

# 烟叶和土壤中抑芽丹残留分析方法及应用研究

杨 昀\* 刘玉林

(云南省化工研究院, 昆明 650041)

## 1 引 言

抑芽丹, 化学名称 1, 2-二氢-3, 6-吡嗪二酮(简称 MH), 是一种暂时性植物生长抑制剂和选择性除草剂。药剂通过叶面角质层进入植株, 抑制细胞分裂, 降低光合作用, 强烈抑制芽的生长。常用于防止马铃薯、洋葱等贮藏期发芽, 以及控制烟叶腋芽的生长。MH 的残留分析方法, 国内未见报道。国际标准和 AOAC 都采用蒸馏-分光光度法, 即将样品在碱溶液中煮沸后, 加锌蒸馏, 氮气吹扫, 馏出物在酸性液中被二甲氨基苯甲醛还原后于 455 nm 左右比色。该方法对蒸馏装置要求高, 样品前处理复杂, 操作繁琐, 耗碱量大, 仪器腐蚀严重。本实验从探索样品不同前处理方法入手, 发现 MH 的酸性水解产物在 210~260 nm 有紫外吸收, 研究选择了较优色谱条件, 建立了用反相高效液相色谱-紫外检测器测定烟叶和土壤中 MH 残留量的方法。该法具有准确、操作简便快捷及结果重现性好等优点, 符合残留分析要求。

## 2 实验部分

**2.1 仪器和试剂** Waters 高效液相色谱系统, Symmetry C18 分析柱和 Sep pak C18 固相萃取小柱(美国 Waters 公司)。MH 标准品, 含量  $\geq 99\%$ (美国 Uniroyal Chem. 公司); 甲醇(色谱纯, 上海化学试剂公司); 水为二次石英双蒸水; 盐酸、磷酸(均为分析纯)。

**2.2 色谱条件** C18 柱 4.6 mm  $\times$  250 mm (10 $\mu$ m); 流动相为含 0.026 mol/L H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 的 CH<sub>3</sub>OH-H<sub>2</sub>O (3/97, V/V), 流速 0.8 mL/min; 检测波长 220 nm, 室温下检测; 进样量 10  $\mu$ L。

**2.3 样品前处理** 烟叶捣碎, 土壤风干去杂, 研细过筛。分别称取烤烟叶、鲜烟叶 10 g, 土壤 50 g。试样置于 500 mL 磨口三角烧瓶中, 加入 100.00 mL 4 mol/L HCl, 于沸水浴中回流 60 min, 取下, 冷却至室温。双层滤纸过滤, 滤液用 Sep Pak C18 固相萃取小柱预分离除杂净化, 净化液经 0.45  $\mu$ m 滤膜过滤后待 HPLC 分析。

## 3 结果与讨论

**3.1 样品前处理条件选择** 实验了有机溶剂、水、流动相、酸性溶液和碱性溶液对 MH 提取的影响。烟草化学成分复杂, 除了富含糖类, 还含有烟碱、酚类、有机酸类、蛋白质、胶体物质和色素等。MH 可溶于水和甲醇, 难溶于一般有机溶剂, 在酸性和碱性水溶液中稳定。MH 喷施于作物后, 其中一部分与作物体内的单糖结合生成  $\beta$ -D-葡萄糖苷, 另一部分仍然呈游离态。提取时干扰杂质随有机溶剂浓度和 pH 值的增加而增多, 回收率仅 30%~70%, 这可能是对结合态 MH 的提取不完全所致。逐渐降低有机溶剂浓度和提取剂 pH 值, 增大酸度仅用 4 mol/L HCl 提取时, 回收率均大于 95%, 表明 4 mol/L HCl 可提取植物体内游离态和结合态的 MH。但在该酸度时, 烟草中的糖、多酚类物质、有机酸类及烟碱等可被同时提取, 这些物质都有不同程度的紫外吸收, 尤其酚类物质, 与 MH 的提取条件和吸收波长相近, 严重干扰 MH 测定。酚类的化学性质显酸性, 碱性条件下, 酚羟基上的 H 易电离离去呈阴离子形态, 亲水性增强, 在 C18 柱上难以保留; 酸性环境中, 酚呈中性分子形态, 疏水性增强, 在反相柱上有较充分保留。另外, 若用碱中和提取液的酸度, 将生成大量沉淀, 并且中和后所得 MH 峰形产生畸变。因而实验中采用不中和酸性提取液, 直接经固相萃取预分离除杂净化的方法。吸取约 5 mL 滤纸过滤液, 过 C18 小柱, 得到净化液。弃去最初 1 mL 净化液, 收集后面约 4 mL 体积。实验表明, 烟草中多酚类、烟碱类和色素等大多数的芳胺、芳烃、多环芳烃、芳香醛、酮及醚等共提取物在小柱上均有一定保留, 达到了预分离除去大部分共存干扰物的目的。

**3.2 色谱条件选择** 实验了流动相中有机溶剂和酸度以及胶束溶液对 MH 保留值和分离度的影响。MH 的分离度随有机溶液浓度的增加而变差; 提高 pH 值后 MH 的容量因子在胶束溶液中明显变小。当选用一定酸度(pH 2.7, 含 0.013~0.026 mol/L H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 的流动相 CH<sub>3</sub>OH+H<sub>2</sub>O (3/97, V/V) 时, 获尖锐对称、良好基线分离的 MH 峰。该酸度对分析柱有一定腐蚀, 必须于每日工作结束后用水-甲醇-异丙醇-乙腈等强溶剂仔细冲洗。

**3.3 线性范围与回归方程** MH 浓度在 0~200 mg/L, 回归方程  $Y = 0.0023x + 0.092$ ,  $r = 0.9994$ 。

**3.4 方法的回收率、精密度及检出限** 烤烟叶、鲜烟叶和土壤的平均回收率(%) 分别为 98.4~101.5、98.0~100.0 和 78.9~98.5; 相对标准偏差(RSD, %) 分别为 1.58~6.96、2.88~3.84 和 3.12~8.56; 经实验求得检出限(mg/kg) 分别为 5、5 和 1。