

释放的 ^{14}C -绿黄隆结合残留物的衍生化及鉴定*

郭江峰¹, 孙锦荷¹, 平霄飞², 叶庆富¹ (1. 浙江大学原子核农业科学研究所(华家池校区)农业部核农学重点开放实验室, 杭州 310029, E-mail: jfguo@zju.edu.cn; 2. 中国水稻研究所, 杭州 310006)

摘要: 利用湿热法可以将 ^{14}C -绿黄隆结合残留物从土壤中释放出来。但该残留物的极性较强, 在GC-MS分析前, 需进行衍生化处理。本研究建立了该残留物的DMSO(二甲基亚砷)-NaH-CH₃I衍生化法。正交试验的结果表明, 在反应温度为35℃, 反应时间5min, 衍生化试剂加入量0.15ml时, 衍生化产率最高, 其中温度对衍生化产率存在显著影响。GC-MS分析表明, 该方法是可行的。

关键词: 绿黄隆, 结合残留物, 衍生化, 鉴定。

中图分类号: X839.2 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2000)03-0001-06

Derivatization and Identification of Released ^{14}C -chlorosulfuron Bound Residues

Guo Jiangfeng¹, Sun Jinhe¹, Ping Xiaofei², Ye Qingfu¹ (1. Key Lab. of Nuclear Agricultural Science, the Ministry of Agriculture, Institute of Nuclear Agricultural Science, Zhejiang University (Huajiachi campus), Hangzhou 310029, China E-mail: jfguo@zju.edu.cn; 2. China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006)

Abstract: ^{14}C -chlorosulfuron bound residues can be released from soil by autoclaving method. Derivatization is necessary before subjected to GC-MS analysis, due to the polarity of the released residues. The DMSO-NaH-CH₃I method is established to derivatize these residues. The results of orthogonal experiment showed that the highest yield could be obtained when the amounts of derivatization reagent, 0.15ml was added and the reaction was performed at 35℃ for 5 minutes, and the temperature has a significant impact on the derivatization yield. GC-MS analysis indicated that the method is feasible.

Keywords: ^{14}C -chlorosulfuron, bound residues, derivatization, identification.

绿黄隆是美国杜邦公司于80年代初推出的一种新型磺酰胺类除草剂, 其最为显著的特点是高效和用量低。研究表明, 绿黄隆甚至在结合状态下也能对水稻和豌豆的正常生长产生影响^[1]。但对绿黄隆残留物究竟以何种形态在土壤中形成结合残留等问题, 尚未见更多报道。为明确绿黄隆结合残留在土壤中的形成机制, 笔者利用高温蒸馏法释放该结合残留物, 结果表明该结合残留物的挥发性较小^[2]。在利用较为温和的湿热法将该结合残留物释放出来后, 在净化时发现该结合残留物的极性较强^[3]。因此, 若欲对该残留物进行GC-MS分析, 首先要进行衍生化。由于尚不明确绿黄隆是以何种化学

形态在土壤中形成结合残留, 所以, 在对释放出来的残留物进行衍生化时就存在一定难度。绿黄隆在土壤中降解的重要途径为化学水解和微生物降解^[4], 水解作用将使磺酰胺桥断裂产生磺胺类和均三嗪类产物^[5]。DMSO(二甲基亚砷)-NaH-CH₃I法是专一的氨基衍生化方法^[7], 本研究拟采用该法对氯磺隆降解产物上可能存在的氨基进行衍生化, 目的在于建立释放的 ^{14}C -绿黄隆结合残留物的衍生化方法, 并对衍生化后的产物进行GC-MS分析, 以验证该方

* 浙江省科委及浙江省自然科学基金资助项目。
作者简介: 郭江峰(1969~), 男, 博士, 助理研究员。
收稿日期: 1999-09-02

法的可行性.

1 材料与方法

1.1 供试农药

^{14}C -绿黄隆由中国农科院原子能利用研究所合成,其放射性比活度为 $6.07 \times 10^4 \text{Bq/mg}$,放射化学纯度在 95.2% 以上,化学纯度大于 96%. ^{14}C -标记均三嗪环的第四位碳原子上.

供试土壤及含 ^{14}C -绿黄隆结合残留土壤的制备参见文献[2], ^{14}C -绿黄隆结合残留物的释放提取参见文献[3].

1.2 ^{14}C -残留物的净化

将甲醇提取液浓缩至小体积后,溶于氯化钠溶液中,先用等体积的正己烷萃取 2 次,将正己烷相弃去,水相再用等体积的三氯甲烷萃取 3 次,合并有机相,旋转浓缩至小体积.经测定该方法的回收率为 $87.28 \pm 1.85\%$.

1.3 ^{14}C -残留物的衍生化

本研究拟采用 $\text{DMSO}(\text{二甲基亚砷})-\text{NaH}-\text{CH}_3\text{I}$ 法对释放的结合残留物上可能存在的氨基进行衍生化.由于衍生化反应受温度、时间和衍生化试剂加入量等因素的影响,为确定最佳反应条件,本试验采用正交试验设计法,设反应温度(25~50℃)、反应时间(5~15min)和衍生化试剂加入量(0.1~0.2ml)3 个因子,各因子下设 3 个水平,选用正交表 $L_9(3^4)$ 安排试验,重复 2 次,详见表 1.

试验时将一定量的净化液加入到 10ml 具塞试管内,用氮气吹干后,先加入 20mg NaH,再加入 0.5ml DMSO,根据试验安排加入相应量的碘甲烷,按表 1 进行衍生化.待反应完毕后,取出试管冷却至室温,缓缓加入适量蒸馏水,以除去多余的 NaH,再用 $3\text{ml} \times 3$ 乙醚萃取.萃取完毕后,合并乙醚相,定容,用液体闪烁计数仪测定,计算衍生化产率.而后将乙醚挥发至干,再用正己烷溶解,用于 GC-MS 分析.

1.4 GC-MS 分析

分析采用 HP5890A GC/5907B MSD 型质谱仪,色谱柱为弹性石英毛细管柱,长度和内径分别为 30m 和 0.2mm,填充料为 SE-30,采用

表 1 试验方案

序号	反应温度/℃	反应时间/min	衍生化试剂量/ml
1	25	15	0.15
2	25	5	0.20
3	25	10	0.10
4	35	15	0.20
5	35	5	0.10
6	35	10	0.15
7	50	15	0.10
8	50	5	0.15
9	50	10	0.20

70eV 电子轰击源.工作时进样口与离子源温度均为 240℃,色谱柱起始温度为 60℃,保持 3min,然后以 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至 240℃,保持至分析结束.

2 结果与分析

按表 1 进行衍生化处理后,对乙醚相进行测定.结果表明,该残留物经衍生化处理后,可以被乙醚相萃取,不同处理的产率大小见表 2.各处理的产率从 66.10%~80.88% 不等,说明采用 $\text{DMSO}-\text{NaH}-\text{CH}_3\text{I}$ 法对该释放的结合残留物进行衍生化是可行的.由于该衍生化反应发生在 CH_3I 与化合物的氨基间^[6-7],因此,可以推断该残留物中存在氨基.

为确定最佳反应条件,将表 2 中数据进行直观分析计算后,其结果列于表 3.从表 3 可以看出,反应温度 35℃,反应时间 5min,衍生化试剂加入量 0.15ml 时,衍生化产率最高.在以后的衍生化反应中就采用该条件作为最佳反应条件.从极差 R 的大小来看,在本试验条件下,温度对衍生化产率的影响最大.

对上述结果进一步进行方差分析,结果列于表 4.方差分析的结果表明,在上述试验条件范围内,温度变化对 ^{14}C -残留物的衍生化产率有显著影响,而反应时间在 5~15min 内,衍生化试剂加入量在 0.10~0.20ml 之间时,对衍生化产率不存在显著影响.

将培育 20d 得到的结合残留土壤样品进行释放、提取、净化,并按上述最佳反应条件将样

表 2 不同反应条件下¹⁴C-残留物衍生化产物的产率

序号	反应温度	反应时间	衍生化试剂	产率
	/°C	/min	/ml	/%
1	25	15	0.15	80.55±2.60
2	25	5	0.20	76.29±2.01
3	25	10	0.10	73.53±0.71
4	35	15	0.15	79.88±4.49
5	35	5	0.20	80.72±0.47
6	35	10	0.10	76.54±3.08
7	50	15	0.15	66.10±1.77
8	50	5	0.20	80.88±3.07
9	50	10	0.10	70.52±0.95

表 3 衍生化试验结果的计算与分析

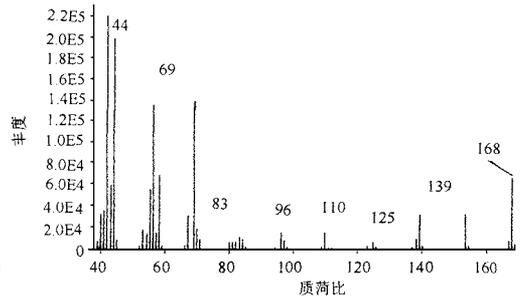
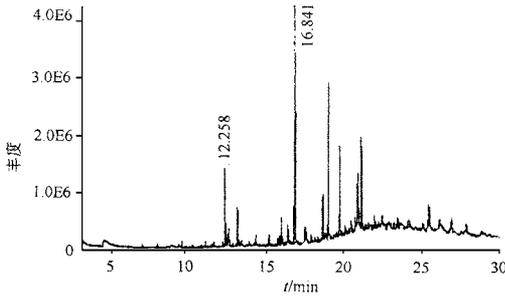
水 平	反应温度	K 值	反应时间	K 值	衍生剂量	K 值
	/°C		/min		/ml	
1	25	76.79	15	75.51	0.15	79.32
2	35	79.05	5	79.30	0.20	75.56
3	50	72.50	10	73.53	0.10	73.45
极差 R		6.55		5.77		5.87

表 4 方差分析

变异来源	SS	DF	MS	F	F _{0.05} (2, 11)
反应温度间	55.96	2	27.98	4.56	3.98
反应时间间	46.66	2	23.33	3.80	
衍生剂量间	46.54	2	23.27	3.79	
误 差	67.50	11	6.14		
总 变 异	216.66	17			

品进行衍生化处理后,经 GC-MS 检测得 TIC 图和质谱图(图 1)。

从图 1 可以看出,经衍生化处理后,该¹⁴C-残留物可以进行 GC-MS 分析。由于¹⁴C 是标记在均三嗪环上的,对图中主要离子碎片进行解析后,初步确定该¹⁴C-残留物为:2-氨基-4-羟基-6-甲基-1,3,5-均三嗪。

图 1 释放的¹⁴C-绿黄隆结合残留物的 TIC 图(左)与质谱图(右)

3 结论

(1) 对释放的¹⁴C-绿黄隆结合残留物可以采用 DMSO-NaH-CH₃I 法衍生化。

(2) 在反应温度为 35°C, 反应时间为 5 min, 衍生化试剂加入量为 0.15 ml 时, 衍生化产率最高。在本试验条件下, 温度对衍生化产率存在显著影响。GC-MS 分析表明, 该衍生化法是可行的。

参考文献

- 1 陈祖义, 程薇, 成冰. ¹⁴C-绿黄隆的土壤结合残留及其有效性. 南京农业大学学报, 1996, 19(2): 78~83.
- 2 郭江峰, 孙锦荷等. 利用不同方法释放¹⁴C-绿黄隆结合残留的研究. 核农学报, 1999, 13(2): 107~110.

- 3 郭江峰, 孙锦荷, 平霄飞, 叶庆富. ¹⁴C-绿黄隆结合残留物的湿热法释放及鉴定. 中国学术期刊文摘, 1999, 5(4): 543~544.
- 4 Fredrickson D R, Shea P J. Effect of soil pH on degradation, movement, and uptake of chlorosulfuron. Weed Sci., 1986, 34(2): 328~332.
- 5 Hemmannda S, Calm on M, Calm on J P. Kinetics and hydrolysis mechanism of chlorosulfuron and metsulfuron-methyl. Pesti Sci., 1994, 40(1): 71~76.
- 6 Greenhalgh R, Kovacicova J. Confirmation of atrazine and fenuron by alkylation at the ppm level. Bull. of Environ. Contam. & Toxicol., 1975, 14(1): 47~48.
- 7 Greenhalgh R, Kovacicova J. A chemical confirmation test for organophosphorus and carbamate insecticides and triazine and urea herbicides with reactive NH moieties. J. Agric. Food Chem., 1975, 23(2): 325~329.