

# 磁固相萃取/离子色谱法测定土壤中草甘膦

杨健<sup>1</sup>, 李振宇<sup>1</sup>, 祝艳<sup>1</sup>, 杨德志<sup>2</sup>, 杨亚玲<sup>2\*</sup>

(1. 昆明市环境监测中心, 云南 昆明 650028; 2. 昆明理工大学 生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500)

**摘要:** 利用离子色谱结合磁固相萃取技术, 建立了一种简单快速测定土壤样品中草甘膦残留的新方法, 并对提取溶剂、离子色谱条件以及净化吸附剂进行了优化。样品经水提取后, 先用乙腈沉淀杂质, 再用 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁性纳米材料净化处理, 经 IonPac AS11-HC 离子色谱柱分离, 以 30 mmol/L KOH 为淋洗液, 电导检测器进行检测。结果表明, 草甘膦在 0.05~2.0 mg/L 范围内线性关系良好, 相关系数为 0.999 7, 检出限为 13 μg/L, 定量下限为 45 μg/L。对采自三七和灯盏花种植基地的土壤样品进行加标回收实验, 在 50、100、200 μg/L 加标水平下的回收率为 83.2%~94.5%, 日内相对标准偏差(RSD)为 1.9%~3.1%, 日间 RSD 为 1.9%~3.7%。该方法具有操作简单、快速、灵敏、结果准确可靠的特点, 完全满足国家标准的检测要求。

**关键词:** 离子色谱; 磁固相萃取; 草甘膦; 土壤样品

中图分类号: O657.75; F767.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2018)09-1051-05

## Determination of Glyphosate Residues in Soil Samples by Ion Chromatography Combined with Magnetic Solid Phase Extraction

YANG Jian<sup>1</sup>, LI Zhen-yu<sup>1</sup>, ZHU Yan<sup>1</sup>, YANG De-zhi<sup>2</sup>, YANG Ya-ling<sup>2\*</sup>

(1. Kunming Environmental Monitoring Center, Kunming 650028, China; 2. Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

**Abstract:** Combined with magnetic solid phase extraction, a simple and rapid ion chromatographic method was established for the detection of glyphosate residues in soil samples. Experimental conditions such as extraction solvent, conditions of ion chromatography and purification material were also optimized. After extracted with water, the samples were precipitated with acetonitrile to eliminate the impurities, then purified with Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles. The supernatant was separated on an IonPac AS11-HC column with 30 mmol/L KOH as the eluent, and a conductivity detector was used for the detection. Results showed that a good linearity was obtained in the range of 0.05-2.0 mg/L ( $r^2=0.9997$ ). The limits of detection and quantitation for the analyte were 13 μg/L and 45 μg/L, respectively. The recoveries for the soil samples at spiked levels of 50, 100 and 200 μg/L were between 83.2% and 94.5%, with the intra-day and inter-day RSDs of 1.9%-3.1% and 1.9%-3.7%, respectively. The method is simple, rapid, sensitive and reliable, and could fully meet the detection requirements in the national standard.

**Key words:** ion chromatography; magnetic solid phase extraction; glyphosate; soil samples

草甘膦(Glyphosate)作为一种非选择性、低毒和高效的广谱除草剂<sup>[1]</sup>, 能够通过抑制植物体内的合成酶进而阻止植物体内蛋白质的合成, 最终导致植物死亡, 特别是对多年生根杂草效果显著。近年来, 草甘膦被广泛应用于中药种植、茶园、果园、甘蔗园及橡胶园中, 导致其市场需求急剧增长。由于草甘膦使用剂量的日益增大及其不合理使用, 土壤中草甘膦的残留量越来越高, 其对环境和人体的危害也受到广泛关注。目前, 我国新修订的 GB 2763-2016《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》对食品中草甘膦的残留量进行了严格规定, 因此有必要对土壤中草甘膦残留进行检测。当前, 常用于草甘膦检测的分析方法主要包括气相色谱法<sup>[2]</sup>、气相色谱-质谱法<sup>[3]</sup>、高效液相色谱法<sup>[4-6]</sup>、液相色谱-质谱法<sup>[7-9]</sup>、离子色谱法<sup>[10-11]</sup>、分光光度法<sup>[12]</sup>、电化学传感器法<sup>[13]</sup>等。因为待测样品的基质较为复杂, 样品中草甘膦的检测多采用液相色谱-质谱法、气相色谱-质谱法, 但这些方法均需对样品

进行复杂的前处理,以减少基质干扰。

离子色谱因快速、方便以及对阴离子灵敏度较高的特点被应用于多种技术中。草甘膦属于小分子物质,极性较强,不易挥发,易溶于水,不溶于有机溶剂。草甘膦在水中解离成阴离子,因此可以用离子色谱/电导检测器进行测定<sup>[14]</sup>。目前,已有利用离子色谱法测定茶叶、大豆、小麦和柑橘等<sup>[15-16]</sup>基质中草甘膦的研究,且多使用 Dionex OnGuard II RP 柱和 Dionex OnGuard II Ag/H 柱净化样品,以降低基质干扰。但上述研究采用的固相萃取过程较繁琐,特别是在大量样品测定时,步骤复杂。磁固相萃取技术,多是使用磁性纳米材料,吸附抓取复杂基质中的目标物,然后利用外加磁场,实现待分析物的快速分离。有研究者利用磁性纳米材料吸附复杂基质中的干扰成分,以达到净化样品的目的<sup>[17-18]</sup>。

本文针对土壤样品基质较为复杂的特点,利用磁性纳米材料吸附基质中的干扰成分(如金属离子、有机物分子等),然后利用离子色谱测定草甘膦。该方法无需衍生化和固相萃取处理,避免了复杂的样品前处理过程。同时,与常用的离子交换柱相比,使用磁性纳米材料对样品进行处理,过程更简便快捷,且结果重现性好,准确度高。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

ICS-900 型离子色谱仪(美国 Thermo Fisher 公司),配有 RFC30 淋洗液发生器(KOH)、电导检测器、AS-DV 自动进样器、Chromeleon 7.3 色谱工作站;Milli-Q 纯水仪(美国 Millipore 公司);HC-3018R 型冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);BPA-6033 型真空干燥箱(上海一恒科技有限公司);HU-10260T 型超声波清洗机(天津市恒奥科技发展有限公司)。标准品:草甘膦(粉末,纯度 99%,美国 AccuStandard 公司);乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司);油酸(Oleic acid, OA)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、正硅酸四乙酯(TEOS)、 $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);氨水(25%,广东光华科技股份有限公司);实验用水未经说明,均为去离子水( $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ ,实验室自制)。

草甘膦标准品用水溶解后,配成储备液( $1 \text{ mg/mL}$ )并于  $4 \sim 8 \text{ }^\circ\text{C}$  下保存,临用时以去离子水稀释至所需浓度。

分析样品:土壤样品分别取自昆明三七和灯盏花种植基地。

### 1.2 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 纳米材料的制备

取  $2.05 \text{ g}$  硫酸亚铁铵和  $1.41 \text{ g}$  三氯化铁于三颈烧瓶中,用  $50 \text{ mL}$  水溶解后,氮气保护下水浴加热至  $80 \text{ }^\circ\text{C}$ ,加入  $5 \text{ mL}$  氨水,搅拌反应  $30 \text{ min}$ ,冷却至室温,并用纯化水洗涤产物  $3 \sim 5$  次,在  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  下真空干燥  $8 \text{ h}$ 。

### 1.3 样品的提取与净化

提取:先将自然风干的土壤样品研磨过筛,除去较大杂物。准确称取样品  $3.0 \text{ g}$ (精确至  $0.01 \text{ g}$ )于  $50 \text{ mL}$  具塞聚乙烯离心管中,加  $30 \text{ mL}$  超纯水,充分振荡  $2 \text{ min}$ ,超声提取  $30 \text{ min}$ ,用高速冷冻离心机以  $4500 \text{ r/min}$  离心  $10 \text{ min}$ ,将上清液转移至另一支离心管中,加入  $15 \text{ mL}$  乙腈沉淀杂质,超声  $15 \text{ min}$ ,用水定容至  $50 \text{ mL}$ , $4500 \text{ r/min}$  离心  $10 \text{ min}$ ,取上层溶液  $30 \text{ mL}$ ,备用。

净化:取  $10 \text{ mL}$  上清液于聚乙烯离心管中,加入  $1.0 \text{ g}$   $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米材料,涡旋混合  $5 \text{ min}$ ,静置  $5 \text{ min}$ ,使用钕磁铁(NdFeB)将磁性材料从溶液中分离,收集上清液,过  $0.22 \text{ }\mu\text{m}$  滤膜后,供分析。

加标样品的制备:准确称取过筛( $60$ 目)样品  $3.0 \text{ g}$ (精确至  $0.01 \text{ g}$ ),置于  $50 \text{ mL}$  具塞聚乙烯离心管中。在室温下,加入适量的草甘膦标准溶液,放置  $24 \text{ h}$ ,待样品充分吸收草甘膦标液至干后,按照上述步骤进行样品前处理。

### 1.4 仪器条件

IonPac AS11-HC 离子色谱柱( $250 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ )配有 AG11-HC 保护柱( $50 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ ),IonPac AS19 离子色谱柱( $250 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ )配有 AS19 保护柱( $50 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ );ASRS 300-4 mm 阴离子电化学抑制器,抑制电流  $75 \text{ mA}$ ,KOH 淋洗液浓度为  $30 \text{ mmol/L}$ ,等度洗脱,外加水模式;自动进样,流速

1.0 mL/min, 定量环 100  $\mu\text{L}$ ; 单个样品的运行时间设为 12 min; 电导检测; 峰面积定量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 提取溶剂的选择

草甘膦属于强极性化合物, 通常用水作为提取溶剂, 且其在水中呈阴离子状态, 有利于离子色谱分析。实验中分别选择去离子水、50% 甲醇水溶液、1% 醋酸水溶液、1% KOH 水溶液作为提取剂, 对加标草甘膦的土壤样品进行提取。结果表明: 用酸性或碱性溶液作为萃取剂时, 草甘膦的回收率均低于 30%, 且杂质峰较多, 对检测造成很大干扰。当用 50% 甲醇水溶液提取时, 草甘膦的回收率为 44.8%, 可能是因草甘膦不溶于有机溶剂, 导致使用含有甲醇的水溶液作为提取溶剂时回收率降低。以 50% 甲醇水溶液作为提取剂时, 也会提高提取液中小分子有机物的含量, 进而对磁固相净化过程产生较大影响。而当采用去离子水作为提取剂时, 草甘膦的回收率达 91.3%, 峰形良好并且有利于后续净化过程。所以选择去离子水作为提取剂。

### 2.2 离子色谱条件的优化

以 500  $\mu\text{g/L}$  草甘膦标液作为考察对象, 流速固定为 1.0 mL/min, 分别考察了不同浓度 KOH (20、25、30、35 mmol/L) 等度洗脱的效果。结果表明, 当淋洗液浓度为 30 mmol/L 时, 出峰时间为 6.684 min, 峰形较好, 与其他峰之间干扰较少且检测时间较短(图 1)。综合考虑峰高、峰面积和出峰时间, 本研究最终选择 KOH 浓度的为 30 mmol/L。此外, 实验分别考察了 IonPac AS11-HC 和 IonPac AS19 分析柱对草甘膦的分离能力。结果表明, 二者对草甘膦的分离效果均较好, 但用 IonPac AS11-HC 时草甘膦的保留时间为 6.7 min, 而用 IonPac AS19 时的保留时间为 18.6 min。为缩短分析时间, 实验选用 IonPac AS11-HC 分析柱。

### 2.3 净化吸附剂的选择

土壤样品中含有大量可溶于水的有机物质, 如蛋白质、矿物质、无机盐和腐殖质等<sup>[19]</sup>。若将提取液直接注入离子交换柱, 会严重损坏柱的分离效率。其次, 样品中存在的大量有机物、无机物等杂质也会对草甘膦的检测造成干扰, 甚至掩盖出峰。因此, 在样品检测前, 必须对杂质进行净化处理。根据相关文献<sup>[10-11]</sup>, 本研究首先用乙腈沉淀提取液中存在的多糖、生物碱、鞣质等大分子杂质<sup>[19-20]</sup>。结果显示, 当用乙腈净化样

品时, 虽能去除腐殖质、蛋白质等大分子物质, 但草甘膦仍不能完全分离, 峰形较差, 干扰较大(图 2A)。实验进一步采用磁性纳米材料吸附去除提取液中的杂质, 以获得更好的净化效果和较好的分离效果。考察了不同纳米材料, 如  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$  (在  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米材料表面包裹  $\text{SiO}_2$ )、 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{OA}$  (在  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米材料表面包裹油酸) 和  $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PVP}$  (在  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米材料表面包裹聚乙烯吡咯烷酮) 对土壤样品中草甘膦回收率的影响。比较实验显示, 用乙腈沉淀杂质后, 再用  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  磁性材料去除样品中的小分子物质, 可获得最好的净化效果, 此时的草甘膦完全分离, 且峰形较好, 与相近峰之间干扰较小(图 2B)。并且, 方法合成的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米材料表面未包裹其他物质, 表现出优异的超顺磁性<sup>[21]</sup>。实验中, 进一步考察了  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米材料用量对草甘膦回收率的影响, 结果显示, 当  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  用量为 20 mg 时,

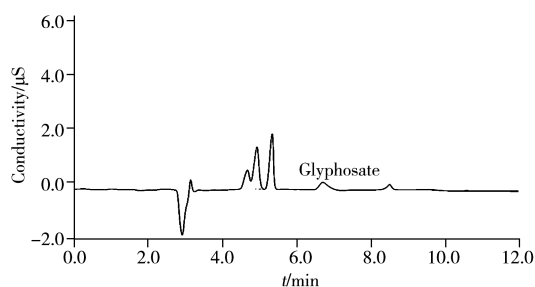


图 1 草甘膦标准溶液(500  $\mu\text{g/L}$ )的离子色谱图  
Fig. 1 Chromatogram of glyphosate standard solution(500  $\mu\text{g/L}$ )

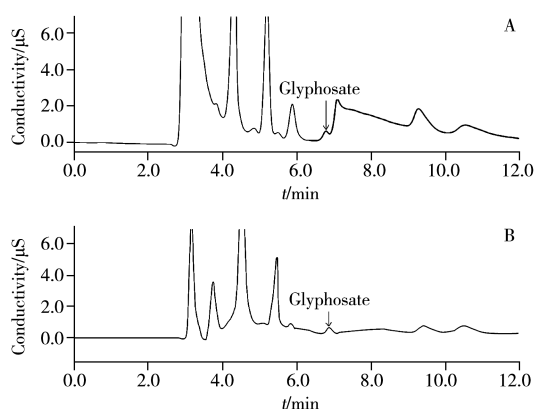


图 2 草甘膦加标 500  $\mu\text{g/L}$  的土壤样品离子色谱图  
Fig. 2 Chromatograms of glyphosate in spiked soil samples(500  $\mu\text{g/L}$ )

A: by adding acetonitrile to precipitate impurities;  
B: by adding acetonitrile to precipitate impurities and then adding  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs to purify the samples

草甘膦的回收率为91.3%，因此实验选用20 mg的 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 纳米材料作为净化吸附剂。

## 2.4 线性范围与检出限

在优化条件下，采用本方法分别对质量浓度为2.0、1.0、0.5、0.2、0.1、0.05 mg/L的草甘膦标准溶液进行分析。以质量浓度( $X$ , mg/L)为横坐标，峰面积( $Y$ ,  $\mu\text{S} \cdot \text{min}$ )为纵坐标，绘制标准曲线，结果表明，草甘膦的质量浓度和峰面积呈良好的线性关系，线性方程为 $Y = 0.196X + 0.011$ ，相关系数 $r^2 = 0.9997$ 。分别根据仪器的信噪比 $S/N = 3$ 和 $S/N = 10$ ，并结合Chromleon 7.3色谱工作站，计算出方法检出限(LOD)为13  $\mu\text{g/L}$ ，定量下限(LOQ)为45  $\mu\text{g/L}$ 。本方法的灵敏度较高，能满足GB 2763-2016要求<sup>[22]</sup>。

## 2.5 回收率与相对标准偏差

分别对取自三七和灯盏花种植基地的空白土壤样品进行3个水平的加标回收实验( $n = 6$ )，连续测定5 d，每天测定5次，考察本方法的日内和日间精密度。由表1可见，草甘膦的平均回收率为83.2%~94.5%。日内相对标准偏差(RSD,  $n = 6$ )为1.9%~3.1%，日间RSD为1.9%~3.7%，方法显示出良好的准确度和重现性。

表1 土壤样品I和样品II中草甘膦的加标回收率及相对标准偏差( $n = 6$ )  
Table 1 Recoveries and RSDs of glyphosate in spiked soil sample I and II ( $n = 6$ )

Sample	Spiked ( $\mu\text{g/L}$ )	Intra-day		Inter-day	
		Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)
Sample I	50, 100, 200	83.2, 90.1, 92.3	3.1, 2.7, 1.9	84.0, 83.3, 94.5	1.9, 2.8, 3.4
Sample II	50, 100, 200	86.5, 88.3, 91.5	2.6, 2.5, 2.7	84.3, 89.8, 92.4	3.7, 2.2, 3.0

sample I: Panax notoginseng planting base(三七种植基地); sample II: Erigeron breviscapus planting base(灯盏花种植基地)

## 2.6 实际样品的测定

采用本方法对取自三七和灯盏花种植基地的10种不同土壤样品进行分析，每种样品各5个。按照“1.3”方法处理并在“1.4”色谱条件下进行测定。结果在2个灯盏花种植基地和1个三七种植基地的土壤样品中检出草甘膦，含量为1.03~1.48 mg/kg。实验结果表明，本方法可以满足GB 2763-2016的相关检测要求。图3为检出草甘膦残留的土壤样品的离子色谱图。

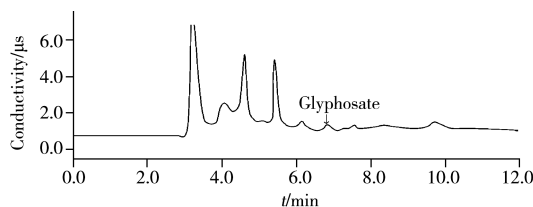


图3 草甘膦残留的土壤样品离子色谱图  
Fig. 3 Ion chromatogram of glyphosate residual detected in soil sample

## 3 结论

本研究将 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 磁性纳米材料磁分离和净化与离子色谱定量相结合，建立了土壤中草甘膦残留的离子色谱分析方法。该磁性材料具有良好的超顺磁性，在外加磁场的作用下可快速实现磁性材料与样品溶液的分，不需离心或过滤等处理，使分离过程更简单、快速、省时，可为土壤中多草甘膦残留的快速检测提供新的方法依据。

### 参考文献:

- [1] Gu Y D, Fan B, Dong X S. *Occup. Health Emerg. Rescue* (顾友多, 范宾, 董学胜. 职业卫生与应急救援), **2008**, 26(2): 80-83.
- [2] Wang T Y, Wu X T, Zhao J, Wu J L. *J. Anal. Sci.* (王天玉, 武秀婷, 赵静, 吴加伦. 分析科学学报), **2014**, 30(1): 63-66.
- [3] Saito T, Miura N, Namera A, Oikawa H, Miyazaki S, Nakamoto A, Inokuchi S. *Forensic Toxicol.*, **2012**, 30(1): 1-10.
- [4] Qian K, He S, Tang T, Shi T Y, Li J Q, Cao Y S. *Food Chem.*, **2011**, 127(2): 722-726.
- [5] Shao X Y, Yi Z B, Cai J, Wu M H, Li H. *Resour. Econ. Environ. Prot.* (邵小燕, 夷增宝, 蔡剑, 吴敏华, 李华. 资源节约与环保), **2015**, (5): 57-59.
- [6] Islas G, Rodrigue J A, Mendoza H L H, Perez M F, Carrillo G. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, **2014**, 37(9): 1298-1309.

- [7] Yoshioka N, Asano M, Kuse A, Mitsuhashi T, Nagasaki Y, Ueno Y. *J. Chromatogr. A*, **2011**, 1218(23): 3675–3680.
- [8] Chen L. *Tea Sci. Technol.* (陈磊. 茶叶科学技术), **2014**, (1): 21–27.
- [9] Liu Z C, Cai C P, Lin Y H, Yang F, Liu S Z, Xu D M, Pan Y F. *J. Instrum. Anal.* (刘正才, 蔡春平, 林永辉, 杨方, 刘素珍, 徐敦明, 潘迎芬. 分析测试学报), **2015**, 34(3): 335–340.
- [10] Liu X Y, Xiao S S, Li J, Cao J J, Li H. *J. Food Saf. Qual.* (刘晓玉, 肖珊珊, 李军, 曹际娟, 李赫. 食品安全质量检测学报), **2015**, 6(6): 2241–2247.
- [11] Xuan Y, Fu D F, Xu S J, Tang L, Yang J B. *Chin. J. Forensic Med.* (宣宇, 傅得锋, 徐晟捷, 唐磊, 应剑波. 中国法医学杂志), **2014**, 29(6): 566–569.
- [12] Wang H P, Shao Y, Wang Z L, Zhao X M, Yao J W, Cao H, Niu H, Fan J, Yang Y. *Adm. Technol. Environ. Monit.* (汪海萍, 邵燕, 王志良, 赵学梅, 姚继伟, 曹欢, 牛浩, 樊建, 杨尧. 环境监测管理与技术), **2012**, 24(3): 56–59.
- [13] Zhang C, Li T F, Zhao F N, Wang S S, She Y X, Jin M J, Liu H J, Jin F, Shao H, Zheng L F, Xu P, Wang J. *J. Instrum. Anal.* (张超, 李腾飞, 赵风年, 王珊珊, 余永新, 金茂俊, 刘海金, 金芬, 邵华, 郑鹭飞, 徐平, 王静. 分析测试学报), **2016**, 35(12): 1542–1547.
- [14] Zhang P Z, Wu J, Zhang P M, Xu Y. *J. Instrum. Anal.* (张培志, 吴军, 张培敏, 徐育. 分析测试学报), **2003**, 22(4): 89–90.
- [15] Huang J L, Li X Y, Lin S Y, Guo X D. *J. Food Saf. Qual.* (黄嘉乐, 李秀英, 林森煜, 郭新东. 食品安全质量检测学报), **2016**, 7(5): 1895–1900.
- [16] Lin S Y, Huang J L, Li X Y, Guo X D. *J. Food Saf. Qual.* (林森煜, 黄嘉乐, 李秀英, 郭新东. 食品安全质量检测学报), **2016**, 7(5): 1887–1894.
- [17] Li Y F, Qiao L Q, Li F W, Ding Y, Yang Z J, Wang M L. *J. Chromatogr. A*, **2014**, 1361: 77–87.
- [18] Mashkani M, Mehdinia A, Jabbari A, Bide Y, Nabid M R. *Food Chem.*, **2018**, 239: 1019–1026.
- [19] Chen M X, Cao Z Y, Jiang Y, Zhu Z W. *J. Chromatogr. A*, **2013**, 1272: 90–99.
- [20] Guo Y H, Yu Y Z. *Food Res. Dev.* (郭玉华, 郁有祝. 食品研究与开发), **2012**, 33(8): 138–140.
- [21] Yang D Z, Qiu L B, Yang Y L. *J. Chem. Eng. Data*, **2016**, 61(11): 3933–3940.
- [22] GB 2763–2016. National Food Safety Standard—Maximum Residue Limits for Pesticides in Food. National Standards of the People's Republic of China(食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量. 中华人民共和国国家标准).