

◆ 农药分析 ◆

异丙隆及其间位异构体、邻位异构体分析方法研究

孙益峰, 陈 杰

(江苏快达农化股份有限公司, 江苏南通 226407)

摘要: 采用高效液相色谱和气相色谱相结合, 对异丙隆及其间位异构体、邻位异构体进行分离和测定。试验结果表明: 异丙隆线性相关系数为0.996 1, 相对标准偏差为0.19%, 平均回收率为100.11%; 间位异构体线性相关系数为0.995 9, 相对标准偏差为2.26%, 平均回收率为97.05%; 邻位异构体线性相关系数为0.992 5, 相对标准偏差为5.02%, 平均回收率为97.61%。

关键词: 异丙隆; 异构体; 高效液相色谱; 气相色谱; 分析

中图分类号: TQ 450.7 **文献标志码:** A **doi:** 10.3969/j.issn.1671-5284.2017.05.010

Analytical Method of Isoproturon and Its isomers

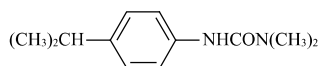
Sun Yi-feng, CHEN Jie

(Jiangsu Kuaida Agrochemical Co., Ltd., Jiangsu Nantong 226407, China)

Abstract: A method for separation and quantitative analysis of isoproturon and its isomers was established, used a combination of HPLC and GC. The results showed that the linear correlation coefficients of isoproturon, *ortho*-isomer, *meta*-isomer were 0.996 1, 0.992 5, 0.995 9, the average recoveries were 100.11%, 97.61%, 97.05%, the relative standard deviations were 0.19%, 5.02%, 2.26%, respectively.

Key words: isoproturon; isomer; HPLC; GC; analysis

异丙隆 [*N,N*-二甲基-*N'*-(4-异丙基苯基)脲] 是脲类除草剂, 广泛用于大麦、小麦、棉花、玉米等作物田防除一年生杂草。异丙隆虽是20世纪70年代中期上市的老品种, 但未见异丙隆及其邻、间位异构体分离方法报道。联合国粮农组织关于农药原药杂质限量规定, 异丙隆原药中间位异构体 [*N,N*-二甲基-*N'*-(3-异丙基苯基)脲] 限量要求为20 g/kg, 邻位异构体 [*N,N*-二甲基-*N'*-(2-异丙基苯基)脲] 限量要求为10 g/kg。



异丙隆结构式

本文首先采用高效液相色谱对异丙隆及间位异构体、邻位异构体进行分离测定, 邻位异构体和异丙隆可以有效分离, 间位异构体与异丙隆不能分离。进一步实验发现, 异丙隆在气相色谱高温条件

下受热分解为4-异丙基苯胺及其他产物, 其间位异构体、邻位异构体受热分别分解为3-异丙基苯胺和2-异丙基苯胺, 这3种物质在一定的气相色谱条件下能有效分离。本文通过高效液相色谱和气相色谱相结合, 对异丙隆及其间位异构体、邻位异构体分析方法进行研究。

1 异丙隆及其间位异构体质量分数的测定

1.1 方法提要

采用反相高效液相色谱外标法, 对试样中异丙隆及其间位异构体先进行高效液相色谱分离和测定。

1.2 试剂

磷酸, 分析纯; 甲醇、乙腈, HPLC级; 冰(新蒸2次蒸馏水); 异丙隆标样(99.0%)、间位异构体标样(99.0%)、邻位异构体标样(99.0%)、异丙隆原药, 均

收稿日期: 2017-08-01

作者简介: 孙益峰(1974—), 男, 江苏省如东县人, 工程师, 主要从事化工分析工作。E-mail: rudongjiemao@163.com

由江苏快达农化股份有限公司提供。

1.3 仪器

高效液相色谱仪,具DAD检测器;色谱数据处理机;色谱柱:不锈钢柱(250 mm×4.6 mm),内装5 μm化学键合ZORBAX RX-C₈填充物;过滤器;滤膜孔径约0.45 μm;微量进样器:50 μL;定量管:5 μL;超声波振荡器。

1.4 高效液相色谱操作条件

流动相:乙腈+磷酸水溶液(pH值=4),两者体积比75:25,经滤膜过滤,并进行脱气;流量:1.0 mL/min;柱温:30℃;检测波长:221 nm;进样体积:25 μL。保留时间(见图1):异丙隆+间位异构体约3.84 min,邻位异构体约3.51 min。

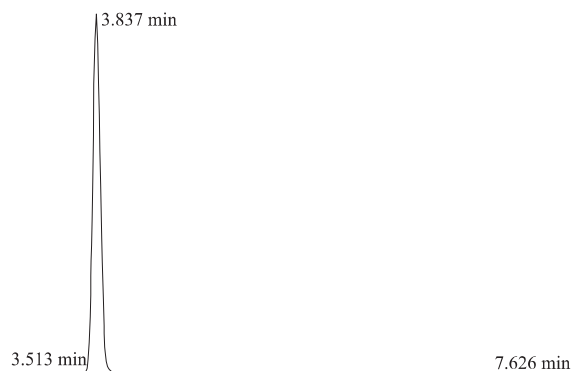


图1 异丙隆原药 HPLC 谱图

1.5 测定步骤

1.5.1 溶液的配制

分别称取异丙隆标样、试样约0.05 g,精确到0.000 2 g,置于100 mL容量瓶中,用甲醇超声溶解,定容。试样溶液用0.45 μm孔径滤膜过滤。

1.5.2 测定及计算

在上述操作条件下,待仪器稳定后,连续注入数针标样溶液,计算各针相对响应值。待相邻2针的相对响应值变化小于1%,按标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液的顺序进行测定。

将测得的2针试样溶液中异丙隆+间位异构体峰面积以及试样前后2针标样溶液中异丙隆峰面积分别进行平均。异丙隆+间位异构体质量分数 w (%)按式(1)计算。

$$w/\% = \frac{A_2 \times m_1 \times P}{A_1 \times m_2} \quad (1)$$

式中: A_1 —标样溶液中,异丙隆峰面积的平均值; A_2 —试样溶液中,异丙隆+间位异构体峰面积的平均值; m_1 —异丙隆标样质量,g; m_2 —试样质量,g; P —标样中异丙隆的质量

分数,%。

2 三者质量比的测定

2.1 方法提要

试样用三氯甲烷溶解,使用内壁涂DB-1的毛细管柱和氢火焰离子化检测器,对试样中异丙隆、间位异构体、邻位异构体进行气相色谱分离和测定。

2.2 试剂

三氯甲烷;4-异丙基苯胺标样(99.0%)、3-异丙基苯胺标样(99.0%)、2-异丙基苯胺标样(99.0%),由江苏快达农化股份有限公司提供。

2.3 仪器

气相色谱仪,具氢火焰离子化检测器;色谱数据处理机;色谱柱:毛细管柱(30 m×0.53 mm),内壁涂DB-1,膜厚1.0 μm;微量进样器:10 μL。

2.4 气相色谱操作条件

柱温:初温60℃保持2 min,以5℃/min升至115℃,保持3 min,以50℃/min升至240℃,保持10 min;气化室温度:260℃;检测器温度:260℃;初始气体流量(mL/min):载气(N₂)60、氢气40、空气400;进样方式:分流比10:1;进样体积:1.0 μL。保留时间:2-异丙基苯胺约14.2 min、3-异丙基苯胺约15.0 min、4-异丙基苯胺约15.4 min。16.1 min、18.8 min峰为其他分解物,见图2。

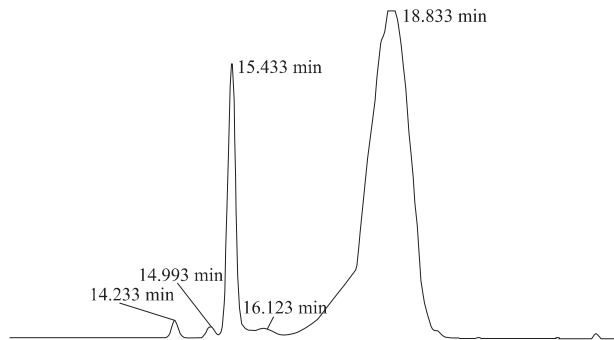


图2 异丙隆原药 GC 谱图

2.5 测定步骤

2.5.1 样品溶液的配制

称取异丙隆原药约300 mg,置于10 mL具塞三角瓶中,用5 mL三氯甲烷溶解。

2.5.2 测定及计算

在2.4操作条件下,待仪器稳定后,连续注入数针样品溶液,计算各针中3个有效组分峰面积比的重复性,相邻2针的峰面积比相对变化应小于3%。

将测得的2针样品溶液中3个有效组分的峰面积分别进行平均。异丙隆、间位异构体、邻位异构体

质量比按式(2)计算。

$$r_i = \frac{A_i}{A_1 + A_2} \quad (2)$$

式中: r_i —试样中异丙隆(间位异构体、邻位异构体)与异丙隆+间位异构体的质量比; A_i —试样溶液中,4-异丙基苯胺(对应异丙隆)、3-异丙基苯胺(对应间位异构体)、2-异丙基苯胺(对应邻位异构体)峰面积的平均值; A_1 —试样溶液中,4-异丙基苯胺峰面积的平均值; A_2 —试样溶液中,3-异丙基苯胺峰面积的平均值。

3 质量分数计算

异丙隆、间位异构体、邻位异构体质量分数 w_i (%) 按式(3)计算。

$$w_i = w \times r_i \quad (3)$$

式中: w —试样中异丙隆+间位异构体质量分数,%; r_i —试样中异丙隆(间位异构体、邻位异构体)与异丙隆+间位异构体的质量比。

4 结果与讨论

4.1 液相色谱波长的选择

配制相同质量浓度的异丙隆甲醇溶液和间位异构体甲醇溶液,分别用DAD检测器扫描紫外吸收光谱,然后将两者的光谱图进行拟合参比。2条曲线在221 nm处相交,即异丙隆及其间位异构体在221 nm处有相同的紫外吸收。因此选择221 nm作为液相色谱分析的检测波长,紫外吸收光谱见图3。

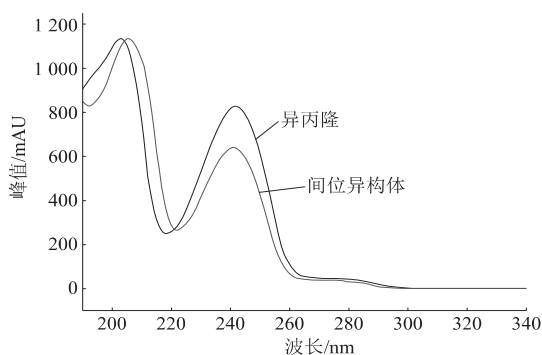


图3 紫外吸收光谱图

4.2 气相色谱条件的选择

在气相色谱试验中,首先选择115℃恒定柱温进行分析,谱图中未知高沸点分解物与4-异丙基苯胺分离效果不佳。经过多次试验,最终确定初温为60℃,保持2 min,以5℃/min升至115℃,保持3 min,以50℃/min升至240℃,保持10 min的升温程序。该条件下,样品中组分能够有效分离,且其他未知高沸点分解物也能完全流出。

4.3 线性关系试验

采用已知质量分数的异丙隆标样、间位异构体标样、邻位异构体标样配成5个不同质量比混合溶液,在同一气相色谱条件下分别进样。以每份样品中各组分平均峰面积比与样品中异丙隆、间位异构体、邻位异构体质量比作图。异丙隆线性方程为 $y=1.022\ 3\ x-2.177\ 0$,线性相关系数为0.996 1;间位异构体线性方程为 $y=1.016\ 5\ x-0.020\ 2$,线性相关系数为0.995 9;邻位异构体线性方程为 $y=1.027\ 9\ x-0.017\ 3$,线性相关系数为0.992 5。

4.4 方法的准确度

采用添加法,验证气相色谱法的准确度。在已知质量分数的样品(异丙隆、间位异构体、邻位异构体分别为97.05%、1.25%、0.55%)中,分别准确加入已知质量浓度为0.055 20 g/mL、0.004 91 g/mL、0.003 03 g/mL的异丙隆、间位异构体、邻位异构体溶液,混合均匀,测定各组分的质量比。测得异丙隆平均回收率为100.11%,间位异构体平均回收率97.05%,邻位异构体平均回收率为97.61%,结果见表1。

表1 方法的准确度试验结果

样品量/ g	组分	添加量/ mL	理论质量 分数/%	实测质量 分数/%	回收率/ %
0.302 2	异丙隆	1.0	96.30	96.22	99.91
	间位异构体	1.0	2.40	2.44	101.69
	邻位异构体	1.0	1.30	1.34	103.34
0.312 0	异丙隆	1.5	96.00	96.20	100.20
	间位异构体	1.2	2.44	2.32	95.22
	邻位异构体	1.5	1.56	1.48	94.94
0.353 6	异丙隆	2.0	96.44	96.64	100.21
	间位异构体	1.5	2.50	2.36	94.24
	邻位异构体	1.0	1.06	1.00	94.54

4.5 方法的精密度

对同一样品进行5次重复测定,测得异丙隆相对标准偏差为0.19%,间位异构体相对标准偏差为2.26%,邻位异构体相对标准偏差为5.02%,结果见表2。

表2 方法的精密度测定结果

组分	质量分数/%					RSD/%
	1	2	3	4	5	
异丙隆	97.05	97.28	97.30	97.51	97.10	0.19
间位异构体	1.25	1.30	1.26	1.25	1.31	2.26
邻位异构体	0.55	0.60	0.61	0.55	0.56	5.02

(下转第 36 页)

日常饮食习惯,推荐每日膳食最大值(LP)为1.6 kg,每日摄入苹果量(F)约0.35 kg^[9]。残留试验数据显示,苹果中虫酰肼残留中值(STMR)为0.16 mg/kg,最高残留量(HR)为1.16 mg/kg。根据国家卫生计生委公布数据,我国人均体重(bw)为62 kg。单个苹果质量(U)约0.3 kg;虫酰肼的ADI和ARfD值分别为0.2 mg/kg和0.6 mg/kg^[10];变异因子(i)采用默认值3^[6]。按照1.4中的公式(1)和公式(2)分别算得苹果中虫酰肼的慢性摄入风险 RQ_c 为0.45%,急性摄入风险 RQ_a 为6.86%,均低于100%。说明苹果中虫酰肼的残留风险可接受。

3 讨论

残留动态试验结果表明:虫酰肼在苹果中的原始沉积量较低且降解较快,药后5 d的降解率在61.9%~71.4%之间,其残留消解半衰期在3.16~4.63 d之间。虫酰肼在土壤中的残留降解亦较快,药后7 d的降解率在69.7%~78.3%之间,残留消解半衰期为4.81~5.77 d。由此推断,虫酰肼在苹果和土壤中属于易降解农药。最终残留试验测得苹果中虫酰肼的最终残留量为<0.01~1.32 mg/kg,土壤中虫酰肼的最终残留量为0.01~3.78 mg/kg。虫酰肼在陕西、河南等5地苹果中的最终残留试验结果差异不大,安徽苹果中的最终残留结果明显高于其他地方,这可能与试验地地理条件、降雨量、土壤类别、气候条件等因素有关。

我国制定虫酰肼在苹果上的最高残留限量(MRL)为1.0 mg/kg,从试验数据来看,除安徽高剂量施药4次处理药后14 d和21 d的最终残留量高于MRL值,其余试验地虫酰肼在苹果中的残留量均低于虫酰肼的MRL值。

根据残留试验结果,并结合已登记虫酰肼产品的使用方法,建议虫酰肼在苹果上有效成分施药量

为100~133.3 mg/kg,于虫害发生初期喷雾施药,每季最多使用3次,安全间隔期为21 d。本研究风险评估结果显示,虫酰肼在苹果中的膳食摄入风险是可以接受的。

参考文献

- [1] 芮昌辉,刘娟,任龙.昆虫生长调节剂的毒理机制与抗性研究进展[J].生物安全学报,2012,21(3):177-183.
- [2] 蒋诗琪,杨仁斌,欧阳文森,等.虫酰肼在水稻及稻田中的消解动态和残留规律研究[J].安徽农业科学,2014,42(35):12051-12054.
- [3] 辜雪英,仇满珍.液相色谱-串联质谱法测定柑橘中虫酰肼残留量[J].理化检验:化学分册,2013,49(4):417-419.
- [4] 沈菁,刘军,陈平,等.液相色谱-串联质谱法测定土壤和甘蓝中的虫酰肼残留[J].湖北农业科学,2009,48(2):442-444.
- [5] 戴琳,徐锦忠,丁涛,等.高效液相色谱-电喷雾串联质谱法测定蔬菜中虫酰肼和甲氧虫酰肼残留[J].分析化学,2008,36(1):87-90.
- [6] Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Submission and Evaluation of Pesticide Residues Data for the Estimation of Maximum Residue Levels in Food and Feed (FAO Plant Production and Protection Paper 197) [DB/OL]. [2017-05-01]. http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/FAO_manual2nded_Oct07.pdf.
- [7] 中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所.农产品质量安全风险评估——原理、方法和应用[M].北京:中国标准出版社,2007.
- [8] 高仁君,陈隆智,张文吉.农药残留急性膳食风险评估研究进展[J].食品科学,2007,28(2):363-368.
- [9] 中国营养学会.中国居民膳食指南[M].北京:人民卫生出版社,2016.
- [10] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,中华人民共和国农业部.GB 2763—2016 食品安全国家标准食品中农药最大残留限量[S].北京:中国标准出版社,2016.

(责任编辑:柏亚罗)

(上接第31页)

5 结论

本方法能对异丙隆及其同分异构体杂质进行有效分离、测定,该方法未见国内报道。试验结果表明:异丙隆线性相关系数为0.996 1,相对标准偏差

为0.19%,平均回收率为100.11%;间位异构体线性相关系数为0.995 9,相对标准偏差为2.26%,平均回收率为97.05%;邻位异构体线性相关系数为0.992 5,相对标准偏差为5.02%,平均回收率为97.61%。本方法能满足定性、定量分析要求,但操作相对繁琐。

(责任编辑:顾林玲)