

离子色谱-抑制电导检测法同时测定草甘膦母液中的
含磷副产物及无机阴离子

胡忠阳^{*}, 叶明立, 潘广文, 张婷婷, 钟乃飞
(赛默飞世尔科技有限公司上海实验室, 上海 201203)

摘要: 建立了一种抑制电导检测-离子色谱(IC) 同时测定草甘膦生产工艺中母液里的草甘膦及其副产物、无机阴离子的方法。样品经过滤后直接进样, 色谱条件: IonPac AS11-HC 分离柱(250 mm × 4 mm) 和 IonPac AG11-HC 保护柱(50 mm × 4 mm) 在线淋洗液发生器 KOH 梯度淋洗, 流速 1.0 mL/min , 采用抑制电导检测。草甘膦、甲基草甘膦、六甲基磷酰三胺(HMPA)、增甘膦、亚磷酸、磷酸、 Cl^- 和 SO_4^{2-} 的线性范围分别为 0.1 ~ 20 mg/L、0.1 ~ 20 mg/L、0.1 ~ 50 mg/L、0.25 ~ 50 mg/L、0.05 ~ 20 mg/L、0.2 ~ 50 mg/L、0.02 ~ 20 mg/L 和 0.05 ~ 50 mg/L , 相关系数分别为 0.999 5、0.999 3、0.999 9、0.999 8、0.999 9、0.998 5、0.999 9 和 0.998 0 , 加标回收率为 93.7% ~ 104.0% , 相对标准偏差均小于 2.5% ($n = 7$) 检出限(以信噪比(S/N) = 3 计) 为 0.002 ~ 0.025 mg/L。该方法用于草甘膦生产工艺中母液里草甘膦及其含磷副产物和无机阴离子的测定, 结果令人满意。

关键词: 离子色谱; 草甘膦; 含磷副产物; 无机阴离子; 母液

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2012) 04-0391-04

Simultaneous determination of phosphorous by-products
and inorganic anions in glyphosate mother liquor by ion
chromatography with suppressed-conductivity detection

HU Zhongyang^{*}, YE Mingli, PAN Guangwen, ZHANG Tingting, ZHONG Naifei
(Shanghai Lab. , Thermo Fisher Scientific Inc. , Shanghai 201203 , China)

Abstract: The by-product anion content was an important index for the evaluation of pesticide glyphosate's productivity technology. A method was developed for the simultaneous determination of glyphosate, phosphorous by-products and other trace impurity anions in the mother liquor of glyphosate procedure by ion chromatography (IC). The sample was diluted with deionized water and filtrated by 0.22 μm nylon filter membrane, and then analyzed by IC directly without anymore pretreatment. The analytical column was Dionex IonPac AS11-HC (250 mm × 4 mm) with a guard column IonPac AG11-HC (50 mm × 4 mm). Gradient KOH eluent generated by an eluent generation cartridge was used at a flow rate of 1.0 mL/min. The detection was performed by a Dionex suppressed conductivity detector. The quantitative analysis of external standard calibration curves was used. The linear ranges of the method for glyphosate, methyl glyphosate, hexamethylphosphoramide (HMPA), glyphosine, phosphite, phosphate, chloride and sulfate were 0.1 ~ 20 mg/L ($r = 0.999 5$), 0.1 ~ 20 mg/L ($r = 0.999 3$), 0.1 ~ 50 mg/L ($r = 0.999 9$), 0.25 ~ 50 mg/L ($r = 0.999 8$), 0.05 ~ 20 mg/L ($r = 0.999 9$), 0.2 ~ 50 mg/L ($r = 0.998 5$), 0.02 ~ 20 mg/L ($r = 0.999 9$) and 0.05 ~ 50 mg/L ($r = 0.998 0$), respectively. The average recoveries were 93.7% ~ 104.0% with the relative standard deviations less than 2.5% ($n = 7$), and the detection limits ($S/N = 3$) were 0.002 ~ 0.025 mg/L. The method has been applied to determine the contents of glyphosate, phosphorous by-products and inorganic anions in the mother liquor of glyphosate with satisfactory results.

^{*} 通讯联系人: 胡忠阳, 硕士, 工程师, 主要从事离子色谱的应用研究. Tel: (021) 58957001, E-mail: huzy82@126.com.
基金项目: 浙江大学国家重点实验室开放基金项目(No. 2011KF07).
收稿日期: 2011-12-19

Key words: ion chromatography (IC); glyphosate; phosphorous by-products; inorganic anions; mother liquor

草甘膦(英文通用名称 glyphosate)是一种高效、低毒、广谱灭生性除草剂,主要应用于转基因作物领域。20 世纪 90 年代以来,转基因抗草甘膦作物如大豆、玉米等的创制和大面积种植,使全球对草甘膦的需求持续增加。氯乙酸-甘氨酸路线合成草甘膦是我国企业普遍采用的模式,但存在收率不高、产品杂质和副产物多的弱点,研究者也在不断地研究改造草甘膦合成路线^[1]。

关于环境中草甘膦的分析研究,利用气相色谱法^[2,3]、高效液相色谱法^[4-10]、分光光度法^[11]等已有大量的报道。由于草甘膦极性很强,一般采用衍生化降低其极性并将其转化为含有特征官能团的化合物,然后采用气相色谱仪进行测定。同时由于草甘膦紫外吸收较弱,若采用高效液相色谱法进行测定,常借助于柱前或柱后衍生化。也有人对分光光度法测定草甘膦进行了研究,但该方法容易受到共存的化合物和离子的干扰,从而影响结果的准确性。因此上述方法在实际应用中都有一定的局限性,且研究报道主要集中在草甘膦组分及其在环境中代谢物的残留分析方面。在草甘膦的生产工艺改造研究中需要对草甘膦及相关杂质、副产物进行监测,能够同时测定这些产物的分析方法还鲜有报道。草甘膦因其结构的特点,极性很大,几乎不溶于有机溶剂,而可溶于水(25 °C 时溶解度为 1.2%),在水中解离呈阴离子状态。离子色谱法是测定阴离子的首选方法^[12],采用离子色谱法测定草甘膦的研究已有报道^[13-17]。本文利用草甘膦母液性质的特点,采用离子色谱法,建立了一种同时测定草甘膦及其生产工艺中产生的副产物和杂质离子的分析方法。该方法无需借助衍生化处理,色谱分离也避免了共存物的干扰,具有很好的应用前景。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Dionex ICS-2100 离子色谱仪(ThermoFisher 公司),配电导检测器,Chromeleon 色谱工作站;ASRS 300(4 mm)电化学自再生循环抑制器;EGC II KOH 免试剂淋洗液发生罐,带 CR-ATC 阴离子捕获柱;0.22 μm 尼龙滤膜过滤头。

草甘膦、甲基草甘膦、六甲基磷酰三胺(HMPA)、增甘膦标准品(纯度>99.0%,上海泰禾集团有限公司),氯离子、硝酸根、亚磷酸根、硫酸根、磷

酸根标准品(均为 1 000 mg/L,上海计量测试研究院)。草甘膦母液样品由上海泰禾集团有限公司提供,来源于甘氨酸法草甘膦合成工艺路线,所得母液中含草甘膦 2% 左右,可能还含有磷酸盐、亚磷酸盐、甘氨酸、Cl⁻、NO₃⁻、SO₄²⁻、Na⁺及其他草甘膦衍生物。本研究测定了母液中草甘膦主成分和可能存在的甲基草甘膦、HMPA、增甘膦等副产物以及其他常见无机盐阴离子。实验用水均为电阻率大于 18.2 MΩ·cm 的二次去离子水。

1.2 标准溶液的配制

首先将草甘膦、甲基草甘膦、HMPA、增甘膦标准品用二次去离子水配制成 1 000 mg/L 的单一标准储备液,再将上述储备液与氯离子、硝酸根、亚磷酸根、硫酸根和磷酸根等标准溶液用二次去离子水稀释成各种所需浓度的混合标准溶液。

1.3 样品制备

精密移取草甘膦母液样品 1.0 mL,用去离子水稀释一定倍数,充分溶解混匀。稀释后的样品经过 0.22 μm 尼龙滤膜过滤,滤液即可直接进样分析。

1.4 色谱条件

色谱柱: Dionex IonPac AS11-HC 分离柱(250 mm×4 mm),IonPac AG11-HC 保护柱(50 mm×4 mm);淋洗液: KOH 梯度淋洗,0~15.0 min,2~15 mmol/L; 15.0~27.0 min,15~40 mmol/L; 27.0~32.0 min,2 mmol/L;淋洗液流速: 1.0 mL/min;抑制器采用自循环抑制模式,99 mA;柱温: 30 °C;进样体积: 25 μL;外标法定量。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择

在阴离子交换柱上,磷酸根、草甘膦和增甘膦等有很强的保留,难以洗脱,若采用等度淋洗很难实现各种含磷化合物与弱保留阴离子的分离。用 KOH 淋洗液梯度淋洗分离复杂基体成分是最近发展的热点,这是因为用抑制型电导检测时只有用 KOH 淋洗液才能实现梯度淋洗^[18]。因此,本文选用氢氧根体系阴离子交换柱,以实现 KOH 梯度淋洗。

IonPac AS18 和 AS11-HC^[19,20]的柱填料基质材料都是大孔的乙基乙烯基苯(EVB)交联 55% 二乙烯基苯(DVB)聚合物,柱容量分别为 285 与 290 μeq/柱,均为高容量色谱柱。AS18 基质的颗粒大小为 7.5 μm,外层附聚了 65 nm 的烷醇季铵功能

基胶乳(有效交联度为 8%); AS11-HC 的基质颗粒大小为 9 μm,外层是 70 nm 的烷醇季铵功能基胶乳(有效交联度为 6%)。胶乳微粒带有非常亲水的离子交换基团。上述两种色谱柱虽然柱容量接近,但胶乳有效交联度及基质大小的差异,会导致其对不同极化度离子产生不同的分离效果。实验发现,采用 AS18 色谱柱时,亚磷酸易受碳酸盐干扰,且甲基草甘膦、草甘膦和磷酸根难以实现基线分离。而采用 AS11-HC 柱,以优化的梯度条件淋洗,实现了含磷化合物与杂质阴离子的完全分离(见图 1)。最终选择的色谱条件见 1.4 节。

在甘氨酸合成草甘膦工艺过程中,杂质主要是由原料诸如甘氨酸、甲醇、三乙胺、亚磷酸等带入和催化氧化副反应所产生,其杂质阴离子主要有氯离子、亚磷酸根、磷酸根、硫酸根和甲基草甘膦等。从混合标准溶液的分离色谱图可以看出:草甘膦主成分、其他待测杂质成分和加入的常见离子如氟离子、亚硝酸根等分离良好,均不相互干扰。

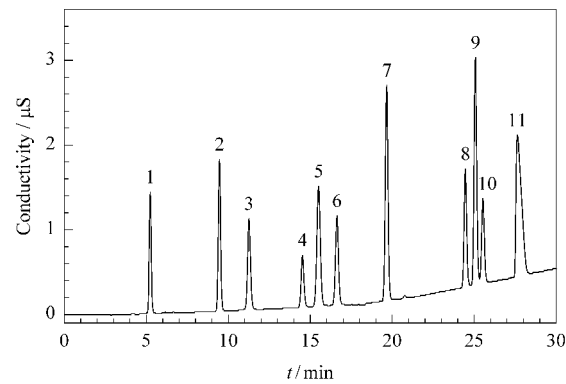


图 1 草甘膦、甲基草甘膦、六甲基磷酰三胺(HMPA)、增甘膦和常规阴离子标准溶液的色谱图
Fig. 1 Chromatogram of a standard solution containing glyphosate, methyl glyphosate, hexamethylphosphoramide (HMPA), glyposine and common inorganic anions

Conditions: gradient KOH, 1.0 mL/min; 0.0–15.0 min, 2–15 mmol/L; 15.0–27.0 min, 15–40 mmol/L; 27.0–32.0 min, 2 mmol/L.

1. F⁻, 0.5 mg/L; 2. Cl⁻, 1.0 mg/L; 3. NO₂⁻, 2.0 mg/L; 4. HMPA, 2.0 mg/L; 5. NO₃⁻, 2.5 mg/L; 6. PO₃³⁻, 2.0 mg/L; 7. SO₄²⁻, 2.5 mg/L; 8. methyl glyphosate, 5.0 mg/L; 9. glyphosate, 10.0 mg/L; 10. PO₄³⁻, 2.5 mg/L; 11. glyposine, 10.0 mg/L.

2.2 方法的线性关系与检出限

将 1 000 mg/L 的标准储备液用水稀释成各种所需浓度,配制成一系列的混合标准溶液,按 1.4 节色谱条件依次进样分析,绘制标准曲线,所得标准曲线的线性方程、相关系数及各待测成分的方法检出限(以信噪比(S/N)=3 计)等结果见表 1。

表 1 各离子的线性关系及检出限
Table 1 Linear relationships and detection limits (S/N=3) of the ions

Ion	Regression equation	Correlation coefficient	Linear range/(mg/L)	Detection limit/(mg/L)
Chloride	$Y=0.2919X+0.0412$	0.9999	0.02–20.0	0.002
HMPA	$Y=0.0807X-0.0327$	0.9999	0.1–50.0	0.01
Phosphite	$Y=0.1355X-0.0083$	0.9999	0.05–20.0	0.005
Sulfate	$Y=0.1980X-0.0249$	0.9980	0.05–50.0	0.005
Methyl glyphosate	$Y=0.0516X-0.0160$	0.9993	0.1–20.0	0.01
Glyphosate	$Y=0.0517X-0.0185$	0.9995	0.1–20.0	0.01
Phosphate	$Y=0.0856X-0.0131$	0.9985	0.2–50.0	0.02
Glyposine	$Y=0.0586X+0.0058$	0.9998	0.25–50.0	0.025

Y: peak area; X: mass concentration of analyte, mg/L.

2.3 方法的重现性

选择上述草甘膦母液样品,该样品约含草甘膦 2% 左右,可能还有磷酸盐、亚磷酸盐、甘氨酸、Cl⁻、NO₃⁻、SO₄²⁻ 及其他草甘膦衍生物等。按照 1.3 节平行制备 8 份样品溶液,用 1.4 节色谱条件进行分析,考察本方法检测的重现性,结果见表 2。从表 2 数据可以看出,各主要指标的相对标准偏差(RSD)值均小于 1.5%,说明该方法具有很好的重现性。

表 2 方法的重现性(以 RSD 计)(n=8)
Table 2 Repeatability (relative standard deviation, RSD) of the method (n=8) %

Ion	Retention time	Peak area	Peak height
Chloride	0.34	0.061	0.075
HMPA	0.18	0.18	0.21
Phosphite	0.12	0.18	0.32
Sulfate	0.40	0.15	0.41
Methyl glyphosate	0.12	0.29	0.19
Glyphosate	0.10	0.37	0.36
Phosphate	0.09	0.48	0.74
Glyposine	0.88	1.43	1.49

2.4 样品及加标回收率的测定

按 1.3 节方法对草甘膦生产工艺中的母液样品进行处理,依次稀释 100、1 000 倍,按 1.4 节条件分别测定其主要成分草甘膦和工艺中产生的甲基草甘膦、HMPA、增甘膦、亚磷酸、磷酸等含磷副产物,以及 Cl⁻和 SO₄²⁻等(见图 2)。在测得的样品中加入一定量的标准溶液,按照同样方法测定了样品加标后各成分的含量。样品测定结果及加标回收率列于表 3,其中主成分草甘膦测定背景值采用样品 1 000 倍稀释的结果,其他成分均为 100 倍稀释的结果。可以看出,各成分的回收率范围为 93.7%~104.0%,平行测定 7 次, RSD 为 0.9%~2.3%。结果表明,该分析方法前处理简单、分析准确,可以满足草甘膦生产工艺研究中的多组分同时分析需求。

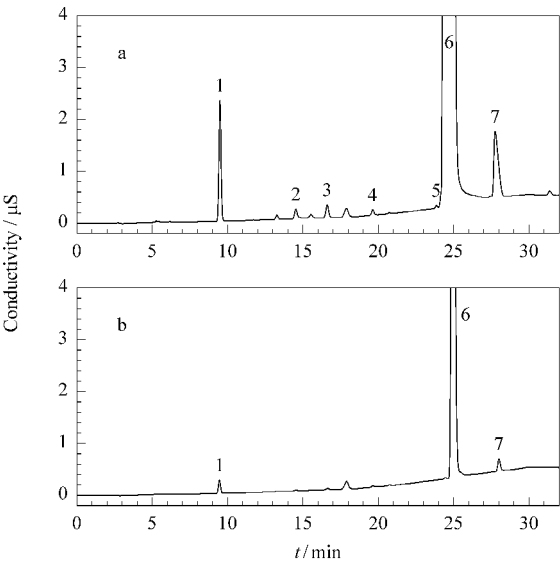


图 2 (a) 稀释 100 倍和 (b) 稀释 1000 倍的样品溶液的色谱图
Fig. 2 Chromatograms of the sample solution diluted (a) 100 times and (b) 1000 times

1. Cl^- ; 2. HMPA; 3. PO_3^{3-} ; 4. SO_4^{2-} ; 5. methyl glyphosate; 6. glyphosate; 7. glyphosine.

表 3 样品的测定结果及其加标回收率 ($n=7$)
Table 3 Determination results of the sample and the recoveries of ions ($n=7$)

Ion	Original/ (mg/L)	Added/ (mg/L)	Found/ (mg/L)	Recovery/ %	RSD/ %
Chloride	1.35×10^3	1.0×10^3	2.31×10^3	96.0	1.3
HMPA	6.80×10^2	1.0×10^3	1.63×10^3	95.0	0.9
Phosphite	4.60×10^2	1.0×10^3	1.40×10^3	94.0	1.4
Sulfate	19.8	100.0	113.5	93.7	2.1
Methyl glyphosate	98.5	100.0	202.0	103.5	1.9
Glyphosate	9.64×10^5	1.0×10^6	1.96×10^6	99.6	2.3
Phosphate	n. d. *	1.0×10^3	960	96.0	1.2
Glyphosine	7.40×10^3	1.0×10^4	1.78×10^4	104.0	1.5

* n. d.: not detected.

3 结论

草甘膦生产工艺中母液经去离子水稀释一定倍数溶解后,过 0.22 μm 尼龙滤膜过滤即可进样分析,前处理简单方便。采用 AS11-HC 高容量阴离子交换色谱柱分析,KOH 梯度淋洗、抑制电导检测,可以很好地将草甘膦母液中的无机阴离子和草甘膦及含磷副产物分离开来。虽然在测定某些高纯草甘膦样品时由于柱容量的限制难以实现主成分和痕量成分的同时测定,但可以在对样品进行一定比例的稀释后分别测定予以解决。该方法选择性好、灵敏度高、准确性及重现性都很好,成功地 为草甘膦质量控制及工艺改造研究建立了一种新的分析方法;应用于草甘膦生产过程中的产品质量控制及市场商品检验,具有较高的实用价值。

参考文献:

[1] Su S Q. Chinese Journal of Pesticides (苏少泉. 农药), 2005, 44(4): 145

[2] Cheng X M, Zhou M. Chinese Journal of Chromatography (程雪梅, 周敏. 色谱), 2004, 22(3): 288

[3] Ma W M, Lin X H, Ma W D, et al. Agrochemicals (马为民, 林小虎, 马卫东, 等. 农药), 2008, 47(8): 554

[4] Kim M, Stripeikis J, Inon F, et al. Talanta, 2007, 72: 1054

[5] Li B, Deng X J, Guo D H, et al. Chinese Journal of Chromatography (李波, 邓晓军, 郭德华, 等. 色谱), 2007, 25(4): 486

[6] Hu B X, Mo W M, Sun N. Chinese Journal of Pesticides (胡宝祥, 莫卫民, 孙楠. 农药), 2005, 44(8): 365

[7] Qian K, Tang T, Shi T Y, et al. Anal Chim Acta, 2009, 635: 222

[8] Zhou Y M, Li N, Niu S, et al. China Measurement Technology (周艳明, 李娜, 牛森, 等. 中国测试技术), 2007, 33(3): 114

[9] Shi H Y, Zhang H Z, Han Y Y, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry (石宏宇, 张海柱, 韩艳艳, 等. 分析化学), 2009, 37(5): 737

[10] Cao Z Y, Mou R X, Chen M X. Chinese Journal of Chromatography (曹赵云, 牟仁祥, 陈铭学. 色谱), 2010, 28(8): 743

[11] Dong W G, Chen X C, Lang Z M, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry (董文庚, 陈学诚, 郎志敏, 等. 分析化学), 1997, 25(10): 1210

[12] Zhu Y. Principle and Application of Ion Chromatography. Hangzhou: Zhejiang University Press (朱岩. 离子色谱原理及其应用. 杭州: 浙江大学出版社), 2002

[13] Ye M L, Hu Z Y, Pan G W. Chinese Journal of Analytical Chemistry (叶明立, 胡忠阳, 潘广文. 分析化学), 2011, 39(11): 1762

[14] Coutinho C F B, Coutinho L F M, Mazo L H, et al. J Chromatogr A, 2008, 1208: 246

[15] Fang L, Su Y L, Wu J. Modern Scientific Instruments (方黎, 苏宇亮, 吴杰. 现代科学仪器), 2008(2): 54

[16] Qi R P, Qiu X L, Meng Q, et al. Chinese Journal of Health Laboratory Technology (戚荣平, 邱晓枫, 孟琪, 等. 中国卫生检验杂志), 2011, 21(4): 820

[17] Zhang P Z, Wu J, Zhang P M, et al. Journal of Instrumental Analysis (张培志, 吴军, 张培敏, 等. 分析测试学报), 2003, 22(4): 89

[18] Mou S F, Liu K N, Ding X J. Ion Chromatography Method and Its Application. 2nd ed. Beijing: Chemical Industry Press (牟世芬, 刘克纳, 丁晓静. 离子色谱方法及应用. 2版. 北京: 化学工业出版社), 2005

[19] Dionex Corporation, Product Manual for IonPac AS18. Rev.07. Sunnyvale, CA. Document No. 031878. (2011-4) [2012-2-13]. <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/4393-Man-031878-07-IonPac-AS18-Fast-Apr11.pdf>

[20] Dionex Corporation, Product Manual for IonPac AS11-HC. Rev.08. Sunnyvale, CA. Document No. 031333. (2008-11-13) [2012-2-13]. <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/4350-Man-031333-08-IonPac-AS11HC-Nov08.pdf>