

QuEChERS-高效液相色谱法分析稻田水及土壤中 五氟磺草胺残留及其消解动态研究

李丛荻^{1,2}, 何裕建^{2,3*}, 袁龙飞^{1*}, 李莉¹, 许瑞翔¹, 李薇¹

(1. 中国科学院动物研究所农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100101;
2. 中国科学院大学化学与化工学院, 北京 101408; 3. 北京大学天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100191)

摘要: **目的** 建立稻田水及土壤中五氟磺草胺残留分析方法, 研究其消解动态和残留水平。**方法** 在安徽、黑龙江及河南三地进行农药残留田间试验。样品采用乙腈提取并净化浓缩, 再经 QuEChERS 前处理净化, Agilent HC-C₁₈ 色谱柱分离, 以乙腈-0.4%磷酸水为流动相进行梯度洗脱, 利用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)检测。**结果** 在 0.02~5 mg/kg 的添加水平下, 五氟磺草胺在稻田水中的平均回收率为 88.8%~95.2%, 相对标准偏差为 4.0%~7.3%, 最低检出浓度为 0.02 mg/kg; 在 0.02~2 mg/kg 的添加水平下, 五氟磺草胺在土壤中的平均回收率为 77.2%~90.0%, 相对标准偏差为 2.8%~7.5%, 最低检出浓度为 0.02 mg/kg。实验三地的消解动态均符合一级动力学方程, 五氟磺草胺在稻田水和土壤中的半衰期分别为 1.9~12 d 和 3.5~18 d; 8%五氟磺草胺油悬浮剂在三地水稻上以其推荐剂量的高值及其 1.5 倍剂量喷雾施药 1 次, 在水稻收获期采样时测得稻田土壤中的最终残留量平均值均低于 0.02 mg/kg。**结论** 由于气候、土壤类型等的不同, 五氟磺草胺在安徽及黑龙江的消解半衰期存在一定差异, 该研究为五氟磺草胺在水稻上的安全使用提供了科学依据。

关键词: 五氟磺草胺; 残留分析; 消解动态; 稻田水; 土壤

Residue analysis and degradation dynamics of penoxsulam in water and soil of rice field by QuEChERS-high performance liquid chromatography

LI Cong-Di^{1,2}, HE Yu-Jian^{2,3*}, YUAN Long-Fei^{1*}, LI Li¹, XU Rui-Xiang¹, LI Wei¹

(1. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; 2. School of Chemistry and Chemical Engineering, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 101408, China; 3. State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Peking University, Beijing 100191, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for penoxsulam residue analysis in water and soil of rice field, and

基金项目: 国家自然科学基金项目(31501667, 21272263)、国家重点研发计划子课题项目(2016YFD0201200, 2016YFD0201207)、北京大学天然药物及仿生药物国家重点实验室开放基金项目(K20140204)、中国科学院大学课题基金项目(O8JT011J01)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31501667, 21272263), the National Key Research and Development Program of China (2016YFD0201200, 2016YFD0201207), the State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs of Peking University (K20140204) and the University of Chinese Academy of Sciences Grant (O8JT011J01)

*通讯作者: 袁龙飞, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为农药残留分析与食品安全。E-mail: yuanlongfei@ioz.ac.cn

何裕建, 博士, 教授, 主要研究方向为有机与生物分析化学。E-mail: heyujian@ucas.ac.cn

*Corresponding author: YUAN Long-Fei, Ph.D, Assistant Professor, State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China. E-mail: yuanlongfei@ioz.ac.cn

HE Yu-Jian, Ph.D, Professor, School of Chemistry and Chemical Engineering, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 101408, China. E-mail: heyujian@ucas.ac.cn

study the degradation dynamics and residue level. **Methods** Residual trials of penoxsulam were carried out in Anhui, Heilongjiang and Henan Provinces. After extraction with acetonitrile and purification enrichment, the extract was purified by QuEChERS method, separated by an Agilent HC-C₁₈ column using acetonitrile and 0.4% phosphoric acid water as mobile phase for gradient elution, and then detected by high performance liquid chromatography (HPLC). **Results** The average recoveries of penoxsulam in field water were 88.8%~95.2% spiked at the levels of 0.02~5 mg/kg with RSDs of 4.0%~7.3%, and the limit of quantitation(LOQ)was 0.02mg/kg. At the levels of 0.02~2 mg/kg, average recoveries of penoxsulam in soil were 77.2%~90.0% with RSDs of 2.8%~7.5% and LOQ of 0.02 mg/kg. Degradation dynamic equations all fitted the first order reaction dynamic equations with half-lives of 1.9~12 d for field water and 3.5~18 d for soil. Final residues average values obtained in harvest time in rice filed soil were below 0.02 mg/kg after spray pesticide with 1 and 1.5 times of recommended dose of 8%penoxsulamoil suspension for 1 time. **Conclusions** The degradation dynamics of penoxsulam in water and soil of rice field in Anhui and Heilongjiang provinces were different due to different climates and soil types, which can provide scientific basis for safe use of penoxsulam in rice.

KEY WORDS: penoxsulam; residue analysis; dissipation dynamics; field water; soil

1 引言

五氟磺草胺, 英文通用名为 penoxsulam, 化学名称为 2-(2,2-二氟乙氧基)-N-(5,8-二甲氧基[1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-2-基)-6-(三氟甲基)-苯磺酰胺, 属于三唑并嘧啶磺酰胺类除草剂^[1,2]。其作用方式为苗后除草, 可有效防除众多阔叶杂草、异型莎草以及一些水生杂草等^[3,4]。由于五氟磺草胺具有除草高效、对水稻生长无不良影响等优点, 已成为了目前水稻田常用的除草剂^[5,6]。

农产品中农药残留分析的相关研究得到了人们的普遍关注^[7,8], 国内外也已有五氟磺草胺农药残留分析方法的相关报道^[9-13]。Tsochatzis 等^[10]使用乙腈及活性氧化铝提取土壤中五氟磺草胺并利用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)检测。Kaur 等^[13]比较了基质分散固相萃取(matrix solid-phase dispersion, MSPD)和液液萃取(liquid-liquid extraction, LLE)提取五氟磺草胺并利用 HPLC 检测, 获得了良好的结果。郝瑞辰等^[14]建立了稻田土壤中五氟磺草胺的固相萃取-HPLC 分析方法, 该方法的最低检出浓度为 0.1 mg/kg。本研究建立了基于 QuEChERS 前处理结合 HPLC 检测五氟磺草胺的分析方法, 并将其应用于稻田水及土壤的消解动态和残留水平的研究。

2 材料与与方法

2.1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(配有紫外检测器, 美国安捷伦科技有限公司); KQ-600 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); EYELA OSB-2000 旋转蒸发器(日本东京理化器械株式会社); Thermo Scientific Heraeus Pico17 微

量台式离心机(美国赛默飞世尔科技公司); OHAUS 电子天平(美国奥豪斯仪器有限公司); Sartorius MA150 水分测定仪: MA150 型(德国赛多利斯集团)。

五氟磺草胺标准品(纯度 96.9%, 美国 SigmaAldrich 公司); 乙腈 (HPLC 级, 美国 SigmaAldrich 公司); PSA(BondesilPSA40 μ m, 美国安捷伦科技有限公司); 乙腈、甲苯、磷酸、氯化钠、甲酸(均为分析纯, 北京化工厂)。

试验农药: 8%五氟磺草胺油悬浮剂(联保作物科技有限公司)。

2.2 田间试验

2.2.1 试验地点

试验地点分别为安徽省、黑龙江省以及河南省。按农药残留试验准则要求设试验小区, 小区面积 30m², 重复 3 次, 随机排列, 小区间设保护带。另设对照小区。

2.2.2 消解动态

选一块 30 m²的地块, 单独施药, 施药浓度为制剂量 1.25 mL/m² (999.6 g a.i./hm²)。施药前灌水淹没土壤表层, 试验过程中始终保持土壤的淹没状态及表层田水与施药时高度一致(4~6cm)。喷雾施药后 2 h、1、3、5、7、10、14、21、30、45 和 60 d 采样, 另设清水空白对照。采样时, 应先采集田水后采集土壤。

在稻田水样本的采集时, 每次采样前应观察水位, 若水深不足应补足并待地面上的水混合均衡后取样。随机取点 10 个, 共采集 2 kg 水样, 倒入盆中混合均匀后, 缩分为 500 kg 2 份, 装入塑料瓶中, 加盖密封, 贴好标签, 贮存于 -20℃冰柜中保存。剩余水样倒回试验小区中。稻田水样本保持冷冻状态直到分析测试时解冻。

随机取点 5~10 个, 用土钻采集 0~10 cm 的土壤 1~2 kg, 除去土壤中的碎石、杂草和植物根茎等杂物, 混匀后

采用四分法留样 500 g, 装入样本容器中, 贴好标签, 贮存于-20℃冰柜中保存。

2.2.3 最终残留

共设置低剂量和高剂量 2 个施药剂量; 低剂量为制剂量 375 mL/hm²(30 g a.i./hm²), 高剂量为制剂量 562.5 mL/hm²(45 g a.i./hm²)施药。于水稻插秧 7 d 后施药 1 次, 每个处理设 3 次重复, 小区面积 30 m², 水稻成熟时采样。另设清水空白对照, 处理间设保护带。

采样方法与消解动态中采样方法相同。

2.3 实验方法

2.3.1 样品前处理

量取 10 g 稻田水, 准确加入 20 mL 乙腈, 摇匀, 超声 15 min, 再加入 6 g 氯化钠, 剧烈振荡 1 min, 以 3000 r/min 离心 5 min, 移取 10 mL 上层乙腈相到 100 mL 茄形瓶中, 35℃旋蒸至近干, 放置干后用 2 mL 乙腈定容, 取 1.5 mL 到预先称入 50 mgPSA 的 2 mL 离心管中, 涡旋 1 min, 10000 r/min 离心 1 min, 经 0.22 μm 滤膜过滤后待测。

称取土壤样品 10 g, 加入 5 mL 水及 20 mL 乙腈, 摇匀, 超声 15 min, 再加入 6 g 氯化钠, 剧烈振荡 1 min, 3000 r/min 离心 5 min, 移取 10 mL 上层乙腈相到 100 mL 茄形瓶中, 35℃旋蒸至近干, 放置干后用 2 mL 乙腈定容, 取 1.5 mL 到预先称入 50 mgPSA 的 2 mL 离心管中, 涡旋 1 min, 10000 r/min 离心 1 min, 经 0.22 μm 滤膜过滤后待测。

2.3.2 色谱条件

色谱柱: Agilent HC-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温: 30℃; 流速: 1 mL/min; 运行时间: 20 min; 进样量: 20 μL; 检测波长: 285 nm; 流动相: A 为色谱纯乙腈, B 为 0.4%磷酸水; 梯度洗脱条件如表 1 所示。在此条件下, 五氟磺草胺的保留时间为 6.5 min 左右。

表 1 梯度洗脱条件
Table 1 Gradient elution conditions

时间(min)	流速(mL/min)	乙腈(%)	0.4%磷酸水(%)
0	1	55	45
7	1	90	10
8	1	90	10
13	1	55	45

2.3.3 标准溶液配制

用乙腈溶解五氟磺草胺标准品, 制备浓度约为 200 mg/kg 标准储备液, 用流动相逐级稀释成浓度为 5、2、1、0.5、0.2、0.1、0.05 mg/L 系列标准溶液, 在上述液相色谱条件下进行测定。以五氟磺草胺标准溶液浓度(X)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线。

2.3.4 回收率测定

分别在稻田水和土壤空白样品中添加不同浓度的五氟磺草胺标准溶液, 使得其在稻田水中的添加水平为

0.02、0.2 和 5 mg/kg, 在土壤中的添加水平为 0.02、0.2 和 2mg/kg。将上述试验样品提取后进行进样测定, 在每个水平重复测定 5 次并计算添加回收率及相对标准偏差。

2.3.5 计算公式

五氟磺草胺的残留消解动态反应动力学方程按照式(1)进行计算, 降解半衰期则按照公式(2)进行计算。

$$C_t = C_0 e^{-KT} \quad (1)$$

$$T_{1/2} = \ln 2 / K \quad (2)$$

式(1)C_t为五氟磺草胺在时间 T 时的残留浓度, C₀为五氟磺草胺的初始浓度, T 为施药及采集样品之间的时间间隔; K 为降解速率常数; 式(2)中 T_{1/2}为五氟磺草胺的降解半衰期^[16]。

3 结果与讨论

3.1 线性范围、回收率及定量限

在 0.05~5 mg/L 浓度范围内, 标准曲线峰面积(Y)与五氟磺草胺浓度(X)具有很好的线性关系, 方程为 Y=21.13X-0.0046, 相关系数为 r=0.995。上述结果表明, 该方法具有良好的准确度和精密度, 在不同基质中的添加回收样品典型色谱图如图 1 所示, 平均添加回收率及相对标准偏差结果见表 2。

表 2 五氟磺草胺在稻田水和土壤中的添加回收率(n=5)
Table 2 Recoveries of penoxsulam added in field water and soil matrix (n=5)

样品基质	添加浓度(mg/kg)	平均回收率(%)	相对标准偏差(%)
稻田水	0.02	95.2	7.3
	0.2	88.8	4.0
	5	94.2	4.9
土壤	0.02	86.8	2.8
	0.2	90.0	7.5
	2	77.2	4.5

根据添加回收试验, 在上述实验条件下, 五氟磺草胺最低检出量为 1.0 ng。最低检测浓度(limit of quantification, LOQ)指的是试验方法能检测出的待测物在样品中的最低含量(以 mg/kg 表示)^[15]。由于在逐渐减小添加浓度的条件下, 本方法所能检出的五氟磺草胺在稻田水及土壤中的最低含量均为 0.02 mg/kg, 故依照上述定义, 本方法定量限为添加回收最低浓度 0.02 mg/kg。

3.2 五氟磺草胺在稻田水和土壤中的消解动态

五氟磺草胺在稻田水和土壤中的消解动态见表 3, 如表 3 所示, 2012 年五氟磺草胺在安徽和黑龙江稻田水中消

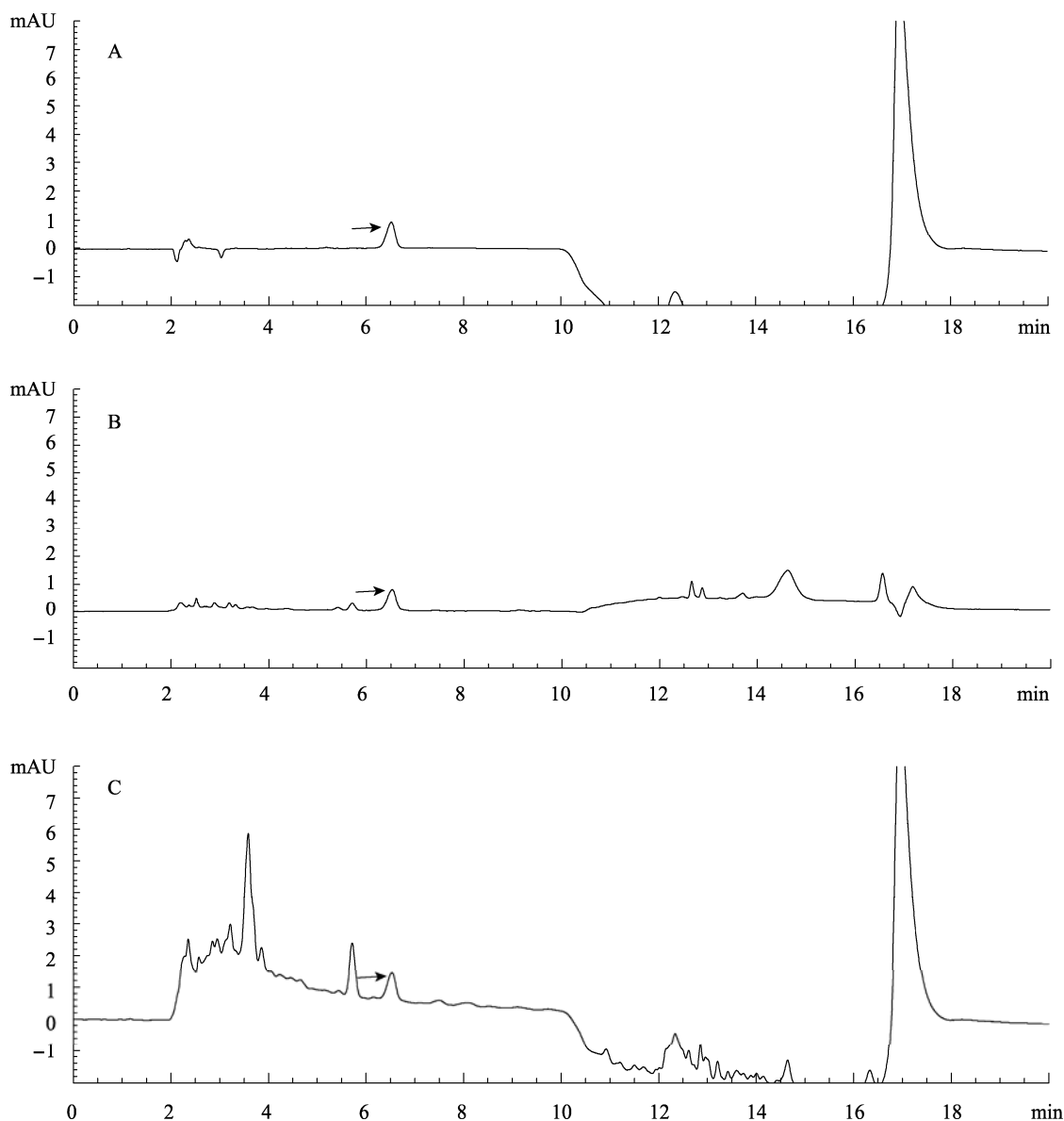


图 1 五氟磺草胺及其加标样品的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of penoxsulam and samples added penoxsulam

(A) 五氟磺草胺标准品 0.5 mg/L; (B) 稻田水添加五氟磺草胺 0.2 mg/kg; (C) 土壤添加五氟磺草胺 0.2 mg/kg

(A) 0.5 mg/L penoxsulam standard; (B) field water matrix added 0.2 mg/kg penoxsulam; (C) soil matrix added 0.2 mg/kg penoxsulam

解半衰期分别为 4.1 d 和 5.8 d; 2013 年五氟磺草胺在安徽和黑龙江稻田水中半衰期分别为 12 d 和 1.9 d, 消解动态均符合一级动力学方程。2012 年五氟磺草胺在安徽和黑龙江稻田土壤中半衰期分别为 10 d 和 3.5 d, 消解动态均符合一级动力学方程; 2013 年五氟磺草胺在安徽和黑龙江稻田土壤中半衰期分别为 18 d 和 4.6 d, 黑龙江稻田土壤中残留量数据点较少, 消解动态仅供参考。

由于安徽属暖温带半湿润季风气候, 试验地土壤类型为沙质潮土, pH 值为 7.1; 而黑龙江属北温带季风性气

候, 试验地土壤为粘土, pH 值为 5.66~6.25。由于两地间气候、土壤类型等自然条件的差异, 五氟磺草胺在安徽和黑龙江两地的消解半衰期存在一定差异。

3.3 五氟磺草胺在稻田土壤中的最终残留

2012~2013 年 8% 五氟磺草胺油悬浮剂在安徽、黑龙江和河南三地水稻上以其推荐剂量的高值 375 mL/hm² (30 g a.i./hm²) 及其 1.5 倍剂量 562.5 mL/hm² (45 g a.i./hm²) 喷雾, 施药次数 1 次。在水稻收获期采样时测得稻田土壤中的五氟磺草胺最终残留量平均值均低于 0.02 mg/kg。

表 3 五氟磺草胺在稻田水和土壤中的消解动态
Table 3 Dissipation in penoxsulam in field water and soil

试验年份	样品基质	试验地点	消解方程	相关系数	半衰期(d)
2012	稻田水	安徽	$C=1.2e^{-0.17T}$	0.8233	4.1
		黑龙江	$C=3.4e^{-0.12T}$	0.9517	5.8
	土壤	安徽	$C=0.33e^{-0.069T}$	0.8859	10
		黑龙江	$C=1.1e^{-0.20T}$	0.9668	3.5
2013	稻田水	安徽	$C=0.77e^{-0.058T}$	0.9835	12
		黑龙江	$C=3.1e^{-0.36T}$	0.9604	1.9
	土壤	安徽	$C=0.14e^{-0.038T}$	0.8868	18
		黑龙江	$C=1.4e^{-0.15T}$	0.8108	4.6

4 结 论

本研究建立了基于 QuEChERS-HPLC 检测稻田水及土壤中五氟磺草胺残留分析的方法。本方法在稻田水和土壤中的最低检测浓度为 0.02 mg/kg。本实验研究了五氟磺草胺通过施药喷雾的方法在稻田水和土壤中的消解动态及最终残留。结果表明, 由于气候、土壤类型等的不同, 五氟磺草胺在安徽及黑龙江两地的消解半衰期存在一定差异; 在三地水稻收获期采样时测得稻田土壤中的最终残留量平均值均低于 0.02 mg/kg。相较其他处理方法, 本方法更为快速、简便, 且具有良好的准确度和精密度, 可满足我国农药残留试验准则相关要求, 可作为相关农药企业及质量检测机构农药质量检测分析的参考方法。本研究可为五氟磺草胺在水稻上的安全使用提供科学依据。

参考文献

- [1] 敦亚楠. 吡嘧磺隆和五氟磺草胺在水稻样品中的贮存稳定性研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2015.
Dun YN. Pyrazosulfuron and penoxsulam study on storage stability in rice samples[D]. Changchun: Jilin Agriculture University, 2015.
- [2] Cachada A, Marques C, Pereira R, *et al.* Development and application of an off-line spe-ic-uv methodology for the determination of penoxsulam in aquatic systems adjacent to rice fields[J]. *Chromatographia*, 2010, 71(3): 347-350.
- [3] 姜宜飞, 李友顺, 王胜翔. 五氟磺草胺 22%悬浮剂高效液相色谱分析方法研究[J]. *农药科学与管理*, 2013, 34(7):40-42.
Jiang YF, Li YS, Wang SX. Analytical method of penoxsulam 22% SC by HPLC[J]. *Pest Sci Admin*, 2013, 34(7):40-42.
- [4] 顾林玲. 三唑并嘧啶磺酰胺类除草剂-五氟磺草胺[J]. *现代农药*, 2015, 14(2):46-51.
Gu LL. Penoxsulam, a triazolopyrimidine sulfonamide herbicide[J]. *Mod Agrochem*, 2015, 14(2):46-51.
- [5] 刘亚娟, 侯志广, 梁爽, 等. 22%吡嘧磺隆·五氟磺草胺 SC 在水稻土壤及稻田水中的残留分析方法[J]. *农药*, 2016, 55(4):284-286.
Liu YJ, Hou ZG, Liang S, *et al.* Residue analysis of bensulfuron-methyl and penoxsulam 22% SC in rice soil and field water[J]. *Pesticides*, 2016, 55(4):284-286.
- [6] Patetsini E, Dimitriadis VK, Kaloyianni M. Biomarkers in marine mussels, *mytilus galloprovincialis*, exposed to environmentally relevant levels of the pesticides, chlorpyrifos and penoxsulam[J]. *Aquat Toxicol*, 2012, 126(8):338-345.
- [7] 何浩. 气相色谱法快速测定食品中多种有机氯、拟除虫菊酯、有机磷农药残留量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(3):1063-1068.
He H. Rapid determination of organochlorine, pyrethroid and organophosphorus pesticide residues in food by gas chromatography[J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(3):1063-1068.
- [8] 赵云峰, 陈达炜. 食品中农药、兽药残留检测研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(5):1644-1645.
Zhao YF, Chen DW. Advances of detection technology of pesticide residues and veterinary drug residues in food [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(5):1644-1645.
- [9] Jardim AN, Mello DC, Goes FC, *et al.* Pesticide residues in cashew apple, guava, kaki and peach: GC- μ ECD, GC-FPD and LC-MS/MS multiresidue method validation, analysis and cumulative acute risk assessment[J]. *Food Chem*, 2014, 164:195-204.
- [10] Tsochatzis ED, Menkissoglu-Spiroudi U, Karpouzias DG, *et al.* A multi-residue method for pesticide residue analysis in rice grains using matrix solid-phase dispersion extraction and high-performance liquid chromatography-diode array detection[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 397(6): 2181-2190.
- [11] Renew JE, Huang CH. Simultaneous determination of fluoroquinolone, sulfonamide, and trimethoprim antibiotics in wastewater using tandem solid phase extraction and liquid chromatography-electrospray mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1042(12): 113-121.
- [12] 遇璐, 孙克, 张敏恒. 五氟磺草胺分析方法述评[J]. *农药*, 2013, 52(9):698-700.
Yu L, Sun K, Zhang MH. A review of analysis methods of penoxsulam[J]. *Pesticides*, 2013, 52(9):698-700.

- [13] Kaur P, Kaur K, Bhullar MS. Quantification of penoxsulam in soil and rice samples by matrix solid phase extraction and liquid-liquid extraction followed by HPLC-UV method[J]. *Environ Monit Assess*, 2014, 186(11):7555–7563.
- [14] 郝瑞辰, 梁兵兵, 姚远, 等. 固相萃取-高效液相色谱检测稻田土壤中五氟磺草胺的残留[J]. *农药*, 2014, 52(12):906–908.
Hao RC, Liang BB, Yao Y, *et al.* Determination of penoxsulam residues in rice field soil by SPE-HPLC[J]. *Pesticides*, 2014, 52(12):906–908.
- [15] 中华人民共和国农业部. NY/T 788-2004 农药残留试验准则[S]. Ministry of Agriculture of the PRC. NY/T 788-2004 Guideline on pesticide residue trials[S].
- [16] 袁龙飞, 李薇, 李莉, 等. 螺螨酯在苹果和土壤中的残留分析及消解动态研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(9):3449–3454.
Yuan LF, Li W, Li L, *et al.* Degradation dynamics and residues analysis of spiroticlofen in apple and soil[J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(9): 3449–3454.

(责任编辑: 姚 菲)

作者简介



李丛荻, 硕士, 主要研究方向为农药残留分析与食品安全。

E-mail: libralicongdi@163.com



袁龙飞, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为农药残留分析与食品安全。

E-mail: yuanlongfei@ioz.ac.cn



何裕建, 博士, 教授, 主要研究方向为有机与生物分析化学。

E-mail: heyujian@ucas.ac.cn