

烯啶虫胺在棉花和土壤环境中的残留及 消解动态研究

李增梅, 邓立刚*, 赵善仓, 张树秋, 郭长英, 梁京芸, 董燕婕

(山东省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 山东省食品质量与安全检测技术重点实验室, 济南 250100)

摘要: **目的** 建立操作简单、回收率较高的净化方法, 并应用该净化方法, 建立烯啶虫胺的高效液相色谱(HPLC)检测方法, 研究其在棉叶和土壤中的代谢残留及最终残留。**方法** 样品经甲醇/水(v:v, 60:40)提取, PCX固相萃取柱净化后, 经 Waters Atlantis C₁₈(3.6 mm×250 mm, 5 μm)色谱柱分离。**结果** 棉叶、棉籽、土壤中烯啶虫胺的最低检出浓度(LOQ)均为 0.01 mg/kg; 在 0.02~10 μg/mL 范围内烯啶虫胺的峰面积与质量浓度的线性关系良好, R=0.9999。在棉叶、棉籽和土壤样品中三个不同浓度水平的添加回收率在 71.5%~94.5%之间, RSD为 2.9%~6.5%。代谢结果表明, 烯啶虫胺在棉叶和土壤中的消解半衰期分别为山东 2.8~5.1 天, 浙江 2.1~4.3 天; 最终残留结果表明, 烯啶虫胺在棉籽和土壤中的最终残留量均未检出。**结论** 该方法简便、准确可靠, 适用于棉叶和土壤中烯啶虫胺含量测定, 并且烯啶虫胺属于易降解农药。

关键词: 液相色谱法; 烯啶虫胺; 棉花; 土壤; 残留

Residue decline study of nitenpyram in cotton and soil

LI Zeng-Mei, DENG Li-Gang*, ZHAO Shan-Cang, ZHANG Shu-Qiu,
GUO Chang-Ying, LIANG Jing-Yun, DONG Yan-Jie

(Key Laboratory of Test Technology on Food Quality and Safety of Shandong Province, Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology Research, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of nitenpyram in cotton leaves and soil by high performance liquid chromatography (HPLC). Degradation of nitenpyram in cotton and soil using this HPLC method was studied. **Methods** Samples were extracted by methanol/water (60:40, v:v), and then purified by PCX extraction column. The analysis were separated on a Waters Atlantis C₁₈(3.6 mm×250 mm, 5 μm) and detected by HPLC. **Results** This method provided a high linearity of the working curve for calibration as well as repeatability and reproducibility. The limits of quantification (LOQ) were 0.01 mg/kg in cotton and soil. The correlation coefficient of the working curve for calibration was 0.9999 for the nitenpyram in the concentration range from 0.02 to 10 μg/mL. The recoveries of nitenpyram in cotton, seed and soil were 71.5%~94.5%, and RSD were 2.9%~6.5%. The results showed the half-lives of nitenpyram were 2.8~5.1 d at cotton, and 2.1~4.3 d in soil. The final residues of nitenpyram were undetectable. **Conclusion** The method is simple and accurate for the determination of nitenpyram. Nitenpyram was an easily degradable insecticide.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; nitenpyram; cotton; soil; residues

*通讯作者: 邓立刚, 副研究员, 主要研究方向为食品质量与安全检测技术。E-mail: deng_ligang@163.com

*Corresponding author: DENG Li-Gang, Research Associate, Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology Research, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China. E-mail: deng_ligang@163.com

1 引言

烯啶虫胺(nitenpyram)又名吡虫胺, 是继吡虫啉之后第二代新烟碱类杀虫剂, 对害虫具有神经阻断作用, 具有高效、低毒、内吸和无交互抗性等优点, 是替代有机磷高毒农药的重要品种之一^[1-4]。广泛用于粮谷、蔬菜、水果和茶树上防治各种蚜虫、飞虱、叶蝉和蓟马等刺吸式口器害虫^[5,6]。研究表明, 按照常用急性毒性分级方法, 烯啶虫胺对家蚕属于高毒^[7], 对生态环境存有高风险^[8]。关于烯啶虫胺 MRL 值, 我国规定在棉籽等油料中最大残留限量为 0.05 mg/kg, 在柑橘等水果中为 0.5 mg/kg; 日本规定其在甘蓝、棉籽等作物中最大残留限量为 0.03 mg/kg, 在苹果、梨、桃、大白菜等中残留限量为 0.5 mg/kg^[9,10]。

目前, 烯啶虫胺的残留检测方法多以液相色谱法^[11-14]、气相色谱法^[14,15]为主, 路彩虹等^[12]采用高效液相色谱-串联质谱法测定烯啶虫胺在土壤中的代谢; 杨金川等^[13]应用液相色谱法测定烯啶虫胺在水稻和土壤中的代谢。但关于烯啶虫胺净化方法并未有详尽报道和研究。目前我国实验室中, 液相色谱仍是常规检测仪器, 众所周知, 液相色谱和色谱柱对样品纯净度有较高要求, 否则容易堵塞, 从而造成柱压不稳等现象, 所以样品净化至关重要, 尤其对色素较重样品。路彩虹等^[12]采用粗净化方法, 对色素较重样品, 效果甚微, 不能满足液相色谱需要; 杨金川等^[7]采用人工填制净化柱, 效率低, 不适用于大批量样品净化。本试验, 采用固相萃取方法净化, 回收率高, 净化效果好, 对烯啶虫胺或其他类似化合物净化分离具有很好借鉴作用。

本实验采用优化后的固相萃取方法, 建立棉花及土壤中烯啶虫胺液相色谱检测方法, 并应用该监测方法研究其消解动态规律和最终残留状况。

2 材料与方法

2.1 仪器设备

Waters 高效液相色谱(2695, Waters 公司), 紫外检测器(2487, Waters 公司); 高速匀浆机(IKA-WERLE T25BS2, 德国 IKA 工业设备公司); 德国 Heidolph 旋转蒸发仪(L4000, 德国 Heidolph 公司); 高速离心机(3K30, 美国 Sigma 公司); 超声波清洗机(KQ-500E, 昆山市超声仪器有限公司); 漩震振荡器

(IKA-MS3, 德国 IKA 工业设备公司); 电子天平(SE202F, 奥豪斯仪器有限公司); 移液枪(10~100 μL , 100~1000 μL , 德国 Eppendorf 有限公司)、氮吹仪(OA-SYS, 美国 Organomation 公司)及其它实验室常用仪器设备。

2.2 试剂

烯啶虫胺(纯度>99%, Sigma 公司); 乙腈(色谱纯, Sigma 公司); 冰乙酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 三氟乙酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 氢氧化钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

2.3 田间试验

2.3.1 试验设计

设计试验小区, 小区面积 30 m^2 , 重复 3 次, 随机排列, 小区之间设保护行, 高剂量施药浓度为 67.5 g/hm^2 (有效成份), 低剂量施药处理为 45 g/hm^2 (有效成份)。试验喷药方法为背负式手动喷雾器, 将药液喷湿叶片直至叶尖开始滴水为止。试验地点是山东省济南地区和浙江省杭州地区, 试验时间是 2010 年和 2011 年。

2.3.2 消解动态试验

消解动态试验采用高剂量施药处理, 对地面和植株分别喷药, 设空白对照小区。施药 1 次, 喷药后 2 h、1、3、5、7、10、14、21、30、35 d, 分别采集棉叶和土壤样品。棉叶样: 随机多点采集棉叶 500 g 以上, 剪碎混匀后于 $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待测; 土样: 随机多点采集土壤 0~10 cm 耕作层土壤 1 kg 以上, 充分混匀后过 1 mm 孔径筛分样, 于 $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待测。

2.3.3 最终残留试验

最终残留试验分别采用高剂量和低剂量 2 个处理, 在棉花花铃期施药, 施药次数分别为 2 次和 3 次, 并设空白对照区, 距最后一次施药时间分别为 7、14、21 d 时采样。棉桃样品: 随机采集棉桃, 每小区采集棉桃 1 kg 以上, 棉桃轧花后取得棉籽, 再将棉籽打碎, 处理后于 $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存以备试验。土样: 随机多点采集土壤 0~15 cm 耕作层土壤 1 kg 以上, 充分混匀后过 1 mm 孔径筛分样, 于 $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待测。

2.4 分析方法

2.4.1 标准溶液的配制

准确称取 10.0 mg 烯啶虫胺标准品于 100 mL 棕

色容量瓶中,用甲醇溶解后定容,此时标准储备液浓度为 100.0 $\mu\text{g/mL}$;用甲醇稀释为 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 标准工作液。

另外,用甲醇分别稀释为 0.10、0.25、0.50、1.00、5.00、10.00 $\mu\text{g/mL}$ 系列标准工作液,以制作标准曲线。

2.4.2 样品制备

棉叶、棉籽提取:称取棉叶 5.0 g(棉籽 5.0 g),加入 25 mL 甲醇:水($v:v$, 60:40)进行提取,提取液浓缩至 10 mL,然后上固相萃取柱 PCX 净化。

土壤提取:称取 10.0 g 试样,加入 25 mL 水进行提取,提取液全部上柱净化。

2.4.3 净化

固相萃取柱 PCX(60 mg, 3 mL)分别用 5 mL 甲醇, 5 mL 水预洗,上样,然后分别用 3 mL 水, 10 mL 甲醇淋洗,最后用 3 mL 氯化甲醇(5%)洗脱并收集,蒸干洗脱液,甲醇:水($v:v$, 20:80)定容(棉叶和棉籽定容至 1 mL,土壤定容至 2 mL),上机测定。

2.4.4 添加回收试验

用空白棉叶、土壤、棉籽样品进行 0.01、0.03、0.10 mg/kg 共 3 个浓度水平添加回收试验,每个水平重复 5 次。

2.4.5 分析条件

色谱柱:Atlantis C₁₈ 不锈钢柱(3.6 mm \times 250 mm, 5 μm);柱温:30 ;流动相:水:乙腈(90:10);流速:1.0 mL/min;检测波长:260 nm;进样量:10 μL 。烯啶虫胺保留时间 15.0 min。

2.4.6 结果计算

残留量计算,在被测物的线性范围内,用外标法定量,计算公式如下:

$$R = \frac{Cst \times Pi \times Vsti \times V}{m \times Vi \times Psti}$$

公式中: R :被测组分在样品中的含量(mg/kg); Cst :标准溶液浓度($\mu\text{g/mL}$); $Vsti$:标准溶液进样体积(μL); Pi :样品中被测组分的峰面积; V :样品定容体积(mL); Vi :样品进样体积(μL); $Psti$:标准溶液峰面积; m :样品称样量(g)。

3 结果与分析

3.1 方法灵敏度、准确度和精密度

以配制的 0.02~10 $\mu\text{g/mL}$ 系列标准工作液,分别进样 10 μL 。质量浓度在 0.1~10 $\mu\text{g/mL}$ 时,峰面积 Y ($\mu\text{V}\cdot\text{sec}$)与其质量浓度 X ($\mu\text{g/g}$)具有良好的线性关系

(见图 1, A),回归方程为 $Y=2370.5X-608.08$, $R=0.999994$ 。

该方法在棉叶、棉籽、土壤中最低检出浓度均为 0.01 mg/kg,低于国家规定棉籽中最大残留限量(0.05 mg/kg),完全符合检测需求。添加实验数据表明,烯啶虫胺在棉叶中回收率为 71.5%~93%,在棉籽中的回收率为 76.5%~93.3%,在土壤中的回收率为 77.5%~94.5%,实验室内测定的精密度(以相对标准偏差 RSD 表示)为 2.9%~6.5%,符合农药残留量分析要求。棉叶、棉籽和土壤的空白样品、添加回收样品和实际样品中测定烯啶虫胺图谱(见图 1, B~K)。

3.2 净化方法优化

棉叶因色素含量高,因此提取液颜色为墨绿色,这对于液相色谱和色谱柱损伤巨大,路彩虹等应用 PSA 和无水 MgSO_4 进行粗净化,但效果很不明显,无法满足液相色谱要求。本试验根据烯啶虫胺强极性的理化性质和分子结构,选取 PCX 作为萃取柱,通过标准品直接注入萃取柱的方法确定该色谱柱净化效率,调整淋洗液和洗脱液比例,最终获得的烯啶虫胺较为简单,并且回收率较高。

3.3 烯啶虫胺在棉叶和土壤中的消解动态

烯啶虫胺在棉叶和土壤中的消解动态试验结果见表 1,药后 10 d,仅 2010 年烯啶虫胺在浙江棉叶中消解率为 88.3%,其余消解率均>90%,消解速度比较快,其消解规律符合 $C=C_0e^{-kt}$ 的指数回归方程(见表 1)。烯啶虫胺在棉叶上 2010 年、2011 年残留消解半衰期分别为山东 5.1 d 和 2.8 d,浙江 2.9 d 和 2.9 d,在土壤中消解半衰期分别为山东 4.3 d 和 2.7 d,浙江 4.4 d 和 2.1 d。

3.4 烯啶虫胺在棉籽和土壤中的最终残留

山东、浙江两地最终残留试验结果表明(见表 2),烯啶虫胺在棉籽和土壤中最终残留量均未检出,低于最低检出限(0.01 mg/kg)。分析原因有以下几点:有效成分烯啶虫胺半衰期短,消解速率快;棉铃迅速生长加速烯啶虫胺降解代谢;棉铃有着肥厚坚硬的外壳保护,药剂难以渗透入内。因此,烯啶虫胺不仅对棉花叶螨、蚜虫有很好杀虫效果,而且对棉籽是非常安全、无残留的,在生产中可以广泛应用该农药进行害虫防治。

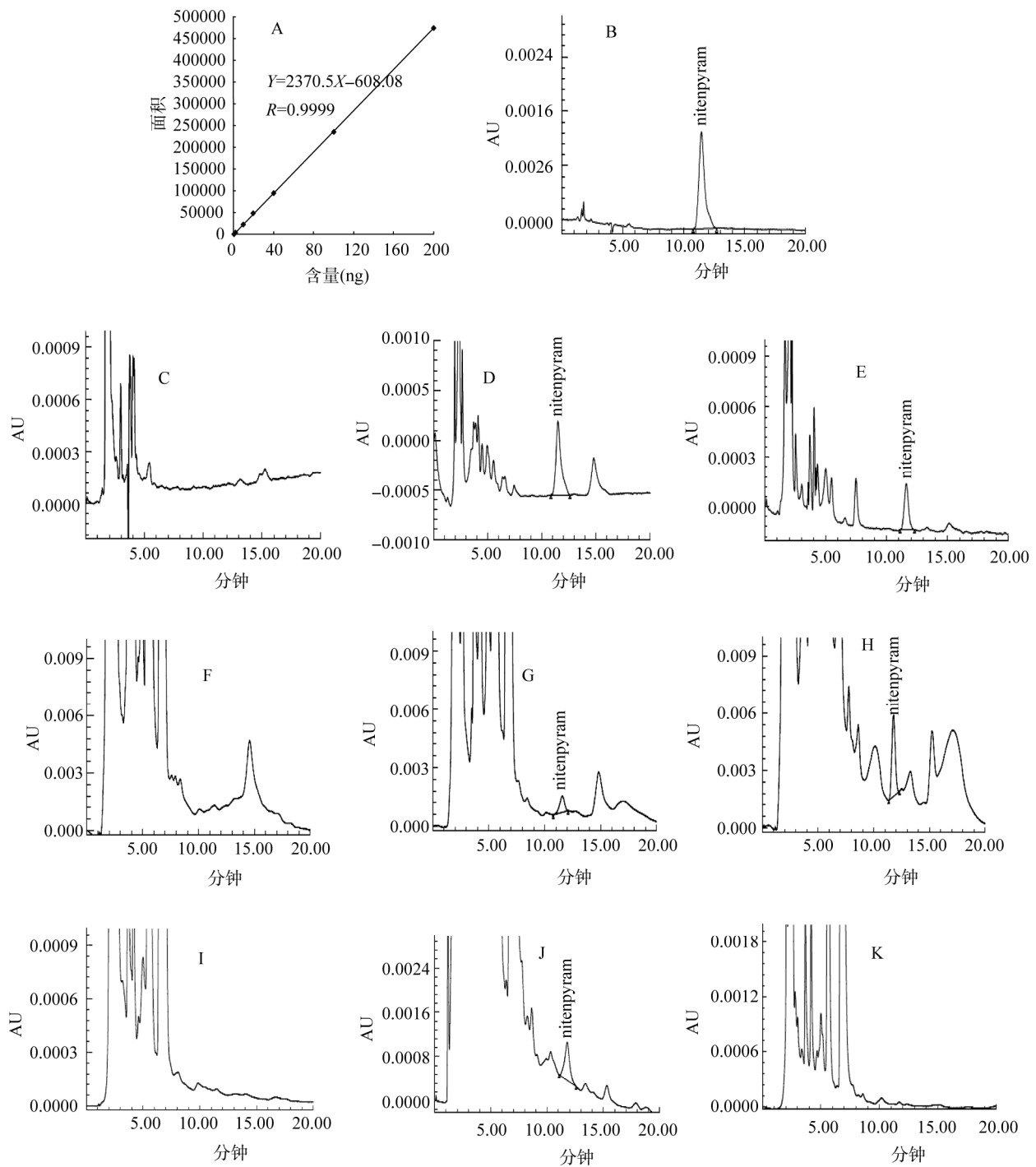


图 1 空白样品及添加烯啶虫胺的 HPLC 色谱图

Fig. 1 Chromatograms of blank sample and samples spiked with nitenpyram

A: 标准曲线; B: 烯啶虫胺标准谱图(1.0 µg/mL); C: 土壤空白谱图; D: 土壤添加图谱(0.1 mg/kg); E: 土壤样品谱图;
 F: 棉叶空白谱图; G: 棉叶添加图谱(0.1 mg/kg); H: 棉叶样品谱图; I: 棉籽空白谱图; J: 棉籽添加图谱(0.1 mg/kg);
 K: 棉籽样品谱图。

A: standard curve; B: nitenpyram standard spectrum (1.0 µg/mL); C: soil blank spectrum; D: soils map (0.1 mg/kg);
 E: soil sample spectrum; F: cotton leaf blank spectrum; G: cotton leaves add maps (0.1 mg/kg); H: cotton leaf sample spectrum;
 I: cottonseed blank spectrum; J: cottonseed adding spectrum (0.1 mg/kg); K: cottonseed sample spectrum.

表1 烯啶虫胺在棉叶和土壤中的消解代谢规律
Table 1 Dynamic degradation equation of nitenpyram in cotton leaves and soil

试验地点	年份	棉叶				土壤			
		原始残留量 (mg/kg)	消解方程 ¹	相关系数 (R)	半衰期 (d)	原始残留量 (mg/kg)	消解方程 ¹	相关系数 (R)	半衰期 (d)
山东	2010	2.8	$C=2.1529e^{-0.1353t}$	0.9663	5.1	0.99	$C=0.4551e^{-0.1607t}$	0.8398	4.3
	2011	1.3	$C=0.8166e^{-0.2508t}$	0.9434	2.8	0.37	$C=0.4161e^{-0.2535t}$	0.9767	2.7
浙江	2010	2.9	$C=0.7488e^{-0.2373t}$	0.9142	2.9	0.52	$C=2.9592e^{-0.1586t}$	0.9497	4.4
	2011	2.2	$C=1.4613e^{-0.2424t}$	0.9634	2.9	0.43	$C=0.4098e^{-0.3266t}$	0.9888	2.1

1)消解方程为 $C_t=C_0e^{-kt}$ 。其中, C_t : t时刻棉叶和土壤中供试农药残留量, mg/kg; C_0 : 供试农药初始浓度 mg/kg; k : 消解速率常数; t : 时间, d。

表2 烯啶虫胺在棉叶、棉籽和土壤中的添加回收率(n=5)
Table 2 The recoveries of nitenpyram in cotton, soil and cotton seed (n=5)

样本	添加浓度(mg/kg)	回收率(%)					平均回收率(%)	相对标准偏差 RSD(%)
		1	2	3	4	5		
棉叶	0.01	81.5	71.5	78	84.2	75.5	78.1	6.4
	0.03	90.6	82	79.8	80	87.1	83.9	5.7
	0.1	91.7	93	86.4	88.2	85.1	88.9	3.8
土壤	0.01	77.5	88.2	78.3	80.8	87.4	82.4	6.1
	0.03	82.6	88	77.2	89.3	83.5	84.1	5.7
	0.1	88	94.5	92.4	91.3	85.6	90.4	3.9
棉籽	0.01	78.6	82.5	79.2	85	87.7	82.6	4.7
	0.03	86	79	76.5	90.1	83.2	83.0	6.5
	0.1	93.3	89.6	86.7	88	91.1	89.7	2.9

参考文献

- 曹涤环. 烯啶虫胺[J]. 湖南农业, 2011(3): 20-20.
Cao DH. Nitenpyram [J]. Hunan Agric, 2011(3): 20-20.
- 孙慧, 杨春河. 新型杀虫剂烯啶虫胺[J]. 精细与专用化学品, 2009(11): 16-18.
Sun H, Yang CH. New insecticides Nitenpyram [J]. Fine Specialty Chem, 2009(11): 16-18.
- 李敏, 成四喜, 李海屏, 等. 新烟碱类杀虫剂烯啶虫胺述评[J]. 农药研究与应用, 2012, 16(2): 1-5.
Li M, Cheng SX, Li HP, et al. Neonicotinoids nitenpyram review [J]. Agrochem Res Appl, 2012, 16(2): 1-5.
- 王霞. 最新杀虫剂—烯啶虫胺[J]. 农业知识, 2010, 34: 018.
Wang X. New pesticides-Nitenpyram [J]. Agr Knowl, 2010, 34: 018.
- 束兆林, 孙庭东, 张芳, 等. 烯啶虫胺对水稻褐飞虱田间控制效果[J]. 江西农业学报, 2010, 22(9): 89-90.
Shu ZL, Sun TD, Zhang F, et al. Control effect of nitenpyram against nilaparvata lugens in rice field [J]. Jiangxi J Agr Sci, 2010, 22 (9): 89-90
- 凌炎, 钟勇, 韦淑丹, 等. 烯啶虫胺、醚菊酯及其混剂对褐飞虱的毒力测定[J]. 南方农业学报, 2011, 42(8): 906-909
Ling Y, Zhong Y, Wei SD, et al. Toxicity of nitenpyram, ethofenprox and their mixtures on nilaparvatalugens [J]. J South Agric, 2011, 42(8): 906-909
- 唐小兰, 陈伟国, 孙海燕. 10%烯啶虫胺水剂和 60%烯啶虫胺可湿性粉剂对家蚕的急性食下毒性测定[J]. 中国蚕业, 2014, 35(1): 31-34
Tang XL, Chen WG, Sun HY. 10% Nitenpyram agent and 60% nitenpyram wettable powder toxicity determination under silkworm acute food [J]. China Sericult, 2014, 35(1): 31-34
- 谢化鹏, 宋宝安, 金林红, 等. 噻嗪酮、烯啶虫胺及其复配制剂对褐飞虱 3 龄若虫的毒力测定[J]. 农药, 2010, 49(1): 74-77.
Xie HP, Song QA, Jin LH, et al. Toxicity measure of buprofezin,

- nitenpyram and their mixtures to the third instar nymphs of brownplant hopper [J]. *Agrochemica*, 2010, 49(1): 74–77.
- [9] GB 2763-2014 食品安全国家标准食品中农药最大残留限量[S].
GB 2763-2014 National food safety standard-maximum residue limits for pesticides in food [S].
- [10] Akiyama Y, Yoshioka N, Tsuji M. Pesticide residues in agricultural products monitored in Hyogo Prefecture, Japan, FYs 1995–1999 [J]. *JAOAC Int*, 2002, 85(3): 692–703.
- [11] 付岩, 林婷, 陈梦丽, 等. 烯啶虫胺在柑橘和土壤中的残留及消解动态[J]. *农药学报*, 2012, 14(4): 423–428
Fu Y, Lin T, Chen ML, *et al.* Residues decline study of nitenpyram in orangeand soil [J]. *Chin J Pestic Sci*, 2012, 14(4): 423–428
- [12] 路彩虹, 刘新刚, 董丰收, 等. 烯啶虫胺在棉花和土壤中的残留及消解动态[J]. *环境化学*, 2010, 29(4): 614–618
Lu CH, Liu XG, Dong FS, *et al.* Residueand degradation of nitenpyramin cotton and soil [J]. *Environ Chem*, 2010, 29(4): 614–618
- [13] 杨金川, 胡德禹, 张钰萍, 等. 烯啶虫胺在水稻和稻田环境中的残留及消解动态[J]. *农药学报*, 2012, 14(5): 521–526
Yang JC, Hu DY, Zhang YP, *et al.* Residueand decline of nitenpyramin rice and ricc field [J]. *Chin J Pestic Sci*, 2012, 14(5): 521–526
- [14] 汪芙蓉, 张家骏, 吴萍, 等. 噻嗪酮-烯啶虫胺在水稻田样品中的残留检测方法[J]. *南京农业大学学报*, 2013, 36(6): 128–134
Wang FR, Zhang JJ, Wu P, *et al.* Determination method of buprofezin and nitenpyram residues in rice field [J]. *J Nanjing Agric Univ*, 2013, 36(6): 128–134
- [15] 张贵群, 聂思桥, 龙丽萍, 等. 气相色谱法分析甘蓝及其土壤中的烯啶虫胺残留[J]. *色谱*, 2010, 28(11): 1103–1106
Zhang GQ, Nie SQ, Long LP, *et al.* Determination of nitenpyram residue in cabbage and soil using gas chromatography [J]. *Chin J Chromatogr*, 2010, 28(11): 1103–1106

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



李增梅, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品质量与安全检测技术。



邓立刚, 副研究员, 主要研究方向为食品质量与安全检测技术。
E-mail: deng_ligang@163.com