

工作简报

凝胶渗透色谱净化-气相色谱-质谱法 测定烟草中酰胺类除草剂

王 岚¹, 和顺琴^{1,2}, 廖 臻¹, 吴 娜^{1,2}, 杨 帅¹, 胡秋芬²

(1. 云南省烟草化学重点实验室, 云南烟草科学研究院, 昆明 650106;

2. 云南民族大学 化学与生物技术学院, 昆明 650031)

摘要: 提出了气相色谱-质谱法测定烟草中酰胺类除草剂异丙甲草胺、双苯酰草胺和敌草胺的残留量的方法。样品用乙酸乙酯-环己烷(1+1)混合溶剂提取, 所得提取液用凝胶渗透色谱进行净化, 用乙酸乙酯-环己烷(1+1)混合溶剂作流动相。采用气相色谱分离后, 选择离子监测模式下质谱法进行测定。异丙甲草胺、双苯酰草胺和敌草胺的检出限($3S/N$ 分别为 0.45, 0.50, 0.30 $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$)。加入两个浓度水平的混合标准溶液进行了回收试验, 所得回收率在 90.0%~102.0% 之间, 相对标准偏差($n=6$ 在 2.5%~3.2% 之间)。

关键词: 气相色谱-质谱法; 凝胶净化色谱; 酰胺类除草剂; 烟草

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-4020(2011-09-1077-03)

GC-MS Determination of Acetanilide Herbicides in Tobacco After Purification with Gel Permeation Chromatography

WANG Lan¹, HE Shun-qin^{1,2}, LIAO Zhen¹, WU Na^{1,2}, YANG Shuai¹, HU Qiu-fen²

(1. Yunnan Provincial Key Laboratory of Tobacco Chemistry, Yunnan Research Institute of

Tobacco Science, Kunming 650106, China;

2. School of Chemistry and Biotechnology, Yunnan National University, Kunming 650031, China)

Abstract: A method for determination of residual amounts of 3 acetanilide herbicides, i. e. metolachlor, diphenamide and napropamide, in tobacco by GC-MS was proposed. Samples were extracted with mixed solvent of ethyl acetate and n -hexane (1+1). The extract obtained was purified by gel permeation chromatography using mixed solvent of ethyl acetate and n -hexane (1+1) as mobile phase. The eluates were taken for separation by GC and the contents of 3 acetanilide herbicides were determined by MS under select ion monitoring (SIM) mode. Values of detection limit ($3S/N$ found were 0.45 $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ for metolachlor, 0.50 $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ for diphenamide, and 0.30 $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ for napropamide. Tests for recovery were made by addition of mixed standard solution at 2 different concentration levels, values of recovery found were in the range of 90.0% - 102.0%, with values of RSD's ($n=6$ in the range of 2.6% - 3.2%.

Keywords: GC-MS; Gel permeation chromatography; Acetanilide herbicides; Tobacco

酰胺类除草剂是一类重要的除草剂, 目前得到市场广泛认同的主要有甲草胺、乙草胺、丙草胺、丁

草胺、异丙草胺、异丙甲草胺、精异丙甲草胺等^[1,2]。但因发现异丙甲草胺、双苯酰草胺和敌草胺具有弱的基因毒性^[1,3], 其残留量测定逐渐引起了人们的注意。目前该类除草剂的测定方法有气相色谱法(GC)、液相色谱法(LC)及免疫分析法等^[4,5]。其中气相色谱法最为常用, 可采用多种检测器对其进行

收稿日期: 2010-07-12

基金项目: 云南中烟工业公司基金项目(2008SB01)

作者简介: 王 岚(1972-), 女, 云南人, 硕士, 工程师, 主要从事烟草常规化学检测工作。

分析,包括电子捕获检测器(ECD)、氢火焰离子化检测器(FID)以及氮磷检测器(NPD)。色谱-质谱(MS)联用技术在除草剂的分析中也得到了广泛的应用,其中烟草行业标准YC/T 179-2004采用气相色谱法测定烟草中丙甲草胺、敌草胺和双苯酰草胺,但样品前处理操作较麻烦。凝胶净化色谱是一种新型的分离技术,它是基于体积排阻效应原理,根据化合物分子大小不同而达到分离净化的目的,该技术能在保证对目标分析物具有较好回收率的前提下,除去干扰分析样品中的各类杂质,近年来,在农残样品测定前处理中得到了广泛应用^[56]。本工作用凝胶渗透色谱净化样品,GC-MS测定烟草中异丙甲草胺、敌草胺和双苯酰草胺的含量。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 6890 气相色谱-5973 质谱联用仪。

凝胶渗透色谱净化系统:由安捷伦 1100 半制备色谱改装,包括 1100 半制备泵,1100 二极管阵列检测器,2.0 mL 手动进样器,Waters styragel 脂溶性凝胶柱(适合分离的相对分子质量范围 100~1 000)。

异丙甲草胺、双苯酰草胺和敌草胺标准溶液:称取异丙甲草胺、双苯酰草胺和敌草胺标准品各 0.100 0 g 于 50 mL 烧杯中,用乙酸乙酯溶解,转移至 100 mL 容量瓶中,用乙酸乙酯稀释至刻度,配制标准储备溶液。使用时,用乙酸乙酯稀释为 1.0 mg · L⁻¹ 标准溶液。

内标溶液:200 μg · L⁻¹ 4-甲基苯甲醚溶液。

丙酮、乙酸乙酯、氯仿、苯、环己烷等试剂均为色谱纯。

1.2 气相色谱条件

HP-5MS 色谱柱(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm; 载气为氦气,流量 1.0 mL · min⁻¹;进样口温度 250 °C;不分流进样,进样量 1.0 μL。程序升温:初温 50 °C,以 30 °C · min⁻¹ 速率升至 200 °C,再以 10 °C · min⁻¹ 速率升至 280 °C,保持 1 min。

质谱采用电子轰击(EI)离子源,倍增器电压 1 500 V,离子源温度 230 °C,四极杆温度 150 °C。

1.3 试验方法

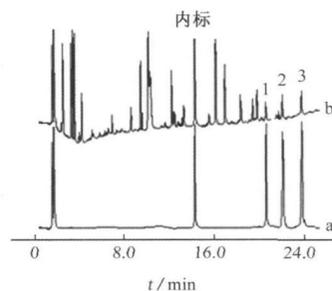
烟草样品烘干后粉碎,过 0.2 mm 筛。称取烟草试样 1.000 0 g,加入乙酸乙酯-环己烷(1+1)混合溶剂 20 mL,在高速匀浆机上匀浆 2.0 min,滤出

提取液,并将提取液浓缩至 1.0 mL,浓缩液由手动进样器注射到凝胶渗透色谱净化系统中。以乙酸乙酯-环己烷(1+1)混合溶剂为流动相,Waters Styragel 脂溶性凝胶柱(7.8 mm × 300 mm, 5 μm 为固定相分离,流量为 2.0 mL · min⁻¹;收集 7.2~10.6 min 流出液,在流出液中加入 200 μg · L⁻¹ 内标溶液 20 μL,并浓缩至 0.2 mL,在仪器工作条件下进行分析。

2 结果与讨论

2.1 色谱行为

取除草剂混合标准溶液及烟草样品溶液,在色谱条件下进样分析,色谱图见图 1。



1—异丙甲草胺; 2—双苯酰草胺; 3—敌草胺

图 1 混合标准(a)及烟草样品(b)的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of mixed standard (a) and tobacco sample (b)

由图 1 可知:3 种除草剂及内标物达到了基线分离,且烟草样品基体在该试验条件下对除草剂的分析造成的影响很小。

2.2 样品前处理条件的选择

农药残留分析中,样品的净化要尽可能地除去与目标物同时存在的杂质,以减少色谱图中干扰峰,同时避免杂质对色谱柱和检测器的污染。烟草成分多达 4 000 种,是最复杂的天然产品之一,对样品的提取和净化要求非常高。

3 种除草剂属于中等极性的化合物,因此比较了甲苯、二氯甲烷、氯仿、环己烷-丙酮(1+1)、环己烷-乙酸乙酯(1+1)等中等极性溶剂的提取效率。结果表明:甲苯、氯仿、环己烷-乙酸乙酯(1+1)溶剂均对待测成分具有较好的提取效果,但甲苯和二氯甲烷价格高,且毒性相对大,因此试验选用环己烷-乙酸乙酯(1+1)混合溶剂为提取溶剂。

样品用溶剂提取后还需净化处理,常用的样品净化方法有溶剂萃取、柱层析、固相萃取、基质固相

分散、凝胶渗透色谱净化等。由于凝胶渗透色谱净化技术对目标分析物具有较好的回收率, 而且能有效地去除干扰物质, 试验中采用凝胶渗透色谱净化处理。选择以 Waters Styragel 脂溶性凝胶柱为固定相, 乙酸乙酯-环己烷(1+1)混合溶剂为流动相, 流量为 $2.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。结果表明: 这几种除草剂的出峰在 8.2~9.6 min 之间, 为保证除草剂成分完全回收, 试验收集 7.2~10.6 min 之间的流出馏分。

2.3 检测器的选择

比较了不同检测器对 3 种目标化合物的检出限, 结果见表 1。其中质谱检测器选择离子检测模式(MS-SIM)检出限较低, 同时具有较强的定性能力, 试验选择采用质谱检测器。

表 1 不同检测器对除草剂检出限的比较

Tab. 1 Comparison of detection limit with different detectors $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$

除草剂	质谱检测器(选择离子检测模式)	氮磷检测器	电子捕获检测器
异丙甲草胺	0.45	2.2	2.5
双苯酰草胺	0.50	2.0	7.8
敌草胺	0.30	3.5	6.1

2.4 工作曲线和检出限

用乙酸乙酯配制 20, 100, 200, 400, 800 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 标准溶液, 含 20 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 内标物, 按气相色谱条件进行分析。以对内标物的相对峰面积比计算, 得到各除草剂组分的线性回归方程, 结果见表 2。按 3 倍信噪比计算方法的检出限, 结果见表 2。

表 2 线性回归方程、相关系数及检出限

Tab. 2 Linear regression equations, correlation coefficients and detection limits

除草剂	线性回归方程	相关系数	检出限 $w/(\text{ng} \cdot \text{g}^{-1})$
异丙甲草胺	$A = 5.18\rho + 0.162$	0.999 2	0.45
双苯酰草胺	$A = 5.62\rho - 0.156$	0.999 4	0.50
敌草胺	$A = 5.43\rho + 0.147$	0.999 7	0.30

2.5 回收试验

在烟草样品中加入适量的除草剂标准品, 分别在两个浓度水平下添加标准溶液, 按试验方法进行回收试验, 结果见表 3。

表 3 回收试验结果($n=6$)

Tab. 3 Results of test for recovery

除草剂	标准加入量 $w/(\text{ng} \cdot \text{g}^{-1})$	回收量 $w/(\text{ng} \cdot \text{g}^{-1})$	回收率 / %	RSD / %
异丙甲草胺	20.0	18.4	92.0	2.6
	100.0	95.0	95.0	
双苯酰草胺	20.0	18.0	90.0	2.5
	100.0	102.0	102.0	
敌草胺	20.0	18.6	93.0	3.2
	100.0	97.0	97.0	

2.6 样品分析

按试验方法, 测定了 38 种卷烟中除草剂的残留量。所测样品中除草剂残留均在方法检出限以下。这与该类除草剂为低残留农药、半衰期短、残留积累现象不明显有关。从烟叶到卷烟需经过烟叶烘烤、打叶复烤、自然醇化、制丝等工序, 所需时间 2~3a, 导致样品中该类农药成分分解。

参考文献:

- [1] 秦瑞香, 于世涛, 刘福胜, 等. 酰胺类除草剂的研究进展 [J]. 青岛科技大学学报: 自然科学版, 2003, 24(1): 21-23.
- [2] 刘远雄, 邹本勤, 柴宝山, 等. 除草剂研究开发的新进展与发展趋势 [J]. 农药, 2007, 46(10): 649-652.
- [3] 缪应江, 袁树忠. 酰胺类除草剂的安全剂 [J]. 杂草科学, 2001, 12(4): 2-5.
- [4] 张洪非, 胡清源, 王芳, 等. 烟草农药多残留分析方法研究进展 [J]. 中国烟草学报, 2007, 13(4): 65-69.
- [5] 谢丽琪, 蓝芳, 林黎, 等. 气相色谱-质谱法同时测定粮谷及油籽中多种酰胺类除草剂残留量 [J]. 分析测试学报, 2007, 26(3): 365-367.
- [6] 朱俊杰, 陆利霞, 熊晓辉. 食品中农残检测及预处理新技术进展 [J]. 食品研究与开发, 2008, 29(2): 129-132.

(上接第 1076 页)

- [11] 何晓玲, 王永秋, 王莉. 新试剂 4,4'-二(2-氯-4-硝基苯基)重氮氨基联苯与汞的显色反应 [J]. 分析测试学报, 2002, 21(2): 80-82.
- [12] 黄志镗, 杨联明. 杯芳烃研究进展 [J]. 化学进展, 1994, 6(3): 173-177.
- [13] 林琳, 吴采樱. 杯芳烃衍生物在分析化学中的应用 [J]. 分析化学, 1997, 25: 850-856.
- [14] MINE S A K, DELIG OZ H. Azocalixarenes. b: Synthesis, complexation, extraction and thermal behaviour of four new azocalixes [J]. J Incl Phenom Macrocycl Chem, 2007, 59: 115-118.
- [15] 中南矿冶学院分析化学教研室. 化学分析手册 [M]. 北京: 科学出版社, 1982: 381-386.