

加速溶剂萃取-高效液相色谱法 测定土壤中咪唑乙烟酸残留量

陈婷婷*, 崔兆杰, 李 强, 赵士燕, 刘 静

(山东大学环境科学与工程学院, 济南 250100)

摘 要:建立了加速溶剂萃取-高效液相色谱法测定土壤中咪唑乙烟酸除草剂残留量的检测方法。加标土壤样品以 $V(\text{甲醇}) : V(\text{冰乙酸}) = 5 : 1$ 作提取剂, 在温度 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 压力 9 MPa 下静态萃取 10 min , 提取物用高效液相色谱二极管阵列检测器进行分析。色谱柱为 ODS 柱, 流动相为 $V(\text{甲醇}) : V(\text{水}) : V(\text{冰乙酸}) = 50 : 46 : 4$, 流量: 1 mL/min ; 检测波长: 254 nm 。结果表明: 1 和 $10\text{ }\mu\text{g/g}$ 的加标回收率分别为 90% 和 86% , 相对标准偏差分别为 4.1% 和 4.5% , 检出限可达 $0.006\text{ }\mu\text{g/g}$ 。

关键词:加速溶剂萃取; 高效液相色谱; 咪唑乙烟酸; 土壤

中图分类号: O657.7

文献标识码: A

文章编号: 1000-0720(2007)09-095-04

咪唑乙烟酸除草剂活性高、用量低、杀草谱宽、选择性强, 广泛用于大豆田、花生地及林地杂草的防除, 在世界除草剂市场中占有重要的地位^[1]。该除草剂在土壤中不易挥发和光解, 残效期长, 其在土壤中的残留对某些后茬作物及非靶植物等存在药害问题, 因此必须对其残留量进行检测^[2]。传统的前处理方法有振荡-过滤、液-液萃取、超声提取等, 其缺点是有机溶剂用量大, 步骤繁琐, 易发生样品损失等。1995 年, Richter 等提出了加速溶剂萃取 (Accelerated Solvent Extraction, 简称 ASE)^[3], 该法具有有机溶剂用量少、快速、回收率高等优点^[4], 在环境、药物和食品等领域的广泛应用, 是目前萃取固体样品中有机化合物的公认的最佳前处理方法^[5], 并被美国环保局 (EPA) 选定为推荐的标准方法 (标准方法编号 3545)^[6]。本实验对萃取条件进行了优化, 并与振荡提取进行了比较, 建立了加速溶剂萃取-高效液相色谱法 (ASE-HPLC) 测定土壤中咪唑乙烟酸除草剂残留量的分析方法, 该法检出限低, 回收率和精密度等指标均能满足农药残留量分析的要求。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂和样品

加速溶剂萃取仪 (美国 Speed SFE 改装), 配 10 mL 萃取池; LC-10ADvp 液相色谱仪 (日本岛津公司), SPD-M10Avp 型二极管阵列检测器 (日本岛津公司); Shimpack VP-ODS 色谱柱 (日本岛津公司); NexPure Power1000 型纯水系统 (韩国 Human 公司); RE52CS-2 型旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); 自制的氮吹浓缩装置; SHB-II 型循环水式多用真空泵 (上海申生科技有限公司); 调速振荡器。丙酮、冰乙酸 (分析纯), 甲醇 (HPLC 级)。

土壤样品采自山东大学东校区, 经风干后碾碎, 除去砂砾和植物残物, 过孔径 0.833 mm 筛备用。咪唑乙烟酸标样由济南胜邦绿野公司提供。

标准溶液: 准确称取 50 mg 咪唑乙烟酸标样溶于 5 mL 甲醇中, 用纯水稀释成 $1000\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的贮备液, 再根据需要用纯水稀释成不同浓度的标准溶液^[7]。

土壤加标试样: 分别量取 1 mL 一定浓度的咪唑乙烟酸标准溶液和 9 mL 甲醇添加到 100 g 风干过筛的土壤中, 得 1 和 $10\text{ }\mu\text{g/g}$ 的加标样, 充分混

* 收稿日期: 2006-08-22; 修订日期: 2006-10-24

作者简介: 陈婷婷 (1982 -), 女, 硕士研究生

合土样以使除草剂分布均匀, 放置过夜使溶剂挥发, 再充分混合土样, 最后贮存在密闭容器中放入冰箱备用。

1.2 样品前处理

1.2.1 加速溶剂萃取法 准确称取 7 g 加标土壤试样装入 10 mL 萃取池中, 溶剂为 $V(\text{甲醇}) : V(\text{冰乙酸}) = 5 : 1$, 温度 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 压力 9 MPa, 预热 5 min, 静态萃取 10 min, 用溶剂快速冲洗样品, 最后用二氧化碳吹扫收集全部提取液。提取液氮吹至干, 再用 2 mL 纯水溶解残渣, 过 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜, 待 HPLC 分析。

1.2.2 振荡提取法 准确称取 5 g 加标土壤试样, 装入 50 mL 聚乙烯离心管中, 加入 $V(20\text{ mL 甲醇}) : V(\text{冰乙酸}) = 5 : 1$ 的混合溶剂, 振荡 2 h, 以 3000 r/min 离心 15 min, 轻轻倒出 16 mL 的上层清液到 50 mL 量筒中, 再将提取液转移到烧瓶中, 用 5 mL 甲醇清洗量筒并转移到烧瓶中, 用旋转蒸发仪浓缩至干, 2 mL 纯水溶解残渣, 过 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜, 待 HPLC 分析。

1.3 高效液相色谱检测

1.3.1 色谱条件 色谱柱 ($150\text{ mm} \times 4.6\text{ mm}$ i. d.); 流动相为 $V(\text{甲醇}) : V(\text{水}) : V(\text{冰乙酸}) = 50 : 46 : 4$; 流量: 1 mL/min ; 检测波长: 254 nm ; 柱箱温度: $38\text{ }^{\circ}\text{C}$; 进样量: $20\text{ }\mu\text{L}$ 。

1.3.2 定性定量方法 咪唑乙烟酸根据色谱保留时间定性, 外标峰面积法定量^[8]。用水稀释贮备液配制成 0.10 、 0.20 、 0.50 、 1.00 、 2.50 、 5.00 和 $10.00\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液。按 1.3.1 的色谱条件进样, 分别测定其峰面积, 并以此作为横坐标, 咪唑乙烟酸标准溶液的质量浓度为纵坐标, 绘制外标法工作曲线如图 1 所示, 从图中可以看出在质量浓度 $0.10 \sim 10.00\text{ }\mu\text{g/mL}$ 范围内呈良好线性关系, 相关系数为 0.9999 。图 2 是 $1.00\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的咪唑乙烟酸溶液的液相色谱图, 其保留时间为 4.501 min 。

2 结果与讨论

2.1 加速溶剂萃取条件的优化

2.1.1 溶剂的选择 考虑到咪唑乙烟酸是极性化合物且酸性较强, 根据“相似相溶”原理, 选取 $V(\text{甲醇}) : V(\text{冰乙酸}) = 5 : 1$ 、丙酮、 $V(\text{甲醇}) : V(\text{水}) = 3 : 2$, 用 6 mol/L HCl 调节 pH 1.55 、乙酸乙酯等 4 种溶剂作萃取剂对加标土壤样品进行试验, 检测结果表明 $V(\text{甲醇}) : V(\text{冰乙酸}) = 5 : 1$ 作萃取

剂的提取效果最好, 甲醇和水次之, 乙酸乙酯最差。

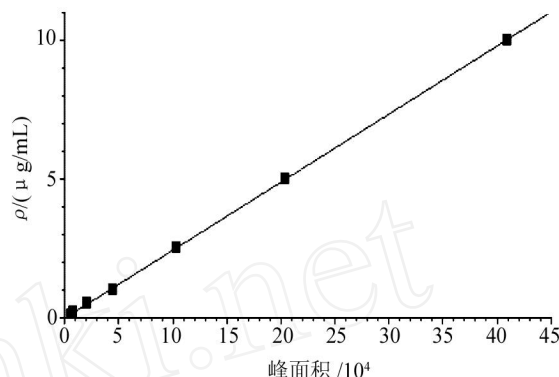


图 1 工作曲线

Fig. 1 Standard curve of imazethapyr

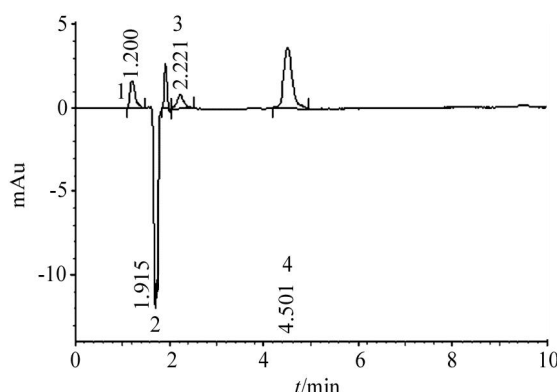


图 2 $1.00\text{ }\mu\text{g/mL}$ 咪唑乙烟酸标准溶液的液相色谱图

Fig. 2 Liquid chromatogram of imazethapyr standard solution ($1.00\text{ }\mu\text{g/mL}$)

2.1.2 不同加标浓度和土壤试样量对萃取率的影响 加标 1 和 $10\text{ }\mu\text{g/g}$ 的土壤试样各取 3 、 5 、 7 、 9 g 以 $V(\text{甲醇}) : V(\text{冰乙酸}) = 5 : 1$ 为提取剂进行加速溶剂萃取, 结果如图 3 所示。由图可知两种浓度的回收率都在 80% 以上, 但变化规律有所不同, 其中高浓度样品随着土壤试样量的增加, 回收率减小, 但变化不大; 而低浓度样品, 质量为 7 g 时回收率最大, 9 g 时回收率最小。考虑到土壤试样量过小会增大测定偏差, 降低精密度, 因此实验中选择 7 g 土壤试样进行测定。

2.1.3 压力和温度对萃取率的影响 ASE 是在较高的温度 ($50 \sim 200\text{ }^{\circ}\text{C}$) 和压力 ($0.3 \sim 20\text{ MPa}$) 条件下的溶剂提取法。在高温条件下, 待测物从基体上的解吸和溶解动力学过程加快, 可大大缩短提取时间^[9], 加压可提高溶剂的沸点, 使其保持液体状态, 用少量溶剂可快速提取固体样品中的分析

物^[10], 因此萃取压力和温度是影响萃取效果的重要因素(图 4、图 5)。从图 4 可以看出随着压力的增大, 萃取率先升高后降低, 在 9 MPa 时萃取率最

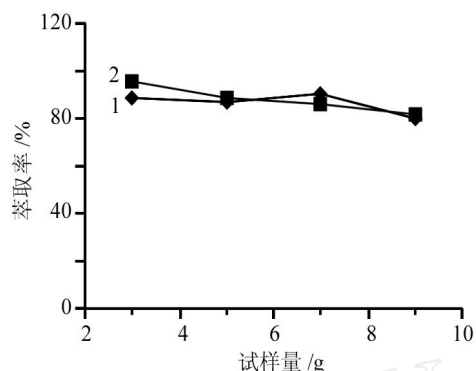


图 3 加标浓度和土壤试样量对萃取率的影响

Fig. 3 Effect of concentration and quality on extraction efficiency

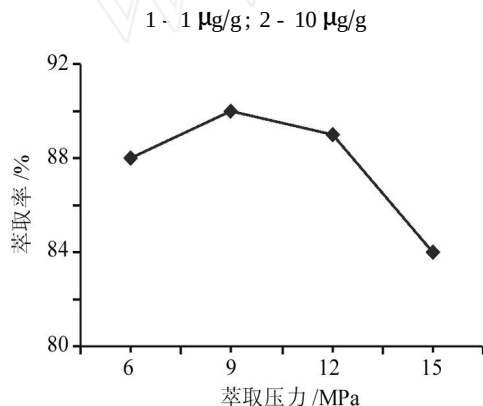


图 4 压力对萃取率的影响

Fig. 4 Effect of pressure on extraction efficiency

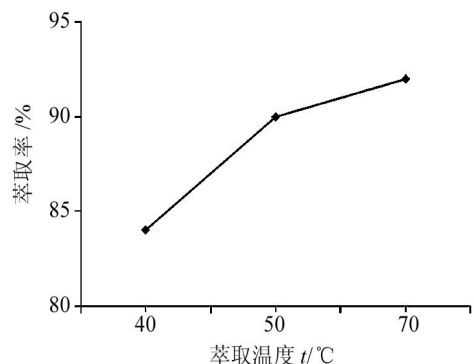


图 5 温度对萃取率的影响

Fig. 5 Effect of temperature on extraction efficiency

大。由图 5 可知, 温度升高, 萃取率增大, 但随温度继续升高, 萃取率增大变缓, 50 °C 时萃取率已达到 90 %, 考虑到温度太高可能会使待测组分分解, 实验中 ASE 萃取咪唑乙烟酸的温度可选择 50 °C。

2.2 ASE 与振荡提取法的比较

振荡提取是用于监测除草剂残留量的常用方法, 本文就加速溶剂萃取与振荡提取进行了比较。加标 1 µg/g 的土样分别按照 1.2.1 和 1.2.2 给出的步骤进行加速溶剂萃取和振荡提取, 由实验可得加速溶剂萃取法测得的回收率(90 %)明显高于振荡法(73 %), 而且加速溶剂萃取所需溶剂较少, 萃取时间较短。

2.3 方法的回收率和检出限

在优化的实验条件: 7 g 加标土壤试样、溶剂为 V(甲醇):V(冰乙酸)=5:1、温度 50 °C 和压力 9 MPa 下, 用加速溶剂萃取法对 1 和 10 µg/g 两个浓度水平的加标土壤试样进行回收率实验, 平行实验 6 次, 可得方法回收率为 90 % (1 µg/g) 和 86 % (10 µg/g), 相对标准偏差为 4.1 % (1 µg/g) 和 4.5 % (10 µg/g), 以 3 倍信噪比设定检出限时, 咪唑乙烟酸的检出限为 0.006 µg/g。

参考文献

- [1] 李海屏. 农药科学与管理, 2004, 25(4): 28
- [2] WJ Grichar, D C Sestak. Crop Protection, 2000, 19(7): 461
- [3] Richter B E, Ezzell J L, J Felix. LC/GC, 1995, 13: 390
- [4] V Yusa, G Quintas, O Pardo et al. Guardia Talanta, 2006, 69: 807
- [5] K Li, M Landriault, M Fingas et al. Journal of Hazardous Materials, 2003, 102: 93
- [6] SW-846. US EPA Method 3545
- [7] Bruce E Richter. J Chromatogr A, 2000, 74: 217
- [8] R Ishiki, H M Ishiki, K Takashima. Chemosphere, 2005, 58: 1461
- [9] 刘勇建, 牟世芬. 现代科学仪器, 2001, 3: 18
- [10] 朱晓兰, 蔡继宝, 杨俊等. 分析化学, 2005, 33(6): 821

Determination of imazethapyr residues in soil by accelerated solvent extraction-HPLC

CHEN Ting-ting*, CUI Zhao-jie, LI Qiang, ZHAO Shi-yan and LIU Jing (School of Environmental Science and Engineering, Shandong University, Jinan 250100), Fenxi Shiyanshi, 2007, 26(9): 95~98

Abstract : A method of ASE (Accelerated solvent extraction)-HPLC was developed for the determination of the imazethapyr herbicide residues in soil. Herbicide residues were extracted using ASE with methanol and acetic acid (5 : 1, V/V) at 50 °C, 9 MPa for 10 min and the extracts were subsequently concentrated. HPLC with a SPD detector was used for analyte determination with the chromatographic conditions as follows : Column : ODS ; mobile phase : methanol + water + acetic acid (50 : 46 : 4, V/V) , flow rate : 1 mL/min ; detection wavelength : 254 nm. It was shown that recoveries for spiked samples at two concentrations (1 and 10 µg/g dry soil) were 90 % and 86 % , respectively , with the relative standard deviations (RSDs) < 4.5 % , and the method detection limit equals to 0.006 µg/g.

Keywords : Accelerated solvent extraction ; High performance liquid chromatography ; Imazethapyr ; Soil