

· 研究论文 ·

油菜籽及土壤中异丙酯草醚残留量的液相色谱分析方法研究

纪然^{1,2*}, 张敬畅¹, 卜凡², 刘冰²

(1. 北京化工大学理学院, 北京 100013; 2. 北京化工研究院环境保护研究所, 北京 100013)

摘要: 建立了一种高效液相色谱分析方法, 用于测定异丙酯草醚 (ZJ0702) 在油菜籽和土壤中的残留量。添加浓度为 0.1~5.0 mg/kg 时, 平均回收率为 83.9%~94.7%, 相对标准偏差 < 7.9%, 样本中异丙酯草醚的最低检测浓度为 0.1 mg/kg。方法简单易行、干扰少、分离效果好、准确度和灵敏度高。将该方法应用于异丙酯草醚在油菜上的残留试验中, 测得异丙酯草醚在杭州和昆明两地土壤中的残留消解半衰期分别为 24 d 和 46 d, 收获时油菜籽中异丙酯草醚的残留量皆小于 0.1 mg/kg。

关键词: 异丙酯草醚 (ZJ0702); 残留分析; 高效液相色谱; 油菜籽; 土壤

中图分类号: O657.72; S481.8

文献标识码: A

文章编号: 1008-7303(2005)01-0049-05

Study on Determination Method of ZJ0702 Residue in Rape Seed and Soil by High-performance Liquid Chromatography

JIRan^{1,2*}, ZHANG Jing-chang¹, BU Fan², LIU Bing²

(1. Faculty of Science, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100013, China;

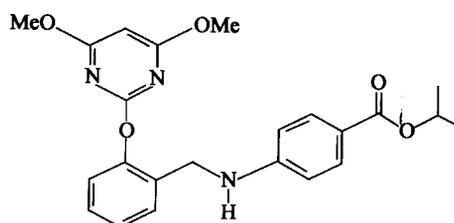
2. Environmental Protection Research Institute, Beijing Research Institute of Chemical Industry, Beijing 100013, China)

Abstract: A high performance liquid chromatography (HPLC) method for determination of ZJ0702 residue in rape seed and soil has been established. The average recovery of the method varies from 83.9% to 94.7% and the relative standard deviation is less than 7.9% when the samples are spiked at 0.1~5.0 mg/kg. The minimum detectable concentration of ZJ0702 in the samples of rape and soil is 0.1 mg/kg. The method applied to trial of ZJ0702 residue in rape is characterized by simplicity, higher sensitivity and accuracy. The degraded dynamic of ZJ0702 residue in soil indicated that the half-lives were 24 and 46 days respectively in Hangzhou and Kunming. And the residue of ZJ0702 in rape seed is less than 0.1 mg/kg.

Key words: ZJ0702; residue analysis; high-performance liquid chromatography; rape seed; soil

我国油菜的种植面积广阔, 是世界油菜籽主产国之一, 目前产量位居世界第一^[1]。要确保农作物取得高产, 选用有效的除草剂防除杂草, 将可挽回产量损失 16.4%^[2]。

异丙酯草醚 (ZJ0702), 英文通用名暂缺, 化学名称: 4-[2-(4,6-二甲氧基-2-嘧啶氧基)苯氨基]苯甲酸异丙酯, 化学结构式如下:



收稿日期: 2004-10-18; 修回日期: 2004-12-01.

作者简介: *纪然 (1974-), 女, 通讯作者, 北京人, 硕士研究生, 工程师, 主要从事农药残留测定与环境检测方法的研究. 通讯地址: 北京化工研究院环境保护研究所 (100013); 联系电话: 010-64216131-2288; E-mail: fenxije@brici.ac.cn

分子式: $C_{23}H_{25}N_3O_5$, 相对分子质量: 473。纯品为白色固体, 沸点 280.9, 溶解度 (g/L, 20): 水 1.39×10^{-3} 、丙酮 52、乙醇 1.07、二甲苯 23.2。正辛醇/水的分配系数为 4.5×10^5 。

此前, 嘧啶水杨酸类除草剂主要有嘧硫草醚、密草醚、双草醚、嘧啶肟草醚和环酯草醚等 5 种^[3-5], 已有关于该类除草剂分析方法的一些文献报道^[6-8]。异丙酯草醚是“九五”期间我国自行研究开发的新品种, 在油菜田中表现出良好的除草效果。尚未见有关其残留分析方法的报道。

作者将所建立的高效液相色谱分析方法用于残留试验中, 测定了油菜籽和土壤中异丙酯草醚的残留量。该项工作是研究异丙酯草醚在作物和土壤中的残留和消解行为以及制定其合理使用准则的一项基础工作, 也是研究和评价其对农产品和环境安全的基础。

1 实验部分

1.1 仪器及试剂

高效液相色谱仪 (HPLC): Waters U6K 进样器, 6000A 泵, 2487 紫外检测器; 太极 TJ912 双通道色谱数据处理系统; 超纯水机: Milli-Q (法国密里博公司); 旋转蒸发器、调速多用振荡器、粉碎机。

乙腈、甲醇 (分析纯); 二氯甲烷、丙酮、石油醚 (分析纯), 重蒸; 无水硫酸钠 (分析纯), 使用前在 350 灼烧 4 h 以上; 氯化钠 (分析纯), 使用前在 650 灼烧 4 h 以上; 甲醇 (HPLC 级), 用于配制流动相; 超纯水: 二次重蒸去离子水经 Milli-Q 超纯水机处理后产出, 用于配制流动相; 层析硅胶: 60~100 目 (青岛海洋化工厂分厂生产), 使用前在 140 烘 4 h, 冷却至室温后, 用质量分数 5% 的水失活, 放置过夜; 淋洗剂: 二氯甲烷/石油醚/甲醇 (20/80/1, 体积比); 99.5% 异丙酯草醚 (ZJ0702) 标准品 (浙江省化工研究院提供)。

1.2 分析方法

1.2.1 样本预处理 油菜籽样本用粉碎机研磨成细粉状; 土壤样本去除碎石、杂草过筛。-20 条件下保存。

1.2.2 油菜籽中异丙酯草醚的提取 取 10 g 样本, 置于 250 mL 具塞三角瓶中, 加入 80 mL 乙腈, 振荡提取 30 min, 用布氏漏斗过滤, 再用 20 mL

乙腈洗涤残渣。合并滤液转移至 250 mL 分液漏斗中, 再用 20 mL 乙腈洗涤滤瓶后并入分液漏斗中 (此时乙腈总用量为 120 mL)。用 32 mL $\times 2$ 石油醚振摇萃取两次, 每次 2 min, 弃去石油醚相。乙腈相经无水硫酸钠过滤脱水, 并用 15 mL 乙腈洗涤无水硫酸钠。将合并后的乙腈在旋转蒸发器中 (< 40) 浓缩至干, 待净化。

1.2.3 土壤中异丙酯草醚的提取 称取 10 g 样本, 置于 250 mL 具塞三角瓶中, 加入 100 mL 丙酮/水 (8/2, 体积比) 溶液, 振荡提取 30 min, 用布氏漏斗抽滤, 再用 40 mL 丙酮洗涤残渣及抽滤瓶。合并滤液, 在旋转蒸发器 (< 40) 中浓缩至无丙酮蒸出。残余溶液用 100 mL 质量分数为 10% 的 NaCl 水溶液洗入 250 mL 锥型分液漏斗中, 用 30 mL $\times 2$ 二氯甲烷萃取两次, 每次 2 min。合并二氯甲烷相, 经无水硫酸钠过滤脱水后, 在旋转蒸发器 (< 40) 中浓缩至干, 待净化。

1.2.4 柱层析净化 在直径 6 mm \times 400 mm 玻璃层析柱中, 用淋洗剂湿法装柱, 依次装入 2 cm 高无水硫酸钠、2 g 5% 水失活层析硅胶和 2 cm 高无水硫酸钠, 备用。将上述待净化的残余物用少量淋洗剂溶解并转移至柱顶, 继续用淋洗剂淋洗, 在柱下收集流出液。弃去前 34 mL, 收集后 16 mL 洗脱液, 用旋转蒸发器 (< 40) 浓缩至干。

1.2.5 测定 将上述浓缩残余物用 HPLC 级甲醇溶解并定容至一定体积 (2~20 mL), 用 HPLC 定量测定。

1.3 HPLC 测定的色谱条件

色谱柱: Kromasil 4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m; 柱温: 室温; 检测器: UV, Waters 2487, 检测波长 305 nm; 流动相: 甲醇/水 (90/10, 体积比); 流速 0.8 mL/min; 灵敏度: 1.0 AUFS; 量程 20 mV; 进样量 10 μ L; 保留时间 6.4 min。

1.4 标准曲线和最小检出量

准确称取异丙酯草醚标准品, 用甲醇溶解并定容至 100 mL, 配制成质量浓度为 1 000 mg/L 的标准贮备液, 再逐级稀释到所需浓度。按上述色谱条件进行测定, 以标准溶液浓度 c 为横坐标、峰面积 A 为纵坐标绘制标准曲线 (见图 1)。异丙酯草醚线性回归方程为 $A = 1 \times 10^6 c + 3 099$, 相关系数 $r = 0.999 8$ 。仪器的最小检出量 (LOD) 为 5.0×10^{-10} g。

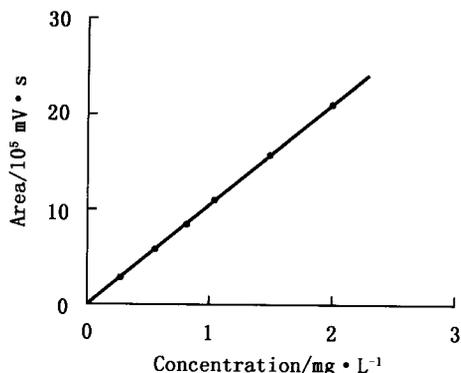


Fig 1 Standard calibration curve of ZJ0702

1.5 残留量计算公式

样本中异丙酯草醚的残留浓度用外标法,以峰面积定量计算:

$$c = \frac{A c_0 V}{A_0 W}$$

式中: c ——待测样本中异丙酯草醚残留浓度, mg/kg ; c_0 ——标准溶液浓度, mg/L ; A ——待测样本峰面积; A_0 ——标准溶液峰面积; V ——待测样本测定时的定容体积, L ; W ——待测样本的取样量, kg 。

2 结果与讨论

2.1 检测波长的选择

在 $210 \sim 400 \text{ nm}$ 波长范围内进行紫外光谱扫描表明,异丙酯草醚在 305 nm 处有最大吸收(见图 2)。在该波长下,许多杂质峰均没有紫外吸收,

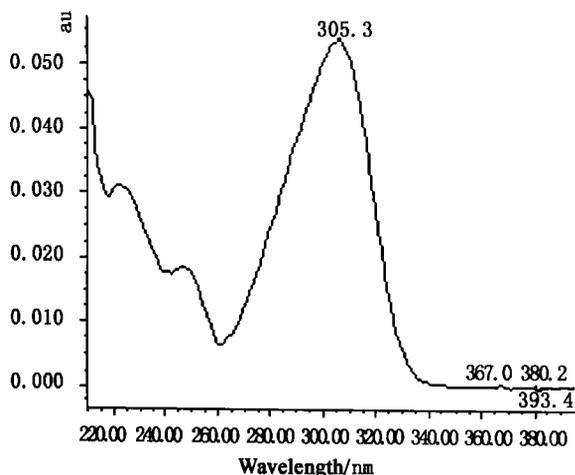


Fig 2 Ultraviolet absorption spectrum of ZJ0702

对异丙酯草醚的色谱峰无干扰。因此,选用 305 nm 作为测定波长是适宜的。

2.2 流动相中甲醇与水比例的选择

用甲醇作流动相,杂质峰对异丙酯草醚的测定有干扰,调整流动相中甲醇与水的比例,可避免杂质对测定的干扰。随着流动相中水的比例提高,异丙酯草醚峰与杂质峰峰位皆后移,保留时间延长,利用二者后移速率的差异而最终达到完全分离的目的。实验表明,甲醇与水的体积比为 $90:10$ 时为对土壤和油菜籽样本进行检测的最佳条件,既排除了杂质峰的干扰,又满足了分析灵敏度的要求。

2.3 提取试剂的选择

油菜籽中含有大量油脂和色素,提取剂的选择对排除干扰很重要。对常用的丙酮、甲醇和乙腈等提取剂进行了比较,结果表明,用丙酮和甲醇作提取剂时,色素和油脂等杂质提取较多,选用乙腈作提取剂,可大大降低色素和油脂的提取量,有利于进一步的净化操作。

2.4 萃取体系的选择

异丙酯草醚易溶于石油醚和二氯甲烷,不溶于水。对土壤样本而言,二氯甲烷是很好的萃取剂。而油菜籽样本的乙腈提取液中仍含有油脂,选择石油醚进行液液分配是适宜的。此时,非极性的油脂将进入醚相,而异丙酯草醚因在乙腈中的溶解度远大于石油醚而留在乙腈相中,达到分离的目的。进一步的实验表明,按 120 mL 乙腈 32 mL 石油醚的比例进行液液分配时,二者部分互溶,约有 15 mL 石油醚可被分离出来,经二次萃取后达到了去除油脂的目的。

2.5 柱层析净化条件的确定

本方法以 5% 水失活的硅胶作为净化柱的吸附剂。对淋洗剂的研究表明,用 50 mL 石油醚、二氯甲烷或者任意比例的石油醚-二氯甲烷混合溶剂均不能从柱上完全洗脱异丙酯草醚,而在二氯甲烷中仅加入体积分数为 1% 的甲醇即可将其在 10 mL 内完全洗脱。采用石油醚-二氯甲烷-甲醇 ($80:20:1$, 体积比) 作为淋洗剂,不仅净化效果好,而且异丙酯草醚也可完全回收。

2.6 方法的准确度、精密度与最低检测浓度

用对照样品标准加入法测得异丙酯草醚在油菜籽和土壤中的回收率(准确度)和相对标准偏差(精密度),结果见表 1。当添加浓度为 $0.1 \sim$

5.0 mg/kg时,平均回收率为 83.9%~94.7%,相对标准偏差为 2.3%~7.9%。当取样量为 10 g 时,本方法对样本中异丙酯草醚残留的最低检测浓度(LOQ)为 0.1 mg/kg。该方法的准确度、精密度和灵敏度均符合农药残留分析要求。

异丙酯草醚液相色谱测定谱图见图 3,土壤及油菜籽样本中的杂质对异丙酯草醚的测定无干扰。

2.7 异丙酯草醚在油菜籽中的 MRL 值

目前尚未制定异丙酯草醚在油菜籽中的最大允许残留限量(MRL值)。浙江省化工研究院经 90 d 的亚慢性毒性试验表明:异丙酯草醚在大鼠上的最大无作用剂量,雄性为 14.78 ± 1.5 mg/kg,

Table 1 Average recovery and relative standard deviation of ZJ0702 in rape seed and soil samples at 0.1, 1.0 and 5.0 mg/kg fortification level (n=6)

Samples	Fortification level /mg · kg ⁻¹	Average recovery (%)	RSD (%)
Rape seed	0.1	94.7	7.9
	1.0	92.3	2.3
	5.0	83.9	2.7
Soil	0.1	93.2	7.7
	1.0	93.8	2.8
	5.0	93.5	3.8

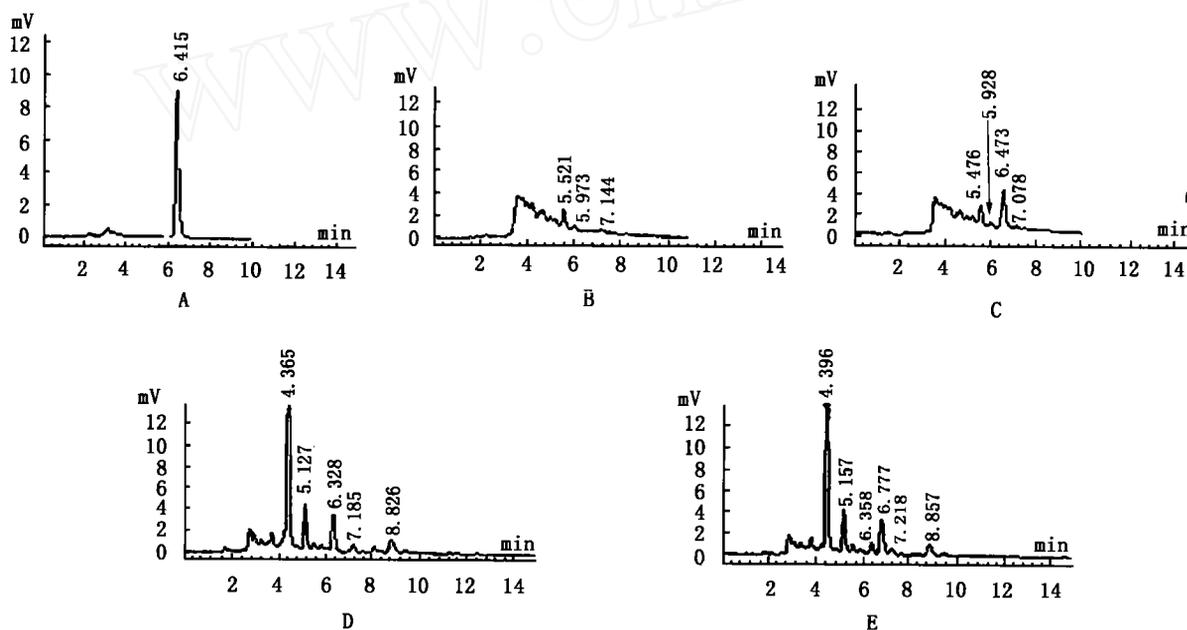


Fig 3 HPLC chromatograms of ZJ0702

A: Standard chromatogram at 1.0 mg/L; B: Blank sample of soil; C: Soil sample fortified with ZJ0702 (0.1 mg/kg); D: Blank of rape seed; E: Rape seed sample fortified with ZJ0702 (0.1 mg/kg)

雌性为 16.45 ± 1.34 mg/kg。据此试验结果计算^[9],暂定异丙酯草醚在油菜籽中的 MRL 值为 1 mg/kg。

3 实际样本测定

2003~2004年在浙江杭州和云南昆明进行了异丙酯草醚在油菜中的残留试验。将本方法用于测定油菜田土壤中异丙酯草醚的残留消解动态和油菜籽中的最终残留量,结果如下:昆明试验地为中壤土,pH=6.2,有机质含量 4.0%,施药后 2 h 土壤中异丙酯草醚的原始沉积量为 0.96 mg/kg,132 d 后降为 0.12 mg/kg,残留消解动态的回归方

程为 $c = 0.80 e^{-0.015t}$,相关系数 $r = -0.954$,半衰期为 46 d;杭州试验地为小粉土,pH=7.0,有机质含量 3%,施药后 2 h 土壤中异丙酯草醚的原始沉积量为 1.57 mg/kg,60 d 后降为 0.17 mg/kg,残留消解动态的回归方程为 $c = 0.90 e^{-0.029t}$,相关系数 $r = -0.917$,半衰期为 24 d,见表 2。在油菜移栽后施药,收获时油菜籽中异丙酯草醚的最终残留量皆低于 0.1 mg/kg。

4 结论

研究并建立了一种高效液相色谱分析方法,用于测定油菜籽和油菜田土壤中异丙酯草醚残留

Table 2 Determination of degraded dynamic of ZJ0702 residue in soil

Trial place	Sampling times, n	Residue Conc. /mg · kg ⁻¹		Regression equation	Half-life, T _{1/2} /d
		2 h	60 d		
Kunming	10	0.96	0.12	c = 0.80 e ^{-0.015t}	46
Hangzhou	10	1.57	0.17	c = 0.90 e ^{-0.029t}	24

量。该方法具有简单易行、干扰少、分离效果好、准确度和灵敏度高的特点。在异丙酯草醚添加浓度为 0.1~5.0 mg/kg 时,方法的准确度为 83.9%~94.7%,精密密度为 2.3%~7.9%,样本中异丙酯草醚的最低检测浓度为 0.1 mg/kg,可满足农药残留测定要求。在本试验中,应用该方法测定种植地油菜籽和土壤样本中的异丙酯草醚残留量均取得了满意的结果。

参考文献:

- [1] TIAN Yu (田煜). 2003/2004年度油菜籽市场展望 [J]. Grain and Oil(粮食与油脂), 2003, (6): 26-28.
- [2] ZHANG Da-di(张大弟), ZHANG Xiao-hong (张晓红). Pollution by Pesticides and Prevention(农药污染与防治) [M]. Beijing(北京): Chemical Industry Press(化学工业出版社), 2001. 1-2.
- [3] LIU Chang-ling(刘长令). 除草剂研究开发的新进展与发展趋势(一) [J]. Fine and Specialty Chemicals(精细与专用化学品), 2000, 8(17): 6-8.
- [4] SHANG Ercai(尚尔才), LIU Chang-ling(刘长令), DU Ying-juan(杜英娟). 啉啉类农药的研究进展 [J]. Advance on Chemical Industry(化工进展), 1995, (9): 8-15.
- [5] LI Hai-ping(李海屏). 最近 20年世界除草剂新品种开发进展及特点 [J]. Fine and Specialty Chemicals(精细与专用化学品), 2004, 12(5): 1-7.
- [6] Yoshii K, Okada M, Tsumura Y, et al. Supercritical fluid extraction of ten chloracetanilide pesticides and pyriminobac-methyl in crops: comparison with the Japanese bulletin method [J]. J AOAC International, 1999, 82(5): 1239-1245.
- [7] Byoung-Hyoung Kim, Hoon-Joo Kim, Jong Hoa Ok. Analysis of a new herbicide (pyribenzoxim) residues in soil using Direct-Extract-Injection HPLC with column switching [J]. J Liquid Chromatography & Related Technologies, 2001, 24(5): 669-678.
- [8] BAI Jie(白杰), XIE Qiang(谢强). 稻米和土壤中农美利残留量气相色谱分析方法研究 [J]. Environmental Protection of Chemical Industry(化工环保), 2003, 23(3): 165-169.
- [9] HE Kang(何康), LIU Rui-long(刘瑞龙), HAN Xi-lai(韩熹莱), et al. Chinese Agricultural Encyclopedia (Pesticides) [中国农业百科全书(农药卷)] [M]. Beijing(北京): China Agriculture Press(中国农业出版社), 1993. 310-311, 476-477.

(Ed TANG J)