

农药反相 PDA 谱库建立的可行性研究

摘 要

紫外吸收光谱的最大吸收波长 λ_{\max} 、位置、强度和形状反映了待测物质的分子结构和基团的信息，是物质定性的重要手段之一。本文采用 HPLC-PDA 检测技术，通过改变色谱分析条件，验证其对紫外吸收光谱的影响。

本文以除草剂二甲戊灵和利谷隆为例，对不同高效液相色谱条件下获得紫外光谱图进行了对比分析确证，提出了建立农药反相 PDA 谱库用于在线或离线确证分析的可行性并为此奠定了科学的实验基础。

本文充分考虑了反相高效液相色谱分析时各种可能改变的条件，流动相种类、流动相配比、流速、不同型号的色谱柱、不同极性固定相的色谱柱、溶剂、调酸剂以及缓冲溶液。

实验证明流动相种类（水、甲醇、乙腈、四氢呋喃）、流动相配比、流量的变化、色谱柱、色谱柱的固定相（ C_8 、 C_{18} ）、调酸剂（三氟乙酸、磷酸）、缓冲溶液、样品溶剂（甲醇、乙腈）以及样品的浓度，均对选定的农药品种最大紫外吸收波长 λ_{\max} 没有显著影响，进而可以发挥 PDA 检测器功能，利用农药的紫外吸收光谱图实现同步定性分析。

关键词：高效液相色谱法 紫外光谱图 PDA 谱库 最大紫外吸收
波长

**THE FEASIBILITY STUDY OF PDA
PESTICIDE ADVERSE-PHASE
SPECTRUM BANK ESTABLISHED**

ABSTRACT

The maximum absorption, the locality, ruggedness, and figure of UV absorption spectrum reflect the information of molecular configuration ,and so that is one of important means of qualitative

...

analysis. The thesis introduced the HPLC-PDA technology and validated the influence of the reverse phase liquid chromatography towards UV under altering chromatogram analysis conditions

The thesis analysed and compared the UV spectrogram obtaining on different conditions for the sake of the pendimethalin and linuron.

The thesis considered any conditions that could alter on the reverse phase liquid chromatography such as the mobile-phase of different proportion, the mobile phase(water, methanol, acetonitrile, butylenes oxide), flux, the chromatographic column, the solid-phase of the chromatographic column(C_8 , C_{18}), the reagent of accommodating PH(TFA, calcium phosphate) , buffer solution ,the solvent(methanol, acetonitrile) and the concentration of the sample which regularly alter.

The experiment got a line that these conditions such as the mobile phase of different proportion, the mobile-phase(water, methanol, acetonitrile, butylenes oxide), flux, the chromatographic column, the solid-phase of the chromatographic column(C_8 , C_{18}), the reagent of accommodating PH, buffer solution, the solvent and the concentration of the sample had no effect on the maximum UV absorption of the sample selected and the function of PDA may be imposed in order to utilize UV spectrum of pesticide to achieve synchronization qualitative analysis.

...

KEY WORDS: HPLC UV spectrogram PDA spectrum bank

max

目 录

摘 要	1
1 前言	1
1.1 二甲戊灵和利谷隆的理化性质及选择的理由	2
1.1.1 二甲戊灵	2
1.1.2 利谷隆	3
1.1.3 选择的理由	3
1.2 高效液相色谱分析法	4
1.3 紫外光谱	6
1.4 紫外分光光度检测器	7
2 材料与amp;方法	10
2.1 试剂与溶液	10
2.1.1 溶液的过滤	10
2.1.2 供试农药溶液的配制	11
2.2 仪器与设备	11
2.2.1 仪器	11

...

2.2.2	液相色谱仪和 PDA 的操作条件	11
2.2.3	WATERS-600 液相色谱仪的操作规程	12
2.2.4	实验设备	14
2.2.5	试样的测定	14
2.3	分析条件的改变	14
2.3.1	HPLC-PDA 方法提要	14
2.3.2	流动相种类	14
2.3.3	流动相配比	15
2.3.4	流动相流量	15
2.3.5	色谱柱	15
2.3.6	色谱柱的固定相	15
2.3.7	调酸剂	16
2.3.8	缓冲溶液	16
2.3.9	样品溶剂	17
2.3.10	试样的浓度	17
3	结果与讨论	19
3.1	二甲戊灵的测定结果	19
3.1.1	流动相种类不同时的 PDA 紫外吸收光谱	19
3.1.2	流动相配比不同时的 PDA 紫外吸收光谱	22
3.1.3	流动相流量不同时的 PDA 紫外吸收光谱	24

3.1.4	色谱柱不同对 PDA 紫外光谱的影响	27
3.1.5	色谱柱的固定相不同对 PDA 紫外光谱的影响	28
3.1.7	调酸剂对 PDA 紫外光谱的影响	30
3.1.8	缓冲溶液对 PDA 紫外吸收的影响	31
3.1.9	试样的浓度不同获得的 PDA 紫外光谱图	32
3.2	利谷隆的测定结果	35
3.2.1	流动相不同时的 PDA 紫外吸收光谱	35
3.2.2	流动相配比不同时的 PDA 紫外吸收光谱	38
3.2.3	流动相流量不同时的 PDA 紫外吸收光谱	40
3.2.4	色谱柱不同对 PDA 紫外光谱的影响	42
3.2.5	色谱柱的固定相不同对 PDA 紫外光谱的影响	44
3.2.6	调酸剂对 PDA 紫外光谱的影响	45
3.2.7	缓冲溶液对 PDA 紫外吸收的影响	46
3.2.8	溶剂不同对 PDA 紫外光谱的影响	47
3.2.9	样品的浓度不同对 PDA 紫外光谱的影响	48
3.3	测定时各种变化因素的综合分析	51
3.4	影响 PDA 确证的可能限制条件	52
4	结论	53
	参 考 文 献	54
	附录 1	57

附录 1 译文	70
致 谢	78

1 前言

二极管阵列检测器 PDA (photo-diode array) 的开发是近 10 多年高效液相色谱技术最重要的进步, 实现了色谱分离与光谱鉴定技术的联用。1975 年 Talmi 首次报道了二极管阵列系统的使用, 后来 Yates、Kuwana 和 Milano 等人对该项技术做了进一步发展。1982 年惠普公司推出世界上第一台商品化二极管阵列检测器 HP1040A。从此液相色谱分析获得许多重大发展, 一次进样可得到更多的信息, 数据处理更快, 不仅可以克服光栅型紫外可见光检测器的缺点, 而且还能获得色谱分离组分的三维光谱图, 为分析工作者提供十分丰富的定量、定性信息。此后该种检测器又有一些新的改进, 获得了更好的波长分辨率和更高的灵敏度。

光电二极管阵列检测器, 又称光电二极管矩阵检测器, 表示为 PDA (photo-diode array)、PDAD (photo-diode array detector) 或 DAD (diode array detector)。此外, 还有的商家称之为多通道快速紫外-可见光检测器 (multichannel rapid scanning UV-VIS detector), 三维检测器 (three dimensional detector) 等。光电二极管阵列检测器目前已在高效液相色谱分析中大量使用, 实践证明是液相色谱最有发展、最好的检测器之一。

从 20 世纪 80 年代中期以来, 光电二极管阵列检测器已经成为高效液相色谱紫外-可见光检测器的最好选择。PDA 检测器的特殊功能可以应用在许多领域, 发挥着独特而重要的作用, 扩大了色谱的应用范围。PDA 检测器在药物学、临床医学、毒物学、生物科学、食品和饮料、环境、石油化工和高分子化工领域中已经得到了广泛的

应用。

许多农药对热不稳定，难以用气相色谱法进行准确分析。对于热不稳定的化合物，高效液相色谱分析是一种理想方法。但是，对于来自样品介质的干扰，用保留时间作为唯一的定性标准是远远不够的。利用 PDA 检测器采集紫外光谱建立农药反相 PDA 自动谱库检索程序，预测可以成功地进行农药制剂、农药残留的确证分析。

1.1 二甲戊灵和利谷隆的理化性质及选择的理由

1.1.1 二甲戊灵

中文通用名称：二甲戊灵

英文通用名称：pendimethalin

中文其他名称：施田补、除草通

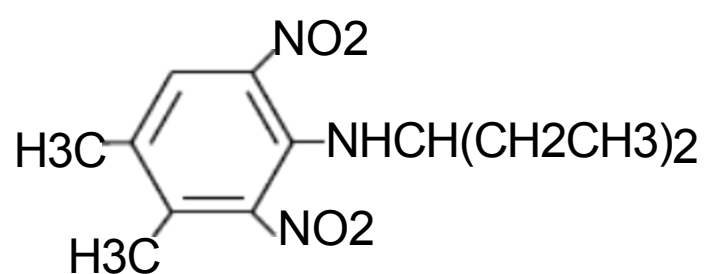
化学名称：N—（1—乙基丙基）—2，6—二硝基—3，4—二甲
基苯胺

分子式：C₁₃H₁₉N₃O₄

分子量：281.5^[1-3]

CAS 登记号：40487-42-1^[4]

化学结构式：



...

物化性质：纯品橙黄色晶体，熔点为 56~57℃, 水中溶解度 0.3mg/L (25℃), 能溶于丙酮、芳烃、氯代烃；遇碱、酸稳定，长期光照缓慢分解^[1-5]。

1.1.2 利谷隆

中文通用名称：利谷隆

英文通用名称：linuron

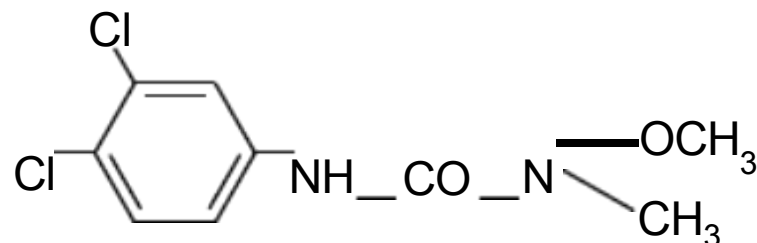
化学名称：N'—(3, 4 二氯苯基)—N—甲氧基 N 甲基脲

分子式：C₉H₁₀Cl₂N₂O₂

分子量：249.1^[1-3]

CAS 登记号：330-55-2^[4]

化学结构式：



物化性质：纯品为白色晶体，熔点为 93~94℃, 水中溶解度75ppm (25℃), 易溶于丙酮、苯、乙醇、甲苯、二甲苯等有机溶剂。遇酸或碱会慢慢分解，高温下迅速分解^[5]。

1.1.3 选择的理由

二甲戊灵和利谷隆为常用除草剂，前人所作的高效液相分析工作较多，加之由于产生的是 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁，紫外光谱的变化会比较灵

...

敏。

1.2 高效液相色谱分析法

在经典液相色谱的基础上，引入了气相色谱的理论与技术，于是在 70 年代初建立了高效液相色谱分析法。在常压下操作的液相色谱，分离一个样品往往长达几个小时，至几十小时，因此工作效率很低。人们曾对这种经典液相色谱法使用了柱前加压或柱后减压的办法来提高流速，以缩短分离时间，但是结果都失败了。根据液相色谱理论，因为随着载液（流动相）流速的提高，板高则增大，所以柱效会显著降低。随着生产技术的提高，人们制成了细小（ $<10\ \mu\text{m}$ ）而高效填充物，从而使柱效大大提高。但是随着填充物粒度的减小，柱压显著增大，为了得到合理的载液流，必须使用高压输液泵，使流速达到 $1\sim 10\text{mL}/\text{min}$ ，从而使分析一个多组分样品只需要几分钟到十几分钟时间。随着高效固定相、高压泵和高灵敏度检测器以及电子技术和计算机技术的应用，70 年代以来逐步实现了液相色谱分析的高效、高速、高灵敏和自动化操作。因此人们常称它为高效液相色谱或现代液相色谱，以区别于经典液相色谱^[6]。

HPLC 是以液体作流动相的一种色谱法。它可以分离极性强，分子量大的离子型农药，尤其适用于对不易气化或受热容易分解的农药检测。高效液相色谱不但具有高效、高速、高灵敏度的特点，还由于它的流动相（载液）种类比气相色谱的流动相（载气）多，因

...

此可选用两种或多种不同比例的液体作流动相，从而可提高选择性。此外，液相色谱的馏分比气相色谱易于收集。便于为红外、核磁等方法确定化合物结构提供纯样品[7]。

由于高效液相色谱法具有以上特点，它适于分离、分析沸点高、热稳定性差、分子量大（大于 400）的气相色谱法不能或不易分析的许多有机物和一些无机物，而这些物质占化合物总数的 75~80%。因此它已广泛用于核酸、蛋白质、氨基酸、维生素、糖类、脂类、激素、生物碱、稠环芳烃、高聚物、金属螯合物、金属有机化合物以及多种无机盐类的分离和分析，是分析化学家和农药化学家解决各种实际分析和分离课题必不可少的工具[6-9]。

检测器是液相色谱仪的三大关键部件之一，在液相色谱系统中起着非常重要的作用，因此在实际应用中特别需要选择合适的检测器和检测方法[7~10]。高效液相色谱法通常要比气相色谱方法的灵敏度低，但是它可以克服由于衍生带来的问题。高效液相色谱常用的检测器由十多种之多，如紫外检测器（UV）、蒸发光散射检测器（ELSD）、安培检测器（AMD）、电导检测器（CD）、荧光检测器（FLD）、示差折光检测器（DRID）等，但目前应用最多的还是紫外吸收检测器，紫外吸收检测器的优点是灵敏度高，流量和温度变化影响小，是梯度淋洗的一种比较理想的检测器，但只能检测对紫外光有吸收性能的农药[7~10]。紫外检测器又可以分为两种类型，一为传

...

统的光栅型紫外检测器，二为 PDA 检测器。PDA 检测器已经逐步成为主流配置，它的定量灵敏度不仅可以与光栅型紫外检测器相媲美，而且还是唯一可以同时给出波长、吸光度、时间三维的立体色谱图的检测器。在一定波长范围内的紫外光谱图具有了潜在的定性分析功能，实现了色谱和紫外光谱的联用分析。

1.3 紫外光谱

紫外光谱是由于分子在入射光的照射下产生了价电子的跃迁。当以一定波长范围的连续光波照射样品时，一定波长的光子被吸收，使入射光强度发生改变，于是产生了以吸收谱线组成的吸收光谱，以波长为横坐标，百分透过率（T%）或吸光度（A）为纵坐标即可得被测化合物的吸收光谱图。当入射光的波长范围处于紫外光区时，所得的光谱成为紫外吸收光谱。吸收光谱又称为吸收曲线，最大吸收值所对应的波长称为最大吸收波长 (λ_{\max})，曲线的谷所对应的波长称为最低吸收波长 (λ_{\min})；在峰旁边一个小的曲折成为肩峰；在吸收曲线的波长最短一端，吸收相当大但不成峰形的部分成为末端吸收。整个吸收光谱的位置、强度和形状是鉴定化合物的标志[10]。

与其他的光谱测定方法相比，紫外光谱具有仪器价格较低，操作简便的优点，在有机化学领域应用广泛，历史也很长久，故常应用于有机化合物共轭发色基团的鉴定、成份分析、平衡常数测定、相对分子质量测定、互变异构体测定、氢键强度测定等，是一种有力

...

地分析测试手段。

紫外光谱一般比较简单，利用紫外吸收可以推导有机化合物的分子骨架中是否还有共轭结构体系，如 $C=C-C=C$ 、 $C=C-C=C$ 、苯环等，还可以用来检验一些具有大的共轭体系或发色官能团的化合物，可以作为其他鉴定方法的补充。鉴定化合物主要是根据光谱图上的一些特征吸收，特别是最大吸收波长 λ_{max} 来进行鉴定。

由于不同的化合物，如果具有相同的发色基团，也可能具有相同的紫外吸收波长，但是他们的摩尔吸光系数是有差别的。如果样品和标准物的吸收波长相同，摩尔吸光吸收也相同，可以认为样品和标准物是同一物质^[10,11]。

1.4 紫外分光光度检测器

紫外光度检测器是液相色谱法广泛使用的检测器，它是基于被分析试样组分对特定波长紫外光的选择性吸收，组分浓度与吸光度的关系遵守比尔定律。

紫外光度检测器具有很高的灵敏度，最低检出浓度可达 ng/mL 的检测水平，因而即使是那些对紫外光吸收较弱的物质，也可用这种检测器进行检测。此外，这种检测器对温度和流速不敏感，可用于梯度洗脱，其结构较简单，缺点是不适用于对紫外光完全不吸收的试样^[11]。

逐步取代光栅型紫外检测器的 PDA 检测器是紫外可见光度检测

...

器发展史的一个里程碑式的进步^[12]。它的出现标志着一种真正意义上的新的色谱和光谱联用技术的到来，潜在的定性能力有待开发。

PDA 可以是线性阵列，也可以是多极 PDA^[13]。一般来说，二极管数目多（以 35 到 1024 支不等），则每个二极管跨越的波长范围窄，光谱分辨率高，成本也高。氙灯光源发出的连续光，经过一消色差透镜系统聚焦在流通池内。然后透过光束经会聚后通过入射狭缝进入多色仪。在多色仪中，透过光束在全息光栅的表面色散，并投射在 PDA 元件上。多色仪是经过精心设计的，保证其聚焦面与接收器能很好地吻合。因此列阵上各个元件同时收到不同波长的光波。检测器的阵列由 211 个二极管组成，每个二极管宽 50 μm ，各自测量一窄段的光谱。光电二极管所接收的光强度是通过测量固态线路开关连接到公共输出线上的存储电容器的电荷量来传播。这些开关由一个寄存器控制，首先，给电容器充电到一个特定的量，在每一次测量周期开始时，由于光照射二极管，产生入射光二极管电流，导致充电电容器的部分放电，因而给电容器重新充电的电流量正比于放电所需的光强度。PDA 检测器通过其光电二极管阵列的电子线路，快速扫描提取光信号，在 10ms 左右测出整个波长范围 190nm~600nm 的光强。扫描速度非常快，远远超出色谱峰的流出速度，因此可以用来观察色谱柱流出物的每个瞬间的动态光谱吸收图，即不需要停留跟随色谱峰扫描。经计算机处理后，构成时间-波长-吸光度值三维光

...

谱色谱图^[14~18]。

新一代的光电二极管阵列检测器波长范围宽，可达 190nm~950nm；狭缝编程可使狭缝宽度在几秒内改变；光学分辨率最高为 1.0nm。

因此可同时用色谱相对保留值与光谱特征吸收曲线综合进行定性分析。此外，可在色谱分离时，对每个色谱峰的指定位置（峰前沿、峰顶点、峰后沿）实时记录吸收光谱图并进行比较，可判别色谱峰的纯度及分离状况^[19-20]。

为了探讨建立农药反相 **PDA** 谱库用以实现农药常量、痕量的定性分析，本文以二甲戊灵和利谷隆为例，研究了 **HPLC-PDA** 应用时常见变化因素对紫外吸收光谱的影响。

...

2 材料与方法

2.1 试剂与溶液

供试农药：二甲戊灵标样：已知质量分数，99.0% (m/m)，国家标准物质研究中心提供；

利谷隆标样：已知质量分数，98.0% (m/m)，国家标准物质研究中心提供；

二级水；甲醇、乙腈、四氢呋喃均为 HPLC 级；

2.1.1 溶液的过滤

采用水系微孔滤膜（滤膜孔径约 0.22 μ m， ϕ 50mm）和有机系微孔滤膜（滤膜孔径约 0.22 μ m， ϕ 50mm）分别过滤新蒸二次蒸馏水、乙腈、甲醇、四氢呋喃备用。

...

2.1.2 供试农药溶液的配制

称取二甲戊灵、利谷隆标样各0.0025g（精确至0.0002g），于25mL容量瓶中，用甲醇或乙腈溶解并稀释至刻度，待用。

用 1.0mL 移液管从配制的 100mg/L 的二甲戊灵、利谷隆标准溶液中取 1.0mL

置于 10mL 具塞刻度试管中稀释至刻度，待用。然后分别将 10mg/L 的标样稀释成 1.0mg/L、0.1mg/L 待用。

2.2 仪器与设备

2.2.1 仪器

高效液相色谱仪：美国WATERS 600 高压泵，WATERS 2996 型二极管阵列检测器和 Rheodyne7725i 六通阀进样器；Millennium 32

4.0 中文版色谱工作站；

色谱柱：Waters 3.9mm×150mm 不锈钢柱，内填充物 5 μ m C₁₈，C₈；

大连依利特 4.6mm×200mm 不锈钢柱，内填充物 5 μ m C₁₈；

微量进样器：25 μ L。

2.2.2 液相色谱仪和 PDA 的操作条件

2.2.2.1 液相色谱仪的操作条件

柱温：25 $^{\circ}$ C（温度变化应不大于 2 $^{\circ}$ C）；

...

流动相流量：0.6mL/min，氦气鼓泡脱气；

流动相：参见 2.3；

进样体积：10 μ L。

2.2.2.2 PDA 的操作条件

检测波长范围：195nm~400nm；

采样速率：1.0；

分辨率：1.2nm；

仪器控制：自动曝光；

3D 数据采集。

2.2.3 WATERS-600 液相色谱仪的操作规程

2.2.3.1 制备标样和样品 配置合适浓度的标样；制备的样品进样前要过滤。

2.2.3.2 使用 HPLC 级流动相，必要时自行制备；水为实验室二级水。用前均需过 0.22 μ m 的滤膜。

2.2.3.3 流动相脱气 打开氦气（99.99%）钢瓶，调节减压阀输出压力 0.3~0.6MPa。确认流动相管线和相应的脱气管线。开始洗脱前，以 100mL/min 的速率脱气至少 15min，然后以 30~50mL/min 的速率维持脱气，直至分析工作完成。

2.2.3.4 开机 顺序接通 WATERS 2996、WATERS 600。打开计算机电源，进入 WIN2000，启动 Millennium32 工作站。

...

2.2.3.5 排出泵室气泡。当正常工作流速是显示无压力或压力很低，此时一般要排气。方法是打开排气阀，设置流速 **9.99mL/min**，待排液正常后恢复所有设置。

2.2.3.6 双击配置系统，建立分析项目，创建方法组，根据实际分析的样品和要求，设置 **600** 泵和检测器的工作参数。顺序点击设置、进样按钮，准备开始分析。

2.2.3.7 进样 将六通阀手柄置于 **LOAD** 状态。注意排除气泡，用微量进样器准备进样；用注射器装样，注入五倍于定量管体积的待测溶液；装样后将手柄顺时针置于 **INJECT** 状态开始进样，同时会听到蜂鸣声以及提示，这是工作站开始记录。带进样后 **2~3min**，将手柄转至 **LOAD** 为止，这时才能取下进样器，取样开始下次分析。注意必须使用专用进样器，避免损坏阀片，造成漏液。

2.2.3.8 关机 测试完毕，先用 **100%**水冲洗至压力平衡，持续 **10min**，改为 **90%**甲醇水溶液洗脱至柱压平衡，持续 **5min**。将流速设置为 **0mL/min** 后顺序关闭 **Waters 600**、**Waters2996** 电源开关。关闭氦气钢瓶气阀。处理数据打印报告后，关闭计算机和总电源开关。

2.2.3.9 仪器维护与保养 检查各组件连结束又无泄漏；检查费也及时处理；定期检查氦气气路，保证气路密闭并畅通；停机超过**2**周，需开机运行保养。

...

2.2.4 实验设备

容量瓶；10mL 具塞刻度试管；1000mL 微膜过滤器；蒸馏装置。

2.2.5 试样的测定

在上述操作条件下，待仪器基线稳定后，连续注入数针二甲戊灵或利谷隆标样溶液，计算各针相对响应值的重复性，待相邻两针的相对响应值变化小于 1.5%后，注射 10 μ L 二甲戊灵或利谷隆标样进行测定。然后改变条件，再进行测定。对不同条件下获得的有效成分紫外吸收光谱进行比较。

2.3 分析条件的改变

2.3.1 HPLC-PDA 方法提要

采用反相液相色谱法，选用美国 Waters 600 高效液相色谱仪，C₈ 3.9mm \times 150mm、C₁₈ 3.9mm \times 150mm 不锈钢色谱柱，以水、甲醇、乙腈、四氢呋喃为流动相，改变其比例或组成，在波长 195~400nm 的条件下，对农药中的有效成分进行测定，然后对有效成分的最大紫外吸收的波长、紫外吸收的峰形进行比较。

2.3.2 流动相种类

2.3.2.1 测定方法提要

试样用甲醇溶解，以甲醇：水、乙腈：水、四氢呋喃：水为流动相，使用美国 Waters 600 C₁₈ 5 m 为填料的色谱柱和 2996 型二极管阵列检测器，对试样中二甲戊灵或利谷隆的有效成份进行测定。

...

2.3.3 流动相配比

2.3.3.1 测定方法提要

配制 100mg/L 的标准溶液，取 10 μ L，采用反相液相色谱法，选用美国 Waters 600 高效液相色谱仪，C₁₈ 3.9mm \times 150mm 不锈钢色谱柱，以甲醇（色谱纯、过滤）：水（过滤）为流动相，在波长 195~400nm 条件下，对二甲戊灵或利谷隆标样的有效成分进行测定。

2.3.4 流动相流量

2.3.4.1 测定方法提要

试样用甲醇溶解，以甲醇：水、乙腈：水为流动相，使用美国 Waters 600 C₁₈ 5 m 为填料的色谱柱和 2996 型二极管阵列检测器，对试样中二甲戊灵或利谷隆的有效成份进行测定。

2.3.5 色谱柱

2.3.5.1 方法提要

配制 100mg/L 的二甲戊灵和利谷隆溶液，以甲醇：水为流动相，取 10 μ L 进样分别在美国 Waters 3.9mm \times 150mm 不锈钢柱，内装 5 μ m C₁₈ 填充物，大连依利特 4.6mm \times 200mm 不锈钢柱，内装 5 μ m C₁₈ 填充物的色谱柱中检测，扫描波长 195~400nm 获得 PDA 紫外光谱图。

2.3.6 色谱柱的固定相

2.3.6.1 方法提要

试样用甲醇溶解，以甲醇：水为流动相，分别使用美国 Waters 600

...

内装 C_{18} $5\mu\text{m}$ 填充物、美国 Waters 600 内装 C_8 $5\mu\text{m}$ 填充物的色谱柱和 2996 型二极管阵列检测器，对标样中的有效成份进行液相色谱分析。

2.3.7 调酸剂

2.3.7.1 方法提要

在流动相中分别加入 TFA、 H_3PO_4 ，采用反相液相色谱法，选用美国 Waters 600 高效液相色谱仪， $3.9\text{mm}\times 150\text{mm}$ C_{18} 不锈钢色谱柱，以甲醇（色谱纯、过滤）：水（过滤）为流动相，在波长 $195\sim 400\text{nm}$ 条件下，对二甲戊灵或利谷隆标样的有效成分进行测定。

2.3.7.2 操作方法

在流动相二级水中加入几滴调酸剂，调节 PH 值在 2~8 之间，备用。

2.3.8 缓冲溶液

2.3.8.1 方法提要

采用反相液相色谱法，选用美国 Waters 600 高效液相色谱仪， C_{18} $3.9\text{mm}\times 150\text{mm}$ 不锈钢色谱柱，以甲醇（色谱纯、过滤）：水（过滤）为流动相，在波长 $195\sim 400\text{nm}$ 条件下，分别用甲醇、乙腈溶解标样对二甲戊灵或利谷隆标样的有效成分进行测定。

2.3.8.2 实验操作

称取 2.4g 磷酸二氢钾（符合 GB 6853），溶于 500mL 二次蒸馏

...

水中，然后经 G₅ 玻璃砂芯漏斗过滤，密封保存。

2.3.9 样品溶剂

2.3.9.1 方法提要

采用反相液相色谱法，选用美国 Waters 600 高效液相色谱仪，C₁₈ 3.9mm×150mm 不锈钢色谱柱，以甲醇（色谱纯、过滤）：水（过滤）为流动相，在波长 195~400nm 条件下，分别用甲醇、乙腈溶解标样对利谷隆标样的有效成分进行测定。

2.3.10 试样的浓度

2.3.10.1 方法提要

采用反相液相色谱法，选用美国 Waters 600 高效液相色谱仪，C₁₈ 3.9mm×150mm 不锈钢色谱柱，以水（过滤）：甲醇（色谱纯、过滤）为流动相，在波长 195~400nm 条件下，分别对 1mg/L、0.1 mg/L、0.01 mg/L 的标样对二甲戊灵或利谷隆标样的有效成分进行测定。

...

3 结果与讨论

3.1 二甲戊灵的测定结果

3.1.1 流动相种类不同时的 PDA 紫外吸收光谱

流动相为 ψ (甲醇 : 水) = 70 : 30 (v/v) 时二甲戊灵的 PDA 紫外吸收光谱图见图 3-1, 3D 图见图 3-2。由图 3-1 可知在 237.2nm 为二甲戊灵的最大紫外光谱吸收峰, 最大拐点处波长为 214nm。

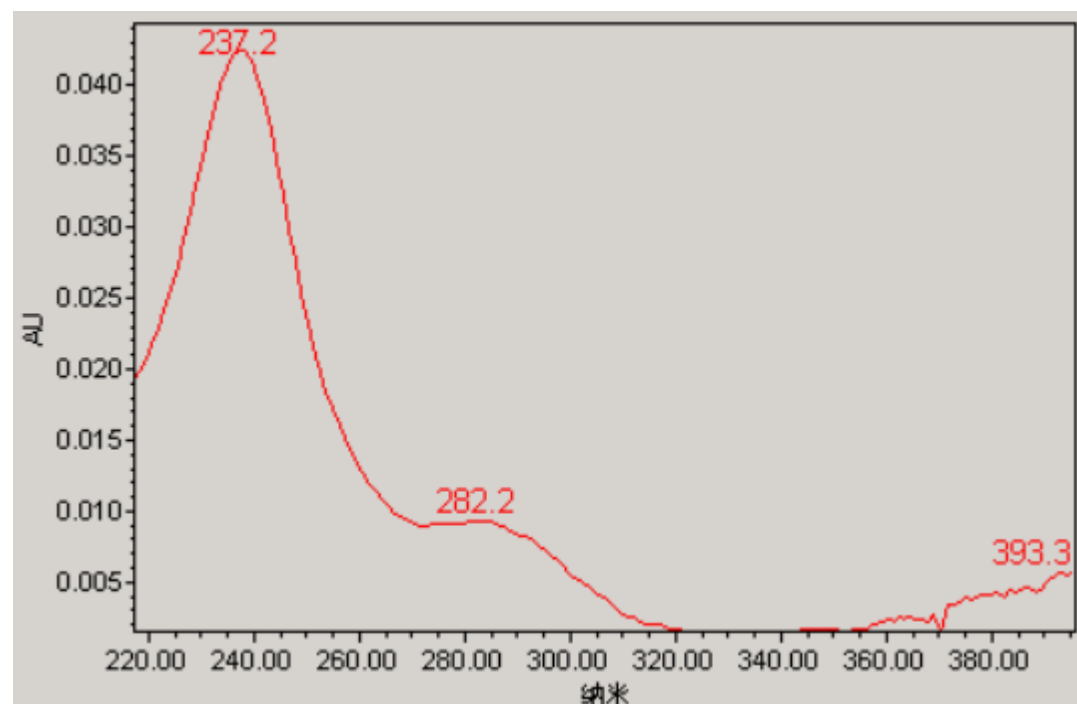


图 3-1 二甲戊灵标样 PDA 紫外光谱图 (甲醇 : 水)

Fig.3-1 UV spectrogram of pendimethalin(methanol:water)

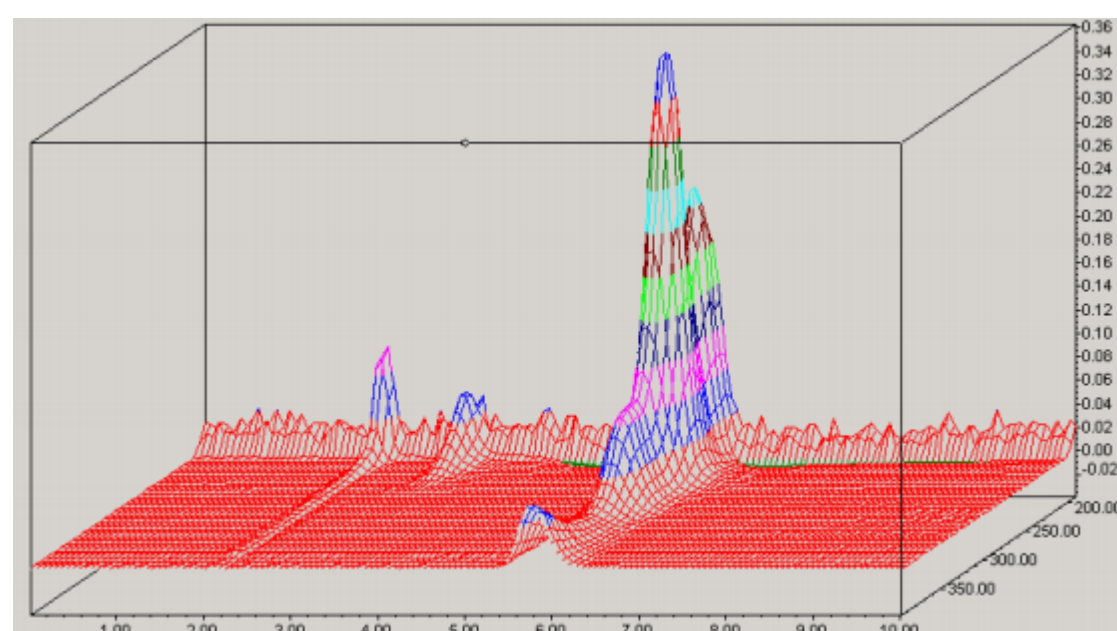


图 3-2 二甲戊灵标样高效液相三维图

Fig.3-2 Three dimensional chromatogram of pendimethalin by PDA

流动相为 ψ (乙腈:水) =70 : 30 (v/v) 时二甲戊灵的 PDA 紫外吸收光谱图见图 3-3。由图可知在 237.2nm 为二甲戊灵的最大紫外光谱吸收峰, 最大拐点处波长为 214nm。

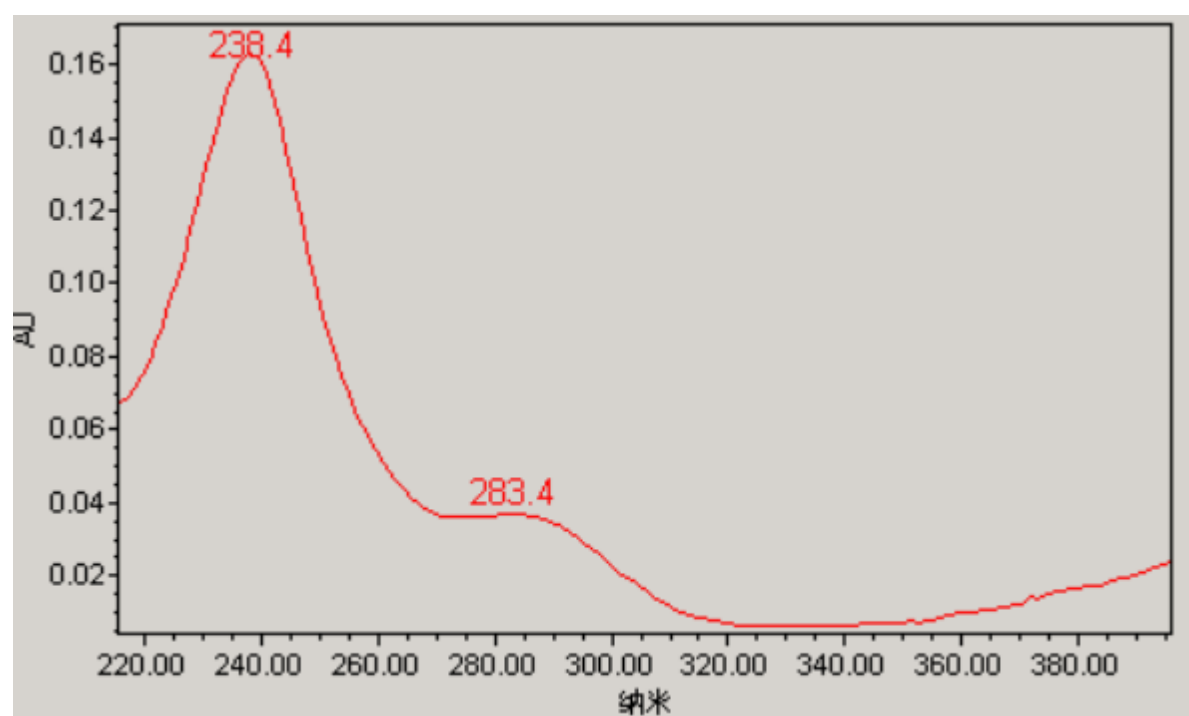


图 3-3 二甲戊灵标样 PDA 紫外光谱图 (乙腈 : 水)

Fig.3-3 UV spectrogram of pendimethalin (acetonitrile:water)

流动相为 ψ (甲醇 : 乙腈 : 水) = 60 : 20 : 20 (v/v/v) 时二甲戊灵的紫外吸收 PDA 光谱图见图 3-4。由 3-4 图可知在 237.2nm 为二甲戊灵的最大紫外光谱吸收峰,最大拐点处波长为 214nm。

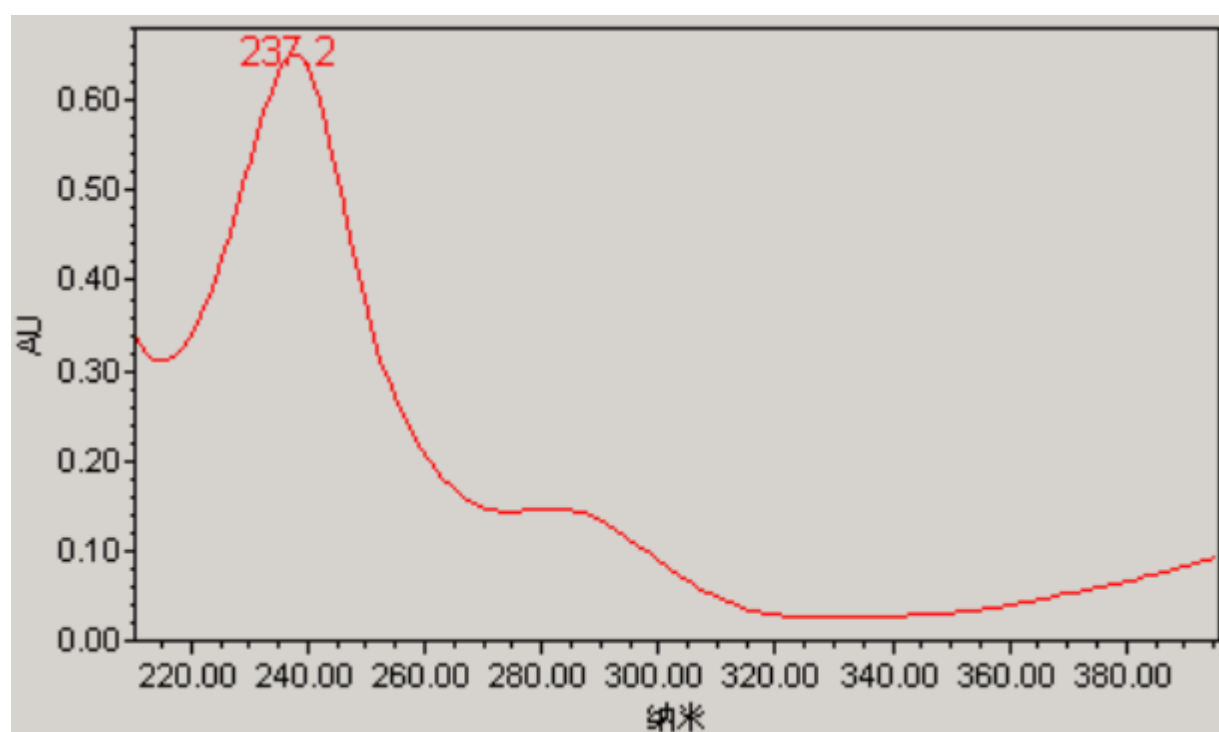


图 3-4 二甲戊灵标样 PDA 紫外光谱图 (甲醇 : 乙腈 : 水)

Fig.3-4 UV spectrogram of pendimethalin(methanol:
acetonitrile:water)

流动相为 ψ （四氢呋喃：水）=55 : 45 (v/v) 时二甲戊灵 PDA 紫外吸收光谱图见图 3-5。

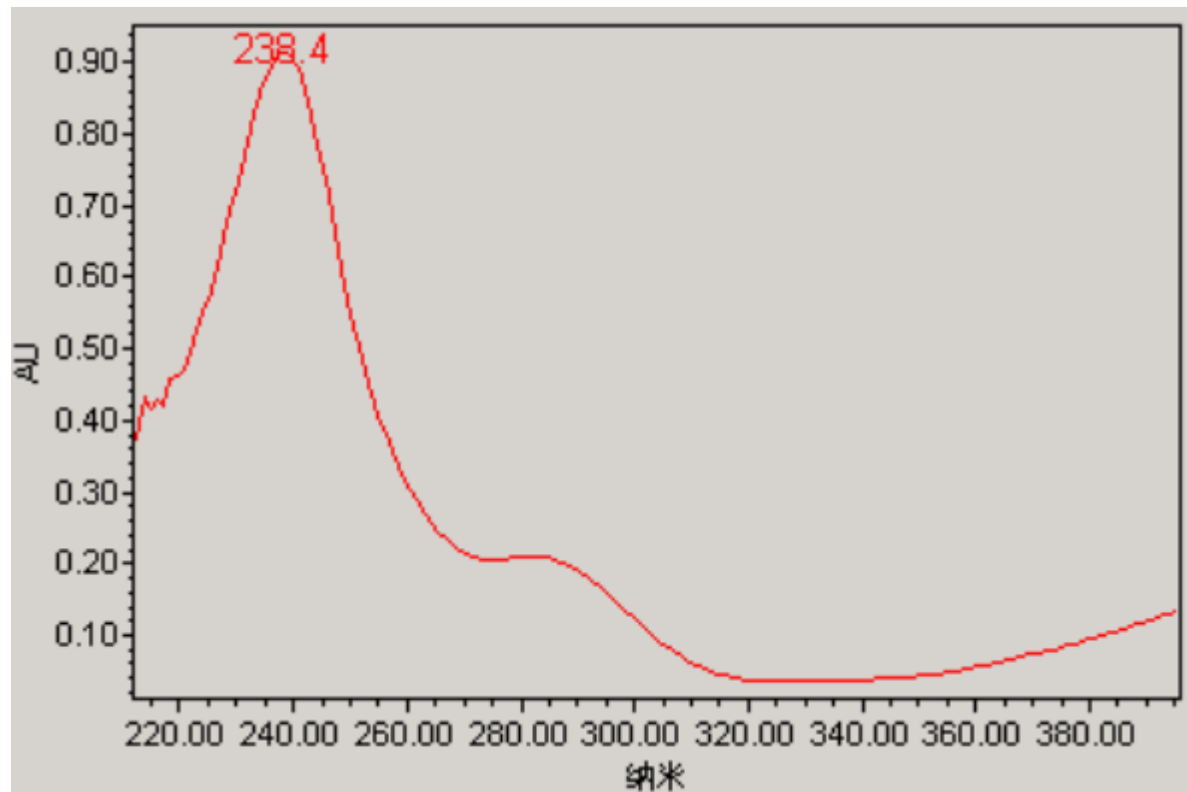


图 3-5 二甲戊灵标样 PDA 紫外光谱图（四氢呋喃：水）

Fig. 3-5 UV spectrogram of pendimethalin(butylenes oxide:water)

由图 3-5 可知在 238.4nm 为二甲戊灵的最大紫外光谱吸收峰,最大拐点处波长为 214nm。由于 Waters 2996 的分辨率为 1.2nm, 所以在这两种条件下, 二甲戊灵的最大紫外吸收峰是一样的。

3.1.2 流动相配比不同时的 PDA 紫外吸收光谱

流动相比例为 ψ （甲醇：水）=70 : 30(v/v)时二甲戊灵 PDA

...

紫外吸收光谱图如图 3-6。

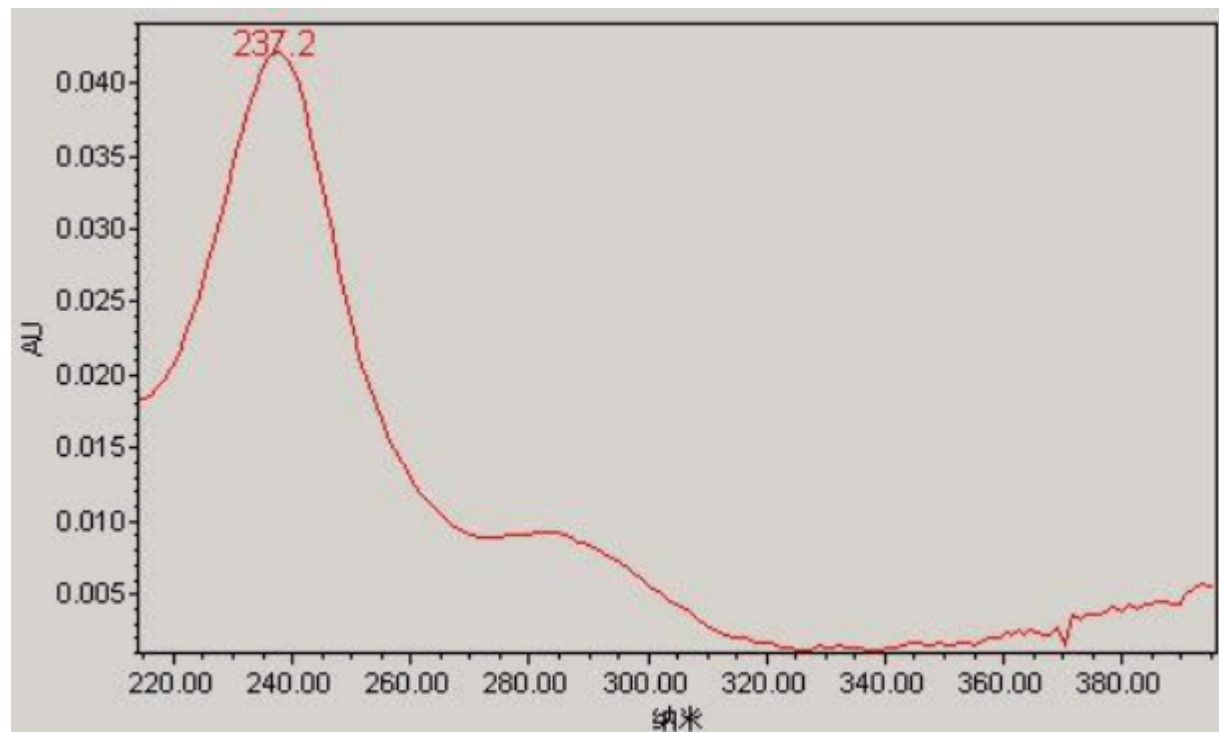
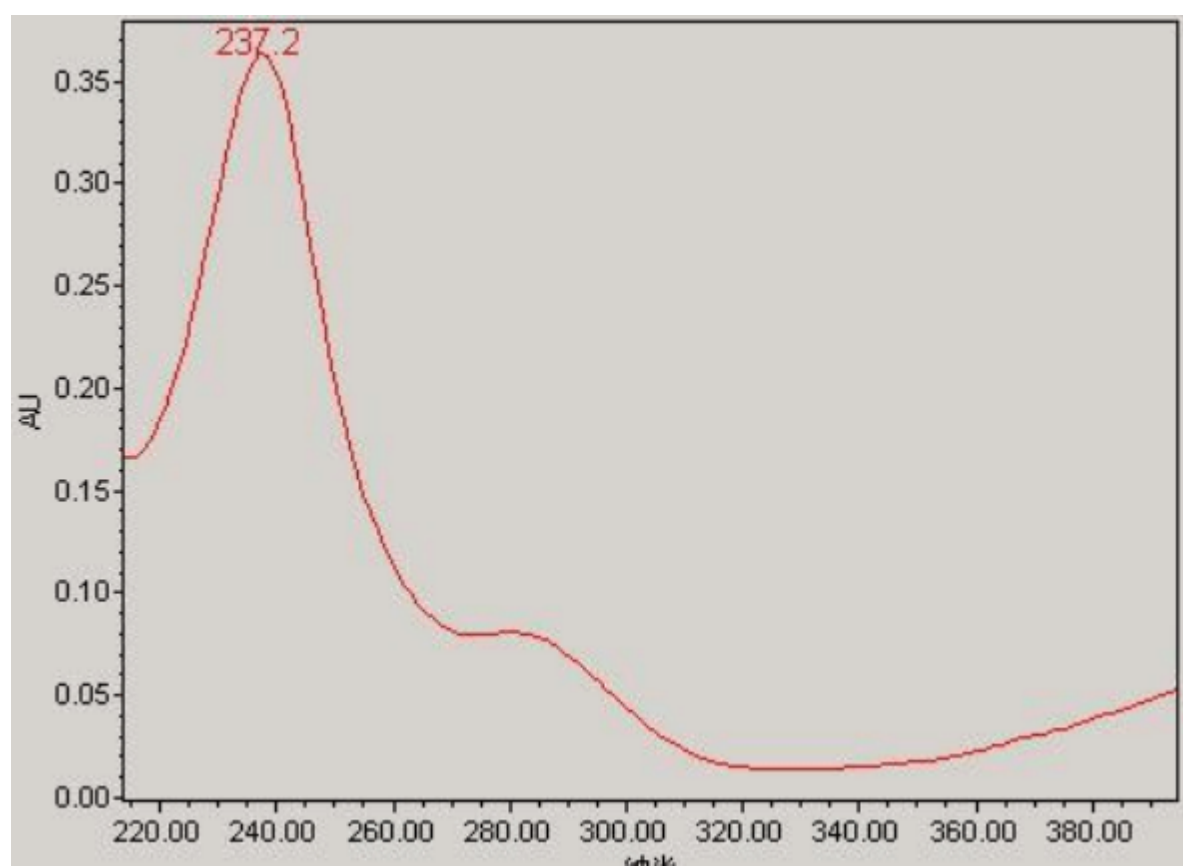


图 3-6 二甲戊灵标样 PDA 紫外光谱图(ψ (甲醇 : 水) =70 : 30(v/v))

Fig.3-6 UV spectrogram of pendimethalin(ψ (methanol:water)=70:30)

由图 3-6 可知在 237.2nm 为二甲戊灵的最大紫外光谱吸收峰，最大拐点处波长为 214nm。

流动相比比例为 ψ (甲醇 : 水) =90 : 10 (v/v) 时二甲戊灵的 PDA 紫外吸收光谱图如图 3-7。



...

图3-7 二甲戊灵标样PDA紫外光谱图 ψ (甲醇 : 水) =90 : 10 (v/v)

Fig.3.7 UV spectrogram of pendimethalin(ψ (methanol:water)=90:10)

由图 3-7 可知在 237.2nm 为二甲戊灵标样的紫外光谱最大吸收波长。

注：图 3-6、图 3-7 是在固定相为 Waters 3.9mm×150mm 不锈钢柱，内填充物 5 μ m C₁₈；流速为 0.6mL/min；溶剂为甲醇时测得的。

3.1.3 流动相流量不同时的 PDA 紫外吸收光谱

流动相流量为 0.4mL/min 时测得的二甲戊灵的 PDA 紫外吸收光谱图见图 3-8。由图可知在 237.2nm 为二甲戊灵的最大紫外光谱吸收峰，最大拐点处波长为 214nm。

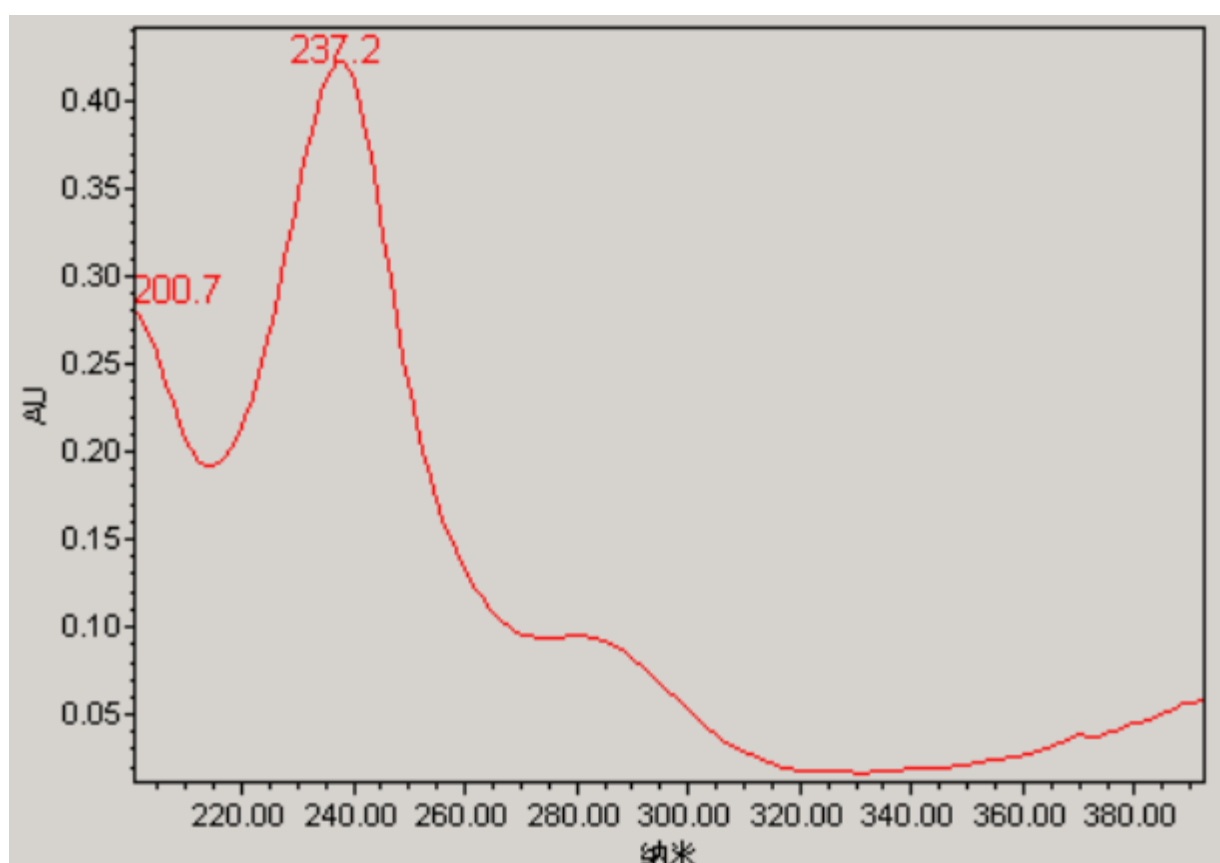


图 3-8 二甲戊灵标样 PDA 紫外光谱图 (0.4mL/min)

Fig. 3-8 UV spectrogram of pendimethalin (0.4mL/min)

流量为 0.6mL/min 时测得的二甲戊灵的 PDA 紫外吸收光谱图见图 3-9。由图可知 237.2nm 为二甲戊灵的最大紫外光谱吸收峰波长，最大拐点处波长为 214nm。

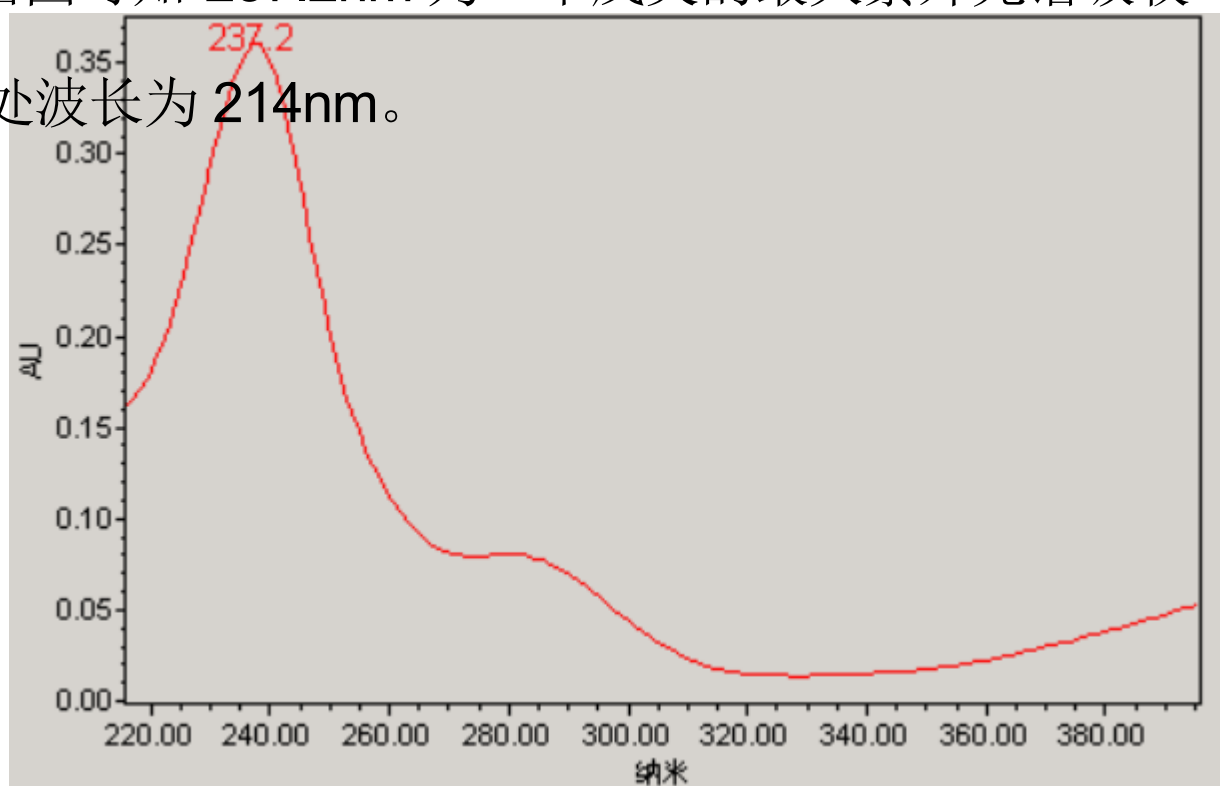


图 3-9 二甲戊灵标样紫外光谱图 PDA (0.6mL/min)

Figure3-9 UV spectrogram of pendimethalin(0.6mL/min)

流量为 0.8mL/min 时测得的二甲戊灵的 PDA 紫外吸收光谱图见图 3-10。

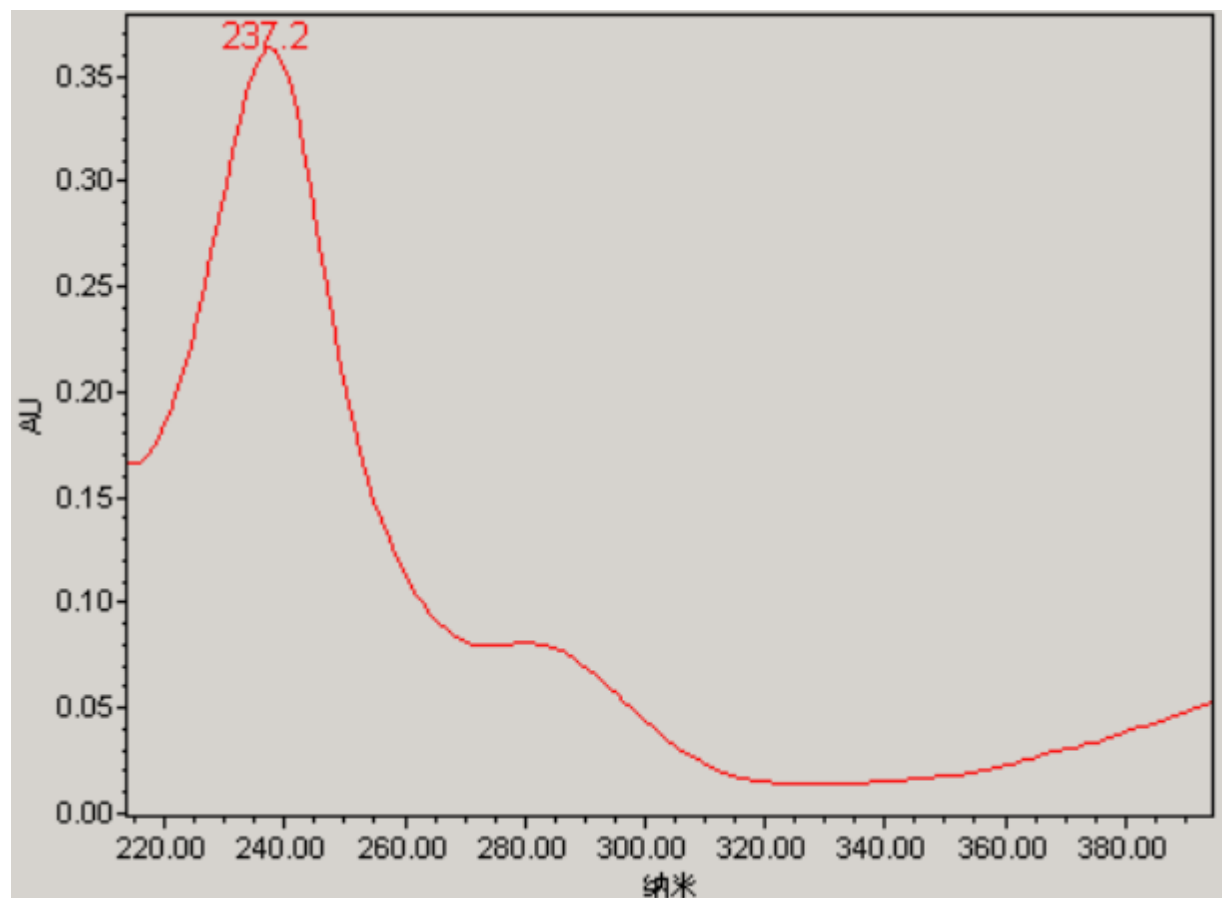


图 3-10 二甲戊灵标样 PDA 紫外光谱图 (0.8mL/min)

Fig.3-10 UV spectrogram of pendimethalin(0.8mL/min)

由图 3-10 可知在 237.2nm 为二甲戊灵的最大紫外光谱吸收峰，最大拐点处波长为 214nm。

注：图 3-8、图 3-9、图 3-10 是在流动相为甲醇：水=70 : 30 (v/v)；色谱柱为美国 Waters 3.9mm×150mm 不锈钢柱，内填充物 5 μ m C₁₈；

...

溶剂为甲醇的条件下获得的。

3.1.4 色谱柱不同对 PDA 紫外光谱的影响

色谱柱为美国 Waters 3.9mm×150mm 不锈钢柱，内填充物 5 μ m C₁₈ 时，测得的二甲戊灵的PDA 紫外吸收光谱图见图 3-11 。由图 3-11 可以得出：可知在 237.2nm 为二甲戊灵的最大紫外光谱吸收峰，最大拐点处波长为 214nm。

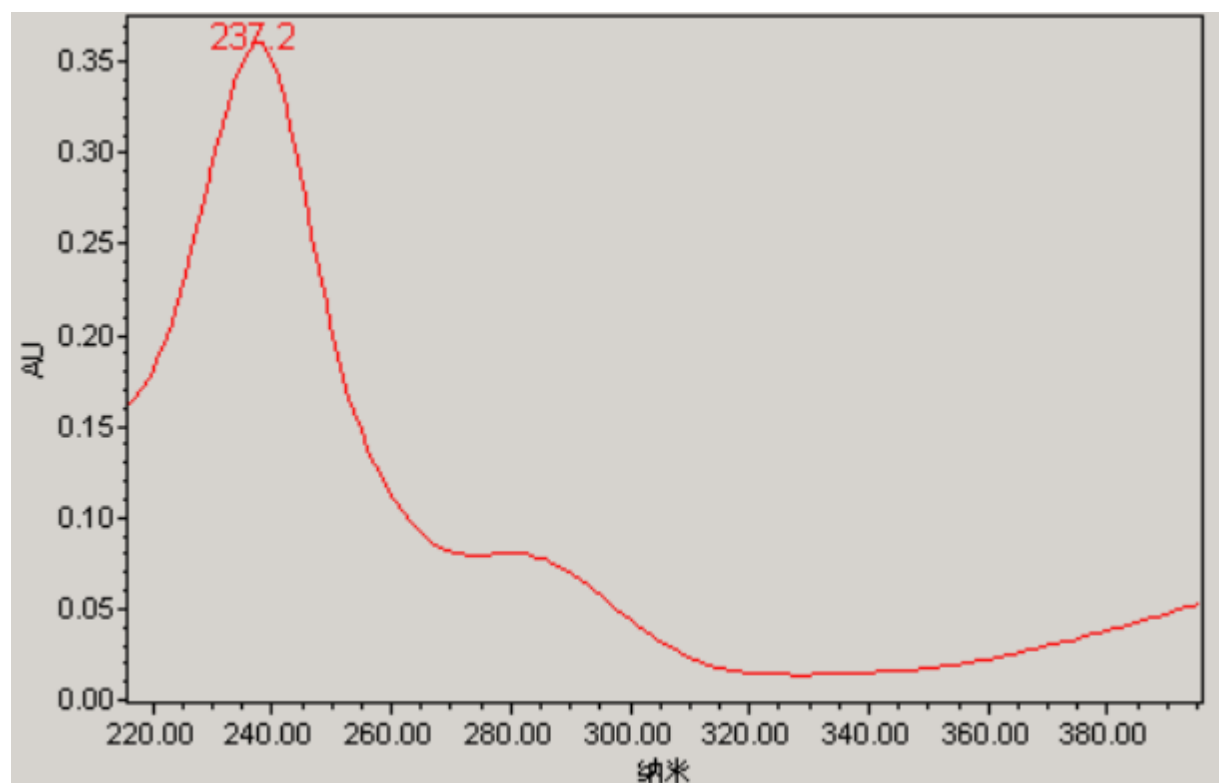


图 3-11 二甲戊灵标样 PDA 紫外光谱图（固定相为 Waters 不锈钢柱）

Fig.3-11 UV spectrogram of pendimethalin (waters chromatographic column)

色谱柱为大连依利特 4.6mm×200mm 不锈钢柱，内装 5 μ m C₁₈

...

填充物时，测得的二甲戊灵的 PDA 紫外吸收光谱图见图 3-12。

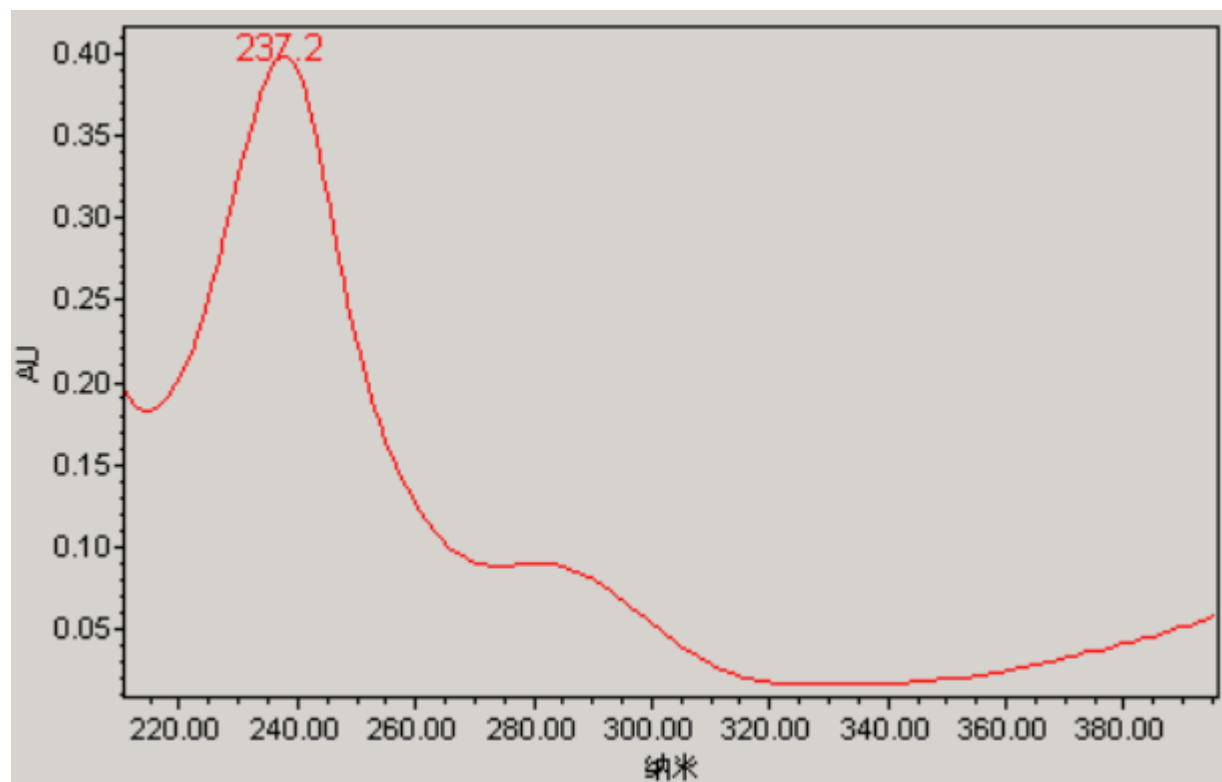


图 3-12 二甲戊灵标样 PDA 紫外光谱图（固定相为依利特不锈钢柱）

Fig.3-12 UV spectrogram of pendimethalin (elite chromatographic column)

由图 3-12 可知 237.2nm 为二甲戊灵的最大紫外光谱吸收峰波长，最大拐点处波长为 214nm。

注：图3-11、图 3-12 是在流动相为甲醇：水=80 : 20 (v/v)；流速为 0.6mL/min；溶剂为甲醇的试验条件下测得的。

3.1.5 色谱柱的固定相不同对 PDA 紫外光谱的影响

固定相为美国 Waters 3.9mm×150mm 不锈钢柱，内填充物 5μm

...

C_8 测得的二甲戊灵的 PDA 紫外吸收光谱图见图 3-13。由图可知 237.2nm 为二甲戊灵的最大紫外光谱吸收峰波长，最大拐点处波长为 214nm。

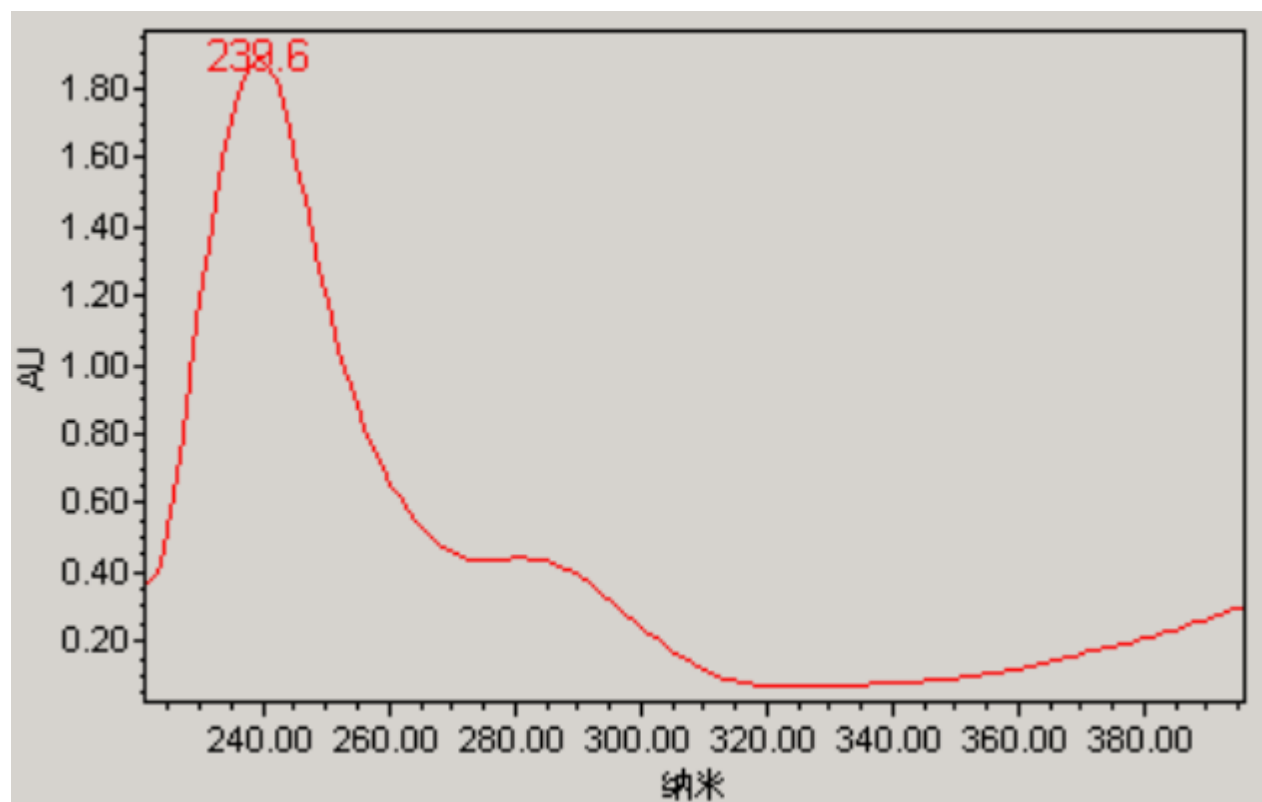


图 3-13 二甲戊灵标样 PDA 紫外光谱图（固定相内填充物 $5\mu\text{m } C_8$ ）

Fig.3-13 UV spectrogram of pendimethalin ($5\mu\text{m } C_8$)

固定相为 Waters $3.9\text{mm}\times 150\text{mm}$ 不锈钢柱，内填充物 $5\mu\text{m } C_{18}$ ，测得的二甲戊灵的 PDA 紫外吸收光谱图见图 3-11

比较图 3-11 和图 3-13 可以看出，二甲戊灵的 PDA 最大紫外吸

收波长没有显著的变化。

3.1.7 调酸剂对 PDA 紫外光谱的影响

未加调酸剂时二甲戊灵的 PDA 紫外光谱图见图 3-11。

加 TFA 后二甲戊灵的 PDA 紫外光谱图如图 3-14，可知在 237.2nm 为二甲戊灵的最大紫外光谱吸收峰，最大拐点处波长为 214nm。

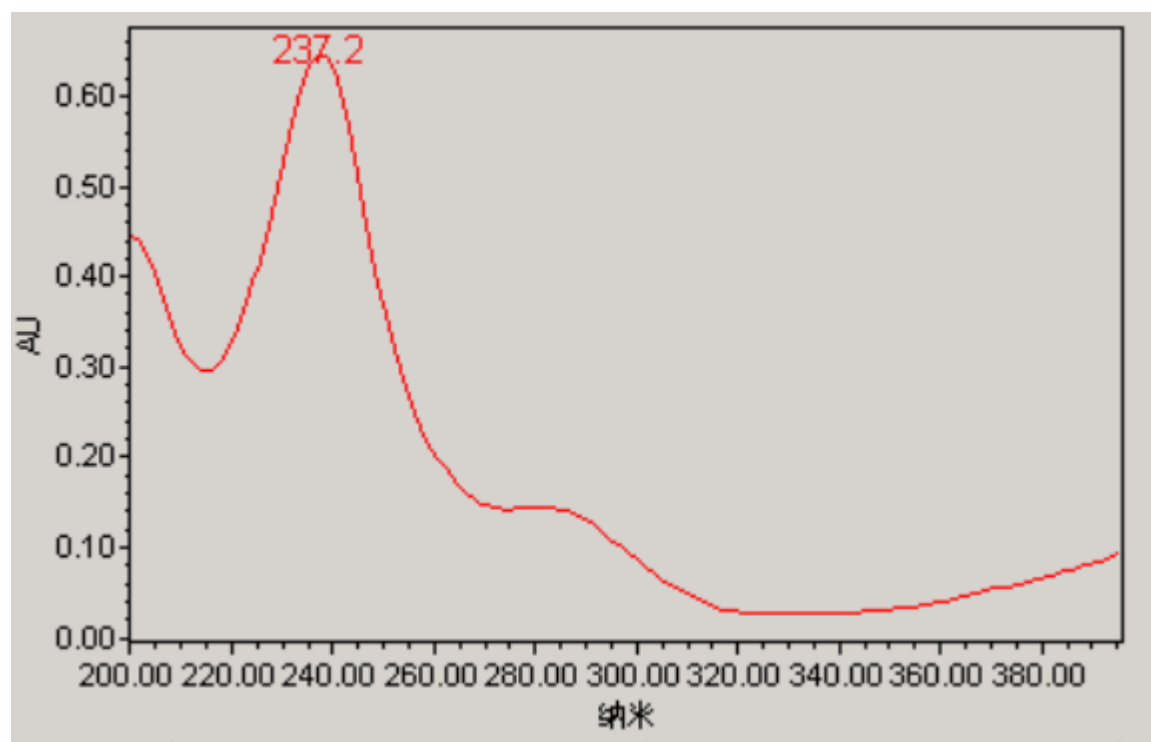


图 3-14 二甲戊灵标样 PDA 紫外光谱图(TFA)

Fig.3-14 UV spectrogram of pendimethalin (TFA)

加 H_3PO_4 后二甲戊灵的 PDA 紫外吸收光谱图如图 3-15。由图 3-15，可知在 237.2nm 为二甲戊灵的最大紫外光谱吸收峰，最大拐点处波长为 214nm。

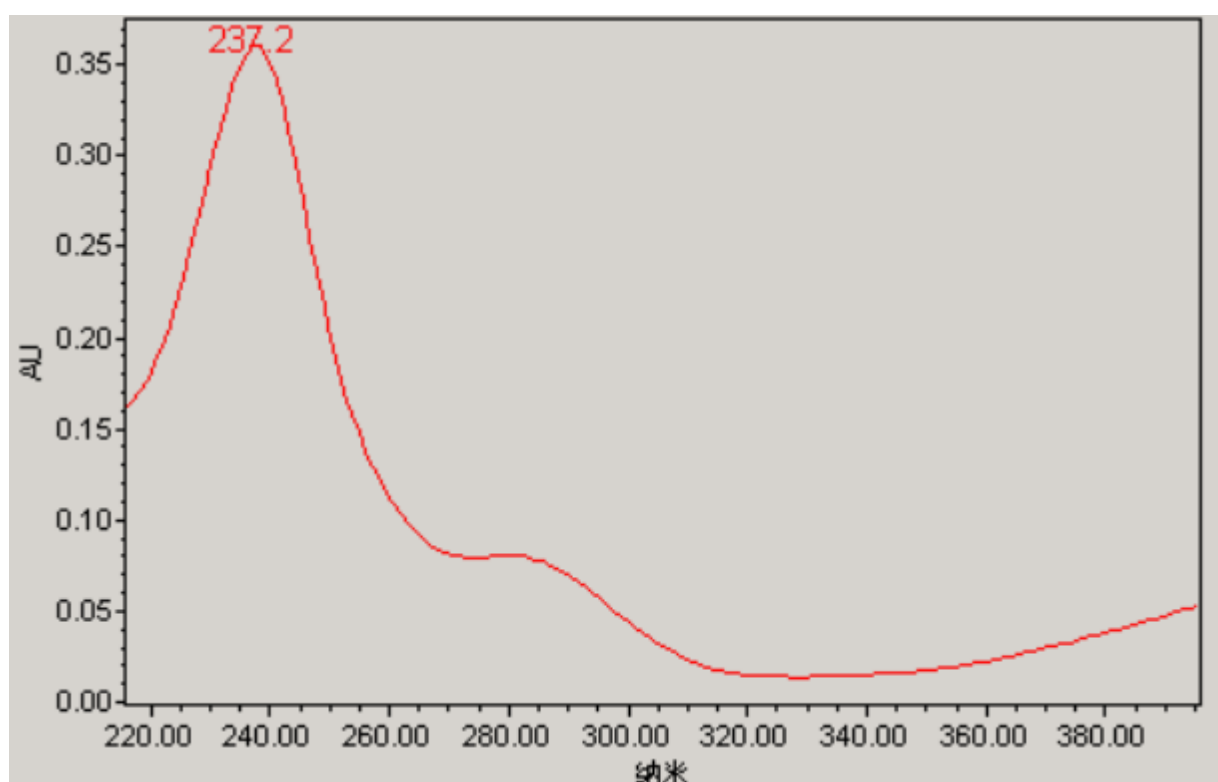


图 3-15 二甲戊灵标样 PDA 紫外光谱图(H_3PO_4)

Fig.3-15 UV spectrogram of pendimethalin (H_3PO_4)

3.1.8 缓冲溶液对 PDA 紫外吸收的影响

未加缓冲溶液时二甲戊灵的 PDA 紫外光谱图见图 3-13。

加缓冲溶液后二甲戊灵的 PDA 紫外光谱见下图 3-16。

...