

虱螨脲在土壤生态系统中的检测方法及其持久性研究

郑立国, 杨仁斌

(湖南农业大学农业环境保护研究所, 湖南 长沙 410128)

摘要 采用模拟土壤生态系统的方法, 研究了虱螨脲在土壤中的消解动态, 应用高效液相色谱仪测定了虱螨脲在土壤中的残留量。结果表明, 样品用甲醇提取, 二氯甲烷萃取, 用高效液相色谱检测, 样品前处理简单有效, 方法检出限和灵敏度均能达到要求。虱螨脲在土壤中消解较快, 2007 年试验半衰期为 2.51 d, 土壤原始附着量为 $0.180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 2008 年试验半衰期为 2.47 d, 土壤原始附着量为 $0.209 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

关键词 虱螨脲; 土壤生态系统; 持久性; HPLC

中图分类号: X592 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2009)11-2407-05

Detection Method and Persistence of Lufenuron in Soil Eco-system

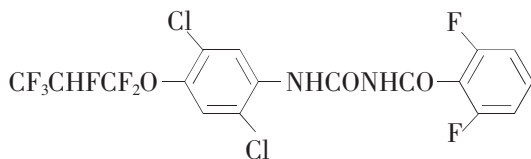
ZHENG Li-guo, YANG Ren-bin

(Institute of Agri-Environmental Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract A simulative soil eco-system was conducted to research degradation dynamics of Lufenuron in soil. The residues of Lufenuron was determined by HPLC. The result showed this pre-treating method, by which the sample was extracted with methanol and dichloromethane was simple and effective. The HPLC spiked level and sensitivity could satisfy the demand. Lufenuron disappeared rapidly from soil. The half-life in soil was 2.51 d with $0.180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ of initial concentration in 2007, while the half-life in soil was 2.47 d with $0.209 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ of initial concentration in 2008.

Keywords lufenuron; soil eco-system; persistence; HPLC

虱螨脲(Lufenuron)为苯甲酰胺类化合物, 纯品为白色结晶体, 熔点 $164.7 \sim 167.7^\circ\text{C}$; 蒸汽压 $< 1.2 \times 10^{-9} \text{ Pa}$ (25°C); 水中溶解度 (20°C) $< 0.006 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。其他溶剂中溶解度 (20°C , $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$): 甲醇 4.1×10^4 、丙酮 4.6×10^5 、甲苯 7.2×10^4 、正己烷 1.3×10^2 、正辛醇 8.9×10^3 。在空气、光照下稳定, 在水中 DT_{50} 32 d(pH9)、70 d(pH7)、160 d(pH5)。原药对大鼠急性毒性口服 LD_{50} 为 $2000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。化学结构式如下:



虱螨脲是一种安全、高效、广谱的苯甲酰胺类化合物, 为昆虫的生长调节剂, 有抑制几丁质合成的作用。昆虫通过取食摄入虱螨脲, 导致幼虫无法蜕皮, 停食而死。这种新型杀虫剂, 兼具胃毒和触杀作用, 还具有良好的杀卵效果。它对捕食性昆虫有良好的选择性, 对多数有益昆虫成虫无毒, 对蜜蜂、鸟类和哺乳动物无毒, 对使用者和作物安全。可用于防治蔬菜、棉花、玉米、以及柑橘粉虱、锈壁虱和蜘蛛等鳞翅目和鞘翅目幼虫, 还可以用于防治和控制宠物的跳蚤。目前, 国内对虱螨脲的研究主要集中在药效研究方面^[1-3], 国内学者运用液质联用对蔬菜中包括虱螨脲在内的 4 种农药进行过检测^[4]。关于虱螨脲使用后的土壤环境中的残留降解及检测方法, 国内报道较少^[4-5]。本文对虱螨脲在土壤生态系统中持久性及检测方法进行研究, 为虱螨脲的合理使用和生态安全提供科学依据。

收稿日期 2009-04-18

基金项目 农业部农药残留项目(NC2007023)

作者简介 郑立国(1984—), 男, 山东济宁人, 硕士研究生, 主要从事环境污染及检测技术。E-mail: zhliguo@yahoo.com.cn

通讯作者 杨仁斌 E-mail: yrb4806@yahoo.com.cn

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试农药

50 g·L⁻¹ 虱螨脲乳油(瑞士先正达作物保护有限公司生产) 虱螨脲标准品 纯度>97%(国家农药质量检测中心提供)。

1.1.2 试验地点概况

长沙市湖南农业大学试验基地(历年未施过虱螨脲)。试验地属亚热带湿润季风气候,夏季湿热,全年无霜期 9~10 个月,年降雨量 1 200~1 700 mm。试验地土壤为河潮土,土壤质地为壤土,有机质 29.3 g·kg⁻¹,阳离子交换量 9.1 cmol·kg⁻¹ pH6.84^[6],肥力中等。河水灌溉,排灌系统完善。

1.1.3 仪器与试剂

主要仪器:高效液相色谱仪(HP-1100 型,配有 UV 检测器、Chemstation 色谱工作站和 20 μ L 定量进样阀,美国安捷伦公司生产);旋转蒸发仪(RE-52A 型,上海亚荣生化仪器厂生产);250 mL 分液漏斗。

主要试剂:二氯甲烷、三氯甲烷、石油醚、丙酮、氯化钠、无水硫酸钠(分析纯),甲醇(色谱纯和分析纯)。

1.2 试验方法

1.2.1 高效液相色谱条件的确定

(1)虱螨脲检测波长

将虱螨脲标准母液用甲醇稀释后,在 HP-1100 高效液相色谱仪(带紫外检测器及 HP 化学工作站)用停泵扫描法,在波长 200~400 nm 范围内对虱螨脲标液进行紫外扫描测定,确定 HPLC 最佳检测波长。

(2)液相色谱分离条件

以保留时间和分离效果为定性指标,峰面积为定量指标,考察流动相体系(甲醇-水体积比分别为 60:40、70:30、80:20、90:10)和流速(0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mL·min⁻¹)对虱螨脲保留时间和分离效果的影响。根据保留时间和分离效果确定 HPLC 的最佳检测条件。

1.2.2 标准曲线的绘制

准确称取虱螨脲标准品,用色谱纯甲醇稀释配制 0.025 22、0.630 4、1.260 8、3.152、6.304、12.608 mg·L⁻¹ 的虱螨脲工作液。对虱螨脲在 0.504~252.16 ng 范围内进样量(ng)与峰面积(mAU)绘制标准曲线。

1.2.3 样品提取条件的选择与确定

(1)提取剂

准确称取虱螨脲添加量为 0.50 mg·kg⁻¹ 土壤样品 20.0 g(过 40 目筛),分别以 80 mL 甲醇、丙酮、二氯甲烷、石油醚,置于恒温振荡器中振荡提取 1 h,抽滤、浓缩后甲醇定容至 5.0 mL,重复 3 次。进样 20 μ L,记录 HPLC 色谱图。

(2)提取方法

准确称取虱螨脲添加量为 0.50 mg·kg⁻¹ 土壤样品 20.0 g(过 40 目筛),准确加入 80 mL 甲醇,分别进行恒温振荡提取、超声提取和回流提取各 1 h,提取液抽滤、浓缩后甲醇定容至 5.0 mL,重复 3 次。进样 20 μ L,记录 HPLC 色谱图。

(3)提取时间

准确称取虱螨脲添加量为 0.50 mg·kg⁻¹ 土壤样品 20.0 g(过 40 目筛),准确加入甲醇 80 mL,密塞,恒温振荡提取时间分别为 20、40、60、80、100 min,抽滤、浓缩后甲醇定容至 5.0 mL,重复 3 次。进样 20 μ L,记录 HPLC 色谱图。

1.2.4 萃取剂

准确称取虱螨脲添加量为 0.50 mg·kg⁻¹ 土壤样品 20.0 g(过 40 目筛),准确加入甲醇 80 mL,密塞,振荡提取 1 h,抽滤后转移到 250 mL 分液漏斗中,加入 60 mL 5%的 NaCl 溶液,分别用 30、20、20 mL 石油醚二氯甲烷、三氯甲烷振荡萃取,萃取液浓缩后甲醇定容至 5.0 mL,重复 3 次。进样 20 μ L,记录 HPLC 色谱图。

1.3 精密度和准确度试验

1.3.1 精密度试验

虱螨脲标液按最佳色谱条件连续进样 6 次,以峰面积计算,记录虱螨脲标液峰面积,根据虱螨脲峰面积计算相对标准偏差 RSD。

1.3.2 准确度试验

在空白土壤样品中添加虱螨脲标准溶液,添加浓度分别为 0.05、0.5 和 1.0 mg·kg⁻¹ 3 个水平,重复 5 次,平行制备样品液,测定回收率,并计算回收率的 RSD。

1.4 消解动态试验

选择往年从未施过虱螨脲的田块,在所种植物生长期,以 50 g·L⁻¹ 虱螨脲乳油采用 33.75 g·hm⁻² 进行均匀喷雾处理 1 次,重复 3 次,并于施药后 1/24、1、2、3、5、7、10、20、30 d 采用蛇形布点法各取 10 个点的土样,每点均取 0~15 cm 的表层土壤。去掉土壤样品中的砂石残枝,过 1 mm 孔径筛,用四分法缩取 500 g 左右样品封存,于-20℃的冰箱中保存。

2 结果与讨论

2.1 高效液相色谱条件

虱螨脲在 208 和 255 nm 波长处都有较强吸收, 但 208 nm 时溶剂峰对农药峰干扰较大, 而采用 255 nm 作为检测波长效果更为可行; 在甲醇-水体积比为 90:10 和流速为 $0.4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 时, 可使虱螨脲在 C_{18} 柱上获得较好的分离和较高的灵敏度。

由此确定 HPLC 法测定土壤中虱螨脲的最佳条件为: 色谱柱为 $250 \text{ mm} \times 4.0 \text{ mm}$ ODS 不锈钢柱; 流动相为甲醇:水=90:10; 流速 $0.4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 检测波长 255 nm; 柱温 38°C ; 进样量 $20 \mu\text{L}$ 。参见图 1。

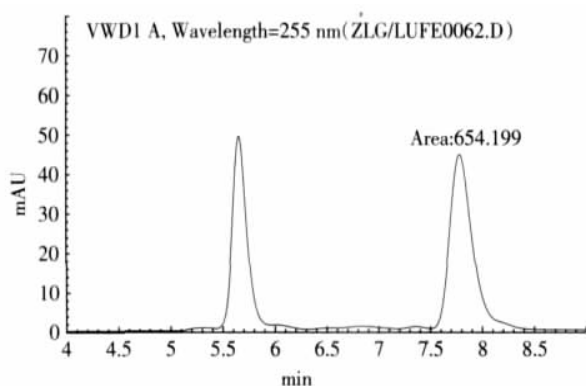


图 1 虱螨脲标准品液相色谱图

Figure 1 HPLC chromatograms of Lufenuron standard solution

在上述条件下, 虱螨脲在 C_{18} 柱上可获得较好的分离, 保留时间为 7.56 min, 最小检出量为 $5.043 \times 10^{-10} \text{ g}$, 能够满足残留分析的要求。

2.2 线性范围

在 2.1 的条件下进行线性范围的确定。以虱螨脲进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 见图 2。

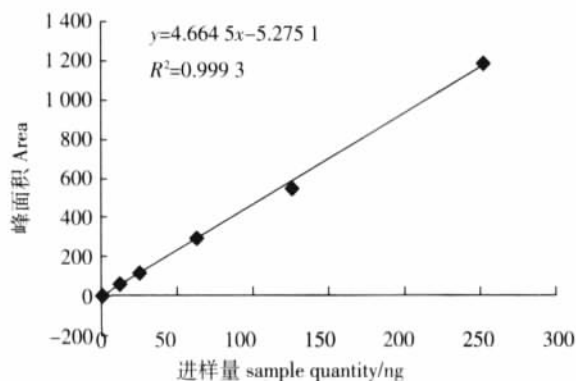


图 2 虱螨脲标准曲线

Figure 2 Standard curve of Lufenuron

由图可知, 虱螨脲进样量在 $0.504 \sim 252.16 \text{ ng}$ 与峰面积线性关系良好, 标准曲线方程为

$$y=4.664 5x-5.275 1 \quad R^2=0.999 3$$

2.3 前处理条件的确定

试验结果表明, 用甲醇提取的土壤中虱螨脲含量为 $0.46 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 用丙酮、二氯甲烷、石油醚提取时, 土壤中虱螨脲含量分别为 0.38 、 0.42 、 $0.29 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。考虑到甲醇提取率高且提取杂质质量少的优点, 选用甲醇作为提取溶剂; 在 3 种提取方法中, 提取时间为 1 h 时, 恒温振荡提取和超声波提取土壤样品中虱螨脲含量高达 0.45 、 $0.48 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 回流提取土壤中虱螨脲含量仅为 $0.31 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 前两种提取法优于回流提取法; 恒温振荡提取和超声提取 1 h, 土壤样品中的虱螨脲几乎已经提取完全, 出于对土壤样品的批量处理, 提取时间和提取效率等因素的综合考虑, 采用甲醇恒温振荡提取 1 h。

二氯甲烷的萃取效果优于石油醚和三氯甲烷, 含量分别为 0.45 、 0.29 、 $0.41 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 综合考虑二氯甲烷萃取率高且毒性比三氯甲烷低的优点, 确定采用二氯甲烷为萃取剂。

准确称取制备好的土样 20.0 g , 加 60 mL 甲醇, 振荡 1 h。抽滤并用甲醇洗涤残渣, 合并两次上清液并转移到 500 mL 分液漏斗中, 加 60 mL 5% 的氯化钠溶液, 分别用二氯甲烷 30 、 20 、 20 mL 萃取 3 次, 合并二氯甲烷相, 经无水硫酸钠干燥后, 40°C 减压浓缩近干, 色谱甲醇定容至 5.0 mL 待测。

2.4 精密度和准确度

精密度试验结果表明, 高效液相色谱法精密度良好, 相对标准偏差 RSD 为 0.814% 。

准确度试验结果表明, 虱螨脲的平均回收率为 $84.36\% \sim 98.14\%$, RSD 为 $0.89\% \sim 4.98\%$, 符合农药残留分析方法的技术要求(表 1)。

表 1 虱螨脲在土壤样品中添加回收率

Table 1 Recoveries of Lufenuron in soil

添加量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	回收率 Recoveries/%						平均值/% Average	相对标准 偏差 CV/%
1.0	97.1	98.5	99.3	97.5	98.3	98.14	98.14	0.89
0.5	96.3	90.0	92.7	98.0	94.4	94.28	94.28	3.30
0.05	80.0	90.2	80.6	86.2	84.8	84.36	84.36	4.98

2.5 消解动态试验

对 1.4 中土壤样品进行残留测定, 结果见表 2, 色谱图见图 3。

表 2 虱螨脲在土壤中的消解动态

Table 2 Degradation dynamics of Lufenuron in soil

施药后 天数/d	2007 年		2008 年	
	虱螨脲含量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	消解率/%	虱螨脲含量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	消解率/%
1/24	0.180	0.00	0.209	0.00
1	0.141	21.67	0.162	22.49
2	0.128	37.22	0.120	42.58
3	0.065	59.44	0.080	61.72
5	0.054	70.00	0.052	74.64
7	0.028	84.44	0.024	88.52
10	0.011	93.89	0.014	93.30
20	0.006	96.67	0.007	96.65
30	LOD	-	LOD	-

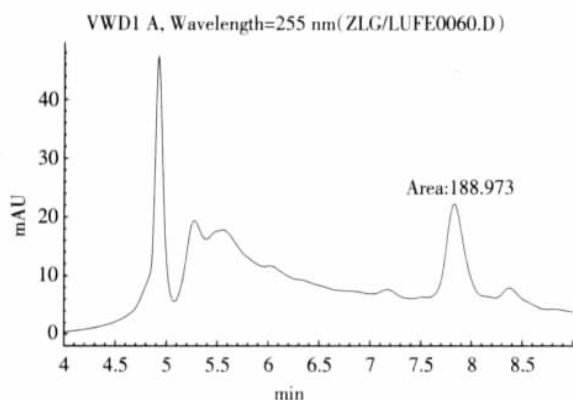


图 3 土壤中检出的虱螨脲液相色谱图

Figure 3 HPLC chromatograms of Lufenuron from soil sample

由表 2 可以看出,田间施药后随着时间延长,虱螨脲在土壤中的残留量大体呈逐渐下降趋势。两年试验结果表明,消解趋势较为一致,施药后间隔的时间与土壤中的残留量呈负指数函数关系,残留动态曲线方程为 $C_t = C_0 e^{-kt}$, 式中: C_0 为施药后的原始沉积量, $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; C_t 为施药后间隔 t 时的农药浓度, $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; k 为消解速率常数; t 为施药后的天数, d 。

虱螨脲在土壤中残留消解动态试验结果表明: 2007 年在土壤中的原始沉积量为 $0.180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 指数回归方程为 $C_t = 0.188 1e^{-0.276 t}$, 其半衰期为 2.51 d , R^2 为 $0.981 6$, 20 d 后消解率达 96.67% 。2008 年在土壤中的原始沉积量为 $0.209 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 指数回归方程为 $C_t = 0.204 2e^{-0.280 t}$, 其半衰期为 2.47 d , R^2 为 $0.988 6$, 20 d 后消解率达 96.65% 。

2007 年和 2008 年的虱螨脲在土壤中的消解曲线见图 4, 两年试验消解率比较情况见图 5。

由图 5 可知, 2007 年和 2008 年田间试验中虱螨脲的原始沉积量有所差异, 2007 年的原始沉积量略

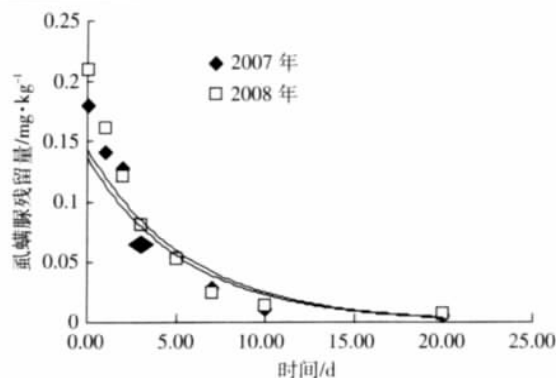


图 4 虱螨脲在土壤中消解曲线

Figure 4 Degradation curves of Lufenuron on soil

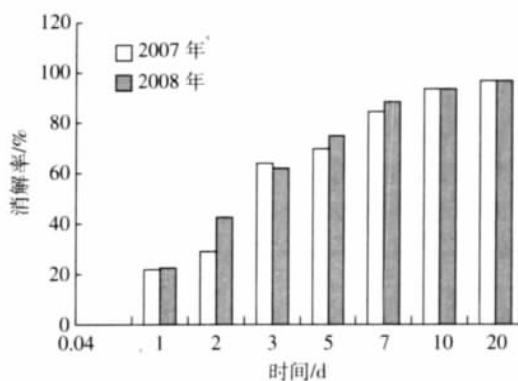


图 5 虱螨脲在土壤中的消解率

Figure 5 Degradation rates of Lufenuron on soil

低, 这可能主要跟施药时的天气、方式以及人为因素有关。前期相比 2007 年消解率相对 2008 年的消解率低, 这可能主要因为 2007 年施药期间相对于 2008 年气温较低, 光照强度较弱, 2008 年施药期间主要以晴热天气为主, 持续高温, 最高气温达到 $37.4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。说明虱螨脲在自然环境下消解过程中受温度、湿度、光照影响较大, 所以田间施药后, 有利的环境条件能降低虱螨脲在土壤中的持久性。

3 结论

(1) 在色谱峰有良好分离、避免杂质干扰和分析时间尽可能短的前提下, 试验了多种甲醇与水流动相的配比和流速, 结果表明, 最佳流动相为甲醇/水=90/10 (V/V)、流速为 $0.4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 、在波长 255 nm 处对虱螨脲有最大吸收, 且其他杂质在此条件下无干扰, 确定此波长为最佳工作波长。

(2) 在不影响虱螨脲提取效率的同时, 用甲醇提取减少了样品中杂质的提出, 采用二氯甲烷萃取、液-液分配能够对提取液进行净化去除一些杂质, 减少在

样品前处理过程中的柱层析净化步骤,同时降低了土壤中水分对前处理过程的影响,简化了操作程序,提高了工作效率。用高效液相色谱检测,检出限和灵敏度均达到要求。仪器的最小检出量达 5.043×10^{-10} g,方法对土壤最低检出浓度为 $0.006 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。虱螨脲添加浓度在 0.05 、 0.50 、 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的平均回收率分别为 84.36% 、 94.28% 、 98.14% ,相对标准偏差分别为 4.98% 、 3.30% 、 0.89% 。表明本文所采用的分析方法的精密度和准确度均可满足虱螨脲残留量分析的要求,适宜在国内大多数配置高效液相色谱-紫外检测器的实验室推广。

(3)在所种植作物生长期,以 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 虱螨脲乳油采用 $33.75 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$ 进行均匀喷雾处理1次,2007年试验中土壤的原始沉积量为 $0.180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,其半衰期为 2.51 d ,2008年试验中土壤的原始沉积量为 $0.209 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,其半衰期为 2.47 d 。由此可见,虱螨脲在土壤中消解速率较快,在土壤中的持久性较短。

参考文献:

- [1] 张继俊,姚建华. 5%虱螨脲乳油(美除)防治棉铃虫田间药效试验[J]. 农药科学与管理, 2007, 25(1): 20-21.
ZHANG Ji-jun, YAO Jian-hua. Field test of lufenuron 5%EC for controlling heliothis armigera[J]. *Pesticide Science and Administration*, 2007, 25(1): 20-21.
- [2] 李维根. 5%虱螨脲乳油防治苹果苹小卷叶蛾药效试验[J]. 辽宁农业科学, 2006(5): 53-54.
LI Wei-gen. Field test of lufenuron 5% EC for controlling adoxophyes orana feschel von roslerstamm[J]. *Liaoning Agricultural Sciences*, 2006 (5): 53-54.
- [3] 姚永生,李春芳,叶花香,等. 虱螨脲对棉铃虫实验种群的生物活性研究[J]. 华北农学报, 2008, 23(6): 243-247.
YAO Yong-sheng, LI Chun-fang, YE Hua-xiang, et al. Studies on bioactivity of lufenuron to experimental population of helioverpa armigera[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2008, 23(6): 243-247.
- [4] 韩红新,吴莉宇,徐志,等. 液质联用(ESI)检测蔬菜中4种农药残留[J]. 农药, 2008, 47(3): 198-200.
HAN Hong-xin, WU Li-yu, XU Zhi, et al. LC-MS method for determination of 4 pesticides residues in vegetables[J]. *Pesticides*, 2008, 47 (3): 198-200.
- [5] 李本昌. 农药残留量实用检测方法手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 241-259.
LI Ben-chang. Practical detection methods of pesticide residues manual[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2001: 241-259.
- [6] 唐美珍,郭正元,袁敏,等. 碘甲磺隆钠在土壤中的降解动态研究[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(4): 724-727.
TANG Mei-zhe, GUO Zheng-yuan, YUAN Min, et al. Degradation dynamics of iodosulfuron-methyl-sodium in soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2005, 24(4): 724-727.