

分类号 : TQ 453.21
密级 : 不保密

学校代码 : 10426
学号 : 2007052014

青 岛 科 技 大 学

硕 士 研 究 生 学 位 论 文

论文题目: 嘧啶磺酰脲除草剂的
纯化与分析

姓 名 : 贾淑敏
指导教师 : 范志先
学科专业 : 分析化学
专业代码 : 070302
研究方向 : 农药分析

二〇一〇年六月十日

嘧啶磺酰脲除草剂的纯化与分析

学位论文完成日期： 2010-6-10

指导教师签字： _____

答辩委员会成员签字： _____

前 言

磺酰脲类除草剂是目前世界上用量最多的一类超高效除草剂，广泛用于禾谷类作物防除阔叶及某些禾本科杂草，具有生物活性高、用量极少、杀草谱广、持效期适中、使用方便、用药成本相对较低、低毒等特点。已经商品化的品种主要分为嘧啶（37 种）和三嗪（18 种）两大类，由于嘧啶基团的环境相容性优于三嗪类，所以嘧啶类磺酰脲除草剂成为开发应用研究的重点，其中代表性品种有：烟嘧磺隆、酰嘧磺隆、乙氧磺隆、氟啶嘧磺隆、碘甲磺隆钠盐、氟酮磺隆、环丙嘧磺隆、四唑嘧磺隆、环氧嘧磺隆。本研究工作对象主要为烟嘧磺隆、酰嘧磺隆和乙氧磺隆。

尽管中国是世界上农药生产和使用大国之一，但在标准物质的研究上相对薄弱，嘧啶磺酰脲类除草剂也同样如此。现代色谱定量分析技术目前还依赖比较法，农药生产质量的监控，农药产品质量的监督，后茬药害的鉴定，食品安全贸易纠纷解决乃至刑侦案件的侦破都离不开标准物质。标准物质的作用不言而喻，如果不掌握标准物质生产、鉴定、定值核心技术就会受控于人，鉴于此，2007 年 12 月国家标准样品技术委员会农药标准样品专业工作组在天津召开了会议，商讨增加研制农药标准物质品种事宜，嘧啶磺酰脲类除草剂代表性品种也在考虑之列。嘧啶磺酰脲类除草剂在常见溶剂中的溶解度较低，加之脲桥稳定性差，采用常规的重结晶方法较难达到纯化的目的，定值上也存在技术挑战。本研究工作目的之一就是为早日研制出嘧啶磺酰脲类除草剂代表性品种的标准物质奠定基础。

嘧啶磺酰脲类除草剂是除草专家的“利器”，农民手中的“宠儿”，但是这种“拼盘”式的“脆弱”的化学结构，决定了在其原药和制剂定量分析等许多方面还要开展深入细致的研究工作。目前，嘧啶磺酰脲类除草剂极少数品种已经制定了标准分析方法，但是标准的贯彻执行存在问题，如没有标准物质、内标物不易获得，标准本身规定的分析条件科学性差，容易产生较大的分析误差。嘧啶磺酰脲类除草剂在溶液中容易解离，一种分析方法是采用酸性的流动相体系抑制其解离；还有一种方法是促进其解离，以便采用衍生或离子对的方式定量分析。哪种分析方法是最优化选择必须通过开展大量的方法学研究工作才能给予正确的回答。综上所述，对嘧啶磺酰脲除草剂纯化与分析的研究课题紧迫地摆到了面前。

嘧啶磺酰脲除草剂的纯化与分析

摘 要

以烟嘧磺隆、酰嘧磺隆、乙氧磺隆为代表,在对嘧啶磺酰脲类除草剂的紫外、红外、核磁和质谱谱图进行研究的基础上,探讨建立了原药纯化与高效液相色谱分析方法。完成了烟嘧磺隆、酰嘧磺隆、乙氧磺隆的纯化与纯品的定量分析研究。

采用 HPLC - PDA 获得了 3 种除草剂的紫外吸收谱图,其最大吸收分别为 236.1 nm、237.1 nm、237.1 nm。采用 KBr 压片法测得 3 种除草剂的红外吸收谱图,1 720 cm^{-1} 、1 600 cm^{-1} 双峰、1 360 cm^{-1} 、1 200 cm^{-1} 双峰等强而尖锐的峰是鉴别磺酰脲类除草剂的特征吸收,试验测定其它嘧磺隆的红外吸收也符合此规律。液质联用仪获得的质谱图显示脲桥是最易断裂的基团,并产生 m/z 182 的特征碎片。以氘代丙酮为溶剂采集核磁共振信号, ^1H -NMR 特征峰为 δ_{H} 3.9、 δ_{H} 5.9、 δ_{H} 9.6、 δ_{H} 13.0; ^{13}C -NMR 特征峰为 δ_{C} 54.3、 δ_{C} 84.0、 δ_{C} 149.0、 δ_{C} 156.3、 δ_{C} 171.7。

探讨了嘧啶磺酰脲类除草剂高效液相色谱分析方法。样品在甲醇中容易分解,分析时用乙腈超声波振荡溶解。采用乙腈/水为流动相, C_8 色谱柱,二极管阵列检测器的定量测定方法。对比甲酸、乙酸、三氟乙酸、磷酸作为调节剂的效果,分别以甲酸铵、正丙胺、正己胺为离子对试剂分离降解产物,最终确定 20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸+10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸铵作为调节剂,既能有效抑制主成分分解,又能将降解产物分离开。明确了 3 种除草剂主成分及降解产物的色谱行为,并为酰嘧磺隆建立了同步蒸发光散射外标测定方法,用于监测无紫外吸收的降解产物。

分别采用重结晶法、液相色谱制备法、盐析抽滤的方法对嘧啶磺酰脲类除草剂原药进行纯化。重结晶受制于溶解度小、热稳定性差等因素,难以大大提高纯度。烟嘧磺隆、酰嘧磺隆、乙氧磺隆先用盐析再用丙酮洗涤获得纯品,面积归一法测定纯度烟嘧磺隆为 99.12 %、酰嘧磺隆为 99.18 %、乙氧磺隆为 99.35 %。

建立了以邻苯二甲酸二甲酯为内标物测定烟嘧磺隆的方法,流动相中乙腈比例为 30 %,兼顾内标物与主成分的响应值检测波长选择 232 nm。在 25 ~ 500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内烟嘧磺隆与内标物峰面积之比与进样质量之比呈线性,线性方程为 $Y = 1.1224X + 0.0056$, $r = 0.9992$ 。低浓度添加回收率为 99.79 %,高浓度添加回收率为 99.84 %; 8 次重复样品测定的 RSD 0.27 %。

酰嘧磺隆以苯甲酸甲酯为内标,乙腈比例为 40 %,紫外检测波长为 230 nm。此方法在 25 ~ 500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内,内标法线性方程为 $Y = 1.1042X + 0.0152$, $r =$

0.999 9; 添加回收率为 99.37 ~ 99.43 %; *RSD* 0.85 %; 外标法在 98.86 ~ 101.19 % 之间; *RSD* 0.94 %。ELSD 检测器外标法方程为 $Y = 2\,918.856 X - 2\,319\,548.767$, $r = 0.986\,5$ 。添加回收率为 99.47 ~ 100.36 %, *RSD* 2.59 %, 方法准确度与外标法相当, 精密度较差, 但均不如紫外内标法。

乙氧磺隆用邻苯二甲酸二甲酯作为内标, 乙腈比例为 55 %, 检测波长为 222 nm。在 25 ~ 500 mg · L⁻¹ 浓度范围内, 线性方程为 $Y = 0.760\,6 X + 0.006\,4$, $r = 0.999\,8$ 。添加回收率为 99.09 ~ 99.38 %, 方法 *RSD* 0.46 %。外标法添加回收率为 98.72 ~ 102.04 %, *RSD* 1.23 %。

鉴于上述 3 种除草剂的方法学测定结果, 考虑到嘧啶磺酰脲类除草剂的经济价值, 推荐采用内标法开展原药的检测工作。

关键词: 嘧啶磺酰脲 除草剂 纯化 分析

PURIFICATION AND ANALYSIS OF PYRIMIDINYL-SULFONYLUREA HERBICIDES

ABSTRACT

The spectroscopic analyses of pyrimidinyl-sulfuron herbicides were studied represented by nicosulfuron, amidosulfuron and ethoxysulfuron. In this basis, the purification method and reversed phase high performance liquid chromatography analysis method were established. Farther, the purification and quantitative analysis of nicosulfuron, amidosulfuron and ethoxysulfuron were completed.

The UV absorption spectrums of pyrimidinyl-sulfuron herbicides were obtained in HPLC - PDA. The maximum absorption wavelength of nicosulfuron, amidosulfuron and ethoxysulfuron was 236.1 nm, 237.1 nm and 237.1 nm respectively. The infrared absorption spectrums were measured with KBr pellet, their characteristic absorption peaks were 1720 cm^{-1} , 1600 cm^{-1} , 1360 cm^{-1} , and 1200 cm^{-1} . Mass spectrum obtained with LC - MS show that urea linkage is easy to break mostly, and the fragment of m/z 182 is their common features. Nuclear magnetic resonance spectrum was gotten with deuterated acetone as the solvent to collect ^1H NMR and ^{13}C NMR signals. ^1H NMR characteristic peaks were δ_{H} 3.9, δ_{H} 5.9, δ_{H} 9.6, δ_{H} 13.0; ^{13}C NMR characteristic peaks were δ_{C} 54.3, δ_{C} 84.0, δ_{C} 149.0, δ_{C} 156.3, δ_{C} 171.7.

The analysis method of pyrimidinyl-sulfuron herbicides by HPLC was developed. Sample dissolved in acetonitrile, with acetonitrile / water as mobile phase, 10 mmol. L $^{-1}$ ammonium formate and 20 mmol · L $^{-1}$ formic acid were regulators. C₈ column, photo diode array detector for quantitative determination, identified the chromatographic behavior of nicosulfuron, amidosulfuron, ethoxysulfuron and their degradation products. At the same time, another method with evaporative light scattering detector was established for amidosulfuron using for degradation products without UV absorption.

Nicosulfuron, amidosulfuron and ethoxysulfuron were purified by recrystallization, liquid chromatography preparation, or wash with water. Pyrimidinyl-sulfuron herbicides were slightly soluble in common solvent and instable when were heated, so the purity was difficult to be improved by recrystallization. Nicosulfuron, amidosulfuron and ethoxysulfuron were washed with water and then with acetone, and the purity of them were 99.12 %, 99.18 %, 99.35 %, respectively.

Nicosulfuron was quantitatively determined with dimethyl phthalate as internal

standard. The proportion of acetonitrile was 30 % in eluent, and determination wavelength was 232 nm. In the range of 25 - 500 mg · L⁻¹, the peak area ratio of nicosulfuron and internal standard to the ratio of their mass is linear, the linear equation $Y = 1.1224X + 0.0056$, $r = 0.9992$. The recovery of low concentration was 99.79 %, while 99.84 % of high concentration, and the RSD was 0.27 %.

Amidosulfuron were detected by HPLC - PDA - ELSD, with the internal standard was methyl *p* - hydroxybenzoate, the ratio of acetonitrile in eluent was 40 %, extraction wavelength was 230 nm. The peak area ratio of nicosulfuron and internal standard was linear with the ratio of their mass, and the linear equation was $Y = 1.1042X + 0.0152$, $r = 0.9999$ in 25 - 500 mg · L⁻¹. The recovery was 99.37 - 99.43 %, RSD was 0.85 %. While the recovery of external standard method was 98.86-101.19 %, RSD was 0.94 %. When amidosulfuron was detected by ELSD, The linear equation was $Y = 2918.856X - 2319548.767$, $r = 0.9865$. The recovery was 99.47-100.36 %, RSD 2.59 %.

Ethoxysulfuron was detected by HPLC - PDA at 222 nm, with dimethyl phthalate as internal standard also. The ratio of acetonitrile and buffer solution was 55 : 45. In the concentration range of 25-500 mg · L⁻¹, the linear relationship between ethoxysulfuron and the internal standard peak area ratio A_s / A_i and their mass ratio m_s / m_i was good, with the linear equation $Y = 0.7606X + 0.0064$, $r = 0.9998$. The recovery of low concentration was 99.09 %, and 99.38 % of high concentration, RSD was 0.46 %. When it was 98.72-102.04 %, RSD was 1.23 % of external standard method.

Taking into account the economic value of pyrimidinyl-sulfuron herbicides, the internal standard method was recommended to be used in the analysis of technical pesticides.

KEY WORDS: Pyrimidinyl-sulfonylurea Herbicides Purification Analysis

目 录

前 言	I
摘 要	III
ABSTRACT.....	V
第一章 绪 论	1
1.1 嘧啶磺酰脲类除草剂概述.....	1
1.1.1 发展史.....	1
1.1.2 作用机理.....	2
1.1.3 合成方法.....	2
1.2 烟嘧磺隆	4
1.2.1 概述.....	4
1.2.2 基本性质.....	4
1.2.3 毒理学数据.....	5
1.2.4 环境归宿.....	5
1.2.5 施用及相关产品.....	6
1.2.6 合成方法.....	6
1.3 酰嘧磺隆	7
1.3.1 概述.....	7
1.3.2 基本性质.....	8
1.3.3 毒理学数据.....	8
1.3.4 环境归宿.....	8
1.3.5 施用及相关产品.....	9
1.3.6 合成方法.....	9
1.4 乙氧磺隆	10
1.4.1 概述.....	10
1.4.2 基本性质.....	10
1.4.3 毒理学数据.....	10
1.4.4 环境归宿.....	10
1.4.5 施用及相关产品.....	11
1.4.6 合成方法.....	11
1.5 磺酰脲类除草剂分析方法概述.....	11
1.5.1 液相色谱分析方法.....	11
1.5.2 气相色谱分析方法.....	12
1.5.3 其它分析方法.....	13
第二章 嘧啶磺酰脲类除草剂的纯化方法研究	15

2.1 材料与方法.....	15
2.1.1 仪器和设备	15
2.1.2 试剂和溶液	15
2.1.3 嘧啶磺酰脲类除草剂提纯试验.....	15
2.1.4 盐析纯品定性鉴定试验.....	16
2.1.5 盐析纯品纯度测定	16
2.2 结果与讨论.....	16
2.2.1 纯化试验结果	16
2.2.2 盐析纯品定性鉴定结果.....	18
2.2.3 盐析纯品的定量分析结果.....	18
2.3 小结.....	19

第三章 嘧啶磺酰脲类除草剂的波谱分析.....21

3.1 材料与方法.....	21
3.1.1 仪器和设备	21
3.1.2 试剂和溶液	21
3.1.3 紫外吸收光谱试验	21
3.1.4 红外吸收光谱试验	22
3.1.5 质谱分析试验	22
3.1.6 核磁共振波谱试验条件.....	22
3.2 结果与讨论.....	22
3.2.1 紫外吸收光谱特征	22
3.2.2 红外吸收光谱特征	24
3.2.3 质谱图及裂解规律	25
3.2.4 核磁共振波谱分析	28
3.3 小结.....	32

第四章 嘧啶磺酰脲除草剂的高效液相色谱分析方法研究.....33

4.1 材料与方法.....	33
4.1.1 仪器和设备	33
4.1.2 试剂和溶液	33
4.1.3 嘧啶磺酰脲类除草剂高效液相色谱分析方法建立.....	33
4.2 结果与讨论.....	34
4.2.1 样品溶剂选择结果	34
4.2.2 色谱柱选择结果	36
4.2.3 流动相优化结果	37
4.2.4 流动相比例优化结果	38
4.2.5 调节剂选择结果	40
4.3 小结.....	43

第五章 烟嘧磺隆及其降解产物的高效液相色谱分析	45
5.1 材料与方法	45
5.1.1 仪器和设备	45
5.1.2 试剂和溶液	45
5.1.3 高效液相色谱仪操作条件	45
5.1.4 烟嘧磺隆高效液相色谱分析	46
5.2 结果与讨论	46
5.2.1 分析条件优化	46
5.2.2 方法学数据	48
5.3 小结	49
第六章 酰嘧磺隆紫外/蒸发光散射双检测器同时测定的研究	51
6.1 材料与方法	51
6.1.1 仪器和设备	51
6.1.2 试剂和溶液	51
6.1.3 分析条件	51
6.1.4 酰嘧磺隆高效液相色谱分析	51
6.2 结果与讨论	53
6.2.1 分析条件优化	53
6.2.2 方法学数据	54
6.3 小结	56
第七章 乙氧磺隆溶解度与原药含量的测定	57
7.1 材料与方法	57
7.1.1 仪器和设备	57
7.1.2 试剂和溶液	57
7.1.3 液相色谱分析条件	57
7.1.4 溶解度试验	57
7.1.5 液相色谱分析条件优化	58
7.2 结果与讨论	58
7.2.1 溶解度试验结果	58
7.2.2 分析条件优化	59
7.2.3 方法学数据	60
7.3 小结	61
结 论	63
参考文献	65
附 录 一 略缩词表	68

致 谢	71
攻读学位期间发表的学术论文目录	73
声 明	75

第一章 绪 论

1.1 嘧啶磺酰脲类除草剂概述

1.1.1 发展史

20世纪70年代初, 杜邦(Dupont)公司的G. Levitt博士注意到磺酰脲类化合物4-氰基苯基苯磺酰脲有弱的植物生长阻滞作用, 于是将其作为先导化合物进行结构优化, 以寻找高活性的除草剂^[1-2]。

Levitt在合成了一系列磺酰脲类化合物之后, 将此类化合物的结构模式分为芳环(Aryl)、杂环(Heterocycle)和脲桥(Bridge)三部分(见图1-1), 对其构效关系进行了广泛深入的研究。

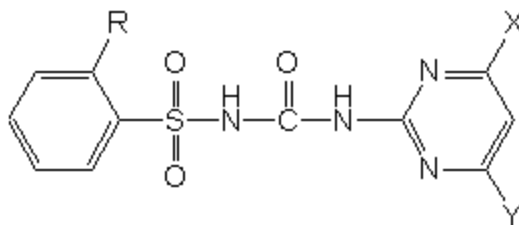


图1-1 磺酰脲除草剂的结构特征

Fig 1 - 1 Structural features of sulfonylurea herbicides

苯环邻位引入各种取代基(R)均可增强活性, 许多供电子基和吸电子基都是活性基团, 常见的活性基团R有: CO_2CH_3 、 NO_2 、F、Cl、Br、 $\text{SO}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 CF_3 、 CH_2OCH_3 、 OCF_3 等。且吸电子基比供电子基更为有利。将苯环改为吡啶、噻吩、吡唑、呋喃、喹啉、萘等杂环的磺酰脲也有活性^[3]。

具有无修饰脲桥的磺酰脲活性最高, 脲桥经修饰的化合物也具有活性, 其活性大小取决于芳环和杂环上的取代基^[4]。

许多含氮杂环均有活性, 嘧啶-4-基、1,2,4-三嗪-3-基、吡啶-2-基、1,2,4-三唑-3-基、苯并嘧啶-2-基等均有活性, 但以含嘧啶-2-基或1,3,5-三嗪-2-基的磺酰脲活性最高。在所有杂环中, 杂环部分应满足胍系, 对胍桥来说都是间位的两个位置上都有取代基, 且通常为短链烷基或烷氧基(如 CH_3 、 OCH_3)时活性最高; 胍桥的对位不能有任何取代基。

嘧啶磺酰脲和三嗪磺酰脲就是根据含氮杂环的不同来划分的。磺酰脲类除草剂从化学分子结构来讲是两种普通的除草剂嫁接形成的超高效除草剂, 这对今后农药先导化合物的开发有一定的启迪作用^[5-6]。

嘧啶磺酰脲类除草剂可应用于麦类、水稻、大豆、玉米、油菜等多种作物田以及草坪、林业、非耕地, 适用苗前土壤处理、苗后茎叶处理, 对许多一年生或

多年生杂草，尤其是阔叶杂草非常有效，有时也兼治一些禾本科杂草和莎草科杂草等。用量以每公顷克计，其生物活性超过传统除草剂的100~1 000倍。具有广谱、低毒、用量少的优点，投入市场后为农民所接受，推广面积迅速扩大^[7]。

1.1.2 作用机理

嘧啶磺酰脲类除草剂能抑制植物体内至关重要的、带支链的氨基酸（如缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸）的生物合成，原因是它抑制了氨基酸合成过程中必不可少的酶-乙酰乳酸合成酶（ALS）的活性，使植物（杂草）死亡。ALS酶是植物体内所特有的酶，在支链氨基酸生物合成的开始阶段，可将2分子丙酮酸或1分子丙酮酸与1分子 α -丁酮酸催化缩合，分别生成乙酰乳酸或乙酰羟基丁酸，再经过一系列反应形成缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸^[8]。杜邦公司的Sehloss鉴别出ALS酶实际上有ALSI、ALS II、ALSIII之分，这三种不同酶对各种除草剂的敏感性不同，其中以ALS II最为敏感^[9]。

对于嘧啶磺酰脲类除草剂，Sehloss认为磺酰脲分子和ALS酶的作用点为硫胺焦磷酸素(thiamine pyrophosphate)，它与磺酰脲类的嘧磺隆(sulfometuron)分子结构相似，均有一个取代的嘧啶基，并在嘧啶环间隔的第二个键都有一个三角形中心(羰基和三唑氨基)，间隔的第三键中均有一个负电子中心（见图1-2）。嘧磺隆可与ALS II产生的中间产物结合，从而使ALS酶失去活性，使杂草死亡^[10]。

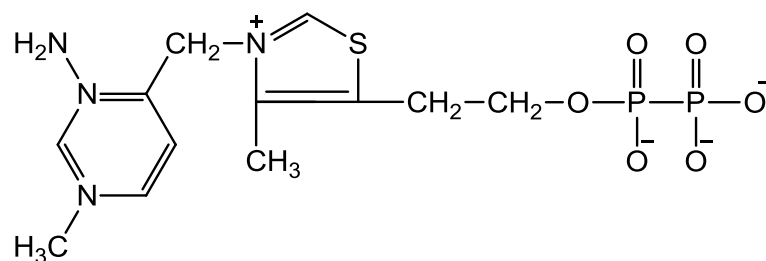


图1-2 硫胺焦磷酸素结构式

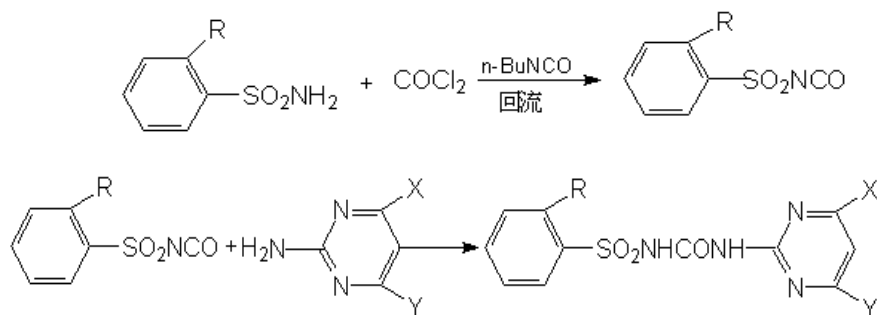
Fig1 - 2 Structural features of thiamine pyrophosphate

1.1.3 合成方法

该类除草剂的合成一般以芳基磺酰胺为起始原料，再与含嘧啶杂环的化合物进行缩合反应，合成嘧啶磺酰脲类除草剂。

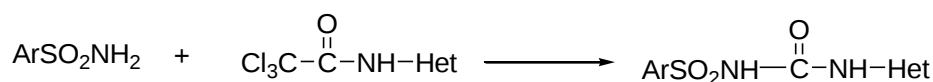
1.1.3.1 光气法

芳香基磺酰胺首先与光气或草酰氯反应生成磺酰基异氰酸酯，然后再与嘧啶杂环胺反应。



1.1.3.2 非光气法

光气属于剧毒气体，实验或生产合成不易控制。芳基磺酰胺与固体物质双(三氯甲基)碳酸酯或三氯乙酰胺进行反应，可以起到光气相同的效果。



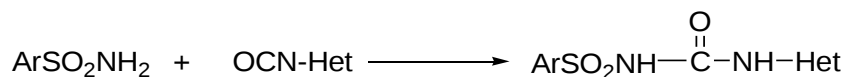
1.1.3.3 氯甲酸酯法

芳基磺酰胺与氯甲酸酯反应生成磺酰基氨基甲酸酯，然后再与杂环胺反应。



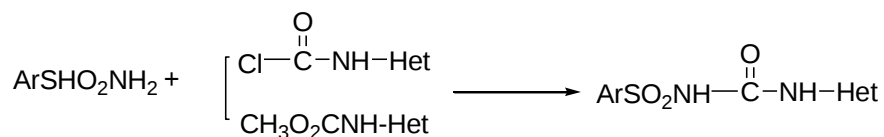
1.1.3.4 异氰酸酯法

芳基磺酰胺与杂环异氰酸酯反应，也可制得磺酰脲类除草剂。

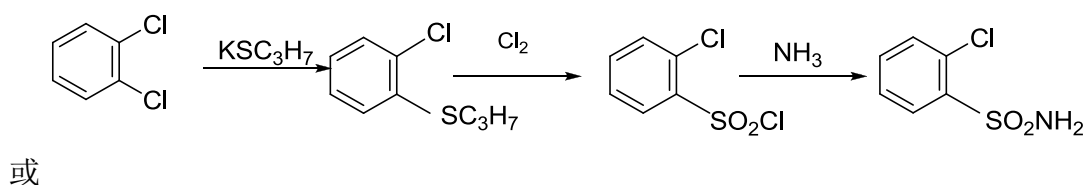


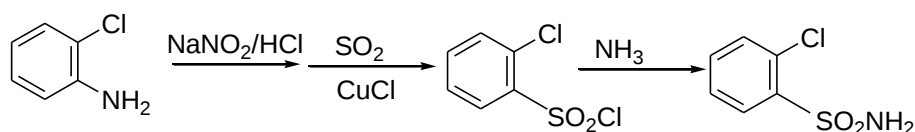
1.1.3.5 氨基甲酸法

芳基磺酰胺与氨基甲酸甲酯、苯酯或氨基甲酰氯反应，都可以直接生成磺酰脲类除草剂。



1.1.3.6 关键中间体芳基磺酰胺的合成：





掌握原药的合成路线有利于纯化溶剂的选择，同时也便于原药中杂质的鉴定和分析^[11~12]。

1.2 烟嘧磺隆

1.2.1 概述

中文通用名：烟嘧磺隆

英文通用名：nicosulfuron

中文商品名：烟磺隆，玉农乐

英文商品名：Accent, Nisshin, SL-950, MU - 495, DPX - V9360, EMA 1534, HU 195, Milagro, Motivell

化学名称：2 - (4,6 - 二甲氧基嘧啶-2-基) - 1 - (3 - 二甲基氨基甲酰吡啶 - 2 - 基)磺酰脲

分子式：C₁₅H₁₈N₆O₆S

分子量：410.4

CAS 登记号：111991-09-4

化学结构式：见图 1 - 3

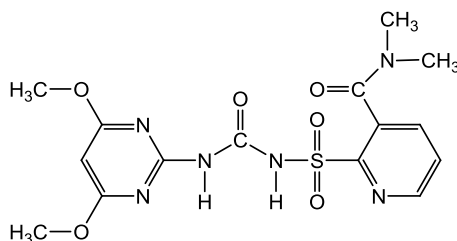


图 1 - 3 烟嘧磺隆的化学结构式

Fig.1 - 3 Structural formula of nicosulfuron

1.2.2 基本性质

性状：纯品为无色晶体，原药为白色固体

熔点：169 ~ 172 °C

蒸汽压：<8×10⁻⁷ mPa (25 °C)^[13]

正辛醇/水分配系数：logP=-0.36(pH 5), -1.8(pH 7), -2(pH 9)

亨利常数：<4.68×10⁻⁹ Pa m³ mol⁻¹(25°C)

溶解度：水 0.4 (pH 5), 120 (pH 6.8), 39.2 (pH 8.8); 丙酮 18.0, 乙腈 23.0,

氯仿、二甲基甲酰胺 64.0, 二氯甲烷 160, 乙醇 4.5, 甲苯 70, 己烷 < 20,
($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, $20\text{ }^{\circ}\text{C}$)

稳定性: 水解半衰期 15 d(pH 5); 在 pH 7 和 pH 9 溶液中稳定

闪点: $>200\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.3 毒理学数据

1.2.3.1 哺乳动物毒理学

口服: 急性口服毒性 LD_{50} 雌雄大白鼠和小白鼠 $>5\ 000\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

皮肤和眼睛: 急性经皮毒性 LD_{50} 雌、雄大白鼠 $>2\ 000\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 对眼睛中度刺激; 对皮肤无刺激作用(兔); 不是皮肤致敏剂(豚鼠); 75 %制剂不刺激眼睛。

吸入: 大白鼠 $\text{LC}_{50}(4\text{ h}) 5.47\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

无作用剂量(NOEL): 对大白鼠和小白鼠的 28 d 饲喂试验, 无害效应高于 $30\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

其他方面: Ames 试验阴性。

1.2.3.2 生态毒理学

鸟类: 白喉鹌鹑饲喂 $\text{LD}_{50} > 2\ 250\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。野鸭和白喉鹌鹑饲喂 $\text{LC}_{50} > 5\ 620\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

鱼类: 大鳍鳞鲃太阳鱼和虹鳟 $\text{LC}_{50}(96\text{ h}) > 1\ 000\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

水蚤: $\text{LC}_{50}(48\text{ h}) > 1\ 000\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

藻类: 绿藻无观察效应浓度 $\text{NOEC}(96\text{ h}) 100\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

蜜蜂: $\text{LD}_{50}(\text{接触}) >$ 每只 $20\text{ }\mu\text{g}$; 饲喂 $\text{LC}_{50}(48\text{ h}) > 1000\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。无观察效应浓度(NOEC) $500\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

蚯蚓: $\text{LC}_{50} > 1\ 000\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

1.2.4 环境归宿

动物: 给山羊一次服用剂量 $60\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 结果发现在它的组织和乳中烟嘧磺隆低于 $0.1\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 因此可以证实烟嘧磺隆和它的代谢产物没有生物累积效应。磺酰脲桥水解和羟基化作用是其主要代谢途径。

植物: 在玉米植株中降解迅速, 降解半衰期 1.5~4.5 d。在作物中总残留量 $< 0.02\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。磺酰脲桥水解形成吡啶磺酰胺、嘧啶胺和嘧啶环羟基化是主要的降解途径。

土壤/环境: 土壤降解半衰期(有氧条件) 26 d(pH 6.1, 5.1 %有机质, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$)。在 4 种砂壤土中, 吸附系数 K_d ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$) 从 0.16(pH 6.6, 1.1 %有机质) 到 1.73(pH 5.4,

4.3 %有机质)。

光解作用：降解半衰期(土壤)60~67 d；(水)14~19 d(pH 5)，200~250 d(pH 7)，180~200 d(pH 9)。一些独立研究数据表明：土壤降解半衰期 24~43 d(20 °C)；90 %降解期 80~143 d(20 °C)。K_d 0.05~0.7。水中降解半衰期 15 d (pH 5，20 °C)^[14]。

1.2.5 施用及相关产品

生物化学：支链氨基酸合成(乙酰乳酸合成酶或乙酰羟酸合成酶)抑制剂。通过抑制必需氨基酸缬氨酸和异亮氨酸的生物合成，导致细胞分裂和植物生长停止。玉米选择性源于选择性的代谢。

作用方式：选择内吸性除草剂，被杂草叶片和根部吸收，迅速通过木质部和韧皮部传导到分生组织。

用途：选择性苗后施用防除玉米田的一年生窄叶杂草，包括狗尾草、稗、马唐、黍、黑麦草、和燕麦。阔叶杂草包括各种苋菜和十字花科杂草，多年生杂草如阿拉伯高粱和匍匐冰草。

施用剂量：35~70 g · hm⁻²。

剂型：悬浮剂；水分散粒剂。

代表产品：Accent (杜邦)；Dasul (IshiharaSangyo, Syngenta)；Milagro (法国)(IshiharaSangyo, Syngenta)^[15]。

1.2.6 合成方法

烟嘧磺隆有异氰酸酯和磺酰胺法两种合成路线^[16~17]，见图 1-4，图 1-5。

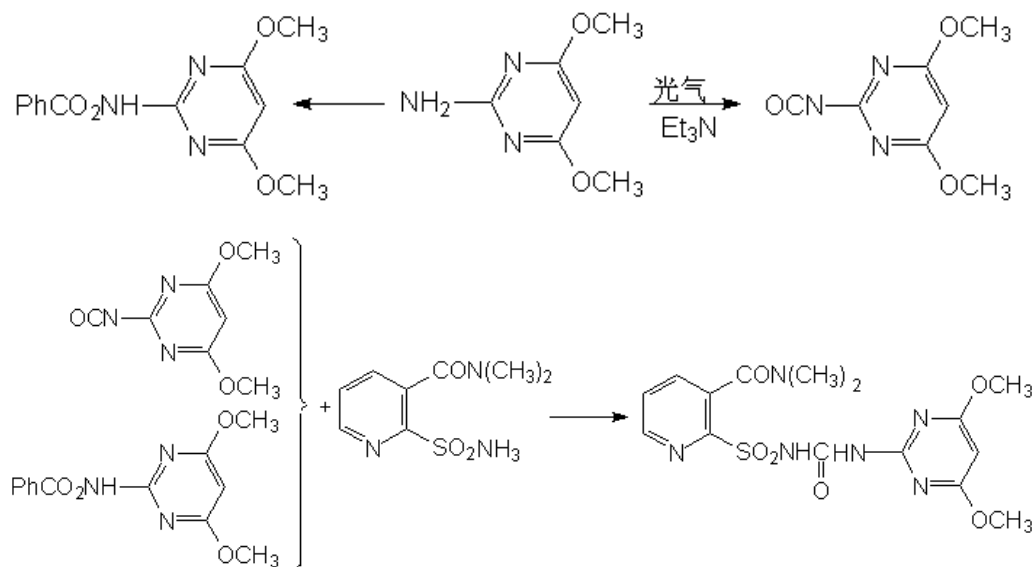


图 1 - 4 异氰酸酯合成烟嘧磺隆路线

Fig.1 - 4 Synthesis technology of nicosulfuron from isocyanate

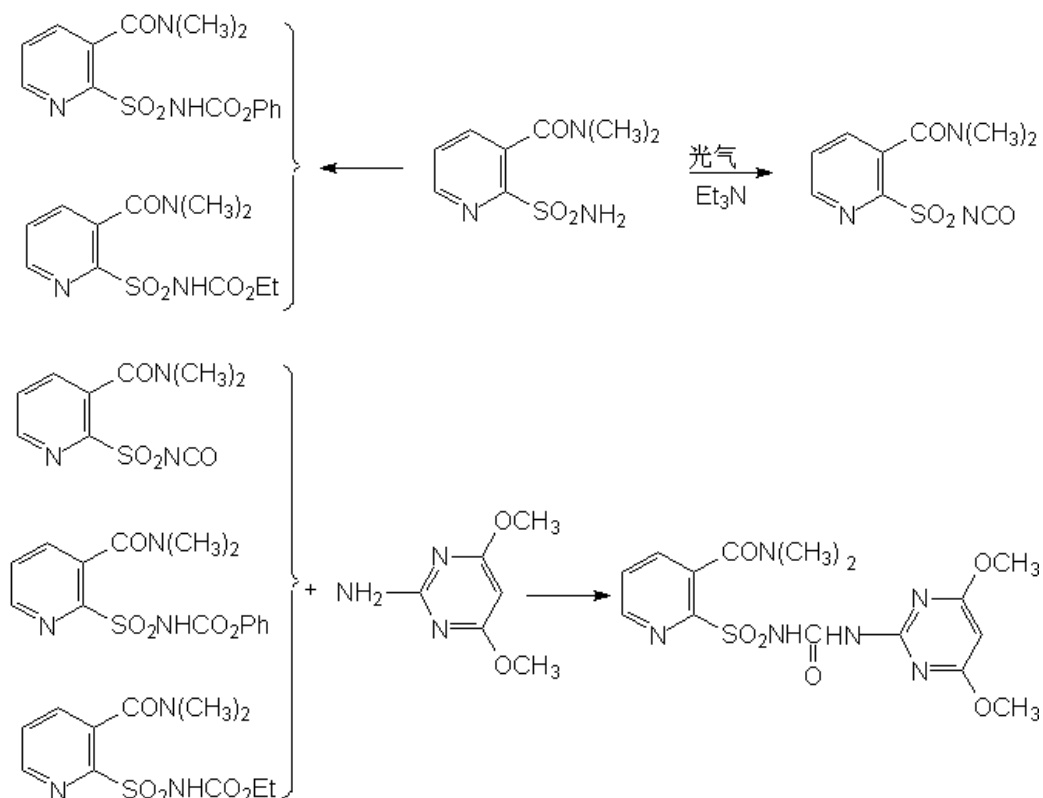


图 1 - 5 磺酰胺合成烟嘧磺隆路线

Fig.1 - 5 Synthesis technology of nicosulfuron from sulfonamide

1.3 酰嘧磺隆

1.3.1 概述

中文通用名：酰嘧磺隆

英文通用名：amidosulfuron

中文商品名：好事达

英文商品名：Cleave, Gratil, Hoestar Adret, Cratil, Grodyl, HOE 075032, Hoestar

化学名称：1 - (4,6 - 二甲氧基嘧啶-2-基) - 3 - 甲磺酰基(甲基)氨基磺酰脲

分子式：C₉H₁₅N₅O₇S₂

分子量：369.4

CAS 登记号：120923-37-7

化学结构式：见图 1-6

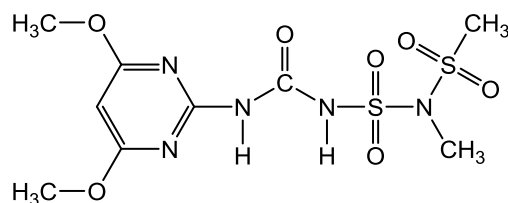


图 1 - 6 嘧啶磺酰脲的结构式

Fig.1 – 6 Structural formula of amidosulfuron

1.3.2 基本性质

性状：纯品为白色结晶粉末

熔点：160~163 °C

蒸汽压： 2.2×10^{-2} mPa (25 °C) ^[13]

正辛醇/水分配系数：logP = 1.63 (pH 2, 20 °C)

亨利常数： 5.34×10^{-4} Pa m³ mol⁻¹ (20 °C)

溶解度：水 3.3(pH 3), 9(pH 5.8), 13 500(pH 10) mg · L⁻¹ (20 °C); 异丙醇 0.099, 甲醇 0.872, 丙酮 8.1(g · L⁻¹, 20 °C)

稳定性：在未开封原包装容器中贮存 2 年稳定 (25 ± 5 °C)。非生物水解，降解半衰期 33.9 d(pH 5), 365 d(pH 7), 365 d(pH 9)(25 °C)

1.3.3 毒理学数据

1.3.3.1 哺乳动物毒理学

口服：急性毒性 LD₅₀ 大白鼠和小白鼠 ≥ 5 000 mg · kg⁻¹。皮肤和眼睛：急性经皮 LD₅₀ 大白鼠 > 5 000 mg · kg⁻¹。吸入：LC₅₀(4 h) 大白鼠 > 1.8 mg · L⁻¹ (空气)。无作用剂量(NOEL)：2 年 400 mg · kg⁻¹ 饲喂雄性大白鼠(19.45 mg · kg⁻¹ · d⁻¹)。日容许摄入量(ADI)：0.2 mg · kg⁻¹ (体重)。其他方面：无致畸和致突变。

1.3.3.2 生态毒理学

鸟类：野鸭和白喉鹈鹕 LD₅₀ > 2 000 mg · kg⁻¹。鱼类：虹鳟 LC₅₀(96 h) 320 mg · L⁻¹。水蚤：LC₅₀(48 h) 36 mg · L⁻¹。藻类：栅藻 *Scenedesmus subspicatus* E_bC₅₀(72 h) 47 mg · L⁻¹。蜜蜂：急性口服 LD₅₀ > 每只 1 mg。蚯蚓：赤子爱胜蚓 *Eisenia foetida* LC₅₀(14 d) > 1 000 mg · kg⁻¹。

1.3.4 环境归宿

动物：在大鼠体内的主要代谢途径是 O-脱甲基化。土壤/环境：在土壤中，嘧啶磺酰脲被微生物降解，降解半衰期 3~29 d，降解与 pH 值无关，但与土壤微生物活性有关。

1.3.5 施用及相关产品

生物化学：支链氨基酸合成(乙酰乳酸合成酶或乙酰羟酸合成酶)抑制剂。通过抑制必需氨基酸缬氨酸和异亮氨酸的生物合成，导致细胞分裂和植物生长停止。选择性源于其在作物体内迅速代谢。

作用方式：选择内吸性除草剂，通过杂草和根吸收并在体内传导。接着枯黄斑点逐渐扩大，从顶部向下延伸，杂草生长受到抑制。

用途：苗后施用 $30\sim60\text{ g}\cdot\text{hm}^{-2}$ 剂量，防除冬小麦、硬粒小麦、大麦、黑麦、黑小麦和燕麦田中的各种阔叶杂草，特别是猪殃殃；控制与牧场连接地间的杂草。

剂型：水分散粒剂。代表产品：Cleave (Barclay)；Gratil(拜耳作物科学公司)。

其他产品：Adret；Aigle；Drui；Eagle；Gro-dyl；Hoestar；Pursuit(拜耳作物科学公司)。

混剂：Agrilon(+异丙隆)；Galice (+噻草酮)；Gro-dyl Plus (+异丙隆)；Hoestar Super(+甲基磺隆钠盐)；Segal(+噻草酮)(拜耳作物科学公司)^[18]。

1.3.6 合成方法

以甲基磺酰氯、二甲氧基嘧啶胺为起始原料通过如下路线可得酰胺磺隆^[19]。见图 1-7。

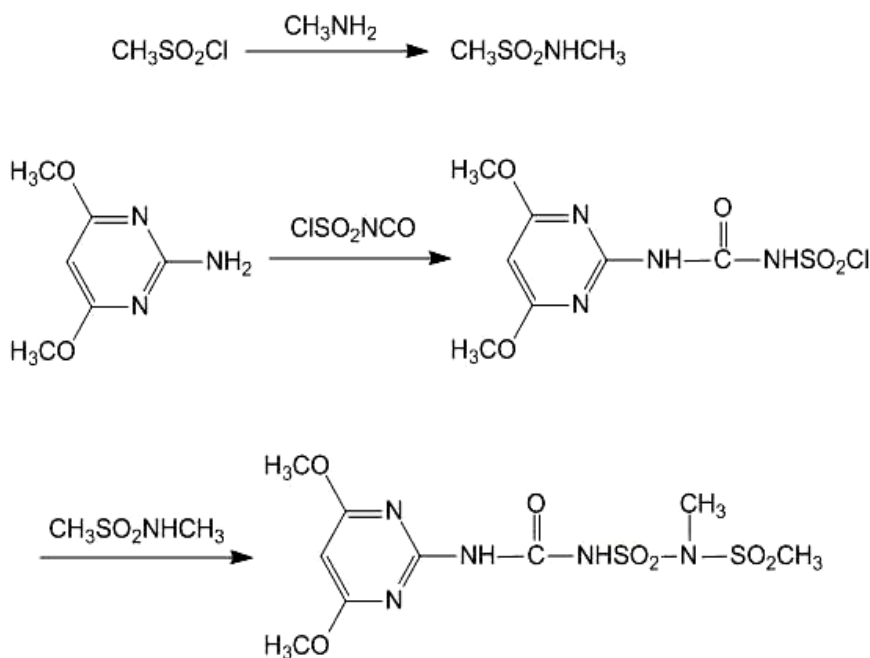


图 1-7 酰胺磺隆合成路线

Fig.1 - 7 Synthesis technology of amidosulfuron

1.4 乙氧磺隆

1.4.1 概述

中文通用名：乙氧磺隆

英文通用名：ethoxysulfuron

中文商品名：乙氧嘧磺隆，太阳星

英文商品名：Sunrice, HOE 095404

化学名称：1-(4,6-二甲氧基嘧啶-2-基)-3-(2-乙氧苯氧磺酰基)脲

分子式：C₁₅H₁₈N₄O₇S

分子量：398.39

CAS 登记号：126801-58-9

结构式：见图 1-8

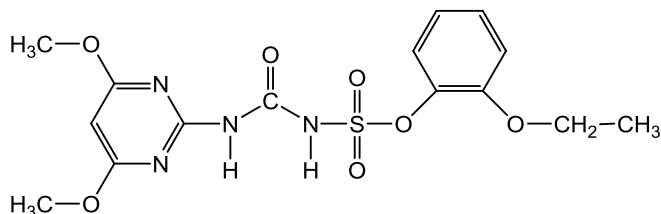


图 1-8 乙氧磺隆的结构式

Fig.1 – 8 Structural formula of ethoxysulfuron

1.4.2 基本性质

性状：白色粉末状固体

熔点：144~147 °C

蒸汽压：6.6×10⁻² mPa

溶解度：水 26 (pH 5), 1 353 (pH 7), 9 628 (pH 9) mg · L⁻¹(20 °C)

稳定性：水解半衰期 65 d(pH 5), 259 d(pH 7), 331 d(pH 9)。

1.4.3 毒理学数据

口服：急性口服毒性 LD₅₀ 大白鼠 >3 270 mg · kg⁻¹。皮肤和眼睛：急性经皮毒性 LD₅₀ 大白鼠 <4 000 mg · kg⁻¹。对眼睛或皮肤无刺激性(大白鼠)。其他方面：Ames 试验阴性。

1.4.4 环境归宿

土壤/环境：实验室内，降解半衰期在未灭活的土壤中大约是 18~20 d；在水稻田中，降解半衰期是 10~60 d^[20]。

1.4.5 施用及相关产品

生物化学：支链氨基酸合成(乙酰乳酸合成酶或乙酰羟酸合成酶)抑制剂。通过抑制必需氨基酸缬氨酸和异亮氨酸的生物合成，导致细胞分裂和植物生长停止。由于在作物和杂草中的不同代谢机制获得选择性。

用途：施用 $10\sim 120\text{g} \cdot \text{hm}^{-2}$ 剂量，防除禾谷类、水稻、甘蔗田中的各种阔叶及莎草科杂草，使其不能正常生长发育。

剂型：水分散粒剂。

其他产品：Sunrice; Sunrise; Sunstar(拜耳作物科学公司)。混剂：Pulgman(+丙草胺(通)+杀草隆(通)); Topran (+丙草胺(通)+吡啶特(通))(拜耳公司作物科学); Sanattack (+唑草胺)(Sankyo 农业)。停产混剂：Bingo (+莎稗磷(通)+呋草黄(通)+杀草隆(通)); Goku Jumbo (+莎稗磷(通)+杀草隆(通)); Kimanmae(+莎稗磷(通)+杀草隆(通)); Kita -Bingo (+莎稗磷(通)+呋草黄(通))(安万特公司 Aventis)^[21]。

1.4.6 合成方法

乙氧磺隆的合成方法很多，比较理想的方法是以氯化砒（氯化硫酰）为起始原料，与氰酸钠反应制得氯磺酰基异氰酸酯，再与过量的邻羟基苯乙醚反应，最后与 2-氨基-4,6-二甲氧基嘧啶于甲苯中， $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 缩合反应 2 h 获得目标物，收率 96.4%，纯度 98.8 %^[22]。

1.5 磺酰脲类除草剂分析方法概述

磺酰脲类除草剂的分析方法有很多种，其中以高效液相色谱（HPLC）^[23~26]及液相色谱-质谱联用技术为主^[27~30]，其它还有气相色谱（GC）、毛细管电泳法^[31]、酶联免疫等^[32~33]。

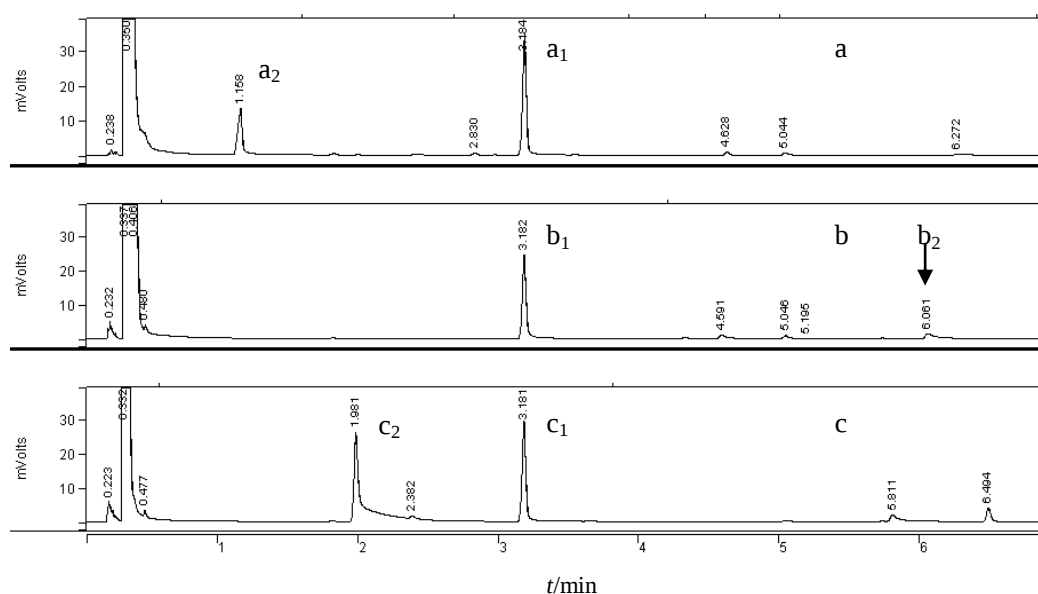
1.5.1 液相色谱分析方法

高效液相色谱法是上世纪主要的检测磺酰脲类除草剂的方法，该方法可以将磺酰脲类除草剂及其降解物同时检测出来。联合国粮农组织（FAO）和国际农药分析协作委员会（CIPAC）提供的磺酰脲原药分析方法也多采用液相色谱法。高效液相色谱分析方法是磺酰脲类除草剂的主要分析方法，可以采用正相和反相液相色谱法，由于反相液相色谱法所用流动相价格低廉，故使用较多。色谱分离柱填料多为 C_8 或 C_{18} ，检测器多为紫外检测器（UV）^[34]。陈军等采用HPLC - PDA测定了水中7种磺酰脲类除草剂^[35]。祁彦和隋凯等也分别采用HPLC完成了大豆和大米中磺酰脲类除草剂的多残留分析，检出限均达到 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 水平^[36~37]。近年来，随着联用技术的发展，单纯的液相色谱分析方法逐渐被液-质（HPLC-MS）和液

相色谱-串联质谱 (HPLC-MS/MS) 联用技术所取代, 灵敏度可达 10^{-12} 克^[38~40]。国外François和 Shalaby采用LC-MS测定了多种磺酰脲类除草剂及其降解产物, 检出限达到 $0.1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[41~42]。叶贵标等也用HPLC-MS同时测定了烟嘧磺隆、甲磺隆等多种农药在土壤中的残留^[43~44]。液-质联用较高的灵敏度使之成为磺酰脲类除草剂多残留测定的主要手段。但本文中原药的定量分析是常量分析, 具有生色团化学结构的嘧啶磺酰脲类除草剂采用HPLC-UV就可以满足检测的需要。Bernal J利用液相色谱检测了土壤中氯磺隆及其降解物的残留^[45]。金雁等利用高效液相色谱测定了蔬菜中磺酰脲类除草剂的多组分残留分析^[46~47]。近年来随着科技的发展, 液质联用灵敏度高, 能够同时定性, 因此在农药分析和残留分析中使用更加广泛。Degelmann等则将HPLC-UV、HPLC-MS、HPLC-MSⁿ多种检测器用于农药残留分析^[48~49]。邹明强等还将质谱应用于氯嘧磺隆标准物质的制备中^[50]。

1.5.2 气相色谱分析方法

因为磺酰脲类除草剂的热不稳定性和极性, 直接用气相色谱法和气质联用法分析是比较困难的, 需要衍生物分析或进行降解物分析。烟嘧磺隆、酰嘧磺隆、乙氧磺隆气相色谱分析色谱图见 1-9。



注: 将嘧啶磺酰脲类除草剂共同的合成中间体同时也是脲桥断裂后共同的降解产物 2-氨基-4,6-二甲氧嘧啶定义为降解产物 1; 另一半降解产物定义为降解产物 2, 下同。

图 1-9 烟嘧磺隆(a)、酰嘧磺隆(b)、乙氧磺隆(c) 气相色谱图

Fig. 1 - 9 The GC chromatogram of nicosulfuron(a), amidosulfuron(b), ethoxysulfuron(c)

a_1, b_1, c_1 degradation 1; a_2, b_2, c_2 degradation 2;

Ahmad I 等用二氯甲烷提取, 重氮甲烷衍生化, 弗罗里硅土柱净化, 进行农田水中氯磺隆残留的电子捕获检测器气相色谱法分析^[51]。衍生化的应用使气相色

谱法检测得以实现, 但该法操作条件需要严格控制, 否则产生非单一的衍生物, 同时重氮甲烷是一种毒性非常大的试剂。

胡先文等利用进样口较高的温度使磺酰脲类除草剂产生芳香磺酰胺, 用 GC-ECD 法检测水中甲磺隆^[52]。Berrada H 等采用固相微萃取法, 通过进样口热分解产生的氨基三嗪进行氯磺隆的 GC-NPD 和气质联用法(GC-MS-SIM)分析^[53]。吴岩等先将豆磺隆在酸性条件下水解, 再利用气质联用测定其水解产物 4-氯-6-甲氧基嘧啶胺的含量^[54]。

1.5.3 其它分析方法

随着生命科学、环境科学、新材料等科学的发展, 以及生物学、信息科学、计算机技术的引入, 使分析化学进入全新的境界, 分析研究对象越来越多的选择了DNA、蛋白质、手性药物和环境毒物等与生命活动相关的物质; 分析研究体系由简单转向复杂体系; 分析研究层次已进入了单细胞、单分子水平和立体构象, 分析研究方法除发展各类仪器分析手段之外, 开始较多的研究酶和免疫学等生物化学方法。生物测定技术以其简单、快速、灵敏、特异性强、样品量少而得到迅速发展, 酶联免疫技术、PCR技术、基因差异显示技术、生物传感器、基因探针、生物芯片等现代生物技术测定农药残留, 已成为国内外科学工作者研究的热点。检测技术日益多元化发展, 对磺酰脲类除草剂的检测也不仅限于常规的气相、液相色谱分析方法。Degelmann等对碱性土壤中氯磺隆、甲磺隆、醚苯磺隆残留的生物测定、酶联免疫吸附法(ELISA)和高效液相色谱法进行了比较^[55]。Dinelli采用毛细管电泳法将土壤中 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 水平的磺酰脲类除草剂残留检测出来^[56]。国内的谢晓梅采用毛细管电泳技术对水中磺酰脲类除草剂进行了分离检测^[57]。但是目前的生物测定分析法只能达到定性和半定量的水平, 还无法取代常规气相色谱和高效液相色谱方法, 快速检测方法还需要继续完善, 使之标准化。

以上任何一种定量分析方法, 都需要农药标准物质作为定量的基础。

第二章 嘧啶磺酰脲类除草剂的纯化方法研究

嘧啶磺酰脲类除草剂由于自身的不稳定性,原药纯度一般不超过 97 %,在常用溶剂中溶解度均较小纯化难度较大。目前已有一些提高此类化合物纯度的文献,但是仅仅局限于老品种,比如:苯磺隆、氯嘧磺隆、氯磺隆、甲磺隆等^[58~64]。一般采用实验室合成、重结晶提纯的方法,操作复杂、成本高、非有机合成人员很难实现。随着此类除草剂大面积推广使用,残留分析问题日益受到重视,但是国内只有苄嘧磺隆的实物标准物质,更缺乏新品种的标准品,严重制约了分析工作的开展。本章根据嘧啶磺酰脲类除草剂自身化学结构特点和可能的杂质,优化了此类化合物的纯化方法,对烟嘧磺隆、酰嘧磺隆、乙氧磺隆原药进行了纯化。

2.1 材料与方法

2.1.1 仪器和设备

液相色谱仪:美国 Waters 600 高压泵, Waters 2996 二极管阵列检测器,
Rheodyne 7725 i 六通阀进样器, Empower Pro 中文色谱工作站;
真空干燥箱: DZF - 6020 型, 上海一恒科技有限公司;
旋转蒸发器: RE-52A 型, 上海亚荣生化仪器厂;

2.1.2 试剂和溶液

烟嘧磺隆原药: 95.7 % (淄博新农基农药化工有限公司);
酰嘧磺隆原药: 96.72 % (连云港常泰化工有限公司);
乙氧磺隆原药: 95.62 % (连云港常泰化工有限公司);
四氢呋喃: 分析纯 99.5 % (国药集团化学试剂有限公司);
丙酮: 分析纯 99.5 % (上海森尼精细化工有限公司);
二氯甲烷: 分析纯 99 % (中国默克尔精细化学品有限公司);
甲苯: 分析纯 99.5 % (国药集团化学试剂有限公司);
无水乙醇: 优级纯 99.8 % (国药集团化学试剂有限公司);
乙酸乙酯: 分析纯 99.5 % (国药集团化学试剂有限公司);
盐酸: 36 % ~ 38 % (国药集团化学试剂有限公司);
氨水: 25 % ~ 28 % (国药集团化学试剂有限公司);

2.1.3 嘧啶磺酰脲类除草剂提纯试验

2.1.3.1 重结晶提纯

称取适量原药于烧瓶中,并加入适量的溶剂,重结晶溶剂有丙酮、乙醇、乙腈、乙酸乙酯、四氢呋喃、二氯甲烷、甲苯。边加热边搅拌制备高温饱和溶液,

30 min 后再加入 40 mL 溶剂趁热过滤，整个过程要迅速，以防止结晶析出操作无法进行。将滤液静置过夜，使其慢慢析出晶体。使用 G3 砂芯漏斗减压抽滤，并加入 20 mL 溶剂分两次洗涤晶体，以洗去晶体表面吸附的母液。将砂芯漏斗内的晶体转移到表面皿上，让溶剂自然挥发。真空干燥至恒重后，将样品用研钵研磨均匀，在 60 °C 真空干燥箱中，干燥 10 h 后贮存在避光的干燥器中，为提高纯品纯度可多次重结晶。

2.1.3.2 半制备色谱法提纯

色谱柱：Waters Symmetry C₈ (7.8 mm × 100 mm × 5 μm) 不锈钢柱；

柱温：25 °C；

流动相：乙腈，水；

流速：2 mL · min⁻¹；氮气（99.995 %）喷射鼓泡脱气；

进样体积：100 μL；

波长：237 nm。

配制原药饱和乙腈溶液，每次进样 100 μL，接取主成分保留时间前后的溶液。重复多次收集溶液，50 °C 旋干得到白色晶体，在 60 °C 真空干燥箱中，干燥 10 h。

2.1.3.3 盐析提纯

取约 5 g 原药于 250 mL 烧杯中，加入 200 mL 纯水，用氨水调节 pH 9~10，搅拌 15 min，用滤纸过滤出不溶物。再向滤液中逐渐加入 1 % 盐酸溶液调节 pH 6~7，边加边搅拌，有白色物质析出，用砂芯漏斗过滤。并用水洗涤表面残留的酸液，过滤烘干，烘干后的固体再用丙酮洗涤一次，最后用真空干燥箱干燥至恒重。

2.1.4 盐析纯品定性鉴定试验

对盐析纯化得到的除草剂纯品分别采用液相色谱保留时间、紫外、红外、质谱、核磁定性鉴定。与原药谱图做对比分析，检验除草剂在纯化过程中是否发生化学变化。

2.1.5 盐析纯品纯度测定

称取 0.1 g（精确至 0.000 2 g）纯品于 100 mL 容量瓶中，用乙腈定容，并稀释 5 倍进样，3 次重复。选用 Waters Symmetry C₈、以乙腈/水（含 20 mmol · L⁻¹ 甲酸和 10 mmol · L⁻¹ 甲酸铵）为流动相，分别在其比例为 30 : 70、40 : 60、50 : 50 时采用面积归一法计算烟嘧磺隆、啶嘧磺隆、乙氧磺隆纯品纯度。

2.2 结果与讨论

2.2.1 纯化试验结果

2.2.1.1 重结晶试验结果

在乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙腈等溶剂中重结晶烟嘧磺隆原药，面积归一法测定纯度，结果见表 2 - 1。

表 2 - 1 烟嘧磺隆原药重结晶后纯度

Tab.2 - 1 The purity of nicosulfuron technical after recrystallization

溶剂 Solvent	重结晶 n 次后的纯度 Purity after recrystallization / %		
	1	2	3
乙醇	95.05	94.37	93.38
丙酮	95.54	95.95	96.27
甲苯	96.74	97.53	97.38
乙腈	97.23	98.69	98.34
二氯甲烷	95.88	95.78	95.74
四氢呋喃	97.35	98.99	98.31
乙酸乙酯	96.56	97.29	97.63

由表中数据可知在乙醇、丙酮、甲苯、二氯甲烷、乙酸乙酯中烟嘧磺隆纯度没有明显的提高，并且溶液在加热过程中由澄清变成淡黄色，可能发生了化学反应。在乙腈及四氢呋喃中一次结晶能够提高 2 %，但三次重结晶反而低于二次结晶的纯度，可能是多次结晶导致热分解，造成的纯度降低。由于在各种溶剂中溶解度都比较小，重结晶回收率较低。

2.2.1.2 半制备色谱纯化试验结果

采用高效液相色谱法制备的纯品纯度均在 99 %以上，但只能得到几个毫克的晶体，适用于残留分析。半制备色谱纯化的样品难于满足分析工作的要求。

2.2.1.3 盐析提纯试验结果

嘧啶磺酰脲类除草剂在水中的溶解度随 pH 值变化变化较明显，表 2 - 2 列举了常用品种在水中的溶解度。由表中数据可见酸性水中此类除草剂溶解度较小，中性、碱性条件下溶解度明显增大。盐析提纯试验就是利用这一性质来完成的，可以洗去易溶于水的杂质（主要为盐），而且收率较高，烘干后再用丙酮洗去有机杂质。本文中烟嘧磺隆、酰嘧磺隆、乙氧磺隆都采用该法提纯，方法简便快捷，成本低。

表 2 - 2 部分嘧啶磺酰脲类除草剂水中的溶解度

Tab.2 - 2 The solution of some pyrimidinylsulfonyleurea herbicides in water

原药 Technicals	水 water / mg · L ⁻¹		
	pH<6	pH 6~8	pH>8
烟嘧磺隆	400	120 000	39 200
酰嘧磺隆	9	1 200	13 500
乙氧磺隆	26	1 353	7 628
氯嘧磺隆	11	1 200	—
苄嘧磺隆	2.9	120	1 200
甲嘧磺隆	8	300	—

注：“—”表示没有相关数据

2.2.2 盐析纯品定性鉴定结果

分析盐析法获得纯品的紫外、红外、质谱、核磁共振谱图，可以确定其结构未发生变化；而且主成分液相色谱保留时间与原药主成分保留时间一致，可以确定纯品在纯化过程中均未发生化学性质的变化。

2.2.3 盐析纯品的定量分析结果

表 2 - 3~2 - 5 分别为烟嘧磺隆、酰嘧磺隆、乙氧磺隆盐析法获得的纯品纯度测定结果，其纯度均大于 99 %，可用于分析方法的开发及常量分析中含量的测定。

表 2 - 3 烟嘧磺隆纯品纯度测定数据

Tab. 2 - 3 The purity data of nicosulfuron pure pesticide

样品编号 Sample No.	纯度/% purity	平均值/% Means	S _x	RSD/%
1 [#]	98.87			
2 [#]	99.37	99.12	0.353 6	0.36
3 [#]	99.09			

表 2 - 4 酰嘧磺隆纯品纯度测定数据

Tab. 2 - 4 The purity data of pure pesticide of amidosulfuron

样品编号 Sample No.	纯度/% purity	平均值/% Means	S _x	RSD/%
1 [#]	99.06			
2 [#]	99.59	99.18	0.365 1	0.37
3 [#]	98.89			

表 2 - 5 乙氧磺隆纯品纯度测定数据

Tab. 2 - 5 The purity data of pure pesticide of ethoxysulfuron

样品编号 Sample No.	纯度/% purity	平均值/% Means	S_x	$RSD/\%$
1 [#]	99.15			
2 [#]	99.56	99.35	0.205 2	0.21
3 [#]	99.34			

2.3 小结

本章探讨了嘧啶磺酰脲类除草剂的纯化方法，由于溶解度较小，热稳定性差传统的重结晶方法不能有效去除杂质。高效液相色谱制备法可以得到纯度较高的纯品，制备的量较少，难以满足要求。选择先盐析再用丙酮洗涤的方法纯化烟嘧磺隆、啶嘧磺隆、乙氧磺隆。通过波谱分析鉴定纯品，高效液相色谱保留时间确证纯化过程并未发生化学反应，面积归一法测定其纯品纯度均大于 99 %。

第三章 嘧啶磺酰脲类除草剂的波谱分析

波谱分析即研究紫外光谱、红外光谱、核磁共振波谱、质谱，简称四谱，主要用于有机化合物分子结构的鉴定。这些方法具有微量、快速、灵敏、准确等特点，成为研究与确证化合物结构及定量分析的重要工具。目前，嘧啶磺酰脲类除草剂的波谱分析还未见系统公开的报道，文献仅见 $^1\text{H-NMR}$ 的理论研究^[65]。本章对通过试验或文献等途径获得的嘧啶磺酰脲类除草剂的四大谱图进行解析，明确此类除草剂的波谱特征，为其分子结构表征、残留物筛选及定性确证工作提供理论依据。

3.1 材料与方法

3.1.1 仪器和设备

高效液相色谱仪：美国 Waters 600 高压泵，Waters 2996 二极管阵列检测器，Rheodyne 7725 i 六通阀进样器，Empower Pro 中文版色谱工作站；

红外光谱仪：德国布鲁克傅立叶变换红外光谱仪（BRUKER TENSOR - 27）；OPUS 6.5 中文版工作站；压片机：FW-4A 型，天津光学仪器厂；红外光谱仪附带的模具等；

核磁共振波谱仪：德国 BRUKER Avance-500 型；

液-质联用仪：美国 Waters 2695 - ZQ 4000；

富勒姆超纯水系统：FDY0502-E-UV。

3.1.2 试剂和溶液

乙腈：色谱纯（天津市四友精细化学品有限公司）；

甲醇：色谱纯（天津市四友精细化学品有限公司）；

甲酸：分析纯 99.5 %（国药集团化学试剂有限公司）；

溴化钾：光谱纯（天津市科密欧化学试剂有限公司）；

氘代丙酮： $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ，氘代度 99.9 %（美国 CIL 公司）；

水：自制，新鲜的用前过滤（ $0.2\mu\text{m}$ 滤膜）。

3.1.3 紫外吸收光谱试验

分别称取 0.1 g 嘧啶磺酰脲类除草剂原药于 100 mL 容量瓶中，用乙腈定容，稀释成合适的浓度注入到液相色谱系统中分离后提取获得紫外吸收光谱图。

液相色谱条件：

色谱柱：Waters RP C_{18} （ $4.6\text{ mm} \times 250\text{ mm} \times 5\mu\text{m}$ ）不锈钢柱；

填料：Symmetry Shield RP₁₈；

柱温：25 °C；
 流动相：乙腈-水；
 流速：0.8 mL · min⁻¹；氦气（99.995 %）喷射鼓泡脱气；
 进样体积：10 μL；
 采样速率：1.0；
 分辨率：1.2 nm；
 波长：195 ~ 400 nm。

3.1.4 红外吸收光谱试验

制样：在红外灯下，取大约2 mg除草剂原药与200~300 mg干燥的KBr粉末在玛瑙研钵中混匀；充分研磨，用不锈钢铲取约100 mg，均匀撒在压片模具上放到压片机上在20 MPa的压强下压制1 min，制成透明薄片，取出放于托架上，准备扫描。

扫描：分辨率：4 cm⁻¹，扫描速度：32 次 · s⁻¹，扫描范围：4 000 ~ 400 cm⁻¹。首先扫描溴化钾背景，如果溴化钾足够干燥，也可以用空气背景代替。再将托架放上扫描样品，工作站自动扣除溴化钾背景吸收，调整灵敏度，滤除杂峰即可得到样品的红外吸收谱图。

3.1.5 质谱分析试验

采用液质联用仪获得质谱图，溶液配制及液相操作条件同 3.1.3；质谱条件：

电喷雾电离：ESI+；
 锥孔电压：35 V；
 离子源温度：110 °C；
 脱溶剂气温度：180 °C；
 脱溶剂气流速（N₂）：250 L · h⁻¹；
 锥孔气流速（N₂）：60 L · h⁻¹。

3.1.6 核磁共振波谱试验条件

¹H-NMR试验：质子谱以TMS为参照，频率为500.13 MHz，谱宽10.0 Hz，296.1 数据点，重复周期为2.00 s，累加32次。

¹³C-NMR试验：碳谱以氘代丙酮为溶剂，TMS为标样，共振频率为125.77 MHz，谱宽37.59 kHz，295.7 k数据点，重复周期为30.00 s，累加1 024次。

3.2 结果与讨论

3.2.1 紫外吸收光谱特征

3 种嘧啶磺酰脲类除草剂乙腈溶液紫外吸收光谱图见图 3 - 1~3 - 3，其紫外吸

收最大波长在 236~238 nm。3 种除草剂合成时共同的中间体（亦为降解产物）为 2-氨基-4, 6-二甲氧基嘧啶，紫外吸收见图 3-4，其 B 吸收带 $\lambda_{\max} = 261.9 \text{ nm}$ ，R 吸收带 $\lambda_{\max} = 222.9 \text{ nm}$ 。当嘧啶环上连有磺酰脲基团时，由于孤对电子对与 π 电子形成 $p-\pi$ 共轭体系，导致 B 吸收带红移，精细结构简化或消失，R 吸收带被红移后的 B 带掩盖。加之溶剂效应的存在，在流动相中嘧啶磺酰脲除草剂的紫外吸收只在 235 ~ 245 nm 之间显示一个较宽吸收带，再如：氯嘧磺隆紫外最大吸收波长为 243.0 nm，吡嘧磺隆为 240.6 nm，甲嘧磺隆为 239.5 nm，苄嘧磺隆为 238.3 nm，均在此范围内。紫外光谱所能反映的只是化合物分子结构中含有某些生色团或助色团，而且受外界因素影响较大，因此仅从紫外吸收光谱难以确定物质结构，只能为该类除草剂的鉴别提供有限的信息，必须结合其它波谱分析结果才能得到可靠的结论。

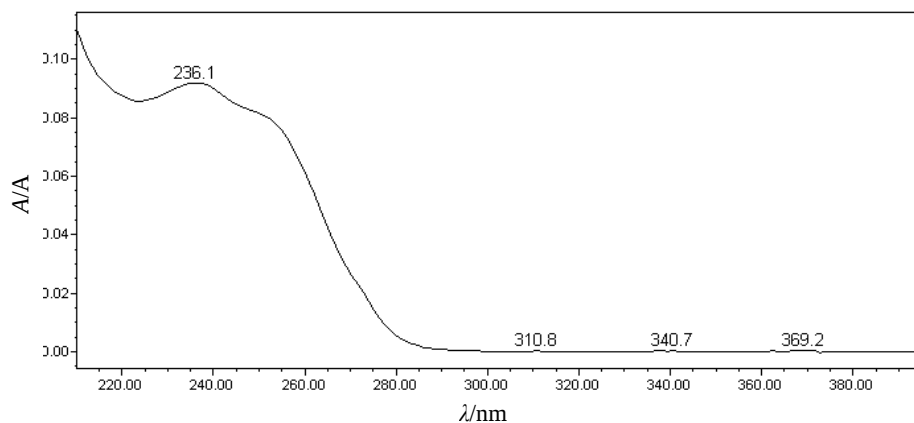


图 3 - 1 烟嘧磺隆紫外吸收光谱图
Fig. 3 - 1 The UV spectrum of nicosulfuron

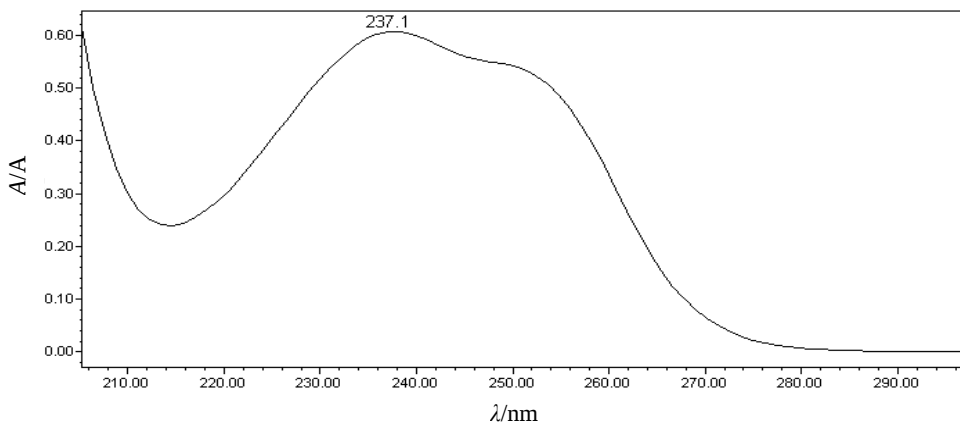


图 3 - 2 酰嘧磺隆紫外吸收光谱图
Fig. 3 - 2 The UV spectrum of amidosulfuron

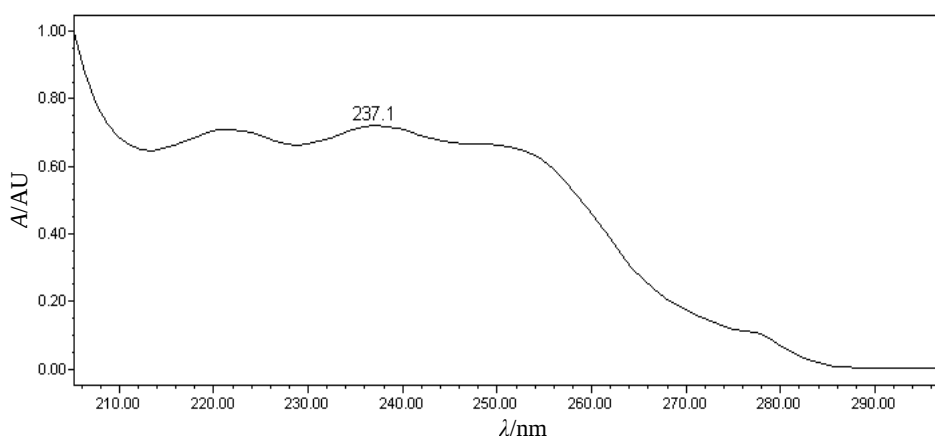


图 3 - 3 乙氧磺隆紫外吸收光谱图

Fig. 3 - 3 The UV spectrum of ethoxysulfuron

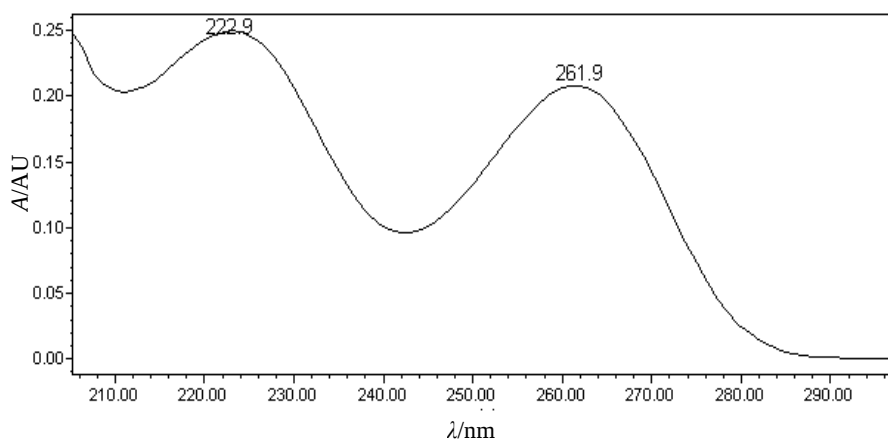


图 3 - 4 2-氨基-4,6-二甲氧基嘧啶紫外吸收光谱图

Fig. 3 - 4 The UV spectrum of 2-amino-4,6-dimethoxypyrimidine

3. 2. 2 红外吸收光谱特征

综合分析红外谱图可知（见图 3 - 5 ~ 3 - 7）：2 800~3 300 cm^{-1} 的吸收带为结构中饱和及不饱和 C-H 键的伸缩振动吸收带。约 1 720 cm^{-1} 的强峰为脲桥上 C=O 的伸缩振动吸收峰。1 360 cm^{-1} 的强峰为嘧啶环上甲氧取代基中 CH_3 的对称变形振动的吸收峰，是甲基的特征吸收，基本不受取代基的影响。1 450 cm^{-1} 为甲基的反对称变形振动吸收，有此可确认甲基的存在。1 570~1 630 cm^{-1} 强且分裂的谱带为 C=C、C=N 双键的伸缩振动吸收带。1 200 cm^{-1} 宽而强且分裂的谱带分别是 $-\text{SO}_2$ 的反对称伸缩和对称伸缩吸收带。综上所述，1 720 cm^{-1} 、1 600 cm^{-1} 双峰、1 360 cm^{-1} 、1 200 cm^{-1} 双峰等强而尖锐的峰是鉴别磺酰脲类除草剂的特征吸收。在其它嘧啶磺酰脲除草剂品种的红外谱图中同样发现，如吡嘧磺隆（1726 cm^{-1} 、1615 cm^{-1} 双峰、1351 cm^{-1} 、1219 cm^{-1} ）、苄嘧磺隆（1716 cm^{-1} 、1607 cm^{-1} 、1354 cm^{-1} 、1197 cm^{-1} ）、氯嘧磺隆（1722 cm^{-1} 、1587 cm^{-1} 、1357 cm^{-1} 、1197 cm^{-1} ）等。

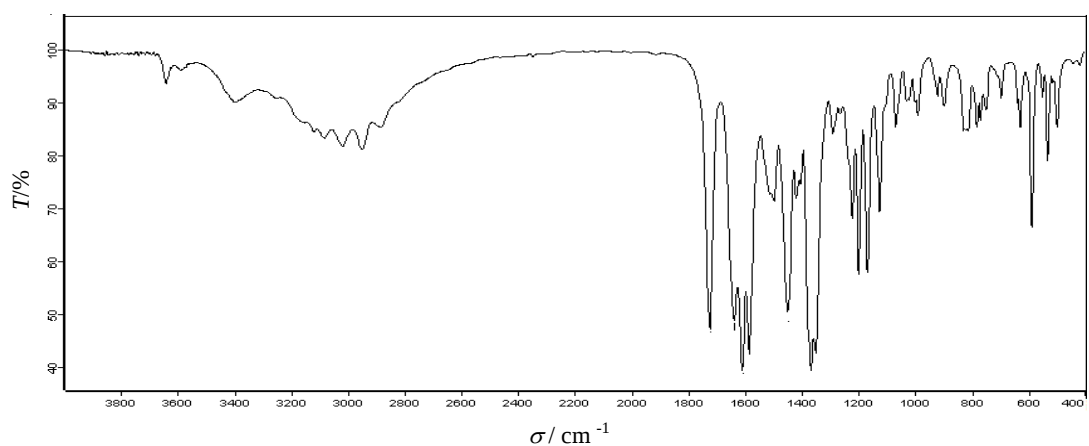


图 3 - 5 烟嘧磺隆红外吸收光谱图

Fig. 3 - 5 The IR spectrum of nicosulfuron

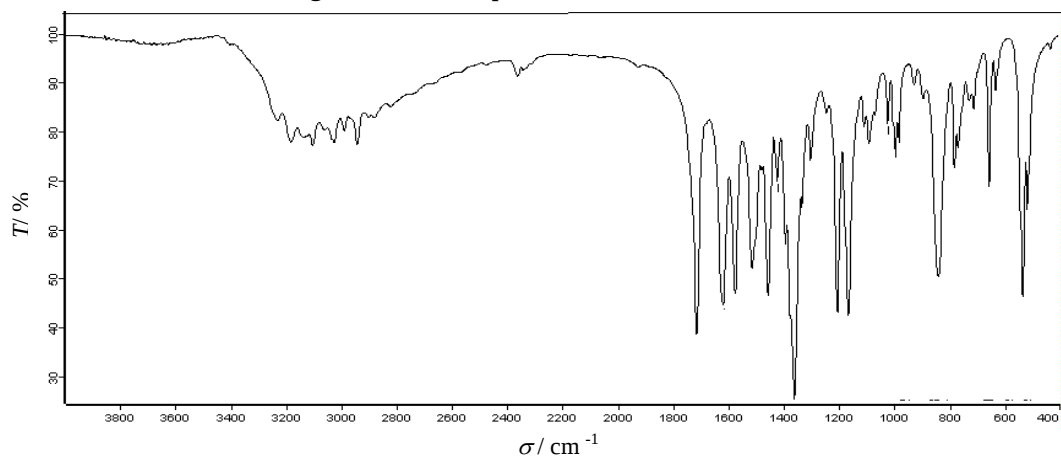


图 3 - 6 酰嘧磺隆红外吸收光谱图

Fig. 3 - 6 The IR spectrum of amidosulfuron

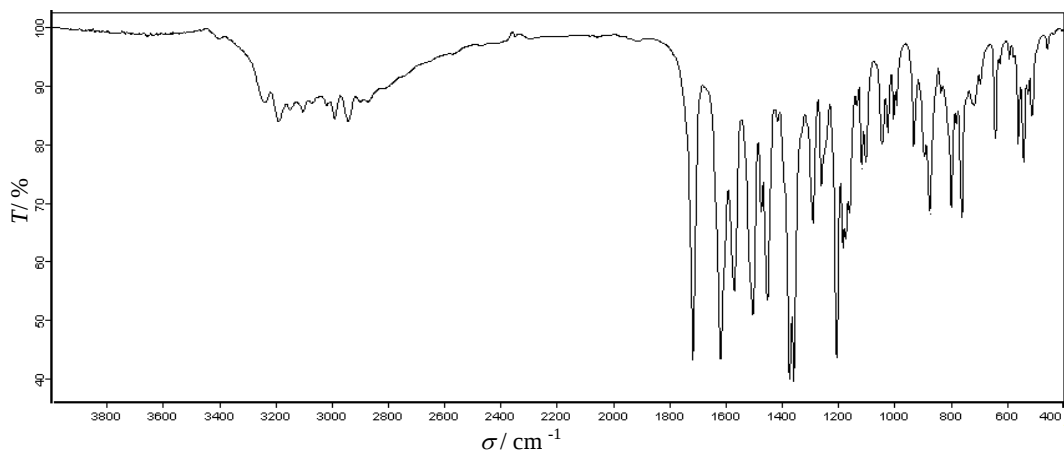


图 3 - 7 乙氧磺隆红外吸收光谱图

Fig. 3 - 7 The IR spectrum of ethoxysulfuron

3. 2. 3 质谱图及裂解规律

通过液质联用试验获得的烟嘧磺隆、酰嘧磺隆和乙氧磺隆质谱图及可能的裂解

途径（见图 3-8 ~ 3-13），其质谱裂解途径显示：脲桥非常容易断裂，形成 m/z 182 的碎片离子峰，这是嘧啶磺酰脲所共有的特征离子峰。但当脲桥中磺酰基上连有 O、N 等杂原子时，它们之间的键也很容易断裂，形成 m/z 261 的碎片离子峰也可以作为鉴定的另一个依据。从日本 SDBS 数据库查到的啉嘧磺隆、唑吡嘧磺隆的质谱图也有 m/z 182 特征峰，但其脲桥直接与杂环相连所以没有 m/z 261 的碎片离子峰，符合此规律。

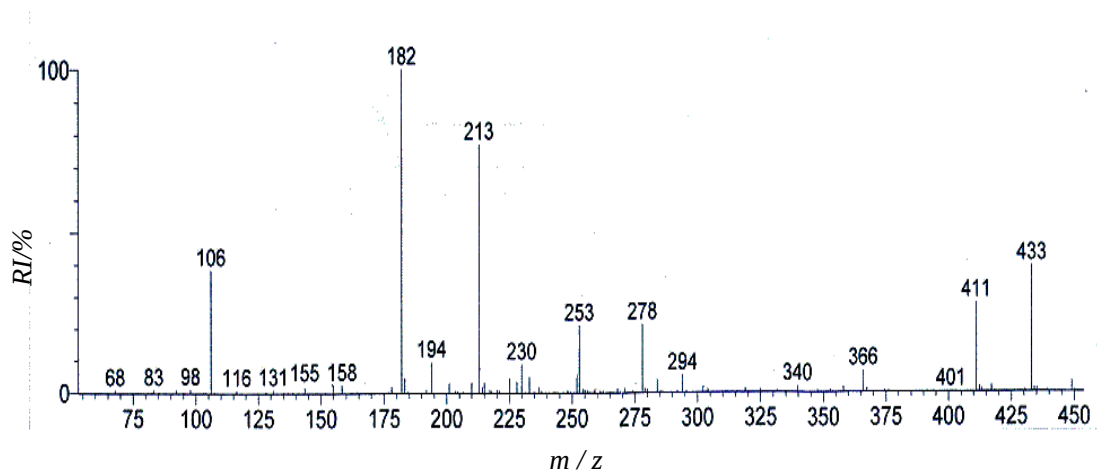


图 3-8 烟嘧磺隆质谱图

Fig. 3-8 The mass spectrum of nicosulfuron

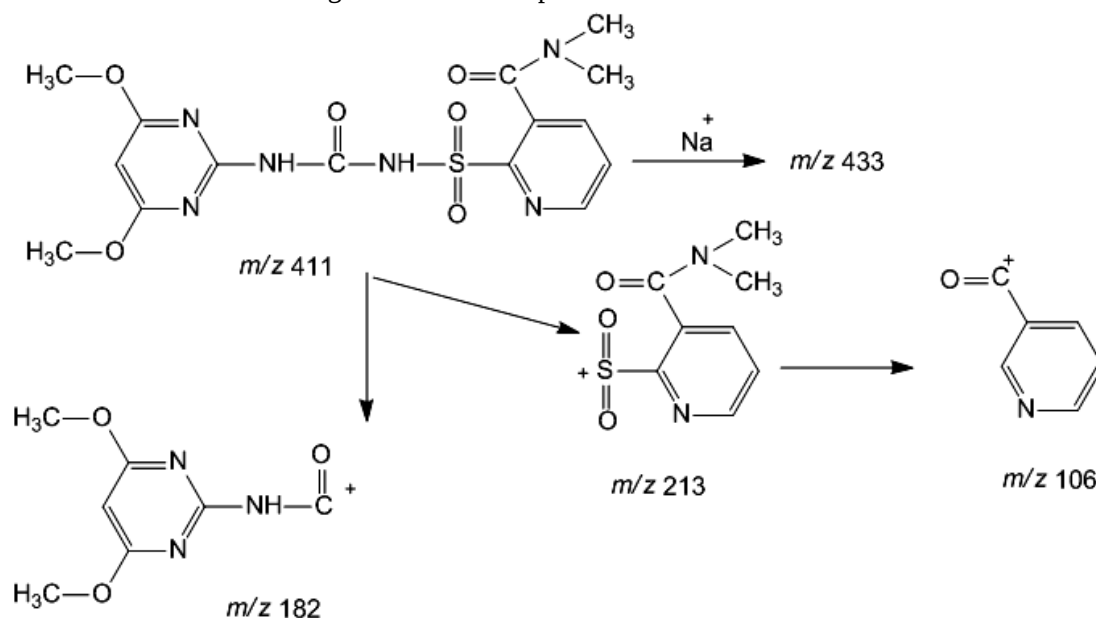


图 3-9 烟嘧磺隆质谱分析时可能的裂解途径

Fig. 3-9 Possible fragment pathway of nicosulfuron by mass spectrum

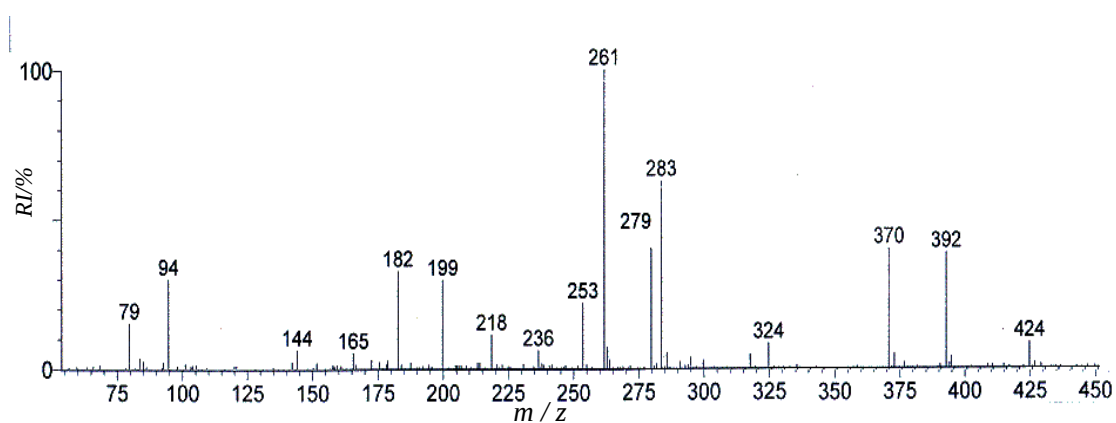


图 3 - 10 酰嘧磺隆样质谱图

Fig. 3 - 10 The mass spectrum of amidosulfuron

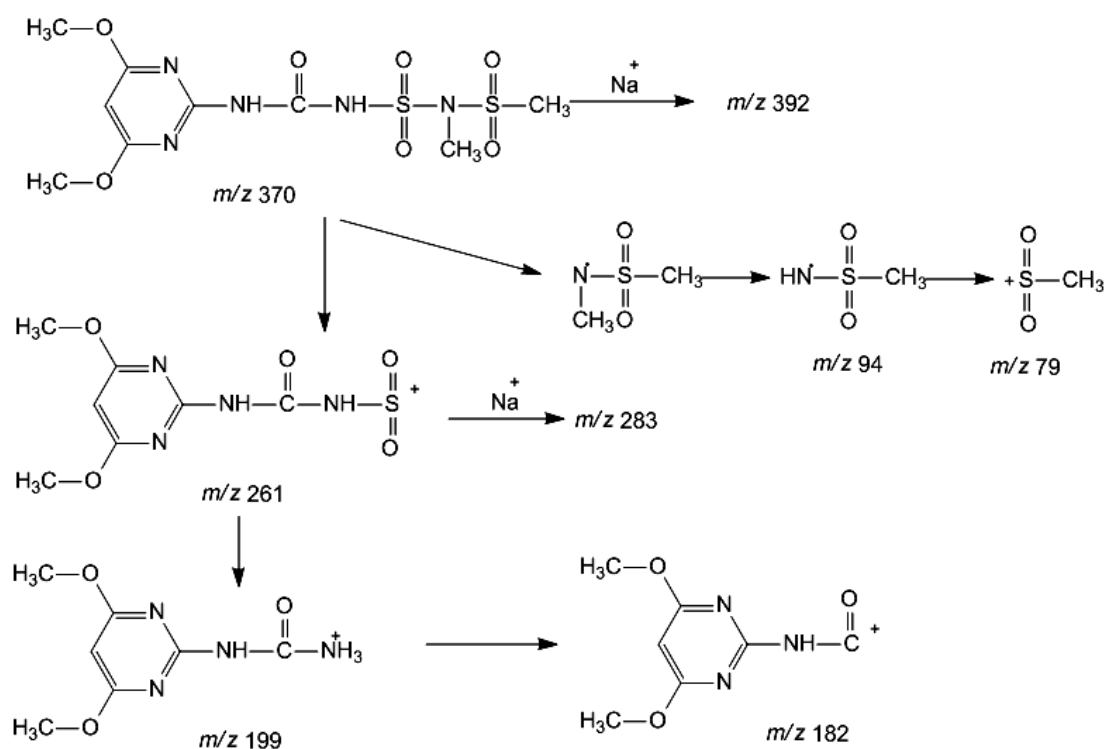


图 3 - 11 酰嘧磺隆质谱分析时可能的裂解途径

Fig. 3 - 11 Possible fragment pathway of amidosulfuron by mass spectrum

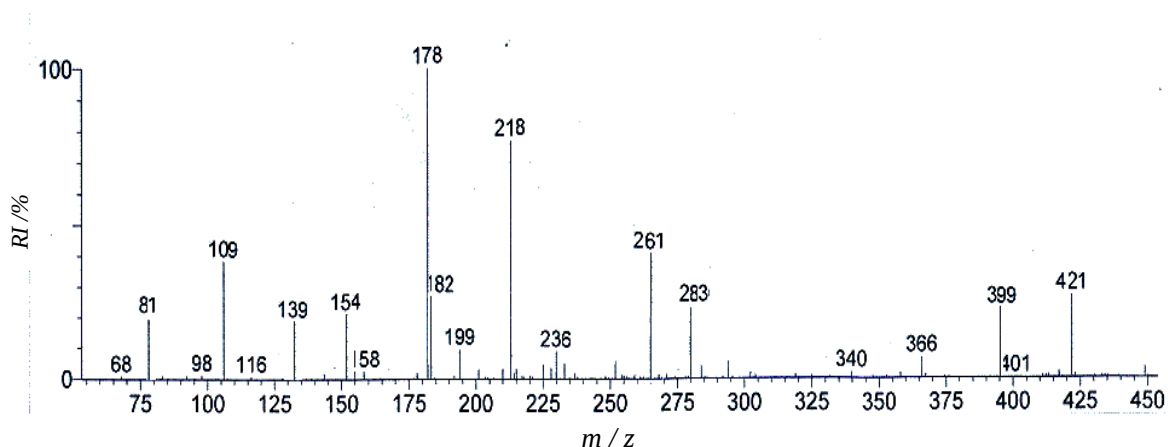


图 3 - 12 乙氧磺隆质谱图

Fig. 3 - 12 The mass spectrum of ethoxysulfuron

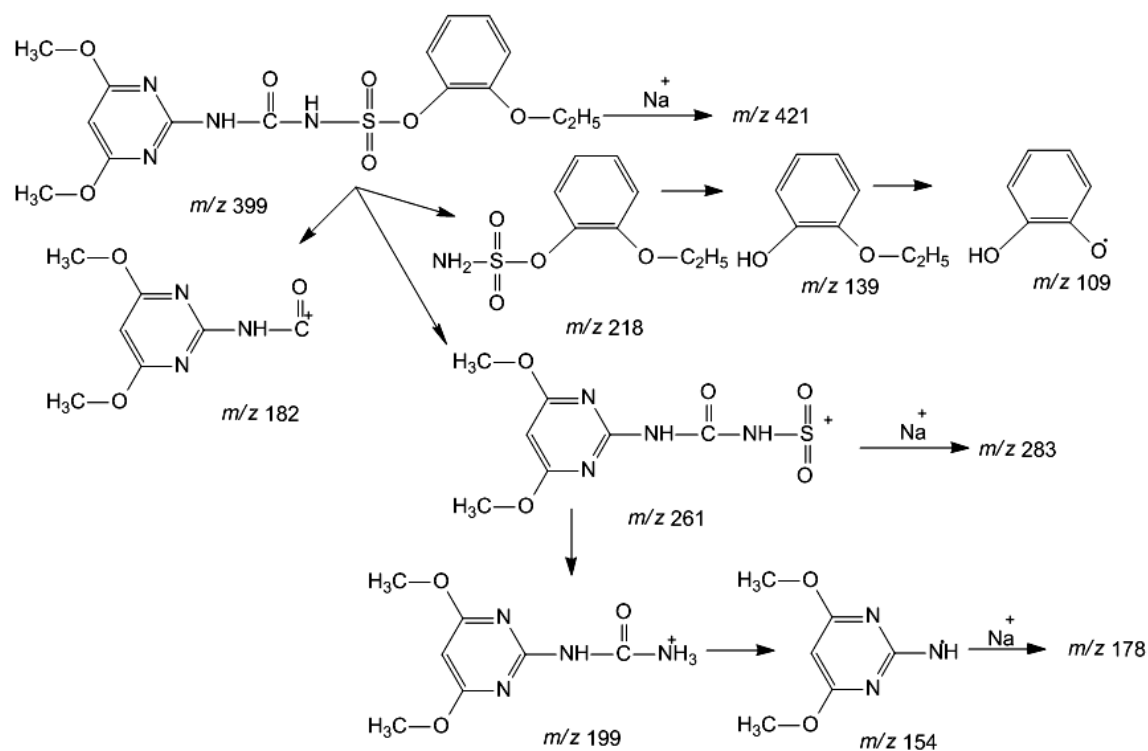


图 3 - 13 乙氧磺隆质谱分析时可能的裂解途径

Fig. 3 - 13 Possible fragment pathway of ethoxysulfuron by mass spectrum

3.2.4 核磁共振波谱分析

3.2.4.1 ^1H -NMR

对比烟嘧磺隆、酰嘧磺隆和乙氧磺隆的 ^1H -NMR 波谱图（见图 3 - 14 ~ 3 - 16），总结出嘧啶磺酰脲类除草剂的特征峰：嘧啶环上 2 个甲氧基的 H 为 δ_{H} 3.9，嘧啶环上 $=\text{C}-\text{H}$ 的 H 为 δ_{H} 5.9，酰胺中 $-\text{N}-\text{H}$ 的 H 为 δ_{H} 9.6，磺酰胺中 $-\text{N}-\text{H}$ 的 H 约为 δ_{H} 13.0。另外，啶嘧磺隆 ^1H -NMR 波谱中存在： δ_{H} 3.9、 δ_{H} 6.0、 δ_{H} 10.7，唑吡嘧磺隆 ^1H -NMR

波谱中存在： $\delta_H 3.8$ 、 $\delta_H 5.4$ 、 $\delta_H 8.7$ ，由于溶剂的不同化学位移略有变化。

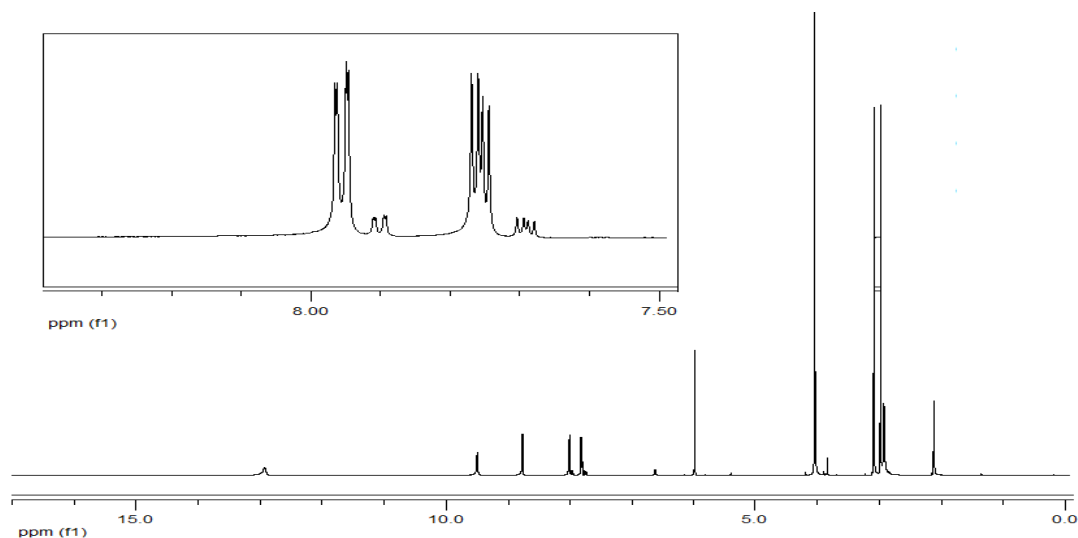


图 3 - 14 烟嘧磺隆 ^1H -NMR 波谱图

Fig. 3 - 14 The ^1H -NMR spectrum of nicosulfuron

解析：化学位移 $\delta_H 2.0$ 为溶剂丙酮中 $-\text{CH}_3$ 的 H， $\delta_H 2.8$ 、 $\delta_H 3.0$ 为 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 中甲基的 H，由于 N 原子中孤对电子的影响，两组甲基中 H 的化学位移略有差别。 $\delta_H 3.9$ 为嘧啶环上甲氧基的 H， $\delta_H 5.9$ 为嘧啶环上 $=\text{C}-\text{H}$ 的 H。 $\delta_H 7.6$ 、 $\delta_H 7.9$ 分别为吡啶环上取代基对位和间位的 $=\text{C}-\text{H}$ 的 H， $\delta_H 8.7$ 为吡啶环上 $\text{N}=\text{C}-\text{H}$ 的 H。 $\delta_H 9.6$ 为酰胺中 $-\text{N}-\text{H}$ 的 H， $\delta_H 12.9$ 为磺酰胺中 $-\text{N}-\text{H}$ 的 H。

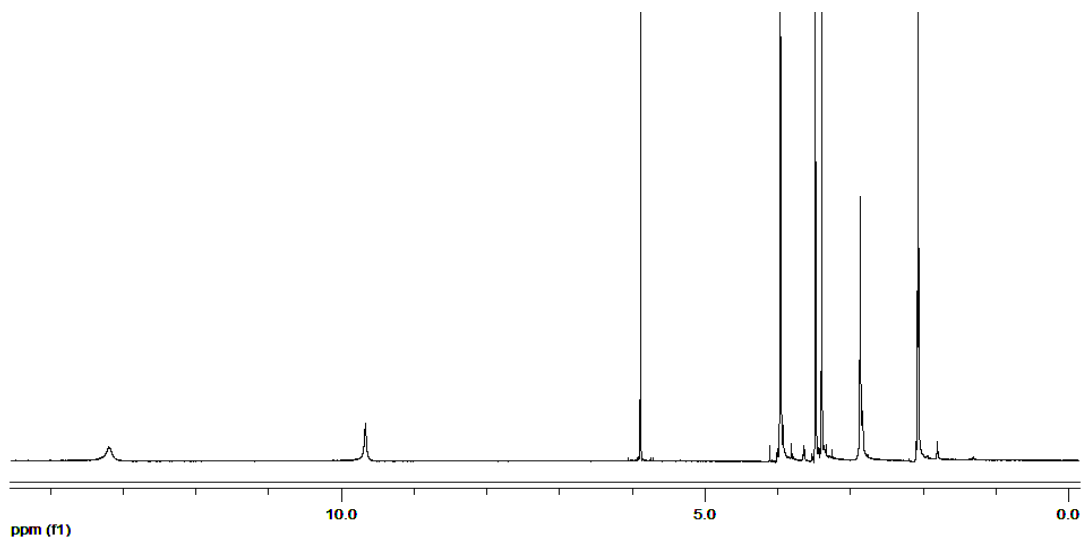


图 3 - 15 酰嘧磺隆 ^1H -NMR 波谱图

Fig. 3 - 15 The ^1H -NMR spectrum of amidosulfuron

解析：化学位移 $\delta_H 2.0$ 为溶剂丙酮中 $-\text{CH}_3$ 的 H， $\delta_H 3.4$ 为 $-\text{N}-\text{CH}_3$ 的 H， $\delta_H 3.5$ 为 $-\text{SO}_2-\text{CH}_3$ 的 H。 $\delta_H 3.9$ 为嘧啶环上甲氧基的 H， $\delta_H 5.9$ 为嘧啶环上 $=\text{C}-\text{H}$ 的 H。 $\delta_H 9.6$ 为酰胺中 $-\text{N}-\text{H}$ 的 H， $\delta_H 12.9$ 为磺酰胺中 $-\text{N}-\text{H}$ 的 H。

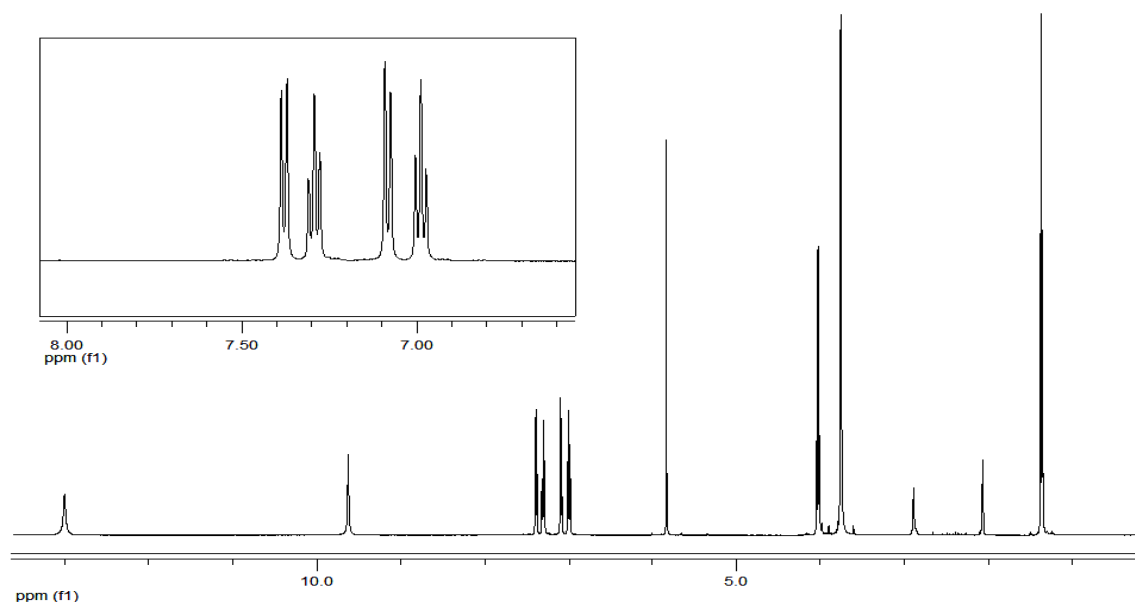

 图 3 - 16 乙氧磺隆 ^1H -NMR 波谱图

 Fig. 3 - 16 The ^1H -NMR spectrum of ethoxysulfuron

解析：化学位移 δ_{H} 1.3 为苯环上乙氧基中 $-\text{CH}_3$ 的 H，裂分为三重峰。 δ_{H} 2.0 为溶剂丙酮中 $-\text{CH}_3$ 的 H。 δ_{H} 3.9 为嘧啶环上 2 个甲氧基的 H。 δ_{H} 4.0 为苯环上乙氧基中 $-\text{C}-\text{H}_2-$ 的 H，由于和甲基相连裂分为四重峰； δ_{H} 5.9 为嘧啶环上 $=\text{C}-\text{H}$ 的 H， δ_{H} 6.9~7.5 的四组峰分别为苯环上 $=\text{C}-\text{H}$ 的 H， δ_{H} 9.6 为酰胺中 $-\text{N}-\text{H}$ 的 H， δ_{H} 13.0 为磺酰胺中 $-\text{N}-\text{H}$ 的 H。

3.2.4.2 ^{13}C -NMR

嘧啶磺酰脲类除草剂 ^{13}C -NMR 的特征峰为（见图 3 - 17 ~ 3 - 19）：嘧啶环上甲氧基 C 的化学位移为 δ_{C} 54.3，甲氧基邻位的 C 为 δ_{C} 84.0，氮原子之间的 C 为 δ_{C} 149.0，与甲氧基相连的 C 为 δ_{C} 156.3，以及脲桥上 $-\text{C}=\text{O}$ 的 C 为 δ_{C} 171.7。唑吡嘧磺隆磺隆 ^{13}C -NMR 波谱中主要碳峰为： δ_{C} 53.2、 δ_{C} 77.9、 δ_{C} 146.2、 δ_{C} 162.8、 δ_{C} 171.7.7，与此结论基本一致。以下为具体解析。

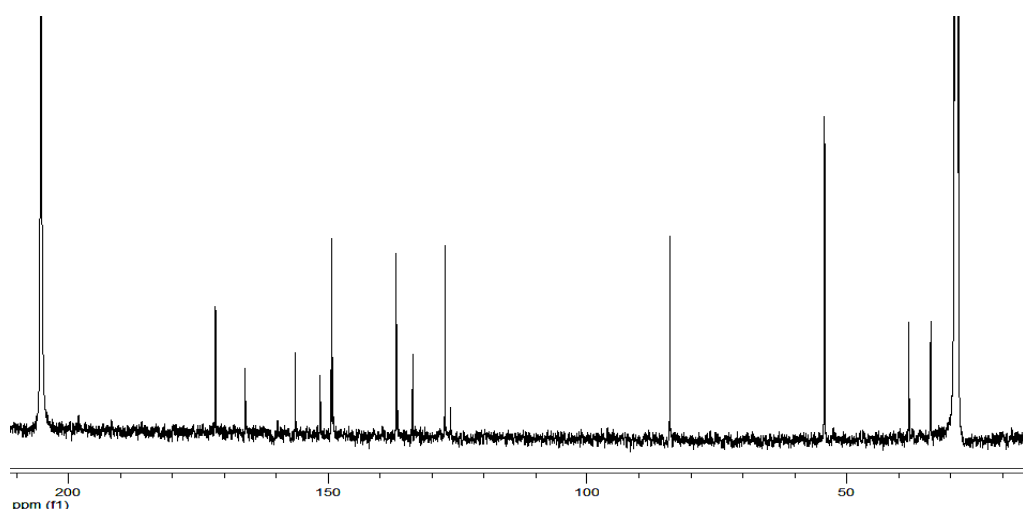


图 3 - 17 烟嘧磺隆 ^{13}C -NMR 波谱图

Fig. 3 - 17 The ^{13}C -NMR spectrum of nicosulfuron

解析: $\delta_{\text{C}} 30.0$ 、 $\delta_{\text{C}} 205.3$ 分别为丙酮中 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{C}=\text{O}$ 中的 C。 $\delta_{\text{C}} 33.8$ 、 $\delta_{\text{C}} 38.0$ 为 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 中的 C, N 原子中孤对电子的影响,使两个 C 的化学位移略有差别。 $\delta_{\text{C}} 54.4$ 为 $-\text{O}-\text{CH}_3$ 的 C, 两个甲氧基化学环境完全相同所以合并为一个峰。 $\delta_{\text{C}} 84.0$ 为嘧啶环中甲氧基邻位的 C, $\delta_{\text{C}} 149.1$ 为嘧啶环上氮原子之间的 C, $\delta_{\text{C}} 156.3$ 为嘧啶环上与甲氧基相连的 C, $\delta_{\text{C}} 171.7$ 为脲桥上 $-\text{C}=\text{O}$ 的 C, $\delta_{\text{C}} 165.9$ 为与吡啶环相连的 $-\text{C}=\text{O}$ 的 C, $\delta_{\text{C}} 151.5$ 、 $\delta_{\text{C}} 149.3$ 、 $\delta_{\text{C}} 136.8$ 、 $\delta_{\text{C}} 133.7$ 、 $\delta_{\text{C}} 127.5$ 分别为吡啶环上的 5 个 C。

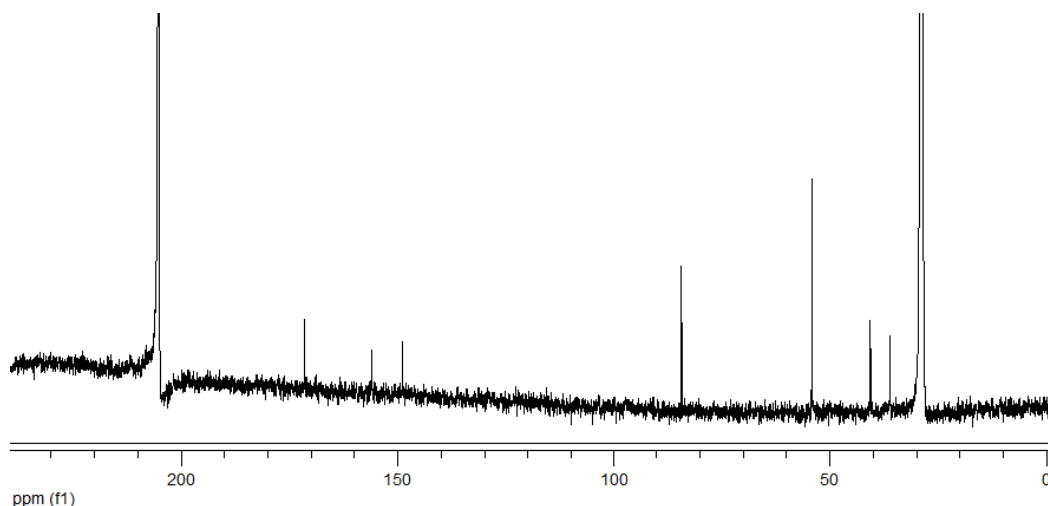
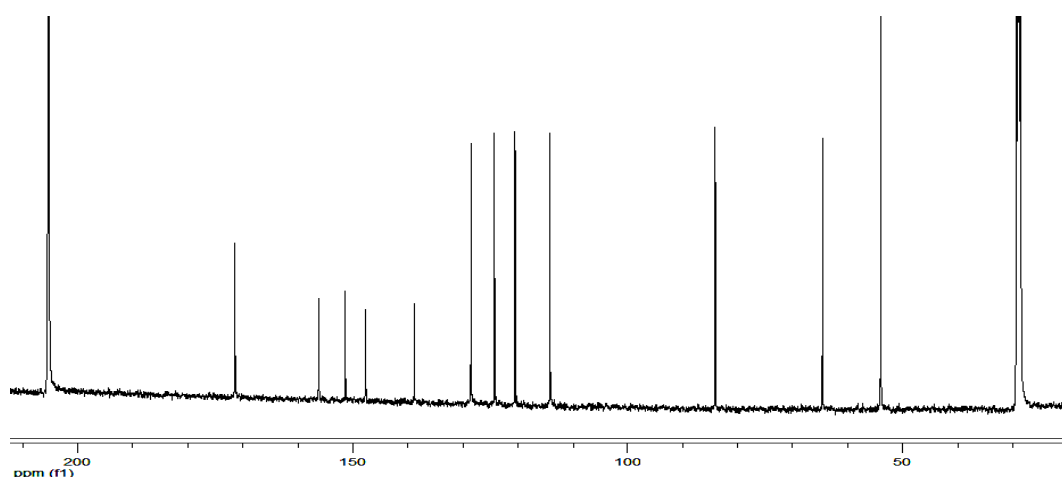


图 3 - 18 酰嘧磺隆 ^{13}C -NMR 波谱图

Fig. 3 - 18 The ^{13}C -NMR spectrum of amidosulfuron

解析: $\delta_{\text{C}} 36.1$ 为 $-\text{SO}_2-\text{N}-\text{CH}_3$ 中的 C, $\delta_{\text{C}} 40.6$ 为 $-\text{N}-\text{CH}_3$ 中的 C, $\delta_{\text{C}} 54.3$ 为嘧啶环上 $-\text{O}-\text{CH}_3$ 的 C, $\delta_{\text{C}} 84.0$ 为嘧啶环中甲氧基邻位的 C, $\delta_{\text{C}} 149.0$ 为嘧啶环上氮原子之间的 C, $\delta_{\text{C}} 156.3$ 为嘧啶环上与甲氧基相连的 C, $\delta_{\text{C}} 171.7$ 为脲桥上 $-\text{C}=\text{O}$ 的 C。

图 3 - 19 乙氧磺隆 ^{13}C -NMR 波谱图Fig. 3 - 19 The ^{13}C -NMR spectrum of ethoxysulfuron

解析： $\delta_{\text{C}} 13.8$ 为乙氧基中 $-\text{CH}_3$ 的 C， $\delta_{\text{C}} 54.4$ 为嘧啶环上 $-\text{O}-\text{CH}_3$ 的 C， $\delta_{\text{C}} 64.5$ 为 $-\text{O}-\text{CH}_2-$ 的 C， $\delta_{\text{C}} 84.0$ 为嘧啶环中甲氧基邻位的 C， $\delta_{\text{C}} 148.7$ 为嘧啶环上氮原子之间的 C， $\delta_{\text{C}} 156.2$ 为嘧啶环上与甲氧基相连的 C， $\delta_{\text{C}} 171.7$ 为脲桥上 $-\text{C}=\text{O}$ 的 C。 $\delta_{\text{C}} 151.4$ 、 $\delta_{\text{C}} 138.8$ 、 $\delta_{\text{C}} 128.5$ 、 $\delta_{\text{C}} 124.3$ 、 $\delta_{\text{C}} 120.5$ 、 $\delta_{\text{C}} 114.2$ 分别为苯环上的 6 个 C。其中 $\delta_{\text{C}} 151.4$ 为磺酸基相连的 C、 $\delta_{\text{C}} 138.8$ 为乙氧基相连的 C。

3.3 小结

本章试验测定的嘧啶磺酰脲类除草剂的紫外光谱图、红外光谱图、质谱图、核磁共振波谱图及文献获得的谱图，表征了嘧啶磺酰脲类除草剂的化学结构。此类除草剂紫外最大吸收峰位于 $235 \sim 245 \text{ nm}$ ，红外光谱图证实嘧啶环及磺酰脲桥结构的存在。通过对质谱裂解途径的推测明确了脲桥是很容易断裂的，此类除草剂特征碎片离子峰为 $m/z 182$ ，可用于残留分析的定性确证。核磁共振结果的解析明确了嘧啶磺酰脲类除草剂共有结构中各碳、氢的化学位移。全面的波谱分析为此类化合物结构表征、定性分析奠定了基础。

第四章 嘧啶磺酰脲除草剂的高效液相色谱分析方法研究

嘧啶磺酰脲类除草剂是由带氨基取代基的嘧啶环与芳香磺酰胺通过脲桥连接构成的，脲桥化学性质不稳定，遇热、酸碱和极性溶剂条件下易断裂，重新分解为嘧啶环与芳香磺酰胺两部分，因此气相色谱分析方法的使用受到限制。关于此类除草剂原药的液相色谱分析的文献及标准已有不少，但均未明确降解物的色谱行为，方法本身也存在欠缺^[66-69]。由于带氨基取代基的嘧啶环及芳香磺酰胺均带有强极性基团，液相色谱分析方法的开发仍需要深入研究。本章从色谱柱、样品溶剂、流动相、调节剂等方面入手开展全面的研究工作，明确嘧啶磺酰脲类除草剂及降解物的分析特点，建立准确、高效的液相色谱分析方法。

4.1 材料与方法

4.1.1 仪器和设备

仪器同 3.1.1;

色谱柱: Waters XTerraRP₁₈ (3.9 mm × 150 mm × 5 μm);
Waters Symmetry C₈ (3.9 mm × 150 mm × 5 μm);
Waters Symmetry C₁₈ (3.9 mm × 150 mm × 5 μm);
Venusil MP C₁₈ (4.6 mm × 250 mm × 5 μm);
Hypersil BDS C₁₈ (4.6 mm × 250 mm × 5 μm);
Symmetry Shield RP₁₈ (4.6 mm × 250 mm × 5 μm)。

4.1.2 试剂和溶液

甲酸: 分析纯 98 % (国药集团化学试剂有限公司);
乙酸: 分析纯 99.5 % (国药集团化学试剂有限公司);
磷酸: 优级纯 85 % (国药集团化学试剂有限公司);
三氟乙酸: 分析纯 99 % (成都科龙化工有限公司);
甲酸铵: 分析纯 99.5 % (天津市科密欧化学试剂有限公司);
正丙胺: 分析纯 99 % (天津博迪化工有限公司);
正己胺: 分析纯 99 % (天津博迪化工有限公司)。

4.1.3 嘧啶磺酰脲类除草剂高效液相色谱分析方法建立

4.1.3.1 样品溶剂选择

分别用甲醇、乙腈为溶剂配制浓度约为 1 000 mg · L⁻¹ 的原药溶液，室温静置，定时测定主成分含量。

4.1.3.2 色谱柱选择

固定流动相乙腈与水(含 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸和 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸铵), 流速为 $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 乙氧磺隆进样浓度为 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。分别选用 Waters X Terra RP₁₈、Waters Symmetry C₈、Waters Symmetry C₁₈、Venusil MP C₁₈、Hypersil BDS C₁₈、Symmetry Shield RP₁₈ 色谱柱对原药溶液进行测定, 选择分析效果最佳的色谱柱。

4.1.3.3 流动相选择

分别选用甲醇-水, 乙腈-水为流动相, 兼顾保留时间、峰形等因素, 选择合适的流动相体系。

4.1.3.4 流动相比比例优化

以乙腈与水(含 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸和 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸铵)为流动相, 选择 Waters Symmetry C₈ 色谱柱, 固定流动相流速为 $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 改变流动相中乙腈的比例为 20 %, 以 5 % 的比例逐渐增加到 60 %, 分别对原药进行分析, 选择最佳流动相比比例。

4.1.3.5 调节剂选择

固定乙腈-水为流动相, 流速为 $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 分别用甲酸、乙酸、磷酸、三氟乙酸、甲酸+甲酸铵、甲酸+正丙胺、甲酸+正己胺等为调节剂调节 pH 值, 选择最优调节剂。

4.2 结果与讨论

4.2.1 样品溶剂选择结果

由图 4 - 1~ 4 - 3 是不同时间间隔测定的烟嘧磺隆、酰嘧磺隆、乙氧磺隆甲醇溶液中主成分含量, 峰高均有不同程度的下降, 可知甲醇不适合做分析溶剂。图 4 - 4 是 3 种除草剂的乙腈溶液测定结果, 其中 a、b、c 分别为烟嘧磺隆、酰嘧磺隆、乙氧磺隆在乙腈中 0 d、7 d 的色谱峰, 通过对比可见 3 种除草剂在乙腈中是相对稳定的。在大多数情况下, 应选用乙腈作为稀释样品的溶剂。如果有一些嘧啶磺酰脲品种在乙腈中溶解度较低时, 也可以采用甲醇作为样品溶剂, 但是要特别注意定容后不能放置太长时间, 以免分解影响测定结果。

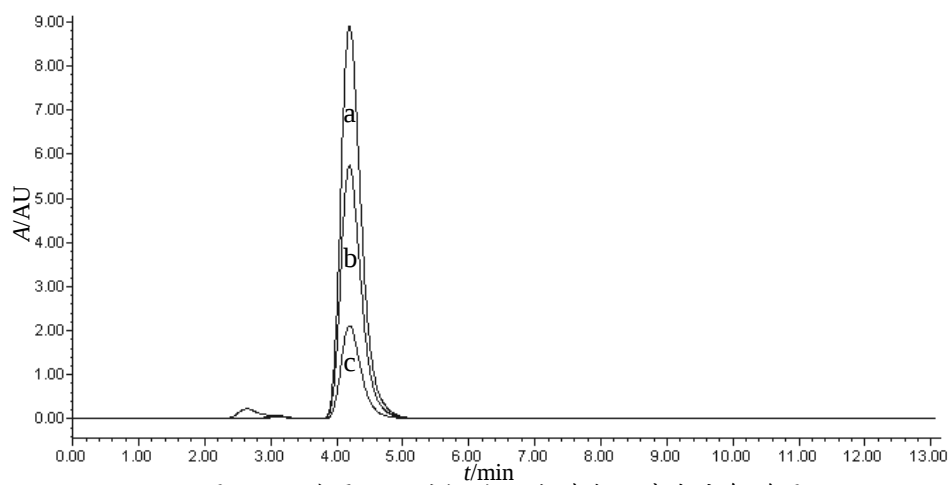


图 4 - 1 放置不同时间的烟嘧磺隆甲醇溶液色谱图

Fig. 4 - 1 Chromatograms of nicosulfuron in methanol obtained at different time
a. 0 h; b. 48 h; c. 60 d

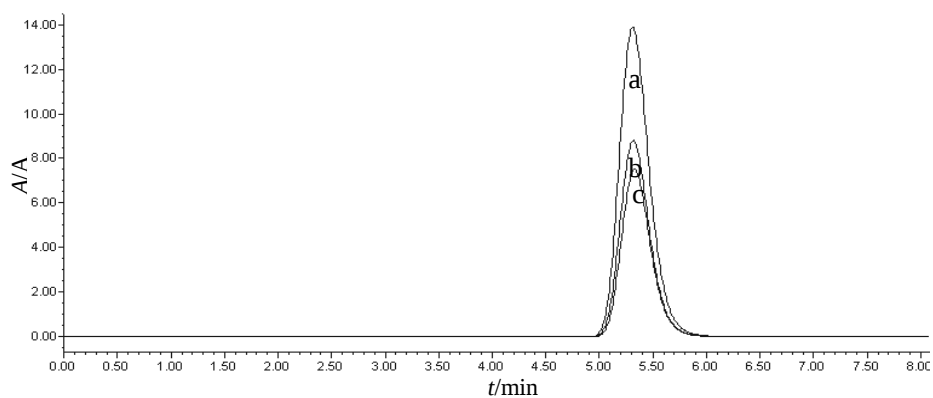


图 4 - 2 放置不同时间的酰嘧磺隆甲醇溶液色谱图

Fig. 4 - 2 Chromatograms of amidosulfuron in methanol obtained at different time
a. 0 h; b. 48 h; c. 60 h

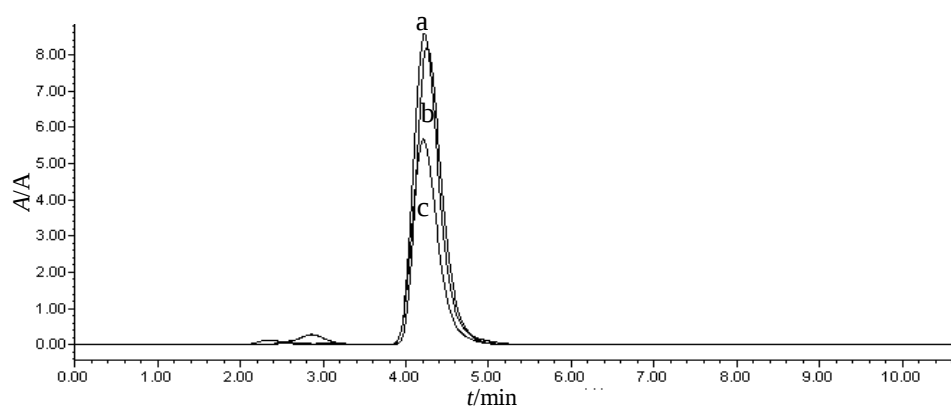


图 4 - 3 放置不同时间的乙氧磺隆甲醇溶液色谱图

Fig. 4 - 3 Chromatograms of ethoxysulfuron in methanol obtained at different time
a. 0 h; b. 8 h; c. 48 h

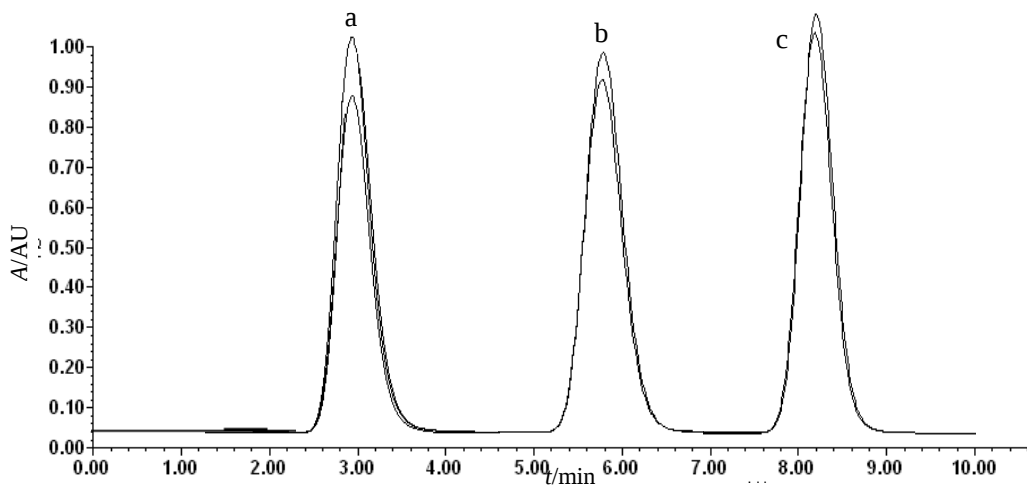


图 4-4 放置 0 天、7 天的 3 种嘧啶磺酰脲除草剂乙腈溶液色谱图

Fig. 4-4 Chromatograms of three pyrimidinylsulfonyleurea herbicides in acetonitrile obtained at 0 d, 7 d
a. nicosulfuron; b. amidosulfuron; c. ethoxysulfuron

4.2.2 色谱柱选择结果

分别采用 Venusil MP C₁₈、Hypersil BDS C₁₈、Symmetry Shield RP₁₈ 色谱柱分析乙氧磺隆原药工作溶液，由图 4-5 可见 25 cm 的色谱柱峰型较差，不适合该除草剂的分离分析。因此改用 15 cm 的短柱分析，在 Waters XTerraRP₁₈、Waters Symmetry C₈、Waters Symmetry C₁₈ 色谱柱上获得的乙氧磺隆色谱图见图 4-6。由图可知：Waters XTerraRP₁₈ 色谱峰有明显脱尾；Waters Symmetry C₁₈ 峰型有显著改善，但仍然不如 Waters Symmetry C₈，而且无法将 2 个降解产物分离。Waters Symmetry C₈ 上获得的色谱峰峰型尖锐，对称性好，且响应值较高，对降解产物的分离效果较好，因此选用 Waters Symmetry C₈。这个选择与 FAO 标准中色谱柱的选择是一致的^[70]。采用 C₁₈ 柱可以开展对主成分的分析测定，但是无法做到嘧啶磺酰脲类除草剂主成分和全部降解产物的分离。

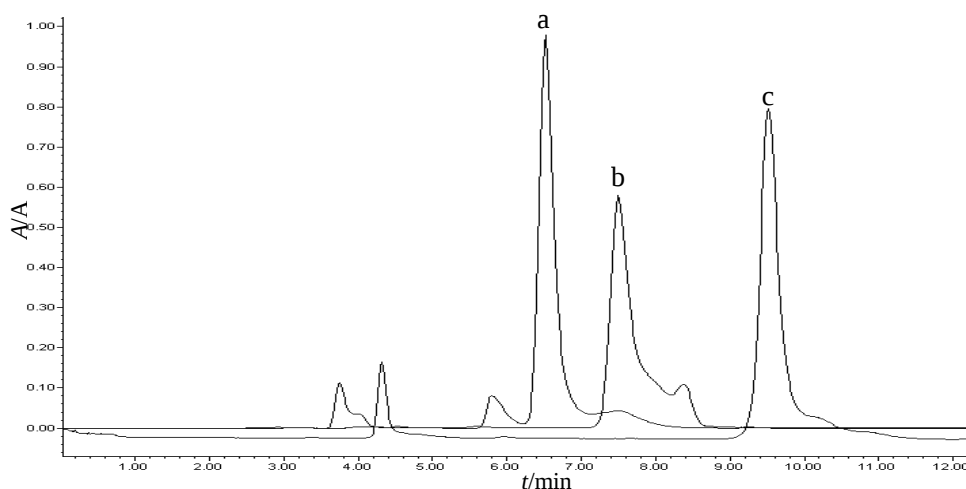


图 4-5 嘧啶磺酰脲除草剂长柱分析色谱图

Fig. 4 - 5 Chromatograms of pyrimidinylsulfonylurea herbicides obtained in long columns

a. Venusil MP C₁₈; b. Hypersil BDS C₁₈; c. Symmetry Shield RP₁₈

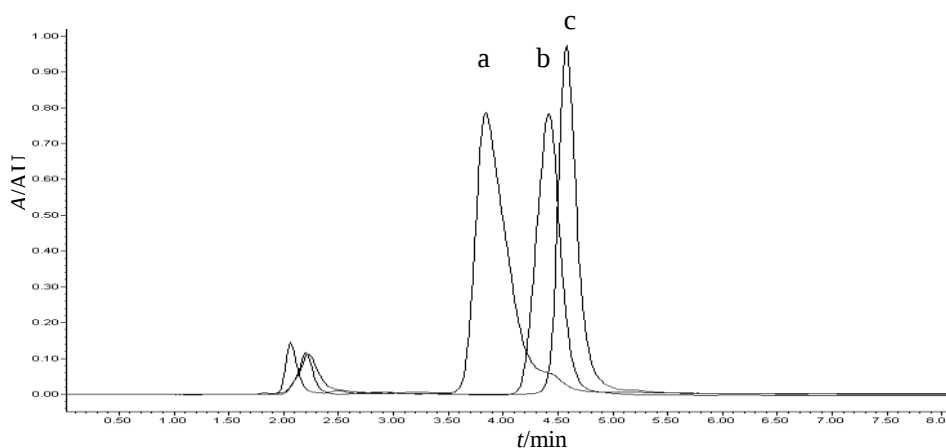


图 4-6 嘧啶磺酰脲除草剂短柱分析色谱图

Fig. 4 - 6 Chromatograms of pyrimidinylsulfonylurea herbicides obtained in short columns

a. Waters XTerraRP₁₈; b. Waters Symmetry C₁₈; c. Waters Symmetry C₈

4.2.3 流动相优化结果

图 4-7 中色谱峰，随着甲醇比例的增大，组分保留时间缩短，可知增加有机溶剂的含量有利于组分的流出。但由于样品在甲醇-水流动相体系中极易解离，造成色谱峰严重变形拖尾；换用 55 % 的乙腈后峰形得到明显的改善，如图 4-8 所示。这是因为样品在乙腈-水体系中的解离相对较弱，比较适合于嘧啶磺酰脲类除草剂的分析。因此烟嘧磺隆、酰嘧磺隆、乙氧磺隆均选择乙腈-水做流动相。

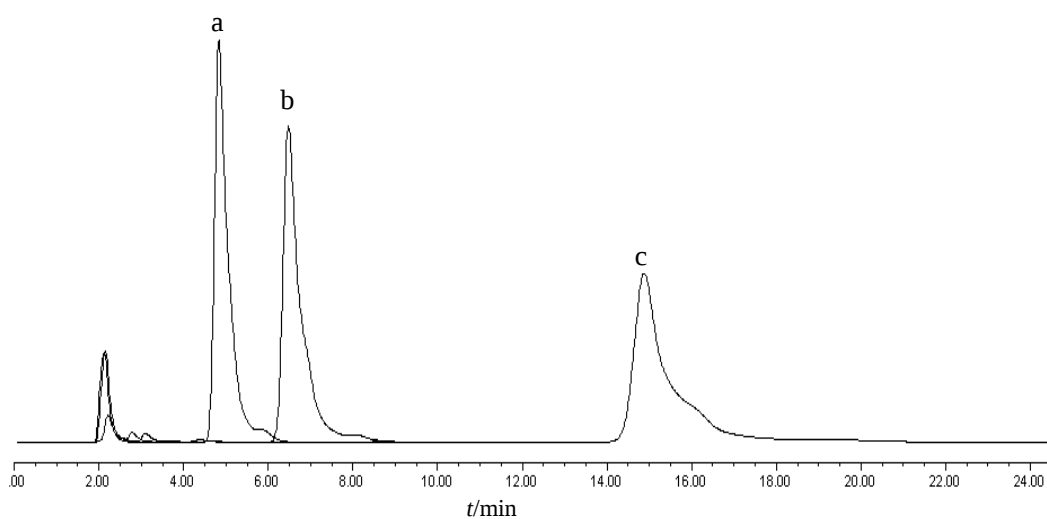


图 4 - 7 不同比例的甲醇为流动相时乙氧磺隆色谱图

Fig. 4 - 7 Chromatograms of ethoxysulfuron obtained in methanol as mobile phase

a. 70 % ; b. 60 % ; c. 55 %

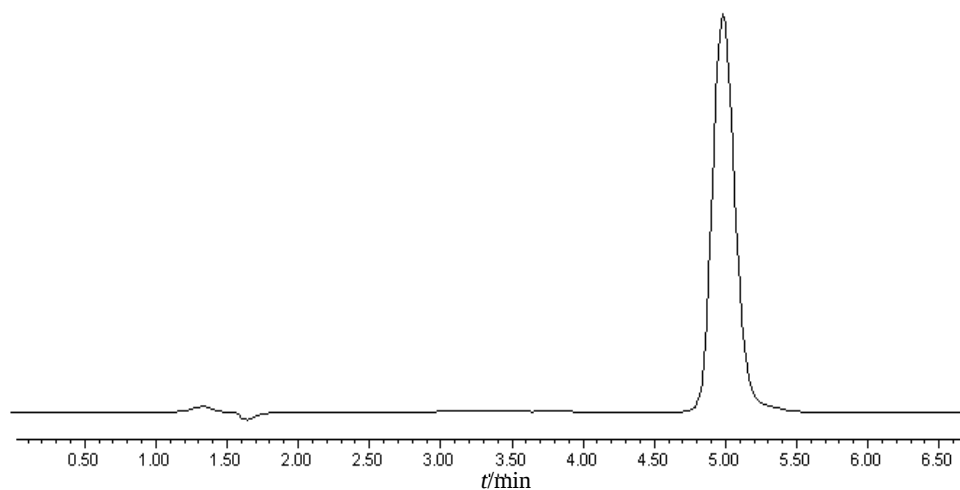


图 4 - 8 55 %乙腈为流动相时乙氧磺隆色谱图

Fig. 4 - 8 Chromatograms of ethoxysulfuron obtained in 55 % acetonitrile

4. 2. 4 流动相比比例优化结果

由图 4 - 9 可知当乙腈体积为 20 % 时，烟嘧磺隆与其降解产物可以有效地分离，此比例可用于降解产物及杂质的分析。如果只分析主成分的含量可以将乙腈比例适当提高为 30 %，缩短主成分的保留时间，以节省分析时间。

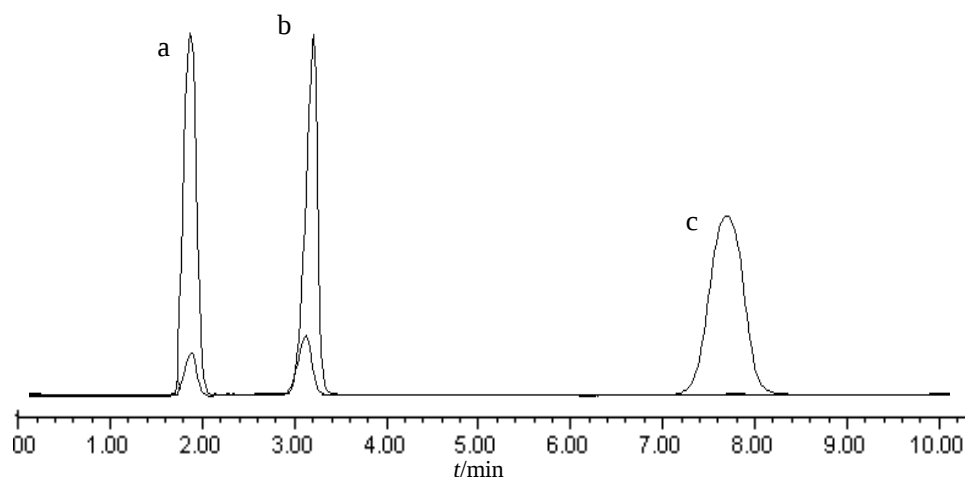


图 4 - 9 烟嘧磺隆及其降解产物色谱分离图 (20 %乙腈)

Fig. 4 - 9 Chromatograms of nicosulfuron and its degradations obtained in 20 % acetonitrile

a. degradation 1; b. degradation 2; c. nicosulfuron

图 4 - 10~ 4 - 11 均是在乙腈含量为 40 % 的流动相中获得的酰嘧磺隆及其降解产物的分离图, 其中 4 - 9 是二极管阵列检测器得到的, 只有降解产物 1 和酰嘧磺隆。脲桥断裂形成的降解产物 2 由于没有紫外吸收, 不能被检测到。图 4 - 11 是蒸发光散射检测器获得的色谱图, 可以看到降解产物 2 的保留时间较酰嘧磺隆长。而降解产物 1 由于容易挥发, 在蒸发光散射检测器上没有信号。酰嘧磺隆在流动相中乙腈含量为 40 % 时, 能和降解产物分离开, 而且保留时间适中, 可在此流动相条件下定量分析。

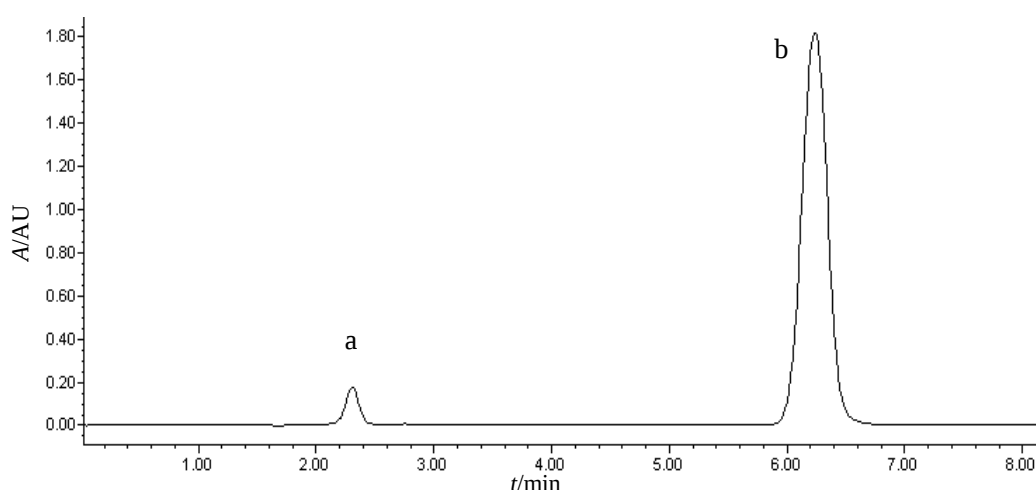


图 4 - 10 酰嘧磺隆与降解物 1 的色谱分离图 (40 %乙腈)

Fig. 4 - 10 Chromatograms of amidosulfuron and degradation 1 obtained in 40 % acetonitrile

a. degradation 1; b. amidosulfuron

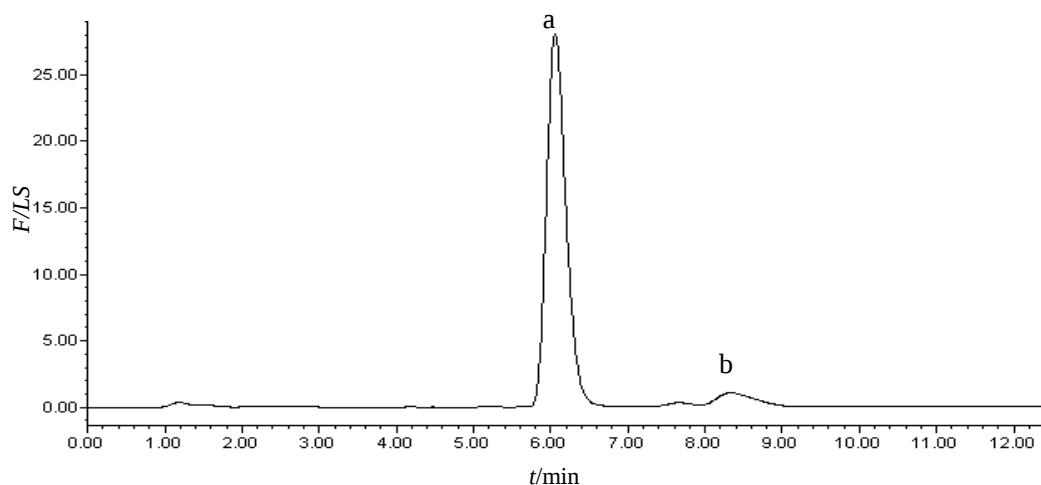


图 4 - 11 酰嘧磺隆与降解物 2 的色谱分离图 (40 %乙腈)

Fig. 4 - 11 Chromatograms of amidosulfuron and degradation 2 obtained by ELSD
in 40 % acetonitrile

a. amidosulfuron; b. degradation 2

图 4 - 12 是乙腈比例为 50 % 时乙氧磺隆及其降解物的色谱分离图，两降解产物保留时间小于 4 min，分离度较好，此条件可用于降解产物的监测。如果只检测主成分乙氧磺隆可将乙腈比例提高为 55 %，则主成分保留时间在 6 min 之内。

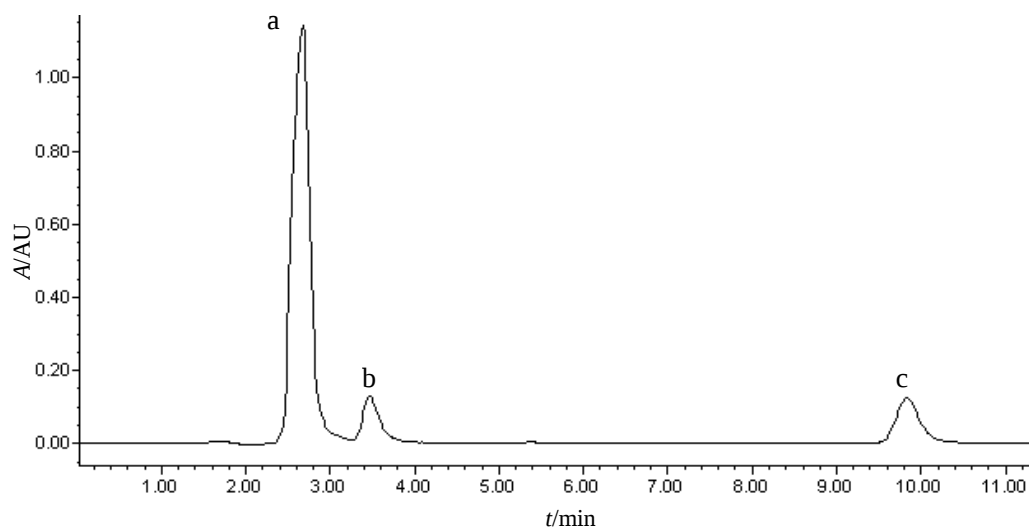


图 4 - 12 乙氧磺隆与降解物的色谱分离图 (50 %乙腈)

Fig. 4 - 12 Chromatograms of ethoxysulfuron and degradation 2 obtained in 50 % acetonitrile

a. degradation 1; b. degradation 2; c. ethoxysulfuron

4. 2. 5 调节剂选择结果

磺酰脲类除草剂本身具有弱酸性，其 pK_a 在 3.3~5.2 之间，在水中易解离，色谱峰变宽拖尾，加酸可以抑制其解离，有效地改善峰形（见图 4 -13）。

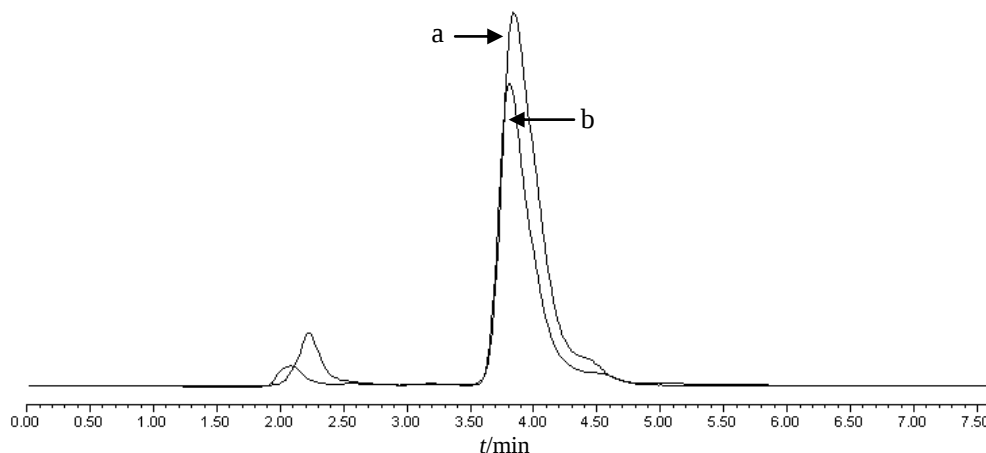


图 4 - 13 乙酸浓度对乙氧磺隆色谱图的影响

Fig. 4 - 13 Effect of the concentration acetic acid to chromatogram of ethoxysulfuron

a. $17 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; b. $34 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

改变流动相水中乙酸的浓度发现：随乙酸浓度的增加，峰形有所改善，但对称性仍然不好。这是因为只有流动相 $\text{pH} \leq \text{pka}$ 时才能有效地抑制解离，而乙酸为一元酸酸性较弱， pka 为 4.8，不能满足要求应该选择更强的酸。

图 4 -14 是 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸、 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸、 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 三氟乙酸做调节剂时的色谱图，峰形均较好，但磷酸不适于蒸发光散射检测器，三氟乙酸基线噪音较大，最后选择甲酸。

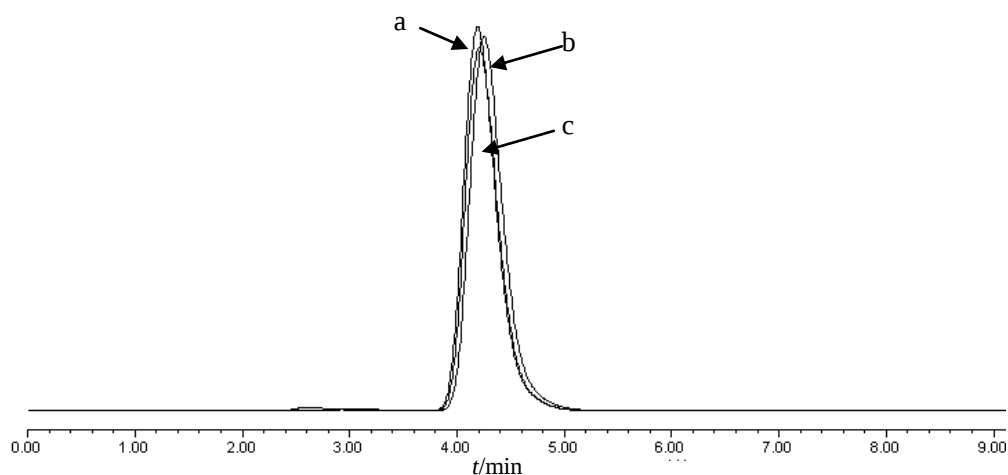


图 4 - 14 不同种类的酸对乙氧磺隆色谱图的影响

Fig. 4 - 14 The effect of acid to chromatogram of ethoxysulfuron

a. formic acid; b. phosphoric acid; c. trifluoroacetic acid

图 4 -15 为甲酸、甲酸+甲酸铵为调节剂的乙氧磺隆色谱图。其中 A 为甲酸调节时的色谱图，由于降解产物 1、2 极性较大，在 C_8 柱上保留时间较短，不能完

全分离开。考虑采用离子对的方式增加其保留能力，将两个降解产物分离开。B 为甲酸和甲酸铵为调节剂时的色谱图，当甲酸含量为 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时，峰形较好。

pH 值 2~3 嘧啶磺酰脲类除草剂的解离受到了抑制，但极性较大的降解产物仍为解离状态，能与甲酸铵结合形成离子对，增加了保留值，进而将两种降解产物完全分离。

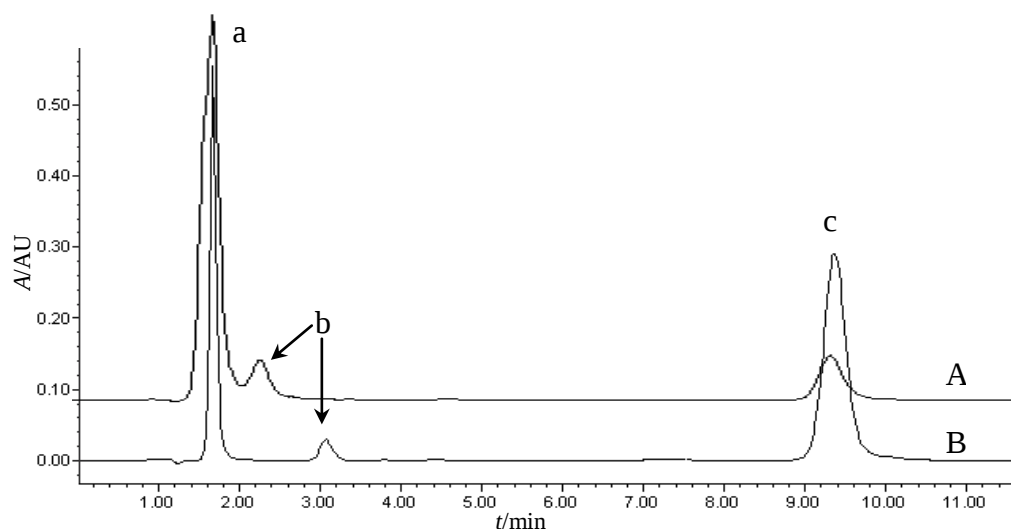


图 4 - 15 甲酸 (A)、甲酸铵缓冲液 (B) 为调节剂的乙氧磺隆色谱图

Fig. 4 - 15 Chromatograms of ethoxysulfuron in different regulators formic acid (A);

formic acid + ammonium formate (B)

a degradation1; b degradation2; c ethoxysulfuron

图 4 - 16 分别选甲酸铵、正丙胺、正己胺为离子对试剂时降解产物 1 的乙氧磺隆色谱图。随着铵盐碳链的增长降解产物 1 保留时间增加，更有利于组分的分离。兼顾峰形和保留时间选择甲酸和甲酸铵的溶液做调节剂。

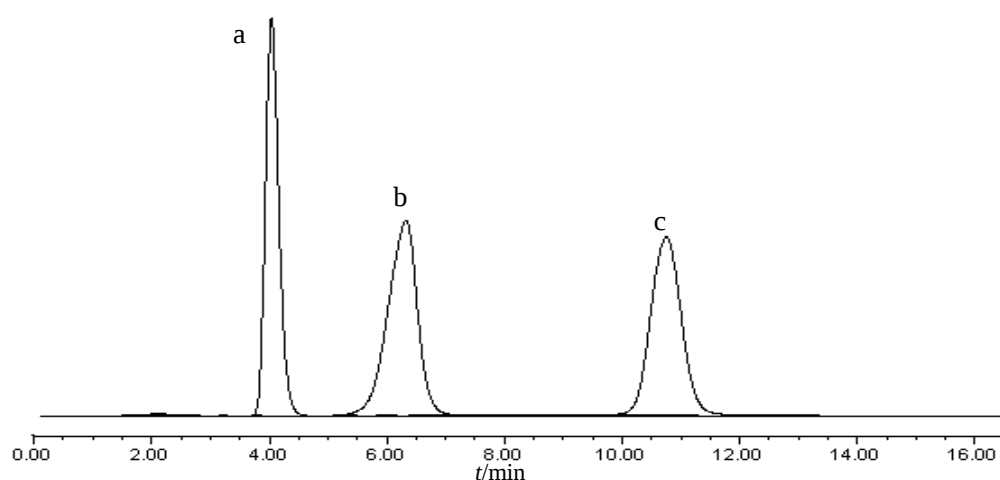


图 4 - 16 不同胺溶液体系下的乙氧磺隆色谱图

Fig. 4 - 16 Chromatograms of ethoxysulfuron in different buffer system

a. formic acid + ammonium formate; b. formic acid + propylamine; c. formic acid + hexylamine

4.3 小结

本章建立了嘧啶磺酰脲类除草剂的高效液相色谱方法，乙腈为样品溶剂的最佳选择，C₈柱比 C₁₈ 柱更适合用于分析此类物质，乙腈/水做流动相，20 mmol · L⁻¹ 甲酸和 10 mmol · L⁻¹ 甲酸铵做为调节剂，既抑制了主成分的解离又以离子对的方式将极性较强的降解产物分离开。优化了烟嘧磺隆、酰嘧磺隆、乙氧磺隆最佳的流动相比例，明确了主成分及降解物的保留特性。为其它嘧啶磺酰脲类除草剂分析方法的建立奠定扎实基础。

第五章 烟嘧磺隆及其降解产物的高效液相色谱分析

烟嘧磺隆系日本石原产业公司发现,与杜邦公司联合开发的磺酰脲类除草剂。属于支链氨基酸合成抑制剂,可防除一年生和多年生禾本科杂草及某些阔叶杂草。烟嘧磺隆是玉米专用除草剂,苗后茎叶处理,由于用量低,效果好,对玉米安全,使用较为广泛^[71]。2007 年烟嘧磺隆的专利到期后,我国原药生产登记火爆,仍然是除草剂市场的热点。文献中原药和制剂的分析现多为采用外标法定量^[72-73],乙酸的流动相体系。FAO 标准提供的高效液相色谱分析方法,所用内标物二苯甲基脲市场上难购买到,且价格昂贵^[70]。本章为烟嘧磺隆原药分析将选择更加普遍易得的内标物,并且明确两个降解产物的分离条件。

5.1 材料与方法

5.1.1 仪器和设备

同 3.1.1

5.1.2 试剂和溶液

烟嘧磺隆纯品: 99.12 % (自制);

邻苯二甲酸二甲酯: 分析纯 99.5 % (天津博迪化工有限公司);

邻苯二甲酸二乙酯: 分析纯 99.5 % (天津博迪化工有限公司);

邻苯二甲酸二丁酯: 分析纯 99.5 % (天津博迪化工有限公司);

内标溶液: 称取邻苯二甲酸二甲酯 0.2 g (精确至 0.000 1 g) 于 1 000 mL 容量瓶中,用乙腈定容,浓度约为 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;

烟嘧磺隆标准储备液: 称取烟嘧磺隆标样 0.1 g (精确至 0.000 1 g) 于 100 mL 容量瓶中,用内标溶液定容至刻度,浓度约为 $1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

5.1.3 高效液相色谱仪操作条件

色谱柱: Waters Symmetry C₈ (150 mm × 3.9 mm × 5 μm) 不锈钢柱;

流动相: 乙腈:水 (含 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸和 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸铵) = 30:70 (V/V);

柱温: 25 °C (温度变化应不大于 2 °C);

流动相流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 氦气 (99.995 %) 喷射鼓泡脱气;

定量管: 10 μL;

检测波长: 232 nm;

保留时间: 烟嘧磺隆 4.78 min, 邻苯二甲酸二甲酯 8.42 min。

5.1.4 烟嘧磺隆高效液相色谱分析

5.1.4.1 内标物的选择

选用 Waters Symmetry C₈ 色谱柱，固定流动相乙腈：水（含 20 mmol · L⁻¹ 甲酸和 10 mmol · L⁻¹ 甲酸铵）= 30：70（V/V），流速为 0.8 mL · min⁻¹，烟嘧磺隆进样浓度为 200 mg · L⁻¹。分别用邻苯二甲酸二甲酯、邻苯二甲酸二乙酯、邻苯二甲酸二丁酯等作为烟嘧磺隆的内标物进行测定，选择分离效果最佳，保留时间适当的内标物。

5.1.4.2 检测波长的选择

兼顾内标物和烟嘧磺隆的紫外吸收选择合适的提取波长定量。

5.1.4.3 标准曲线的绘制

取烟嘧磺隆标准储备液用内标溶液稀释配制一系列标准工作溶液（25mg · L⁻¹、50 mg · L⁻¹、100 mg · L⁻¹、150 mg · L⁻¹、200 mg · L⁻¹、250 mg · L⁻¹、300 mg · L⁻¹、350 mg · L⁻¹、400 mg · L⁻¹、450 mg · L⁻¹、500 mg · L⁻¹），分别进样分析。以烟嘧磺隆与内标物峰面积之比为纵坐标，进样质量之比为横坐标，绘制烟嘧磺隆标准曲线。

5.1.4.4 准确度与精密度试验

分别称取 0.05 g（精确至 0.000 2 g）烟嘧磺隆标样和原药于 100 mL 容量瓶中，用内标溶液定容。共配制 5 份低浓度添加试样溶液，用内标溶液将试样溶液稀释 5 倍进样。

分别称取 0.1 g（精确至 0.000 2 g）烟嘧磺隆标样和原药于 100 mL 容量瓶中，配制 5 份高浓度添加试样溶液（过程同上），稀释 10 倍进样。

称取 0.1 g（精确至 0.000 2 g）烟嘧磺隆原药于 100 mL 容量瓶中，配制 8 份精密度试样溶液（过程同上），稀释 5 倍进样。

采用内标法对两个浓度水平的准确度试样溶液和精密度试样溶液分别进样分析，计算准确度及精密度。

5.2 结果与讨论

5.2.1 分析条件优化

5.2.1.1 内标物选择结果

在 5.1.3 的分析条件下，邻苯二甲酸二甲酯的保留时间适宜做烟嘧磺隆的内标物，邻苯二甲酸二乙酯、邻苯二甲酸二丁酯等保留时间稍长，见图 5-1。

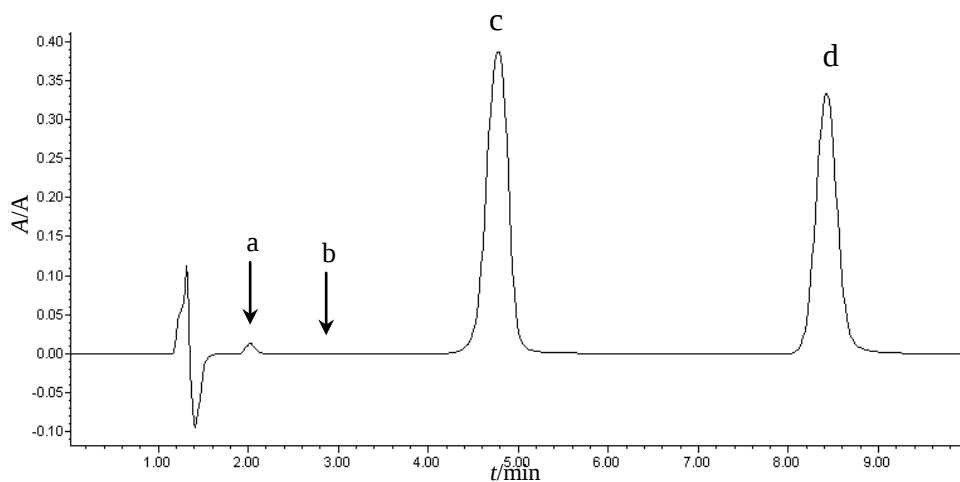


图 5 - 1 烟嘧磺隆定量分析色谱图

Fig. 5 - 1 The quantitative analysis chromatogram of nicosulfuron
a degradation1; b degradation2; c. nicosulfuron; d. dimethyl phthalate

在此分析条件下，能够同时检测烟嘧磺隆、降解产物及内标物，降解产物 1、2 均在内标物之前出峰，并且分离较好，但是由于降解产物 2 在此波长下响应值较低，几乎不出峰。

5.2.1.2 检测波长选择结果

烟嘧磺隆最大吸收波长为 237 nm，邻苯二甲酸二甲酯为 226 nm，兼顾两者的响应值选择 232 nm 为定量分析的检测波长（见图 5-2）。

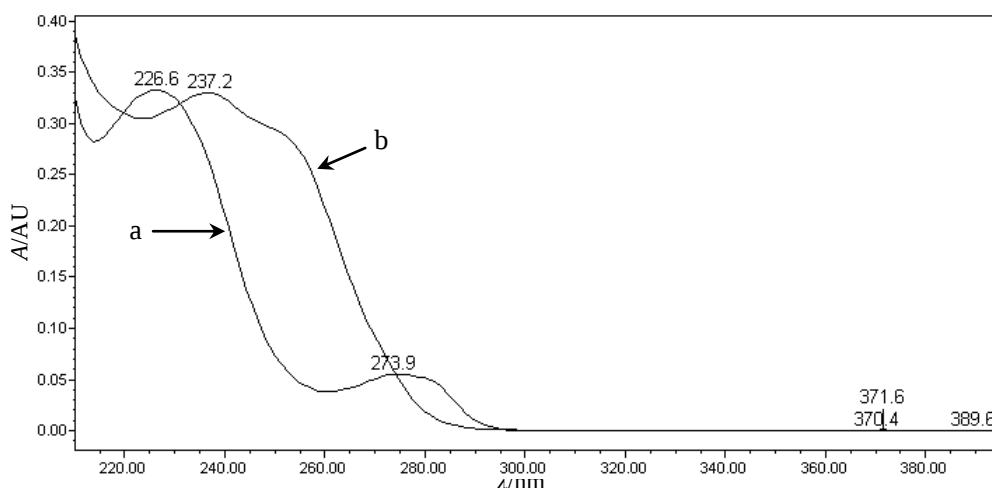


图 5 - 2 烟嘧磺隆与内标物的紫外吸收图

Fig. 5 - 2 The UV spectrum of nicosulfuron and dimethyl phthalate
a dimethyl phthalate; b nicosulfuron

5.2.2 方法学数据

5.2.2.1 线性范围

以烟嘧磺隆与内标物峰面积之比 A_s/A_i 对进样质量之比 m_s/m_i 进行回归计算, 得线性方程为 $Y = 1.1224X + 0.0056$, $r = 0.9992$ 。烟嘧磺隆在 $25 \sim 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内线性关系良好。标准曲线见图 5-3。

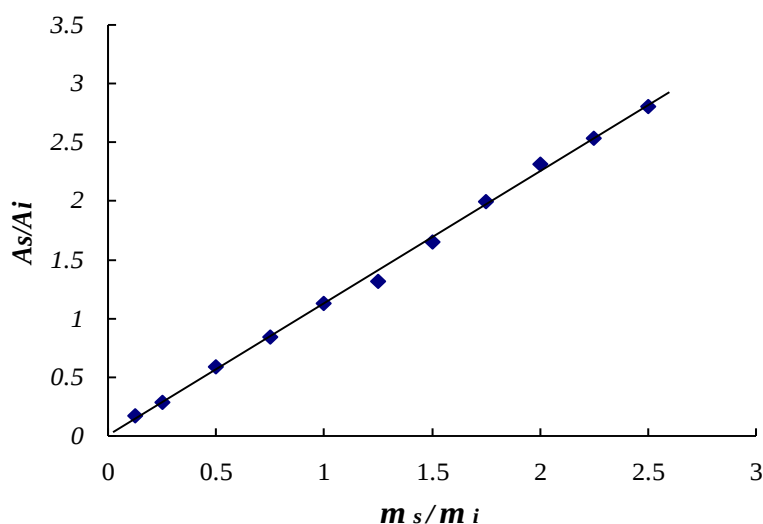


图 5-3 烟嘧磺隆分析用标准曲线

Fig.5 - 3 The standard curve of nicosulfuron

5.2.2.2 添加回收试验结果

由准确度试验结果表 5-1 得: 低浓度添加平均回收率为 99.79 %, 高浓度添加平均回收率为 99.84 %, 由精密度试验结果表 5-2 计算得 RSD 为 0.27 %, 外标法添加回收率在 99.05 ~ 101.99 % 之间, RSD 为 0.86 %, 比内标法稍差。

表 5 - 1 烟嘧磺隆准确度测定数据

Tab. 5 - 1 The accuracy data of nicosulfuron

样品编号 Sample No	添加量/g Fortificate amount	平均回收率		样品编号 Sample No	添加量/g Fortificate amount	平均回收率	
		回收率/% Recovery	/ % Mean re- covery			回收率/% Recovery	/ % Mean re- covery
1 [#]	0.05	99.52	99.79	6 [#]	0.1	100.05	99.84
2 [#]		100.33		7 [#]		99.87	
3 [#]		98.98		8 [#]		100.11	
4 [#]		99.85		9 [#]		100.09	
5 [#]		100.29		10 [#]		99.12	

表 5 - 2 烟嘧磺隆精密度测定数据

Tab. 5 - 2 The precision data of nicosulfuron

样品编号 Sample No.	含量/% The contents	平均值/% Means	S_x	$RSD/\%$
1 [#]	95.88	95.86	0.2588	0.27
2 [#]	95.83			
3 [#]	96.26			
4 [#]	96.14			
5 [#]	95.66			
6 [#]	95.94			
7 [#]	95.78			
8 [#]	95.42			

5.3 小结

本章明确了烟嘧磺隆高效液相色谱分析方法的条件，该分析方法能够将其与 2 个降解产物分离。选择了合适的内标物邻苯二甲酸二甲酯，检测波长为 232 nm，此方法在 25 ~ 500 mg · L⁻¹ 范围内线性关系良好。低浓度添加平均回收率为 99.79 %，高浓度添加平均回收率为 99.84 %，方法的 RSD 为 0.27 %。

第六章 酰嘧磺隆紫外/蒸发光散射双检测器同时测定的研究

酰嘧磺隆是一种新型超高效、内吸传导除草剂，万安特公司开发并于 1990 年申请专利。通过抑制生物体内至关重要的支链氨基酸（如缬氨酸、异亮氨酸等）的生物合成，阻止细胞分裂和植株生长使杂草死亡，可有效防除禾谷类作物田和草坪中的恶性阔叶杂草。本文作者前期发表了酰嘧磺隆液相色谱分析方法的文章，随着研究的深入，找到了性能更加优越的调节剂，建立了更加准确的内标分析法，能够对主成分准确定量^[74]。同时双检测器的使用能够更准确地监测降解产物 2。而且蒸发光散射检测器扩大了进样量，高浓度试样也可以直接进样。

6.1 材料与方法

6.1.1 仪器和设备

同 3.1.1

6.1.2 试剂和溶液

酰嘧磺隆标准品:99.18 %（自制）；

对羟基苯甲酸甲酯：纯度 99.0 %，分析纯（天津市广成化学试剂有限公司）；

苯甲酸甲酯：纯度 99.0 %，分析纯（天津科密欧化学试剂研发中心）；

磷酸三苯酯：化学纯（天津博迪化工有限公司）；

亚磷酸三苯酯：化学纯（天津博迪化工有限公司）；

内标溶液：浓度为 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的苯甲酸甲酯的乙腈溶液；

6.1.3 分析条件

色谱柱：Waters Symmetry C₈（150 mm × 3.9 mm × 5 μm）不锈钢柱；

流动相：乙腈:水（ $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸+ $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸铵）= 40:60（V/V）；

柱温：25 °C（温度变化应不大于 2 °C）；

流动相流速： $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ；氦气（99.995 %）喷射鼓泡脱气；

定量管：10 μL；

检测波长：230 nm；

保留时间：酰嘧磺隆 4.36 min，苯甲酸甲酯 5.85 min。

6.1.4 酰嘧磺隆高效液相色谱分析

6.1.4.1 内标物的选择

在 6.1.3 的分析条件下，分别用对羟基苯甲酸甲酯、苯甲酸甲酯、磷酸三苯酯、亚磷酸三苯酯作为内标物进行测定，选择分析效果最佳的内标物。

6.1.4.2 检测波长的选择

选择苯甲酸甲酯为内标物，兼顾内标物和嘧啶磺隆的响应值选择检测波长。

6.1.4.3 ELSD 参数优化

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。

固定漂移管温度为 60 °C，在 0.069~0.24 MPa 范围内调节雾化器中空气的压力，以信噪比为指标，确定最佳的雾化器气体压力。

固定漂移管温度为 60 °C，雾化器中空气的压力为 0.103 MPa，在 60~90 % 范围内调节喷雾器级别，以信噪比为指标，确定最佳的雾化器级别。并在 1~1 000 范围内确定合适的增益。

6.1.4.4 标准曲线的绘制

6.1.4.4.1 PDA 标准曲线的绘制

取嘧啶磺隆标准储备液用内标溶液稀释配制一系列标准工作溶液（25 mg · L⁻¹、50 mg · L⁻¹、100 mg · L⁻¹、150 mg · L⁻¹、200 mg · L⁻¹、250 mg · L⁻¹、300 mg · L⁻¹、350 mg · L⁻¹、400 mg · L⁻¹、450 mg · L⁻¹、500 mg · L⁻¹），分别进样分析。以紫外检测器获得的嘧啶磺隆与内标物峰面积之比为纵坐标，进样质量之比为横坐标，绘制嘧啶磺隆 PDA 标准曲线。

6.1.4.4.2 ELSD 标准曲线的绘制

取嘧啶磺隆标准储备液用乙腈稀释配制一系列标准工作溶液（25 mg · L⁻¹、50 mg · L⁻¹、100 mg · L⁻¹、150 mg · L⁻¹、200 mg · L⁻¹、250 mg · L⁻¹、300 mg · L⁻¹、350 mg · L⁻¹、400 mg · L⁻¹、450 mg · L⁻¹、500 mg · L⁻¹），分别进样分析。以 ELSD 获得的嘧啶磺隆峰面积为纵坐标，进样质量为横坐标，绘制嘧啶磺隆 ELSD 标准曲线。

6.1.4.5 准确度与精密度试验

分别称取 0.05 g（精确至 0.000 2 g）嘧啶磺隆标样和原药于 100 mL 容量瓶中，用内标溶液定容。共配制 5 份低浓度添加试样溶液，用内标溶液将试样溶液稀释 5 倍进样。

分别称取 0.1 g（精确至 0.000 2 g）嘧啶磺隆标样和原药于 100 mL 容量瓶中，配制 5 份高浓度添加试样溶液（过程同上），稀释 10 倍进样。

称取 0.1 g（精确至 0.000 2 g）嘧啶磺隆原药于 100 mL 容量瓶中，配制 8 份精密度试样溶液（过程同上），稀释 5 倍进样。

对两个浓度水平的准确度试样溶液和精密度试样溶液分别进样分析，计算内标法、外标法准确度及精密度。

6.2 结果与讨论

6.2.1 分析条件优化

6.2.1.1 内标物选择结果

兼顾酰磺隆和内标物的保留时间及响应值，选择苯甲酸甲酯为内标物。色谱图见图 6-1。

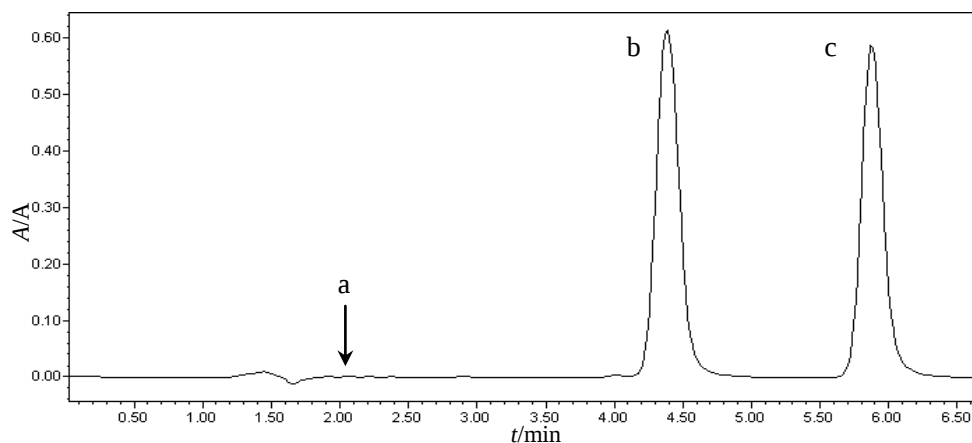


图 6-1 酰磺隆定量分析色谱图

Fig. 6-1 The quantitative analysis chromatogram of amidosulfuron
a degradation1;b. amidosulfuron; c. methyl *p* - hydroxybenzoate

6.2.1.2 检测波长选择结果

如图 6-2 所示：在 6.1.3 的分析条件下，苯甲酸甲酯紫外最大吸收峰为 227 nm，兼顾两者的响应值确定检测波长为 230 nm。

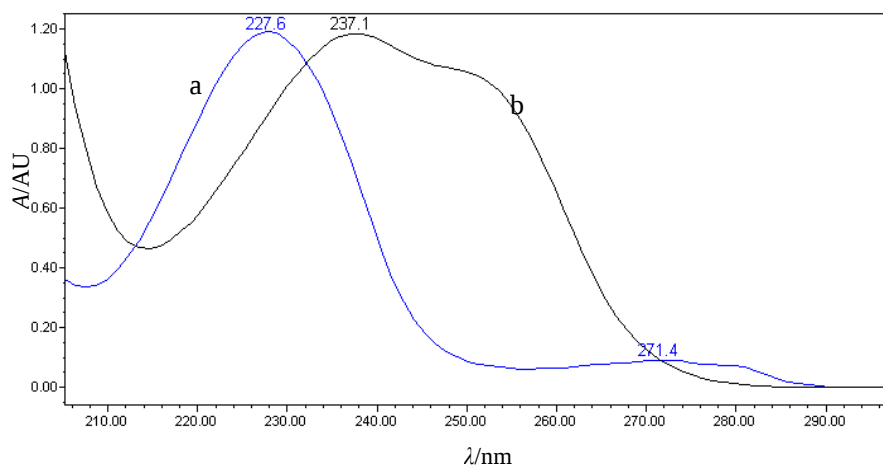


图 6-2 酰磺隆与苯甲酸甲酯紫外吸收图

Fig. 6-2 The UV spectrum of amidosulfuron and methyl benzoate
a methyl *p* - hydroxybenzoate;b. amidosulfuron

6.2.1.3 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 ℃，雾化器空气

压力 0.103 MPa, 喷雾器级别 70 %, 增益 200, 色谱图见图 6 - 3。

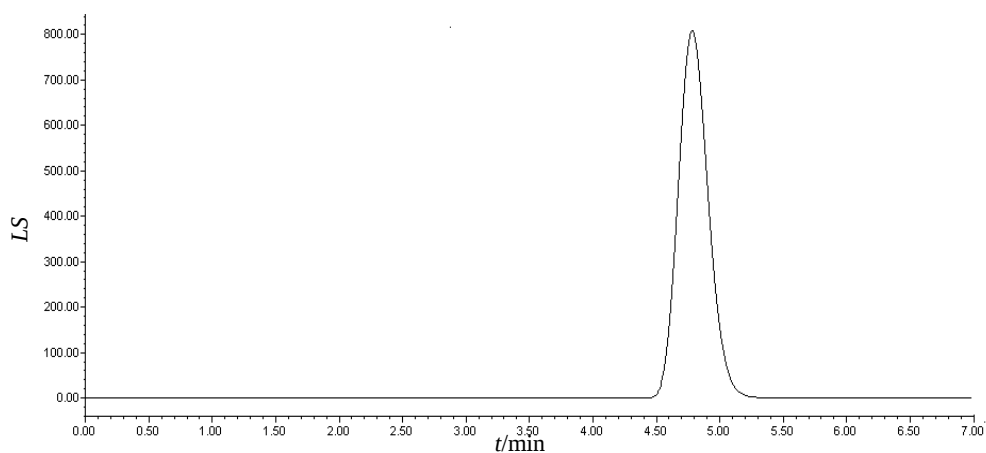


图 6 - 3 酰嘧磺隆 ELSD 色谱图

Fig. 6 - 3 Chromatograms of amidosulfuron obtained with ELSD

6.2.2 方法学数据

6.2.2.1 线性范围

PDA 线性范围: 以酰嘧磺隆与内标物苯甲酸甲酯峰面积之比 A_s/A_i 对进样质量之比 m_s/m_i 进行回归计算, 得线性方程为 $Y = 1.1042 X + 0.0152$, $r = 0.9999$ 。酰嘧磺隆在 $25 \sim 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内线性关系良好。标准曲线见图 6 - 4。

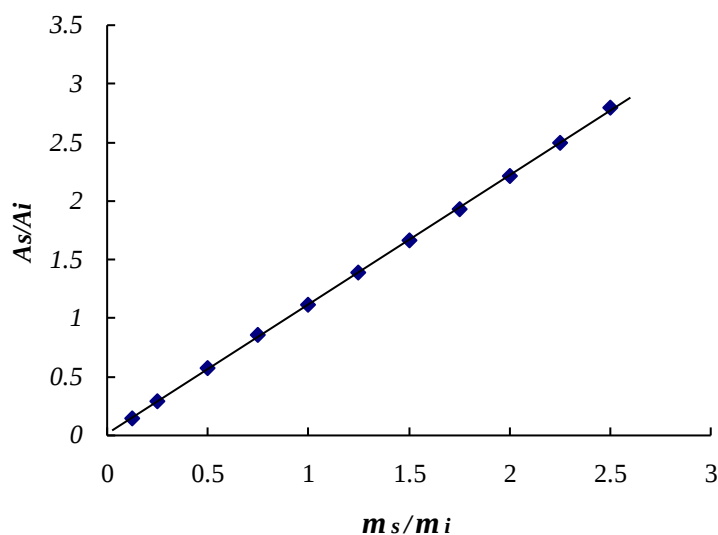


图 6 - 4 酰嘧磺隆 PDA 标准曲线

Fig. 6 - 4 The PDA standard curve of amidosulfuron

ELSD 线性范围: 酰嘧磺隆峰面积与进样质量呈线性关系, 得线性方程为 $Y = 2.918856 X - 2.319548.767$, $r = 0.9865$ 。在 $1000 \sim 5000 \mu\text{g}$ 范围内, 酰嘧磺隆质量与峰面积呈线性关系, 可用于高浓度试样的测定。标准曲线见图 6 - 5。

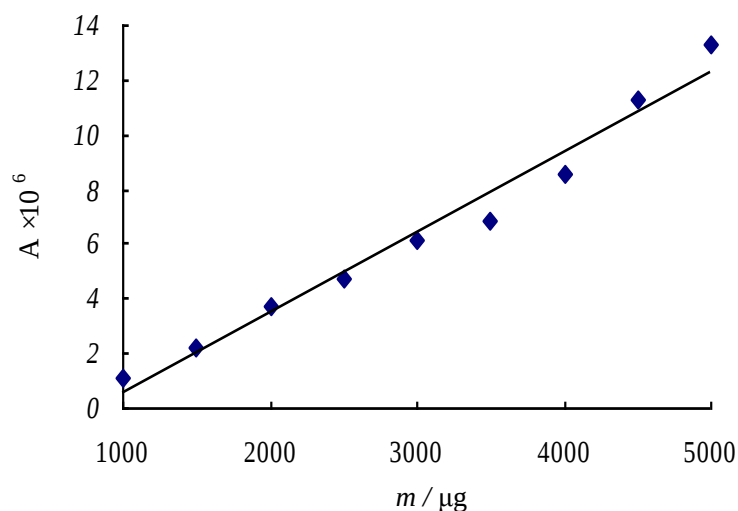


图 6 - 5 酰嘧磺隆 ELSD 标准曲线

Fig. 6 - 5 The standard curve of amidosulfuron obtained with ELSD

6.2.2.2 添加回收试验结果

由准确度试验结果表 6-1 得：低浓度添加平均回收率为 99.43 %，高浓度添加平均回收率为 99.37 %，外标法在 98.86 ~ 101.19 % 之间；由精密度试验结果（表 6 - 2）计算得：原药含量为 96.17 %，内标法 *RSD* 为 0.85 %，外标法 *RSD* 为 0.94 %。

ELSD 检测器低浓度添加平均回收率为 99.47 %，高浓度添加平均回收率为 100.36 %，*RSD* 为 2.59 %，方法准确度与外标法相当，精密度差一些，但均不如内标法。

表 6 - 1 酰嘧磺隆准确度测定数据

Tab. 6 - 1 The accuracy data of amidosulfuron

样品编号 Sample No	添加量/g Fortificate amount	平均回收率		样品编号 Sample No	添加量/g Fortificate amount	平均回收率	
		回收率/% Recovery	/% Mean re-covery			回收率/% Recovery	/% Mean re-covery
1 [#]	0.05	100.50	99.43	6 [#]	0.1	99.05	99.37
2 [#]		98.33		7 [#]		100.47	
3 [#]		100.29		8 [#]		98.11	
4 [#]		98.85		9 [#]		100.09	
5 [#]		99.19		10 [#]		99.12	

表 6 - 2 酰嘧磺隆精密度测定数据

Tab. 6 - 2 The precision data of amidosulfuron

样品编号 Sample No.	含量/% The contents	平均值/% Means	S_x	$RSD/\%$
1 [#]	96.26	96.17	0.8168	0.85
2 [#]	96.49			
3 [#]	95.53			
4 [#]	95.95			
5 [#]	94.70			
6 [#]	97.49			
7 [#]	96.47			
8 [#]	96.50			

6.3 小结

本章建立了高效液相色谱-二极管阵列及蒸发光散射检测器测定嘧啶磺隆的方法，选择苯甲酸甲酯作为内标物，检测波长为 230 nm，此方法在 25 ~ 500 mg · L⁻¹ 范围内，PDA 标准曲线方程为 $Y = 1.1042X + 0.0152$ ， $r = 0.9999$ ；ELSD 标准曲线方程为 $Y = 2918.856X - 2319548.767$ ， $r = 0.9865$ 。内标法低浓度添加平均回收率为 99.43%，高浓度添加平均回收率为 99.37%，计算原药含量为 96.17%， RSD 为 0.85%；外标法回收率在 98.86 ~ 101.19% 之间； RSD 为 0.94%；ELSD 检测器低浓度添加平均回收率为 99.47%，高浓度添加平均回收率为 100.36%， RSD 为 2.59%，方法准确度与外标法相当，精密度差一些，但均不如内标法。

第七章 乙氧磺隆溶解度与原药含量的测定

乙氧磺隆由德国拜耳作物科学公司开发，并获得中国专利授权，主要用于防除水稻田阔叶杂草和莎草科杂草。由于用量少、效果好、对下茬作物无毒害作用等优点，推广以来使用面积超过 $15 \times 10^4 \text{ hm}^2$ 。2009 年 5 月专利到期后更是引起了广大农药生产厂家的关注。浙江泰达作物科技有限公司乙氧磺隆原药项目率先于 2009 年 6 月通过验收。如何提高原药生产纯度与分析方法的可靠性，成为提高产品竞争力的关键。已有文献报道了采用甲醇与水体系的乙氧磺隆高效液相色谱分析方法，而没有考虑主要杂质的分离以及农药本身的不稳定性^[75]。本章在明确乙氧磺隆在极性溶剂中的溶解度基础上，建立优化的内标定量分析方法，旨在提高分析结果的可靠性。

7.1 材料与方法

7.1.1 仪器和设备

同 3.1.1

7.1.2 试剂和溶液

乙氧磺隆标样：99.35 %（自制）；

内标溶液：浓度约为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 邻苯二甲酸二甲酯的甲醇溶液

余同 4.1.2

7.1.3 液相色谱分析条件

色谱柱：Waters Symmetry C₈（150 mm × 3.9 mm × 5 μm）不锈钢柱；

流动相：乙腈：水（20 mmol · L⁻¹ 甲酸+10 mmol · L⁻¹ 甲酸铵）= 55:45（V/V）；

柱温：25 °C（温度变化应不大于 2 °C）；

流动相流速：0.8 mL · min⁻¹，氦气（99.995 %）喷射鼓泡脱气；

定量管：10 μL；

检测波长：222 nm；

保留时间：邻苯二甲酸二甲酯约 3.12 min，乙氧磺隆约 5.34 min。

7.1.4 溶解度试验

称取一定质量的原药加入到 250 mL 烧瓶中，并加入 100 mL 溶剂，加塞超声波振荡 30 min。静置，在 22 °C 条件下，过滤、取清液，稀释合适倍数后用高效液相色谱定量分析，记录测定值，并换算为溶解度。

7.1.5 液相色谱分析条件优化

7.1.5.1 内标物选择

固定流动相乙腈:水(含 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸铵、 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸) = 55:45 (V/V), 流速为 $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 乙氧磺隆进样浓度为 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。分别选用对羟基苯甲酸甲酯、苯甲酸甲酯、邻苯二甲酸二甲酯、邻苯二甲酸二乙酯、邻苯二甲酸二丁酯等对乙氧磺隆标准溶液进行测定, 选择最佳的内标物。

7.1.5.2 检测波长选择

兼顾内标物和乙氧磺隆的保留时间及响应值选择检测波长。

7.1.5.3 标准曲线的绘制

将乙氧磺隆标准储备液用内标溶液稀释配制一系列标准工作溶液($25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $350 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $450 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 分别进样分析。以主成分与内标物的进样质量之比为横坐标, 峰面积之比为纵坐标, 绘制乙氧磺隆标准曲线。

7.1.5.4 精密度与准确度试验

分别称取 0.05 g (精确至 0.0002 g) 乙氧磺隆纯品于 100 mL 容量瓶中, 用内标溶液定容。配制 5 份低浓度添加试样溶液, 用内标溶液稀释 10 倍进样。

分别称取 0.1 g (精确至 0.0002 g) 乙氧磺隆标样和纯品于 100 mL 容量瓶中, 用内标溶液定容。配制 5 份高浓度添加试样溶液(过程同上) 计算回收率。

称取 0.2 g (精确至 0.0002 g) 乙氧磺隆标样和原药于 100 mL 容量瓶中, 共配制 8 份精密度溶液, 用内标溶液稀释 10 倍进样, 计算方法的精密度。

7.2 结果与讨论

7.2.1 溶解度试验结果

对于乙氧磺隆在常见溶剂中的溶解度并未见报道, 本章开展了乙氧磺隆溶解度的测定。由表 7-1 种数据可见乙氧磺隆在水中的溶解度随 pH 值的增加显著增大, 但最大也未超过 0.3% 。在有机溶剂中溶解度也不大, 在四氢呋喃中约为 3.7% 。经试验证明乙腈溶解度太小, 不能满足试验要求。乙氧磺隆在甲醇中的溶解度约为乙腈中的 2 倍, 如果用甲醇作溶剂可以大大降低分析成本, 但由 2.1.3 溶剂选择试验可知, 磺酰脲类除草剂在甲醇中降解较快, 所以溶液要现用现配, 最多存放不能超过 4 h 。

表 7 - 1 乙氧磺隆溶解度测定数据

Tab.7 - 1 The solubility data of ethoxysulfuron (22 °C)

溶剂 Solvents	饱和浓度 Saturation Concentration / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$			平均值 Means / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
	1 [#]	2 [#]	3 [#]	
水 pH 5	41.84	34.89	34.81	37.33
水 pH 7	305.84	312.64	309.46	309.31
水 pH 8	2 152	2 164	2 209	2 175
甲醇	11 709	11 795	11 388	11 631
乙醇	5 760	5 992	5 904	5 885
乙腈	5 232	5 210	5 227	5 223
丙酮	16 310	16 171	16 234	16 238
乙酸乙酯	14 227	13 732	13 397	13 785
四氢呋喃	36 979	37 901	36 979	37 286

7. 2. 2 分析条件优化

7.2.2.1 内标物选择结果

在 7.1.3 的分析条件下，对羟基苯甲酸甲酯、苯甲酸甲酯保留时间较短，邻苯二甲酸二乙酯与乙氧磺隆无法完全分离，邻苯二甲酸二丁酯保留时间比乙氧磺隆长，所以选择邻苯二甲酸二甲酯做乙氧磺隆的内标物（见图 7-1）。

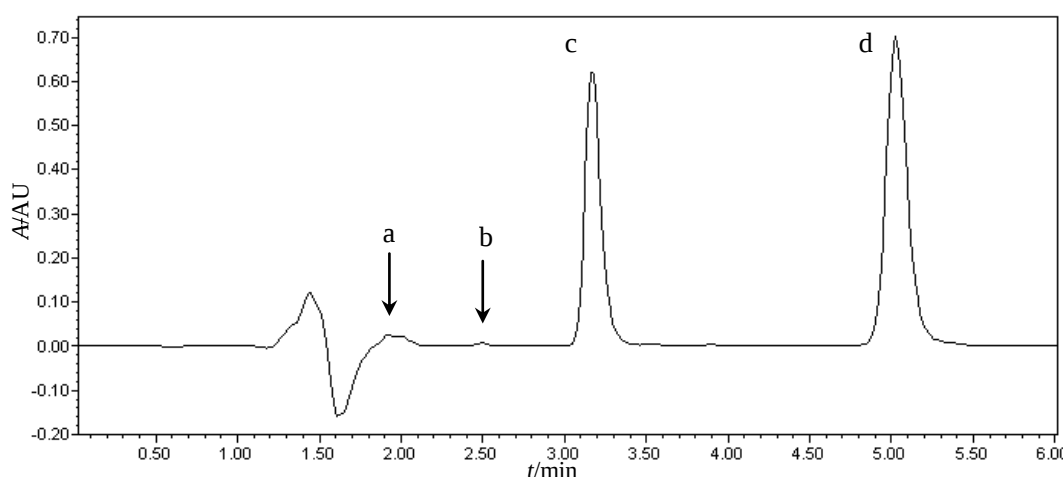


图 7 - 1 乙氧磺隆定量分析色谱图

Fig. 7 - 1 The quantitative analysis chromatogram of ethoxysulfuron
a. degradation1; b. degradation2; c. dimethyl phthalate; d. ethoxysulfuron

7.2.2.2 检测波长选择结果

如图 7-2 所示：邻苯二甲酸二甲酯的紫外最大吸收波长为 224 nm，乙氧磺隆为 237 nm，兼顾两者的响应值选择 222 nm 为检测波长。

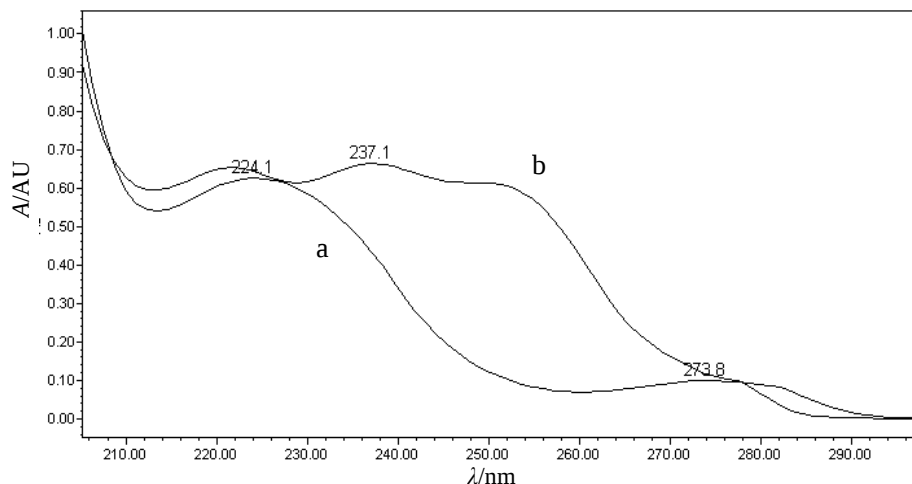


图 7-2 乙氧磺隆与邻苯二甲酸二甲酯紫外吸收图

Fig. 7-2 The UV spectrum of ethoxysulfuron and dimethyl phthalate

a. dimethyl phthalate; b. ethoxysulfuron

7.2.3 方法学数据

7.2.3.1 线性范围

以乙氧磺隆与内标物峰面积之比 A_s / A_i 对进样质量之比 m_s / m_i 进行回归计算，得线性方程为 $Y = 0.7606 X + 0.0064$ ， $r = 0.9998$ 。乙氧磺隆在 $25 \sim 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内线性关系良好。标准曲线见图 7-3。

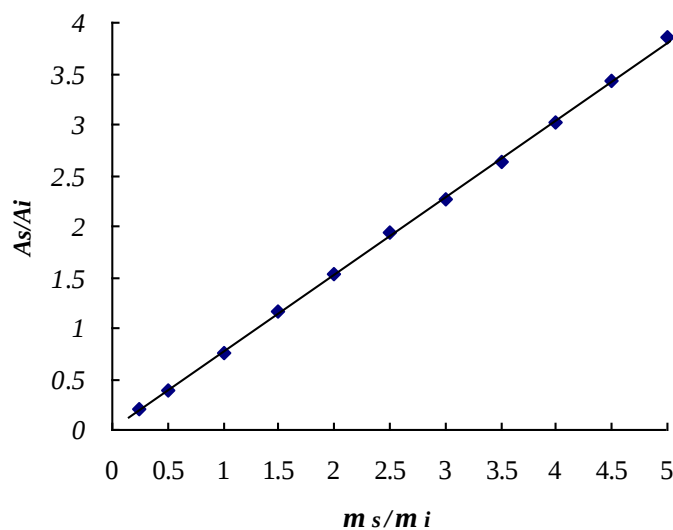


图 7-3 乙氧磺隆分析用标准曲线

Fig. 7-3 The standard curve of ethoxysulfuron

7.2.3.2 准确度与精密度试验结果

由准确度试验结果表 7-2 得：内标法低浓度添加平均回收率为 99.09 %，高浓度添加平均回收率为 99.38 %，外标法添加回收率在 98.72 ~ 102.04 %范围之内；由精密度试验结果表 7-3 计算得内标法方法 *RSD* 为 0.46 %，明显优于外标法的 1.23 %。

表 7 - 2 乙氧磺隆准确度测定数据

Tab. 7 - 2 The accuracy data of ethoxysulfuron

样品编号 Sample No	添加量/g Fortificate amount	平均回收率		样品编号 Sample No	添加量/g Fortificate amount	平均回收率	
		回收率/% Recovery	/ % Mean re- covery			回收率/% Recovery	/ % Mean re- covery
1 [#]	0.05	98.55	99.09	6 [#]	0.1	99.10	99.38
2 [#]		99.82		7 [#]		98.09	
3 [#]		97.69		8 [#]		100.26	
4 [#]		97.91		9 [#]		98.03	
5 [#]		101.50		10 [#]		101.44	

表 7 - 3 乙氧磺隆精密度测定数据

Tab. 7 - 3 The precision data of ethoxysulfuron

样品编号 Sample No.	含量/% The contents	平均值/% Means	<i>S_x</i>	<i>RSD</i> /%
1 [#]	95.50	95.17	0.435 7	0.46
2 [#]	95.81			
3 [#]	95.13			
4 [#]	95.19			
5 [#]	95.45			
6 [#]	94.36			
7 [#]	94.95			
8 [#]	95.01			

7.3 小结

本章试验采用液相色谱法测定了乙氧磺隆在常见溶剂中的溶解度。以自制乙氧磺隆纯品为标准，选用邻苯二甲酸二甲酯为内标物，反相高效液相色谱法分析了乙氧磺隆原药，考察了内标法的线性范围为 25 ~ 500 mg · L⁻¹，相关系数 *r* = 0.999 8；低浓度添加回收率为 99.09 %，高浓度为 99.38 %，方法 *RSD* 为 0.46 %，均优于外标法。

结 论

- 1 采用重结晶法、液相色谱法、盐析法对烟嘧磺隆、酰嘧磺隆、乙氧磺隆原药提纯，重结晶法不能使原药纯度达到 99 % 以上；半制备色谱法得到纯品量少；盐析法能有效清洗杂质，定性鉴定 3 种除草剂纯化过程中均未发生化学变化，面积归一法测定纯度烟嘧磺隆为 99.12 %、酰嘧磺隆为 99.18 %、乙氧磺隆为 99.35 %。这些纯品可用于教学或科研等相关工作，并为研制其标准物质奠定了基础。
- 2 试验获得了嘧啶磺酰脲类除草剂烟嘧磺隆、酰嘧磺隆、乙氧磺隆的紫外光谱、红外光谱、核磁共振波谱、质谱图，通过对谱图的解析总结出了此类除草剂的特征。明确了紫外吸收的范围为 235~245 nm，红外吸收的特征峰为 4 组强而尖锐的峰（1 720 cm^{-1} 、1 600 cm^{-1} 双峰、1 360 cm^{-1} 、1 200 cm^{-1} 双峰）及核磁共振中各质子峰及碳峰的归属，质谱的特征离子碎片为 m/z 182。
- 3 通过对烟嘧磺隆、酰嘧磺隆、乙氧磺隆液相色谱保留行为的研究，确定了嘧啶磺酰脲类除草剂高效液相色谱法定量的最佳分析条件。选用 C_8 柱为分离柱，乙腈/水为流动相，20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸、10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸铵为调节剂，明确了主成分及降解产物的保留特性，弥补了现有国际、国内分析方法的欠缺和不足。
- 4 优化选择了各自合适的内标物，烟嘧磺隆/邻苯二甲酸二甲酯，酰嘧磺隆/苯甲酸甲酯，乙氧磺隆/邻苯二甲酸二甲酯，完全实现了内标法定量。考察了 3 种除草剂各自定量分析方法的线性范围、准确度及精密度。在 25 ~ 500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内线性相关系数均大于 0.999 0，准确度在 99.09 ~ 99.84 % 之间，精密度在 0.27 ~ 0.85 % 之间。内标法特别适用于原药含量测定。
- 5 首次报道了酰嘧磺隆原药的高效液相色谱分析方法，并在后续的研究工作中进行了优化。首次建立酰嘧磺隆 ELSD 测定方法，方法准确度与外标法相当，精密度较差。
- 6 首次公开报道了采用色谱法测定乙氧磺隆在不同 pH 值水中、甲醇、乙醇、乙腈、四氢呋喃和乙酸乙酯的溶解度，为其他相关研究提供数据。

参考文献

- [1] Levitt G, Baker D. Synthesis and chemistry of agrochemicals II [M]. 1991, 16 - 31.
- [2] 范志金, 刘丰茂, 钱传范. 磺酰脲类除草剂的现状和发展趋势分析 [J]. 农药, 1999, 38 (5): 6 - 9.
- [3] Hay J V. Chemistry of sulfonylurea herbicides [J]. Pesticide science, 1990, 29: 247 - 261.
- [4] Stoyanova E, Petrov P, Semerdjieva S. Some Effects of Chlorsulfuron on the Ultrastructure of Root and Leaf Cells in Pea Plants [J]. Journal of plant growth regulation, 1997, 16: 1 - 5.
- [5] 邓金保. 磺酰脲类除草剂综述 [J]. 世界农药, 2003, 25 (3): 24 - 32.
- [6] 罗伟, 沈健英. 磺酰脲类除草剂的研究进展 [J]. 世界农药, 2008, 30 (1): 16 - 21.
- [7] 张一宾. 2004 年世界农药品种市场概况及 2009 年各类农药市场趋向 [J]. 农药市场信息, 2006, 16: 4 - 6.
- [8] 姜林, 李长城, 张玉镭, 等. 磺酰脲类除草剂的研制和应用 [J]. 山东农业大学学报 (自然科学版), 2003, 34 (4): 597 - 599.
- [9] Sehloss J V. Mechanism of sulfonylurea herbicides [J]. Pesticide science, 1990, 29: 283 - 292.
- [10] 刘长令. 磺酰脲类除草剂 [J]. 农药, 2002, 41 (3): 44 - 45.
- [11] 孙家隆. 农药化学合成基础 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2008.
- [12] Schlegel G. Preparation of pyrimidyl-substituted sulfonylureas. EP 560178 [P]. 1993-9-15.
- [13] Schmuckler E, Barefoot C, Kleier A, *et al.* Vapor pressures of sulfonylurea herbicides [J]. Pest Management Science, 2000, 56(6): 521 - 532.
- [14] Nicosulfuron [EB/OL]. 2003, *e* - pesticide manual 3.0.
- [15] 徐加利, 王金信. 烟嘧磺隆的研究与开发进展 [J]. 农药科学与管理, 2007, 28 (6): 35-39.
- [16] 孙健, 彭学伟, 潘凤美, 等. 除草剂烟嘧磺隆中间体 2-氨基磺酰基-N, N-二甲基烟酰胺的合成研究 [J]. 莱阳农学院学报 (自然科学版), 2006, 23 (1): 44 - 46.
- [17] 李祥, 王耀亮, 张海红, 等. 除草剂烟嘧磺隆合成 [J]. 现代农药, 2006, 5 (3): 13 - 14.
- [18] Amidosulfuron [EB/OL]. 2003, *e* - pesticide manual 3.0.
- [19] 马金明, 穆瑞龙, 陆凌兰, 等. 烟嘧磺隆除草剂的制备. 中国, CN 101503403 [P]. 2009-8-12
- [20] ethoxysulfuron [EB/OL]. 2003, *e* - pesticide manual 3.0.
- [21] 张谊友. 乙氧嘧磺隆的施用技术 [J]. 黑龙江农业科学, 2003, 5: 48 - 49.
- [22] 张梅凤, 张宏伟. 2009-2010 年专利届满的国外除草剂品种概况 [J]. 山东农业信息, 2008, 3: 31 - 32.
- [23] 杨德义. 磺酰脲类除草剂分析方法研究进展 [J]. 化学工程师, 2006, 132 (9): 48 - 49.
- [24] 张蓉, 岳永德, 花日茂, 等. 磺酰脲类除草剂残留分析技术研究进展 [J]. 农药, 2005, 44 (9): 387 - 390.
- [25] 欧晓明. 磺酰脲类除草剂残留检测分析研究新进展 [J]. 精细化工中间体, 2006, 36 (1): 1 - 6.
- [26] Blott H, Seitz W, Schulz W, *et al.* Fast liquid chromatography Use for determination of pesticides in water [J]. GIT Labor-Fachzeitschrift, 2009, 53(11): 721 - 725.
- [27] Degenhardt D, Cessna J, Raina R, *et al.* Trace level determination of selected sulfonylurea herbicides in wetland sediment by liquid chromatography electrospray tandem mass spec-

- trometry [J]. Journal of Environmental Science and Health, 2010, 45(1): 11 - 24.
- [28] Akiyama Y, Matsuoka T, Mitsuhashi T. Multi-residue screening method of acidic pesticides in agricultural products by liquid chromatography/time of flight mass spectrometry [J]. Journal of Pesticide Science, 2009, 34(4): 265 - 272.
- [29] Ouyang Xihui, Zhang Wei, Xu Jun, *et al.* Determination of sulfonylurea herbicides in water using solid-phase extraction followed by liquid chromatography with electrospray ion trap mass spectrometry [J]. Journal of Analytical Chemistry, 2009, 64(9): 935 - 940.
- [30] Gervais G, Brosillon S, Laplanche A. Ultra-pressure liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry for multiresidue determination of pesticides in water [J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1202(2): 163 - 172.
- [31] Blasco C, Pico Y, Andreu V. Analytical method for simultaneous determination of pesticide and veterinary drug residues in milk by CE-MS [J]. Electrophoresis, 2009, 30(10): 1698 - 1707.
- [32] Lee K, Ahn C, Park S, *et al.* Development of an immunoassay for the residues of the herbicide bensulfuron-methyl [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(7): 1791 - 1803.
- [33] 王庆华. 豆磺隆酶联免疫分析方法的研究 [D]. 哈尔滨, 东北农业大学, 2002.
- [34] Akiyama Y, Yoshioka N, Tsuji M. Determination of ten sulfonyl urea herbicides in unpolished rice by solid-phase extraction cleanup and LC-diode array detection [J]. Shokuhin Eiseigaku Zasshi, 2002, 43(2): 99 - 103.
- [35] 陈军, 张宗祥, 卜伟等. 固相萃取-高效液相色谱法测定水中磺酰脲类除草剂 [J]. 环境监测管理和技术, 2007, 19 (5): 32 - 34.
- [36] 祁彦, 占春瑞, 张新忠, 等. 高效液相色谱法同时测定大豆中 10 种磺酰脲类除草剂的残留量 [J]. 色谱, 2004, 22 (6): 634 - 638.
- [37] 隋凯, 李军, 卫锋, 等. 固相萃取-高效液相色谱法同时检测大米中 12 种磺酰脲类除草剂的残留 [J]. 色谱, 2006, 24 (2): 152 - 156.
- [38] Romero R, Frenich A, Garrido Vidal, J, *et al.* Multiresidue method for fast determination of pesticides in fruit juices by ultra performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. Talanta, 2008, 76(1): 211 - 225.
- [39] Perreau F, Bados Philippe, Kerhoas Lucien, *et al.* Trace analysis of sulfonylurea herbicides and their metabolites in water using a combination of off-line or on-line solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2007, 388(5-6): 1265 - 1273.
- [40] Baker E, Olsson O, Needham L, *et al.* High-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for quantifying sulfonylurea herbicides in human urine reconsidering the validation process [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2005, 383(6): 963 - 976.
- [41] François P, Philippe B, Lucien K, *et al.* Trace analysis of sulfonylurea herbicides and their metabolites in water using a combination of off-line or on-line solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Analysis Bioanalysis Chemistry, 2007, 388: 1265 - 1273.
- [42] Shalaby L M, Bramble F Q, Lee P W. Application of thermo spray LC/MS for residue analysis of sulfonylurea herbicides and their degradation products [J]. Journal Agriculture Food Chemistry, 1992, 40(1): 513 - 517.
- [43] 叶贵标, 张微, 崔昕, 等. 高效液相色谱/质谱法测定土壤中 10 种磺酰脲类除草剂多残留 [J]. 分析化学, 2006, 34 (9): 1207 - 1212.

- [44] Lily T, Campbell D A, Bennett P K, *et al.* Acceptance criteria for ultratrace HPLC-tandem mass spectrometry quantitative and quality determination of sulfonylurea herbicides in soil [J]. *Analysis Chemistry*, 1996, 68: 3397 - 3404.
- [45] Bernal J, Jimmez J, Geerguedas A, *et al.* Determination of chlorsulfuron and tribenuron-methyl residues in agricultural soil [J]. *Journal Chromatography A*, 1997, 778: 119 - 125.
- [46] 金雁, 姜莉, 赵颖, 等. 高效液相色谱法同时测定蔬菜中多种磺酰脲类除草剂的残留量 [J]. *分析测试*, 2008, (4): 61 - 64.
- [47] Font N, Hernandez F, Hogendoorn E A, *et al.* Microwave assisted solvent extraction and reversed-phase liquid chromatography-UV detection for screening soils for sulfonylurea herbicides [J]. *Journal Chromatography A*, 1998, 798: 179 - 186.
- [48] Degelmann P, Egger S, Juerling H, *et al.* Determination of Sulfonylurea Herbicides in Water and Food Samples Using Sol-Gel Glass-Based Immunoaffinity Extraction and Liquid Chromatography-Ultraviolet/Diode Array Detection or Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(6): 2003 - 2011.
- [49] Polati S, Bottaro M, Frascarolo P, *et al.* HPLC-UV and HPLC-MSⁿ multiresidue determination of amidosulfuron, azimsulfuron, nicosulfuron, rimsulfuron, thifensulfuron methyl, tribenuron methyl and azoxystrobin in surface waters [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 579(2): 146 - 151.
- [50] 邹明强, 刘丽, 王飞, 等. 高效液相色谱法在氟铃脲标准样品制备中的应用研究[J]. *农药*, 2004, 43 (9): 419 - 420.
- [51] Ahmad I, Crawford G. Trace residue analysis of the herbicide chlorsulfuron in soil by gas chromatography-electron capture detection [J]. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 1990, 38: 138 - 142.
- [52] 胡先文, 叶发兵, 董元彦. 水中甲磺隆的气相色谱分析研究[J]. *光谱实验室*, 2003, 20 (4): 18 - 21.
- [53] Berrada H, Font G, Moltó J. Determination of urea pesticide residues in vegetable, soil, and water samples [J]. *Analytical Chemistry*, 2003 (1): 1 - 6.
- [54] 吴岩, 杨长志, 刘永, 等. 气相色谱-质谱法测定大豆中豆磺隆的残留量[J]. *分析实验室*, 2008, 27 (3): 80 - 83.
- [55] Degelmann P, Wenger J, Niessner R, *et al.* Development of a class-specific ELISA for sulfonylurea herbicides [J]. *Environmental Science and Technology*, 2004, 38(24): 6795 - 6802.
- [56] Dinelli G, Vicari A, Brendolini V. Detection and quantitation of sulfonylurea herbicides in soil at ppb level by capillary electrophoresis [J]. *Journal Chromatography A*, 1995, 700: 201 - 207.
- [57] 谢晓梅, 廖敏. 毛细管电泳定量测定稻田土壤中痕量磺酰脲类除草剂残留 [J]. *农药学报*, 2004, 6 (2): 57 - 61.
- [58] 黄德智, 李学德, 操海群. 苯磺隆农药标准品的制备研究 [J]. *安徽农业科学*, 2004, 32 (2): 246 - 247.
- [59] 张锁秦, 李耀先, 王天斌, 等. 氯嘧磺隆标准品的合成、纯化与表征 [J]. *吉林大学自然科学学报*, 2001, 3: 103 - 105.
- [60] 邹明强, 陈明岩, 张锁秦, 等. 豆磺隆农药标准品的制备研究 [J]. *化学研究与应用*, 2001, 13 (5): 581 - 583.

- [61] 邹明强, 陈明岩, 付英文, 等. 噻嘧磺隆标准品的提纯与表征 [J]. 光谱实验室, 2001, 18 (3): 286 - 289.
- [62] 邹明强, 刘丽, 王飞, 等. 质谱法及高效液相色谱法在噻嘧磺隆标准物质研制中的应用 [J]. 化学研究, 2003, 14 (3): 38 - 41.
- [63] 欧阳天贽, 钟晓凌, 陈茂彬. 绿磺隆的提纯及作为标准物质的定值与表征 [J]. 湖北工学院学报, 2002, 17 (3): 46 - 47.
- [64] 胡先文, 张新萍, 董元彦. 甲磺隆农药标准品的提纯、表征及定值 [J]. 湖北农业科学, 2003, 5: 51 - 52.
- [65] 刘兴艳, 廖显威, 陈国力, 等. 几种磺酰脲类除草剂的 ^1H NMR 谱的理论研究 [J]. 波谱学杂志, 2008, 25 (2): 211 - 216.
- [66] 沈阳化工研究院. 中华人民共和国化工行业标准 HG 3717-2003 噻嘧磺隆原药 [S]. 北京: 国家经济贸易委员会, 2003.
- [67] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局/中国国家标准管理委员会. GB 23588-2009 苄嘧磺隆可湿性粉剂 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [68] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局/中国国家标准管理委员会. GB 22170-2008 吡嘧磺隆可湿性粉剂 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [69] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局/中国国家标准管理委员会. GB 22168-2008 吡嘧磺隆原药 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [70] FAO. Nicosulfuron [S]. Rome: FAO Specifications and evaluations for agricultural pesticides, 2005.
- [71] 苏少泉. 噻嘧磺隆在我国的发展 [J]. 农药, 2003, 42 (7): 5 - 8.
- [72] 吴春先, 高立明, 王广成, 等. 噻嘧磺隆的高效液相色谱分析 [J]. 农药科学与管理, 2006, 25 (10): 6 - 9.
- [73] 宋丽华, 谢红, 白殿奎. 噻嘧·莠去津油悬浮剂的高效液相色谱分析 [J]. 化学工程师, 2009, (3): 29 - 30.
- [74] 贾淑敏, 王树娟, 赵文英, 等. 噻嘧磺隆原药的高效液相色谱分析 [J]. 农药, 2009, 48(6): 427-428.
- [75] 白丽萍, 关爱莹. 高效液相色谱法测定乙氧噻嘧磺隆 [J]. 农药, 2003, 42 (2): 52.

附录 — 略缩词表

略缩词	英文全称	中文名称
ADI	Acceptable Daily Intake	日容许摄入量
CAC	Codex Alimentarius Commission	国际食品法典委员会
^{13}C -NMR	^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	核磁共振碳谱
CZE	Capillary Zone Electrophoresis	毛细管电泳
d	Day	天
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay	酶联免疫
ELSD	Evaporative Light Scattering Detector	蒸发光散射检测器
FAO	The Food and Agriculture Organization of the United Nations	联合国粮食及农业组织
GC	Gas Chromatogram or Gas Chromatography	气相色谱图/法/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
h	hour	小时
hm ²	Hectare	公顷
^1H -NMR	^1H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	核磁共振氢谱
HPLC	High performance liquid chromatography	高效液相色谱法
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
LD ₅₀	Median lethal dose	致死中量
MRLs	Maximum Residue Limits	最大残留限量
NMR	Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	核磁共振波谱法/仪
PDA	Photo Diode Array Detector	二极管阵列检测器
RSD	Relative Standard Deviation	相对标准偏差

致 谢

值此论文完成之际，衷心感谢我的导师范志先教授 3 年来从论文选题、试验设计、试验实施到论文写作修改所倾注的大量心血，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 3 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，尤其是前处理过程和大型精密仪器的操作使用，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。

作者特别感谢淄博新农基农药化工有限公司、连云港常泰化工有限公司等单位提供的嘧啶磺酰脲类除草剂原药。

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。并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丁宁、赵文英、王树娟、李娇、吴国华、陈琳、马睿兰、王小非、杜洪瑛等同学的大力帮助和支持。在此表示衷心感谢。同时，还要感谢蔡建、姜丽、李慧等同学在 3 年的研究生生活中给予的帮助和鼓励。

特别还要感谢父母 3 年来对我的支持和关怀。

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。

最后对审阅和评议的答辩委员会的全体专家、教授致以最诚挚的谢意！

二〇一〇年六月十日于青岛

攻读学位期间发表的学术论文目录

- [1] 赵文英, 沈翠丽, 丁宁, 贾淑敏, 范志先. 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), 2008, 29(4): 305 - 309.
- [2] 范志先, 丁宁, 赵文英, 贾淑敏, 王树娟. 施用三乙磷酸铝后铝在黄瓜及叶片上的残留分析与评价 [J]. 分析试验室, 2009, 28(8): 113 - 115.
- [3] 范志先, 赵文英, 贾淑敏, 王树娟, 傅慧. 反相高效液相色谱法测定纺织品上的氯菊酯 [J]. 青岛科技大学学报 (自然科学版), 2009, 30(4): 310 - 313.
- [4] 范志先, 贾淑敏, 王树娟, 赵文英, 李秀彬. 二环己胺及杂质的高效液相色谱分析 [J]. 化学试剂, 2009, 31(12): 1005 - 1006.
- [5] 贾淑敏, 王树娟, 赵文英, 范志先. 酰嘧磺隆原药的高效液相色谱分析 [J]. 农药, 2009, 48(6): 427 - 428.
- [6] 范志先, 贾淑敏, 丁宁, 赵文英, 王树娟. 离子对反相高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定三乙磷酸铝的含量 [J]. 色谱, 2009, 27(6): 849 - 851.
- [7] 范志先, 王树娟, 贾淑敏, 肖祥勇. 黄瓜中溴离子的离子色谱法测定 [J]. 青岛科技大学学报 (自然科学版), 已接受, 待发表.
- [8] 范志先, 贾淑敏, 王树娟. 化纤废水中二甲基亚砷和丙烯腈的高效液相色谱分析 [J]. 中国环境监测, 已接受, 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：贾淑敏 日期：2010 年 6 月 10 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：贾淑敏 日期：2010 年 6 月 10 日

导师签名：范志光 日期：2010 年 6 月 10 日