

液相微萃取/高效液相色谱法测定环境水样中的痕量苯脲类除草剂

彭晓俊^{*}, 庞晋山, 邓爱华

(新会出入境检验检疫局, 广东 江门 529100)

摘要: 建立了液相微萃取/高效液相色谱联用(LPME/HPLC)技术同时测定环境水中痕量异丙隆、秀谷隆和灭草隆除草剂的分析方法。考察了不同萃取条件及测定条件对检测结果的影响。优化后的萃取条件为: 6 μL 正辛醇作萃取剂, 液滴体积 3 μL , 搅拌速度 450 r/min, 萃取 30 min。结果表明, 在优化条件下, 3种除草剂的质量浓度在 0.5~800 $\mu\text{g/L}$ 范围内与其峰面积呈良好线性, 相关系数为 0.995 8~0.998 3, 异丙隆、秀谷隆和灭草隆的富集倍数分别为 510、490 和 350 倍, 检出限分别为 0.2、0.2、0.4 $\mu\text{g/L}$, 加标回收率为 62%~92%, 相对标准偏差(RSD)为 4.3%~7.7%。该法灵敏度高、操作简单、快速, 能满足环境水样中痕量苯脲类除草剂残留的分析要求。

关键词: 液相微萃取(LPME); 高效液相色谱(HPLC); 环境水样; 苯脲类除草剂

中图分类号: O657.72; TQ457 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2011)07-0784-05

doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2011.07.014

Determination of Trace Phenylurea Herbicides in Environmental Water by Liquid Phase Microextraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography

PENG Xiao-jun^{*}, PANG Jin-shan, DENG Ai-hua

(Xinhui Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Jiangmen 529100, China)

Abstract: A novel method was developed for the simultaneous determination of three trace phenylurea herbicides, such as isoproturon, metobromuron and monuron in environmental water, by liquid phase microextraction(LPME) coupled with high performance liquid chromatography(HPLC). The effects of different extraction and measuring conditions on detection were investigated. The optimal experimental conditions were as follows: organic solvent: 6 mL octanol, drop volume: 3 μL , stirring speed: 450 r/min, extraction time: 30 min. Under the optimal conditions, the enrichment factors of isoproturon, metobromuron and monuron were 510, 490 and 350, respectively. There was a good linearity between peak area and concentration of three herbicides in the range of 0.5-800 $\mu\text{g/L}$, with correlation coefficient of 0.995 8-0.998 3. The detection limits of three phenylurea herbicides ranged from 0.2 $\mu\text{g/L}$ to 0.4 $\mu\text{g/L}$. The spiked recoveries of three herbicides from environmental water samples were in the range of 62%-92% with relative standard deviations(RSDs) no more than 7.7%. The method showed the advantages of sensitivity, simplicity and fastness for the use of very small amounts of organic solvent, and could meet the requirements of the determination of trace phenylurea herbicides in environmental water samples.

Key words: liquid phase microextraction(LPME); high performance liquid chromatography(HPLC); environmental water sample; phenylurea herbicide

异丙隆、秀谷隆和灭草隆是农业上广泛用于杀除玉米、大豆、棉花及土豆等田间杂草的苯脲类除草剂, 可通过多种途径污染土壤、地表水和地下水^[1-4]。欧盟法规规定单个苯脲类农药在水中的残留量不得大于 0.1 $\mu\text{g/L}$, 总农药残留量不得大于 0.5 $\mu\text{g/L}$ ^[5]。由于大多数苯脲类除草剂在环境中痕量且热不稳定, 给分析带来了困难^[6]。用气相色谱检测时, 样品必须经过柱前衍生且使用质谱检测器, 才

收稿日期: 2011-01-27; 修回日期: 2011-03-08

* 通讯作者: 彭晓俊, 硕士, 工程师, 研究方向: 理化检测和仪器分析, Tel: 0750-6312076, E-mail: peng2129@yahoo.com.cn

能获得较高的灵敏度^[7],对仪器配置的要求很高。而采用高效液相色谱法测定,样品无需衍生可直接进行分析。苯脲类除草剂传统的前处理方法如液-液萃取法、固相萃取法等需要大量的有机溶剂,步骤繁琐费时。液相微萃取(LPME)是利用悬挂于色谱进样针针尖的微升级有机溶剂液珠进行萃取的微型液-液萃取技术,有机溶剂用量极少,并且萃取后溶剂可全部转移至液相色谱仪进行后续分析,不造成二次污染,具有富集率较高、操作简单、绿色环保等优点^[8-9]。自1996年 Jeannot 等^[10]首次报道了LPME技术以来,该技术在液体样品处理方面得到了广泛的发展和应用。目前,LPME技术已成功用于食品^[11-12]、生物样品^[13]以及环境样品^[14-15],使样品预处理过程得到极大简化。

本文建立了LPME/HPLC测定水中痕量异丙隆、秀谷隆和灭草隆3种除草剂的分析方法,该法操作简单快捷,有机溶剂用量小,富集倍数高,是一种环境友好型的样品前处理技术。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC-20 AT 高效液相色谱仪(岛津公司),包括SPD-M20A二极管阵列检测器,Lcsolution Ver1.24色谱工作站;10 μL 微量进样针(Hamilton公司);恒温磁力搅拌器、样品瓶和微型转子(Supelco公司)。

异丙隆(纯度大于99.5%)、秀谷隆(纯度大于99%)、灭草隆(纯度大于99%),均购于安谱公司。所用其他试剂均为色谱纯,实验用水为去离子蒸馏水。

1.2 仪器工作条件

色谱条件: Discover C_{18} 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水(70:30); 流速: 1.00 mL/min; 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$; 进样体积: 20 μL ; 检测波长: 245 nm。

1.3 样品前处理

取200 mL水样以0.45 μm 滤膜过滤,在萃取瓶中加入10 mL滤液及搅拌磁子,用10 μL 液相微量进样器取6 μL 正辛醇(注意排空气泡),将针尖插入液面与瓶底的中间位置,缓慢推出3 μL 萃取剂,使其形成一小液滴悬挂在进样器的尖端(见图1),以450 r/min搅拌速度萃取30 min,收回液滴直接进样分析^[16]。

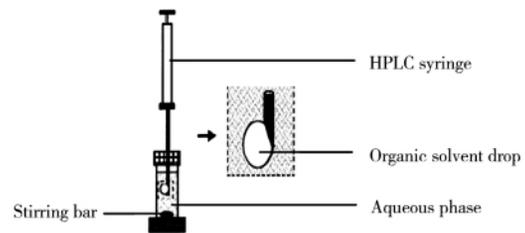


图1 液相微萃取示意图

Fig. 1 Schematic diagram of liquid phase microextraction

2 结果与讨论

2.1 HPLC 条件的优化

分别对异丙隆、秀谷隆和灭草隆的标准溶液进行紫外波长扫描,3种苯脲除草剂在205 nm和245 nm处有最大吸收,考虑到205 nm波长处杂质峰干扰较大,因此选用245 nm作为最佳检测波长。

以不同体积比的甲醇-水溶液为流动相对混合除草剂标准溶液进行考察,结果发现,当甲醇含量大于80%时,3种除草剂的保留时间过短,不能实现良好的分离,甲醇含量小于45%时,保留时间过长且峰形不佳。而选择甲醇-水(70:30)为流动相时,分离效果最佳。

2.2 萃取剂的选择

萃取剂决定LPME中分析物的富集效率。萃取剂应对目标物有高选择性,同时在水中的溶解性较小,且挥发性弱。本实验分别以三氯乙烷、环己烷、甲苯和正辛醇为接受相,对峰面积进行了比较(见图2)。结果表明,正辛醇的萃取效果明显好于三氯乙烷、环己烷、甲苯,且稳定性较好,故选择正辛醇作为最佳萃取剂。

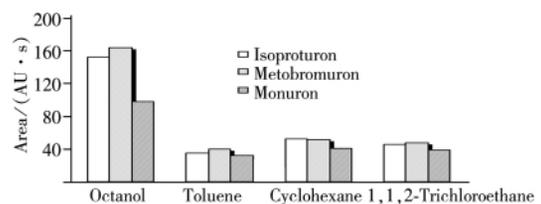


图2 有机溶剂对萃取效率的影响

Fig. 2 Effect of organic solvents on extraction efficiency

2.3 液滴体积的选择

一般液滴体积越大,对分析物的萃取效果越好,方法的灵敏度越高,但增大液滴体积的同时也降

低了液滴悬挂的稳定性。实验考察了液滴体积对 3 种除草剂萃取效率的影响, 结果表明, 当液滴体积为 3 μL 时, 萃取效率较高, 但大于 3 μL 后, 液滴悬挂的稳定性明显变差, 所以选择 3 μL 作为最佳液滴体积。

2.4 pH 值与盐浓度的选择

考察了试样溶液的 pH 值为 2.0 ~ 12.0 时对目标化合物回收率的影响。结果显示, 溶液的 pH 值对目标化合物的回收率影响不大, 考虑到环境样品溶液的 pH 值通常为弱酸性或弱碱性, 对于实际水样, 无需调节 pH 值, 直接进行分析。

在待测样品中添加无机盐, 利用盐析作用提高溶液的离子强度, 降低目标物在样品中的溶解度, 可达到提高萃取效率的目的^[9]。但对于苯脲类而言, 盐的存在会引起二次效应并改变被萃取物的物理性质, 从而降低目标物进入液滴的扩散系数^[17-18]。本实验尝试在试液中加入 NaCl, 结果表明, 随着 NaCl 溶液浓度的提高, 目标物的萃取效率反而降低, 因此选择不加 NaCl。

2.5 萃取时间及搅拌速度的选择

液相微萃取是分析物在样品与接受相(萃取剂)之间分配平衡的过程, 需要一定的时间, 但时间过长会影响分析速度, 同时加大接受相在样品中的溶解损失。考察了不同萃取时间对萃取效率的影响(见图 3)。结果表明, 萃取时间为 30 min 时, 萃取效果最佳, 继续延长萃取时间, 会导致萃取溶剂部分损失, 降低萃取效率, 故选择最佳萃取时间为 30 min。

搅拌样品可以缩短萃取时间, 提高萃取效率和重复性, 但搅拌速度过快易产生气泡, 加快接受相溶剂的挥发, 同时易使接受相脱落。考察了搅速分别为 0、100、200、300、350、400、450、500、550、600 r/min 时对萃取效率的影响, 结果表明, 搅速大于 450 r/min 时萃取效率的增幅趋于缓和, 且较高的搅速会使悬挂在针尖上的液滴在强的外力作用下悬挂不稳而掉落或分散到水相中^[8,10], 从而极大地影响萃取的准确性和重复性, 因此本文选择最佳搅拌速度为 450 r/min。

2.6 样品的富集倍数

为验证 LPME/HPLC 法对异丙隆、秀谷隆和灭草隆的萃取富集效果及萃取前后分析物性质的变化, 将这 3 种物质标准溶液的直接进样色谱图与经液相微萃取富集后进样的色谱图进行比较^[19]。结果显示, 3 种除草剂的保留时间与色谱峰形基本无变化, 说明萃取后分析物的性质未发生变化。按公式 $E = C_1/C_2$ 计算富集倍数(其中 C_1 为分析物在萃取剂中的浓度, C_2 为样品溶液的初始浓度), 得到异丙隆、秀谷隆和灭草隆的富集倍数分别为 510、490 和 350 倍。说明本法对 3 种除草剂均有一定程度的富集, 有利于样品中痕量除草剂的检测。

2.7 方法的线性范围、检出限与精密度

在优化条件下, 配制系列质量浓度的除草剂标准溶液进行测定, 分别以峰面积对质量浓度作标准曲线。对 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的混合标准溶液平行测定 6 次, 计算相对标准偏差(RSD), 结果见表 1。根据 IUPAC 的定义计算方法的检出限^[20], 方法的线性范围、相关系数、检出限和精密度数据见表 1。3 种除草剂的检出限为 0.2 ~ 0.4 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 相对标准偏差为 1.8 ~ 3.2%。方法显示了较好的灵敏度和精密度。

表 1 3 种苯脲类除草剂的线性范围、相关系数、检出限和相对标准偏差

Table 1 Linear ranges, correlation coefficients(r), detection limits and RSDs of three phenylurea herbicides

Herbicide	Linear range $\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	r	Detection limit $\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	RSD $s_r/\%$
Isoproturon(异丙隆)	0.5 ~ 400	0.995 8	0.2	1.8
Metobromuron(秀谷隆)	0.5 ~ 400	0.997 6	0.2	3.2
Monuron(灭草隆)	1 ~ 800	0.998 3	0.4	2.6

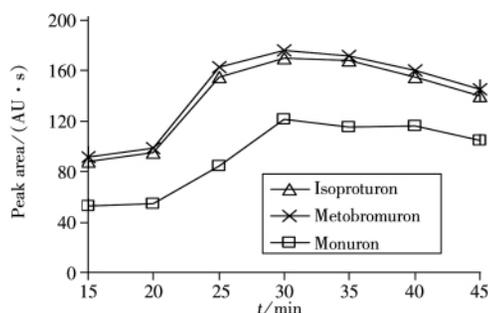


图 3 萃取时间对萃取效率的影响

Fig. 3 Effect of extraction time on extraction efficiency

2.8 水样测定与加标回收率

在优化条件下测定了地下水、生产用水等3个水样,均未检出除草剂。分别在每个样品中加入除草剂混合标准样品,测定其加标回收率,分析结果见表2。结果表明,3种除草剂的回收率为62%~92%,RSD为4.3%~7.7%,满足痕量分析的要求。3种除草剂混合标准溶液、地下水空白样品及空白加标样品的色谱图见图4。

表2 3种苯脲类除草剂在水样中的加标回收率
Table 2 Spiked recoveries of three phenylurea herbicides in water sample

Sample	Isoproturon			Metobromuron			Monuron		
	Added	Recovery	RSD	Added	Recovery	RSD	Added	Recovery	RSD
	$\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$R/\%$	$s_r/\%$	$\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$R/\%$	$s_r/\%$	$\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$R/\%$	$s_r/\%$
Groundwater(地下水)	0.5	63	4.8	0.5	65	7.1	0.5	66	6.5
	5	67	7.7	5	68	6.5	10	67	5.8
	30	83	6.0	30	81	5.5	60	85	4.8
Process water 1(生产水样1)	0.5	68	5.9	0.5	66	5.9	0.5	70	4.9
	5	71	5.8	5	62	7.3	10	71	6.3
	30	80	6.2	30	73	6.8	60	92	5.4
Process water 2(生产水样2)	0.5	65	6.8	0.5	69	6.3	0.5	63	7.5
	5	66	5.2	5	65	5.7	10	69	6.8
	30	72	5.6	30	86	4.7	60	76	4.3

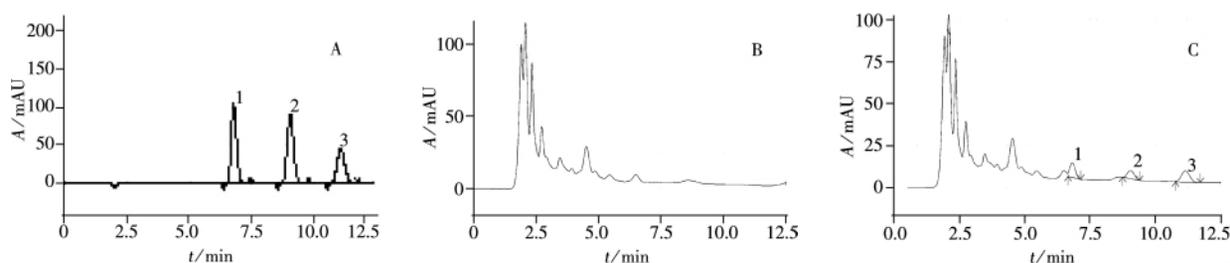


图4 3种苯脲类除草剂混合标准溶液(A)、地下水空白样品(B)和地下水加标样品(C)的色谱图

Fig. 4 Chromatograms of three phenylurea herbicides mixture standards at 3 $\mu\text{g}/\text{L}$ (A), blank groundwater sample (B) and groundwater sample spiked with 0.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ three phenylurea herbicides standards (C)
1. isoproturon; 2. metobromuron; 3. monuron

3 结论

本文建立的环境水样中痕量苯脲类除草剂的LPME/HPLC测定法,前处理技术集采样、萃取、浓缩于一体,操作简单快速、环境友好、杂质干扰少,方法的灵敏度高,可用于水中痕量苯脲类除草剂的定量分析。

参考文献:

- [1] EICHELBERGER J, LICHTENBERG J. Persistence of pesticides in river water [J]. Environ Sci Technol, 1971, 5(6): 541-544.
- [2] 全国农药残留试验研究协作组. 农药残留量实用检测方法手册: 第2卷[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 45.
- [3] 主要贸易国家和地区食品中农兽药残留限量标准 食品卷[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006: 46.
- [4] GIMENO R, MARC R, BORRULL F. Determination of organic contaminants in coastal water [J]. Trends Anal Chem, 2004, 23(4): 341-350.
- [5] 支建梁, 欧菊芳, 陈铭学, 朱智伟. 多种水样和植物样品中苯脲类除草剂残留分析研究进展 [J]. 中国环境监测, 2007, 23(5): 10-14.
- [6] MART R, GONZALO E, HEM E. Simultaneous determination of phenyl and sulfonylurea herbicides in water by solid-phase extraction and liquid chromatography with UV diode array or mass spectrometric detection [J]. Anal Chim Acta, 2004, 517(1): 71-79.
- [7] GERECKE A, TIXIER C, BARTELS T. Determination of phenylurea herbicides in natural waters at concentrations below 1 ng/L using solid-phase extraction, derivatization, and solid-phase microextraction gas chromatography mass spectrometry [J]. J Chromatogr: A, 2001, 930(1/2): 9-19.

- [8] PSILLAKIS E, KALOGERAKIS N. Developments in single-drop microextraction [J]. *Trends Anal Chem*, 2002, 21(1): 54–64.
- [9] 赵汝松, 徐晓白, 刘秀芬. 液相微萃取技术的研究进展 [J]. *分析化学*, 2004, 32(9): 1246–1251.
- [10] JEANNOT M A, CANTWELL F. Solvent microextraction into a single drop [J]. *Anal Chem*, 1996, 68(13): 2236–2240.
- [11] 袁张菁, 丁健桦, 邱昌福, 刘艳, 林海禄, 张慧. 浸入式三相液相微萃取—高效液相色谱法对饮料中 7 种有机酸的同时测定 [J]. *分析测试学报*, 2010, 29(6): 589–593.
- [12] 胡玉玲, 常蓓蓓, 罗学军, 李攻科. 液相微萃取—高效液相色谱法分析葡萄汁中多酚类化合物 [J]. *分析试验室*, 2009, 28(8): 22–25.
- [13] 杨新磊, 罗明标, 唐毓萍, 丁健桦. 液相微萃取技术在生物样品药物检测中的应用 [J]. *药物分析杂志*, 2007, 27(12): 1998–2002.
- [14] 孙福生, 董杰. 环境水样中百菌清残留的单滴微萃取—反相液相色谱测定 [J]. *分析测试学报*, 2009, 28(7): 863–866.
- [15] LAMBROPOULOU D, KONSTANTINOUB I, ALBANISA T. Recent developments in headspace microextraction techniques for the analysis of environmental contaminants in different matrices [J]. *J Chromatogr: A*, 2007, 1152(1/2): 70–96.
- [16] 马继平, 陈令新, 丁明玉. 微液相色谱分离的在线样品预处理技术—固相微萃取和膜萃取 [J]. *分析测试学报*, 2005, 24(4): 116–121.
- [17] 杨新磊, 罗明标, 唐毓萍. 三相中空纤维式液相微萃取用于快速富集血浆中的尼古丁 [J]. *色谱*, 2006, 24(6): 555–559.
- [18] PSILLAKIS E, KALOGERAKIS N. Application of solvent microextraction to the analysis of nitroaromatic explosives in water samples [J]. *J Chromatogr: A*, 2001, 907(2): 211–219.
- [19] 肖小华, 尹怡, 胡玉玲, 李攻科. 液相微萃取—高效液相色谱联用分析化妆品中痕量的雌激素 [J]. *色谱*, 2007, 25(2): 234–237.
- [20] 水和废水监测分析方法编委会. 水和废水监测分析方法 [M]. 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2004: 28–29.