

文章编号: 0254-5357(2003)02-0093-05

# 固相萃取-高效液相色谱法快速测定 土壤及水中莠去津

谢文明<sup>1</sup> 范志先<sup>1</sup> 张玲金<sup>2</sup> 陈明<sup>2</sup>

(1. 吉林农业大学资源与环境学院, 吉林 长春 130118; 2. 国家地质实验测试中心, 北京 100037)

**摘要:**建立了分析土壤和水中的莠去津农药残留的反相高效液相色谱方法。使用去离子水对土壤中的莠去津进行提取, Sep-Pak C<sub>18</sub>反相固相萃取柱对土壤浸提液和水样进行富集、浓缩、纯化, 并用1.5~2 mL的甲醇洗脱, 利用甲醇-水作为流动相, 采用等梯度淋洗技术进行高效液相色谱分析。莠去津在土壤中不同添加水平回收率分别为87.0%~93.3%, 水中则为97.3%~103.2%, 介于80%~120%。莠去津的最小检出量为0.01 ng, 土壤和水中莠去津最低检出浓度分别为1.5 ng/g和0.03 µg/L水平。该方法由于用水提取及固相萃取技术的使用, 使整个前处理过程有机试剂的使用量仅为数毫升, 适用于监测环境中的莠去津农药污染。

**关键词:** 莠去津; 土壤; 水; 高效液相色谱; 固相萃取

**中图分类号:** O652.63; X132

**文献标识码:** A

莠去津(atrazine)是瑞士汽巴-嘉基(Ciba-Geigy)公司开发生产的一种均三氮苯类除草剂(Triazine herbicides)<sup>[1]</sup>, 化学名称为2-氯-4-乙胺基-6-异丙胺基-1,3,5-三嗪, 主要用于防除玉米、高粱和甘蔗等作物田中各种阔叶杂草及禾本科杂草。我国从60年代开始引进莠去津, 近年来, 莠去津被广泛应用在各玉米产区, 使用量也由80年代的100 t(有效成分)增加到90年代的690 t<sup>[2]</sup>。莠去津较长的残留期(1年到几年)、较高的水溶性(30 mg/L, 20℃)及应用量的增加和施用范围的扩大导致其对环境的影响日益突出<sup>[3]</sup>。在施用后, 莠去津母体及其降解物在土壤中可以存留几年时间, 导致后茬敏感作物发生药害, 影响正常轮作的进行<sup>[4-6]</sup>。因为莠去津在土壤中具有较高的移动性, 尤其在有机质和粘粒含量低的土壤中, 通过渗漏、淋溶及地表径流的携带作用可对地下水及地表水造成污染。Huang等人利用同位素稀释气质法发现莠去津可以通过土壤剖面进入到地下水中<sup>[7]</sup>。

残留莠去津的分析主要是应用填充柱或毛细

管柱具氮磷检测器或电子捕获检测器的气相色谱方法<sup>[8-10]</sup>。另外气相色谱-质谱联用技术也越来越多地应用在莠去津残留分析中<sup>[11,12]</sup>。近年来以甲醇-水为流动相的反相高效液相色谱(HPLC)方法被大量的应用于环境中莠去津及其代谢物的分析<sup>[13-15]</sup>。此外离子对反相高效液相色谱法亦被用来测定土壤中的残留<sup>[16]</sup>。但是多数方法的前处理需要大量的有机溶剂和繁琐的处理步骤, 不利于大量样品的分析。由于莠去津广泛的、世界范围的应用, 人们对其在土壤和水等环境介质中的残留量及其环境行为更为关注, 因此需要一种快速、简单有效的分析技术。本实验的目的是发展一种能够从水和土壤中快速提取、富集和检测莠去津残留的方法, 并对采集的样品进行测定。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂和仪器

甲醇: 紫外光学纯; 水: 去离子水, 用全玻璃蒸馏装置进行重蒸馏; 0.5 µm聚四氟乙烯滤膜进行过

收稿日期: 2002-10-14; 修订日期: 2003-01-21

基金项目: 国土资源部科技项目(20010301)

作者简介: 谢文明(1970-)男, 山东省潍坊市人, 讲师, 在读博士。主要从事农用化学品及各种长残留有机污染物的生态毒理学及环境行为的研究。

滤, 莠去津标准品: 含量(质量分数,  $\mu\text{w}$ ) 98.4% (国家标准物质中心)。

高效液相色谱仪( Waters ), 具 510 定量输液泵,  $\text{U}_{6\text{K}}$  进样器及自动洗脱梯度控制器; Waters 490 紫外检测器; Model 730 数据处理器; 色谱柱为 Waters Nova-Pak  $\text{C}_{18}$  反相柱(  $\phi$  30 mm  $\times$   $l$  150 mm, 5  $\mu\text{m}$  ); Waters Nova-Pak  $\text{C}_{18}$  前置保护柱。

DL-1 型固相萃取器( 国家色谱研究分析中心 ); Sep-Pak  $\text{C}_{18}$  固相萃取柱( Waters Associates USA ); SHZ-3 型循环水多用真空泵; HZS 恒温水浴振荡器; CX-250 超声波清洗器; LD5-10 离心机; DGF30/14- II 型电热干燥箱。

## 1.2 固相萃取方法的建立

固相萃取( SPE )方法包括有 SPE 柱预处理、加样、洗去干扰物和回收分析物四个步骤。

### 1.2.1 固相萃取柱预处理

在使用 SPE 预柱之前, 先用 5 mL 的甲醇通过萃取柱, 再用 5 ~ 10 mL 水替换出 SPE 柱中的甲醇, 并注意不能使 SPE 落干。目的是除去填料中可能存在的杂质并使填料溶剂化, 提高固相萃取的重现性。

### 1.2.2 加样

SPE 柱预处理后, 将样品提取液加入并通过 SPE 柱。莠去津和大部分共提取物被保留在吸附剂上。加到萃取柱上的试样量取决于 SPE 柱的填料量和类型、在试样溶剂中试样组分的保留性质和试样中分析物及基质组分的浓度等因素。因为莠去津和试样基质中的共提取物都竞争吸附部位, 所以对不同基质的试样负载量是不同的。最后萃取的试样中莠去津的量要小于上述测定值, 防止在清洗杂质时损失。

### 1.2.3 干扰杂质去除

加试样于 SPE 柱上, 调节甲醇和水的比例以及清洗溶剂的体积, 依次收集和分析流出液, 确定是否有莠去津淋出。根据不同极性下的洗脱分布确定合适的极性和体积。

### 1.2.4 莠去津的洗脱和收集

将莠去津用甲醇完全洗脱并收集, 同时使比莠去津具有更强保留的杂质尽可能多地留在 SPE 柱上。

## 1.3 样品的处理和分析

### 1.3.1 土壤样品处理

将冷冻土样( 每份约 500 g )在用丙酮冲洗过

的铝箔上室温下放置过夜。将土块用铲子铲碎, 分合多次以混匀, 同时除去石块、枝条等植物残体。准确称取过 0.9 mm 筛的土壤样品 10.00 g 于 105℃ 烘干过夜, 称其干重计算含水量。

另外准确称取 10.00 g 土样于具塞的三角瓶中, 加水 50 mL, 盖好并于 95 ~ 98℃ 水浴振荡 1 ~ 2 h, 超声波震荡提取 5 ~ 10 min 后于 3 000 r/min 下离心 30 min, 转移上清液。此过程重复一次, 将两次的提取液合并。调节 pH 为 7.0 后通过 Whatman No. 4 或  $\text{G}_4$  砂芯漏斗进行抽滤, 并以 2 ~ 3 mL/min 的速度通过已经活化好的固相萃取柱。萃取结束后, 用 10 ~ 20 mL 水冲洗 SPE 柱, 并加 5 mL 的 10% 甲醇-水溶液冲洗以除去部分杂质。取下萃取柱, 于 1 500 r/min 下离心 1 min 除去残存水分, 然后用 1.5 ~ 2 mL 的已脱气的甲醇( 用移液管准确加入 )洗脱到一个干燥、洁净的离心管中, 将萃取柱和离心管以 1 500 r/min 离心 30 min, 使所有的洗脱液都与填料分离, 以确保高的回收率。将滤液超声处理后, 通过 0.5  $\mu\text{m}$  滤膜滤入 HPLC 进样瓶中, 进行 HPLC 分析。整个提取过程避免使用塑料容器, 防止邻苯二甲酸酯对分析的干扰。

### 1.3.2 水样的处理

首先将水样用  $\text{G}_4$  砂芯漏斗进行抽滤, 除去各种机械杂质后调节 pH 为 7.0。将 250 ~ 500 mL 的水样以 15 ~ 20 mL/min 的速率通过已活化好的 SPE 柱, 以下参照 1.3.1 节进行处理。

### 1.3.3 高效液相色谱检测

采用  $V_{\text{甲醇}}: V_{\text{水}} = 55: 45$  的溶液作为流动相, UV 检测器, 波长 222 nm, 进样量 20  $\mu\text{L}$ , 利用 Model 730 数据处理器进行积分。采用外标法利用峰面积进行定量, 利用保留时间及紫外吸收谱图对提取液中的莠去津进行确证。

## 1.4 添加回收率的测定

### 1.4.1 土壤的添加回收率测定

称取制备好的风干空白土样 10.00 g 于具塞三角瓶中, 将 5 ~ 10 mL 稀释到合适浓度的莠去津标准水溶液加入到土样中, 振荡平衡 1 h 后放置通风橱中风干一周备用。以下按 1.3.1 节进行回收率的测定。

### 1.4.2 水样的添加回收试验

取 500 mL 空白水样, 加入适量莠去津标准溶液, 充分混匀。以下按 1.3.2 节进行测定。

2 结果与分析

2.1 固相萃取的基本原理和特点

SPE 实际上是色谱技术在样品净化、富集方面的一种专门应用形式。当试样流经已键合特定有机相的多孔固体介质时,待测物被有机相所吸附,清洗杂质后再用少量洗脱液将其洗脱。根据填料类型可以将其分为吸附型和分配型。使用的基本原则同一般的色谱原理,即根据样品的理化性质来选择合适的萃取柱和洗脱液。在净化中主要是采用保留欲测定组分、将干扰共提取物洗脱除去或与之相反这两种方式。影响组分吸附和洗脱的因素主要包括样品本身和洗脱溶剂的极性、流速以及和固相填料接触的程度。当样品溶液通过 C<sub>18</sub> 萃取柱时,溶质的疏水部分较好地吸附于填料表面,而亲水部分则留在水相,在固相填料和洗脱液之间交替建立亲脂性和疏水性平衡而影响溶质的吸附。溶质的分配系数  $K_D$  可以由下式表示:

$$K_D = V \times W_x / W \times W_s$$

式中:V 表示溶液体积;W 表示填料重量;W<sub>x</sub> 填料上溶质重量;W<sub>s</sub> 溶液中溶质重量。

$K_D$  值增大说明待测组分倾向于保留在萃取柱中。因此,根据样品中待测组分和干扰共提取物的性质选择合适的萃取柱、清洗液和洗脱液十分重要。通常是将样品溶液以适当速度通过萃取柱,用水或少量甲醇、乙腈等有机溶剂进行洗脱,以除去干扰共提取物,由于待测物在洗脱液中的浓度通常高于原溶液,所以在净化的同时对样品进行了富集。

2.2 固相萃取柱的负载量及最佳洗脱体积

2.2.1 固相萃取柱负载量的确定

不同规格的 SPE 柱的固定相填料性质和填料质量有较大的差异,且都有一定负载极限,超过此极限则会引起待测组分的损失。Sep-Pak C<sub>18</sub> 负载量的测定结果表明,莠去津在 C<sub>18</sub> 反相萃取柱上的负载量大于 5 mg,能够满足莠去津的残留测定需要,不会引起待测组分的损失。

2.2.2 杂质的去除和莠去津洗脱体积的确定

将吸附有一定量莠去津的 SPE 柱用不同比例和体积的甲醇水溶液淋洗,并测定是否有莠去津检出。最终确定用 5 mL 10% 的甲醇水溶液清洗可除去大部分极性较大的杂质,而不会导致莠去津的损失。然后用已充分脱气的甲醇洗脱上述 SPE 柱,并分段接收洗脱液进行 HPLC 分析,以确定莠去津在洗脱液中的分布情况,从而确定最佳的洗脱

体积。图 1 显示了莠去津在甲醇洗脱液中的分布情况,可以看出大于 99% 的莠去津在最初的 1.5 mL 甲醇中即可以从 SPE 柱上洗脱出来。因此以 2 mL 作为洗脱体积可以保证足够高的回收率(R)和足够的浓缩比,而且可以防止干扰共提取物被大量洗脱下来。

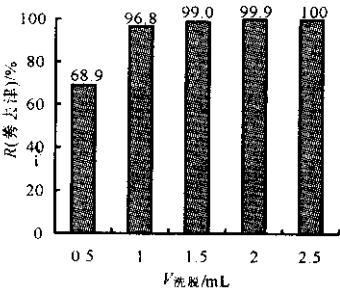


图 1 莠去津在 SPE 柱上的洗脱分布  
Fig. 1 Elution distribution of atrazine level from the SPE cartridge

2.3 莠去津标准曲线的建立

调节莠去津的进样量由 0.01 ~ 0.1 ng, 获得一系列对应的峰面积(A<sub>p</sub>)值,作图(图 2)。其直线方程为:

$$Y = 18.12X - 90.87 (r = 0.9991)$$

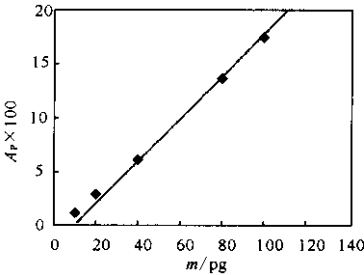


图 2 莠去津的标准曲线  
Fig. 2 Calibration curve of atrazine

2.4 莠去津在土壤和水中的回收率

通常莠去津的提取均采用有机溶剂,如甲醇、乙酸乙酯等进行提取,操作过程中存在着乳化、毒性、易燃及环境污染问题,而且提取液中含有多种干扰共提取物影响色谱分析。用水作为提取液不但可以减少各种非极性共提取物的产生,并能最大程度地防止莠去津的降解或转化。莠去津在土壤中不同添加水平回收率分别为 87.0% ~ 93.3%,水中则为 97.3% ~ 103.2%(表 1),均大于 80%。莠去津的最小检出量为 0.01 ng,在土壤中最低检出浓度为 1.5 ng/g,水样中为 0.03 μg/L 水平。5 次测定的相对标准偏差均小于 5%。

表 1 莠去津在土壤和水中的回收率

Table 1 Recoveries of atrazine in soil and water samples

样品 sample	取样量 sampling quantity	m/μg		R/% recovery	RSD/% (n=5)
		添加量 added	回收量 found		
土壤 soil	10 g	0.3	0.28	93.3	1.70
		3.0	2.61	87.0	1.60
		30.0	26.23	87.4	4.50
水 water	500 mL	1.25	1.29	103.2	1.22
		4.90	4.77	97.3	1.60

2.5 高效液相色谱分离条件

HPLC 分离条件的选择是基于待测成分与土壤和水中共提取物的完全分离。本方法试验以  $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{水}}=55:45$  为流动相,可以使莠去津同杂质完全分离,防止拖尾,使色谱峰具有对称的峰形(图 3),同时控制分析时间在 20 min 内,加快分析速度。由于流动相为中性,不会因为酸、碱或离子对试剂的加入而缩短色谱柱的使用寿命,也不会对仪器部件造成腐蚀。

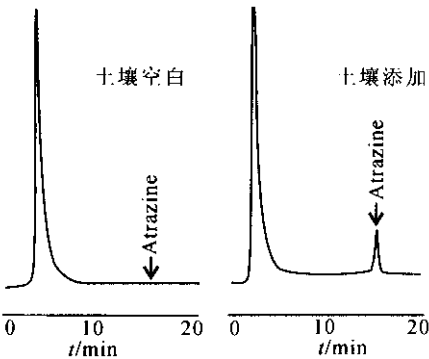


图 3 莠去津的高效液相色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of atrazine

2.6 土壤样品的测定

采集吉林省四平和长春地区施用过莠去津除草剂的玉米田的 0~20 cm 耕层土壤的 59 个土样按 1.3 节进行分析。检测结果显示,莠去津的检出率为 93.3%,其浓度介于 0.008~0.229 μg/g,几何均数为 0.052 μg/g;大部分土壤中的莠去津含量处于 0.01~0.05 μg/g,占总采样数的比例为 54.83%。

在农业生产中除了莠去津外,乙草胺、2,4-D 等具有同莠去津类似性质的除草剂等亦大量应用在玉米生产中。如果它们出现在提取液中,则可利用它们各自的保留时间的差别和紫外特征吸收的不同进行定性分析。图 4 为莠去津标准品的甲醇

溶液和添加土样中提取物的紫外吸收谱图,可以看出二者具有相同的特征吸收峰(222 nm 和 265 nm),据此可判定土壤样品中含有莠去津成分。

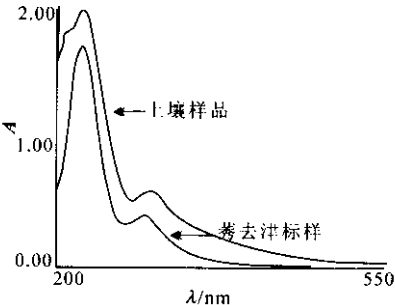


图 4 莠去津标样和添加土样的紫外吸收谱图

Fig. 4 Ultraviolet absorption spectra of atrazine from standards and soil sample

3 结语

本实验中利用不含有机质的水对待测土样进行提取,用 Sep-Pak C<sub>18</sub> 反相固相萃取柱对土壤浸提液中的莠去津进行富集和浓缩。在整个前处理中,有机溶剂的使用量仅数毫升,同时大大缩短了样品前处理的时间。与传统的液-液分配萃取技术及一般柱层析相比,可节约溶剂和时间约 90%,并且避免了液-液分配中的乳化及浓缩过程中待测组分的分解变化的发生,减少了有机溶剂对操作人员的损害和对环境的二次污染。

同时由于固相萃取技术的使用,使萃取、富集、净化一步完成,节约了大量时间和试剂,使大量环境样品的迅速分析成为可能,还减少了对环境的污染。由于短时间内即可完成大批量样品的处理、分析和检测,因此该方法适用于对大量环境样品中莠去津含量的监测和分析,从而达到更好的指导该除草剂的使用,以减少对环境的污染,增加对后茬作物的安全性。对吉林省四平和长春地区所采集的土壤样品的测定显示莠去津的检出率达到 93.3%,污染严重。

4 参考文献

[1] Francis A G. The Triazine Herbicides [J]. *Residue Review*. 1970, 32: 40—42.  
[2] 华小梅. 我国农药的生产、使用状况及其污染环境因子分析 [J]. *环境科学进展*. 1996, 4(2): 33—35.  
[3] Martine M. Spectrophotometric Method to Determine Ternary Mixture of Atrazine, Diuron and Chlorpyrifos in Water and Soil by a Ratiospectrum-zero Crossing Method [J]. *J Assoc Off Anal Chem*. 1995, 28(2): 423—430.  
[4] 陈观林, 陈中霞, 张仲国. 一起阿特拉津污染农田事

- 故调查[J]. 农业环境保护. 1989, 5: 38—40.
- [5] Frank R, Sanders J R. The Effect of pH on the Total and Free Ionic Concentrations of Manganese, Zinc and Cobalt in Soil Solutions[J]. *J Soil Sci.* 1983, 63: 315—325.
- [6] Wehje G R, Spalding R F, Burnside O C. Biological Significance and Fate of Atrazine under Aquifer Conditions[J]. *Weed Sci.* 1983, 31: 610—618.
- [7] Huang L Q, Frink C R. Distribution of Atrazine, Simazine, Alachlor and Metolachlor in Soil Profiles in Connecticut[J]. *Bull Environ Contam Toxicol.* 1989, 43: 159.
- [8] Young H Y, Chu A. Microdetermination of Chloro-s-triazines in Soil by Gas-liquid Chromatography with Nickel Electron Capture or Electrolytic Conductivity Detection[J]. *J Agric Food Chem.* 1973, 21(4): 711—713.
- [9] Miles C J, Zhou M. Multiresidue Pesticide Determinations with a Simple Photoconductivity HPLC Detector[J]. *J Agric Food Chem.* 1990, 38(4): 986—989.
- [10] Zimdahl R L, Catizone P, Butcher A C. Degradation of Pendimethalin in Soil[J]. *Weed Sci.* 1984, 32: 408—412.
- [11] Bagrati R. Screening 21 Pesticides in Water by Single Extraction with C<sub>18</sub> Silica Bonded Phase Columns and HRGC-MS[J]. *Chemosphere.* 1981, 17: 59—65.
- [12] Huang L Q. Simultaneous Determination of Alachlor, Metolachlor, Atrazine and Simazine in Water and Soil by Isotope Dilution Gas Chromatography/Mass Spectrometry[J]. *J Assoc Off Anal Chem.* 1989, 72(2): 349—353.
- [13] Beilsteiner P, Cook A M, Hutter R. Determination of Seventeen s-triazine Herbicides and Derivatives by High Pressure Liquid Chromatography[J]. *J Agric Food Chem.* 1981, 29(6): 1132—1135.
- [14] Vermeulen N M J, Apostolides Z, Potgieter D, et al. Separation of Atrazine and Some of its Degradation Products by High-performance Liquid Chromatography[J]. *J Chromatogr.* 1982, 240—247.
- [15] Paschal D, Bicknell R, Siebenmann K. Determination of Atrazine in Runoff Water by High Performance Liquid Chromatography[J]. *J Environ Sci Health.* 1978, 13(2): 105—115.
- [16] Wenheng Q, Schultz N A, Stuart J D, et al. Determination of Atrazine and Hydroxyatrazine Residues in Soil by Ion-pair Reversed-phase High Performance Liquid Chromatography[J]. *J Liq Chromatogr.* 1991, 14: 1367—1392.

## Rapid Analysis of Atrazine in Soil and Water Samples by Solid-Phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography

XIE Wen-ming<sup>1</sup>, FAN Zhi-xian<sup>1</sup>, ZHANG Ling-jin<sup>2</sup>, CHEN Ming<sup>2</sup>

(1. School of Source and Environmental Sciences, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2. National Research Center of Geoanalysis, Beijing 100037, China)

**Abstract**: An improved HPLC method was developed for the determination of atrazine in soil and water samples. The method involves an initial extraction of the soil samples with water. Sep-pak C<sub>18</sub> SPE cartridges were used to concentrate atrazine from both soil extraction and water samples and then eluted by air-displacement of 1.5 ~ 2 mL of methanol. Atrazine was analyzed by a reversed-phase high performance liquid chromatography using a column of Nova-Pak C<sub>18</sub> bonded silica with methanol-water as a mobile phase. Detection wavelength was 222 nm. The average recoveries of spiked analytes were fall within 87.0% ~ 93.0% and 97.3% ~ 103.2% for soil and water samples respectively. The detection limit is 0.01 ng for atrazine. The detection level of atrazine is 1.5 ng/g in soil and 0.03 µg/L in water. The method has been applied to the determination of atrazine residue in soil and water samples. And it can be used in monitoring atrazine pollution in environment.

**Key words**: atrazine; soil; water; high performance liquid chromatography; solid phase extraction(SPE)