

用液相色谱法测定土壤中绿麦隆

李德平 钱文恒 徐瑞薇

(中国科学院南京土壤研究所)

绿麦隆(Chlortoluron), 化学名称3-(3-氯-4-苯甲基)-1,1-二甲基脲, 是由瑞士汽巴嘉基(CIBA-GEIGY)公司1969年研制的一种麦田除草剂。一般以每亩200—300克, 在小麦出苗前或出苗后二叶一心时使用, 均可有效地防除看麦娘、股颖、马唐等禾本科杂草, 对灰灰菜、紫萼等阔叶杂草也有较好的防除效果。

1976年以来, 我国已自行生产绿麦隆产品, 产量及施用面积逐年扩大。然而绿麦隆在大面积应用中带来一些环境药害问题, 如在江苏太湖地区, 发现使用绿麦隆的农田, 对下茬水稻有药害症状。为防止药害, 合理使用以及研究其在土壤环境中的效应和确定致害残留浓度, 急需建立测定土壤中绿麦隆的方法。

测定土壤中的绿麦隆, 通常采用薄层法^[1]、气相色谱法^[2, 3]、液相色谱法^[4, 5]和液相色谱—质谱联用法^[6]。上述方法中, 薄层法在无分光光度计和扫描仪的情况下, 只能定性或粗略地定量。由于绿麦隆分子中只含一个氯原子, 电负性较弱, 对于气相色谱的电子捕获检测器不太灵敏。因此须将绿麦隆水解成苯胺, 再用卤化试剂衍生生成多卤苯胺后, 方能提高灵敏度。目前已有较多报道的液相色谱法, 虽能分析土壤中的绿麦隆残留, 但样品前处理条件较苛刻, 操作复杂, 分析周期较长。本文介绍的液相色谱法, 简化了样品处理步骤, 土壤样品只需用甲醇提取, 经浓缩后转入正己烷中即可进行液相色谱分析。在色谱分离柱的选择上采用硅胶色谱柱, 正己烷加异丙醇作流动相。本文用不同流动相对色谱分离的效果, 土壤样品提取的震荡时间对提取率的影响以及不同波长对灵敏度的影响进行了大量的试验, 从中确定了最佳分析条件。该法操作简便, 准确可靠。

此法对残留量较低的土样, 可将提取液浓缩或加大进样量。对定性或半定量的土壤样品, 甲醇提取液可直接进样分析。本方法在所述色谱条件下, 对敌草隆、伏草隆、灭草隆在土壤中的残留均可分别测定。

一、仪器与试剂

1. 仪器设备 液相色谱仪: PERKIN—ELMER SERIES 3B型, 配 LC—75紫外分光光度检测器和 LC—75自控仪, 7105六通进样阀, SIGMA—10型计算机; 震荡机: 200次/分; 真空泵: 2XZ—05型; 离心机: T—23型6000转/分; K—D浓缩器。

2. 试剂 甲醇、正己烷、异丙醇, 均为分析纯; 绿麦隆(含量97.2%)。

二、测定方法

1. 样品处理 将采取的土壤样品风干磨碎, 过80目筛, 称取10克, 置于100毫升磨口三

角瓶中，先加2毫升蒸馏水，后加18毫升甲醇，机械震荡1小时，在5000转/分下离心5分钟，上层清液用滤纸过滤。用吸液管吸5毫升于K—D浓缩器中。在40℃水浴中、100毫米汞柱真空下浓缩近干，再用正己烷定容5毫升（定容体积可根据土壤中绿麦隆的含量高低而增减），待色谱测定。

2. 色谱条件 (1) 色谱：不锈钢硅胶柱(内径2.6毫米，柱长250毫米)，柱温25℃，紫外检测器波长选择242毫微米，记录仪满量程10毫伏。流动相为正己烷加异丙醇(3:1)，流速1毫升/分。(2) SIGMA—10型计算机，根据色谱峰的特征选择参数(包括基线灵敏度、面积灵敏度和校正因子等)。

3. 标准曲线的绘制 用微量天平称取绿麦隆标样10毫克，用正己烷溶解定容100毫升，浓度为100微克/毫升。用此母液准确配制0.2、0.4、0.6、0.8、1.0微克/毫升的标准系列溶液。在上述色谱条件下进行测定，以绿麦隆峰高为纵座标，浓度为横座标绘制标准曲线(图1)。

4. 计算方法 用外标法定量，计算如下：

$$\text{土壤中绿麦隆浓度 (ppm)} = \frac{C_{\text{标}} \times H_{\text{样}} \times V_{\text{总}}}{H_{\text{标}} \times R \times W}$$

式中C标为标样浓度(微克/毫升)，H标为绿麦隆标样色谱峰高(毫米)，V总为提取液总体积(毫升)，H样为土壤提取液中绿麦隆的峰高(毫米)，R为绿麦隆的土壤回收率(%)，W为土壤样品干重。

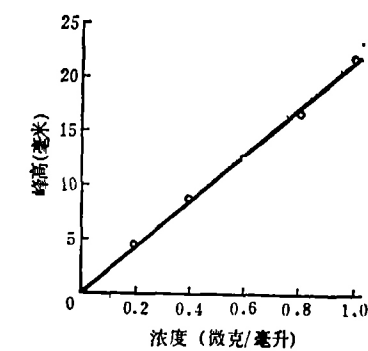


图1 绿麦隆标准曲线

三、结果与讨论

1. 绿麦隆的回收率 采用添加法进行回收率测定，在10克土中加入4毫升25微克/毫升的绿麦隆正己烷溶液，室温下放置24小时，然后提取测定。

$$\text{回收率 (\%)} = \frac{W_{\text{测}} - W_{\text{空白}}}{W_{\text{添加}}}$$

式中：W测为实测量(微克)，

W空白为土样本底(微克)，W添加为添加到土壤中的量(微克)。

2. 精密度、准确度和最低检测量 用黄泥土和乌栅土进行了11次平行试验(土壤中添加的绿麦隆浓度为10ppm)，求得变异系数分别为3.4和2.7%，最低检测量为0.5毫微克。供试土壤的理化性质及回收率见表1。

表1 供试土壤理化性质和绿麦隆回收率

土壤	地点	全氮 (%)	有机质 (%)	阳离子代换量 (毫克当量/100克土)	粘粒 <0.001	pH	回收率 (%)	标准差	变异系数 (%)
黄泥土	无锡东亭	0.181	3.16	23.37	17.3	6.6	77	2.6	3.4
乌栅土	常熟辛庄	0.191	3.15	23.16	10.0	8.0	96	2.6	2.7

3. 震荡时间对回收率的影响 机械震荡虽为理想的提取步骤之一，但震荡时间不够，土壤上的绿麦隆就不可能被完全提取。两种土壤试验结果表明，震荡1小时比震荡半小时提取率均提高10%左右，显然增加震荡时间可保证更充分的提取。由于震荡1小时提取率已达90%以上，所以没必要继续增加震荡时间。此外，湿的土壤样品比干的土壤样品提取率要高。试验表明，一般当土壤样品含水量达20%时，提取率较高。

4. 不同流动相对色谱分离度的影响 绿麦隆在不同流动相中容量因子是不同的。一般讲, 容量因子的差异对分离度有显著影响。为获得理想的分离度, 用以下几种不同的流动相作了比较试验。包括正己烷加二氯甲烷加乙醇, 正己烷加二氯甲烷加异丙醇及正己烷加异丙醇。试验证明, 前两种流动相对绿麦隆组分不是分不开就是分离不完全, 而用正己烷加异丙醇作为流动相, 谱峰分离较好, 绿麦隆特征吸收峰前后也无其它干扰峰。

5. 波长的选择 在色谱紫外检测的波长范围内, 通常选择化合物最强的吸收峰为特征波长。然而, 绿麦隆在210—215毫微米处有两个较强的吸收峰, 但在此波长处有强噪音(噪音主要是由流动相引起的, 因正己烷和异丙醇在210毫微米处也有吸收), 对绿麦隆检测有干扰, 而在242毫微米处绿麦隆吸收峰虽较210—215毫微米处稍弱, 但不影响定量分析, 因此选择242毫微米为检测波长。

6. 方法应用 1983—1984年, 我们与江苏省农科院合作, 在江苏省江宁县进行了田间化学除草试验。在观察绿麦隆对麦田除草效果的同时, 还用此法在不同时间测定了绿麦隆在土壤中的残留量(表2), 为进一步研究绿麦隆在土壤中的残留动态及其对环境生态的影响创造了条件。

表2 江宁县绿麦隆除草剂的田间残留量(ppm)

施药量 (克/亩)	1983年		1984年			
	11月	12月	1月	2月	3月	4月
600	4.30	0.40	0.56	0.18	0.10	0.04
300	2.60	0.18	0.16	0.09	0.07	0.03
150	1.30	0.23	0.14	0.13	0.04	0.02

* 该土回收率95%

对测定残留量较低的土壤样品, 使用SIGMA—10计算机处理色谱数据, 可获较好效果。它可通过改变程序和参数提高检测灵敏度和辨别化合物的能力。不仅可绘出清晰的谱图, 而且可撇除不规则的奇峰, 准确无误地计算出相应浓度。一个样品测定完毕, 随即得到一份带有色谱图的完整分析报告。

由于土壤性质对回收率有影响, 所以在测定土壤残留前, 应先测一下该土壤的回收率。

值得注意的是, 液相色谱的流动相要求杂质少, 纯度高, 常用分析纯试剂, 如达不到要求, 用前须进行蒸馏。否则, 流动相中的杂质会在色谱柱上聚集, 降低柱效。放久的流动相用前一定脱气, 这一环节切不可忽视。当空气进入高压泵内, 产生气泡, 造成压力不稳, 忽高忽低。当气泡进入检测池内, 就会引起长噪音出现、基线飘移等。为保证柱效高, 检测器灵敏, 仪器工作一段时间后, 要用适当的流动相来清洗分析系统。

参 考 文 献

[1] Zadrozinska, Jadwiga, 用气相和薄层色谱法测植物中的尿素, 除草剂残留物。分析化学文摘, 第6期, 第65页, 6G28, 1984.

[2] A. De Kok, J. Chromatography, 288(1):71, 1984.

[3] S. U. Khan, Bullet of Environmental Contamination and Toxicology, 13(5): 602, 1975.

[4] Allan E. Smith, J. Chromatography, 107: 407, 1975.

[5] J. A. Sidwell, Analyst, 101:111, 1976.

[6] T. H. Byast, J. Chromatography, 134: 216, 1977.