

固相萃取-高效液相色谱联用检测饮用水中的磺酰脲类除草剂

赵晓磊, 王成忠, 李龙飞, 何金兴

(齐鲁工业大学食品与生物工程学院, 山东济南 250353)

摘要: 本研究基于固相萃取-高效液相色谱联用技术, 建立了同时检测饮用水中两种磺酰脲类除草剂—苯磺隆、氯磺隆农药残留的方法。用甲基丙烯酸、乙二醇二甲基丙烯酸酯、偶氮二异丁腈分别作为功能单体、交联剂和引发剂, 合成新型的高选择性材料, 并将此吸附材料用做固相萃取的吸附剂。同时对洗脱剂的种类、体积以及样品的 pH 进行了优化。结果表明, 在 0.1 mg/L~5 mg/L 的范围内两种物质线性关系良好, 最低检出限分别为 0.74 $\mu\text{g/L}$ 和 0.81 $\mu\text{g/L}$, 7 次重复实验精密度分别为 1.30% 和 2.10%。最佳的洗脱条件下, 在饮用水中加标三个不同的浓度(10 $\mu\text{g/L}$, 15 $\mu\text{g/L}$, 20 $\mu\text{g/L}$)的苯磺隆和氯磺隆混合物, 经固相萃取后测得两种目标物的回收率可达到 70.14~80.24% 和 76.52~106.03%。结果表明该方法可以用于饮用水中磺酰脲类除草剂的定量研究

关键词: 固相萃取; 高效液相色谱; 磺酰脲类除草剂

文章编号: 1673-9078(2014)2-264-268

The Determination of Sulfonylurea Herbicides in Drinking Water by Solid-phase Extraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography

ZHAO Xiao-lei, WANG Cheng-zhong, LI Long-fei, HE Jin-xing

(College of Food and Biological Engineering, Qilu University of Technology, Jinan 250353, China)

Abstract: The determination of tribenuron-methyl and chlorsulfuron belonged to sulfonylurea herbicides in drinking water was developed based on solid-phase extraction coupled with high performance liquid chromatography (SPE-HPLC) technology. The high selectivity material was synthesized using methacrylic acid as function monomer, ethylene glycol dimethacrylate as cross-linker, and azodiisobutyronitrile as initiator. Then, tribenuron-methyl and chlorsulfuron were extracted by employing the material as absorbent. Several condition parameters, such as elution solvents, volume and sample pH, were optimized to obtain high recoveries. It was found that the linearity was good ranging from 0.1 mg/L to 5 mg/L; the limit of detections of this method for tribenuron-methyl and chlorsulfuron were 0.74 $\mu\text{g/L}$ and 0.81 $\mu\text{g/L}$, respectively; and the RSD for seven replicate extractions was 1.30% and 2.10%, respectively. Under the optimized conditions, the blank water spiked with different levels of tribenuron-methyl and chlorsulfuron mixture (10 $\mu\text{g/L}$, 15 $\mu\text{g/L}$, 20 $\mu\text{g/L}$) were extracted and determined with the same method, the recoveries of tribenuron-methyl and chlorsulfuron were 70.14~80.24% and 76.52~106.03%, respectively. This method can be applied for the quantitative analysis of sulfonylurea herbicides in drinking water.

Key words: solid-phase extraction; high performance liquid chromatography; sulfonylurea herbicide

磺酰脲类除草剂由芳环、磺酰脲桥、杂环三部分组成^[1], 是一类弱酸性除草剂^[2], 主要通过抑制乙酰乳酸合成酶, 阻止支链氨基酸的合成达到除草的效果^[3]。

收稿日期: 2013-09-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31301470); 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金 (BS2012SW018)

作者简介: 赵晓磊 (1989-), 女, 硕士研究生, 从事食品安全与检测工作
通讯作者: 何金兴 (1978-), 男, 博士, 副教授, 从事食品安全与检测工作

目前, 磺酰脲类除草剂以其广谱、低毒、高效的特点成为世界上使用量最大的一类除草剂, 主要应用于大豆田、玉米田、麦类作物田杂草和其它杂草的防治。目前已经有大约 30 个商品实现了商品化。由于这类除草剂不易挥发, 不易光解, 在土壤中残留的时间较长, 加之使用量巨大, 其在农作物中的残留的安全性引起了越来越多学者的关注。很多国家已经制定了磺酰脲类除草剂的最大残留限量, 例如欧盟规定荔枝中的啶嘧磺隆不能超过 0.01 mg/kg, 而我国在这方面发展的

比较缓慢,目前还没有相关规定。

对于微量磺酰脲类除草剂残留的检测方法主要是色谱法,包括气相色谱法^[4]、HPLC-UV^[5]、HPLC-DAD^[6]、HPLC-MS^[7]等。相较于 HPLC, HPLC-MS 不仅需要昂贵的仪器,而且检测费用较高,增加了检测成本,而气象色谱法则需要柱前衍生,使前处理过程变得复杂,所以越来越多的研究者将研究方向集中到高效液相色谱法。由于基质的复杂性,在进行样品分析前,对样品进行预处理、净化成为必不可少的一步。固相萃取技术以其操作简单,所用溶剂少,时间短,效率高的优点,打破传统的液-液萃取法的弊端,成为目前应用最多的样品前处理方法。国内外对磺酰脲类除草剂的研究基质主要集中在土壤^[8]和农作物^[9],对饮用水中的检测比较少。本文用自合成的新型材料作为固相萃取的吸附剂,通过固相萃取技术对饮用水样进行提取和净化,后经 HPLC 测定。该方法分离度高,萃取效果好,所用时间短,所需溶剂少,可以用于饮用水中苯磺隆、氯磺隆的检测。

1 材料和方法

1.1 仪器与试剂

岛津 LC-20AT 液相色谱仪,配有 PDA 检测器, Shimadzu 公司,日本;固相萃取仪, Supelco, USA。

甲醇,国药集团化学试剂有限公司,色谱纯;乙腈,天津市光复精细化工研究所,色谱纯;丙酮,莱阳经济技术开发区精细化工厂,分析纯;醋酸,天津博迪化工股份有限公司,分析纯;苯磺隆、氯磺隆,纯度为 99.9%,购于 Sigma 公司;甲基丙烯酸,中国医药集团上海化学试剂公司,分析纯;乙二醇二甲基丙烯酸酯, EDMA,上海晶纯试剂有限公司;偶氮二异丁腈, AIBN,天津科密欧化学试剂有限公司,其中 MAA 和 EDMA 在使用前要通过减压蒸馏进行精制, AIBN 需用 95% 乙醇重结晶后使用

苯磺隆、氯磺隆标准溶液的配制:准确称取苯磺隆、氯磺隆标准品 0.0500 g,分别用甲醇定容至 50 mL,配置浓度为 1000 mg/L 的母液,置于 4 °C 的冰箱保存。

混合溶液的配制:使用前,取上述配置好的母液,用去离子水稀释为 100 mg/L 的混合溶液。

实验所用的水样为济南当地饮用水水样。

1.2 实验方法

1.2.1 色谱条件

采用 Hypersil ODS C18 柱,进样量 20 μ L,流速 1 mL/min,检测波长为 230 nm,流动相条件:A(甲

醇):B(1%醋酸)=55:45

1.2.2 标准曲线的绘制

取苯磺隆、氯磺隆母液制备浓度为 10 mg/L 的混合溶液。以甲醇为溶剂,将混合液逐级稀释为 5 mg/L、2.5 mg/L、1.25 mg/L、0.625 mg/L、0.3125 mg/L,直接进样 20 μ L 进行分析。以标准样品的浓度为横坐标,其对应的峰面积为纵坐标绘制标准曲线。

1.2.3 固相萃取吸附剂的制备

将 1 mmol MAA 和 5 mL 乙腈、甲苯的混合液(1:1, V/V)置于 50 mL 圆底烧瓶中,150 转振荡 3 h 使溶液充分溶解,形成预聚合溶液。再加入 5 mmol 的交联剂(EDMA),25 mg 的引发剂(AIBN),超声 15 min,充 N₂ 15 min 保护后密封。将圆底烧瓶放在 60 °C 恒温水浴锅中孵化 24 h。反应完成后将固体研磨过筛备用。

1.2.4 样品处理

取水样 50 mL,经过 0.45 μ m 的纤维素膜过滤后,待净化。取 250 mg 的聚合物置于空的 5 mL 的 SPE 柱内,保留两边的垫片。在上样前,首先用 3 mL 甲醇和双蒸水对固相萃取柱进行活化和平衡,将已经过滤的 50 mL 的样品溶液以 1 mL/min 的流速上样,抽干,用 3 mL 的甲醇洗脱小柱,收集洗脱液。室温下用 N₂ 将洗脱液吹干后,用 1 mL 的甲醇复溶,最后经 HPLC 分析。

1.3 数据处理

数据采用 EXCEL 2003 及 SPSS 17.0 进行处理。

2 结果与讨论

2.1 检测波长的选择

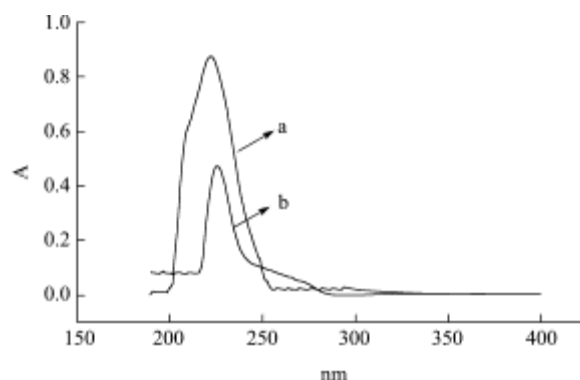


图1 苯磺隆、氯磺隆的紫外扫描图

Fig.1 The UV scan of tribenuron-methyl and chlorsulfuron

注:a为苯磺隆,b为氯磺隆。

取 10 mg/L 苯磺隆、氯磺隆标准溶液,用紫外可见分光光度计进行 400~190 nm 全波段扫描,确定苯磺隆、氯磺隆的最大吸收波长,全波段扫描图见图 1。

由图可知, 苯磺隆的最大吸收波长在 230 nm 处, 氯磺隆的最大吸收波长在 222 nm 处, 由于低波长下干扰物质较多, 故本实验选择 230 nm 作为苯磺隆、氯磺隆的检测波长。

2.2 流动相的选择

磺酰脲类除草剂是一类弱酸性除草剂, 所以在流动相的水相中添加乙酸来增强苯磺隆、氯磺隆的分离度。参照已有文献^[1], pH=3 的双蒸水作为流动相的水相 (流动相 B)。分别用甲醇和乙腈配制流动相 A, 比较两种溶剂对苯磺隆、氯磺隆的分离效果。实验结果表明两种溶剂均能较好的分离苯磺隆、氯磺隆。由于乙腈的毒性较大, 本实验选择甲醇作为流动相中的有机相 (流动相 A)。同时优化了流动相 A 和流动相 B 的不同配比 (60:40、55:45、40:60), 选择最佳的分离条件。实验结果表明, 当甲醇:水 (pH=3) 为 55:45 时, 两种物质能够完全分离, 并且在 11 min 内完成, 灵敏度较高。所以本实验选用甲醇:水 (pH=3) 作为分离苯磺隆、氯磺隆的流动相。

2.3 固相萃取条件的优化

以制备的聚合物作为固相萃取吸附材料, 建立固相萃取-高效液相色谱联用检测两种磺酰脲类除草剂残留。为了达到最好的富集效果、检测分离效果及灵敏度和精密度, 必须对固相萃取条件进行优化, 本研究主要优化了洗脱剂的组成、体积及样品的 pH。

2.3.1 洗脱剂种类的选择

洗脱剂的组成在整个萃取过程中处于最重要的地位, 它能够决定分析物是否被完全洗脱, 从而影响分析物的回收率。为了将固相萃取柱吸附的苯磺隆、氯磺隆洗脱下来, 选用 50 mL 10 μg/L 的加标样品溶液上样, 比较 3 mL 甲醇、二氯甲烷-甲醇 (1:1, V/V)、丙酮-甲醇 (1:1, V/V) 和氨水四种溶剂对苯磺隆、氯磺隆洗脱效果的影响 (见图 2)。

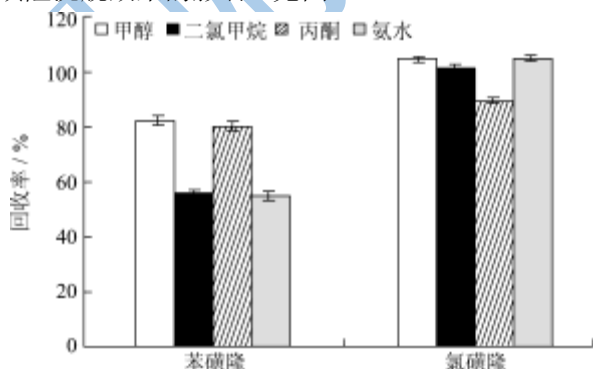


图 2 不同洗脱剂对分析物回收率的影响

Fig 2 The effect of different elutions on analyte recovery

由图 2 可知, 四种溶剂对苯磺隆、氯磺隆均有一定的洗脱效果。但是当用甲醇作为洗脱剂时, 苯磺隆、氯磺隆的回收率均达到最大, 分别为 82.7% 和 104.5%, 可以满足痕量物质的分析要求。故本实验选用甲醇作为苯磺隆、氯磺隆的洗脱剂。

2.3.2 洗脱剂体积的优化

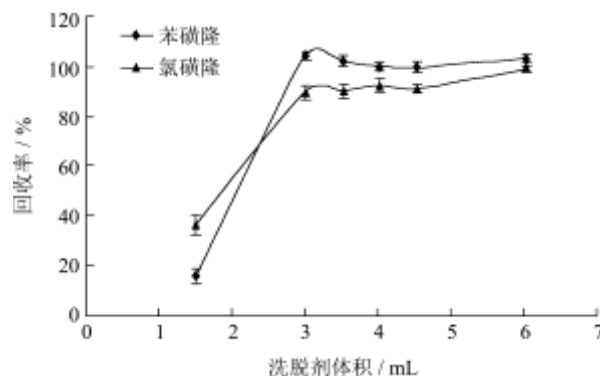


图 3 不同的洗脱剂体积对回收率的影响

Fig 3 The effect of different elution volume on analyte recovery

注: 洗脱剂体积分别为 1.5 mL、3 mL、3.5 mL、4 mL、4.5 mL、6 mL。

为了确定洗脱剂的用量, 用不同体积的甲醇 (1.5 mL、3 mL、3.5 mL、4 mL、4.5 mL、6 mL) 对苯磺隆、氯磺隆进行洗脱, 优化洗脱剂的用量 (见图 3)。由图 3 可以看出, 洗脱剂在 1.5~3 mL 范围内, 两种物质的回收率均呈现快速上升的趋势, 而在 3~6 mL 之间回收率没有明显的变化。为了节省溶剂的使用量、减少溶剂对人类的危害, 最终选用 3 mL 的甲醇作为洗脱剂。

2.3.3 样品 pH 值对回收率的影响

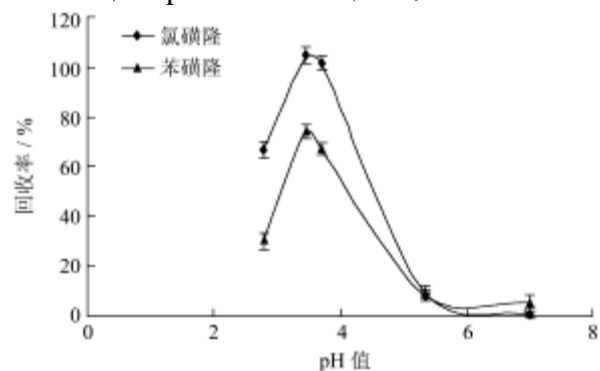


图 4 不同的样品 pH 对回收率的影响

Fig 4 The effect of different pH values on analyte recovery

注: pH=2.8、3.45、3.7、5.33、7。

样品的 pH 可以决定分析物在溶液中的存在状态^[1], 影响目标分析物与吸附剂之间的结合作用。在本实验中, 以 10 μg/L 的苯磺隆、氯磺隆混合标液作为工作液, 考察了样品溶液的 pH 在 2~7 之间, 上样流速 1 mL/min 的条件下, 上样溶液的酸度对分析物回收

率的影响(见图4)。由图4可以看出, pH在2.8~3.45之间时, 随着pH值的增加, 两种物质的回收率逐渐增大, pH在3.45~7之间回收率明显下降。当样品溶液的pH为7时, 苯磺隆和氯磺隆的回收率已经降到了5.81%和1.10%。这可能是由于样品溶液的pH值为3.45时, 极性最小, 有利于吸附剂与目标分析物的结合。故本实验上样样品溶液的pH值选为3.45。

2.4 分析方法的验证

2.4.1 分析方法的线性关系、线性范围、最低检出限及精密度

为了考察该方法的线性关系, 用100 mg/L的混合母液配制5个不同浓度的混合工作液(5 mg/L、2.5 mg/L、1.25 mg/L、0.625 mg/L、0.3125 mg/L)。在最佳的萃取条件下, 富集50 mL样品溶液, 收集液吹干后用1 mL甲醇复溶直接进样分析。以样品浓度为横坐标, 其对应的峰面积为纵坐标, 做校准曲线。同时, 以0.5 mg/L的混合溶液作为工作液, 在同一条件下重复进样7次, 检测仪器的精密度。根据S/N=3得到苯磺隆、氯磺隆的检出限。结果见表1。

表1 测定方法的线性范围、相关系数、最低检出限及精密度

Table 1 Linear range, correlation coefficient, LOD and RSD of

SPE-HPLC				
分析物	线性范围/(mg/L)	相关系数/R ²	最低检出限/(μg/L)	精密度(n=7)/%
苯磺隆	0.1~5	0.9999	0.74	1.30
氯磺隆	0.1~5	0.9998	0.81	2.10

由表1可以看出, 在0.1 mg/L~5 mg/L的范围内, 苯磺隆、氯磺隆的R²>0.99, 两种物质的线性关系良好, 表明该方法可以用于检测苯磺隆、氯磺隆的残留。检测的苯磺隆、氯磺隆的精密度分别为1.3%和2.1%。由S/N=3得出的苯磺隆、氯磺隆的最低检测限分别为0.74 μg/L和0.81 μg/L。

2.4.2 不同的填料对吸附效果的影响

为了考察所合成吸附材料的应用价值, 同时将商品化的Alumina-A作为固相萃取的吸附剂, 在相同的萃取条件下, 比较两种吸附材料对苯磺隆、氯磺隆的吸附效果。结果见图5。从图5可以看出, 不论苯磺隆还是氯磺隆, 合成材料作为吸附剂时比Alumina-A作为吸附剂时的回收率大, 可以达到74.30~104.48%。而商品化的Alumina-A对苯磺隆、氯磺隆的回收率仅能达到21.89~41.17%。由此可以看出, 合成的材料具有相对较强的吸附能力及较高的实际应用价值, 可以将其作为固相萃取吸附剂用来检测饮用水中磺酰脲类除草剂。

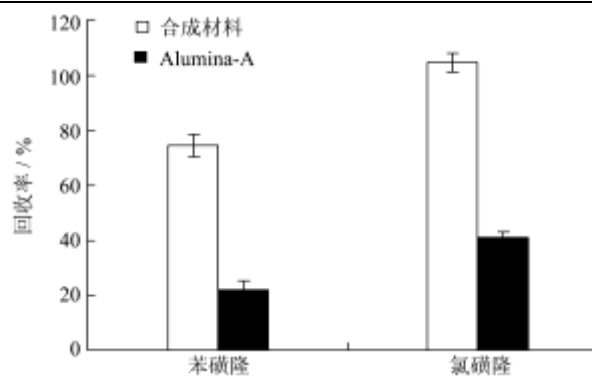


图5 不同的材料的吸附性能比较

Fig 5 Comparison on adsorption of different materials

2.5 实际样品的检测

表2 饮用水水样的加标回收率

Table 2 Recovery of spiked drinking water samples

分析物	加标浓度(RSD)/%		
	20 μg/L	15 μg/L	10 μg/L
苯磺隆	80.24 (6.22)	70.14 (4.99)	76.28 (1.56)
氯磺隆	103.20 (6.34)	106.03 (1.54)	76.52 (2.81)

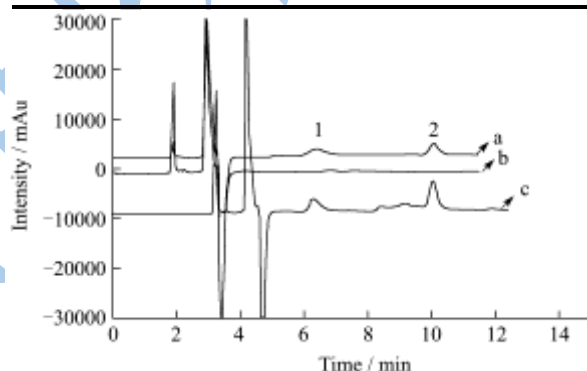


图6 标准样品、空白样品及加标样品(20 μg/L)的色谱图

Fig 6 Chromatograms of standard solutions, blank samples and spiked samples

注: 1为苯磺隆, 2为氯磺隆; a为标准样品, b为空白样品, c为加标样品。

为了验证该方法的可行性, 以本地的饮用水水样作为样品进行检测。经检测, 饮用水水样中未检出苯磺隆、氯磺隆的残留。为了进一步验证该方法的可行性, 对空白样品进行加标回收实验, 样品经过加标后最终浓度为0.02 mg/L、0.015 mg/L、0.010 mg/L。样品经过固相萃取、过膜, 进行HPLC分析, 平行测定3次, 计算加标回收率, 结果见表2。实际的样品色谱图见图6。由表2可知, 饮用水中苯磺隆和氯磺隆的加标回收率分别在70.14~80.24%和76.52~106.03%之间, RSD在1.56~6.34之间。证明SPE-HPLC方法对于检测饮用水中苯磺隆和氯磺隆的定量和定性分析均符合要求, 可以用于其检测。而且从图6可以看出, 样品

在经过前处理后, 残留杂质均在 5 min 之前出峰, 对目标物的检测没有什么影响。

3 结论

本研究用一种较简单的方法合成具有较强吸附能力的新型材料, 并成功将其用作固相萃取的吸附剂。对固相萃取过程中洗脱剂的组成和体积, 样品溶液的 pH 等因素进行了优化。并对该方法进行了方法验证和实际样品的检测, 实验证明, SPE-HPLC 方法对于饮用水中磺酰脲类除草剂的定量和定性检测具有可行性。该方法灵敏度高、选择性强、所用的溶剂少, 对人体的危害小, 并且分析时间较短, 可以达到 0.74 $\mu\text{g/L}$ 和 0.81 $\mu\text{g/L}$ 的检出限。在以后的研究中, 可以该方法用在其他的磺酰脲类除草剂或者其他基质中磺酰脲类除草剂的检测。

参考文献

- [1] 刘锦霞,张莹,丁利.高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中 20 种磺酰脲类除草剂残留[J].分析化学, 2011, 39(5): 664-669
Liu J X, Zhang Y, Ding L. Determination of twenty Sulfonylurea Herbicides in Animal Origin Food by High performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2011, 39(5): 664-669
- [2] Duggleby R G, Pang S S. Acetohydroxyacid synthase [J]. Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2000, 33(1): 1-36
- [3] 岳霞丽,张新萍,董元彦.固相萃取-高效液相色谱法测定水体中苯嘧磺隆的残留量[J].光谱实验室,2006,23(2):321-323
Yue X L, Zhang X P, Dong Y Y. Determination of Bensulfuron-Methyl Residues in Water by High Performance Liquid Chromatography with Solid Phase Extraction [J]. Guangpu Shiyanshi (Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory), 2006, 23(2): 321-323
- [4] Anisuzzaman A K M, Storehalder T, Ogg N. ANYL 282-Efficient gas chromatographic method for the analysis of sulfonylurea herbicides[C]//ABSTRACTS OF PAPERS OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. 1155 16TH ST, NW, WASHINGTON, DC 20036 USA: AMER CHEMICAL SOC, 2006, 232
- [5] Wu Q, Wang C, Liu Z, et al. Dispersive solid-phase extraction followed by dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of some sulfonylurea herbicides in soil by high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216(29): 5504-5510
- [6] Gallitzendörfer R, Timm T, Koch D, et al. Simultaneous Determination of 12 Sulfonylurea Herbicides in Drinking Water after SPE by LC-DAD [J]. Chromatographia, 2011, 73(7-8): 813-816
- [7] Fang G, Wang X, Wang S. Multiwalled carbon nanotubes as SPE Adsorbents for Simultaneous Determination of Seven Sulfonylurea Herbicides in Environmental Water by LC-MS-MS[J].Chromatographia, 2010, 72(5-6): 403-409
- [8] Zhang S, Yin X, Yang Q, et al. Determination of some sulfonylurea herbicides in soil by a novel liquid-phase microextraction combined with sweeping micellar electrokinetic chromatography [J]. Analytical and bioanalytical chemistry, 2011, 401(3): 1071-1081
- [9] Tang K, Chen S, Gu X, et al. Preparation of molecularly imprinted solid phase extraction using bensulfuron-methyl imprinted polymer and clean-up for the sulfonylurea-herbicides in soybean [J]. Analytica chimica acta, 2008, 614(1): 112-118
- [10] 何成艳,黎源倩,王和兴.固相萃取-高效液相色谱测定水中 5 种磺酰脲类除草剂[J].现代预防医学,2008,35(3):538-540
HE C Y, LI Y Q, WANG H X. Determination on Five Sulfonylurea Herbicides in Water by High Performance Liquid Chromatography with Solid-phase Extraction [J]. Modern Preventive Medicine, 2008,35(3):538-540
- [11] Ye N, Shi P, Wang Q, et al. Graphene as Solid-Phase Extraction Adsorbent for CZE Determination of Sulfonamide Residues in Meat Samples [J].Chromatographia, 2013: 1-5