

分类号：
密 级：

单位代码：10193
编 号：

甲基毒死蜱在甘蓝、土壤上的 残留动态和水解研究

专业名称：环境工程

研究方向：农药残留

研究生姓名：朱杰丽

导师姓名及职称：范志先 教授

吉林农业大学

二〇〇四年五月

THE RESIDUAL DYNAMICS
IN
CABBAGE AND SOIL
AND
HYDROLYSIS STUDY
OF
CHLORPYRIFOS-METHYL

Master candidate: Zhu Jieli

Advisor: Prof. Fan Zhixian

A dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for
the degree of Master of Engineering

JILIN AGRICULTURAL UNIVERSITY
CHANGCHUN JILIN CHINA

2004.05

目 录

摘 要.....	I
ABSTRACT.....	III
第一章 引言.....	1
1.1 甲基毒死蜱的理化特性.....	2
1.1.1 质谱图及裂解机理图.....	2
1.2 甲基毒死蜱毒理学研究进展.....	2
1.2.1 毒性.....	2
1.2.1.1 急性毒性.....	2
1.2.1.2 慢性毒性.....	3
1.2.1.4 致癌性.....	4
1.2.1.5 致畸性.....	4
1.2.1.6 致突变性.....	4
1.2.1.7 对繁殖的影响.....	4
1.2.1.8 对神经器官的毒害.....	4
1.2.1.9 在人体和动物体内的归宿.....	4
1.2.2.10 致肿瘤性.....	5
1.2.2 生态效应.....	5
1.2.2.1 对鸟的影响.....	5
1.2.2.2 对土壤呼吸和P-矿化作用的影响.....	5
1.2.3 环境归宿.....	6
1.2.3.1 甲基毒死蜱在作物上的降解与代谢.....	6
1.2.3.2 甲基毒死蜱在土壤上的降解与代谢.....	6
1.2.3.3 在水中的化学降解.....	6
1.3 甲基毒死蜱的残留分析方法研究进展.....	7
第二章 气相色谱法测定甘蓝、土壤上甲基毒死蜱残留动态的研究.....	9
2.1 材料与方法.....	9
2.1.1 小区试验概况.....	9
2.1.2 残留试验田间设计.....	9
2.1.3 测定条件和方法.....	10
2.1.3.1 试剂和仪器.....	10
2.1.3.1.1 试剂.....	10
2.1.3.1.2 仪器.....	10
2.1.3.2 气相色谱条件.....	10
2.1.3.3 气相色谱测定.....	10

2.1.3.4 标准曲线的建立	10
2.1.3.5 样品前处理	11
2.1.3.5.1 提取	11
2.1.3.5.2 净化	11
2.1.3.6 添加回收率试验	11
2.2 结果与分析	11
2.2.1 提取	11
2.2.2 净化	11
2.2.3 气相色谱条件的选择	12
2.2.4 添加回收率试验结果	12
2.2.5 甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的残留动态	13
2.2.6 甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的最终残留量	16
2.3 讨论	16
第三章 气质联用法测定甘蓝、土壤上甲基毒死蜱残留动态的研究	19
3.1 材料与方法	19
3.1.1 仪器与试剂	19
3.1.1.1 仪器	19
3.1.1.2 试剂	19
3.1.2 实验内容	19
3.1.2.1 气相色谱分析条件	19
3.1.2.2 质谱分析条件	20
3.1.3 定性分析	20
3.1.4 SIM法标准曲线的建立	20
3.1.5 样品前处理	21
3.2 结果与分析	21
3.2.1 色谱条件的选择	21
3.2.2 气相色谱-质谱条件的选择	21
3.2.3 方法回收率与精密度	21
3.2.4 田间样品分析结果	25
3.2.5 两种检测分析方法的比较研究	27
3.2.5.1 方法显著性检验比较	27
3.2.5.2 方法灵敏度比较	27
3.2.5.3 确证手段比较	28
第四章 甲基毒死蜱的水解研究	29
4.1 材料和方法	29
4.1.1 试剂和药品	29
4.1.2 仪器和设备	29
4.1.3 试验设计	29
4.1.3.1 不同温度下甲基毒死蜱水解试验	29

4.1.3.2 不同pH值下甲基毒死蜱水解试验	29
4.1.4 气相色谱操作条件	30
4.1.5 质谱分析条件	30
4.1.6 标准曲线的建立	30
4.1.7 水样中甲基毒死蜱的提取	30
4.1.8 水解产物的提取、鉴定	30
4.2 结果与分析	31
4.2.1 准确度、精密度和灵敏度	31
4.2.1.1 方法的准确度	31
4.2.1.2 方法的精密度	31
4.2.1.3 方法的灵敏度	31
4.2.2 甲基毒死蜱水解速率的测定	33
4.2.3 温度、pH值对甲基毒死蜱水解速率的影响	37
4.2.4 甲基毒死蜱的水解产物	38
4.3 讨论	38
结 论	40
参 考 文 献	41
致 谢	45

摘 要

本文对甲基毒死蜱 **chlorpyrifos-methyl** 在甘蓝、土壤上的残留和水解规律进行了测定与研究。

采用丙酮提取、石油醚液液分配、氧化铝柱净化, SE-54 石英毛细管柱分离的 GC-FPD 和 DB-1 石英毛细管柱分离的 GC-MS-SIM 分析技术, 分别对甲基毒死蜱在甘蓝、土壤上的残留动态、降解规律和最终残留量进行了分析测定。

GC-FPD分析方法的最小检出量为 2×10^{-11} g; 甘蓝上最低检出浓度为 0.002mg/kg, 土壤上最低检出浓度为 0.004mg/kg。方法的添加浓度为 0.05 mg/kg、0.1 mg/kg、0.5mg/kg, 在甘蓝上的回收率为 84~105%; 土壤为 97~117%。

GC-MS-SIM分析方法的最小检出量为 5×10^{-11} g; 甘蓝上最低检出浓度为 0.025mg/kg, 土壤上最低检出浓度为 0.05mg/kg。方法的添加浓度为 0.05 mg/kg、0.1 mg/kg、0.5mg/kg, 在甘蓝上的回收率为 91~106%; 土壤为 95~108%。

甘蓝上喷施高剂量 720g ai/ha 的 40% 甲基毒死蜱乳油, 2 年试验结果表明: 甘蓝上原始沉积量为 2.55 ~ 5.82 mg/kg, 半衰期为 0.4 ~ 1.0d, 施药 3d 后消解率即达 90% 以上; 土壤上的原始沉积量为 0.61 ~ 1.22 mg/kg, 半衰期为 1.4 ~ 1.5d, 距施药后第 14d 采样, 消解率降为 98% 以上, 降解过程均符合一级动力学方程。在甘蓝上的降解动态方程, 2001 年 $C_t = 5.3e^{-0.1548t}$, $r = 0.9963$, 2002 年 $C_t = 1.227e^{-0.7132t}$, $r = 0.9149$; 在土壤上的降解动态方程, 2001 年 $C_t = 1.678e^{-0.4814t}$, $r = 0.9798$, 2002 年 $C_t = 0.526e^{-0.4582t}$, $r = 0.9878$ 。以消解速率来评价甲基毒死蜱, 无论在甘蓝上, 还是土壤上都属于易降解农药。

同时测定了甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的最终残留量。2 年试验结果表明: 施用 3 次 40% 甲基毒死蜱乳油, 施药量为 720g ai/ha, 最后一次施药距采收 3d, 甘蓝上的残留量为 0.05 mg/kg; 距采收 7d, 残留量为 0.006 mg/kg ~ 0.01 mg/kg, 且与施药次数和剂量无关; 在土壤上的残留量稍高, 消解稍慢, 但随着施药量和施药次数的增加, 残留量增加不显著, 没有累积性。

根据上述研究结果, 参照甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的残留降解动态, 建议 40% 甲基毒死蜱乳油在甘蓝上合理使用准则是施药量不要高于 450g ai/ha, 施药次数不超过 3 次, 最后一次施药距采收间隔期不少于 3 天。FAO/WHO 规定甲基毒死蜱在甘蓝上的 MRL 值为 0.1mg/kg。根据这一规定, 建议我国最大残留限量值 MRL 暂定为 0.1mg/kg。

分别从方法显著性、方法灵敏度、确证手段三方面对比研究了 GC-FPD 和 GC-MS 两种测定分析技术的优越性。经比较研究, 采用 GC-MS 分析技术所得结果与采用 GC-FPD 分析技术所得结果基本吻合, 无显著性差异。两种测定方法最低检出浓度符合

推荐的 MRL 的要求。GC-MS-SIM 测定灵敏度虽不如 GC-FPD 高,但是突出的优点可以对分析的组分进行确证。

本文还研究了甲基毒死蜱在不同缓冲溶液(同一温度)和不同温度(同一 pH 值的缓冲溶液中)下的降解。结果表明,它在水环境中的降解速率与水环境的酸碱度和温度有关。碱性水环境中,甲基毒死蜱容易降解,而在酸性和中性水环境中相对稳定。在常温(25℃)、避光条件下,甲基毒死蜱在 pH5.0、pH7.0 和 pH9.0 的缓冲溶液中的降解半衰期分别为 16.5d、8.6d、1.9d。随着温度的升高,甲基毒死蜱在同一 pH 值的缓冲溶液中的降解速率加快。采用 GC-MS 联用技术,经联机检索对照标准 MS 图及分析所得的 MS 图,进而确定甲基毒死蜱在水中主要的降解产物为 3,5,6-三氯-2-羟基吡啶,这一结果与文献报道相吻合。该化合物在水体中较稳定,所以研究甲基毒死蜱在碱性介质条件下的环境安全性时,还需考虑其降解产物 3,5,6-三氯-2-羟基吡啶的环境毒理学意义。

关键词: 甲基毒死蜱; 降解; 残留; 代谢

ABSTRACT

The residue kinetic of chlorpyrifos-methyl was studied in cabbage and soil. The residue dynamics of chlorpyrifos-methyl were presented by GC-FPD and GC-MS respectively. When high dosage 720g ai/ha water solution of 40% chlorpyrifos-methyl EC were applied in cabbage and soil, residues of chlorpyrifos-methyl in cabbage were 2.55~5.82 mg/kg, on soil was 0.61~1.22 mg/kg on hour 1 respectively, the half-life of chlorpyrifos-methyl was 0.4~1.0d on cabbage, 1.4~1.5d on soil respectively, the degradation rate was more than 90% on the cabbage after 3 days, 98% on the soil interval 14 days. The results showed that chlorpyrifos-methyl is easy to degrade in cabbage and soil.

The final residual concentration of chlorpyrifos-methyl in cabbage and soil was determined. The results of two years showed that when 720g ai/ha water solution of chlorpyrifos-methyl EC was applied in cabbage and field for three times, interval three days and a week, the residual concentration in cabbage was 0.05 mg/kg and 0.006 mg/kg~0.01 mg/kg respectively. The result supports that the residual concentration was no relation with applying dosage and time. The residual concentration in soil was higher than in cabbage, the degradation rate in soil was slower than in cabbage; when they were increased of applying time and dosage, there was no accumulation of chlorpyrifos-methyl residues in soil.

Through comparing and analyzing the GC-FPD and GC-MS analytical technologies, it has been studied of two kinds of superiority.

The degradation and metabolism of chlorpyrifos-methyl at various buffer solution (at the same temperature) and temperature (at the same buffer solution) was studied. The results showed indicated that the degradation rate of chlorpyrifos-methyl was closely related to the pH value and temperature of aqueous solution. Chlorpyrifos-methyl could be degraded rapidly in basic aqueous solution. Under temperature of 25°C and dark conditions, the half-life of chlorpyrifos-methyl at buffer solution of pH5.0, pH7.0 and pH10.0 is 16.5d, 8.6d and 1.9d respectively. The degradation rate of chlorpyrifos-methyl increased quickly with the rise of temperature at the same buffer solution. Through analyzing and comparing the obtained mass spectra with the standard mass spectra could identify the degradation products.

Key Words: Chlorpyrifos-methyl; Degradation ;Residue; Metabolism

第一章 引言

甲基毒死蜱chlorpyrifos-methyl是美国陶氏益农有限公司Dow AgroSciences开发，目前国内也有多家农药公司生产的一种硫逐磷酸酯类杀虫剂。制剂商品名：雷丹，甲基氯吡硫磷，Reldan, Graincot, Torelle, Zertell。化学名称：O,O-二甲基-O-(3,5,6-三氯-2-吡啶基)硫代磷酸酯，分子式： $C_7H_7Cl_3NO_3PS$ ，分子量：322.5，CAS 5598-13-0，化学结构式见图1.1^[1-3]。

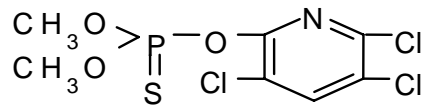


图 1.1 甲基毒死蜱的化学结构式

Fig.1.1 The chemical structure of chlorpyrifos-methyl

甲基毒死蜱是一种高效广谱非内吸型有机磷杀虫、杀螨剂，其作用机制主要是干扰害虫运动神经系统，通过抑制乙酰胆碱酯酶的活性，使得乙酰胆碱不能及时的分解而积累，不断和受体结合，造成后膜上 Na^+ 通道长时间开放，突触后膜长期兴奋，从而影响了神经兴奋的正常传导，进而毒死害虫^[4]。

该药剂具有以下特点：(1)杀虫谱广：可用于贮粮害虫、作物叶面害虫的防治，同时对家庭住宅害虫以及水中蚊虫等卫生也有很好的防治效果。以 5~15mg/L 剂量处理储粮仓库，能有效的控制米象、玉米象、杂拟谷盗、锯谷盗、赤拟谷盗、咖啡豆象、长角扁谷盗、土耳其扁谷盗、麦蛾、印度谷蛾、稻纵卷叶螟等 10 多种常见害虫^[5-8]。(2)兼具多种杀虫方式：具触杀、胃毒和熏蒸作用，所以使用后害虫不易产生抗药性。(3)广谱、高效：10 mg/L 剂量的甲基毒死蜱与 20 mg/L 剂量的防虫磷（高纯度马拉硫磷）有同样的防治效果。在甲基毒死蜱中加入少量的溴氰菊酯混合使用，对有机磷杀虫剂产生交互抗性害虫的防效特别好。(4)毒性低：按我国农药毒性分级标准，甲基毒死蜱属低毒杀虫剂。对人、畜高度安全，无“三致性”，在环境中不积累，相容性较好^[1,9]。

甲基毒死蜱在世界范围内作为商品应用已有 30 多年的历史，经美国EPA登记可用于 50 多种作物、室内卫生及建筑物害虫的防治。1975 年甲基毒死蜱就被联合国粮农组织和世界卫生组织认可，推荐作为储粮害虫防护剂使用、作为防治卫生害虫的有机磷农药之一，并在美、英、法、澳大利亚、意大利等国家登记应用于储粮害虫的防治。我国也已登记使用，美国陶氏益农公司生产的 40% 甲基毒死蜱（雷丹，Reldan）乳油，登记号为LS200035，用于防治十字花科蔬菜的菜青虫、棉铃虫。甲基毒死蜱是我国“十五”期间大力推荐发展的农药品种之一，用于取代甲胺磷、对硫磷等高毒有机磷农药。

由于其药效好，被认为在我国害虫防治上具有广阔的应用前景^[10]。

1.1 甲基毒死蜱的理化特性

纯品为白色结晶，工业品略呈淡黄色，有轻微硫醇气味。熔点 45.5~46.5℃，25℃蒸气压 5.63mPa，折光率 n_D^{25} 1.5745。25℃水中溶解度 4mg/L，易溶于丙酮、苯、乙醚、氯仿等大多数有机溶剂，微溶于乙醇和甲醇。在通常贮藏条件下稳定。在中性介质中稳定，但在酸性（pH4~6）和碱性（pH8~10）介质中能被水解，且在碱性条件下水解速度较快^[1,2,9,11]。

1.1.1 质谱图及裂解机理图

甲基毒死蜱质谱图的分子离子峰 m/z 321 强度较低，基峰为 m/z 286 见图 1.2。裂解机理图见图 1.3。

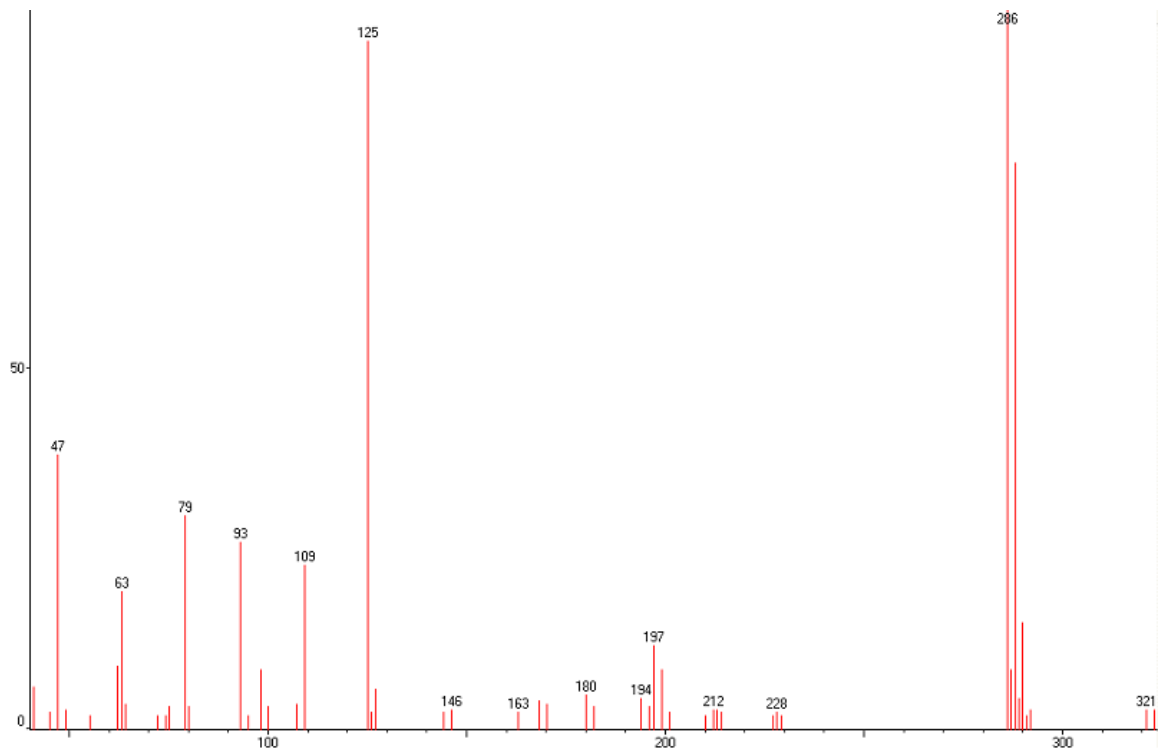


图 1.2 甲基毒死蜱质谱图

Fig.1.2. EI mass spectra of chlorpyrifos-methyl

1.2 甲基毒死蜱毒理学研究进展

1.2.1 毒性

1.2.1.1 急性毒性

纯品急性经口LD₅₀: 大白鼠: 1708mg/kg (雄)、2088 mg/kg (雌); 小白鼠: 2254mg/kg (雄)、2032 mg/kg (雌); 豚鼠 2250 mg/kg, 兔 2000 mg/kg, 鸟 13 mg/kg。

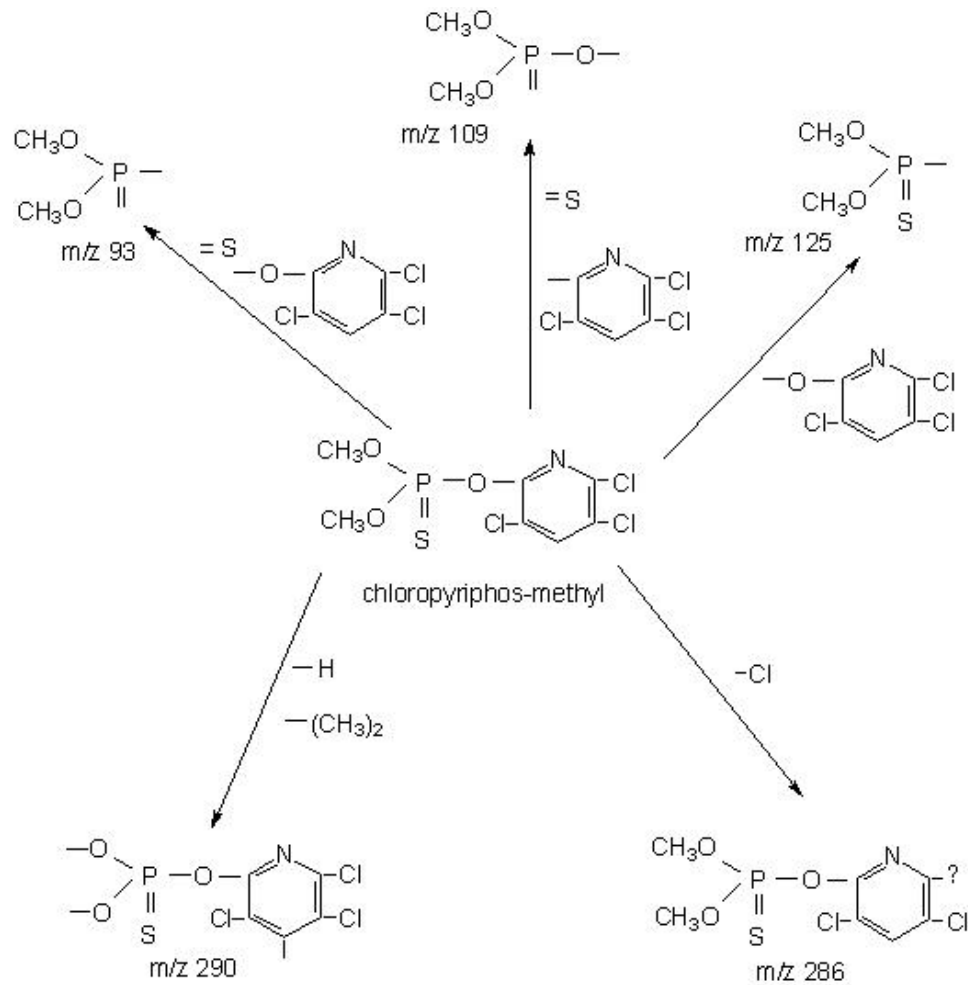


图 1.3 甲基毒死蜱裂解机理图

Fig1.3 Degradation of chlorpyrifos-methyl

急性经皮 LD_{50} : 大、小白鼠 $>2800\text{mg/kg}$, 兔 $>2000\text{mg/kg}$ 。按我国农药毒性分级标准, 甲基毒死蜱属低毒杀虫剂^[1,9]。40%甲基毒死蜱乳油急性经口 LD_{50} : 雌性大鼠为 5620mg/kg , 雄性大鼠为 3160mg/kg 。急性经皮 $LD_{50}2550\text{mg/kg}$, 皮肤刺激强度平均分值为1.3, 眼刺激积分指数(I.A.O.I)最高数为34, 眼刺激的平均指数(M.I.O.Z)7d后为3.3。由此可得出: 40%甲基毒死蜱乳油急性经口、经皮毒性均属于低毒级, 急性皮肤刺激属于轻度刺激性, 对眼属于中度刺激性。中毒症状主要包括: 开始为头痛、多涎、昏睡等感觉, 继而恶心、呕吐、腹痛, 可能出现胸闷、呼吸困难、瞳孔缩小、视力模糊等症状; 若中毒严重, 全身痉挛, 不省人事^[12]。

1.2.1.2 慢性毒性

经狗和大鼠两年喂饲试验, 以血浆胆碱酯酶作为观察指标确定的最大无作用剂量为 1.19mg/kg/d 。蓄积性毒性试验属弱蓄积性^[1,11]。

1.2.1.3 亚急性和亚慢性毒性

甲基毒死蜱在千分之一LD₅₀以下剂量,未发现对免疫机能产生不良作用。因此,可认为千分之一 LD₅₀ (1.19 mg/kg) 剂量是甲基毒死蜱对机体免疫机能影响的最大无作用剂量^[13]。

1.2.1.4 致癌性

给鼠喂饲 0mg/kg/day、0.1mg/kg/day、1.0mg/kg/day 剂量的甲基毒死蜱,持续 104d,未发现有致癌效应产生。与对照组相比,处理组大鼠的体重、食物消耗量均在正常水平。

1.2.1.5 致畸性

在大鼠的致畸性试验研究中,剂量为 250 mg/kg 的甲基毒死蜱,未发现有致畸效应产生。

1.2.1.6 致突变性

目前尚无甲基毒死蜱致突变性的报道。

1.2.1.7 对繁殖的影响

大鼠三代繁殖试验表明,甲基毒死蜱的剂量水平达到 3 mg/kg,对母鼠和幼仔都未产生有害影响。

1.2.1.8 对神经器官的毒害

对鸡的神经毒害研究表明,当喂饲大剂量的甲基毒死蜱,并未产生明显的临床性神经毒害症状。在对鼠、狗、猴、鸭、鹌鹑的长、短期研究中表明,甲基毒死蜱是一种有效的胆碱酯酶抑制剂。其中,血浆胆碱酯酶被抑制的程度远远大于红血细胞和脑。以鼠、狗、猴和人的血浆胆碱酯酶为指数参数确定甲基毒死蜱的最大无作用剂量分别为:鼠: 0.1 mg/kg; 狗: 0.1 mg/kg; 猴: 0.2 mg/kg; 人: 0.1 mg/kg。同时,在两个独立试验研究中也进一步确证了甲基毒死蜱对人的最大无作用剂量;进而通过这些数据来确定甲基毒死蜱的每日允许摄入量为 0~0.01 mg/kg^[11,14]。

1.2.1.9 在人体和动物体内的归宿

在哺乳动物体内,甲基毒死蜱被迅速的吸收并代谢,主要的代谢产物: 3,5,6-三氯-2-羟基吡啶。母体化合物和代谢产物主要从尿液和粪便中被排出,没有发现身体的其它部位贮存。甲基毒死蜱在大鼠体内消除很快,消除半衰期为 1.74h,不到 8h,其 95%以上的甲基毒死蜱已被消除,全身消除率为 0.86L/kg/h,平均滞留时间为 2.51h。当给大鼠按 171 mg/kg静注甲基毒死蜱时,大鼠体内的甲基毒死蜱每天以原形随粪尿的排出量甚微。静注甲基毒死蜱后连续 10d的累计排出量尿中为 28.36μg,粪中为 96.82μg,尿粪中共排出 125.18μg,仅分别占给予量(大鼠体重按 250g计算)的 0.66%、2.27%和 2.93%,从而表明甲基毒死蜱在体内主要是经代谢转化后以代谢产物的形式从体内消除^[15~19]。甲基

毒死蜱在烟叶蛾体内的代谢途径见图 1.4^[11]。

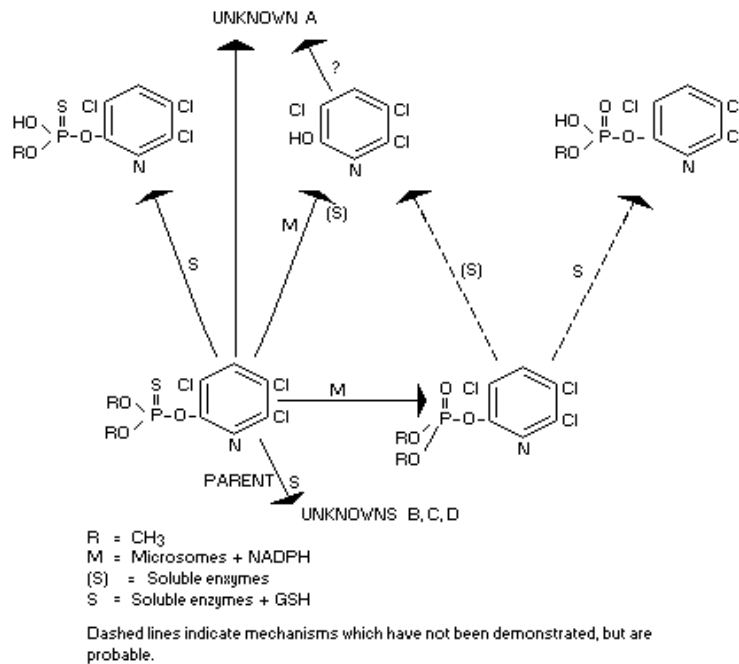


图 1.4 甲基毒死蜱在烟叶蛾体内的代谢途径

Fig1.4 Metabolic pathways of chlorpyrifos-methyl in tobacco budworms

1.2.2.10 致肿瘤性

对大鼠的长期试验研究表明, 未发现有肿瘤增加的现象产生^[11]。

1.2.2 生态效应

1.2.2.1 对鸟的影响

对鱼类和鸟类相对安全, 鲤鱼TL_m(48h)4.0mg/L, 红鲢鱼TL_m(96h)0.3mg/L, 但对虾类有毒, 小龙虾TL_m(36h)仅为 0.004mg/L, 对鱼类毒性, 小鸡用胶囊法经口给药, 其LD₅₀7950 mg/kg^[1,9,11,20]。

对鸭、鹌、日本鹌鹑的喂饲试验表明: 鹌LD₅₀1835mg/kg; 日本鹌鹑LD₅₀>5000mg/kg; 鸭LD₅₀2500~5000mg/kg。当甲基毒死蜱的喂饲剂量分别达到 2500、1250、5000 mg/kg 时, 鹌、鹌鹑、鸭的体重及食物消耗量都有所下降。当甲基毒死蜱每日喂饲剂量达到 78 mg/kg或更高, 血浆胆碱酯酶受到抑制。在最高剂量下, 大脑胆碱酯酶未受到影响^[11]。

1.2.2.2 对土壤呼吸和 P-矿化作用的影响

当田间使用甲基毒死蜱的剂量范围从正常用量到 10 倍正常用量之间时, 甲基毒死蜱对砂壤土并未产生显著影响。而对于粘壤土来说, 当用低剂量甲基毒死蜱进行处理后, CO₂含量显著增加, 但对P-矿化作用并未产生任何影响; 在高剂量下, CO₂含量和P-矿化

作用都相对减少。同时，甲基毒死蜱对两种土壤上的菌种均产生不同程度的毒性^[20]。

1.2.3 环境归宿

甲基毒死蜱在有空气、水分存在时或在土壤和生物系统中，通常不稳定，能迅速的降解成一系列降解产物。其中，3,5,6-三氯-2-羟基吡啶是主要降解产物。

1.2.3.1 甲基毒死蜱在作物上的降解与代谢

甲基毒死蜱在作物上的残留行为类似于毒死蜱，在作物上并未产生易位现象。在作物、土壤和动物上，甲基毒死蜱主要代谢为3,5,6-三氯-2-羟基吡啶。其水解产物是否被作物吸收主要依赖于体系的pH值。在pH<6.0的情况下，甲基毒死蜱以自由的羟基吡啶形式存在，其在水中不溶。同位素跟踪试验表明，土壤和营养物质吸收羟基吡啶的量是微乎其微的。在pH=7.0或pH>7.0的情况下，这种羟基吡啶化合物很容易转化为具有一定溶解度的钠盐，且水解速率较羟基吡啶有明显提高。同时，这种钠盐进入作物体内的速率较羟基吡啶高出5倍，其代谢途径主要包括氯原子的释放和几个未被确认的水溶性分解产物的形成。

对处理谷物上甲基毒死蜱的残留研究表明，90%以上甲基毒死蜱主要存在于作物表面，而在制成的农产品中则仅存在10%以下。谷物经磨粉或烘烤过程后，其剩余残留量将进一步减少约60%^[11,22,23]。

1.2.3.2 甲基毒死蜱在土壤上的降解与代谢

对施有甲基毒死蜱的土壤进行研究。结果表明，其在土壤上并未产生残留，在作物轮作过程中也并未发现有微量的甲基毒死蜱存在。其母体化合物主要代谢为3,5,6-三氯-2-羟基吡啶。其降解速率与土壤的温度、有机质的含量、土壤水分有密切联系。在25~35℃、水分充足、高有机质含量的条件下，甲基毒死蜱的降解半衰期为1.5~2.0d；而在15℃、水分不充足、低有机质含量的条件下，甲基毒死蜱的降解半衰期长达17.7~33.3d。经计算，在适宜的条件下，降解90%甲基毒死蜱所需时间为20~30d；而在不适宜条件下，则需500~1600d。同时，施入土壤上的甲基毒死蜱并未产生淋溶和地下径流现象^[11,24]。

1.2.3.3 在水中的化学降解

甲基毒死蜱在无菌水（pH6.1，20℃）中降解的半衰期为26d，而在pH7.4的水溶液中，降解半衰期降为13d；在pH7.4的条件下，将温度由20℃提高到37.5℃，其降解半衰期仅为2.6d。pH7.4、20~37.5℃的环境条件是水生生物生长的有利条件，由此可推出甲基毒死蜱属易降解有机物^[25]。

甲基毒死蜱的水解速率主要取决于温度和pH值。在25℃、pH为4.2~8.0的条件下，其半衰期为22.7~9.4d。当有少量铜离子存在时，由于螯合作用，其水解速率明显增加。

甲基毒死蜱的水解产物确证是 3,5,6-三氯-2-羟基吡啶和 O,O-二甲基磷酸盐^[11]。

1.3 甲基毒死蜱的残留分析方法研究进展

有关甲基毒死蜱产品的分析方法,文献报道较多^[26-41],如气相色谱法、液相色谱法、光谱法等。美国Dow公司在我国登记注册的 40.7%毒死蜱乳油的分析方法是采用液相色谱法,残留分析则采用光谱法,而世界卫生组织关于毒死蜱和甲基毒死蜱含量分析则为气相色谱法。

测定甲基毒死蜱的残留分析方法主要有气相色谱法、高效液相色谱法、分光光度法。其中,甲基毒死蜱和它的主要代谢产物 3,5,6-三氯-2-羟基吡啶主要采用气相色谱法进行分析测定。据相关文献报道^[11]: 1974年Deahl、Tucker, 1975年Desmarchelier对谷物; 1972年Hollick、Collison对不同蔬菜作物; 1974年,Johnson *etc.*对谷物、牛奶、尿和粪便; 1975年Kubota对蔬菜、作物、土壤; 1970年、1971年Mchellar *etc.*对谷物、草、牛、脂肪中甲基毒死蜱的测定均采用了气相色谱法。总的来说,其分析测定主要是建立在提取、净化的原则基础之上。相对于含水量高的样品来说主要采用二氯甲烷进行提取;土壤主要采用丙酮或甲醇溶液进行提取;干物质或脂肪组织主要采用正己烷进行提取。提取液经液-液分配,弗罗里硅土、硅胶或氧化铝层析柱进行净化。

从丙酮溶液中提取的甲基毒死蜱和它的O-类似物主要采用气相色谱仪配火焰光度检测器FPD或氮磷检测器NPD进行测定。其代谢产物羟基吡啶主要采用气相色谱仪配⁶³Ni的电子捕获检测器ECD进行测定。在测定之前,需经N, O-2(三甲基硅)乙酰胺进行衍生化。

上述分析方法的最低检出浓度分别为:甲基毒死蜱 0.001~0.02mg/kg, O-类似物 0.01mg/kg, 羟基吡啶 0.001~0.05mg/kg。在不同的样品中,其回收率为 85.9~100.4%。

随着我国加入 WTO 后国际贸易的需求以及人民生活水平和质量日益提高,人们对食品特别是蔬菜的质量和安全性也相应要求愈来愈高。从目前文献看,国外对甲基毒死蜱的环境行为研究均有报道,但国内研究相对较少。鉴于国内缺乏评价甲基毒死蜱环境毒理的较为详细的数据,特别是缺乏制定甲基毒死蜱在甘蓝上合理使用准则的理论依据和试验数据,因此开展了这方面的研究工作。

第二章 气相色谱法测定甘蓝、土壤上甲基毒死蜱残留动态的研究

甲基毒死蜱是一种高效广谱的有机磷杀虫剂，由于其毒性较低，世界上许多国家已将其作为粮食储藏保护剂而广泛使用；同时也可有效的防治作物和果蔬类叶面害虫。对于它在柑橘、莴苣、棉花、大豆等作物及土壤上的残留和降解动态的研究国外均有相关报道^[31,32,34,35,42]，而国内报道较少。因此在国内研究它在环境中的降解动态和残留，并进行大面积试验示范和推广是极为必要的。为了明确40%甲基毒死蜱乳油在我国北方甘蓝及土壤上的残留动态，进而为更加科学、合理、安全用药以及为制定甲基毒死蜱在甘蓝上合理使用准则提供基础数据。

2.1 材料与方法

2.1.1 小区试验概况

试验地点：吉林农业大学试验站

试验土壤：草甸黑土，有机质含量3.3%，pH值为6.50~7.0

供试药剂：40%甲基毒死蜱乳油

供试品种：春茬甘蓝（京丰1号）

施药方法：采用背负式喷雾器没得比—16型将40%甲基毒死蜱乳油经两次稀释法稀释后，均匀喷洒于作物表面。

施药时间：2001年6月14日~6月29日；2002年6月25日~7月8日对小区进行施药。田间小区面积为2001年20m²（5m×4m），2002年16.5 m²（5.5m×3m）。

小区布局：三次重复，按各处理间随机排列，各重复间顺序排列。

2.1.2 残留试验田间设计

试验设消解动态及最终残留试验，其中最终残留试验设两个水平的施药剂量—推荐剂量（450g ai/ha）和高剂量（720g ai/ha），分别进行1次施药和3次施药。先在施药3次小区施药2次，喷药间隔7d后，再于各施药小区最后施药1次。采样间隔为施药后1d、3d、7d。每个处理三次重复，并设空白对照。消解动态试验设高剂量一个处理，3次重复，采取1次施药多次取样方式进行。待喷药雾滴挥干后，分别于1/24d、0.5d、1d、2d、3d、7d、14d、21d采样测定。

土壤采样深度为0~15cm，每个处理随机取样5个点，最终取样不少于1kg。用连续四分法取200g，阴干后过333μm（40目）标准筛，于-20℃下保存。甘蓝样品每个处理随机取样5个点，每点各采1棵，共采5棵，每小区样品总重不少于2kg，直接于-20℃下保存。

2.1.3 测定条件和方法

2.1.3.1 试剂和仪器

2.1.3.1.1 试剂

氯化钠、无水硫酸钠（用前 650℃灼烧 4h）、中性氧化铝（130℃烘烤 4~5h，使用前用 6%水减活）^[43]；丙酮、石油醚（60~90℃），均为分析纯，用前重蒸馏；甲基毒死蜱标准样品：含量为 99%，由Dow AgroSciences 公司提供。

2.1.3.1.2 仪器

日本岛津 GC-9A 气相色谱仪：配火焰光度检测器 FPD-P，CR-3A 色谱数据处理器；高速组织捣碎机；回旋式振荡机；SHZ-3 型循环水多用真空泵；2FA-III型真空旋转浓缩器（上海）；进样器。

2.1.3.2 气相色谱条件

色谱柱：SE-54，15m×0.53mm×1.5μm；柱箱温度：柱箱60℃(1min)——15℃/min→ 190℃(3min)；气化室温度260℃；检测器温度260℃；载气：氮气40mL/min，氢气95mL/min，空气780mL/min，尾吹气(高纯氮)5mL/min；保留时间约为9.1min。

2.1.3.3 气相色谱测定

采用气相色谱GC-9A，配火焰光度检测器FPD-P，进样量5μL，采用外标法定量，利用CR-3A色谱数据处理器进行积分。利用保留时间对提取液中的甲基毒死蜱进行确证。

2.1.3.4 标准曲线的建立

甲基毒死蜱进样量从0.025ng~5ng，获得一系列对应的峰面积值。以峰面积Y和进样量X(ng)作图，得到直线回归方程 $Y = -12.03 + 9370.64X$ ， $r = 0.9999$ 。见图2.1。

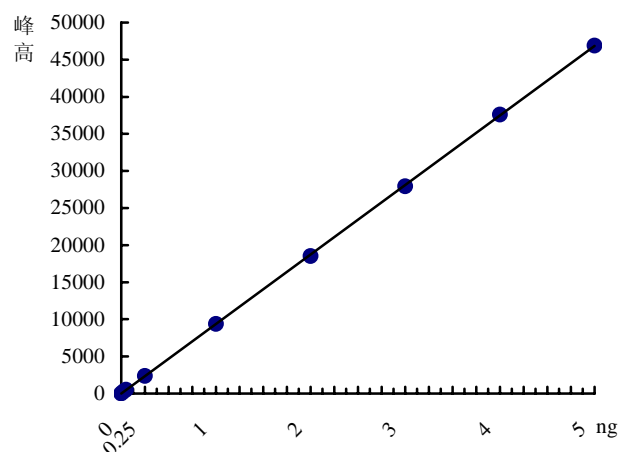


图 2.1 甲基毒死蜱的标准曲线

Fig2.1 Standard curve of chlorpyrifos-methyl

2.1.3.5 样品前处理

2.1.3.5.1 提取

甘蓝：取制备好的样品100g（精确至0.02g），放入高速组织捣碎机中，加入100mL丙酮匀浆后，用铺垫有Celite545的布氏漏斗减压抽滤，每次用40mL丙酮清洗组织捣碎机和布氏漏斗，共洗3次，合并滤液转移到量筒中，用适量的丙酮清洗抽滤瓶，定容至250mL。

土壤：称取20g（精确至0.02g）土样放入碘量瓶中，加入100mL丙酮振荡提取4h，余同甘蓝。

将50 mL提取液转入500mL分液漏斗，再加入50mL5%NaCl溶液，先用50mL石油醚清洗量筒后，倒入分液漏斗中振摇萃取提取液，共重复3次，合并石油醚相，过无水硫酸钠柱滤入250mL旋转浓缩瓶中，用少量石油醚清洗柱壁，合并滤液后加入25%癸醇3滴，在38℃水浴中浓缩近干，然后用氮气吹干。

2.1.3.5.2 净化

层析柱上下两端加2cm 厚无水硫酸钠，中间加5g中性氧化铝，用5mL石油醚预淋后，3mL石油醚转移上样，用70mL石油醚淋洗，收集全部淋洗液，加入25%癸醇2滴，浓缩近干，用10mL石油醚定容（土壤样品4mL），上机测定。

2.1.3.6 添加回收率试验

用空白对照区甘蓝和土壤样品进行添加甲基毒死蜱回收率试验。添加浓度为甘蓝和土壤均设0.05mg/kg、0.1mg/kg和0.5mg/kg三个水平，各处理重复三次。

2.2 结果与分析

2.2.1 提取

由于甘蓝属含水量较高的样品，所以本试验选取与水混溶的丙酮作为提取剂。主要是考虑到丙酮具有无毒、沸点适中、容易纯化，液-液分配时容易分层，价格也较便宜等诸多优点^[43-46]。

2.2.2 净化

本试验采用弱极性的石油醚对丙酮-水提取液进行液-液分配。由于石油醚可与丙酮形成石油醚-丙酮有机相体系，甲基毒死蜱在这一体系中的分配系数远大于水中的分配系数，再通过有机相和水相的清晰分层，从而达到去除提取液中的水分和水溶性杂质的目的。

液-液分配后所收集的有机相中仍然含有杂质，主要是叶绿素。为了进一步净化，国内外多采用柱层析法^[35]。所以本试验也采用了柱层析法，层析柱中的填料为中性氧化铝（用前6%减活）。经过这一处理后，得到澄清透亮的提取液，经浓缩后供仪器测试。

中性氧化铝的使用,不仅可有效吸附叶绿素,而且节省淋洗液,且价格也较便宜。同时所加入的无水硫酸钠,可进一步除去微量水分。

2.2.3 气相色谱条件的选择

由于甲基毒死蜱在恒温条件下出峰时间较早,大约在3min左右,且有较大的杂质峰干扰。所以本试验采用了程序升温,不仅避免了杂质峰的干扰,同时也延长了甲基毒死蜱的出峰时间,使其在适宜的保留时间内出峰。尾吹气的存在确保了峰形的质量。

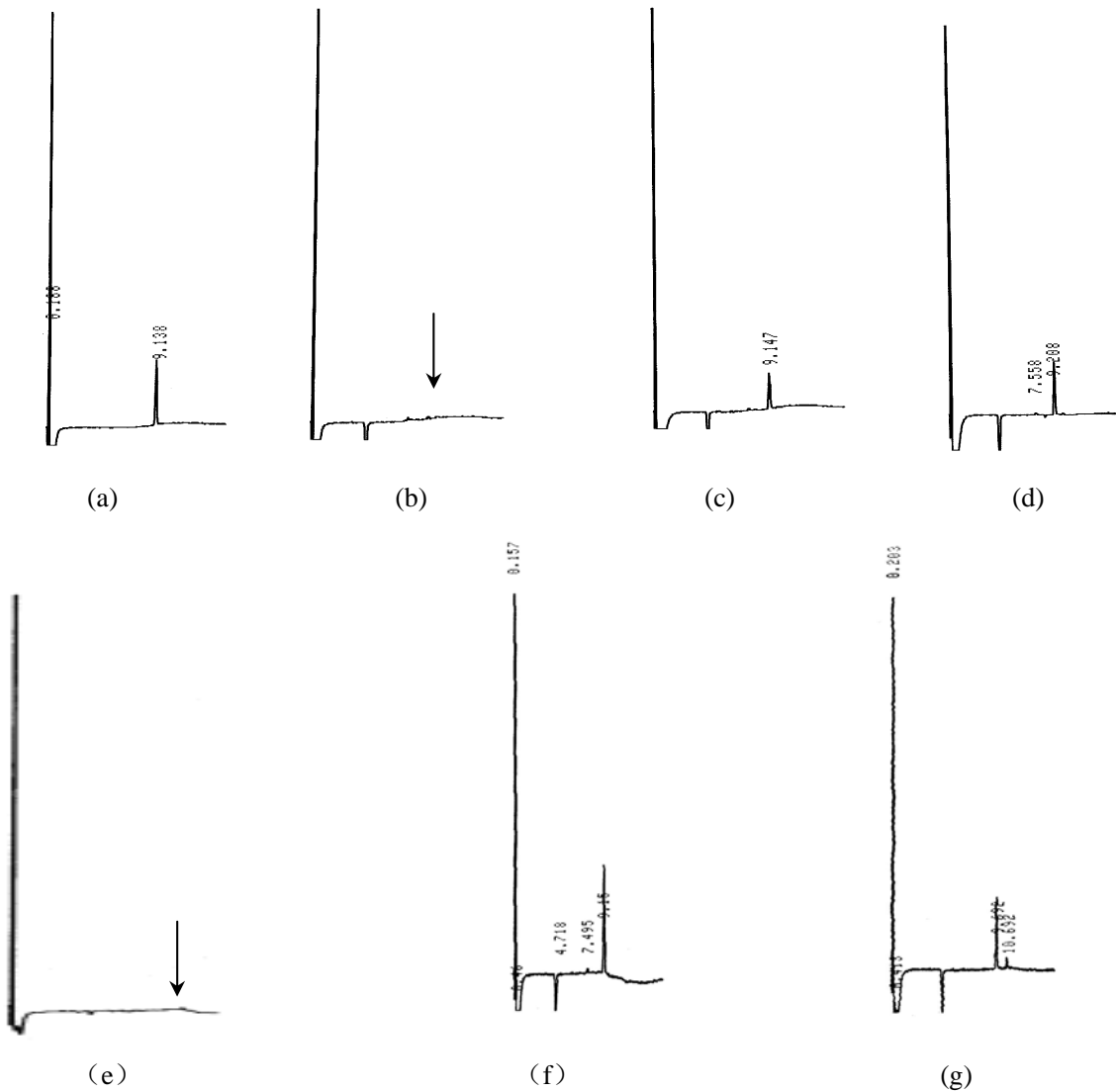
2.2.4 添加回收率试验结果

甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上不同添加水平回收率分别为80%~109% (甘蓝), 80%~118% (土壤) (表2.1, 图2.2), 均大于80%, 表中回收率数值为三次平行测定结果的平均值, 符合残留分析的要求。甲基毒死蜱的最小检出量 2×10^{-11} g; 甘蓝上最低检出浓度0.002mg/kg, 土壤上最低检出浓度0.004mg/kg。

表 2.1 甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的添加回收率

Table2.1 Recovery of Chlorpyrifos-methyl in cabbage and soil

添加药剂 Additive	添加浓度 Fortification Level (mg/kg)	甘蓝 cabbage		土壤 soil	
		回收率 Recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%)	回收率 Recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%)
甲基 毒死蜱	0.05	105	3.33	117	1.31
	0.1	98	1.18	113	3.54
	0.5	84	7.90	97	4.12



(a) 甲基毒死蜱标准品chlorpyrifos-methyl (b) 土壤空白control soil
 (c) 土壤添加fortified soil (d) 土样soil sample (e) 甘蓝空白control cabbage
 (f) 甘蓝添加fortified cabbage (g) 甘蓝样品cabbage sample

图 2.2 甲基毒死蜱的气相色谱图

Fig2.2 GC chromatograms of chlorpyrifos-methyl

2.2.5 甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的残留动态

甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上不同间隔期的残留量见表2.2。试验结果经对数转换与回归分析得甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的降解曲线方程、半衰期（表2.3）。它们的降解曲线见图2.3和2.4。

表 2.2 甲基毒死蜱在甘蓝上的残留动态

Table 2.2 The residual dynamics of chlorpyrifos-methyl in cabbage and soil

施药 时间 The time of applying	施药 剂量 The dose of applying g ai/ha	取样间 隔时间 Interval (d)	施药1次 Applying one time			
			甘蓝 Cabbage		土壤 Soil	
			平均残留量 Residual Level (mg/kg)	消解率 Rate of Degradation (%)	平均残留量 Residual Level (mg/kg)	消解率 Rate of Degradation (%)
2001年6 月29日	720	1/24	5.82	—	2.12	—
		1	1.10	81	1.12	47
		2	0.19	97	0.59	72
		3	0.06	99	0.26	88
		7	0.02	99	0.07	97
		14	0.002	99	0.02	99
		21	0.002	99	0.006	99
2002年7 月8日	720	1/24	2.55	—	0.61	—
		0.5	1.00	61	0.42	31
		1	0.31	88	0.30	51
		3	0.08	97	0.10	84
		5	0.06	98	0.07	89
		7	0.01	99	0.02	97
		14	0.005	99	0.01	98

表 2.3 甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的降解动力学参数

Table 2.3 Kinetic parameter for degradation of chlorpyrifos-methyl in cabbage and soil

样品 Sample	处理 Treatments g ai/ha	半衰期 $T_{1/2}$ (d)	$T_{0.99}$ (d)	$C_t = C_0 e^{-kt}$		相关系数 r
				C_0 (mg/kg)	k (1/d)	
甘蓝 cabbage	2001年 720	0.4	3.0	5.300	1.5480	-0.9963
	2002年 720	1.0	6.4	1.277	7.132×10^{-1}	-0.9149
土壤 soil	2001年 720	1.4	9.5	1.678	4.814×10^{-1}	-0.9798
	2002年 720	1.5	10	0.526	4.582×10^{-1}	-0.9878

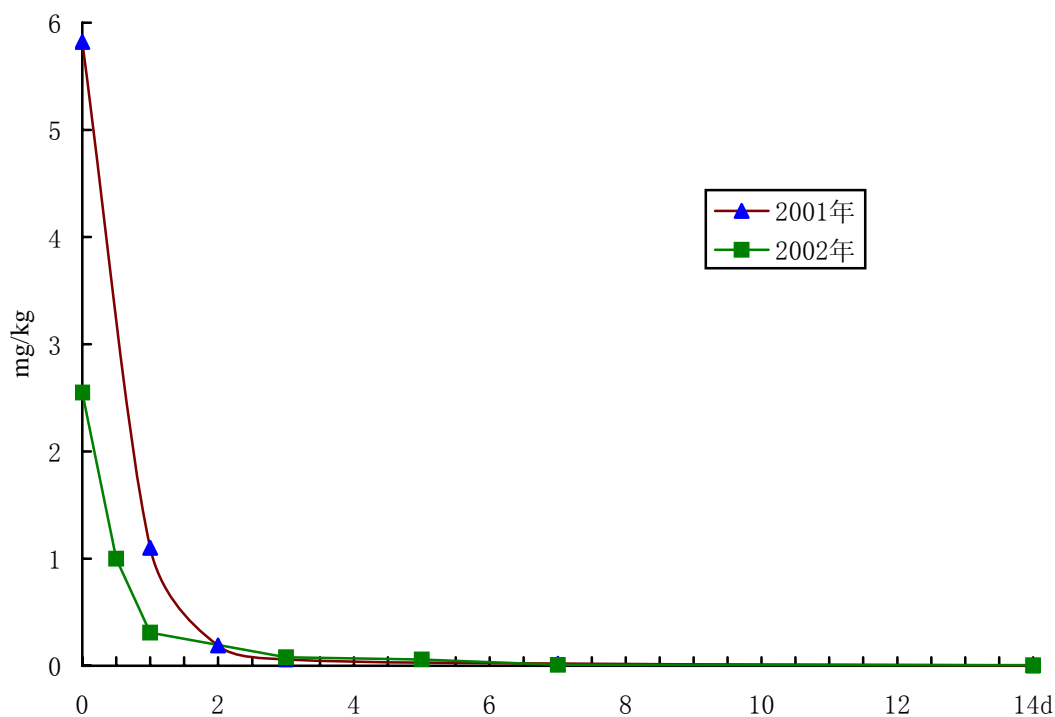


图2.3 甲基毒死蜱在甘蓝上的消解动态曲线

Fig2.3 Degradation curves of chlorpyrifos-methyl in cabbage

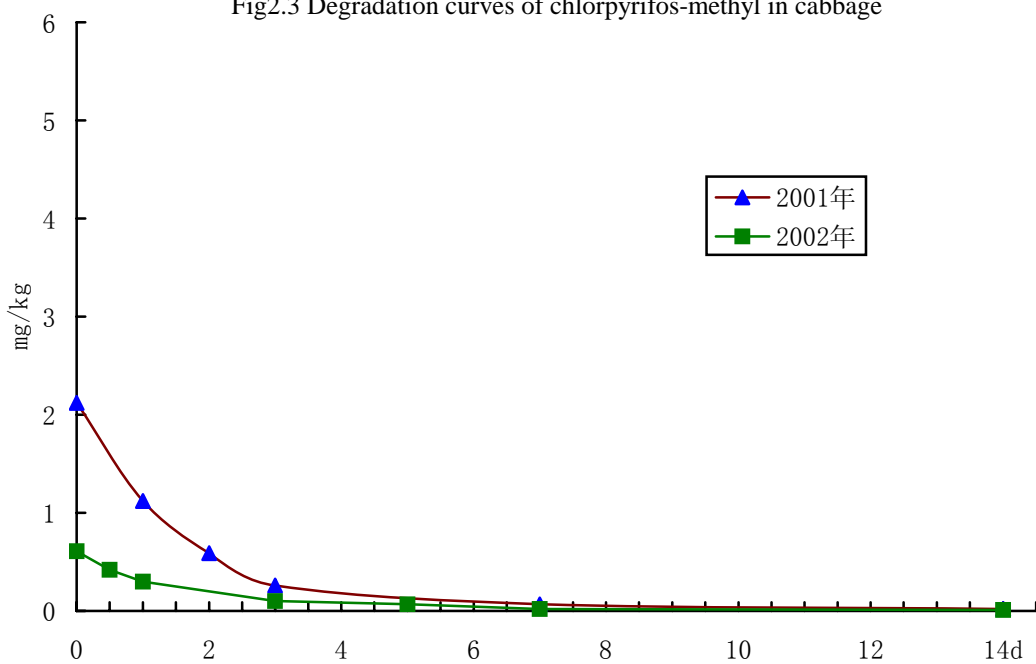


图2.4 甲基毒死蜱在土壤上的消解动态曲线

Fig2.4 Degradation curves of chlorpyrifos-methyl in soil

试验结果表明,甲基毒死蜱在甘蓝上降解速度较快,施药3d后消解率即达90%以上;在土壤上降解速度比在甘蓝上慢,距施药后第14d采样,消解率降为98%以上。总之,以消解速率来评价,甲基毒死蜱无论在甘蓝上,还是土壤上都属于易降解农药。

2.2.6 甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的最终残留量

2001~2002年甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上最终残留量结果见表2.4。

表 2.4 甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的最终残留量
Table 2.4 The residual of chlorpyrifos-methyl in cabbage and soil

施药 时间 The time of applying	施药 剂量 The dose of applying g ai /ha	取样 间隔 时间 Interval (d)	施药1次		施药3次	
			Applying one time		Applying three times	
			甘蓝 Cabbage	土壤 Soil	甘蓝 Cabbage	土壤 Soil
			平均残留量 Residual Level (mg/kg)	平均残留量 Residual Level (mg/kg)	平均残留量 Residual Level (mg/kg)	平均残留量 Residual Level (mg/kg)
2001年6 月29日	450	1	0.31	0.56	0.45	0.55
		3	0.03	0.23	0.03	0.11
		7	0.004	0.04	0.002	0.06
	720	1	1.10	1.12	1.05	0.90
		3	0.06	0.26	0.05	0.22
		7	0.02	0.07	0.01	0.12
2002年7 月8日	450	1	0.11	0.17	0.14	0.34
		3	0.07	0.09	0.04	0.28
		7	0.009	0.02	0.006	0.01
	720	1	0.31	0.30	0.26	0.24
		3	0.08	0.10	0.05	0.27
		7	0.01	0.02	0.006	0.04

试验结果表明施用3次40%甲基毒死蜱乳油,施药量为720g ai/ha,最后一次施药距采收3d,甘蓝上的残留量为0.05mg/kg;距采收7d,残留量为0.006 mg/kg~0.01mg/kg。由此可以看出,甘蓝上的残留量较低,而且与施药次数和剂量无关。在土壤上的残留量稍高,消解稍慢,但随着施药量和施药次数的增加,残留量增加不显著,没有积累性。

2.3 讨论

本章主要研究了甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的残留和降解动态。试验结果表明甲基

毒死蜱在甘蓝和土壤上的原始沉积量分别为 2.55~5.82mg/kg (甘蓝), 0.61~2.12 mg/kg (土壤)。以第一次采样为起点, 甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的半衰期分别为 0.4~1.0d (甘蓝), 1.4~1.5d (土壤)。降解过程均符合一级动力学方程。降解速率快, 主要是由于土壤上微生物的分解作用以及植株中所存在的降解农药的酶系统而引起^[47]。此外, 化学水解也是导致甲基毒死蜱降解的另一主要原因。7d后, 甲基毒死蜱在甘蓝上的残留量仅为 0.006mg/kg~0.01mg/kg, 这一数据符合WHO所规定的甲基毒死蜱每日允许摄入量 (0~0.01mg/kg)^[11], 因而不至于对人类造成有毒危害; 而在土壤上的残留浓度也已降为 0.12mg/kg, 降解率为 94.3%, 因而不至于对大田土壤造成长期的残留危害。

从国际食品法典委员会CAC的食品中农药最大残留限量标准(第二卷)中查得甲基毒死蜱的ADI值为0.01mg/kg(1992)^[48], 据此FAO/WHO规定甲基毒死蜱在甘蓝上的MRL值为0.1mg/kg。参照这一规定, 建议40%甲基毒死蜱乳油在甘蓝上施药量不要高于450g ai/ha, 施药次数不超过3次, 最后一次施药距采收间隔期不少于3d。最大残留限量建议暂定为0.1mg/kg。

另外值得说明的是甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的残留量还与甘蓝叶片的茂密程度即遮挡作用有着密切联系。从试验结果可以看出2002年甘蓝、土壤的原始沉积量都比2001年的低, 分析其主要原因是2002年施药时间比2001年晚9d, 甘蓝个头较大有稀释作用, 同时甘蓝叶片大也有遮挡作用的缘故。

第三章 气质联用法测定甘蓝、土壤上甲基毒死蜱残留动态的研究

气相色谱-质谱联用技术是上世纪 50-60 年代快速发展的一种分析鉴定技术,随着仪器真空系统的不断改进和弹性石英毛细管色谱柱的广泛应用,高灵敏度、高分辨率的台式质谱仪日趋发展成熟,气相色谱-质谱联用技术正逐渐被广泛应用于石油、化工、农药、医药、环境科学、生化等方面。在农药的研究开发、生产、使用过程中,不断有新的分析要求出现,而气相色谱-质谱联用技术对农药的结构鉴定、残留分析、环境污染分析、代谢降解研究和毒理机制研究方面起着极其重要的作用。在有机磷农药的残留分析中,就有过使用气相色谱-质谱联用技术进行分析测定的报道^[49,50-52]。

甲基毒死蜱作为一种硫代磷酸酯型有机磷杀虫剂,其残留分析方法目前普遍采用的是气相色谱-火焰光度检测器 GC-FPD 法,而采用气相色谱-质谱法进行同时测定和超标确证方面的研究报道极少。GC-FPD 法虽已普遍例行,定量准确,已证明是一种经典适用的分析方法,但在气相色谱分析中,干扰物与待测物在同一根色谱柱具有相同保留时间的现象时有发生,特别是对污染物的不明样品更易造成错误判断。对于无污染源样品,只能重新净化实验条件,再次重复测定,而对于一些干扰物与待测物性质相似的组分,运用重新净化的方法仍无法消除干扰。因此,利用气相色谱-质谱法来进行测定和超标确证是解决这一问题的有效手段。

本文介绍应用气相色谱-质谱选择离子扫描检测方式 GC-MSD-SIM 来进行甘蓝和土壤样品上甲基毒死蜱的残留动态研究,同时进行超标确证;并进行气相色谱-质谱条件选择试验、回收率和精密度试验、实际样品分析试验;从而达到一举两得,事半功倍的效果;并且避免了气相色谱中,当干扰物的保留时间与被测物非常接近时而引起错误的判断。

3.1 材料与方法

3.1.1 仪器与试剂

3.1.1.1 仪器

日本岛津公司 GC-MS 17A-QP5000 气相色谱-质谱联用仪;高速组织捣碎机;回旋式振荡机;SHZ-3 型循环水多用真空泵;2FA-III 型真空旋转浓缩器(上海)。

3.1.1.2 试剂

同第二章 2.1.3.1.1。

3.1.2 实验内容

3.1.2.1 气相色谱分析条件

色谱柱: J&W Scientific DB-1 弹性石英毛细管柱 30m×0.25mm×0.25 μ m;

柱箱温度：80℃(1min) $\xrightarrow{15^\circ\text{C}/\text{min}}$ 260℃(10min)；；进样口温度：280℃；GC-MS接口温度：280℃；载气：高纯He₂ (20mL/min)；进样方式：不分流进样；进样时间：2min；进样量：1μL。

3.1.2.2 质谱分析条件

质量范围：40~350；扫描间隔 (s)：0.50；槛值：1000；溶剂切割时间 (min)：6.00。

实时分析显示：Spectrum；检测器电压 (KV)：1.50。

所选碎片离子：选择离子扫描 SIM 时以甲基毒死蜱的特征离子质量数 286, 125 组成离子组；色质联用仪经全氟三丁胺 PFTBA 自动调谐，灵敏度和分辨率均达到最佳匹配。

溶剂切割时间 (min)：9.50 (甘蓝)，9.00 (土壤)

开始分析时间 (min)：10.78 (甘蓝)，10.61 (土壤)；

质谱结束时间 (min)：11.15 (甘蓝)，10.95 (土壤)

3.1.3 定性分析

在全扫描检测方式 Scan 下，采用甲基毒死蜱标准样品 (2μg/mL) 的质谱图 (见图 3.1) 进行定性分析，用以确定气谱、质谱条件 (目的：待分析结束后，可部分自动将有关总离子流图的信息导入定量表)，并确定甲基毒死蜱的出峰时间。

3.1.4 SIM法标准曲线的建立

采用标准曲线法进行定量分析。在选择离子扫描检测方式 SIM 下，以 0.05μg/mL、0.1μg/mL、0.2μg/mL 甲基毒死蜱标准溶液建立标准曲线 (图 3.1)。以峰面积 Y 和进样

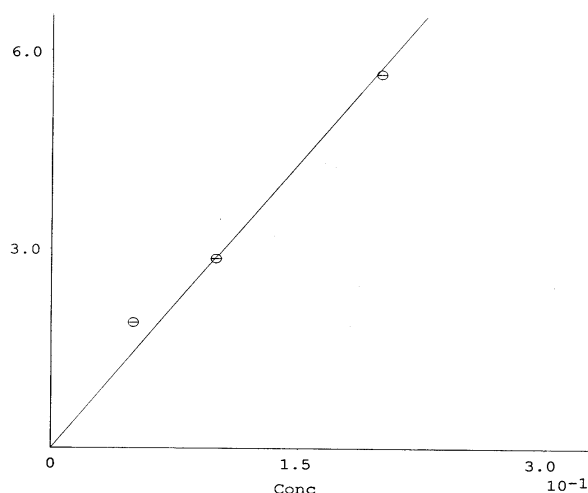


图 3.1 甲基毒死蜱标准曲线

Fig.3.1 Standard curve of chlorpyrifos-methyl

量 $X(\text{ng})$ 作图, 得到直线回归方程 $Y=4764.50+255192.86X$, $r=0.9965$ 。

3.1.5 样品前处理

同第二章 2.1.3.5

3.2 结果与分析

3.2.1 气相色谱条件的选择

为了对甘蓝和土壤样品上甲基毒死蜱进行准确的定量分析, 选择不分流进样方式, 从而增加了方法灵敏度。

3.2.2 质谱条件的选择

选取甲基毒死蜱标准溶液 ($2\mu\text{g}/\text{mL}$) 通过全扫描方式 GC-MS-SCAN 做出总离子流图 (TIC) (图 3.2), 然后根据质谱图中的碎片离子先后选择丰度相对较高、分子量相对较大的碎片离子, 即 M/Z 为 286, 125 的离子作为其测定和确证的特征目标监测离子, 并针对样品来进行 GC-MS-SIM 测定选择试验。结果表明, M/Z 为 286, 125 的离子可作为甲基毒死蜱定量测定和超标确证的特征目标监测离子(图 3.3~图 3.9)。测定时, 可根据其标准物和待测样品的 SIM 总离子流图中的峰面积, 采用外标法定量; 确证时, 可根据待测检出物中碎片离子的种类和丰度比作为其超标判别的依据。经试验, 该特征目标监测离子测定灵敏度高, 选择性好, 干扰物少, 线性范围宽, 重现性好, 定量准确, 确证结果准确可靠。

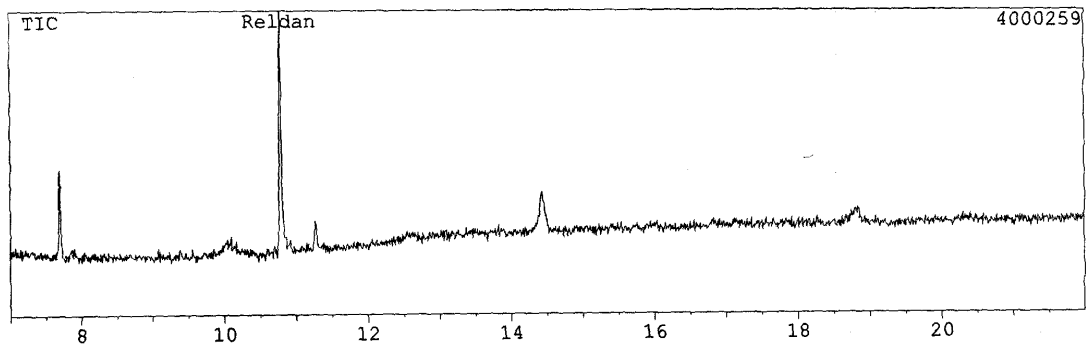


图 3.2 甲基毒死蜱标准溶液总离子流图

Fig.3.2 Total ion current chromatogram(TIC) of chlorpyrifos-methyl standards

3.2.3 方法回收率与精密度

采用空白对照区甘蓝和土壤样品进行甲基毒死蜱回收率试验, 通过制备加标样品的提取液, 进行GC-MS测定。分别对三个添加水平的加标样品进行测定, 计算回收率, 结果见表 3.1, 表中回收率数值为三次平行测定结果的平均值。甲基毒死蜱的最小检出量 $5\times 10^{-11}\text{g}$; 甘蓝上最低检出浓度 $0.025\text{mg}/\text{kg}$, 土壤上最低检出浓度 $0.05\text{mg}/\text{kg}$ 。

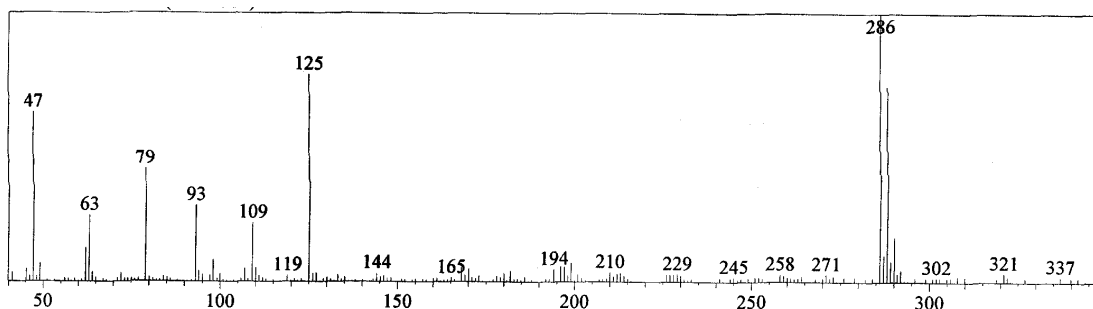


图 3.3 甲基毒死蜱质谱图 (m/z286,125; 丰度比 100.0 : 95.2)

Fig.3.3. EI mass spectra of chlorpyrifos-methyl(m/z 286,125; abundance ratio:100.0:95.2)

表 3.1 甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的添加回收率

Table3.1 Recovery of chlorpyrifos-methyl from cabbage and soil

试样 Sample	添加水平 Fortification Level (mg/kg)	添加量 Fortification (μg)	回收率 Recovery (%)	平均回收率 Mean Recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%)
甘蓝 Cabbage	0.05	1	98, 92, 84	91	8
	0.1	2	111, 99, 88	99	12
	0.5	10	133, 84, 101	106	23
土壤 Soil	0.05	1	105, 86, 94	95	10
	0.1	2	119, 107, 97	108	10
	0.5	10	125, 96, 81	101	22

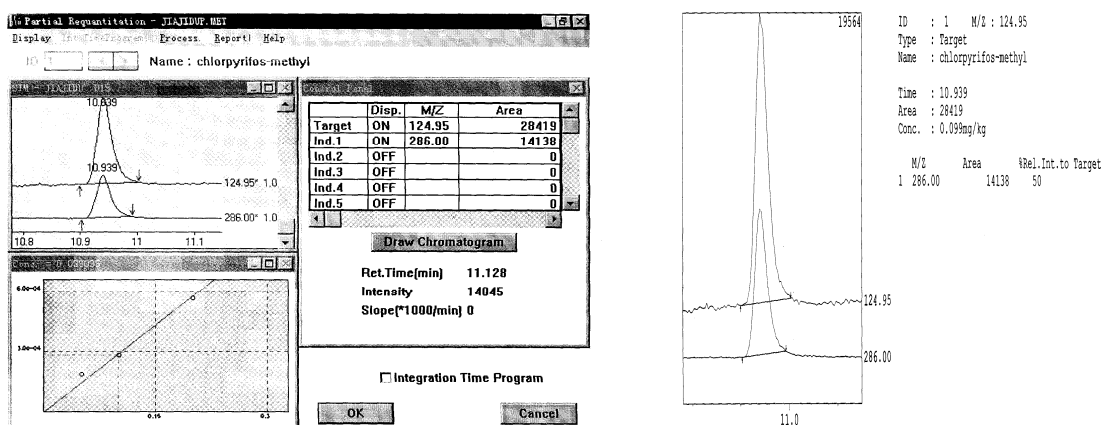


图 3.4 甲基毒死蜱标准溶液 SIM 监测图

Fig.3.4 Monitoring charts of chlorpyrifos-methyl standard solution under SIM mode

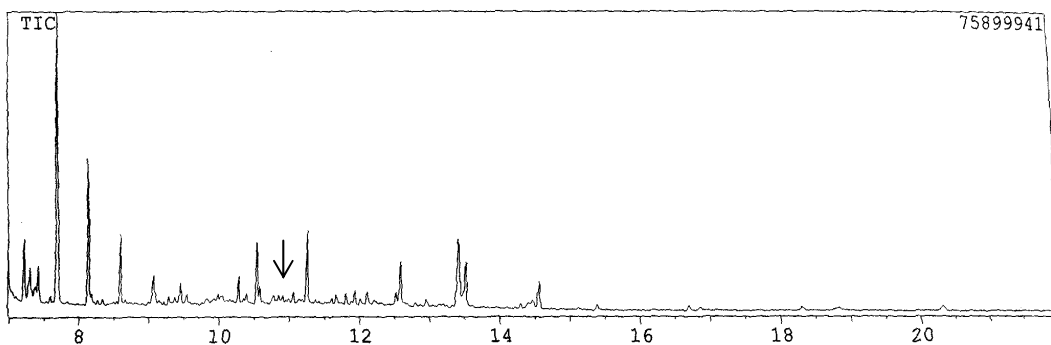


图 3.5 甘蓝空白样品总离子流图

Fig3.5 Cabbage CK under Scan mode

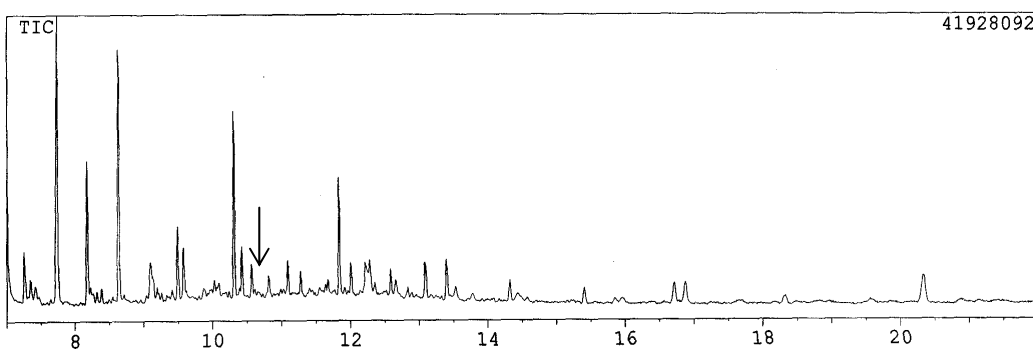


图 3.6 土壤空白样品总离子流图

Fig3.6 Soil CK under Scan mode

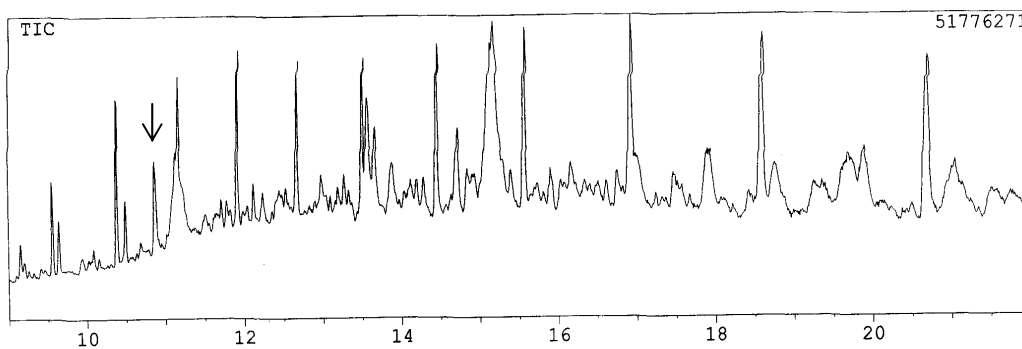


图 3.7 甘蓝样品总离子流图

Fig3.7 Cabbage sample under Scan mode

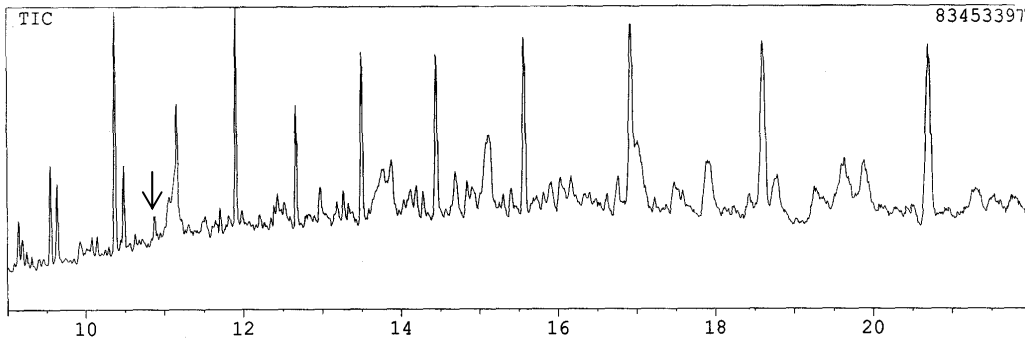


图 3.8 土壤样品总离子流图

Fig3.8 Soil sample under Scan mode

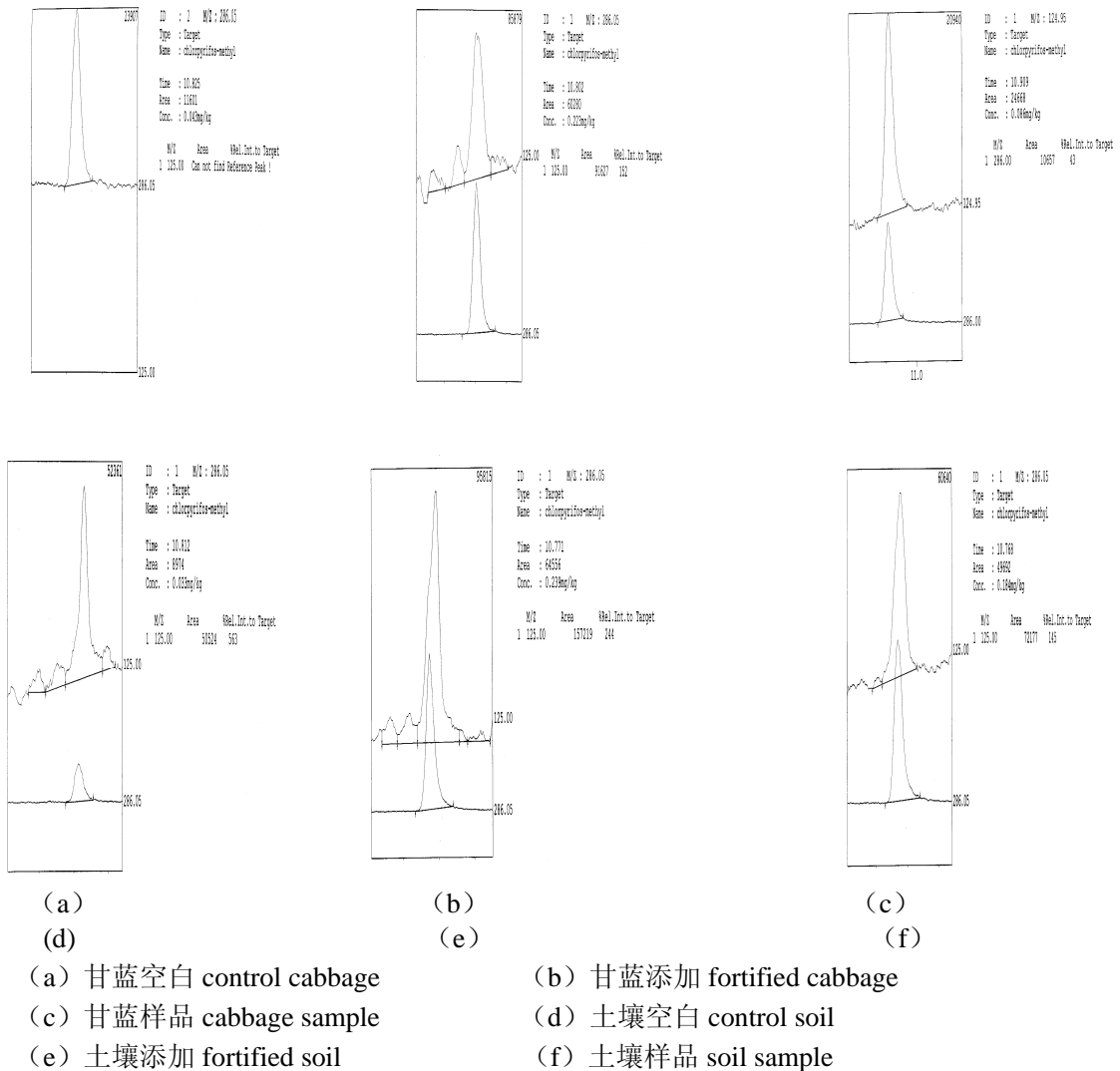


图 3.9 甲基毒死蜱在 SIM 模式下的色谱图

Fig3.9 Chromatograms of chlorpyrifos-methyl under SIM mode

3.2.4 田间样品分析结果

甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上不同间隔期的残留量见表3.2。

试验结果经对数转换与回归分析得甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的降解曲线方程、半衰期（表3.2）。它们的降解曲线见图3.10和3.11。

表 3.2 甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的消解动态

Table 3.2 The residual dynamics of chlorpyrifos-methyl in cabbage and soil

施药时间	施药剂量 g ai /ha	取样间隔时间 Interval (d)	施药1次 Applying One Time			
			甘蓝Cabbage		土壤Soil	
			平均残留量 Residual Level (mg/kg)	消解率 Rate of Degradation (%)	平均残留量 Residual Level (mg/kg)	消解率 Rate of Degradation (%)
2002年7月8日	720	1/24	3.50	—	1.10	—
		0.5	1.09	69	0.78	29
		1	0.30	91	0.75	32
		3	0.05	99	0.46	58
		5	0.08	98	0.27	75
		7	0.03	99	0.09	92
		14	0.01	99	0.05	95
消解动态方程			$C_t=1.4566e^{-0.5769t}$ $r=-0.9330, T_{1/2}=1.2d$	$C_t=0.8701e^{-0.2278t}$ $r=-0.9608, T_{1/2}=3d$		

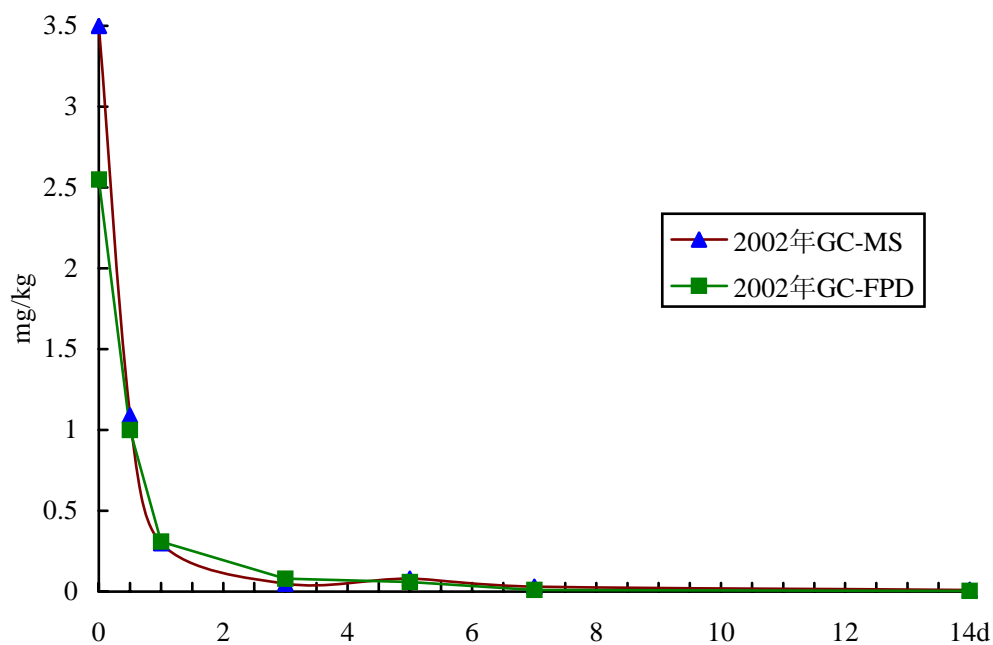


图3.10 甲基毒死蜱在甘蓝上的消解动态曲线

Fig3.10 Degradation curves of chlorpyrifos-methyl in cabbage

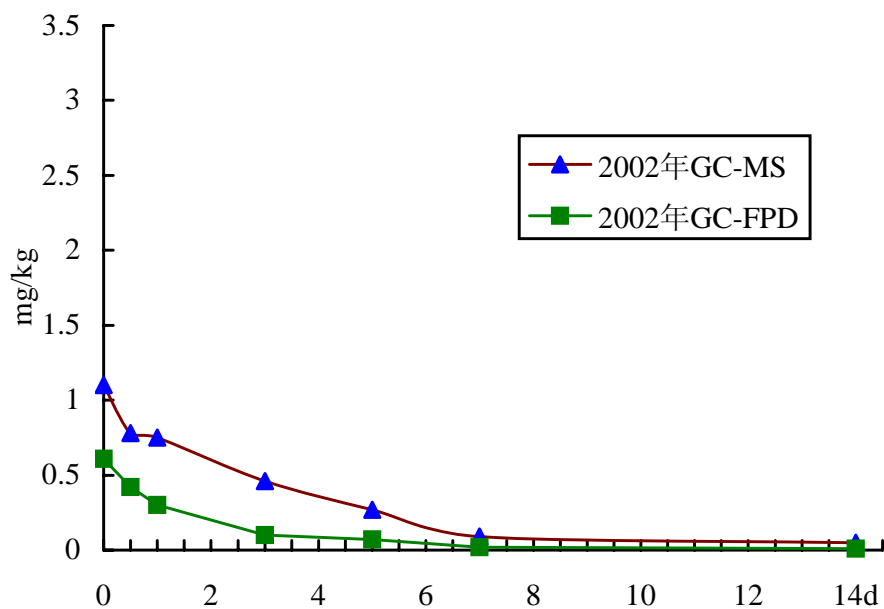


图3.11 甲基毒死蜱在土壤上的消解动态曲线

Fig3.11 Degradation curves of chlorpyrifos-methyl in soil

从试验结果可以看出,无论采用气相色谱-质谱联用仪技术,还是采用气相色谱(配火焰光度检测器)技术,甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上都属于易降解农药。采用GC-MS联用技术,测得甲基毒死蜱在甘蓝上的半衰期为1.0d;采用GC-FPD技术测得的半衰期为1.2d,两者数据基本吻合。而测得的甲基毒死蜱在土壤上的半衰期两者数据相差较大。

采用GC-MS联用技术所测得的甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的最终残留量见表3.3。

表 3.3 甲基毒死蜱在甘蓝及土壤上的最终残留量

Fig.3.3 The last residual of chlorpyrifos-methyl in cabbage and soil

施药 时间 The Time of applying	施药 剂量 The dose of applying g ai /ha	取样 间隔 时间 Interval (d)	施药1次		施药3次	
			Applying One Time		Applying Three Times	
			甘蓝cabbage	土壤soil	甘蓝cabbage	土壤soil
			平均残留量 Residual Level (mg/kg)	平均残留量 Residual Level (mg/kg)	平均残留量 Residual Level (mg/kg)	平均残留量 Residual Level (mg/kg)
2002年7 月8日	450	1	0.10	0.17	0.18	0.74
		3	0.08	0.14	0.04	0.22
		7	0.04	0.11	0.02	0.07
	720	1	0.30	0.75	0.24	0.94
		3	0.05	0.46	0.05	0.75
		7	0.03	0.09	0.02	0.08

从试验数据可以看出,GC-MS联用技术所测得的数据稍高于GC-FPD技术所测得的数据。但无论是对于甘蓝还是土壤,7d后所测得的甲基毒死蜱残留量都很低,对甘蓝和土壤都不会造成污染。

3.2.5 两种测定分析方法的比较研究

3.2.5.1 方法显著性检验比较

用空白对照区甘蓝和土壤样品进行添加甲基毒死蜱回收率试验。添加浓度为甘蓝和土壤均设0.05mg/kg、0.1mg/kg和0.5mg/kg三个水平,各处理重复三次。分别采用GC-FPD法和GC-MS-SIM法进行外标法定量测定。经F检验证明,GC-FPD法和GC-MS-SIM法测定结果无显著性差异。

3.2.5.2 方法灵敏度比较

GC-FPD法所能检出的最低检出浓度为:0.002 mg/kg(甘蓝),0.004 mg/kg(土壤);而GC-MS-SIM法所能检出的最低检出浓度为:0.025mg/kg(甘蓝),0.05mg/kg(土壤)。

这表明相对于甲基毒死蜱来说，GC-FPD法的灵敏度高于GC-MS-SIM法。这主要是由于检测器性能决定的。因为甲基毒死蜱为含磷化合物，而FPD对含磷化合物具有高灵敏度和高选择性，且对磷的响应为线性^[53]。

3.2.5.3 确证手段比较

GC-FPD法在进行甲基毒死蜱的定性过程中主要是采用已知物直接对照法来进行定性分析的，也就是说采用保留时间来直接进行定性的。这就要求在测定过程中载气的流速，载气的温度和柱温度一定要恒定。在试验过程中，载气流速的微小波动都会对定性结果产生影响。而GC-MSD-SIM法却是采用MS作为GC的检测器，通过MS采集数据，再经过计算机的存储和处理，给出总离子流图，将测得的目标化合物质谱图与标准质谱库进行在线或离线检索对比后，利用质谱图所提供的信息进行定性。在GC-MS定性分析过程中，往往只需优化GC的分离条件，达到最佳分离就能得到好的定性分析结果。因此，就甲基毒死蜱的定性分析方面来说，GC-MS优于GC-FPD。

第四章 甲基毒死蜱的水解研究

施入农田的农药,在各种环境因素的影响下不断地降解而渐趋消失;农药在水体中的降解是农药遭受非生物降解的一个主要方面。了解农药对水体的污染规律与测定农药在水体中的水解能力,是评价一种新农药在环境中安全性的一个重要指标,对于预测农药在水体中的残留性及其迁移变化规律有着重要意义^[54,55]。

本试验从生态毒理学的观点出发,进行了甲基毒死蜱在水环境中的水解模拟试验,从而为评价它在生态系中的安全性提供科学依据。

4.1 材料和方法

4.1.1 试剂和药品

丙酮(A.R.)、石油醚(A.R.) (60~90℃),用前重蒸馏;苯二甲酸氢钾(A.R.);氢氧化钠(A.R.);氯化钾(A.R.);硼酸(A.R.);磷酸二氢钾(A.R.);无水硫酸钠(A.R.),用前 650℃灼烧 4h^[43];蒸馏水;甲基毒死蜱标准样品:含量为 99%,由Dow AgroSciences 公司提供。

标准缓冲溶液^[56]:

pH5: 500mL 0.1mol/L 苯二甲酸氢钾+226mL 0.1mol/L 氢氧化钠,加蒸馏水定容至 1L;

pH7: 500mL 0.1mol/L 磷酸二氢钾+291mL 0.1mol/L 氢氧化钠,加蒸馏水定容至 1L;

pH9: 500mL 1:1 的 0.1mol/L 硼酸与 0.1mol/L 氯化钾混合液+208mL 0.1mol/L 氢氧化钠,加蒸馏水定容至 1L。

上述缓冲液与供试验用的容器均经高温高压灭菌,贮于棕色瓶中备用。

4.1.2 仪器和设备

日本岛津公司 GC-MS 17A-QP5000 气相色谱-质谱联用仪; SHZ-3 型循环水多用真空泵; 2FA-III型真空旋转浓缩器(上海); 高压灭菌锅; 培养箱

4.1.3 试验设计

4.1.3.1 不同温度下甲基毒死蜱水解试验

取 1000mL 容量瓶,加入 4mL 浓度为 500 μ g/mL 的甲基毒死蜱标准溶液,使水体中农药的浓度达到 2 μ g/mL。塞紧瓶塞,充分摇匀(以上贮备瓶制备 6 只);分别置于 15、25、35℃ 的恒温培养箱中试验^[57~60]。

4.1.3.2 不同 pH 值下甲基毒死蜱水解试验

取 1000mL 容量瓶,加入 4mL 浓度为 500 μ g/mL 甲基毒死蜱标准溶液,分别用 pH 值为 5.0、7.0、9.0 的缓冲溶液配制成浓度为 2 μ g/mL 的甲基毒死蜱溶液 1000mL,以上贮备

瓶制备 6 只，置于 25℃ 的恒温培养箱中试验^[57~60]。

4.1.4 气相色谱操作条件

同第三章 3.1.2.1。

4.1.5 质谱分析条件

同第三章 3.1.2.2。

溶剂切割时间 (min): 9.50

开始分析时间 (min): 10.65;

质谱结束时间 (min): 11.00

4.1.6 标准曲线的建立

采用标准曲线法进行定量分析。在选择离子扫描检测方式 SIM 下，以 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 、0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 、0.4 $\mu\text{g/mL}$ 、0.6 $\mu\text{g/mL}$ 甲基毒死蜱标准溶液建立标准曲线(图 4.1)。以峰面积 Y 和进样量 $X(\text{ng})$ 作图，得到直线回归方程 $Y=4764.50+255192.86X$ ， $r=0.9965$ 。以此定量表进行水质样品中甲基毒死蜱的测定。

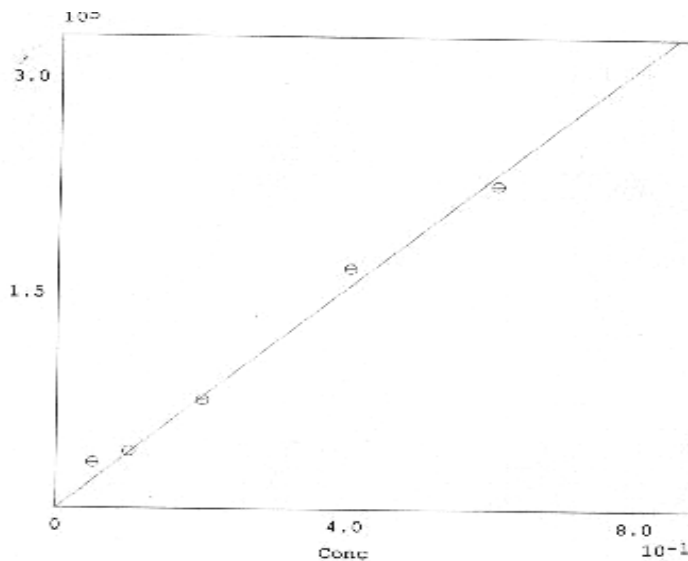


图 4.1 甲基毒死蜱标准曲线

Fig 4.1 Standard curve of chlorpyrifos-methyl

4.1.7 水样中甲基毒死蜱的提取

量取 100mL 水于分液漏斗中，加重蒸石油醚 50mL \times 2，振摇 2min，弃去水相，合并石油醚相，浓缩，用 10mL 石油醚定容，上机测定^[61]。

4.1.8 水解产物的提取、鉴定

称取 0.5g 甲基毒死蜱溶于 100mL 蒸馏水溶液中（加入少量丙酮以提高甲基毒死蜱的溶解度）。将此反应液放入 25℃ 的恒温箱中，待 10d 后量取 20mL 溶液于分液漏斗中，加

重蒸石油醚20mL×2萃取，振摇2min，弃去水相，合并石油醚相，萃取溶液加无水Na₂SO₄脱水，然后加入25%癸醇3滴，在38℃水浴中浓缩近干，用氮气吹干，用1mL石油醚定容，供GC-MS测定。

4.2 结果与分析

4.2.1 准确度、精密度和灵敏度

4.2.1.1 方法的准确度

根据试验设计，准确度试验用添加回收率表示，结果见表 4.1。表中回收率数值为 3 次平行测定结果的平均值。

表 4.1 水中甲基毒死蜱的添加回收率

Table 4.1 Recovery of chlorpyrifos-methyl from water

样品 Sample	添加浓度 Fortification level (mg/L)	回收率 Recovery (%)	平均回收率 Mean Recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%)
蒸馏水 Distilled Water	0.05	110, 95.8, 100.2	102	7.1
	0.5	98, 98.2, 100.7	98.9	1.5
	2	91.8, 86.2, 82.8	86.9	5.2

4.2.1.2 方法的精密度

方法的精密度用 3 次平行测定的添加回收率试验结果的离散度衡量，结果见表 4.1 的变异系数。

4.2.1.3 方法的灵敏度

本方法的最小检出量为 5×10^{-11} g，最低检出浓度为 0.5mg/kg。方法的准确度、精密度和灵敏度均符合农药残留量分析的基本要求^[43]。见图 4.2~图 4.6。

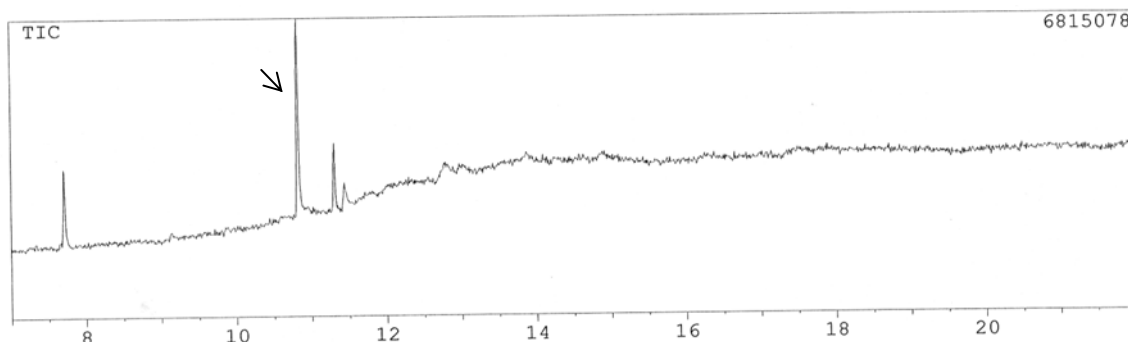


图 4.2 甲基毒死蜱标准溶液总离子流图 (箭头所指为甲基毒死蜱)

Fig4.2 Total ion current chromatogram(TIC) of chlorpyrifos-methyl standards

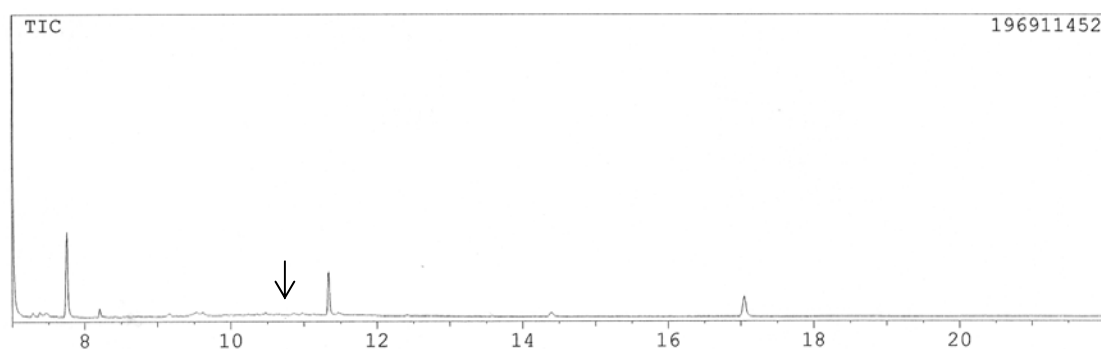


图 4.3 水质空白样品图 Scan

Fig4.3 Water CK under Scan mode

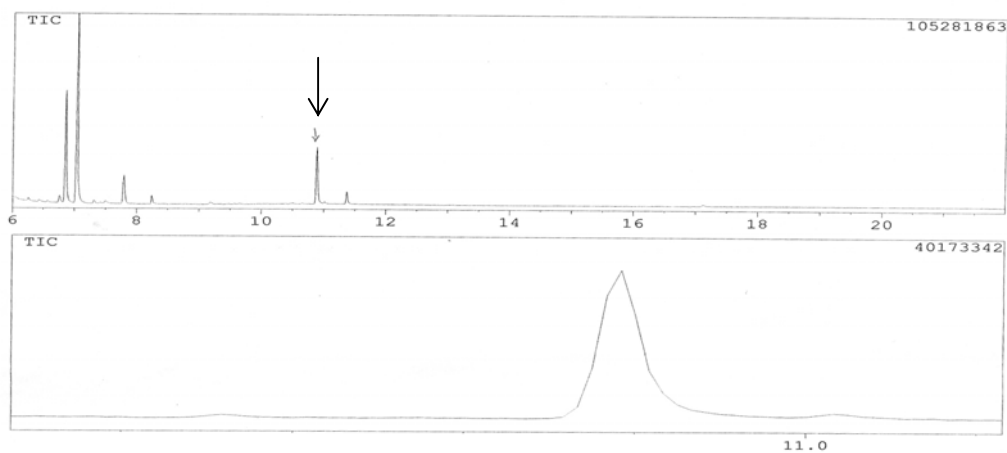


图 4.4 水质样品总离子流图

Fig4.4 Water sample under Scan mode

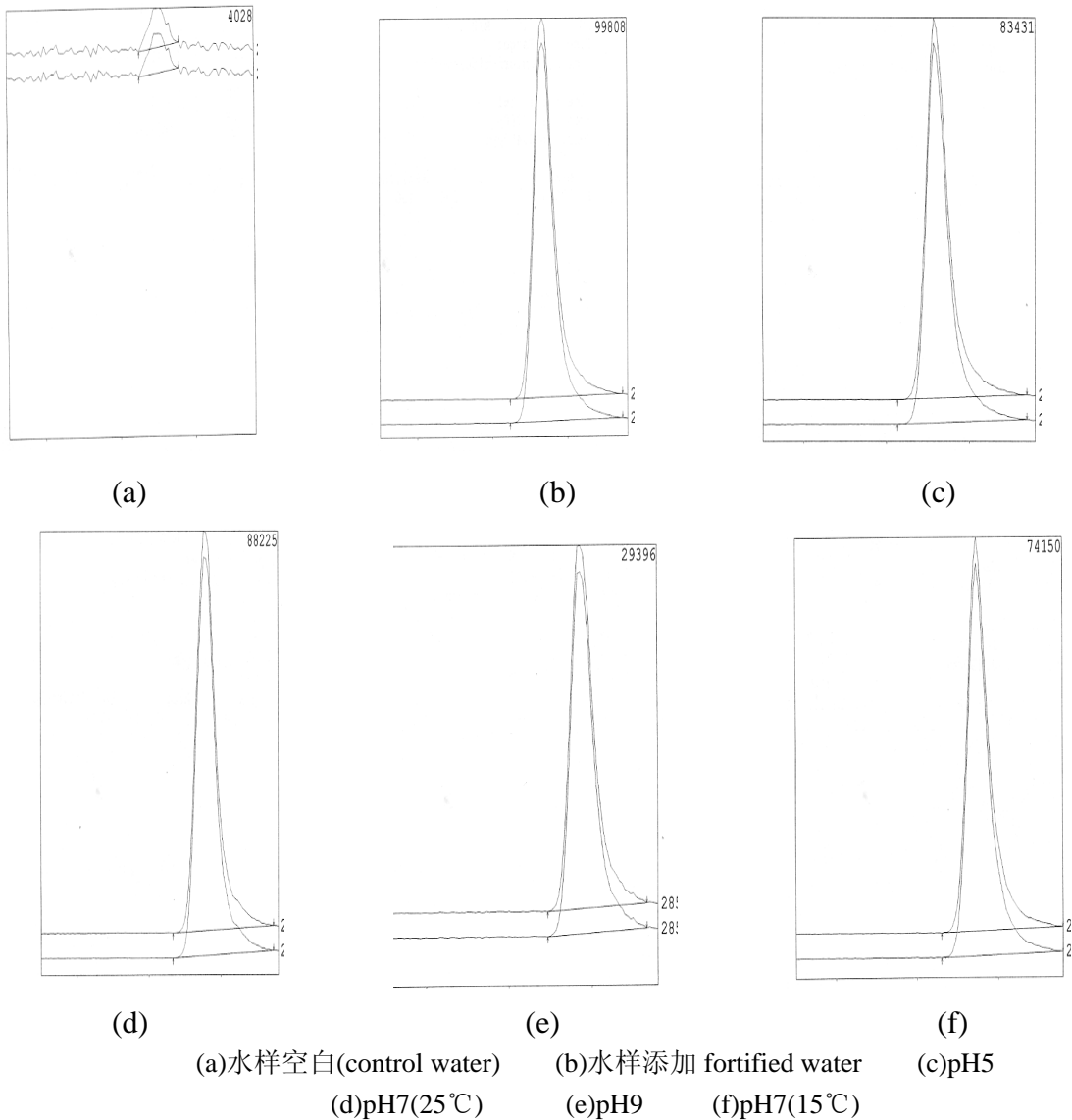
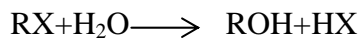


图 4.5 甲基毒死蜱在 SIM 模式下的色谱图

Fig4.5 Chromatograms of chlorpyrifos-methyl under SIM mode

4.2.2 甲基毒死蜱水解速率的测定

农药的水解反应可用下列通式表示：



在一定温度下，对一般的酸碱催化反应，反应速率表达式如下：

$$-dC/dt = K_A[H^+]C + K_N C + K_B[OH^-]C \dots\dots\dots (1)$$

式中， K_A 、 K_N 、 K_B 分别为酸碱催化反应速率常数、中性反应速率常数、碱催化反应速率常数，它们与溶液中的 H^+ 或 OH^- 浓度无关。

总反应速率常数 $K=K_A[H^+]+K_N+K_B[OH^-]$ ，当反应物浓度很低，在缓冲溶液中时， K 可视为常数，上述反应可按准一级反应来描述：

$$-dC/dt=KC \dots\dots\dots (2)$$

将(2)式积分得：

$$C_t=C_0e^{-kt} \dots\dots\dots (3)$$

式中， k 为水解速率常数， C_0 为农药的初始浓度， C_t 为 t 时刻农药的浓度。

对(3)式取对数得：

$$\ln C_t = -kt + \ln C_0 \dots\dots\dots (4)$$

$$kt = \ln C_0 / C_t \dots\dots\dots (5)$$

当农药水解 50%，即 $C_t=1/2 C_0$ 时，所需时间称为水解半衰期，以 $T_{1/2}$ 表示：

$$T_{1/2} = \ln 2 / k = 0.693 / k \dots\dots\dots (6)$$

由 k 值可以计算出农药水解 99%所需的时间 $t_{0.99}$ 。

式(6)说明 $T_{1/2}$ 与水解反应速率常数 k 成反比，而与农药初始浓度无关。把试验所测数据进行回归处理，得到同一温度、不同水体，同一水体、不同温度条件下的 k 及 $T_{1/2}$ 、 $t_{0.99}$ 值。见表 4.2~表 4.5。

表 4.2 甲基毒死蜱在不同温度中的水解

Table 4.2 Hydrolysis of chlorpyrifos-methyl at various temperatures

取样间隔时间 Interval	15℃ (pH7.0)	25℃ (pH7.0)	35℃ (pH7.0)
0h	2.00	2.00	2.00
5h	1.83	1.75	1.50
1d	1.67	1.40	1.32
3d	1.54	1.27	0.76
6d	1.39	1.15	0.51
10d	1.27	0.95	0.15
20d	0.91	0.28	0.01
30d	0.74	0.17	—

表 4.3 甲基毒死蜱在不同水体中的水解

Table4.3 Hydrolysis of chlorpyrifos-methyl in different aqueous solution

取样间隔时间 Interval	pH5.0 (25℃)	pH7.0 (25℃)	pH9.0 (25℃)
0h	2.00	2.00	2.00
5h	1.92	1.77	1.58
1d	1.83	1.40	0.90
3d	1.56	1.27	0.43
6d	1.33	1.15	0.21
10d	1.14	0.95	0.03
20d	0.91	0.28	0.001
30d	0.51	0.17	—

表 4.4 甲基毒死蜱在不同温度中水解的动力学参数

Table4.4 Kinetic parameter for Hydrolysis of chlorpyrifos-methyl at various temperatures

水体 Aqueous Solution	温度 Temperature (℃)	半衰期 $T_{1/2}$ (d)	$t_{0.99}$ (d)	$C_t=C_0e^{-kt}$		相关系数 r
				C_0 (mg/L)	k (1/d)	
pH7.0	15	22.3	147.5	1.7771	-0.0311	-0.9827
	25	8.6	56.7	1.7689	-0.0810	-0.9871
	35	2.7	17.9	1.8318	-0.2562	-0.9969

表 4.5 甲基毒死蜱在不同水体中水解的动力学参数

Table4.5 Kinetic parameter for Hydrolysis of chlorpyrifos-methyl in different aqueous solution

水体 Aqueous Solution	温度 Temperature (℃)	半衰期 $T_{1/2}$ (d)	$t_{0.99}$ (d)	$C_t=C_0e^{-kt}$		相关系数 r
				C_0 (mg/L)	k (1/d)	
pH5.0		16.5	109.1	1.8681	-0.0421	-0.9871
pH7.0	25	8.6	56.7	1.7689	-0.0810	-0.9871
pH9.0		1.9	12.3	1.5888	-0.3731	-0.9972

甲基毒死蜱在同一温度、不同水体，同一水体、不同温度中的降解曲线见图 4.7 和 4.8。

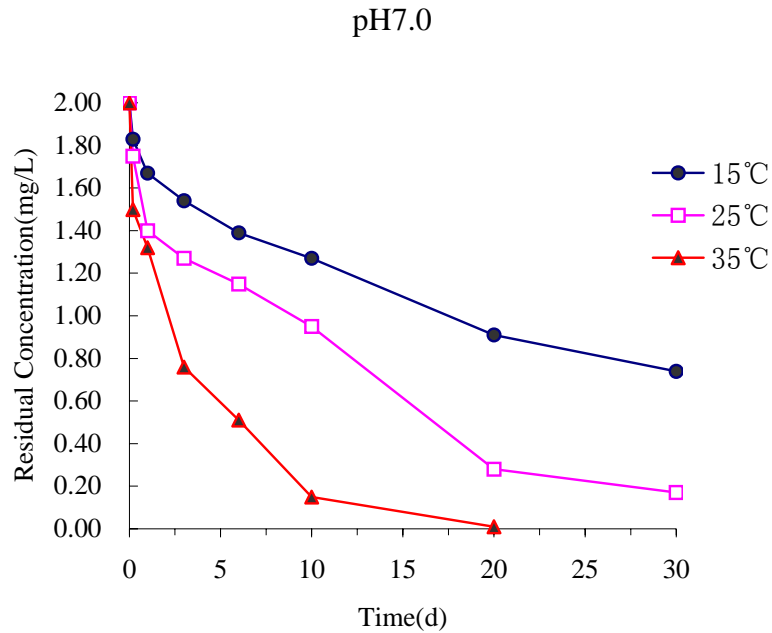


图 4.7 甲基毒死蜱在不同温度（同一 pH 缓冲溶液）中的降解曲线

Fig4.7 Degradation curve of chlorpyrifos-methyl at various temperatures
(in same pH buffer solution)

T=25°C

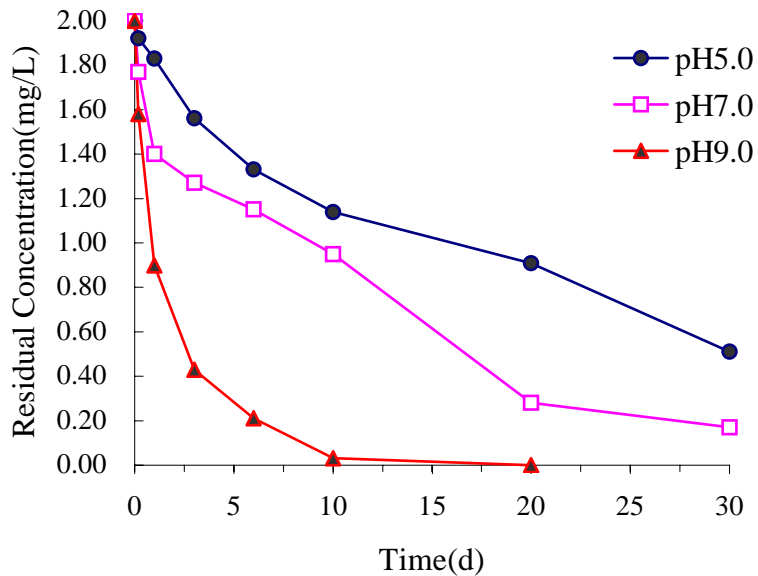


图 4.8 甲基毒死蜱在不同水体（25°C）中的降解曲线

Fig4.8 Degradation curve of chlorpyrifos-methyl in various aqueous solution at 25°C

4.2.3 温度、pH值对甲基毒死蜱水解速率的影响

根据反应温度与反应速率关系的阿伦尼乌斯 Arrhenius 经验公式，

$$\ln K = -E/RT + \ln A$$

式中， E ：反应的活化能 (J/mol)

R ：气体常数 ($8.314 J/mol \cdot 1/K$)

T ：绝对温度 (K)

A ：频率因子，为一常数

表 4.6、表 4.7 列出了甲基毒死蜱在同一温度、不同水体，同一水体、不同温度中降解的速率常数的自然对数 $\ln K$ 和对应的绝对温度倒数 $1/T$ 。

表 4.6 甲基毒死蜱在不同温度中降解的 $\ln K$ 和 $1/T$

Table 4.6 $\ln K$ and $1/T$ for hydrolysis of chlorpyrifos-methyl at various temperatures

水体 Aqueous Solution	pH7.0		
温度 ($^{\circ}C$)	15	25	35
$1/T (\times 10^{-3})$	3.47	3.36	3.25
$\ln K$	-3.4705	-2.5133	-1.3618

表 4.7 甲基毒死蜱在不同水体中降解的 $\ln K$ 和 $1/T$

Table 4.7 $\ln K$ and $1/T$ for hydrolysis of chlorpyrifos-methyl in different aqueous solution

水体 Aqueous Solution	pH5.0	pH7.0	pH9.0
温度 ($^{\circ}C$)	25		
$1/T (\times 10^{-3})$	3.36	3.36	3.36
$\ln K$	-3.1678	-2.5133	-0.9859

从表 4.2 和 4.3 可知，温度和 pH 值均对甲基毒死蜱水解有影响，甲基毒死蜱在酸性和中性条件下相对稳定，常温 ($25^{\circ}C$) 下，pH5.0 时，半衰期为 16.5d，pH7.0 时，则为 8.6d；但是甲基毒死蜱在碱性条件下则易降解，在 $25^{\circ}C$ ，pH10.0 时，其半衰期为 1.9d，因此，甲基毒死蜱在酸性和中性水环境中较碱性时稳定，且半衰期随 pH 值增加而减小。

甲基毒死蜱的水解速率随温度升高而加快。在 pH7.0 下， $15^{\circ}C$ 和 $25^{\circ}C$ 时，甲基毒死蜱的半衰期分别为 22.3d 和 8.6d；而在 $35^{\circ}C$ 时，则为 2.7d。

从试验结果可知，随着温度的升高和碱性的增强，甲基毒死蜱的水解速率都加快，

但水体 pH 的影响要相对大一些。

4.2.4 甲基毒死蜱的水解产物

水解产物经提取浓缩后样品经 GC-MS17A-QP5000 测定得 TIC 图 (图 4.9) 和质谱图 (图 4.10)。TIC 图中, 峰 A 为甲基毒死蜱的水解产物 (3, 5, 6-三氯-2-羟基吡啶), 峰 B 为甲基毒死蜱。

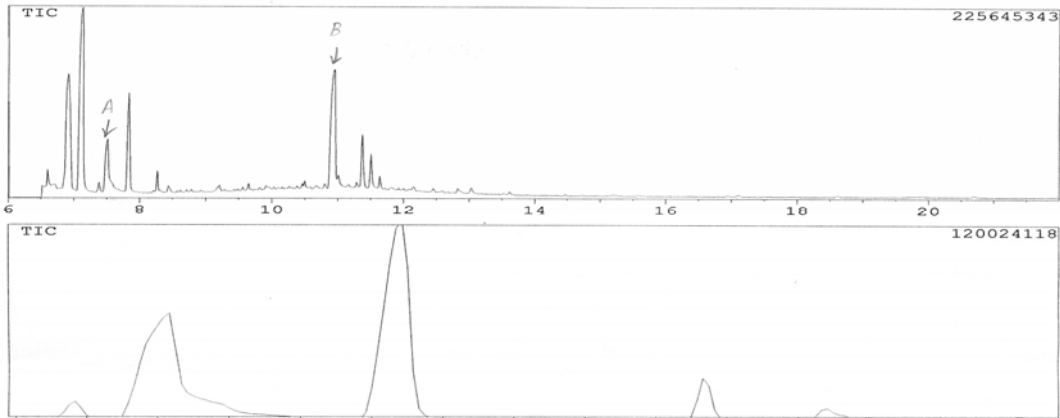


图 4.9 水解产物总离子流图 (EI 条件下) (A:水解产物, B:甲基毒死蜱)

Fig4.9 Total ion current chromatogram(TIC) of hydrolysis product ,
obtained under EI condition (A:hydrolysis product, B:chlorpyrifos-methyl)

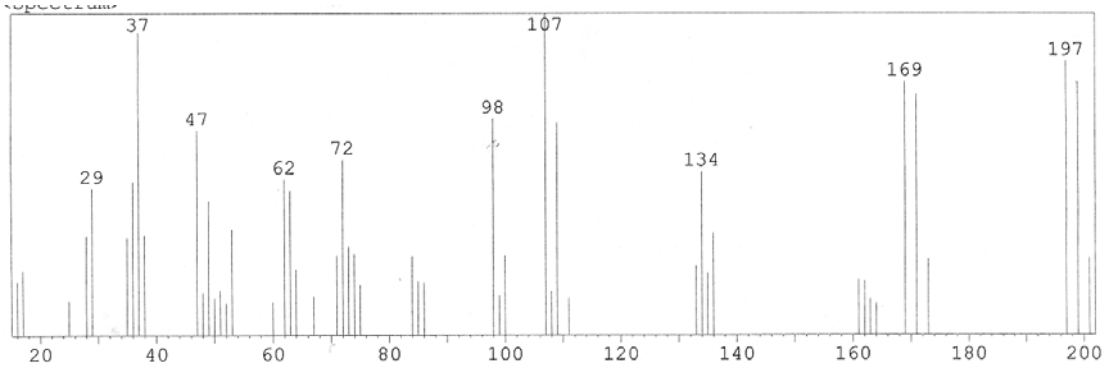


图 4.10 水解产物 A 的质谱图

Fig4.10 EI mass spectra of hydrolysis products A

4.3 讨论

本章主要研究了甲基毒死蜱在水环境中的行为。甲基毒死蜱在避光条件下水解反应研究表明: 甲基毒死蜱在水中的降解取决于水体的酸碱度和水体温度等因素。甲基毒死蜱在避光及酸性和中性水环境中相对稳定; 但从半衰期来看, 其水解速度并不慢, 因此, 可以说在自然环境中, 甲基毒死蜱水解较明显。在碱性条件下, 甲基毒死蜱水解

很快，说明甲基毒死蜱在碱性土壤或水体中，水解是甲基毒死蜱的主要降解行为之一。甲基毒死蜱主要水解产物为 3, 5, 6-三氯-2-羟基吡啶，该化合物在水体中较稳定，所以研究甲基毒死蜱在碱性介质条件下的环境安全性时，还需考虑 3, 5, 6-三氯-2-羟基吡啶的毒理和环境生态情况。

结 论

采用 GC-FPD 方法测定了甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的残留量,进而明确了在甘蓝和土壤上的残留动态。喷施 720g ai/ha 的 40% 甲基毒死蜱乳油,两年试验结果表明甘蓝上原始沉积量为 2.55~5.82 mg/kg,半衰期为 0.4~1.0d,施药 3d 后消解率即达 90% 以上;土壤上的原始沉积量为 0.61~1.22 mg/kg,半衰期为 1.4~1.5d,距施药后第 14d 采样,消解率降到 98% 以上。

按照施药量 720g ai/ha,施用 3 次 40% 甲基毒死蜱乳油进行田间试验时,最后一次施药距采收 3d,甘蓝上的残留量为 0.05 mg/kg;距采收 7d,残留量为 0.006 mg/kg~0.01 mg/kg,甘蓝上的最终残留量与施药次数和剂量无明显相关;在土壤上的残留量稍高,消解稍慢,但随着施药量和施药次数的增加,残留量增加不显著,没有累积性。因此,甲基毒死蜱用于防治甘蓝菜青虫不至于对甘蓝和土壤造成污染,在科学合理使用的情况下是安全的。

采用 GC-MS 进一步确证了甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的残留动态。其结果与采用 GC-FPD 分析技术所得结果基本吻合。两种分析技术测定结果无显著差异,方法的最低检出浓度完全能满足目前甲基毒死蜱在甘蓝上规定的最大残留限量要求。

无论是 GC-FPD,还是 GC-MS 的测定方法,都为甘蓝和土壤上甲基毒死蜱的残留分析方法的标准化奠定了基础,特别是 GC-MS 方法更适合于残留分析的监测工作。

甲基毒死蜱在水体中的降解与酸碱度、温度关系密切。同大多数有机磷农药一样,它在碱性水环境中易降解,而在酸性和中性水环境中则相对比较稳定。25℃ 避光条件下,甲基毒死蜱在 pH5.0、pH7.0、pH9.0 的缓冲溶液中降解半衰期分别为 16.5d、8.6d、1.9d。水环境的温度也是影响它降解的一个重要因素,其降解速率随着温度的升高而加快。利用 GC-MS 测定技术确证了甲基毒死蜱的主要降解产物为 3,5,6-三氯-2-羟基吡啶。

根据甲基毒死蜱的毒理学研究结果,参照甲基毒死蜱在甘蓝和土壤上的残留降解动态和最终残留量数据,建议 40% 甲基毒死蜱乳油在甘蓝上施药量不要高于 450g ai/ha,施药次数不要超过 3 次,最后一次施药距采收间隔期不少于 3d,最大残留限量 MRL 建议暂定为 0.1mg/kg。

参 考 文 献

- [1] 农业部农药检定所主编. 新编农药手册[M]. 北京: 中国农业出版社出版, 1998, 第一版, 6-7.
- [2] 宋小平, 韩长白, 舒火明编. 农药制造技术[M]. 科学技术文献出版社主编, 2000, 第一版, 27-28.
- [3] 徐振元等. 毒死蜱合成研究[J]. 农药, 1998, 37 (1), 11-12.
- [4] 张宗炳编著. 杀虫药剂的分子毒理学[M]. 农业出版社, 1987, 第一版, 74-76.
- [5] 王强, 韩丽娟, 黄祥麟等. 毒死蜱和甲基毒死蜱防治稻纵卷叶螟[J]. 农药, 1995, 34 (2), 31-34.
- [6] Elgenaid I. Hamadai, Howard W. Chambers . Susceptibility and Mechanisms Underlying the Relative Tolerance to Five Organophosphorus Insecticides in Tobacco Budworms and Corn Earworms[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology ,2001,69, 35-47.
- [7] Louise C. Rossiter , Robin V. Gunning , Harley A.. Rose. The Use of Polyacrylamide Gel Electrophoresis for the Investigation and Detection of Fenitrothion and Chlorpyrifos-methyl Resistance in *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae)[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology , 2001, 69, 27-34.
- [8] 冯建国等. 毒死蜱防治苹果主要害虫试验[J]. 农药, 1988, 27 (6), 27-29.
- [9] H. 马丁编. 农药品种手册[M]. 化学工业出版社, 1979, 第一版, 233-234.
- [10] 全球深受欢迎的 41 种农药及相关产品[J]. 世界农药, 2000, 22 (6), 16-17.
- [11] http://WWW.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v075_pr_12.htm
- [12] 安社娟等. 40% 甲基毒死蜱乳油的急性毒性研究[J]. 广东药学院学报, 2001, 17(4), 301-303.
- [13] 赖志伟, 宋瑞琨, 常平等. 甲基毒死蜱亚急性和亚慢性染毒对小鼠免疫机能影响的研究[J]. 卫生毒理学杂志, 1989, 3 (2), 87-89.
- [14] <http://ace.orst.edu/info/extoxnet/pips/chlorpyrifos>
- [15] 李龙, 徐以平, 宋瑞琨等. 甲基毒死蜱在大鼠体内的吸收、分布和排泄[J]. 同济医科大学学报, 1996, 25 (4), 286-289.
- [16] 李龙等. 甲基毒死蜱的代谢转化机制研究[J]. 中国公共卫生, 2002, 10, 57-60.
- [17] M.C.IVEY J.S.Palmer. Chlorpyrifos and 3,5,6-Trichloro-2-Pyridinol: Residues in Body Tissues of Swine Treated with Chlorpyrifos for Hog Louse and Itch Mite Control[J]. Journal of Economic Entomology, 1979, 72(6), 837-838.
- [18] M.C.IVEY . Chlorpyrifos and 3,5,6-Trichloro-2-Pyridinol: Residues in the Body Tissues of Cattle Wearing Chlorpyrifos-Impregnated Plastic Ear Tags[J]. Journal of Economic Entomology, 1979, 72(6), 909-911.
- [19] Moriya etc. Investigation into the Tissue Distributions of Dichlorvos and Chlorpyrifos-methyl in a

- fatal Poisoning by These Chemicals[J]. *Jpn. J. Toxicol.*, 2000, 13(1), 55-61.
- [20] Zohair H. , Mohsen, Mir S.Mulla. Toxicity of Blackfly Larvicidal Formulations to Some Aquatic Insects in the Laboratory. Department of Entomology, University of California, Riverside, CA 92521, 696-703.
- [21] Radwan etc.Effect of Chlorpyrifos-methyl and Pirimiphos-methyl on Respiration and P-mineralization in two soil types[J]. *Alexandria Sci.Exch.*,1995,16(4), 471-481.
- [22] Roderick D.Inman Vlo Kiigemagi , Maxl.Deinzer. Determination of Chlorpyrifos and 3,5,6-Trichloro-2-Pyridinol Residues in Peppermint Hay and Peppermint Oil[J]. *J.Agric. Food Chem.*, 1981, 29(2), 321-323.
- [23] Youssef etc. Removal of Chlorpyrifos-methyl and Pirimiphos-methyl Residues from Treated Tomatoes and Broad Beans by Commercial and Home Preparative Procedures[J]. *Alexandria Sci. Exh.*, 1995, 16(4), 461-469.
- [24] L.W.Getzin. Degradation of Chlorpyrifos in Soil: Influence of Autoclaving, Soil Moisture, and Temperature[J]. *Journal of Economic Entomology*, 1981, 74(2), 158-162.
- [25] Virgil H.Freed , Cary T.Chiou, David W.Schmedding. Degradation of Selected Organophosphate Pesticides in Water and Soil[J]. *J. Agric. Food Chem.*, 1979, 27(4), 706-708.
- [26] 李丹, 张桂珠.甲基毒死蜱的气相色谱分析[J]. *农药*, 1998, 37 (1), 23, 25.
- [27] 李龙, 宋瑞琨, 刘毓谷.高效液相色谱法分析甲基毒死蜱[J]. *农药*, 1993, 32 (1), 22-23.
- [28] 王爱芬, 李小鹰.40.7%毒死蜱乳油中有效成分毒死蜱的气相色谱分析[J]. *农药*, 2001, 40 (7), 25.
- [29] 反相高效液相色谱分析胺甲硫磷和甲基毒死蜱的方法研究[J]. *同济医科大学学报*, 2001, 3, 36-39.
- [30] 汪军.GC-MS 定性定量分析出口西兰花样品中毒死蜱的农药残留量. *岛津分析通讯*, 2002, 2, 3-5.
- [31] Yoshie Yamazaki, Takahibo Ninomiya. Determination of Benomyl, Diphenyl, o-Phenylphenol, Thiabendazole, Chlorpyrifos, Methidathion, and Methyl Parathion in Oranges by Solid-Phase Extraction, Liquid Chromatography, and Gas Chromatography[J]. *Journal of AOAC International*, 1999, 82 (6), 1474-1478.
- [32] Residues of Chlorpyrifos-methyl and 3,5,6-Trichloropyridin-2-ol in Lettuce Following Application of Reldan 22(EF 815). *Agricultural Products Research and Development Center Technical Report Dow Chemical Europe Dow Confidential Information*,1989., 1-9.
- [33] 冯秀琼, 唐庆勇.中草药中有机磷农药多残留的同时测定[J]. *农药科学管理*, 2002, 23 (2), 17-20.

- [34] Joanne Cook , Mary Pat Beckeett, Brian Reliford etc. Multiresidue Analysis of Pesticides in Fresh Fruits and Vegetables Using Procedures Developed by the Florida Department of Agriculture and Consumer Services[J]. Journal of AOAC International 1999, 82(6), 1419-1435.
- [35] R Teasdale , C Gaudineau, K Patel etc. Determination of Chlorpyrifos-methyl Residues in Crops and Process Fractions With a High Water Content[J], 1-32.
- [36] James Desmarchelier , Mervyn Bengston, Meville Connell etc. A Collaborative Study of Residues on Wheat of Chlorpyrifos-methyl, Fenitrothion, Malathion, Methacrifos and Pirimiphos-methyl[J]. Pestic. Sci., 1977,8, 473-483.
- [37] 李龙等.生物样品中甲基毒死蜱的气相色谱测定法[J]. 农药, 1991, 30 (2), 20-21.
- [38] 高效液相色谱法同时测定水果中多种农药残留量的方法研究[J]. 农药, 1998, 37 (8), 20-23.
- [39] 宋瑞琨等.生物组织中甲基毒死蜱高压液相色谱分析方法研究[J]. 同济医科大学学报, 1992, (21), 增刊, 20-21.
- [40] Simultaneous Determination of Chlorpyrifos, Permethrin and Their Metabolites in Rat Plasma and Using by HPLC[J]. J. Anal. Toxiol., May-June 2001, 25(4), 275-279.
- [41] Automated Sample Clean-up and Fractionation of Chlorpyrifos, Chlorpyrifos-methyl and Metabolites in Mussels Using Normal-phase Liquid Chromatography[J]. J. Chromatogr. A, 22, Aug, 1997, 778(1-2), 151-160.
- [42] HPLC Determination of Pesticides in Green Bean Samples after SPE Cleanup[J]. Chromatographia, 1996, 43(5/6), 265-270.
- [43] 樊德方主编.农药残留量分析与检测[M].上海: 上海科学技术出版社, 1982.
- [44] 宋茹, 纪淑娟.蔬菜水果中有机磷农药残留测定现状及展望[J]. 农药, 2002, 41 (10): 10~12, 5.
- [45] 出口水果中甲基毒死蜱残留量检验方法.SN0148-92 .
- [46] W.D.冈吉等编.土壤和水中的农药.科学出版社, 1985, 第一版, 322-328.
- [47] 张大弟, 张小红.农药污染与防治[M]. 化学工业出版社, 2001, 第一版, 36-47.
- [48] 范志先等.甲基毒死蜱在甘蓝及土壤上的残留动态研究[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(3), 235-237.
- [49] 杜斌等编著.现代色谱技术[M]. 河南医科大学出版社, 2001, 8.
- [50] 汪正范, 杨树民, 吴侔天等.色谱联用技术[M]. 化学工业出版社, 2000, 第一版, 64-67.
- [51] 牟峻, 金子.气相色谱-质谱法测定及确证粮谷中特丁磷残留量的方法研究[J]. 农药, 1999, 38 (8), 13-14.
- [52] 刘慧敏, 李振良, 马克江.大口径毛细管 GC 和 GC/MS 测定 50% 辛-氰乳油[J]. 农药, 1997, 36

(10) .24-57.

- [53] 汪正范主编.气相色谱分析与检测[M]. 化学工业出版社, 2000.
- [54] 方晓航, 仇荣亮.农药在土壤环境中的行为研究[J]. 土壤与环境, 2002, 11 (1), 94-97.
- [55] 蔡道基主编.农药环境毒理学研究[M]. 中国环境科学出版社, 1999, 第一版, 1-93.
- [56] 蔡道基等.化学农药环境安全评价试验准则. 国家环境保护局, 1989.
- [57] 陈锡岭, 徐新民, 樊德方.温度和 pH 值对雷克拉水解速率的影响[J]. 农业环境保护, 1999, 18 (6), 275-277.
- [58] 郑巍, 宣日成, 刘维屏.新农药吡虫啉水解动力学和机理研究[J]. 环境科学学报, 1999, 19 (1) 101-104.
- [59] 朱忠林等.吡虫啉的光解水解和土壤降解[J]. 农村生态环境, 1997, 13 (4) .25-28.
- [60] 王一茹等.丁草胺在水体中的光解和稻田中归趋的研究[J].环境科学学报, 1997, 16(4), 475-480.
- [61] 石利利, 林玉锁, 徐亦钢等.毒死蜱农药环境行为研究[J]. 土壤与环境, 2000, 9 (1) .73-74.

致 谢

在导师范志先教授悉心关怀指导下，本文得以圆满完成。在论文完成的过程中，吉林农业大学测试中心提供了气相色谱仪和气质联用仪等实验条件，并得到了陈丹、侯志广等老师的大力帮助和支持。

此外，还得到农药教研室各位老师、许允成老师、张宇同学的热情帮助与支持以及黄丹生、李春刚同学的热情帮助。

值此论文完成之际，向所有关心和支持本论文工作的老师、同学和朋友们表示衷心的感谢！向评阅、评议本文及答辩委员会的全体专家、教授致以最诚挚的谢意！

朱杰丽

二〇〇四年五月于长春