

高效液相色谱法测定土壤中均三氮苯类除草剂

卜伟, 陈军

(泰州市环境监测中心站, 江苏泰州 225300)

摘要: 采用高效液相色谱法测定土壤中 7 种均三氮苯类除草剂: 西玛津、阿特拉津、扑灭通、莠灭净、扑灭津、扑草净、去草净。用乙腈或甲醇: 乙腈 (3:7 v/v) 在索氏提取器上提取土壤中的 7 种均三氮苯类除草剂, 提取液经旋转蒸发, 氮吹浓缩, 中性氧化铝小柱净化, 再次氮吹浓缩后, 高效液相色谱二极管阵列检测器检测, 外标法定量, 检测波长为 224 nm。实验结果表明该方法的变异系数在 1.24%~6.83% 之间, 平均回收率在 95.0%~106.9% 之间, 检出限为 0.84~2.07 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该方法是分析土壤中均三氮苯类除草剂农药的一种较为理想的方法。

关键词: 索氏提取; 均三氮苯类除草剂; 高效液相色谱法; 测定

中图分类号: X131.3

除草剂可以分为苯氧羧酸类除草剂、酰胺类除草剂、脲类除草剂、醚类除草剂、环己烯酮类除草剂、氨基甲酸酯类除草剂、有机杂环类除草剂等 7 类。其中有机杂环类除草剂由于其具有超高药效, 使用药量少, 成本低, 已成为除草剂发展的主流。本文选择其中的均三氮苯类除草剂作为研究对象。均三氮苯类除草剂主要由植物根系吸收, 个别品种也可以由茎叶少量吸收。主要作用机制是抑制植物的光合作用, 是典型的光合作用抑制剂。

1 试验方法

本方法用乙腈或甲醇: 乙腈 (3:7 v/v) 在索氏提取器上提取土壤或沉积物中的西玛津、阿特拉津、扑灭通、莠灭净、扑灭津、扑草净、去草净, 提取液经旋转蒸发浓缩, 氮吹浓缩, 中性氧化铝小柱净化, 再次氮吹浓缩后, 高效液相色谱二极管阵列检测器检测, 外标法定量。

由于均三氮苯类除草剂的残留较低, 因此样品提取技术成为分析过程的关键。我们在实验中采用了索氏提取法、超声波提取法两种方法对土壤沉积物中的均三氮苯类除草剂污染物进行了提取。提取剂分别为正己烷: 丙酮 (1:1 v/v), 甲醇: 乙腈 (3:7 v/v), 以及乙腈等 3 种。

净化方法选用了中性氧化铝柱净化方法, 对提取液进行提纯, 这种方法是使被测试样品各组分在层析柱吸附剂上被反复吸附与解吸, 依据保留性能的不同, 从而使农药和杂质分离, 达到分离净化目的的一种分析方法。

2 试验

2.1 主要仪器与试剂

高效液相色谱仪: 二极管阵列检测器, 色谱柱: Waters Symmetry® C18 5 μm 4.6 mm \times 250 mm; 索氏提取器: 250 ml; 旋转蒸发器; 氮吹仪; 超声波萃取仪; 瓷制研磨器; 250 ml 广口棕色玻璃瓶 (聚四氟乙烯衬里); 固相萃取小柱: 中性氧化铝, 3 cc 1000 mg; 乙腈 (流动相) (色谱纯); 水为 Milli-Q 纯水。

标准物质: 含西玛津、阿特拉津、扑灭通、莠灭净、扑灭津、扑草净、去草净, 浓度均为 0.1 $\mu\text{g}/\text{L}$, 溶剂: 甲醇。

提取试剂: 乙腈 (农残级), 甲醇: 乙腈 (3:7 v/v) (农残级), 正己烷: 丙酮 (1:1 v/v); 硫酸钠, 用二氯甲烷洗涤, 置浅盘中在 400 $^{\circ}\text{C}$ 加热 4 h 进行纯化。

2.2 试验操作

(1) 采集适量土壤于采样瓶中, 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏, 注意最多保存 14 天。土壤样品如含水较多, 倾泻弃去样品上面的水层, 慢慢沥干水分, 充分混合样品, 弃去异物。适合研磨的土壤样品, 用瓷制研磨器研磨, 使其通过 1 mm 筛目的标准筛。某些情况下, 样品结果要求以干重计, 若需要这种数据, 则应在称取作分析测定用样品的同时, 称取一份样品进行水分测定。水分测定方法: 在称取用于提取的样品之后, 立即称取 5~10 g 的样品于一个称重过的坩埚中, 在 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘干过夜以测定其水分百分率。在称重前放于干燥器中冷却 30 min。

(2) 将 10 g 样品(干土)和 10 g 无水硫酸钠混合, 放于提取套筒中; 于 250 ml 圆底烧瓶中加入 3~4 粒沸石及 150 ml 提取溶剂, 将烧瓶连接在提取器上, 提取样品 16~24 h。提取完成后, 让提取液冷却, 取下圆底烧瓶。

(3) 将 250 ml 圆底烧瓶连接在旋转蒸发器上, 以 60℃ 水浴, 减压浓缩至 5 ml 以下。

(4) 转移浓缩液至氮吹管中, 再用 5 ml 提取液分 2~3 次洗涤烧瓶, 一并将洗涤液转移至氮吹管中。

(5) 在 60℃ 水浴中, 将浓缩液用氮气吹至近干, 加二氯甲烷 4 ml 至氮吹管中, 充分溶解。

(6) 用 6 ml 二氯甲烷活化氧化铝小柱, 淋洗液弃去, 在氧化铝填料快要露出二氯甲烷液面时, 将氮吹管中二氯甲烷浓缩液上柱, 让其依靠重力作用缓慢流下, 收集流出液, 再加 6 ml 二氯甲烷分 2 次对氮吹管进行洗涤, 一并上柱, 收集洗脱液至氮吹管中。

(7) 在 35℃ 左右水浴中, 用氮气将二氯甲烷吹至近干, 用甲醇定容至 1 ml, 供液相色谱分析。

2.3 仪器条件

流动相: A 乙腈、B 纯水, 梯度淋洗, 梯度洗脱见表 1。脱气方式: 在线脱气; 色谱柱温: 35℃; 进样量: 10 μ l; 二极管阵列检测器, 检测波长 224 nm。

3 结果与讨论

3.1 提取方法和提取溶剂的选择

从选择结果看来(表 2), 超声萃取(先用提取溶剂浸泡 20 h, 超声波萃取 20 min)无论采用哪种溶剂效果都不理想。索氏提取时间为 16~20 h, 经反复试验, 正己烷: 丙酮(1:1 v/v)萃取效果较差。

最终选取乙腈或甲醇: 乙腈(3:7 v/v)作为提取溶剂, 两种提取溶剂的提取结果几乎一致。应用索氏提取方法, 7 种除草剂的回收率在 106.9%~95.0% 范围内, 相对标准偏差均 < 6.83%, 表明实验采用的索氏提取方法能有效地提取土壤中的均三氮苯类除草剂污染物。

3.2 标准色谱图

通过提取方法和提取溶剂的选择, 决定采用索氏提取-高效液相色谱法测定土壤中的均三氮苯类除草剂, 7 种均三氮苯类除草剂的标准色谱图见图 1。

3.3 标准曲线的制作

配制 7 种均三氮苯类除草剂标准溶液, 浓度范围分别为 $(0.10 \sim 2.00) \times 10^3 \mu\text{g/L}$ 。检测结果表明: 采用索氏提取-高效液相色谱法, 均三氮苯类除草剂各组分的标准曲线相关系数均在 0.9992 以上(表 3)。

表 1 流动相梯度表

Table 1 Flow-phase gradient

时间 (min)	流量 (ml/min)	A (乙腈) (%)	B (纯水) (%)	曲线
-	1.00	20	80	-
2.00	1.00	20	80	6
11.00	1.00	35	65	6
12.00	1.00	43	57	6
16.00	1.00	43	57	6
30.00	1.00	60	40	6
31.00	1.00	65	35	6
38.00	1.00	75	25	6
43.00	1.00	100	0	6
55.00	1.00	20	80	10

表 2 提取方法和提取溶剂对提取回收率的影响

Table 2 Effect of extraction method and solvent on recovery

除草剂	超声萃取回收率 (%)		索氏提取回收率 (%)		
	乙腈	正己烷: 丙酮 (1:1 v/v)	乙腈	甲醇: 乙腈 (3:7 v/v)	正己烷: 丙酮 (1:1 v/v)
西玛津	7.6	ND	106.9	105.0	59.2
阿特拉津	25.4	8.4	97.8	103.1	71.6
扑灭通	ND	ND	100.9	101.0	56.2
莠灭净	9.7	ND	97.1	100.0	62.8
扑灭津	60.4	27.7	95.0	95.3	82.0
扑草净	37.7	11.6	101.0	100.0	109.2
去草净	20.1	6.5	98.0	96.5	76.4

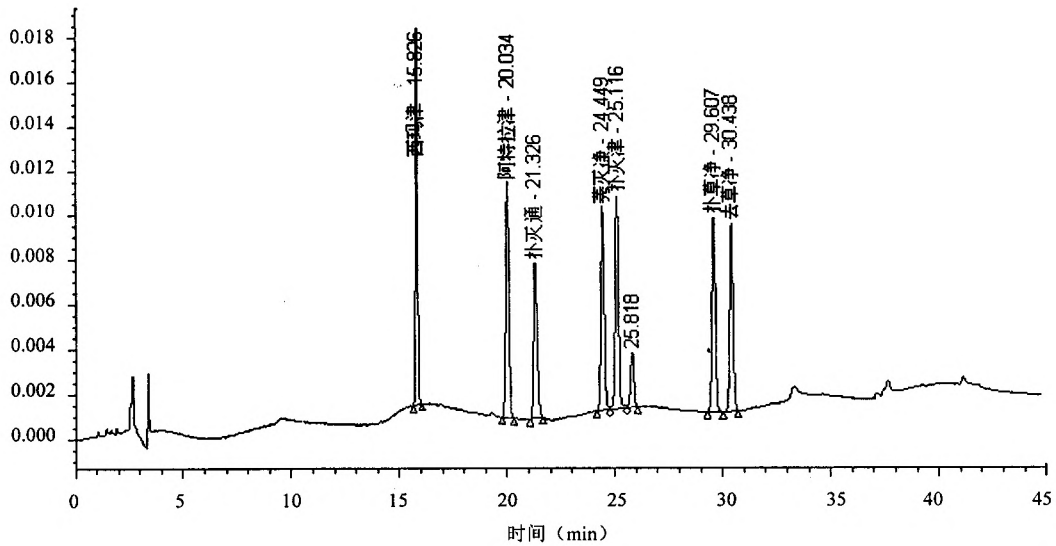


图 1 7 种均三氮苯类除草剂的标准色谱图

Fig. 1 Standard chromatograms of seven kinds of three nitrogen benzene herbicides

表 3 标准曲线与方法检出限

Table 3 Standard curves and method detection limits

除草剂	标准曲线	相关系数 r	方法检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
西玛津	$y = 1.07 \times 10^5 x - 7.03 \times 10^2$	0.9997	1.68
阿特拉津	$y = 1.01 \times 10^5 x + 2.22 \times 10^3$	0.9997	0.84
扑灭通	$y = 7.99 \times 10^4 x - 2.53 \times 10^3$	0.9992	2.07
莠灭净	$y = 9.45 \times 10^4 x - 5.65 \times 10^2$	0.9996	1.65
扑灭津	$y = 9.78 \times 10^4 x - 3.84 \times 10^2$	0.9990	0.84
扑草净	$y = 9.57 \times 10^4 x - 1.37 \times 10^3$	0.9997	1.68
去草净	$y = 9.13 \times 10^4 x - 1.06 \times 10^3$	0.9996	1.77

3.4 方法检出限

在 10 g 土壤中添加各类除草剂 0.1 μg , 使得土壤中各类除草剂浓度均为 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 按照土壤处理方法平行分析 7 份加标样品, 计算检出限, 结果见表 3。检测结果表明: 采用索氏提取-高效液相色谱法,

检出限能达到《土壤环境监测技术规范》的要求。

3.5 方法回收率和精密度

方法的精密度和回收率试验结果见表 4。检测结果表明: 采用索氏提取-高效液相色谱法, 精密度和回收率均能达到《土壤环境监测技术规范》的要求。

表 4 精密度、回收率试验 ($n=7$)

Table 4 Precision and recovery test

除草剂	添加量 0.1 μg		添加量 1.0 μg	
	平均回收率 (%)	精密度 (%)	平均回收率 (%)	精密度 (%)
西玛津	105.0	5.33	106.9	5.02
阿特拉津	103.1	2.72	97.8	2.27
扑灭通	101.0	6.83	100.9	5.60
莠灭净	100.0	5.50	97.1	3.92
扑灭津	95.3	2.95	95.0	1.24
扑草净	100.0	5.60	101.0	5.20
去草净	96.5	6.15	98.0	5.10

4 结论

(1) 采用索氏提取法可以将土壤中除草剂(均三氮苯类)污染物有效提取。

(2) 中性氧化铝柱分离可较好净化提取液。

(3) 采用高效液相色谱对除草剂(均三氮苯类)的定性、定量有良好的抗干扰能力, 而且具有操作简便、分离完全、峰形好、线性范围宽、精密度好、灵敏度和准确度高等特点, 是分析土壤中均三氮苯类除草剂农药的一种较为理想的方法。

参考文献:

- [1] 朱良天. 农药. 北京: 化学工业出版社. 2004: 448-461
- [2] 苏少泉. 除草剂概论. 北京: 科学出版社, 1989: 206
- [3] 卢桂宁, 陶雪琴, 杨琛, 易筱筠, 党志. 土壤中有有机农药的自然降解行为. 土壤, 2006, 38(2): 130-135
- [4] 刘峰, 慕卫, 王金信, 于金凤. 对土壤及玉米植株中均三氮苯类除草剂的残留分析. 色谱, 1998, 16(6): 543-544
- [5] 陈莉, 章钢娅, 靳伟, 胡锋. 土壤中拟除虫菊酯类残留农药的气相色谱测定方法研究. 土壤学报, 2006, 43(5): 764-771
- [6] 李竺, 陈玲, 郜洪文, 董丽娟, 赵建夫. 固相萃取-高效液相色谱法测定环境水样中的三嗪类化合物. 色谱, 2006, 24(3): 267-270
- [7] 林玲. 新型固相萃取小柱用于三嗪类除草剂及代谢物的样品预处理. 环境化学, 1996, 15(6): 564-565
- [8] 折彦, 占春瑞, 张新忠, 杨强. 高效液相色谱法测定大豆中13种三嗪类除草剂多残留量. 分析化学, 2006, 34(6): 787-790
- [9] 陈晓燕, 莫金垣. 六种三嗪类农药的检测和信号分辨. 中山大学学报, 2003, 42(6): 128-129
- [10] 慕卫, 刘峰, 王金信, 朱鲁生. 反相高效液相色谱法同时测定土壤中莠去津、氟草津残留量方法研究. 分析化学, 1998, 26(5): 571-573

On Highly Effective Liquid Phase Chromatography to Determine Three Pyridine Class Weed Killers in Soil

BU Wei, CHEN Jun

(Taizhou Environmental Monitoring Central Station, Taizhou, Jiangsu 225300, China)

Abstract: Uses the highly effective liquid phase chromatography to determine seven kinds of three pyridine class weed killers in soil: Simazine, Arab League Tela Tianjin, Suppresses passes, Green bristlegrass extinguishes only, Suppresses Tianjin, Throws oneself the grass only, and Goes to grass only. Firstly, use the mixture of second grade nitrile or methyl alcohol : second grade nitrile(3:7 v/v) by Rope extractor to extract them out from soil. Secondly, evaporates the extract after circumgyrating it. Thirdly, use nitrogen to blow and concentrate the extract. Fouthly, use neutral aluminum oxide column to purify the extract. Fifthly, use nitrogen to blow and concentrate the extract again. Then use the highly effective liquid chromatography diode array detector to detect the extract by the external standard method at the wavelength of 224 nm. The result indicated that the variation coefficient of this method ranged from 1.24% to 6.83%, the mean recovery ranged from 95.0% to 106.95%, and the detection limit ranged from 0.84 to 2.07 $\mu\text{g}/\text{kg}$. It was a proper method to determine seven kinds of three pyridine class weed killers in soil.

Key words: Rope extraction, Three pyridine class weed killer, Highly effective liquid phase chromatography, Determination