

◆ 加工与分析 ◆

农药制剂产品中苯线磷的高效液相色谱分析方法

许春丽, 马杜康, 陈 歌, 赵鹏跃*, 黄啟良*

(中国农业科学院植物保护研究所 北京 100193)

摘要: 为了为农药制剂产品中苯线磷非法添加的检测提供依据, 建立了在同一液相条件下测定苯线磷在悬浮剂、乳油、水分散粒剂中的分析方法。采用Eclipse XDB-C₁₈色谱柱和紫外-可见检测器, 以乙腈+水为流动相, 在250 nm波长下对苯线磷·苯氧威悬浮剂、苯线磷·联苯菊酯乳油、苯线磷·氟虫腈水分散粒剂中的苯线磷进行分离和定量分析。结果表明, 苯线磷·苯氧威悬浮剂、苯线磷·联苯菊酯乳油、苯线磷·氟虫腈水分散粒剂的标准偏差分别为0.01%、0.004%和0.01%, 平均回收率分别为97.61%、99.92%和99.52%。高效液相色谱方法灵敏、快速, 适用于农药制剂产品中苯线磷非法添加的含量检测。

关键词: 苯线磷; 非法添加; 高效液相色谱

中图分类号: TQ 450.7 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1671-5284.2020.05.005

Analysis of Fenamiphos in Pesticide Formulations by HPLC

XU Chunli, MA Dukang, CHEN Ge, ZHAO Pengyue*, HUANG Qiliang*

(Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: A method was established for the determination of fenamiphos in suspension concentrate (SC), emulsifiable concentrate (EC) and water dispersible granule (WG) using the same HPLC condition, which will provide the basis for the detection of the illegal addition of fenamiphos in pesticide formulation. Eclipse XDB-C₁₈ column and UV-vis detector was used. Acetonitrile and water were employed as mobile phase. Fenamiphos in SC, EC and WG were separated and quantitatively analyzed at 250 nm. The standard deviations of fenamiphos in SC, EC and WG were 0.01%, 0.004% and 0.01%, respectively. The average recoveries of fenamiphos in SC, EC and WG were 97.61%, 99.92% and 99.52%, respectively. The results showed that the HPLC method was sensitive and rapid, which was suitable for the detection of the illegal addition of fenamiphos in pesticide formulation.

Key words: fenamiphos; illegal addition; HPLC

农药是重要的农业投入品, 农药产品质量是保障农产品质量安全的重要基础。然而, 近年来一些农药生产企业为了追求经济效益, 降低生产成本, 提高农药产品防治效果和逃避农药登记政策等, 在农药产品中添加非法成分(隐性成分或无登记农药)。而农民倾向于购买防治效果好的含非法添加成分的农药, 这种行为更是助长了农药生产企业添加非法成分的不良风气^[1-2]。2020年我国农业农村部

在全国范围内部署启动了农资打假“春雷”行动, 重点查处非法添加、含量不足、侵权假冒等问题, 以保障农资产品质量。

自2011年10月31日起, 我国农业部、工业和信息化部、环境保护部、国家工商行政管理总局、国家质量监督检验检疫总局等五部委联合发出公告, 撤销(撤回)苯线磷等10种有机磷类农药的登记证、生产许可证(生产批准文件), 停止生产, 自2013年10月

收稿日期: 2020-07-10

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFD0200300)

作者简介: 许春丽(1991—), 女, 河南驻马店人, 博士研究生, 研究方向为农药剂型加工与质量控制技术。E-mail: springxcl2013@126.com

通信作者: 赵鹏跃(1988—), 女, 黑龙江哈尔滨人, 博士, 副研究员, 主要从事农药剂型加工与质量控制技术研究。E-mail: zhaopengyue@caas.cn

共同通信作者: 黄啟良(1968—), 男, 山东宁阳人, 博士, 研究员, 主要从事农药剂型加工与质量控制技术研究。E-mail: qlhuang@ippcaas.cn

31日起,停止销售和使用。然而,苯线磷具有较强的杀线虫效果,虽然已被停止生产,某些企业仍可能在农药生产中非法添加苯线磷,以增强药效。

苯线磷(fenamiphos),化学名*O*-乙基-*O*-(3-甲基-4-甲硫基)苯异丙基氨基磷酸酯,别名力满库、克线磷、苯胺磷等,是一种高毒内吸性杀线虫剂,兼有触杀作用。它通过抑制靶标生物中乙酰胆碱酯酶的活性而产生杀虫效果。原药雄性大鼠急性经口LD₅₀值为15.3 mg/kg,急性经皮LD₅₀值为500 mg/kg,急性吸入LC₅₀值为110~175 mg/L。在试验剂量下,对兔皮肤和眼睛无刺激作用,对鱼类毒性中等。推荐剂量下,对蜜蜂和蚕无害,对家禽剧毒。目前,在水体和土壤等多种环境介质中均能检测到残留的苯线磷及其转化产物^[3]。

有文献报道利用高效液相色谱法对苯线磷进行分析,可采用外标法定量^[4-5],然而,对于农药制剂产品中苯线磷非法添加的检测方法尚无报道。笔者在3种代表性制杀虫剂产品(苯氧威悬浮剂、联苯菊酯乳油、氟虫腈水分散粒剂)中添加不高于1%的苯线磷原药,获得添加苯线磷的农药制剂试验样品,并建立了在同一液相条件下测定苯线磷在悬浮剂、乳油、水分散粒剂中的分析方法,为农药制剂产品中苯线磷非法添加的检测提供依据。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

Agilent 1260-DAD高效液相色谱仪,美国安捷伦科技有限公司;Agilent Eclipse XDB-C₁₈不锈钢色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm)、KQ3200B超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;AL-204分析天平,梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司;有机过滤器(微膜孔径0.45 μm)。乙腈(色谱纯)、二次蒸馏水、苯线磷原药(质量分数97.1%),农业农村部农药检定所;250 g/L苯氧威悬浮剂,江苏常隆农化有限公司;100 g/L联苯菊酯乳油、800 g/kg氟虫腈水分散粒剂,中农立华生物科技股份有限公司。

1.2 液相色谱操作条件

流动相:流动相梯度比例见表1,经滤膜过滤,并进行脱气。

柱温:30℃;流速:1.0 mL/min;检测波长:250 nm;进样体积:5 μL;保留时间:苯线磷约9.9 min。典型的苯线磷标准品、苯线磷·苯氧威悬浮剂、苯线磷·联苯菊酯乳油、苯线磷·氟虫腈水分散粒剂样品高效液相色谱图见图1。

表1 流动相梯度比例

时间/min	乙腈/%	水/%
0	45	55
11	45	55
12	85	15
16	85	15
17	45	55
23	45	55

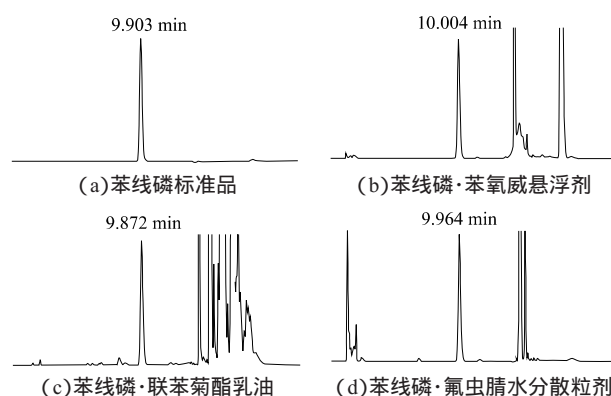


图1 苯线磷及其3种混剂的高效液相色谱图

1.3 测定步骤

1.3.1 标准样品的配制

称取0.25 g(精确至0.000 01 g)苯线磷标样于250 mL容量瓶中,加入50 mL乙腈,超声波振荡5 min,冷却至室温,用乙腈稀释至刻度,摇匀,记为标样溶液。

1.3.2 试样溶液的配制

分别称取24.75 g苯氧威悬浮剂、联苯菊酯乳油、氟虫腈水分散粒剂于250 mL容量瓶中,添加0.25 g(精确至0.000 01 g)苯线磷原药,随后加入50 mL乙腈,超声波振荡5 min,冷却至室温,用乙腈稀释至刻度,摇匀,过滤待测。

1.3.3 测定

待仪器稳定后,在上述操作条件下,连续注入数针标样溶液,直至相邻两针苯线磷峰面积相对变化小于1.2%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

将测得的两针试样溶液以及试样前后两针标样溶液中苯线磷峰面积分别进行平均。试样中苯线磷质量分数按式(1)计算。

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

式中:w为试样中苯线磷质量分数,%;A₂为试样溶液中苯线磷峰面积的平均值,mAU·s;m₁为苯线磷标样的质量,g;

P 为标样中苯线磷质量分数, %; A_1 为标样溶液中苯线磷峰面积的平均值, $\text{mAU}\cdot\text{s}$; m_2 为试样的质量, g 。

2 结果与讨论

2.1 流动相的选择

由于悬浮剂、乳油、水分散粒剂干扰较大,为使有效成分得到良好的分离效果,并且分析时间相对合适,峰形尖锐,保留时间适中,根据苯线磷的结构和性质,对不同配比的乙腈和水、甲醇和水2种流动相进行筛选。结果表明,流动相为乙腈+水(体积比45:55),流速为1.0 mL/min,苯线磷保留时间为9.9 min,能够获得良好的分离效果。在苯线磷出峰后仍有很多杂质,为进一步洗脱农药制剂中的其他物质,在12~17 min将流动相调整为乙腈+水(体积比85:15)可加快洗脱速度,缩减分析时间。

2.2 检测波长的选择

利用紫外-可见检测器对苯线磷溶液在210~400 nm范围内进行扫描。苯线磷的紫外光谱图见图2。从图2中可见,苯线磷的最大吸收波长约250 nm,在该波长处灵敏度较高,各种杂质不影响苯线磷的测定,能够满足分析的要求,故将检测波长确定为250 nm。

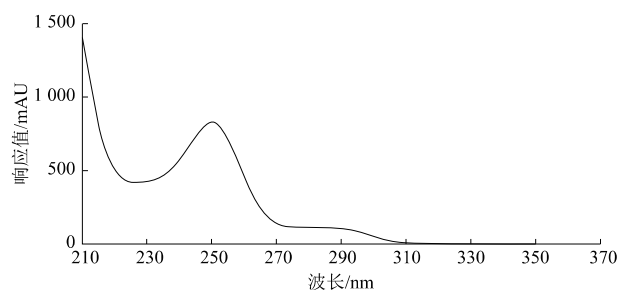


图2 苯线磷紫外吸收谱图

2.3 分析方法的特异性

本试验采用HPLC-DAD峰纯度分析法来鉴别苯线磷。苯线磷标样、苯线磷·苯氧威悬浮剂、苯线磷·联苯菊酯乳油、苯线磷·氟虫腈水分散粒剂中的苯线磷HPLC-DAD峰纯度均大于990,有效成分处

无其他物质干扰,符合定量分析要求。

2.4 分析方法的线性关系

按1.3.1标准样品的配制方法配制标样溶液,用乙腈以1:1的比例梯度稀释4次,获得5个浓度的有效成分线性相关溶液。在上述操作条件下,待仪器稳定后,按照分别进同样体积的标样,进行测定,取两次测定的平均结果。以苯线磷质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线(图3)。从图3可见,当苯线磷质量浓度为49.34~789.41 mg/L(进样体积5 μL),其与相应的苯线磷峰面积之间呈现良好的线性关系,计算得回归方程为 $y=9.8033x+35.775$,相关系数 $R^2=1.0000$,完全可以满足定量分析要求。

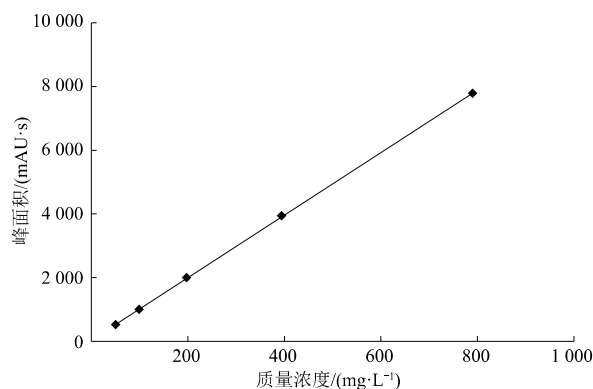


图3 苯线磷标准曲线

2.5 分析方法的精密度

从同一样品中称取5个试样,在上述色谱条件下进行分析,测得苯线磷·苯氧威悬浮剂、苯线磷·联苯菊酯乳油、苯线磷·氟虫腈水分散粒剂的标准偏差分别为0.01%、0.004%和0.01%(表2)。

苯线磷·苯氧威悬浮剂中苯线磷质量分数测定结果平均值为0.93%,变异系数为1.03,小于修改的Horwitz公式的计算值($2^{1-0.51\log C} \times 0.67=2.71$,其中 C 为样品中有效成分质量分数的平均值)。根据农业部行业标准NY/T 2887—2016《农产品质量分析方法》规范要求^[6],有效成分分析方法精密度的测定结果符合要求。

表2 分析方法的精密度试验结果

制剂产品	质量分数/%					平均值	标准偏差/%	变异系数
	1	2	3	4	5			
苯线磷·苯氧威悬浮剂	0.93	0.92	0.91	0.93	0.92	0.92	0.01	1.03
苯线磷·联苯菊酯乳油	0.95	0.95	0.95	0.95	0.94	0.95	0.004	0.39
苯线磷·氟虫腈水分散粒剂	0.97	0.97	0.95	0.97	0.96	0.96	0.01	0.86

苯线磷·联苯菊酯乳油中苯线磷质量分数测定结果平均值为0.95%,变异系数为0.39,小于修改的

Horwitz公式的计算值($2^{1-0.51\log C} \times 0.67=2.70$),表明有效成分分析方法精密度的测定结果符合要求。

苯线磷·氟虫腈水分散粒剂中苯线磷质量分数测定结果平均值为0.96% ;变异系数为0.86 ,小于修改的Horwitz公式的计算值($\chi^{1-0.51\log C} \times 0.67=2.69$) ,表明有效成分分析方法精密度的测定结果符合要求。

2.6 分析方法的准确度

取按1.3.2试样溶液的制备方法配制的溶液5 mL于50 mL容量瓶中 ,加入6 mL按1.3.1配置的苯线磷标样溶液 ,用乙腈超声溶解 ,冷却至室温 ,再用乙腈定容至刻度 ,摇匀。苯线磷的回收率按式(2)计算。

$$R/\% = \frac{a-b}{c} \times 100 \quad (2)$$

式中 R 为回收率 ,% ; a 为测定量 ,mg ; b 为所称样品中待测组分量 ,mg ; c 为理论加入量 ,mg。

经测定 ,苯线磷·苯氧威悬浮剂、苯线磷·联苯菊酯乳油和苯线磷·氟虫腈水分散粒剂的回收率分别为97.61%、99.92%和97.52% ,试验结果见表3 ,表明有效成分分析方法准确度的测定结果符合要求。

表3 分析方法的准确度试验结果

制剂产品	所称样品量/mg	理论加入量/mg	测定量/mg	回收率/%	平均回收率/%
苯线磷·苯氧威悬浮剂	500.10	4.74	9.18	95.57	97.61
	500.10	4.74	9.15	95.77	
	500.10	4.74	9.20	96.81	
	500.10	4.74	9.33	99.66	
	500.10	4.74	9.36	100.22	
苯线磷·联苯菊酯乳油	500.00	4.74	9.45	99.63	99.92
	500.00	4.74	9.44	99.33	
	500.00	4.74	9.41	98.85	
	500.00	4.74	9.50	100.75	
	500.00	4.74	9.52	101.02	
苯线磷·氟虫腈水分散粒剂	500.10	4.34	9.03	96.88	99.52
	500.10	4.34	9.24	101.83	
	500.10	4.34	9.12	98.90	
	500.10	4.34	9.12	99.05	
	500.10	4.34	9.20	100.93	

3 结 语

利用高效液相色谱对悬浮剂、乳油、水分散剂中的苯线磷进行了定性定量分析。结果表明 ,所采用的方法准确度和精密度较高 ,线性关系较好 ,具有简便、快速、准确及分离效果好等优点 ,能够作为农药制剂产品中苯线磷非法添加的分析测定方法。

参考文献

- [1] 李建兵,王建萍,孙娜,等. 农药中非法添加成分检测方法的研究进展[J]. 农药, 2018, 57(3): 157-161.
- [2] 袁善奎,刘亮,王以燕,等. 农药非法添加隐性成分及其风险分析[J]. 农药, 2016, 55(7): 480-482.
- [3] 熊伟娜. 土壤中苯线磷的降解及其立体选择性[D]. 大连: 大连理工大学, 2014.
- [4] SINGH N, MEGHARAJ M, GATES W P, et al. Bioavailability of an organophosphorus pesticide, fenamiphos, sorbed on an organo clay[J]. Journal of Food Chemistry, 2003, 51(9): 2653-2658.
- [5] DAVIS R F, JOHNSON A W, WAUCHOPE R D. Accelerated degradation of fenamiphos and its metabolites in soil previously treated with fenamiphos[J]. Journal of Nematology, 1993, 25(4): 679-685.
- [6] 中华人民共和国农业部. NY/T 2887-2016 农药产品质量分析方法确认指南[S]. 北京: 中国农业出版社, 2016.

(责任编辑:高蕾)

欧盟拟不再批准苯霜灵的续展登记

2020年9月15日 欧盟委员会出台了一项法规 ,要求在2020年10月6日前撤销对苯霜灵的批准 ,并在2021年10月5日前撤销在欧盟的使用授权(宽限期)。苯霜灵的MRL很可能会降至测定下限 ,但目前尚不清楚新测定下限的生效日期。

(陈逸雨摘自《世界农化网》)