

作者

Njies Pedjie

PerkinElmer, Inc.
Shelton, CT 06484 USA

利用配有PDA检测器的 PerkinElmer Flexar FX-15 UHPLC系统快速测定 九种常用除草剂

简介

水是支持任何生物细胞的生理活动的载体，因此水对我们生命及我们这个星球生物多样性是至关重要的。水有三个主要的来源：海洋水、地表水、地下水，在这三个来源中，地下水储存于含水层，组成了世界上可饮用水的90%，且是该星球最大的淡水水库。然而地下水容易受到农业中广泛用于控制杂草生长除草剂的污染。被除草剂污染的水可引起人类健康的问题，包括癌症肿瘤、生殖畸形、内分泌的破坏和DNA损伤。

联合国环境保护计划署（UNEP）认为上世纪八十年代在Karakalpakia（在中亚地区的咸海区域）癌症死亡率200%增加及新生儿畸形增加的原因是饮用水中农药的污染。世界各地不断的监测是检测饮用水中有害除草剂水平的关键。

在美国，清洁水法案（CWA）严格限定了地表水污染物的排放。再者，环保署（EPA）已经建立了饮用水中任何一种污染化合物的限量。因此，常规测试以确保水的安全性和法规遵从性是当地政府以及生产企业的最关心的项目之一。

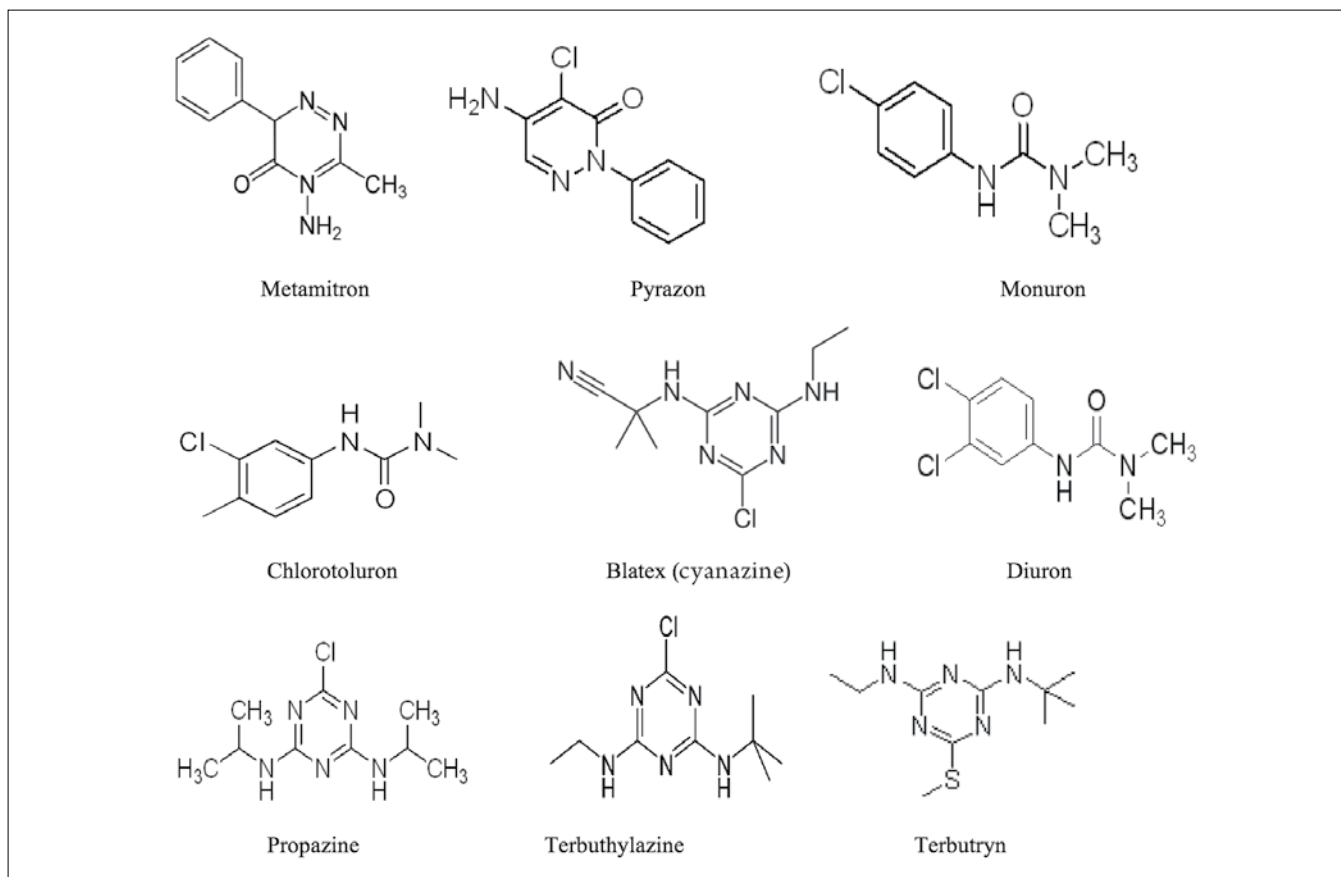


图1 9种待测除草剂名称及结构

实验

浓度为20-28 $\mu\text{g/mL}$ 的9种除草剂的工作溶液，由纯物质经水稀释而成。精密度通过六次工作标准溶液的进样结果计算得到，线性测定范围是125-28000 ng/mL 。纯净水中加入标准工作液以获得0.5-0.7 $\mu\text{g/mL}$ 的样品溶液。

本应用文献采用了配有Flexar FX PDA二极管阵列检测器的PerkinElmer® Flexar™ FX-15 UHPLC系统。使用Restek® Pinnacle® DB C18, 3 μm , 100 x 2.1 mm色谱柱进行分离。运行时间约8min，反压为8500 PSI (586 bar)。

表1 UHPC系统和色谱条件

自动进样器	Flexar™ FX UHPLC 设置：5.0 μL 采用环和1.5 μL 进样针，部分环进样模式 进样体积：5 μL ；洗针液：水
检测器	Flexar FX PDA UHPLC 检测器
分析波长	225nm
泵	Flexar FX-15
色谱柱	Xterra® MS C18, 3.5 μm , 100 x 4.6 mm Restek® Pinnacle® DB C18, 3 μm , 100 x 2.1 mm (部件号9414312)
流动相	B: 乙腈 A:水 (HPLC级溶剂)
软件	Chromera® Version 3.0
常规LC色谱柱 30° C	
时间 (min)	流速 (mL/min) B% curve
16	1.0 10-45 1
UHPLC色谱柱 50° C	
时间 (min)	流速 (mL/min) B% curve
8	1.0 15-45 1

运行完成后平衡2min

结果和讨论

起初，该方法是使用常规C18 LC的色谱柱开发建立的。理想的测定流速为1.0mL/min，温度为30° C，所有的除草剂出峰在16min之内（图2）。使用了为UHPLC设计的色谱柱（该色谱柱能够维持高达15000 psi的压力和温度高达80° C）后，运行时间为8min，且方法的灵敏度、色谱峰容量和分离度都得到了明显的提高（图3和4）。

除了减少一半的运行时间和溶剂用量，被分析物峰的分离度也得到了改善。理想的测定流速为1.0mL/min，温度为50° C，并且获得更高的色谱分离。

最后，分析在8min之内完成，每一次进样溶剂的用量为8mL，从而比使用常规HPLC色谱柱运行16min消耗16mL的溶剂用量明显改善。这是非常重要的，不仅仅是因为成本相对较高的HPLC级溶剂，而且也是因为减少了废液的处置。这是更低成本和更加“绿色”实验室操作的结果。

总的来说，该方法获得了优越的性能参数。线性测定 r^2 的平均值为1。平均精密度值是1.1%，其范围是0.6-1.4% RSD。加标回收率的平均值是102%，其范围是97-109%。详细的方法性能见表2所示。

在190-700nm波长的范围扫描9种除草剂标准物质，测定各种除草剂的最大吸收波长，以选择适当的检测波长。利用运行标准溶液，Chromera创建了各物质的谱库，且被用于鉴定水样品中的加标峰。

一个加标的水样品的UHPLC色谱图和5种除草剂的全扫描谱图见图5和6所示。

通过色谱鉴定样品中已知或未知组分是质量保证的一个重要方面，同时给分析结果增加了另一水平的置信度。通过谱库的功能确认了加标样品中存在的除草剂，该谱库的功能是允许样品组分峰顶点处的光谱与先前存在谱库里的标准物质的光谱作比较。

表2 精密度, 线性和回收率

化合物	RSD% (n=6) ng/mL	线性范围	r^2	水加标样品回收率%
Metamitron	1.4	175-28000	0.9999	106
Pyrazon	1.4	125-20000	1	103
Monuron	1.0	175-28000	1	97
Blatex	1.2	175-28000	1	102
Chlorotoluron	1.0	125-20000	1	95
Diuron	1.2	175-28000	0.9999	101
Propazine	1.0	125-20000	1	106
Terbutylazine	1.0	125-20000	0.9999	109
Terbutryn	0.6	125-20000	0.9998	98

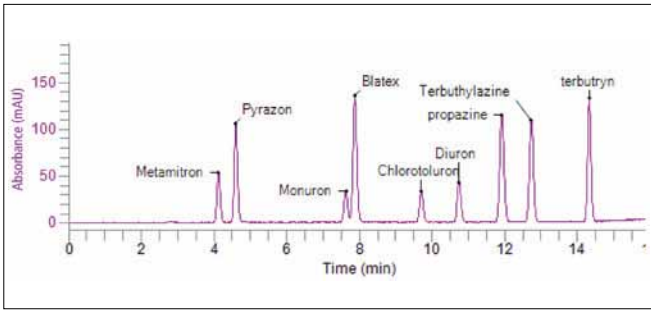


图2 常规HPLC色谱柱分析除草剂标准物质的色谱图

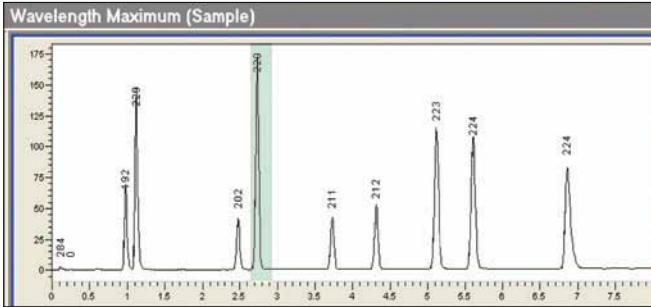


图3 UHPLC色谱柱分析除草剂标准物质的谱图，图中标注每个组分的最大波长

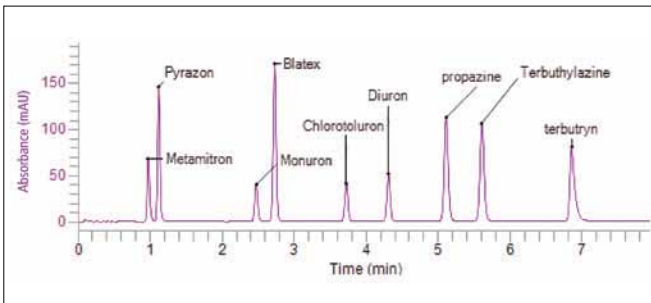


图4 UHPLC色谱柱分析除草剂标准物质的色谱图

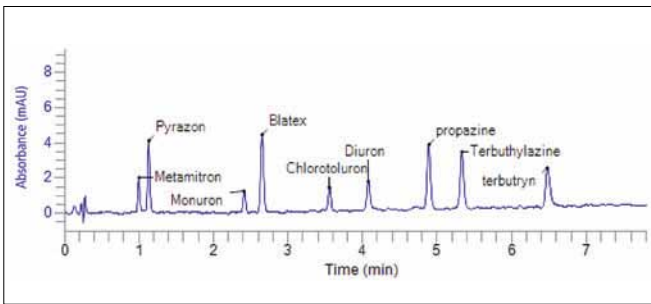


图5 加标的纯水样品的分析色谱图

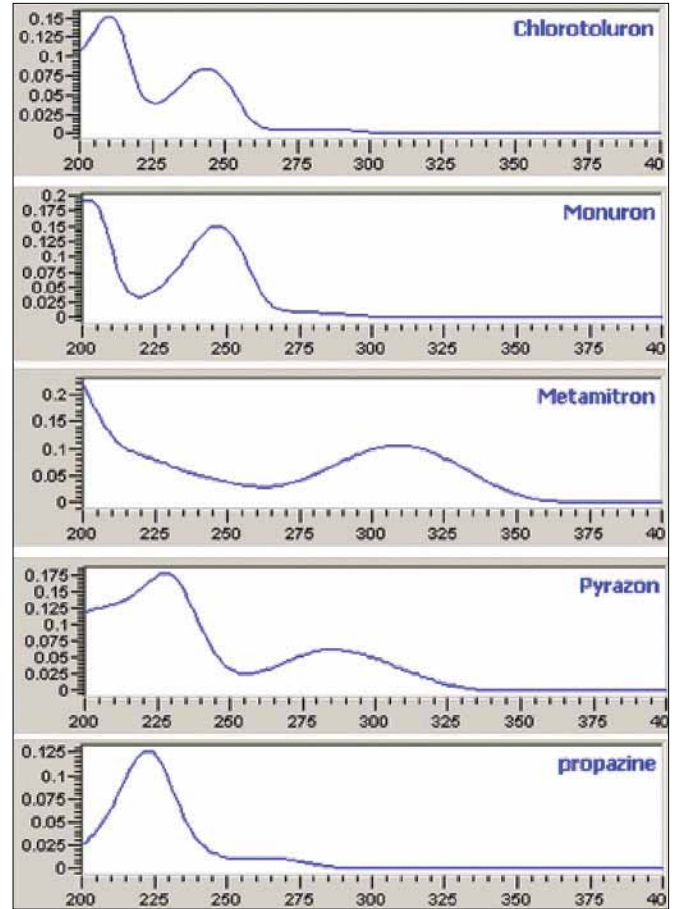


图6 储存的5种除草剂标准物质的光谱图

结论

本应用文献采用UHPLC分析9种除草剂，与使用常规HPLC分析方法比较，本方法减少了大约50%的运行时间，以及一半的溶剂消耗量。PerkinElmer Flexar FX-15 UHPLC系统和Restek® Pinnacle® DB C18, 3 μm, 100 x 2.1mm色谱柱在8min之内完成了所有9种除草剂的分离，方法是线性的。PerkinElmer FX PDA在190-700nm的范围内（涵盖紫外和可见波长范围），坚固耐用且准确检测。PerkinElmer的Chromera软件提供了多种数据采集和处理的功能：创建谱库，峰纯度，三维光谱，等高线图，该软件是一款解析三维PDA色谱信息强有力的工具。谱库创建和搜索功能允许储存除草剂的标准色谱峰，以用于后续实际样品中待测物的鉴定、确证。

参考文献

1. United Nation World Water Development Report 3, UNESCO Publishing, UNESCO 2009.
2. United Nations Environment Program, Key Facts on Water issue, 1996.
3. Whish-Wilson, Phillip (2002). "The Aral Sea Environmental Health Crisis," Journal of Rural and Remote Environmental Health 1 (2): 29-34.
4. Crowe, A.S. and Booty, W.G. 1995. A multi-level assessment methodology for determining the potential for groundwater contamination by pesticides. Environ. Monit. Assess. 35: 239-261.
5. Control of Water Pollution from Agriculture Series Title: FAO Irrigation and Drainage Papers -55 1996.
6. Clean Water act 33 U.S.C. §1251 et seq. (1972).
7. Toxic Substance Control Act. 15 U.S.C. §2601 et seq. (1976).
8. 40 CFR: Protection of the Environment: Chapter 1, Subchapter E Pesticide Programs (parts 150-189).

注: 本应用文献如有更改, 恕不另行通知。

PerkinElmer, Inc.

珀金埃尔默仪器(上海)有限公司
地址: 上海张江高科园区李冰路67弄4号
邮编: 201203
电话: 800 820 5046 或 021-38769510
传真: 021-50791316
www.perkinelmer.com.cn



要获取全球办事处的完整列表, 请访问<http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs>

版权所有 ©2012, PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer® 是PerkinElmer, Inc. 的注册商标。其它所有商标均为其各自持有者或所有者的财产。