

高效液相色谱法测定土壤、烟草和油菜中 高效氟吡甲禾灵残留

谢勇波, 周清明, 龚道新, 徐兵

(湖南农业大学 烟草科学与工程研究中心, 长沙 410128)

摘要: [目的] 为了全面、准确评价高效氟吡甲禾灵在烟草和油菜上使用后其对生态环境的安全性, 通过高效液相色谱法测定土壤、烟草和油菜中高效氟吡甲禾灵残留量。 [方法] 使用丙酮作为提取溶剂, 通过弗罗里硅土和活性炭的混合柱净化, 在XB-C₁₈色谱柱上, 以甲醇-水(体积比80:20)为流动相, 流速为0.6 mL/min; 柱温为25 °C, 紫外检测波长为225 nm。 [结果] 在此条件下, 其添加回收率为85.33%~96.95%, 相对标准偏差为0.40%~3.75%。 [结论] 建立了一套快速、简便、灵敏的土壤、烟草及油菜中高效氟吡甲禾灵残留高效液相色谱检测方法。

关键词: 高效液相色谱; 高效氟吡甲禾灵; 残留

中图分类号: TQ450.2 文献标志码: A 文章编号: 1006-0413(2011)03-0209-04

Determination of Haloxyfop-P-methyl Residue in Soil, Tobacco and Rape by HPLC

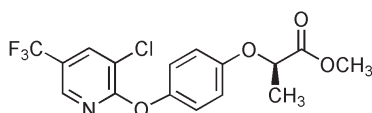
XIE Yong-bo, ZHOU Qing-ming, GONG Dao-xin, XU Bing

(Research Centre of Tobacco Engineering and Technology, HNAU, Changsha 410128, China)

Abstract: [Aims] In order to fully and accurately evaluate the bio-environmental safety of haloxyfop-P-methyl, the residue was studied in soil, tobacco and rape. [Methods] Acetone was used as the extracting solvent, after cleaned up on Florisil and activated charcoal mixed column, detection was performed on a zorbax XB C₁₈ column with methanol : H₂O = 80 : 20 (by vol) as the mobile phase, detection temperature 25 °C, flow rate 0.6 mL/min, detection wavelength 225 nm. [Results] Under this condition, recoveries was 85.33-96.95%, and relative standard deviations was 0.40-3.75%. [Conclusions] A simple, accurate and sensitive method for the determination of haloxyfop-P-methyl residue in soil, tobacco and rape by HPLC was established.

Key words: HPLC; haloxyfop-P-methyl; residue

高效氟吡甲禾灵(haloxyfop-P-methyl)又名高效盖草能(Gallant Super), 化学名称为R-(+)-2-{4-[3-氯-5-(三氟甲基)-2-吡啶氧基]苯氧基}丙酸甲酯^[1]。其化学结构式如下。



高效氟吡甲禾灵是一种新型的苯氧羧酸类除草剂和脂肪酸抑制剂, 属于新一代绿色无公害氟代杂环高效除草剂。适用于阔叶作物田, 如烟草、油菜等, 防治一年生和多年生禾本科杂草。它是一种苗后选择性除草剂, 通过抑制植株体内乙酰辅酶A羧化酶而影响杂草的脂肪酸合成^[2-3], 进而抑制根、茎分生组织的生长, 受药杂草逐渐枯萎死亡。喷洒落入土壤中的药剂易被杂草根部吸收, 也能起杀草作用^[4]。在结构上以甲基取代盖草能中的乙氧乙基, 并由于高效氟吡甲禾灵结构中丙酸 α -碳为不对称碳原子, 故存在R和S两种光学异构体, 其中S体没有除草活性, 高效氟吡甲禾灵是除去了非活性部分(S体)的精制品(R体)^[5]。它的药效稳定, 受低温、雨水等不利环境条件影响小。杂草在吸收药剂后很快

停止生长, 幼嫩组织和生长旺盛的组织首先受抑制。

高效氟吡甲禾灵应用广泛, 使用量日益增长, 当前有关其分析检测研究的报道较少。目前, 除草剂残留的检测方法主要有气相色谱法(GC)^[6]、气相色谱-质谱法(GC-MS)^[7]、高效液相色谱法(HPLC)^[8]、离子色谱法^[9]、酶联免疫吸附法^[10]等。本文采用高效液相色谱法, 建立了一套快速、简便、灵敏的土壤及农作物(烟草、油菜)中高效氟吡甲禾灵残留的检测方法。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

甲醇(色谱纯)、丙酮、二氯甲烷、乙酸、氯化钠、无水硫酸钠均为分析纯; 纯净水(乐百氏); 弗罗里硅土(125~150 μ m)(使用前经650 °C活化)、活性炭粉末、高效氟吡甲禾灵原药(95%, 山东绿霸化工股份有限公司)。

1.2 仪器

HP1100高效液相色谱仪, 包括在线真空脱气机、四元泵、柱温箱、紫外检测器、手动进样器(美国惠普公司生产); 旋转蒸发仪RE-2000(上海亚带生化仪器厂); UV-

收稿日期: 2010-09-13, 修返日期: 2010-12-24

作者简介: 谢勇波(1986—), 男, 湖南宁乡人, 在读硕士研究生, 研究方向为烟草中非烟物质的控制。E-mail: xieyongbo0102@sina.com。

2100PC型分光光度计;真空抽滤机;振荡器;电子天平;带塞锥形瓶;分液漏斗;容量瓶;移液管等。

1.3 色谱条件

Column:XB-C₁₈柱(150 mm×4.6 mm,5 μm);流速0.6 mL/min;柱温25℃;流动相甲醇-水(体积比80:20);检测波长225 nm;进样体积20 μL。

1.4 标样的制备

母液(500 mg/L)的配制:准确称取高效氟吡甲禾灵标品(95%)0.0526 g于100 mL容量瓶中,用少量流动相溶解,并用流动相定容至刻度线。

1.5 净化柱和淋洗液的制备

取长劲分液漏斗,在其靠近塞子的地方放置一小团脱脂棉花,依次加入2 cm高的无水硫酸钠、4 g弗罗里硅土、1 g活性炭粉末混合物、2 cm高的无水硫酸钠,充分敲紧。

淋洗液:乙酸:二氯甲烷:甲醇=0.5:50:10(体积比)。

1.6 土壤的添加回收

土壤取自湖南农业大学烟草种植基地(0~20 cm深,未施用过本农药),风干磨碎过850 μm筛,称取此土壤20 g若干份,置于250 mL具塞锥形瓶中,分别加入0.5、1.0、5.0 mg/L的标准溶液2 mL,使得土壤中的农药含量分别为0.05、0.1、0.5 mg/kg。混匀之后,加入60 mL丙酮试剂,在振荡器上振荡提取30 min(160 r/min),抽滤,量取滤液40 mL,转入干净的磨口锥形瓶中,在旋转蒸发器上旋转浓缩至干(45℃,180 r/min)。然后用二氯甲烷充分洗涤残渣,并转入预先装有20 mL的10%氯化钠溶液的分液漏斗中,少量多次的原则充分洗涤和萃取。收集下层溶液再次旋转浓缩至干,用色谱甲醇定容至5 mL并过4.5 μm滤膜。每个质量浓度做3个平行样,并做空白对照。

1.7 农作物样品的添加回收

油菜和烟草,分别取自湖南农业大学油菜种植基地和烟草种植基地(均未施用过本农药)。称取此样品20.0 g若干份,剪碎置于250 mL具塞锥形瓶中,分别加入0.5、1.0、5.0 mg/L的标准溶液2 mL,使得样品中农药含量分别为0.05、0.1、0.5 mg/kg。混匀之后,加入60 mL丙酮试剂,按照土壤中农药添加回收的方法振荡、抽滤、萃取之后,进行过柱。先用20 mL的甲醇预淋净化柱,再用5 mL甲醇洗涤萃取浓缩的残渣,转入净化柱中,用60 mL的乙酸-二氯甲烷-甲醇(体积比0.5:50:10)的混合溶液淋洗并收集淋洗液,旋转浓缩至干,用色谱甲醇定容至5 mL并过4.5 μm滤膜。每个质量浓度做3个平行样,并做空白对照。

2 结果与讨论

2.1 检测波长的选择

利用色谱甲醇作为对照,将标样在UV-2100PC型分

光光度计上检测,记录不同波长下,标样的紫外吸收值。

结果发现在225 nm处吸收值最大,故选择紫外检测波长为225 nm。

2.2 色谱条件的选择

肖振平等^[11]报道了采用乙腈-水(体积比73:27)为流动相,将高效氟吡甲禾灵标样在ODS-C₁₈反相柱上进行分析,得到了较好的检测结果。本研究采用XB-C₁₈柱(150 mm×4.6 mm,5 μm)反相色谱柱,以甲醇-水(体积比80:20)为流动相,通过缓慢改变流速和柱温反复检测,也得到了较好的分离检测结果。色谱图中的“1”表示高效氟吡甲禾灵(见图1~9)。

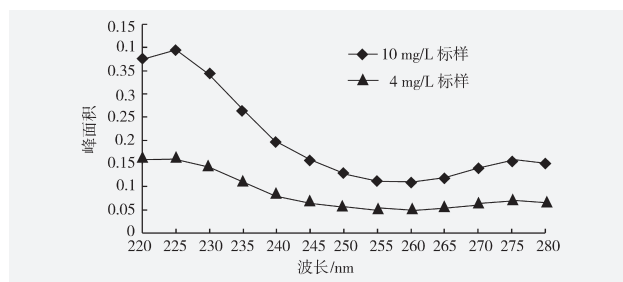


图1 标样紫外吸收值

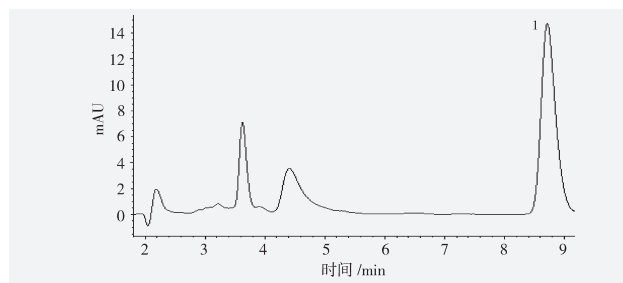


图2 标样的高效液相色谱紫外检测色谱图

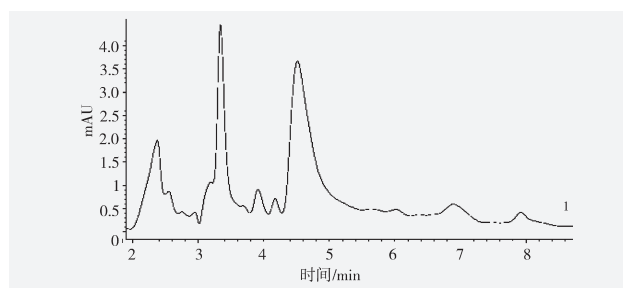


图3 溶剂的高效液相色谱紫外检测色谱图

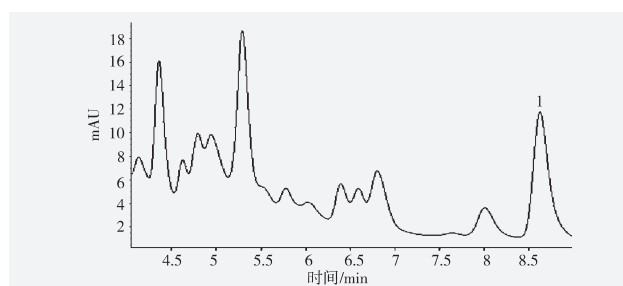


图4 土壤添加回收色谱图

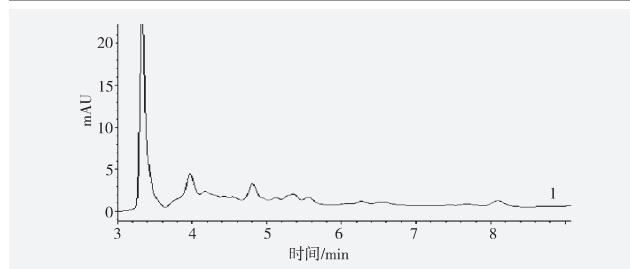


图5 土壤空白对照色谱图

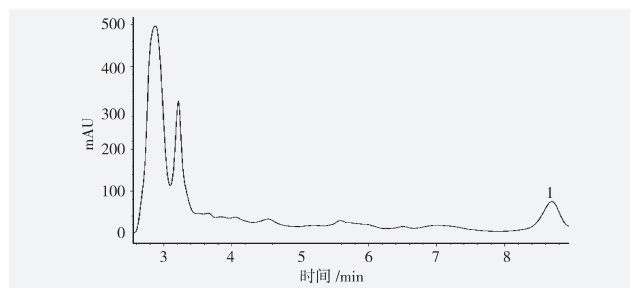


图6 烟叶样品添加回收色谱图

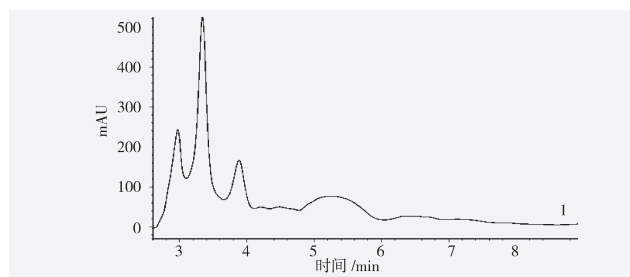


图7 烟叶样品空白对照色谱图

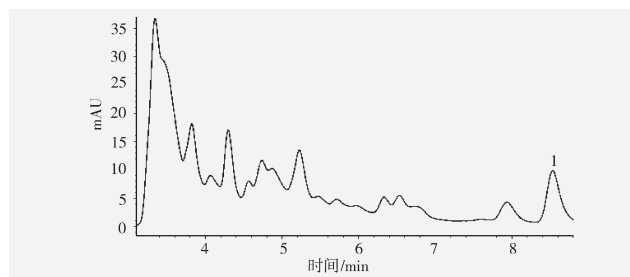


图8 油菜烟叶样品添加回收色谱图

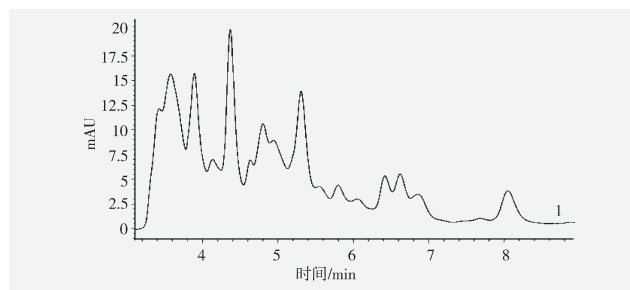


图9 油菜样品空白对照色谱图

2.3 线性范围和检出限

利用母液配制成质量浓度分别为2.0、1.0、0.5、0.1、0.05 mg/L的标准溶液,标准曲线见图10。结果表明:当标样的质量浓度降低到0.02 mg/L时,仍能够准确地检测出来,

本法定量检出限为0.02 mg/L。

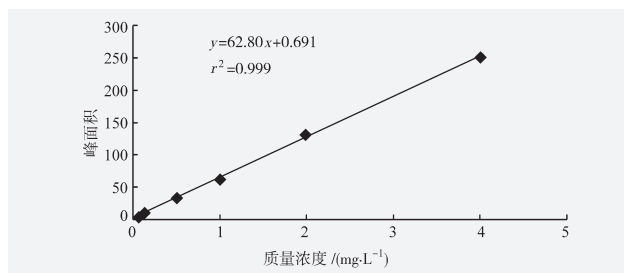


图10 标准曲线图

2.4 提取溶剂的选择

选择合适的提取溶剂是农药残留测定准确与否的关键因素。本研究根据高效氟吡甲禾灵的理化性质,利用相似相容的原则,共选择了甲醇、乙醇、丙酮、乙腈、乙酸乙酯共5种溶剂作为样品的提取剂。结果表明:使用丙酮作为提取剂时,高效氟吡甲禾灵的提取率较高,在81.82%~98.36%范围之内,而其余4种溶剂对样品的提取率只有20%~60%,且杂质较多,无法达到农药残留检测分析的要求。

2.5 淋洗液及其用量的选择

为了减少植物样品中部分杂质和色素对检测分析的干扰,本研究根据高效氟吡甲禾灵的理化性质,采用简单可行的原则选择淋洗液进行过柱净化。

马建明等^[12]在测定蔬菜样品中精喹禾灵的残留量时,使用乙酸-二氯甲烷-甲醇(体积比0.5:50:10)的混合液作为淋洗液,取得了很好净化的效果。本研究经过反复试验发现,使用乙酸-二氯甲烷-甲醇能够较好的达到淋洗要求。将制备好的净化柱先用20 mL的甲醇预淋,加入2 mL 5 mg/L的高效氟吡甲禾灵标样,用约100 mL的淋洗液进行淋洗,用5 mL的刻度管收集过柱后的液体,每收满5 mL换管接着收集。将收集到的以每个5 mL为梯度的液体依次进行HPLC检测。

结果(见图11)表明:淋洗收集农药主要集中在11~55 mL中,前10 mL中和第55 mL后基本没有高效氟吡甲禾灵流出。整个试验标样回收率为94.7%。所以本研究选择淋洗液的用量为60 mL。

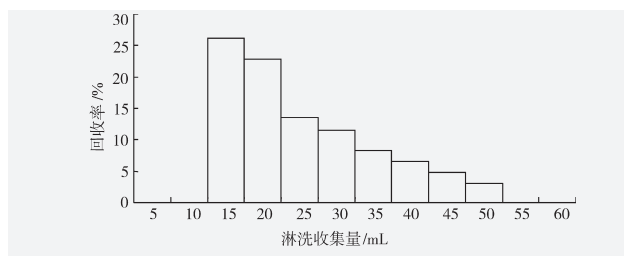


图11 淋洗梯度曲线图

2.6 精密度与准确度探讨

按照上述色谱条件检测1.6试验中土壤添加回收和

1.7试验中农作物样品的添加回收情况。

$$\text{添加回收率} = \frac{\text{测定质量浓度}(\text{mg/L}) \times \text{定容体积}(\text{mL})}{\text{添加质量分数}(\text{mg/kg}) \times \text{样品量}(\text{mL 或 g})}$$
$$\text{变异系数}(C.V) = \frac{\sqrt{\frac{(\text{实测值} - \text{平均测定值})^2}{\text{测定次数} - 1}}}{\text{平均测定值}} \times 100\%$$

所得试验结果见表1。

表1 高效氟吡甲禾灵添加回收率及变异系数

样品名称	添加量/ (mg·L ⁻¹)	回收率/%							标准 偏差	变异 系数/%
		1	2	3	4	5	平均	平均		
土壤	0.05	95.71	91.41	93.56	96.63	89.26	93.31	0.40	0.43	
	0.50	94.41	95.23	95.66	93.37	93.70	94.47	1.46	1.55	
	1.00	95.55	96.62	94.51	96.95	95.87	95.90	2.44	2.54	
烟叶	0.05	92.64	91.41	95.40	89.57	96.93	93.19	0.78	0.84	
	0.50	94.04	91.65	92.54	93.43	91.47	92.63	1.99	2.15	
	1.00	94.29	90.36	89.05	91.92	90.45	91.21	3.75	4.11	
油菜	0.05	88.04	89.57	86.20	91.10	85.58	88.10	0.30	0.34	
	0.50	88.26	87.31	88.72	85.33	87.89	87.50	2.53	2.90	
	1.00	87.25	87.45	86.74	86.92	87.06	87.08	0.70	0.80	

表1数据表明：由试验得高效氟吡甲禾灵在烟草土壤中的回收率在93.31%~95.90%之间，变异系数在0.43%~2.54%之间；在烟叶中的回收率在91.21%~93.19%之间，变异系数在0.84%~4.11%之间；在油菜中的回收率在87.08%~88.10%之间，变异系数在0.34%~2.90%之间。该方法的准确度和精密度均符合残留分析的要求。

3 小结

本研究建立的采用丙酮作为提取剂，弗罗里硅土柱净

化，高效液相色谱紫外法测定土壤及农作物中高效氟吡甲禾灵残留的方法具有简便、快速、灵敏的特点，可用于土壤和多种农作物样品的测定。

参考文献：

[1] 杨玉斌. 化工科技动态[M]. 北京: 化学工业出版社, 1996: 1-3.

[2] Ishihara Mining & Chemical CO. A-(4-(5-Fluoromethyl-2-pyridyloxy)phenolxy) Alkanecarboxylic Acid Derivatives and Its Uses as a Herbicide: GB, 1599126[P]. 1981-09-30.

[3] 王爽, 张荣金, 叶非. 乙酰辅酶A羧化酶抑制剂的研究进展[J]. 农药科学与管理, 2003, 24(20): 26-32.

[4] 强胜. 杂草学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 176-177.

[5] ZHENG Kai. Study on the Synthetic Technology of R-(+)-Haloxypop-methyl(MS Dissertation)[D]. Nanjing University of Technology, 2004.

[6] KANHAKA H, 汤江海. 用气相色谱火焰光度检测器测定除草剂草甘膦及其代谢物(胺甲基)膦酸[J]. 农业环境与发展, 1992(4): 40-42.

[7] 杨云, 荣伟, 罗学军, 等. 微波辅助提取-固相微提取联用气相色谱-质谱法测定土壤中的扑草净[J]. 分析化学, 2004, 32(6): 775-778.

[8] 陈军, 张宗祥, 卜伟, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定水中磺酰脲类除草剂[J]. 环境监测管理与技术, 2007, 19(5): 32-34.

[9] 蒋银土, 朱岩, 郭莹莹, 等. 离子色谱法测定三嗪类除草剂[J]. 浙江大学学报, 2001, 28(5): 533-536.

[10] 单国民, 钱传范. 三氮苯类除草剂的酶联免疫吸附测定[J]. 中国农业大学学报, 1996, 1(3): 52-58.

[11] 肖振平, 赵久明, 戴建军. 盖草能的高效液相色谱分析[J]. 东北农业大学学报, 1998, 29(4): 406-409.

[12] 马建明, 赵立达, 马旭亮. 高效液相色谱法测定蔬菜中精喹禾灵残留研究[J]. 中国卫生杂志, 2007, 17(5): 827, 924.

责任编辑: 李新

(上接第191页)

[8] KORTE A, KEARNS M A, SMITH J, *et al.* Method for Producing 2-Halogenomethylphenyl Acetic Acid Derivatives: WO, 2010089267[P]. 2010-08-12.

[9] YOSHIO H, TAKAHIRO K, HIDEYUKI T, *et al.* Alkoxyiminoacetamide Derivatives and Their Use as Fungicides: US, 5185342[P]. 1993-02-09.

[10] 于康平, 李泽方, 张少华, 等. 杀菌剂中间体(E)-2-(2'-氯甲基)苯基-2-甲氧亚胺基乙酸甲酯的制备方法: CN, 101139308[P]. 2008-03-12.

[11] ANDREA T A, BROWN R J, COATS R A, *et al.* Fungicidal Cyclic Amides: WO, 9636229[P]. 1996-11-26.

[12] ADAMS C D, CHIANG G C, XU S L, *et al.* Process for Making Oximes and Use Thereof to Prepare Cyclic Urea Fungicides: US, H1809[P]. 1999-10-05.

[13] BROWN R J, ANNIS G, CASALNUOVO A, *et al.* Synthesis

and Properties of Axially-chiral N-(2,6-Disubstituted)phenyl Triazolones[J]. Tetrahedron, 2004, 60(20): 4361-4375.

[14] STAMM A, HENKELMANN J, WOLF B, *et al.* Method for Producing O-Chloromethyl Benzenecarbonyl Chlorides: US, 6734322[P]. 2004-05-11.

[15] ISAK H, WETTLING T, KEIL M, *et al.* Preparation of Halomethylbenzoyl Cyanides and Novel Halomethylbenzoyl Cyanides: US, 5446199[P]. 1995-08-29.

[16] PASCUAL A, ZIEGLER H, TRAH S, *et al.* Synthesis of 8-Substituted 5H,9H-6-oxa-7-aza-benzocyclononene-10,11-dione-11-O-methyloximes, a New [1,2]-Oxazonine Ring System[J]. Tetrahedron Letters, 2000, 41: 1381-1384.

[17] ZIEGLER H, BENET-BUCHHOLZ J, ETZEL W, *et al.* Trifloxystrobin—A New Strobilurin Fungicide with an Outstanding Biological Activity[J]. Pflanzenschutz-nachrichten Bayer, 2003, 56(2): 213-230.

责任编辑: 赵平

陶氏再次创新2,4-滴用于耐除草剂转基因作物

陶氏益农公司的苯氧基除草剂2,4-滴创新品——2,4-滴胆碱在美国获得批准,用于耐除草剂(DHT)转基因作物。2,4-滴胆碱具有与2,4-滴相同的效力和环保优势,但是还具有“更多其他优势”,如低挥发性、扩散飘移较少、异味较轻,并且易于操作和混配,应用时机更广泛。DHT玉米对2,4-滴和芳氧基丙酸类除草剂具有抗性,陶氏开发的DHT玉米也已于2009年在美国获得了批准,公司拟在2012—2013年度推行DHT玉米,之后会相继推出大豆和棉花作物。(ZP)