

粮食中绿麦隆残留量的气相色谱分析

黎源倩 牟文萱 孙成均 张继英

(华西医科大学公共卫生学院, 成都, 610041)

向仕学

杨庆

(四川省卫生防疫站, 成都, 610031)

(四川省劳动卫生职业病防治研究所, 成都, 610041)

摘 要

本文用七氟丁酸酐直接衍生化气相色谱法测定粮食中绿麦隆农药残留量。粮食样品用甲醇-水提取, 滤液用二氯甲烷或三氯甲烷-石油醚混合溶剂萃取, 经硅镁吸附剂净化, 以丙酮-石油醚为洗脱剂, 洗脱液浓缩后用七氟丁酸酐直接衍生化, 采用气相色谱法, 电子捕获检测器测定。方法的线性范围为 $0-2.5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。对 5g 粮食样品, 方法检出限为 $0.01 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。对于小麦、玉米和大豆样品, 加标回收率为 82.4—91.2%, 相对标准偏差为 4.1—10.3%。对实际样品的测定和有关单位验证的结果表明, 本方法适合于粮食中绿麦隆残留量的测定。

关键词: 绿麦隆, 农药残留量分析, 粮食, 气相色谱。

绿麦隆 (Chlorotoluron) 的化学名称为 $N'-(3\text{-氯-4-甲基苯基})\text{-N,N-甲基脲}$, 是一种选择性内吸传导型除草剂。适用于玉米、小麦、大豆、高粱田防除多种杂草, 自 80 年代以来已在我国广泛使用。该农药虽属低毒类, 但是在土壤中残效期较长。近年来的研究表明, 绿麦隆有一定的致突变活性^[1]。

对于绿麦隆残留量的测定, 通常是使该农药水解生成相应的苯胺后进行衍生化气相色谱分析^[2]。这类方法操作繁琐费时, 又不能区别不同的取代脲类农药。近年来, 国外采用高效液相色谱法测定水和蔬菜中绿麦隆残留量也有报道^[3]。本文探讨了小麦、大豆和玉米粮食样品的提取和净化的最佳条件, 建立了七氟丁酸酐直接衍生化气相色谱法, 用以测定粮食中绿麦隆农药的残留量。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

1002 型气相色谱仪, 带有电子捕获检测器 (上海分析仪器厂); 电动振荡器; 小型全玻璃减压蒸馏装置或旋转蒸发器。

本方法中, 所用试剂均为分析纯, 有机溶剂经重蒸馏处理, 试验用水为蒸馏水。

硅镁吸附剂: 100—200 目, 于 550°C 灼烧 3h。使用前取 100g 硅镁吸附剂加 5ml 蒸馏水减活, 平衡过夜, 混匀备用。

绿麦隆标准溶液： $100\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ，(GBS G23079-92)，于冰箱中保存，临用时用正己烷稀释成 $10\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的标准使用液。

1.2 实验方法

1.2.1 提取

称取 25g 粉碎并通过 20 目筛的粮食样品，加入 120ml 甲醇-水 (3:2, V/V) 振荡提取 30min，用快速定性滤纸过滤，残渣再加 80ml 上述溶剂振摇提取 30min，过滤，合并滤液，用上述提取液定容至 250ml。

对于玉米和大豆样品，取 50ml 滤液 (相当于 5g 样品)，加入 20ml 饱和氯化钠溶液和 30ml 蒸馏水，用二氯甲烷-石油醚 (3.5:6.5) 混合溶剂振摇提取 3 次，每次用溶剂 20ml，振摇 1min，合并提取液。对于小麦样品，取 50ml 滤液，加入 50ml 饱和氯化钠溶液，用三氯甲烷-石油醚 (3.5:6.5) 提取 3 次，每次 20ml，振摇 1min。合并提取液和乳化层，再用 20ml 饱和氯化钠溶液振摇 1—2 次，弃去下层氯化钠溶液。

以上提取液经无水硫酸钠过滤，滤液于 60℃ 恒温水浴上减压蒸去大部分溶剂，用 N_2 吹干溶剂。用 5ml 石油醚溶解残渣，供净化用。

1.2.2 净化

用装有 10g 硅镁吸附剂的层析柱净化，以 60ml 丙酮-石油醚 (1:4) 淋洗，洗脱速度 $0.5\text{—}1\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ，洗脱液于 60℃ 恒温水浴上减压浓缩近干，用 N_2 吹干，供衍生化用。

1.2.3 衍生化

在残渣中准确加入 4ml 正己烷和 $20\mu\text{l}$ 七氟丁酸酐，混匀后于 $60\pm 1^\circ\text{C}$ 反应 1h。用水冷至室温，加入 4ml 碳酸氢钠溶液，混匀，静置，取上层正己烷溶液进行气相色谱分析。

1.2.4 色谱条件

$2\text{m}\times 3\text{mm}$ 不锈钢色谱柱，内装涂有 3%OV-17 的 Chromosorb W AW DMCS (80—100 目)。柱温为 175°C ，进样口和检测室温度为 230°C 。氮气流速为 $30\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ，进样量为 $2\mu\text{l}$ 。

2 结果与讨论

2.1 粮食样品的提取条件选择

常温下，绿麦隆在水中的溶解度很小，易溶于丙酮、三氯甲烷和二氯甲烷。采用甲醇、丙酮和二氯甲烷等纯溶剂对粮食样品进行振摇提取，色素等杂质溶出多，难于净化。而用不同比例的甲醇-水作提取溶剂，有利于粮食中残留的内吸性农药绿麦隆溶出。通过比较，用甲醇-水 (3:2) 振摇提取，液-液萃取过程中的乳化现象明显减轻。用加标放置数月的粮食样品进行提取效率试验，结果为 92.1—94.7%。

对于液-液萃取，用二氯甲烷或三氯甲烷萃取粮食样品乳化严重。经反复试验，大豆和玉米样品，用二氯甲烷-石油醚 (3.5:6.5) 提取，小麦样品用三氯甲烷-石油醚 (3.5:6.5) 作提取液，可避免较多的极性杂质进入提取液，又可基本上消除乳化现象。

2.2 样品净化条件的选择

通过比较, 我们采用硅镁吸附剂净化样品提取液, 用丙酮-石油醚作淋洗剂, 并对淋洗剂中丙酮的比例和淋洗剂的用量进行了试验.

(1) 丙酮-石油醚淋洗剂比例的选择 用 7 根硅镁吸附剂层析柱, 加入一定量绿麦隆标准使用液于各柱上, 分别用相同体积含丙酮 5%, 10%, 15%, 18%, 20%, 25% 和 30% 的丙酮-石油醚进行洗脱. 当淋洗液中丙酮含量低于 10% 时, 绿麦隆不能被洗脱, 随着淋洗液中丙酮含量增加, 绿麦隆的洗脱量也增多. 丙酮含量为 18% 时, 绿麦隆的洗脱率达 95.2%, 丙酮含量为 20% 时, 洗脱效率为 99%. 但当淋洗液中丙酮的含量再增高时, 杂质的洗脱量也显著增加, 因此, 本方法选用丙酮-石油醚 (1:4) 为淋洗剂.

(2) 淋洗剂用量的选择 吸取一定量绿麦隆标准使用液于层析柱上, 用 120ml 丙酮-石油醚 (1:4) 淋洗剂洗脱. 分段收集 0—20, 20—40, 40—60, 60—80, 80—120ml 洗脱液, 分别测定其洗脱效率, 结果见表 1.

表 1 淋洗液用量的选择
Table 1 Selection of eluent volume

淋洗剂用量/ml	0—20	20—40	40—60	60—80	80—120
洗脱效率/%	36.8	60.6	1.7	0.5	0.4
累积洗脱效率/%	36.8	97.4	99.1	99.6	100.0

由表 1 可见, 当淋洗剂用量为 60ml 时, 洗脱效率可达 99.1%, 所以我们选择 60ml 丙酮-石油醚 (1:4) 作为淋洗剂.

2.3 优化衍生化反应的条件

由于绿麦隆等取代脲类农药在通常的气液色谱条件下, 直接测定容易发生热分解反应, 常需衍生化后再进行色谱分析. Brinkman 和 Stan 等人对取代脲类农药不经水解, 用七氟丁酸酐直接衍生化进行了研究^[4,5]. 我们以正己烷、异辛烷、甲苯 (加有少量的吡啶作催化剂) 为溶剂进行衍生化反应, 比较绿麦隆衍生化产物的色谱峰高和峰形. 实验结果表明, 以正己烷或甲苯为溶剂时色谱峰对称, 灵敏度高. 由于甲苯毒性较大, 本法采用正己烷为衍生化反应的溶剂.

我们进一步对衍生化反应的温度和时间进行了试验, 按上述衍生化步骤分别在室温放置 2h 或在 40, 60, 70℃ 加热反应 1h. 实验表明, 在室温和 40℃ 衍生化效率低, 加热有利于衍生化反应的进行, 但是当反应温度为 70℃ 时, 正己烷挥发量较大, 影响定量的准确性, 故本法选用 60℃ 为衍生化反应的最佳温度. 在此衍生化温度下, 分别反应 15, 30, 60, 120 和 180min. 结果表明, 衍生化反应的时间为 30—120min 时绿麦隆衍生化产物的色谱峰高和峰面积无明显变化; 加热时间短, 反应不完全, 测定结果偏低. 反应时间为 180min 时, 峰高有下降的趋势. 因此, 本试验采用在 60±1℃ 恒温水浴中加热 1h 为衍生化反应的最佳条件.

2.4 方法的检出限和线性范围

用正己烷配制浓度为 0, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的绿麦隆标准系列,

按上述分析步骤进行测定, 绘制标准曲线. 线性回归方程为 $y=9.89x-0.09$, 相关系数 $r=0.9992$. 由此可见, 绿麦隆的浓度在 $0-2.5\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 范围内, 与其色谱峰高呈良好的线性关系.

在本法的色谱条件下, 以基线噪声的 2 倍所相当的绿麦隆含量为方法的最低检出量, 当进样量为 $2\mu\text{l}$ 时, 最低检出量为 0.025ng . 对于 5g 粮食样品, 本法的最低检出浓度为 $0.01\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

2.5 准确度和精密度试验

对施用过绿麦隆除草剂的粮食样品, 分别加入 3 种不同水平的绿麦隆标准溶液, 按上述分析步骤测定, 每个水平测定 6 次, 结果见表 2. 加标回收范围为 $82.4-91.2\%$, 相对标准偏差为 $4.1-10.3\%$. 本方法经四川省卫生防疫站和四川省劳动卫生职业病研究所验证, 加标回收率和相对标准偏差均能满足农药残留量分析的要求. 标准溶液色谱图和样品色谱图见图 1.

表 2 粮食样品的精密度和准确度试验

Table 2 Tests of precision and accuracy of grain samples

样品	本底值/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	加标浓度/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$\bar{x}\pm\text{SD}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	回收率/%	RSD/%
大豆	0.0094	0.10	0.098 ± 0.007	88.6	7.1
		0.20	0.184 ± 0.019	87.3	10.3
		0.40	0.348 ± 0.023	84.7	6.6
小麦	0.0203	0.10	0.107 ± 0.009	86.7	8.4
		0.20	0.185 ± 0.013	82.4	7.0
		0.40	0.385 ± 0.029	91.2	7.5
玉米	0.0301	0.20	0.204 ± 0.014	87.0	6.9
		0.40	0.418 ± 0.017	86.9	4.1
		0.60	0.588 ± 0.056	86.7	9.5

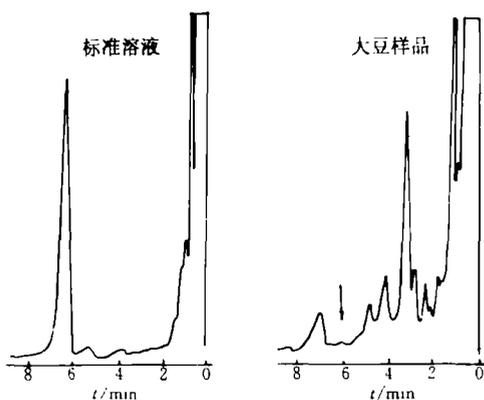


图 1 标准溶液和大豆样品的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of standard solution and soybean

参 考 文 献

- [1] 吴世昌等, 新农药荟萃. 第一版, 北京: 中国农业科学出版社, 1992, p223-225
- [2] 馮涛, 陈鹤鑫, 陆貽通, 农药残留分析方法. 上海: 上海科技出版社, 1992, p253-256
- [3] Stan H J, Klaffenbach P, Determination of Thermolabile Urea Pesticides after Derivatization with HFBA Using GC-ECD and Confirmation by Means of GC-MS. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1991, **339**: 40
- [4] Brindman U A Th, Kok A Deand, Geerdink R B, Determination of Phenyl-Urea Herbicides via Direct Derivatization with Heptafluorobutyric Anhydride. *J. Chromatogr.*, 1984, **283**: 113

1996年1月4日收到.

GAS CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS OF CHLOROTOLURON RESIDUE IN GRAINS

Li Yuanqian Mu Wenzuan Sun Chengjun Zhang Jiying

(School of Public Health, West China University of Medical Sciences, Chengdu, 610041)

Xiang Shixue

(The Health and Anti-Epidemic Station of Sichuan Province, Chengdu, 610031)

Yang Qing

(Sichuan Institute of Occupational Medicine, Chengdu, 610041)

ABSTRACT

A method for determination of Chlorotoluron residue in grains by gas chromatography was developed. The grain sample was extracted with methanol-water (3 : 2). The filtrate was re-extracted with dichloromethane-petroleum (3.5 : 6.5) for maize and soybean, with trichloromethane-petroleum (3.5 : 6.5) for wheat. The extract was cleaned up on a florisil column and followed by analysis with GC/ECD. The linear range of the method was $0-2.5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. The detection limit was $0.01 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ for a grain sample of 5g. The recoveries of spiked samples ranged from 82.4—91.2% with the relative deviation standard of 4.1—10.3%. This method was experimentally verified by the relevant departments and the application in determination of grain samples showed that this method was sensitive, reliable and suitable for analysis of Chlorotoluron residue in grains.

Keywords: Chlorotoluron, analysis of pesticide residue, grain, gas chromatography.