

# 衍生化液相色谱法测定草甘膦原药中痕量甲醛含量

叶贵标, 王金芳, 张 微, 黄宝勇, 潘灿平

(中国农业大学理学院, 北京 100094)

## Determination of Formaldehyde in Glyphosate Technical by HPLC

Ye Guibiao, Wang Jingfang, Zhang Wei, Huang Baoyong, Pan Canping (Department of Applied Chemistry, China Agric.University, Beijing 100094)

**Abstract:** An analytical method for determination of formaldehyde impurity in glyphosate technical by off line derivatization-HPLC was developed. The sample was resolved in acetonitrile-water, and extracted within ultrasonic bath. Formaldehyde was determined by a reversed phase HPLC with  $C_{18}$  column using acetonitrile + water (60 + 40 V/V) as mobile phase with 0.8mL/min flow rate and UV detection at 342 nm. The method was simple, rapid and practical. The method was validated from 2 to 200mg/L with satisfied linear relationship. The recovery rates were between 88% to 106%, with less than 5% of coefficient of variation. The lowest detection limit was 0.5mg/kg.

**Keywords:** formaldehyde; glyphosate; HPLC; off line derivatization

**摘 要:** 建立了衍生化高效液相色谱法对草甘膦原药中痕量甲醛含量进行测定的方法。样品中残留甲醛经超声波水浴提取, 与 2,4-二硝基苯肼衍生反应, 生成的 2,4-二硝基苯腙, 用反相色谱柱进行分离, 在 342nm 紫外波长下检测, 外标法定量。该分析方法在 2~200mg/L 浓度范围呈良好线性, 添加回收率在 88%~106% 之间, 相对标准偏差 < 5%。本文实测样品中甲醛的最小检出浓度为 0.5mg/kg。

**关键词:** 甲醛; 草甘膦; 高效液相色谱; 衍生化

**中图分类号:** S482.4; O657.7<sup>2</sup> **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-5480(2005)04-09-03

国标方法 (GB12686-2002) 中草甘膦原药中甲醛的测定采用的是乙酰丙酮显色法<sup>[1]</sup>, 但是这种方法灵敏度较低, 且可能产生一定干扰和假阳性误差, 该方法不能满足国际贸易中农药产品质量控制的需要<sup>[2]</sup>。文献报道了

空气和食品因此衍生化后的试液无法直接进行气相色谱分析。本文建立了草甘膦原药中痕量甲醛经超声波提取、与 2,4-二硝基苯肼试剂衍生化后经反相高效液相色谱快速分离, 紫外检测器检测的方法。

收稿日期: 2005-01-27

## 1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂 液相色谱仪: P3000型 (UV2000 检测器), 北京创新通恒有限公司; 乙腈: 色谱纯; 水: 色谱纯; 四氯化碳: 分析纯; 磷酸: 85%, 分析纯; 盐酸溶液: 1mol/L; 乙腈:四氯化碳:磷酸 (体积比 85:14:1) 现配现用。甲醛: 37%水溶液; 草甘膦原药: 纯度 95% (由捷马化工有限公司提供); 2,4-二硝基苯肼: 分析纯。

1.2 色谱操作条件 色谱柱: Develosil ODS NOMURA CHEMICAL C<sub>18</sub>; 流动相: 乙腈:水=60:40; 检测器: 紫外; 波长: 360nm; 流速: 0.8mL/min; 进样量: 20 $\mu$ L; 保留时间: 2,4-二硝基苯肼约6.9min; 2,4-二硝基苯腈约 10.6min。

### 1.3 测定步骤

1.3.1 2,4-二硝基苯肼溶液的制备 称取 20.0mg 2,4-二硝基苯肼于 10mL 容量瓶中, 加入乙腈:四氯化碳:磷酸 (体积比 85:14:1) 溶解, 定容至 10mL。

1.3.2 甲醛标准溶液的制备 称取 21.9mg 37%的甲醛水溶液于 50mL 容量瓶中, 乙腈稀释超声溶解, 定容至 50mL, 取此溶液 1mL 用乙腈稀释并定容至 50mL。

1.3.3 2,4-二硝基苯腈标准溶液的制备 分别移取甲醛标准溶液 1、3、5、7、9mL, 加入 1mL 的 2,4-二硝基苯肼溶液, 用 1mol/L HCl 调节 pH 至 2, 超声波振荡 10min, 冷却放置至室温后用乙腈定容到 10mL, 待测。

1.3.4 2,4-二硝基苯腈标准曲线的建立 在上述操作条件下, 待仪器稳定后, 即相邻两针的相关响应信号之比的相对偏差<1.5%, 通过定量环定量进样 20 $\mu$ L, 测量保留时间和峰面积, 每个浓度重复测定 3 次, 取峰面积均值和甲醛浓度作图, 绘制标准曲线。

1.3.5 草甘膦原药中甲醛含量的测定 称取 100mg 草甘膦原药, 乙腈-水溶解, 加入 1mL 2,4-二硝基苯肼溶液, 用 1mol/L HCl 调节 pH 到 2.0, 然后在超声波水浴中反应 10min, 冷却放置至室温, 用乙腈定容到 10mL, 反应液

经微孔滤膜过滤, 通过定量环定量进样 20 $\mu$ L, 2,4-二硝基苯腈根据保留时间定性, 外标标准曲线法定量。

## 2 结果与讨论

2.1 色谱条件 经过优化, 选定了 1.2 中描述的色谱条件, 色谱流动相为乙腈:水 (60:40) 可以获得满意的分离效果, 典型色谱图 (图 1) (甲醛添加浓度为 43.2mg/L)。

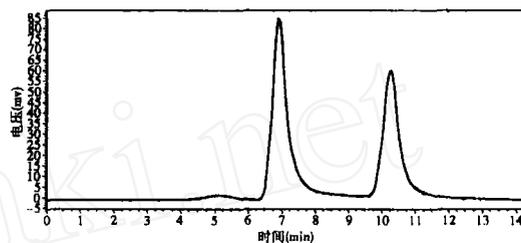


图 1 HPLC 分离 2,4-二硝基苯肼和 2,4-二硝基苯腈的色谱图

2.2 最小检测限的测定 通过配制不同浓度的甲醛溶液反应后, 进行检测, 对草甘膦原药样品中甲醛的最低检出浓度为 0.5mg/kg。

2.3 精密度的测定 在稳定的色谱操作条件下, 对某一未知甲醛含量的同一样品多次重复测定, 测得甲醛含量平均值为 16.2mg/kg, 其标准偏差为 0.71 (N=5 次测定), 变异系数为 4.13%。

2.4 添加回收率的测定 通过 2.7, 10.5, 21.6mg/L 3 个浓度水平的添加回收率实验 (平行 3 次), 结果表明草甘膦原药中甲醛的回收率在 88%~106%之间。

2.5 线性范围的测定 按照 1.3.3 节配制标准溶液, 并进行色谱分析。以峰面积对标液浓度作图, 建立标准曲线 (图 2)。结果表明,

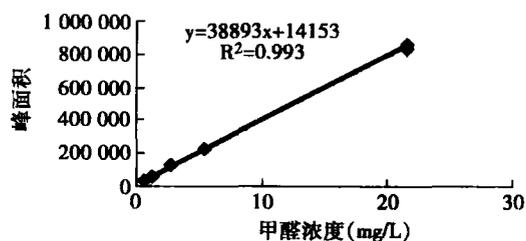


图 2 甲醛含量测定的线性范围

在 2.7~21.6mg/L 进样浓度范围内, 衍生产物峰面积与甲醛浓度间呈良好线性相关。进一步扩大考察的浓度范围, 发现在 2.0~200mg/L 范围内均呈良好线性关系。高浓度甲醛的测定时可以适当稀释若干倍后进样分析。

2.6 草甘膦样品中的甲醛含量 对某工厂生产的 5 个批次草甘膦原药 (甘氨酸路线生产) 进行了甲醛含量的测定, 结果表明: 各个批次草甘膦原药中甲醛含量在 15~160mg/kg 之间, 符合 FAO 规格要求 (要求  $\leq 1.3\text{g/kg}$ , 相当于  $\leq 1300\text{mg/kg}$ )。

### 3 结论

建立了农药草甘膦原药中痕量甲醛的快速仪器测定方法。样品经离线衍生化和超声波提取, 采用反相高效液相色谱法分离甲醛衍生化产物, 用紫外检测器进行检测, 外标法进行定量。采用  $\text{C}_{18}$  色谱柱, 在乙腈:水 = 55:45, 流速 0.8mL/min 的条件下, 甲醛衍生物与 2,4-二硝基苯肼衍生化试剂可达到基线分离。本文对甲醛衍生化产物的检测方法进

行了较全面评价, 该分析方法在 2~200mg/L 浓度范围呈良好线性, 添加回收率在 88%~106% 之间, 相对标准偏差  $< 5\%$ 。样品中甲醛的最小检测浓度为 0.5mg/kg。由于 FAO 农药规格中规定甲醛含量不得高于 1.3g/kg, 因此本文的方法已完全满足分析的需要。

建立的甲醛含量的测定方法准确可靠, 具有较高的灵敏度, 方法简单、快速, 适用于质检和质量控制分析。建议该方法也可应用于其它农药原药或制剂中痕量甲醛含量的测定。

### 参考文献

- [1] 中华人民共和国国家标准 GB 12686-2002
- [2] FAO Specification, Glyphosate, 2000/2001
- [3] 葛健民. 空气中甲醛的高效液相色谱测定方法. 卫生研究, 1994, 23 (3): 138~140
- [4] 张秀尧, 陈栋. 柱前衍生反相高效液相色谱法测定食品中甲醛. 中国卫生检验杂志, 2004, 14 (1), 75~76
- [5] Schulte M, Lubda D, Delp A, Dingenen J., J. High Resol. Chromatography. 2000, 23 (1): 100~105

