

水环境中 RH-5992 液相色谱分析

朱九生

K. M. S. Sundaram R. Nott

(山西省农科院植物保护研究所, 太原 030031) (加拿大林业部森林害虫治理研究所, 苏圣玛丽 P6A 5M7)

摘要 为评价 RH-5992 在环境中的分布与结局, 介绍了一种该化合物在湖水、淤泥、鱼、宽叶香蒲草和驴蹄草中的残留量分析方法。分析过程包括溶剂的提取、液液分配、柱层析净化和液相色谱分析。分析物采用二极管阵列式(diode-array)紫外检测器进行检测, 柱型为 RP-8, 流动相为乙腈、二氧六环和水。方法平均回收率为 85%—98%, 变异系数为 6%—9%, 最低检出浓度除湖水为 0.050 $\mu\text{g/L}$ 外, 其它几种样品为 0.009—0.028 mg/kg 。

关键词 RH-5992, 水环境, 残留分析, 高效液相色谱。

RH-5992, 英文通用名 tebufenozine, 化学名称为 N-叔丁基-N-[3, 5-二甲苯酰]-N-[4-乙基苯甲酰]-肼, 是一种新型的昆虫几丁质合成抑制剂^[1-3]。RH-5992 气相色谱分析主要包括甲基衍生化, 时间长, 所需试剂毒性大, 结果重现性差, 同时样品中的干扰物的存在也使净化比较困难。为了寻求一种快速有效的分析方法。经过多次比较选择研究, 开发出了直接测定 RH-5992 的高效液相色谱法, 其各项指标均符合残留分析要求。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

(1) 主要仪器 HP 1090 M 高效液相色谱仪, 配备有 HP 二极管阵列式(diode-array)UV 检测器($\lambda 190-600 \text{ nm}$)、HP 9000 型计算机工作站和 HP 型自动进样器; Eberback 6010 型振荡机; Polytron PT 10-35 型组织捣碎机; PTFE 型旋转蒸发器; No. 111 型氮气浓缩仪。

(2) 主要试剂 丙酮、乙腈、二氧六环、二氯甲烷、乙酸乙酯、己烷均为色谱纯, 水为去离子水, 所有溶剂在使用前均通过 0.2 μm 滤芯过滤。

弗罗里硅土, 60—100 目(使用前在 120℃ 下烘 12 h); 氯化钠; 无水硫酸钠(使用前在 300℃ 下烘 12 h, 然后存放在干燥器内备用)。

以上试剂均为分析纯。

RH-5992 标准品, 纯度为 99.6%, 由美国罗门哈斯公司提供(Rohm-Haas)。

1.2 样品的采集

在本项研究中, 水环境样品包括湖水、淤泥、双尾鱼(*Brook trout*)、宽叶香蒲草(*C. attails*)和驴蹄草(*Marsh marigolds*), 这 5 种样品均采自加拿大苏圣玛丽森林湖水区域内, 其中样品鱼体重每条 $46 \pm 9 \text{ g}$, 长 $16 \pm 3 \text{ cm}$ 。样品的采集、预处理和保存均按 K. M. S. Sundaram 建立的方法进行^[4]。

1.3 样品中 RH-5992 提取

(1) 湖水样品 取 250 ml 湖水样品置于 500 ml 分液漏斗中, 加 10 ml 5% NaCl 水溶液, 用 150 ml 二氯甲烷分 2 次萃取。将二氯甲烷萃取液通过无水硫酸钠柱干燥, 并在 30℃ 水浴上旋转蒸发近干。残留物用己烷和乙酸乙酯(9+1, V/V)混合液溶解并转移至离心管中。氮气吹干后, 用乙腈定容至合适体积, 待仪器分析。

(2) 淤泥样品 称取 25 g 样品, 加 60 ml 丙酮和 20 ml 去离子水, 振荡提取 30 min, 真空过滤, 滤渣用 80 ml 丙酮分 3 次洗涤, 将滤液定量转移至圆底烧瓶中, 旋转蒸发至 20 ml 左右以去掉提取液中的丙酮。将浓缩后的提取液转

移至 250 ml 的分液漏斗中,并用 30 ml 己烷冲洗圆底烧瓶。加 80 ml 5% NaCl 水溶液,用 100 ml 己烷分 2 次萃取。己烷萃取液通过无水硫酸钠柱干燥,并旋转蒸发近干。残留物用己烷和乙酸乙酯(9+1, V/V)混合液溶解并转移到离心管中,最后用氮气吹至 5 ml,待柱层析净化。

(3) 鱼样品 称取 10 g 鱼样,加 20 g 无水硫酸钠和 50 ml 丙酮,组织捣碎提取 3 min,真空过滤,滤渣用 100 ml 丙酮重复捣碎提取 2 次,并用 20 ml 丙酮洗涤残渣。将滤液转移至圆底烧瓶中,旋转蒸发至油层形成。将油层相转移至 500 ml 的分液漏斗中,并用 30 ml 己烷冲洗圆底烧瓶。加 60 ml 用己烷饱和的乙腈液,振荡 5 min 后静置分层。收集乙腈相,剩余己烷相再用 120 ml 乙腈溶液重复萃取 2 次。乙腈萃取液通过无水硫酸钠柱干燥,并旋转蒸发近干。残留物用与淤泥样品一样的溶剂溶解定容,待柱层析净化。

(4) 香蒲草和驴蹄草样品 称 10 g 切碎的样品,其余同淤泥样品。

1.4 柱层析净化

(1) 弗罗里硅土净化 取 15 cm×8 mm id 玻璃柱,从下到上填充有玻璃棉、5 cm 弗罗里硅土和 1 cm 无水硫酸钠。依次用 10 ml 乙酸乙酯、10 ml 己烷预淋柱子。将相等于 1 g 样品的提取液转移至柱顶,用 10 ml 己烷-乙酸乙酯(9+1, V/V)、2 ml 己烷-乙酸乙酯(7+3, V/V)淋洗,弃去以上淋洗液。用 8 ml 己烷-乙酸乙酯(7+3)混合液淋洗分析物,收集这部分淋洗液,用氮气吹至近干,再用乙腈溶解并定容至合适体积,待仪器分析。此方法适用于淤泥、鱼和驴蹄草样品的净化。

(2) NH_2 固相柱净化 取 NH_2 固相提取柱(容量 12 ml,吸附剂 0.5 g 加拿大 Fisher Scientific 公司提供),依次用 5 ml 乙酸乙酯、5 ml 己烷预淋柱子,流速为 1 滴/s。将相等于 1 g 样品的提取液转移至柱顶,用 5 ml 己烷-乙酸乙酯(9+1)、1.5 ml 己烷-乙酸乙酯(7+3)淋洗,弃去以上淋洗液。分析物用 2.5 ml 己烷-乙酸乙酯(7+3)淋洗,其它同弗罗里硅土柱层析净化。此

法适用于蒲草净化。

1.5 液相色谱分析

采用 1090 M 型液相色谱仪配备有二阵列式 UV 检测器分析。

分析柱: HP LiChrosorb RP-8, 10 μm , 200×4.6 mm id;

保护柱: HP MOS-Hypersil (C_8), 5 μm , 20×4.0 mm id;

流动相: A 50%水(V/V); B 50%乙腈-二氧六环(4+1, V/V);

流速: 0.8 ml/min; 柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$;

检测器波长: λ 236 nm; 进样量: 40 μl 。

2 结果与讨论

2.1 UV 检测器对 RH-5992 标准的响应

以流动相作参比溶液,检测器参考波长为 430 nm,经扫描测得 RH-5992 最大吸收波长为 236 nm,以此作为检测波长。用乙腈配置 RH-5992 标准母液 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$,并将母液稀释成系列浓度,浓度范围为 0.05—10 $\mu\text{g}/\text{ml}$,在上述色谱条件下,分别进样 40 μl ,测得峰面积。以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,做标准曲线图(见图 1),并进行回归分析。结果表明,紫外检测器对 RH-5992 进样量呈线型关系,相关系数为 1.000,回归方程为 $Y=0.61+2.02 X$ 。

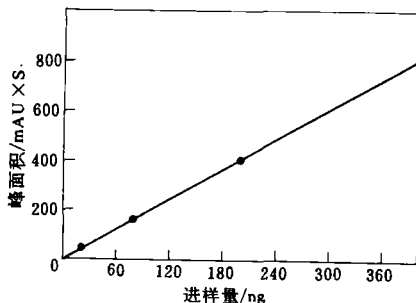


图 1 RH-5992 标准曲线

2.2 流动相的选择

用乙腈和二氧六环解决分析柱中固定相堵塞问题,并使分析物和其它杂质得到很好的分离。典型的色谱图见图 2。图 2 中 A 为 RH-5992 标准添加 20 ng, B 为鱼添加 0.5 mg/kg, C 为

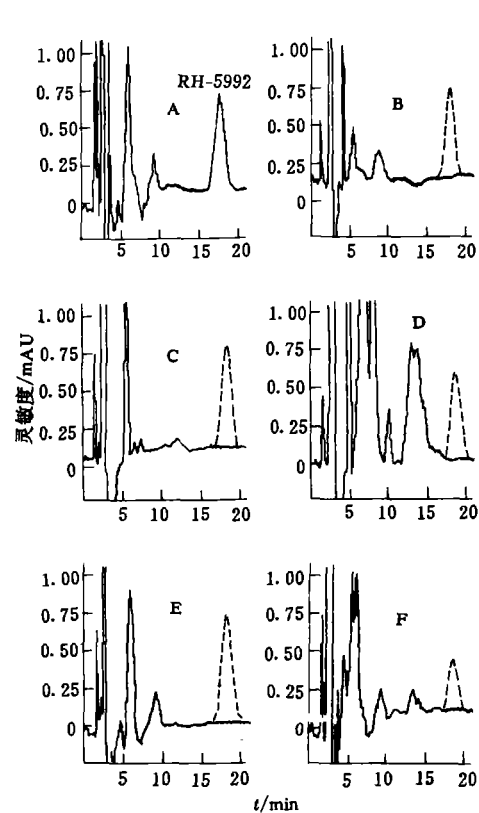


图 2 典型的空白和添加样品色谱图
(虚线为 RH-5992 标准峰)

香蒲草添加 0.5 mg/kg, D 为驴蹄草添加 0.5 mg/kg, E 为淤泥添加 0.5 mg/kg, F 为湖水添加 1.0 μL . 流动相中最佳组分比例为 50%乙腈-二氧六环(4+1, V/V), 50%水. 如果减少有机相的含量, 则分析物出峰时间延长, 峰型变宽; 反之, 则影响分离效果. 当然, 在多次进行分析后, 仍需将流动相调至 100%有机相冲洗柱子, 以避免柱压升高, 峰型变宽. 在上述条件下, 以 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 标准进样 40 μl , RH-5992 平均保留时间为 17.9 min, 变异系数小于 1%(在色谱柱长时间、大量进样后, 分析物出峰时间有所推迟, 如图 2 中的 D 和 F).

2.3 回收率试验

在上述 5 种空白样品中, 添加 RH-5992 标准溶液, 振摇 5 min 后, 静置平衡 1 h. 随后按以上分析方法进行回收试验, 回收率结果见表 1. 从表 1 中可以看出, 湖水和淤泥 3 个档次浓度的平均回收率均在 98%以上, 鱼和其它 2 种水生植物的回收率也在 85%以上, 变异系数小于 10%. 结果表明了此分析方法具有很高的准确度和精确度. 如以最低添加浓度的 3 倍标准差做为检出极限^[5], 那么本方法中湖水、淤泥、

表 1 RH-5992 在水环境样品中添加回收率结果¹⁾

样品种类	添加浓度	回 收 率			平均回收率	标准差	变异系数
		/%			/%	($\pm$)	/%
湖水	0.50	92.74	89.11	86.12	89.32	3.32	3.71
	1.00	105.15	97.67	100.50	101.1	3.78	3.74
	2.00	107.34	107.78	96.35	103.8	5.29	5.10
	0.5—2.0				98.09	7.83	7.98
淤泥	0.05	92.24	101.39	87.25	93.63	7.17	7.66
	0.50	98.36	97.80	110.12	102.1	6.96	6.81
	1.00	96.33	101.12	98.78	98.74	2.40	2.43
	0.05—1.0				98.15	6.33	6.45
鱼	0.10	89.34	92.76	95.04	92.38	2.87	3.11
	0.50	91.01	93.94	89.81	91.59	2.12	2.32
	1.00	107.29	102.64	91.16	100.4	8.30	8.27
	0.1—1.0				94.78	6.17	6.51
宽叶香蒲	0.10	104.78	86.80	91.51	94.36	9.32	9.88
	0.50	92.89	89.53	92.47	91.63	1.83	2.00
	1.00	79.25	81.37	85.22	81.95	3.03	3.69
	0.1—1.0				89.31	7.54	8.44
驴蹄草	0.10	83.18	83.92	95.82	87.64	7.09	8.09
	0.50	84.94	82.45	81.49	82.96	1.78	2.15
	1.00	79.20	87.12	88.04	84.79	4.86	5.73
	0.1—1.0				85.13	4.84	5.69

1) 表中除湖水添加浓度单位为 $\mu\text{g}/\text{L}$ 外, 其它为 mg/kg

表 3 实验的相对标准偏差与回收率¹⁾

样品浓度 /mg · L ⁻¹	$\bar{A}_0$	$\bar{A}_1$	相对标准 偏差 S	回收率 $\bar{A}_1/\bar{A}_0$ ×100%
5.14	0.019	0.018	0.59	94.1
13.29	0.086	0.080	1.02	93.0
24.87	0.181	0.168	0.88	92.3
48.90	0.378	0.348	1.12	92.0
67.32	0.529	0.488	1.51	92.2
125.85	1.009	0.936	1.47	92.8
164.75	1.328	1.208	1.66	91.0
1258.52 ²⁾	0.991	0.910	2.65	91.9
实际水样		0.620	1.44	

1) $\bar{A}_0$ 为标准样品直接进行吸光度测定所得值, $\bar{A}_1$ 为标准样品加入装置曝气后所测得值

2) 样品和实际水样因为浓度过大, 取 0.1 ml 样品于装置中曝气测定值, 其它样品取 1.0 ml

度值, 计算加标回收率, 结果见表 4.

2.6 双点验证

测定过程中为保证测定浓度能在工作曲线

表 4 加标回收试验结果

测定项目	实际 水样	加入标样量/ml			
		0.10	0.20	0.30	0.4
吸光度 A_1	0.265	0.341	0.417	0.492	0.569
浓度/mg · L ⁻¹	37.76	47.89	58.03	68.03	78.23
加标回收率/%		99.4	99.4	99.0	99.1

(上接第 64 页)

鱼、宽叶香蒲草和驴蹄草最低检出浓度分别为 0.050 $\mu\text{g/L}$ 、0.011、0.009、0.028 和 0.02 mg/kg.

总之, 采用液相色谱紫外检测器能灵敏、有效地分析水环境中 RH-5992 的残留, 并且方法简单, 效率高. 若将此方法稍加改动, 也可用来分析其它农林产品中 RH-5992 残留.

的线性范围内, 笔者提出了双点验证法. 具体做法是: 根据参考信息确定测试取样体积 V (0—10 ml), 再取一份 1.2 V 体积, 分别放于不同的曝气管中, 加水至 10 ml 曝气, 测定其吸光度记为 A_1 及 A_2 , 若 $A_2/A_1 = 1.2$ 则测定值可靠; 若偏低 (<1.18) 则说明所取体积太大, 应减小取样量, 重新测定, 直到满足为止. 因为测定速度很快, 这并不耽误多少时间, 其实质是一种保证数据可靠的验证性“平行实验”.

3 结论

通过对原方法的曝气方式及除干扰方式进行改进, 提出了一种方便快捷测定废水中 CS_2 的方法, 且方法的准确度、精密度与抗干扰性都有所提高, 并讨论了有关机理. 方法的测定时间在 10 min 以内, 最低检出浓度为 0.5 mg/L.

参 考 文 献

- 1 Francois C et al. Anal. Chem., 1989, 61: 112
- 2 Russo M. Ann. Chim., 1992, 82(7-8): 397
- 3 Janzer D et al. Int. J. Environ. Anal. Chem., 1992, 48(1): 17
- 4 Hans H R. Gunther Fischer Mikrochim. Acta., 1984, 2(3-4): 237
- 5 朱心. 上海环境科学, 1990, 9(4): 24

参 考 文 献

- 1 农药检定所. 农药科学与管理, 1993, 4: 11—13
- 2 Hurt S S. Bulletin on RH-5992 Toxicology, 1990: 2
- 3 杨新玲, 陈馥衡. 农药科学与管理, 1994, 3: 14—19
- 4 Agriculture Canada. Food Production and Inspection Branch Report. 1987: 56
- 5 ACS Committee on Environmental Improvement and Subcommittee on Environmental Analytical Chemistry. Anal. Chem., 1980, 52: 2242—2248

Longsheng et al. (Institute of Marine Environmental Protection, SOA, Dalian 116023); *Chin. J. Environ. Sci.*, **17**(5), 1996, pp. 56—58

In this paper, the residue of pollutants in economical shellfish along the coast of Huanghai and Bohai Seas during July 1990 and December 1991 was investigated. The background value of concentration of the petroleum hydrocarbons in mollusc along the coast has been calculated. Its overall range is 3.47—19.7 mg/kg (wet), and upper limit of the background value was utilized as assessment standard for the pollution level of oil in shellfish along the coast, the sea area division on pollution degrees of oil in mollusc was done. The results showed that content of oil in shellfish of Dalian bay and Changjiang River estuary and west Jinzhou bay is higher, and the coast of north Huanghai Sea from Yalujiang River mouth to Dayao bay is lower.

Key words: economical shellfish, petroleum hydrocarbons, background value, the coast of Huanghai and Bohai Seas.

Study on the Spectrophotometric Determination of Lead with DBS-Chlorophosphonazo. Zhao Shulin et al. (Shenyang Institute of Chemical Technology, Shenyang, 110021); *Chin. J. Environ. Sci.*, **17**(5), 1996, pp. 59—61

In acidic solution, lead forms a blue colour complex with DBS-chlorophosphonazo. This complex exhibits absorption maximum at 635 nm with apparent molar absorptivity of $4.7 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. The molar ratio of lead to DBS-Chlorophosphonazo has been found to be 1 : 2. Beer's law is obeyed in the concentration range of 0—20 μg per 25 ml. This colour reaction has been used directly for the spectrophotometric determination of lead in cosmetics and dust of smelting copper with satisfactory results.

Key words: DBS-chlorophosphonazo, lead, spectrophotometry.

Determination of RH-5992 in Aquatic Environment by Liquid Chromatography. Zhu Jiusheng. (Institute of Plant protection, Shanxi Academy. of Agri. Sci., Taiyuan 030031), K. M. S. Sundaram and R. Nott (Forestry Canada, Forest Pest Management Institute Ste., Marie P6A 5M7); *Chin. J. Environ. Sci.*, **17**(5), 1996, pp. 62—64

A method was developed to determine RH-5992 in some aquatic environment matrixes. The procedure included solvent extration, liquid-liquid partition, column cleanup and liquid chromatographic determination. RH-5992 was analyzed on a liquid chromatograph equipped with a diode-array UV detector set at 236 nm, using a RP-8, 10 μm column with a mobile phase of acetonitrile-dioxane-water. Mean recoveries for analyte ranged from 85% to 98%, with coefficient of variation from 6% to 9%. Limits of detection were 0.050 mg/kg for natural waters and from 0.009 to 0.028 mg/kg for other matrixes.

Key words: RH-5992, aquatic environment, residual analysis, high performance liquid chromatography.

A Comparative Analysis for the Pollutants Derived from H Acid in Underground Water. Liu Meijun et al. (Dept. of Chem. Zhengzhou University, Zhengzhou 450052); *Chin. J. Environ. Sci.*, **17**(5), 1996, pp. 65—67

The brown red pollutants in underground water derived from a dyestuff intermediate-H acid (4-amino-5-hydroxy-2,7-naphthalene disulfonic acid) were extracted by means of reduced pressure concentration, column chromatographic separation. The extracted pollutants were primarily tested by alkali fussion, and then undertaken the comparative analysis between the pollutants and some standard samples which were selected as possible pollutants in the light of the actual conditions. According to the thin layer chromatography and IR spectrometry of them. It can be established that the brown red pollutants were the derivatives of H acid oxidized by air for a period of time in underground water.

Key words: pollution in underground water, H acid, thin layer chromatography.

Fast Determination of Carbon Disulfide in Wastewater.

Fang Haijun et al. (Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240); *Chin. J. Environ. Sci.*, **17**(5), 1996, pp. 68—71

This paper studied an improving method using spectrophotometry to determine CS_2 in wastewater. By using tube-strip system instead of washing gas bottle, the stripping efficiency was raised, and the stripping time was reduced greatly. Nearly no declining sensibility and accuracy of analysis, the time of analysis was shortened from 1—2 hours to several minutes. The carbon disulfide in wastewater can be determined quickly. Analytical precision is $<3\%$ of RSD, mass of detection limit $<5 \mu\text{g}$, recovery $>90\%$. If the wastewater sample is 10 ml, the lowest detection consistence is $<0.5 \text{ mg/L}$.

Key words: wastewater, fast determination, spectrophotometry, CS_2 .

The Studies and Assessment for Ecological Environment and Social Economic Conditions in the Upper Reaches of the Changjiang River. Zhong Xianghao et al. (Institute of Mountain Hazards and Environment, Chinese Academy of Sciences and Ministry of Water Conservance, Chengdu 610041); *Chin. J. Environ. Sci.*, **17**(5), 1996, pp. 72—75

The area is distributed in the watersheds of the Wujiang River and the Changjiang River which includes the Jialingjiang River, the Qujiang River, the Fujiang River, the Tuojiang River and the upper reaches of Minjiang River in the upper reaches of the Changjiang River. Applied the integrated standpoint under guidance of the theory of systems science, the characteristics of natural and social economic environment and the assessment for their effects on the forests, ecological economic divisions and macroscopic overall arrangement of the ecology-economic protection forest system, and quantitative forecast for development prospects of the protection forests in each of the ecological economic divisions have been studied. A great quantity of technological data, and quantitative and qualitative assess-