转基因耐除草剂作物现状及目标除草剂登记管理要求[J]. 现代农药, 2022, 21(3):

6-10.

- [5] AUTHORITY E F S. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glufosinate [J]. EFSA Journal, 2005, 27:1-81.
- [6] AUTHORITY E F S. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glyphosate [J/OL]. EFSA Journal, 2015, 13(11): 4302. DOI: 10.2903/j.efsa.2015.4302.
- [7] 张月,吕岱竹,韩丙军,等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定咖啡鲜果中草铵膦及其代谢产物残留[J]. 农药学报, 2014, 16(6): 734-739.
- [8] WANG Kuan, GENG Yue, DONG Zhe, et al. Simultaneous determination of glyphosate, glufosinate ammonium and their metabolites in maize and soybean by ultra-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. Analytical Methods, 2022, 14(39): 3850-3858.
- [9] 孙文闪,周婷婷,诸骏杰,等. 超高效液相色谱串联质谱法快速测定生活饮用水中草铵膦、草甘膦及其代谢物氨甲基膦酸残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(6): 1722-1727.
- [10] 孙文闪,诸骏杰,钟寒辉,等. 固相萃取净化-超高效液相色谱-三重四极杆质谱法测定土壤中草铵膦、草甘膦及其代谢物氨甲基膦酸[J]. 理化检验(化学分册), 2021, 57(4): 322-326.
- [11] 平华,赵芳,李成,等. 高效液相色谱-串联质谱法快速同时测定土壤中草甘膦、草铵膦及其代谢物[J]. 色谱, 2022, 40(3): 273-280.
- [12] DELMA D L, MICHLIG N, GAGGIOTTI M, et al. Determination of glyphosate, AMPA and glufosinate in dairy farm water from Argentina using a simplified UHPLC-MS/MS method [J]. Science of the Total Environment, 2018, 645: 34-43.
- [13] 靳雅楠,魏昭,贾红霞,等. 农药残留检测中基质效应的研究[J]. 食品安全导刊, 2022(28): 172-174.
- [14] 中华人民共和国农业部. 农药登记 土壤和水中化学农药分析方法建立和验证指南[S]. 北京: 中国农业出版社, 2017.

(责任编辑:田 喆)

(上接 227 页)

- [21] KOGEJ Z, DERMASTIA M, MEHLE N. Development and validation of a new *TaqMan* real-time PCR for detection of 'Candidatus Phytoplasma pruni' [J/OL]. Pathogens (Basel, Switzerland), 2020, 9(8): 642. DOI: 10.3390/pathogens9080642.
- [22] FRANÇOIS C, CASTAGNONE C, BOONHAM N, et al. Satellite DNA as a target for *TaqMan* real-time PCR detection

of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* [J]. Molecular Plant Pathology, 2007, 8(6): 803-809.

- [23] 明艳林,郑金龙,郑国华,等. 兰花抗病毒基因工程研究进展(综述)[J]. 亚热带植物科学, 2010, 39(1): 92-96.
- [24] 宋海超,张勇,邢波,等. 热带兰花 2 种病毒的 ELISA 检测[J]. 热带生物学报, 2011, 2(2): 148-152.

(责任编辑:田 喆)