

气相色谱法测定杀虫脒的残留量

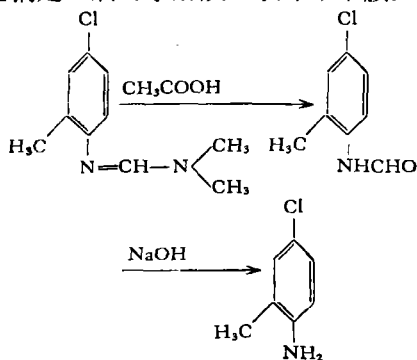
庄无忌 查如璧 高 生

(中国农林科学院分析室)

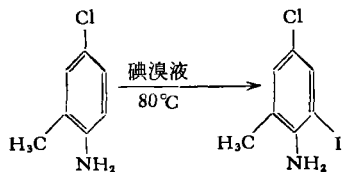
杀虫脒是近年发展的一种高效杀螨和防治稻螟的杀虫剂,已广泛用于防治水稻、棉花、果树的虫害。它对螟虫和螨类,具有高度的杀卵、杀虫、熏蒸和内吸作用。但是据国外报导,杀虫脒及其代谢产物对氯邻甲苯胺的慢性毒性存在着严重的问题。为了弄清杀虫脒在稻米中和苹果上的残留状况和对环境污染的问题,以保障人民健康,我们试验研究了测定杀虫脒残留量的高灵敏度的气相色谱法。

一、原 理

杀虫脒及其代谢产物在分别用醋酸和氢氧化钠处理后可水解成对氯邻甲苯胺。



再用蒸馏-提取器经水蒸汽蒸馏将对氯邻甲苯胺提取到异辛烷溶剂中。再转溶到盐酸溶液中,用碘溴醋酸溶液使对氯邻甲苯胺直接碘化,生成 4-氯-6-碘-邻甲苯胺。



碘代对氯邻甲苯胺可用气相色谱仪的电子捕获鉴定器测定,在用对氯邻甲苯胺纯标准样品时可以检测到 5×10^{-11} 克,测定 100 克苹果上杀虫脒的残留量时最小检出量为 0.005 ppm。

二、试 剂

2N 醋酸溶液;

醋酸钠: 分析纯;

10N 氢氧化钠溶液;

异辛烷: 需重蒸馏;

正己烷: 需重蒸馏;

碘化液: 80 毫升冰醋酸 20 毫升饱和溴水,加入碘使之饱和;

结晶碘: 分析纯;

无水亚硫酸钠: 分析纯;

杀虫脒标准液: 准确称取 50 毫克杀虫脒纯品(四川农药所提供)用 1N HCl 溶解并稀释至 100 毫升(其浓度 500 微克/毫升);

对氯邻甲苯胺标准液: 准确称取 100 毫克对氯邻甲苯胺纯品(浙江化工所提供)溶解 5 毫升乙醇中,并用 1N HCl 稀释至 100 毫升,吸取 1 毫升此溶液于 100 毫升容量瓶中再用 1N HCl 稀释至满刻度(其浓度即为 10 微克/毫升)。

三、试 验 装 置

1. 组织捣碎机一台;

2. 北玻特经 141 液-液蒸馏提取器(见图 1)。该仪器主要利用水蒸汽蒸馏将样品中对氯邻甲苯胺蒸出。与此同时蒸出另一种溶

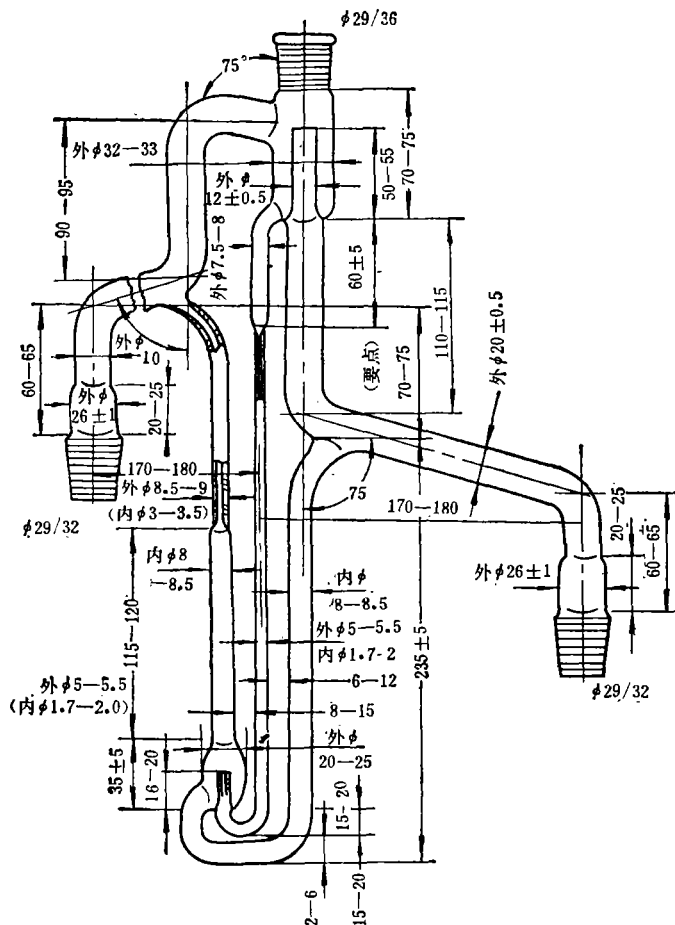


图1 液-液蒸馏提取器

剂进行液-液提取。此仪器经由我室与北京玻璃仪器厂进行了各种型号的比较试验。现已由该厂定型生产。产品设计新颖、坚固、操作稳定；

3. 气相色谱仪 GC-5A；带有 ^{63}Ni 放射源的电子捕获鉴定器或其他类型带有电子捕获鉴定器的气相色谱仪；

4. 微量注射器：5 微升。

四、实验步骤

1. 水解和水蒸汽蒸馏提取

取苹果数个，每个苹果按对角线等分取样数块，除去果核部分，称样 200—400 克，加

入与样品相同重量的水。用组织捣碎机捣碎成匀浆，取出此浆液 200 克放入 1 升硬质玻璃圆底烧瓶中，加入几粒沸石，50 毫升 2N 醋酸，6 克醋酸钠。然后装上回流冷凝器，用油浴 (170—180℃) 加热以上混合物 90 分钟。撤去加热装置，在室温下继续回流和冷却 15 分钟，再让圆底烧瓶中杀虫脒的水解物完全浸没在冰中 10 分钟，与此同时，按照如下步骤装配上蒸馏提取器。放 60 毫升异辛烷到 250 毫升的圆底烧瓶中，加入几粒沸石，然后接到蒸馏提取器的高端臂（异辛烷边，见图 1）。为了防止有机溶剂流入水解液中，在该装置的 U 形管内先注入蒸馏水，然后注入少许异辛烷。这时从盛有酸解液的圆底烧瓶上移去回流冷凝器把它装到蒸馏提取器的顶端。再往此烧瓶中加入 80 毫升 10N NaOH 溶液，立即将此烧瓶接到蒸馏提取器的低端臂上（水边，见图 1）同时对两个烧瓶加热。异辛烷边油浴锅的温度 130—135℃，水液边的油浴锅的

温度 150—155℃。控制两边的加热速率，以使冷凝下来的水和异辛烷的数量相等（这可从蒸馏提取器的毛细管中连续不断形成的异辛烷珠滴的大小和间隔来判断）。如此蒸馏操作 3 小时。

2. 液-液分配提取法*

在测定大米中的杀虫脒残留量时，我们采用了液-液分配提取法。回收率 108% 其提取步骤见程序表。

3. 碘化

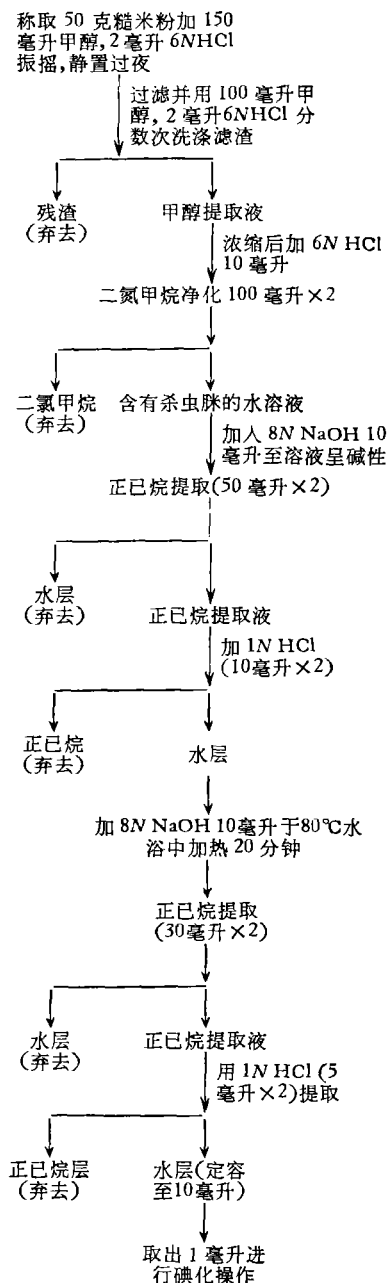
取出 20 毫升异辛烷提取液注入 50 毫升

* 广东省农科院植物保护研究所张友松，徐烽同志参加了此项工作。

分液漏斗中,每次用 5 毫升 1N HCl 剧烈震荡连续提取两次。收集对氯邻甲苯胺的酸性提取液于 10 毫升的容量瓶中。取出此溶液 1 毫升并用 1N HCl 稀释至 2 毫升,并加入 0.5 毫升碘化液和结晶碘,使此溶液中碘呈饱和状,于 80℃ 水浴中加热 12 分钟,使对氯邻甲苯胺碘化成 4-氯-6-碘-邻甲苯胺。然后加入少

许粉末状亚硫酸钠以还原过量的碘,此时溶液就变为无色,然后从碱滴定管内加 5 毫升 5N KOH 溶液,使溶液成为碱性。将此溶液转入 50 毫升的分液漏斗中,并用 5 毫升正己烷加以提取,剧烈震荡后弃去水相,收集提取液于带磨口塞子的玻璃瓶中,供气相色谱仪测定。

液-液分配提取法程序表



4. 气相色谱测定条件

色谱柱采用玻璃柱,柱长 1 米,内径 3 毫米,柱内填充涂有 5% OV-17 + 5% QF-1 Chromosorb W NAW 80—100 目酸洗,碱洗, HMDS;

鉴定器: GC-5A ⁶³Ni 电子捕获鉴定器;

柱箱温度: 170℃(等温);

气化室温度: 220℃;

鉴定器温度: 250℃;

载气: 高纯氮,流速 60 毫升/分;

纸速: 5 毫米/分;

灵敏度: (10²MΩ) 衰减 8 × 0.01V.

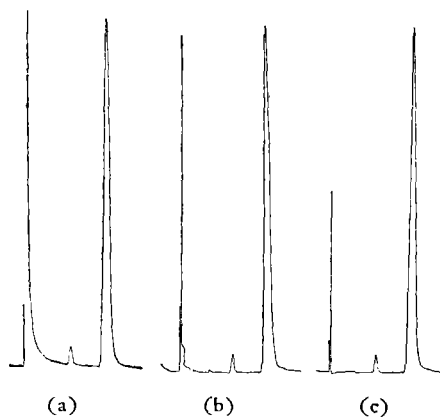


图 2 对氯邻甲苯胺经碘化后的气相色谱图

峰 1: 4-氯-6-溴-邻甲苯胺, 其保留时间为 4 分;

峰 2: 4-氯-6-碘-邻甲苯胺, 其保留时间为 7 分 6 秒。

在图 2 中, 图 a, b, c 则是在 2 毫升 1N HCl 中分别加入 2, 2.5, 5 微克对氯邻甲苯胺, 经碘化后又分别按 1 毫微克对氯邻甲苯胺的量进样后呈现同一峰高值的情况。

5. 制作标准曲线和计算 (下转第 48 页)

见有诱变性,而敌敌畏则在高剂量组出现较多量回变菌落,可见它有诱变作用,并属碱基置换型诱变物与文献报告结果相符^[7]。阳性致癌物 3,4 苯并芘见有明显的诱变作用。

十、结 论

Ames 法是一种简易、快速,比较可靠的致癌物初筛方法,目前已受到广泛的重视与使用,当然,该法亦有局限性,例如有些已知致癌物,未能获得阳性结果,可能与活化系统使用不当有关。此法出现假阳性仍比较多,对此,应如何进一步判别,尚待作更进一步的研

究。Ames 正培育一些新的菌株,以图弥补现有方法的不足。

参 考 文 献

- [1] 中山医学院卫生系劳动卫生教研组等,广东微生物, 6,1,1977.
- [2] Ames, B. N. et al., Proc. Nat. Acad Sci USA 70: 2281, 1973.
- [3] Ames, B. N. et al., Ibid, 70:782, 1973.
- [4] Ames, B. N. et al., Mutation Res. 31:347, 1975.
- [5] 矢作多贵江:蛋白质核酸酵素 20: 1178, 1975.
- [6] Brusick, D. J., Clin. Toxicol. 10: 79, 1977.
- [7] Shiracu, Y. et al., Mutation Res. 40: 19, 1976.

(上接第 40 页)

在制作标准曲线的过程中,从对氯邻甲苯胺的标准溶液中吸取不同体积以配成一系列浓度不同的标准样品数个,并用 1N HCl 稀释至 2 毫升,分别进行碘化反应,用气相色谱仪进行测定。由测得的 4-氯-6-碘-邻甲苯胺的峰高与相应的对氯邻甲苯胺的量作图,制得标准曲线两者具有相应的线性关系。

在按上述提取方法和气相色谱测定条件,每一样品进样 5 微升时,杀虫脒测定值可从测得的峰高,由标准曲线求得对氯邻甲苯胺的量用下式进行计算:

杀虫脒测定值(微克)

$$= \frac{\text{对氯邻甲苯胺量(毫微克)}}{5(\text{微升})} \\ \times 5 \times 10 \times 3 \times 1.65 \\ (1.65 \text{ 为杀虫脒与对氯邻} \\ \text{甲苯胺之间的换算因子})$$

6. 方法回收率

取 100 克苹果浆(50 克未施药的苹果)加入 30 微克杀虫脒,以杀虫脒在苹果中残留量为 0.6ppm 计。按上述水解提取,碘化气谱测定条件等步骤进行测定,测得回收率为 90.4—108%,(见方法回收率表)。

方法回收率表

样品序号	加入杀虫脒的浓度(ppm)	杀虫脒的回收率%
7(3)	0.6	90.4
7(4)	0.6	97.5
8(3)	0.6	97.5
8(4)	0.6	104
5(3)	0.6	108
5(4)	0.6	103

五、讨 论

1. 此法是将杀虫脒及其代谢产物均水解成对氯邻甲苯胺后加以测定,并换算成杀虫脒。不能完全反映出杀虫脒及其代谢产物去甲基杀虫脒、N-甲酰基对氯邻甲苯胺,对氯邻甲苯胺的各个的残留量。但国际上(WHO/FAO)也是采用前面的计算方法。

2. 对氯邻甲苯胺直接碘化法,较之经重氮化后再进行碘化的方法,简便、灵敏度高、标准曲线的线性关系也较好。但碘化反应温度和时间的影响有待进一步试验。

参 考 资 料

- [1] Vos, G. et al., Analytical Methods for Pesticides and Plant Growth Regulators, No. 7, 211—230 (1973).
- [2] 农药科学(日文), Vol. 1, No. 2 (1973).