

◆ 农药分析 ◆

蛇床子素的高效液相色谱分析

李 婷,许艳秋,安万霞,王广成,高立明,陈丙坤,吴春先

(四川省农药检定所,成都 610041)

摘要:采用高效液相色谱法,以乙腈+水为流动相,使用ZORBAX SB-C₁₈不锈钢柱和二极阵列检测器,在321 nm波长下对蛇床子素水乳剂中有效成分进行定量检测。结果表明,方法的线性相关系数为0.999 8,标准偏差为0.002 3,变异系数为0.24%,平均回收率为101.11%。

关键词:蛇床子素;高效液相色谱;分析

中图分类号:TQ 450.7 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2017.02.011

Analysis of Cnidiadin by HPLC

LI Ting, XU Yan-qiu, AN Wan-xia, WANG Guang-cheng, GAO Li-ming, CHEN Bing-kun, WU Chun-xian

(Sichuan Province Institute for the Control of Agricultural, Chengdu 610041, China)

Abstract: A method for quantitative analysis of cnidiadin was described by HPLC, using acetonitrile and water as mobile phase, on ZORBAX SB-C₁₈ column and DAD, at 321 nm wavelength. The results showed that the linear correlation coefficient of the method was 0.999 8, the standard deviation was 0.002 3, the variation coefficient was 0.24%, the average recovery was 101.11%.

Key words: cnidiadin; HPLC; analysis

蛇床子素(cnidiadin)CAS登录号为[484-12-8],分子式为C₁₅H₁₆O₃,化学名称为7-甲氧基-8-异戊烯基香豆素。其结构式见图1。

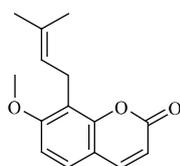


图1 蛇床子素结构图

蛇床子素是从伞形科植物中提取分离出的天然香豆素类化合物,外观为黄绿色至白色结晶粉末,不溶于水,易溶于丙酮、甲醇、乙醇等多种常用溶剂^[1]。蛇床子素作为植物源杀虫剂,以触杀为主,胃毒为辅,药剂进入昆虫体内后,作用于神经系统,导致害虫肌肉非功能性收缩,最终衰竭死亡。其对多种害虫,如菜青虫、茶尺蠖、棉铃虫、甜菜夜蛾以及各种蚜虫等有效^[2]。作为植物源杀菌剂,其通过抑制病原菌对葡萄糖和钙的吸收,阻碍病原菌细胞壁

中几丁质的沉淀,从而造成菌丝断裂,孢子产生、萌发、粘附、入侵及芽管伸长受阻^[3-4]。

本文建立反相高效液相色谱法对蛇床子素水乳剂进行定量分析。方法操作简便、快速、准确,适用于企业生产过程产品质量控制。

1 试验部分

1.1 试剂与仪器

乙腈(色谱纯)、水(蒸馏水)、98%蛇床子素标样,北京百灵威科技有限公司;1%蛇床子素水乳剂。

Waters 2695高效液相色谱仪,具有二极管阵列检测器(2996)和自动进样器;Empower I色谱工作站;色谱柱:不锈钢柱(150 mm × 4.6 mm),内装ZORBAX SB-C₁₈填充物(5 μm);过滤器:滤膜孔径约0.45 μm。

1.2 液相色谱操作条件

流动相:V(乙腈):V(水)=60:40;流速:1.0 mL/min;柱温:30℃;检测波长:321 nm;进样体积:

收稿日期:2016-09-01

作者简介:李婷(1985—),女,四川省遂宁市人,农艺师,主要从事农药管理和农药检测工作。E-mail: liting5114@163.com

10 μ L。在此条件下,蛇床子素保留时间约为6.36 min。

蛇床子素标样和水乳剂的高效液相色谱图见图2、图3。

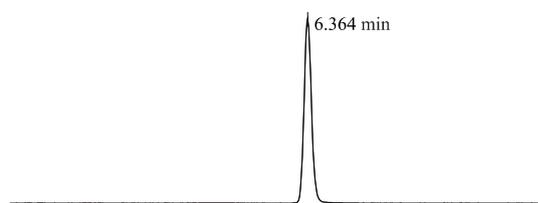


图2 蛇床子素标样高效液相色谱图(321nm)

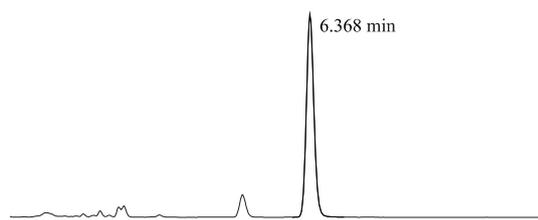


图3 蛇床子素水乳剂高效液相色谱图

1.3 测定步骤

1.3.1 溶液的配制

称取蛇床子素标样约0.03 g(精确至0.000 2 g)于50 mL容量瓶中,用乙腈溶解并稀释至刻度,超声10 min。移取上述标样母液10 mL于50 mL容量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,制得标样溶液。

称取含蛇床子素0.006 g(精确至0.000 2 g)左右的试样于50 mL容量瓶中,用乙腈溶解并稀释至刻度,超声10 min,过滤、待测。

1.3.2 测定与计算

在1.2液相色谱操作条件下,待仪器基线稳定后,连续注入数针标样溶液,至相邻2针的响应值相对变化 $<1.5\%$ 。按照标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液的顺序进样测定。

将测得的2针试样溶液以及试样前后2针标样溶液中蛇床子素的峰面积分别进行平均,然后按下式计算试样中蛇床子素的质量分数 $w(\%)$ 。

$$w/\% = \frac{A_{\text{样}} \times m_{\text{标}} \times P_{\text{标}}}{A_{\text{标}} \times m_{\text{样}} \times 5}$$

式中: $A_{\text{标}}$ 、 $A_{\text{样}}$ 分别为标样溶液、试样溶液中蛇床子素峰面积的平均值; $m_{\text{标}}$ 、 $m_{\text{样}}$ 分别为标样和试样的质量,g; $P_{\text{标}}$ 为标样中蛇床子素的质量分数,%。

2 结果与讨论

2.1 检测波长的选择

通过Waters二极管阵列检测器2996的数据采集功能,得到蛇床子素200~400 nm紫外波长扫描图

(图4)。从图4中看出,蛇床子素的最大吸收波长为321 nm,其在257 nm处也有相对较好的吸收。当检测波长为321 nm时,基线噪音小,杂质峰干扰少,故将方法检测波长定为321 nm。

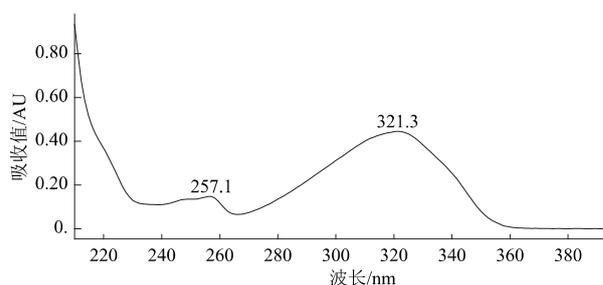


图4 蛇床子素紫外吸收光谱图

2.2 流动相的选择

依据蛇床子素的理化性质,选用乙腈溶解样品。流动相的选择则根据蛇床子素的特点,对不同体积比的乙腈+水在色谱柱上进行选择比较。当乙腈+水(体积比60:40)为流动相,流速为1.0 mL/min时,有效成分与杂质能很好分离,峰形对称,基线平稳,且分析时间适中。

2.3 线性相关性试验

称取蛇床子素标样配制质量浓度分别为0.059 3, 0.095 7, 0.120 5, 0.143 8, 0.180 0, 0.236 3 g/L的标样溶液。在1.2色谱操作条件下进行分析,以蛇床子素质量浓度为横坐标,相应峰面积为纵坐标,绘制标准曲线(见图5)。方法线性方程为 $y=35\ 134\ 163x-41\ 499$,线性相关系数(R^2)为0.999 8。

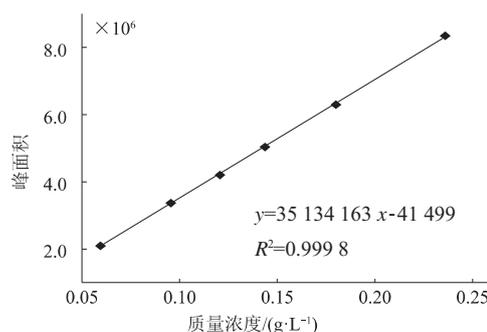


图5 蛇床子素线性关系图

2.4 精密度试验

从同一水乳剂中准确称取5份试样,在1.2反相高效液相色谱操作条件下进行测定。测得蛇床子素的标准偏差为0.002 3,变异系数为0.24%(表1)。

2.5 准确度试验

称取6份试样,分别准确加入不同体积的标样

(下转第48页)

元, 预计未来谷物除草剂市场还会持续增长, 2019年谷物除草剂全球市场有望达到53.58亿美元^[6]。目前, 市售氟氯吡啶酯的产品多为复配产品, 且配伍品种多为陶氏益农领先品种^[17]。氟氯吡啶酯2014年全球销售额为2.9亿美元, 氯氟吡氧乙酸2014年全球销售额为2.75亿美元, 双氟磺草胺2014年销售额为2.2亿美元^[18]。一方面复配有效延长了氟氯吡啶酯的生命周期, 延缓了抗性的产生和发展。另一方面, 通过双氟磺草胺、氟氯吡啶酯等重要品种的带动, 氟氯吡啶酯市场份额会得到有效提高, 丰富公司产品线, 扩大应用领域。陶氏益农对氟氯吡啶酯也寄予了厚望, 预计其年峰值销售额将突破4亿美元。

参考文献

- [1] Epp J B, Alexander A L, Balko T W, et al. The Discovery of A-lylex™ Active and Rinskor™ Active: Two Novel Auxin Herbicides [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2015, 24 (3): 362-371.
- [2] 苏少泉. 激素类除草剂的发展与杂草抗性 [J]. *农药研究与应用*, 2011, 15 (6): 1-6.
- [3] 姚振威, 陈良, 曲春鹤, 等. Rinskor™ active——芳香基吡啶甲酸类除草剂新成员 [J]. *世界农药*, 2015, 37 (2): 62-63.
- [4] University of Hertfordshire. Pesticide Properties DataBase [DB/OL]. [2017-02-02]. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/2631.htm#trans>.
- [5] 徐利保, 杨吉春, 杨浩, 等. 2016年公开的新农药品种 [J]. *农药*, 2016, 55 (11): 838-839.
- [6] Balko T W, Daeuble J F, Schmitzer P R, et al. 6-(Poly-substituted-aryl)-4-aminopicolinates and Their Use as Herbicides: US, 2008051596 [P]. 2008-02-28.
- [7] 付庆, 李娇, 黄林, 等. 氟氯吡啶酯的合成路线评述 [J]. *浙江化工*,

2016, 47 (4): 11-13.

- [8] 柏亚罗. 陶氏益农技术总监: 评析全球除草剂市场及自家的两个新产品 [DB/OL]. (2017-01-03) [2017-02-02]. http://www.agroinfo.com.cn/other_detail_3625.html.
- [9] Lee S, Sundaram S, Armitage L, et al. Defining Binding Efficiency and Specificity of Auxins for SCFTIR1/AFB-Aux/IAA Co-receptor Complex Formation [J]. *ACS Chem Biol*, 2014, 9 (3): 673-682.
- [10] 柏亚罗. 氟氯吡啶酯和氟氯吡啶酯“双骄”合璧, 打造除草剂市场新天地 [DB/OL]. (2016-10-20) [2017-02-02]. http://www.agroinfo.com.cn/news_detail_7783.html.
- [11] 李美, 高兴祥, 房锋, 等. 氟氯吡啶酯与双氟磺草胺复配的田间除草效果及其对作物安全性评价 [J]. *植物保护学报*, 2016, 43 (3): 514-522.
- [12] 农业部农药检定所. 农药综合查询系统 [EB/OL]. [2017-02-02]. <http://www.chinapesticide.gov.cn/hysj/index.jhtml>.
- [13] European Commission. EU Pesticides Database [EB/OL]. [2017-02-23]. <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=2317>.
- [14] United States Environmental Protection Agency. Pesticide Product and Label System [EB/OL]. [2017-02-23]. <https://iaspub.epa.gov/apex/pesticides/f?p=PPLS:17:::NO:::>
- [15] 柏亚罗, 顾林玲. 水稻用三大类农药市场及产品开发生态 [J]. *现代农药*, 2017, 16 (1): 1-7.
- [16] Phillips McDougall. AgriService. Crops Section—2014 Market [R]. Phillips McDougall—Agriservice, 2015.
- [17] 柏亚罗. 陶氏益农独领风骚, 氟氯吡啶酯增长迅速, 氟氯吡啶酯或将领军市场 [DB/OL]. (2016-08-12) [2017-02-02]. http://www.agroinfo.com.cn/other_detail_2950.html.
- [18] Phillips McDougall. AgriService. Products Section—2014 Market [R]. Phillips McDougall—Agriservice, 2015.

(责任编辑: 柏亚罗)

(上接第 35 页)

溶液, 在 1.2 色操作条件下进行分析。测得蛇床子素的平均回收率为 101.11% (表 2)。

表 1 蛇床子素精密度试验结果

序号	质量分数/%	平均值/%	标准偏差	变异系数/%
1	0.964 0			
2	0.961 5			
3	0.966 2	0.964 5	0.002 3	0.24
4	0.963 4			
5	0.967 2			

表 2 方法准确度试验结果

序号	理论值/mg	实测值/mg	回收率/%	平均回收率/%
1	5.490	5.582	101.67	
2	5.584	5.639	100.98	
3	5.670	5.699	100.51	
4	5.622	5.727	101.87	101.11
5	5.747	5.736	99.79	
6	5.698	5.802	101.83	

3 结论

通过对高效液相色谱分析条件进行选择与优化, 建立了蛇床子素水乳剂的高效液相色谱分析方法。本方法的准确度和精密度较高, 线性关系良好, 是蛇床子素水乳剂的一种可行分析方法。

参考文献

- [1] 孙小兵, 叶吉琴. 蛇床子素研究进展 [J]. *大众科技*, 2009 (2): 132-133.
- [2] 石志琦, 陈浩. 新型植物源创制农药蛇床子素 [J]. *世界农药*, 2010, 32 (6): 52-54.
- [3] Shi Z Q, Shen S G, Zhou W, et al. *Fusarium graminearum* Growth Inhibition Due to Glucose Starvation Caused by Osthol [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2008, 9 (3): 371-382.
- [4] 石志琦. 蛇床子素作为杀菌剂的活性研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2008.

(责任编辑: 顾林玲)