

分类号 : TQ 453.21
密级 : 不保密

学校代码 : 10426
学号 : 2005025001

青 岛 科 技 大 学

硕 士 研 究 生 学 位 论 文

论文题目: 三乙膦酸铝的离子色谱
分析及原药全分析

姓 名 : 丁 宁
指导教师 : 范志先
学科专业 : 无机化学
专业代码 : 070301
研究方向 : 农药分析

二〇〇八年六月十二日

三乙膦酸铝的离子色谱分析及原药全分析

学位论文完成日期： 2008-06-12

指导教师签字： _____

答辩委员会成员签字： _____

三乙磷酸铝的离子色谱分析及原药全分析

摘 要

本文在对仪器分析用的三乙磷酸铝纯品制备、定值研究的基础上,建立了三乙磷酸铝原药、制剂的离子色谱法、反相离子对色谱法—蒸发光散射检测器的定量分析方法。对长春市试验点大棚黄瓜施用三乙磷酸铝后铝在黄瓜及叶片上的残留进行了分析与评价。本文还对三乙磷酸铝原药进行了全分析。

采用二级水三次水洗抽滤的方法对三乙磷酸铝原药进行纯化,国产三乙磷酸铝原药中所含杂质主要为亚磷酸盐、硫酸盐。对制备的纯品采用碘量法、离子色谱法定值,含量大于 99.0 %,能够满足离子色谱分析对标样的要求。同时采用 DIONEX AS 14、AS 9 离子色谱柱明确了常见阴离子、淋洗液浓度对三乙磷酸铝分离的影响。

本文建立了完整的三乙磷酸铝原药、制剂中有效成分及杂质的离子色谱同时定量分析方法。样品溶解在水中,超声波振荡 30 min。采用 Na_2CO_3 溶液为淋洗液、AS 9 离子色谱柱、电导检测器的定量测定结果表明,方法的准确度(添加回收率 100.1 ~ 100.2 %)和精密度(RSD 0.31 %)均满足常量分析要求,样品测定结果满意。离子色谱法与经典碘量法相比表现出简便、准确、快速、高通量作业的特点。

本文首次建立了以正己胺作为离子对试剂的反相高效液相色谱定量分析方法。三乙磷酸铝浓度在 50 ~ 800 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内呈现良好的线性关系,检出限为 100 ng。本方法的平均添加回收率为 100.3 ~ 100.6 %,相对标准偏差RSD为 0.63 %。随着蒸发光散射检测器的日益普及,离子对反相高效液相色谱法在原药、制剂生产和质量检验方面更具有实用性。

本文建立了湿法消解—石墨炉原子吸收光谱法测定黄瓜及其叶片上铝的背景含量及其施用三乙磷酸铝后铝的最终残留量。方法线性范围为 0 ~ 400 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, $r = 0.9913$, 铝的检出限为 62.4 pg。测定黄瓜中铝的添加回收率为 92.1 ~ 98.7 %, RSD为 4.8 ~ 5.1 %;测定黄瓜叶片中铝的添加回收率为 89.0 ~ 100.1 %; RSD为 13.9 ~ 17.6 %,说明该方法的准确度和精密度均符合痕量分析要求。空白黄瓜样品铝的背景值为 5.0 ~ 8.7 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 平均值为 6.8 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 空白黄瓜叶片铝的背景值为 187.5 ~ 223.6 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 平均值为 201.6 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。间隔 1 周喷雾施用 2 ~ 3 次 80 %三乙磷酸铝WP (高剂量 5 640 $\text{g} \cdot \text{hm}^{-2}$, 有效成分), 黄瓜样品上铝的最终残留量为 6.98 ~ 9.35 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 比照相关标准可以安全食用; 黄瓜叶片上铝的最终残留量最高为 339.53 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 比照空白黄瓜叶片铝的背景值 187.5 ~ 223.6

$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，测定数据表明三乙膦酸铝中的铝在黄瓜叶片上的积累较明显，与施药剂量和施药次数有一定的相关性。

试验获得了三乙膦酸铝的紫外光谱图、红外光谱图、核磁共振波谱图、质谱图。这些谱图进一步表征了三乙膦酸铝的化学结构。采用离子色谱法，测定的国产三乙膦酸铝原药中除主成分和水分外，大于 0.1 % 的杂质有亚磷酸根离子、硫酸根离子，铵根离子。亚磷酸根离子、硫酸根离子和铵根离子的含量分别为 4.2 ~ 8.3 %、2.7 ~ 3.7 % 和 1.2 ~ 1.3 %。

关键词：三乙膦酸铝 离子色谱法 黄瓜 全分析

THE ANALYSIS OF FOSETYL-ALUMINIUM BY ION CHROMATOGRAPHY AND IMPURITIES FOR THE TECHNICAL

ABSTRACT

In this paper the methods of ion chromatography and ion-pair reversed phase high performance liquid chromatography coupled with evaporative light scattering detector for quantitative analysis of fosetyl-aluminium in technical or formulated were established on the base of preparation and analysis of fosetyl-aluminium pure samples for instrument analysis. The residues of aluminium in cucumber and the leaf samples after applying fosetyl-aluminium on cucumber planting in plastic house in Changchun city were analyzed and evaluated. In addition, all ingredients of fosetyl-aluminium technical were analyzed.

Fosetyl-aluminium technical made in China was purified with the method of washing three times by redistilled water and vacuum filtration whose impurities are mostly phosphite, sulfate and the prepared pure sample of fosetyl-Al could satisfy the demand of ion chromatography analysis. The pure fosetyl-aluminium was determined by the method of iodimetry and ion chromatography, and its content was above 99.0 %. The influence of familiar anions and the concentration of eluent on the separation of fosetyl-Al were studied using DIONEX AS 14 and AS 9 analytical columns.

The method of quantitative analysis of fosetyl-aluminium technical, fosetyl-aluminium formulated and their impurities by ion chromatography with electronic conductivity detector, AS 9 column, Na_2CO_3 solution as eluent was established. The samples dissolved in the water with ultrasonic oscillating for 30 minutes. The recoveries of two fortification levels were 100.1 - 100.2 % with RSD of 0.31 %. The accuracy and the precision of the method satisfied the demand of macro analysis. The result of samples determined was satisfying. The method of ion chromatography is simple, accurate, rapid, and could determine a number of samples simultaneously compared with the method of iodimetry.

In this paper, the quantitative analysis method of reversed phase high performance liquid chromatography with *n*-hexylamine as ion-pairing reagent was established for the first. Fosetyl-aluminium presented good linearity in the range of 50 - 800 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The LOD was 100 ng. The average recovery of the method was 100.3 - 100.6 % with

RSD of 0.63 %. The method of ion-pair reversed phase high performance liquid chromatography is more practical in the way of produce and quality test of technical or formulated on the base of application of evaporative light scattering detector increasingly.

In this thesis, the method of wet digestion-graphite atomic absorption spectrometry was established by which the background content and the final residues of aluminium in cucumber and the leaves after applying fosetyl-aluminium were determined. The linearity rang was 0 - 400 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, r was 0.991 3. The LOD of aluminium was 62.4 pg. The recovery of aluminium determined in cucumber was 92.1 – 98.7 % with RSD of 4.8 - 5.1 % and the recovery of aluminium determined in the leaves was 89.0 – 100.1 % with RSD of 13.9 - 17.6 %. The accuracy and the precision of the method satisfied the trace analysis requirements. The background content of aluminium in cucumber blank samples was 5.0 - 8.7 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, average content was 6.8 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, and in the leaf blank samples was 187.5 - 223.6 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, average content was 201.6 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Fosetyl-aluminium 80 % WP (high dose 5 640 $\text{g} \cdot \text{hm}^{-2}$, active ingredients) was sprayed for 2 - 3 times in the leaves one week interval. The final residue of aluminium in cucumber samples was 6.98 - 9.35 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. According to the relevant standard, the cucumber was safe for food. The highest final residues of aluminium in the leaves was 339.53 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. The results showed that the accumulation of aluminium from fosetyl-aluminium in the leaves was obvious compared with background content of aluminium in the leaf blank samples 187.5 - 223.6 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ which is concerned to the doses and times of pesticide application.

The UV spectra, IR spectra, NMR spectrum and mass spectrum of fosetyl-aluminium were obtained in the paper. These spectrograms further characterized the chemical structure of fosetyl-aluminium. All components of fosetyl-aluminium technical made in china were determined for quantitative analysis by ion chromatography. The impurities more than 0.1 % were phosphite ion, sulfate ion, ammonium ion in addition to the main ingredient and moisture that was 4.2 - 8.3 %, 2.7 - 3.7 % and 1.2 - 1.3 % respectively.

KEY WORDS: Fosetyl-aluminium IC Cucumber Impurities

目 录

第一章 前 言	1
1.1 三乙磷酸铝	1
1.1.1 概况	1
1.1.2 所属农药类别	1
1.1.3 理化性质	2
1.1.4 毒性、生态效应和环境归宿	2
1.1.5 作用特点及机理	3
1.1.6 制备方法	3
1.1.7 常用剂型、登记情况及主要用途	4
1.1.8 三乙磷酸铝及铝的残留来源与管理	5
1.2 三乙磷酸铝分析方法研究进展	6
1.2.1 三乙磷酸铝原药和制剂分析	6
1.2.2 三乙磷酸铝残留分析	7
1.3 离子色谱法概述及应用	7
1.3.1 离子色谱法在农药常量分析中的应用	9
1.3.2 离子色谱法在农药残留分析中的应用	9
1.4 铝分析概述	10
1.5 农药原药全分析概述	12
第二章 三乙磷酸铝的纯化与离子色谱分析	15
2.1 材料与方法	15
2.1.1 仪器设备	15
2.1.2 试剂和溶液	15
2.1.3 离子色谱法测定条件	16
2.1.3.1 使用AS 14 阴离子色谱柱的分析条件	16
2.1.3.2 使用AS 9 阴离子色谱柱的分析条件	16
2.1.4 三乙磷酸铝在不同水温中溶解度的测定	16
2.1.5 三乙磷酸铝原药的纯化	16
2.1.6 三乙磷酸铝纯品的定值及杂质含量测定方法	17
2.1.6.1 碘量法测定三乙磷酸铝	17
2.1.6.2 离子色谱法测定三乙磷酸铝及主要杂质	17
2.1.7 常见阴离子、淋洗液浓度对三乙磷酸铝定量分析的影响	18
2.1.7.1 常见 7 种阴离子与乙基磷酸根离子分离试验	18
2.1.7.2 淋洗液浓度对乙基磷酸根离子保留时间及分离的影响	18
2.1.8 三乙磷酸铝、亚磷酸铝、硫酸铵标准曲线的绘制	18

2.1.9 三乙磷酸铝、亚磷酸铝、硫酸铵离子色谱分析方法的准确度和精密度	18
2.1.10 80 %三乙磷酸铝可湿性粉剂的定量对比分析方法	19
2.2 结果与讨论	19
2.2.1 三乙磷酸铝在水中溶解度的测定结果	19
2.2.2 三乙磷酸铝在水中降解试验结果	19
2.2.3 纯化后各种样品中三乙磷酸铝及主要杂质含量测定结果	20
2.2.4 常见阴离子与乙基磷酸根分离结果	24
2.2.5 三乙磷酸铝保留时间与淋洗液浓度关系试验结果	24
2.2.6 标准曲线的绘制	25
2.2.6.1 三乙磷酸铝标准曲线的绘制	25
2.2.6.2 亚磷酸铝标准曲线的绘制及检出限	25
2.2.6.3 硫酸铵标准曲线的绘制及检出限	26
2.2.7 分析方法的准确度和精密度测定结果	26
2.2.7.1 三乙磷酸铝的准确度和精密度测定结果	26
2.2.7.2 亚磷酸铝、硫酸铵分析的准确度和精密度测定结果	27
2.2.8 80 %三乙磷酸铝可湿性粉剂两种方法实测结果的比较	28
2.3 小 结	28
第三章 反相离子对色谱法-蒸发光散射检测器测定三乙磷酸铝的含量	31
3.1 材料与方法	31
3.1.1 仪器设备	31
3.1.2 试剂和溶液	31
3.1.3 分析条件	31
3.1.4 离子对试剂的选择	32
3.1.4.1 检测器的特点	32
3.1.4.2 离子对试剂的选择	32
3.1.5 液相色谱分析条件的优化	32
3.1.5.1 离子对试剂pH值的影响	32
3.1.5.2 离子对试剂浓度的影响	32
3.1.5.3 流动相甲醇比例的影响	32
3.1.6 ELSD参数优化	33
3.1.6.1 漂移管温度的选择	33
3.1.6.2 雾化气体空气压力的选择	33
3.1.6.3 喷雾器级别的选择	33
3.1.7 三乙磷酸铝及其杂质的测定	33
3.1.7.1 三乙磷酸铝及其杂质的检出限	33
3.1.7.2 三乙磷酸铝、亚磷酸盐、硫酸盐标准曲线的绘制	33
3.1.7.3 三乙磷酸铝、亚磷酸盐、硫酸盐准确度和精密度的测定方法	33
3.1.7.4 三乙磷酸铝原药、制剂及纯化样品的定量分析	34

3.2 结果与讨论	35
3.2.1 离子对试剂的选择结果	35
3.2.2 液相色谱分析条件的优化结果	37
3.2.2.1 离子对试剂pH值的影响	37
3.2.2.2 离子对试剂浓度的影响	37
3.2.2.3 流动相甲醇比例的影响	37
3.2.3 ELSD参数优化结果	38
3.2.4 三乙磷酸铝及其杂质的测定结果	38
3.2.4.1 三乙磷酸铝及其杂质的检出限	38
3.2.4.2 标准曲线的绘制	38
3.2.4.3 准确度和精密度的测定结果	40
3.2.4.4 三乙磷酸铝原药、可湿性粉剂及纯化样品的定量分析结果	43
3.3 小 结	44
第四章 施用三乙磷酸铝后铝在黄瓜及叶片上的残留分析与评价	45
4.1 材料与方法	45
4.1.1 仪器与设备	45
4.1.2 试剂和溶液	45
4.1.3 实验器皿的前处理	45
4.1.4 原子吸收光谱仪分析条件	45
4.1.5 样品的来源、制备和前处理	46
4.1.5.1 三乙磷酸铝的田间试验	46
4.1.5.2 田间样品的采集	47
4.1.5.3 实验室样品的包装、贮藏和运输	47
4.1.5.4 田间试验设计和样品运输的实施	47
4.1.5.5 样品前处理	47
4.1.6 铝标准曲线的建立及特征质量、检出限的计算	48
4.1.7 添加回收试验	48
4.2 结果与讨论	48
4.2.1 标准曲线、方法的特征质量及检出限结果	48
4.2.2 添加回收试验结果	49
4.2.3 最终残留量测定结果	51
4.3 小 结	51
第五章 三乙磷酸铝原药的全分析	53
5.1 材料与方法	53
5.1.1 三乙磷酸铝原药中主成分的表征	53
5.1.1.1 紫外光谱图的获得	53
5.1.1.2 红外光谱图的获得	53

5.1.1.3 核磁共振波谱图的获得.....	53
5.1.1.4 质谱图的获得.....	54
5.1.2 原药中杂质定性全分析试验.....	54
5.1.2.1 紫外光谱图及紫外吸收杂质的确证方法.....	54
5.1.2.2 有机杂质的确证方法.....	55
5.1.2.3 无机杂质离子的确证方法.....	55
5.1.3 原药定量全分析试验.....	55
5.1.3.1 干燥减量的测定.....	55
5.1.3.2 亚磷酸、硫酸根离子的测定.....	56
5.1.3.3 阳离子杂质定量测定.....	56
5.1.3.4 三乙磷酸铝原药有效成分含量的测定.....	56
5.2 结果与讨论.....	56
5.2.1 三乙磷酸铝结构的表征.....	56
5.2.1.1 紫外吸收光谱图.....	56
5.2.1.2 红外光谱图.....	56
5.2.1.3 核磁共振波谱图.....	57
5.2.1.4 质谱图.....	58
5.2.2 三乙磷酸铝原药中有机物的测定结果.....	60
5.2.3 三乙磷酸铝原药中阴、阳离子测定结果.....	61
5.2.4 三乙磷酸铝原药及杂质的测定结果统计.....	63
5.3 小 结.....	63
结 论.....	65
参考文献.....	67
附 录—略缩词表.....	73
致 谢.....	75
攻读学位期间发表的学术论文.....	77
声 明.....	79

第一章 前言

1.1 三乙膦酸铝

1.1.1 概况

中文通用名称：三乙膦酸铝

英文通用名称：fosetyl-aluminium

中文别名：疫霉灵，疫霜灵，乙膦铝，藻菌磷

英文商品名称：Aliette, Efosite-Al, Epal, LS-74783, Mikal, Phosethyl Al, 32545-RP

化学名称：三（乙基膦酸）铝

化学结构式：见图 1 - 1。

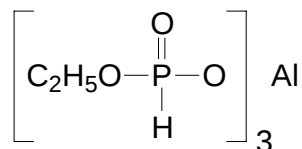


图 1 - 1 三乙膦酸铝化学结构式

Fig.1 - 1 Chemical structure of fosetyl-Al

分子式： $\text{C}_6\text{H}_{18}\text{AlO}_9\text{P}_3$;

分子量：354.11;

CAS 登记号：39148-24-8。

该产品 1978 年由法国罗纳—普朗克公司(Rhone-Poulenc Co.)研制开发，我国随后仿制成功。

1.1.2 所属农药类别

农药按防治对象可以被分为杀虫剂、杀菌剂、除草剂 3 大类。其中杀菌剂是指在一定剂量或浓度下，具有杀死植物病原菌或抑制其生长发育的药剂。杀菌剂按照原料来源及化学结构可分为化学合成杀菌剂、农用抗生素（放线菌代谢产物）、植物杀菌素（如大蒜素）等。化学杀菌剂通常包括无机杀菌剂和有机杀菌剂。无机杀菌剂是利用天然矿物质或无机物制成的杀菌剂，如硫磺粉、石硫合剂、硫酸铜、升汞、石灰等。有机杀菌剂按照化学结构又可以分为有机硫杀菌剂、有机氯杀菌剂、有机磷杀菌剂、有机砷杀菌剂、醌类杀菌剂、杂环类杀菌剂等。杀菌剂按照作用机制可以分为保护性杀菌剂和内吸性杀菌剂。保护性杀菌剂喷施后在作物叶面上形成保护药膜，阻止病菌孢子萌发侵入。内吸性杀菌剂喷施后可以被作物吸收、传导，起到对病原菌的抑制或治疗作用。

有机磷类杀菌剂是具有杀菌或抑菌活性的一类含磷有机化合物，基本结构是磷酸酯、硫代磷酸酯、磷酰胺等。这类药剂中的代表性品种有三乙膦酸铝、威菌磷、吡嘧磷、甲基立枯磷、异稻瘟净、克瘟散等，它们对作物特别是经济作物上的各种霜霉病、稻瘟病、白粉病防效显著。随着先导化合物取代基的变化，可以形成新的具有杀菌或抑菌活性的化学结构分子，目前仍然是一类很有开发潜力的化合物。

三乙膦酸铝为有机膦酸盐类内吸型杀菌剂，与其它内吸性杀菌剂相比，其内吸性能明显提高，而且可以在植物体内进行双向传导，对真菌中的卵菌有特效^[1]。

1.1.3 理化性质

纯品为白色晶体，无臭味，高于 200 °C 时分解，蒸汽压 10^{-3} Pa。原药为白色粉末。20 °C 水中溶解度为 $120 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ，乙腈中的溶解度为 $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，在乙酸乙酯、二氯甲烷中的溶解度均小于 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，难溶于一般有机溶剂。原药和制剂在正常贮存条件下稳定。 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的三乙膦酸铝水溶液 100 d 以上分解 50%。中性条件下稳定，遇强酸、强碱易分解。对金属无腐蚀性^[1]。

1.1.4 毒性、生态效应和环境归宿

三乙膦酸铝急性中毒症状多在 12 h 内发病，口服立即发病。轻度中毒症状为头痛、头昏、恶心、呕吐、多汗、无力、胸闷、视力模糊、胃口不佳等，全血胆碱酯酶活力一般降至正常值的 50 ~ 70 %；中度中毒时除上述症状外还出现轻度呼吸困难、肌肉震颤、瞳孔缩小、精神恍惚、行走不稳、大汗、流涎、腹疼、腹泻。重者还会出现昏迷、抽搐、呼吸困难、口吐白沫、大小便失禁，惊厥，呼吸麻痹。

原药对大鼠急性经口 LD_{50} $5\ 800 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，小鼠急性经口 LD_{50} $3\ 700 \sim 4\ 000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。对大鼠急性经皮 $\text{LD}_{50} > 3\ 200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，对小鼠急性经皮 LD_{50} $4\ 000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。80 % 三乙膦酸铝可湿性粉剂大鼠急性经口 LD_{50} 为 $7\ 500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。90 % 三乙膦酸铝可溶性粉剂大鼠急性经口 $\text{LD}_{50} > 5\ 000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。70 % 乙膦铝·锰锌可湿性粉剂雄性大鼠急性经口 $\text{LD}_{50} > 8\ 000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，雌性大鼠急性经口 $\text{LD}_{50} > 7\ 000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。大鼠和狗喂养 90 d，无作用剂量均为 $5\ 000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。虹鳟鱼、斑鱼、和鲢鱼 LC_{50} (96 h) 分别为 $428 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $161 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $189 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。对蜜蜂和野生动物较安全。对人皮肤、眼睛无刺激作用。在试验剂量内未见致畸、致突变作用。对人体日容许摄入量 (ADI) 为 $0 \sim 3.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

残留在作物和土壤中的三乙膦酸铝主要代谢分解产物是亚磷酸或磷酸。在土壤中的半衰期 ($T_{1/2}$) 为 0.3 ~ 1.5 h。三乙膦酸铝由于对人畜毒性低，对作物安全，对环境污染轻及价格低廉而获得广泛使用^[2]。

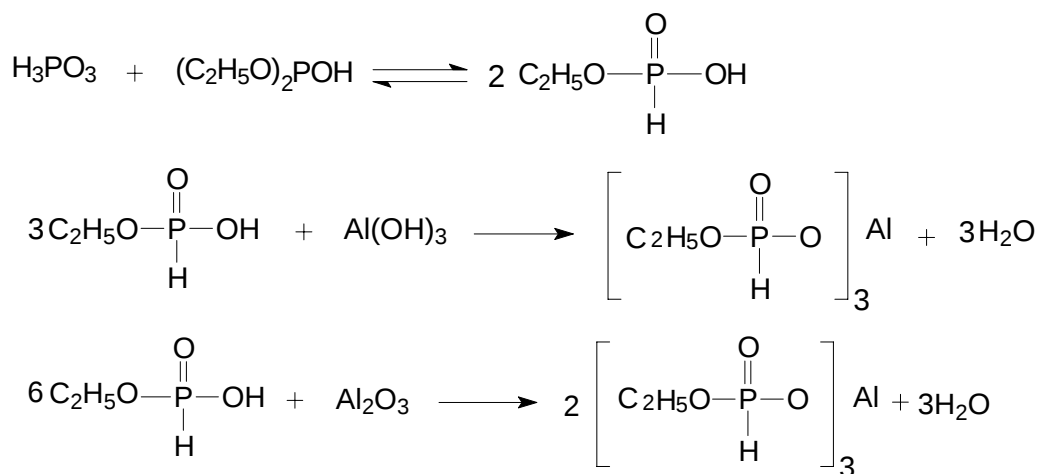
1.1.5 作用特点及机理

有机磷杀菌剂的杀菌机制包括以下三种。一是有机磷杀菌剂可使葡萄糖聚合为细菌壁葡萄聚糖的过程受阻，从而造成细胞膜的透过性改变，而限制供合成几丁质和葡萄聚糖基物外流，同时糖脂的形成亦明显受阻，而最终不能合成几丁质；二是它能够抑制细胞壁的乙酰酯酶，使细胞壁上的糖脂不能形成（糖脂是细胞膜上的载体，是一种运输机构），细胞膜的透过性降低，而供合成细胞壁中几丁质有机物质（N - 乙酰氨基葡萄糖）不能从细胞膜运出，而阻止细胞膜的形成；三是它能够抑制氨基葡萄糖的聚合，使组成细胞壁壳质无法形成，阻止菌丝生长和孢子产生。三乙磷酸铝通过阻止孢子萌发或抑制菌丝体和孢子的形成对作物起到保护和治疗作用^[3]。

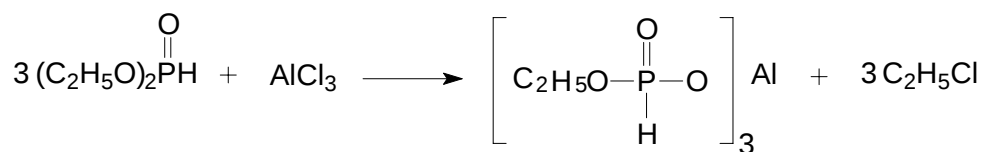
1.1.6 制备方法

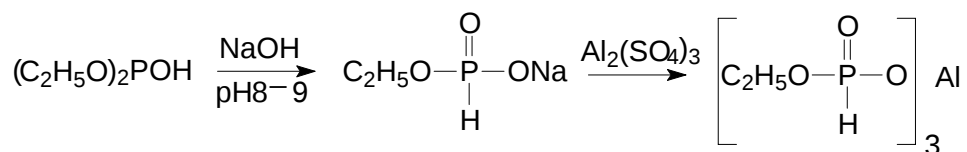
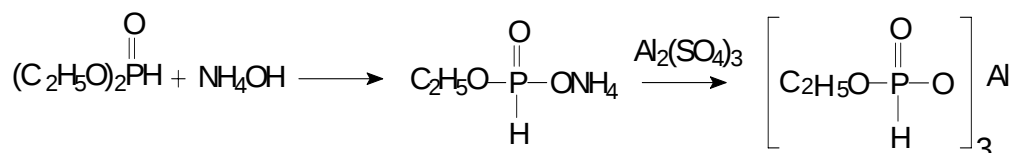
三乙磷酸铝的合成制备方法一般有 4 种^[4]，我国三乙磷酸铝生产厂家大多采用制备方法 4 合成进行生产，此方法称为铵盐二步法。该工艺简单，反应平稳，原料易得。但由于在生产中用到过量的硫酸铝，导致原药中的主要杂质为硫酸盐、铵盐。国外公司通常采用制备方法 3 合成，如拜耳公司，根据本文对其提供的样品中所含阳离子杂质种类推测其可能采用钠盐法合成。

制备方法 1:



制备方法 2:



制备方法 3:**制备方法 4:****1.1.7 常用剂型、登记情况及主要用途**

该杀菌剂主要加工成可湿性粉剂、可溶性粉剂使用。商品制剂为 40 %、80 % 三乙膦酸铝可湿性粉剂，90 % 三乙膦酸铝可溶性粉剂，混剂（如三乙膦酸铝+代森锰锌混剂等）。

三乙膦酸铝可湿性粉剂由有效成分、助剂等组成。外观为淡黄色或黄褐色粉末，悬浮率 $\geq 60\%$ ，水分含量 $\leq 2.0\%$ ，pH 为 6~8。常温下贮存比较稳定。三乙膦酸铝原粉及 40 %、80 % 三乙膦酸铝可湿性粉剂均已在我国获得登记，登记证号分别为 PD 86158、PD 86159 和 PD 86160，代办登记单位为辽宁省海城农药厂。可湿性粉剂被批准可用于蔬菜、水稻、棉花、烟草、橡胶和胡椒等作物。

90 % 三乙膦酸铝可溶性粉剂由有效成分和助剂等组成。外观为白色粉末，三乙膦酸铝含量 $\geq 90\%$ ，易溶于水，水分含量 $\leq 2.0\%$ ，酸度（以 HCl 计） $\leq 1.0\%$ ，细度（通过 425 μm 筛） $\geq 95.0\%$ ，常温下贮存比较稳定。90 % 三乙膦酸铝可溶性粉剂也已在我国获得登记，登记证号为 PD 86106，代办登记单位为天津市人民农药厂。适用作物为叶菜、果菜、球茎类蔬菜、瓜类、水稻、烟草、棉花和橡胶^[2]。

70 % 乙膦铝·锰锌可湿性粉剂由有效成分三乙膦酸铝（45 %）和代森锰锌（25 %）、助剂、稳定剂、填料等组成。外观为浅灰黄色疏松粉末，细度（通过 425 μm 筛） $\geq 95\%$ ，悬浮率 $\geq 55\%$ ，水分 $\leq 3\%$ ，湿润时间 $\leq 120\text{ s}$ ，pH 5~6，热贮试验（54 $\pm$ 2 $^\circ\text{C}$ 贮存 14 d）总分解率 $\leq 10\%$ 。70 % 乙膦铝·锰锌可湿性粉剂已在我国获得临时登记，登记证号为 LS 92514，登记厂家为四川省成都市双流县农药厂。用于防治黄瓜霜霉病、白菜霜霉病和白斑病^[5]。

三乙膦酸铝对霜霉属、疫霉属等病原菌引起的病害有良好的防效，对炭疽病菌防效差，主要用于防治黄瓜、莴苣霜霉病^[6] (见图 1 - 2、图 1 - 3)，啤酒花、白



图 1 - 2 黄瓜霜霉病

Fig.1 - 2 Downy mildew on cucumber



图 1 - 3 莴苣霜霉病

Fig.1 - 3 Downy mildew on lettuce

菜霜霉病，烟草黑胫病，番茄的早疫病和晚疫病，棉花疫病，橡胶割面条溃疡病和胡椒瘟疫病，亦可用于防治菠萝芯腐病，柑橘根腐病，茎溃病和流胶病，鳄梨根腐病和茎腐病，葡萄霜霉病，杨梅根茎腐病、红髓病以及观赏植物、草坪、苹果、洋葱由疫霉菌引起的病害^[7]。对水稻纹枯病、穗颈瘟等亦有一定的防效^[2]。

截止 2007 年，我国杀菌剂总需求量约为 75 000 t，其中三乙膦酸铝的需求量在 1 000 t 以上。截止到 2007 年 7 月底，共有 14 家企业在我国登记了三乙膦酸铝原药产品^[2]。三乙膦酸铝在世界农药市场上也属于大宗杀菌剂品种之一。

1.1.8 三乙膦酸铝及铝的残留来源与管理

黄瓜是世界主要的蔬菜品种之一，栽培面积约占全世界蔬菜收获面积的 30 %，总产量约占全世界蔬菜总产量的 20 %。我国是世界上黄瓜生产面积最大，总产量最高的国家。截止 2004 年底，我国的黄瓜栽培面积已达 150 万公顷，占全国蔬菜面积的 10 % 左右。黄瓜生产除了露地栽培外，随着塑料薄膜工业的兴起和人们物质生活水平的提高，保护地黄瓜栽培已经成为可以周年均衡地向市场供应鲜瓜的重要园艺设施。

由于保护地黄瓜栽培具有上述优点，所以近三十多年获得了迅猛的发展。但是，大棚高温高湿或低温高湿的环境因子促使了某些病害的严重发生和迅速流行，从而对大棚蔬菜生产构成严重威胁。目前黄瓜霜霉病、灰霉病、炭疽病是影响黄瓜稳产、高产、高效益的主要障碍之一。因此，防病治病早已成为保护地黄瓜生产的关键环节。目前，虽然在抗病品种利用和生态防治等方面做了许多研究和推广工作，但是绝大多数保护地种植者还不能脱离化学药剂防治，药剂防治仍

然是必须经常采用的措施。由于大棚经济效益高,病害发生和流行对生产成败影响极大,加之病原菌抗药性的增加,使得大棚成为用药水平最高的农业微生态环境^[8]。三乙磷酸铝是大棚黄瓜上常用的杀菌剂,它虽然在黄瓜上使用已经获得正式登记,但由于其用药量较大用药次数较多,这样生产出来的黄瓜食用是否安全还需要科学的评价。

农药使用后残存于生物体、食品和环境中的农药母体、有毒代谢物、降解物和杂质的总称称作农药残留。农药残留量与农药本身的理化性质、作物种类、施药因素、环境条件和气候等有关^[9]。农药残留分析通常是指对待测样品中微量农药进行定性和定量分析的方法。控制食品中农药残留量关键环节之一就是对食品中农药残留量及时、准确地分析检测,以监控农药的合理使用,防止农药残留超标的食品上市销售。

三乙磷酸铝的残留限量指标各国规定差异很大,而国际食品法典委员会(CAC)也没有做出规定。在我国还没有系统的开展这方面的残留研究工作。三乙磷酸铝在蔬菜上的最大残留限量(MRLs)规定范围为 $1.00 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,其中在黄瓜中的残留限量以色列规定为 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,美国、加拿大和墨西哥为 $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,韩国为 $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,日本肯定列表制度中规定为 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[10],我国没有制定其限量标准。为什么会有如此大的差别呢?主要原因是人们认为三乙磷酸铝急、慢性毒性不突出,所开展的研究工作较少。

乙基磷酸盐类杀菌剂主要是铝盐获得了成功开发应用,其中钠盐由于对作物容易产生药害而没有在农业生产上使用。铝盐虽然对作物安全,但是大面积、高浓度经年多次的施用,可能存在着铝对食品污染的风险以及降解产物磷酸、亚磷酸造成土壤板结。我国对于铝在食品中含量的管理已经制定了限量标准,如在GB 15202-2002 规定面制食品中铝限量为 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (以干样计)。

1.2 三乙磷酸铝分析方法研究进展

1.2.1 三乙磷酸铝原药和制剂分析

《中华人民共和国化工行业标准 HG 3296-2001》对三乙磷酸铝原药中三乙磷酸铝含量的测定采用碘量法^[11];《中华人民共和国化工行业标准 HG 3297-2001》对三乙磷酸铝可湿性粉剂中三乙磷酸铝含量的测定也采用碘量法^[12]。该方法比较耗时,工效低,而且还不能彻底排除杂质的干扰。这些标准中的鉴别试验采用液相色谱法(离子色谱柱、电导检测器)和红外光谱法。三乙磷酸铝从化学结构上讲,它是乙基磷酸铝盐,一种可以在水中电离的电解质,因此国外1994年,R. Giordano, L. Ciaralli, M. Ciprotti, I. Camoni和S. Costantini等人对市售的三乙磷酸铝制剂进行了离子色谱分析,对两根不同型号的离子色谱分离柱和不同的淋

洗液进行了比较,并对梯度洗脱进行了研究^[13]。目前联合国粮农组织(FAO)与世界卫生组织(WHO)对三乙磷酸铝原药和制剂的有效成分分析方法采用离子色谱法^[14]。生产高纯度三乙磷酸铝原药是当前生产企业的重要目标,但是在原药生产和最终产品质量评价过程中迫切需要新的有效分析方法的技术支撑,包括方法的建立和应用。这也是本文研究的核心内容。

农药混剂的开发成为农药科学合理使用的一种趋势,混剂具有增效、延缓抗性产生,扩大防治对象等优点,但是同时也给定量分析带来困难。可以与三乙磷酸铝制成混剂的杀菌剂主要有百菌清、代森锰锌、福美双。对混剂中三乙磷酸铝含量的测定,文献中已有许多报道。三乙磷酸铝与百菌清混剂中三乙磷酸铝含量的测定一般采用碘量法^[15];对三乙磷酸铝与代森锰锌混剂中三乙磷酸铝含量的测定采用消化—比色定磷法^[16]、络合滴定法^[17]、顶空气相色谱法(HS-GC)^[18,19]等;对三乙磷酸铝与福美双混剂中三乙磷酸铝含量的测定采用消化—比色定磷法^[16]。

1.2.2 三乙磷酸铝残留分析

三乙磷酸铝虽然急性口服毒性较低,但作为一种化学合成杀菌剂的使用,同样会对食物构成不同程度的污染,因此有必要明确其残留动态,合理使用准则并制定最大残留限量。这些目标都必须通过规范的残留分析工作才能实现。三乙磷酸铝在蔬菜、水果上的残留分析官方标准中多采用甲基化衍生后的气相色谱法(GC)、液相色谱—质谱联用法(LC-MS)^[20]。2003年,Féllx Hernández, Juan V Sancho, Óscar J Pozo, Carme Villaplana, María Ibáñez和Susana Grimali等人采用液相色谱—串联质谱法(LC-MS-MS)快速分析了莴苣上的三乙磷酸铝残留^[21];2004年,Jan Pousika, Jana Hajšlová, Katerina Holadová和Kateřina Nováková等人也采用了液相色谱—串联质谱法对啤酒花上的三乙磷酸铝的残留进行了研究^[22-24];E. W. J. Hooijschuur, Ch. E. Kientz, J. Dijkman, U.A.Th. Brinkman等人采用毛细管电泳,火焰光度检测器对有机磷农药残留进行检测^[25,26]。三乙磷酸铝的离子色谱分析方法目前国内尚未见公开报道,国外已有2篇报道。1988年,D. G. Ouimette和M. D. Coffey等采用离子色谱法对植物和土壤中的有机磷酸盐,磷酸酯和无机阴离子进行了分析^[27];1993年,Conte E, Gattorta G, Verdicchio S, Camoni I, Foschi F, Ramini F.采用离子色谱法对草莓上的三乙磷酸铝残留及其代谢产物进行了测定^[28]。需要指出的是被认为有强烈的贸易保护主义色彩的日本肯定列表制度,与之配套的检测方法一书中也没有规定其检测方法^[29]。

1.3 离子色谱法概述及应用

离子色谱仪在上世纪七十年代中期由美国陶氏化学公司的H. Small等人在发

明抑制器，解决了淋洗液背景电导问题后获得了广泛的应用。它已是液相色谱的一个重要分支，主要用于无机、有机的离子型化合物的分离测定。离子色谱具有分析速度快、灵敏度高、选择性好、同时测定多种组分以及分析柱的稳定性好、容量高、耐腐蚀等优点。其中很多离子是目前难以用其他方法测定的离子，尤其是阴离子。离子色谱对阴离子的分析是分析化学中新突破。

离子色谱(IC)分为两大类，抑制型离子色谱(SIC)和非抑制型离子色谱(SCIC)。抑制型离子色谱又分为高效离子色谱(HPIEC)、离子排斥色谱(HPICE)和离子对色谱(IPC)。用于3种分离方式的柱填料树脂骨架大多为苯乙烯—二乙烯基苯的共聚物，但树脂的离子交换容量各不相同。HPIEC用低容量的离子交换树脂[(0.01~0.05) mmol·g⁻¹]，HPICE用高容量的树脂[(3~5) mmol·g⁻¹]，IPC用不含离子交换基团的多孔树脂。3种分离方式基于不同的分离机理，HPIEC的分离机理主要是离子交换。由于静电场相互作用，样品阴离子以及淋洗剂阴离子(也称淋洗离子)都与固定相中带正电荷的交换基团作用，样品离子不断地进入固定相，又不断地被淋洗离子交换而进入流动相，在两相中达到动态平衡，不同的样品阴离子与交换基的作用力大小不同，电荷密度大的离子与交换基的作用力强，在树脂中的保留时间就长，于是不同的离子相互分离。HPIEC用于F⁻、Cl⁻、SO₄²⁻、Na⁺、NH₄⁺、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Fe³⁺、Zn²⁺、Ni²⁺等无机阴离子、阳离子、多价阴离子和碳水化合物的分离；HPICE是利用离子排斥原理，是以树脂的Donnan排斥为基础的分配过程。分离阴离子用强酸性高交换容量的阳离子交换树脂，分离阳离子用强碱性高交换容量的阴离子交换树脂。HPICE常用于有机酸和氨基酸等的分离以及从有机物中分离无机组分；IPC则主要利用吸附和离子对的形成。离子对色谱也称离子相互作用色谱，是在流动相中加入适当的具有与被测离子相反电荷的离子，即“离子对试剂”，使之与被测离子形成中性的离子对化合物，此离子对化合物在反相色谱柱上被保留。保留值的大小主要取决于离子对化合物的解离平衡常数和离子对试剂的浓度。离子对色谱也可采用正相色谱的模式，即可以用硅胶柱，但不如反相色谱效果好，多数情况下采用反相色谱模式，所以离子对色谱也常称反相离子对色谱(RPIC)。反相离子对色谱法是在反相色谱的理论和应用基础上，为了适应实际样品分析，尤其是生化和药物样品的分离分析需要而发展起来的一种色谱分离方法，其兼有反相色谱和离子色谱的特点，它保持了反相色谱的操作简便、柱效高的优点，而且能同时分离离子型化合物和中性化合物，因此可以说是离子色谱和反相色谱的拓展和延伸，在许多领域得到了越来越广泛的应用，如无机阴离子、阳离子、生物碱、氨基酸、维生素、抗生素以及其他药物的分析，在生物化学、石油、食品、化工和环境监测等方面也有很多应用^[30,31]。国内有文献报道，反相离子对色谱法被用于阿仑膦酸钠^[32]、伊班

磷酸钠^[33]、帕米膦酸钠^[34]、唑来膦酸^[35]及其有关物质的测定。2005 年, Hiroyuki Nakazawa 等人采用反相离子对液相色谱法对二硫代氨基甲酸酯类杀菌剂进行了测定^[36]。

作为近 20 年来发展最快的分析技术之一, 离子色谱法的应用已经渗透到众多领域。离子色谱最初是为分析无机阴、阳离子而发展起来的分离分析技术, 随着离子色谱法技术的发展, 其应用范围也逐渐扩大, 可分析的物质不仅包括各种无机阴、阳离子, 还扩展到各种有机阴、阳离子及生化物质。随着人们健康意识和环保意识的加强, 离子色谱法在食品(包括饮用水)和环境监控方面的发展尤为迅速。采用离子色谱可以对食品中各种防腐剂、添加剂等进行分析, 并已建立了许多简便、实用的测定方法; 随着离子色谱新技术的发展, 在对食品添加剂、糖类、氨基酸及农药残留的分析方面也有新进展。离子色谱联用技术的发展, 使得这项分析技术的应用范围和检测灵敏度有了很大提高。目前已有离子色谱与原子吸收(发射)光谱、电感耦合等离子体、质谱联用的报道^[37]。

1.3.1 离子色谱法在农药常量分析中的应用

农药原药或制剂的定量分析现在已极少采用化学容量分析方法, 目前广泛采用能够筛分杂质的色谱方法。在色谱法中, 气相色谱法和高效液相色谱法(HPLC)最为常用。由于有些农药理化性质和分子结构的特殊性, 比较适合于离子色谱分析, 如 2 甲 4 氯钠、矮壮素、乙烯利、百草枯、敌草快、草甘膦、草铵膦、五氯酚钠等。2004 年乔占超等采用 AS 11 阴离子柱和电导检测器、ASRS 抑制器, 以 $0.015 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液做流动相, 流速为 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 采用流量为 $5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的 $0.020 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸溶液的外加酸工作模式, 对除草剂 2 甲 4 氯钠进行定量分析, 方法回收率为 $98.8 \sim 100.5 \%$, RSD 为 0.40% ^[38]。目前采用离子色谱方法测定农药原药或制剂还处于研究阶段, 标准方法较少。

1.3.2 离子色谱法在农药残留分析中的应用

大多数农药结构复杂、品种繁多, 多可用 HPLC 或者 GC 分析。然而对部分不具光学吸收结构且能够离子化的化合物而言, 选择离子色谱法不失为明智之举, 这种方法有时优于化学衍生法。离子色谱法在农药残留分析上的不足是目前无专用的离子交换色谱分析柱, 还有它通常只能分析农药分子的一部分, 而常见无机阴、阳离子不能成为分析的靶标离子。样品中含有的大量常见无机阴、阳离子难于净化去除, 而采用离子交换的固相萃取净化技术存在明显的干扰离子。

采用离子色谱法开展农药残留分析成功的实例如草甘膦, 它在农业生产上有广泛的用途, 但在环境中不易降解, 并且易溶于水, 对环境造成污染。由于草甘膦对光吸收弱, 采用 HPLC 分离需要进行衍生或低波长紫外吸收, 致使测定耗时,

灵敏度不高。而草甘膦在水中有较大的电离,采用离子色谱抑制电导检测,分析柱为AS 4 SC, $9\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Na}_2\text{CO}_3$ 和 $4\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaOH}$ 为淋洗液,流速为 $1.5\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,在此条件下常规阴离子对分离无干扰,该方法可直接用于环境水样中痕量草甘膦的测定。

三嗪类除草剂作为一种阳离子形态有机化合物可以用阳离子交换柱分离,在230 nm处检测。采用CS 12 阳离子交换分离柱,紫外检测器,淋洗条件为含有一定比例乙腈的 $0.2\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4$ 溶液。

对氯苯氧乙酸由于含有羧酸结构,因而可采用阴离子交换色谱分离,分离柱为Ionpac AG 3 SC + AS 3 SC,流动相为 $0.8\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Na}_2\text{CO}_3 + 0.5\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaOH}$,抑制电导检测。

各种氯代乙酸,由于可在水中解离,其分析可采用离子交换色谱法,如使用Ionpac AG 9 HC+AS 9 HC(2 mm)阴离子色谱柱, $15\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Na}_2\text{CO}_3$, $5\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaOH}$ 流动相,抑制电导检测器分离乙酸、一氯乙酸、二氯乙酸、三氯乙酸。

对植物生长调节剂吲哚乙酸和吲哚丁酸可以采用离子色谱法—抑制电导检测法,该方法采用的色谱柱为Ionpac AG 3 SC + AS 3 SC,流动相为 $3\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Na}_2\text{CO}_3 + 3\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaOH}$,电导检测器检测^[39]。

苯并咪唑类农药是一种广谱杀菌剂,主要包括多菌灵、甲基硫菌灵、噻菌灵等。苯并咪唑类农药在酸性条件下与癸烷磺酸钠形成离子对,可采用反相离子对色谱法测定苯并咪唑类农药残留,该方法采用ZORBAX Eclipse XDB - C₁₈色谱柱,流动相为甲醇—离子对试剂(40:60),PAD检测器测定^[40]。

1.4 铝分析概述

铝普遍存在于自然界中,是地壳中最为丰富的元素之一,仅次于氧和硅。一般认为铝对人无急性或慢性毒害,因其具有优良的理化性质,被广泛应用于日常生活,如临床抗胃酸药、各种铝制炊具、容器、含铝食品添加剂、水处理剂等。但随着科技进步,人民生活水平提高,对铝的认识进一步深化,其负面效应也被人们所认识。世界各国科学家利用不同的方法,从不同的侧面深入细致的研究了铝对水生生物、动植物及微生物的影响。研究结果进一步证明,生物体内过量的铝会破坏和扰乱生物的正常代谢活动,削弱生物对恶劣环境适应能力的抵抗力,进而成为现今国际研究的热点之一。铝对人体的毒害研究工作始于上世纪七十年代中期,近年来医学界发现过量铝对人体健康会造成种种危害,如老年性痴呆,骨痛,非缺铁性贫血,肾功能降低,胃液分泌减少等多种疾病,对脑组织及智力的损害则特别引人关注^[41-45]。

铝对人体的毒害作用已毋庸置疑。因此,研究铝的测定方法,了解各种物质

中铝含量，对预防铝毒害，提高人体健康水平有着十分重要的意义。

痕量铝的测定方法主要有电感耦合等离子体原子发射光谱法（ICP - OES），电感耦合等离子体原子发射光谱质谱法（ICP - MS），电热（石墨炉）原子吸收光谱法（ET - AAS），分光光度法。而荧光分析法，极谱法和高效液相色谱分析方法也有应用^[46]。

ICP - OES及ICP - MS法灵敏、准确、快速、精密度好，线性范围宽，检出限低、干扰小，且能同时测定多个元素，但由于仪器设备成本较高，应用普及受限。2001 年，高舸等用ICP-OES测定了茶中的铝^[47]；2002 年，欧阳荔等采用ICP-MS测定兔全血中的痕量铝也取得满意结果^[48]；2003 年，张玉黔等采用微波消解ICP - AES法测定食品中的铝含量，检出限为 $8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，回收率达 95.2 % 以上，RSD 为 1.91 %^[49]。国外也有相关文献报道，1999 年，A. Hils等人采用HPLC - ICP - MS的方法对森林土壤渗透水中的痕量铝进行了测定^[50]；2005 年，Blaž Kralj等人采用体积排阻色谱电感耦合等离子体发射光谱法（SEC - ICP - OES）和快速蛋白质液相色谱电感耦合等离子体发射光谱法（FPLC - ICP - OES）对茶叶中的铝进行了测定，并对两种分析方法进行了比较^[51]。

原子吸收光谱法测定铝，需要较高的原子化温度，优点是灵敏度高。采用普通的空气—乙炔火焰测定时，铝很难原子化，存在着应用的局限性，一般多采用石墨炉原子吸收光谱法测定。2000 年，任大林用石墨炉原子吸收分光光度法测定猪肝中铝的含量，样品在聚四氟乙烯消解器中消解，标准加入法测定，铝回收率 $96.3 \% \pm 3.28 \%$ ^[52]；2001 年，肖林等用此法测定人血白蛋白中铝的含量，灵敏度为 $1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ，操作过程简便快速，减少了痕量铝的损失^[53]；2006 年，张启生等采用此法优化了生活饮用水中铝的测定方法，标准曲线线性关系良好， $r = 0.9993 \sim 0.9997$ ，RSD为 0.48 ~ 1.33 %，回收率为 99.7 ~ 101.0 %^[54]；2001 年，周丹红等采用此法检测食品中的铝，认为可替代分光光度法和火焰原子吸收法^[55]；2005 年，周晓萍等研究了微波消解石墨炉原子吸收法测定食品中的铝，铝含量在 $0 \sim 50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内呈线性关系， $r = 0.9996$ ，检出限为 0.27 μg ，RSD为 3.3 ~ 7.9 %，加标回收率为 92 ~ 99 %^[56]。

分光光度法是国际传统经典方法，也被国家标准所采用，以铬天青为显色剂对食品和水的检测应用较多。但由于其灵敏度、干扰及操作过程较复杂等问题，对其进行了较多的改进研究。主要是加入各种表面活性剂形成多元络合物以增敏、增溶，或使用其它显色剂简化操作过程。2000 年，陈伟光等选择十六烷基溴化铵作为铝与铬天青S显色反应的增敏剂，测定饮用水中的铝，方法检出限为 $0.008 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，其精密度和准确度均较好^[57]；2002 年，谢宏斌等采用铝—铬天青S - 溴化十六烷基吡啶分光光度法测定水中的铝，RSD 4.90 % 以下，回收率 99.3 ~ 100

%^[58]; 2008 年, 于辉等测定了方便面、面包及梨中痕量铝, 回收率试验结果在 96.5 % - 101.0 %^[59]。

荧光分析法、极谱法、高效液相色谱法测定痕量铝也有报道。2001 年, 吴芳英等报道了新荧光试剂 (DCOBAQS) 与铝形成络合物的荧光性能, 并用此法对茶中痕量的铝进行测定, 其灵敏度、选择性与现有方法相比有明显的改善, 检出限为 $0.557 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[60]; 2001 年, 张丽萍等采用极谱法在 pH 值 5.8, 乙酸-乙酸钠-铍试剂 III 底液中测定血清中铝^[61]; 2000 年, 唐英等用铝与 8-羟基喹啉反应生成黄色配合物, 用氯仿萃取, 进行高效液相色谱分析, 水中总铝量 $20 \sim 700 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 重现性和加标回收率均符合痕量分析的要求^[62]。2003 年, Hong zhen Lian 等人采用柱前衍生, 反相高效液相色谱-荧光检测器的方法对自然界的水和生物样品中的铝进行了测定^[63]。

对有机金属盐类杀菌剂采用原子吸收光谱法进行残留分析测定已有报道, 如分析代森锰锌含有的锰或锌^[64,65]。三乙磷酸铝为乙基磷酸铝盐, 所以也可以测定铝的含量。一方面可以评价是否有铝害, 另一方面也可以评价三乙磷酸铝的残留状况。三乙磷酸铝已是多年使用的大剂量杀菌剂, 施用后是否对蔬菜、水果造成铝污染的问题不甚清楚。三乙磷酸铝中含有 7.62 % 的铝, 这些铝会直接与黄瓜接触, 而黄瓜又可以生吃, 铝害问题应当引起关注。为回答上述问题本文结合实验室条件, 采用石墨炉原子吸收光谱法对大棚黄瓜上施用三乙磷酸铝后, 黄瓜及其叶片上铝的最终残留量进行了测定和评价。

1.5 农药原药全分析概述

农药是有毒精细化工品, 其毒性主要来自农药原药、杂质、代谢物及助剂^[66]。农药的急性毒性以及不合理的使用导致对食品的污染问题, 使得世界各国及相关组织对农药登记及管理相当严格。对农药原药的登记除完成农药的各类毒性试验外, 还必须有省级以上、经过认可的实验室提供组成农药产品的各组分 (有效成分、杂质、溶剂、水分等) 的名称及含量范围, 杂质含量在 0.1 % 以上的, 必须提供其定性图谱及结构式、定量分析方法等, 即农药原药全组分分析, 简称全分析。对农药进行全分析的目的在于明确农药原药的组成, 降低其对环境的潜在危害; 同时, 还有助于生产企业完善合成工艺, 提高收率及产品质量, 降低生产成本, 增强市场竞争力^[67]。农药原药全组分分析的术语与国际通用的提法不接轨, 国外通常叫农药原药中杂质 (Impurities) 的分析, 但是其研究内涵一致。

一般来讲, 农药原药全分析包括定性分析和定量分析两方面内容。对原药中有效成分的定量分析相对比较简单, 只要根据各生产单位制定的符合要求的企业标准中所选定的原药定量分析方法进行测定, 即可得到明确的结果。目前原药中

有效成分的定量分析多数采用色谱法。对易气化的样品(包括杂质),一般可采用气相色谱法,而对那些难于气化或遇热不稳定的样品,则几乎全部采用液相色谱法。由于大部分农药结构中均含有苯环或杂环,因此紫外检测器可满足要求。然而对杂质的定量分析,由于难以得到全部杂质的纯品作为标样,因此通过常规的定量方法进行分析变得不现实。通常是在对有效成分进行分析的同时,利用面积归一数据,得出各杂质的含量。此时,可能会有两种情况对分析结果带来误差:一是由于不同结构,其最大吸收波长不同,因此面积归一时会造成测量结果与实际结果不一致。在农药原药的定量分析时,所选定的检测波长肯定是有效成分的最大吸收波长,在此波长下测定的杂质含量可能会低于实际含量。对含量在1%以下的杂质,这种误差应在允许范围内(即使存在10%的误差,最终结果也仅仅相差0.1%),但当杂质含量超过1%时,此时应尽量得到该杂质的标样进行分析,否则将会对最终结果造成较大影响;二是当存在无紫外吸收的杂质时,采用高效液相色谱法测定时,杂质的含量将会出现较大的误差,此时必须采用蒸发光散射检测器(ELSD)或通过其它方法确定无紫外吸收的杂质含量后,再对其它杂质进行分析。

目前在农药原药的定性分析中,常用的方法可以总结为传统剖析法、直接分析法和合成验证法。传统剖析法即利用各种分离手段对原药中所有组分进行分离富集,得到足够量和纯度的样品后,对所得到的各组分进行结构鉴定。一般情况下,农药的最后一步合成通常是缩合反应,由于反应的不彻底性,可能会残存一个或两个反应中间体。对于这些杂质,可以不用分离直接将中间体的色谱图与原药的色谱图进行比较,即可以知道哪些杂质是中间体(不用分离),哪些杂质是需要分离、鉴定的化合物。

直接分析法是指不经分离而直接确定杂质结构的方法,它利用的主要是一些联用仪器分析技术,如GC-MS、LC-MS、液相色谱核磁共振波谱联用法(LC-NMR)等。目前联用技术,尤其是GC-MS或LC-MS已成为农药全分析最常用的方法。国内报道的关于农药全分析的很少几篇文献中有采用LC-MS的方法,如杨舰等采用LC-MS的方法对甲磺隆进行了全分析^[67],雷荣等利用高效液相色谱—串联质谱法鉴定了伊维菌素中的组分^[68]。另外,李重九、费菁采用GC-MS法对除草剂2,4-D原粉进行了全分析^[69],张宏军等采用GC-MS法对克菌丹原药及其主要杂质进行了定性分析^[70],包素萍对高效氯氟氰菊酯原药及其主要杂质进行了气质联机分析^[71]。

合成验证法表示从其它渠道获得有关杂质的大体情况,但由于对所掌握的杂质结构等不能准确确证,比如可以通过对工艺进行分析,猜测可能有的杂质,也可能通过诸如LC-MS结果等推测一些杂质,此时可以合成所猜测的化合物,再与

原药进行LC等对照,从而确定相应的杂质^[72]。灭蝇胺、氰草津的全分析即首先通过LC-MS、GC-MS的分析结果,在初步确定其杂质结构后,对杂质进行了合成验证。王险等采用GC-MS法对丙线磷进行了全分析,对其中的5种杂质进行了合成和定性、定量分析^[73],刘刚等采用GC-MS联用技术分离和鉴定了克螨特原药及本实验室合成的克螨特原药中的杂质,并探讨了成因^[74]。

三乙膦酸铝及其杂质分子结构和理化性质比较特殊,不溶于常见的有机溶剂,同时还不具备生色团,这样增加了原药全分析的难度。三乙膦酸铝原药的全分析结果目前还没有公开的报道,但是比较明确的是采用铵盐合成法通常所含的杂质为硫酸盐、铵盐,而采用钠盐合成法主要含有钠盐杂质。本文采用GC、IC、IR、NMR、LC-MS、ET - AAS等手段,对国产的三乙膦酸铝原药进行了定性、定量全组分分析。通过这些研究工作,建立了相关的分析方法,为全面提高我国三乙膦酸铝产品质量奠定坚实的技术基础。

第二章 三乙磷酸铝的纯化与离子色谱分析

三乙磷酸铝是一种常用的有机磷内吸型杀菌剂，目前农业生产上主要使用混剂或单剂防治黄瓜、啤酒花霜霉病等病害。众所周知，我国目前生产的三乙磷酸铝原药有效成分含量只有 87.0 ~ 96.0 %，难以满足环境保护、提高产品竞争力的要求，因此完善企业合成工艺，提高产品纯度及收率显得十分迫切。毋庸置疑，高纯度的三乙磷酸铝生产必定要依赖快速、准确可靠的定性、定量分析方法。三乙磷酸铝原药或制剂的定量分析方法通常采用碘量法^[11,12]，该方法比较耗时，工效低，而且在排除杂质干扰上也存在问题。不同于经典的容量分析，若建立三乙磷酸铝仪器分析方法，首先要解决的问题就是原药的纯化，纯品的制备。关于三乙磷酸铝在混剂中的定量分析，已见消化一比色定磷法^[16]、络合滴定法^[17]、顶空气相色谱法等报道^[18,19]。采用离子色谱法对三乙磷酸铝原药或制剂进行定量分析国外已有报道^[13]，但国内尚未公开报道。鉴于离子色谱法的优点，为工业化规模生产高纯度的三乙磷酸铝奠定分析基础，同时为提高产品定量分析数据的可靠性，本章采用离子交换色谱法对三乙磷酸铝的原药和制剂进行了常量分析研究。

2.1 材料与方法

2.1.1 仪器设备

美国戴安公司DX-120 离子色谱仪，配有DIONEX IonPac AS 14、AS 9（均为 4 × 250 mm）离子色谱柱及相应的保护柱，电导检测器，ASRS-ULTRA自身再生抑制器；N 2000 色谱工作站；pH计；电热恒温水浴；可调温电热套；循环水式真空泵；磁力搅拌器；旋转蒸发器；4# 玻璃砂芯漏斗。

2.1.2 试剂和溶液

三乙磷酸铝：原药（国产）、80 %可湿性粉剂（国产）、标准品（含量：99.3 %，拜耳作物科学（中国）有限公司提供）；亚磷酸钠(含 5 个结晶水)、无水碳酸钠、碳酸氢钠、氟化钠、氯化钠、硝酸钠、溴化钠、亚硝酸钠、磷酸二氢钾、无水硫酸钠、乙酸、盐酸、磷酸、碘化钾均为分析纯；氢氧化钠、碘、硫酸均为优级纯；自制二级水、三级水。

1 000 mg · L⁻¹储备液：三乙磷酸铝标准品、亚磷酸钠、硫酸钠。

磷酸溶液：80 %；硫酸溶液： $c(1/2 \text{ H}_2\text{SO}_4) = 2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ；氢氧化钠A溶液： $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ；氢氧化钠B溶液： $c(\text{NaOH}) = 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ；碘标准溶液： $c(1/2 \text{ I}_2) = 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ，按GB/T 601 配制；硫代硫酸钠标准滴定溶液： $(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ，按GB/T 601 配制；酚酞指示剂：1 g · L⁻¹，按GB/T 603 配制；淀

粉指示剂： $0.5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ （新鲜配制），按GB/T 603 配制；缓冲溶液： $\text{pH} = 7.3 \pm 0.2$ ，称量 100 g 氢氧化钠（精确至 0.0002 g ）溶解于 1.8 L 水中，加入磷酸溶液中和至 $\text{pH} = 8$ ，冷却至室温后，在 pH 计测定下滴加磷酸溶液至 $\text{pH} = 7.3 \pm 0.2$ ，加入 30 g 碘化钾和碘标准溶液 20 mL ，搅拌溶解后用水稀释至 2 L 。室温暗处保存，使用之前滴加硫代硫酸钠标准溶液至无色。

2.1.3 离子色谱法测定条件

2.1.3.1 使用 AS 14 阴离子色谱柱的分析条件

淋洗液： Na_2CO_3 ($371\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)— NaHCO_3 ($84\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 缓冲溶液；

流速： $1.20\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ；

柱箱温度：室温；

定量管： $25\text{ }\mu\text{L}$ ；

保留时间：乙基磷酸根离子，约 4 min ；亚磷酸根离子，约 7.0 min ；硫酸根离子，约 10.0 min 。

2.1.3.2 使用 AS 9 阴离子色谱柱的分析条件

淋洗液： Na_2CO_3 ($954\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 溶液；

流速： $0.80\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ；

柱箱温度：室温；

定量管： $25\text{ }\mu\text{L}$ ；

外标法定量；

保留时间：乙基磷酸根离子，约 4.2 min ；亚磷酸根离子，约 13.5 min ；硫酸根离子，约 18.9 min 。

2.1.4 三乙磷酸铝在不同水温中溶解度的测定

称取 96% 三乙磷酸铝原药 20 g ，置于 250 mL 烧杯中，加入 100 mL 三级水，放置过夜。样品分别在 $15\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $35\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $45\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $55\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $65\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下的水浴锅中放置 2 h 后过滤。玻璃砂芯漏斗预先干燥，电子顶载天平（精确至 0.02 g ）称重。将烧杯中的固体用滤液完全转移至漏斗中，过滤后将漏斗置于 $95\text{ }^\circ\text{C}$ 烘箱中烘干，在干燥器中冷却后称量。3 次重复，计算三乙磷酸铝在水中溶解度并进行分析。

2.1.5 三乙磷酸铝原药的纯化

称取三乙磷酸铝原药 50 g 于烧杯中，加 40 mL 二级水于室温下搅拌 1 h ，抽滤并加 10 mL 二级水冲洗烧杯，置白色过滤物于 $95\text{ }^\circ\text{C}$ 烘箱中烘 2 h ，研磨成粉末再烘干 2 h ，即得第一次水洗样品。将其再重复水洗纯化得第二次水洗样品。称第二次水洗样品 24 g 加 200 mL 二级水搅拌 3 h ，抽滤，固体烘干，研磨后再烘干

即得第三次水洗样品。将其滤液在 60 °C 水浴中旋转浓缩，当有较多白色固体析出时停止旋蒸，抽滤，烘干，研磨再烘干得水析出样品。

2.1.6 三乙磷酸铝纯品的定值及杂质含量测定方法

采用碘量法或离子色谱法分别对纯化后的三乙磷酸铝样品定值，评价纯化方法并对测得的数据比较分析，同步测定以亚磷酸铝、硫酸铵计的杂质含量。

2.1.6.1 碘量法测定三乙磷酸铝

依据 HG 3296 对三乙磷酸铝原药、一次水洗样品、二次水洗样品、三次水洗样品、水析出样品进行定量测定。

2.1.6.2 离子色谱法测定三乙磷酸铝及主要杂质

2.1.6.2.1 三乙磷酸铝离子色谱分析的原理

离子色谱法测定三乙磷酸铝是一种间接的定量方法。定量的依据为三乙磷酸铝是一种电解质，它能够在水中电离，生成乙基磷酸根离子。电导检测器产生信号的大小取决于乙基磷酸根离子浓度的高低。当以乙基磷酸根含量计时，折算成三乙磷酸铝含量乘以系数 1.082 5。同理三乙磷酸铝原药中的杂质离子，折算成亚磷酸铝时乘以系数 1.224 9；折算成硫酸铵时乘以系数 1.375 5。

2.1.6.2.2 三乙磷酸铝在水中降解试验

称取 0.01 g 或 0.1 g（均精确至 0.000 2 g）三乙磷酸铝原药，放入 100 mL 容量瓶中，加入 90 mL 二级水，超声波振荡 30 min，冷却到室温定容至刻度，然后置于室温下分别在 0 d、0.5 d、1 d、2 d、3 d、7 d、14 d 后取样稀释进行离子色谱分析，操作条件同 2.1.3.2，测定不同放置时间的三乙磷酸铝药液中乙基磷酸根、亚磷酸根、硫酸根浓度的变化，由此确定三乙磷酸铝溶液的有效期并绘制降解曲线。

2.1.6.2.3 三乙磷酸铝、亚磷酸铝、硫酸铵标准溶液的配制

称取 0.1 g 三乙磷酸铝标准品、0.05 g 亚磷酸钠、0.025 g 硫酸钠（均精确至 0.000 2 g）放入同一 100 mL 容量瓶中，加入二级水溶解，超声波振荡 30 min 后冷却定容，配制成三乙磷酸铝标准品及杂质的混合标准储备液，取 10 mL 储备液于 100 mL 容量瓶中，淋洗液定容，配制成三乙磷酸铝、亚磷酸铝、硫酸铵的混合标准工作溶液。

2.1.6.2.4 试样溶液的配制

分别称取 0.1 g（精确至 0.000 2 g）的三乙磷酸铝原药、一次水洗样品、二次水洗样品、三次水洗样品、水析出样品于不同的 100 mL 容量瓶中，加入二级水溶解，超声波振荡 30 min 后冷却定容，配制成三乙磷酸铝试样储备液，余同 2.1.6.2.3 配制成三乙磷酸铝试样工作溶液。

2.1.6.2.5 测定与结果计算

在 2.1.3.2 操作条件下, 待仪器基线稳定后, 连续注入数针混合标准工作溶液, 直至相邻 2 针乙基磷酸根、亚磷酸根、硫酸根离子的相对响应值变化小于 1.5 % 时, 按标准溶液、试样溶液、试样溶液、标准溶液的顺序进行测定。外标法计算结果。

2.1.7 常见阴离子、淋洗液浓度对三乙磷酸铝定量分析的影响

2.1.7.1 常见 7 种阴离子与乙基磷酸根离子分离试验

2.1.7.1.1 AS 14 离子色谱柱对常见阴离子与乙基磷酸根离子分离试验

配制常见阴离子与三乙磷酸铝的混合溶液, 浓度分别为 F^- 2.7 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 Cl^- 3.6 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 NO_2^- 8.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 Br^- 9.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 NO_3^- 9.6 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 PO_4^{3-} 2.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 SO_4^{2-} 10.8 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、三乙磷酸铝 13.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 在 2.1.3.1 色谱条件下测定。

2.1.7.1.2 AS 9 离子色谱柱对常见阴离子与乙基磷酸根离子分离试验

配制常见阴离子与三乙磷酸铝的混合溶液, 浓度分别为 F^- 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 Cl^- 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 NO_2^- 40 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 Br^- 60 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 NO_3^- 60 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 PO_4^{3-} 160 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 SO_4^{2-} 60 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、三乙磷酸铝 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 在 2.1.3.2 操作条件下, 进样分析。

2.1.7.2 淋洗液浓度对乙基磷酸根离子保留时间及分离的影响

采用 2.1.3.1 测定条件, 将淋洗液用二级水稀释 2 倍、4 倍、6 倍、8 倍、10 倍、12 倍、14 倍。流速为 1.20 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 用 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 三乙磷酸铝标准溶液进样, 记录保留时间。测定乙基磷酸根与其它常见的 7 种阴离子分离情况。

2.1.8 三乙磷酸铝、亚磷酸铝、硫酸铵标准曲线的绘制

用三乙磷酸铝标准储备液配制各种标准工作溶液 (25 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、75 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、125 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、150 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、175 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、200 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); 用亚磷酸钠标准储备液配制的以亚磷酸铝计的各种标准工作溶液 (2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、30 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、40 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); 用硫酸钠标准储备液配制的以硫酸铵计的各种标准工作溶液浓度 (1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。在 2.1.3.2 测定条件下进行分析, 以响应值峰面积为纵坐标, 进样质量 (ng) 为横坐标, 绘制三乙磷酸铝、亚磷酸铝、硫酸铵标准曲线。

2.1.9 三乙磷酸铝、亚磷酸铝、硫酸铵离子色谱分析方法的准确度和精密度

称取 0.05 g 或 0.1 g 三乙磷酸铝标准品分别与 0.05 g 80 % 三乙磷酸铝可湿性粉剂 (均精确至 0.000 2 g) 混合, 加入到同一 100 mL 容量瓶中, 加 90 mL 二级水, 超声波振荡 30 min 后定容, 余同 2.1.6.2.3, 5 次重复用于三乙磷酸铝准确度

精密度试验。

称取 0.01 g 或 0.02 g 亚磷酸钠分别与 0.1 g 80 %三乙磷酸铝可湿性粉剂（均精确至 0.000 2 g）混合，余同上，5 次重复用于亚磷酸盐的准确度精密度试验。

称取 0.01 g 或 0.02 g 硫酸钠分别与 0.1 g 80 %三乙磷酸铝可湿性粉剂（均精确至 0.000 2 g）混合，余同上，5 次重复用于硫酸盐的准确度精密度试验。

2.1.10 80 %三乙磷酸铝可湿性粉剂的定量对比分析方法

采用碘量法（同 2.1.6.1）、离子色谱法（同 2.1.3.2）测定同一样品，80 %三乙磷酸铝可湿性粉剂，5 次重复。对测定结果进行比较分析。

2.2 结果与讨论

2.2.1 三乙磷酸铝在水中溶解度的测定结果

从 15 ~ 65 °C 条件下水中三乙磷酸铝溶解度测定结果（见表 2 - 1）得知，三乙磷酸铝在水中的溶解度与温度不但没有明显的正相关性，反而有些负相关。这样无法通过热过饱和溶液冷却后析出结晶的方法制备纯品。另外，在溶解度试验过程中，发现三乙磷酸铝在 65 °C 水中有轻微的分解现象。

表 2 - 1 三乙磷酸铝在不同水温中溶解度的测定结果

Tab. 2 - 1 The solubility of fosetyl-Al in water at different temperature

样品 Sample	温度 /°C Temperature	测定值 /g · L ⁻¹ Results	平均值 /g · L ⁻¹ Mean values
三乙磷酸铝原药 Fosetyl-Al technical	15	120.0, 120.2, 118.9	119.7
	25	129.5, 125.4, 123.0	126.0
	35	123.6, 120.5, 121.8	120.0
	45	111.9, 117.6, 113.5	114.3
	55	106.4, 107.8, 109.4	107.9
	65	95.4, 98.5, 97.4	97.1

2.2.2 三乙磷酸铝在水中降解试验结果

由图 2 - 1 可以看出，在室温下三乙磷酸铝标准储备液中（0.1 %）乙基磷酸根的浓度在 0 ~ 14 d 尚未有明显变化，14 d 时相对分解率仅为 0.59 %，而标准工作溶液中（0.01 %）相对分解率达到 67.95 %。亚磷酸根的浓度随着放置时间的延长逐渐升高，这可能与乙基磷酸根水解有关。标准储备液中亚磷酸根的百分含量由 1.45 %上升到 1.52 %，标准工作溶液中由 1.46 %上升到 6.61 %。硫酸根的相对分解率在整个放置期间，标准储备液为 2.50 ~ 5.42 %，标准工作溶液为 10.96 ~ 17.39 %，相对比较稳定。上述的试验结果说明，标准储备液中的三乙磷酸铝比较稳定；工作溶液中的三乙磷酸铝稳定性稍差，但现用现配对定量测定的影响可以

忽略不计。

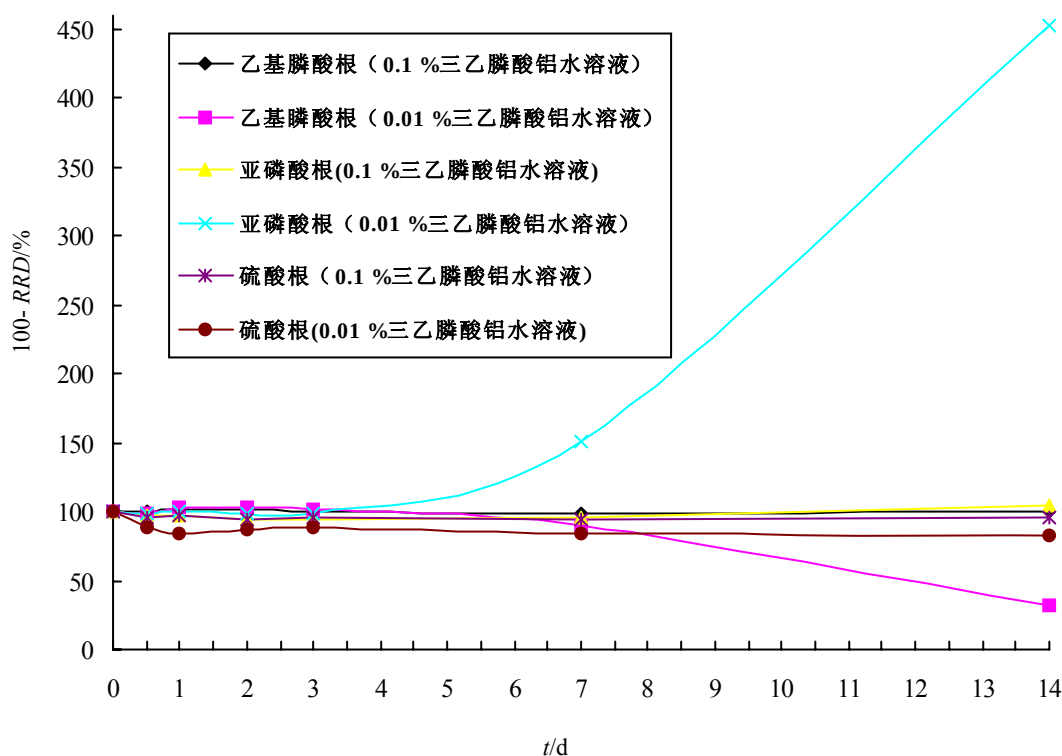


图 2-1 乙基膦酸根、亚磷酸根和硫酸根离子在水中的相对分解率

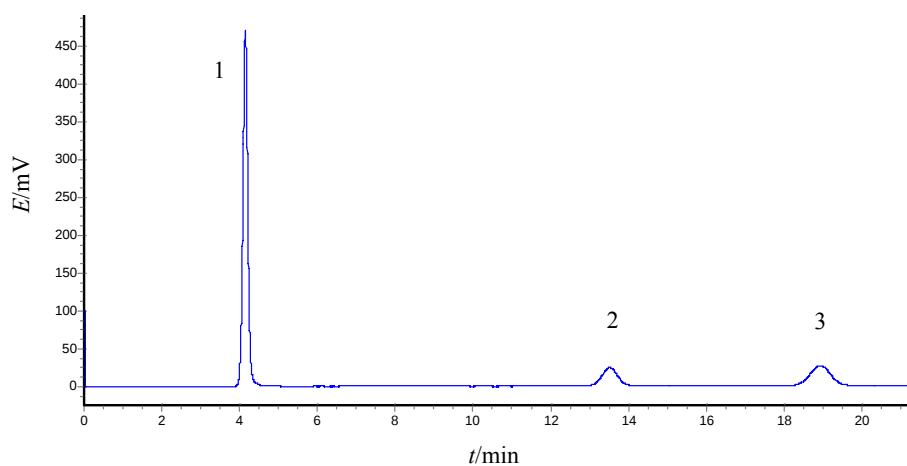
Fig.2-1 The relative rate of decomposition of ethyl phosphine ions, phosphite ions and sulfate ions in water

2.2.3 纯化后各种样品中三乙膦酸铝及主要杂质含量测定结果

出于环境相容性和药效的考虑，对农药原药的含量要求越来越高，三乙膦酸铝原药就面临着这样的问题。一方面涉及批量生产高纯度三乙膦酸铝原药，一方面离子色谱法的应用必须制备出实验室分析用纯品。由于我国生产合成三乙膦酸铝的最后一步工艺采用过量的硫酸铵，因此原药中所含的杂质主要是硫酸盐和亚磷酸盐，这一结果已通过离子色谱分析得到证实，见图 2-2 ~ 图 2-4。三乙膦酸铝极难溶于有机溶剂，所以无法采用有机溶剂纯化，但是可以利用其与杂质亚磷酸盐、硫酸盐在水中溶解度的差异来达到纯化目的。

纯化后各种样品中三乙膦酸铝及主要杂质含量测定结果见表 2-2 ~ 表 2-4。由此可知，三乙膦酸铝原药通过三次水洗有效成分含量在逐步升高，折算成亚磷酸铝和折算成硫酸铵的杂质含量同步降低（影响净化效果的因素比较复杂，每次水洗对杂质的净化效果可能有所不同，但杂质含量逐渐下降，趋势明显，最终产品能够满足要求）。各种样品过滤液中硫酸根离子的浓度也在相应明显降低：一次水洗滤液 SO_4^{2-} 浓度为 $27\,689\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，水析出滤液降低到 $5\,701\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ （见表 2-5）。三次水洗样品和水析出样品中三乙膦酸铝含量均达到 99 % 以上，由此

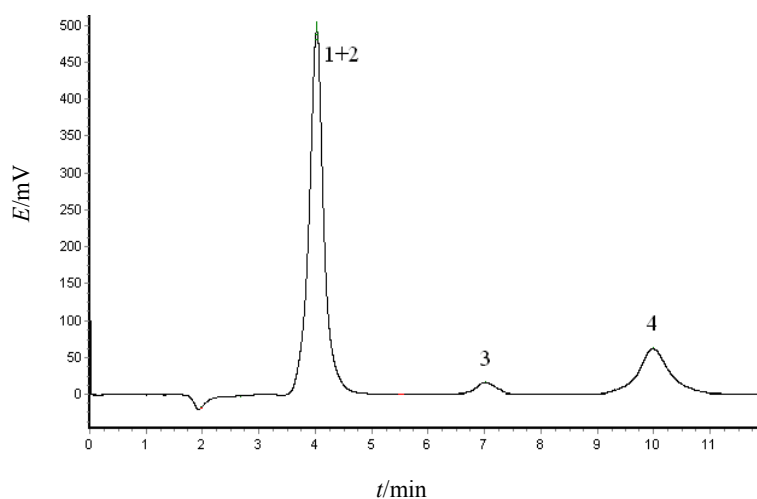
可以得出，用二级水对三乙磷酸铝原药三次洗涤的纯化方法是有效的。三乙磷酸铝的溶解度与水温的升高没有明显的正相关，获得的热滤液恢复到室温时无结晶析出。但是通过减压旋转浓缩滤液，可以得到析出物。但是水浴温度过高，浓缩时间过长，容易导致三乙磷酸铝分解。本文的三次水洗后总回收率约 15 %，回收率较低，不适用三乙磷酸铝原药的工业化规模提纯。



1 $\text{C}_2\text{H}_6\text{PO}_3^-$; 2 HPO_3^{2-} ; 3 SO_4^{2-}

图 2 - 2 三乙磷酸铝标准工作溶液的离子色谱分离图 (AS 9)

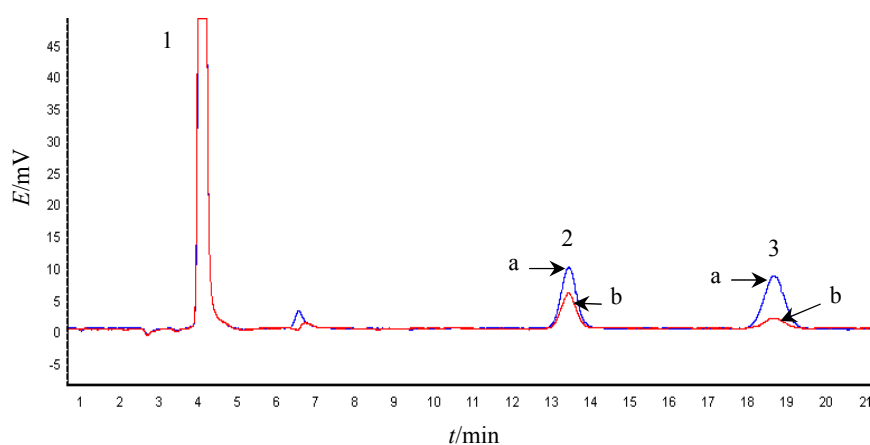
Fig.2 - 2 The ion chromatogram of fosetyl-Al working standard solution (AS 9)



1 $\text{C}_2\text{H}_6\text{PO}_3^-$; 2 Cl^- ; 3 HPO_3^{2-} ; 4 SO_4^{2-}

图 2 - 3 三乙磷酸铝原药的离子色谱分离图 (AS 14)

Fig.2 - 3 The ion chromatogram of fosetyl-Al technical (AS 14)



a 纯化前 Before purification; b 纯化后 After purification

1 $\text{C}_2\text{H}_6\text{PO}_3^-$; 2 HPO_3^{2-} ; 3 SO_4^{2-}

图 2 - 4 三乙磷酸原药纯化前后的离子色谱分离叠加图

Fig.2 - 4 Superimposed ion chromatogram of fosetyl-Al technical before and after purification

表 2 - 2 碘量法和离子色谱法测定各种三乙磷酸铝样品的结果

Tab.2 - 2 Determination data of various fosetyl-Al sample by iodimetry and IC

样品 Samples	碘量法 /% Iodimetry				离子色谱法 /% IC			
	I	II	III	$\bar{X}$	I	II	III	$\bar{X}$
原药 The technical	91.9	91.8	91.7	91.8	91.2	91.9	91.1	91.4
一次水洗样品 First washed sample	96.6	96.3	97.1	96.7	97.7	97.3	97.5	97.5
二次水洗样品 Second washed sample	97.7	97.6	97.5	97.6	98.0	98.7	98.1	98.3
三次水洗样品 Third washed sample	99.9	99.7	99.3	99.6	99.5	100	99.4	99.6
水析出样品 Precipitation water sample	99.1	99.4	99.2	99.2	100	99.8	99.4	99.7

表 2 - 3 碘量法和离子色谱法测定以亚磷酸铝计的杂质测定结果
Tab.2 - 3 Data calculated as aluminium phosphite determined by iodimetry and IC

	以亚磷酸铝计杂质 /%							
	Impuritie, calculated as aluminium phosphite							
	碘量法 /% Iodimetry				离子色谱法 /% IC			
	I	II	III	$\bar{X}$	I	II	III	$\bar{X}$
原药	1.1	1.2	1.2	1.1	5.2	5.8	6.6	5.9
The technical								
一次水洗样	1.0	1.3	1.2	1.2	5.0	4.8	4.6	4.8
First washed sample								
二次水洗样	1.1	1.0	0.9	1.0	3.4	4.0	3.8	3.7
Second washed sample								
三次水洗样	0.8	0.9	0.8	0.8	2.5	2.3	2.7	2.5
Third washed sample								
水析出样品	0.9	1.0	0.9	0.9	2.4	2.6	2.8	2.6
Precipitation water sample								

表 2 - 4 各种三乙磷酸铝样品中以硫酸铵计的杂质测定结果
Tab.2 - 4 Data calculated as ammonium sulfate in different fosetyl-Al sample by IC

样品 Samples	以硫酸铵计杂质 /%			
	Impuritie, calculated as ammonium sulfate			
	I	II	III	$\bar{X}$
原药	3.7	4.4	4.4	4.2
The technical				
一次水洗样	1.7	1.7	1.6	1.7
First washed sample				
二次水洗样	1.4	1.6	1.4	1.5
Second washed sample				
三次水洗样	0.2	0.6	0.1	0.3
Third washed sample				
水析出样品	0.8	0.7	0.8	0.8
Precipitation water sample				

表 2 - 5 过滤液中硫酸根离子浓度测定结果
Tab.2 - 5 Determination data of sulfate ion in filtrate

样品溶液 Sample solution	SO ₄ ²⁻ /mg · L ⁻¹		
	I	II	$\bar{X}$
一次水洗滤液 First washing filtrate	27126	28253	27689
二次水洗滤液 Second washing filtrate	11136	11106	11121
水析出滤液 Precipitation water filtrate	5710	5691	5701

2. 2. 4 常见阴离子与乙基磷酸根分离结果

美国戴安公司生产的 AS 14、AS 9 离子色谱分析柱适用于常见的 7 种阴离子的测定，其中 AS 9 为高容量柱。三乙磷酸铝样品中可能存在常见阴离子，因此要明确它们是否存在及可能带来的定量干扰。实测分离结果，在 AS 14 柱上乙基磷酸根与氯离子无法完全分离；在 AS 9 柱上乙基磷酸根离子与氟离子有部分重叠，分离不好。通常氯离子的干扰较大，不但三乙磷酸铝样品中含有，而且二级水中也有痕量存在，因此宜采用 AS 9 柱建立分析方法，从而克服了氯离子对定量的影响。如果怀疑三乙磷酸铝样品中有氟离子干扰，AS 14 柱可以用于确证。

2. 2. 5 三乙磷酸铝保留时间与淋洗液浓度关系试验结果

乙基磷酸根的保留时间与淋洗液的稀释倍数成正比，见图 2 - 5。随着淋洗液浓度的降低，保留时间逐渐延长，色谱峰拓宽，峰面积基本保持不变。改变淋洗液的浓度对乙基磷酸根与氯离子的分离没有太大的改善。

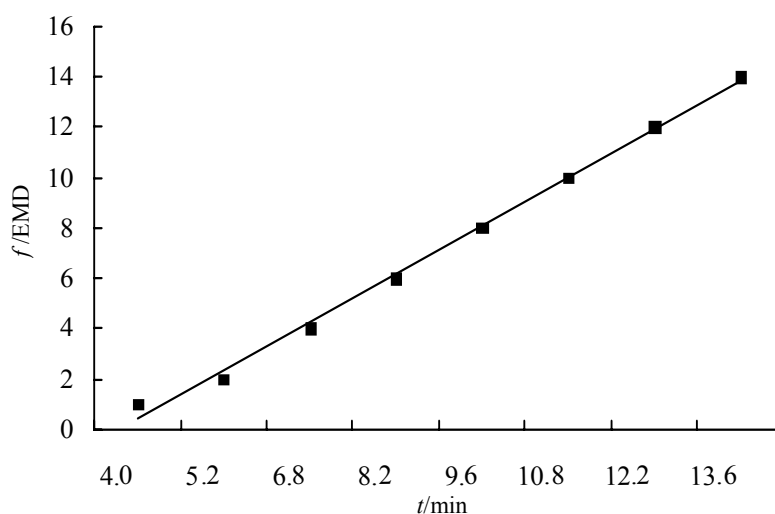


图 2 - 5 乙基磷酸根离子保留时间与淋洗液浓度关系曲线

Fig.2 - 5 The curve of relationship between C₂H₆PO₃⁻'s RT and the concentration of eluent

2.2.6 标准曲线的绘制

2.2.6.1 三乙磷酸铝标准曲线的绘制

由进样量 (0 ~ 5 000 ng) 对应的峰面积计算可得三乙磷酸铝标准曲线方程为 $Y = -435\,174.32 + 1\,283.72 X$, $r = 0.995\,6$ 。标准曲线见图 2 - 6。

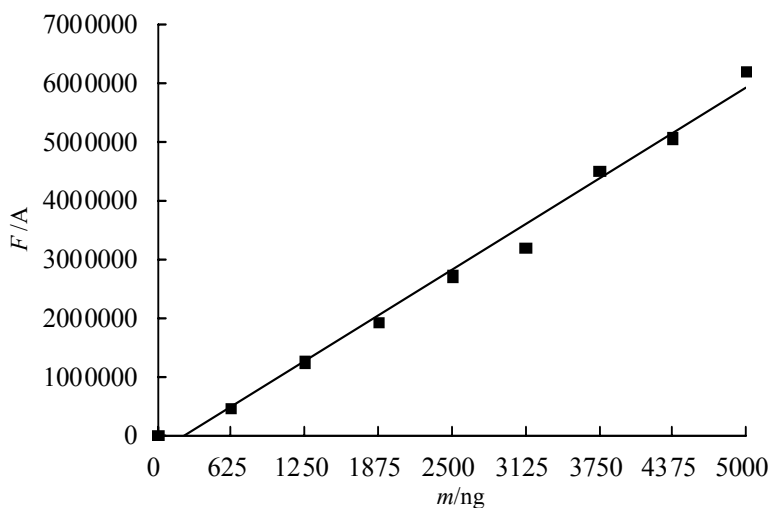


图 2 - 6 三乙磷酸铝标准曲线

Fig.2 - 6 The standard curve for fosetyl-Al

2.2.6.2 亚磷酸铝标准曲线的绘制及检出限

由进样量 (0 ~ 1 250 ng) 对应的峰面积计算可得亚磷酸铝的标准曲线方程为 $Y = -13\,507.94 + 1\,226.89 X$, $r = 0.999\,7$ 。标准曲线见图 2 - 7。本方法的检出限 (LOD) 对亚磷酸铝为 12.5 ng。

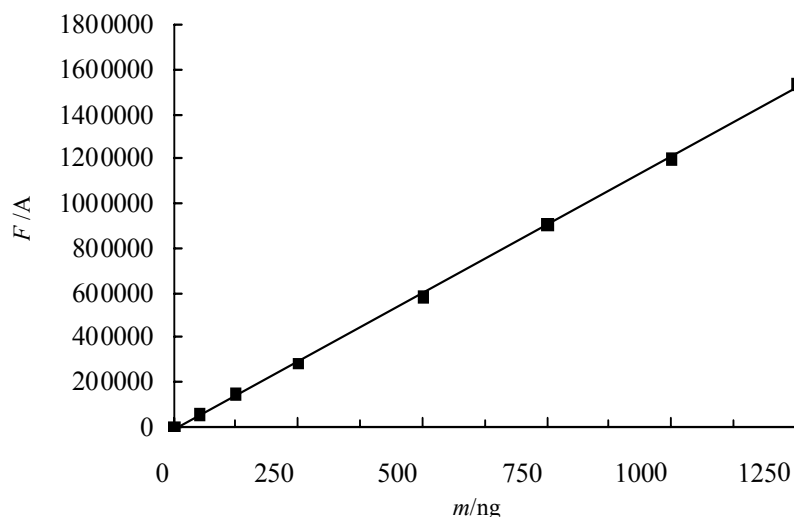


图 2 - 7 亚磷酸铝标准曲线

Fig.2 - 7 The standard curve for aluminium phosphite

2.2.6.3 硫酸铵标准曲线的绘制及检出限

由进样量 (0 ~ 500 ng) 对应的峰面积计算可得硫酸铵的标准曲线方程为 $Y = -2\,203.08 + 4\,326.24 X$, $r = 0.997\,6$ 。标准曲线见图 2 - 8。本方法的检出限对硫酸铵为 2.5 ng。

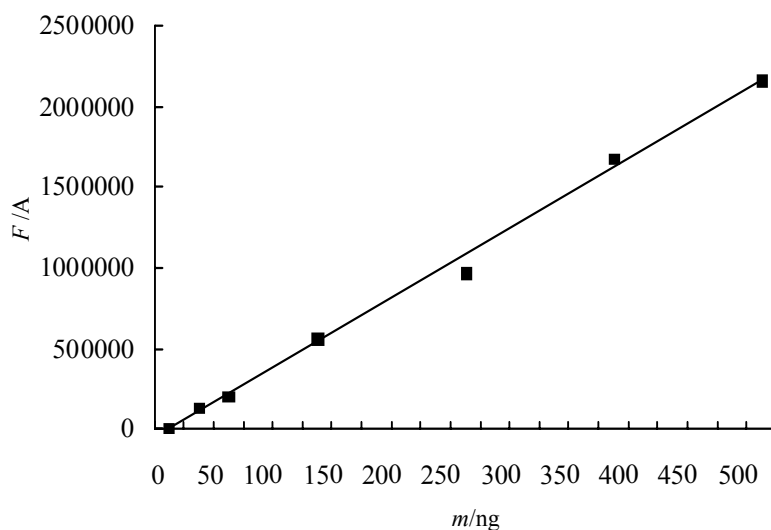


图 2 - 8 硫酸铵标准曲线

Fig.2 - 8 The standard curve for ammonium sulfate

2.2.7 分析方法的准确度和精密度测定结果

2.2.7.1 三乙磷酸铝的准确度和精密度测定结果

由表 2 - 6 计算得方法的准确度平均回收率为 100.1 ~ 100.2 % 范围之内；由表 2 - 7 计算得方法相对标准偏差 RSD 为 0.31 %，这些数据表明测定方法的准确度和精密度符合分析要求。

表 2 - 6 三乙磷酸铝的准确度测定数据

Tab.2 - 6 The accuracy data of fosetyl-Al

样品编号 Sample No.	添加量 /g Fortification amount	回收率 /% Recoveries	平均回收率 /% Mean recovery
1 [#]	0.05	99.7	100.1
2 [#]		100.0	
3 [#]		100.3	
4 [#]		101.0	
5 [#]		99.7	
6 [#]	0.1	100.2	100.2
7 [#]		100.5	
8 [#]		99.8	
9 [#]		100.8	
10 [#]		99.6	

表 2 - 7 三乙麟酸铝的精密度测定数据
Tab.2 - 7 The precision data of fosetyl-Al

样品编号 Sample No.	含量 /% The contents	平均值 /% Means	S _x	RSD /%
1 [#]	80.4	80.54	0.2 510	0.31
2 [#]	80.9			
3 [#]	80.7			
4 [#]	80.3			
5 [#]	80.4			

2. 2. 7. 2 亚磷酸铝、硫酸铵分析的准确度和精密度测定结果

由表 2 - 8 计算得亚磷酸铝和硫酸铵的平均回收率分别为 100.1 ~ 100.6 %, 100.2 ~ 100.4 %; 方法相对标准偏差 RSD 分别为 6.59 %、9.88 %, 这些数据表明测定方法的准确度和精密度符合杂质分析要求。

表 2 - 8 亚磷酸铝和硫酸铵的准确度测定数据
Tab.2 - 8 The accuracy data of aluminium phosphite and ammonium sulfate

样品编号 Sample No.	添加样品 Fortification sample	添加量 /g Fortification amount	回收率 /% Recoveries	平均回收率 /% Mean Recovery
1 [#]	亚磷酸钠 sodium phosphite	0.01	99.7	100.1
2 [#]			100.0	
3 [#]			100.3	
4 [#]			101.0	
5 [#]			99.7	
6 [#]		0.02	101.5	100.6
7 [#]			100.9	
8 [#]			99.7	
9 [#]			100.3	
10 [#]			100.5	
1 [#]	硫酸钠 sodium sulfate	0.01	100.2	100.2
2 [#]			100.5	
3 [#]			99.8	
4 [#]			100.8	
5 [#]			99.6	
6 [#]		0.02	99.9	100.4
7 [#]			100.3	
8 [#]			100.8	
9 [#]			101.4	
10 [#]			99.4	

表 2 - 9 亚磷酸铝和硫酸铵的精密度测定数据

Tab.2 - 9 The precision data of aluminium phosphite and ammonium sulfate

样品编号 Sample No.	亚磷酸铝 aluminium phosphite					硫酸铵 ammonium sulfate				
	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]
含量 /%	5.4	5.9	5.7	6.3	5.4	2.4	2.9	2.7	2.3	2.4
The contents										
平均值 /%			5.74					2.54		
Means										
S _x			0.38					0.25		
RSD /%			6.59					9.88		

2. 2. 8 80 %三乙膦酸铝可湿性粉剂两种方法实测结果的比较

对 80 % 三乙膦酸铝可湿性粉剂的测定结果（见表 2 - 10）表明，离子色谱法平均测定结果略低于碘量法，二者之间无显著差异。这些数据表明离子色谱法完全可以替代碘量法用于三乙膦酸铝制剂的定量分析。

表 2 - 10 碘量法和离子色谱法测定三乙膦酸铝可湿性粉剂的结果

Tab.2-10 The result of contents of fosetyl-Al wettable powders by iodimetry and IC

样品 Sample	重复次数 Repeat times	碘量法 Iodimetry		离子色谱法 IC	
		测定结果 /%	($\bar{X}$) /%	测定结果 /%	($\bar{X}$) /%
		Results		Results	
80 %可湿性粉剂 80 % WP	1 [#]	81.0		80.1	
	2 [#]	80.7		80.0	
	3 [#]	80.5	80.9	80.5	80.3
	4 [#]	80.8		80.1	
	5 [#]	81.5		80.8	

2. 3 小结

2. 3. 1 三乙膦酸铝在水中的溶解度与温度无正相关性，无法采用重结晶的方法获得三乙膦酸铝纯品。三乙膦酸铝的标准储备液可在室温下放置 1 周以上，其标准工作溶液应现用现配。

2. 3. 2 我国生产的三乙膦酸铝原药中所含的杂质主要是亚磷酸盐、硫酸盐。本文建立的对以含亚磷酸盐、硫酸盐为主要杂质的国产三乙膦酸铝原药的三次二级水水洗的纯化方法，可以用于实验室色谱分析纯品的制备。采用碘量法或标准品比对法可以对其准确定值。水洗纯化的原理在于杂质与三乙膦酸铝在水中溶解度有明显差异，另外还表明杂质亚磷酸盐、硫酸盐的晶体是独立分散的体系。

2. 3. 3 本章建立的Na₂CO₃溶液为淋洗液，AS 9 离子色谱柱，电导检测器外标法

适用于三乙磷酸铝原药、制剂乃至混剂的常量分析，方法快速、准确度高，重现性好，有效成分和杂质定量分析一次完成，为制定企业或行业标准奠定了基础。

第三章 反相离子对色谱法-蒸发光散射检测器测定三乙膦酸铝的含量

三乙膦酸铝原药或制剂的定量分析方法通常采用化学方法^[11,12],对混剂中三乙膦酸铝含量的测定有顶空气相色谱法^[18,19]的报道。关于三乙膦酸铝原药或制剂的液相色谱的定量分析方法目前未见公开报道。由于三乙膦酸铝没有可直接应用于紫外检测器的生色团,因此往往需要进行衍生反应才能分析检测,不仅过程繁琐,而且其杂质硫酸盐、亚磷酸盐无可衍生的基团,因此无法经柱前衍生后采用紫外或荧光检测器间接测定。蒸发光散射检测器是新一代通用型质量检测器,与示差折光检测器相比具有灵敏度高,对流动相系统温度变化影响不敏感,可进行梯度洗脱等优点^[75]。由于三乙膦酸铝在水溶液中呈离子状态,本文建立了反相离子对色谱法—蒸发光散射检测器对原药或制剂中三乙膦酸铝及其杂质进行同步定量的分析方法。

3.1 材料与方法

3.1.1 仪器设备

高效液相色谱仪: Waters 600高压泵, Waters 2420型蒸发光散射检测器, Rheodyne 7725i六通阀进样器, Empower Pro中文版色谱工作站; 色谱柱(Waters): SymmetryShield RP₁₈ (250 mm×4.6 mm×5 μm)。

3.1.2 试剂和溶液

三乙膦酸铝: 原药(国产)、80%可湿性粉剂(国产)、标准品(含量: 99.3%, 德国拜耳作物科学(中国)有限公司提供); 亚磷酸钠(含5个结晶水)、无水硫酸钠均为分析纯; 正丙胺(纯度99%)(天津市博迪化工有限公司); 正丁胺(纯度99.5%)(天津市大茂化学试剂厂); 正戊胺(纯度99%)(上海海曲化工有限公司); 正己胺(纯度99%)(上海海曲化工有限公司); 冰乙酸(纯度99.5%)(济宁市化工研究所)均为分析纯; 自制实验室用二级水; 甲醇为一级色谱纯(天津市四友精细化学品有限公司)。

1 000 mg·L⁻¹储备液: 三乙膦酸铝标准品、三乙膦酸铝原药、三乙膦酸铝可湿性粉剂、亚磷酸根离子、硫酸根离子。

3.1.3 分析条件

流动相: (甲醇):(水, 含0.5%正己胺, 冰乙酸调pH 5.0) = 8:92 (V/V);

流动相流速: 1.5 mL·min⁻¹; 氦气(99.995%)喷射脱气;

定量管: 10 μL;

柱箱温度: 25 °C;

漂移管温度：60 ℃；

雾化气体空气压力：0.1 MPa；

雾化器级别：70 %；

增益：1 000（三乙磷酸铝有效成分的测定），100（三乙磷酸铝原药或制剂中杂质的测定）；

保留时间：三乙磷酸铝：7.4 min；硫酸盐：14.5 min；亚磷酸盐：4.3 min。

3.1.4 离子对试剂的选择

3.1.4.1 检测器的特点

三乙磷酸铝及其原药中的杂质结构中均无可检测的生色团，不能采用紫外或荧光检测器直接测定，并且其杂质硫酸盐、亚磷酸盐无可衍生的基团，因此无法经柱前衍生后采用紫外或荧光检测器间接测定。蒸发光散射检测器是通用型质量检测器，其响应不依赖于样品的光学特征，对所有在检测室当中非挥发性化合物都有响应，对所有组分响应因子几乎相同，无需测定定量校正因子，因此对于三乙磷酸铝及硫酸盐、亚磷酸盐可同时直接测定。且蒸发光散射检测器与示差折光检测器相比具有灵敏度高，受温度影响小，可进行梯度洗脱等优点^[75]。

3.1.4.2 离子对试剂的选择

分别采用相同浓度的正丙胺、正丁胺、正戊胺、正己胺的乙酸溶液作为离子对试剂，在 3.1.3 的分析条件下对三乙磷酸铝可湿性粉剂进样分析。兼顾三乙磷酸铝与其杂质的分离度、保留时间、峰形选择合适的离子对试剂。

3.1.5 液相色谱分析条件的优化

3.1.5.1 离子对试剂 pH 值的影响

配制浓度为 0.5 % 的正己胺水溶液，用乙酸分别调 pH 值到 5.0、7.0、9.0，用不同 pH 值的正己胺溶液作为离子对试剂，在 3.1.3 的分析条件下对三乙磷酸铝可湿性粉剂进样分析。考察离子对试剂的 pH 值对可湿性粉剂中三乙磷酸铝及其杂质的分离和保留的影响。

3.1.5.2 离子对试剂浓度的影响

分别配制浓度为 0.1 %、0.3 %、0.5 %、0.7 % 的正己胺水溶液（用乙酸调 pH 值到 5.0）作为离子对试剂，在 3.1.3 的分析条件下对三乙磷酸铝可湿性粉剂进样分析。考察离子对试剂的浓度对可湿性粉剂中三乙磷酸铝及其杂质的分离和保留的影响。

3.1.5.3 流动相甲醇比例的影响

配制浓度为 0.5 % 的正己胺水溶液（用乙酸调 pH 值到 5.0）作为离子对试剂，将流动相中甲醇比例分别调为 2 %、5 %、8 %、10 %、12 %，在 3.1.3 的分析条

件下对三乙磷酸铝可湿性粉剂进样分析。考察流动相中甲醇比例对可湿性粉剂中三乙磷酸铝及其杂质的分离和保留的影响。

3.1.6 ELSD 参数优化

3.1.6.1 漂移管温度的选择

固定其它分析条件不变, 在 40 ~ 90 °C 范围内调节漂移管温度, 以信噪比为指标, 确定最佳的漂移管温度。

3.1.6.2 雾化气体空气压力的选择

固定其它分析条件不变, 在 0.069 ~ 0.24 MPa 范围内调节雾化气体空气的压力, 以信噪比为指标, 确定最佳的雾化气体压力。

3.1.6.3 喷雾器级别的选择

固定其它分析条件不变, 在 60 ~ 90 % 范围内调节喷雾器级别, 以信噪比为指标, 确定最佳的喷雾器级别。

3.1.7 三乙磷酸铝及其杂质的测定

3.1.7.1 三乙磷酸铝及其杂质的检出限

分别配制 5 mg · L⁻¹、10 mg · L⁻¹、15 mg · L⁻¹ 的三乙磷酸铝标准溶液, 10 mg · L⁻¹、15 mg · L⁻¹、20 mg · L⁻¹ 的亚磷酸根离子标准溶液, 5 mg · L⁻¹、10 mg · L⁻¹、15 mg · L⁻¹ 的硫酸根离子标准溶液在 3.1.3 的分析条件下, 进样分析, 以 S/N = 3 计, 确定三乙磷酸铝及其杂质亚磷酸盐、硫酸盐的检出限。

3.1.7.2 三乙磷酸铝、亚磷酸盐、硫酸盐标准曲线的绘制

用三乙磷酸铝标准储备液配制各种标准工作溶液 (50 mg · L⁻¹、100 mg · L⁻¹、200 mg · L⁻¹、300 mg · L⁻¹、400 mg · L⁻¹、500 mg · L⁻¹、600 mg · L⁻¹、700 mg · L⁻¹、800 mg · L⁻¹); 用亚磷酸根离子标准储备液配制各种标准工作溶液 (20 mg · L⁻¹、40 mg · L⁻¹、60 mg · L⁻¹、80 mg · L⁻¹、100 mg · L⁻¹、120 mg · L⁻¹、140 mg · L⁻¹、160 mg · L⁻¹、180 mg · L⁻¹); 用硫酸根离子标准储备液配制各种标准工作溶液 (20 mg · L⁻¹、40 mg · L⁻¹、60 mg · L⁻¹、80 mg · L⁻¹、100 mg · L⁻¹、120 mg · L⁻¹、140 mg · L⁻¹、160 mg · L⁻¹、180 mg · L⁻¹)。在 3.1.3 的分析条件下, 进样分析。以峰面积对数值 $\lg A$ 对浓度对数值 $\lg C$, 绘制三乙磷酸铝、亚磷酸盐、硫酸盐标准曲线。

3.1.7.3 三乙磷酸铝、亚磷酸盐、硫酸盐准确度和精密度的测定方法

3.1.7.3.1 三乙磷酸铝准确度、精密度的测定

分别称取 0.01 g (精确至 0.000 2 g) 三乙磷酸铝标准品、原药。加入同一 100 mL 容量瓶中, 加 90 mL 流动相, 超声波振荡 30 min 后冷却, 用流动相定容。按照上述步骤, 配制 5 份低浓度添加试样溶液。分别称取 0.02 g (精确至 0.000 2 g) 三

乙磷酸铝标准品、原药。余同上，配制 5 份高浓度添加试样溶液。

称取 0.04 g（精确至 0.000 2 g）三乙磷酸铝原药于 100 mL 容量瓶中，配制过程同上，8 次重复用于三乙磷酸铝精密度试验。

在 3.1.3 的分析条件下，采用外标法 3 点（100 mg · L⁻¹、300 mg · L⁻¹、500 mg · L⁻¹）建立标准曲线对两个浓度水平的添加试样溶液和精密度试样溶液分别进样分析，计算回收率、RSD 值。

3.1.7.3.2 亚磷酸盐准确度、精密度的测定

称取 0.05 g 三乙磷酸铝原药与 0.02 g（均精确至 0.000 2 g）亚磷酸钠，加入同一 100 mL 容量瓶中，配制过程同 3.1.7.3.1。按照上述步骤，配制 5 份低浓度添加试样溶液。称取 0.1 g 三乙磷酸铝原药与 0.04 g（均精确至 0.000 2 g）亚磷酸钠，余同上，配制 5 份高浓度添加试样溶液。

称取 0.1 g（精确至 0.000 2 g）三乙磷酸铝原药于 100 mL 容量瓶中，配制过程同上，8 次重复用于亚磷酸盐精密度试验。

在 3.1.3 的分析条件下，采用外标法 3 点（40 mg · L⁻¹、60 mg · L⁻¹、80 mg · L⁻¹）建立标准曲线对低浓度添加试样溶液和精密度试样溶液进样分析，计算回收率、RSD 值。采用外标法 3 点（120 mg · L⁻¹、140 mg · L⁻¹、160 mg · L⁻¹）建立标准曲线对高浓度添加试样溶液进样分析，计算回收率。

3.1.7.3.3 硫酸盐准确度、精密度的测定

称取 0.1 g 三乙磷酸铝原药与 0.01 g（均精确至 0.000 2 g）硫酸钠，加入同一 100 mL 容量瓶中，配制过程同 3.1.7.3.1。按照上述步骤，配制 5 份低浓度添加试样溶液。称取 0.2 g 三乙磷酸铝原药与 0.02 g（均精确至 0.000 2 g）硫酸钠，余同上，配制 5 份高浓度添加试样溶液。

称取 0.2 g（精确至 0.000 2 g）三乙磷酸铝原药于 100 mL 容量瓶中，配制过程同上，8 次重复用于硫酸盐精密度试验。

在 3.1.3 的分析条件下，采用外标法 3 点（40 mg · L⁻¹、60 mg · L⁻¹、80 mg · L⁻¹）建立标准曲线对低浓度添加试样溶液和精密度试样溶液进样分析，计算回收率、RSD 值。采用外标法 3 点（120 mg · L⁻¹、140 mg · L⁻¹、160 mg · L⁻¹）建立标准曲线对高浓度添加试样溶液进样分析，计算回收率。

3.1.7.4 三乙磷酸铝原药、制剂及纯化样品的定量分析

分别称取 0.03 g 三乙磷酸铝可湿性粉剂、三个不同厂家的原药及纯化样品于不同的 100 mL 容量瓶中，配制过程同 3.1.7.3.1，进样分析，平行进样 5 次。在 3.1.3 的分析条件下，采用外标法 3 点（100 mg · L⁻¹、300 mg · L⁻¹、500 mg · L⁻¹）建立标准曲线，计算样品中三乙磷酸铝的含量。

分别称取 0.2 g 三乙磷酸铝可湿性粉剂、三个不同厂家的原药及纯化样品于不

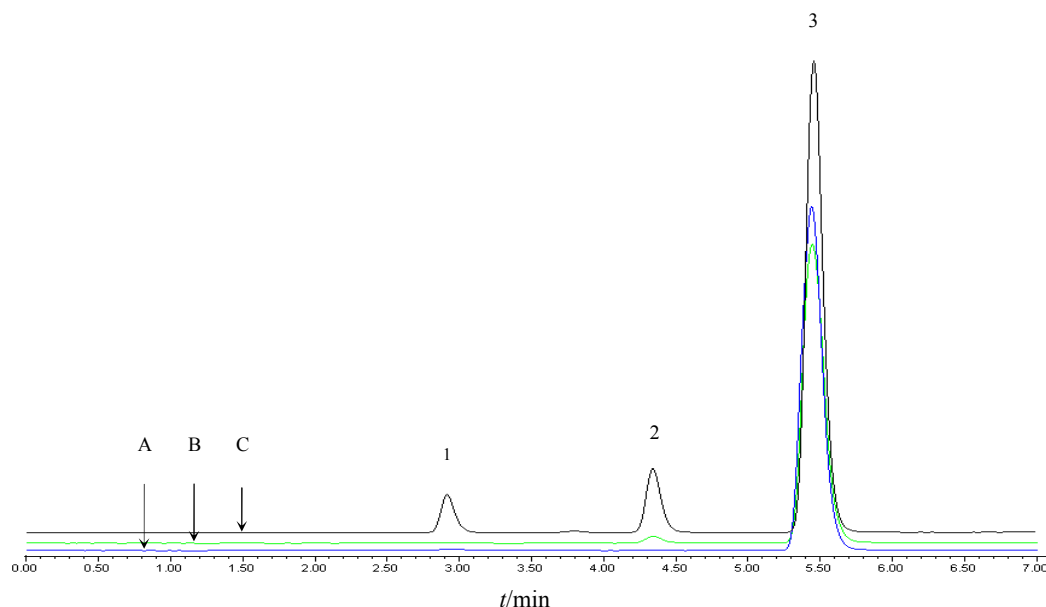
同的 100 mL 容量瓶中，配制过程同 3.1.7.3.1，进样分析，平行进样 5 次。在 3.1.3 的分析条件下，采用外标法 5 点（ $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $140 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $180 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ）建立标准曲线，计算样品中硫酸盐（以硫酸铵计）的含量。采用外标法 3 点（ $140 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $160 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $180 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ）建立标准曲线，计算样品中亚磷酸盐（以亚磷酸铝计）的含量。

3.2 结果与讨论

3.2.1 离子对试剂的选择结果

鉴于三乙磷酸铝及其原药、可湿性粉剂中杂质硫酸盐、亚磷酸盐的性质，蒸发光散射检测器的特点，为满足定量分析的要求，选择蒸发光散射检测器作为此方法的检测器。

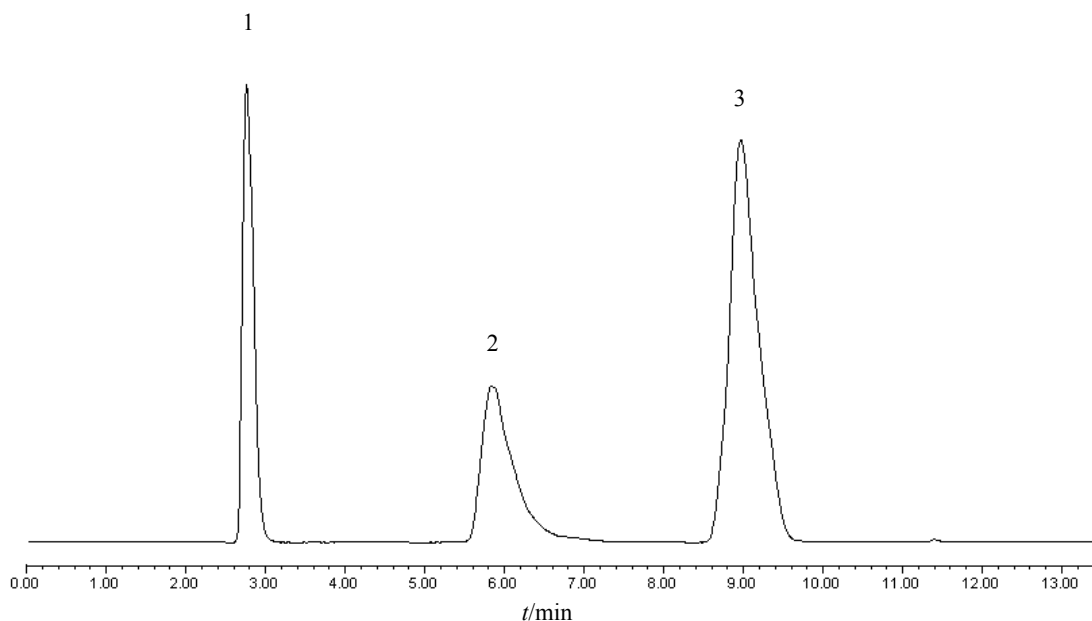
本文尝试分别采用正丙胺、正丁胺、正戊胺、正己胺的乙酸溶液作为离子对试剂对三乙磷酸铝进行定量分析。在 3.1.3 的分析条件下，正丙胺的乙酸溶液作为离子对试剂时，硫酸盐和亚磷酸盐的峰不能完全分离；正丁胺的乙酸溶液作为离子对试剂时，亚磷酸盐的峰与常见磷酸盐的峰重叠（见图 3 - 1）；正戊胺的乙酸溶液作为离子对试剂时，三乙磷酸铝和硫酸盐的峰重叠（见图 3 - 2）；正己胺的乙酸溶液作为离子对试剂时，三种物质能完全分离，保留时间合适（见图 3 - 3），



1 亚磷酸盐 (phosphite) + 磷酸盐 (phosphate); 2 硫酸盐 (sulfate); 3 三乙磷酸铝 (fosetyl-Al)

图 3-1 离子对试剂为正丁胺时，三乙磷酸铝标准品 (A)、三乙磷酸铝原药(B)、三乙磷酸铝可湿性粉剂 (C) 色谱分离图

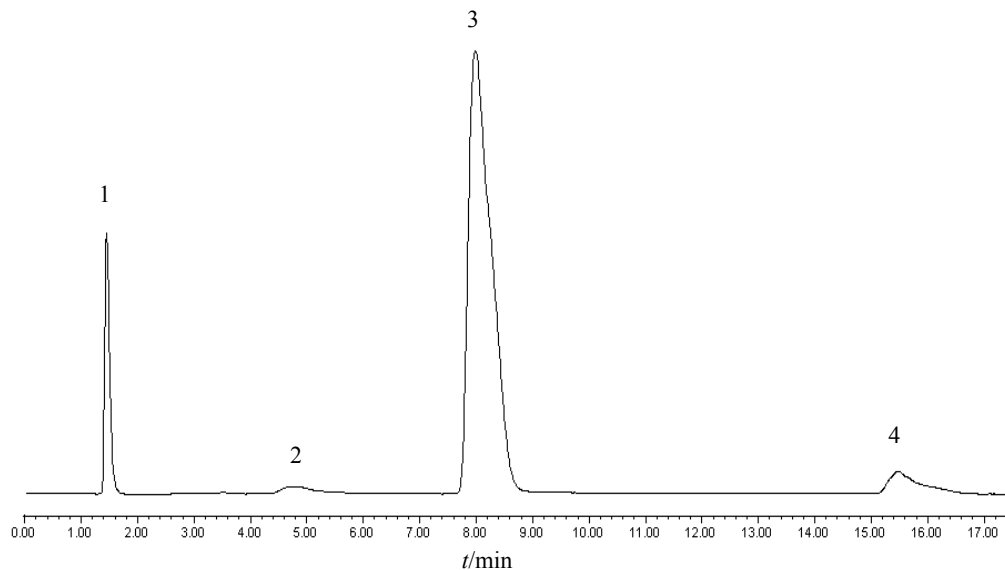
Fig 3 - 1 Chromatography of fosetyl-Al standard sample (A), technical (B), wettable powders (C), with *n*-butylamine as ion-pairing reagent



1 钠盐 (sodium); 2 亚磷酸盐 (phosphite); 3 三乙膦酸铝 (fosetyl-Al) + 硫酸盐 (sulfate)

图 3-2 离子对试剂为正戊胺时，三乙膦酸铝及其杂质色谱分离图

Fig 3 - 2 Chromatography of fosetyl-Al and its impurities with *n*-pentylamine as ion-pairing reagent



1 钠盐 (sodium); 2 亚磷酸盐 (phosphite); 3 三乙膦酸铝 (fosetyl-Al); 4 硫酸盐 (sulfate)

图 3-3 离子对试剂为正己胺时，三乙膦酸铝可湿性粉剂色谱分离图

Fig 3 - 3 Chromatography of fosetyl-Al wettable powders with *n*-hexylamine as ion-pairing reagent

且正己胺价格低廉，易得。因此本文采用正己胺作为离子对试剂，结合 ELSD 检测器，建立了反相离子对色谱法—蒸发光散射检测器测定原药中三乙膦酸铝及其杂质含量的方法，克服了传统的化学方法耗时、工效低且排除不了杂质干扰的缺

点。需要指出的是,当采用正己胺作离子对试剂时硫酸根保留值大于乙基膦酸根,分析其原因是硫酸根与正己胺生成的双正己胺离子对化合物的极性弱于乙基膦酸根正己胺离子对化合物。

3.2.2 液相色谱分析条件的优化结果

3.2.2.1 离子对试剂 pH 值的影响

离子对试剂的pH值为 9.0 时,三乙膦酸铝可湿性粉剂的试样溶液不出峰,说明在碱性条件下,三乙膦酸铝及其杂质不能与正己胺形成稳定的离子对;离子对试剂的pH值为 7.0 时,三乙膦酸铝中杂质硫酸盐与亚磷酸盐的峰重叠;离子对试剂的pH值为 5.0 时,三乙膦酸铝与其杂质硫酸盐、亚磷酸盐的峰能够完全分离,且三乙膦酸铝的容量因子 >1 ,说明只有在酸性条件下,三乙膦酸铝在水溶液中才能完全电离,与正己胺阳离子形成稳定的离子对化合物,在 C_{18} 柱上得到良好的保留,因此选择pH 5.0 作为分离条件。

3.2.2.2 离子对试剂浓度的影响

图 3 - 4 表明了离子对试剂浓度在 0.1 ~ 0.7 %范围内,对三乙膦酸铝保留行为的影响。随着正己胺溶液浓度的增加,三乙膦酸铝、硫酸盐、亚磷酸盐的保留都呈现出增加趋势,且色谱峰的信噪比也在增加。从图 3 - 4 可以看出,当离子对试剂的浓度大于 0.3 %时,三乙膦酸铝保留增加的趋势趋于缓慢,且当浓度为 0.5 %时,三乙膦酸铝容量因子 >1 。兼顾合适的保留时间和良好的分离、信噪比,选择 0.5 %的正己胺溶液作为离子对试剂。

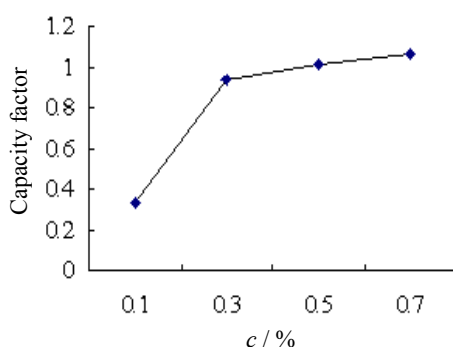


图 3 - 4 离子对试剂的浓度对三乙膦酸铝容量因子的影响

Fig.3 - 4 Effect of ion-pairing reagent concentration to capacity factor of fosetyl-Al

3.2.2.3 流动相甲醇比例的影响

图 3 - 5 表明甲醇比例在 2 ~ 12 %范围内,对三乙膦酸铝保留行为的影响。随着甲醇比例的增加,流动相的极性减小,洗脱能力增强,三乙膦酸铝及其杂质的保留均减弱,但信噪比却在增加。兼顾合适的保留时间和良好的分离、信噪比,

选择 8 % 的甲醇作为分离条件。

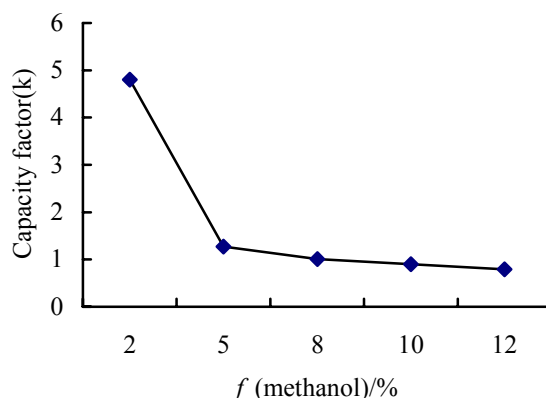


图 3-5 流动相中甲醇比例对三乙膦酸铝容量因子的影响

Fig.3 - 5 Effect of methanol percentage in the mobile phase to capacity factor of fosetyl-Al

3. 2. 3 ELSD 参数优化结果

以信噪比为指标，最终确定 ELSD 的参数为漂移管温度 60 °C，雾化气体压力 0.1 MPa，喷雾器级别 70 %。

3. 2. 4 三乙膦酸铝及其杂质的测定结果

3. 2. 4. 1 三乙膦酸铝及其杂质的检出限

在 3.1.3 的分析条件下，以 $S/N = 3$ 计，根据表 3-1 确定三乙膦酸铝的检出限为 100 ng，亚磷酸根离子的检出限为 150 ng，硫酸根离子的检出限为 100 ng。

表 3 - 1 三乙膦酸铝及其杂质检出限测定数据

Tab.3 - 1 The LOD data of fosetyl-Al and impurities

样品 Sample	基线噪音/LS Baseline noise/LS	3 倍基线噪音样品浓度/mg · L ⁻¹ Sample concentration of 3N/mg · L ⁻¹
三乙膦酸铝 Fosetyl-Al	2	10
亚磷酸根离子 Phosphite ion	0.4	15
硫酸根离子 Sulfate ion	0.5	10

3. 2. 4. 2 标准曲线的绘制

3.2.4.2.1 三乙膦酸铝标准曲线

以峰面积对数值 $\lg A$ 对三乙膦酸铝浓度对数值 $\lg C$ 进行回归计算，得线性方程为 $\lg A = 1.428 2 \lg C + 3.542 5$ ， $r = 0.999 7$ 。三乙膦酸铝在 50 ~ 800 mg · L⁻¹ 范围内呈现良好的线性关系。标准曲线见图 3 - 6。

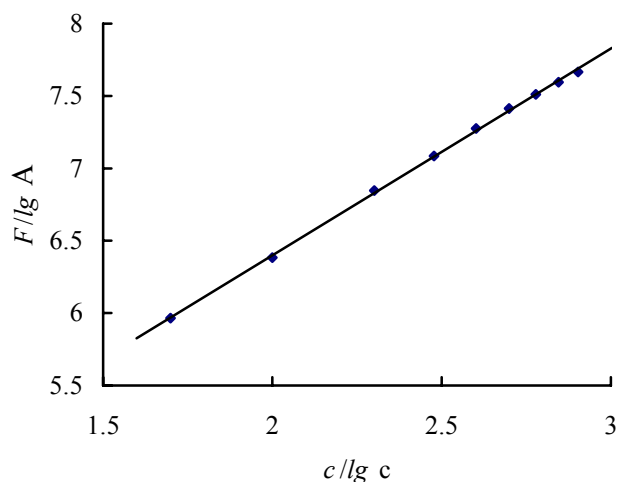


图 3 - 6 三乙膦酸铝标准曲线

Fig.3 - 6 The standard curve for fosetyl-Al

3.2.4.2.2 亚磷酸盐标准曲线

以峰面积对数值 $\lg A$ 对亚磷酸根离子浓度对数值 $\lg C$ 进行回归计算,得线性方程为 $\lg A = 1.5378 \lg C + 2.3662$, $r = 0.9978$ 。亚磷酸根离子在 $20 \sim 180 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内呈现良好的线性关系。标准曲线见图 3 - 7。

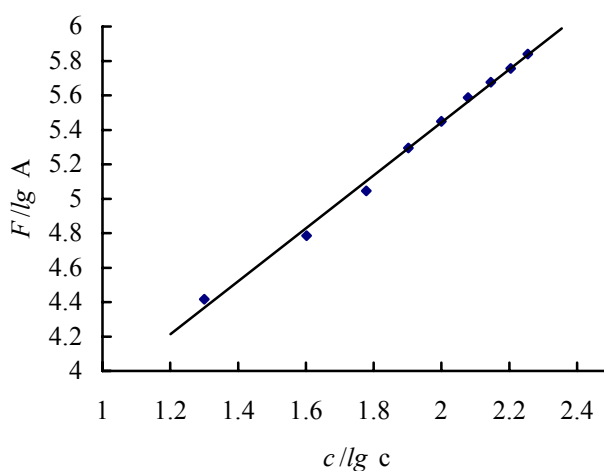


图 3 - 7 亚磷酸盐标准曲线

Fig.3 - 7 The standard curve for phosphite

3.2.4.2.3 硫酸盐标准曲线

以峰面积对数值 $\lg A$ 对硫酸根离子浓度对数值 $\lg C$ 进行回归计算,得线性方程为 $\lg A = 1.3953 \lg C + 3.0302$, $r = 0.9957$ 。硫酸根离子在 $20 \sim 180 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内呈现良好的线性关系。标准曲线见图 3 - 8。

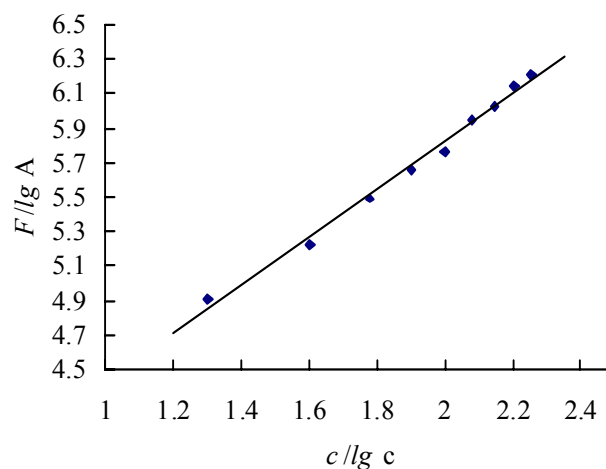


图 3 - 8 硫酸盐标准曲线

Fig.3 - 8 The standard curve for sulfate

3.2.4.3 准确度和精密度的测定结果

3.2.4.3.1 三乙膦酸铝准确度和精密度测定结果

由表 3 - 2 计算得方法的准确度测定结果,低浓度添加平均回收率为 100.3 %,高浓度添加平均回收率为 100.6 %,在 99 ~ 101 %范围之内;由表 3 - 3 计算得方法相对标准偏差 RSD 为 0.63 %,这些数据表明测定方法的准确度和精密度符合分析要求。

表 3 - 2 三乙膦酸铝准确度测定数据

Tab.3 - 2 The accuracy data of fosetyl-Al

低浓度添加			高浓度添加		
Fortification of low concentration			Fortification of high concentration		
样品编号	回收率 /%	平均回收率	样品编号	回收率 /%	平均回收率
Sample No.	Recoveries	Mean recovery	Sample No.	Recoveries	Mean recovery
1 [#]	100.36	100.3	6 [#]	100.90	100.6
2 [#]	100.81		7 [#]	100.58	
3 [#]	100.60		8 [#]	100.37	
4 [#]	99.24		9 [#]	100.33	
5 [#]	100.55		10 [#]	100.74	

表 3 - 3 三乙膦酸铝精密度测定数据
Tab.3 - 3 The precision data of fosetyl-Al

样品编号 Sample No.	含量 /% The contents	平均值 /% Means	S _x	RSD /%
1 [#]	90.63	90.44	0.567 8	0.63
2 [#]	90.90			
3 [#]	90.04			
4 [#]	91.11			
5 [#]	90.21			
6 [#]	89.32			
7 [#]	90.60			
8 [#]	90.70			

3.2.4.3.2 亚磷酸盐准确度和精密度测定结果

由表 3 - 4 计算得方法的准确度测定结果, 低浓度添加平均回收率为 106.9 %, 高浓度添加平均回收率为 99.7 %; 由表 3 - 5 计算得方法相对标准偏差 RSD 为 3.18 %, 这些数据表明测定方法的准确度和精密度符合杂质分析要求。

表 3 - 4 亚磷酸铝准确度测定数据
Tab.3 - 4 The accuracy data of aluminium phosphite

低浓度添加 Fortification of low concentration			高浓度添加 Fortification of high concentration		
样品编号 Sample No.	回收率 /% Recoveries	平均回收率 /% Mean recovery	样品编号 Sample No.	回收率 /% Recoveries	平均回收率 /% Mean recovery
1 [#]	111.08	106.9	6 [#]	99.19	99.7
2 [#]	104.59		7 [#]	102.59	
3 [#]	99.27		8 [#]	104.73	
4 [#]	110.59		9 [#]	95.29	
5 [#]	108.85		10 [#]	96.49	

表 3 - 5 亚磷酸铝精密度测定数据

Tab.3 - 5 The precision data of aluminium phosphite

样品编号 Sample No.	含量(以亚磷酸铝计) /% The contents, calculated as aluminium phosphite	平均值 /% Means	S _x	RSD /%
1 [#]	9.94	9.78	0.311 2	3.18
2 [#]	9.37			
3 [#]	10.20			
4 [#]	9.50			
5 [#]	10.10			
6 [#]	9.82			
7 [#]	9.44			
8 [#]	9.88			

3.2.4.3.3 硫酸盐准确度和精密度测定结果

由表 3 - 6 计算得方法的准确度结果, 低浓度添加平均回收率为 102.3 %, 高浓度添加平均回收率为 96.1 %; 由表 3 - 7 计算得方法相对标准偏差 RSD 为 1.89 %, 这些数据表明测定方法的准确度和精密度符合杂质分析要求。

表 3 - 6 硫酸铵准确度测定数据

Tab.3 - 6 The accuracy data of ammonium sulfate

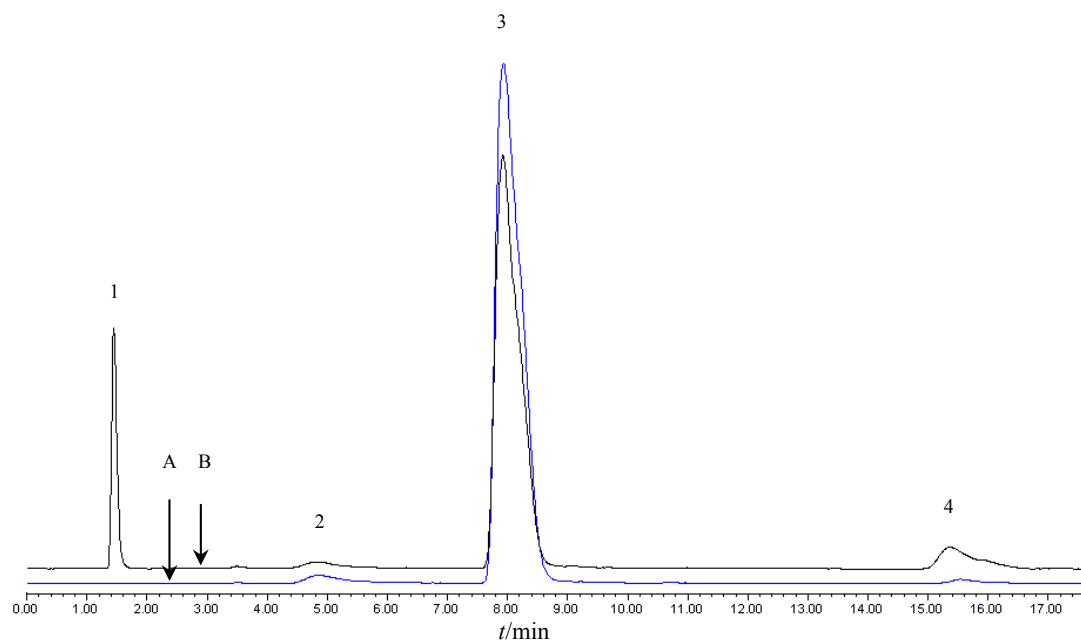
低浓度添加 Fortification of low concentration			高浓度添加 Fortification of high concentration		
样品编号 Sample No.	回收率 /% Recoveries	平均回收率 /% Mean recovery	样品编号 Sample No.	回收率 /% Recoveries	平均回收率 /% Mean recovery
1 [#]	96.63	102.3	6 [#]	95.64	96.1
2 [#]	108.98		7 [#]	92.45	
3 [#]	99.67		8 [#]	91.97	
4 [#]	101.95		9 [#]	101.32	
5 [#]	104.39		10 [#]	99.04	

表 3 - 7 硫酸铵精密度测定数据
Tab.3 - 7 The precision data of ammonium sulfate

样品编号 Sample No.	含量(以亚磷酸铝计) /% The contents, calculated as ammonium sulfate	平均值 /% Means	S _x	RSD /%
1 [#]	4.85	4.88	0.092 0	1.89
2 [#]	4.92			
3 [#]	5.05			
4 [#]	4.77			
5 [#]	4.95			
6 [#]	4.85			
7 [#]	4.88			
8 [#]	4.78			

3. 2. 4. 4 三乙膦酸铝原药、可湿性粉剂及纯化样品的定量分析结果

三乙膦酸铝原药及可湿性粉剂的色谱分离图见图 3 - 9。分析结果见表 3 - 8。



1 钠盐 (sodium); 2 亚磷酸盐 (phosphite); 3 三乙膦酸铝 (fosetyl-Al); 4 硫酸盐 (sulfate)

图 3 - 9 三乙膦酸铝原药(A)、三乙膦酸铝可湿性粉剂 (B) 色谱分离图

Fig 3 - 9 Chromatography of fosetyl-Al technical (A), wettable powders (B)

表 3 - 8 三乙膦酸铝原药、可湿性粉剂及纯化样品的测定数据
 Tab.3 - 8 The determination data of fosetyl-Al technical, wettable powders and pure sample

样品 Samples	三乙膦酸铝平均含量 /% Average content of fosetyl-Al	RSD /%	样品中杂质含量 /% Impurities content	
			亚磷酸盐含量 (以亚磷酸铝计) /% Impurities, calculated as alu- minium phosphite	硫酸盐含量 (以硫酸铵计) /% Impurities, calculated as ammonium sulfate
可湿性粉剂 Fosetyl-Al WP	80.35	0.95	9.79	10.35
原药 1 Fosetyl-Al technical 1 [#]	90.44	0.63	9.78	4.88
原药 2 Fosetyl-Al technical 2 [#]	91.59	0.72	10.05	3.94
原药 3 Fosetyl-Al technical 3 [#]	96.49	1.0	9.12	< 0.69
纯品 Pure fosetyl-Al	100.65	0.63	< 1.84	< 0.69

3.3 小结

本章以正己胺作为离子对试剂, 采用反相离子对高效液相色谱法, 配以蒸发光散射检测器检测, 建立了原药或制剂中三乙膦酸铝及其杂质含量测定的分析方法。该方法的准确度和精密度符合分析的要求。样品测定结果满意。本法简便快捷, 为原药和制剂中三乙膦酸铝的定量分析提供了有效可靠的方法。

第四章 施用三乙磷酸铝后铝在黄瓜及叶片上的残留分析与评价

铝在人体内的生理、生化功能目前还不十分清晰。它是常量元素，可以通过食物、水和空气进入人体。由于铝在地球上的存在形态、分布、含量、及定量分析的难度等原因，使得其限量值规定较高（一般为 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ），但是有些研究成果也证实大量铝的摄入会对人体产生不利的影响^[36-40]。有关食物中铝的含量已有大量报道^[76]。通常饮用水中铝的限量要求比较严格，WHO和日本规定为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。食品添加剂联合专家委员会规定铝的摄入量为每人每周不超过 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[77]。三乙磷酸铝既是一种常用的杀菌剂同时也是铝源，防治作物病害时可能造成铝污染。黄瓜是一种人们普遍喜爱的蔬菜，可以生吃、腌制或作为佐料，施用三乙磷酸铝后黄瓜上铝的含量测定国内外尚未见报道。为了保证食用黄瓜安全，有必要对黄瓜及其叶片上铝残留量进行分析测定。本章建立了石墨炉原子吸收光谱测定黄瓜及其叶片上铝含量的方法，并对黄瓜及其叶片上铝的最终残留量进行了测定和评价。

4.1 材料与方法

4.1.1 仪器与设备

原子吸收光谱仪：北京东西电子 AA 7003 原子吸收光谱仪，配备石墨炉原子化器，AA 70032 数据处理工作站；铝空心阴极灯；热解涂层石墨管。

高速组织捣碎机；电子分析天平；电热恒温鼓风干燥箱；电热板；菲尼根手动进样器（ $5 \sim 50 \mu\text{L}$ ）。

4.1.2 试剂和溶液

硝酸，高氯酸，盐酸均为优级纯；硝酸镁：99%，优级纯；GBW(E)080219 7001 铝标准储备液： $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ （国家标准物质研究中心）；二级水。

4.1.3 实验器皿的前处理

实验使用的各种玻璃器皿均先用硝酸溶液（1+4）浸泡 48 h 后，用三级水冲净，再用二级水冲洗三次，烘干备用。

4.1.4 原子吸收光谱仪分析条件

分析线波长： 309.27 nm ；狭缝： 0.2 nm ；灯电流： 5 mA ；高纯氩（99.999%）流量：外气路 $2 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ ，内气路 $0.2 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ （原子化时停气）；进样量： $20 \mu\text{L}$ ；峰面积定量；标准曲线法计算。石墨炉升温程序见表 4-1。

表 4 - 1 石墨炉升温程序

Tab.4 - 1 Graphite oven temperature programming

步骤 Steps	名称 Name	起始温度 /℃ Start temp.	终止温度 /℃ Stop temp.	时间/s Time	内气路氩气流速 / L · min ⁻¹ Argon gas rate of flow
1	干燥 Dry	40	120	50	0.2
2	干燥 Dry	120	120	20	0.2
3	灰化 Cineration	120	400	15	0.2
4	灰化 Cineration	400	400	10	0.2
5	灰化 Cineration	400	400	15	0
6	原子化 Atomization	2 700	2 700	4	0
7	清除 Clean up	2 900	2 900	3	0.2
8	冷却 Cooling	—	—	120	0.2

4.1.5 样品的来源、制备和前处理

4.1.5.1 三乙膦酸铝的田间试验

4.1.5.1.1 试验时间、地点

试验年度：2007年。

施药时间：育苗2007年3月17日；定植时间2007年4月28日；第一次施药时间2007年6月20日；第二次施药时间2007年6月27日；第三次施药时间2007年7月4日。

试验地点：吉林农业大学试验站。

4.1.5.1.2 供试药剂、试验作物

供试药剂：80 %三乙膦酸铝 WP（山东大成农药有限公司生产）。

供试作物：黄瓜。品种：长春密刺。

4.1.5.1.3 田间试验设计

试验小区大棚面积：12.8 m² (3.2 m × 4 m)，设6个处理：推荐剂量(2 820 g · hm⁻²，有效成分)施药2次、3次；高剂量(5 640 g · hm⁻²，有效成分)施药1次、2次、3次和不施药空白对照区，每次施药的间隔期为7 d，各处理3次重复，各重复间顺序排列，各处理间随机排列，田间试验设计见表4 - 2。

4.1.5.1.4 施药方法

将80 %三乙膦酸铝WP采用2次稀释法用水稀释后，用新购置的没得比—16型背负式喷雾器叶面喷雾，药液量350 L · hm⁻²。

4.1.5.1.5 最终残留量试验

施药剂量设2个水平，推荐剂量2 820 g · hm⁻²，高剂量5 640 g · hm⁻²（均为有效成分）。在黄瓜收获期采集黄瓜样品进行测定，采收间隔期为1 d、3 d；黄

瓜叶片的采收间隔期为 7 d^[78]。

表4 - 2 铝残留田间试验小区安排表
Tab.4 - 2 Arrangements of supervised residue trial of aluminium

2007年 2007y		
I	II	III
1	4	5
6	6	2
4	3	6
2	5	1
5	1	3
3	2	4

注：1 空白对照（水）；2 高剂量（5 640 g · hm⁻²）1次；3 高剂量（5 640 g · hm⁻²）2次；4 高剂量（5 640 g · hm⁻²）3次；5 推荐剂量（2 820 g · hm⁻²）2次；6 推荐剂量（2 820 g · hm⁻²）3次。表中剂量均指三乙磷酸铝有效成分。

4. 1. 5. 2 田间样品的采集

在首次施药前，对黄瓜、黄瓜叶片空白对照区取样。

对各处理小区的黄瓜以 5 点法采样，每点各采黄瓜 3 ~ 5 根，每小区样品应不少于 1 kg。

黄瓜叶片每个处理小区取上、中、下位叶片各 10 片，每小区样品不少于 1 kg。

4. 1. 5. 3 实验室样品的包装、贮藏和运输

4.1.5.3.1 田间样品的缩分、包装和贮藏

采用连续四分法将田间样品缩分为实验室样品。贮藏的实验室样品质量为每小区 0.2 kg ~ 0.5 kg。黄瓜样品取食用部分。

将实验室样品冷藏在-20 ℃冰箱中。全部样品用聚乙烯塑料袋包装。空白对照样品、最终残留量试验样品要单独包装，防治交叉污染。在样品包装袋内外各拴上一个防潮标签。

4.1.5.3.2 实验室样品的运输

待全部样品采集、缩分完毕，标示清楚，尽快在冷冻的状态下运送到分析实验室。空运抵达后对样品进行认真核对记录。

4. 1. 5. 4 田间试验设计和样品运输的实施

田间试验设计和样品运输的实施由中级技术职称以上的人员负责，届时将实验室样品按要求送达分析实验室。

4. 1. 5. 5 样品前处理

分别称取 100 g 黄瓜或 30 g 黄瓜叶片冷冻鲜样(精确至 0.02 g)于高速组织捣

碎缸中加入 80 mL 二级水，匀浆，用二级水转移到烧杯中，在烘箱（120 °C）中烘 12 h，冷却，称重，计算干燥减量。分别称取 0.1 g（精确至 0.000 2 g）的黄瓜或黄瓜叶片干样于 100 mL 三角烧瓶中，加入硝酸+高氯酸混合液（4+1）5 mL，在电热板上加热至白烟冒尽，冷却，加入 5 mL 二级水再蒸至白烟冒尽，冷却，加入 10 mL 盐酸溶液（1+1）溶解，转移到 100 mL 容量瓶中，加入 0.5 mL 50 g · L⁻¹ 的硝酸镁溶液，二级水定容。同时做空白试验。

4.1.6 铝标准曲线的建立及特征质量、检出限的计算

分别取 0 mL、0.05 mL、0.10 mL、0.20 mL、0.30 mL、0.40 mL 铝标准储备液于 100 mL 容量瓶中，分别加入 0.5 mL 50 g · L⁻¹ 的硝酸镁溶液。用（1+99）的盐酸溶液定容至 100 mL，配制成 0 μg · L⁻¹、50 μg · L⁻¹、100 μg · L⁻¹、200 μg · L⁻¹、300 μg · L⁻¹、400 μg · L⁻¹ 的铝标准工作溶液，按 4.1.4 分析条件测定。

4.1.7 添加回收试验

取空白黄瓜样品进行铝添加回收试验，添加浓度设 10 mg · kg⁻¹、50 mg · kg⁻¹ 2 个水平。取空白黄瓜叶片样品进行铝添加回收试验，添加浓度设 100 mg · kg⁻¹、500 mg · kg⁻¹ 2 个水平。每个添加浓度均 5 次重复。同时测定空白黄瓜、空白黄瓜叶片样品。

4.2 结果与讨论

4.2.1 标准曲线、方法的特征质量及检出限结果

当铝标准曲线浓度在 0 ~ 400 μg · L⁻¹ 时，标准曲线方程为 $Y = 0.0441 + 0.0015X$ ， $r = 0.9913$ ，表明线性关系良好（见图 4-1）；特征质量为 5.3 pg，计算公式见式 4-1；检出限为 62.4 pg，计算公式见式 4-2。

$$m_c = 0.0044 \rho_s V / A \dots\dots\dots \text{(式 4-1)}$$

式中： m_c 为特征质量， ρ_s 为试液的质量浓度（μg · L⁻¹）， V 为试液进样体积（mL）， A 为试液的吸光度。

$$D = \frac{m \times 3\sigma}{A} \dots\dots\dots \text{(式 4-2)}$$

式中： D 为检出限， m 为进样量（g）， σ 为采用空白溶液经 10 次重复测定所得吸光度的标准偏差， A 为试液的吸光度。

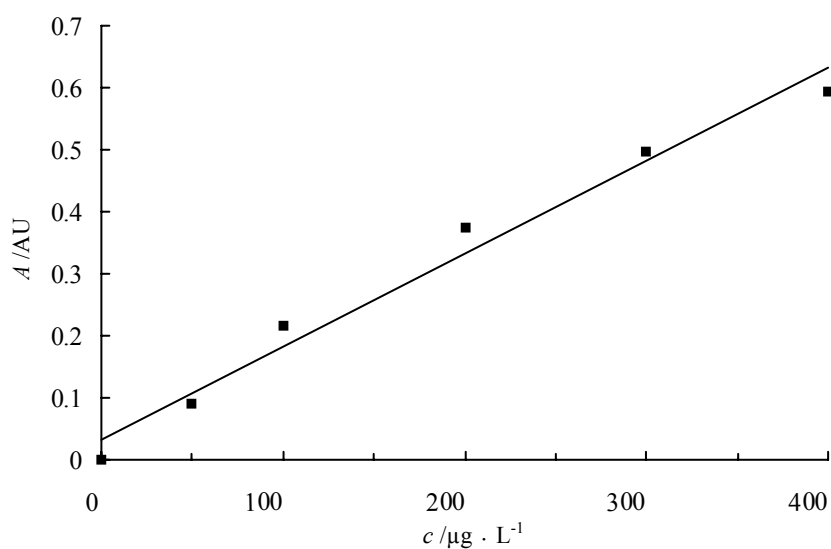


图 4 - 1 铝的标准曲线

Fig.4 - 1 The standard curve of aluminium

4. 2. 2 添加回收试验结果

黄瓜上铝添加回收试验结果表明, 添加水平为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 回收率为 $92.1 \sim 98.7 \%$; RSD为 $4.8 \sim 5.1 \%$ 。黄瓜叶片上铝添加回收试验结果表明, 添加水平为 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 回收率为 $89.0 \sim 100.1 \%$; RSD为 $13.9 \sim 17.6 \%$ 。上述数据表明该方法的准确度和精密度均符合痕量分析要求。黄瓜及其叶片上铝的添加回收试验测定结果见表4 - 3, 表4 - 4。

表 4 - 3 铝在黄瓜上的添加回收试验结果

Tab.4 - 3 The recovery of aluminium in Cucumber

干样量 /g Dry sample	对应鲜 样量 /g Fresh sample	鲜样添加水平 /mg · kg ⁻¹ Fortification level	鲜样黄瓜中铝背景 值 /mg · kg ⁻¹ Blank concentra- tion in fresh sample	添加量 /μg Fortification amount	测定值 /μg Determination value	回收率 /% Recoveries	平均回收率 /% Mean recovery	RSD /%
0.102 4	3.00	10	6.8	30	49.00, 52.25, 48.28, 49.82, 50.23	95.6, 106.5, 98.4, 93.2, 99.7	98.7	5.1
0.116 0		50		150	160.66 , 147.86 , 156.97, 161.99, 164.86	93.6, 85.0, 91.1, 94.5, 96.4	92.1	4.8

表 4 - 4 铝在黄瓜叶片上的添加回收试验结果

Tab.4 - 4 The recovery of aluminium in Cucumber leaves

干样量 /g Dry sample	对应鲜 样量 /g Fresh sample	鲜样添加水平 /mg · kg ⁻¹ Fortification level	鲜样黄瓜叶片中铝 背景值 /mg · kg ⁻¹ Blank concentra- tion in fresh sample	添加量 /μg Fortification amount	测定值 /μg Determination value	回收率 /% Recoveries	平均回收率 /% Mean recovery	RSD /%
0.147 5	1.00	100	201.6	100	289.74 , 278.41 , 308.76, 272.38, 303.87	88.1, 76.8, 107.1, 70.8, 102.2	89.0	17.6
0.144 7		500		500	684.98 , 593.15 , 747.18, 774.25, 712.26	96.7, 78.3, 109.1, 114.5, 102.1	100.1	13.9

4.2.3 最终残留量测定结果

施用 80 %三乙膦酸铝 WP 后, 铝在黄瓜及其叶片上的最终残留量测定结果见表 4 - 5。

表4 - 5 铝在黄瓜及叶片上的最终残留量测定结果
Tab.4 - 5 The final residue of Al in Cucumber and leaves

试验地点 Trial site	样品 Matrix	施药剂量 /g · hm ⁻² , a.i. The dose of applying	取样间隔 时间 /d Interval of sampling	平均残留量 /mg · kg ⁻¹ Average residual level	
				施药2次 Applying twice	施药3次 Applying three times
长春 Changchun	黄瓜	2 820	1	6.59	5.49
			3	7.60	6.03
	Cucumber	5 640	1	6.98	7.17
			3	9.04	9.35
	黄瓜叶片	2 820	7	197.18	229.18
	Cucumber leaves	5 640	7	301.63	339.53

由表 4 - 5 可见, 施用 80 %三乙膦酸铝WP, 最后一次施药间隔采样, 黄瓜上铝的最终残留量为 5.49 ~ 9.35 mg · kg⁻¹, 与施药剂量和施药次数相关不明显。空白黄瓜样品铝的背景值为 5.0 ~ 8.7 mg · kg⁻¹, 平均值为 6.8 mg · kg⁻¹, 综合分析测定数据说明, 由于黄瓜生长的稀释作用和铝离子本身的性质决定, 三乙膦酸铝中的铝在黄瓜上的积累不明显。目前尚未见黄瓜中铝最大限量值的规定, 参照面制食品中铝限量 100 mg · kg⁻¹的国家标准^[79], 说明用于防治黄瓜霜霉病的三乙膦酸铝施用后, 生产出的黄瓜仍可以安全食用。黄瓜叶片上铝的最终残留量最高为 339.53 mg · kg⁻¹, 比照空白黄瓜叶片铝的背景值 187.5 ~ 223.6 mg · kg⁻¹, 测定数据表明无论是施药次数还是剂量, 三乙膦酸铝中的铝在黄瓜叶片上积累较为明显。与施药次数和剂量有相关性的原因是喷药部位主要为黄瓜叶片。所有测定数据仅有少数不规律, 均在允许误差范围内, 可以接受。

4.3 小结

本章建立了湿法消解—石墨炉原子吸收光谱测定黄瓜及其叶片上铝含量的方法。方法的线性范围为 0 ~ 400 μg · L⁻¹, $r = 0.9913$, 铝的检出限为 62.4 pg。测定黄瓜中铝的方法的添加回收率平均为 92.1 ~ 98.7 %, RSD 为 4.8 ~ 5.1 %; 测定黄瓜叶片中铝的方法的添加回收率平均为 89.0 ~ 100.1 %, RSD 为 13.9 ~ 17.6 %。该方法的准确度和精密度均符合痕量分析要求。

本章明确了施用三乙膦酸铝后, 黄瓜及其叶片上铝的最终残留量。用 80 %三

乙磷酸铝WP ($2\,820\text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$ 或 $5\,640\text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$, 有效成分) 喷雾, 黄瓜上铝的最终残留量都较低, 且与黄瓜空白样品铝含量接近 (平均值 $6.8\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 说明施用三乙磷酸铝没有对黄瓜造成铝污染。用 80 %三乙磷酸铝WP ($2\,820\text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$, 有效成分) 喷雾, 黄瓜叶片上铝含量与空白叶片铝含量接近; 用 80 %三乙磷酸铝WP ($5\,640\text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$, 有效成分) 喷雾, 黄瓜叶片上铝含量明显高于空白叶片铝含量, 说明高剂量施用三乙磷酸铝会对黄瓜叶片造成明显的铝污染。

第五章 三乙膦酸铝原药的全分析

我国农药原药全组分分析工作已经有了相当进展，农药原药中杂质的测定是农药登记管理工作的一项基本要求^[80]。三乙膦酸铝原药中所含杂质主要为无机盐，这样给常用的气相、液相色谱分析带来了难题。三乙膦酸铝原药的全组分分析目前还未见公开报道。本章通过三乙膦酸铝原药全分析的深入研究，对于提高其原药生产质量具有重要意义。

5.1 材料与方法

5.1.1 三乙膦酸铝原药中主成分的表征

采用三次纯化后的三乙膦酸铝纯品与标准样品对比的方法。对测定获得的紫外光谱图、红外光谱图、核磁共振谱图、质谱图进行解析。紫外光谱图用高效液相色谱二极管阵列检测器与蒸发光散射检测器同步测定获得。质谱图用液质联用仪获得^[81-83]。

5.1.1.1 紫外光谱图的获得

5.1.1.1.1 仪器设备、试剂、溶液和样品

高效液相色谱仪：Waters 600高压泵，Waters 2996型二极管阵列检测器，Empower Pro中文版色谱工作站。二级水（自制）；三乙膦酸铝纯品及溶液。

5.1.1.1.2 分析条件

将 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 三乙膦酸铝标准样品水溶液直接注入到检测器中进行扫描绘制紫外光谱图。

检测波长范围：195 ~ 400 nm；

采样速率：1.0；

分辨率：1.2 nm。

5.1.1.2 红外光谱图的获得

仪器设备、试剂、溶液和样品：

傅里叶变换红外光谱仪：BRUKER TENSOR-27，OPUS4.2英文版工作站；压片机：FW-4A型，天津光学仪器厂；红外光谱仪附带的模具、红外灯、玛瑙研钵等其它用具；

试剂：KBr为光谱纯；

样品及制备：三乙膦酸铝纯品和标准品；KBr压片。

5.1.1.3 核磁共振波谱图的获得

仪器设备、试剂和样品：

核磁共振波谱仪：BRUKER av500；

试剂: D₂O;

样品: 三乙膦酸铝纯品和标准品。

5.1.1.4 质谱图的获得

5.1.1.4.1 仪器设备、试剂、溶液和样品

液相色谱条件:

高效液相色谱仪: Agilent 1100;

色谱柱: Thermo Betabasic-18 3 μm; 规格: 4.6×100 mm。

质谱条件:

质谱仪: Thermofisher LCQ AD60000;

离子源: 大气压化学电离 (APCI);

分流比 (液相分离后): 1:3.5;

毛细管温度: 220 °C;

喷嘴温度: 450 °C;

壳气(N₂)压力: 0.55 MPa;

辅助气(N₂)压力: 0.069 MPa;

质量范围: 60 ~ 400 u。

样品: 三乙膦酸铝纯品、原药和标准品。

5.1.1.4.2 分析条件

流动相: 乙腈, 0.1 %三氟乙酸;

流速: 0.7 mL · min⁻¹;

定量管: 10 μL;

柱箱温度: 35 °C;

梯度洗脱条件: 见表 5-1。

表 5 - 1 三乙膦酸铝高效液相色谱梯度洗脱分离条件

Tab. 5 - 1 HPLC gradient conditions for fosetyl-Al

时间 /min	0.1 %三氟乙酸 / %	乙腈 /%
Time	TFA	Acetonitrile
0.0	5	95
2.0	5	95
10.0	90	10
15.0	5	95
25.0	5	95

5.1.2 原药中杂质定性全分析试验

5.1.2.1 紫外光谱图及紫外吸收杂质的确证方法

同 5.1.1.1。

5.1.2.2 有机杂质的确证方法

气相色谱仪：VARIAN CP-3800，氢火焰离子化检测器(FID)，STAR 6.0 色谱工作站，美国瓦里安公司生产；

5.1.2.2.1 分析条件 1

色谱柱：AC-10 (60 m×0.22 mm×0.25 μm)，SGE International Pty. Ltd.；

汽化室、检测器温度：200 °C；柱前压：137.9 KPa；

柱温：60 °C (1 min) $\xrightarrow{10^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 180 °C (37 min)；

分流比为 1:10。

5.1.2.2.2 分析条件 2

色谱柱：DB-1 (25 m×0.25 mm×0.25 μm)，J&W Scientific；

汽化室温度：280 °C；检测器温度：300 °C；柱前压：137.9 KPa；

柱温：100 °C (1 min) $\xrightarrow{20^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 280 °C (20 min)；

分流比为 1:5。

5.1.2.3 无机杂质离子的确证方法

5.1.2.3.1 仪器设备、试剂、溶液和样品

美国戴安公司DX-120离子色谱仪，配有DIONEX IonPac AS 9，CS 12A离子色谱柱及相应的保护柱，电导检测器，ASRS-ULTRA自身再生抑制器；N 2000色谱工作站；

样品：三乙磷酸铝原药，三乙磷酸铝标准品溶液。

5.1.2.3.2 分析条件

阴离子分析条件同 2.1.3.2。

阳离子分析条件：

色谱柱：美国戴安公司 CS 12A 型阳离子分析柱；

淋洗液：在 1 L 二级水中加入 0.6 mL H₂SO₄，摇匀，然后通过水系微孔滤膜 (0.22 μm) 抽滤，贮存备用；

流速：0.80 mL · min⁻¹；

检测器温度：室温；

定量管：25 μL；

保留时间：Na⁺：约 4.6 min；NH₄⁺：约 5.3 min；K⁺：约 6.7 min。

5.1.3 原药定量全分析试验

5.1.3.1 干燥减量的测定

依据HG 3296-2001 测定三乙磷酸铝原药的干燥减量^[11]。干燥减量的主要成分为水分。

5.1.3.2 亚磷酸根、硫酸根离子的测定

测定方法同 2.1.6.2。

5.1.3.3 阳离子杂质定量测定

美国戴安公司 DX-120 离子色谱仪配备电导检测器；N 2000 中文版色谱工作站；BS210S 型电子分析天平；1 mL 进样器；微孔过滤系统。

水中阳离子分离操作条件同 5.1.2.3.2。

5.1.3.4 三乙膦酸铝原药有效成分含量的测定

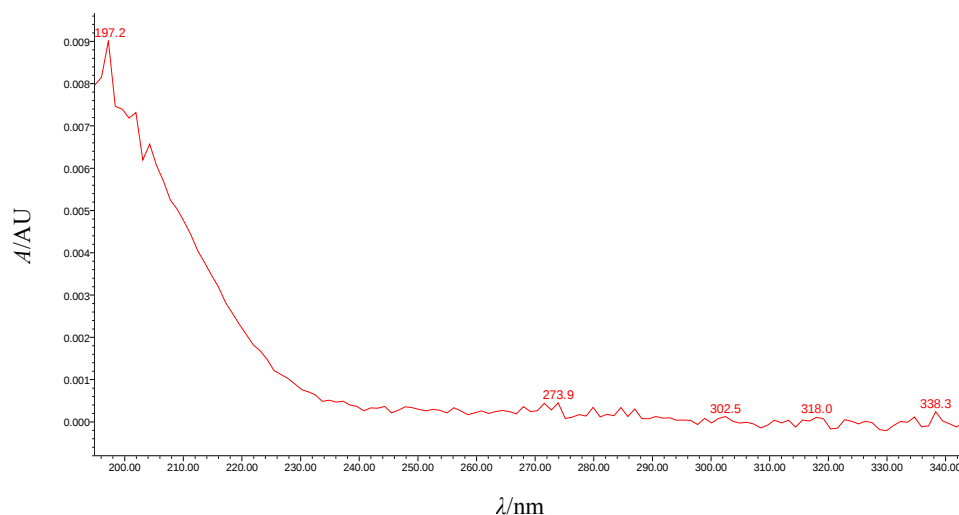
测定方法同 2.1.6.2。

5.2 结果与讨论

5.2.1 三乙膦酸铝结构的表征

5.2.1.1 紫外吸收光谱图

三乙膦酸铝标准样品水溶液紫外吸收光谱图见图 5 - 1。



5 - 1 三乙膦酸铝的紫外吸收光谱图

Fig.5 - 1 UV spectrum of fosetyl-aluminium

解析：在设置的光谱波段范围内没有明显的吸收，说明该化合物分子结构中没有生色团，不存在共轭体系。这一结果与给出的化学结构式（图 1 - 1）吻合。

5.2.1.2 红外光谱图

三乙膦酸铝纯品的红外光谱图见图 5 - 2。

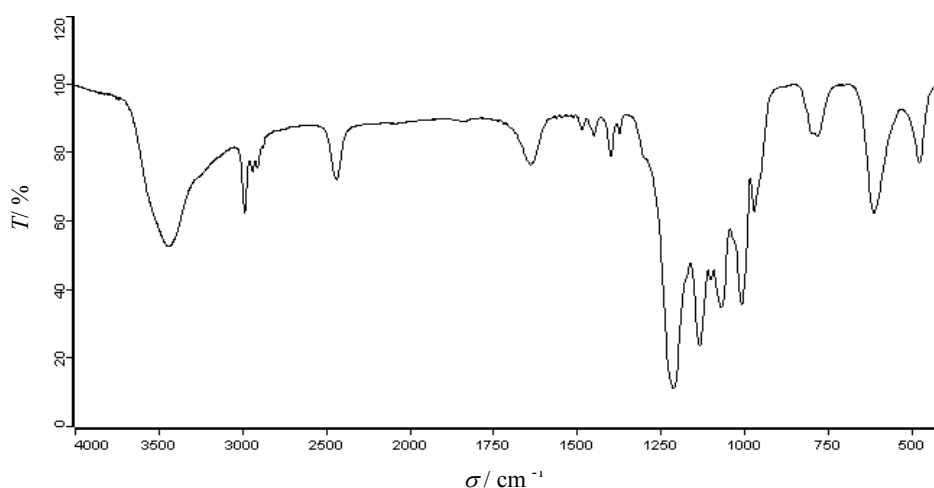


图 5 - 2 三乙膦酸铝纯品的红外光谱图

Fig.5 - 2 IR spectra of pure fosetyl-aluminium

解析: 2980~2850 cm^{-1} 的三个吸收带为 $-\text{CH}_3$ 和 $-\text{CH}_2-$ 对称伸缩振动; 2432 cm^{-1} 为 P-H的吸收峰, 1445 cm^{-1} 吸收峰为 $-\text{CH}_2-$ 弯曲振动吸收峰; 1395 cm^{-1} 吸收峰为 $-\text{CH}_3$ 弯曲振动吸收峰; 1207 cm^{-1} 为P=O的强吸收峰; 1064 cm^{-1} 为P-O- C_2H_5 的强吸收峰。

5. 2. 1. 3 核磁共振波谱图

三乙膦酸铝的 ^1H -NMR和 ^{13}C -NMR谱图分别见图 5 - 3 和图 5 - 4。

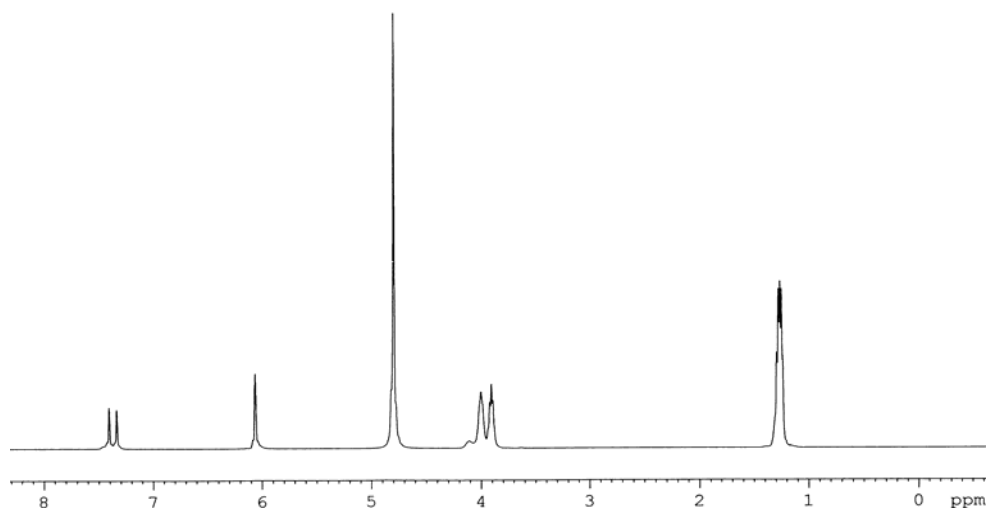


图 5 - 3 三乙膦酸铝 ^1H -NMR谱图

Fig.5 - 3 ^1H -NMR spectra of fosetyl-aluminium

解析: $\delta_{\text{H}}4.8$ 为溶剂重水中的 ^2H 。 $\delta_{\text{H}}3.9$ 为 $-\text{CH}_2-$ 上的H, $\delta_{\text{H}}1.26$ 为 CH_3- 上的H, $\delta_{\text{H}}7.41$ 、 $\delta_{\text{H}}7.34$ 、 $\delta_{\text{H}}6.07$ 为 P-H上的H。

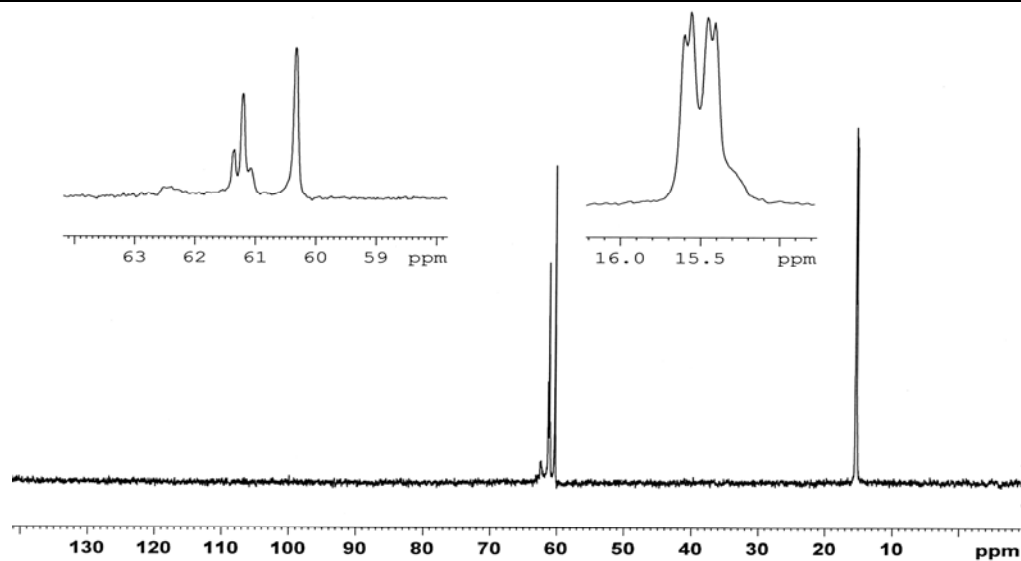


图 5-4 三乙膦酸铝¹³C-NMR谱图

Fig.5 - 4 ¹³C-NMR spectra of fosetyl-aluminium

解析: $\delta_c 61.21$ 、 $\delta_c 61.08$ 、 $\delta_c 60.34$ 为 $-\text{CH}_2-$ 上的C, $\delta_c 15.61$ 、 $\delta_c 15.56$ 、 $\delta_c 15.46$ 、 $\delta_c 15.42$ 为 CH_3- 上的C。

5.2.1.4 质谱图

三乙膦酸铝的大气压化学电离源的质谱图、裂解机理图和总离子流分别见图 5-5 ~ 图 5-7。

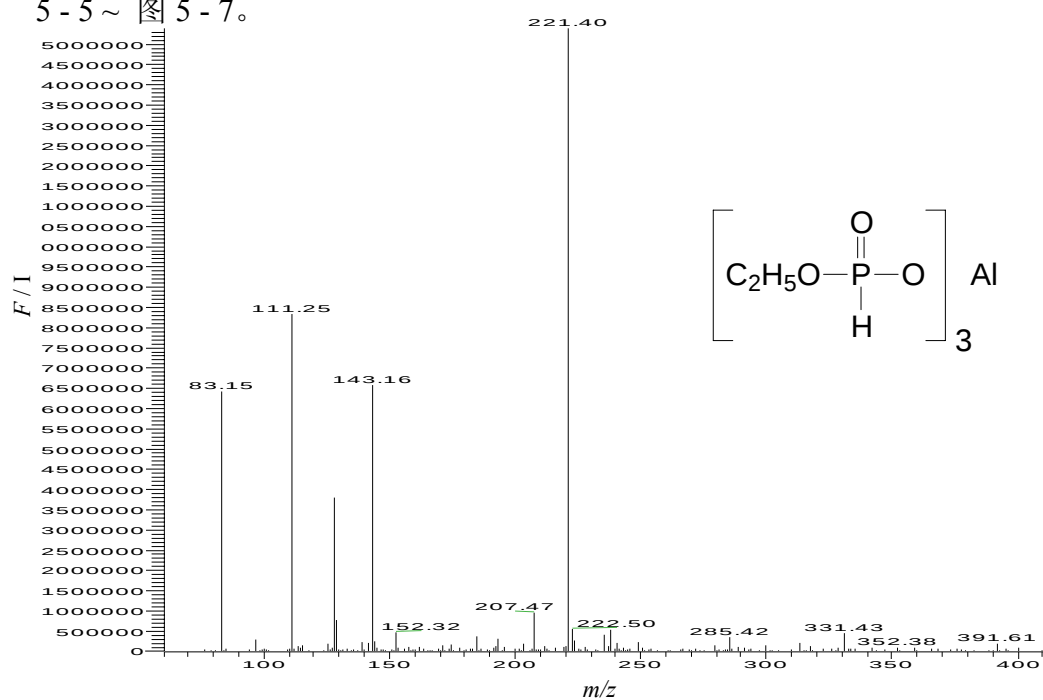


图 5-5 三乙膦酸铝的质谱图(APCI)

Fig.5 - 5 Full scan APCI mass spectrum of fosetyl-aluminium

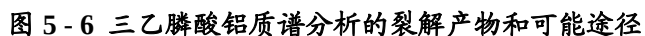


Fig.5 - 6 Alternative fragmentation pathways for fosetyl-aluminium by LC-MS(APCI)



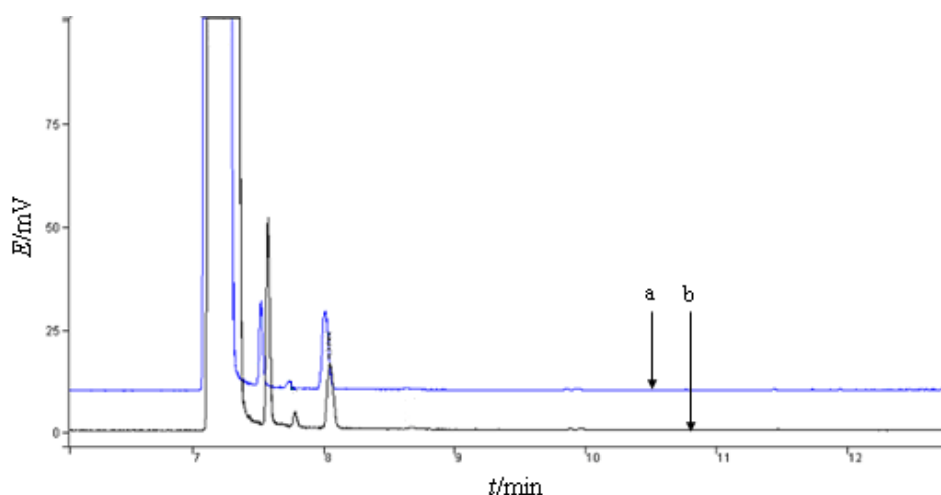
图 5-7 三乙膦酸铝质谱分析(APCI)总离子流图

Fig.5 - 7 TIC of fosetyl-aluminium by LC-MS (APCI)

三乙膦酸铝分子结构中含有铝，因此在有机质谱图中无法给出其分子离子峰。获得的只是单乙基膦酸的准分子离子峰 m/z 111。由质谱图（图 5 - 6）的裂解碎片分析可见，三乙膦酸铝分子结构中氧铝键容易断裂，且易生成基峰的双乙基膦酸的准分子离子峰 m/z 221。图 5 - 7 标准品与原药的总离子流图中 2.58 min 峰为流动相贡献，该图表明原药中组分保留值与标准品一致，未检测到其它组分的存在。另外用 ET - AAS 获得的原药中铝的含量为 7.48 ~ 7.59 % 与理论值比较接近（7.62 %），上述的试验结果完全可以证明给出的三乙膦酸铝的化学结构式是正确的。

5.2.2 三乙膦酸铝原药中有机物的测定结果

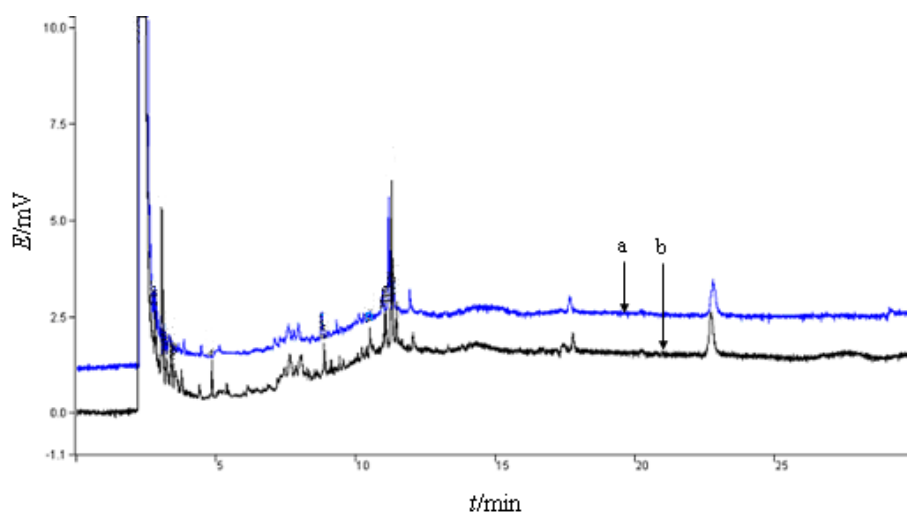
由图 5 - 8，5 - 9 可以看出，三乙膦酸铝原药的甲醇溶液与甲醇在两根不同极性的气相色谱柱上所流出的组分基本一致，均为溶剂甲醇中的主成分及杂质的峰，说明三乙膦酸铝原药中存在的有机组分含量极低。



a 甲醇，b 三乙膦酸铝原药的甲醇溶液

图 5 - 8 三乙膦酸铝原药中有机物气相色谱分离图（采用 AC-10 气相色谱柱）

Fig.5 - 8 Gas chromatogram of organic compounds in fosetyl-Al technical with AC-10



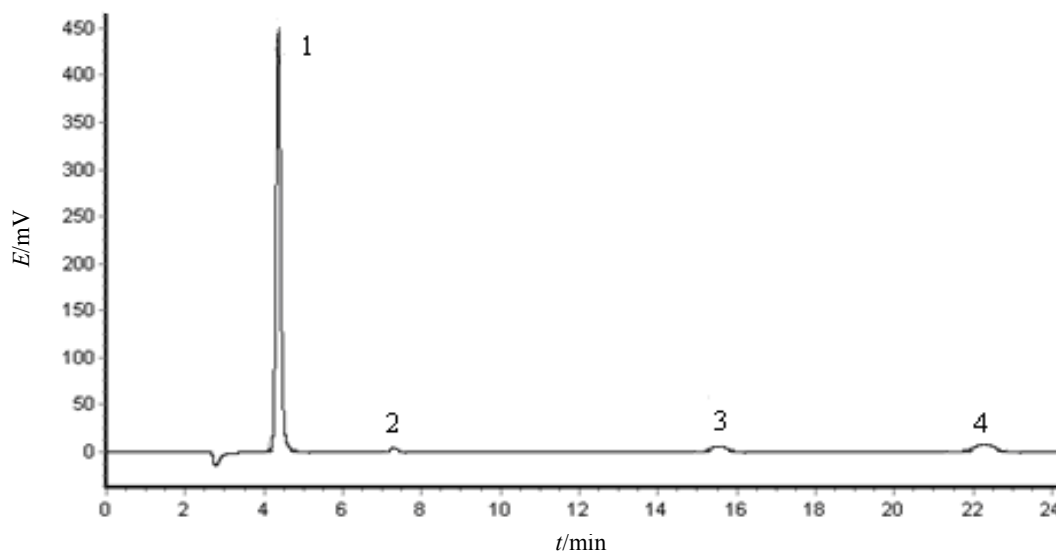
a 甲醇, b 三乙磷酸铝原药的甲醇溶液

图 5 - 9 三乙磷酸铝原药中有机物气相色谱分离图 (采用 DB-1 气相色谱柱)

Fig.5 - 9 Gas chromatogram of organic compounds in fosetyl-Al technical with DB-1

5. 2. 3 三乙磷酸铝原药中阴、阳离子测定结果

由图 5 - 10 可见, 三乙磷酸铝原药中阴离子杂质有 Cl^- 、 HPO_3^{2-} 、 SO_4^{2-} , 其中 Cl^- 主要为水中杂质, HPO_3^{2-} 是三乙磷酸铝原药中的杂质离子, 且 $\text{C}_2\text{H}_6\text{PO}_3^-$ 水解后也生成 HPO_3^{2-} , SO_4^{2-} 是在原药合成过程中引进的杂质离子。由图 5 - 11, 5 - 12 比较可以看出, 国产三乙磷酸铝原药中的阳离子主要为 NH_4^+ , 三乙磷酸铝标准品中的阳离子主要为 Na^+ , 不同的阳离子杂质表明合成方法可能有所不同。



1 $\text{C}_2\text{H}_6\text{PO}_3^-$; 2 Cl^- ; 3 HPO_3^{2-} ; 4 SO_4^{2-}

图 5 - 10 三乙磷酸铝原药中阴离子色谱分离图

Fig.5 - 10 The anion chromatogram of fosetyl-Al technical

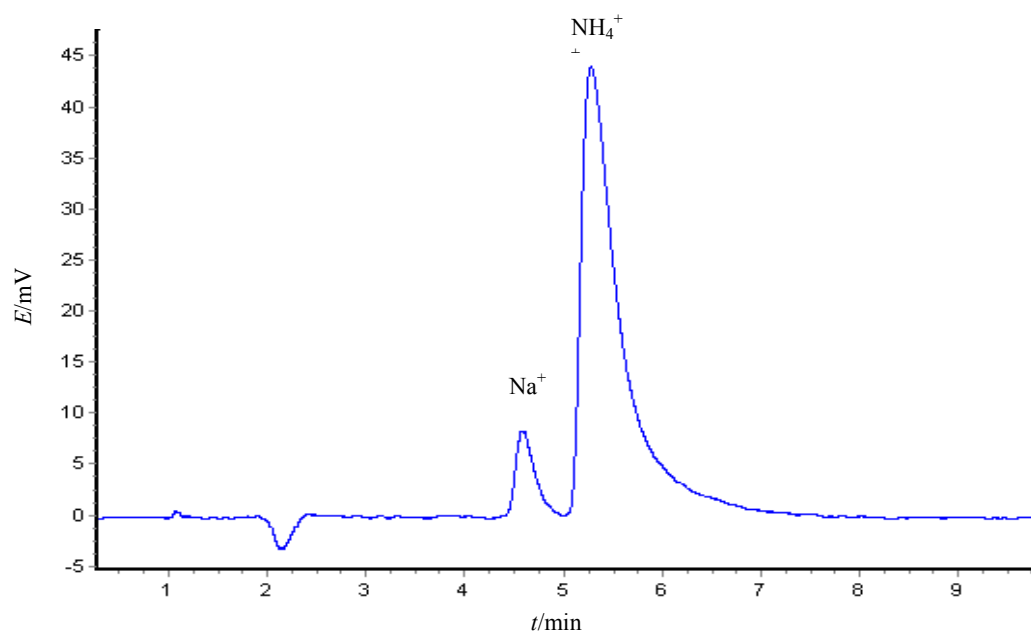


图 5 - 11 三乙膦酸铝原药中阳离子色谱分离图

Fig.5 - 11 The cation chromatogram of fosetyl-Al technical

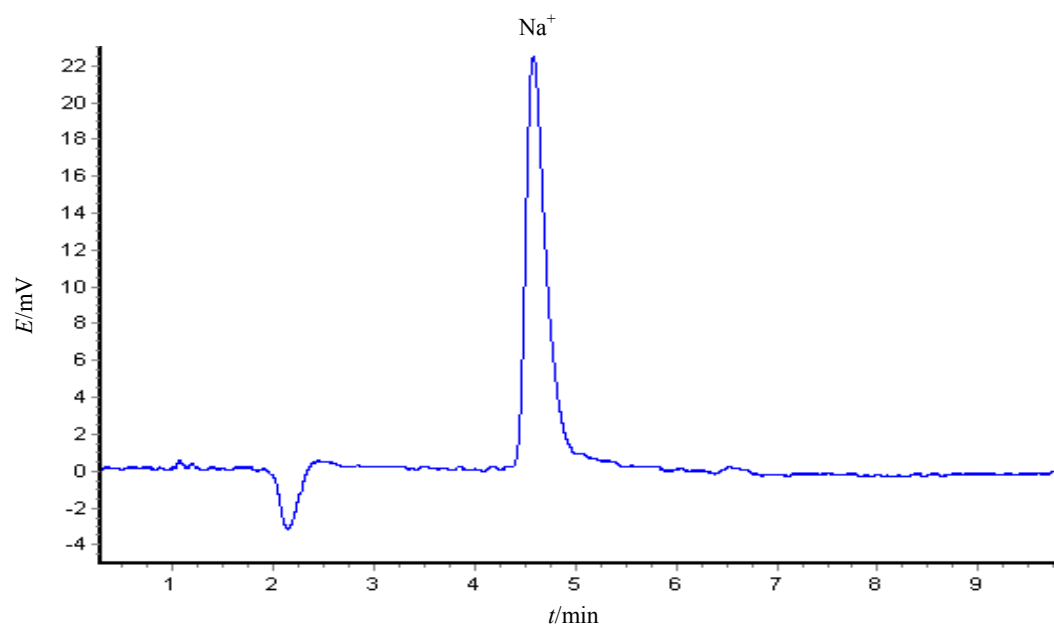


图 5 - 12 三乙膦酸铝标准品中阳离子色谱分离图

Fig.5 - 12 The cation chromatogram of fosetyl-Al standard sample

5.2.4 三乙膦酸铝原药及杂质的测定结果统计

综合表 2-2, 表 2-3, 表 2-4 中采用离子色谱法及表 3-3, 表 3-5, 表 3-7 中采用反相离子对色谱法对三乙膦酸铝原药中有效成分和杂质的测定结果, 计算得原药中各组分的含量见表 5-2。

表 5-2 三乙膦酸铝原药定量全分析结果统计

Tab. 5-2 The determination data of fosetyl-Al technical

三乙膦酸铝 /% fosetyl-Al	干燥减量 /% Loss weight by heating	亚磷酸根离子含量 /% Impurities, calculated as phosphite ion	硫酸根离子 含量 /% Impurities, calculated as sulfate ion	铵根离子含 量 /% Impurities, calculated as ammonium ion	合计 /% Total
89.3 ~ 91.9	1.2 ~ 1.8	4.2 ~ 8.3	2.7 ~ 3.7	1.2 ~ 1.3	98.6 ~ 107.0

5.3 小结

本章试验获得的紫外光谱图、红外光谱图、核磁共振波谱图、质谱图表征了三乙膦酸铝的化学结构。三乙膦酸铝紫外光谱图表明其分子结构中无生色团, 红外光谱图证明了乙基膦酸结构的存在。核磁共振波谱图、质谱图表明了乙基膦酸相应的吸收及其离子碎片的表征。

本章明确了三乙膦酸铝原药全分析的定性和定量结果。国产三乙膦酸铝原药中除主成分和水分外, 大于 0.1 % 的杂质采用离子色谱法测定, 组分保留时间证实有亚磷酸根离子、硫酸根离子, 铵根离子存在, 亚磷酸根离子含量为 4.2 ~ 8.3 %, 硫酸根离子含量为 2.7 ~ 3.7 %, 铵根离子含量为 1.2 ~ 1.3%。原药中所含杂质与合成方法有关。

结 论

- 1 对含亚磷酸盐、硫酸盐为主要杂质的三乙膦酸铝原药，采用三次二级水水洗的方法即可获得满足实验室定量分析用三乙膦酸铝纯品（含量可达到 99 % 以上）。
- 2 采用碘量法或标准物质比对法可以对获得的纯品进行准确定值。试验结果表明主要杂质亚磷酸盐、硫酸盐的晶体在三乙膦酸铝原药中是独立分散的体系。
- 3 本文建立了完整的三乙膦酸铝原药、制剂及杂质的离子色谱同时定量分析方法。方法的准确度和精密度符合常量分析的要求。样品测定结果满意。离子色谱法简便、准确、快速、可高通量作业。
- 4 本文创立了以正己胺作为离子对试剂的反相高效液相色谱定量分析方法，在蒸发光散射检测器日益普及的基础上，离子对反相高效液相色谱法在原药、制剂生产和质量检验方面更具有实用性。
- 5 本文建立的湿法消解—石墨炉原子吸收光谱法测定了黄瓜及其叶片上铝的含量。空白黄瓜样品铝的背景值为 $5.0 \sim 8.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，平均值为 $6.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ；空白黄瓜叶片铝的背景值为 $187.5 \sim 223.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，平均值为 $201.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。间隔 1 周喷雾施用 2 ~ 3 次 80 % 三乙膦酸铝 WP（高剂量 $5\ 640 \text{ g} \cdot \text{hm}^{-2}$ ，有效成分），黄瓜样品上铝的最终残留量为 $6.98 \sim 9.35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，可以安全食用；黄瓜叶片上铝的最终残留量最高为 $339.53 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，比照空白黄瓜叶片铝的背景值 $187.5 \sim 223.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，测定数据表明三乙膦酸铝中的铝在黄瓜叶片上的积累较明显，与施药剂量和施药次数有一定的相关性。
- 6 试验获得的紫外光谱图、红外光谱图、核磁共振波谱图、质谱图表征了三乙膦酸铝的化学结构。三乙膦酸铝原药全分析的结果是，除主成分和水分外，大于 0.1 % 的杂质有亚磷酸根离子、硫酸根离子，铵根离子。亚磷酸根离子、硫酸根离子和铵根离子的含量分别为 4.2 ~ 8.3 %、2.7 ~ 3.7 % 和 1.2 ~ 1.3 %。

参考文献

- [1] 中国农业百科全书编辑部. 中国农业百科全书(农药卷) [M]. 北京: 农业出版社, 1993, 324, 337 - 338, 443 - 444.
- [2] 刘刚. 三乙磷酸铝原药产品登记情况 [J]. 农化市场十日讯, 2007, (26): 28.
- [3] 黄伯俊, 黄毓麟. 农药毒理学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2004, 539 - 540.
- [4] 唐除痴, 李煜昶, 陈彬, 等. 农药化学 [M]. 天津: 南开大学出版社, 1998, 360.
- [5] 李玉春. 黄瓜霜霉病的发生与无公害防治技术 [J]. 吉林蔬菜, 2008, (1): 49.
- [6] Chaban V S, Kitsno L V, Nedobitkin V O, *et al.* The search for and testing fungicides against downy mildew of cucumber [J]. Zakhist Roslin, 1992, 39 (7): 45 - 50.
- [7] Smith. E, Utkhede. R, *et al.* Control of Phytophthora crown and root rot of apple trees with fosetyl-aluminium in new plantings [J]. Pesticide Science, 1995, 45 (2): 117.
- [8] 范志先. 大棚中代森锰锌、乙撑硫脲的环境毒理研究 [D]. 杭州: 浙江农业大学植保系, 1998.
- [9] 张大弟, 张晓红. 农药污染与防治 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2001, 37.
- [10] 食品中农业化学品残留限量编委会. 日本肯定列表制度食品中农业化学品残留限量(食品卷) [M]. 北京: 中国标准出版社, 2006, 476.
- [11] 沈阳化工研究院. 中华人民共和国化工行业标准 HG 3296-2001 三乙磷酸铝原药[S]. 北京: 国家经济贸易委员会, 1989.
- [12] 沈阳化工研究院. 中华人民共和国化工行业标准 HG 3297-2001 三乙磷酸铝可湿性粉剂[S]. 北京: 国家经济贸易委员会, 1989.
- [13] R. Giordano, L. Ciaralli, M. Ciprotti, *et al.* Applicability of high-performance ion chromatography (HPIC) to the determination of fosetyl-aluminum in commercial formulations [J]. Microchemical Journal, 1995, 52: 68 - 76.
- [14] 赵欣昕, 侯宇凯编译. 联合国粮农组织(FAO)/世界卫生组织(WHO) 农药规格质量标准汇编 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2002, 192 - 194.
- [15] 范志先, 张浩, 许允成, 等. ND-903 杀菌混剂分析方法及热贮稳定性的研究 [J]. 吉林农业大学学报, 1993, 15 (3): 40 - 42.
- [16] 王仪, 郑斐能. 代森锰锌或福双美与三乙磷酸铝混合可湿性粉剂中三乙磷酸铝的测定 [J]. 农药, 1991, 30 (6): 22.
- [17] 巩莹, 古耘, 刘吉华, 等. 络合滴定测定三乙·锰中三乙磷酸铝含量 [J]. 河南化工, 1998, (4): 25 - 26.
- [18] 范志先, 宋述尧, 马凡如, 等. 三乙磷酸铝及其与代森锰锌混剂的顶空气相色谱分析方法 [J]. 色谱, 1993, 11 (5): 285 - 287.
- [19] 赖丰英, 周微. 农药混剂中三乙磷酸铝含量测定方法的探讨 [J]. 化工技术与开发, 2007, 36 (1): 39 - 41.
- [20] Rosati Dominique, Venet Catherine. Method of analyzing phosphorous acid, fosetyl-Al or both simultaneously: World Intellectual Property Organization International Bureau, PCT/EP2006/001433 [P], 2006-08-03.
- [21] Félx Hernández, Juan V Sancho, Óscar J Pozo, *et al.* Rapid determination of fosetyl-aluminum

- residues in lettuce by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry [J]. Journal of AOAC international, 2003, 86 (4): 832 - 838.
- [22] Jan Pousika, Jana Hajšlová, Katerina Holadová, *et al.* Potential of liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation tandem mass spectrometry for determination of fosetyl-aluminium residues in dried hops [J]. Crech J Food Sci, 2004, 22 (1): 24 - 28.
- [23] ZROSTLÍKOVÁ J, HAJŠLOVÁ J, POUSIKA J, *et al.* Alternative calibration approaches to compensate the effect of co-extracted matrix components in liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry analysis of pesticide residues in plant matrices [J]. Chromatogr A, 2002, 973: 13 - 26.
- [24] ZROSTLÍKOVÁ J, HAJŠLOVÁ J, KOVALCUZUK I, *et al.* Determination of seventeen polar/thermolabile pesticides in apples and apricots by liquid chromatography/mass spectrometry [J]. Journal of AOAC international, 2003, 86: 612 - 622.
- [25] E. W. J. Hooijschuur, Ch. E. Kientz, J. Dijkman, *et al.* Potential of microcolumn liquid chromatography and capillary electrophoresis with flame photometric detection for determination of polar phosphorus-containing pesticide [J]. Chromatographia, 2001, 54: 295 - 301.
- [26] 张静, 寇登民. 农药残留的现代仪器分析方法 [J]. 现代仪器, 2005, (1): 8 - 10.
- [27] Ouomette D. G., Coffey M. D. Quantitative analysis of organic phosphonates, phosphonate, and other inorganic anions in plants and soil by using high-performance ion chromatography [J]. Phytopathology, 1988, 78 (9): 1150 - 1155.
- [28] Conte E., Gattorta G., Verdicchio S., *et al.* Research on the determination of fosetyl aluminium in strawberry [J]. Difesa delle Piante, 1993, 16 (2): 3 - 11.
- [29] 中国质量监督检验检疫总局食品安全局, 中国检验检疫科学研究院编译. 食品中农用化学品残留检测方法 [M]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [30] 张玉奎, 张维冰, 邹汉法. 分析化学手册 (第二版) 第六分册 液相色谱分析 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000, 45.
- [31] 李朝昉. 含硫含氮阴离子的离子对色谱保留行为与硒对铬胁迫下植物生长影响的研究 [D]. 河北: 河北大学, 2005.
- [32] 蒋晔, 谢赞, 张嫡群. 离子对反相高效液相色谱法测定阿仑膦酸钠含量及其有关物质 [J]. 分析化学, 2006, 34 (6): 835 - 838.
- [33] 谢赞, 蒋晔. 离子对反相高效液相色谱法分离伊班膦酸钠及其有关物质 [J]. 分析试验室, 2006, 25 (3): 37 - 41.
- [34] 谢赞, 蒋晔, 田书霞. 反相离子对色谱-蒸发光散射法测定帕米膦酸钠及其有关物质 [J]. 药物分析杂志, 2006, 26 (12): 1729 - 1732.
- [35] 蒋晔, 张晓青, 徐智儒, 等. 反相离子对色谱/蒸发光散射检测器分离唑来膦酸及其有关物质 [J]. 分析化学, 2005, 33 (10): 1455 - 1458.
- [36] Hiroyuki Nakazawa, Yuriko Tsuda, Kimie Ito, *et al.* Determination of dithiocarbamate fungicides by reversed-phase ion-pair liquid chromatography with chemiluminescence detection [J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2005, 27 (4): 705 - 713.
- [37] 牟世芬, 刘克纳. 离子色谱方法及应用 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000, 28, 210.
- [38] 乔占超, 董文举, 渠桂荣. 2 甲 4 氯钠的离子色谱分析 [J]. 农药, 2004, 43 (7): 323 - 324.
- [39] 李国兴, 施青红, 凌艳艳, 等. 离子色谱在食品和农药残留分析中的最新应用 [J]. 分析

- 仪器, 2006 (2): 57 - 62.
- [40] 孙丽华, 周彦刚. 反相离子对 HPLC 法测定中药材中苯并咪唑类农药残留的研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17 (1): 6 - 7, 57.
- [41] 董锦平, 陈涛, 邹公伟, 等. 铝对人体健康的影响 [J]. 环境监测管理与技术, 1998, 10 (5): 9 - 11.
- [42] 成晓琳, 于清江, 王家柱, 等. 铝对人体健康的危害及防治 [J]. 菏泽师范专科学校学报, 2004, 26 (4): 57 - 60.
- [43] 梁峰. 铝与人类疾病研究现状 [J]. 微量元素与健康研究, 2006, 23 (1): 64 - 66.
- [44] 王劲. 铝的生物学作用研究概况 [J]. 卫生研究, 2002, 31 (4): 320 - 322.
- [45] 王子云, 詹秀环. 铝的污染与危害 [J]. 周口师范学院学报, 2004, 21 (2): 65 - 67.
- [46] 杨文友, 张玉萍, 王汝毅, 等. 铝毒害及代谢和食品污染与安全研究 (综述) [J/OL]. 中国科技论文在线, <http://www.paper.edu.cn>.
- [47] 高舸, 陶锐. 茶叶中铝的卫生学实验研究 [J]. 中国公共卫生, 2001, 17(3): 22 - 24.
- [48] 欧阳荔, 徐风华, 王小燕, 等. 感耦等离子体质谱法测定家兔全血中的痕量铝 [J]. 中华预防医学杂志, 2002, 36(1): 46 - 47.
- [49] 张玉黔, 迂君, 栾燕, 等. 微波消解-ICP-AES 法测定食品中铝的含量 [J]. 沈阳医学院学报, 2003, 5(4): 227 - 228.
- [50] A. Hils, M. Grote, E. JanBen, *et al.*. Speciation of trace amounts of aluminium in percolating water of forest soil by online coupling HPLC-ICP-MS [J]. Fresenius J Anal Chem, 1999, 364: 457 - 461.
- [51] Blaž Kralj, Igor Križaj, Peter Bukovec, *et al.*. Speciation of aluminium in tea infusions by use of SEC and FPLC with ICP-OES and ES-MS-MS detection [J]. Anal Bioanal Chem, 2005, 383: 467 - 475.
- [52] 任大林. 猪肝样品中铝含量的测定 [J]. 天津医科大学学报, 2000, 6 (1): 24 - 25.
- [53] 肖林, 程雅琴. 检测人血白蛋白中铝含量的石墨炉原子吸收分光光度法的建立 [J]. 中国生物制品杂志, 2001, 14(3): 178 - 180.
- [54] 张启生, 徐云斌, 胡迅. 石墨炉原子吸收法测定生活饮用水中铝 [J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16 (4): 440 - 441.
- [55] 周丹红, 梁永建. 石墨炉原子吸收光谱法测定食品中铝 [J]. 淮北煤师院学报, 2001, 22(3): 74 - 76.
- [56] 周晓萍, 陈志军, 王若燕, 等. 微波消解—石墨炉原子吸收法测定食品中铝的方法研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15 (10): 1220 - 1221.
- [57] 陈伟光, 杨齐, 胡国云. 十六烷基三甲基溴化铵存在下用铬天青 S 分光光度法测定饮用水中铝 [J]. 环境与健康杂志, 2000, 17(4): 234 - 236.
- [58] 谢宏斌, 刘建湘, 等. 铬天青 S 分光光度法测定水中铝的改进 [J]. 环境与健康杂志, 2002, 19(3): 265 - 266.
- [59] 于辉, 翟庆洲, 胡伟华, 等. 光度法测定食品中痕量铝—用对乙酰基偶氮氯膦作显色剂 [J]. 理化检验: 化学分册, 2008, 44(1): 28 - 29.
- [60] 吴芳英, 黄坚峰. 新试剂 DCOBAQS 与铝的荧光反应性能研究及分析应用 [J]. 光谱学与

- 光谱分析, 2001, 21(1): 92 - 94.
- [61] 张丽萍, 门传玲, 等. 极谱配合物吸附波法测定人血清中铝 [J]. 预防医学文献信息, 2001, 7(2): 111 - 112.
- [62] 唐英, 等. 饮用水中铝的萃取—高效液相色谱分析 [J]. 云南环境科学, 2000, 19(增刊): 259 - 261.
- [63] Hong-zhen Lian, Yu-fen Kang, Shu-ping Bi, *et al.* Morin applied in speciation of aluminium in natural waters and biological samples by reversed-phase high-performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. Anal Bioanal Chem, 2003, 376: 542 - 548.
- [64] 樊德方. 农药残留量分析与检测 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982.
- [65] Nilsson C, Nygren O, Sikstrom E. Determination of mancozeb in air Occupational exposure during its use in control of potato late blight. Chemoshpere, 1987, (16): 2423 - 2428.
- [66] A. Ambrus, D. J. Hamilton, H. A. Kuiper. Significance of impurities in the safety evaluation of crop protection products [J]. Pure Appl. Chem., 2003, 75(7): 937 - 973.
- [67] 杨舰. 高效液相色谱/质谱联用仪在农药全分析中的应用 [J]. 环境化学, 2001, 20 (4): 407 - 408.
- [68] 雷荣, 马丽娟, 怀其勇, 等. 高效液相色谱—串联质谱法鉴定伊维菌素的成分 [J]. 分析化学, 2002, 30 (1): 26 - 30.
- [69] 李重九, 费菁. 2,4-D 的全分析研究 [J]. 质谱学报, 1995, 16 (2): 52 - 57.
- [70] 张宏军, 杨晓玲, 刘丰茂, 等. GC-MS 联机技术对克菌丹原药及其主要杂质的定性分析 [J]. 农药科学与管理, 2003, 24 (5): 12 - 14.
- [71] 包素萍. 高效氯氟氰菊酯原药及其主要杂质的气—质联机分析 [J]. 现代农药, 2006, 5 (5): 29 - 30
- [72] 胥维昌, 徐亚男, 苏金燕, 等. 农药原药全分析 [J]. 农药, 2003, 42 (10): 12 - 14.
- [73] 王险, 郭红超, 侯学泰. 丙线磷全分析中相关杂质的合成 [J]. 农药, 2001, 40 (12): 21 - 22.
- [74] 刘刚, 宋宝安, 杨松, 等. 克螨特原药的全分析 [J]. 农药, 2003, 42 (5): 22 - 25.
- [75] 王巧娥, 丁明玉. 蒸发光散射检测技术研究进展 [J]. 分析测试学报, 2006, 25 (6): 126 - 132.
- [76] 陈宗懋. 茶叶中的铝对人体健康不会构成威胁 [J]. 中国茶叶, 1997, (3): 32 - 33.
- [77] Stephen G, Capar William R, Mindak, John Cheng. Analysis of food for toxic elements [J]. Anal Bioanal Chem, 2007, 389(1): 159 - 169.
- [78] 中华人民共和国农业部. NY/T 788-2004 农药残留试验准则 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [79] 中华人民共和国国家标准. GB 15202 - 2003 面制食品种铝限量 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [80] 李国平. 农药登记资料产品化学部分中的一些问题 [J]. 农药科学与管理, 2004, 23 (4): 35 - 36.
- [81] Félix Hernández, Juan V Sancho, Óscar J Pozo. Direct determination of alkyl phosphates in human urine by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry [J]. Rapid Commun. Mass Spectrom, 2002, 16: 1766 - 1773.
- [82] Robin M. Black, Robert W. Read. Analysis of degradation products of organophosphorus

- chemical warfare agents and related compounds by liquid chromatography-mass spectrometry using electrospray and atmospheric pressure chemical ionization [J]. *Journal of Chromatography A*, 1998, 794: 233 - 234.
- [83] C. Lamouroux, H. Virelizier, C. Moulin, *et al.* Direct determination of dibutyl and monobutyl phosphate in a tributyl phosphate/nitric aqueous-phase system by electrospray mass spectrometry [J]. *Anal. Chem.*, 2000, 72: 1186 - 1191.

附录一 略缩词表

略缩词	英文全称	中文名称
a.i.	Active ingredient	有效成分
ADI	Acceptable Daily Intake	日容许摄入量
CAC	Codex Alimentarius Commission	国际食品法典委员会
d	Day	天
ELSD	Evaporative Light Scattering Detector	蒸发光散射检测器
ET-AAS	Electrothermal atomic absorption Spectrograph	电热原子吸收光谱法/仪
FAO	The Food and Agriculture Organization of the United Nations	联合国粮食及农业组织
FPLC	Fast Protein Liquid Chromatography	快速蛋白质液相色谱
GC	Gas Chromatogram or Gas Chromatography	气相色谱图或气相色谱法或气相色谱仪
GC-ECD	Gas chromatography-Electron capture detector	气相色谱法-电子俘获检测器
GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectrograph	气质联用法
GC-MS-MS	Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrograph	气相色谱-串联质谱法
hm ²	Hectare	公顷
HPIEC	High Performance Ion Exchange Chromatography	高效离子交换色谱
HPICE	High Performance Ion Chromatography Exclusion	高效离子排斥色谱
HPLC	High performance liquid chromatography	高效液相色谱法
ICP-OES	Inductively coupled plasma optical emission spectroscopy	电感耦合等离子体发射光谱法/仪
IPC	Ion Pair Chromatography	离子对色谱
HS-GC	Head-Space Gas Chromatography	顶空气相色谱法
IC	Ion Chromatography	离子色谱图或离子色谱法或离子色谱仪
LC-MS	Liquid Chromatography-Mass Spectrograph	液相色谱-质谱联用法/仪
LC-MS-MS	Liquid Chromatography-Tandem -Mass Spectrograph	液相色谱-串联质谱法/仪
LC-NMR	Liquid Chromatography-Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	液相色谱核磁共振波谱联用法/仪

略缩词表（续）

略缩词	英文全称	中文名称
LD ₅₀	Median lethal dose	致死中量
MRLs	Maximum Residue Limits	最大残留限量
RPIC	Reversed Phase Paired Ion Chromatography	反相离子对色谱
RSD	Relative standard deviation	相对标准偏差
SCIC	Single Column IC	非抑制型离子色谱
SIC	Suppressed IC	抑制型离子色谱
SEC	Size Exclusion Chromatography	体积排阻色谱
WHO	World Health Organization	世界卫生组织

致 谢

值此论文完成之际，衷心感谢我的导师范志先教授三年来从论文选题、试验设计、试验实施到论文写作修改倾注的大量心血，感谢导师在我的学习和生活上给予的谆谆教诲和悉心关怀。在三年的研究、学习过程中，导师无私、耐心地教导，使我学到了很多实用的知识，尤其是实验操作及仪器的使用，让我受益匪浅。导师严谨细致、一丝不苟的治学态度一直是我学习的榜样，他循循善诱的教导和不拘一格的思路给予我无尽的启迪。在此，对导师表示深深的感谢并希望今后工作中能够继续给予指教。

作者特别感谢拜耳作物科学（中国）有限公司郭井泉先生、山东大成农药股份有限公司邢兆五总工程师提供的大力帮助。感谢山东大成农药有限公司、镇江江南化工厂、浙江嘉华化工有限公司提供的三乙膦酸铝原药及中间体。

作者感谢吉林农业大学资源与环境学院的许允成高级实验师完成了田间试验工作并提供了本论文试验样品。感谢吉林农业大学测试中心侯志广实验师的帮助。

在本论文完成过程中，青岛科技大学化工测试中心提供了仪器设备和实验场所，在此表示感谢。对化学与分子工程学院核磁共振测试中心的老师表示感谢。

此外，在实验的过程中得到了葛海英、沈翠丽、赵文英、贾淑敏、傅慧、李岩等同学的大力帮助和支持。在此表示衷心感谢。同时，还要感谢张丽娟同学在三年的研究生生活中给予的帮助和鼓励。

最后还要感谢父母三年来对我的支持。

值此论文完成之际，向所有关心和支持本论文工作的老师、同学、家人和朋友们表示真诚的谢意。

最后对审阅和评议本论文答辩委员会的全体专家、教授致以最诚挚的谢意！

二〇〇八年六月十二日于青岛

攻读学位期间发表的学术论文

- [1] 丁宁, 范志先, 葛海英, 等. 三乙膦酸铝的纯化与离子色谱分析 [J]. 青岛科技大学学报 (自然科学版), 已录用, 待发表.
- [2] 范志先, 沈翠丽, 赵文英, 丁宁. 正相高效液相色谱法确证土壤中氯氰菊酯的残留量 [J]. 青岛科技大学学报 (自然科学版), 2007, 6 (28): 498 - 501.
- [3] 赵文英, 沈翠丽, 丁宁, 等. 丙溴磷在棉花及土壤上的残留分析 [J]. 青岛科技大学学报 (自然科学版), 已录用, 待发表.
- [4] 朱杰丽, 范志先, 沈翠丽, 丁宁, 赵文英. 气质联用法测定甲基毒死蜱的水解速率 [J]. 青岛科技大学学报 (自然科学版), 已录用, 待发表.
- [5] 范志先, 丁宁, 赵文英, 等. 27 种有机溶剂的气相色谱同时分析 [J]. 青岛科技大学学报 (自然科学版), 已录用, 待发表.

声 明

独创性声明

本人声明所呈交的论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢中所罗列的内容以外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含本人已用于其他学位申请的论文或成果。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中做了明确的说明并表示了谢意。

申请学位论文与资料若有不实之处，本人承担一切相关责任。

本人签名： 丁宁 日期： 2008 年 6 月 12 日

关于论文使用授权的说明

本学位论文作者完全了解青岛科技大学有关保留、使用学位论文的规定，有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅。本人授权学校可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。本人离校后发表或使用学位论文或与该论文直接相关的学术论文或成果时，署名单位仍然为青岛科技大学。(保密的学位论文在解密后适用本授权书)

本学位论文属于：

保密 ☐，在 年解密后适用于本声明。

不保密 ☒。

(请在以上方框内打“√”)

本人签名： 丁宁 日期： 2008 年 6 月 12 日

导师签名： 范志先 日期： 2008 年 6 月 12 日