

· 研究论文 ·

乙虫腈在水稻土壤和田水中的残留及消解动态研究

尚子帅, 吴慧明, 秦丽, 马新生, 刘菲菲, 朱国念*

(浙江大学 农药与环境毒理研究所, 杭州 310029)

摘要:为研究乙虫腈对淹水稻田土壤生态环境的安全性,在田间和室内模拟试验条件下,定期取样检测了乙虫腈在土壤和田水中的消解动态。样品采用醋酸-乙腈(1:99,体积比)提取,经*N*-丙基乙二胺(PSA)净化,超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)检测,外标法(ESTD)定量。结果表明,在0.001~0.1 mg/L质量浓度范围内,乙虫腈的仪器响应值与质量浓度呈良好的线性关系,相关系数均在0.98以上。方法的最小检出量(LOD)为 2.2×10^{-13} g,乙虫腈在稻田土壤和田水中的最低检测浓度(LOQ)为0.001 mg/kg(L)。当土壤中的添加水平为0.002~1.0 mg/kg时,回收率在80.2%~119.5%之间,相对标准偏差(RSD)最大为9.0%;田水中的添加水平为0.001~1.0 mg/L时,回收率在94.2%~108.2%之间,RSD最大为13.2%。消解动态试验结果表明,乙虫腈在水稻土壤和田水样品中的消解均符合一级动力学方程,其在室内外水稻土壤及田水中消解迅速,半衰期分别为3.2~2.8 d和3.5~1.8 d,属于易降解性农药。

关键词:乙虫腈;超高效液相色谱-串联质谱;稻田土壤;水;消解动态

DOI:10.3969/j.issn.1008-7303.2011.06.13

中图分类号:O657.63

文献标志码:A

文章编号:1008-7303(2011)06-0632-05

Residue decline study of ethiprole in paddy field soil and water

SHANG Zi-shuai, WU Hui-ming, QIN Li, MA Xin-sheng,
LIU Fei-fei, ZHU Guo-nian*

(Institute of Pesticide and Environmental Toxicology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: In order to study the safety of ethiprole to paddy soil ecosystem, residue decline of ethiprole in soil and water were investigated under field and field-simulated condition. The samples were extracted by acetic-acetonitrile (1:99, V:V), cleaned up with primary secondary amine (PSA), and analyzed by UPLC-MS/MS. External reference method was used for quantitative determination. The linearity was satisfied ($r > 0.98$) in the concentration range of 0.001 - 0.1 mg/L. The limit of detection (LOD) was 2.2×10^{-13} g, and the limit of quantification (LOQ) in paddy soil and water were 0.001 mg/kg (L). The average fortification recoveries varied from 80.2% to 119.5% with relative standard deviation (RSD) of 3.1% - 9.0% when ethiprole was spiked at 0.002 - 1.0 mg/kg level in soil matrix, the average fortification recoveries varied from 94.2% - 108.2% with relative standard deviation (RSD) of 1.6% - 13.2% when ethiprole was spiked at 0.001 - 1.0 mg/L level in water matrix. The decline study of ethiprole residue in paddy field soil and water were carried out, the decline curves accorded with the first-order kinetics equation, and the half-lives of ethiprole in soil and

收稿日期:2011-09-06;修回日期:2011-10-19.

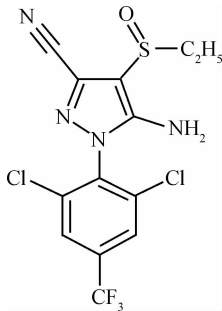
作者简介:尚子帅(1987-),男,河北承德人,硕士研究生, E-mail: shangzishuai@163.com; *通讯作者(Author for correspondence):朱国念(1957-),男,浙江诸暨人,教授,博士生导师,主要从事农药残留分析和农药环境毒理研究,电话:0571-86971220, E-mail: zhugn@zju.edu.cn

water under field-simulated and field condition were of 3.2 – 2.8 d and 3.5 – 1.8 d, respectively.

Ethiprole belongs to the easily degradable pesticide.

Key words: ethiprole; UPLC-MS/MS; paddy soil; water; residue decline study

乙虫腈(ethiprole)是由罗纳普朗克公司发现、拜耳公司开发的新型苯吡唑类杀虫剂,化学名称为5-氨基-1-(2,6-二氯-对三氟甲基苯基)-4-乙基亚磺酰基吡唑-3-腈,相对分子质量为397.21^[1],结构式见Scheme 1。其纯品外观为白色无特殊气味晶体粉末,蒸气压(25℃)为 9.1×10^{-8} Pa,在水中的溶解度(20℃)为9.2 mg/L,在正辛醇/水中的分配系数(20℃)为2.9,中性和酸性条件下稳定,溶于大多数有机溶剂。



Scheme 1

目前国内外尚未见有关乙虫腈残留分析的研究报道。Caboni等^[2]研究发现,乙虫腈与氟虫腈在光化学、代谢活动和杀虫能力方面的效能非常相似。黄雅俊等^[3]应用高效液相色谱(HPLC)建立了悬浮剂中乙虫腈的分析方法,使用C₁₈柱和紫外检测器,以乙腈-pH值3.0的乙酸水溶液(体积比55:45)为流动相,方法的线性相关系数为0.999 8,平均回收率为99.7%,相对标准偏差(RSD)为0.23%。

目前我国尚未制定乙虫腈在水稻中的残留限量(MRL)标准,有关其分析方法和消解动态方面的研究也未见报道。笔者采用超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)建立了一套快速、准确、灵敏的残留分析方法,可用于测定水稻生态环境中乙虫腈的残留量。并于2010年在田间和室内模拟试验条件下,采用所建立方法测定了乙虫腈在稻田土壤以及田水中的消解动态,以期探明乙虫腈在稻田生态环境中的归趋,为评价该药施用于水稻后在稻田中的持留性及风险提供依据。

1 材料与方法

1.1 药剂及主要仪器

30%乙虫腈·毒死蜱悬浮剂(300 SC, ethiprole:

chlorpyrifos = 2: 28, 质量比)及乙虫腈标准品(纯度≥97%),由浙江新农化工股份有限公司提供。超纯水;试剂为色谱纯或分析纯。乙虫腈标准品用乙腈配制成100 mg/L的标准溶液,试验时再逐级稀释成0.001、0.005、0.01、0.05、0.1 mg/L的标准工作液,于冰箱中4℃下避光保存。

超高相液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)及UPLC™ BEH C₁₈色谱柱(2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm; Waters公司);N-丙基乙二胺(PSA)及Filter Unit 0.22 μm滤膜(Agela Technologies公司);万分之一和百分之一感量电子天平。

1.2 田间及室内模拟试验设计

试验地点为浙江省诸暨市麻车阁村水稻田;供试土壤类型为沙壤土,pH 6.5。

1.2.1 乙虫腈在土壤和田水中的消解动态试验

在水稻田边上分隔出3个小区,每小区面积10 m²,除去土表的附着物,灌水约5 cm深,插入竹签,标记好每小区的水位。按每平方米1 mL制剂量施药。分别于施药后当天(2 h)和1、3、7、14、21 d取土壤和田水,检测乙虫腈的残留量(土样用取土器取0~10 cm的表层土)。每次采样前先将田水灌至标记处。采样及样品处理按照《农药残留试验准则》^[4]进行。

1.2.2 室内模拟降解试验 采用多点取样法于供试水稻田采集土壤样品(0~10 cm),经风干后过孔径1 mm筛。共称取24份土壤样品,每份20 g,分别装入离心瓶中,加入适量去离子水形成水封效果,以模拟稻田中的厌氧环境,用记号笔标记水面位置。于25℃下预培养14 d,使微生物特别是厌氧微生物复活并构成稳定区系。设置3个空白对照,在其余21个离心瓶中加入100 mg/L的乙虫腈标样溶液1 mL,搅拌混匀,分别于添加后2 h及1、3、5、7、14、21 d取样。每次取样设3个重复。在整个培养期内随时补水,以稳定和模拟水田厌氧环境。

1.3 分析方法

1.3.1 样品的提取及净化

土壤:称取10 g已处理好的土壤样品于50 mL离心管中,加入10 mL去离子水,浸渍10 min,再加入20 mL的醋酸-乙腈(1:99,体积比),剧烈振荡1 min,超声波提取5 min。加入2 g氯化钠和8 g硫

酸镁,漩涡 1 min,于 1 500 r/min 下离心 1 min。移取 1 mL 上清液于 2 mL 离心管中,加入 150 mg 硫酸镁和 50 mg PSA,漩涡 1 min,于 3 000 r/min 下离心 2 min,取上清液过 0.22 μm 滤膜,待 UPLC-MS/MS 测定。

水样:量取 10 mL 已处理好的水样于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 的醋酸-乙腈(1:99,体积比),剧烈振荡 1 min,超声波提取 5 min 后加入 1 g 氯化钠和 4 g 硫酸镁,其余同土壤样品处理,待 UPLC-MS/MS 测定。

1.3.2 分析条件

1.3.2.1 色谱条件 ACQUITY UPLC™ BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm \times 50 mm,1.7 μm),流动相为 0.1% 甲酸水溶液-乙腈(采用梯度洗脱,见表 1),流速 0.25 mL/min,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,进样量 5 μL 。

表 1 超高效液相色谱洗脱梯度

Table 1 Gradient elution of UPLC

时间 Time/min	0.1% 甲酸水溶液:乙腈 0.1% formic acid solution: acetonitrile (V/V)
0	90:10
1.5	40:60
2.5	40:60
3.0	90:10

1.3.2.2 质谱条件

质谱扫描方式:多离子反应监测模式,ESI(+)离子源;毛细管电压 3.00 kV;锥孔电压 25 V;离子源温度 120 $^{\circ}\text{C}$;锥孔反吹气流量 50 L/h;RF 透镜电压 0 V;脱溶剂气温度 350 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂气流量 500 L/h。

质量分析器:分析器 1,低端分辨率 13.0 V,高端分辨率 13.0 V,离子能量 1 为 0.5,入口透镜电压 0 V,出口电压 0 V;分析器 2,低端分辨率 13.0 V,高端分辨率 13.0 V,离子能量 2 为 1.0。采用多离子反应监测模式检测,确定乙虫腈的 m/z 398.75/352.81 为定量离子对, m/z 398.75/256.97 为定性离子对。

1.4 标准曲线绘制

用上述配制好的 0.001、0.005、0.01、0.05、0.1 mg/L 的标准工作液进样检测。以进样浓度为横坐标、仪器响应值为纵坐标绘制标准工作曲线。得其在田水基质中的标准曲线方程为 $y = 538\,834x + 520.145$ ($r = 0.994\,8$),在土壤基质中的标准曲线方程为 $y = 444\,247x + 820.265$ ($r = 0.993\,4$)。

1.5 结果计算

样品浓度采用外标法定量计算^[5]。添加回收

率和样品消解动态均采用标准曲线法定量计算。

2 结果与分析

2.1 方法的灵敏度

在本研究所选定的条件下,乙虫腈的保留时间约为 2.2 min,方法的最小检出量(LOD)为 2.2×10^{-13} g。

2.2 方法的准确度、精密度和最低检测浓度

当乙虫腈在土壤中的添加水平为 0.002 ~ 1.0 mg/kg 时,其回收率在 80.2% ~ 119.5% 之间,相对标准偏差(RSD)最大为 9.0%;当其在田水中的添加水平为 0.001 ~ 1.0 mg/L 时,回收率在 94.2% ~ 108.2% 之间,RSD 最大为 13.2%;乙虫腈在水稻土壤和田水中的最低检测浓度(LOQ)均为 0.001 mg/kg(L)(表 2)。表明所建立方法的准确度和精密度均较好,符合农药残留分析要求^[6]。相关谱图见图 1。

表 2 乙虫腈在水稻土壤以及田水中的添加回收率($n = 5$)

Table 2 Fortified recovery of the method for ethiprole residue in paddy field soil and water($n = 5$)

样品 Samples	添加水平 Fortified level /[mg/kg(L)]	平均回收率 Average recovery ($X \pm S$)/%	相对标准偏差 RSD/%
土壤 Soil	0.002	119.5	8.4
	0.2	80.2	9.0
	1.0	95.6	3.1
田水 Water	0.001	108.2	13.2
	0.01	99.4	3.2
	0.2	102.0	1.6
	1.0	94.2	3.7

2.3 田间消解动态

结果(见表 3)表明,乙虫腈在水稻沙壤土和田水中的残留量均随时间的延长而逐渐降低。对试验结果进行回归分析,得到一系列消解动态参数,表明施药后间隔时间与乙虫腈的残留量成指数关系,其消解动态曲线(图 2~3)符合一级动力学方程。

3 结论与讨论

在分析方法研究中,对 UPLC-MS/MS 各项参数进行了优化。通过筛选多种流动相体系及配比的试验,发现以 0.1% 甲酸水溶液-乙腈为流动相时,其

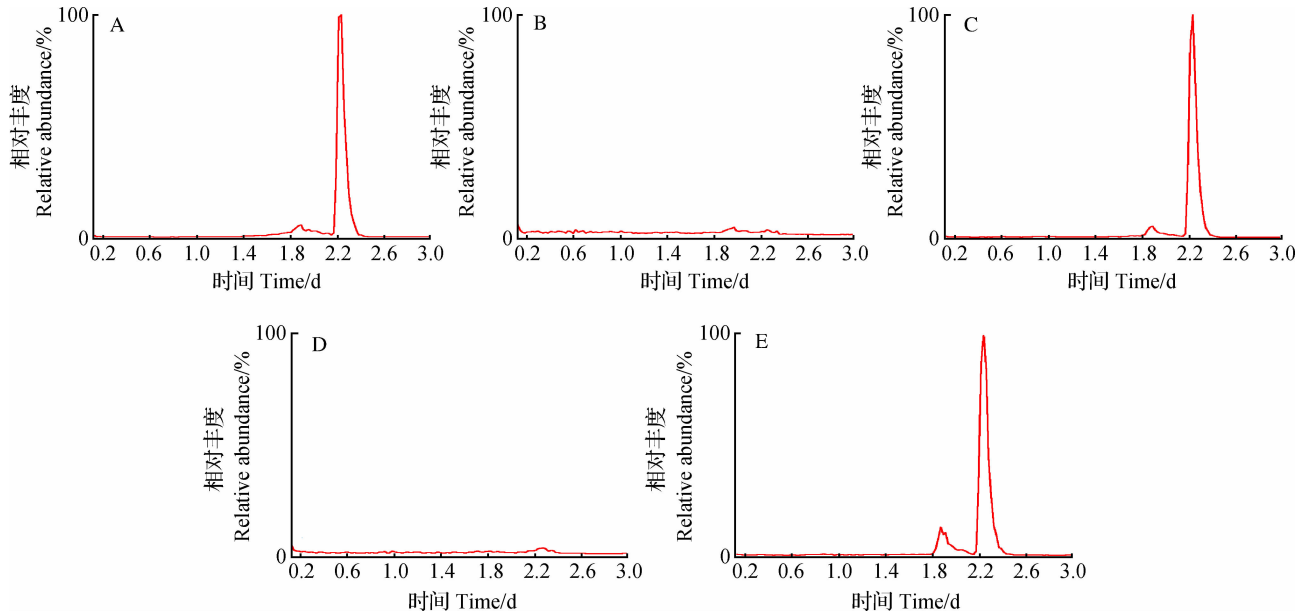


图1 乙虫腈相关图谱

Fig. 1 The chromatogram of ethiprole

A. 标准品(0.001 mg/L);B. 田水空白样品;C. 田水中添加0.001 mg/L 乙虫腈;D. 土壤空白样品;E. 土壤中添加0.002 mg/L 乙虫腈。

A. Standards chromatogram (0.001 mg/L); B. Control of water; C. Fortified 0.001 mg/L ethiprole in water; D. Control of soil; E. Fortified 0.002 mg/L ethiprole in soil.

表3 乙虫腈在水稻土壤以及田水中的消解动力学参数

Table 3 The residue decline parameters of ethiprole in paddy plant, soil and water

试验地点 Field aera	样品类型 Sample style	消解动态方程 Decline dynamics equation	相关系数(<i>r</i>) Correlation coefficient	半衰期 Half-life/d
室内 Field-simulated condition	土壤 Soil	$c_t = 0.128 0e^{-0.217t}$	0.989 0	3.2
	田水 Water	$c_t = 0.208 3e^{-0.198t}$	0.979 5	3.5
室外 Field condition	土壤 Soil	$c_t = 0.021 2e^{-0.252t}$	0.800 4	2.8
	田水 Water	$c_t = 0.155 9e^{-0.386t}$	0.946 3	1.8

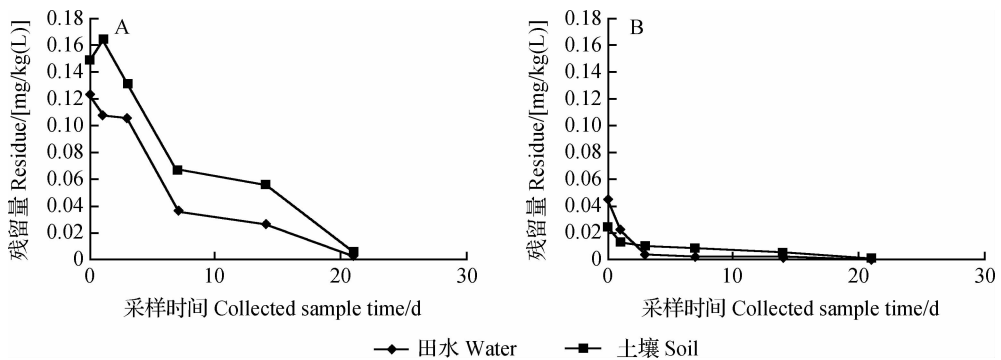


图2 乙虫腈在水稻土壤和田水中的消解动态曲线

Fig. 2 The residue decline of ethiprole in paddy soil and water

A. 室内模拟试验;B. 田间试验。

A. Field-simulated condition; B. Field condition.

中加入的甲酸显著提高了质子化效率,并通过调整流速和梯度洗脱等条件,实现了目标峰和干扰峰的良好分离并使峰形得到改善^[7],每个样品的分析时间仅需 3 min,同时节省了试剂消耗量。在质谱调谐中,采用流动注射泵连续进样,以全扫描模式确定乙虫腈的母离子 m/z 为 398.7,再在子离子扫描模式下对母离子碰撞电压进行优化,确定最佳碰撞电压为 25 V,以 m/z 352.8 和 256.9 的子离子为特征碎片离子。最后对其余各项参数进行微调,使检测条件达到最佳。本研究所建立方法的灵敏度、准确性及精密性均较好,为乙虫腈在稻田土壤和田水产品中的残留量测定提供了一个快速、准确、灵敏的分析方法。

随着各国技术性贸易壁垒日益加剧^[8],对分析测试灵敏度的要求也不断提高。因此本研究在灵敏度及最低检测浓度方面均进行了优化,水稻土壤和田水中乙虫腈的 LOQ 值仅为 0.001 mg/kg(L)。

采用醋酸-乙腈(1:99,体积比)提取样品中的乙虫腈,同时由于本研究中的大田样品杂质较多,需经过 PSA 净化后再检测。当土壤中乙虫腈的添加水平为 0.002 ~ 1.0 mg/kg、田水中的添加水平为 0.001 ~ 1.0 mg/L 时,回收率及 RSD 均符合农药残留试验准则^[5]要求。

对数据的拟合结果表明,无论是田间还是室内模拟试验,乙虫腈在水稻土壤以及田水中的消解动态曲线均符合一级动力学方程,其在水稻沙壤土以及田水中消解迅速,半衰期分别为 3.2 ~ 2.8 d 和 3.5 ~ 1.8 d。按照《化学农药环境安全评价试验准则》评价标准^[9],乙虫腈在土壤、田水中均属于易降解性化合物。

本研究中还发现,乙虫腈在田间试验中的降解速率要快于室内模拟试验。在试验期间,田间的降雨量为 14.9 mm,月平均温度为 31.6 °C,高于室内的 25 °C,由此推测,降雨和温度可能在一定程度上加快了乙虫腈在水稻土壤和田水中的消解,即降雨

和温度可能是影响乙虫腈在稻田环境中消解的主要因素。但产生消解差异的动力学基础还有待于结合单因子模拟试验进一步研究确证。

参考文献:

- [1] ZHAO Q Q, LI Y Q, XIONG L X, *et al.* Design, synthesis and insecticidal activity of novel phenylpyrazoles containing a 2,2,2-trichloro-1-alkoxyethyl moiety [J]. *Agric Food Chem*, 2010, 58 (8):4992-4998.
- [2] CABONI P, ROBERT E. Phenylpyrazole insecticide photochemistry, metabolism, and GABAergic action; ethiprole compared with fipronil [J]. *Agric Food Chem*, 2003, 51 (24): 7055-7061.
- [3] HUANG Ya-jun (黄雅俊), GUO Li-feng (郭利丰), XU Yong (徐永). 乙虫腈悬浮剂的液相色谱分析 [J]. *Pestic (农药)*, 2009, 48(1):42-43.
- [4] NY/T 788-2004. Guideline on pesticide residue trials(农药残留试验准则) [S]. Beijing (北京): China Agriculture Press(中国农业出版社), 2004.
- [5] ZHU Guo-nian (朱国念). Technology for Rapid Detection of Pesticide Residues(农药残留快速检测技术) [M]. Beijing (北京): Chemical Industry Press(化学工业出版社), 2008:59-61.
- [6] FAN De-fang (樊德方). Analysis and Detection of Pesticide Residues(农药残留量分析与检测) [M]. Shanghai (上海): Shanghai Science and Technology Press(上海科学技术出版社), 1982:116-126.
- [7] WANG Meng-cen (王蒙岑), WU Hui-ming (吴慧明), LIU Shao-ying (刘少颖), *et al.* 超高效液相色谱-串联质谱法分析乙螨唑在柑桔和土壤中的残留消解动态 [J]. *Chin J Pestic Sci (农药学学报)*, 2009, 11(4):456-461.
- [8] SONG Wen-cheng (宋稳成), SHAN Wei-li (单炜力), YE Ji-ming (叶纪明), *et al.* 国内外农药最大残留限量标准现状与发展趋势 [J]. *Chin J Pestic Sci (农药学学报)*, 2009, 11(4): 414-420.
- [9] SEPA(国家环境保护总局). Guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides(化学农药环境安全评价试验准则) [K]. Beijing(北京):SEPA(国家环境保护总局), 2003.

(责任编辑:唐 静)