第5卷 第1期 环 境 化 学 Vol. 5, No. 1
1986年2月 ENVIRONMENTAL CHEMISTRY February 1986

稻米中农药敌枯双降解物的高效液相色谱测定法

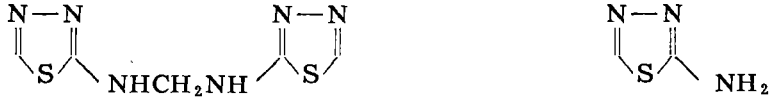
薛慰灵 黄克武* 裴雅群

（中国科学院环境化学研究所）

摘 要

本文提出了一种分析在稻米中的农药敌枯双降解物敌枯唑的高效液相色谱法。样品用丙酮提取，经氧化铝柱层析净化后，以氨基键合固定相、氯仿-乙醇-二甲基甲酰胺为流动相，紫外检测器测定，外标法定量。方法平均回收率为84%，最低检出浓度为0.003 ppm。用提出的方法分析了田间施药的稻米样品13个。

敌枯双(N, N′-双〔1, 3, 4-噻二唑-2-基〕甲烷二胺，Ⅰ)及其降解物——敌枯唑(1, 3, 4-噻二唑-2-基胺，Ⅱ）对防治水稻白叶枯病等作物细菌性病害有很好的药效。特别是敌枯双显示更高的杀菌活性[1]，在过去几年中，在我国稻区曾广为试验应用。但是，动物试验表明Ⅰ和Ⅱ都有较强的致畸作用。在接触这类化合物的一些人员身上曾发现了不同程度的舌炎、角质层皮炎、过尿酸血症等，并在面部和外阴部出现红斑。因此，它们的实际应用受到了限制。



（Ⅰ）N, N′-bis (1, 3, 4-thiadiazol-2-yl) methanediamine；

（Ⅱ）1, 3, 4-thiadiazol-2-ylamine

敌枯双、敌枯唑化学结构式

近来，国内外对Ⅰ、Ⅱ的毒理、流行病学及抗肿瘤药理等仍在进行深入的研究，在生物载体中，非放射性的Ⅰ和Ⅱ的分析方法也有报导。Ackerly等[2]曾提出过液相色谱法定量分析人类和鼠类血浆中的Ⅱ；薛慰灵等以薄层色谱法证明在稻米中Ⅰ已降解为Ⅱ，并半定量地测定了稻米中Ⅱ的残留量。本文报导一种高效液相色谱法，可以较准确、快速地测定稻米中敌枯唑的残留量。本法可以用于毒理学、流行病学的研究和环境监测。

* 现在北京化学纤维工学院化学系。

实 验 方 法

试剂和仪器

敌枯双、敌枯唑标准品，原中国农科院四川农药所合成，本实验室纯化。丙酮、甲醇为北京化工厂出品，分析纯，经蒸馏后使用。氯仿、95%乙醇、二甲基甲酰胺为北京化工厂出品，分析纯。层析用中性氧化铝，北京化工厂出品。助滤剂，B.D.H. 进口分装。氨基键合固定相Li Chrosorb NH_2，10μ，E.Merck出品。

液相色谱仪，Perkin-Elmer Series-3型，配LC-15紫外检测器、日立056型记录仪。不锈钢色谱柱，25mm×4.6mm。Sohxlet式酯肪提取器。K.D.浓缩器带10ml Mills管。旋转蒸发器。

稻米中敌枯双残留物的提取和净化

将糙米样品粉碎通过40目筛，取30g置于滤纸筒内，在脂肪提取器上以80ml 丙酮提取6 h。取出提取液，在旋转蒸发器中减压浓缩至约1 ml（水浴温度低于50℃）。加入约10ml 95%乙醇和1 g助滤剂，摇动后过滤，用3 × 5 ml 95%乙醇洗瓶和滤饼。将滤液和洗液合并，在旋转蒸发器中减压浓缩至约0.5ml（水浴温度低于50℃）。然后将残余物通过一根装有10g中性氧化铝的玻璃柱（300mm×15mm），用30ml氯仿淋洗后，再用40ml 10%乙醇/氯仿淋洗。收集后面35ml淋洗液，用K.D.浓缩器减压浓缩至近干（水浴温度低于50℃），以少量乙醇冲洗浓缩器内壁，并配制成1.0ml供测定（V_1）。

液相色谱操作

1. 操作条件　用微量注射器移取一定量的敌枯双、敌枯唑的标准溶液(10μg/ml)，通过柱头隔膜进样器注入氨基键合固定相色谱柱。以氯仿-乙醇-二甲基甲酰胺(95:5:02,体积比)为流动相（流速2ml/min）单泵等强度洗脱。用UV检测器在254nm波长、0.032 AUFS进行检测，记录仪满标10mV，低速5mm/min可以得到很好的分离，见图1。用敌枯唑标准溶液，得到线性范围为80ng以下，最小检测量为2 ng，见图2。测定未知样品时，将经过净化的试液10—25μl注入仪器，同上条件测出峰高值，用外标法定量，求出进样体积中敌枯唑的重量（A）。

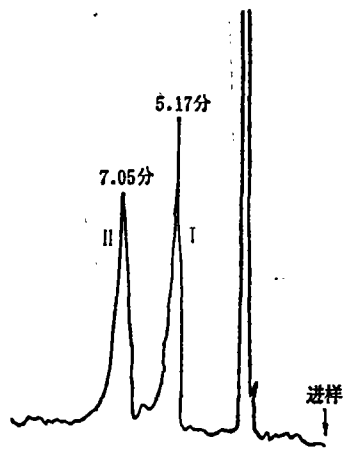


图1　敌枯双(Ⅰ)、敌枯唑(Ⅱ)标样色谱图

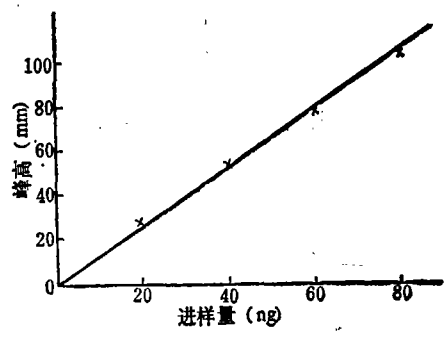


图2　敌枯唑工作曲线

2. 结果计算　根据进样体积中敌枯唑的

量，按下列公式可以计算出被测稻米样品中敌枯唑残留量，以G表示重量（μg），以C表示浓度（ppm）

$$G = \frac{A \times V_1}{V_2} \times 1000; \qquad C = \frac{G}{W \; R}$$

A：进样体积中敌枯唑的重量（μg）；V_1：净化后待测样品溶液的体积（ml），见前；V_2：进样体积（μl）；W：测定稻米样品的重量（g）；R：平均回收率。

结 果 和 讨 论

1. 敌枯双、敌枯唑在几种色谱柱上的行为

敌枯双、敌枯唑的极性较强，又有一定碱性，实验表明在硅胶柱上，选用氯仿-异丙醇-醋酸（40:10:1）为流动相，敌枯双、敌枯唑有合适的保留也能与样品中极性较弱的杂质分离，但是色谱峰明显地不对称，拖尾现象较严重。在反相ODS柱上，用通常的甲醇-水或乙腈-水体系作流动相，它们没有保留。Ackerly[2]等也发现同样的现象，但他们加用1-辛烷基磺酸为离子对试剂，在反相 C_{18} μ Bondapak 柱上可以分离测定血浆中的敌枯唑。我们采用以固/液分配为主的氨基键合固定相，选择合适的流动相，敌枯双、敌枯唑及杂质可以得到满意的互相分离。在多种流动相体系中，三氯甲烷与5％左右的甲醇或乙醇或异丙醇的混合物均可用于标准品的分离测定。但在实际样品测定中，发现三氯甲烷-乙醇体系能更好地分开杂质，加入少量二甲基甲酰胺(95:5:0.2)分离效果最好，适应性较广泛可用于不同来源的稻米样品的测定（见图3）。

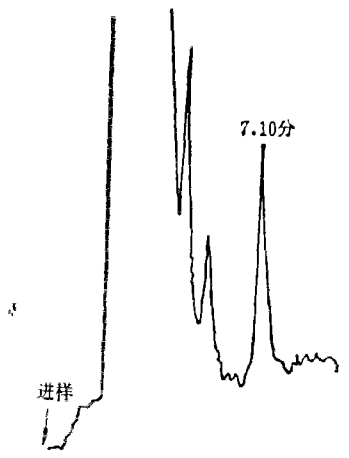


图 3 含0.05 ppm 敌枯唑稻米样品色谱图

2. 方法回收率的测定

分别在30g空白糙米粉中加入不同量的敌枯唑，然后按前述方法提取、净化、测定。每一种浓度的样品重复二至三次测定，所得平均回收率数据列于表1中。总平均回收率为84％。薛慰灵等[3]已发现喷施敌枯双的稻米中残留物为敌枯唑。用本法在测定的稻米样品中也未检出敌枯双，所以回收率的测定、最低检出浓度及田间施药稻米样品

表 1 回 收 率 数 据

稻米中添加敌枯唑浓度 (ppm)	加 入 量 (μg)	测出敌枯唑的重量 (μg)	回 收 率 (％)
0	0	未检出	—
0.05	1.5	1.3	86
0.1	3.0	2.8	93
0.2	6.0	4.4	74

测定均以敌枯唑为对象。

3. 最低检出浓度

从30g稻米经过净化处理的提取液中（体积$V_1=1$ ml）吸取一系列体积进行色谱分析，发现进样25μl时杂质峰对敌枯唑测定没有干扰（V_2）。将此数据、最小检测量0.002μg（A）及回收率（$R=84\%$）代入前计算公式，可计算出本方法对稻米中敌枯唑的最低检出浓度为0.003 ppm。

4. 稻米样品中残留量测定

田间试验设计、施药、取样均由江苏省建湖县农作物病虫害预测预报站进行。试验所用农药为建湖县农药厂生产的12.5%敌枯双胶悬剂，施药时以水稀释至一定浓度后喷洒。供试水稻品种为汕优二号。试验田全部于1983年9月26日收获、脱粒、自然干燥。稻谷按不同处理分别用种子袋包装、室温防湿防晒贮放。1984年5月测定前去壳粉碎，按本文所述方法提取、净化、测定。所得结果见表2。敌枯双不稳定，在作物和动物体内可被降解为敌枯唑，后者较稳定可以检出[1,3]。稻米中敌枯唑的残留量与施药条件、气候情况有较大关系，一般与施药距收获的时间长短有反相关关系，与施药量有正相关关系。如果不晚于水稻杨花期施药，其残留量低于0.08 ppm[3]，收获后，残留量随存放时间无大变化。本次试验，施药是按防治水稻白叶枯病的技术要求进行的，故残留量较低，均在0.08 ppm以下，有些样品中残留量低于最低检出浓度。另外，三个用敌枯双生产厂废水灌溉的稻米样品中，敌枯唑残留量亦较低，未造成严重污染。

表2　喷洒敌枯双稻米中测出敌枯唑的残留量

样品号	试验地点	施药浓度	施药时间（月/日）	残留量（ppm）
1	江苏省建湖	1/750	7/24, 8/5, 8/29	0.022
2	县试验田	1/750	7/24, 8/5	<0.003
3	县试验田	1/750	7/24	<0.003
4	县试验田	1/750	7/24	<0.003
5	县试验田	1/750	8/5, 8/15, 8/29	<0.003
6	县试验田	1/750	8/5, 8/15	<0.003
7	县试验田	1/750	8/5	<0.003
8	县试验田	1/500	8/29	0.058
9	县试验田	1/750	8/29	0.078
10	县试验田	1/1000	8/29	0.023
11	建湖县某生产队用敌枯双污水灌溉			0.049
12	建湖县某生产队用敌枯双污水灌溉			<0.003
13	建湖县某生产队用敌枯双污水灌溉			<0.003

致谢：感谢江苏省建湖县人民政府对本工作的支持、协助。

参考文献

〔1〕Aramaki Y, Shimamoto K, 1976. *Takeda Kekyushoho*, 35:68
〔2〕Ackerly C C, Newman R A, Myers C et al., 1982. *J. Chromatog.* 230:175
〔3〕薛慰灵、刘钰龄、樊　铁，1985，*Pestic.Sci.*，16:59

1985年6月7日收到。