

柱前衍生-固相萃取/气相色谱法 测定油菜、土壤中二氯吡啶酸

吴祥为^{1,2}, 花日茂^{*1}, 黄 强¹, 唐 俊¹, 李学德¹, 汤 锋¹, 操海群¹
(1. 安徽农业大学资源与环境学院, 安徽省“农产品安全”重点实验室, 合肥 230036;
2. 浙江大学农药环境毒理研究所, 杭州 310029)

摘 要: 采用柱前衍生化法, 建立了二氯吡啶酸在油菜植株、菜籽和土壤中的固相萃取-气相色谱测定方法。样品经 NaOH 溶液提取, 乙酸乙酯萃取, 甲醇浓硫酸衍生化后, Florsil 固相萃取小柱净化, GC-ECD 测定。空白油菜植株的平均添加回收率为 82.8 %~99.1 %, RSD 为 1.0 %~11 %; 菜籽的平均添加回收率为 85.0 %~94.9 %, RSD 为 2.8 %~8.5 %; 土壤的平均添加回收率为 102.3 %~109.7 %, RSD 为 3.5 %~9.8 %。方法的检出限 (LOD) 为 1.87 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限 (LOQ) 为 4.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。方法可完全满足农药残留分析要求。

关键词: 二氯吡啶酸; 油菜; 土壤; 固相萃取; 残留

中图分类号: O657.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0720(2009)12-035-04

二氯吡啶酸是由陶氏化学公司 1977 年开发的一种内吸性芽后除草剂, 可有效防除一年生或多年生阔叶杂草, 尤其是太阳花科、茄科、豆科、蓼科杂草^[1,2]。有关二氯吡啶酸的残留测定方法, 国内外已有一些报道^[3~5]。由于二氯吡啶酸是强极性农药, 熔点以下稳定, 高于熔点易分解, 目前报道的二氯吡啶酸残留分析方法倾向于高效液相色谱法、液质联用法^[6~8]; 除此之外, 薄层色谱法、毛细管色谱技术、气质联用法也被用来检测二氯吡啶酸^[9~11]。但高效液相色谱 (HPLC-UV) 检测灵敏度较气相色谱低, 对于复杂样品前处理净化困难且过程复杂, 难以满足痕量分析的要求; 而液质联用仪成本和运行费用较高。本文运用柱前衍生化, 将二氯吡啶酸衍生为二氯吡啶甲酸甲酯, 采用 Florsil 固相萃取小柱净化, GC-ECD 测定。该方法灵敏度高, 重现性好, 符合环境中痕量二氯吡啶酸的残留测定要求。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 6890 气相色谱仪; SUPELCO 固相萃取仪; Phenomenex Florisil SPE 柱 (1000 mg, 6 mL); N-EVAPTM 112 Organomation Associates Inc 氮吹仪。

二氯吡啶酸标准品 (99 %, 农业部农药检定所); 甲醇 (GR, 美国 Tedia 公司); 正己烷 (GR, 天津四友生物医学技术公司); 无水 Na_2SO_4 、 NaCl 、乙酸乙酯、浓 H_2SO_4 均为分析纯。

1.2 二氯吡啶酸的提取

土壤: 取制备好的土壤样品 10 g, 置于 50 mL 离心管中, 加入 30 mL 5 g/L NaOH 溶液, 振荡提取 30 min, 4500 r/min 离心 10 min, 取上清液到盛有 7 g NaCl 的离心管中, 再加入 0.4 mL 浓 HCl 和 15 mL 乙酸乙酯, 振荡离心各 10 min, 取出上层乙酸乙酯相, 过无水硫酸钠, 再用 15 mL 乙酸乙酯振荡离心各 10 min, 合并乙酸乙酯相, 浓缩近干。

植株和籽粒: 取制备好的植株和籽粒样品各

* 收稿日期: 2009-03-02; 修订日期: 2009-06-10

基金项目: 国家十一五科技支撑计划 (2006BAK02A0403 和 2007BAD87B06)、安徽省十一五科技攻关 (08010302166) 和安徽省教育厅自然科学研究 (2006KJ209B) 项目资助

作者简介: 吴祥为 (1978 -), 男, 讲师; E-mail: wxw @ahau.edu.cn, rimahua @ahau.edu.cn

5 g, 置于 50 mL 离心管中, 其余提取过程同土壤。

1.3 柱前衍生化反应

用乙酸乙酯将提取物转移至具塞试管中, 用氮吹仪吹干, 加入 1 mL 甲醇, 6 滴浓 H_2SO_4 , 盖上磨口塞, 在 50 °C 水浴上反应 30 min, 冷却后加 10 mL 蒸馏水, 振荡 1 min, 再用 4 mL 正己烷萃取, 取 1 mL 正己烷相过 SPE。

1.4 SPE 净化

Florsil 固相萃取小柱经 10 mL V (正己烷) : V (乙酸乙酯) = 19 : 1 活化后, 再用 10 mL 正己烷平衡, 将上述 1 mL 正己烷相过柱, 控制流速为 1~2 mL/min, 用 10 mL V (正己烷) : V (乙酸乙酯) = 19 : 1 洗脱, 收集洗脱液于 10 mL 容量瓶中, 氮气吹干后, 加 1 mL 正己烷测定。

1.5 色谱条件

μ -ECD 检测器; 色谱柱: SE-30 毛细管柱, 30 m $\times$ 0.53 mm (i. d.) $\times$ 0.5 μ m; 进样口温度: 240 °C; 检测器温度: 260 °C; 柱温: 130 °C; 柱流速: 3 mL/min; 进样量: 2 μ L。二氯吡啶酸保留时间约 4.5 min 左右。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线与方法的灵敏度

吸取 0.02、0.05、0.1、0.2、0.5 mg/L 二氯吡啶酸甲醇溶液 1 mL, 加入 6 滴 H_2SO_4 (浓), 盖上磨口塞, 在 50 °C 水浴上反应 30 min, 冷却后加 10 mL 蒸馏水, 振荡 1 min, 再用 4 mL 正己烷萃取, 取正己烷相进样。采用外标法对二氯吡啶酸进行定量计算。以质量浓度为横坐标 (ρ), 以峰高为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 其回归线性方程为: $Y = 769502\rho - 742.1$, $R^2 = 0.9998$ 。以 $S/N \geq 3$ 、 $S/N \geq 10$ 计算方法的检出限和定量限, 本方法的检出限、定量限分别为 1.87、4.0 μ g/kg。美国规定了油菜草料和油菜籽中二氯吡啶酸最大残留限量 (MRL) 为 3 mg/kg, 澳大利亚规定油菜籽中最大残留限量 (MRL) 为 0.5 mg/kg, 日本规定油菜籽中二氯吡啶酸最大残留限量 (MRL) 为 2 mg/kg^[12], 欧盟和 CAC 暂无二氯吡啶酸的残留限量标准。因此, 本方法

能够满足残留分析下限及国际标准对二氯吡啶酸残留限量的要求。

2.2 前处理的条件的优化

二氯吡啶酸是一种有机酸, 极性大, 选取 5 g/L NaOH 溶液、乙腈、甲醇、丙酮和乙酸乙酯作为提取溶剂, 提取效果以 5 g/L NaOH 溶液最好, 提取率可达 98.3 %, 乙腈和甲醇次之, 丙酮和乙酸乙酯效果较差, 一次提取率只有 60 % 左右, 故选择 5 g/L NaOH 溶液为提取溶剂。衍生化过程中, 衍生化时间对于衍生化反应是否进行完全至关重要, 因此考察不同时间 (10、20、30、40、50、60 min) 下衍生化反应情况, 结果表明, 在 10~30 min 内, 随时间延长, 衍生化产物响应增加, 30~50 min, 响应变化不大, 60 min, 响应反而变低, 故选择 30 min 作为衍生化反应时间。此外, 还考查了固相萃取淋洗液和用量对添加回收结果的影响, 用 V (正己烷) : V (乙酸乙酯) = 19 : 1、 V (正己烷) : V (乙酸乙酯) = 9 : 1、 V (正己烷) : V (丙酮) = 19 : 1 作为淋洗剂, 空白基质加标后淋洗, V (正己烷) : V (乙酸乙酯) = 19 : 1、 V (正己烷) : V (乙酸乙酯) = 9 : 1、 V (正己烷) : V (丙酮) = 19 : 1 分别需要 10、6、5 mL 能完全淋洗目标化合物, 但 V (正己烷) : V (乙酸乙酯) = 9 : 1、 V (正己烷) : V (丙酮) = 19 : 1 同时将杂质部分淋洗下来, 故选择 10 mL V (正己烷) : V (乙酸乙酯) = 19 : 1 作为淋洗剂。

2.3 准确度和精密度

利用优化后的方法, 用空白土壤、植株、菜籽添加二氯吡啶酸标准工作溶液进行添加回收试验。二氯吡啶酸的添加回收实验结果如表 1 所示, 由表 1 可知, 植株 3 个添加浓度平均回收率为 82.8 %~99.1 %, RSD 为 1.0 %~11 %; 菜籽 3 个添加浓度平均回收率为 85.0 %~94.9 %, RSD 为 2.8 %~8.5 %; 土壤 3 个添加浓度平均回收率为 102.3 %~109.7 %, RSD 为 3.5 %~9.8 %。方法的准确度、精确度完全满足农药残留分析要求。二氯吡啶酸衍生物标样、空白、添加样品色谱图如图 1、图 2 所示。

表 1 二氯吡啶酸在土壤、植株、菜籽中的添加回收结果

Tab. 1 Recoveries (%) of clopyralid in soil , rape and rapeseed at three spiking levels

基质	添加量 w/(mg/kg)	回收率/ %				标准偏差	RSD / %
		I	II	III	平均		
植株	1	87.5	88.0	86.3	87.3	0.9	1.0
	0.5	81.4	82.8	84.3	82.8	1.5	1.8
	0.2	90.7	110.2	96.4	99.1	10	11
菜籽	1	82.4	86.4	86.4	85.0	2.4	2.8
	0.5	87.3	83.8	89.2	86.8	2.8	3.2
	0.2	86.1	102.1	96.4	94.9	8.1	8.5
土壤	0.5	111.1	112.6	105.4	109.7	3.8	3.5
	0.2	95.2	112.3	114.3	107.2	11	9.8
	0.05	99.7	110.2	97.0	102.3	7.0	6.9

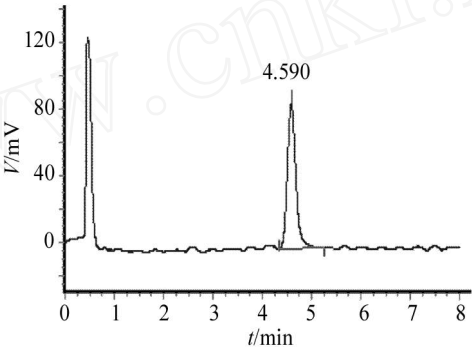
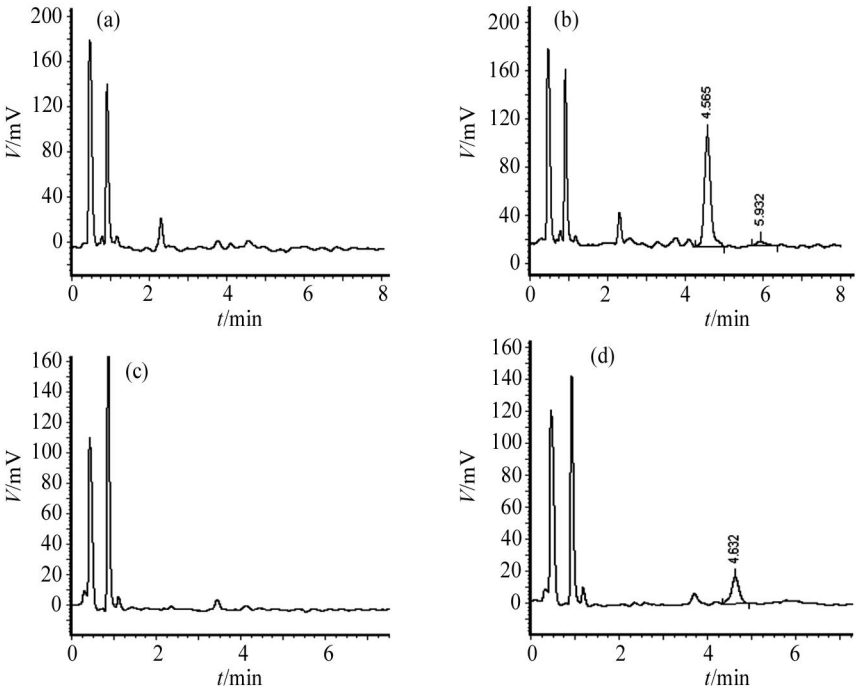


图 1 二氯吡啶酸衍生物标样色谱图

Fig. 1 GC chromatogram of clopyralid derivative standard



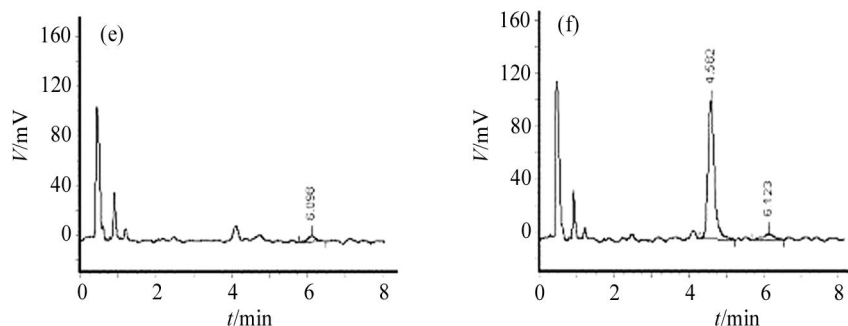


图 2 二氯吡啶酸空白及添加样品色谱图

Fig. 2 GC chromatograms of the blank and spiked samples

(a) 植株空白; (b) 植株添加; (c) 籽粒空白; (d) 籽粒添加; (e) 土壤空白; (f) 土壤添加

参考文献

- [1] Hathway D E, Molecular Mechanisms of Herbicide Selectivity [M]. Oxford: Oxford University Press, 1989
- [2] 朱传明. 安徽化工, 2008, 34(1): 66
- [3] Ahmad R, Rahman A, Holland P T *et al.* Environ Contam Toxicol, 2003, 71: 414
- [4] Tan L K, Humphries D, Yeung P *et al.* J Agric Food Chem, 1996, 44: 1135
- [5] Schutz S, Weissbecker B, Hummel H E. Environ Toxicol Chem, 1996, 15: 249
- [6] 王秀梅, 侯志广, 逯忠斌等. 吉林农业大学学报, 2006, 28(4): 232
- [7] Lauren D R, Taylor H J, Rahman A. J Chromatogr A, 1988, 439(2): 470
- [8] Urairat K, Kunaporn S, Natchanun L. Anal Chim Acta, 2008, 626: 10
- [9] Butz S, Stan H J. J Anal Chem, 1995, 67(3): 620
- [10] Schütz S, Vedder H, Dilling R A *et al.* J Chromatogr A, 1996, 754: 265
- [11] Thomas L F, Ulrike M, Michael W *et al.* Acta Hydrochim Hydrobiol, 1995, 23(1): 6
- [12] 《主要贸易国家和地区食品中农兽残留限量标准》编委会编. 主要贸易国家和地区食品中农兽残留限量标准农兽药卷(上册). 北京: 中国标准出版社, 2004

Determination of clopyralid in rape and soil using gas chromatography coupled with pre-column derivatization and solid phase extraction

WU Xiang-wei^{1,2}, HUA Ri-mao^{*1}, HUANG Qiang¹, Tang Jun¹, LI Xue-de¹, TANG Feng¹ and CAO Hai-qun¹
(1. School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, The Key Laboratory of Anhui Agri-food Safety, Hefei 230036; 2. Institute of Pesticide & Environmental Toxicology, Zhejiang University, Hangzhou 310029), Fenxi Shiyanshi, 2009, 28(12): 35~38

Abstract: A method was developed for pre-column derivatization, solid phase extraction and gas chromatographic determination of clopyralid in rape and soil. Residues of Clopyralid were extracted with 5 g/L solution of sodium hydroxide. The solution was extracted with ethyl acetate. The extract was esterified with methanol in the presence of sulfuric acid. The derivatives were cleaned up with florisil SPE column and analyzed by gas chromatography with electron capture detection. The recoveries of this method in soil, rape, rapeseed were 82.8 %~99.1 %, 85.0 %~94.9 % and 102.3 %~109.7 %, respectively. The limit of detection (LOD) of clopyralid was 1.87 µg/kg. The limit of quantification of this method was 4.0 µg/kg.

Keywords: Clopyralid; Rape; Soil; SPE; Residue