

◆ 农药分析 ◆

12%甲维·茚虫威水乳剂高效液相色谱分析

王腾达, 马超, 张力卜, 李佳浩, 段小莉, 王佰涛, 徐军*, 陈昶*

(中国农业科学院 植物保护研究所 北京中保绿农业科技集团有限公司 北京 100193)

摘要:采用反相高效液相色谱法对12%甲维·茚虫威水乳剂中有效成分质量分数进行检测。使用C₁₈为填充物, 甲醇和氨水溶液为流动相, 采用梯度洗脱的方法, 同时对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和茚虫威进行定量分析。以CHIRALCEL OD-H为填充物, 异丙醇、乙醇、正己烷为流动相, 对茚虫威的有效体进行分离。甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和S-茚虫威线性相关系数分别为0.999 9和0.999 5, 标准偏差分别为0.046和0.130, 变异系数分别为2.07%和1.20%, 平均回收率分别为100.34%和99.85%。

关键词:甲氨基阿维菌素苯甲酸盐; 茚虫威; 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.1671-5284.2018.02.009

Analysis of Emamectin Benzoate + Indoxacarb 12% EW by HPLC

WANG Teng-da, MA Chao, ZHANG Li-bo, LI Jia-hao, DUAN Xiao-li, WANG Bai-tao, XU Jun*, CHEN Chang*

(Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing Zhongbao Green Agricultural Technology Group Co., Ltd., Beijing 100193, China)

Abstract: The mass fractions of emamectin benzoate and indoxacarb in 12% EW were detected by HPLC, using C₁₈ as the filler, methanol and ammonia solution as mobile phase, with gradient elution method. With CHIRALCEL OD-H as filler, isopropyl alcohol, ethanol, *n*-hexane as mobile phase, the effective body of the indoxacarb was separated. The results showed that the linear correlation coefficients of emamectin benzoate and S-indoxacarb were 0.999 9 and 0.999 5, the standard deviations were 0.046 and 0.130, the variation coefficients were 2.07% and 1.20%, the average recoveries were 100.34% and 99.85%, respectively.

Key words: emamectin benzoate; indoxacarb; HPLC; analysis

1984年, 美国Merk公司对阿维菌素的4"-(α -1-齐墩果糖基)- α -1-齐墩果糖上的羟基进行了衍生化处理, 得到了甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(emamectin benzoate)^[1]。经实验发现其具有较好的杀虫和杀螨活性, 遂作为一种新型高效抗生素类杀虫杀螨剂加以利用。甲氨基阿维菌素苯甲酸盐, 简称甲维盐, 以发酵产品阿维菌素B₁为原料合成而得, 含有B_{1a}和B_{1b}组分, 通常B_{1a}组分质量分数大于90%。

甲氨基阿维菌素苯甲酸盐对鳞翅目害虫幼虫和螨类的活性极高, 具有胃毒和触杀作用。其通过增强抑制神经递质(如谷氨酸盐和氨基丁酸)的作用, 使大量氯离子进入神经细胞, 影响细胞功能, 扰

乱正常神经传导, 使昆虫瘫痪死亡^[2]。

茚虫威(indoxacarb)是由美国杜邦公司在1992年开发, 并于2001年登记上市的噁二嗪类杀虫剂^[3]。

茚虫威的作用机制与目前各类杀虫剂作用机制均有差异, 通过阻断钠通道, 从而导致昆虫运动失调、停止取食、麻痹并死亡。茚虫威具有杀幼虫和杀卵作用, 对各龄期的幼虫都有效, 具有胃毒和触杀作用。

茚虫威有1个手性中心, 存在S型和R型2种异构体, 其中仅S型异构体有杀虫活性, 但开发的产品多为R、S型混合外消旋体^[4]。

甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和茚虫威复配, 可以

收稿日期: 2017-12-12

作者简介: 王腾达(1994—), 男, 昆明市人, 工程师, 主要从事农药产品的分析与检测工作。E-mail: live_tyj@live.com

通讯作者: 徐军, 男, 副研究员, 主要从事农药制剂研究工作。E-mail: Junxu@ippccas.cn;

陈昶, 男, 研究员, 主要从事农药应用研究工作。E-mail: xsfz@zhongbaony.com

减缓害虫、害螨的抗药性发展速度,另外,茚虫威起效慢、持效期长的特点可以和甲氨基阿维菌素苯甲酸盐起效迅速、持效期短的特点形成互补,提高了防治效果^[5]。

甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和茚虫威单剂的分析方法国内已有报道^[4,6],但两者复配制剂的高效液相色谱分析方法尚未见报道。本方法采用梯度洗脱,同时检测12%甲维·茚虫威水乳剂中2种有效成分的质量分数。方法较为快速、简便,相对于等度洗脱,缩短了出峰时间,节约了成本。

1 实验部分

1.1 有效成分质量分数测定方法

1.1.1 试剂和溶液

甲醇(色谱纯);氨水(分析纯),北京试剂厂提供;水(新蒸2次蒸馏水);甲氨基阿维菌素苯甲酸盐标样($\geq 99.0\%$)、茚虫威标样($\geq 98.0\%$),中国农业大学理学院提供;12%甲维·茚虫威水乳剂(2%甲氨基阿维菌素苯甲酸盐+10%茚虫威),北京中保绿农业科技集团有限公司生产。

1.1.2 仪器

Waters E2695 高效液相色谱仪;Waters 2489 UV/Visible检测器;岛津UV-1800紫外分光光度计;Waters Sunfire 不锈钢色谱柱(150 mm×4.6 mm),内装C₁₈填充物,粒径5 μm,过滤器,滤膜孔径为0.45 μm。

1.1.3 色谱操作条件

流动相A:甲醇;流动相B:0.08%氨水溶液(质量分数)。

梯度洗脱:0~6 min 80% A+20% B(体积分数,下同);6~8 min 80% A→92% A;8~11 min, 92% A;11~13 min 92% A→80% A。流速:1.0 mL/min;进样量:5 μL;检测波长:240 nm;柱温:25℃。保留时间:茚虫威约5.4 min;甲氨基阿维菌素苯甲酸盐B_{1b}约10.1 min, B_{1a}约10.9 min,色谱图见图1、图2。

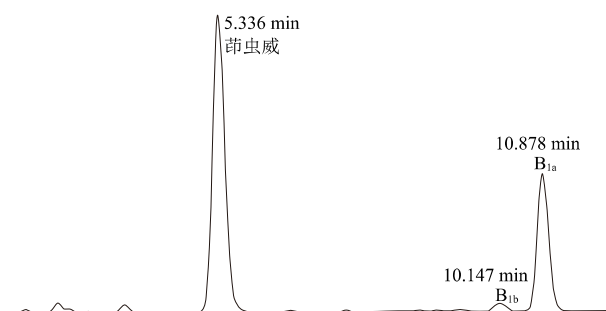


图1 标样色谱图

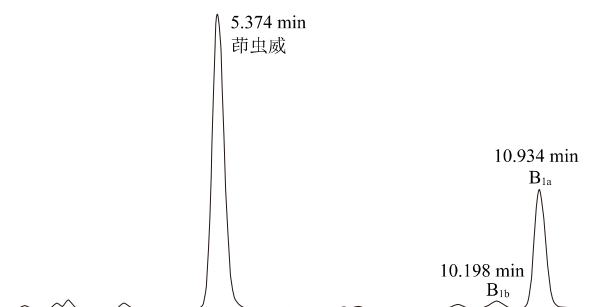


图2 甲维·茚虫威水乳剂色谱图

1.1.4 溶液配制

称取甲氨基阿维菌素苯甲酸盐标样约0.025 g(精确至0.000 2 g)、茚虫威标样0.125 g(精确至0.000 2 g),置于50 mL容量瓶中,加入40 mL甲醇,超声15 min至标样完全溶解,用甲醇稀释至刻度,混匀制得标样溶液。

称取约含甲氨基阿维菌素苯甲酸盐0.025 g、茚虫威0.125 g的试样,置于50 mL容量瓶中,加入40 mL甲醇,超声15 min至样品完全溶解,用甲醇稀释至刻度,混匀制得试样溶液。

1.1.5 测定

在1.1.3所述的色谱条件下,平衡色谱柱,待检测器基线稳定后,连续进数针标样溶液,计算各针相对响应值。待相邻2针响应值变化小于1.5%后,按照标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液的顺序进行测定。

1.1.6 计算

试样中的甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(或茚虫威)质量分数 $w_1(\%)$ 按式(1)进行计算。

$$w_1/\% = \frac{A_2 \cdot m_1 \cdot P}{A_1 \cdot m_2} \quad (1)$$

式中: A_1 —标样溶液中甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(或茚虫威)色谱峰面积的平均值; A_2 —试样溶液中甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(或茚虫威)色谱峰面积的平均值; m_1 —甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(或茚虫威)标样的质量(g); m_2 —试样的质量(g); P —标样中甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(或茚虫威)的质量分数(%)。

1.2 S-茚虫威的测定

1.2.1 试剂和溶液

正己烷、异丙醇、乙醇(色谱纯);水(新蒸2次蒸馏水);S-茚虫威标样($\geq 81.0\%$),中国农业大学理学院提供。

1.2.2 仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪,具可变波长紫外检测器;Agilent 色谱工作站;色谱柱:不锈钢柱(250

mm × 4.6 mm), 内装CHIRALCEL OD-H填充物, 粒径5 μm。

1.2.3 色谱操作条件

检测波长 285 nm; 流动相: V(异丙醇): V(乙醇): V(正己烷)=30:10:60; 流速 0.8 mL/min; 进样量 20 μL; 柱温 25℃。保留时间: R-茚虫威约8.4 min, S-茚虫威约10.9 min。典型色谱图见图3、图4。

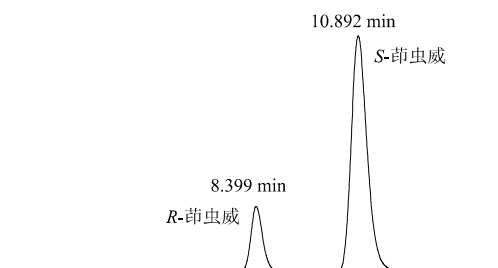


图3 S-茚虫威标样液相色谱图

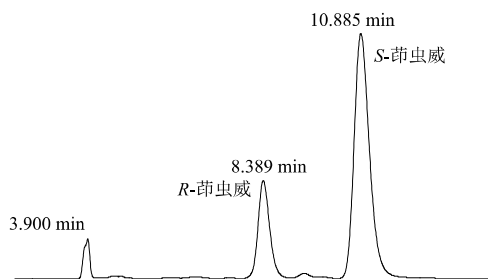


图4 试样液相色谱图

1.2.4 溶液的配制

称取S-茚虫威标样约0.010 g (精确至0.000 2 g), 置于50 mL容量瓶中, 先用适量乙醇溶解, 再用流动相稀释至刻度, 混匀制得标样溶液。

称取约含S-茚虫威0.010 g的试样于50 mL容量瓶中, 先用乙醇溶解, 再用流动相稀释至刻度, 混匀制得试样溶液。

1.2.5 测定

在1.2.3色谱条件下, 平衡色谱柱, 待检测器的基线稳定后, 连续进数针标样溶液, 计算各针相对响应值。待相邻2针响应值变化小于1.5%后, 按照标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液的顺序进行测定。

1.2.6 计算

试样中S-茚虫威的比例K按式(2)计算。

$$K = A_S / (A_S + A_R) \quad (2)$$

式中: A_S —试样溶液中S-茚虫威峰面积的平均值; A_R —试样溶液中R-茚虫威峰面积的平均值。

试样中S-茚虫威质量分数 w_2 (%)按式(3)计算。

$$w_2/\% = w_1 \times K \quad (3)$$

2 结果分析与讨论

2.1 检测波长的选择

对甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和茚虫威标样溶液分别进行紫外扫描, 获得二者的紫外光谱图(图5)。在240 nm波长条件下, 2种有效成分均有较强吸收, 且杂质响应值小, 流动相无吸收。因此, 综合考虑多种因素, 最终选定240 nm作为检测波长。

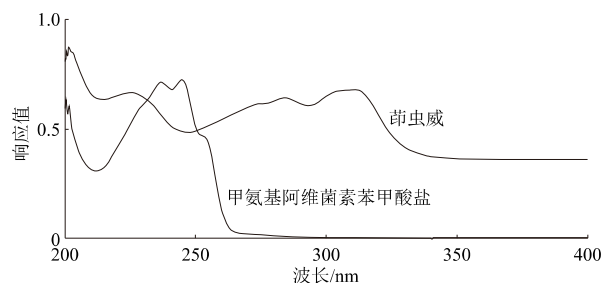


图5 紫外吸收光谱图

2.2 流动相的选择

在甲氨基阿维菌素苯甲酸盐、茚虫威质量分数检测中, 最初选定以甲醇+氨水溶液(体积比80:20)为流动相进行等度洗脱, 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐出峰时间较长, 且峰形不佳。经过实验, 发现以甲醇+氨水作为流动相, 采取1.1.3中的梯度洗脱程序, 可以缩短甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的出峰时间, 且色谱峰峰形尖锐, 可满足分析要求。

在S-茚虫威检测中, 采用不同体积比的异丙醇+乙醇+正己烷作为流动相对试样进行分离检测。结果发现, 异丙醇、乙醇和正己烷三者体积比为30:10:60时, 分离效果最好, 出峰时间短, 且色谱峰尖锐。

2.3 分析方法的线性关系

称取一定质量的甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和S-茚虫威标样, 使用梯度稀释的方法配制不同质量浓度的标样溶液, 在1.1.3色谱操作条件下测定相应响应值。以标样溶液的质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 得到甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和S-茚虫威的线性方程。甲氨基阿维菌素苯甲酸盐线性方程为 $y=8\ 586.8x-76\ 916$, 相关系数为0.999 9; S-茚虫威线性方程为 $y=5\ 602.0x-304\ 240$, 相关系数为0.999 5。表明方法线性关系良好(见图6、图7)。

2.4 分析方法的精密度

在上述色谱操作条件下, 对同一12%甲维·茚虫威水乳剂进行5次重复测定。甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和S-茚虫威的标准偏差分别为0.046和0.130, 变

异系数分别为2.07%和1.20%,结果见表1。

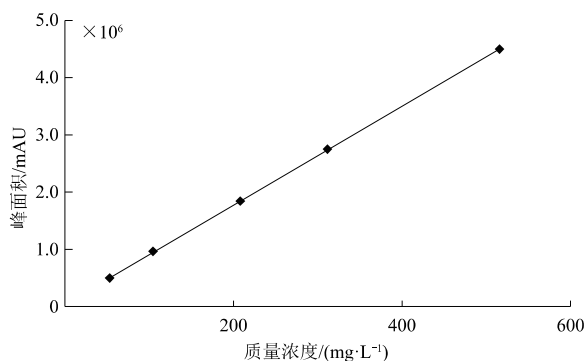


图6 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐线性关系图

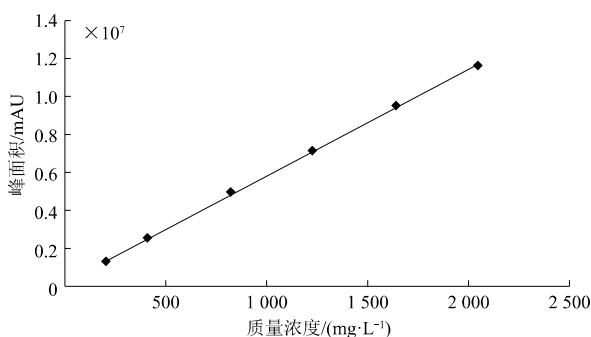


图7 S-茚虫威线性关系图

表1 方法精密度测定结果

有效成分	质量分数/%	平均值/%	标准偏差	变异系数/%
甲氨基阿维菌素苯甲酸盐	2.27	2.22	0.046	2.07
	2.21			
	2.21			
	2.25			
	2.15			
S-茚虫威	10.73	10.77	0.130	1.20
	10.84			
	10.87			
	10.85			
	10.56			

2.5 分析方法的准确度

称取5个已知质量分数的12%甲维·茚虫威水乳剂样品,分别加入一定量的甲氨基阿维菌素苯甲酸

盐、S-茚虫威标样,分别测定其中的甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和S-茚虫威总质量,并计算回收率,结果见表2。甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和S-茚虫威的平均回收率分别为100.34%和99.85%。

表2 方法回收率测定结果

有效成分	序号	加入量/mg	实测值/mg	回收率/%	平均值/%
甲氨基阿维菌素苯甲酸盐	1	2.96	2.98	100.68	100.34
	2	3.90	3.98	102.05	
	3	3.90	3.87	99.23	
	4	3.90	3.85	98.72	
	5	4.00	4.04	101.00	
S-茚虫威	1	12.79	12.84	100.38	99.85
	2	13.24	13.20	99.70	
	3	13.72	13.65	99.49	
	4	14.56	14.59	100.21	
	5	15.23	15.15	99.47	

3 结论

本文建立了同时对样品中甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和茚虫威进行检测的方法,具有较高的准确度和精密度。通过梯度洗脱,节约了检测成本,同时缩短了检测时间,可以用于产品的质量检测。

参考文献

- [1] 陈铁春,李国平,赵永辉. 农药分析手册 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2012: 105.
- [2] 毕富春,赵建平. 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐对主要害虫药效概述 [J]. 现代农药, 2003, 2 (2): 34-36.
- [3] 李富根,艾国民,李友顺,等. 茚虫威的作用机制与抗性研究进展 [J]. 农药, 2013, 52 (8): 558-559.
- [4] 徐强,刘奎涛,汤飞荣,等. 15%茚虫威悬浮剂的液相色谱分析 [J]. 现代农药, 2010, 9 (1): 31-32; 35.
- [5] 周承松,刘小琴,姚文. 20%甲维盐·茚虫威防治稻纵卷叶螟药效试验 [J]. 福建农业科技, 2011 (2): 53-54.
- [6] 毕富春,吴国旭. 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐高效液相色谱分析方法研究 [J]. 现代农药, 2005, 4 (4): 17-19.

(责任编辑:柏亚罗)

(上接第30页)

制及田间防效 [J]. 现代农药, 2015, 14 (3): 24-26.

- [2] 刘长令. 世界农药大全: 杀菌剂卷 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 90-91.
- [3] 刘步林. 农药剂型加工技术 [M]. 2版. 北京: 化学工业出版社, 1998.
- [4] 中华人民共和国农业部. GB/T 17980.72—2004 农药田间药效试验准则(二)第72部分: 杀虫剂防治旱地地下害虫 [S]. 北京: 中国

标准出版社, 2004.

- [5] 魏方林,朱国念,孔小林. 10% ZJ0712水悬浮剂的研制 [J]. 农药, 2004, 43 (7): 301-303.
- [6] Luckham P F, 李运藩. 对医药和农药制剂有特殊参考价值的悬浮剂物理稳定性 [J]. 农药译丛, 1990, 12 (6): 30-34.
- [7] 吴乐,徐同台,韩敦,等. 黄原胶高温稳定性的影响因素 [J]. 钻井液与完井液, 2011, 28 (6): 77-80.

(责任编辑:顾林玲)