

◆ 加工与分析 ◆

# 25%咪鲜胺·稻瘟酰胺微囊悬浮-悬浮剂的高效液相色谱分析

潘静, 刘润峰, 高敬雨

(北京明德立达农业科技有限公司, 北京 102206)

**摘要:** 采用高效液相色谱法测定25%咪鲜胺·稻瘟酰胺微囊悬浮-悬浮剂中咪鲜胺和稻瘟酰胺的质量分数, 使用C<sub>8</sub>不锈钢反相色谱柱和紫外可变波长检测器, 以乙腈+0.3%冰乙酸水溶液为流动相, 用外标法对有效成分进行定性、定量分析。咪鲜胺和稻瘟酰胺线性相关系数分别为0.999 2和0.999 4; 标准偏差分别为0.14、0.08; 相对标准偏差分别为0.93%、0.81%; 平均回收率分别为99.72%、99.36%。结果表明: 此检测方法灵敏、快速, 适用于25%咪鲜胺·稻瘟酰胺微囊悬浮-悬浮剂的含量检测。

**关键词:** 咪鲜胺; 稻瘟酰胺; 高效液相色谱法

中图分类号: TQ 450.7 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1671-5284.2020.02.007

## Analysis of Prochloraz + Fenoxanil 25% ZC by HPLC

PAN Jing, LIU Runfeng, GAO Jingyu

(Beijing Mindleader Agrosience Co., Ltd., Beijing 102206, China)

**Abstract:** A method was developed for the determination of Prochloraz + Fenoxanil 25% ZC by high-performance liquid chromatography on C<sub>8</sub> column with a variable wave length UV detector, using acetonitrile and 0.3% acetic acid aqueous solution as mobile phase. The results showed that the linear correlations for prochloraz and fenoxanil were 0.999 2 and 0.999 4. The standard deviations were 0.14 and 0.08. The coefficients of variation were 0.93% and 0.81%. The average recoveries were 99.72% and 99.36%, respectively. In conclusion, the method was sensitive and quick, so that it was suitable for analysis of Prochloraz + Fenoxanil 25% ZC.

**Key words:** prochloraz; fenoxanil; HPLC

咪鲜胺 (prochloraz) 化学名称: *N*-丙基-*N*-[2-(2,4,6-三氯苯氧基)乙基]咪唑-1-甲酰胺, 是一种广谱性杀菌剂, 广泛用于治疗和铲除由尾孢属、核腔菌属、喙孢属、核盘菌属、镰孢属及白粉菌、炭疽菌等致病菌所引起的油料作物、谷类、热带和亚热带水果、观赏植物、蔬菜及各种经济作物的病害, 也用于种子、苗木处理及防治收获后水果贮存期的病害<sup>[1]</sup>。我国自20世纪90年代开始对咪鲜胺进行广泛的药效试验, 其对花生褐斑病、油菜菌核病、茶炭疽病等都有明显的防效, 且用量较低<sup>[2]</sup>。稻瘟酰胺

(fenoxanil) 化学名称: *N*-(1-氰基-1,2-二甲基丙基)-2-(2,4-二氯苯氧基)丙酰胺, 属黑色素生物合成抑制剂<sup>[3]</sup>。稻瘟酰胺是一种用于防治水稻稻瘟病的苯氧酰胺类杀菌剂<sup>[4]</sup>, 作用机制新颖, 在叶面和水下施用时防治稻瘟病效果极佳。25%咪鲜胺·稻瘟酰胺微囊悬浮-悬浮剂对水稻稻瘟病有较好的防治效果<sup>[5]</sup>。咪鲜胺和稻瘟酰胺单剂的分析方法已有报道, 但两者复配剂型的分析方法未见报道<sup>[6]</sup>。本文采用高效液相色谱的反相法对25%咪鲜胺·稻瘟酰胺微囊悬浮-悬浮剂进行了测定, 旨在探索检测咪鲜胺和稻瘟酰胺

收稿日期: 2019-12-16

基金项目: 国家“十三五”科技支撑计划 (2016YFD0200507-2)

作者简介: 潘静 (1974—), 女, 安徽凤阳人, 工程师, 主要从事农药分析研究工作。E-mail: panjing@pilarquim.com

复配制剂的理论方法。

## 1 材料与方 法

### 1.1 仪器设备

1260高效液相色谱仪,具可变波长紫外检测器,带自动进样装置和色谱数据处理工作站,美国安捷伦公司;过滤器:滤膜孔径0.45 μm。

### 1.2 试剂

乙腈,色谱纯;冰乙酸,分析纯;水,新蒸二次蒸馏水;咪鲜胺标样(≥98.0%)、稻瘟酰胺标样(≥98.0%)、25%咪鲜胺·稻瘟酰胺微囊悬浮-悬浮剂(15%咪鲜胺+10%稻瘟酰胺),北京明德立达农业科技有限公司。

### 1.3 色谱操作条件

色谱柱:ZORBAX Eclipse Plus C<sub>8</sub>色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);检测波长230 nm;流动相:乙腈+0.3%冰乙酸水溶液(体积比为72:28);流速1.0 mL/min,进样量:5 μL,柱温:23~27℃。

在上述色谱操作条件下,咪鲜胺的保留时间约为5.1 min;稻瘟酰胺的保留时间约为6.1 min(图1、图2)。

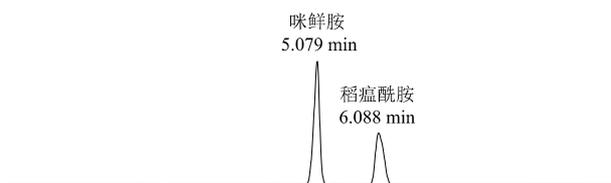


图1 咪鲜胺、稻瘟酰胺标准样品的高效液相色谱图

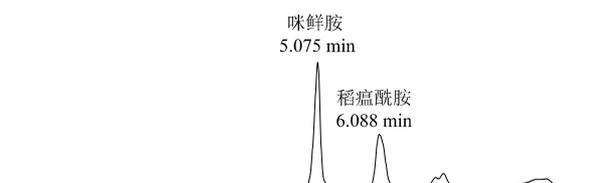


图2 25%咪鲜胺·稻瘟酰胺微囊悬浮-悬浮剂的高效液相色谱图

### 1.4 溶液配制

#### 1.4.1 标样溶液的配制

称取含咪鲜胺0.015 g、稻瘟酰胺0.010 g的标准品(精确至0.000 02 g),置于同一50 mL的容量瓶中,加入适量的乙腈溶解,超声脱气10 min,使标样全部溶解,冷至室温后,用流动相定容、摇匀后备用。

#### 1.4.2 试样溶液的配制

称取咪鲜胺0.015 g、稻瘟酰胺0.010 g(精确至0.000 02 g),置于50 mL容量瓶中,加入适量乙腈溶解,并超声脱气10 min,使试样全部溶解,冷却至室

温,用流动相定容、摇匀后,用孔径为0.45 μm有机系滤膜过滤后备用。

### 1.5 测定方法

按以上色谱操作条件,待仪器基线稳定后,连续注入数针标样溶液,计算各针相对响应值,直至相邻两针咪鲜胺(稻瘟酰胺)响应值相对变化小于1.5%时,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。用外标法计算各自含量。

### 1.6 计算方法

将测得的两针试样溶液以及试样前后两针标样溶液中的咪鲜胺(稻瘟酰胺)峰面积分别进行平均。被试物中各检测成分的质量分数 $w$ (%)按式(1)计算。

$$w = \frac{A_2 m_1 P}{A_1 m_2} \quad (1)$$

式中: $A_1$ 为标样溶液中咪鲜胺(稻瘟酰胺)峰面积平均值,mAU·s; $A_2$ 为试样溶液中咪鲜胺(稻瘟酰胺)峰面积平均值,mAU·s; $m_1$ 为标样溶液中咪鲜胺(稻瘟酰胺)的质量,g; $m_2$ 为试样的质量,g; $P$ 为标样中咪鲜胺(稻瘟酰胺)的质量分数,%。

## 2 结果分析

### 2.1 检测波长的选择

检测波长是影响紫外吸收的因素,波长的选择决定峰面积和峰高的大小。分别对咪鲜胺和稻瘟酰胺标样溶液进行紫外扫描,得到相应的吸收波长。咪鲜胺和稻瘟酰胺在200 nm附近均有最大紫外吸收,但稻瘟酰胺在230 nm处还有一较大紫外吸收,而且在200 nm的波长下杂质的响应值较多,对咪鲜胺和稻瘟酰胺会有一些的干扰,综合多种因素考虑,最终决定咪鲜胺、稻瘟酰胺的检测波长为230 nm。两者紫外吸收光谱图见图3。

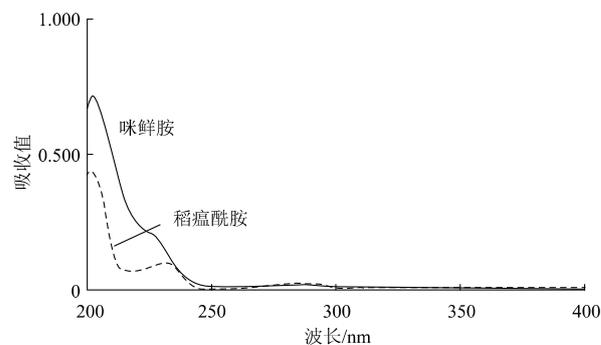


图3 咪鲜胺和稻瘟酰胺紫外扫描图

### 2.2 流动相的选择

经过多次试验,分别以甲醇+水和乙腈+水及甲醇+冰乙酸水溶液和乙腈+冰乙酸水溶液等

的配比作为流动相进行,结果发现用乙腈+0.3%冰乙酸水溶液(体积比为72:28)作为流动相,流速为1.0 mL/min时,分离效果好,出峰时间短,且峰形较尖锐、对称。综合以上因素,最终选定乙腈+0.3%冰乙酸水溶液(体积比为72:28)作为流动相。

### 2.3 分析方法的线性关系曲线

称取咪鲜胺标准品约0.077 16 g、稻瘟酰胺标准品约0.050 36 g置于同一50 mL容量瓶中,用适量乙腈溶解、流动相定容,用移液管分别量取0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL溶液于6个10 mL容量瓶中,乙腈定容,配制咪鲜胺、稻瘟酰胺标准溶液。待仪器稳定后,在上述色谱条件下,按浓度从低到高的顺序进样,每个浓度进样两次。以进样的质量浓度为横坐标、峰面积为纵坐标,作标准曲线,得咪鲜胺线性方程 $y=9.639 6 x-9.304 7$ ,线性相关系数 $R^2=0.999 2$ ,表明线性关系良好(图4);稻瘟酰胺线性方程 $y=9.580 1 x-38.785 4$ ,线性相关系数 $R^2=0.999 4$ ,表明线性关系良好(图5)。

### 2.4 分析方法的精密度

选取一个有代表性的25%咪鲜胺·稻瘟酰胺微囊悬浮-悬浮剂试样,在上述色谱操作条件下,对其有效成分(咪鲜胺、稻瘟酰胺)的质量分数进行测定,计算标准偏差和相对标准偏差,结果见表1。由表1可见咪鲜胺和稻瘟酰胺的标准偏差分别为0.14和0.08,相对标准偏差分别为0.93%和0.81%,表明该方法的精密度好。

### 2.5 分析方法的准确度

在已知含量的样品中加入不同质量的咪鲜胺、稻瘟酰胺的标样,按上述色谱操作条件进行5次测定,计算其各自回收率,结果见表2。咪鲜胺平均回

收率为99.72%;稻瘟酰胺平均回收率为99.36%,表明此方法具有较高的准确度。

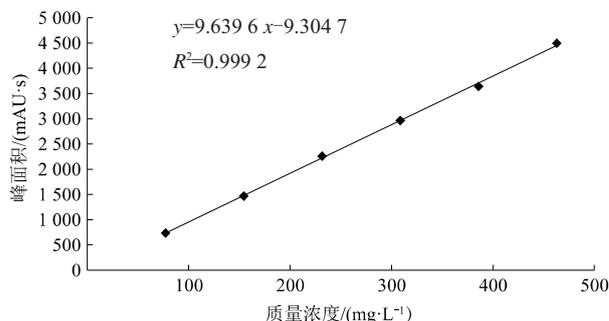


图4 咪鲜胺线性关系图

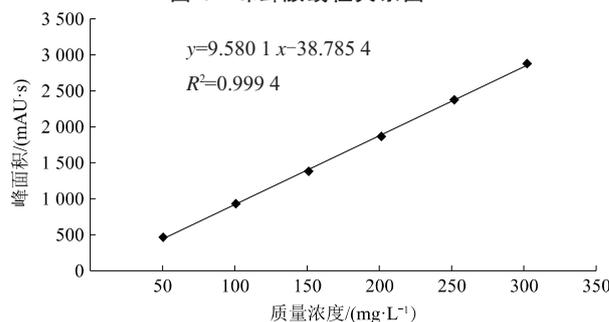


图5 稻瘟酰胺线性关系图

表1 25%咪鲜胺·稻瘟酰胺微囊悬浮-悬浮剂精密度测定

药剂	质量分数/%	平均值/%	标准偏差/%	相对标准偏差/%
咪鲜胺	15.31	15.24	0.14	0.93
	15.42			
	15.06			
	15.26			
	15.14			
稻瘟酰胺	10.27	10.17	0.08	0.81
	10.19			
	10.05			
	10.21			
	10.14			

表2 25%咪鲜胺·稻瘟酰胺微囊悬浮-悬浮剂准确度测定

药剂	样品平均含量/%	样品质量/mg	标准添加质量/mg	理论值/mg	测定值/mg	回收率/%	平均回收率/%
咪鲜胺	15.24	49.87	7.61	15.21	15.14	99.54	99.72
		50.07	7.64	15.27	15.03	98.43	
		49.46	7.52	15.06	15.11	100.33	
		48.80	7.44	14.88	15.02	100.94	
		50.34	7.69	15.36	15.26	99.35	
稻瘟酰胺	10.17	49.87	5.15	10.22	10.13	99.12	99.36
		50.07	5.27	10.36	10.21	98.55	
		49.46	5.06	10.09	10.23	101.39	
		48.80	5.17	10.13	9.97	98.42	
		50.34	5.14	10.26	10.19	99.32	

## 3 结论

本文提出了25%咪鲜胺·稻瘟酰胺微囊悬浮-悬

浮剂中有效成分咪鲜胺、稻瘟酰胺质量分数的高效液相色谱分析方法,该方法既可以检测咪鲜胺与稻

(下转第44页)

表4 97%噻虫胺原药对蚯蚓幼虫数的影响结果

浓度/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	蚓茧数/个				平均值±标准误
	1	2	3	4	
CK1	40	45	36	32	38.25±2.78
CK2	25	25	42	27	29.75±4.11
0.234	30	30	32	24	29.00±1.73
0.351	22	24	30	30	26.50±2.06
0.527	19	30	33	28	27.50±3.01
0.790	18	24	29	21	23.00±2.35
1.190	21	31	22	27	25.25±2.32
1.780	16	19	17	19	17.75**±0.75
2.670	18	19	16	16	17.25**±0.75
4.000	15	14	17	15	15.25**±0.63

## 4 结论

在实验室条件下大多数农药品种对蚯蚓表现为低毒及以下,仅新烟碱类农药部分品种对蚯蚓的急性毒性表现为中毒。新烟碱类杀虫剂源于植物源农药烟碱,具有独特的作用机制,不仅有高效、广谱及良好的根部内吸性、触杀和胃毒作用,而且对哺乳动物毒性低,已成为使用较为广泛的杀虫剂类型<sup>[6]</sup>。

噻虫胺对蚯蚓的繁殖毒性研究表明,在0.790 mg/kg<sub>干土</sub>剂量下噻虫胺即可对蚯蚓的蚓茧数产生显著影响( $P=0.010$ ),在1.780 mg/kg<sub>干土</sub>剂量下噻虫胺即可对蚯蚓的幼虫数量产生极显著影响( $P=0.005$ ),上述剂量远低于噻虫胺对蚯蚓的急性毒性(14 d-LC<sub>50</sub>值8.04 mg/kg<sub>干土</sub>),由此可见,低剂量噻虫胺长期暴露可对蚯蚓的产卵量和孵化率产生影响,使蚓茧数和幼虫数显著减少。急性毒性是研究蚯蚓在大剂量农药作用下短时间内的快速毒性反应,主要目的是在短时间内阐明该药剂的急性毒性作用特点,它常常是生态毒理试验研究的第一步。有研究表明,农药会对蚯蚓的新陈代谢、茧的数量和孵化能力有所影响。通过检测蚯蚓的繁殖毒性来评价农药毒性大小,可能会比其他环境风险评估指标更为敏

感<sup>[7]</sup>。但在我国现有的农药登记环境风险评估指南中<sup>[8]</sup>,只有当蚯蚓的初级急性风险RQ大于1或者受试农药在土壤中有累积风险(DT<sub>50</sub>值大于180 d)时才需要提供农药对蚯蚓的繁殖毒性试验数据,客观上会忽视某些药剂的慢性毒性风险。因为农药在野外的实际暴露浓度一般都比较低,仅考虑急性暴露条件下农药对蚯蚓的致死效应,不能很好地反映实际生态系统中低剂量农药对蚯蚓的长期毒性效应。因此,开展蚯蚓慢性毒性试验,通过将蚯蚓与低剂量农药长期接触,观察农药在亚致死毒性剂量下长期暴露对蚯蚓的成长和繁殖等的变化,对于监测预警环境污染物,保护土壤生物种群,以及维护生态系统的平衡具有重要意义。

## 参考文献

- [1] 周启星,孔繁翔,朱琳.生态毒理学[M].北京:科学出版社,2006:353-397.
- [2] 刘伟,朱鲁生,王军,等.毒死蜱、马拉硫磷和氰戊菊酯对赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)的急性毒性[J].生态毒理学报,2009,4(4):597-601.
- [3] 王彦华,陈丽萍,赵学平,等.新烟碱类和阿维菌素类药剂对蚯蚓的急性毒性效应[J].农业环境科学学报,2010,29(12):2299-2304.
- [4] 郭永灿,王振中,赖勤,等.农药污染对蚯蚓的群落结构与超微结构影响的研究[J].中国环境科学,1997,17(1):67-71.
- [5] 杨晓霞,龚久平,张伟,等.基于代谢组学指标的土壤亚致死剂量汞对蚯蚓的毒性研究[J].环境科学学报,2019,39(3):958-968.
- [6] 王凯.新烟碱类杀虫剂对蚯蚓毒性及作用机制研究[D].北京:中国农业大学,2015.
- [7] ELBERT A, HAAS M, SPRINGER B, et al. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection[J]. Pest Management Science, 2008, 64(11): 1099-1105.
- [8] 农业农村部农药检定所.农药登记环境风险评估指南[M].北京:中国农业出版社,2018:88-102.

(责任编辑:范小燕)

(上接第36页)

瘟酰胺的复配剂型的制剂,还可以检测咪鲜胺、稻瘟酰胺单个剂型的制剂,也适用于咪鲜胺、稻瘟酰胺原药的检测。此方法具有操作容易、速度快、分离好的优点,精密度和准确度较高,是咪鲜胺和稻瘟酰胺复配制剂检测的理想方法。

## 参考文献

- [1] 佚名.杀菌剂扑霉灵(咪鲜胺)[J].陈道茂,译.农药译丛,1995,17(3):63-65.
- [2] 罗红敏,薛伟,胡德禹,等.咪鲜胺的高效液相色谱分析[J].农药,

2010,49(12):898-899.

- [3] 张耕,张君,左一岚,等.稻瘟酰胺30%悬浮剂高效液相色谱分析[J].农药科学与管理,2015,36(增刊1):26-28.
- [4] 农业部农药检定所.农药管理信息汇编[M].北京:中国农业出版社,2012:587.
- [5] 吴兴福,张正和,韩宝余,等.16%春雷霉素·稻瘟酰胺SC对水稻稻瘟病防治效果研究[J].现代农药,2018,17(3):55-56.
- [6] 赵来成,束兆林,吉沐祥,等.甲基硫菌灵与咪鲜胺混合制剂的液相色谱分析方法研究[J].现代农药,2009,8(4):37-39.

(责任编辑:范小燕)