

◆ 残留与环境 ◆

高效液相色谱法测定烟田土壤中 二氯喹啉酸残留量

石妍¹, 肖顺¹, 周挺², 梁颁捷³, 张珊珊³, 张绍升¹, 刘国坤¹, 顾钢^{2*}

(1. 福建农林大学植物保护学院, 福州 350002; 2. 福建省烟草公司烟草科学研究所, 福州 350003; 3. 福建省烟草公司三明市公司, 福建三明 365000)

摘要:对比了两种提取土壤中二氯喹啉酸的方法,在此基础上进行前处理方法和液相色谱条件的优化,建立了高效液相色谱法检测烟田土壤中二氯喹啉酸残留量的方法。样品用甲醇+0.05 mol/L硼砂溶液(体积比9:1)超声振荡提取,离心后提取液用无水硫酸钠去除残余水分,经浓缩、甲醇溶解、定容得待测液;用甲醇+1%乙酸水溶液(体积比65:35)为流动相,在238 nm波长下经二极管阵列检测器检测。结果表明,在0.1、0.5、1.0 mg/kg加标水平下,二氯喹啉酸在土壤中的平均回收率为93.40%~100.94%;日内和日间精密度分别为1.38%~8.09%、5.64%~6.16%;检出限和定量限分别为0.005 mg/kg和0.025 mg/kg。

关键词:二氯喹啉酸;高效液相色谱;烟田土壤;残留

中图分类号:TQ 450.2⁺63 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2020.05.007

Determination of Quinlorac Residues in Tobacco Soil by High Performance Liquid Chromatography

SHI Yan¹, XIAO Shun¹, ZHOU Ting², LIANG Banjie³, ZHANG Shanshan³, ZHANG Shaosheng¹, LIU Guokun¹, GU Gang^{2*}
(1. College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Institute of Tobacco Science, Fujian Tobacco Company, Fuzhou 350003, China; 3. Sanming Branch of Fujian Tobacco Company, Fujian Sanming 365000, China)

Abstract: Two extraction methods of quinlorac in soil were compared and a method for the determination of quinlorac residues in tobacco soil by HPLC was developed by optimizing the pretreatment methods and the conditions of HPLC. The samples were extracted with the mixture of methanol and 0.05 mol/L borax solution (9:1, v/v). The extracts were centrifuged and concentrated, and then diluted with methanol for HPLC determination. The quinlorac was eluted with methanol and 1% acetic acid solution (65:35, v/v) as the mobile phase and detected by photo-diode array (PDA) at 238 nm wavelength. The results showed that the average recoveries of quinlorac in soil were in the range of 93.40%-100.94% at the three different spiked concentration levels of 0.1, 0.5 and 1.0 mg/kg; the precision of intra day and inter day were 1.38%-8.09% and 5.64%-6.16%, respectively. The limits of detection and quantification were 0.005 mg/kg and 0.025 mg/kg. This method has the advantages of convenience, lower amount of organic solvent, rapid detection and good reproducibility. It is suitable for the rapid determination of quinlorac residues in tobacco soil.

Key words: quinlorac; HPLC; tobacco soil; residue

收稿日期:2020-05-25

基金项目:中国烟草总公司福建省公司科技项目(201635000020073_201735000027131)

作者简介:石妍(1986—),女,福建三明人,硕士,实验师,主要从事生物农药研究。E-mail shiyanshelly@163.com

通信作者:顾钢(1965—),男,福建南平人,硕士,高级农艺师,主要从事烟草植物保护研究。E-mail gugang318@163.com

二氯喹啉酸是一种激素型喹啉羧酸类除草剂^[1],主要用于稗草的防治。由于其具有适用期长、用量少、使用间隔期宽等优点^[1-2],在我国水稻种植区广泛使用。二氯喹啉酸在土壤中降解缓慢^[3],由于不科学的使用,造成其在土壤中积累,易对后茬轮作敏感作物,如茄科、豆科、伞形花科等作物,产生药害。在水稻与烟草轮作区,土壤中残留的二氯喹啉酸可造成烟叶生长畸形^[3-5],表现为烟叶扭曲、黄化、叶片较小等,给烟农带来经济损失。因此,检测土壤中二氯喹啉酸的残留具有重要意义。

关于二氯喹啉酸残留检测最常用的方法是高效液相色谱法^[1-2,4-11],而气相色谱法^[12-13]和毛细管电泳法^[14]使用较少。高效液相色谱法前处理较简单,但对于不同地区土壤样品中二氯喹啉酸的提取,其前处理方法不尽相同。如陈虹等^[1]以甲醇+0.05 mol/L硼砂溶液(体积比9:1)为提取溶剂,离心后取上清液旋转蒸发浓缩,甲醇定容,HPLC法测定。郑雄志等^[2]以0.05 mol/L氢氧化钠溶液为提取溶剂,提取液离心后调成酸性,用乙酸乙酯萃取,收集乙酸乙酯相,旋转蒸发浓缩后,甲醇定容,HPLC法测定。李丽春等^[5]以甲醇+0.05 mol/L硼砂溶液为提取溶剂,提取液调成酸性后用二氯甲烷萃取,经浓缩后甲醇定容,HPLC法测定。本研究以福建烟区土壤为样本,通过对仪器相关条件和样品的前处理方法进行优化,建立高效液相色谱检测烟田土壤中二氯喹啉酸残留量的方法。

1 材料与方法

1.1 试剂和材料

二氯喹啉酸标准品(纯度为98%),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;色谱级甲醇,德国Merck公司;硼砂、乙酸、氢氧化钠、乙酸乙酯、磷酸、无水硫酸钠均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

土壤样品:由福建省三明市清流县烟草试验站提供,采集方法参照NY/T 39—2012《农田土壤环境质量监测技术规范》^[15]中的方法。

1.2 仪器设备

Waters e2695高效液相色谱仪,美国Waters公司;N-1100D-W旋转蒸发器,上海爱朗仪器有限公司;Avanti J-E离心机,美国Beckman Coulter有限公司;Milli-Q超纯水机,美国Millipore科学仪器有限公司;KQ-2200DE超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;Practum224-1CN电子天平,北京赛多利斯科学仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 土壤样品预处理

土壤样品经风干、去除杂物后研磨过20目筛(孔径0.83 mm),于-20℃冰箱冷藏备用^[15]。

1.3.2 土壤样品提取

选取2种以碱性溶液提取土壤中二氯喹啉酸的方法,比较这2种方法的回收率及对二氯喹啉酸的分离效果。

(1)参考陈虹等^[1]的方法,稍作改动。称取10.0 g土样于150 mL具塞三角瓶中,加入30 mL甲醇+0.05 mol/L硼砂溶液(体积比9:1)作为提取液,涡旋混匀1 min,超声振荡提取2 h^[1]。然后将提取液转入离心管中,以5 000 r/min转速离心5 min。取上清液,用无水硫酸钠去除上清液中残余水分,取15 mL滤液于50 mL圆底烧瓶中,用旋转蒸发器浓缩至接近干燥状态,再用1.5 mL甲醇溶解,过0.22 μm滤膜后即得待测液。

(2)参考郑雄志等^[2]的方法,稍作改动。称取土样10.0 g,置于150 mL具塞三角形瓶中,加入提取液0.05 mol/L氢氧化钠溶液30 mL,涡旋混匀1 min,超声振荡提取2 h。然后将提取液转入离心管中,以5 000 r/min转速离心5 min。取上清液15 mL,用磷酸调节pH为2.5左右,然后用乙酸乙酯萃取2次,每次用量为15 mL,合并乙酸乙酯相^[2]。用旋转蒸发器浓缩至接近干燥状态,用1.5 mL甲醇溶解,过0.22 μm滤膜后即得待测液。

1.3.3 液相分析

1.3.3.1 标准溶液的配制

准确称取适量二氯喹啉酸标准品,用甲醇(色谱级)配成质量浓度为1 000 mg/L的标准储备液。将储备液放入4℃冰箱保存,使用时再稀释配成所需的标准工作溶液。

1.3.3.2 液相色谱检测条件

流动相为甲醇+1%乙酸水溶液(体积比65:35);流速为1.0 mL/min;柱温为40℃;检测波长为238 nm;进样体积为20 μL;色谱柱为Diamonsil-C₁₈柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);检测器为二极管阵列检测器(PDA)。在此条件下,二氯喹啉酸的保留时间为5.027 min左右。

2 结果与分析

2.1 色谱条件的选择

2.1.1 流动相的选择

取质量浓度为10 mg/L的二氯喹啉酸标准溶液

进行上机分析,比较不同体积比(65:35,60:40,55:55)的甲醇+1%乙酸水溶液作为流动相的分离效果。结果表明,在该试验条件下,体积比为65:35的甲醇+1%乙酸水溶液作为流动相时出峰时间较早且溶剂吸收强度较小(图1)。标样及样品经反复测试后,笔者选择体积比为65:35的甲醇+1%乙酸水溶液作为流动相。

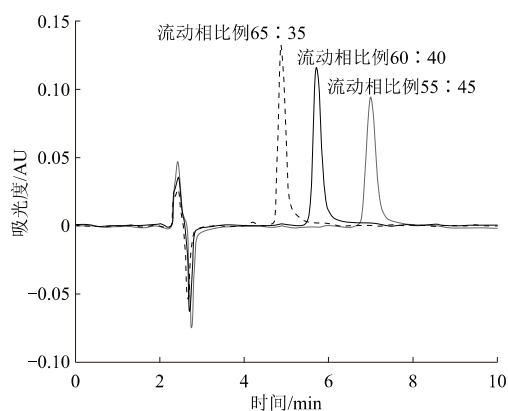


图1 不同流动相体积比下二氯喹啉酸的液相色谱图

2.1.2 检测波长的选择

在190~400 nm波长范围内对质量浓度为10 mg/L的二氯喹啉酸标准溶液进行紫外波长扫描,获

得紫外吸收光谱图。结果表明,二氯喹啉酸在226 nm处吸收最强,在226~238 nm处吸收较好,峰强度相差不大。然而,在实际检测结果中发现,在226 nm和230 nm波长处的溶剂吸收峰强度较大(图2)。因此,综合考虑,笔者选择238 nm作为检测波长。

2.2 提取方法选择

二氯喹啉酸属于弱酸性物质(pH=4.35),在水中的溶解度很小,可溶于甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯等有机溶剂^[1]。在碱性环境下,二氯喹啉酸转化为盐的形式,使其溶解性得以提高^[1,11]。在查阅相关文献的基础上,笔者选取两种以碱性溶液提取土壤中二氯喹啉酸的方法,比较两种方法的回收率及对二氯喹啉酸的分离效果。对加标浓度为1.0 mg/kg的空白土壤样品进行提取,每种方法重复3次。结果表明:方法1,即提取溶剂为甲醇+0.05 mol/L硼砂溶液(体积比9:1)的处理方法,回收率较高,且色谱峰分离较好,峰形对称,平均回收率为93.40%;方法2,即提取溶剂为0.05 mol/L氢氧化钠溶液的处理方法,回收率较低,分离效果较差,平均回收率为80.40%(图3)。综合考虑,本试验选取甲醇+0.05 mol/L硼砂溶液(体积比9:1)为提取溶剂,方法1作为本试验的前处理方法。

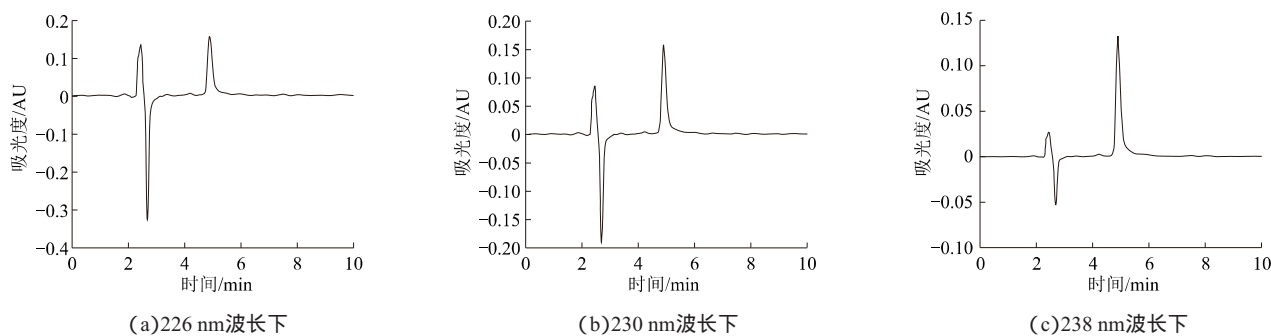


图2 二氯喹啉酸的液相色谱图

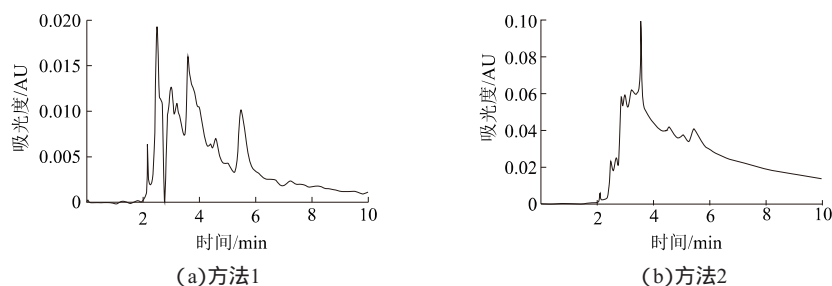


图3 土壤中二氯喹啉酸的液相色谱图

2.3 方法学验证

2.3.1 基质效应、标准曲线、检出限和定量限

目前,基质效应(E_M)常采用基质标准曲线的

斜率与溶剂标准曲线的斜率之比进行评价^[16-17],当 $0.9 \leq E_M \leq 1.1$ 时,无明显基质效应;当 $E_M < 0.9$ 时,表明存在基质抑制(减弱)效应;当 $E_M > 1.1$ 时,表明存

在基质增强效应。

采用梯度稀释法将二氯喹啉酸标准储备液用甲醇逐级稀释,配制成质量浓度分别为10.0、5.0、2.5、1.0、0.5、0.25 mg/L的6个标准工作溶液。同时用空白土壤基质提取液(按照1.3.2方法1中的前处理方法提取)为溶剂配制二氯喹啉酸标准溶液(浓度梯度与用甲醇配制的一致)。按1.3.3.2的液相色谱条件进行测定,以进样质量浓度为横坐标,色谱峰面积为纵坐标绘制标准曲线。结果表明不同基质中二氯喹啉酸质量浓度在0.25~10.0 mg/L范围内与峰面积具有良好的线性关系。土壤EM值为1.05,说明无明显基质效应,可忽略。

分别以3倍信噪比($S/N=3$)和10倍信噪比($S/N=10$)计算方法检出限为0.005 mg/kg,定量限为0.025 mg/kg(表1)。

表1 二氯喹啉酸的基质效应、标准曲线、检出限和定量限

基质	线性方程	R^2	基质 效应	检出限/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	定量限/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
甲醇	$y=160\ 127\ x-90\ 636$	0.998 8			
土壤	$y=167\ 562\ x+21\ 049$	0.998 4	1.05	0.005	0.025

2.3.2 加标回收率及精密度

以空白土壤样品作为基质,添加高、中、低3个浓度水平的二氯喹啉酸标准溶液,振荡混匀后室温培养24 h,按照1.3.2方法(1)中的前处理方法及优化后的色谱条件进行加标回收率实验,每个处理水平重复5次,连续测3 d。结果表明,在0.1、0.5、1.0 mg/kg加标水平下,二氯喹啉酸的回收率为93.40%~100.94%,日内和日间精密度分别为1.38%~8.09%,5.64%~6.16%(表2),说明本试验方法的准确性较高,重现性较好,能满足农残分析的要求。

表2 二氯喹啉酸在土壤中的加标回收率($n=5$)

样品	添加量/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	平均 回收率/%	日内 精密度/%	日间 精密度/%
土壤	0.1	100.94	8.09	5.78
	0.5	95.08	5.58	6.16
	1.0	93.40	1.38	5.64

2.4 实际土壤样品测定

试验所用的土壤样品由福建省三明市清流县烟草试验站采集,采用1.3.2方法(1)中的前处理方法及优化后的色谱条件对供试的8个土壤样品进行提取、测定,结果显示8个送检的土壤样品均未检出

二氯喹啉酸(或低于检出限)。实际分析测试样品时,可根据样品中二氯喹啉酸残留量的高低,适当减少或增加称样量。

3 结论与讨论

本试验建立了高效液相色谱法检测烟田土壤中二氯喹啉酸残留量的方法。在优化的试验条件下,二氯喹啉酸在土壤中的平均回收率为93.40%~100.94%,日内和日间精密度分别为1.38%~8.09%,5.64%~6.16%,检出限为0.005 mg/kg,定量限为0.025 mg/kg。该方法回收率较高,重现性较好,且前处理过程较简单,分析时间短,有机溶剂用量较少,能满足烟田土壤中二氯喹啉酸残留量的快速检测要求。

本试验选取并对比了2种以碱性溶液提取土壤中二氯喹啉酸的方法,在此基础上进行前处理方法和液相色谱条件的优化。其中方法1以甲醇/硼砂溶液为提取剂,超声振荡提取。离心后将提取液去除水分,浓缩,甲醇定容,得待测液。因提取液含有少量水分会增加减压浓缩时间,故用无水硫酸钠去除残余水分后再浓缩,而陈虹等^[1]的方法是将离心后的提取液用滤纸过滤后直接浓缩,用滤纸过滤可能会造成目标物的损失。方法2以氢氧化钠溶液振荡提取后再用乙酸乙酯萃取。该方法所需溶剂用量较多,液-液萃取过程中发现易形成乳液^[18],造成目标物的损失。实验结果也表明方法1回收率较高且色谱峰分离较好、峰形对称。因此,本试验选用方法1作为前处理方法。对比陈虹等^[1]和郑雄志等^[2]的方法,本研究所采用的前处理方法优势在于减少了时间的消耗、溶剂的损耗和目标物的损失。通过对色谱条件的优化,实现对土壤中二氯喹啉酸的快速分离、检测。此外,选取的两种方法均是用振荡器振荡提取,本试验选用超声清洗器振荡提取,结果同样可行。虽然已有其他研究^[3-14]报道了采用不同的提取方法或不同的色谱条件进行二氯喹啉酸的检测分析,但实际分析检测时还需根据不同地区的样品和实验条件建立最适合的方法。

参考文献

- [1] 陈虹,钟明,唐昊治,等.高效液相色谱法测定土壤中的二氯喹啉酸[J].土壤,2016,48(2):337-342.
- [2] 郑雄志,曾维爱,赵松义,等.高效液相色谱技术检测烟草和植烟土壤中的二氯喹啉酸残留量[J].中国烟草学报,2013,19(2):17-22.

- [3] 陈泽鹏,王静,万树青,等.烟区土壤残留二氯喹啉酸的消解动态[J].农药,2007,46(7):479-483.
- [4] 李儒海,褚世海.二氯喹啉酸对水稻后茬作物的安全性研究[J].湖北农业科学,2013,52(23):5749-5751.
- [5] 李丽春,陈泽鹏,张万良,等.二氯喹啉酸在土壤、畸形烟叶和烤烟中残留量的比较分析[J].农药,2012,51(2):127-129,152.
- [6] 刘咏松,李磊,杨森,等.植烟土壤二氯喹啉酸残留检测及对烟株的安全性评估[J].山地农业生物学报,2018,37(5):15-18.
- [7] 刘春梅,万凯,冯莉,等.二氯喹啉酸在水稻田环境中的消解动态研究[J].广东农业科学,2014(8):206-208,213.
- [8] 张倩,郭伟,宋超,等.二氯喹啉酸在不同土壤中的降解规律及其影响因子[J].中国烟草科学,2013,34(6):83-88.
- [9] PAREJA L, PEREZ-PARADA A, AGTIERA A, et al. Photolytic and photocatalytic degradation of quinclorac in ultrapure and paddy field water: identification of transformation products and pathways [J]. Chemosphere, 2012, 87(8): 838-844.
- [10] 刘姗.二氯喹啉酸的高效液相色谱法测定[J].福建分析测试,2012,21(2):48-51.
- [11] 洪月玲,宋燕燕,贾伟华.固相萃取-高效液相色谱法测定水和土壤中二氯喹啉酸残留[J].现代预防医学,2012,39(23):6256-6258.
- [12] 王一茹,刘长武,牛成玉,等.二氯喹啉酸在稻田水、土壤和作物中残留动态研究[J].环境科学,1996,17(1):27-30.
- [13] 王一茹,刘长武,牛成玉,等.二氯喹啉酸及其代谢物在稻田水土作物中的气谱和液谱残留分析方法研究[J].农业环境保护,1996,15(3):102-106.
- [14] 贾菲,高贵,郑良玉.除草剂二氯喹啉酸的毛细管电泳分析[J].分析化学,2008,36(10):1440-1442.
- [15] 农业部环境保护科研监测所. NY/T 395-2012 农田土壤环境质量监测技术规范(中华人民共和国农业行业标准)[S].北京:中国标准出版社,2012.
- [16] 李清华,任立瑞,尹明明,等.花生和土壤中噻虫胺超高效液相-串联质谱仪检测及分析方法[J].现代农药,2020,19(2):45-48.
- [17] 杨飞,李中皓,王颖,等.超高效合相色谱-串联质谱手性分离和测定烟草及土壤中茚虫威对映体[J].烟草科技,2019,52(7):75-82.
- [18] 张庆富,黄松青,张万良,等.二氯喹啉酸残留分析方法研究进展[J].现代农业科技,2013(21):149-150.

(责任编辑:徐娟)

(上接第8页)

- [J]. Environmental Research, 2016, 151: 528-536.
- [31] 丁惠,刘田园,程素盼,等.中药材中农药残留及其分析检测研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2019,21(10):168-172.
- [32] 冯春,石志红,吴兴强,等.加速溶剂萃取结合气相色谱-三重四极杆质谱测定枸杞中有机磷农药多残留[J].分析测试学报,2019,38(4):417-422.
- [33] 李嘉欣,石上梅,薛健.有机磷类禁限用农药在金银花中的残留状况及风险评估[J].中国中药杂志,2018,43(11):2333-2338.
- [34] 李安平,贺军权,杨平荣,等.GC-MS/MS法测定当归中禁限用农药残留量[J].药物分析杂志,2019,39(8):1463-1482.
- [35] 周梦春.基于分子印迹技术的四种中药材生产中霉死婢残留动态研究[D].武汉:华中农业大学,2015.
- [36] 程猷,薛健,黄晓会,等.黄芪中41种有机磷农药残留测定[J].中国药房,2012,23(15):1421-1423.
- [37] 谭君,刘小叶,赵柳蔓,等.人参中有机磷农残的基质固相分散-HPLC同时快速分析[J].化学学报,2009,67(20):2385-2389.
- [38] 郭晓霞,刘志荣,马潇,等.QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定紫花地丁中82种农药多残留[J].农药学报,2020(4):1-15.
- [39] 秦斌,王炳志,闫研,等.中药材中有机磷农药荧光试纸条的开发[J].中国现代中药,2018,20(4):432-436.
- [40] 李娜,李嘉欣,邵辉,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定中草药中氨基甲酸酯类农药残留量[J].药物分析杂志,2011,31(12):2266-2272.
- [41] 杨如箴.药用植物中氨基甲酸酯类农药多残留分析方法的研究[D].泰安:山东农业大学,2011.
- [42] 何强,张璐,张亚莉,等.QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定荨麻提取物中17种氨基甲酸酯类农药残留量[J].分析测试实验室,2016,35(1):56-60.
- [43] 毛秀红,郑征伟,苗水,等.高效液相色谱-柱后衍生-荧光检测器测定中药材中13种氨基甲酸酯类农药残留[J].中成药,2010,32(3):454-459.
- [44] 宋鑫,王芹,杭学宇,等.全自动GPC-SPE-UPLC-MS/MS检测中药饮片氨基甲酸酯类农药残留[J].中国药师,2017,20(12):2165-2168;2172.
- [45] 王倩,朱艳春,李婷婷,等.GC-MS/MS法同时测定白芍、黄芪、猫爪草和山茱萸中69种农药的残留量[J].中国药房,2019,30(20):2829-2834.
- [46] 吴加伦,占绣萍,隋晓斐,等.氟虫腈在中药材薏苡仁中的田间残留消解动态[J].农药学报,2007(3):280-284.
- [47] 王鹏思.金银花和铁皮石斛上农药残留状况调研及风险评估研究[D].北京:北京协和医学院,2019.

(责任编辑:高蕾)