

气相色谱法测定小麦籽粒中吡氟酰草胺、氟噻草胺和呋草酮残留量

钱 训, 陈勇达, 郑振山, 王 莉, 张少军*

(河北省农林科学院农产品质量安全研究中心, 农业部农产品质量安全风险评估实验室(石家庄), 石家庄 050051)

摘 要: **目的** 建立固相萃取-气相色谱法测定小麦籽粒中吡氟酰草胺、氟噻草胺和呋草酮 3 种农药的残留量。**方法** 粉碎的小麦籽粒样品经丙酮浸泡提取, 蒸出丙酮后用二氯甲烷萃取并浓缩, 用石油醚置换二氯甲烷后, 经 Florisil-SPE 小柱净化, 采用气相色谱仪 HP-5(30 m×0.25 mm×0.25 μm)色谱柱分离, 电子捕获检测器检测, 以外标法定量。**结果** 吡氟酰草胺、氟噻草胺和呋草酮 3 种农药可有效分离, 线性范围分别为 0.025~1.0、0.005~0.2 和 0.05~2.0 μg/mL, 标准曲线方程分别为 $Y = 22319X + 79.149$, $Y = 56242X - 26.653$ 和 $Y = 3285.1X - 11.295$, 相关系数均大于 0.999。最低检出浓度分别为 0.01、0.005、0.02 mg/kg, 平均回收率为 77.0%~106.3%, 相对标准偏差 2.3%~10.6%。**结论** 该方法简便、快速、准确、重现性好, 能够在同时检测吡氟酰草胺、氟噻草胺和呋草酮 3 种除草剂成分。

关键词: 固相萃取; 气相色谱法; 吡氟酰草胺; 氟噻草胺; 呋草酮; 农药残留; 小麦

Determination of diflufenican, flufenacet and flurtamone residues in wheat grain by gas chromatography

QIAN Xun, CHEN Yong-Da, ZHENG Zhen-Shan, WANG Li, ZHANG Shao-Jun*

(Research Center of Quality and Safety of Agro-products, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Agro-products (Shijiazhuang), Ministry of Agriculture, Shijiazhuang 050051, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of diflufenican, flufenacet and flurtamone residues in wheat grain by gas chromatography. **Methods** Diflufenican, flufenacet and flurtamone were extracted from crushed wheat grain samples, soaked in acetone, steamed out of acetone, extracted with dichloromethane, after replacement of the petroleum ether-dichloromethane, cleaned up by florisil solid phase extraction column, separated by HP-5 column (30 m×0.25 mm, 0.25 μm) and then detected by gas chromatography equipped with electron capture detector (ECD) using the external standard method for quantification. **Results** Diflufenican, flufenacet and flurtamone were separated effectively in the linear ranges of 0.025~1.0, 0.005~0.2 and 0.05~2.0 μg/mL, respectively, the standard curve equations were $Y = 22319X + 79.149$, $Y = 56242X - 26.653$ and $Y = 3285.1X - 11.295$. The correlation coefficients were all over 0.999. The limits of quantification were 0.01, 0.005, 0.02 mg/kg. The recoveries were ranged from 77.0% to 106.3% with RSDs of 2.3%~10.6%. **Conclusion** The method is simple, rapid, and accurate, which can be used for the simultaneous detection of diflufenican, flufenacet and flurtamone in wheat grain.

*通讯作者: 张少军, 研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。E-mail: zhangshj601@163.com

*Corresponding author: ZHANG Shao-Jun, Researcher, Research Centre of Quality and Safety of Agro-products, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050051, China. E-mail: zhangshj601@163.com

KEY WORDS: solid-phase extraction; gas chromatography; diflufenican; flufenacet; flurtamone; pesticide residues; wheat grain

1 引言

吡氟酰草胺(diflufenican)属于类胡萝卜素生物合成抑制剂,是广谱的选择性麦田除草剂^[1],可防除禾本科和阔叶杂草,尤其是猪殃殃、婆婆纳和莠菜杂草。呋草酮(flurtamone)通过抑制八氢番茄红素脱饱和酶,来阻碍类胡萝卜素的生物合成,是一种土壤用除草剂,用于防除小麦田阔叶杂草和一些禾本科杂草。氟噻草胺(flufenacet)属于细胞分裂和细胞生长抑制剂,是广谱的选择性麦田除草剂^[2]。我国和国际食品法典委员会(Codex Alimentarius Commission, CAC)尚未规定吡氟酰草胺、呋草酮和氟噻草胺在小麦中的最高残留限量(maximum residue limit, MRL)值。欧盟规定吡氟酰草胺在禾谷类作物上的MRL值为0.05 mg/kg,呋草酮在禾谷类作物上的MRL值为0.02 mg/kg;日本规定吡氟酰草胺在小麦上的MRL值为0.2 mg/kg,氟噻草胺在小麦上的MRL值为1 mg/kg;美国规定氟噻草胺在小麦上的MRL值为0.6 mg/kg^[3-5]。

随着吡氟酰草胺、氟噻草胺和呋草酮3种农药广泛用于小麦田除草,它们在小麦及环境中的残留检测和残留规律研究也备受关注。刘磊等^[6]采用超高效液相色谱-串联质谱法测定了小麦中吡氟酰草胺的残留量。Wennberg等^[7]采用气相色谱电子捕获检测器测定了土壤中的吡氟酰草胺。Araujo等^[8]采用微萃取技术和气相色谱质谱联用仪对水样中吡氟酰草胺等农药进行了提取和测定。Fischer等^[9]开发了作物、土壤和水中氟噻草胺和呋草酮的残留分析方法,提供了气相色谱保留时间和质谱数据。近年来研究发现,吡氟酰草胺、氟噻草胺和呋草酮复配使用可提高小麦田杂草防除效果^[10,11]。为了准确测定3种农药在小麦籽粒中的残留量,本研究经过样品提取,Florisil-SPE小柱净化,采用气相色谱电子捕获检测器检测,建立同时检测小麦籽粒中吡氟酰草胺、呋草酮和氟噻草胺残留量的方法。

2 仪器与方法

2.1 仪器与试剂

Agilent 6890N 气相色谱仪(配备电子捕获检测器,美国安捷伦公司); T25 匀质器(德国 IKA 公司); 固相萃取仪(北京康林科技有限公司); DCY-24S 氮吹仪(青岛海科仪器有限公司); SPE-Florisil 小柱(1 g, 6 mL, Supelco 公司)。

吡氟酰草胺标准品(纯度 99.8%)、氟噻草胺标准品(纯度 97.8%)、呋草酮标准品(纯度 99.5%),均由拜耳作物科学公司提供;丙酮、氯化钠、二氯甲烷、石油醚(分析纯,天津康科德科技有限公司);乙腈、丙酮、甲苯(色谱纯,美国

Fisher 公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 色谱条件

色谱柱: HP-5(30 m×0.25 mm, 0.25 μm, 美国安捷伦公司); 柱温: 80 °C, 保持 1 min, 20 °C/min 升至 280 °C, 保持 20 min; 进样口温度: 250 °C; 检测器温度: 300 °C; 载气: N₂(99.999%), 流量: 2.0 mL/min; 尾吹: 28 mL/min; 进样量: 1.0 μL。

2.2.2 标准溶液的配制

用乙腈做溶剂,将吡氟酰草胺、呋草酮、氟噻草胺标准品配制成 100 μg/mL 的浓度标准溶液,吡氟酰草胺稀释成 0.025、0.05、0.1、0.5 和 1.0 μg/mL 等系列工作标准溶液;氟噻草胺稀释成 0.005、0.01、0.02、0.1 和 0.2 μg/mL 等系列工作标准溶液;呋草酮稀释成 0.05、0.1、0.2、1.0 和 2.0 μg/mL 等系列工作标准溶液。

2.2.3 样品前处理

(1) 提取

准确称取经粉碎的小麦籽粒样品 10.0 g, 加入 80 mL 丙酮,浸泡过夜,超声波振荡 3 min。抽滤,减压蒸除大部分丙酮,滤液转移至分液漏斗,加入 100 mL 10%氯化钠溶液,摇匀,依次用 40、30、30 mL 二氯甲烷萃取。二氯甲烷萃取液经无水硫酸钠脱水,40 °C减压浓缩近干,加入 5 mL 石油醚溶解残留,继续减压蒸除二氯甲烷,加入约 5 mL 石油醚溶解残留,待过 Florisil-SPE 小柱净化。

(2) 净化

SPE-Florisil 小柱依次用 5 mL 丙酮(色谱纯)、5 mL 正己烷(色谱纯)预淋,样品上柱,依次用 5 mL 正己烷(色谱纯)、5 mL 甲苯(色谱纯)淋洗,弃去淋洗液,依次用 5 mL 甲苯/丙酮(95:5, V:V)、5 mL 甲苯/丙酮(8:2, V:V)、5 mL 丙酮淋洗,收集洗脱液,氮气吹干,用乙腈定容 2 mL,涡旋振荡 1 min,过 0.22 μm 滤膜,密封保存,待测定。

3 结果与分析

3.1 样品前处理和检测条件的优化

3.1.1 提取溶剂的选择

根据吡氟酰草胺、氟噻草胺、呋草酮的理化性质,3种物质在丙酮和二氯甲烷中都有很好的溶解度。考虑到丙酮与水互溶的特性,选择丙酮作为提取剂,提高提取溶剂在小麦籽粒样品颗粒的渗透性,以提高提取效果。抽滤后,减压蒸出大部分丙酮,再加入适量饱和氯化钠溶液最大限度溶解水溶性杂质,同时降低3种农药成分在水中的溶解度,最后用二氯甲烷进行萃取,取得了很好的提取和净化

效果。

3.1.2 净化方法的选择

刘磊等^[6]用 SPE-Florisil 小柱净化小麦籽粒样品中的吡氟酰草胺。石凯威等^[12]用 SPE-Florisil 小柱净化小麦籽粒样品中的叶菌唑。吴丽华^[13]用 SPE-Florisil 小柱净化小麦籽粒样品中的多种农药残留。本研究采用 SPE-Florisil 小柱、SPE-C₁₈ 小柱分别对小麦籽粒样品提取液进行净化, 净化后的样品在选定色谱条件下分析。结果表明, 经 SPE-C₁₈ 小柱净化后, 在色谱图中 9.3 min 有一较大杂质峰, 与氟噻草胺保留时间 10.2 min 接近。而采用 SPE-Florisil 小柱净化后, 色谱峰中不含有干扰吡氟酰草胺、氟噻草胺和呋草酮的杂质, 取得了很好的净化效果(见图 1)。

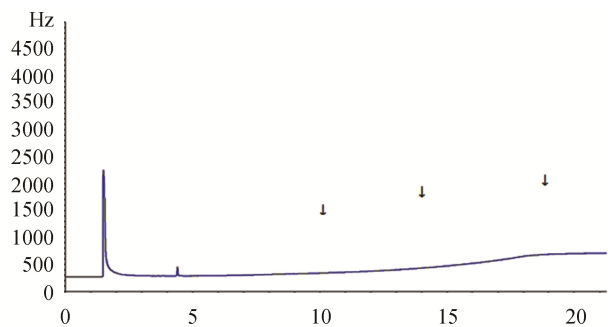


图 1 小麦籽粒空白样品的色谱图
Fig. 1 Gas chromatogram of blank wheat grain

3.1.3 色谱条件的优化

采用 HP-5、SE-30 和 HP-1(30 m×0.25 mm, 0.25 μm) 毛细管色谱柱分别对小麦籽粒添加样品进行分离测定。程序升温提高了分离效果, 缩短了分析周期。试验结果表明, HP-5 色谱柱对吡氟酰草胺、呋草酮、氟噻草胺和杂质具有良好的分离效果, 能够满足同时对 3 个组分定性定量的要求, 在选定色谱条件下, 保留时间如图 2 所示, 即氟噻草胺 10.2 min, 吡氟酰草胺为 14.4 min, 呋草酮为 19.0 min。

3.2 方法的线性关系及最小检出量

在选定的仪器条件下, 对 2.3 所配系列标准工作溶液分别进行测定。以各组分的峰面积 Y 对进样的质量浓度 $X(\mu\text{g/mL})$ 分别绘制 3 组分的标准曲线, 求得线性回归方程和线性相关系数(见表 1)。3 组分在各自的线性范围内均呈

现良好的线性关系($r>0.999$)。当实测样品浓度不在线性范围内时, 应对样品溶液进行适当稀释, 确保进样溶液浓度在线性范围内。检出限以 3 倍信噪比($S/N\geq 3$)计算, 吡氟酰草胺的最小检出量为 5×10^{-12} g; 氟噻草胺的最小检出量为 2×10^{-12} g; 呋草酮的最小检出量为 1×10^{-11} g。

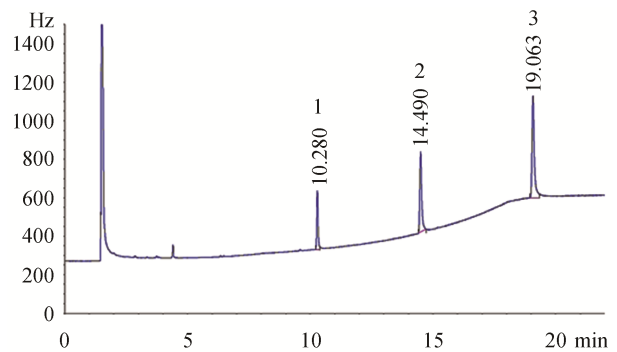


图 2 混合标样的色谱图
Fig. 2 Chromatogram of mixed standard samples
1. 氟噻草胺(flufenacet, 0.1 μg/mL); 2. 吡氟酰草胺(diflufenican, 0.5 μg/mL); 3. 呋草酮(flurtamone, 1 μg/mL)

3.3 添加回收率和精密度

在空白小麦籽粒样品中添加 3 个不同浓度水平的混合标准溶液进行加标回收试验, 使样品中氟噻草胺的质量分数为 0.005、0.05、0.10 mg/kg, 吡氟酰草胺的质量分数为 0.01、0.02、0.20 mg/kg, 呋草酮的质量分数为 0.02、0.20、0.50 mg/kg(见图 3)。每个添加水平平行测定 5 次, 计算回收率和相对标准偏差, 如表 2 所示。结果表明, 3 个添加水平下各农药的平均回收率为 77.0%~106.3%; 相对标准偏差为 2.3%~10.6%。

3.4 田间试验样品的检测

应用本方法对田间试验样品进行检测。吡氟酰草胺、氟噻草胺、呋草酮 3 种有效成分施用量均为 432 g ai/ha 以及 1.5 倍剂量 648 g ai/ha 两个施药剂量, 在冬小麦返青后拔节前一次施药。在收获小麦后, 小麦籽粒按选定的方法进行样品提取, 净化和气相色谱检测。结果表明, 吡氟酰草胺在小麦籽粒中的最终残留量均 <0.01 mg/kg; 小麦籽粒中氟噻草胺的最终残留量 <0.005 mg/kg; 呋草酮在小麦籽粒中的最终残留量均 <0.02 mg/kg。

表 1 各组分线性方程、相关系数及线性范围
Table 1 Linear equation, correlation coefficients and linear range for each component

组分序号	组分名称	回归方程	相关系数(r)	线性范围($\mu\text{g/mL}$)
1	氟噻草胺	$Y = 56242X - 26.653$	0.9995	0.005~0.2
2	吡氟酰草胺	$Y = 22319X + 79.149$	0.9997	0.025~1.0
3	呋草酮	$Y = 3285.1X - 11.295$	0.9996	0.05~2.0

表 2 3 种农药的添加回收率和相对标准偏差(n=5)
Table 2 Recoveries and RSDs of 3 kinds of pesticides (n=5)

农药名称	添加浓度(mg/kg)	回收率(%)						RSD(%)
		I	II	III	IV	V	平均	
氟噻草胺	0.005	102.3	105.6	103.4	98.3	95.0	100.9	3.8
	0.05	103.2	108.8	103.6	108.5	107.5	106.3	2.3
	0.1	99.6	100.2	101.5	97.0	94.2	98.5	2.6
呋草酮	0.02	94.3	101.2	85.4	106.0	95.2	96.4	7.2
	0.20	78.6	83.6	83.4	97.3	83.0	85.2	7.4
	0.50	78.8	79.2	98.6	75.4	76.2	81.6	10.5
吡氟酰草胺	0.01	72.6	75.9	79.0	73.4	83.9	77.0	5.4
	0.02	91.7	91.1	92.7	103.1	90.3	93.8	5.0
	0.2	72.4	96.8	77.7	77.5	77.1	80.3	10.6

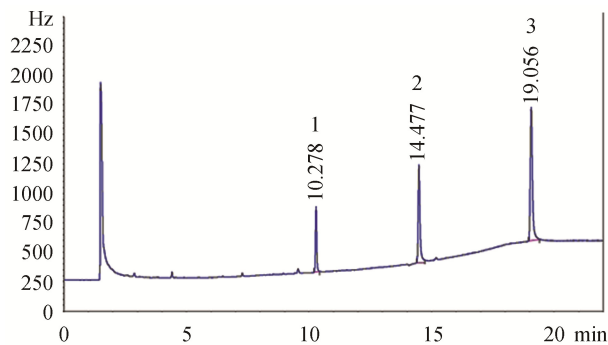


图 3 小麦籽粒中添加标准物质的色谱图
Fig. 3 Chromatogram of fortified herbicides in wheat grain
1. 氟噻草胺(fluflufenacet, 0.1 mg/kg); 2. 吡氟酰草胺(diflufenican, 0.2 mg/kg); 3. 呋草酮(flurtamone, 0.5 mg/kg)

4 结 论

本研究建立了小麦籽粒中吡氟酰草胺、氟噻草胺、呋草酮残留量气相色谱分析方法。样品采用丙酮浸泡提取, Florisil-SPE 小柱净化, 采用 HP-5(30 m×0.25 mm, 0.25 μm) 毛细管色谱柱, ECD 检测器外标法定量, 可同时实现 3 种化合物的定性定量分析。采用本方法对田间小麦籽粒样品中吡氟酰草胺、氟噻草胺、呋草酮残留量进行分析, 取得了良好效果。本方法同样适用于小麦面粉和小麦植株中 3 种农药成分残留量的检测。该方法操作简单快速, 灵敏度准确度高, 符合农药残留的检测要求。

参考文献

[1] 顾群, 张晓进. 吡啶酰胺类除草剂—吡氟酰草胺[J]. 现代农药, 2010, 9(1): 42–45.
Gu Q, Zhang XJ. Pyridinecarboxamide herbicide— diflufenican[J]. Mod

Agrochem, 2010, 9(1): 42–45.
[2] 丁丽, 付颖, 叶非. 酰胺类除草剂的研究和应用进展[J]. 农药科学与管理, 2011, 32(9): 22–26.
Ding L, Fu Y, Ye F. Progress in research and application of amide herbicides [J]. Pestic Sci Adm, 2011, 32(9): 22–26.
[3] Wysmulek A, Ciesielska A, Legowiak Z, *et al.* The efficacy of mixtures of diflufenican with isoproturon and diflufenican with chlorotoluron in winter cereals[J]. Prog Plant Prot, 2009, 49(2): 844–848.
[4] Koepke-Hill RM, Armel GR, Bradley KW, *et al.* Evaluation of flufenacet plus metribuzin mixtures for control of Italian ryegrass in winter wheat [J]. Weed Technol, 2011, 25(4): 563–567.
[5] Menne HJ, Laber B, Kerlen D, *et al.* Effectiveness of flufenacet in controlling resistant black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.)-comparison of glasshouse and field trial results [J]. Julius Kuhn Archiv, 2012, 1(434): 401–408.
[6] 刘磊, 邵辉, 李辉, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定小麦中吡氟酰草胺残留量[J]. 农药, 2015, 54(6): 431–433.
Liu, L, Shao H, Li H, *et al.* Determination of diflufenican residues in wheat by UPLC- MS/MS [J]. Agrochemicals, 2015, 54(6): 431–433.
[7] Wennberg E, Torstensson L. Gas-chromatographic methods for determination of diflufenican in soil [J]. Int J Environ Anal Chem, 1997, 67: 1–4
[8] Araujo L, Troconis ME, Cubillan D, *et al.* Single drop microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for the determination of diflufenican, mepanipyrim, fipronil, and pretilachlor in water samples [J]. Environ Monitor Assess, 2013, 185(12): 10225–10233.
[9] Fischer R, Hanel R, Siebers J, *et al.* Residue analysis of active substances from new plant protection products - 4th communication: dimethenamide, flufenacet, flurtamone, primisulfuron, tebufenozide [J]. Nachrichtenbl Dtsch Pflanzenschutzdienstes, 1999, 51(5): 105–114.
[10] 朱秀, 朱乐天, 魏敬怀, 等. 360g/L 吡氟酰草胺·氟噻草胺·呋草酮悬浮剂对冬小麦田杂草的防除效果[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2014, 11(29): 4–6.
Zhu X, Zhu LT, Wei JH, *et al.* Efficacy of Bacara Forte 360 SC on weeds in winter wheat fields [J]. J Yangtze Univ (Nat Sci Ed), Agric, 2014,

11(29): 4-6.

- [11] 路兴涛, 吴翠霞, 张勇, 等. 360g/L 吡氟·氟噻·呋草酮悬浮剂对冬小麦田杂草的防除效果及对后茬作物的安全性[J]. 杂草科学, 2013, 31(4): 42-45.

Lu XT, Wu CX, Zhang Y, *et al.* Efficacy of Bacara Forte 360 SC on weeds in winter wheat fields and its safety to succeeding crops [J]. Weed Sci, 2013, 31(4): 42-45

- [12] 石凯威, 汤丛峰, 李莉, 等. 叶菌唑在小麦中的残留消解及膳食风险评估[J]. 农药学报, 2015, 17(3): 307-312.

Shi KW, Tang CF, Li L, *et al.* Dissipation residues and risk assessment of metconazole in wheat [J]. Chin J Pestic Sci, 2015, 17(3): 307-312.

- [13] 吴丽华. 气相色谱法快速检测小麦中多种农药残留[J]. 食品与机械, 2013, 29(4): 71-75.

Wu LH. Fast determination of multi-residue pesticides in wheat by gas chromatography [J]. Food Mach, 2013, 29(4): 71-75.

(责任编辑: 姚菲)

作者简介



钱 训, 副研究员, 主要研究方向为农药分析和农产品质量安全。

E-mail: xunqian1968@sina.com



张少军, 博士, 研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。

E-mail: zhangshj601@163.com

“食品贮藏与保鲜研究与应用进展”专题征稿函

随着人们生活水平的提升, 消费者对食品的质量与安全性的要求也越来越高, 今天的消费者不仅要求食品新鲜, 而且要求食品保持原有的天然风味和营养结构, 因此如何再延长食品贮藏期的同时, 保持食品原有风味营养, 已成为人们研究的重点。

鉴于此, 本刊特别策划了“食品贮藏与保鲜研究与应用进展”专题, 由《食品安全质量检测学报》副主编、渤海大学食品科学研究院果蔬贮藏与加工研究所所长 冯叙桥 教授担任专题主编, 主要围绕食品贮藏保鲜工艺研究、食品贮藏保鲜新技术进展(如栅栏技术、生物酶技术、可食性包装膜、超高压等)、食品贮藏保鲜机制分析等或您认为本领域有意义的问题进行论述, 计划在2016年11月份出版。

本刊编辑部和 冯叙桥 教授 欢迎各位专家为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可, 请在2016年10月15日前通过网站或E-mail投稿。我们将快速处理并优先发表。

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoods@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部