

甲草胺在花生中的残留分析及其稳定性

段劲生^{1,2}, 岳永德³, 花日茂¹, 汤锋¹

(1.安徽农业大学 资源与环境学院, 合肥 230031; 2.安徽省农作物品质改良重点实验室, 安徽省农业科学院 植物保护研究所, 合肥 230031; 3.国际竹藤网络中心, 北京 100102)

摘要:研究了甲草胺在花生中的残留分析方法和甲草胺的稳定性。样品以丙酮-水(体积比4:1)振荡提取, 石油醚液-液分配, 中性氧化铝柱层析净化, 气相色谱测定。结果表明:甲草胺最小检出量为 3.0×10^{-11} g, 花生中最低检测质量分数为0.008 mg/kg, 花生添加质量分数0.1~1.0 mg/kg, 回收率为78.10%~85.59%, 变异系数为0.64%~3.70%;冷藏(4℃)条件下甲草胺标准溶液可贮存10~20 d, 甲草胺花生提取液可贮存10~20 d。

关键词:甲草胺;花生;残留分析;稳定性

中图分类号:TQ450.2 文献标志码:A 文章编号:1006-0413(2009)09-0664-03

Analytical Method of Alachlor Residue in Peanut and Alachlor Stability

DUAN Jin-sheng^{1,2}, YUE Yong-de³, HUA Ri-mao¹, TANG Feng¹

(1.School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230031, China; 2.Anhui Key Laboratory for Crop Quality Improvement, Institute of Plant Protection, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei 230031, China; 3.International Center for Bamboo and Rattan, Beijing 100102, China)

Abstract: The analytical method of alachlor residue in peanut and alachlor stability was investigated. The samples were extracted with acetone-water (4:1, by vol) by oscillation method, petroleum ether by liquid-liquid partition, cleaned up by neutral alumina column chromatography and determined by GC. The minimum detectable amount of alachlor was 3.0×10^{-11} g, and the minimum detectable concentration was 0.008 mg/kg, peanut samples were fortified with alachlor at levels between 0.1 and 1.0 mg/kg, the recoveries was in the range of 78.10-85.59%, and CV was 0.64-3.70%. The effective stocking time of standard solution under the condition of refrigerating in 4℃ was from 10 to 20 days, and the effective stocking time of the extracting solution of peanut was from 10 to 20 days.

Key words: alachlor; peanut; residue analysis; stability

甲草胺(alachlor)是由美国孟山都公司研制的一种酰胺类除草剂,其作用机制是抑制蛋白酶的活性,阻碍蛋白质的合成;甲草胺对禾本科杂草有较好的效果,能有效地防除大豆、玉米、花生等作物田中的杂草^[1],是我国北方地区常用的除草剂之一。目前,国内外测定甲草胺残留量的方法主要有GC、HPLC、HPLC-MS、GC-MS、ELISA等^[2-9],其中对花生中甲草胺残留分析的主要采用GC-FID检测其代谢产物2,6-二乙基苯胺(DEA),再折算成甲草胺。这些方法存在耗时、成本高、溶剂毒性强等问题,同时被测农药的稳定性对农药残留检测的时效性和准确性起着重要的作用,目前,有关甲草胺的稳定性研究未见报道。本文研究了甲草胺在花生中的残留分析方法,该方法具有成本低、易操作、环境友好、适应性广等特点;同时探索了不同贮存条件下甲草胺在有机溶剂、花生提取液、花生基质中的稳定性,从而为从事甲草胺残留检测工作的部门提供参考。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

供试花生购自市场,样品用多功能食品加工机捣碎,置

于冰箱(-20℃)备用。甲草胺标准溶液:准确称取甲草胺标准品(纯度94.4%,农业部农药检定所提供)16.2 mg于10 mL容量瓶中,用乙腈(分析纯)作为溶剂,配成1.529 g/L贮备液,贮存于4℃冰箱中备用,再用石油醚稀释配成不同质量浓度的标准溶液;丙酮、乙腈、石油醚、二氯甲烷、无水硫酸钠、氯化钠均为分析纯;中性氧化铝(层析用,在550℃下灼烧4 h,冷却后加5%水脱活,存放于干燥器内备用;有效保存期1周,超过1周用前130℃烘5~12 h,冷却后加5%水脱活)。

1.2 仪器设备

电子天平(FA1104,上海天平仪器厂),超声波清洗器(SB3200,上海必能信超声有限公司),旋转蒸发器(RE-52,上海青浦沪西仪器厂),水浴恒温振荡器(SHA-C,北京仪诚科技公司),多功能食品加工机(SQ2119,上海帅佳电子科技有限公司),气相色谱仪(Agilent 6890 Series,配ECD Ni⁶³,美国安捷伦科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 甲草胺在花生中的残留分析

1)添加农药 准确称取10.0 g粉碎的花生样品于具塞

收稿日期:2009-03-18,修返日期:2009-05-15

基金项目:国家“十五”重大科技专项资助项目(2001-BA804A17)

作者简介:段劲生(1977—),男,助理研究员,硕士,主要从事农药残留环境毒理、植物保护方面研究工作。Tel:0551-5160945, E-mail:djszbs@yahoo.com.cn。

通讯作者:岳永德。E-mail:yueyd@icbr.ac.cn。

三角瓶中,移取质量浓度10.0 mg/L甲草胺标准溶液,使花生样品的添加质量分数为0.1、0.5、1.0 mg/kg,每个质量分数设置3个重复,同时设置基质空白为对照。待其充分平衡后,进行样品的提取。

2)样品的提取 向上述已添加好的花生样品中加50 mL丙酮-水(体积比4:1),然后振荡提取40 min,残渣用20 mL丙酮分2次洗涤(10 mL/次),过滤,合并滤液于分液漏斗中。

3)样品的净化 向分液漏斗中加8%氯化钠水溶液25 mL,再分别用石油醚25 mL萃取3次,石油醚层过无水硫酸钠,于40~45 ℃浓缩至2 mL,待柱层析净化。

装柱自下而上依次是2 cm无水硫酸钠、6.0 g中性氧化铝(加5%水脱活)、2 cm无水硫酸钠;先用20 mL二氯甲烷预淋,待预淋液的液面接近无水硫酸钠面时上样品液,当样品液的液面降至无水硫酸钠面以下时,弃去预淋液,然后用60 mL二氯甲烷淋洗,收集并浓缩至近干,再用5 mL石油醚转容,继续浓缩至近干,定容至5 mL,待测。

4)气相色谱分析条件 Agilent 6890 Series气谱仪,ECD Ni⁶³检测器;色谱柱为1.5 m×0.3 mm玻璃柱;固定液:3% OV-101;担体为Chromosorb W AW DMCS(150~180 μm);柱室温200 ℃,进样口温度260 ℃,检测器温度310 ℃;载气及流速为高纯氮气(99.99%)50 mL/min;进样量2 μL。

1.3.2 甲草胺的稳定性

1)标准溶液中甲草胺的稳定性 将新配好的质量浓度为1.0 mg/L标准溶液,在不同的贮存条件下即冷冻(-20 ℃)、冷藏(4 ℃),封口贮存一定时间后(0、10、20、30、50 d)进样,研究其稳定性。

2)花生提取液中甲草胺的稳定性 采用上述研究建立的方法进行花生的添加回收实验,花生的添加质量分数为0.5 mg/kg,所获得花生提取液于4 ℃冰箱冷藏室中贮存0、5、10、20 d,取出检测,研究甲草胺在花生提取液中的稳定性。

2 结果与分析

2.1 甲草胺标准曲线的建立

分别以0.1、0.5、0.75、1.0、1.5 mg/L系列质量浓度的甲草胺标准溶液进样,以进样量(ng)为横坐标、响应峰高(Hz)为纵坐标,制作标准曲线。其直线回归方程为 $y=11030x+102.63(r=0.9998)$ 。进样量在 $2\times10^{-10}\sim3.0\times10^{-9}$ g之间,甲草胺有良好的线性关系;在此检测条件下甲草胺标样的色谱图见图1,甲草胺的最小检出量为 3.0×10^{-11} g。

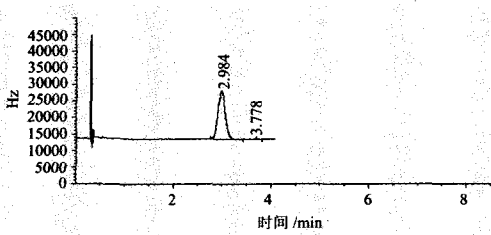


图1 甲草胺标样的气相色谱图

2.2 添加回收率测定

准确称取10.0 g粉碎的花生样品,添加适量的甲草胺标准溶液,使其添加质量分数分别为0.1、0.5、1.0 mg/kg,然后按上述提取和净化方法进行添加回收测定。结果(见表1)表明:花生添加质量分数0.1~1.0 mg/kg,回收率为78.10%~85.59%,变异系数为0.64%~3.70%。该方法的最低检测质量分数为0.008 mg/kg。甲草胺在花生中的添加样品和空白样品色谱图见图2。

表1 花生中甲草胺的添加回收率

添加质量分数/ (mg·kg ⁻¹)	回收率/ %	平均回收率/ %	相对标准偏差/ %	变异系数/ %
0.1	78.10~78.98	78.68	0.50	0.64
0.5	83.02~85.59	84.00	1.65	1.96
1.0	78.65~84.48	82.05	3.04	3.70

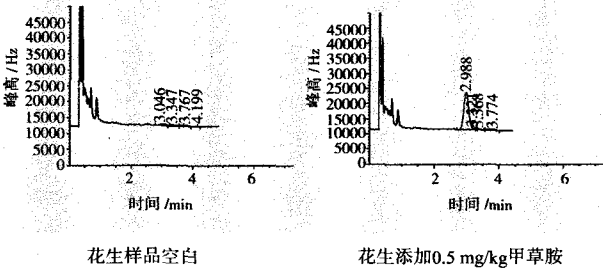


图2 花生添加回收的气相色谱图

2.3 甲草胺的稳定性

2.3.1 标准溶液中甲草胺的稳定性

用石油醚所配的质量浓度为1.0 mg/L的甲草胺标准溶液,在不同的贮存条件下贮存,与新配的标准溶液比较测定,研究其稳定性,结果见图3。

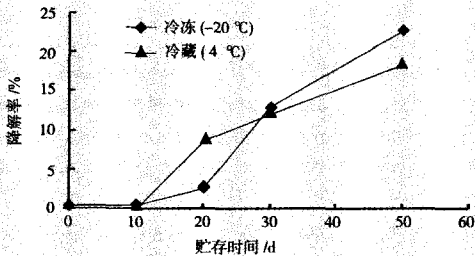


图3 不同贮存条件对标准溶液中甲草胺的影响

由图3可知:在冷冻(-20 ℃)条件下贮存20 d,标准溶液中的甲草胺较稳定,几乎不发生变化,贮存20 d后发生降解;供试标准溶中的甲草胺在冷藏(4 ℃)条件下贮存10 d后发生降解,贮存20 d降解达8.53%。因此,甲草胺标准溶液在冰箱冷藏(4 ℃)条件下贮存,可贮存10~20 d。

2.3.2 花生提取液中甲草胺的稳定性

研究结果(见表2)表明:随着贮存时间的增加,甲草胺在花生提取液中的残存质量浓度逐渐降低,但下降不明显。在冷藏(4 ℃)条件下贮存0、5、10、20 d,花生提取液中甲草胺的降解率分别为0.275%、3.57%、6.55%。因此得出花生提取液在4 ℃冷藏可贮存10~20 d。

表2 花生提取液中甲草胺的稳定性

贮存时间/d	降解率/%	差异显著性(P=0.05)
0	0	a
5	2.75	ab
10	3.57	ab
20	6.55	b

3 结论

利用气相色谱法测定花生中甲草胺的残留量,方法的灵敏度、准确度及精密度均能满足农药残留分析的要求,且线性关系良好。整套方法的使用成本低、前处理简单,符合农药残留分析发展的方向。探讨了标准溶液和花生提取液中甲草胺的稳定性。研究结果表明:冷藏(4 ℃)条件下甲草胺标准溶液可贮存10~20 d,花生提取液可贮存10~20 d。

(上接第659页)

本项研究选择在胚胎7.5~11.5 d暴露CPF,正是多巴胺能神经元起始发生的关键时期。目前国内外尚无同类报道。研究结果表明:CPF造成了子代鼠纹状体脑区神经元的损伤,导致多巴胺含量下降,并造成了直至成年期(PN35)的小鼠运动平衡能力下降。这说明CPF在妊娠期的暴露,能通过母婴传递,引起后代永久性的选择性脑机能损伤。神经发育毒是一种低剂量下发生的毒性反应,与经典的有机磷农药毒性评价指标——乙酰胆碱酯酶活力抑制并不对应,可能发生于上述标准的亚中毒剂量或阈下剂量,因此,需要进行特殊评价,以更充分地保护子孙后代的智能健康^[9]。

参考文献:

- [1] STEPHANIE J G, FREDERIC J S, THEODORE A. Slotkin. Developmental Neurotoxicity of Chlorpyrifos: Targeting Glial Cells[J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2005, 19: 455-461.
- [2] COX RH, PREHACJHR J L. A Sensitive, Rapid and Simple Method for the Simultaneous Spectrophotofluorometric Determinations of Norepinephrine, Dopamine, Shydroxytryptamine and 5-Hydroxyindoleacetic Acid in Discrete Areas of Brain[J]. *J Neurochem*, 1973, 20: 1777-1780.
- [3] JACOBOWITZ D M, RICHARDSON J S. Method for the Rapid Determination of Norepinephrine, Dopamine, and Serotonin in the Same Brain Region[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1978, 8(5): 515-519.
- [4] MIZOGUCHI K, IKEDA R, SHOJI H, *et al.* Suppression of Glucocorticoid Secretion induces a Behaviorally Depressive State in Rotarod Performance in Rat[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2008, 90: 730-734.
- [5] NATHAN R R, DOUGLAS W, JOHN C C. Influence of Task Parameters on Rotarod Performance and Sensitivity to Ethanol in Mice[J]. *Behav Brain Res*, 2003, 141: 237-249.
- [6] LEVIN E D, ADDY N, NAKAJIMA A, *et al.* Persistent Behavioral Consequences of Neonatal Chlorpyrifos Exposure in Rats[J]. *Dev Brain Res*, 2001, 130: 83-89.
- [7] MORLEY B J, HAPPE H K. Cholinergic Receptors: Dual Roles in Transduction and Plasticity[J]. *Hear Res*, 2000, 147: 104-112.
- [8] BROWN N A, FABRO S. Quantitation of Rat Embryonic Development *in vitro* a Morphological Scoring System[J]. *Teratology*, 1981, 24: 65-78.
- [9] RAUH V A, GARFINKEL R, PERERA F P, *et al.* Impact of Prenatal Chlorpyrifos Exposure on Neurodevelopment in the First 3 Years of Life Among Inner-city Children[J]. *Pediatrics*, 2006, 118: 1845-1859.
- [1] 华南农业大学. 植物化学保护[M]. 2版. 北京: 农业出版社, 1996: 348.
- [2] 农业部农药检定所. 农药残留量实用检测手册(一)[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1995.
- [3] 国家商检局FDA-PAM编译组编译. FDA-PAM美国食品药品监督管理局农药残留量分析手册[M]. 湖南: 湖南科学技术出版社, 1990.
- [4] BARBARA, DOHMAN, AMMANN, *et al.* Gas-liquid Chromatographic Determination of Alachlor Herbicide Residues in Corn and Soybeans[J]. *J AOAC*, 1976, 59(4): 859-861.
- [5] FAVA L, BOTTONI P, CROBE A, *et al.* Leaching Properties of Some Degradation Products of Alachlor and Metolachlor[J]. *Chemosphere*, 2000(41): 1503-1508.
- [6] ALBANIS T A, HELA D G, SAKELLARIDES T M, *et al.* Monitoring of Pesticides and Their Metabolites in Surface and Underground Waters of Imathia (N. Greece) by Means of Solid-phase Extraction Disks and Gas Chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 1998(823): 59-71.
- [7] HOSTETLER K A, THURMAN E M. Determination of Chloroacetanilide Herbicide Metabolites in Water Using High-performance Liquid Chromatography-diode Array Detection and High-performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry[J]. *The Science of the Total Environment*, 2000(248): 147-155.
- [8] ZANG Lun-yi, JEAN D H, AARON Y, *et al.* Determination of Alachlor and Its Metabolites in Rat Plasma and Urine by Liquid Chromatography-electrospray Ionization Mass Spectrometry[J]. *Journal of Chromatography B*, 2002(767): 93-101.
- [9] ANTONIO G J, MIGUEL C J, MAQUIEIRA A, *et al.* Rapid Trace Analysis of Alachlor in Water and Vegetable Samples[J]. *Journal of Chromatography A*, 2002(963): 125-136.

责任编辑: 李新

责任编辑: 李新