

李智宁, 李湄川, 胡德禹, 等. 高效液相色谱法测定烟草上的噻森铜[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(1): 284–286.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.01.094

# 高效液相色谱法测定烟草上的噻森铜

李智宁, 李湄川, 胡德禹, 孟信刚, 李洙锐, 卢平, 张钰萍

(贵州大学精细化工研究开发中心, 绿色农药与农业生物工程国家重点实验室培育基地和教育部重点实验室, 贵州贵阳 550025)

**摘要:**为确保杀菌剂噻森铜在烟草上的安全使用, 建立了一种高效液相色谱(HPLC-DAD)测定烟草中噻森铜残留量的分析方法。烟叶样品经硫代硫酸钠溶液衍生和提取, 离心, 三氯乙烯净化, 乙酸乙酯萃取, 高效液相色谱检测。结果表明, 方法的平均回收率为 79.55%~98.16%, 相对标准偏差为 0.94%~7.55%, 噻森铜最低检出限为 1.8 ng, 噻森铜在烟叶样品中的最低检测限为 0.5 mg/kg, 符合农药残留分析的要求, 适合烟草基质中噻森铜残留量的准确检测。

**关键词:**噻森铜; 高效液相色谱; 烟草

**中图分类号:** O657.7<sup>+</sup>2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)01-0284-03

噻森铜[N,N'-甲撑-双(2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑)铜]是我国自主创制的噻二唑类有机铜杀菌剂, 是农业部全国农技中心重点推荐农药品种之一。其结构式见图 1。其熔点 300 ℃(分解), 20 ℃时不溶于水, 不溶于一般的有机溶剂, 只微溶于吡啶、二甲基甲酰胺, 遇强碱分解, 在酸性条件下稳定。由于其结构由噻唑基与铜离子 2 个基本基团组成, 故有着特殊的作用机制<sup>[1]</sup>。因此, 噻森铜防治作物细菌性病害和真菌性病害具有高效广谱, 低毒安全、环保无公害, 不易产生抗性及时效期长等优点<sup>[2]</sup>。

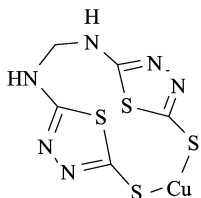


图1 噻森铜化学结构式

目前国内外对噻森铜的研究主要集中在田间药效<sup>[3-4]</sup>及杀菌活性<sup>[5]</sup>, 对其残留分析的研究未见报道, 为此查阅了一些与其结构相似的噻二唑类杀菌剂(噻菌铜/噻枯唑<sup>[6-11]</sup>)的残留分析方法, 如采用硫化钠溶液水解, XAD-7 树脂富集提取, 柱层析纯化, 液相色谱检测<sup>[6-7]</sup>; 硫化钠溶液和甲醇提取,

乙酸乙酯净化, 液相色谱检测<sup>[8-9]</sup>; 乙酸乙酯和二甲基甲酰胺混合液振荡提取, 离心净化, 液相色谱检测<sup>[11]</sup>。采用硫化钠衍生易产生对环境危害的副产物, 且柱层析净化耗时较长, 成本较高。鉴于此, 建立新颖的, 对环境友好的噻森铜残留检测方法十分必要。故本研究拟建立高效液相色谱法检测噻森铜在烟草中的残留, 旨在为噻森铜在烟草上及其他农作物上安全使用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

1.1.1 主要仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪(配 DAD 检测器); 涡旋混合仪(QL-901, 其林贝尔仪器制造公司生产); 旋转蒸发仪(RE-2000/2000A, 上海亚荣生化仪器厂生产); 氮吹仪(N-EVAP™, 上海安谱科学仪器有限公司生产); 水浴恒温振荡器(SHZ-A, 上海博讯实业有限公司生产); 循环水式多用真空泵(SHB-Ⅲ, 郑州长城科工贸有限公司生产)。

1.1.2 试剂 甲醇(分析纯、色谱纯), 乙腈(色谱纯), 乙酸乙酯、二甲基甲酰胺、冰乙酸、盐酸、氢氧化钠、硫代硫酸钠、碳酸钾和硫化钠均为分析纯; 超纯水, 硅藻土 Celite545, 无水硫酸钠(450 ℃ 烘烤 4 h, 于干燥器中保存); 噻森铜标准品(纯度 95.6%, 浙江东风化工有限公司提供); 2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑(AMT)标准品(纯度 98.0%, 购于北京百灵威有限公司)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 样品的提取和净化 衍生和提取: 称取 10.0 g 烟叶样品置于 150 mL 锥形瓶中, 然后加入 50 mL 0.5 mol/L 硫代硫酸钠溶液, 在 60 ℃ 恒温水浴中, 衍生反应振荡提取 2 h, 取

收稿日期: 2014-03-07

基金项目: 贵州省重大科技专项(编号: 20136024); 贵州省农业攻关项目(编号: 20083053)。

作者简介: 李智宁(1987—), 男, 河南开封人, 硕士研究生, 从事农药残留分析与环境毒理研究。E-mail: aning072@126.com。

通信作者: 胡德禹, 研究员, 硕士生导师。Tel: (0851) 8292170; E-mail: gzu\_dyhu@126.com。

[11] 韩瑜, 鲁英, 杨晓燕, 等. 人尿液中 4 种多环芳烃单羟基代谢产物的液相色谱-串联质谱联用检测法[J]. 环境与健康杂志, 2012, 29(10): 933-936.

[12] 徐媛, 刘文民, 赵景红, 等. 固相萃取搅拌棒萃取-气相色谱分析海水中的多环芳烃[J]. 分析化学, 2005, 33(10): 1401-1404.

[13] 牛宏亮, 周 围, 王 波. 气相色谱-质谱法测定烤羊肉串中的

多环芳烃[J]. 光谱实验室, 2010, 27(4): 1380-1384.

[14] 林直宏, 袁彦华, 侯镜德, 等. HPLC 测定油漆中的 16 种多环芳烃[J]. 中国测试, 2012, 38(4): 44-46, 102.

[15] 孙秀梅, 梅光明, 陈雪昌, 等. 高效液相色谱-荧光检测法测定水产品中 15 种多环芳烃[J]. 南方水产科学, 2012, 8(3): 48-53.

出冷却至室温,准确量取 40 mL 提取液于 50 mL 离心管中,待净化。

净化:在上述离心管中加入 6 g NaCl,以及 2.0 mol/L NaOH 使得溶液 pH 至 12~13,待絮状物杂质析出,并于 6 000 r/min 离心 5 min,将上清液转入 125 mL 分液漏斗中,再用 40 mL 含 2% 乙醇的三氯乙烯溶液预萃取 1 次,弃去下层有机相,上层用 1.0 mol/L HCl 调节 pH 至 3~4,用 50、40 mL 乙酸乙酯萃取 2 次,合并有机相,过无水硫酸钠,浓缩至近干,  $N_2$  吹干,甲醇定容至 1 mL,过 0.45  $\mu m$  滤膜,待 HPLC 检测。

1.2.2 色谱检测条件 分别对色谱柱 A: Eclipse XDB-C<sub>18</sub>, ZORBAX SB-C<sub>18</sub>, Phenomenex kinetex XB-C<sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm, 5  $\mu m$ ) 和色谱柱 B: Phenomenex C<sub>18</sub>/NH<sub>2</sub>, Lichrospher C<sub>18</sub>/CN/C<sub>8</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu m$ ) 进行筛选,同时改变流动相乙腈与 0.1% 乙酸水的体积比,确定最佳流动相。

## 2 结果与分析

### 2.1 色谱条件的选择

2.1.1 检测波长的选择 采用 DAD 检测器对噻森铜衍生化产物标准溶液 (AMT, 125  $\mu g/mL$ ) 进行全波长扫描 (扫描范围 210~400 nm),从而得到 AMT 的吸收波长和响应值之间的紫外吸收光谱图 (图 2),可见 AMT 的最大吸收峰出现在 312~314 nm 处。因此,确定 AMT 的最佳检测波长是 313 nm。

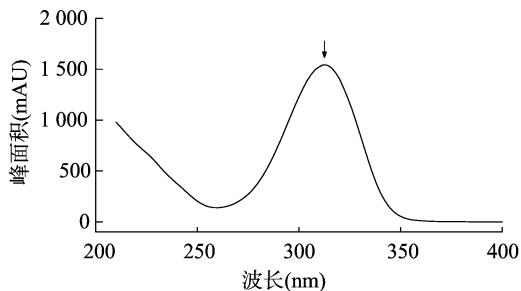


图2 噻森铜衍生化产物标准溶液(AMT)紫外吸收光谱图

2.1.2 色谱柱的选择 由图 3 可知,色谱柱 A 色谱柱短,响应值较大,出峰时间早,分析时间快,但是烟草基质复杂,会有杂质影响。图 4 显示,色谱柱 B (Phenomenex C<sub>18</sub> 色谱柱) 响应值较大,出峰时间合适,峰形尖锐,对称性好,与杂质峰分离效果较好。故本研究最终选择 Phenomenex C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu m$ ) 色谱柱。

2.1.3 流动相的选择 AMT 分子巯基上的质子可以电离,并测得其电离常数  $K_a = 1.8 \times 10^{-7}$ ,其溶液呈微酸性<sup>[12-13]</sup>;在水中的溶解度较小,但随温度的增加而增加,AMT 水溶液的 pH = 3.9,AMT 乙醇溶液的 pH = 4.6<sup>[14]</sup>;故本研究选择乙腈与乙酸水溶液作为流动相的组成溶剂,使流动相呈现一定的酸性,在实验中多次改变乙腈与乙酸水溶液的比例,最终确定了流动相为乙腈-0.1% 乙酸水 (17.5 : 82.5, 体积比),此时获得的峰形较好。

### 2.2 噻森铜标准曲线

用电子天平称取 0.026 1 g 噻森铜标准品于 100 mL 容量瓶中配制为 250 mg/L 的标准样品溶液备用。将 250 mg/L 的噻森铜标准样品溶液用甲醇稀释配得 1.0、2.5、5.0、10.0、

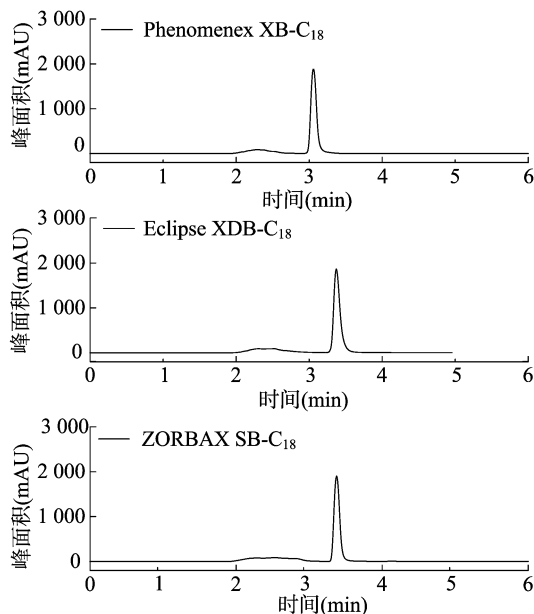


图3 色谱柱A分离效果图

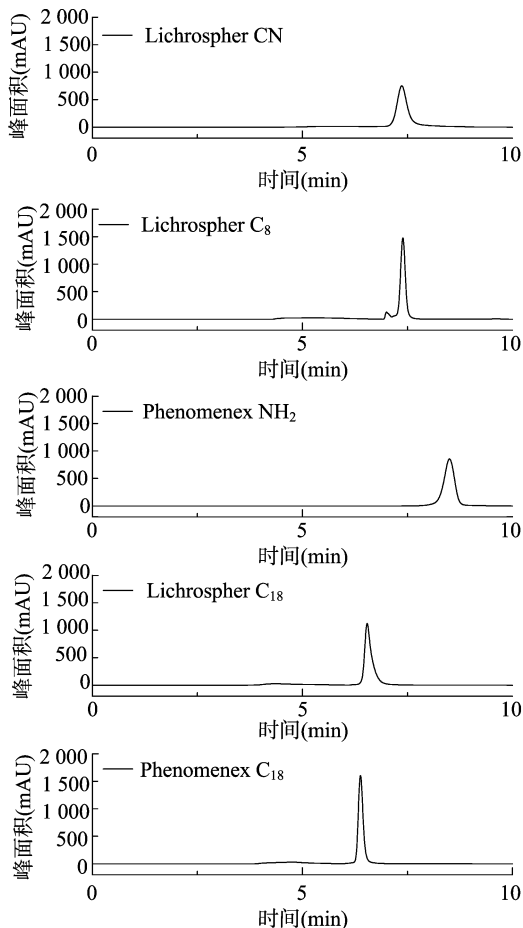


图4 色谱柱B分离效果图

25.0、50.0 mg/L 系列标准溶液,按照“1.2.2”节中样品前处理步骤进行噻森铜标准品衍生化,每个浓度重复 3 次,以噻森铜标准溶液浓度 ( $x$ ) 与色谱峰面积 ( $y$ ) 作标准曲线,浓度在 2.5~50 mg/L 线性范围内,线性方程为:  $y = 31.812 0x - 35.122 0$ ,相

关系数( $r$ )=0.999 8。

2.3 方法的准确度与精密度

取空白烟叶样品,添加不同浓度噻森铜标样,每个浓度设 5 次重复,按照“1.2.2”节的测定步骤进行添加回收率试验,

另设空白对照。测定结果见表 1,结果表明噻森铜在烟叶样品添加水平为 0.5 ~ 50.0 mg/kg 时,回收率分别为 75.92% ~ 107.40%, $RSD$  为 0.94% ~ 7.55%。试验结果均符合农药残留分析要求。

表 1 噻森铜在烟叶中的添加回收率 ( $n=5$ )

噻森铜添加水平 (mg/kg)	添加回收率 (%)						$RSD$ (%)
	I	II	III	IV	V	平均	
6.17	0.5	75.92	80.50	88.07	84.85	87.61	83.39
0.94	2.5	78.88	80.40	80.00	78.67	79.84	79.55
5.82	5.0	99.32	96.98	107.40	93.59	93.51	98.16
7.55	50.0	85.32	102.90	89.17	90.83	87.80	91.22

2.4 最低检出限和最低检测限

在建立的色谱分析条件下,外标法定量,以 3 倍信噪比 ( $S/N=3$ ) 确定仪器的最低检出限,结果表明,本研究建立的检测方法,噻森铜的最低检出限为 1.8 ng。噻森铜在烟草样品中的最低检测限为 0.5 mg/kg。烟叶空白样品(CK)、添加样品(TJ)和标准样品(BY)谱图如图 5 所示。

[2]张纯标,梁帝允,王体祥,等. 新颖杀菌剂——噻森铜[J]. 世界农药,2007,29(2):53-54.

[3]章 瑶,王 梅,张 勇,等. 20%噻森铜悬浮剂对水稻细菌性病害的田间药效研究[J]. 现代农业科技,2006(19):67.

[4]何荣林,邢家华,张纯标,等. 20%噻森铜悬浮剂防治水稻白叶枯病田间试验[J]. 现代农药,2007,6(2):44-45.

[5]邢家华,何荣林. 噻森铜对水稻白叶枯病和细菌性条斑病室内杀菌活性[J]. 农药研究与应用,2007,11(4):31-32.

[6]赵善仓,邓立刚,赵领军,等. 反相高效液相色谱法测定冬枣中噻菌铜的农药残留[J]. 农药,2007,46(8):555-556.

[7]毛江胜,邓立刚,李增梅,等. 高效液相色谱法测定西瓜中残留的噻菌铜[J]. 分析测试学报,2007,26(5):752-753.

[8]傅新文,陈红梅,张 滨. 噻菌铜在土壤中消解动态研究[J]. 网络财富,2010(11):192-193.

[9]胡秀卿,李 振,郭 铃,等. 烟草中噻菌铜残留量检测[J]. 浙江农业科学,2010(6):1389-1390.

[10]蒙缔亚,任立伟,覃章兰. 高效液相色谱法测定 20% 增效噻枯唑可溶性粉剂中噻枯唑含量[J]. 分析科学学报,2001,17(2):131-134.

[11]王志新,鹿泽启,徐维华,等. 叶枯唑在桃和土壤中的残留分析[J]. 安徽农业科学,2012,40(14):8116-8117,8142.

[12]Domaglina L, Przyborowski. Über die verwendbarkeit von 2-amino-1,3,4-thiadiazol-5-thiol in der analyse[J]. Zeitschrift für Analytische Chemie,1965,207:411-414.

[13]Joshi S R, Gupta C B, Tandon S N. 2-Amino-5-mercapto-1,3,4-thiadiazole as an analytical reagent for the gravimetric determination and extraction of mercury( II ) [J]. Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae,1973,37:2429-2434.

[14]武海顺,许小红,马文瑾,等. AMT 异构体互变机理的理论研究[J]. 物理化学学报,2003,19(5):408-413.

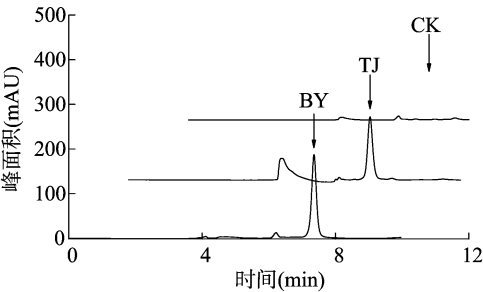


图5 烟叶空白样品(CK)、添加样品(TJ)和标准样品(BY) 三维检测谱图

3 结论

试验结果表明,采用高效液相色谱和紫外检测器建立的烟草中噻森铜残留分析方法,噻森铜最低检出限为 1.8 ng,噻森铜在烟草样品中的最低检测限为 0.5 mg/kg,满足国家标准或行业标准的检测要求,同时该方法经济、安全,有机溶剂用量较小,操作简单,杂质干扰较少,准确度高,重现性好,能保证检测分析数据的可靠性。

参考文献:

[1]陈春雨. 农药新品种——噻森铜 二氰· 锰锌[J]. 新农业,2011(7):47-47.