

测定环境水样中毒死蜱及其降解产物的固相萃取—高效液相色谱法

刘承兰,钟国华,高 燕,陈文团,胡美英

(华南农业大学 资源环境学院,农药与化学生物学教育部重点实验室,广东 广州 510642)

【摘要】 **【目的】**为检测水体及其他流体中毒死蜱及其降解物 3,5,6-三氯吡啶-2-酚(TCP)残留提供简便而准确的分析方法。**【方法】**对固相萃取水样的 pH、洗脱剂,以及高效液相色谱的流动相组成、pH、梯度洗脱条件、最佳检测波长进行了筛选,建立了环境水体中毒死蜱及其降解产物 TCP 的固相萃取—高效液相色谱法,并用该方法检测了 10 份不同来源水样中毒死蜱和 TCP 的质量浓度。**【结果】**建立的固相萃取—高效液相色谱法为:水体样品先用 5 mol/L 盐酸调 pH 为 4.5,过滤后取 1 L 滤过液经固相萃取(SPE)小柱提取、净化,用二氯甲烷—丙酮—乙腈混合液($V(\text{二氯甲烷}):V(\text{丙酮}):V(\text{乙腈})=40:60:20$)洗脱,然后用乙腈—超纯水(pH 3.5)梯度洗脱法对毒死蜱和 TCP 进行分离,于波长为 230 nm 下用二极管阵列检测器(DAD)检测,外标法定量。该方法对毒死蜱和 TCP 的检出限分别为 0.15 mg/L 和 0.30 mg/L,最小检出质量浓度均为 0.001 mg/L,线性范围均为 0.3~10 mg/L,添加回收率均在 70%以上,相对标准偏差分别为 0.7%~13.0%和 2.7%~7.8%。用该方法测定了不同来源的 10 份水样,结果可靠。**【结论】**建立的固相萃取—高效液相色谱法灵敏度、准确度和精密度完全可以满足水体中毒死蜱和 TCP 残留检测要求,亦为其他流体中毒死蜱及 TCP 分析提供了参考。

【关键词】 固相萃取;高效液相色谱;毒死蜱;3,5,6-三氯吡啶-2-酚;水样

【中图分类号】 X132

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2008)02-0215-07

Determination of chlorpyrifos and its metabolite in water samples by solid-phase extraction and high performance liquid chromatography

LIU Cheng-lan,ZHONG Guo-hua,GAO Yan,CHEN Wen-tuan,HU Mei-ying

(Laboratory of Insect Toxicology and Key laboratory of Pesticide and Chemical Biology,Ministry of Education of China,
South China Agricultural University,Guangzhou,Guangdong 510642,China)

Abstract:**【Objective】**The aim of the present work was to provide a simple and exact analytical method to determine chlorpyrifos and its main metabolite 3,5,6-trichloro-2-pyridinol(TCP)in environmental water and the other fluid.**【Method】**To study the pH in water sample,eluting solvents in SPE,and the pH in mobile phase,the condition of gradient elution for HPLC,and the best checking wavelength of chlorpyrifos and TCP,an analytical method for determination of chlorpyrifos and its main metabolite TCP in environmental water by solid-phase extraction (SPE) coupled with high performance liquid chromatography (HPLC)with diode-array detector(DAD)was developed. The concentrations of chlorpyrifos and TCP in ten water samples collecting different sites were determined by this method. **【Result】**The method was:the water samples were acidified with 5 mol/L acetic acid (pH 4.5),then filtrated. 1 L of filtrate was extracted

* **【收稿日期】** 2007-01-30

【基金项目】 科技部科技成果转化项目(05EFN214400207);广东省自然科学基金项目(05006634);广东省教育厅自然科学基金项目(04020615);广州市科学技术局资助项目(2005Z2-E0061)

【作者简介】 刘承兰(1976—),男,湖南永兴人,博士后,主要从事农药残留分析与环境毒理学研究。

【通讯作者】 胡美英(1955—),女,广东梅州人,教授,主要从事昆虫毒理学和农药残留研究。

and purified using solid phase extraction, and eluted with dichloromethane,the mixture of acetone- acetonitrile ($V(\text{dichloromethane}) : V(\text{acetone}) : V(\text{acetonitrile}) = 40 : 60 : 20$). The Chlorpyrifos and TCP were separated with acetonitrile/water (pH 3.5) under the condition of gradient elution,measured by DAD at 230 nm,the external standard method was used for quantification. The limits of detection were 0.15 mg/L and 0.30 mg/L for chlorpyrifos and TCP,respectively,the LOQ of chlorpyrifos and TCP are 0.001 mg/L, the linear range is 0.30—10 mg/L. The fortified recoveries of chlorpyrifos and TCP were above 70% for environmental water,with relative standard deviations of 0.7%—13.0% and 2.7%—7.8%,respectively. This method is applied to detect chlorpyrifos and TCP in 10 samples of environmental water collected from different sites. The results are reliable. 【Conclusion】 It is a sensitive,simple and reliable method and the recovery rate and coefficient of variation are perfect. The method suited the demand of detecting the chlorpyrifos and TCP in the environmental waters,also provided a reference of analyzing the concentrations of chlorpyrifos and TCP in the other liquid.

Key words: solid phase extraction; high performance liquid chromatography; chlorpyrifos; 3,5,6-trichloro-2-pyridinol; water sample

毒死蜱(chlorpyrifos),商品名称为乐斯本,化学名称 O,O-二乙基-O-3,5,6-三氯-2-吡啶硫逐磷酸酯,属有机磷类杀虫剂,广泛用于农业和城市害虫的防治^[1]。由于毒死蜱的广泛使用,在许多国家和地区的土壤、大气、雨水、地下水等环境中均已检测到其残留^[2-3]。自然环境中残留的毒死蜱因受到外界各种因素如光、水、微生物等的影响而降解,降解过程中会产生中间产物 3,5,6-三氯吡啶-2-酚(TCP)^[4-5],其也对外界环境,特别是水体环境产生一定的影响。因此,建立方便、灵敏的毒死蜱和 TCP 测定方法,对了解毒死蜱在环境中的污染和最终归宿具有重要作用。

目前,测定毒死蜱及其降解产物 TCP 的方法主要有酶联免疫(ELISA)^[6]、液相色谱法(HPLC)^[7-8]、气相色谱法(GC)^[9-10]、气-质联用分析法(GC-MS)^[11-12],其中 GC-MS 法灵敏、准确,但检测成本较高,其他已有的方法也存在不完善的地方^[9-10]。

目前,有关固相萃取(SPE)结合液相色谱同时检测水体中毒死蜱和 TCP 的研究还很少报道。本试验采用固相萃取与液相色谱结合的方法,建立了同时测定水体中毒死蜱及其降解产物 TCP 残留的方法,并优化了固相萃取和高效液相色谱检测条件,以期检测水体及其他流体中毒死蜱和 TCP 残留,提供简便而准确的分析技术手段。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Aglient 1100 高效液相色谱仪,配有在线真空

脱气机、二元高压梯度泵、自动进样器、二极管阵列检测器(DAD),美国 Agilent 公司生产;Lichro-CART 125-4 色谱柱(Lichrospher 100 RP-18,5 μm,125 mm×4 mm),德国默克公司生产;固相萃取装置,美国 Supelco 公司生产;ISOLUTE ENVI⁺ 固相萃取小柱(6 mL,500 mg),美国 Biotage 公司生产;PHS-3B 型精密 pH 计,上海雷磁仪器厂生产。毒死蜱(质量分数为 97%)标准品,购自国家标准物品中心;3,5,6-三氯吡啶-2-酚(TCP)标准品,美国 Supelco 公司生产;乙腈(色谱纯),美国 Dima 公司生产;超纯水(超纯水系统 Milli-Q-B),美国 Millipoe 公司生产;醋酸及其他试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 高效液相色谱条件 色谱柱:LichroCART 125-4 色谱柱;流动相 A 为乙腈,B 为超纯水,并用醋酸调 pH 为 3.5。梯度洗脱:0~4 min,60% A+40%B;4~5 min,60% A 线性变到 80% A;5~10 min,80% A+20%B;10~11 min,80% A 线性变到 60% A;11~12 min,60% A+40%B。柱温 25℃,流速 1 mL/min,进样体积为 10 μL,检测波长为 230 nm。外标法定量。

1.2.2 标准溶液的配制 分别准确称取 10.0 mg 毒死蜱和 TCP 标准品于 10 mL 容量瓶中,用丙酮定容,配制成毒死蜱和 TCP 质量浓度均为 1 000 mg/L 的标准溶液,根据需要用流动相(V(乙腈):V(超纯水)=60:40)稀释成所需的混合标准工作液。

1.2.3 样品前处理 采收约 1.5 L 水样,用 5 mol/L HCl 溶液调 pH 为 4.5,过滤后过柱。固相

萃取小柱依次用 3 mL 二氯甲烷、3 mL 丙酮和 3 mL 去离子水活化,准确量取 1 L 上述水样上样,流速 ≤ 10 mL/min,洗脱前抽干固相萃取小柱。然后依次用 4 mL 二氯甲烷、8 mL 丙酮—乙腈混合液($V(\text{丙酮}):V(\text{乙腈})=3:1$)洗脱,流速 ≤ 1 mL/min。收集洗脱液用氮气吹干,用 1 mL 乙腈—超纯水混合液($V(\text{乙腈}):V(\text{超纯水})=60:40$)定容,经 0.45 μm 滤膜过滤,低温下(4 $^{\circ}\text{C}$)保存供备用。

1.2.4 固相萃取条件的选择 (1)水样 pH 值的确定。TCP 的酸性解离常数 pK_a 较低^[13],为了提高 TCP 的回收率,水样在过固相萃取柱前需要酸化^[8]。取空白水样,添加毒死蜥和 TCP 标准溶液使其在水样中的质量浓度均为 0.1 mg/L,用 5 mol/L HCl 调水样 pH 分别为 3.5、4.0、4.5、5.0 和 6.5,固相萃取小柱依次用 3 mL 二氯甲烷、3 mL 丙酮和 3 mL 去离子水活化,准确量取 1 L 上述水样上样,流速 ≤ 10 mL/min,洗脱前抽干固相萃取小柱。用二氯甲烷—丙酮—乙腈混合液 1($V(\text{二氯甲烷}):V(\text{丙酮}):V(\text{乙腈})=40:60:20$)对固相萃取小柱进行洗脱,流速 ≤ 1 mL/min,进行加标回收率试验,测定毒死蜥和 TCP 的回收率。试验重复 3 次。

(2)洗脱剂的确定。取空白水样,添加毒死蜥和 TCP 标准溶液,使其在水样中的质量浓度均为 0.1 mg/L,用 5 mol/L HCl 调水样 pH 为 4.5,固相萃取小柱依次用 3 mL 二氯甲烷、3 mL 丙酮和 3 mL 去离子水活化,准确量取 1 L 上述水样上样,流速 ≤ 10 mL/min,洗脱前抽干固相萃取小柱。分别用二氯甲烷—丙酮—乙腈混合液 1($V(\text{二氯甲烷}):V(\text{丙酮}):V(\text{乙腈})=40:60:20$)、二氯甲烷—丙酮—乙腈混合液 2($V(\text{二氯甲烷}):V(\text{丙酮}):V(\text{乙腈})=20:80:20$)、二氯甲烷—丙酮混合液($V(\text{二氯甲烷}):V(\text{丙酮})=60:40$)、二氯甲烷—乙腈混合液($V(\text{二氯甲烷}):V(\text{乙腈})=80:20$)、丙酮—乙腈混合液($V(\text{丙酮}):V(\text{乙腈})=40:60$)5 种不同溶剂作洗脱剂,对固相萃取小柱进行洗脱,流速 ≤ 1 mL/min,进行加标回收率试验,测定毒死蜥和 TCP 的回收率。试验重复 3 次。

1.2.5 液相色谱条件的优化 (1)流动相组成及梯度洗脱条件的优化。参考 Aqel 等^[8]的方法,分别用甲醇—超纯水(梯度洗脱)、乙腈—超纯水(梯度洗脱)、乙腈—超纯水($V(\text{乙腈}):V(\text{超纯水})=80:20$,等度洗脱)3 种体系作为流动相,测定毒死蜥和 TCP 的色谱图。

(2)流动相 pH 值的确定。分别用 pH 值为 2.5、3.0、3.5、4.0、4.5 的乙腈—超纯水体系作为流动相,进行梯度洗脱,测定毒死蜥和 TCP 的色谱图。方法同 1.2.5(1)。

(3)最佳检测波长的确立。用流动相乙腈—超纯水($V(\text{乙腈}):V(\text{超纯水})=60:40$)混合液分别稀释毒死蜥和 TCP 标准溶液,使其质量浓度均为 50 mg/L。用乙腈—超纯水混合液($V(\text{乙腈}):V(\text{超纯水})=60:40$)将 UV mini 1200 紫外分光光度计基线调零,在波长 210~500 nm 内分别对质量浓度均为 50 mg/L 毒死蜥和 TCP 溶液进行扫描,测定毒死蜥和 TCP 的吸光度。

1.2.6 毒死蜥和 TCP 线性方程的建立 在 1.2.5 中优化的色谱条件下,分别配置质量浓度为 0.3、0.5、1、4、10 mg/L 的毒死蜥和 TCP 标准溶液进行色谱分析,根据峰面积(y)和质量浓度(x)的关系拟合标准曲线。试验重复 3 次。

1.2.7 方法回收率及精密度的检测 为检验本研究建立的固相萃取—高效液相色谱方法的可靠性,向水样中分别添加质量浓度为 1、0.1、0.05、0.001 mg/L 的毒死蜥和 TCP 标准溶液,每个浓度做 3 个平行试验,按 1.2.3 中方法处理后测定回收率并计算标准偏差。

1.2.8 样品分析 采用本研究建立的方法,对 10 份不同来源水样的毒死蜥和 TCP 质量浓度进行测定。10 份水样中,2 份为纯净水(娃哈哈、康师傅),1 份为自来水(华南农业大学资源环境学院实验室),4 份为池塘水(华南农业大学校内),2 份为珠江水,1 份为田边水沟水(广州天河郊区)。试验重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 固相萃取条件的确定

2.1.1 水样 pH 值 水样 pH 对毒死蜥和 TCP 平均回收率的影响见表 1。表 1 显示,水样 pH 为 4.5 时,毒死蜥和 TCP 的平均回收率均较高,相对标准偏差均较低,故确定水样的最适 pH 值为 4.5。

2.1.2 洗脱剂 不同洗脱剂对毒死蜥和 TCP 平均回收率的影响如表 2 所示。从表 2 可知,当用二氯甲烷—丙酮—乙腈混合液 1($V(\text{二氯甲烷}):V(\text{丙酮}):V(\text{乙腈})=40:60:20$)作为洗脱剂时,毒死蜥和 TCP 的平均回收率均较高,相对标准偏差均较低,因此确定二氯甲烷—丙酮—乙腈混合液 1 为最适洗脱剂。

表 1 水样 pH 对毒死蜱和 TCP 平均回收率的影响 (n=3)

Table 1 Effect of different pH in water sample (n=3) on recoveries of chlorpyrifos and TCP						%
pH	添加浓度/(mg·L ⁻¹) Concentration fortification	毒死蜱 Chlorpyrifos		TCP		
		平均回收率 Average recovery	相对标准偏差 RSD	平均回收率 Average recovery	相对标准偏差 RSD	
3.5	0.1	71.2	9.3	65.3	7.5	
4.0	0.1	64.3	2.7	74.6	10.1	
4.5	0.1	70.1	0.7	101.4	2.7	
5.0	0.1	67.9	1.6	50.4	9.4	
6.5	0.1	72.8	3.2	47.3	4.3	

表 2 不同洗脱剂对毒死蜱和 TCP 平均回收率的影响

Table 2 Effect of different elution conditions on recoveries of chlorpyrifos and TCP					%
(fortified concentration is 0.1 mg/L) in water sample					
洗脱剂 Elution solvents	毒死蜱 Chlorpyrifos		TCP		
	平均回收率 Average recovery	相对标准偏差 RSD	平均回收率 Average recovery	相对标准偏差 RSD	
二氯甲烷—丙酮—乙腈混合液 1 Mixture 1 (dichloromethane-acetone-acetonitrile)	70.1	0.7	101.4	2.7	
二氯甲烷—丙酮—乙腈混合液 2 Mixture 2 (dichloromethane-acetone-acetonitrile)	62.5	1.2	82.5	3.4	
二氯甲烷—丙酮混合液 Mixture of dichloromethane-acetone	76.5	3.6	54.3	7.2	
二氯甲烷—乙腈混合液 Mixture of dichloromethane-eacetonitrile	61.3	2.5	70.6	0.9	
丙酮—乙腈混合液 Mixture of acetone-acetonitrile	54.7	4.3	81.2	1.4	

2.2 高效液相色谱法条件的确定

2.2.1 流动相组成及梯度洗脱条件的优化 TCP 极性相对较强,保留时间短,出峰很快。图 1 表明,3 种流动相的组成对毒死蜱和 TCP 的保留时间和峰形有较大影响,其中甲醇-超纯水(梯度洗脱)、乙腈-超纯水(梯度洗脱)作为流动相时均能对毒死蜱和 TCP 实现较好地分离,但乙腈-超纯水作为流动相时毒死蜱和 TCP 的峰形均尖锐,故选择乙腈-超纯水作流动相;采用乙腈-超纯水(V(乙腈):V(超纯

水)=80:20))做等度洗脱时,毒死蜱和 TCP 能分离,但 TCP 出峰时间过早,易受到杂质峰的干扰。因此本试验用乙腈-超纯水作为流动相,并进行梯度洗脱。经多次梯度洗脱条件优化试验,确定了本试验所采用的梯度洗脱条件,即乙腈-超纯水(梯度洗脱)作为流动相时,毒死蜱和 TCP 均可在 10 min 内得以分离,且未受到杂质干扰,峰形较好,此时柱温为 25 ℃,流速为 1 mL/min。

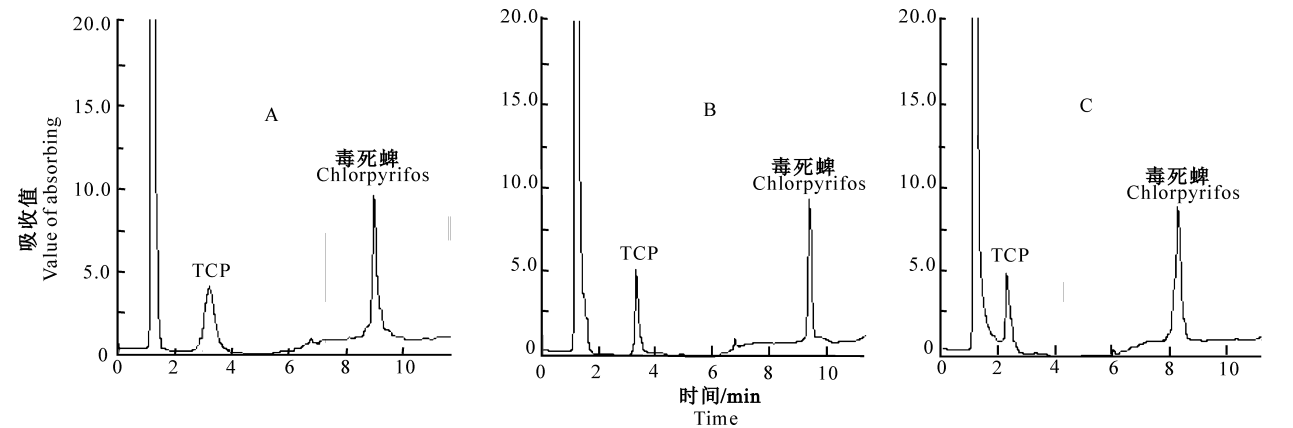


图 1 不同流动相条件下毒死蜱和 TCP 的色谱图

A. 甲醇-超纯水(梯度洗脱);B. 乙腈-超纯水(梯度洗脱);C. 乙腈-超纯水(V(乙腈):V(超纯水)=80:20),等度洗脱)

Fig. 1 Chromatogram of chlorpyrifos and TCP in different conditions of mobile phase

A. Methanol-water (gradient elution);B. Acetonitrile-water (gradient elution);

C. Acetonitrile-water (V(Acetonitrile):V(water)=80:20,isocratic elution)

2.2.2 流动相 pH 值的确定 图 2 表明,流动相的 pH 值对毒死蜱和 TCP 的保留时间和分离度均有一定影响,pH 为 3.5 时,两组分的分离度好,峰形尖锐;pH 值分别为 2.5 和 3.0 时,TCP 出峰时间过早,易产生杂质干扰;pH 分别为 4.0 和 4.5 时(因

pH 4.0 时毒死蜱和 TCP 的色谱图与 pH 4.5 时相似,故图 2 中仅列出了 pH 4.5 时毒死蜱和 TCP 的色谱图),TCP 有较明显的拖尾现象。故确定试验中流动相 pH 为 3.5。

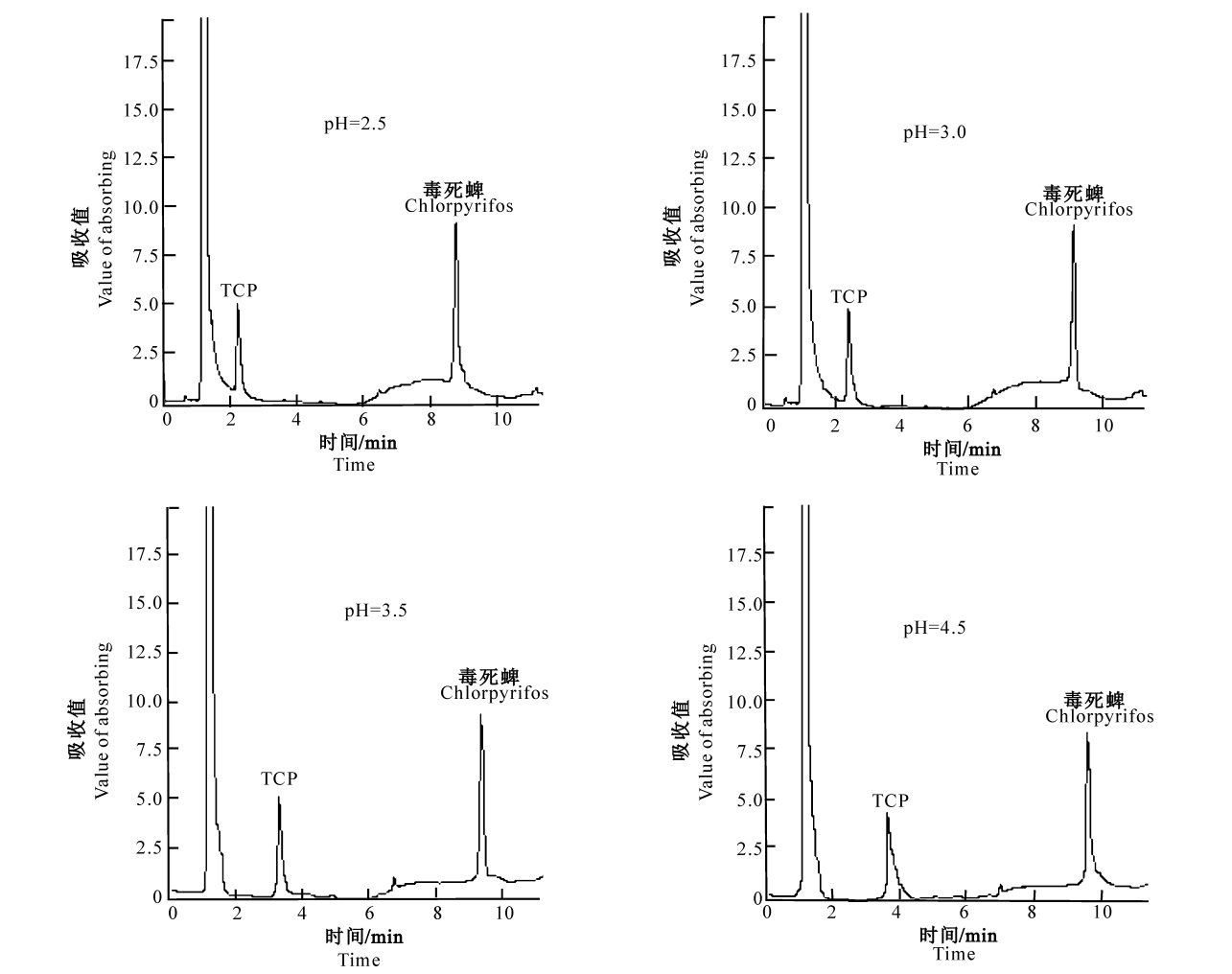


图 2 不同 pH 流动相条件下毒死蜱和 TCP 的色谱图

Fig. 2 Chromatogram of chlorpyrifos and TCP at mobile phase of different pH

2.2.3 最佳检测波长的确立 图 3 显示,毒死蜱在波长 229 和 288 nm 处均有较强吸收,TCP 在波长 230 和 296 nm 处均有较强吸收,但毒死蜱和 TCP 在波长 230 nm 左右均有较强的吸收。因此,选择 230 nm 作为最佳检测波长,以实现毒死蜱和 TCP 两种物质的同时测定。

2.3 线性方程与检出限

在优化的色谱条件下,根据峰面积(y)和质量浓度(x)的关系拟合标准曲线,得到毒死蜱及其代谢物 TCP 的回归方程分别为: $y=9.6852x+2.1118, R=0.9990$; $y=8.9538x-1.5644, R=0.9995$ 。线性

范围均为 0.30~10 mg/L,毒死蜱和 TCP 的检出限(信噪比(S/N)=3)分别为 0.15 mg/L 和 0.30 mg/L,水样中毒死蜱和 TCP 的最小检出质量浓度(LOQ)均为 0.001 mg/L。

2.4 方法回收率及精密度的检测结果

从表 3 可看出,毒死蜱和 TCP 的平均回收率分别为 70.1%~86.9%和 98.5%~116.6%,相对标准偏差均小于 13.0%。表明本研究建立的固相萃取—高效液相色谱法的回收率和精密度,完全可以满足水体中毒死蜱和 TCP 残留检测的要求。

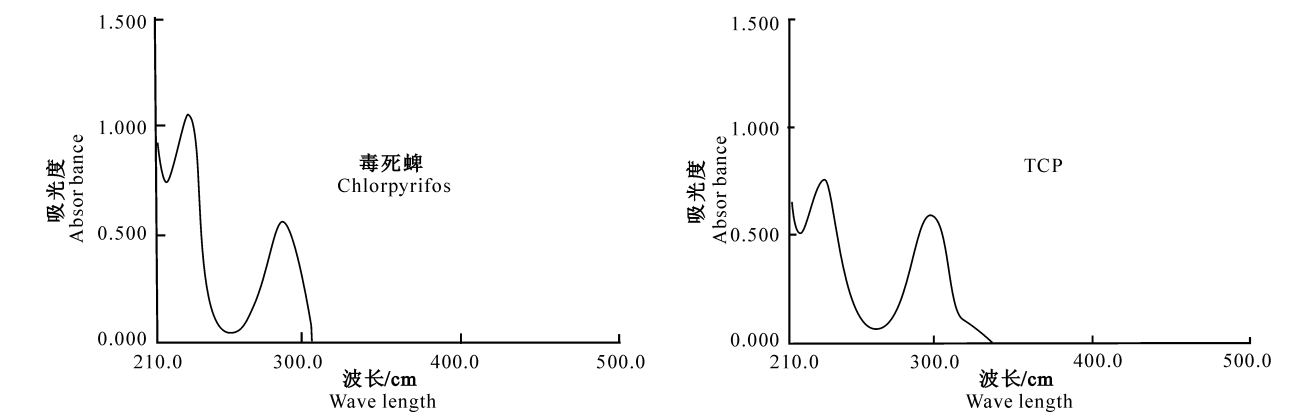


图 3 毒死蜱和 TCP 的紫外扫描示意图

Fig. 3 UV pictures of chlorpyrifos and TCP

表 3 毒死蜱和 TCP 在水样中的添加回收率($n=3$)

Table 3 Fortified recoveries of chlorpyrifos and TCP in water sample ($n=3$)

添加物质 Added chemicals	添加质量浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Fortified concentration	平均回收率/% Average recovery	相对标准偏差/% RSD
毒死蜱 Chlorpyrifos	1	86.9	8.1
	0.1	70.1	0.7
	0.05	81.7	2.3
	0.001	81.6	13.0
3,5,6-三氯吡啶-2-酚 TCP	1	98.5	7.8
	0.1	101.4	2.7
	0.05	116.6	4.6
	0.001	103.5	6.0

2.5 样品分析

采用建立的固相萃取—高效液相色谱法,对 10 份不同来源的随机水样进行测定,结果显示,仅有 1 份样品(田边水沟水)被检测出含有毒死蜱,其质量浓度为 4.3 mg/L。该检测结果表明,本方法可以满足对环境水样中的毒死蜱及代谢物 TCP 进行监控的要求。

3 讨 论

固相萃取技术因具有简化和缩短样品前处理过程、节省有机溶剂、提高分析效率和缩短分析时间、易于实现自动化操作等优点,在环境农药残留分析中受到人们的重视。

本研究结果表明,水体 pH 值、洗脱溶剂的组成对毒死蜱和 TCP 的净化及提取效果影响较大。另外,流动相的组成及其 pH 值对出峰时间、峰形也有较大影响。在本试验条件下,其最佳前处理和液相色谱条件为:ENVI⁺ 作为吸附剂,水体 pH 值 4.5,洗脱液(二氯甲烷—丙酮—乙腈混合液($V(\text{二氯甲烷}):V(\text{丙酮}):V(\text{乙腈})=40:60:20$))12 mL;流动相为乙腈—超纯水,流动相 pH 值 3.5,梯度洗脱。在此条件下,毒死蜱和 TCP 能完全分开,峰形

较好,无杂质干扰,毒死蜱和 TCP 的平均回收率均在 70%以上,所建方法具有检出限低、灵敏度高、准确度高和回收率高等优点,可用于环境水体中毒死蜱及其主要产物 TCP 残留的检测。

【参考文献】

[1] 刘乾开. 新编农药使用手册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1993:84-86.
Liu Q K. New munual of using pesticides [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press,1993:84-86. (in Chinese)

[2] 刘丰茂. 农药使用对地表水、地下水(饮用水)、雨水的污染监测研究[D]. 北京:中国农业大学,2000.
Liu F M. Survey of pollute on surface water, ground water (drinking water), rain water by use of pesticides [D]. Beijing: China Agricultural University,2002. (in Chinese)

[3] Coupe R H, Manning M A, Foreman W T, et al, Occurrence of pesticides in rain and air in urban and agricultural areas of Mississippi, April-September 1995[J]. Science of the Total Environment, 2000, 248(2-3): 227-240.

[4] Liu B, Mc Connell L L, Torrents A. Hydrolysis of chlorpyrifos in natural waters of the Chesapeake Bay[J]. Chemosphere, 2001, 44: 1315-1323.

[5] Singh B K, Walker A, Morgan J A W, et al. Biodegradation of chlorpyrifos by Enterobacter strain B-14 and its use in bioreme-

diation of contaminated soils[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(8): 4855-4863.

[6] Mancus J J, Montoya A. Development of immunoassays for the analysis of chlorpyrifos and its major metabolite 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinol in the aquatic environment [J]. Analytica Chimica Acta, 1995, 311(3): 341-348.

[7] Aql W A Q, Mohamed B A D. Development of a high-performance liquid chromatographic method for the quantification of chlorpyrifos, pyridostigmine bromide, N, N-diethyl-m-tolamide and their metabolites in rat plasma and urine[J]. Journal of Chromatography B, 2001, 754: 533-538.

[8] Aql W A Q, Mohamed B A D. Quantification of nicotine, chlorpyrifos and their metabolites in rat plasma and urine using high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography B, 2001, 757: 295-300.

[9] Guinivan R A, Thompson N P, Bardalaye P C. Simultaneous electron capture detection of chlorpyrifos and 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinol residues in Peach and Bahia grass field samples following gel permeation cleanup [J]. Journal of Association of Official Analytical Chemistry, 1982, 65: 210-214.

[10] Mourer C R, Hall G L, Whitehead W E, et al. Gas chromatographic method for determination of chlorpyrifos and its metabolite 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinol (TCP) in dates [J]. Journal of Association of Official Analytical Chemistry, 1990, 73(2): 294-297.

[11] Brzak K A, Harms D W, Bartels M J, et al. Determination of chlorpyrifos, chlorpyrifos oxon, and 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinol in rat and human blood [J]. Journal of Analytical Toxicology, 1998, 22(3): 203-210.

[12] Barteks M J, Kastl P E. Analysis of 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinol in human urine using negative-ion chemical ionization gas chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography Biomedical Applications, 1992, 575: 69-74.

[13] Racke K D. Environmental fate of chlorpyrifos [J]. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 1993, 131: 1-150.

(上接第 214 页)

[11] 肖学年, 崔灵周, 李占斌. 黄土高原小流域水沙关系空间变异研究[J]. 水土保持研究, 2004, 11(2): 140-142.

Xiao X N, Cui L Z, Li Z B. Study on spatial variation of the relationship between runoff and sediment of small watershed on Loess Plateau [J]. Research of Soil and Water Conservation, 2004, 11(2): 140-142. (in Chinese)

[12] 卢金发. 黄河中游流域地貌形态对流域产沙量的影响[J]. 地理研究, 2002, 21(2): 171-178.

Lu J F. Effect of basin morphology on sediment yield in the middle reaches of the Yellow River [J]. Geographical Research, 2002, 21(2): 171-178. (in Chinese)

[13] 李占斌, 符素华, 靳 顶. 流域降雨侵蚀产沙过程水沙传递关系研究[J]. 土壤侵蚀与水土保持学报, 1997, 3(4): 44-49.

Li Z B, Fu S H, Jin D. Study on transference relationship from runoff discharge to sediment discharge in rainfall erosion sediment yield processes of watershed [J]. Journal of Soil Erosion and Soil and Water Conservation, 1997, 3(4): 44-49. (in Chinese)

[14] 肖学年, 崔灵周, 王 春, 等. 模拟流域地貌发育过程的空间数据获取与分析[J]. 地理科学, 2004, 24(4): 439-443.

Xiao X N, Cui L Z, Wang C H, et al. Analysis of spatial data for simulating the development process of topographic feature of watershed [J]. Scientia Geographic Sinica, 2004, 24(4): 439-443. (in Chinese)

[15] 崔灵周, 肖学年, 李占斌. 基于 GIS 的流域地貌形态分形和维数测定方法研究[J]. 水土保持通报, 2004, 24(2): 38-40.

Cui L Z, Xiao X N, Li Z B. GIS-based approach for measuring the fractal box dimension of watershed topography [J]. Bulletin of Soil and Water Conservation, 24(2): 38-40. (in Chinese)

[16] 崔灵周, 李占斌, 肖学年. 岔巴沟流域地貌分形特征量化研究[J]. 水土保持学报, 2004, 18(2): 41-44.

Cui L Z, Li Z B, Xiao X N. Study on quantifying topographical fractal Character of Chabagou watershed [J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2004, 18(2): 41-44. (in Chinese)

[17] 朱永清, 李占斌, 崔灵周, 等. 基于 GIS 地貌形态分形信息维数与等高距关系研究[J]. 水土保持学报, 2005, 19(1): 105-113.

Zhu Y Q, Li Z B, Cui L Z, et al. Study on relationship between topography characteristics fractal Information dimension and contours line interval base on GIS [J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2005, 19(1): 105-113. (in Chinese)

[18] 朱永清, 李占斌, 鲁克新, 等. 地貌形态特征分形信息维数与像元尺度关系研究[J]. 水利学报 2005, 36(3): 333-338.

Zhu Y Q, Li Z B, Lu K X, et al. Relationship between fractal dimensions of watershed topography characteristics and grid cell size [J]. Journal of Hydraulic Engineering, 2005, 36(3): 333-338. (in Chinese)

[19] 李占斌, 鲁克新, 李 鹏, 等. 基于径流侵蚀功率的流域次暴雨产沙模型研究[C]// 第六届全国泥沙基本理论研究学术讨论会论文集. 郑州: 黄河水利出版社, 2005: 54-59.

Li Z B, Lu K X, Li P, et al. Study on the model of sediment yield under single rainstorm of watershed based on runoff erosion power [C]. Proceedings of the 6th national Symposium on Basic Sediments Theory. Zheng-zhou: Yellow River Conservancy Press, 2005: 54-59. (in Chinese)