

文章编号: 1006-6144(2007)04-0429-04

## 尿中 3 种苯氧羧酸类除草剂的气相色谱分析法

辛国斌<sup>1</sup>, 谭家镒<sup>\*2</sup>, 姚丽娟<sup>2</sup>, 姜兆林<sup>2</sup>, 朱 昱<sup>2</sup>, 宋 辉<sup>2</sup>

(1. 北京市公安局法医检验鉴定中心, 北京 100085; 2. 中国刑警学院, 沈阳 110035)

**摘 要:** 本文研究了 2,4-滴、2,4-滴丙酸和 2 甲 4 氯 3 种苯氧羧酸类除草剂用硫酸、三氯化硼、氯化氢和三氟乙酸等 4 种催化剂的甲醇、乙醇、丙醇、丁醇、戊醇、苯甲醇、三氟乙醇、五氟丙醇、二氯丙醇和五氟苯甲醇等 10 种醇的酯化衍生反应条件, 在此基础上建立了尿中 3 种苯氧羧酸类除草剂的各种衍生化气相色谱电子俘获检测方法, 其中较灵敏的方法 2,4-滴和 2,4-滴丙酸的检出限低于 10 ng/mL, 2 甲 4 氯的检出限低于 20 ng/mL, 适于职业接触者和中毒者的尿分析。

**关键词:** 苯氧羧酸类除草剂; 尿; 气相色谱法

**中图分类号:** O657.7<sup>+</sup>1      **文献标识码:** A

2,4-滴(2,4-D)、2,4-滴丙酸(2,4-DP)和 2 甲 4 氯(MCPA)是国内外常用的 3 种苯氧羧酸类除草剂。它们对人有较大的毒性, 职业接触者常需进行体内含量分析, 同时也是司法鉴定中常见的毒物。该类除草剂的分析主要有气相色谱法、气质联用法和高效液相色谱法。气相色谱法和气质联用法分析前均需将其衍生化为酯。酯化可用醇在酸催化下进行<sup>[1,2]</sup>、用卤代烃在碱催化下进行<sup>[3]</sup>、用重氮进行<sup>[4]</sup>、用季胺盐<sup>[5]</sup>或铊盐<sup>[6]</sup>进行。其中用醇和酸催化的方法简便易行, 但文献对此类方法报道尚不充分。

本文对上述 3 种苯氧羧酸类除草剂用硫酸、氯化氢(由乙酰氯与反应体系中存在的微量水反应生成)、三氟乙酸(由三氟乙酸酐与反应体系中存在的微量水反应生成)和三氯化硼等 4 种催化剂的甲醇等 10 种醇的酯化衍生化进行了研究, 并建立了尿中除草剂的气相色谱电子俘获检测方法, 适于职业接触者和中毒者的尿分析。

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器及工作条件

HP-6890 气相色谱仪。

HP-5 石英毛细柱(30 m × 0.32 mm i. d. × 0.25 μm)。柱温 120 (1 min) - 10 /min 180 - 20 /min 280 (8 min); 气化温度 250 ; 检测器温度 300 ; 载气高纯氮(2 mL/min); 尾气高纯氮(60 mL/min); 不分流进样(阀关闭 0.75 min); 进样量 1 μL。

#### 1.2 试剂

2,4-D、2,4-DP、MCPA(纯度 > 99%, 东京化成工业株式会社产): 用水配制成 100 μg/mL 和 10 μg/mL 的标准工作溶液。2,4-二氯苯乙酸(DCPA, 内标): 纯度 > 99%, 美国 Acros Organics 公司产, 用水配制成 100 μg/mL 标准工作溶液。甲醇、无水乙醇、正丙醇、正丁醇、正戊醇、苯甲醇、二氯丙醇(1,3-二氯丙-2-醇)、硫酸(98%)、乙醚、正己烷、氯化钠、碳酸氢钠、盐酸、氢氧化钠、无水硫酸钠等试剂为分析纯。三氟乙醇(2,2,2-三氟乙醇)、五氟丙醇(2,2,3,3,3-五氟丙醇)、五氟苯甲醇、三氟乙酸酐、乙酰氯、三氯化硼(1 mol/L 己烷溶液)均为美国 Acros Organics 公司产。实验用水为蒸馏水。

收稿日期: 2006-07-20      修回日期: 2007-03-15

通讯联系人: 谭家镒, 男, 教授, 研究方向为法医毒物分析学。

### 1.3 实验方法

取检尿 2 mL,定量分析时加内标 DCPA 适量,用 4 mol/L 盐酸调节 pH 值至 2.0,加氯化钠饱和,加 5 mL 乙醚,涡旋 1 min,离心,弃去水相。有机相加 1 mol/L 碳酸氢钠溶液 1 mL,涡旋 1 min,离心,弃去有机相。水相加 4 mol/L 盐酸调节 pH 值至 2.0,加氯化钠饱和,加 5 mL 乙醚,涡旋 1 min,离心,分取有机相,浓缩至约 1 mL。浓缩液放入 1 mL 安瓿中(用硫酸催化的衍生化也可以放入 5 mL 具塞磨口离心管中),用氮气吹干,加入醇 40  $\mu$ L 及催化剂(硫酸 10  $\mu$ L、三氯化硼 50  $\mu$ L、三氟乙酸酐 20  $\mu$ L 或乙酰氯 20  $\mu$ L),封口。用硫酸催化的非卤代醇衍生化于 20 $^{\circ}$ C 反应 30 min,用其余催化剂的非卤代醇衍生化于 80 $^{\circ}$ C 反应 30 min,用硫酸催化的卤代醇衍生化于 60 $^{\circ}$ C 反应 2 h,用其余催化剂的卤代醇衍生化于 80 $^{\circ}$ C 反应 6 h。反应后依次加正己烷 0.2 mL 和 1 mol/L 碳酸氢钠溶液 1 mL,将反应物转移入离心管中(在离心管中进行反应的加入正己烷和碳酸氢钠溶液即可),涡旋 1 min,离心,分取有机相,加无水硫酸钠脱水,供进样分析。

## 2 结果和讨论

### 2.1 分离提取方法

鉴于动物体内的苯氧羧酸类除草剂主要以原体从尿中排泄,仅有少量与糖或蛋白质结合后从尿中排泄<sup>[7]</sup>,故本文不进行结合物的水解,直接进行提取。经实验比较发现,乙醚提取率较高,易浓缩。用碱水反提法净化虽然使操作略显繁琐,但去除杂质的效果明显。本文方法中 3 种除草剂和内标的提取率介于 75%与 80%之间。

### 2.2 衍生化方法

实验考察了衍生化试剂用量和配比、反应温度、反应时间等反应条件,最终确定操作方便且能保证衍生化反应完全(原体色谱峰消失,衍生物色谱峰面积达到最大)的衍生化方法。本文方法中醇和催化剂的用量从文献报道方法通常所用的 1~2 mL 减少至 100  $\mu$ L 以内。减少试剂用量的优点是方便操作和减少杂质干扰。

### 2.3 色谱分离

在本文所选用色谱条件下,3 种除草剂和内标物各种衍生物色谱峰的基底峰宽都在 0.1 min 之内,表 1 中列出了除草剂多种衍生物的  $t_R$ ,表明 3 种除草剂同种衍生物的色谱峰能完全分离。表 1 所列方法中除草剂和内标的色谱峰也能与杂质色谱峰分离,不受杂质峰干扰。图 1 为典型色谱图,表明衍生物色谱峰相互之间及与杂质色谱峰的分离情况,图 1b 中 2,4-D 和 2,4-DP 色谱峰中间有一个杂质色谱峰,其保留时间为 8.00 min,峰宽为 0.1 min,与 2,4-D 和 2,4-DP 色谱峰的分离度刚好达到 1.5,基本上完全分离。

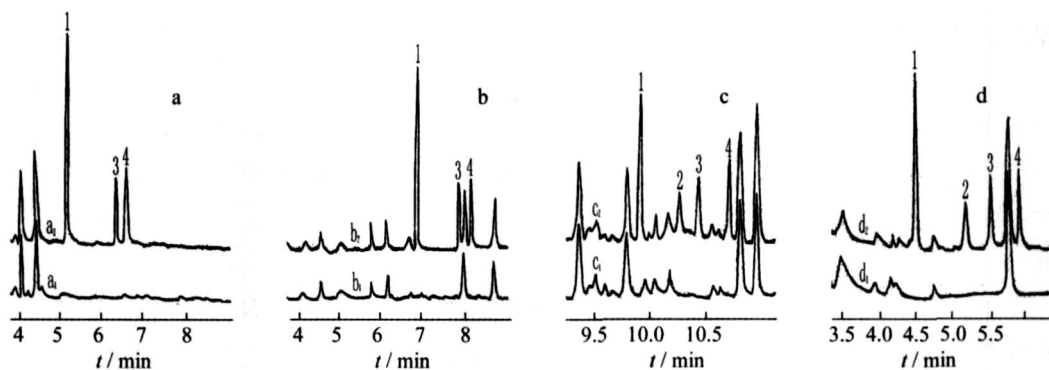


Fig. 1 Chromatograms of urine analysis

a, b, c, d were methanol/ sulfonic acid, propanol/ trifluoroacetic acid, dichloropropanol/ hydrogen chloride, and trifluoroethanol/ boron trichlorid derivatization respectively; a<sub>1</sub>, b<sub>1</sub>, c<sub>1</sub>, d<sub>1</sub> obtained from blank urine; a<sub>2</sub>, b<sub>2</sub>, c<sub>2</sub>, d<sub>2</sub> were obtained from the urine containing 50 ng/mL of 2,4-D, 2,4-DP, MCPA, and 200 ng/mL of DCPA; chromatographic peaks: 1 DCPA; 2 MCPA; 3 2,4-DP; 4 2,4-D.

### 2.4 检出限

本文以除草剂色谱峰高为基线噪音强度的 3 倍计算检出限,结果见表 1。同种除草剂用不同醇进行

衍生化,检出限可能因为衍生物响应因子不同及杂质干扰不同而异。同种除草剂用同种醇、不同催化剂衍生化检出限也可能因杂质干扰不同而异。从表中可见,分子中只 1 个氯原子的 MCPA 非卤代醇衍生化法灵敏度低,尿中 200 ng/mL 含量不能检出,只有卤代醇衍生化法才有较高的灵敏度。分子中有 2 个氯原子的 2,4-D 和 2,4-DP,非卤代醇衍生化法就有较高的灵敏度,而卤代醇衍生化法灵敏度并没有明显提高,其原因是尿提取物中许多对电子俘获检测器无响应的杂质在用卤代醇衍生后成为干扰显著的杂质。比较表 1 中各方法灵敏度可见,如果只分析 2,4-D 或 2,4-DP 或 2,4-D 和 2,4-DP 同时分析以硫酸催化的甲醇衍生化法为好,如果只分析 MCPA 或 MCPA、2,4-D 和 2,4-DP 同时分析以氯化氢催化的二氯丙醇衍生化为好。

**Table 1** Detection limit of herbicides in urine of some more sensitive method and retention time of derivative of herbicide

Derivatization method	$t_R$			Detection limit (ng/mL)		
	2,4-D	2,4-DP	MCPA	2,4-D	2,4-DP	MCPA
Methanol/ sulfuric acid	6.597	6.354	5.822	10	5	> 200
Methanol/ trifluoroacetic acid	6.597	6.354	5.822	20	10	> 200
Ethanol/ trifluoroacetic acid	7.280	6.964	6.516	20	10	> 200
Ethanol/ hydrogen chloride	7.282	6.965	6.517	10	25	> 200
Propanol/ trifluoroacetic acid	8.156	7.853	7.508	15	7	> 200
Butanol/ sulfuric acid	8.913	8.600	8.340	20	9	> 200
Butanol/ hydrogen chloride	8.913	8.601	8.340	10	8	> 200
Butanol/ trifluoroacetic acid	8.912	8.600	8.338	10	10	> 200
Pentanol/ hydrogen chloride	9.600	9.310	9.095	20	30	> 200
Benzyl alcohol/ sulfuric acid	11.317	11.031	10.901	20	15	> 200
Benzyl alcohol/ trifluoroacetic acid	11.318	11.031	10.900	20	20	> 200
Dichloropropanol/ hydrogen chloride	10.754	10.484	10.318	10	15	15
Dichloropropanol/ sulfuric acid	10.755	10.485	10.320	10	7	40
Dichloropropanol/ boron trichloride	10.753	10.485	10.319	10	9	30
Trifluoroethanol/ boron trichloride	5.873	5.534	5.169	15	25	20
Pentafluoropropanol / sulfuric acid	5.906	5.557	5.227	20	9	50

## 2.5 工作曲线、回收率

从表 1 中选择几种方法进行了线性关系和回收率的考察。空白尿添加 2,4-D 和 2,4-DP 30 ~ 1 000 ng/mL、MCPA 50 ~ 1 000 ng/mL 和内标 DCPA 500 ng/mL,绘制工作曲线。空白尿添加 3 种除草剂和 DCPA 各 500 ng/mL 测定回收率。结果如表 2 所示,表中数据表明所建立的方法具有好的线性关系、准确性及精密度。文献<sup>[8]</sup>报道麦田喷洒 2,4-D 的农民尿中 2,4-D 含量为 121 ±100 ng/mL (Mean ±CV),喷洒 MCPA 的农民尿中 MCPA 含量为 145 ±184 ng/mL (Mean ±CV),文献<sup>[9]</sup>报道一例口服 2,4-D 等除草剂致死者尿中 2,4-D 含量为 133.7 μg/mL。这些数据表明本文方法适用于职业性接触者和司法鉴定尿样中该类除草剂的分析。

**Table 2** The linearity and recovery

Derivatization method	Herbicide	Linear equation	Correlation coefficient	Recovery(%, n=7)	
				Mean	RSD
Methanol / sulfuric acid	2,4-D	$Y = 0.00261 X + 0.0060$	0.9993	99.6	8.2
Methanol / sulfuric acid	2,4-DP	$Y = 0.00242 X + 0.0101$	0.9988	98.8	6.0
Dichloropropanol/ hydrogen chloride	2,4-D	$Y = 0.00203 X - 0.0173$	0.9997	98.3	8.1
Dichloropropanol/ hydrogen chloride	2,4-DP	$Y = 0.00211 X + 0.0041$	0.9993	99.1	7.6
Dichloropropanol/ hydrogen chloride	MCPA	$Y = 0.00088 X - 0.0100$	0.9998	98.8	8.6
Trifluoroethanol/ boron trichloride	2,4-D	$Y = 0.00331 X + 0.0041$	0.9955	100.3	8.3
Trifluoroethanol/ boron trichloride	2,4-DP	$Y = 0.00282 X + 0.0060$	0.9996	100.1	8.3
Trifluoroethanol/ boron trichloride	MCPA	$Y = 0.00103 X + 0.008$	0.9997	98.8	7.0

## 参考文献:

- [1] Hong M K, Albert E S. J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int. [J], 1996, **79**(4) :998.
- [2] Lee A S, Hong M K, Smith A E. J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int. [J], 1995, **78**(6) :1459.
- [3] Aprea C, Sciarra G, Bozzi N. J. Anal. Toxicol. [J], 1997, **21**(4) :262.
- [4] ZHAO Shou-cheng (赵守成), DONG Zhen-lin (董振霖), WEI Feng (卫峰), JIANG Jing-yang (蒋景阳), JIANG Wen-feng (姜文凤), XIE Bo (谢波). J. Chin. Mass Spectr. Socie. (质谱学报) [J], 2005, **26**(4) :206.
- [5] Wu J, Lee H K. Anal. Chem. [J], 2006, **78**(20) :7292.
- [6] Diez C, Barrado E, Marinero P, Atienza J. J. Chromatogr. A [J], 2006, **1125**(2) :244.
- [7] Keller T, Skopp G, Wu M, Aderjan R. Foren. Sci. Inter. [J], 1994, **65**(1) :13.
- [8] Aprea C, Sciarra G, Bozzi N. J. Anal. Toxicol. [J], 1997, **21**(4) :262.
- [9] Osterloh J, Lotti M, Pond S M. J. Anal. Toxicol. [J], 1983, **7**(3) :125.

## The Gas Chromatographic Analytical Methods for the Determination of Three Phenoxy Acid Herbicides in Urine

XIN Guo-bin<sup>1</sup>, TAN Jia-yi<sup>\*2</sup>, YAO Li-juan<sup>2</sup>, JIANG Zhao-lin<sup>2</sup>,  
ZHU Yu<sup>2</sup>, SONG Hui<sup>2</sup>

(1. Forensic Medical Examination Center of Beijing Public Security Bureau, Beijing 100085;

2. Criminal Police College of China, Shenyang 110035)

**Abstract :** In this paper the reaction conditions of esterifying derivatization of 2,4-D, 2,4-DP, and MCPA with methanol, ethanol, n-propanol, n-butanol, n-pentanol, benzylalcohol, trifluoroethanol, pentafluoropropanol, 1,3-dichloropropan-2-ol, and pentafluorobenzyl alcohol using sulfuric acid, boron trichloride, hydrogen chloride and trifluoroacetic acid as catalyst were studied. The hydrogen chloride and trifluoroacetic acid was respectively produced by reaction of acetyl chloride or trifluoroacetic acid aldehyde with trace water in reaction system. At the base of this investigation, the analytical methods of the three herbicides in urine using various esterifying derivatization and gas chromatography with electron capture detection were developed. The detection limits of the most sensitive method for 2,4-D and 2,4-DP were below 10 ng/mL, and that for MCPA was below 20 ng/mL. The linear relationships and recoveries of some sensitive methods were determined. The results were satisfactory. The sensitive methods developed in this paper are suitable for urinary analysis of poisoning subjects and occupationally exposed subjects.

**Key words :** Phenoxy acid herbicides; Urine; Gas chromatography