

◆ 农药分析 ◆

高效液相色谱法同时检测氟唑环菌胺和咯菌腈

董文凯,孙启霞,韩金涛,齐晓雪,王滢秀,李磊*

(山东省农药科学研究院 山东省化学农药重点实验室 济南 250100)

摘要:建立高效液相色谱法同时检测8%氟环·咯菌腈悬浮种衣剂中有效成分质量分数。方法使用ZORBAX SB-C₁₈柱和二极管阵列检测器,以乙腈-磷酸水溶液为流动相,在220 nm波长下同时检测试样中氟唑环菌胺和咯菌腈质量分数。结果表明,氟唑环菌胺、咯菌腈的线性相关系数分别为1.000 0和0.999 8,标准偏差均为0.01,变异系数分别为0.26%和0.21%,平均回收率分别为99.03%和99.09%。方法快速、简便,分离效果好,精密度和准确度高,可同时检测氟唑环菌胺和咯菌腈质量分数。

关键词: 氟唑环菌胺; 咯菌腈; 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.1671-5284.2018.05.007

Simultaneous Analysis of Active Ingredients in Sedaxane + Fludioxonil 8% FS by HPLC

Dong Wen-kai, Sun Qi-xia, Han Jin-tao, Qi Xiao-xue, Wang Ying-xiu, Li Lei*

(Key Laboratory for Chemical Pesticide of Shandong Province, Shandong Academy of Pesticide Sciences, Jinan 250100, China)

Abstract: The method for simultaneous determination of active ingredients in sedaxane + fludioxonil 8% FS was established by HPLC. The separation and determination was conducted with ZORBAX SB-C₁₈ column and DAD detector at 220 nm, the mixture of acetonitrile and H₃PO₄ solution was used as the mobile phase. The results showed that the linear correlation coefficients of sedaxane and fludioxonil were 1.000 0 and 0.999 8, the standard deviations were both 0.01, the variation coefficients were 0.26% and 0.21%, the average recoveries were 99.03% and 99.09%, respectively. The method was fast, simple, and had high precision and accuracy.

Key words: sedaxane; fludioxonil; HPLC; analysis

氟唑环菌胺(sedaxane)是一种新型琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂。其通过干扰病原菌线粒体呼吸电子传递链上的蛋白复合体(即琥珀酸脱氢酶)来抑制病原菌线粒体呼吸功能,阻碍其能量的代谢,抑制病原菌生长并致其死亡。氟唑环菌胺适用于谷物、大豆、油菜、玉米、马铃薯、甘蔗和果蔬等作物,防治黑粉病、丝黑穗病、黑星病、灰霉病等病害。其常用于种子包衣处理,商品名为Vibrance^[1-2]。咯菌腈(fludioxonil)为新型苯基吡咯类触杀型杀菌剂。其通过干扰与葡萄糖磷酸化有关的转运,来抑制病原菌菌丝体的生长,并致其死亡。咯菌腈适用于谷物、

大豆、油菜、玉米、马铃薯、甘蔗和果蔬等作物,防治灰霉病、黑星病等病害。其既可用于叶面喷雾,也可用于种子处理,商品名为Celest、适乐时等^[3-5]。氟唑环菌胺和咯菌腈两者复配不仅具有突出的防治病害能力,而且能促进作物生根^[6]。

氟唑环菌胺的化学名称为*N*-[2-[1,1'-联环丙基]-2-苯基]-3-(二氟甲基)-1-甲基-1*H*-吡唑-4-甲酰胺,其有顺式和反式2种异构体,以反式异构体为主^[7]。咯菌腈的化学名称为4-(2,2-二氟-1,3-苯并二氧杂环戊烯-4-基)-1*H*-吡咯-3-腈。氟唑环菌胺和咯菌腈的结构式见图1。

收稿日期:2018-03-16

基金项目:山东省农业科学院农业科技创新工程“新型农药创制关键技术”(CXGC2016B12)

作者简介:董文凯(1986—),男,济南市人,工程师,主要从事农药合成与检测工作。E-mail:wkdong@hotmail.com

通讯作者:李磊(1979—),男,济南市人,高级工程师,主要从事农药合成与检测工作。E-mail:15589979687@163.com

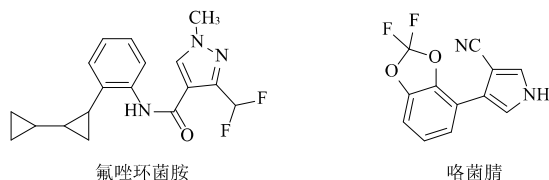


图1 结构式

关于氟唑环菌胺和咯菌腈复配产品的分析方法目前尚未见报道。本试验建立了同一色谱条件下分离测定8%氟环·咯菌腈悬浮种衣剂中有效成分的方法。方法操作快速、简便,分离效果好,准确度和精密度均能达到定量分析的要求。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 1200型高效液相色谱仪,带二极管阵列检测器和自动进样器;Agilent色谱工作站;分析天平,微孔滤膜,0.45 μm有机膜。

乙腈(色谱纯),新蒸2次蒸馏水,氟唑环菌胺标准品(质量分数99.5%)、咯菌腈标准品(质量分数99.8%),由农业农村部农药检定所提供,8%氟环·咯菌腈悬浮种衣剂(3.55%氟唑环菌胺+4.45%咯菌腈),瑞士先正达作物保护有限公司。

1.2 液相色谱操作条件

色谱柱 ZORBAX SB-C₁₈(250 mm×4.6 mm);流动相:乙腈+0.1%磷酸水溶液(体积比65:35);流量:1.5 mL/min;柱温:30℃;检测波长:220 nm;进样体积:5 μL。保留时间:咯菌腈约为3.4 min,氟唑环菌胺约为4.2 min(反式)和4.7 min(顺式)。

标样溶液及试样溶液高效液相色谱图见图2、图3。上述操作条件为典型操作参数,可根据不同仪器特点,对给定的操作参数进行适当调整,以获得最佳效果。

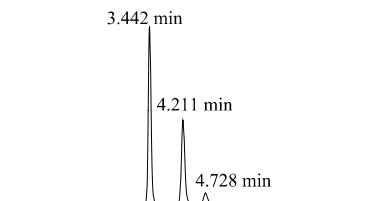


图2 标样溶液高效液相色谱图

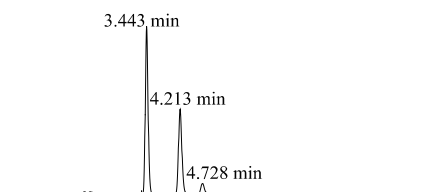


图3 8%氟环·咯菌腈悬浮种衣剂高效液相色谱图

1.3 测定步骤

1.3.1 标样溶液的配制

称取氟唑环菌胺标准品0.03 g(精确至0.000 2 g)、咯菌腈标准品0.04 g(精确至0.000 2 g),置于100 mL容量瓶中,先加入5 mL水,再用乙腈溶解定容,摇匀,过滤备用。

1.3.2 试样溶液的配制

称取试样0.8 g(精确至0.000 2 g),置于100 mL容量瓶中,先加入5 mL水分散溶解,再用乙腈稀释至刻度,摇匀,过滤备用。

1.3.3 测定

在上述操作条件下,待仪器基线稳定后,连续注入数针标样溶液,直至相邻2针标样溶液的响应值相对变化<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。

1.3.4 计算

将测得的2针试样溶液以及试样前后2针标样溶液中氟唑环菌胺(咯菌腈)峰面积分别进行平均。试样中氟唑环菌胺(咯菌腈)的质量分数 $w(\%)$ 按下式计算。

$$w = \frac{A_2 \times m_1 \times P}{A_1 \times m_2} \times 100$$

式中: A_1 —标样溶液中氟唑环菌胺(咯菌腈)峰面积的平均值; A_2 —试样溶液中氟唑环菌胺(咯菌腈)峰面积的平均值; m_1 —标准品的质量/g; m_2 —试样的质量/g; P —标准品中氟唑环菌胺(咯菌腈)的质量分数/%。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择

2.1.1 流动相的选择

选用ZORBAX SB-C₁₈反相柱,根据氟唑环菌胺和咯菌腈的理化性质,以乙腈为溶剂溶解样品,并选择乙腈+水为流动相。以不同比例的乙腈+水为流动相进行分离检测,为了得到更好的分离效果和峰形,在水中加入磷酸制成0.1%磷酸水溶液。结果显示,在1.2液相色谱条件下,氟唑环菌胺、咯菌腈与杂质能得到很好的分离,且峰形对称,基线平稳。

2.1.2 检测波长的选择

使用高效液相色谱仪的光谱数据采集功能,获得氟唑环菌胺和咯菌腈的紫外吸收谱图(见图4、图5)。试验选择220 nm为检测波长,既能保证氟唑环菌胺和咯菌腈有较强吸收峰,同时能避免溶剂干扰。

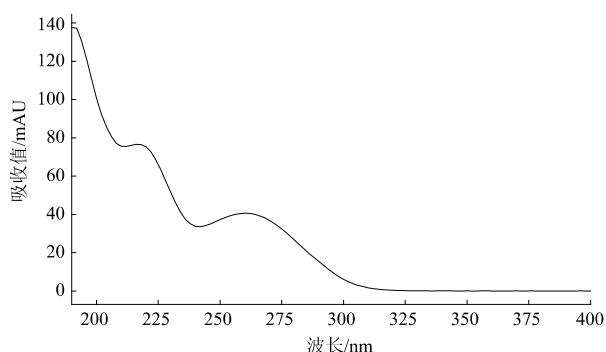


图 4 氟唑环菌胺紫外吸收谱图

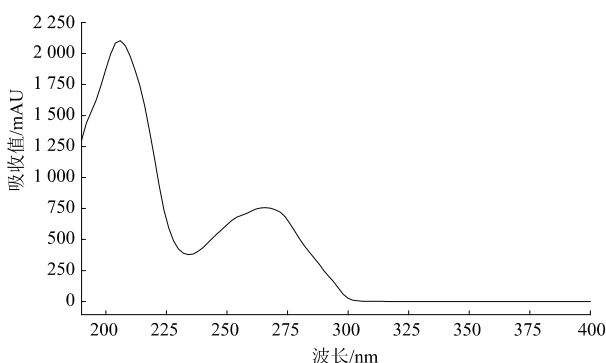


图 5 咯菌腈紫外吸收谱图

2.2 线性相关性测定

采用 1.3.1 标样溶液配制方法,称取不同质量的标准品,配制系列标样溶液。氟唑环菌胺的质量浓度分别为 0.120 0、0.180 1、0.300 1、0.480 2、0.600 2 g/L,咯菌腈的质量浓度分别为 0.160 6、0.240 8、0.401 4、0.642 2、0.802 8 g/L。在 1.2 色谱条件下,依次进样,以氟唑环菌胺、咯菌腈质量浓度为横坐标,响应峰面积为纵坐标,绘制校正曲线。试验得到氟唑环菌胺线性方程为 $y=11\ 895\ x+2.80$,相关系数为 1.000 0;咯菌腈线性方程为 $y=13\ 169\ x+88.36$,相关系数为 0.999 8。结果表明,氟唑环菌胺、咯菌腈在测试质量浓度范围内线性关系良好。

2.3 精密度试验

在 1.2 色谱条件下对同一 8% 氟环·咯菌腈悬浮种衣剂平行测定 5 次,结果见表 1。测得氟唑环菌胺标准偏差为 0.01,变异系数为 0.26%;咯菌腈标准偏差为 0.01,变异系数为 0.21%。该方法精密度较好。

表 1 分析方法的精密度试验结果

有效成分	质量分数/%					标准偏差	变异系数/%
	1	2	3	4	5 平均值		
氟唑环菌胺	3.86	3.87	3.86	3.86	3.85	3.86	0.01 0.26
咯菌腈	4.76	4.77	4.75	4.75	4.74	4.75	0.01 0.21

2.4 准确度试验

在已知含量的 8% 氟环·咯菌腈悬浮种衣剂试样中分别加入一定量的氟唑环菌胺(咯菌腈)标准品,在 1.2 色谱条件下测定,计算回收率,结果见表 2。由表 2 可知,该方法回收率较高,可以准确测定制剂中氟唑环菌胺(咯菌腈)的质量分数。

表 2 分析方法的准确度试验结果

有效成分	理论值/mg	实测值/mg	回收率/%	平均回收率/%
氟唑环菌胺	15.03	14.91	99.20	99.03
	14.77	14.67	99.32	
	14.89	14.78	99.26	
	15.23	14.99	98.42	
	15.08	14.92	98.94	
咯菌腈	18.55	18.41	99.24	99.09
	18.29	18.14	99.18	
	18.43	18.22	98.86	
	18.78	18.49	98.46	
	18.45	18.40	99.73	

3 结论

本文建立了同时分离并测定 8% 氟环·咯菌腈悬浮种衣剂中有效成分的高效液相色谱分析方法。该方法线性关系良好,准确度和精密度较高,且具有快速、简便的特点,适用于 8% 氟环·咯菌腈悬浮种衣剂的质量控制。

参考文献

- [1] 柏亚罗,王廷廷.先正达已上市 4 个 SDHI 类杀菌剂,氟唑环菌胺和苯并烯氟菌唑潜力更大[J/OL]. [2018-03-16]. http://www.agroinfo.com.cn/other_detail_4628.html.
- [2] 杨吉春,关爱莹,杨帆,等.国内外杀菌剂进展[J].现代农药,2015,14(5):1-9.
- [3] 杨玉柱,焦必宁.新型杀菌剂咯菌腈研究进展[J].现代农药,2007,6(5):35-39.
- [4] 刘长令.农用杀菌剂开发的新进展[J].农药科学与管理,2000,21(3):20-26.
- [5] 吴进龙,胡琴,陈铁春,等.50 g/L 咯菌腈·苯醚甲环唑悬浮剂高效液相色谱分析[J].农药,2008,47(11):818-819.
- [6] 佚名.英国批准先正达的杀菌剂 Vibrance Duo[J].农药,2017,56(3):215.
- [7] Braun M J. Process for the Preparation of Pyrazole-4-carboxamides: WO, 2016016298 [P]. 2016-02-04.

(责任编辑:顾林玲)