

◆ 加工与分析 ◆

16%二氰·吡唑酯水分散粒剂质量检测分析方法

刘德坤^{1,2}, 吴梦琪², 许柏林¹, 陈英豪^{1,2}, 夏柏玉^{1,2}, 吴佳文^{3*}

(1. 句容市后白镇农业服务中心, 江苏句容 212444; 2. 句容市后白镇农产品检测监督站 江苏句容 212444; 3. 江苏省植物保护植物检疫站, 南京 210036)

摘要: 研究16%二氰·吡唑酯水分散粒剂有效成分的检测分析方法以及悬浮率、热贮稳定性的测定方法。采用ODS-C₁₈反相色谱柱和紫外可变波长检测器, 建立高效液相色谱测定16%二氰·吡唑酯水分散粒剂有效成分含量的分析方法, 参考GB/T 14825—2006测定该药剂的悬浮率。结果表明, 该高效液相色谱法可同时快速分析16%二氰·吡唑酯水分散粒剂的有效成分含量, 二氰葱醌和吡唑醚菌酯的相关系数分别为0.999 9和0.999 7; 平均回收率分别为100.05%和99.90%; 标准偏差分别为0.095和0.085; 悬浮率测定方法符合此制剂质量控制的检测需要, 平均回收率分别为99.80%和99.41%, 标准偏差分别为0.776和0.536。

关键词: 二氰葱醌; 吡唑醚菌酯; 水分散粒剂; 高效液相色谱; 悬浮率

中图分类号: TQ 450.7 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1671-5284.2020.03.011

Quality Control Analysis of Dithianon + Pyraclostrobin 16% WG

LIU Dekun^{1,2}, WU Mengqi², XU Bolin¹, CHEN Yinghao^{1,2}, XIA Boyu^{1,2}, WU Jiawen^{3*}

(1. Jurong Houbai Agricultural Service Center, Jiangsu Jurong 212444, China; 2. Jurong Houbai Supervision and Inspection Station of Agricultural Products Quality, Jiangsu Jurong 212444, China; 3. Plant Protection and Plant Quarantine Station of Jiangsu Province, Nanjing 210036, China)

Abstract: The analysis method of effective component, measurement method of suspension efficiency, and heat storage stability of dithianon + pyraclostrobin 16% WG were studied. The HPLC method for simultaneous determination of dithianon + pyraclostrobin 16% WG was established with ODS-C₁₈ reversed phase chromatographic column and UV variable wavelength detector. And suspension efficiency was determined using GB/T 14825-2006 method. The results showed that the HPLC method analyzed the content quickly. The correlations coefficients were 0.999 9 and 0.999 7, the average recoveries were 100.05% and 99.90%, the standard deviation were 0.095 and 0.085. The suspension rate measurement method meets the the testing requirements of this preparation, the average recoveries were 99.80% and 99.41%, the standard deviation were 0.776 and 0.536.

Key words: dithianon; pyraclostrobin; water dispersible granule; HPLC; suspension efficiency

吡唑醚菌酯 (pyraclostrobin) 是德国巴斯夫公司开发的一种新型甲氧基丙烯酸酯类广谱杀菌剂, 通过阻止细胞色素b和c1复合体的电子传递来抑制线粒体呼吸作用, 导致病原菌衰亡。二氰葱醌 (dithianon) 是德国默克公司开发的保护性杀菌剂,

主要通过抑制孢子萌发到保护效果, 可防治多种真菌性病害。两者复配使用保护性更好, 持效期更长, 药效显著。田间药效试验结果表明16%二氰·吡唑酯水分散粒剂对苹果、香蕉、柑橘等多种作物的炭疽病防效较好^[1-3]。但有关16%二氰·吡唑酯水分散

收稿日期: 2019-11-29

基金项目: 江苏省现代农业(小麦)产业技术体系绿色防控创新团队(JATS[2019]332)

作者简介: 刘德坤(1983—)男, 江苏南京人, 硕士, 农艺师, 主要从事农技推广(植物保护)工作。E-mail: cola520@126.com

通信作者: 吴佳文(1982—), 男, 安徽桐城人, 高级农艺师, 主要从事农作物病虫害监测预警与防控工作。E-mail: 120334169@qq.com

粒剂的质量检测分析方法,目前尚未见公开报道。本文采用高效液相色谱法(HPLC),在同一液相色谱条件下,一次进样同时定量分析制剂中两种有效成分含量,并对悬浮率和热贮稳定性等多种质量指标的测定方法进行探索,为企业生产16%二氰·吡唑酯水分散剂过程中的质量控制和质检机构的质量检测提供参考。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

甲醇、乙腈,色谱纯;水,二次蒸馏水;磷酸,分析纯;二氰蒽醌原药(98%),河北兴柏农业科技有限公司;吡唑醚菌酯原药(98%),德国巴斯夫公司;16%二氰·吡唑酯水分散剂,实验室自制;Acme9000高效液相色谱(具可变波长紫外检测器),韩国英麟机器有限公司;UV-1800紫外可见分光光度计,岛津公司。

1.2 有效成分含量检测方法

1.2.1 色谱条件

色谱柱:Amethyst C₁₈-H(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);检测器:紫外检测器;流动相:乙腈+0.02%磷酸水溶液(体积比80:20);检测波长:300 nm;柱温:23~27℃;流速:0.8 mL/min;进样量:10 μL。保留时间:二氰蒽醌约5.3 min;吡唑醚菌酯约7.4 min。

1.2.2 溶液的配制

标样:分别准确称取约0.102 g二氰蒽醌标样和吡唑醚菌酯标样(精确至0.000 2 g),置于100 mL容量瓶中,用乙腈溶解并定容至刻度,摇匀,可分别得到1.0g/L的二氰蒽醌、吡唑醚菌酯标准溶液。吸取0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL上述溶液加入到10 mL容量瓶中,用乙腈溶解并定容,充分摇匀,分别得到0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 g/L的二氰蒽醌、吡唑醚菌酯标准溶液。用0.22 μm滤膜过滤,备用。

试样:准确称量0.300 0 g 16%二氰·吡唑酯水分散剂(精确至0.000 2 g),放入50 mL容量瓶中,添加少许乙腈超声振荡5 min,使其溶解完全,冷却至室温后,乙腈定容至刻度,摇匀。量取10 mL上述溶液,置于25 mL容量瓶中,乙腈定容,摇匀后,过0.22 μm滤膜备用。

1.2.3 有效成分含量的测定

在上述色谱条件下,待仪器基线稳定后,连续注入数针标样溶液,直至相邻2针中二氰蒽醌(吡唑

醚菌酯)峰面积相对变化不大于1.0%,按照标样、试样、试样、标样顺序进行测定。

将测得的试样溶液和标样溶液中二氰蒽醌和吡唑醚菌酯的峰面积分别平均后,按式(1)计算有效成分的质量分数 w 。

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

式中: A_1 、 A_2 为标样、试样溶液中二氰蒽醌(吡唑醚菌酯)峰面积的平均值; m_1 为试样的质量,g; m_2 为二氰蒽醌(吡唑醚菌酯)标样的质量,g; P 为二氰蒽醌(吡唑醚菌酯)标样中的质量分数,%。

1.3 悬浮率的检测方法

1.3.1 样品悬浮率的检测方法

参考GB/T 14825—2006《农药悬浮率测定方法》,准确称取1.0 g试样(精确至0.000 2 g),倒入含有100 mL标准硬水(30 ± 2℃)的250 mL具塞量筒中,加入标准硬水定容至250 mL,拧紧塞子,在1 min内上下颠倒30次。打开塞子,恒温水浴30 min后,轻轻取出量筒,在10~15 s内,利用虹吸原理移出225 mL的悬浮液,将量筒底部25 mL悬浮液移至培养皿,干燥至衡重,用50 mL乙腈分多次冲洗后定容,用1.2.3中方法测定残余物有效成分含量。按式(2)计算悬浮率。

$$S/\% = \frac{1.11 \times (M_1 - M_2)}{M_1} \times 100 \quad (2)$$

式中: M_1 为配制悬浮液所取样品中有效成分质量,g; M_2 为量筒底部25 mL悬浮液中有效成分的质量,g; S 为悬浮率,%。

1.3.2 悬浮率检测方法的准确度和精密度

称取0.4 g 16%二氰·吡唑酯水分散剂样品(精确至0.000 2 g)至烧杯中,加入25 mL标准硬水,用玻璃棒搅拌均匀,(30 ± 1)℃水浴中静置4 min,转移至培养皿,干燥至衡重,用100 mL乙腈分多次冲洗后定容,用1.2.3中方法测定残余物及样品中有效成分含量,计算回收率;据1.3.1中方法连续测定16%二氰·吡唑酯水分散剂样品悬浮率,计算方法的相对标准偏差。

1.4 热贮稳定性的检测方法

取16%二氰·吡唑酯水分散剂样品10 g,密封于铝箔袋中,在52~56℃的恒温烘箱中贮存14 d后,取出样品,冷却至室温后测定其有效成分含量及悬浮率。有效成分分解率不大于5%,样品悬浮率不小于80%,视为热贮合格。

2 结果与分析

2.1 色谱条件的选择

2.1.1 检测波长的选择

在250~350 nm波长范围内进行紫外扫描,得相应的吸收波长与响应值的紫外吸收光谱图。结果显示,300 nm作为检测波长时,二氰蒽醌有最大吸收峰,吡唑醚菌酯也有较强吸收峰,且两峰大小比例适当,杂质响应值小,流动相无吸收,最终确定检测波长为300 nm。

2.1.2 流动相的选择

为确保二氰蒽醌和吡唑醚菌酯与杂质完全分离,参考不同文献^[4-6]先后选用不同比例的甲醇-乙腈-水,甲醇-水,以及乙腈-水作为流动相对试样进行分离检测,结果表明当流动相为乙腈-水(体积比80:20),含0.02%磷酸时,各组均得到理想的分离,且峰形对称,出峰时间短,基线平稳。

2.2 有效成分含量的检测结果

2.2.1 分析方法的线性关系

取1.2.2中配置的二氰蒽醌(吡唑醚菌酯)标样溶液,按上述色谱操作条件,测定相应响应值,并以质量浓度为横坐标、峰面积为纵坐标绘制标准曲线,得到二氰蒽醌标准溶液质量浓度与峰面积的线性回归方程为 $y_{\text{二氰蒽醌}}=14\ 881x+9.663\ 6$,其线性相关系数为 $R_{\text{二氰蒽醌}}=0.999\ 9$;吡唑醚菌酯标准溶液质量浓度与峰面积的线性回归方程为 $y_{\text{吡唑醚菌酯}}=22\ 598x+34.636$,其线性相关系数为 $R_{\text{吡唑醚菌酯}}=0.999\ 7$,该结果表明二氰蒽醌和吡唑醚菌酯在0.05~0.6 g/L质量浓度范围内线性关系良好。

2.2.2 分析方法的精密度

在上述色谱操作条件下,对同一16%二氰·吡唑酯水分散粒剂有效成分含量平行测定5次。二氰蒽醌、吡唑醚菌酯的标准偏差分别为0.095和0.085,变异系数分别为0.77%和2.00%。测定结果见表1。

表1 有效成分分析方法的精密度测定

有效成分	质量分数/%	平均值/%	标准偏差	变异系数/%
二氰蒽醌	12.33	12.32	0.095	0.77
	12.46			
	12.18			
	12.37			
	12.26			
吡唑醚菌酯	4.16	4.24	0.085	2.00
	4.14			
	4.23			
	4.31			
	4.36			

2.2.3 分析方法的准确度

为了验证16%二氰·吡唑酯水分散粒剂有效成分含量分析方法的准确性,制备了不含原药的空白水分散粒剂样品。称取100 mg空白水分散粒剂样品15份,分为3组,分别向每组5份样品中加入已知质量分数的二氰蒽醌和吡唑醚菌酯,按照1.3.2的样品溶液配制方法处理后进行分析,测定添加回收率。由表2可知,二氰蒽醌添加回收率在99.27%~100.88%,平均回收率为100.05%;吡唑醚菌酯添加回收率为98.83%~101.66%,平均回收率为99.90%。该方法准确度较高,可准确定量。

表2 有效成分分析方法的准确度测定

有效成分	投入量/mg	实测量/mg	回收率/%	平均回收率/%
二氰蒽醌	12.23	12.22	99.92	100.05
	12.05	12.03	99.83	
	12.15	12.19	100.33	
	12.36	12.27	99.27	
	12.45	12.56	100.88	
吡唑醚菌酯	4.16	4.13	99.28	99.90
	4.07	4.05	99.51	
	4.22	4.29	101.66	
	4.28	4.23	98.83	
	4.32	4.33	100.23	

2.2.4 样品有效成分含量的测定

在上述选定的HPLC分析条件下,对样品中二氰蒽醌和吡唑醚菌酯有效成分含量进行测定,图1表明,两种有效成分与杂质峰分离完全,无相互干扰。经测定二氰蒽醌、吡唑醚菌酯保留时间分别为5.282 min、7.332 min。对16%二氰·吡唑酯水分散粒剂样品中有效成分含量进行计算,得出二氰蒽醌含量为12.24%,吡唑醚菌酯含量为4.13%。

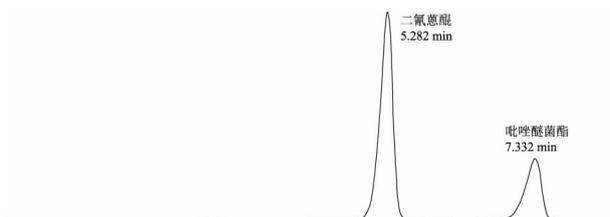


图1 16%二氰·吡唑酯水分散粒剂 HPLC 谱图

2.3 悬浮率测定方法的分析

悬浮率决定了水分散粒剂制剂在水中崩解、分散后能否形成稳定、均一的悬浮体系,是水分散粒剂中有效成分发挥药效的重要保障^[7-8]。表3、4的结果表明:按照悬浮率测定方法,二氰蒽醌回收率为99.27%~100.65%,标准偏差为0.776,变异系数为0.807%;吡唑醚菌酯回收率为98.08%~101.18%,标

准偏差为0.536,变异系数为0.578%。按照1.3.1中方法对16%二氰·吡唑酯水分散剂样品进行测定,二氰蒽醌的悬浮率为96.36%,吡唑醚菌酯悬浮率为93.04%。制剂悬浮率符合水分散剂标准。

表3 悬浮率分析方法准确度测定

有效成分	投入量/g	实测量/g	回收率/%	平均回收率/%
二氰蒽醌	12.03	12.02	99.91	99.80
	12.15	12.03	99.01	
	12.05	12.07	100.17	
	12.26	12.17	99.27	
	12.35	12.43	100.65	
吡唑醚菌酯	4.16	4.08	98.08	99.41
	4.08	4.05	99.26	
	4.22	4.27	101.18	
	4.28	4.25	98.30	
	4.32	4.33	100.23	

表4 悬浮率分析方法的精密度测定

有效成分	质量分数					标准 平均值	变异系 数/%
	1	2	3	4	5		
二氰蒽醌	95.68	96.85	95.56	97.08	95.45	96.12	0.776
吡唑醚菌酯	93.33	92.67	93.01	92.78	91.89	92.74	0.536

2.4 热贮稳定性测定结果

热贮稳定性是水分散剂的一个重要指标,也是产品能否长期稳定保存的重要指标^[6-7]。16%二氰·吡唑酯水分散剂热贮稳定性测定结果见表5。

表5 16%二氰·吡唑酯水分散剂热贮稳定性测定

有效成分	含量/%		悬浮率/%		相对分 解率/%	平均分 解率/%
	热贮前	热贮后	热贮前	热贮后		
二氰蒽醌	12.23	12.19	96.85	96.43	0.33	0.31 ± 0.12
	12.16	12.14	97.63	96.97	0.16	
	12.06	12.03	96.36	95.71	0.25	
	12.22	12.16	97.18	96.81	0.49	
	12.31	12.27	96.55	96.10	0.32	
吡唑醚菌酯	4.18	4.11	93.23	92.88	1.67	1.59 ± 0.14
	4.19	4.13	92.86	92.55	1.43	
	4.17	4.11	92.32	91.93	1.44	
	4.15	4.08	92.66	92.24	1.69	
	4.10	4.03	92.73	92.13	1.71	

从表5中可以看出:16%二氰·吡唑酯水分散剂中两种有效成分化学稳定性较好,在52~56℃热贮14 d后,二氰蒽醌的平均分解率仅为0.31%,吡唑醚菌酯的平均分解率仅为1.59%。热贮前后,样品的悬浮率均大于等于90%,符合相关指标,说明该配方中助剂配伍合理,制剂性能稳定。

3 结论

本试验采用高效液相色谱法检测16%二氰·吡唑酯水分散剂有效成分,并测定制剂悬浮率、热贮稳定性等主要指标。同时定量分析二氰蒽醌、吡唑醚菌酯2种有效成分,简便、快速,分离充分,条件稳定,是一种较为理想的液相色谱分析条件;悬浮率测定方法的研究表明,此方法准确度高,重现性好,是一种简便可行、较为理想的分析方法。测定分析结果表明,16%二氰·吡唑酯水分散剂样品悬浮率高、有效成分含量达标、热贮稳定性好,均能达到国家标准,适用于此制剂质量控制的检测。

参考文献

- [1] 宋晓兵,彭埃天,凌金锋,等.吡唑醚菌酯·二氰蒽醌对香蕉采后炭疽病的防治效果评价[J].植物保护,2019,45(1):230-233.
- [2] 马婧玮,李萌,张军锋,等.液相色谱法测定葡萄及柑橘中二氰蒽醌的残留量[J].现代农药,2014,13(3):43-45.
- [3] WILLIAMSON B, TUDZYNSKI B, TUDZYNSKI P, et al. Botrytis cinerea: the cause of grey mould disease[J]. Mol Plant Pathol, 2007, 8(5): 561-580
- [4] 徐妍,王昌锦,潘静,等.20%二氰蒽醌·吡唑醚菌酯悬浮剂高效液相色谱分析[J].农药,2016,55(3):190-191;216.
- [5] 兰丰,周先学,李晓亮,等.二氰蒽醌和吡唑醚菌酯在苹果中的残留及消解动态[J].农药学报,2018,20(4):540-544.
- [6] 程双园.农药水分散剂性能影响因素的研究[D].北京:北京理工大学,2016.
- [7] 李汉承,张强.农药新剂型:水分散性粒剂及其加工工艺[J].河北化工,2005(6):28-29.

(责任编辑:石凌波)

(上接第52页)

- chemical properties[J]. The Journal of Adhesion, 2003, 79:287-309.
- [14] NI P H, ZHANG M Z, ZHUGE L J, et al. Amphiphilic ABA triblock copolymer as surfactant in syntheses of microlatexes bearing cationic group[J]. Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry, 2002(40): 3734-3742.
 - [15] ARZHAVITINA A, STECKEL H. Foams for pharmaceutical and cosmetic application[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2010, 394(1): 1-17.

- [16] BUREIKO A, TRYBALA A, KOVALCHUK N, et al. Current applications of foams formed from mixed surfactant-polymer solutions[J]. Advance in Colloid Interface Science, 2015, 222(4): 670-677.
- [17] 申宝兵,王永生,宋聿炜.茶皂素新表面活性剂的研制与应用[J].现代农药,2015,14(1):17-20.
- [18] 王秀秀,路福绥,冯建国,等.高效氟吡甲禾灵水乳剂的稳定性[J].农药,2011,50(6):411-413.

(责任编辑:徐娟)