

水土壤植株和稻米中双草醚残留分析的方法研究

郑丽英, 杨仁斌, 郭正元, 龚道新

(湖南农业大学农业环境保护研究所, 湖南 长沙 410128)

摘要: 样品中双草醚采用碳酸氢钠水溶液提取, 提取液用石油醚和二氯甲烷洗涤, 水相酸化后用乙酸乙酯萃取, 建立了双草醚在田水、土壤、植株和稻米中残留量的 HPLC 检测方法。结果表明, 当添加浓度为 $0.01 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 样品中双草醚的平均回收率为 $81.02\% \sim 95.54\%$, 变异系数为 $3.89\% \sim 8.66\%$ 。水样、土壤、植株和稻米中的最低检测浓度分别为 $0.002 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 0.01 、 0.01 、 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

关键词: 双草醚; 残留分析; HPLC; 水稻; 水; 土壤

中图分类号: X132 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672 – 2043(2005)02 – 0407 – 03

Determination of Bispyribac – Sodium Residues in Water , Soil and Rice Tissues by High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

ZHENG Li-ying, YANG Ren-bin, GUO Zheng-yuan, GONG Dao-xin

(Institute of Agro – Environmental Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: An analytical method for determining bispyribac – sodium residues in water, soil, rice plant tissues by HPLC was described. The samples were extracted with $4\% \text{ NaHCO}_3$ water solution, followed the extract was partitioned with petroleum ether and dichloromethane, respectively. The aqueous phase (containing the final residue) was acidified with $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ hydrochloric acid and re – extracted with ethyl acetate. $20 \mu\text{L}$ of final solution was injected into a stainless column with $250 \text{ mm} \times 4.0 \text{ mm}$ ODS for chromatography using mobile phase of methanol + water ($75 + 25, \text{ V/V}$) containing $0.04\% \text{ H}_3\text{PO}_4$. The quantification of the herbicide was conducted by using UV detection at 250 nm wavelength. The results showed that the averaged recoveries of the method ranged $81.02\% \sim 95.54\%$, at the fortified levels of $0.01 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ for the samples, and coefficient of variation was in a rage of $3.89\% \sim 8.66\%$. The minimum detectable limits in water, soil, rice tissues were found to be $0.002 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively.

Keywords: bispyribac – sodium; residue analysis; HPLC; rice; water; soil

双草醚 (bispyribac – sodium) 是 20 世纪 80 年代后期日本首先开发的一种嘧啶水杨酸类除草剂, 化学名称 2, 6 – 双 (4, 6 – 二甲氧嘧啶 – 2 – 氧基) 苯甲酸钠。其作用机理为: 抑制乙酰乳酸合成酶, 通过阻止支链氨基酸的生物合成而起作用。药效试验表明, 该农药主要应用于防除水稻直播田禾本科、莎草科和阔叶草等多数常见杂草, 尤其对多种一年生或多年生高龄稗草、双穗雀稗及空心莲子草等有特效^[1], 且在推荐剂量下, 对水稻品种有优异的选择性。

现有文献资料表明, 国内外报道的有关双草醚的残留分析检测方法多集中于气相色谱法^[2~4], 而气相

色谱法的样品前处理过程中需要用剧毒的重氮甲烷将双草醚衍生化, 然后在 SPE 柱上净化处理, 处理过程繁琐, 且费用较高; 国外也有应用液相色谱测定水土环境中双草醚代谢物的报道, 其前处理也比较复杂^[5]; 李波玲等^[6]提出了水杨酸双嘧啶 (钠) 的化学定量分析方法, 但并不适合环境介质和生物样品中农药残留量的测定。为研究双草醚在我国稻田中的残留动态和水稻作物中的最终残留, 本文摸索出了一种简单、快速、节省试剂、回收率较高、重复性好的双草醚残留量分析方法。

1 材料与方法

1.1 主要仪器和试剂

仪器: HP – 1100 型高效液相色谱仪 (美国惠普公

收稿日期: 2004 – 06 – 21

作者简介: 郑丽英 (1979—), 女, 在读硕士, 主要研究方向为环境污染
物检测。E – mail: lyzheng79@ 163. com

司产,带 UVD),水浴恒温振荡器,离心机,旋转蒸发器,pHS—3C 数字型酸度计,分液漏斗,具塞三角瓶,减压抽滤装置。

试剂:双草醚标准品(纯度 97.2%),无水硫酸钠、碳酸氢钠、盐酸、石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯(均为分析纯),甲醇(HPLC 级)。

1.2 样品制备

水样:在试验稻田小区内随机 10 点取水样 2 000 mL,过滤待分析。

土壤样品: 试验小区内随机取 0 ~ 20 cm 的稻田土壤约 1 kg,混匀后缩分,保留 500 g 样品,装入样品袋,栓好标签,放入 - 20 ℃ 冰箱中冻存,待分析。

稻米、植株样:水稻成熟后,采集稻谷、稻草,稻谷脱壳、稻茎秆剪碎,粉碎后过 20 目筛,装入样品袋,栓好标签,放入 - 20 ℃ 冰箱中冻存,待分析。

1.3 试验方法

1.3.1 样品提取与净化^[2-5,7]

土壤、植株和稻米:准确称取土样(植株、稻米样) 20 g 于 250 mL 三角瓶中,加入 100 mL4% 的 NaHCO₃ 水溶液振荡提取 1 h,抽滤过滤,并用 30 mL4% 的 NaHCO₃ 水溶液多次洗滤渣,合并滤液(米样提取液以 3 000 r · min⁻¹ 离心 10 min,取上清液),转入盛有 30 mL20% NaCl 的 500 mL 分液漏斗中,用 50 mL 石油醚和 50 mL 二氯甲烷分两次洗涤提取液,弃去有机相和杂质。用 1 mol · L⁻¹HCl 将水相调至 pH≈3,再用 40、30 mL 乙酸乙酯萃取 2 次,乙酸乙酯相经无水硫酸钠脱水并在旋转蒸发器上(40 ℃)浓缩至近干,甲醇定容。

水样:量取 100 mL 水样置于盛有 30 mL20% NaCl 的 500 mL 分液漏斗中,首先调 pH≈3 后,再用乙酸乙酯萃取。

1.3.2 高效液相色谱检测条件

色谱柱为 250 mm × 4.0 mm ODS 不锈钢柱;流动相为甲醇:水(含 0.04% 磷酸) = 75: 25 (V: V);流量 0.8 mL · min⁻¹;检测波长 250 nm;柱温 30 ℃;进样量 20 μL;定量方式为外标法峰面积定量。

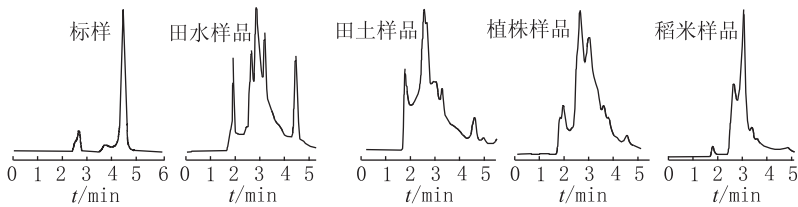


图 2 标样和各样品色谱图

Figure 2 Chromatograms of the active ingredient for the herbicide and samples analyzed

2 结果与讨论

2.1 仪器检测精密度

在上述检测条件下,取浓度为 2.776 mg · L⁻¹ 的双草醚标样溶液分别连续进样 5 次,计算其检测结果的标准偏差和变异系数,结果见表 1。表明测定方法的稳定性较好,其中 HPLC 对双草醚 5 次进样结果的变异系数为 0.63%。

表 1 双草醚 HPLC 分析平行性测定结果

HPLC					
标样	1	2	3	4	5
峰面积	122.48	124.11	123.69	123.78	124.60
平均标准差	123.73 ± 0.78				
变异系数/CV%	0.63				

2.2 仪器检测线性标准曲线

以双草醚标准溶液的进样量与相对应的色谱峰面积作标准曲线,结果表明二者呈现良好的线性关系,其线性范围为 2.68 ~ 416.4 ng,见图 1。方程式为: $y = 41.092x + 0.4895$; $r^2 = 0.9994$ 。

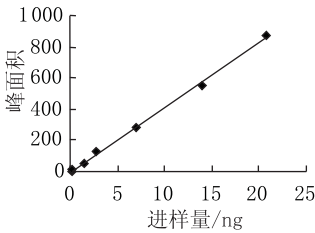


图 1 双草醚的标准曲线

Figure 1 Standard curve of bispyribac - sodium by HPLC

2.3 双草醚色谱图

将双草醚的标准品用甲醇溶解并稀释成不同浓度的标准溶液,在上述仪器条件下进样测定,确定双草醚的色谱峰保留时间在 4.501 min 处,见图 2。

2.4 添加回收率

分别向空白对照水、土壤、植株、稻米样品中添加双草醚标准溶液使样品中双草醚浓度在 0.01 ~ 1 mg · kg⁻¹(水样 mg · L⁻¹) 范围内,按上述各样品中双

表 2 双草醚添加回收率试验结果

Table 2 Recoveries of bispyribac – sodium for the analytical method

样品	添加量 /mg · kg ⁻¹	回收率 /%				平均回收率 /%	变异系数 /%
水	0.01	93.51	76.64	88.33	81.87	85.08	8.66
	0.10	81.98	90.93	92.35	89.12	88.60	4.60
	1.00	98.02	102.85	86.93	94.36	95.54	7.02
土壤	0.05	76.63	83.05	81.37	88.64	82.42	4.96
	0.10	93.75	92.17	83.34	93.08	90.59	5.38
	1.00	82.02	88.63	96.76	95.71	90.78	7.58
植株	0.10	81.78	87.75	73.49	81.07	81.02	7.22
	0.50	82.43	90.47	77.74	85.77	84.10	6.39
	1.00	91.51	85.62	93.55	88.38	89.76	3.89
稻米	0.10	78.04	81.69	76.75	90.53	81.75	7.60
	0.50	87.84	81.30	92.54	85.29	86.74	5.43
	1.00	82.38	88.14	96.21	93.46	90.05	6.78

草醚残留量的分析检测方法测定其回收率。添加回收率试验结果见表 2。从表 2 可以看出，双草醚在稻米和环境样品中的平均回收率在 81.02% ~ 95.54% 之间，变异系数为 3.89% ~ 8.66%，符合农药残留量分析方法的技术要求。

2.5 最小检出量和最低检出浓度

在上述测定条件下 HPLC 对双草醚的最小检出量为 7.7×10^{-10} g, 双草醚在水、土样、植株、稻米中的最低检出浓度分别为：0.002 mg · L⁻¹，0.01(烘干重)、0.01(鲜重)、0.01 mg · kg⁻¹。

2.6 讨论

(1) 以甲醇和水作流动相时，双草醚的保留时间较短，若在流动相中加入适当比例的磷酸水溶液，可使它们在 C₁₈ 柱上获得较好的分离和适宜的保留时间。

(2) 在土壤、水、植株、稻米中双草醚残留物的萃取过程中，加 1 mol · L⁻¹HCl 调节提取液的 pH 值是关键。双草醚的 pKa 约为 3.05，在酸性条件下（当 pH ≈ pKa 时），双草醚以分子态酸的形式存在，并容易被乙酸乙酯萃取，从而确保了样品中双草醚的高效率萃取。

(3) 本试验的样品处理方法采用了液液分配的净

化方法，虽然土壤、植株样品杂质峰较多，但均能与样品峰分开，不影响检测，从而使操作程序得到了简化。液液分配时易产生乳化现象，加入适量的氯化钠溶液，可以减少这种现象的发生，并提高农药残留的萃取率。

参考文献：

[1] 刘长令．世界农药大全(除草剂卷)[M]．北京:化学工业出版社，2002. 88.

[2] 白 洁,谢 强．稻米和土壤中农美利残留量气相色谱分析方法的研究[J]．化工环保,2003,23(3):165 – 168.

[3] EPA. Determination of Bispyribac – sodium (V – 10029) in Water and Soil by GC, ABC Laboratories, Inc. USA, 1997.

[4] EPA. Notice of Filling a Pesticide Petition to Establish a Tolerance for a certain Pesticide Chemical in or on food, Pesticide tolerance[J]. *Federal Register*, 2000,65(183):56901 – 56908.

[5] EPA. Flord E. Kasier. Liquid Chromatographic Method for the Determination of Me2BA in Arkansas Soil and Water, . ABC Laboratories, Inc. USA, 1997.

[6] 李波玲,杨 伟．水杨酸双嘧啶钠的化学定量分析方法[J]. 现代农药,2003,2(20):20.

[7] 杨仁斌,郭正元,龚道新．醚黄隆在稻米、稻秆、土壤和水样中残留量检测方法．农药残留量实用监测方法手册(第二卷)[M]．北京:化工出版社,2001. 337 – 340.