

离子色谱法测定茶园土壤中草甘膦残留量

刘新月*, 伍旭东, 蒲泓君, 车 涛, 张晓花, 杨俊波

(国家普洱茶产品质量监督检验中心, 普洱 665000)

摘 要: 目的 建立简便快捷测定茶园土壤草甘膦残留量的离子色谱分析方法。**方法** 土壤样品采用 5 mg/L $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 超声提取 30 min, 提取液经净化后, 采用流速为 1.0 mL/min、进样量 25 μL 、抑制器电流 87 mA、20 mmol/L KOH 淋洗液、AS19 分析柱, 抑制型电导检测。**结果** 草甘膦在 0.05~3.0 mg/L 范围内线性关系良好, 相关系数 r 为 0.9996, 检出限为 0.016 mg/kg。在低、中、高 3 种加标水平下, 平均回收率分别为 90.4%、96.8%和 97.8%, 重复测定相对标准偏差(RSD)分别为 5.73%、7.74%和 3.87%。**结论** 该方法操作简单无需衍生, 线性良好, 可以准确地测定茶园土壤中草甘膦残留量。

关键词: 离子色谱法; 草甘膦; 残留量; 茶园土壤

Determination of glyphosate residues in tea plantation soil by ion chromatography

LIU Xin-Yue*, WU Xu-Dong, PU Hong-Jun, CHE Tao, ZHANG Xiao-Hua, YANG Jun-Bo

(National Center for Pu'er Tea Product Quality Supervision and Inspection, Pu'er 665000, China)

ABSTRACT: Objective To establish a simple and rapid ion chromatography analysis method for the determination of glyphosate residues in tea garden soil. **Methods** The soil samples were extracted with 5 mg/L $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ for 30 min. After purification, the flow rate was 1.0 mL/min, injection volume was 25 μL , inhibitor current was 87 mA, 20 mmol/L KOH eluent, AS19 analytical column and inhibitory conductance detection was used. **Results** Glyphosate had a good linear relationship in the range of 0.05-3.0 mg/L, the correlation coefficient r was 0.9996, and the detection limit was 0.016 mg/kg. The average recoveries of glyphosate were 90.4%, 96.8% and 97.8%, respectively, and the RSD% of repeated determination were 5.73%, 7.74% and 3.87%, respectively. **Conclusion** The method is simple to operate, does not need derivation, has good linearity, and can accurately determine glyphosate residues in tea garden soil.

KEY WORDS: ion-chromatography; glyphosate; pesticide residues; tealand soil

1 引 言

草甘膦(glyphosate), 化学名称为 N-(膦酰基甲基)甘氨酸, 分子式为 $\text{C}_3\text{H}_8\text{N}_5\text{OP}$, 是一种内吸传导型广谱灭生性除草剂, 具有高效、低毒的特点。被广泛应用于农业, 是

除草活性最强的有机磷农药。随着草甘膦的使用量日益增大, 其在地表水、土壤和地下水中均被发现^[1], 加之不合理使用, 导致土壤中草甘膦的残留量越来越多。多项研究表明草甘膦具有生物毒性, 对生态环境和人体健康都具有潜在的危害^[2-4]。草甘膦进入土壤后与土壤中矿物质及有机物

基金项目: 云南省质量技术监督局科技计划项目(2016FD134)

Fund: Supported by the Science and Technology Plan of Yunnan Provincial Bureau of Quality and Technical Supervision (2016FD134)

*通讯作者: 刘新月, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向茶叶分析测试。E-mail: liuxinyue19@163.com

*Corresponding author: LIU Xin-Yue, Master, Senior Engineer, National Center for Pu'er Tea Product Quality Supervision and Inspection, Yongping Road, Simao Zone, Pu'er 665000, China. Email: liuxinyue19@163.com

的结合能力很强, 快速准确分析土壤中草甘膦残留量存在一定的难度^[5-7]。近年来随着茶园面积的不断扩大, 草甘膦在茶园中也开始大量使用, 茶叶生产过程中草甘膦残留问题日益受到关注^[8]。普洱市茶园面积居全国首列, 茶叶是其重要经济作物之一, 土壤草甘膦残留严重影响茶叶安全生产。因此, 有必要开展茶园土壤草甘膦残留的检测技术研究。

对于草甘膦残留的检测, 常见的测定方法主要有: 高效液相色谱法、气相色谱法, 质谱联用法等^[9-15]。由于草甘膦没有紫外吸收又不易挥发, 以上方法均需柱前或柱后衍生, 衍生化需要用到对人体可能有潜在危害的试剂, 同时测定步骤较为复杂、费时。气相色谱法及高效液相色谱法均需要对草甘膦进行衍生处理, 得到适合仪器分析的衍生物后才能进样分析。离子色谱法以离子交换为分离机理, 可直接实现草甘膦的分离^[16,17]。

本研究在参考相关文献的基础上^[9-17], 通过对样品提取、净化和淋洗液浓度等条件的优化, 建立一种简单、快速测定土壤中草甘膦残留量的离子色谱检测方法。以期为茶园土壤中草甘膦残留标准的制定提供技术支持。

2 材料与方法

2.1 材 料

土壤样品: 采于普洱市境内茶园。

2.2 试 剂

实验用水为 MILLI-Q 制 18.2 mΩ 去离子水、草甘膦标准溶液(美国 SIGMA 公司); 淋洗液: KOH 淋洗液(美国 Thermo 公司)。

2.3 仪 器

ICS-1500 型离子色谱仪、阴离子交换柱为 AS19、净化柱: OnGuard II RP 和 OnGuardIIAg/H (美国 Thermo 公司); 3K15 型高速离心机 (德国 Sigma 公司)。

2.4 实验方法

2.4.1 土壤样品提取

用分析天平称取过 1 mm 筛孔的风干土样 10.0 g, 置于 100 mL 塑料三角瓶中, 加入无二氧化碳去离子水 100 mL, 再加入 5 mg/L Na₂S₂O₃ 进行脱氯处理, 加盖超声提取 30 min, 静止过滤, 取滤液 6000 r/min 离心 15 min, 取上清液过 0.45 μm 滤膜, 待净化。

2.4.2 净 化

取 2 L 上清液依次通过 On Guard P 柱和 On Guard RP 预处理柱, 除去腐殖酸和蛋白质, 进行纯化, 待测。

2.4.3 标准溶液的配制

将草甘膦标准物质配制成浓度为 0.05、0.1、0.5、1.0、2.0、3.0 mg/L 的标准溶液系列, 进行测定。

2.4.4 色谱分析条件

色谱柱: AS19 分析柱+AG19 保护柱; 进样量: 25 μL; 淋洗液: 20 mmol/L KOH; 抑制器: ASRS ULTRAI, 4 mm; 抑制模式: 自循环再生; 流速 1.0 mL/min; 检测池温度: 30 °C; 柱温 35 °C; 检测器: Dionex 电导检测器, 抑制器电流 87 mA, 采用峰谷到峰谷最小峰面积方式积分。

3 结果与分析

3.1 土壤提取条件的确定

由于草甘膦为可溶态的阴离子, 所以采用水为溶剂进行提取。通过参考文献报道的土壤检测的提取方法^[9-17], 加入 5 mg/L Na₂S₂O₃ 进行脱氯处理, 向土壤中加入 0.05、0.10、0.50 mg/kg 三种浓度的草甘膦标准溶液, 测定其回收率来表征不同样品前处理的提取效率。在 3 种加标水平下, 草甘膦的平均回收率均达到 90%以上, 提取效果较好, 因此确定提取溶剂为水, 再加入 5 mg/L Na₂S₂O₃ 进行脱氯处理。

3.2 提取液的净化

土壤提取液中含有大量可溶于水的有机物质、无机盐和腐殖质等杂质, 若直接进样分析, 会对草甘膦的测定造成干扰, 也会严重损坏色谱柱的分离效率, 因此必须进行净化处理。首先, 采用 OnGuardIIRP 柱去除有机物, 采用 OnGuardIIAg/H 柱去除无机卤化物以及高浓度金属离子的干扰, 可以达到很好的去除效果, 回收率得到提高。

3.3 色谱条件的确定

通过参考相关文献资料^[16-19], 本研究采用了 Ion Pac AS19 分析柱, KOH 淋洗液对土壤中草甘膦含量进行测定。试验采用等度洗脱模式, 色谱条件为流速 1.0 mL/min, 进样量 25 μL, 抑制器电流 87 mA、20 mmol/L KOH 淋洗液。在此条件下, 常规阴离子和草甘膦均可以达到很好的分离效果, (如图 1)。有文献报道采用梯度洗脱模式和大体积进样^[18,19], 但洗脱时间较长(30 min)且大体积进样对色谱柱有影响, 故不予采纳。综合以上试验结果, 采用 20 mmol/L KOH 等度洗脱可以在相对较短的时间(23 min)内对草甘膦进行定量分析, 达到本研究的目的, 因此选择 20 mmol/L KOH 等度淋洗, 流速 1.0 mL/min, 进样量 25 μL, 抑制器电流 87 mA。

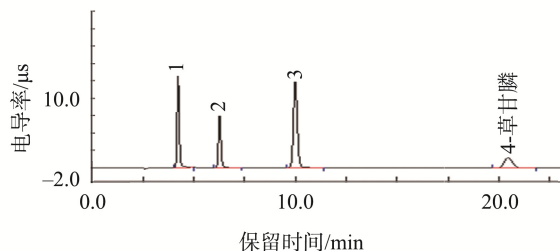


图 1 0.50 mg/kg 加标样品色谱图

Fig.1 Chromatogram of the soil sample spiked with 0.50 mg/kg

3.4 标准工作曲线与方法检出限

按照 3.3 的色谱条件, 将配制好的草甘膦标准溶液系列, 分别进样分析, 保留时间定性, 峰面积定量, 以草甘膦的浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线。按公式 $\rho(\min)=\rho_s(3HN/H)$ (式中 ρ_s 为样品中离子的质量浓度; HN 为噪音峰高; H 为样品中离子的峰高)计算出其的检出限。以峰面积 A 对组分的质量浓度 $\rho(\text{mg/L})$ 求线性回归方程, 其回归方程、相关系数及检出限(见表 1)。结果显示: 其标准曲线方程为 $Y=0.392X-0.033$, 相关系数 r 为 0.9996。 $S/N=3$ 时方法的最低检出限为 0.016 mg/kg。

表 1 方法的检出限与标准工作曲线
Table 1 Detection limit of the method and standard curve

峰名称	回归方程	相关系数	线性范围	检出限/(mg/kg)	RSD/%
草甘膦	$Y=0.392X-0.033$	0.9996	0.05~3.0	0.016	1.230

表 2 加标回收和重复性试验结果($n=5$)
Table 2 Results of standard recovery and repeatability test ($n=5$)

添加水平/(mg/kg)	测定值/(mg/kg)	回收率/%	RSD/%
0.05	0.046	92.0	5.73
	0.047	94.0	
	0.042	84.0	
	0.043	86.0	
	0.048	96.0	
0.10	0.092	92.0	7.74
	0.097	97.0	
	0.087	87.0	
	0.105	105.0	
	0.103	103.0	
0.50	0.470	94.0	3.87
	0.486	97.2	
	0.520	104.0	
	0.479	95.8	
	0.490	98.0	

4 结论与讨论

本研究建立了超声波提取-离子色谱测定茶园土壤中草甘膦的方法。该方法利用水为溶剂超声波提取将茶园土壤中的草甘膦释放出来, 再采用固相萃取小柱进行去除杂质干扰, 优化色谱测定条件, 达到准确测定茶园土壤中草甘膦残留量的目的。本方法操作简便、快捷, 灵敏度高, 准确度好, 检测成本低, 省去了土壤样品前处理和衍生的麻

3.5 方法精密度及加标回收率试验

在上述条件下, 选取 1 风干过筛的土壤样品进行加标回收率试验, 分别加入低、中、高三种浓度为 0.05、0.10、0.50 mg/kg 标准溶液配制成不同浓度的加标样品, 重复测定 5 次, 加标回收和重复性试验结果见表 2。试验结果显示, 3 种不同浓度的土壤样品草甘膦的平均回收率分别为 90.4%、96.8%、97.8%, 重复测定相对标准偏差(RSD%)分别为 5.73%、7.74%、3.87%。该方法具有重现性和精密度良好, 添加回收率及检出限均能满足茶园土壤草甘膦残留量分析要求。

烦, 小体积进样降低了对检测设备的损伤, 同时有重现性和精密度良好, 添加回收率及检出限均能满足农药残留分析要求。是一种快速准确分析土壤中草甘膦残留量的方法, 在茶园土壤草甘膦残留量分析中值得推广。

参考文献

[1] 傅定一. 草甘膦的第二次机遇[J]. 农药, 2002, 41(10): 1-5.
Fu DY. Glyphosate's second chance [J]. Pesticides, 2002, 41(10): 1-5.
[2] 苏少泉, 滕春红. 草甘膦应用现状与未来发展[J]. 世界农药, 2016, 36(3): 8-11.
Su SQ, Teng CH. The application status and future development of glyphosate [J]. World Pestic, 2016, 36(3): 8-11.
[3] 潘丽萍, 张锋, 朱宝立. 草甘膦的毒性研究[J]. 中国工业医学杂志, 2016, 29(2): 120-123.
Pan LP, Zhang F, Zhu BL. Study on environmental behavior and toxicity of glyphosate [J]. Chin J Ind Med, 2016, 29(2): 120-123.
[4] 周垂帆, 李莹, 张晓勇, 等. 草甘膦毒性研究进展[J]. 生态环境学报, 2013, 22(10): 1737-1743.
Zhou CF, Li Y, Zhang XY, et al. Research advance in ecotoxicity of glyphosate [J]. Ecology Environ Sci, 2013, 22(10): 1737-1743.
[5] 杨宏伟, 郭博书, 嘎尔迪. 除草剂草甘膦在土壤中的吸附行为[J]. 环境科学, 2004, 25(5): 158-162.
Yang HW, Guo BS, Ga ED. Adsorption behaviors of herbicide glyphosate on soils [J]. Chin J Environ Sci, 2004, 25(5): 158-162.
[6] 黄鸣, 裴少芬, 邵增琅, 等. 草甘膦检测方法在土壤-茶树系统中的验证与残留动态分析[J]. 现代食品科技, 2020, 36(1): 1-8.
Huang M, Pei SF, Shao ZL, et al. Validation of glyphosate detection method and dynamic analysis of its residue in soil-tea tree system [J]. Mod Food Sci Technol, 2020, 36(1): 1-8.
[7] 孙立思, 王娜, 孔德洋, 等. 土壤理化性质对草甘膦残留检测的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2017, 33(9): 860-864.
Sun LS, Wang N, Kong DY, et al. Influence of soil physical and chemical properties on detection of glyphosate residue [J]. J Ecology Rural Environ, 2017, 33(9): 860-864.

- [8] 黄嘉乐, 李秀英, 林森煜, 等. 离子色谱法测定茶叶中草甘膦的残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(5): 1895–1900.
- Huang JL, Li XY, Lin SY, *et al.* Determination of glyphosate residues in tea by ion chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(5): 1895–1900.
- [9] 程雪梅, 周敏. 气相色谱-质谱法测定香蕉和灌溉水中的草甘膦及其代谢物的残留量[J]. 色谱, 2004, 22(3): 288.
- Cheng XM, Zhou M. Determination of glyphosate and its principal metabolite residues in banana and its irrigation water by GC-MS [J]. Chin J Chromatogr, 2004, 22(3): 288.
- [10] Hogendoorn EA, Ossendrijver FM, Dijkman E, *et al.* Rapid determination of glyphosate in cereal samples by means of precolumn derivatisation with 9-fluorenylmethyl chloroformate and coupled column liquid chromatography with fluorescence detection [J]. J Chromatogr A, 1994, 833(1): 67–73.
- [11] 王超, 赵永亮, 高敏, 等. 桑园土壤中草甘膦残留检测方法[J]. 江苏科技大学学报(自然科学版), 2015, 29(4): 388–391.
- Wang C, Zhao YL, Gao M, *et al.* Detection of glyphosate residues in soil of mulberry field [J]. J Jiangsu Univ Sci Technol (Nat Sci Ed), 2015, 29(4): 388–391.
- [12] 张丽娟, 韦少平, 李致宝, 等. 高效液相色谱法同柱分析草甘膦和双甘膦[J]. 农药, 2009, 48(6): 431–432.
- Zhang LJ, Wei SP, Li ZB, *et al.* Analysis of glyphosate and N-(phosphonomethyl) iminodiacetic acid at the same column by HPLC [J]. Agrochemicals, 2009, 48(6): 431–432.
- [13] SN/T 1923–2007 进出口食品中草甘膦残留量的检测方法液相色谱-质谱/质谱法[S].
- SN/T 1923–2007 Determination of glyphosate residues in food for import and export-HPLC-MS/MS method [S].
- [14] 成婧, 王美玲, 龚强, 等. 液相色谱-串联质谱法检测植物源食品中的草甘膦及其代谢物的残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(1): 138–144.
- Cheng J, Wang ML, Gong Q, *et al.* Determination of glyphosate and aminomethyl phosphonic acid residues in plant-derived foodstuff by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(1): 138–144.
- [15] 刘拉平, 武瑜, 王玉堂, 等. 柱前衍生高效液相色谱-串联质谱法测定土壤中草甘膦及其主要代谢物氨基甲基膦酸[J]. 农药学报, 2015, 17(4): 439–446.
- Liu LP, Wu Y, Wang YT, *et al.* Determination of glyphosate and its main metabolites aminomethyl phosphonic acid in soil sample by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with pre-column derivatization [J]. Chin J Pestic Sci, 2015, 17(4): 439–446.
- [16] 邱慧敏, 耿金菊, 韩超, 等. 串联毛细管离子色谱法测定水中亚磷酸根、磷酸根、草甘膦和氨基甲基膦酸[J]. 分析化学, 2013, 41(12): 1910–1914.
- Qiu HM, Geng JJ, Han C, *et al.* Determination of phosphite, phosphate, glyphosate and aminomethylphosphonic acid by two-dimensional ion chromatography system coupled with capillary ion chromatography [J]. Chin J Anal Chem, 2013, 41(12): 1910–1914.
- [17] 杨健, 李振宇, 祝艳, 等. 磁固相萃取/离子色谱法测定土壤中草甘膦[J]. 分析测试学报, 2018, 37(9): 1051–1055.
- Yang J, Li ZY, Zhu Y, *et al.* Determination of glyphosate residues in soil samples by ion chromatography combined with magnetic solid phase extraction [J]. J Instr Anal, 2018, 37(9): 1051–1055.
- [18] 武中平, 高巍, 顾爱国, 等. 免试剂离子色谱测定草甘膦含量[J]. 农药, 2007, 46(10): 682–683.
- Wu ZP, Gao W, Gu AG, *et al.* Study on the determination of glyphosate by RFIC [J]. Agrochemicals, 2007, 46(10): 682–683.
- [19] 张培志, 吴军, 张培敏, 等. 土壤中草甘膦的离子色谱法测定[J]. 分析测试学报, 2003, 22(4): 89–90.
- Zhang PZ, Wu J, Zhang PM, *et al.* Determination of glyphosate in soil by ion chromatography [J]. J Instr Anal, 2003, 22(4): 89–90.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



刘新月, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向茶叶分析测试。

Email: liuxinyue19@163.com