

加速溶剂萃取-气相色谱法测定土壤中氟虫腈农药及其代谢产物残留

郭 敏^{1,2}, 宗良纲¹, 单正军², 石利利²

(1.南京农业大学资源与环境学院, 江苏 南京 210095; 2.国家环境保护总局南京环境科学研究所, 国家环境保护总局农药环境评价与污染控制重点实验室, 江苏 南京 210042)

摘 要:研究了采用加速溶剂萃取及气相色谱法测定土壤中氟虫腈农药及其代谢产物残留最佳条件。结果表明,采用二氯甲烷和丙酮(1:1, V/V)的混合溶剂,萃取温度 80 ℃,压力为 1 500 Pa,静态提取 2 次,土壤中 MB46513、MB45950、氟虫腈、MB46136 的加标回收率高,且重现性好。与微波助萃取和振荡提取法相比,加速溶剂萃取法耗时短,有机溶剂用量少,且提取回收率高。

关键词:氟虫腈;加速溶剂萃取;微波萃取;振荡提取;气相色谱

中图分类号:X830.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2008)05-2114-04

Determination of Fipronil in Soils by Accelerated Solvent Extraction and Gas Chromatography

GUO Min^{1,2}, ZONG Liang-gang¹, SHAN Zheng-jun², SHI Li-li²

(1. College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Nanjing Institute of Environmental Science; The Key Laboratory of Pesticide Environment Assessment and Pollution Control, SEPA, Nanjing 210042, China)

Abstract: A procedure for fipronil and its metabolites determination in soils was studied by accelerated solvent extraction(ASE) method. Optimal condition of ASE analysis was 80 ℃ with a mixture of dichloromethane and acetone(1:1, V/V) for two cycles under 1 500 Pa. The recoveries of fipronil and its metabolites (MB46513, MB45950 and MB46136) in soils were good and the precision (RSD) were generally better than 10%. Comparing with other extraction techniques such as microwave assisted extraction(MAE) and shake bottle(SB) methods, the current method is faster and with less solvent consumption.

Keywords: fipronil; ASE; MAE; SB; gas chromatogram

氟虫腈(商品名称:锐劲特)是法国罗纳普朗克公司 1987 年开发的一种新型苯基吡啶类杀虫剂,具有触杀、胃毒和一定的内吸作用。该药活性高、杀虫谱广,可用于防治水稻、棉花、蔬菜等多种作物害虫,因而具有广泛的应用前景。然而,氟虫腈对许多水生生物具有高毒,尤其是对虾蟹类水生生物极为敏感,极微量的氟虫腈流入水体也会对其造成严重危害。同时有研究表明,氟虫腈在正常使用条件下,其代谢产物 MB46136、MB46513、MB45950 也都有毒性,有的毒性甚至远高于母体氟虫腈^[1-4]。因此对环境中氟虫腈及其

代谢产物残留的分析日趋重要。

目前,常用的提取环境介质中氟虫腈的方法主要有振荡提取法^[5,6]、超声提取法^[7],这些方法操作繁琐,耗费溶剂多,危害实验人员的健康。加速溶剂萃取法(ASE)是近几年发展起来的提取固体和半固体物质中有机物及其残留的方法,由于具有溶剂用量少、提取时间短和样品提取自动化的优点^[8,9],已被美国 EPA 收录为处理固体样品的标准方法之一^[10]。本实验研究了 ASE-GC 提取分析方法对土壤中氟虫腈及其代谢产物的提取效率,确定了 ASE 的最佳提取条件,并与传统的提取技术进行了比较分析。

1 试剂及主要仪器

1.1 试剂

氟虫腈(fipronil,99.9%)标准品,砒(sulfone,

收稿日期:2007-12-01

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAK02A0406)

作者简介:郭 敏(1983—),女,江苏江都人,硕士研究生,研究方向为农药环境行为研究。E-mail: gm_0308@163.com

通讯作者:宗良纲 E-mail: zonglg@njau.edu.cn

MB46136,99.7%), 氟 甲 腈 (fipronil -desulfinyl, MB46513,97.8%), 硫 醚 (sulfide,MB45950,98.8%), 均由德国拜耳作物科学公司提供。

乙酸乙酯、丙酮、无水硫酸钠、二氯甲烷(均为分析纯,南京化学试剂有限公司)。

Florisil 硅土(60~100 目,日本和光纯药工业株式会社),于 130 ℃下烘 8 h 活化。

1.2 主要仪器

Agilent-6890N 气相色谱仪,μ-ECD 检测器(Agilent, USA);

SB-2000 旋转蒸发仪(EYELA,上海爱朗仪器有限公司);

ES-315 高温高压灭菌锅(日本,Tomy Seiko Ltd);

ASE-300 快速萃取仪(Dianex,USA);

RS-20Ⅲ 高速离心机(日本,Tomy Seiko Ltd);

Mars X 微波萃取仪(CEM,USA)。

1.3 供试土壤

试验采用具有代表性的东北黑土、太湖水稻土与江西红壤,土壤经风干、磨碎后过 20 目筛备用,其基本理化性质见表 1。

表 1 供试土壤的基本理化性质

Table1 The properties of three kinds of the soil tested

Soil 土壤种类	Organic matter 有机质含量/g·kg ⁻¹	pH	CEC 阳离子交换量 /cmol(+)·kg ⁻¹	Soil type 土壤类型
Black soil	26.6	7.80	22.7	sandy
Rice soil	12.6	6.23	17.4	loamy soil
Red soil	9.94	5.29	10.6	clay

注:CEC 为阳离子交换量,cation exchange capacity。

2 试验方法

2.1 加速溶剂萃取法

称取经活化处理的 Florisil 硅土 5 g 于 34 mL 的萃取池中,再准确称取(10±0.05)g 样品和 10 g 无水硫酸钠混合均匀,置于萃取池中的 Florisil 硅土上层。用丙酮和二氯甲烷(1:1,V/V)混合溶剂,于温度 80 ℃、压强 1 500 Pa 条件下,预热 5 min,然后静态提取 5 min,用溶剂快速冲洗样品,空气吹扫收集全部提取液。加少量无水硫酸钠干燥后,用旋转蒸发仪浓缩至近干,N₂吹干后,乙酸乙酯定容,待 GC 分析。

2.2 振荡提取法

准确称取 (10±0.05)g 土壤样品, 分别加 30、30 mL 丙酮振荡提取两次, 转速 1 000 r·min⁻¹ 条件下离心 10 min,转移上清液至 250 mL 三角瓶中,经旋转蒸发仪浓缩去除丙酮后,加水 20 mL,再用乙酸乙酯(每

次 30 mL)萃取两次,合并有机相,浓缩、定容,待 GC 测定。

2.3 微波助萃取法

准确称取(10±0.05)g 土壤样品于萃取池中,加入 30 mL 丙酮和二氯甲烷的混合溶剂(1:1,V/V),置于微波萃取仪中,于温度 100 ℃、1 200 W 条件下,提取 10 min。提取液加少量无水硫酸钠干燥后浓缩,乙酸乙酯定容,待 GC 分析。

2.4 GC 测定条件

色谱柱:HPMS-5,30 m×0.25 mm×2.65 μm, 固定相为含 5%苯基的甲基硅酮。

进样口:250 ℃。

检测器:310 ℃。

柱温: 起始温度 150 ℃(2 min)—250 ℃(3 ℃·min⁻¹,3 min)—280 ℃(1 min)

载气(N₂,恒流):2.0 mL·min⁻¹;分流比 50:1,进样 1 μL。

上述色谱条件下,氟虫腈及其代谢产物的色谱保留时间分别为:MB46513 (12.509 min),MB45950 (16.352 min),氟虫腈(16.706 min),MB46136(20.219 min)。标准样品的色谱峰见图 1。

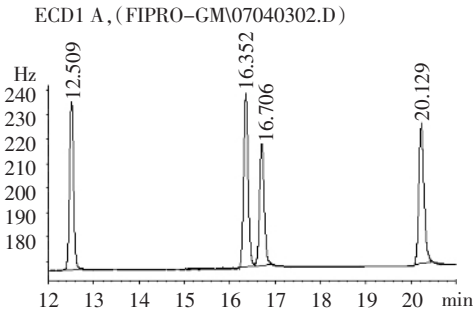


图 1 氟虫腈及其代谢产物标准样品色谱图(0.05 mg·L⁻¹)
Figure 1 Chromatogram of fipronil and its metabolites(0.05 mg·L⁻¹)

3 结果与分析

3.1 加速溶剂萃取条件的优化

3.1.1 萃取溶剂的选择

对土壤中氟虫腈农药及其代谢产物残留物的提取可选用不同的萃取溶剂,其中包括二氯甲烷、丙酮、乙酸乙酯等。本试验比较了二氯甲烷、丙酮单一溶剂和两者 1:1(V/V)的混合溶剂提取太湖水稻土中氟虫腈农药及其代谢产物的效果。结果表明,二氯甲烷的提取效率偏低,MB46513、MB45950、氟虫腈、MB46136 的回收率分别为 75%、75%、85%和 76%。丙酮的提取效率较二氯甲烷高,MB46513、MB45950、氟

虫腈、MB46136 的回收率分别为 85%、79%、113%和 103%,丙酮提取液干扰色谱峰较多,净化要求较高。二氯甲烷/丙酮为 1:1(V/V)的混合溶剂对氟虫腈及其代谢产物的回收效果较好,MB46513、MB45950、氟虫腈、MB46136 的回收率分别可达 90%、90%、105%和 95%,且杂质峰较少,不需净化即可用于 GC 测定。

3.1.2 提取温度的选择

温度是决定加速溶剂萃取效率的关键因素,温度太低达不到良好的提取效果,太高可能会造成某些不稳定组分的分解,且提取溶剂挥发损失严重。本实验用二氯甲烷/丙酮为 1:1(V/V)的混合溶剂为提取剂,选择 50℃、65℃和 80℃ 3 个温度进行了太湖水稻土中氟虫腈及其代谢产物的回收试验,结果见图 2。

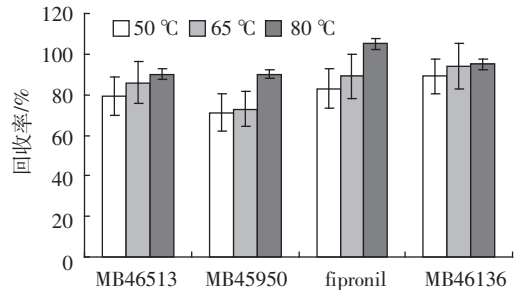


图 2 不同温度下氟虫腈及其代谢产物的回收效率
Figure 2 The recoveries of fipronil and its metabolites under different tempertures

从图 2 可以看出,一定程度的升高温度有利于氟虫腈及其代谢产物的提取。50℃萃取温度下,MB46513、MB45950、氟虫腈、MB46136 的回收率分别为 79%、71%、83%和 89%,相对标准偏差(RSD)分别为 9.5%、9.1%、9.8%和 8.5%;65℃萃取温度下,MB46513、MB45950、氟虫腈、MB46136 的回收率分别为 86%、73%、89%和 94%,RSD 分别为 10.1%、8.8%、10.7%和 11.3%;80℃时,MB46513、MB45950、氟虫腈、MB46136 的回收率分别为 90%、90%、105%和 95%,RSD 分别为 2.6%、2.1%、2.5%和 2.7%。以上数据显示:80℃就可以将土样中的氟虫腈及其代谢产物的残留物提取完全,且相对标准偏差较好。

3.1.3 静态循环提取次数的选择

静态循环次数是影响 ASE 提取效率的另外一个重要因素。本试验温度设置为 80℃,萃取溶剂为二氯甲烷/丙酮为 1:1(V/V)的混合溶剂,分别对静态循环 1 次和 2 次的提取效果进行了试验,结果见表 2。

从表 2 可以看出,静态循环提取 1 次时,MB46513、fipronil、MB46136 的回收率较好,但还原代

表 2 不同静态循环次数对氟虫腈及其代谢产物的影响(n=3)
Table2 Comparison of the recoveries of fipronil and its metabolites under different extracting cycles(n=3)

	静态循环提取 1 次 Cycle=1		静态循环提取 2 次 Cycles=2	
	回收率 Recovery/%	RSD/%	回收率 Recovery/%	RSD/%
MB46513	93.0	6.6	90.0	2.6
MB45950	77.0	6.5	90.0	2.1
fipronil	95.0	7.4	105	2.5
MB46136	100	8.5	95.0	2.7

谢产物 MB45950 的回收率较低;静态循环循环 2 次时,MB45950 的回收率有明显的提高,且 4 个组分回收率的相对标准偏差较循环 1 次好很多。

3.2 加速溶剂提取法与微波助萃取法、振荡提取法的比较

本试验同时比较分析了加速溶剂萃取、微波助萃取和振荡提取法对土壤中氟虫腈及其代谢产物的提取效果,结果见图 3。

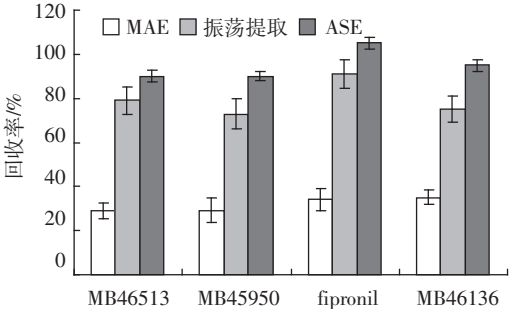


图 3 不同提取方法对氟虫腈及其代谢产物回收率的比较
Figure 3 Comparison of recoveries of fipronil and its metabolites using different extracting methods

微波助萃取法获得 MB46513、MB45950、氟虫腈、MB46136 的回收率分别为 29%、29%、34%和 35%,相对标准偏差(RSD)分别为 3.5%、5.6%、4.8%和 3.3%;振荡提取法对 MB46513、MB45950、氟虫腈、MB46136 的回收率分别为 79%、73%、91%和 75%,RSD 分别为 6.3%、6.9%、6.7%和 6.0%;快速萃取法对 MB46513、MB45950、氟虫腈、MB46136 的回收率分别为 90%、90%、105%和 95%,RSD 分别为 2.6%、2.1%、2.5%和 2.7%。

由图 3 可见,微波萃取法精密度较好,但提取效率较差;振荡提取法也具有较好的提取效果,但耗时、操作繁琐,而且费溶剂。与振荡提取法相比,加速溶剂萃取法所需时间大大缩短,且溶剂使用量也只有振荡提取法的三分之一。加速溶剂萃取能通过高温和高压迅速渗透到基体中提取目标物,且是一种省时、溶剂用量少的自动化样品前处理方法。

表 3 氟虫腈及其代谢产物在 3 种土壤中的回收率及其精密度($n=3$)

Table3 Recoveries and RSD of fipronil and its metabolites in three different soils ($n=3$)								
样品 Sample	添加浓度 Added /mg·kg ⁻¹	太湖水稻土 Rice soil		江西红壤 Red soil		东北黑土 Black soil		
		回收率 Recovery/%	RSD/%	回收率 Recovery /%	RSD/%	回收率 Recovery /%	RSD/%	
MB46513	0.050	104	6.9	108	6.7	106	6.5	
	0.50	90.0	2.6	83.0	4.1	84.0	3.4	
	1.0	88.0	4.0	82.0	1.8	79.0	1.2	
MB45950	0.050	97.0	9.3	99.0	5.1	83.0	4.2	
	0.50	90.0	2.1	79.0	3.3	83.0	4.2	
	1.0	89.0	5.0	79.0	1.9	102	2.2	
fipronil	0.050	99.0	9.5	105	5.8	106	4.1	
	0.50	105	2.5	100	3.3	105	5.0	
	1.0	111	4.8	107	2.3	105	1.8	
MB46136	0.050	89.0	9.1	97.0	6.7	96.0	6.6	
	0.50	95.0	2.7	94.0	3.7	90.0	4.1	
	1.0	101	4.4	100	2.0	91.0	2.1	

3.3 不同土壤中氟虫腈及其代谢产物的测定准确度与精密度

向太湖水稻土、江西红壤、东北黑土中添加不同含量水平的氟虫腈及其代谢产物,用加速溶剂萃取法对其进行回收率试验。加速溶剂萃取条件设定为:提取溶剂为二氯甲烷/丙酮为 1:1 (V/V),提取温度 80℃,静态循环提取 2 次。试验结果见表 2。

从表 3 可以看出,快速萃取法提取东北黑土、太湖水稻土和江西红壤中 MB46513、MB45950、氟虫腈、MB46136 的残留,回收率在 79%~111%之间,相对标准偏差在 1.2%~9.5%之间。ASE 可用于不同类型土壤中氟虫腈及其代谢产物的提取。

3.4 方法最低检测浓度

本方法条件下,仪器的最低检出量:MB46513、MB45950、氟虫腈、MB46136 分别为 2.2×10^{-13} 、 1.7×10^{-13} 、 2.3×10^{-13} 、 2.0×10^{-13} g,土壤样品中 4 种组分的最低检测浓度均可达 0.001 mg·kg⁻¹。

4 结论

(1)采用加速溶剂萃取法提取不同类型土壤中的氟虫腈及其代谢产物,在温度 80℃,压力 1 500 Pa 的条件下,用二氯甲烷/丙酮(1:1,V/V)的混合溶液静态提取 2 次,MB46513、MB45950、氟虫腈、MB46136 的回收率在 79%~111%之间,相对标准偏差在 1.2%~9.5%之间。

(2)与微波助萃取法和振荡提取法相比,加速溶剂萃取法提取的效果均高于 MAE 与振荡提取;而且加速溶剂提取法操作简单、耗时短、有机溶剂用量少,并且能实现自动化处理。

参考文献:

[1] Chaton P F, Ravanel P, Tissut M. Toxicity and bioaccumulation of fipronil in the nontarget arthropodan fauna associated with subalpine mosquito breeding sites[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2002, 52: 8–12.

[2] Schlenk D, Huggett D B, Allgood J, et al. Toxicity of fipronil and its degradation products to *Procambarus sp.*: Field and laboratory studies[J]. *Environmental Contamination and Toxicology*, 2001, 41: 325–332.

[3] 柏再苏. 锐劲特及其代谢和光降解产物的毒性综述 [J]. 现代农药, 2003, 2(3): 1–3.

BO Zai–su. Toxicity of fipronil and its degradation products[J]. *Modern Agrochemicals*, 2003, 2(3): 1–3.

[4] 单正军, 王连生, 蔡道基, 等. 新型杀虫剂锐劲特农药对甲壳类水生生物影响研究[J]. 中国农业科学, 2002, 35(8): 949–952.

SHAN Zheng–jun, WANG Lian–sheng, CAI Dao–ji, et al. Impacts of fipronil on aquatic organisms in paddy–fish pond ecosystem [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2002, 35(8): 949–952.

[5] 何艺兵. 氟虫腈在甘蓝和土壤中的残留分析方法 [J]. 农药科学与管理, 2000, 21(3): 16–19.

HE Yi–bing. Residue analysis method of fipronil in cabbage by GC–ECD [J]. *Pesticide Science and Administration*, 2000, 21(3): 16–19.

[6] Zhou Pei, Lu Yi–tong, Liu Bao–feng, et al. Dynamics of fipronil residue in vegetable–field ecosystem [J]. *Chemosphere*, 2004, 57: 1691–1696.

[7] 操海群, 施艳红, 花日茂, 等. 氟虫腈在番茄和土壤中残留分析方法的研究[J]. 安徽农业大学学报, 2005, 32(1): 31–35.

CAO Hai–qun, SHI Yan–hong, HUA Ri–mao, et al. Study on analytical method of fipronil residue in tomato and soil[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2005, 32(1): 31–35.

[8] Chuang J C, Hart K, Chang J S, et al. Evaluation of analytical methods for determining pesticides in baby foods and adult duplicate–diet Samples[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2001, 444: 87–95.

[9] Richter B E. Extraction of hydrocarbon contamination from soils using accelerated solvent extraction[J]. *Journal of Chromatography A*, 2000, 874: 217–224.