

液相色谱法同时测定除草剂中乙草胺、 异噁草酮和 2,4-滴丁酯的含量

钱 训*, 谭小会

(河北省农林科学院农产品质量安全研究中心, 农业部农产品质量安全风险评估实验室(石家庄), 石家庄 050051)

摘要: **目的** 建立高效液相色谱法同时测定除草剂中异噁草酮、乙草胺和 2,4-滴丁酯的含量。**方法** 试样经甲醇溶解, 采用 ODS-2 反相色谱柱, 以甲醇/乙腈/氨水溶液(42:42:16, *V:V:V*)为流动相, 对试样中异噁草酮、乙草胺和 2,4-滴丁酯进行分离, 流速 1.0 mL/min, 柱温 40 °C, 紫外检测器检测波长为 235 nm, 外标法定量。**结果** 在测定浓度范围内, 乙草胺, 异噁草酮和 2,4-滴丁酯标准溶液质量浓度与峰面积均呈现出良好的线性关系($r>0.9998$), 对同一样品重复测定 5 次, 变异系数分别为 0.33%、0.44%和 0.41%, 该方法平均加标回收率为 98.6%~102.8%, 变异系数为 0.28%~0.45%。**结论** 该方法简便、快捷、精密度和准确度高、线性关系好, 适用于同时测定除草剂中异噁草酮、乙草胺和 2,4-滴丁酯含量。

关键词: 除草剂; 乙草胺; 异噁草酮; 2,4-滴丁酯; 高效液相色谱法

Simultaneous determination of acetochlor, clomazone and 2,4-D butylate in herbicides by liquid chromatography

QIAN Xun*, TAN Xiao-Hui

(Research Centre of Quality and Safety of Agro-products, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Agro-products (Shijiazhuang), Ministry of Agriculture, Shijiazhuang 050051, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for simultaneous determination of clomazone, acetochlor and 2,4-D butylate in herbicides by liquid chromatography. **Methods** The samples were dissolved in methanol and separated by ODS-2 reversed phase column with methanol:acetonitrile:ammonia solution (42:42:16, *V:V:V*) as the mobile phase. The flow rate was 1 mL/min and the column temperature was 40 °C. The detection wavelength of ultraviolet detector was 235 nm, it was quantitated by external standard method. **Results** There was a good linear relationship between the concentration and peak area of clomazone, acetochlor and 2,4-D butylate ($r>0.9998$) in the range of determination, respectively. Repeated determination of the same sample 5 times, the coefficient of variation was 0.33%, 0.44% and 0.41%, respectively. The average recovery rates of the method were 98.6%-102.8%, and the coefficient of variations were 0.28%-0.45%. **Conclusions** This method displays the advantages of convenience, celerity, high precision and accuracy, and good linear correlations, and it is suitable for the simultaneous

基金项目: 河北省财政预算项目(494-0402-JBN-9YXG)、国家农产品质量安全风险评估项目(GJFP201800301)

Fund: Supported by Finance Department of Hebei Province (494-0402-JBN-9YXG) and Project of National Agriculture Product Quality Safety Risk Assessment (GJFP201800301)

*通讯作者: 钱训, 副研究员, 主要研究方向为农药分析和农产品质量安全。E-mail: xunqian196805@sina.com

*Corresponding author: QIAN Xun, Associate Professor, Research Centre of Quality and Safety of Agro-products and Pesticide Analysis, Shijiazhuang 050051, China. E-mail: xunqian196805@sina.com

determination of clomazone, acetochlor and 2,4-D butylate in herbicide.

KEY WORDS: herbicides; acetochlor; clomazone; 2,4-D butylate; liquid chromatography

1 引言

乙草胺(acetochlor)是酰胺类选择性芽前土壤处理除草剂,主要通过杂草的幼芽及幼根吸收,抑制杂草蛋白质合成^[1-3]。异噁草酮(clomazone)又名异噁草松,是有机杂环类选择性苗前除草剂,通过植物的根、幼芽吸收,向上输导,抑制植物的叶绿素和胡萝卜素的合成,形成白苗,在短期内死亡^[4,5]。2,4-滴丁酯(2,4-D butylate)为苯氧乙酸类激素型选择性除草剂,具有较强的内吸传导性,主要用于苗后茎叶处理穿透角质层和细胞质膜,最后传导到各部导致植物死亡^[6]。乙·噁·滴丁酯乳油是乙草胺、异噁草酮和 2,4-滴丁酯的三元复配剂,可用于出苗前土壤处理,利用乙草胺对蛋白酶合成的抑制、异噁草酮控制敏感植物叶绿素的生物合成和 2,4-滴丁酯干扰激素平衡的综合作用扩大杀草谱,实现对阔叶及禾本科杂草的有效防除^[7]。2,4-滴丁酯原药和乳油,乙草胺原药和乳油国家标准中采用气相色谱填充柱或毛细管色谱柱对样品中 2,4-滴丁酯或乙草胺有效成分进行内标法定量^[8-11]。异噁草松原药和乳油国家标准中采用液相色谱法对异噁草酮有效成分进行外标法定量^[12,13]。而报道的 2,4-滴丁酯和乙草胺复配剂^[14,15]分析方法均为液相色谱法、乙草胺和异噁草酮的复配剂^[16]的分析方法为气相色谱法,但液相色谱法(liquid chromatography, LC)同时分析除草剂中异噁草酮、乙草胺和 2,4-滴丁酯 3 种有效成分的方法研究报道较少。

为了快速准确地同时测定除草剂中 3 种有效成分,本研究从色谱柱、流动相等方面对测定方法进行了优化,建立了在同一液相色谱条件下测定除草剂中异噁草酮、乙草胺和 2,4-滴丁酯 3 种有效成分的方法,为相关部门日常工作提供参考。

2 材料与方 法

2.1 仪器与试剂

1260 液相色谱仪(带自动进样器和紫外可变波长检测器,美国安捷伦公司)。

甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Thermo Fisher 公司);乙草胺标准品(质量分数 99.2%)、异噁草酮标准品(质量分数 98.0%)、2,4-滴丁酯标准品(质量分数 98.1%)(国家农药质量监督检验中心提供);70%乙·噁·滴丁酯乳油(乙草胺质量分数 40.0%,异噁草酮质量分数 16.0%,2,4-滴丁酯质量分数 14.0%),市售。

2.2 色谱条件

C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇:乙腈:氨水溶液(体积比为 42:42:16, V:V:V),氨水溶液(H₂O:NH₃H₂O=300:1, V:V);流速:1.0 mL/min;检测波长 235 nm;进样体积:5 μL,柱温 40 °C。在上述色谱条件下,异噁草酮保留时间约 3.6 min,乙草胺保留时间约 4.5 min,2,4-滴丁酯保留时间约 5.9 min。

2.3 溶液配制

2.3.1 标准溶液的配制

称取含异噁草酮标样约 0.05 g(准确至 0.02 mg),含乙草胺标样约 0.14 g(准确至 0.02 mg),含 2,4-滴丁酯标样约 0.05 g(准确至 0.02 mg)至 25 mL 容量瓶中,加入甲醇溶解并稀释到刻度,摇匀,准确移取上述溶液 4 mL 至 25 mL 容量瓶中,用甲醇稀释定容,过 0.22 μm 滤膜,备用。

2.3.2 试样溶液的配制

称取试样约 0.36 g(准确至 0.02 mg)至 25 mL 容量瓶中,加入甲醇溶解并稀释到刻度,摇匀,移取上述溶液 4 mL 至 25 mL 容量瓶中,用甲醇稀释定容,过 0.22 μm 滤膜,备用。

2.4 测 定

在选定的仪器条件下,待仪器基线稳定后,设定测定序列,按照标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液的顺序进样测定。

2.5 计 算

异噁草酮(或乙草胺、2,4-滴丁酯)质量分数 X_1 (%)按式计算:

$$X_1 = \frac{m_1 \times A_2 \times P}{m_2 \times A_1}$$

式中: m_1 为异噁草酮(或乙草胺、2,4-滴丁酯)标准品称样量,g; A_2 为试样试样中异噁草酮(或乙草胺、2,4-滴丁酯)峰面积; P 为异噁草酮(或乙草胺、2,4-滴丁酯)标准品的质量分数,%; m_2 为试样的称样量,g; A_1 为异噁草酮(或乙草胺、2,4-滴丁酯)标准品峰面积。

3 结果与分析

3.1 流动相的选择

比较了文献方法中异噁草酮、乙草胺和 2,4-滴丁酯的分析方法^[6,7],实验了甲醇/水不同比例的组合,未得到 3 个农药组分分离度高、对称性好的色谱图。最终选用了甲醇:乙腈:氨水溶液(体积比为 42:42:16, V:V:V),氨水溶液(体积

比 $H_2O:NH_3H_2O=300:1$ ($V:V$), 取得了较好效果。在此条件下, 样品中异噁草酮、乙草胺和 2,4-滴丁酯峰型良好, 保留时间适中, 分离度高。见图 1 和图 2。

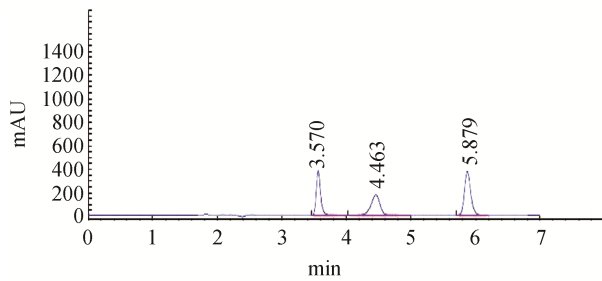


图 1 乙草胺、异噁草松和 2,4-D 丁酯混合标准溶液液相色谱图
Fig. 1 Liquid chromatogram of acetochlor, clomazone and 2,4-D butylate mixed standard solutions

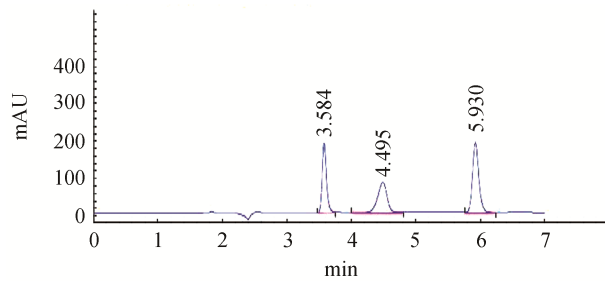


图 2 三元复配除草剂乳油液相色谱图
Fig. 2 Liquid chromatogram of ternary compound herbicide emulsion

3.2 方法线性相关性实验

称取异噁草酮标样约 0.10 g(准确至 0.02 mg), 乙草胺标样约 0.23 g(准确至 0.02 mg)和 2,4-滴丁酯标样约 0.11 g(准确至 0.02 mg)至 50 mL 容量瓶中, 加入甲醇溶解并稀释到刻度, 摇匀, 作为标样母液备用。

分别移取标样母液 0.5、1、2.5、5、10 mL 于 25 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 配制系列标准溶液, 摇匀。按选定的色谱条件进行测定, 以标准溶液质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 乙草胺线性回归方程

为 $Y=1.8443X+1.2640$, 相关系数 0.9998, 异噁草酮线性回归方程为 $Y=4.3161X+11.1853$, 相关系数为 0.9999, 2,4-滴丁酯线性回归方程为 $Y=5.24322X+52.5277$, 相关系数为 0.9999。说明在选定的条件下, 乙草胺、异噁草酮和 2,4-滴丁酯的响应值和其质量浓度有良好的线性关系。按照 3 倍信噪比($S/N=3$)计算, 检出限分别为 3.3、4.0、10.4 mg/L, 按照 10 倍噪比($S/N=10$)计算, 定量限分别为 11.0、13.3、34.6 mg/L。

3.3 精密度实验

分别称取上述 70%乙·噁·滴丁酯乳油样品, 按确定的色谱条件重复测定 5 次, 结果异噁草酮、乙草胺和 2,4-滴丁酯变异系数分别为 0.33%、0.44%和 0.41%。表明该方法的精密度较高(见表 1)。

表 1 精密度实验结果($n=5$)
Table 1 Results of precision test($n=5$)

序号	异噁草酮/%	乙草胺/%	2,4-滴丁酯/%
1	16.69	40.39	13.43
2	16.58	40.24	13.32
3	16.55	40.11	13.34
4	16.62	40.26	13.40
5	16.58	39.92	13.30
平均值	16.60	40.18	13.36
变异系数/%	0.33	0.44	0.41

3.4 方法的回收率实验

采用加标回收法, 在已知质量分数的样品中加入混合标准溶液, 配制不同加入量的样品溶液, 按确定的方法对异噁草酮、乙草胺和 2,4-滴丁酯进行 5 次重复测定。结果表明, 不同添加水平, 异噁草酮平均回收率为 99.3%~101.8%, 变异系数 0.28%~0.35%。乙草胺平均回收率为 98.6%~101.8%, 变异系数为 0.41%~0.45%, 2,4-滴丁酯平均回收率为 99.7%~102.8%, 变异系数 0.36%~0.42%(见表 2)。

表 2 加标回收率结果
Table 2 Results of recoveries

序号	异噁草酮			乙草胺			2,4-滴丁酯		
	添加水平 /mg	平均回收率 /%	变异系数 /%	添加水平 /mg	平均回收率 /%	变异系数 /%	添加水平 /mg	平均回收率 /%	变异系数 /%
1	2.04	100.0	0.34	4.50	101.8	0.42	2.32	102.2	0.38
2	4.08	99.3	0.28	9.00	98.6	0.41	4.64	101.3	0.39
3	10.21	101.2	0.35	22.49	99.6	0.45	11.59	102.8	0.39
4	20.40	100.5	0.34	44.98	99.7	0.44	23.18	101.3	0.36
5	30.62	101.8	0.34	67.47	100.5	0.40	34.77	99.7	0.42

4 结 论

本研究采用液相色谱法, 通过对流动相的选择, 确定了同时测定除草剂中异噁草酮、乙草胺、和 2,4-滴丁酯 3 种有效成分的方法。该方法分离效果好, 杂质干扰少, 简便易行, 具有较高的准确度和精密度, 线性范围满足测定需要, 可以用于生产企业产品质量控制。

参考文献

- [1] 宋仙平, 刘圻, 朱宝立. 乙草胺的毒性及致癌性研究进展[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2017, 35(1): 69-71.
Song XP, Liu X, Zhu BL. Advances in toxicity and carcinogenicity of acetochlor [J]. Chin J Ind Hyg Occupat Dis, 2017, 35(1): 69-71.
- [2] 尚战峰, 谭辉华, 李雪生, 等. 乙草胺在甘蔗和土壤中的残留分析及降解动态[J]. 现代农药, 2014, 6: 35-37.
Shang ZF, Tan HH, Li XS, *et al.* Residue analysis and degradation dynamics of acetochlor in sugarcane and soil [J]. Mod Agrochem, 2014, 6: 35-37.
- [3] 朱九生, 乔雄梧, 王静, 等. 乙草胺在土壤环境中的降解及其影响因子的研究[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(5): 1025-1029.
Zhu JS, Qiao XW, Wang J, *et al.* Degradation and the influencing factors of acetochlor in soils [J]. J Agro-Environ Sci, 2004, 23(5): 1025-1029.
- [4] 刘长令. 世界农药大全: 除草剂卷[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002.
Liu CL. The world pesticide catalogue: Herbicide roll [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2002.
- [5] 吴玉东, 陈军, 赵天义, 等. 48%异噁草松与不同除草剂混用防治甘蔗田杂草田间药效试验[J]. 广西植保, 2013, 26(2): 20-22.
Wu YD, Chen J, Zhao TY, *et al.* Field efficacy of 48% isoxanthine and different herbicides against weeds in sugarcane field [J]. Guangxi Plant Protect, 2013, 26(2): 20-22.
- [6] 张万明, 王东生, 丁振山. 2, 4-滴丁酯对农作物药害产生的原因及对策[J]. 北京农业, 2006, 8: 40.
Zhang WM, Wang DS, Ding ZS. The causes and countermeasures of the damage to crops caused by 2, 4- butyl ester [J]. Beijing Agric, 2006, 8: 40.
- [7] 赵哲, 刘燕, 谷祖瑜, 等. 82%乙·恶·滴丁酯乳油对大豆的安全性及杂草防效的研究[J]. 现代化农业, 2012, 8: 3-4.
Zhao Z, Liu Y, Gu ZY, *et al.* Study on the safety and weed control effect of 82% ethyl butyl emulsion on soybean [J]. Mod Agric, 2012, 8: 3-4.
- [8] GB/T 22600-2008 2, 4-滴丁酯原药[S].
GB/T 22600-2008 2, 4-D butyl technical [S].
- [9] GB/T 22601-2008 2, 4-滴丁酯乳油[S].
GB/T 22601-2008 2, 4-D butyl emulsifiable concentrates [S].
- [10] GB/T 20691-2006 乙草胺原药[S].
GB/T 20691-2006 Acetochlor technical [S].
- [11] GB/T 20692-2006 乙草胺乳油[S].
GB/T 20692-2006 Acetochlor emulsifiable concentrates [S].
- [12] GB/T 24751-2009 异噁草松原药[S].
GB/T 24751-2009 Acetochlor technical I [S].
- [13] GB/T 23551-2009 异噁草松乳油[S].
GB/T 23551-2009 Clomazone emulsifiable concentrates [S].
- [14] 赵吉慧, 邢占军. 2, 4-滴丁酯·乙草胺·莠去津 50%悬乳剂高效液相色谱分析[J]. 齐齐哈尔大学学报, 2014, 3: 94.
Zhao JH, Xing ZJ. HPLC Analysis of 50% suspension emulsion of acetochlor and atrazine [J]. J Qiqihar Univ, 2014, 3: 94.
- [15] 周玉良, 杨新东, 彭丽. HPLC 法定量分析 60%乙·莠·滴丁酯悬乳剂[J]. 广州化工, 2015, 43(4): 147-149.
Zhou YL, Yang XD, Peng L. Quantitative analysis of atrazine-acetochlor 2, 4-D butylate 60% SE by HPLC [J]. Guangzhou Chem Ind, 2015, 43(4): 147-149.
- [16] 王桂英, 葛晓路. 气相色谱法分析 50%乙草胺·异噁草酮乳油的研究[J]. 安徽化工, 2007, 33(5): 61-62.
Wang GY, Ge XL. Analysis of 50% acetochlor emulsion by gas chromatography [J]. Anhui Chem Ind, 2007, 33(5): 61-62.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



钱 训, 副研究员, 主要研究方向为农药分析和农产品质量安全。
E-mail: xunqian196805@sina.com