

## 吡草醚在棉花及土壤中的残留分析方法研究

朱玉杰<sup>1</sup>, 施艳红<sup>2</sup>, 操海群<sup>1\*</sup>, 花日茂<sup>2</sup>, 李学德<sup>2</sup>, 吴祥为<sup>2</sup>, 唐俊<sup>2</sup>

(1. 安徽农业大学植物保护学院, 安徽省农产品安全重点实验室, 合肥 230036;

2. 安徽农业大学资源与环境学院, 安徽省农产品安全重点实验室, 合肥 230036)

**摘要:** 研究建立了吡草醚在棉花及土壤中的残留分析方法。棉叶和棉籽样品以乙腈提取, GCB/PSA 固相萃取小柱净化, 高效液相色谱测定。土壤样品以丙酮提取, C<sub>18</sub> 小柱净化。吡草醚在棉叶、棉籽和土壤中的最低检测浓度均为 0.02 mg·kg<sup>-1</sup>。吡草醚在棉叶、棉籽和土壤中的平均添加回收率(添加浓度为 0.02~1 mg·kg<sup>-1</sup>)分别为 93.94%~101.65%、84.88%~98.62% 和 85.49%~90.71%, 变异系数分别为 3.96%~8.06%、7.59%~10.37% 和 5.59%~8.69%。方法的准确性、精确性和灵敏度均达到农药残留分析的要求。

**关键词:** 吡草醚; 棉花; 土壤; 残留分析; 高效液相色谱

中图分类号: X592

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2014)06-1041-05

### An analytical method for determination of pyraflufen-ethyl residues in the cotton plant and soil

ZHU Yujie<sup>1</sup>, SHI Yanhong<sup>2</sup>, CAO Haiqun<sup>1</sup>, HUA Rimao<sup>2</sup>, LI Xuede<sup>2</sup>, WU Xiangwei<sup>2</sup>, TANG Jun<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory of Agri-Food Safety of Anhui Province, School of Plant Protection, Anhui Agricultural University, Hefei, 230036;

2. Key Laboratory of Agri-Food Safety of Anhui Province, School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei, 230036)

**Abstract:** High performance liquid chromatography (HPLC) was used to analyze pyraflufen-ethyl residues in the cotton plant and soil. Pyraflufen-ethyl residues were extracted from leaves and cottonseeds with acetonitrile and purified using GCB/PSA SPE microcolumn. The residues were determined using HPLC equipped by PDA. Pyraflufen-ethyl residues in the soil were extracted with acetone and purified using C<sub>18</sub> SPE microcolumn. The minimum detectable concentration of pyraflufen-ethyl in the cotton leaf, cottonseed, and the soil was 0.02 mg·kg<sup>-1</sup>. The average recoveries of pyraflufen-ethyl in the cotton leaf, cottonseed, and the soil were 93.94%-101.65%, 84.88%-98.62%, and 85.49%-90.71%, respectively, and their variation coefficients were 3.96%-8.06%, 7.59%-10.37% and 5.59%-8.69%, respectively. The results showed that this method met all criteria for the pesticide residue analysis.

**Key words:** pyraflufen-ethyl; cotton; soil; residue analysis; HPLC

在棉花的种植生产中, 为了确保产量, 化学农药被施用于棉田, 给环境、施药人员以及后期的农副产品带来潜在危害<sup>[1-5]</sup>。近年来, 国内外已有较多关于棉花的农药残留研究<sup>[6-10]</sup>。吡草醚(pyraflufen-ethyl), 商品名速草灵、霸草灵, 是日本农药株式会社研制开发的新型高效 3-苯基吡唑类除草剂。化学名称为 2-氯-5-(4-氯-二氟甲氧基-1-甲基吡唑-3-基)-4-氟苯氧基乙酸乙酯。吡草醚常用于禾谷类作物防除阔叶杂草<sup>[11-13]</sup>, 亦可用作马铃薯脱叶干燥剂<sup>[14]</sup>

和棉花脱叶剂<sup>[15-16]</sup>。吡草醚的相关残留分析方法较多。胡秀卿等<sup>[17]</sup>用乙腈提取, 液液分配净化, GC-NPD 检测了吡草醚在柑橘和土壤中的残留。Wang 等<sup>[18]</sup>比较了传统的液液分配后弗罗里硅土净化和固相萃取净化 2 种方法对苹果和土壤中吡草醚的净化效果, 确定采用 PSA 和 C<sub>18</sub> 2 种固相萃取小柱更为简便。徐敦明等<sup>[19]</sup>采用了加速溶剂萃取(ASE), 气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)测定茶叶中吡草醚等 10 种吡唑和吡咯类农药残留。沈伟健

收稿日期: 2014-07-14

基金项目: 农业部农药残留田间试验项目资助。

作者简介: 朱玉杰, 硕士研究生。E-mail: 450713973@qq.com

\* 通信作者: 操海群, 博士, 教授, 博士生导师。E-mail: caohq@vip.163.com

等<sup>[20]</sup>用乙腈提取,超快速液相色谱-串联质谱(UFLC-MS/MS)检测了蔬菜中包括吡草醚在内的176种农药残留。刘慧君<sup>[21]</sup>等用C<sub>18</sub>小柱净化,HPLC检测了吡草醚在水样中的残留。欧洲食品安全局(EFSA)<sup>[22]</sup>曾报道了植物组织(小麦、马铃薯、苹果等)、动物组织中吡草醚残留分析的方法。而我国目前尚无棉花中吡草醚残留分析方法的报道。本文通过研究不同提取方法、净化方法对棉花及土壤样品中吡草醚添加回收率的影响,建立了高效液相色谱测定棉叶、棉籽和土壤中吡草醚残留量的分析方法,该方法简便、快捷,其各项指标均符合残留分析的要求。

## 1 材料与方 法

### 1.1 仪器与试剂

农药标准品:吡草醚(99.0%),德国 Dr. Ehrenstorfer 公司。

试剂:乙腈(分析纯)江苏强胜化工有限公司;丙酮(分析纯)上海振企化学试剂有限公司;乙腈(色谱纯)江苏强胜化工有限公司。

仪器:岛津高效液相色谱仪(配PDA检测器及色谱工作站)北京京科瑞达科技有限公司;SHA-C水浴恒温振荡器江苏省金坛市金城国胜实验仪器厂;EYELAN-1100旋转蒸发仪上海爱郎仪器有限公司;SC-3610低速离心机安徽中科中佳科学仪器有限公司;KQ-5200超声波清洗器昆山市超声仪器有限公司;SQ-2119B多功能食品加工机上海帅佳电子科技有限公司;氮吹仪 N-EVAPTM 112, Organomation Associates, Inc.

### 1.2 实验方法

**1.2.1 标准溶液的配制** 用电子天平(精确到0.1 mg)准确称取农药标准品,用色谱乙腈溶解并定容至10 mL,得到1000 mg·L<sup>-1</sup>的混合标准溶液,密封保存于4℃冰箱中,备用。使用时,根据实验需要用乙腈逐级稀释成不同浓度的标准工作溶液。

**1.2.2 农药的添加** 称取备用的棉叶和棉籽样品2 g、土壤样品5 g,置于50 mL离心管中,用移液枪准确移取混合标准溶液加入称取样品中,使吡草醚在样品中的添加浓度为0.02、0.05、0.1和1 mg·kg<sup>-1</sup>。每个浓度梯度设5个平行,同时设置空白对照。

**1.2.3 样品前处理** 棉叶与棉籽:准确称取2 g样品,加入20 mL乙腈,机械振荡30 min后,4000 r·min<sup>-1</sup>离心5 min,移取上层清液,过滤,用20 mL乙腈重复提取1次,振荡20 min,棉籽滤渣用适量乙腈润洗,合并有机相,40℃浓缩至干。用4 mL

乙腈分2次冲洗浓缩瓶,移至3 mL乙腈预淋洗的GCB/PSA小柱,4 mL乙腈淋洗,收集全部淋洗液,40℃浓缩至干,色谱乙腈定容2 mL,待分析。

土壤:准确称取5 g样品,加入2 mL水润湿,后加入20 mL丙酮,机械振荡30 min后,4000 r·min<sup>-1</sup>离心5 min,移取上层清液。用20 mL丙酮重复提取1次,振荡20 min,合并有机相,过无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,40℃浓缩至干。用3 mL乙腈:水(3:7)冲洗浓缩瓶,移至3 mL乙腈和3 mL水预淋洗的C<sub>18</sub>小柱,3 mL乙腈:水(5:5)淋洗,6 mL乙腈洗脱,收集洗脱液,N<sub>2</sub>吹干,色谱乙腈定容5 mL,待分析。

**1.2.4 检测条件** 检测仪器:岛津 LC20-AT HPLC;色谱柱:Agilent SB-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);柱温:30℃;进样体积:20 μL;流动相:乙腈/水=65:35(体积比);流速:1 mL·min<sup>-1</sup>;紫外检测波长:243 nm。

## 2 结果与分析

### 2.1 标准曲线

用一定浓度的标准工作溶液进样分析,以进样量(ng)为横坐标,峰面积为纵坐标,做标准曲线。吡草醚标准工作溶液的进样量与色谱峰面积存在显著的线性关系,线性方程 $y=3342.4x+263.29$ ,相关系数均为0.9995。

### 2.2 检测条件的建立

**2.2.1 检测波长的确定** 通过PDA二极管阵列检测器对吡草醚进行波长扫描。结果表明,吡草醚存在2个吸收波长,为减少杂质的干扰,选择243 nm作为检测波长。

**2.2.2 色谱条件的选择** 选用Agilent SB-C<sub>18</sub>色谱柱进行测定,乙腈:超纯水(V/V=65/35)作为流动相,流速1 mL·min<sup>-1</sup>,吡草醚出峰时间6.8 min,峰型良好(图1-a)。

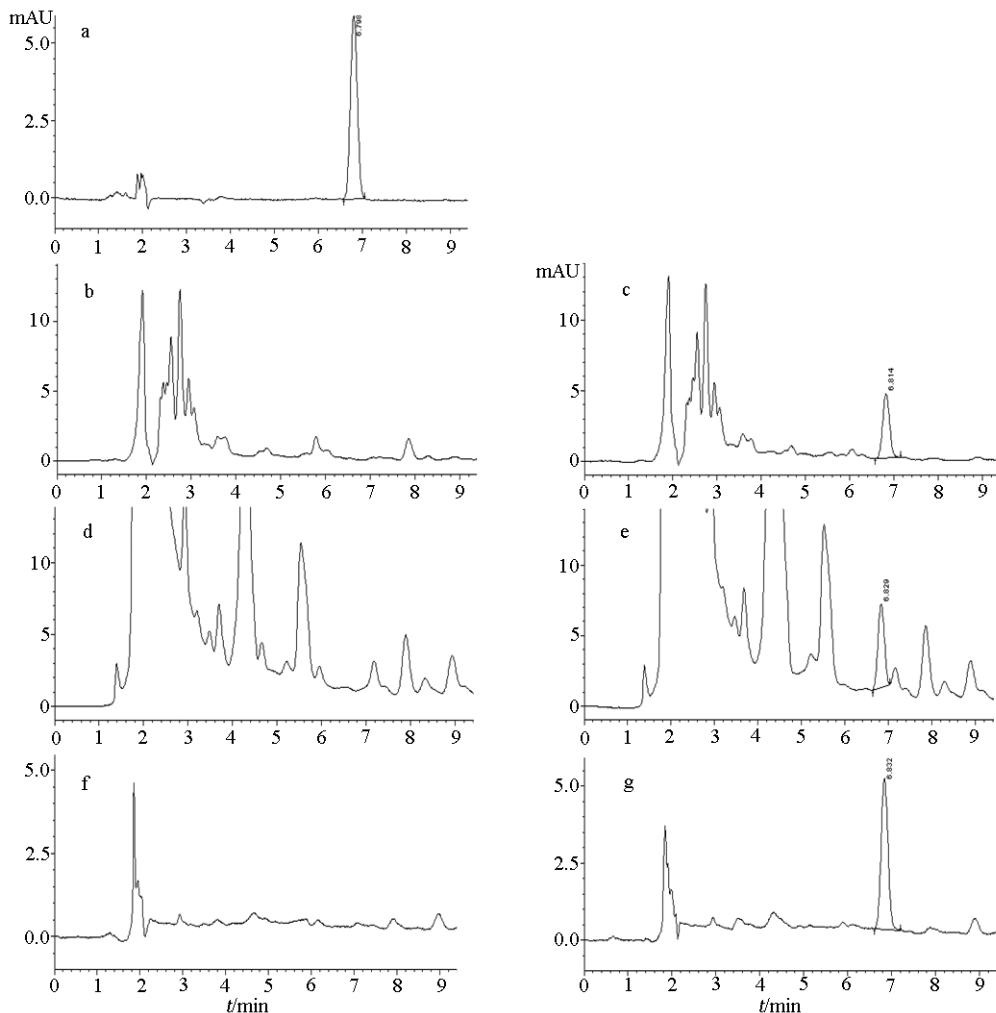
### 2.3 提取方法的确立

**2.3.1 提取剂的选择** 在添加浓度为1.0 mg·kg<sup>-1</sup>的棉叶和棉籽样品中分别加入20 mL不同提取试剂,比较乙腈、丙酮对棉叶和棉籽样品中吡草醚添加回收率的影响。结果表明,棉叶样品使用丙酮提取的平均回收率<40%,低于乙腈的提取效果;棉籽样品使用丙酮提取时杂质过多,难以净化,影响分析结果,故确定乙腈为棉叶和棉籽样品的提取试剂。土壤的前处理比较简单,可参考Wang等<sup>[18]</sup>的方法使用丙酮加水提取。

**2.3.2 提取方法的选择** 在添加浓度为1.0 mg·kg<sup>-1</sup>的棉叶和棉籽样品中分别加入20 mL乙腈,比较了

机械振荡和超声波提取 2 种提取方法对吡草醚添加回收率的影响。结果表明 (表 1), 在棉叶样品中, 机械振荡提取 30 min+20 min 的回收率最高; 在棉籽样品中, 机械振荡提取 50 min 和机械振荡提取

30 min+20 min 均能得到较高的回收率, 后者效果更优。超声波提取时间过长则提取出较多的杂质, 故选择机械振荡提取方式。



a: 标样; b: 棉叶对照; c: 棉叶添加; d: 棉籽对照; e: 棉籽添加; f: 土壤对照; g: 土壤添加

a: pyraflufen-ethyl in standard solution; b, d and f: unspiked leaves, cottonseed and soil extract; c, e and g: leaves, cottonseed and soil spiked with pyraflufen-ethyl

图 1 吡草醚色谱图

Figure 1 HPLC chromatogram of pyraflufen-ethyl

**2.3.3 提取次数的确定** 在添加浓度为  $1.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的棉叶和棉籽样品中分别加入 20 mL 乙腈, 用机械振荡提取 30 min, 比较了不同提取次数对吡草醚添加回收率的影响。结果表明 (表 2), 提取 3 次时的回收率最高, 棉叶和棉籽的平均添加回收率分别为 90.82% 和 99.95%, 变异系数分别为 1.16% 和 0.51%, 提取 2 次和提取 3 次的平均回收率均相差不大, 为了方便起见, 确定提取次数为 2 次, 提取时间分别为 30 和 20 min。

## 2.4 净化方法的确定

在添加浓度为  $1.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的棉叶和棉籽样品中加入 20 mL 乙腈, 用机械振荡提取 30 min, 分别采用液液萃取<sup>[17]</sup>、 $\text{C}_{18}$ <sup>[21]</sup>、GCB/PSA<sup>[18-19]</sup>等不同净化方法, 比较对棉叶、棉籽净化效果。结果表明, 液液萃取和  $\text{C}_{18}$  小柱对棉叶、棉籽样品的净化效果均不佳, 而且操作过于繁琐, GCB/PSA 小柱净化效果较好, 且不影响添加回收试验结果。相对于棉叶和棉籽样品, 土壤样品中杂质较少, 使用  $\text{C}_{18}$  小柱即可得到良好的净化效果, 操作简单, 使用试剂量少。

表 1 不同提取方法对棉叶和棉籽中吡草醚添加回收结果的影响

Table 1 Recoveries and CVs of pyraflufen-ethyl in cotton leaves and seeds by selected extract methods

提取方法 Extract method	时间/min Time	棉叶 Cotton leaf		棉籽 Cottonseed	
		平均添加回收率/% Average recovery	变异系数/% CV	平均添加回收率/% Average recovery	变异系数/% CV
机械振荡提取 Mechanical oscillation	20	47.28±0.65	1.38	59.87±0.65	1.09
	30	48.50±1.99	2.47	78.16±1.28	1.64
	50	52.77±0.99	1.87	89.59±5.04	5.63
	30+20	95.58±1.00	1.05	97.43±3.55	3.64
超声波提取 Supersonic oscillation	20	35.00±2.56	7.72	55.06±0.42	0.77
	30	55.66±0.65	1.17	77.16±2.44	3.16

表 2 不同提取次数对棉叶、棉籽中吡草醚添加回收结果的影响

Table 2 Recoveries and CVs of pyraflufen-ethyl in cotton leaves and seeds by selected extract times

提取次数 Extract times	棉叶 Cotton leaf		棉籽 Cottonseed	
	平均添加回收率/% Average recovery	变异系数/% CV	平均添加回收率/% Average recovery	变异系数/% CV
1 次 Once	42.95±0.23	0.54	80.25±1.93	2.40
2 次 Twice	89.34±1.38	1.55	98.77±4.75	4.81
3 次 Three times	90.82±1.05	1.16	99.95±0.51	0.51

表 3 棉叶、棉籽和土壤中吡草醚添加回收试验结果

Table 3 Recoveries and CVs of pyraflufen-ethyl in cotton leaves, seeds and soil

基质 Matrix	添加浓度/mg·kg <sup>-1</sup> Fortified concentration	平均添加回收率/% Average recovery	变异系数/% CV
棉叶 Cotton leaf	0.05	101.65±8.02	7.89
	0.1	100.27±3.98	3.96
	1	93.94±7.57	8.06
棉籽 Cottonseed	0.02	98.62±7.51	7.62
	0.1	84.88±8.80	10.37
	1	93.67±7.11	7.59
土壤 Soil	0.05	90.71±6.89	7.59
	0.1	85.49±7.43	8.69
	1	85.49±4.78	5.59

## 2.5 添加回收试验

分别在棉叶、棉籽和土壤样品中加入一定体积的吡草醚标准工作溶液，添加浓度为 0.02~1 mg·kg<sup>-1</sup>。添加回收试验结果表明（表 3），在添加浓度范围内，样品的平均添加回收率分别为棉叶 93.94%~101.65%、棉籽 84.88%~98.62%、土壤 85.49%~90.71%，变异系数为棉叶 3.96%~8.06%、棉籽 7.59%~10.37%、土壤 5.59%~8.69%。该方法的准确性，精确性均达到农药残留分析的要求。吡草醚在棉叶、棉籽和土壤中的添加样品和空白样品色谱图见图 1 所示。

## 3 讨论

国家标准及文献报道的吡草醚在蔬菜、水果中净化方法多采用弗罗里硅土固相萃取净化<sup>[19-20,23]</sup>，但

棉籽样品中含有较多的色素、脂肪等杂质，采用常规的净化方法不能有效的去除干扰物质<sup>[24]</sup>。根据棉籽样品的特性，通过试验比较，建立了一种简便、省时的分析方法。棉叶和棉籽样品以乙腈提取，GCB/PSA 固相萃取小柱净化；土壤样品以丙酮提取，C<sub>18</sub> 小柱净化，高效液相色谱测定。吡草醚在棉叶、棉籽和土壤中的平均添加回收率分别为 93.94%~101.65%、84.88%~98.62%、85.49%~90.71%，变异系数分别为 3.96%~8.06%、7.59%~10.37%和 5.59%~8.69%。吡草醚在棉叶、棉籽和土壤中的最低检测浓度分别均为 0.02 mg·kg<sup>-1</sup>。方法的准确性、灵敏度均达到农药残留分析的要求。

欧盟在 2008 年 9 月规定了棉籽 MRL 值为 0.05 mg·kg<sup>-1</sup>，美国在 2013 年 2 月规定棉花（未除籽）中吡草醚的 MRL 值为 0.04 mg·kg<sup>-1</sup>，澳大利亚在

2013年6月规定棉籽 MRL 值为  $0.05 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。目前,我国尚无吡草醚在棉籽上的限量标准,以国外的最低 MRL 值为参照,本方法完全满足棉籽中吡草醚残留检测的需要。

### 参考文献:

- [1] Turgut C, Erdogan O, Ates D, et al. Persistence and behavior of pesticides in cotton production in Turkish soils[J]. Environ Monit Assess, 2010, 162(1): 201-208.
- [2] Rose M T, Crossan A N, Kennedy I K, et al. Dissipation of cotton pesticides from runoff water in glasshouse columns[J]. Water Air Soil Pollut, 2007, 182(1): 207-218.
- [3] Tahir S, Anwar T. Assessment of pesticide exposure in female population living in cotton growing areas of Punjab, Pakistan[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2012, 89(6): 1138-1141.
- [4] Oluyede C A, Festus K A, Gudeta S. Human health and occupational exposure to pesticides among smallholder farmers in cotton zones of Côte d'Ivoire [J]. Health, 2011, 3(10): 631-637.
- [5] Crossan A N, Kennedy I R. Calculation of pesticide degradation in decaying cotton gin trash[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2008, 81(4): 355-359.
- [6] 李敏敏, 刘新刚, 董丰收, 等. 80%胺鲜酯甲哌鎓在棉花和土壤中的残留及消解动态[J]. 环境化学, 2013, 32(2): 289-293.
- [7] 吴绪金, 马欢, 马婧玮, 等. 20%啶虫脒·哒螨灵微乳剂在棉花和土壤中的残留检测及消解动态分析[J]. 农药, 2013, 52(12): 889-892.
- [8] 梁旭阳, 刘新刚, 徐军, 等. 噻虫嗪在棉花和土壤中的残留动态研究[J]. 植物保护, 2013, 39(2): 101-104.
- [9] 蔡敏, 钟红舰, 董小海, 等. 20%啶虫脒可溶液剂在棉花和土壤中的残留及消解动态[J]. 农药, 2012, 51(7): 517-522.
- [10] Battu R S, Sahoo S K, Jyot G. Persistence of acephate and cypermethrin on cotton leaves, cottonseed, lint and soil[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2009, 82(1): 124-128.
- [11] Scroggs D M, Miller D K, Vidrine P R, et al. Evaluation of weed control and crop tolerance with co-application of glyphosate and pyraflufen-ethyl in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max*)[J]. Weed Technology, 2006, 20(4): 1035-1039.
- [12] Mabuchi T, Miura Y, Ohtsuka T. Herbicidal activity and characteristics of pyraflufen-ethyl for controlling broad-leaved weeds in cereals[J]. J Pesticide Sci, 2002, 27(1): 39-46.
- [13] 胡继业. 农药残留分析与环境毒理[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 62-68.
- [14] Ivany J A. Response of three potato (*Solanum tuberosum*) cultivars to pyraflufen-ethyl used as a desiccant in Canada [J]. Crop Protection, 2005, 24(9): 836-841.
- [15] 沙俊晖. 2%吡草醚微乳剂在棉花生产中的应用研究[J]. 现代农业科技, 2012(2): 136-137.
- [16] 胡新杰. 2012年 Ecopart 2ME 棉花脱叶试验报告[J]. 石河子科技, 2013(1): 1-5.
- [17] 胡秀卿, 吴珉, 赵华, 等. 柑橘和土壤中吡草醚残留分析方法研究[J]. 浙江农业科学, 2007(2): 198-199.
- [18] Wang H L, Hu J Y, Zhang H X, et al. Analysis of pyraflufen-ethyl residues in apples and soil by high-performance liquid chromatography[J]. Intern J Environ Anal Chem, 2007, 87(2): 99-109.
- [19] 徐敦明, 卢声宇, 陈达捷, 等. 加速溶剂萃取-气相色谱-串联质谱法测定茶叶中 10 种吡啶和吡咯类农药的残留量[J]. 色谱, 2013, 3(31): 218-222.
- [20] 沈伟健, 徐锦忠, 赵增运, 等. 气相色谱-负化学源质谱法测定蔬菜中 11 种醚类除草剂残留[J]. 分析化学研究报告, 2008, 36(5): 663-667.
- [21] 刘慧君, 乔五忠, 冯秀斌. 吡草醚水解动力学研究[J]. 环境科学导刊, 2009, 28(2): 4-7.
- [22] European Food Safety Authority. Reasoned opinion on the review of the existing maximum residue levels (MRLs) for pyraflufen-ethyl according to Article 12 of Regulation (EC) No396/2005[J]. EFSA Journal, 2013, 11(3): 3142.
- [23] GB 2763-2012. 食品中农药最大残留限[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [24] 丁蕊艳, 陈子雷, 杨国生. 凝胶渗透色谱净化-气相色谱法测定高效氯氰菊酯在棉花及土壤中的残留[J]. 农药, 2012, 51(11): 822-824; 828.