

高效液相色谱法筛查敌草快水剂中 隐性成分百草枯

李二虎, 张 耕, 张 武, 吴兵兵

(天津市农药检定所, 天津 300061)

Screening of Paraquat in Diquat Aqueous? Solution (AS) by HPLC

Li Erhu, Zhang Geng, Zhang Wu, Wu Bingbing (Tianjin Institute for the Control of Agrochemicals, Tianjin 300061, China)

Abstract: A method for screening of Paraquat in Diquat aqueous solution (AS) was developed by HPLC with Sodium heptane and acetonitrile buffer solution as mobile phase, ZORBAX SB - C18 and DAD at 290nm wavelength. The result showed that the good linearity were obtained in the range of 15 ~ 400mg/L with the correlation coefficient of 0.999 9. The relative standard deviation of 0.67% and 0.44%, the average recovery of 99.64% and 99.70% were obtained for paraquat and diquat respectively.

Key words: paraquat; diquat; HPLC; screening

摘 要: 本文采用高效液相色谱法, 以庚磺酸钠-乙腈-缓冲溶液为流动相, 使用以 ZORBAX SB - C₁₈、5 μ m 为填料的不锈钢柱和二极管阵列检测器, 在 290nm 波长下对敌草快水剂中隐性成分百草枯进行筛查。结果表明, 在 15 ~ 400mg/L 范围内, 百草枯和敌草快线性关系良好, 线性相关系数 R^2 均为 0.999 9, 相对标准偏差为 0.67% 和 0.44%, 平均回收率为 99.64% 和 99.70%。

关键词: 敌草快; 百草枯; 高效液相色谱; 筛查

中图分类号: S482.4; O657.7⁺2 文献标志码: A 文章编号: 1002-5480 (2018) 7-40-5

1 前言

百草枯和敌草快均属于联吡啶盐类除草

剂^[1], 可迅速被绿色植物组织吸收, 对恶性阔叶杂草有特效, 由于百草枯对哺乳动物的毒性

收稿日期: 2018-4-8

作者简介: 李二虎, 男, 高级农艺师, 主要从事农药管理及农药质量、残留检验工作。联系电话: 022-28450626; E-mail: lehjh@126.com。

极大,且无有效解毒药,误服后死亡率极高,目前百草枯水剂已被全面禁用,敌草快的毒性比百草枯低,具有一定的内吸性,速效性与百草枯匹敌甚至更甚一筹,使用方便,敌草快成为百草枯的有力替代者,但由于敌草快的成本高且杀草谱有限,近来,一些不法企业在敌草快水剂中添加隐性成分百草枯、有的甚至于将百草枯水剂标称为敌草快水剂进行销售扰乱农药市场,百草枯在血浆和食品中的检测方法已有研究报道^[2-5],但在同类的敌草快制剂中的检测方法未见报道,为了防止和打击不法企业的这种违法行为,作者对敌草快水剂中筛查隐性成分百草枯的检测方法进行了研究。

2 试验部分

2.1 试剂和溶液 乙腈:色谱纯;庚磺酸钠、磷酸、三乙胺:分析纯;水:纯净水(娃哈哈®);百草枯标样(已知质量分数为99.4%),

敌草快标样(已知质量分数为99.8%)均由农业部农药检定所提供;不同品牌敌草快水剂(由农药经营点购置)。

2.2 仪器 高效液相色谱仪:Agilent 1100,具有二极管阵列检测器和自动进样器;Agilent 色谱工作站;色谱柱:250mm×4.6mm(id)不锈钢柱,内装ZORBAX SB-C₁₈、5μm填充物;过滤器:滤膜孔径约0.45μm。

2.3 液相色谱操作条件 流动相:称取3.64g庚磺酸钠于900mL水中,加入16mL磷酸,再用8.0mL三乙胺调pH=2.0,加入100mL水,用0.45μm滤膜过滤,超声10min。流量:0.6mL/min;检测波长为:290nm;进样体积:10μL;保留时间:百草枯约为16.8min;敌草快约为18.8min。百草枯和敌草快标样的高效液相色谱图(图1、2)。

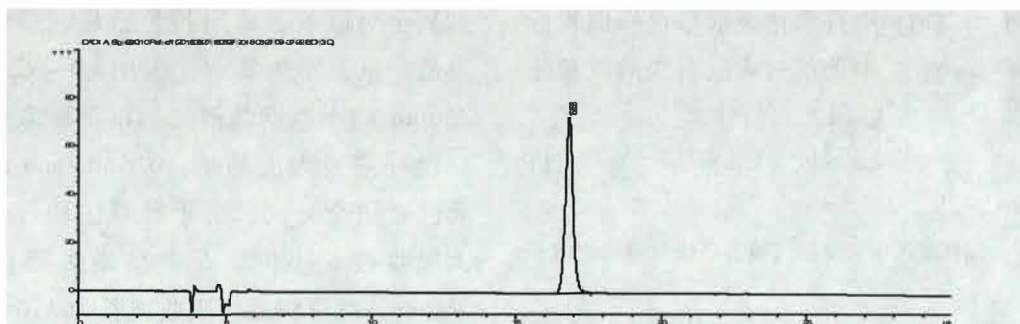


图1 百草枯标准溶液高效液相色谱图

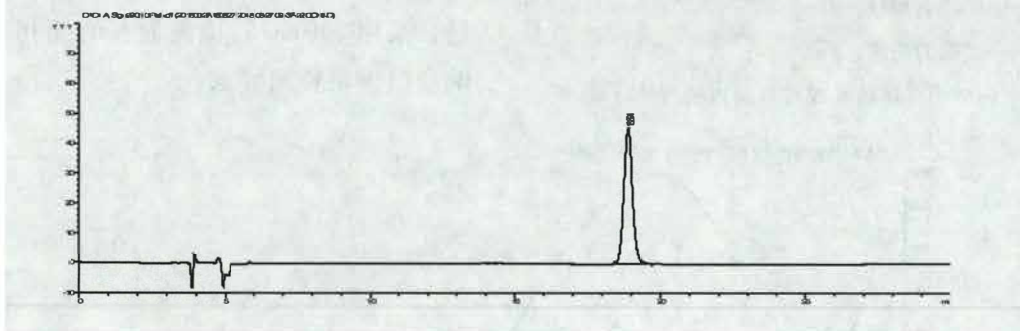


图2 敌草快标准溶液高效液相色谱图

2.4 测定步骤

2.4.1 标准溶液的配制 分别称取百草枯和敌

草快标样约0.02g(精确至0.0002g),置于100mL容量瓶中,用水溶解并稀释至刻度,

摇匀。

2.4.2 样品溶液的配制 称取敌草快水剂约 0.1g (精确至 0.000 2g), 置于 100mL 容量瓶中, 用水溶解并稀释至刻度, 摇匀。

2.4.3 测定 在上述操作条件下, 采用保留时间进行定性, 试样中百草枯或敌草快的保留时间与标样溶液中的保留时间相对差值均在 1.5% 以内, 同时对两者的吸收光谱图进行比较, 如果吸收光谱图也一致即可以确认。根据试样中百草枯 (或敌草快) 的含量情况, 选择浓度相近的标准工作液进行色谱分析, 以峰面积外标法进行定量。在仪器基线稳定时, 连续注入数针标准溶液, 直至相邻 2 针标准溶液的响应值变化 < 1.5% 后, 按照标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液的顺序进行测定。

2.4.4 计算 将测得的 2 针试样溶液以及试样前后 2 针标样溶液中百草枯或敌草快峰面积分别进行平均, 试样中百草枯或敌草快的质量分数 ω (%), 按照式 (1) 进行计算:

$$\omega = A_2 \times m_1 \times P / (A_1 \times m_2) \dots \dots \dots (1)$$

式中:

A_1 ——标样溶液中百草枯 (或敌草快) 峰面积的平均值;

A_2 ——试样溶液中百草枯 (或敌草快) 峰面积的平均值;

m_1 ——标样的质量, g

m_2 ——试样的质量, g

P——标样中百草枯 (或敌草快) 的质量分数, %

3 结果与讨论

3.1 分析方法的选择 采用串联液质联用进行检测敌草快水剂中百草枯时, 由于百草枯的母离子为 m/z 185, 敌草快的母离子 m/z 为 183, 两者非常接近且结构类似, 均属于联吡啶类化合物, 在水中完全溶解并电离为阳离子, 两者子离子峰质量数也基本相同, 且在反相色谱柱上几乎没有保留, 两者出峰时间一致, 离子对试剂由于不容易挥发无法在串联液质联用上使用, 所以很难采用普通低分辨串联液质联用技术筛查敌草快水剂中的百草枯, 但可以在流动相中添加离子对试剂采用高效液相色谱法使两者完全分离进行定性定量。

3.2 液相色谱条件的优化 由于百草枯和敌草快化学性质相近, 均属于联吡啶类除草剂, 在反相液相色谱上保留非常弱, 保留时间非常接近, 为了将两者完全分离, 作者采用添加离子对试剂、采用长色谱柱、较低流速的办法, 试验结果表明, 采用 SB-C₁₈, 4.6 × 250mm 的不锈钢色谱柱, 以庚磺酸钠-乙腈-缓冲溶液为流动相, 0.6mL/min 流量可以将两者完全分离, 由于敌草快和百草枯的最大吸收波长不同, 百草枯最大吸收波长为 260nm, 敌草快最大吸收波长为 310nm。百草枯的吸收曲线 (图 3), 敌草快的吸收曲线 (图 4)。为了同时测定敌草快和百草枯的含量, 采用 290nm 的检测波长时无相互干扰且响应值满足检测要求。

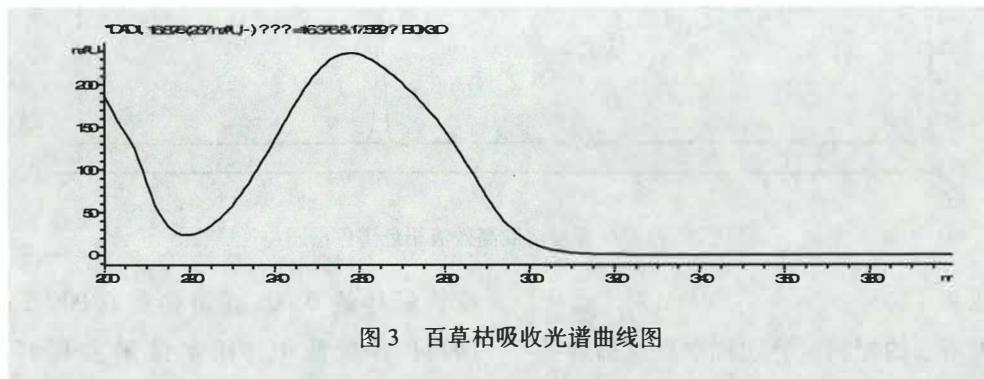


图 3 百草枯吸收光谱曲线图

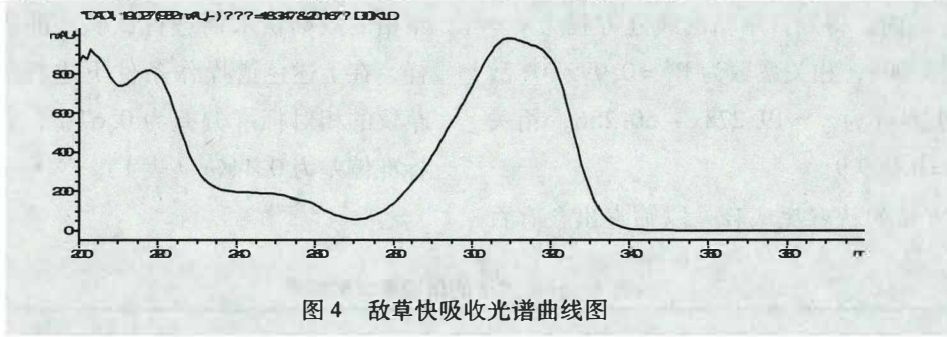


图4 敌草快吸收光谱曲线图

3.3 分析方法的实际应用 采用上述方法对市售的敌草快水剂进行了验证检验，发现有的敌草快水剂中添加了百草枯成分（图5）；有的未

检出敌草快、全部成分为百草枯（图6）；有的为合格的敌草快水剂，未添加隐性成分百草枯（图7）。

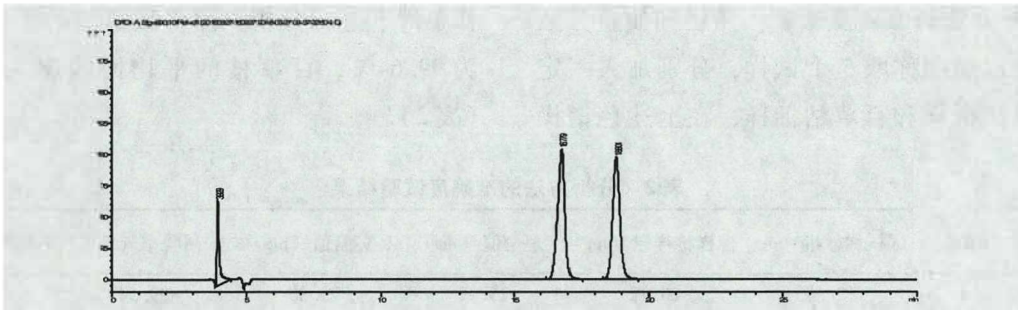


图5 敌草快水剂样品实测图（含有百草枯）

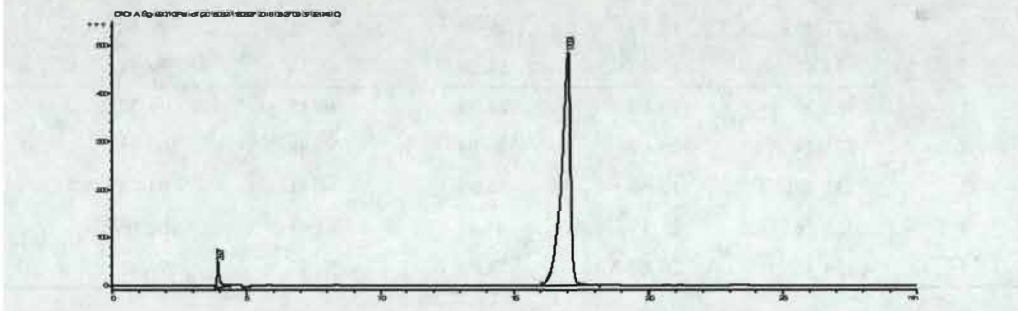


图6 敌草快水剂样品实测图（全部为百草枯）

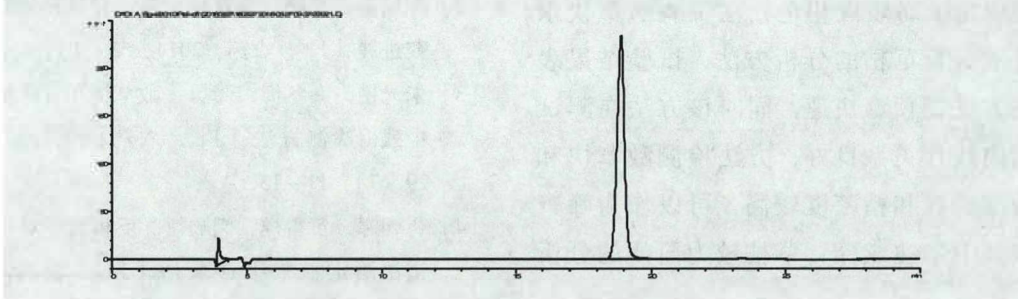


图7 敌草快水剂样品实测图（不含百草枯）

3.4 分析方法的线性相关性试验 配制百草枯和敌草快的系列标准溶液，按照前述的色谱方

法进样，以百草枯（敌草快）的浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，在 15 ~

400mg/L 范围内, 得到百草枯的线性方程为 $y = 21.861x - 35.008$, 相关系数为 $R^2 = 0.9999$ 。敌草快的线性方程为 $y = 19.278x - 60.256$, 相关系数为 $R^2 = 0.9999$ 。

3.5 分析方法的精密度试验 以筛查出含有百

草枯的敌草快水剂进行试验, 准确称取 5 个试样, 在上述色谱操作条件下进行分析, 测得敌草快的相对标准偏差为 0.67%, 百草枯的相对标准偏差为 0.44% (表 1)。

表 1 分析方法的精密度试验结果

组分	1	2	3	4	5	平均值	RSD (%)
敌草快 (%)	4.73	4.71	4.69	4.77	4.75	4.73	0.67
百草枯 (%)	13.72	13.79	13.64	13.76	13.68	13.72	0.44

3.6 分析方法的准确度试验 从已知质量分数的敌草快水剂中称取 5 个试样, 分别加入一定量的敌草快标样和百草枯标样, 在上述色谱操

作条件下进行分析, 测得敌草快的平均回收率为 99.64%, 百草枯的平均回收率为 99.70% (表 2)。

表 2 分析方法的准确度试验结果

组分	编号	试样称样量 (mg)	标样称样量 (mg)	理论值 (mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)
敌草快	1	123.35	20.12	25.92	25.80	99.54	99.64
	2	123.14	20.33	26.12	25.90	99.16	
	3	124.33	20.07	25.91	25.93	100.08	
	4	127.16	19.14	25.11	25.01	99.60	
	5	139.45	18.65	25.20	25.16	99.84	
百草枯	1	123.35	19.88	36.78	36.55	99.37	99.70
	2	123.14	20.07	36.94	36.98	100.11	
	3	124.33	17.66	34.69	34.51	99.48	
	4	127.16	23.19	40.61	40.63	100.05	
	5	139.45	20.88	39.98	39.77	99.48	

4 结论

试验建立了高效液相色谱法筛查敌草快水剂中隐性成分百草枯的分析方法, 试验结果表明, 筛查方法简便、快速, 同时该方法在测试浓度范围内线性关系良好, 方法检测敌草快和百草枯的准确度和精密度较高, 可以作为筛查敌草快水剂中隐性成分百草枯较为简便的分析方法。

参考文献

[1] 任雪玲, 陈彬. 含吡啶环除草剂的研究进展 [J].

世界农药, 2000, 22 (5): 29-32.

- [2] 陈珊珊, 邓晓, 刘景坤, 等. 百草枯检测方法的研究进展 [J]. 农药, 2014, 53 (1): 4-6.
- [3] 朱光艳, 秦冬梅, 龚勇. 敌草快和百草枯在马铃薯中残留检测方法 [J]. 农药科学与管理, 2008, 29 (7): 11-13.
- [4] 付朝晖, 黄雪祥, 闵顺耕. 反相离子对高效液相色谱法测定血浆中百草枯 [J]. 农药, 2008, 47 (11): 814-815.
- [5] 李红梅, 杨建涛. 食品中百草枯检测方法研究进展 [J]. 安徽农学通报, 2012, 18 (7): 181-183.