农药学学报 2006, 8(4): 344-348
Chinese Journal of Pesticide Science

• 研究论文 •

四聚乙醛在烟草和土壤中的残留检测与消解动态

张雪燕*, 代雪芳

(云南省农业科学研究院 农业环境资源研究所, 云南 昆明 650205)

摘 要: 建立了烟草和土壤中四聚乙醛残留量的气相色谱分析方法。样品中残留的四聚乙醛用二氯甲烷提取, 中性氧化铝与活性炭混合柱净化, 偏重亚硫酸钠溶液除去游离醛, 所得的四聚乙醛经盐酸解聚成乙醛, 乙醛与 2, 4-二硝基苯肼进行衍生化反应, 经硅胶柱净化, GC-NPD 测定其衍生物。方法的最小检出量为 0.04 ng, 最低检出浓度为 0.02~0.10 mg/kg, 3 个添加水平的平均回收率为 86%~100%, 相对标准偏差(RSD)均小于 15% (n=5)。四聚乙醛在烟草及土壤中的残留试验结果表明: 烟草植株对四聚乙醛的吸收在施药后 4~5 d达到高峰, 之后缓慢下降, 到 21 d已接近最低检出浓度 0.04 mg/kg, 其在土壤中的半衰期约为 4 d; 在推荐使用剂量下, 四聚乙醛在干烟叶中的残留量低于最低检出浓度 0.10 mg/kg, 不会对烟草造成残留污染。

关键词: 四聚乙醛; 烟草; 土壤; 残留
中图分类号: S481.8; X592 文献标识码: A 文章编号: 1008-7303(2006)04-0344-05

Degradation and Determination of the Residue of Metaldehyde in Tobacco and Soil

ZHANG Xue-yan*, DAI Xue-fang

(Institute of Agro-Environmental Resources, Yunnan Academy of Agricultural Science, Kunming 650205, China)

Abstract: A method for determination of metaldehyde residues in tobacco was developed. Metaldehyde residues were extracted from tobacco with dichloromethane and cleaned up with the mixture column of aluminum oxide-activated carbon. Interfering aldehydes were removed with sodium meta-bisulphite solution. Metaldehyde was depolymerized with hydrochloric acid to acetaldehyde, which was reacted with 2, 4-dinitrophenylhydrazine. The derivative acetaldehyde 2, 4-dinitrophenylhydrazone was cleaned up on silica gel column and determined by GC-NPD. The limit of detection of metaldehyde was 0.04 ng. The limit of quantification of the method for pesticide in tobacco and soil was 0.02 to 0.10 mg/kg. The recoveries from 3 samples fortified with metaldehyde at levels of 0.02 to 1.0 mg/kg, ranged from 86% to 100%. And the RSD was below 15% (n=5). The study of the residue dynamics demonstrated that: 1) The absorption of metaldehyde was the highest 4 days after treatment, and then the absorption declined slowly. After 21 days, the residues of metaldehyde was 0.04 mg/kg nearing the limit of quantification. The half life of metaldehyde was 4 days in soil. 2) When metaldehyde was used as the recommended dosage, the residues of metaldehyde was below 0.10 mg/kg in dry tobacco, thus no any contamination to tobacco product.

Key words: metaldehyde; tobacco; soil; residue

收稿日期: 2006-05-16; 修回日期: 2006-09-30.

作者简介: 张雪燕(1959-), 女, 副研究员, 主要从事农药残留研究工作. 联系电话: 0871-5891105; **E-mail**: zhangxueyanpp@yahoo.com.cn

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

四聚乙醛 (metaldehyde)是一种优良的软体动物杀灭剂, 广泛用于防治水稻、棉花、蔬菜和烟草等作物上的田螺、蜗牛和蛞蝓[1]。为探明四聚乙醛在烟草和土壤中的残留状况, 笔者于 2004~2005年在云南嵩明进行了 6% 密达颗粒剂 (有效成分四聚乙醛)在烟草上的残留试验。

有关四聚乙醛残留的分析方法, 文献报道均是直接将样品提取物与盐酸反应, 使四聚乙醛在酸性条件下解聚成乙醛, 再与 2, 4-二硝基苯肼进行衍生化反应, 用气相色谱或液相色谱法测定其衍生物。此方法主要用于蔬菜、水果和水稻等农产品中四聚乙醛残留量的检测[2~5], 但不适宜在烟草中使用, 因为烟叶本底基质较为复杂, 其中某些成分在酸性条件下因分解成醛或酮[6]而对待测物造成严重干扰。笔者在样品提取物酸解前和衍生化后分别增加柱层析净化步骤, 可有效地除去干扰物, 方法灵敏度、准确度和精确度均符合农药残留分析标准, 具有一定的新颖性和适用性。

1　材料与方法

1.1　供试药剂和仪器

试剂均为分析纯, 二氯甲烷、石油醚 (60~90℃)、甲苯经全玻璃重蒸处理; 助滤剂 545 (Sigma公司产品); 偏重亚硫酸钠溶液: 2 g $Na_2S_2O_5$ 用 100 mL水溶解, 现配现用; 2, 4-二硝基苯肼溶液: 0.25 g 2, 4-二硝基苯肼 (纯度 > 99%, Sigma公司产品), 用 100 mL 6 mol/L 的盐酸溶解; 活性炭: 100 g层析用活性炭粉, 加 500 mL 盐酸煮沸 1 h, 用蒸馏水洗至中性, 600℃下烘烤 2 h, 冷却后置于干燥器中备用; 层析用中性氧化铝 (100~200目), 130℃处理 5 h, 冷却后加质量分数为 5% 的水脱活, 干燥器中平衡过夜使用; 层析用硅胶, 130℃处理 5 h, 冷却后加 1.5% 的水脱活, 干燥器中平衡过夜使用; 四聚乙醛标准溶液: 0.0100 g四聚乙醛标准品 (纯度 > 99%, 龙沙香港有限公司提供) 用二氯甲烷溶解定容至 100 mL; 6% 密达颗粒剂 (有效成分四聚乙醛) (广州农药厂提供)。

HP5890Ⅱ型气相色谱仪配 NPD 检测器; 食品加工机; 回旋振荡器; 玻璃层析柱 [20 cm × 10 mm (i.d)]。

1.2　田间试验设计

最终残留试验采用 6% 密达颗粒剂, 设有效成分 490和 980 g/hm^2 两个施药剂量, 分别施药两次和 3次, 共 4个处理, 每处理 3个重复, 小区面积 30~60 m^2, 顺序排列, 以不施药为对照区。施药方法为于烟苗移栽后 10~14 d 将颗粒剂撒于烟株周围。施药间隔期为 10 d, 采样距最后一次施药分别为 42和 49 d。采样方法为每小区随机多点采集 30~40片叶, 随机多点取 0~15 cm 土壤耕作层约 1 kg。采集的烟叶当天放入烤房制成干烟叶供测定用。

植株消解动态试验: 于烟苗长至团棵期, 用 6% 密达颗粒剂按 980 g/hm^2 的剂量均匀撒在烟株周围, 分别于施药后 1、2、3、4、5、7、10、14、21、30、45 d在施药烟株上随机采摘烟叶, 每小区每次采样不少于 30片。切碎缩分后取 200 g 在塑料袋中于 -18℃密封保存 (以空白烟叶样品作对照), 待分析。

土壤消解动态试验: 按 980 g/hm^2 的剂量, 将颗粒剂掺适量土混匀, 均匀撒在墒面上。分别于施药后 1、2、3、5、7、10、14、21、30、45、60 d取 0~15 cm 土层, 每小区不少于 10个点, 采样量不少于 1 kg, 四分法留 300 g, -18℃下保存 (以施药前采集的空白土壤作对照), 待分析。

1.3　分析方法

样品中残留的四聚乙醛用二氯甲烷提取, 中性氧化铝与活性炭混合柱净化以除去干扰物, 偏重亚硫酸钠溶液洗涤以除去游离醛。用盐酸将四聚乙醛解聚, 然后与 2, 4-二硝基苯肼反应, 再经硅胶柱净化, 气相色谱 NPD 测定其衍生物。

1.3.1　样品的制备

烟叶样品: 干烟叶剔烟筋后放入食品加工机中打碎混匀; 土壤样品: 去掉植物残枝和石砾后过 0.45 mm 筛混匀。

1.3.2　样品前处理

提取: 分别称取 20 g鲜烟叶、4 g干烟叶和 20 g土壤样品, 各加入 50 mL二氯甲烷, 鲜烟叶样品中再加 20 g无水硫酸钠, 轻轻摇匀后静置过夜。振荡 5 min (土壤样品振荡 1 h), 过滤, 滤渣用 50 mL 二氯甲烷振荡提取 1 h, 过滤, 合并提取液。土壤样品提取液直接进行液-液分配净化; 烟叶样品提取液浓缩至 50 mL左右, 待氧化铝柱层析净化。

氧化铝柱净化: 玻璃层析柱中依次装入 2 cm 厚无水硫酸钠、8 g中性氧化铝、2 g质量比为 1∶4 的活性炭-助滤剂 545混合物和 2 cm 厚无水硫酸钠, 二氯甲烷湿法装柱。将 50 mL样品提取液转入层析柱中, 用 20 mL二氯甲烷淋洗, 收集全部淋

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

出液, 待液-液分配净化。

液-液分配净化: 将烟叶样品净化液和土壤样品提取液转移至 250 mL 分液漏斗中, 加 20 mL 偏重亚硫酸钠溶液, 振摇 5 min, 弃去水层, 二氯甲烷层用 50 mL 蒸馏水洗涤两次, 经无水硫酸钠脱水后浓缩至干, 准确加入 10 mL 甲苯溶解残留物, 待衍生反应。

解聚和衍生: 向上述残留物中加入 5 mL 2, 4-二硝基苯肼溶液, 振荡反应 1 h, 静置, 弃去水层, 甲苯层待硅胶柱净化 (土壤样品衍生物可直接进气相色谱测定)。

硅胶柱净化: 玻璃层析柱中依次填入 2 cm 厚无水硫酸钠、3 g 硅胶和 2 cm 厚无水硫酸钠。甲苯预淋。准确吸取 5 mL 上述烟叶样品衍生物上柱, 先用 20 mL 石油醚-甲苯 (65∶ 35, 体积比)淋洗, 弃去淋出液, 再用 40 mL 甲苯淋洗, 收集甲苯洗脱液, 浓缩至 1 mL 左右, 用石油醚定容至 5 mL, 供气相色谱 NPD 测定。

1.3.3 气相色谱测定条件 HP5890Ⅱ气相色谱仪 (带氮磷检测器及 HP 化学工作站); 色谱柱: DB-1 15 m × 0.53 mm × 0.5 μm; 检测温度: 检测器 300℃、进样口 260℃、柱温初温 100℃, 保持 1 min, 以 30℃/min 的速率升至 180℃, 保持 7 min, 再以 40℃/min 升至 270℃, 保持 2 min; 气体流速: 高纯氮气 10 mL/min、氢气 3 mL/min、空气 100 mL/min, 进样体积 1 μL。

1.3.4 结果计算 采用外标 (峰面积)-标准曲线法定量。标准曲线的制作方法为分别吸取 0.4、1.0、2.0、4.0、10、20 μg/mL 的四聚乙醛二氯甲烷标准溶液 1 mL 于 150 mL 具塞平底烧瓶中, 氮气吹干, 准确加入 10 mL 甲苯, 5 mL 2, 4-二硝基苯肼溶液, 塞紧瓶塞, 振荡反应 1 h, 静置后弃去水层, 此时甲苯层中四聚乙醛的浓度分别为 0.04、0.10、0.20、0.40、1.0、2.0 μg/mL。气相色谱进样测定, 以四聚乙醛含量 (ng)为横坐标, 峰面积为纵坐标作标准曲线。

2 结果与讨论

2.1 前处理方法

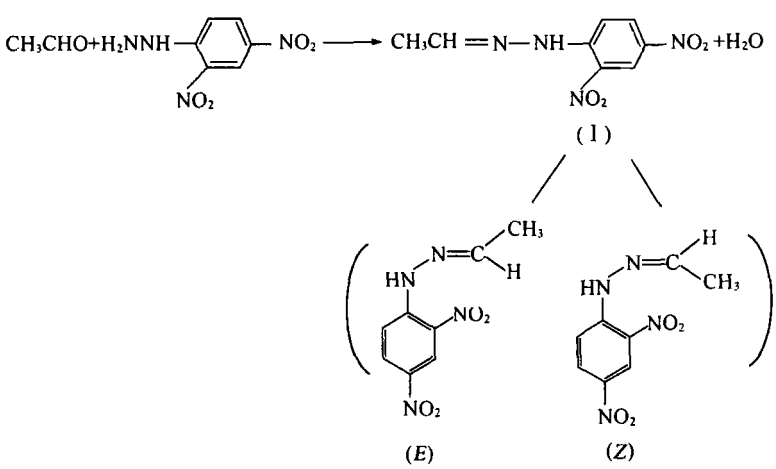
样品前处理中如果二氯甲烷和甲苯等试剂有干扰, 需用 2, 4-二硝基苯肼溶液洗涤一次, 若有必要, 还需用活性为Ⅰ级的中性氧化铝进一步纯化。另外, 酸洗后的活性炭不能用无水乙醇脱水处理, 因为后者可能会把游离醛带入而造成严重干扰。

在做烟叶样品提取液柱层析净化试验时, 曾分别用弗罗里硅土、硅胶、中性氧化铝和活性炭作吸附剂, 以二氯甲烷作淋洗剂。结果发现, 弗罗里硅土因对四聚乙醛的吸附性太强, 不易将其洗脱, 硅胶柱回收率低, 而中性氧化铝和活性炭柱能满足要求, 其中以 8 g 中性氧化铝及 2 g 质量比为 1∶ 4的活性炭-助滤剂 545混合柱净化效果最好。

作者曾分别用亚硫酸氢钠、硫代硫酸钠和偏重亚硫酸钠去除样品提取液中的游离醛, 结果发现 2% 偏重亚硫酸钠水溶液去除效果最好。此外, 作者还对解聚和衍生反应时间 (20、30、60 和 120 min)进行了比较研究, 发现差异不明显。

2.2 衍生反应产物

醛或酮与氨的衍生物发生亲核加成反应后失水, 形成含有碳氮双键 (>C=N-)的化合物, 当连接在碳原子上的两个取代基不同时就会出现构型异构[7]。乙醛 (四聚乙醛解聚后的产物)与 2, 4-二硝基苯肼反应, 生成的乙醛-2, 4-二硝基苯腙 (Ⅰ)存在 Z 型和 E 型两种异构体, 其反应式和结构式如下:



© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

由于 E 型异构体较稳定, 其产量相对较多。即乙醛与衍生化试剂反应后得到的是不等量的 Z 型和 E 型异构体的混合物[4], 这种混合物在填充柱上不能分开, 只表现为一个峰[2,4], 而在 DB-1毛细管柱上则可完全分成两个峰, 峰面积较小的是 Z 型, 较大的是 E 型, 相对保留时间分别为 7.1和 7.4 min。乙醛-2,4-二硝基苯腙、烟草空白对照和烟草中四聚乙醛添加样的色谱图分别见图 1、图 2和图 3。

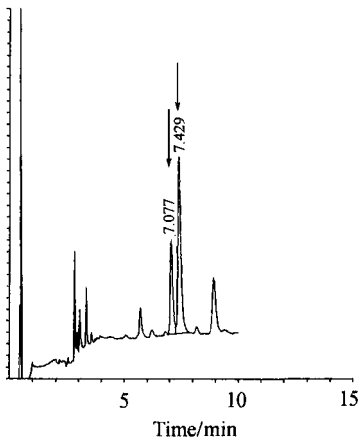


Fig. 1　Standard chromatogram of acetaldehyde 2,4-dinitrophenylhydrazone

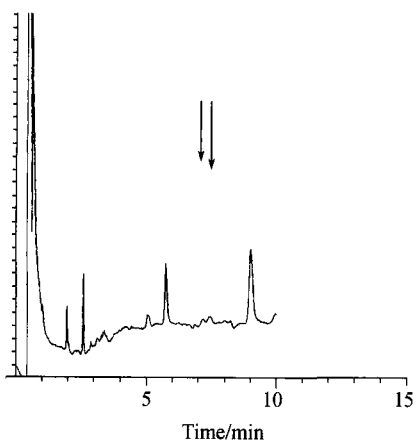


Fig. 2　Chromatogram of tobacco control sample

2.3　标准曲线

四聚乙醛标准曲线方程为 Y = 313 401x - 850, 相关系数 r = 0.999 6。

2.4　方法的灵敏度、准确度及精确度

本方法最小检出量: 4×10^{-11} g, 最低检测浓度: 干烟叶 0.10 mg/kg, 鲜烟叶 0.04 mg/kg, 土壤 0.02 mg/kg。

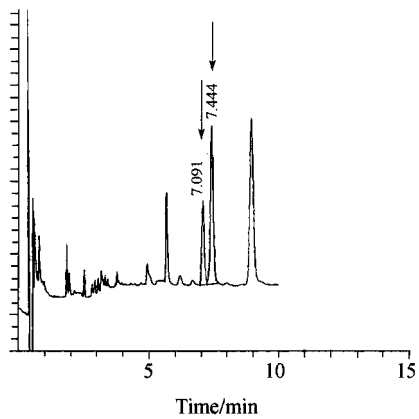


Fig. 3　Chromatogram of fortified recovery of metaldehyde in tobacco

分别在未施药的对照样本中添加 3个浓度的四聚乙醛标准溶液, 每个浓度 3~5次重复, 放置 30 min待溶剂挥发, 按上述方法提取、净化和检测。结果 (见表 1)表明, 四聚乙醛在鲜烟叶中添加浓度为 0.04~1.0 mg/kg 时, 平均回收率为 86.2%~93.1%, 相对标准偏差为 2.0%~13.9%; 在干烟叶中添加浓度为 0.10~1.0 mg/kg 时, 平均回收率为 92.2%~100%, 相对标准偏差为 5.8%~11.9%; 在土壤中添加浓度为 0.02~1.0 mg/kg 时, 平均回收率为 88.1%~95.5%, 相对标准偏差为 4.2%~9.3%。回收率和相对标准偏差均在允许范围内。

2.5　在烟草植株和土壤中的消解动态

两年的试验结果 (见图 4、图 5)均表明, 6%密达颗粒剂以 980 g/hm^2 的剂量在烟草团棵期使用 1次, 施药后 1 d烟株便有吸收, 4~5 d吸收值达高峰, 约 0.20 mg/kg, 之后缓慢下降, 到 21 d已接近最低检出浓度 0.04 mg/kg。密达颗粒剂在土壤中的残留量在施药后 2~3 d达最高值, 约为 0.90~2.70 mg/kg, 之后逐渐下降, 第 10 d降解 60%, 第 21 d降解 98%以上, 降解方程为 $c = 3.682\,8e^{-0.196\,8x}$ 和 $c = 1.430\,6e^{-0.176\,3x}$, 半衰期 3.5~3.9 d。

2.6　在烟草和土壤中的最终残留

6%密达颗粒剂以有效成分 490和 980 g/hm^2 的剂量在烟苗移栽成活后分别施药 2次和 3次, 到烟叶成熟时第 1次采收 (距末次施药 42 d)和第 2次采收 (距末次施药 49 d)测定, 两年试验结果均表明干烟叶中未检出四聚乙醛残留 (< 0.10 mg/kg), 土壤中残留量 < 0.02~0.28 mg/kg。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

Table 1 Fortified recovery of metaldehyde in tobacco and soil

Sample	Fortified concentration /(mg/kg)	Recovery (%)						RSD (%)
		1	2	3	4	5	Mean	
Fresh tobacco	0.04	100.2	77.2	73.5	82.8	97.3	86.2	13.9
	0.50	90.8	93.4	93.1	95.3	–	93.1	2.0
	1.0	90.6	88.5	99.6	85.4	93.8	91.6	5.9
Dry tobacco	0.10	96.1	106.5	103.3	90.0	104.2	100.0	6.8
	0.50	100.4	96.5	79.7	–	–	92.2	11.9
	1.0	92.1	88.5	89.6	93.3	102.1	93.1	5.8
Soil	0.02	90.0	101.5	100.0	99.5	80.0	95.5	9.3
	0.10	81.0	96.8	83.8	90.6	–	88.1	8.0
	1.0	95.6	91.8	88.3	87.3	86.4	89.9	4.2

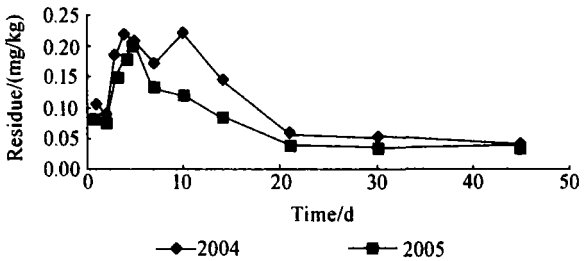


Fig 4 Degradation curve of metaldehyde in tobacco

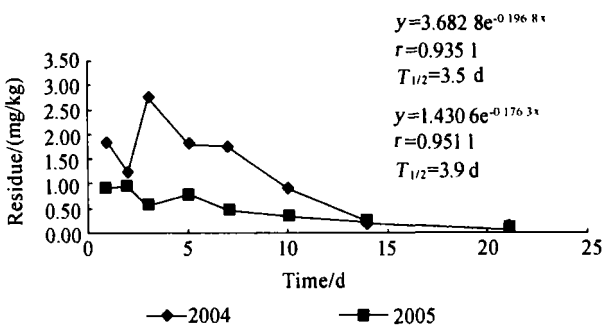


Fig 5 Degradation curve of metaldehyde in soil

3 结论

四聚乙醛颗粒剂施于烟株根际周围的土壤表面后很快被烟苗吸收, 到第 4~5 d吸收达高峰, 但残留量不超过 0.22 mg/kg, 之后逐渐下降, 到 21 d 残留量低于最小检出浓度 0.04 mg/kg, 表现出典型的植物对颗粒剂农药的吸收降解规律。

四聚乙醛水溶性低, 无论是低剂量 (推荐剂量)还是高剂量均不会对烟叶造成残留污染; 土壤中的残留随着施药量和施药次数的增加而增加, 但最多不超过 0.28 mg/kg。

目前 FAO/WHO 未对烟叶中四聚乙醛最大残留限量(MRL值)作出规定, 我国也尚未制定烟叶中四聚乙醛的 MRL标准, 但在其他作物上我国制定的标准是蔬菜 1.0 mg/kg 水稻 1.0 mg/kg(合理使用准则建议)。根据两年一地的试验结果, 参照我国四聚乙醛在蔬菜中 MRL 值为 1.0 mg/kg 的标准[8], 建议 6% 密达颗粒剂在推荐最高剂量 490 g/hm^2 施药时, 最多施药 2次, 最后 1次施药距采收的安全间隔期为 42 d, 收获后干烟叶中的四聚乙醛残留量为未检出 (< 0.10 mg/kg), 均低于 1.0 mg/kg(MRL值)。

致谢:

本研究得到云南大学化学系教授文孟良博士、本所何婕博士的指导和帮助, 特此致谢!

参考文献:

[1] HAN Zhao-jiu (韩招久). 6% 密达颗粒剂防治烟草蜗牛药效试验初报 [J]. Guizhou Agricultural Sciences (贵州农业科学), 1996, (4): 49-51.

[2] Institute for the Control of Agrochemicals Ministry of Agriculture (农业部农药检定所). Handbook of Practical Methods for the Determination of Pesticide Residues, Vol 2 (农药残留量实用检测方法手册②) [M]. Beijing (北京): Chemical Industry Press(化学工业出版社), 2001. 144-147.

[3] Institute for the Control of Agrochemicals Ministry of Agriculture (农业部农药检定所). Handbook of Practical Methods For the Determination of Pesticide Residues, Vol 3 (农药残留量实用检测方法手册③) [M]. Beijing(北京): China Agriculture Press(中国农业出版社), 2005. 174-176

[4] Iwata Y, Carman G E. Metaldehyde residues on and in citrus fruits after a soil broadcast of a granular formulation and after a spray application to citrus trees[J]. Agric Food Chem, 1982, 30: 606-608

[5] Aitzetmueller K, Fox J, Arzberger E, et al. Determination of metaldehyde residues in vegetables by HPLC [J]. Merck Analytical HPLC Application, 1984, 80: 201-203.

[6] HE Cheng-gang (何承刚). 烤烟香气物质的影响因素及其代谢研究进展 [J]. Chinese Tobacco Science (中国烟草科学), 2005, 26(2): 40-43.

[7] XING Qi-yi(刑其毅). Fundamentals of Organic Chemistry (有机化学基础) [M]. Beijing(北京): Higher Education Press (高等教育出版社), 2005. 514-515.

[8] Maximum residue limits for pesticides in leafy vegetable(中华人民共和国农业行业标准) [S]. NY 774-2004.

(Ed. JIN SH)

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net