

浓硫酸纯化-气相色谱法测定土壤中拟除虫菊酯农药残留

吴萍, 施海燕, 韩志华, 王鸣华*

(南京农业大学植物保护学院, 南京 210095)

摘要: 建立了土壤中拟除虫菊酯类农药新的前处理方法。样品以乙腈提取, 浓硫酸-乙醇进行纯化, 毛细管柱气相色谱法测定土壤中的拟除虫菊酯农药。结果表明: 4 种菊酯在 3 种土壤样品中的添加回收率在 84.14%~105.51% 之间, 变异系数为 1.24%~5.82%。该方法具有省时、省溶剂、操作简单、纯化效果好、实用性强的特点。

关键词: 拟除虫菊酯; 残留分析; 土壤; 纯化

中图分类号: X131.3

拟除虫菊酯类杀虫剂是目前最重要的杀虫剂之一, 我国自上世纪 80 年代以来一直用于农业和林业生产。这类农药的迅速发展和广泛使用在农作物及果品虫害防治、提高产量方面发挥了重要作用, 同时也给产品的质量和环境安全带来了一定的影响。拟除虫菊酯类农药的毒性一般较大, 有一定蓄积性, 有些品种有致癌、致畸、致突变作用, 其主要中毒症状表现为神经系统症状及皮肤症状。因此加强对环境中农药残留分析, 尤其是对土壤中这类农药的监测和研究是非常必要的^[1]。

土壤由于自身成分复杂, 以及其他农药组分的残留, 使得拟除虫菊酯类农药的提取、分离、净化与富集的难度加大, 并且分析测定中试剂的消耗量大, 提取、净化过程较为繁琐^[2-3]。目前菊酯类农药残留分析方法主要有气相色谱法 (GC)、高效液相色谱法 (HPLC)、酶联免疫色谱法, 其中以气相色谱法最为常用^[4-5]。土壤中菊酯类样品前处理方法千差万别, 其溶剂系统有丙酮-己烷、丙酮-石油醚、乙腈-己烷、乙腈-石油醚等; 净化手段除个别应用超临界流体、凝胶渗透色谱法净化样品外, 大多用吸附柱层析法。常用的吸附剂有佛罗里硅土、氧化铝(中性、酸性、碱性)、硅胶、活性炭和硅藻土等^[6]。柱层析法的优点是净化较完全, 适合大多数样品中菊酯类农药的残留分析; 缺点是试剂消耗量大, 手续繁琐费时, 对装柱技术要求高。其中个别方法是微型层析柱净化, 试剂用量少, 操作相对简单, 但测定的品种仅涉及两三种拟除虫菊

酯, 分析成本相对较高^[7-9]。本研究参考有关文献, 应用浓硫酸纯化技术分析土壤中拟除虫菊酯农药残留^[10-12], 大大节约了溶剂, 节省了时间, 方法实用性强, 适用性广, 并能满足农药残留分析要求。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

1.1.1 仪器 Aglient-6890N 气相色谱仪(带 ECD 检测器, 美国安捷伦有限公司); HY-5 型回旋式振荡器 (江苏省金坛市荣华仪器有限公司); EYELA N-1001D 旋转蒸发仪 (上海爱朗仪器有限公司); N-EVAP111 氮吹仪 (美国 Organomation 公司); KQ-3200 超声波清洗器 (宁波江南仪器厂); BS110S 电子天平 (北京塞多利斯天平有限公司)。

1.1.2 试剂 乙腈 (天津市科密欧化学试剂有限公司)、正己烷 (上海化学试剂有限公司)、95% 无水乙醇 (南京化学试剂有限公司)、浓硫酸 (南京化学试剂有限公司)、氯化钠 (广东汕头市西陇化工厂, 140 °C 烘 4 h) 均为分析纯; 实验室用水均为蒸馏水。

甲氰菊酯、联苯菊酯、功夫菊酯、溴氰菊酯、高效氯氰菊酯、氰戊菊酯标准品均购于美国 Sigma-Aldrich 公司, 纯度 >98 %。

1.1.3 供试土壤样品 选择江西红壤、河南二合土与南京黄棕壤 3 种土壤作为供试土壤, 土壤风干后, 除去动植物残体、碎石, 研碎, 过 60 目筛, 储存于棕色瓶中备用。土壤基本理化性质见表 1。

* 通讯作者 (wangmha@njau.edu.cn)

作者简介: 吴萍 (1981—), 女, 安徽人, 硕士研究生, 主要从事农药残留检测研究。E-mail: wuping_-1116@163.com

表1 供试土壤基本理化性质
Table 1 Basic properties of studied soil

| 供试土壤 | 有机质 (g/kg) | pH ^[13] | 阳离子交换量 (cmol/kg) | 黏粒含量 <0.01 mm (g/kg) | 质地 |
|-------|------------|--------------------|------------------|----------------------|-----|
| 江西红壤 | 9.94 | 5.29 | 10.60 | 356.1 | 黏壤土 |
| 河南二合土 | 16.91 | 9.17 | 8.46 | 139.2 | 粉壤土 |
| 南京黄棕壤 | 28.73 | 7.52 | 29.84 | 480.0 | 黏壤土 |

1.2 分析方法

1.2.1 提取 称取土壤样品 20.00 g 放入具塞三角瓶中, 加入 50 ml 乙腈、8 ml 蒸馏水, 机械振荡 1 h。抽滤至盛有 5 g NaCl 的 100 ml 具塞量筒中, 盖上塞子, 剧烈振荡 1 min。在室温下静置 10 min, 让乙腈相和水相分层。准确吸取 10 ml 乙腈相溶液放入 10 ml 刻度具塞试管中, 用高纯氮气吹脱溶剂, 用 3 ml 正己烷溶解。

1.2.2 净化 在上述正己烷溶液中加入 2 ml 乙醇, 1 ml 浓硫酸, 振摇, 静置分层, 上层 (正己烷相) 吸入 10 ml 刻度具塞试管中, 下层 (酸相) 再用 3 ml 正己烷萃取 1 次, 萃取液合并后用高纯氮气吹脱溶剂, 正己烷定容至 3 ml, 待测。

1.3 色谱条件

气相色谱仪 Agilent-6890N 型 (ECD 检测器): 色谱柱: HP-5 (30 m × 320 μm × 0.25 μm)。采用程序升温: 初始 70℃, 保持 0 min, 30℃/min 速率升

至 270℃, 保持 14 min。进样口温度 250℃, 检测器温度为 280℃。载气为氮气, 流量为 1 ml/min; 尾吹为氮气, 流量为 40 ml/min。恒流模式, 不分流进样, 进样量 1 μl。6 种拟除虫菊酯类农药混合标样的气相色谱图见图 1。

2 结果与分析

2.1 标准曲线

准确称取 6 种拟除虫菊酯标样 (精确至 0.0001 g) 配制混合标准储备液。将上述农药混合标准储备液逐级稀释为 5 个浓度梯度: 0.01、0.05、0.1、0.5、1 mg/L, 进样 1 μl, 测定峰面积, 绘制标准曲线并计算回归方程, 结果见表 2。其中 y 为峰面积, x 为农药含量 (ng)。可见, 6 种拟除虫菊酯在 0.01 ~ 1 mg/L 范围内, 含量与色谱峰面积呈显著的线性关系, 可满足定量分析的需要^[14]。

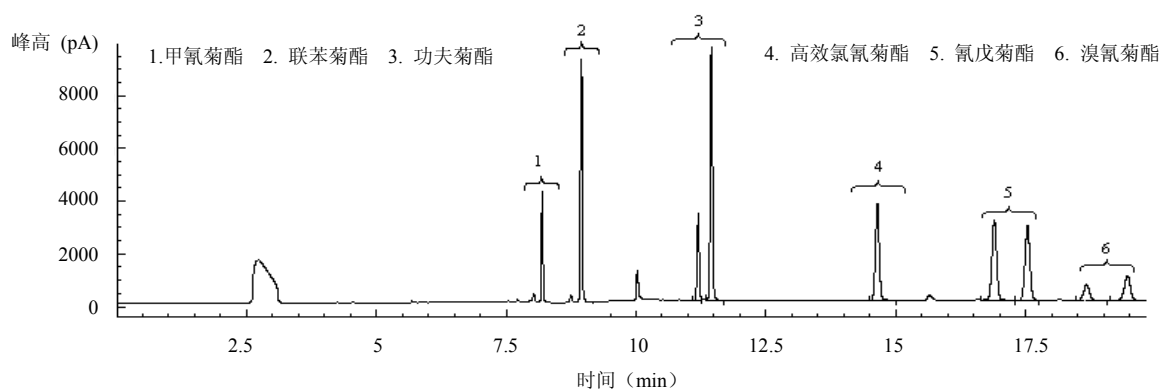


图1 6种拟除虫菊酯分析气相色谱图

Fig. 1 Chromatograms of six pyrethroid pesticides

表2 6种拟除虫菊酯的回归方程

Table 2 Regression equations, linear ranges and detection limits of detection of six pyrethroid pesticides

| 农药 | 保留时间 (min) | 线性方程 | 相关系数 r | 最小检出量 (ng) |
|--------|----------------|---------------------------|----------|----------------------|
| 甲氧菊酯 | 8.416, 8.687 | $y = 699.45x - 2.9315$ | 0.9990 | 5.0×10^{-6} |
| 联苯菊酯 | 9.234, 9.479 | $y = 44\ 580x - 1117.5$ | 0.9999 | 3.0×10^{-6} |
| 功夫菊酯 | 11.178, 11.432 | $y = 92\ 081x - 925.58$ | 0.9996 | 3.0×10^{-6} |
| 氰戊菊酯 | 16.871, 17.508 | $y = 92\ 295x - 1\ 211.1$ | 0.9995 | 4.0×10^{-6} |
| 高效氯氰菊酯 | 14.634 | $y = 31\ 498x + 924.92$ | 0.9994 | 5.0×10^{-6} |
| 溴氰菊酯 | 18.649, 19.427 | $y = 34\ 747x - 611.5$ | 0.9990 | 1.0×10^{-5} |

2.2 浓硫酸-乙醇纯化技术

2.2.1 浓硫酸-乙醇纯化技术中乙醇加入量对菊酯回收率的影响 在一系列装有 3 ml 0.5 mg/L 菊酯混标正己烷溶液的刻度试管中, 分别加入 0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml 乙醇, 再各加入 1 ml 浓硫酸进行处理, 结果如图 2 所示。可见, 当未加入乙醇时, 功夫菊酯、溴氰菊酯、高效氯氰菊酯和氰戊菊酯的回收率接近 0, 乙醇量为 2 ml 时, 回收率最高(近 100%), 乙醇量再增大时, 一方面回收率下降, 另一方面正己烷层杂质明显增多, 色谱干扰峰增强。然而, 对于甲氰菊酯和联苯菊酯在加入 1~5 ml 乙醇时, 回收率均较低。

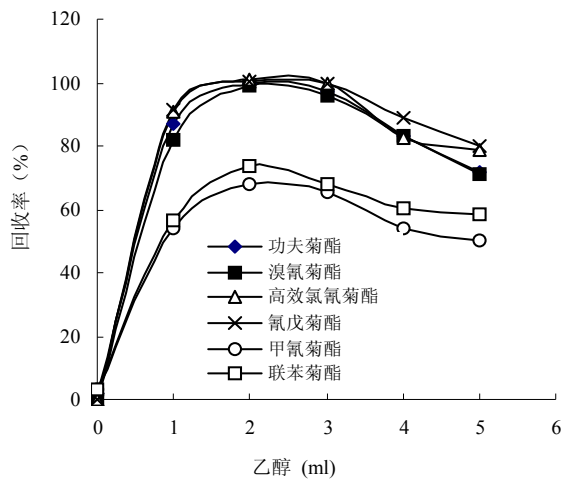


图 2 乙醇添加量与回收率的关系

Fig. 2 Relation between recovery of pyrethroid pesticides and adds of ethanol

2.2.2 浓硫酸纯化效果 图 3 为南京黄棕壤、江西红壤、河南二合土空白及添加 0.05 mg/kg 的菊酯混合标样的色谱图。从图 3 可见, 在 3 种土壤中功夫菊酯、高效氯氰菊酯、氰戊菊酯、氰戊菊酯标样出峰的位置上均不存在干扰峰。因此, 采用浓硫酸对样品进行净化能够有效去除样品中的干扰物, 减少和排除其他杂质对土壤中菊酯类农药残留量测定的影响。

2.3 浓硫酸纯化机理

浓硫酸对样品具有很强的水解作用和一定的氧化作用, 在不加入乙醇的情况下加入 1 ml 浓硫酸, 6 种拟除虫菊酯的回收率均为 0, 而当加入 2 ml 乙醇后, 其中 4 种拟除虫菊酯的回收率接近 100%。其机理可能是: 当拟除虫菊酯-正己烷-浓硫酸-乙醇组成混合体系时, 乙醇与 H^+ 结合而溶入浓硫酸形成具有一定极性的硫酸-乙醇相, 亲脂性较高的 4 种菊酯迅速进入非极性的正己烷相, 而大部分杂质被浓硫酸氧化或脱水后,

因极性增加而进入浓硫酸-乙醇相, 还有一部分稳定性较高的杂质根据各自的分配特性分布于两者之间。

2.4 方法的准确度、精密度及适用性

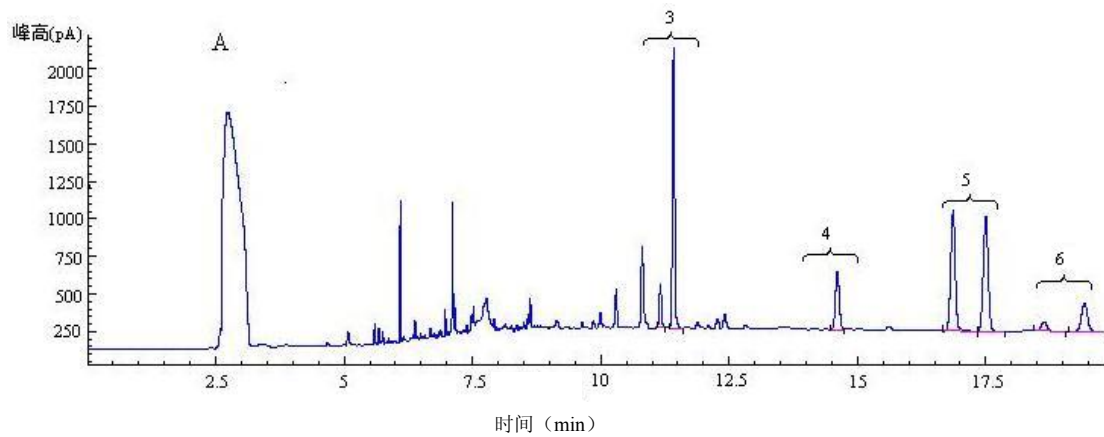
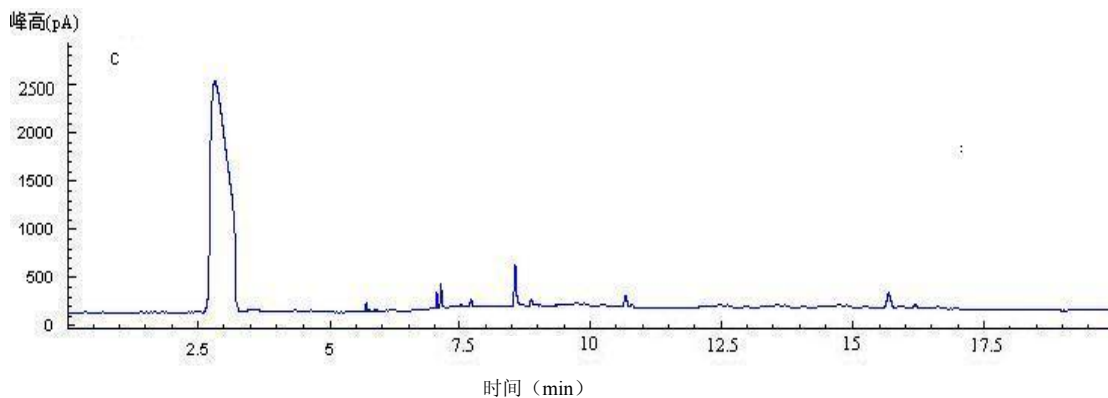
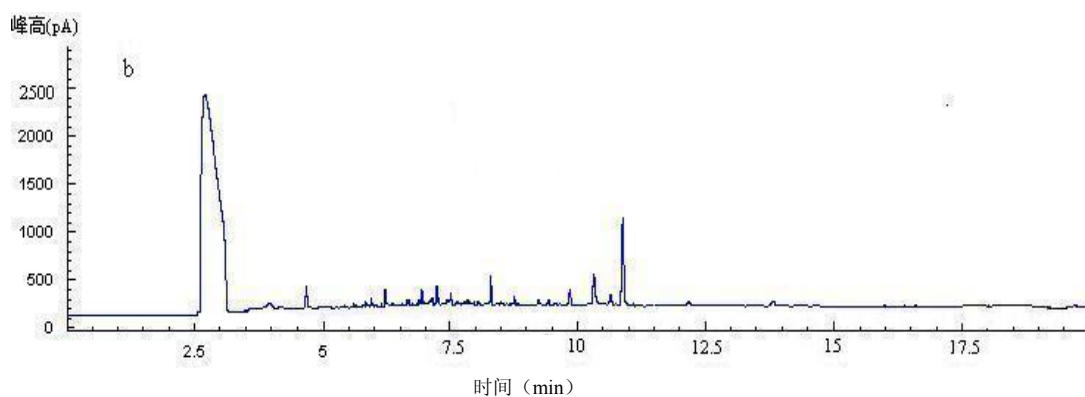
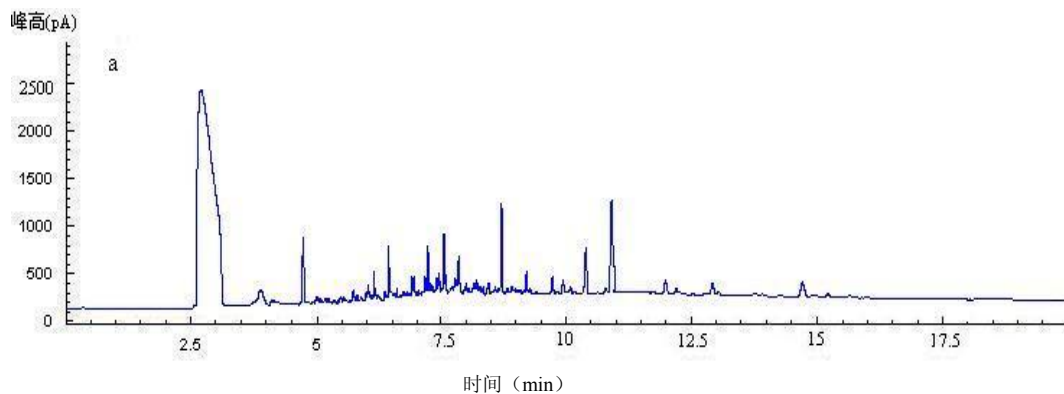
本实验选择 3 种理化性质不同的土壤做添加回收率实验, 分别在南京黄棕壤、江西红壤、河南二合土中添加 0.05 mg/kg 和 1 mg/kg 的菊酯混合标样, 每浓度设 5 个重复, 不加标准溶液的空白样品为对照, 按上述分析方法提取、检测。添加回收率结果见表 3。从表 3 可以看出, 4 种菊酯在 3 种土壤样品中的添加回收率在 84.14%~105.51% 之间, 变异系数最大为 5.82%。因此, 该方法适用于不同理化性质的土壤中拟除虫菊酯类农药的纯化, 其土壤性质对菊酯类农药的添加回收率及精确度影响不大, 该方法的准确度和精确度均符合农药残留分析的要求^[15]。

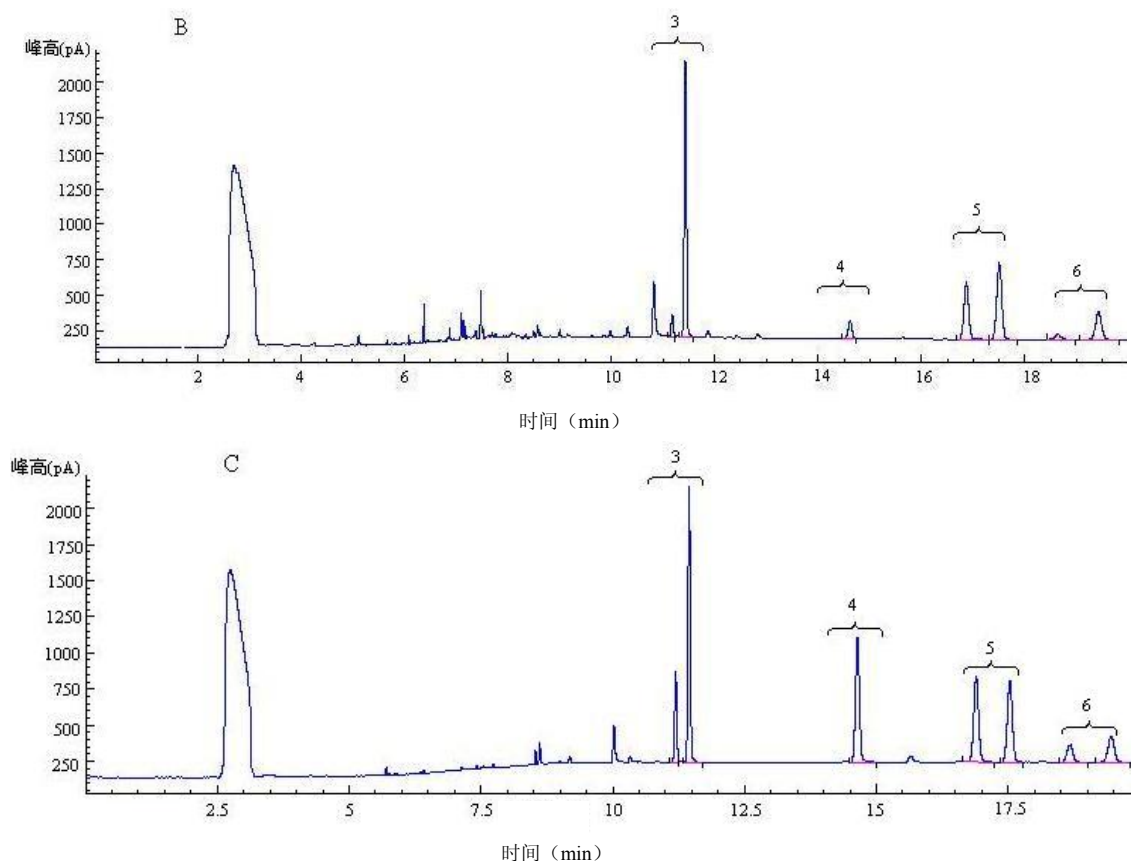
4 讨论与结论

本方法提出以乙腈为溶剂, 对土壤进行机械振荡提取, 然后以浓硫酸-乙醇进行样品纯化, 毛细管气相色谱法测定土壤中的拟除虫菊酯农药。实验结果表明: 4 种菊酯在 3 种土壤样品中的添加回收率在 84.14%~105.51% 之间, 变异系数为 1.24%~5.82%, 该方法的准确度和精确度均符合农药残留分析的要求。对一个样品而言, 整个过程所用溶剂 70 ml 左右, 远远少于传统方法——柱层析法所用溶剂, 这样也节约了测定费用; 同时该方法无需装柱, 节省时间, 实用性强, 适用性广, 测定结果准确可靠, 回收率高, 重现性好, 灵敏度高, 可同时进行土壤中多种拟除虫菊酯农药残留的快速分析, 具有良好的应用前景, 也有助于评价与监测土壤中拟除虫菊酯类农药残留状况, 为合理而有效地使用此类农药提供依据。

(1) 本纯化法以前用于有机氯农药的土壤残留分析, 也曾用于除草剂果尔(乙氧氟草醚, 通用名 oxyfluorfen) 土壤残留分析, 都取得较佳的效果。预计对于那些具有较低水溶性、相对稳定的农药均可用此方法进行试验, 判断其纯化效果。

(2) 对于浓硫酸纯化土样的机理还有待进一步探索。本实验选择 6 种菊酯农药进行研究, 结果发现功夫菊酯、高效氯氰菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯在用 2 ml 乙醇、1 ml 浓硫酸净化回收率均能达标且净化效果好; 而甲氰菊酯和联苯菊酯在加入 1~5 ml 乙醇、1 ml 浓硫酸时, 回收率均低于农残标准。造成这种结果的原因可能是甲氰菊酯和联苯菊酯的结构与其他 4 种菊酯存在某些差异, 在加入浓硫酸时导致提取效率降低, 对此机理有待进一步研究。





a.南京黄棕壤空白; b.江西红壤空白; c.河南二合土空白; A.南京黄棕壤添加农药; B.江西红壤添加农药;
C.河南二合土添加农药; 3. 功夫菊酯; 4. 高效氯氰菊酯; 5. 氰戊菊酯; 6. 溴氰菊酯

图 3 3 种土壤中菊酯类农药的气相色谱图

Fig. 3 Chromatograms of three pyrethroid pesticides in soils analyzed by GC

表 3 4 种拟除虫菊酯的添加回收率 (n = 5)

Table 3 Recovery of analytical method for four pyrethroid pesticides

| 农药 | 土壤类型 | 添加浓度 (mg/kg) | 回收率(%) | | | | | 平均回收 率 (%) | 变异系数 (%) |
|--------|-------|-----------------|--------|--------|--------|--------|--------|---------------|-------------|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 功夫菊酯 | 南京黄棕壤 | 0.05 | 98.78 | 102.97 | 97.23 | 96.99 | 104.50 | 100.09 | 3.43 |
| | | 1.00 | 105.51 | 101.39 | 99.89 | 100.59 | 103.76 | 102.23 | 2.34 |
| | 江西红壤 | 0.05 | 99.20 | 94.25 | 90.89 | 101.29 | 88.96 | 94.92 | 5.27 |
| | | 1.00 | 99.28 | 96.17 | 101.23 | 98.87 | 100.74 | 99.26 | 1.98 |
| 氰戊菊酯 | 南京黄棕壤 | 0.05 | 89.75 | 96.77 | 93.06 | 95.03 | 84.14 | 91.75 | 4.99 |
| | | 1.00 | 96.78 | 99.82 | 98.93 | 101.25 | 103.53 | 100.06 | 2.53 |
| | 江西红壤 | 0.05 | 91.14 | 94.22 | 97.89 | 86.58 | 90.87 | 92.14 | 4.21 |
| | | 1.00 | 98.82 | 97.54 | 97.88 | 98.99 | 100.65 | 98.78 | 1.24 |
| 高效氯氰菊酯 | 南京黄棕壤 | 0.05 | 90.63 | 94.22 | 100.49 | 101.83 | 96.78 | 96.79 | 4.57 |
| | | 1.00 | 100.12 | 97.89 | 101.34 | 99.23 | 103.56 | 100.43 | 2.16 |
| | 河南二合土 | 0.05 | 95.91 | 92.43 | 95.19 | 99.44 | 100.67 | 96.73 | 3.33 |
| | | 1.00 | 102.52 | 98.05 | 99.55 | 101.34 | 95.67 | 99.43 | 2.70 |
| 溴氰菊酯 | 南京黄棕壤 | 0.05 | 100.41 | 97.57 | 99.68 | 92.21 | 97.98 | 97.57 | 3.22 |
| | | 1.00 | 96.43 | 98.67 | 103.33 | 100.78 | 100.28 | 99.90 | 2.56 |
| | 江西红壤 | 0.05 | 86.45 | 89.65 | 87.98 | 97.56 | 99.22 | 92.17 | 5.82 |
| | | 1.00 | 99.87 | 94.32 | 95.98 | 97.41 | 92.34 | 95.98 | 2.88 |
| 河南二合土 | 0.05 | 88.46 | 93.37 | 92.80 | 87.17 | 98.07 | 91.97 | 4.34 | |
| | 1.00 | 93.16 | 99.76 | 98.59 | 99.89 | 101.11 | 98.50 | 3.12 | |
| 溴氰菊酯 | 南京黄棕壤 | 0.05 | 92.04 | 93.07 | 89.53 | 95.67 | 93.13 | 92.69 | 2.22 |

参考文献:

- [1] 黄德智, 岳永德, 汤峰. 农药残留分析的研究进展. 安徽农业科学, 2002, 30(4): 523-526
- [2] Shen RY, Luo YM, Zhang GY, Teng Y, Li ZG, Wu LH. Contamination of PAHs in sludge samples from the Yangtze River Delta area. *Pedosphere*, 2007, 17(3): 373-382
- [3] Zhang XS, Liao H, Chen Q, Christie P, Li XL, Zhang FS. Response of tomato on calcareous soils to different seedbed phosphorus application rates. *Pedosphere*, 2007, 17(1): 70-76
- [4] Lopez TL, Garcia MDG, Vadal JLM, Zhao DS. Determination of pyrethroids in vegetables by HPLC using continuous online post-elution photoirradiation with fluorescence detection. *Anal. Chim. Acta*, 2001, 447: 101-111
- [5] Wengatz I, Stoutamire DW, Gee SJ, Katerina H. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of the pyrethroid insecticide fenprothrin. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, 46: 2 211-2 221
- [6] 陈莉, 章钢娅, 靳伟, 胡锋. 土壤中拟除虫菊酯类残留农药的气相色谱测定方法研究. 土壤学报, 2006, 43 (5): 764-771
- [7] 朱九生, 乔雄梧, 秦曙, 庞金梅, 李捷, 王静. 固相萃取净化气相色谱法快速测定土壤中的氯氰菊酯残留. 环境化学, 1997, 16(2): 116-118
- [8] 吕澳生, 祝孝撰, 张临夏. 食品中氯氰菊酯、氰戊菊酯和溴氰菊酯残留量测定方法(GB/T 14929. 4294). 北京: 国家质量技术监督局, 1994
- [9] 郭爱兰, 余向阳, 张存政, 祝树德, 刘贤进. 拟除虫菊酯类农药残留分析研究进展. 江苏农业学报, 2004, 20(2): 120-125
- [10] 吴建兰, 盛卫强. 毛细管气相色谱法分析土壤中有机氯农药. 环境与开发, 1998, 13(3): 48-50
- [11] 袁兰, 陈秋丽, 王雅丽, 张曙明. 毛细管气相色谱法测定人参中五氯硝基苯及六六六异构体残留量. 中草药, 1994, 25(10): 519-520
- [12] 乐忠奎, 刘志刚. 海洋沉积物中有机氯农药测定的硫干扰消除方法研究. 环境污染与防治, 1986 (3): 44-47
- [13] 李强, 文唤成, 胡彩荣. 土壤 pH 值的测定国际国内方法差异研究. 土壤, 2007, 39 (3): 488-491
- [14] 樊德方. 农药残留分析与检测. 上海: 上海科学技术出版社, 1982
- [15] 中华人民共和国农业行业标准—农药残留试验准则. 农业质量标准, 2004(4): 29-33

Determination of Residues of Pyrethroids in Soil by Gas Chromatography with H₂SO₄ Purification

WU Ping, SHI Hai-yan, HAN Zhi-hua, WANG Ming-hua

(College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: A method for extracting, clearing off and determining the residues of cyhalothrin, escy-permethrin, fenvalerate and deltamethrin in soil was established. In this method the residues of the pesticides in soil were extracted by acetonitrile and purified by H₂SO₄-ethanol, then measured by GC. The recovery of the method ranged from 84.14% to 105.15%, with CV from 1.24% to 5.82%. This method was proved to be low in cost, easy in operation, and high in purification, reproductivity and feasibility.

Key words: Synthetic pyrethroids, Residues, Soil, Purification