

高效液相色谱法同时测定土壤中残留的苯脲类和磺酰脲类除草剂

毛楠文, 李方实

(南京工业大学理学院应用化学系, 江苏 南京 210009)

摘要:建立了同时测定土壤中残留的苯脲类和磺酰脲类除草剂的分析方法。土壤样品采用超声波振荡提取,以甲醇为提取剂。色谱分析条件: Kromasil-100-5 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 粒径 5 μm), 流动相甲醇-水(0.2%冰醋酸)梯度洗提, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 240 nm。结果表明, 6 种除草剂的质量浓度在 0.50~20 μg·mL⁻¹ 范围内与色谱峰面积的线性关系良好, 相关系数为 0.984 2~0.999 3, 检测限为 3.0×10⁻³~4.9×10⁻² μg·mL⁻¹。平均加标回收率为 71.72%~118.0%, 相对标准偏差为 3.29%~18.1%。

关键词: 高效液相色谱法; 同时测定; 苯脲类除草剂; 磺酰脲类除草剂; 土壤; 萃取

中图分类号: X830.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2008)06-2509-04

Simultaneous Determination of Phenylurea and Sulfonylurea Herbicide Residues in Soil by High Performance Liquid Chromatography

MAO Nan-wen, LI Fang-shi

(College of Science, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China)

Abstract: A high performance liquid chromatography has been developed for the simultaneous determination of phenylurea and sulfonylurea herbicide residues in soil. A Kromasil-100-5 C₁₈ column(4.6 mm×250 mm, 5 μm) and UV detection at 240 nm were used. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. Adequate retention was achieved with a mobile phase of methanol/water (0.2% acetic acid) solution with gradient elution. For the six herbicides, the linear ranges of the working curves were 0.50~20 μg·mL⁻¹. The linear correlations were 0.984 2~0.999 3. The detection limits were 3.0×10⁻³~4.9×10⁻² μg·mL⁻¹. The average recovery rates of the standard additions were 71.72%~118.0%. The relative standard deviations were 3.29%~18.1%.

Keywords: HPLC; simultaneous determination; phenylureas; sulfonylureas; soil; extraction

苯脲类和磺酰脲类除草剂应用于不同农作物的芽前和苗后的宽叶杂草和一年生杂草处理。由于它们的用量少, 毒性低, 近几年来被广泛的使用^[1]。但是这些除草剂具有极性以及水溶性造成了对土壤、水体等自然环境的污染, 引起世界各地重视。

目前环境中除草剂的残留分析主要有气相色谱法和高效液相色谱法。由于苯脲类和磺酰脲类除草剂具有极性、低挥发性以及热不稳定性, 直接用气相色谱法检测比较困难, 需要衍生处理^[2], 而高效液相色谱法则适用于这类除草剂的检测^[3]。在液相色谱法中, 通

常使用紫外(UV)或二极管阵列紫外(DAD UV)检测器检测环境中的苯脲类和磺酰脲类除草剂^[4-5]。用高效液相色谱法同时分离检测苯脲类和磺酰脲类除草剂鲜有报道^[6-7]。本文建立了用高效液相色谱法同时测定土壤中苯脲类(异丙隆、灭草隆、绿谷隆)和磺酰脲类(噻吩磺隆、甲磺隆、苄嘧磺隆)除草剂的方法。图 1 为本文所用除草剂的结构。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

戴安高效液相色谱系统 (DIONEX): P680A LPG-4 泵; Kromasil-100-5 C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 粒径 5 μm); UVD 340U 检测器; H6005 型超声波清洗机 (无锡超声电子设备厂); FA1004 型电子分析

收稿日期: 2007-11-15

作者简介: 毛楠文(1983—), 女, 江苏太仓人, 硕士研究生, 研究方向为环境分析化学。

通讯联系人: 李方实, 教授 E-mail: fangshi.li@njut.edu.cn

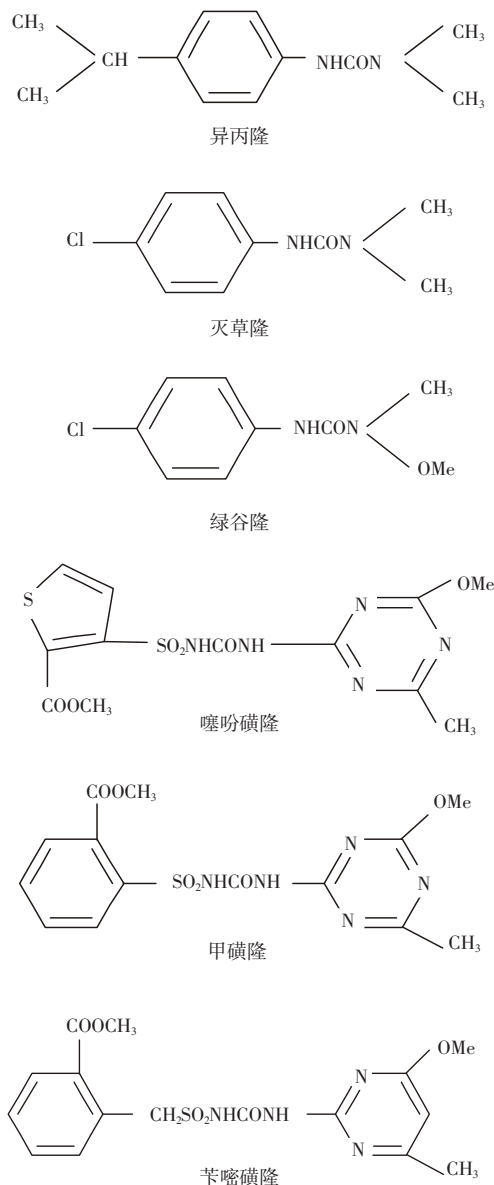


图 1 6 种除草剂的结构

Figure 1 Structures of six herbicides studied

天平(上海精密仪器仪表有限公司);80-2B 型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

异丙隆、灭草隆、绿谷隆(德国 Riedel-deHaen 公司);噻吩磺隆、苄嘧磺隆、甲磺隆(南京环境科学研究所);甲醇(AR)。所用水均为二次蒸馏水。

1.2 液相色谱分离条件

流动相: 甲醇-水 (0.2%冰醋酸), 用薄膜(0.45 μm)过滤并脱气;流速 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;检测波长 240 nm;进样量 20 μL ;柱温为室温。梯度洗脱程序: 甲醇/水 (60:40) 定比洗脱 6 min; 在 9 min 内梯度洗提到 75:

25;5 min 内梯度洗提到 60:40。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的制备

分别称取异丙隆、灭草隆、绿谷隆、噻吩磺隆、甲磺隆、苄嘧磺隆 0.01 g(准确至 0.000 1 g)至 10 mL 容量瓶中,用甲醇定容。使用时用二次蒸馏水稀释成 0.0、0.5、1.0、2.0、5.0、8.0、10.0、15.0、18.0、20.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的系列标准溶液。分别吸取上述 6 种除草剂的标准溶液在色谱分离条件下进样,进行样品的定性分析。

1.3.2 样品处理^[8]

称取风干后过 60 目筛的土壤 10.00 g(采自南京工业大学丁家桥校区)于 50 mL 具塞三角瓶中,用甲醇溶剂 15 mL 浸泡 0.5 h,超声波提取 10 min,静置后上清液倾入离心管,以 2 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度离心 15 min。残渣再用 20 mL 甲醇洗涤离心 2 次,合并甲醇提取液,将提取液经 0.22 μm 滤膜过滤,在 45 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅中蒸干,1 mL 甲醇重新溶解。

2 结果与讨论

2.1 色谱分离条件的确定

2.1.1 最佳检测波长的确定

根据文献^[9],噻吩磺隆、甲磺隆、苄嘧磺隆在 230~240 nm 处有较强吸收,而异丙隆、灭草隆、绿谷隆在 240~245 nm 处有较强吸收^[10],因此确定 6 种除草剂同时检测的最佳检测波长为 240 nm。

2.1.2 流动相的选择

苯脲类除草剂属于中性物质,用甲醇-水或乙腈-水可以将 3 种苯脲类除草剂分离开。磺酰脲类除草剂呈酸性,流动相需经醋酸或甲酸酸化^[6,10]。本实验用不同配比的甲醇-水(含 0.2%醋酸)作流动相的实验结果表明:甲醇-水(含 0.2%醋酸)(60:40)分离 6 种除草剂的时间较长;增大流动相中甲醇的含量,分离时间缩短,但磺酰脲类除草剂不能很好的分离;采用甲醇-水(含 0.2%醋酸)进行梯度洗提,不但能在较短的时间内完成分离检测(14 min),而且色谱峰尖锐,峰形对称,分离效果好,混合标样的色谱图如图 2 所示。

2.2 方法的线性关系及检出限

在确定的最佳色谱分离条件下,对一系列不同浓度的混合标准溶液进行色谱测定,以各组分的峰面积(Y)对质量浓度(X, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)绘制标准曲线(图 3),以 3 倍基线噪音计算检测限,结果见表 1。

2.3 方法的精密度

在优化条件下,对 15.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 6 种除草剂标

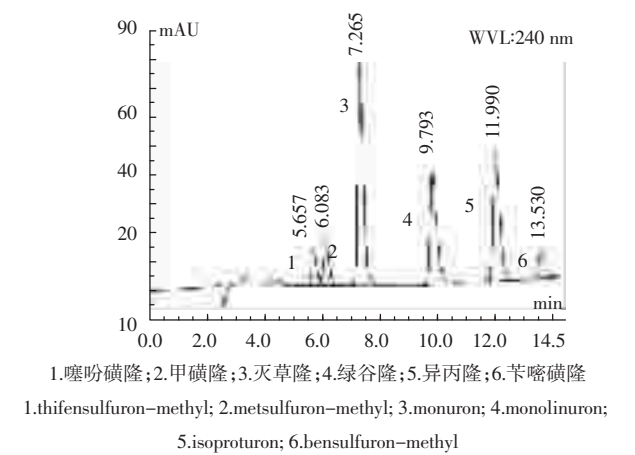


图 2 混合样品的色谱图

Figure 2 Chromatogram of the mixture of six herbicides

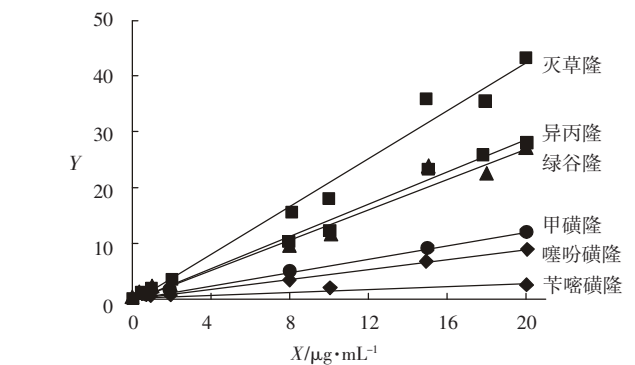


图 3 6 种除草剂的工作曲线

Figure 3 Calibration curves of six herbicides

表 1 工作曲线和检测限				
Table 1 Calibration curves and detection limits				
组分名称	工作曲线	r^2	线性范围 / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	检测限 / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
异丙隆	$Y = 1.444\ 7X - 0.358\ 9$	0.992\ 7	0.50~20	6.4×10^{-3}
灭草隆	$Y = 2.144\ 8X - 0.594\ 1$	0.985\ 6	0.50~20	3.0×10^{-3}
绿谷隆	$Y = 1.352\ 3X - 0.322\ 0$	0.981\ 3	0.50~20	6.4×10^{-3}
噻吩磺隆	$Y = 0.445\ 4X - 0.031\ 4$	0.998\ 5	0.50~20	1.4×10^{-2}
甲磺隆	$Y = 0.601\ 3X - 0.074\ 6$	0.999\ 3	0.50~20	1.1×10^{-2}
苄嘧磺隆	$Y = 0.131\ 6X + 0.125\ 2$	0.948\ 2	0.50~20	4.9×10^{-2}

准混合液平行进样 6 次,测得的相对标准偏差为 2.89%~7.83%。

2.4 提取溶剂的选择

从土壤中提取苯脲和磺酰脲类除草剂可以选用不同的溶剂,如乙腈^[8,12]、甲醇^[13]、二氯甲烷^[14]、PB(pH 7.8):甲醇(8:2,*v/v*)^[15]等。试验中分别采用乙腈、甲醇作为提取溶剂,结果发现乙腈对 6 种除草剂都能进行提取,但提取效果较差;而甲醇不能提取噻吩磺隆和

甲磺隆,但甲醇提取效果要比乙腈好,考虑到流动相使用的有机溶剂为甲醇,选取甲醇作提取剂。

2.5 加标回收实验

按样品处理方法(1.3.2)对土壤样品进行处理,色谱分析未检出灭草隆、异丙隆、绿谷隆、甲磺隆、噻吩磺隆、苄嘧磺隆。在土壤样品中添加一定量的除草剂标准样后,按照上述样品处理步骤,进样测定,提取液的色谱图如图 4,加标回收结果见表 2。

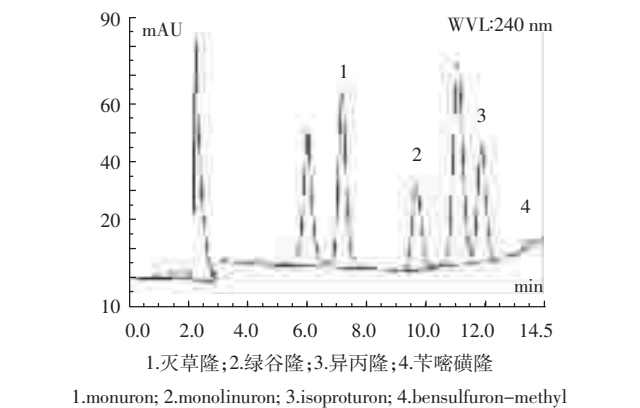


图 4 土壤样品提取液的色谱图

Figure 4 Chromatogram of soil extracts

表 2 加标回收试验结果				
Table 2 Recovery results of standard addition				
组 分	添加量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	回收率/ 4 次平均%	标准偏差	变异系数/ %
异丙隆	0.2	118.0	0.28	9.15
	1.0	90.08	0.56	4.39
灭草隆	0.2	95.76	0.19	5.41
	1.0	89.97	0.62	3.29
绿谷隆	0.2	96.59	0.14	6.08
	1.0	77.45	0.50	4.94
苄嘧磺隆	1.0	71.72	0.19	18.1

参考文献:

[1] 朱良天. 精细化学品大全(农药卷)[M]. 杭州:浙江科学技术出版社, 2000. 494-508.
ZHU Liang-tian. A Complete Collection of Fine Chemicals (Pesticide) [M]. Hangzhou: Zhejiang Science and Technology Press, 2000. 494-508.

[2] 黄 聪, 甘平胜, 杨 云. 衍生化气相色谱法测定大米中异丙隆残留量的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(6):710-711.
HUANG Cong, GAN Ping-sheng, YANG Yun. Determination of isoproturon residue in rice by GC with derivation[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2003, 13(6):710-711.

[3] 李方实, Martens D, Kettrup A. 固相萃取-高效液相色谱法同时测定水中的 16 种苯脲类除草剂[J]. 色谱, 2001, 19(6):534-537.

- LI Fang-shi, Martens D, Kettrup A. Simultaneous determination of sixteen phenylurea herbicides in water by high performance liquid chromatography and solid phase extraction [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2001, 19(6):534-537.
- [4] Pichon V, Krasnova A I, Hennion M-C. Development and characterization of an immunoaffinity solid-phase-extraction sorbent for trace analysis of propanil and related phenylurea herbicides in environmental waters and in beverages [J]. *Chromatographia*, 2004, 60, S211-S226.
- [5] 祁彦, 占春瑞, 张新忠, 等. 高效液相色谱法同时测定大豆中 10 种磺酰脲类除草剂的残留量[J]. 色谱, 2004, 22(6):634-638.
- QI Yan, ZHAN Chun-rui, ZHANG Xin-zhong, et al. Simultaneous determination of ten sulfonylurea herbicide residues in soybeans by high performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2004, 22(6):634-638.
- [6] Ayano E, Kanazawa H, Ando M, et al. Determination and quantitation of sulfonylurea and urea herbicides in water samples using liquid chromatography with electrospray ionization/mass spectrometric detection [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 507, 211-218.
- [7] Losito I, Amorisco A, Carbonara T, et al. Simultaneous determination of phenyl- and sulfonyl-urea herbicides in river water at sub-parts-per-billion level by on-line preconcentration and liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 575, 89-96.
- [8] 张娟, 李方实. 高效液相色谱法测定土壤中异丙隆及其降解产物对异丙基苯胺[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(5):1000-1002.
- ZHANG Juan, LI Fang-shi. Determination of isoproturon and its metabolite 4-isopropylaniline in soil by high performance liquid chromatography [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2005, 24(5): 1000-1002.
- [9] 隋凯, 李军, 卫锋, 等. 固相萃取-高效液相色谱法同时检测大米中 12 种磺酰脲类除草剂的残留[J]. 色谱, 2006, 24(2):152-156.
- SUI Kai, LI Jun, WEI Feng, et al. Simultaneous determination of twelve sulfonylurea herbicide residues in rice by high performance liquid chromatography with solid-phase extraction [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2006, 24(2):152-156.
- [10] Li Y T, George J E, McCarty C L, et al. Compliance analysis of phenylurea and related compounds in drinking water by liquid chromatography/electrospray ionization/mass spectrometry coupled with solid-phase extraction[J]. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1134, 170-176.
- [11] Curini R, Gentili A, Marchese S, et al. Solid-phase extraction followed by high-performance liquid chromatography-ionspray interface-mass spectrometry for monitoring of herbicides in environmental water[J]. *Journal of Chromatography A*, 2000, 874, 187-198.
- [12] Bernal J L, Jimenez J J, Herguedas A, et al. Determination of chlor-sulfuron and tribenuron-methyl residues in agricultural soils[J]. *Journal of Chromatography A*, 1997, 778, 119-125.
- [13] Zahnow E W. Analysis of the herbicide diuron in crops[J]. *J Agric Food Chem*, 1987, 35, 403-406.
- [14] Galletti G C, Bonetti A, Dinelli G. High-performance liquid chromatographic determination of sulfonylureas in soil and water[J]. *Journal of Chromatography A*, 1995, 692, 27-37.
- [15] 叶贵标, 张微, 崔昕, 等. 高效液相色谱/质谱法测定土壤中 10 种磺酰脲类除草剂多残留[J]. 分析化学, 2006, 34(9):1207-1212.
- YE Gui-biao, ZHANG Wei, CUI Xin, et al. Determination of ten sulfonylurea herbicides in soil samples by liquid chromatography with electrospray ionization mass spectrometric detection[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2006, 34(9):1207-1212.