

高效液相色谱检测呋虫胺在稻田水和土壤中的残留及消解动态

韦 婕, 邓 婕, 黄慧俐, 陈兆杰, 韦 婧, 谭辉华, 李雪生*

(广西大学 农药与环境毒理研究所, 南宁 530005)

摘 要:建立了高效液相色谱检测呋虫胺在稻田水和土壤中残留量的方法,并采用所建方法分析了广西、湖南和安徽3地稻田水和土壤中呋虫胺的消解动态。稻田水样经过滤后直接分析;土壤用乙腈-水提取,提取液经盐析检测,探索在不同色谱条件下呋虫胺的保留行为。结果表明:样品中目标峰的分离效果好,方法的最小检出量(LOD)为0.08 ng,最低检出浓度(LOQ)为0.05 mg/kg,平均回收率为74%~83%,相对标准偏差(RSD)为1.6%~5.9%;呋虫胺在稻田水中的消解动态符合一级动力学方程,消解较快,半衰期分别为20.5 d(广西)、4.5 d(湖南)和3.3 d(安徽);其在土壤中的原始沉积量未检出,未进行动力学方程拟合。

关键词:呋虫胺;稻田;高效液相色谱;残留;消解动态

中图分类号:O657.72;S481.8

文献标志码:A

文章编号:1008-7303(2015)02-0195-06

Residue and decline study of dinotefuran in paddy water and soil by high performance liquid chromatographic

Wei Jie, Deng Jie, Huang Huili, Chen Zhaojie, Wei Jing,
Tan Huihua, Li Xuesheng*

(Institute of Pesticide & Environmental Toxicology, Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: A method of residue detection of dinotefuran in paddy water and soil by high performance liquid chromatographic (HPLC) was established and applied in the analysis of samples from Guangxi, Hunan and Anhui. Paddy water was filtrated by double filters and soil samples were extracted with acetonitrile-water, and the retention of dinotefuran in different chromatographic conditions was studied. The results showed that the excellent separation was obtained and the limit of detection (LOD) was 0.08 ng and the limit of quantification (LOQ) was 0.05 mg/kg. The range of average recovery was 74% to 83% and the relative standard deviations (RSD) was 1.6% to 5.9%. The dissipation dynamics of dinotefuran in paddy water accorded with the first-order kinetics equation, the half-life was 20.5 d (Guangxi), 4.5 d (Hunan) and 3.3 d (Anhui). The original deposition was not detected in soil and the kinetic equation was not simulated.

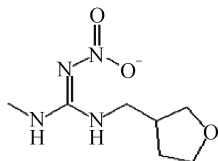
Keywords: dinotefuran; paddy field; high performance liquid chromatographic (HPLC); residue; dissipation dynamics

收稿日期:2014-09-19;录用日期:2014-12-23.

作者简介:韦婕,女,硕士研究生,E-mail:weijieweijieweijie@qq.com; *李雪生,通信作者(Author for correspondence),男,副教授,博士,主要研究方向为农药残留分析与环境毒理学,E-mail:lxsnngx@163.com

基金项目:广西大学科研基金项目(XBZ110383);广西特聘专家工程专项(2013B015).

呋虫胺(dinotefuran),化学名称为1-甲基-2-硝基-3-(四氢-3-呋喃甲基)胍,分子中不含卤素和芳环而以四氢呋喃基为取代基(结构式见 **Scheme 1**),是由日本三井化学公司研发的第三代烟碱类杀虫剂,具有杀虫谱广、内吸渗透作用强、杀虫活性高、持效期长、对动植物安全性高等特点,并能克服一二代烟碱类杀虫剂引起的抗性风险,应用前景广阔^[1-3]。该药于2013年在我国获准登记,可用于水稻田防治稻飞虱、水稻小绿叶蝉等害虫^[2]。



Scheme 1

目前,国内外已有关于呋虫胺在农产品及水稻田中的残留检测研究的报道^[3-10],如彭莎等采用高效液相色谱法检测了呋虫胺在水田环境中的残留,但水样的制备过程较为繁琐^[4]。虽然烟碱类杀虫剂的毒性较低,但随着在农业生产中的广泛使用,其在环境介质中的残留受到越来越多的重视^[11-12],已有关于吡虫啉、噻虫嗪等其他烟碱类杀虫剂在稻田水和土壤中的残留及消解动态方面的研究报道^[13-15],而呋虫胺在稻田生态环境中的消解动态研究尚未见报道。

本研究在文献[4]的基础上对稻田水和土壤样品的处理及色谱检测条件进行了优化,建立了科学、快速、简便的检测呋虫胺在稻田水和土壤中残留的高效液相色谱方法。同时,采用所建方法研究了呋虫胺在稻田水和土壤中的残留消解规律,以期为其在稻田环境中的残留及风险评估提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Waters e2695 高效液相色谱仪带紫外检测器和色谱工作站(美国 Waters 公司)。98.5% 呋虫胺(dinotefuran)标准品(德国 Dr. Ehrenstorfer 公司);25% 呋虫胺可分散油悬浮剂(江苏克胜集团股份有限公司);乙腈和氯化钠为分析纯,甲醇为色谱纯;精密试纸(pH 5.0~9.0)(上海三爱思试剂有限公司)。

1.2 检测方法的建立

1.2.1 样品制备 水样提取:准确量取10.0 mL 水样,经双层化学分析滤纸过滤后收集滤液,过0.22 μm 水膜,于进样小瓶中保存,待测。

土样提取:准确称取 10.0 g 匀质土样,加入 40 mL 乙腈振荡提取 40 min,于 4 500 r/min 下离心 6 min;取上清液倒入盛有 3~5 g 氯化钠的具塞量筒中,涡旋后静置分层,取 10.0 mL 于 50 ℃ 下旋蒸至近干;用甲醇定容至 2.5 mL,过 0.22 μm 有机滤膜,于进样小瓶中保存,待测。

1.2.2 色谱条件 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm,3.5 μm);流动相为 V(甲醇):V(0.01% 氨水)=15:85;流速 0.7 mL/min;检测波长 270 nm;柱温 30 ℃;进样量 5 μL。在此条件下,呋虫胺的保留时间约为 5.8 min。

1.2.3 标准溶液配制及标准曲线的绘制 准确称取 0.010 2 g 呋虫胺标准品于 10 mL 容量瓶中,用甲醇溶解、定容,配制成质量浓度为 1 000 mg/L 的母液,再逐级稀释成 0.05、0.2、0.5、2.0 和 5.0 mg/L 的标准工作液,按 1.2.2 节的条件测定,以峰面积(y)为纵坐标、质量浓度(x)为横坐标,绘制标准曲线。

1.2.4 添加回收试验 在空白田水和土壤中分别添加呋虫胺标准溶液,添加水平分别为 0.05、0.2 和 2 mg/L,每个水平重复 5 次,按所建方法进行提取和检测,计算添加回收率和相对标准偏差。

1.3 残留消解动态试验

供试药剂为 25% 呋虫胺可分散油悬浮剂。在稻田近旁另选一块与稻田种植环境一致的空白小区进行试验。小区面积为 20 m²,灌水深度 4~6 cm,按设计的剂量往返均匀施药。在小区边上插标杆,标记水面高度以保持田水水面高度。2013 年在广西采用推荐高剂量的 15 倍用药量(有效成分含量 1 687.5 g/hm²)施药;依据 NY/T 788—2004^[16],2014 年在广西、湖南和安徽 3 地按推荐高剂量的 1.5 倍(有效成分含量 168.8 g/hm²)施药。施药方式均为对水均匀喷雾 1 次,分别于施药后 2 h 和 1、3、7、14、21、30 及 45 d 采集田水和土壤样品。

水样的采集:用水杯随机选取 10 个以上采样点,总取样量不少于 10 L,混匀后取 500 mL 两份,分装入样品瓶中,备用。

土样的采集:随机选取 8 个以上采样点,用土钻取 0~10 cm 深的地表土,总采样量不少于 2 kg,混匀后取 200 g 两份,分装入自封袋中,备用。

2 结果与分析

2.1 高效液相色谱条件的建立

呋虫胺分子的功能基团为硝基亚氨基(C=N—

NO_2), 其中 $=\text{NNO}_2$ 有较强的水溶性且呈电负性^[17], 在建立高效液相色谱条件时, 发现其出峰较早, 易受杂质干扰。为使样品中呋虫胺与杂质完全分离, 本研究考察了不同的色谱柱(C_{18} 、 C_8)、流动相组合(甲醇-水、甲醇-0.1% 甲酸水溶液、甲醇-10 mmol/L 醋酸铵水溶液、甲醇-0.01% 氨水、甲醇-0.02% 氨水和甲醇-0.01% 三乙胺水溶液)及其不同配比。最终采用 C_8 柱, 以 $V(\text{甲醇}): V(0.01\% \text{ 氨水}) = 15:85$ 为流动相等度淋洗作为色谱检测条件。

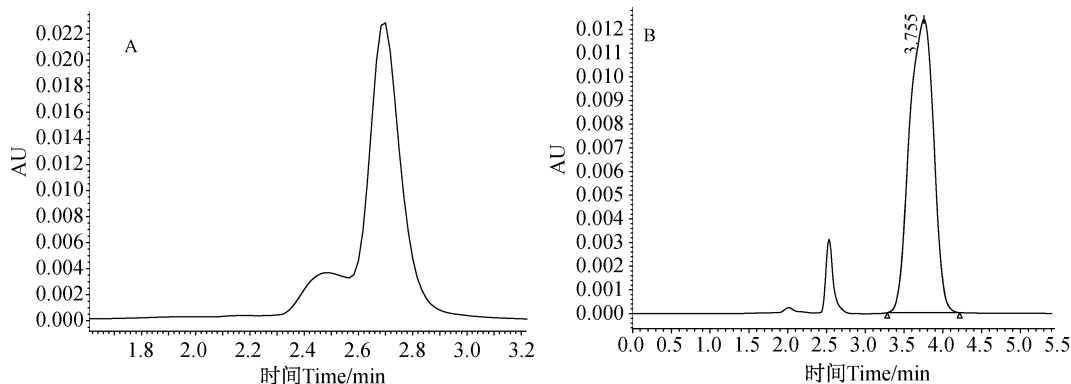


图1 呋虫胺在 C_{18} 色谱柱(A)和 C_8 色谱柱(B)上的谱图

Fig. 1 Chromatograms of dinotefuran in C_{18} (A) and C_8 (B)

2.1.2 流动相组合的优化 本研究最初采用甲醇-水体系作为流动相, 但发现目标峰形不对称、峰宽较大(见图1B)。其原因可能是固定相中残余的硅羟基对呋虫胺产生分配力, 使其保留特性改变而导致目标峰形不对称; 另外, 呋虫胺分子可解离, 偏碱性, 在甲醇-水中离子化, 致使出现不对称峰形^[4,18]。为减小硅羟基对呋虫胺分离的影响和抑制呋虫胺的解离, 笔者尝试向含水流动相中加碱或盐类物质以调整其 pH 值, 优化呋虫胺在 C_8 柱上的分离效力。

通过考察流动相 pH (水温 $27\text{ }^\circ\text{C}$) 在 5.5 (甲醇-10 mmol/L 醋酸铵水溶液)、6.0 (甲醇-30 mmol/L 醋酸铵水溶液)、6.5 (甲醇-0.01% 氨水)、7.5 (甲醇-0.02% 氨水)、8.5 (甲醇-0.01% 三乙胺水溶液) 5 种情况下呋虫胺的分离状况(图2), 并调整流动相的比例和流速以控制呋虫胺的保留时间。结果表明: 当流动相的 pH 值为 6.5 (甲醇-0.01% 氨水) 时, 呋虫胺表现出较好的分离效果, 因此采用 0.01% 氨水对流动相进行调节(图2C)。

2.2 样品前处理方法的优化

与彭莎等^[4]采用液-液萃取的方法制备水样相

2.1.1 色谱柱的选择 呋虫胺在水中的溶解度为 40 g/L , 仅次于甲醇(57 g/L)^[2], 属强水溶性农药。本研究在参考文献[5-10]的基础上, 在保持其他色谱条件不变的前提下, 比较了呋虫胺在 C_{18} 和 C_8 柱上的保留特性。结果表明: 呋虫胺在 C_{18} 柱上的出峰时间过早, 溶剂峰与目标峰未完全分开(分离度 R 为 0.75), 而在 C_8 柱上有较合适的保留, R 为 1.84 (图1), 因此, 选择 C_8 柱检测稻田水和土壤中呋虫胺的残留量。

比, 本研究采用水样经双层滤纸和水膜过滤后直接进样检测, 操作简便且提取效果较好。

2.3 方法的线性范围及检测限

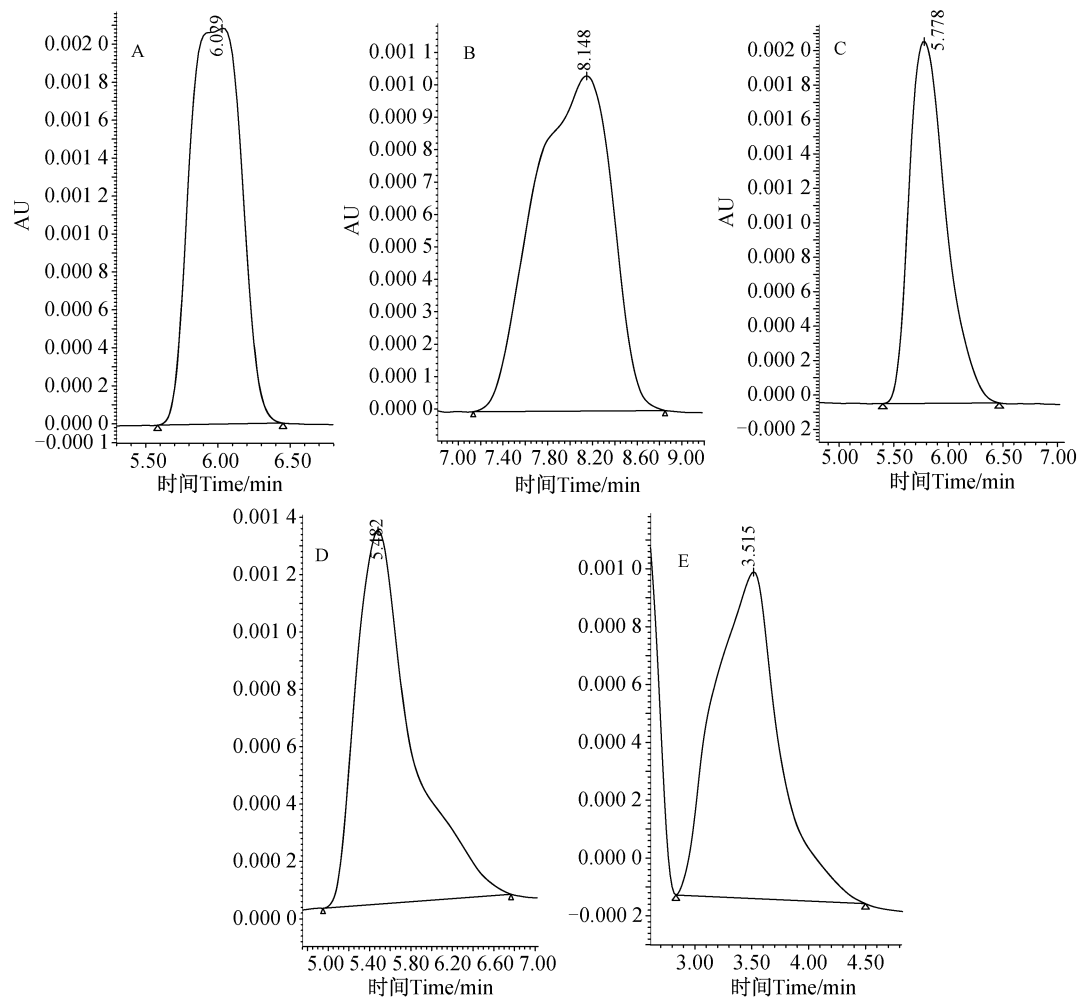
在 $0.05 \sim 5.0\text{ mg/L}$ 范围内, 呋虫胺的峰面积与其质量浓度间呈线性关系, 标准曲线方程为 $y = 43\ 636x + 210.15$, $R^2 = 0.999\ 9$ 。方法的最小检出量(LOD)为 0.08 ng , 最低检测浓度(LOQ)均为 0.05 mg/kg 。

2.4 方法的添加回收率及相对标准偏差

在 0.05 、 0.2 和 2 mg/L 添加水平下, 呋虫胺在田水和土壤中的平均回收率分别为 $74\% \sim 81\%$ 和 $80\% \sim 83\%$, 标准差(SD)分别为 $1.3 \sim 3.9\%$ 和 $4.2 \sim 4.8\%$, 相对标准偏差(RSD)分别为 $1.6\% \sim 5.2\%$ 和 $5.3\% \sim 5.9\%$ (表1)。

2.5 呋虫胺的田间消解动态

2.5.1 呋虫胺在稻田水中的消解动态 为增加稻田水及土中呋虫胺的原始沉积量, 2013 年在广西按推荐高剂量的 15 倍用药量施药。结果显示: 呋虫胺在稻田水中的原始沉积量为 0.907 mg/kg , 残留量变化趋势符合一级动力学方程 $c_t = c_0 e^{-kt}$, 半衰期为 40.1 d (表2, 图3A)。



A: pH = 5. 5; B: pH = 6. 0; C: pH = 6. 5; D: pH = 7. 5; E: pH = 8. 5.

图 2 流动相 pH 值对呋虫胺分离效果的影响

Fig. 2 Effect of pH value of mobile phase on separation result

表 1 呋虫胺在稻田水和土壤中的平均回收率及
相对标准偏差 (n = 5)

Table 1 Recoveries and RSDs in paddy water and soil
samples and precision of dinotefuran (n = 5)

样品 Samples	添加水平 Spiked level/(mg/L)	平均回收率 Average recovery/%	相对 标准偏差 RSD/%
稻田水 Paddy water	0.05	74 ± 3.9	5.2
	0.2	78 ± 1.4	1.8
	2	81 ± 1.3	1.6
稻田土壤 Paddy soil	0.05	80 ± 4.2	5.3
	0.2	80 ± 4.8	5.9
	2	83 ± 4.4	5.3

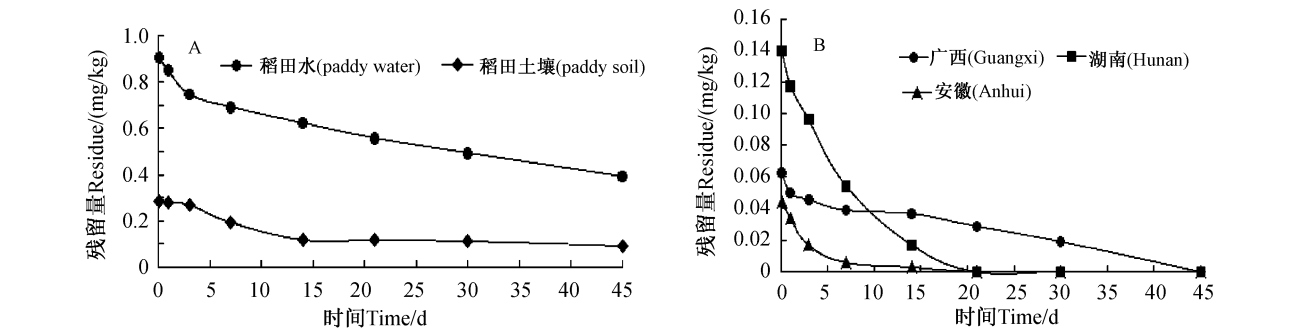
为使用药量更接近生产实际应用情况,依据 NY/T 788—2004^[16],于 2014 年将用药量调整为推荐高剂量的 1.5 倍,在广西、湖南和安徽 3 地进

行试验。结果(表 2,图 3B)表明:呋虫胺在 3 地稻田水中的原始沉积量分别为 0.063、0.140 和 0.044 mg/kg,并随时间延长,其在水中的残留量逐渐降低(图 3)。动力学方程拟合结果表明:呋虫胺在稻田水中的残留量变化趋势符合一级动力学特征,相关性较好,在广西、湖南和安徽的半衰期分别为 20.5、4.5 和 3.3 d,根据《化学农药环境安全评价试验准则》中所述农药水解特性等级划分^[19],呋虫胺的水解特性等级为一级,属于易降解农药($t_{1/2} < 30$ d)。

2.5.2 呋虫胺在稻田土壤中的消解动态 结果表明:按 15 倍用药量施药,2013 年广西呋虫胺在水稻土壤中的原始沉积量为 0.285 mg/kg,残留消解动态方程为 $c_t = 0.287 2e^{-0.028 8t}$,半衰期为 24.1 d(表 2,图 3A)。2014 年按 1.5 倍用药量在广西、湖南和安徽 3 地试验,因呋虫胺的水溶性较强,施药后主要

表 2 呋虫胺在稻田水与土壤中的消解动力学参数

样品名称 Samples	地点(年份) Experimental site (year)	消解动态方程 Dissipation dynamics equation	决定系数 R^2	半衰期 Half-life ($t_{1/2}$ /d)
稻田水 Paddy water	广西 Guangxi(2013)	$c_t = 0.8276e^{-0.0173t}$	0.9629	40.1
	广西 Guangxi(2014)	$c_t = 0.0545e^{-0.0338t}$	0.9059	20.5
	湖南 Hunan(2014)	$c_t = 0.1443e^{-0.1503t}$	0.9913	4.5
	安徽 Anhui(2014)	$c_t = 0.0364e^{-0.2074t}$	0.9169	3.3
稻田土壤 Paddy soil	广西 Guangxi(2013)	$c_t = 0.2872e^{-0.0288t}$	0.8976	24.1



A: 按推荐高剂量的 15 倍用药量;B:按推荐高剂量的 1.5 倍用药量。
A: According to the recommended high dosage of 15 times; B: According to the recommended high dosage of 1.5 times.

图 3 呋虫胺在稻田水和土壤中的消解动态

Fig.3 Decline curves of dinotefuran in paddy water and soil

分布在稻田水中,土壤中原始沉积量均低于 LOQ (未检出),因此未进行动力学方程拟合。

3 结论与讨论

呋虫胺在广西、湖南、安徽 3 地水稻田水中的消解动态符合一级动力学方程,半衰期分别为 20.5、4.5 和 3.3 d,说明实际生产中按照推荐剂量施药,呋虫胺在水中易降解;按推荐剂量在生产中使用后,呋虫胺主要分布在田水中,在土壤中的原始沉积量较低。建议进行室内模拟试验,进一步探明呋虫胺在水稻土壤中的残留归趋。

本研究建立的呋虫胺在稻田水和土壤中的残留检测方法是科学而简便的,准确度和精密密度均符合农药残留分析的要求。与现有文献^[4]的方法相比,田水样品的处理省去了液-液萃取等复杂过程,土壤经乙腈-水提取、盐析后浓缩直接进样测定,减少了呋虫胺在处理过程中的损失和有机溶剂的用量。通过优化色谱条件,呋虫胺的峰形和分离度较好,适用于日常工作中检测环境水样和土样中呋虫胺的残留量。

参考文献 (Reference) :

[1] 张亦冰. 新内吸杀虫剂——呋虫胺[J]. 世界农药, 2003, 25 (5): 46-47.
Zhang Yibing. The new systemic insecticides—dinotefuran [J]. World Pestic, 2003, 25(5): 46-47. (in Chinese)

[2] 戴炜镔, 蒋富国, 程志明. 第三代烟碱类杀虫剂呋虫胺的合成[J]. 现代农药, 2008, 7(6): 12-13.
Dai Weie, Jiang Fuguo, Cheng Zhiming. Synthesis methods of the third generation nicotinic insecticide—dinotefuran [J]. Modern Agrochem, 2008, 7(6): 12-13. (in Chinese)

[3] Pubchem, NCBI. Dinotefuran [EB/OL]. [2014-08-29]. http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.gi?cid=197701&doc=ec_rcs#x393

[4] 彭莎, 杨仁斌, 邹蓉, 等. 高效液相色谱测定水稻和稻田中呋虫胺残留分析法的建立[J]. 湖南农业科学, 2013(7): 79-81.
Peng Sha, Yang Renbin, Zou Rong, et al. Establishment of high performance liquid chromatography analytic method for determining dinotefuran residue in rice and paddy field [J]. Hunan Agric Sci, 2013(7): 79-81. (in Chinese)

[5] 李立, 付建, 初玉圣, 等. 食品中呋虫胺残留量的 HPLC-MS/MS 检测方法研究[J]. 食品科学, 2008, 29(11): 538-540.
Li Li, Fu Jian, Chu Yusheng, et al. Determination of dinotefuran residue in foods with HPLC-MS/MS [J]. Food Sci, 2008, 29(11): 538-540. (in Chinese)

- [6] 侯如燕, 卞红正, 赵秀霞, 等. 固相萃取-液相色谱测定复杂基质蔬菜中 9 种烟碱类残留[J]. 分析测试学报, 2011, 31(1): 58-63.
Hou Ruyan, Bian Hongzheng, Zhao Xiuxia, *et al.* Determination of nicotinoid residues in complicated matrix vegetables by solid phase extraction and HPLC method [J]. *J Instrum Anal*, 2011, 31(1): 58-63. (in Chinese)
- [7] 乙小娟, 朱加叶, 丁萍, 等. 高效液相色谱法快速测定大米中的 4 种烟碱农药残留量[J]. 食品科学, 2011, 32(6): 169-172.
Yi Xiaojuan, Zhu Jiaye, Ding Ping, *et al.* Determination of neonicotinoid residues in rice by HPLC [J]. *Food Sci*, 2011, 32(6): 169-172. (in Chinese)
- [8] 刘飞, 陈永煊, 游飞明, 等. UPLC-MS/MS 同时测定茶叶中 7 种烟碱类杀虫剂[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(4): 144-151.
Liu Fei, Chen Yongxuan, You Feiming, *et al.* Simultaneous determination of seven nicotinic insecticides in tea by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Res Development*, 2012, 33(4): 144-151. (in Chinese)
- [9] Wang P, Yang X, Wang J, *et al.* Multi-residue method for determination of seven neonicotinoid insecticides in grains using dispersive solid-phase extraction and dispersive liquid-liquid micro-extraction by high performance liquid chromatography [J]. *Food Chem*, 2012, 134(3): 1691-1698.
- [10] Rahmana M M, Park J H, Abd El-Aty A M, *et al.* Feasibility and application of an HPLC/UVD to determine dinotefuran and its shorter wavelength metabolites residues in melon with tandem mass confirmation [J]. *Food Chem*, 2013, 136(2): 1038-1046.
- [11] 张敏恒, 赵平, 严秋旭, 等. 新烟碱类杀虫剂市场与环境影响[J]. 农药, 2012, 51(12): 859-862.
Zhang Minheng, Zhao Ping, Yan Qiuxu, *et al.* The market and environmental impact of the neonicotinoid insecticides [J]. *Agrochemicals*, 2012, 51(12): 859-862. (in Chinese)
- [12] 黄庆, 欧晓明, 欧阳承虎, 等. 新烟碱类农药在环境介质中的残留检测方法研究概况[J]. 世界农药, 2013, 35(2): 37-42.
Huang Qing, Ou Xiaoming, Ouyang Chenghu, *et al.* Current development of residue detection and analysis of neonicotinoid pesticides in environmental media [J]. *World Pestic*, 2013, 35(2): 37-42. (in Chinese)
- [13] 吴声敢, 吴俐勤, 徐浩, 等. 吡虫啉在水稻及稻田环境中的残留动态研究[J]. 浙江农业学报, 2004, 16(5): 274-278.
Wu Shenggan, Wu Liqin, Xu Hao, *et al.* Study on residue of imidacloprid in rice and field environment [J]. *Zhejiang J Agric Sci*, 2004, 16(5): 274-278. (in Chinese)
- [14] 郑岚, 王梅, 段劲生, 等. 吡虫啉在稻田水环境中的残留动态[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(15): 8994.
Zheng Lan, Wang Mei, Duan Jinsheng, *et al.* Dynamics of imidacloprid residue in paddy-field water environment [J]. *Anhui Agric Sci*, 2011, 39(15): 8994. (in Chinese)
- [15] 孙伟, 冯敏. 固相萃取-高效液相色谱法测定环境水体中的噻虫嗪[J]. 安徽化工, 2012, 38(2): 61-62.
Sun Wei, Feng Min. Determination of thiamethoxam in ambient water by HPLC [J]. *Anhui Chem Ind*, 2012, 38(2): 61-62. (in Chinese)
- [16] NY/T 788—2004, 农药残留试验准则[S]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
NY/T 788-2004, Guideline on pesticide residue trials [S]. Beijing: China Agriculture Press, 2004. (in Chinese)
- [17] 梁德胜, 金淑惠, 段红霞. 新烟碱类杀虫剂的结构修饰及相关作用机制研究进展[J]. 农药学学报, 2009, 11(4): 407-413.
Liang Desheng, Jin Shuhui, Duan Hongxia. Advances in study of structural modification and modes of action of neonicotinoids [J]. *Chinese J Pestic Sci*, 2009, 11(4): 407-413. (in Chinese)
- [18] 卢坤. HPLC 法同时检测蜂蜜中 5 类抗生素残留的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2012.
Lu Kun. Studies on detecting five classes of antibiotic residues in honey simultaneously using HPLC [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2012. (in Chinese)
- [19] 李婷. 孜然杀菌剂的环境安全性评价[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2012.
Li Ting. Environmental safety evaluation of cumin fungicide [D]. Yangling, Shaanxi: North West Agriculture and Forestry University, 2012. (in Chinese)

(责任编辑: 曲来娥)