

◆ 加工与分析 ◆

苯酰菌胺原药和水分散粒剂的高效液相色谱分析方法研究

陈慧萍, 孟 璨, 马杜康, 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: 笔者采用高效液相色谱法, 以乙腈+水为流动相, 使用Agilent ZORBAX SB-C₁₈为填料的不锈钢色谱柱和紫外-可见检测器, 在240 nm波长下对苯酰菌胺原药和锰锌·苯酰菌胺水分散粒剂试样中的有效成分苯酰菌胺进行分离和定量分析。结果表明, 苯酰菌胺的线性回归方程为 $y=8.2968x+51.66$, 相关系数为1.000 0; 苯酰菌胺原药和锰锌·苯酰菌胺水分散粒剂试验中有效成分苯酰菌胺的标准偏差分别为0.15%和0.03%; 苯酰菌胺水分散粒剂的平均回收率为101.50%。该方法灵敏高、操作简便快速, 适用于苯酰菌胺原药及制剂产品的含量检测。

关键词: 苯酰菌胺; 原药; 水分散粒剂; 高效液相色谱; 分析

中图分类号: S 482.2 ; TQ 450.7 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1671-5284.2021.03.004

Analysis of Zoxamide TC and WG by HPLC

CHEN Huiping, MENG Can, MA Dukang, ZHAO Pengyue*, HUANG Qiliang*

(Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100139)

Abstract: A method was established for the determination of zoxamide technical material (TC) and water dispersible granule (WG) in HPLC condition. Acetonitrile and water were employed as mobile phase. Agilent ZORBAX SB-C₁₈ column and UV-vis detector was used. Zoxamide TC and mancozeb-zoxamide WG were separated and quantitatively analyzed at 240 nm. The linear regression equation of zoxamide is $y=8.2968x+51.639$ with the correlation coefficient of 1.000 0. The standard deviations of zoxamide TC and mancozeb-zoxamide WG were 0.15% and 0.03%, respectively. The average recovery of zoxamide WG was 101.50%. The results showed that the HPLC method was sensitive and rapid, which was suitable for zoxamide TC and formulation analysis.

Key words: zoxamide; technical material; water dispersible granule; HPLC; analysis

苯酰菌胺是一种苯甲酰胺类杀菌剂, 由罗门哈斯公司(现为陶氏农业科学公司)研发, 兼具保护和治疗作用。原药为白色精细粉末, 具有类似甘草的气味。熔点为159.5~161℃, 蒸气压小于 1×10^{-2} mPa (小于或等于45℃); 分配系数: K_{ow} lgP值为3.76 (20℃); 相对密度为1.38(20℃)。溶解度: 在水中溶解度为0.681 mg/L(20℃); 在丙酮中溶解度为55.7

g/L(25℃)。水溶液中水解DT₅₀约为15 d(pH为4和7)、8 d(pH为9)^[1]。苯酰菌胺可有效防治由卵菌纲真菌引起的病害, 对葡萄霜霉病有特效, 对部分子囊菌和担子菌病害也有较好的生物活性^[2]。

目前, 关于苯酰菌胺分析方法报道较少。有文献报道用气相色谱-质谱法检测葡萄中苯酰菌胺含量的方法^[3]。张春荣等^[4]报道了用气相色谱分析

收稿日期: 2020-10-10

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFD0200300)

作者简介: 陈慧萍(1995—), 女, 河南新乡人, 硕士研究生, 研究方向为农药剂型加工与质量控制技术。E-mail: hpingchen@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: qiliang@ippcaas.cn

黄瓜及土壤中苯酰菌胺含量的方法。李皓^[5]利用气相色谱-质谱法检测了香椿等芽菜类蔬菜中苯酰菌胺的含量。迟梦宇等^[6]建立了一种液相色谱-质谱法测定梨中苯酰菌胺含量的分析方法。然而,苯酰菌胺农药产品的检测方法尚无报道,其原药及制剂中有效成分含量的测定尚无标准方法。笔者建立了在同一液相条件下测定苯酰菌胺原药和水分散粒剂的方法,为苯酰菌胺农药制剂产品质量检测提供依据。

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;色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 不锈钢柱(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;有机过滤器(微膜孔径为0.45 μm)。

乙腈(色谱纯)、二次蒸馏水、苯酰菌胺标准品(质量分数99.7%),First Standard公司;96%苯酰菌胺原药、75%锰锌·苯酰菌胺水分散粒剂,市场购买获得。

1.2 液相色谱操作条件

流动相:乙腈+水(体积比为65:35);柱温:室温;流速:1.0 mL/min;检测波长:240 nm;进样体积:5 μL;保留时间:苯酰菌胺约10.4 min。

上述液相色谱操作条件是典型的操作参数,可以根据不同仪器特点和温度条件,对给定的操作参数进行适当的调整,以获得最佳效果。典型的苯酰菌胺标准品、96%苯酰菌胺原药、75%锰锌·苯酰菌胺水分散粒剂样品高效液相色谱图见图1、2、3。

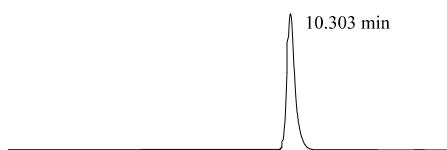


图1 苯酰菌胺标准品高效液相色谱图

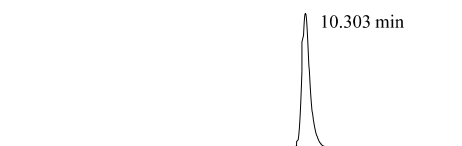


图2 96%苯酰菌胺原药高效液相色谱图

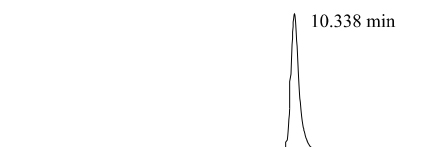


图3 75%锰锌·苯酰菌胺水分散粒剂高效液相色谱图

1.3 测定步骤

1.3.1 标准样品的配制

称取含0.10 g(精确至0.000 01 g)苯酰菌胺标样于50 mL容量瓶中,加入30 mL甲醇,超声波振荡10 min,冷却至室温,用甲醇稀释至刻度,摇匀。用移液管移取10 mL上述溶液于50 mL容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,过滤。

1.3.2 试样溶液的配制

称取含0.10 g(精确至0.000 01 g)苯酰菌胺的试样于50 mL容量瓶中,加入30 mL甲醇,超声波振荡15 min,冷却至室温,用甲醇稀释至刻度,摇匀。用移液管取10 mL上述溶液于50 mL容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,过滤。

1.3.3 测定

在上述操作条件下,待仪器稳定后,连续注入数针标样溶液,直至相邻2针苯酰菌胺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2针试样溶液以及试样前后2针标样溶液中苯酰菌胺的峰面积分别进行平均。试样中苯酰菌胺质量分数按公式(1)计算。

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

式中: w 为试样中苯酰菌胺质量分数,%; A_2 为试样溶液中苯酰菌胺峰面积的平均值, $\text{mAU} \cdot \text{s}$; m_1 为苯酰菌胺标样的质量, g ; P 为标样中苯酰菌胺质量分数,%; A_1 为标样溶液中苯酰菌胺峰面积的平均值, $\text{mAU} \cdot \text{s}$; m_2 为试样的质量, g 。

2 结果与分析

2.1 流动相的选择

根据苯酰菌胺物化性质,选择甲醇作为溶剂溶解样品,并以乙腈和水作为流动相。将流动相按不同比例在色谱柱上进行试验,随着乙腈比例的增加,保留时间减小,当乙腈与水比例达到70:30时,有杂质峰干扰苯酰菌胺,峰纯度达不到试验要求,最终选择乙腈+水体积比为65:35作为流动相,流速1.0 mL/min。该条件下,苯酰菌胺色谱峰峰形较好,与杂质能完全分离,具有良好的精密度和准确度,并且分析时间较短,提高了工作效率。

2.2 检测波长的选择

利用紫外-可见检测器对苯酰菌胺溶液在210~400 nm范围内进行扫描,苯酰菌胺的紫外光

谱图如图4所示,从图中可以看到苯酰菌胺的最大吸收波长约210 nm,但在该波长处有干扰,而吸收波长在约240 nm处为次高峰,故将检测波长确定为240 nm。

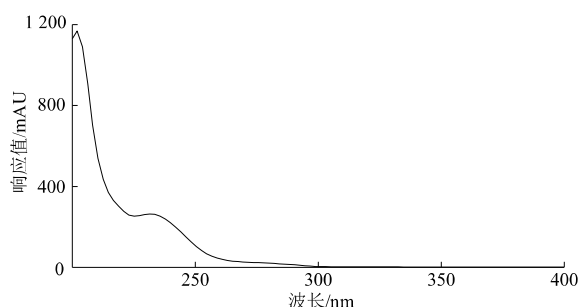


图4 苯酰菌胺紫外吸收谱图

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酰菌胺。苯酰菌胺标样、96%苯酰菌胺原药、75%锰锌·苯酰菌胺水分散粒剂中的苯酰菌胺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,用甲醇以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2次测定的平均结果。以苯酰菌胺质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线。从图5可以看出,当苯酰菌胺质量浓度在100.07 mg/L~1 601.18 mg/L(进样体积5 μ L)与相应的苯酰菌胺峰面积之间呈现良好的线性关系,计算得回归方程为 $y=8.2968x+51.66$,相关系数 $R^2=1.0000$,完全可以满足定量分析要求。

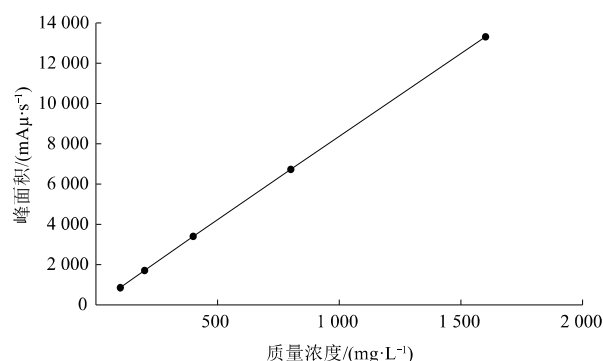


图5 苯酰菌胺标准曲线

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96%苯酰菌胺原药和75%锰锌·苯酰菌胺水分散粒剂的标准偏差分别为0.15%和0.03%(表1)。

表1 苯酰菌胺水分散粒剂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			
96%苯酰菌胺原药	93.39	93.33	93.13	93.49	93.49	93.36	0.15	0.16
75%锰锌·苯酰菌胺水分散粒剂	7.91	7.89	7.90	7.85	7.86	7.88	0.03	0.34

96%苯酰菌胺原药中苯酰菌胺质量分数测定结果的变异系数为0.16,小于修改的Horwitz公式的计算值($2^{1-0.51\log C} \times 0.67=1.35$,其中C为样品中有效成分质量分数的平均值),表明有效成分分析方法精密度的测定结果符合要求。

75%锰锌·苯酰菌胺水分散粒剂中苯酰菌胺质量分数测定结果的变异系数为0.34,小于修改的Horwitz公式的计算值($2^{1-0.51\log C} \times 0.67=1.96$),表明有效成分分析方法精密度的测定结果符合要求。

2.6 水分散粒剂分析方法的准确度

分别称取5个已知含量的75%锰锌·苯酰菌胺水分散粒剂试样于50 mL容量瓶中,加入2.4中配制的1 601.18 mg/L苯酰菌胺标样溶液5 mL,用甲醇超声溶解,冷却至室温,再用甲醇定容至刻度,摇匀。苯酰菌胺的回收率按式(2)计算。

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

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,75%锰锌·苯酰菌胺水分散粒剂中有效成分苯酰菌胺的回收率为101.50%,结果见表2,表明有效成分分析方法准确度的测定结果符合要求。

表2 苯酰菌胺水分散粒剂分析方法的准确度试验结果

所称样品量/mg	所称样品有效量/mg	理论加入量/mg	测定量/mg	回收率/%	平均回收率/%
145.8	11.49	8.00	19.72	102.89	
148.3	11.69	8.00	19.79	101.30	
145.4	11.46	8.00	19.54	101.03	101.50
144.9	11.42	8.00	19.44	100.27	
144.9	11.42	8.00	19.58	102.02	

(下转第25页下)

- [2] 章振羽,任丹华,刘小谭,等.添加飞防助剂对无人机防治马铃薯晚疫病的影响[J].四川农业科技,2020,392(5):31-32.
- [3] 袁会珠.农药使用技术指南.第2版[M].北京:化学工业出版社,2011.
- [4] 袁会珠,王国宾.雾滴大小和覆盖密度与农药防治效果的关系[J].植物保护,2015,41(6):9-16.
- [5] FRITZ B K, HOFFMANN W C, BAGLEY W E. Effects of spray mixtures on droplet size under aerial application conditions and implications on drift[J]. Applied Engineering in Agriculture, 2010, 26(1):21-29.
- [6] HUANG Y, HOFFMANN W C, LAN Y, et al. Development of a spray system for an unmanned aerial vehicle platform[J]. Applied Engineering in Agriculture, 2008, 25(6):803-809.
- [7] 王潇楠,何雄奎,ANDREAS H,等.喷杆式喷雾机雾滴飘移测试系统研制及性能试验[J].农业工程学报,2014,30(18):55-62.
- [8] 王立军,姜明海,孙文峰,等.飞机喷雾技术的探讨[J].农机化研究,2005(5):64-65.
- [9] 耿爱军,李法德,李陆星.国内外植保机械及植保技术研究现状[J].农机化研究,2007(4):189-191.
- [10] 袁会珠,杨代斌,李学辉,等.一种雾滴蒸发抑制剂:CN,103299993A,[P].2013-09-18.
- [11] 左雯,饶志坚,吴国星,等.表面活性剂对农药雾滴在甘蓝菜叶面上扩展面积和蒸发时间的影响研究[J].西南大学学报(自然科学版),2011,33(9):1-5.
- [12] 吕国强,芮洪梅,左雯,等.几种表面活性剂对农药雾滴在小白菜叶面上蒸发的影响规律研究[J].西南大学学报(自然科学版),2014,36(3):6-13.
- [13] 周召路,曹冲,曹立冬,等.不同类型界面液滴蒸发特性与农药利用效果研究进展[J].农药学报,2017,19(1):9-17.
- [14] 王军锋,罗博韬,霍元平,等.助剂影响大载荷植保无人飞机喷洒沉积特性的试验研究[J].排灌机械学报,2019,37(12):38-43.
- [15] MORADIANA, MOSTAGHIMI J. Surface tension measurement at high temperatures by using numerical and theoretical drop profiles [J]. Fluids Engineering Division of the American Society of Mechanical Engineers, 2005, 129: 991-1001.
- [16] 马力,仇性启,崔运静,郑志伟.两组分液滴蒸发特性研究[J].工业加热,2014,43(1):13-16.
- [17] 邵冰.多组分液滴对流蒸发过程的实验研究[D].重庆:重庆大学,2016.

(责任编辑:徐娟)

(上接第16页)

- aminopyrifin inhibits GWT-1 protein in glycosylphatidylinositol-anchor biosynthesis in *Neurospora crassa* [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2019, 156: 1-8.
- [12] Technology Center. Composition containing fluoroquinazone and aminopyrifin: CN, 10764852A[P]. 2018-02-02.
- [13] 刘胜召,张承来,曹明章,等.含氟啶唑的农药:CN,101692824A[P].2009-07-21.
- [14] 胡伟群,陈杰.灰霉病的化学防治进展[J].现代农药,2002(4):8-11.
- [15] 奉代力,王强,郑纪慈,等.几种杀菌剂对灰葡萄孢的抗菌作用比较研究[J].浙江农业科学,2013,25(1):119-123.
- [16] ARAKI K, AIZAWA R. Method for manufacturing 2-amino-6-methylnicotinic acid: CN, 106458908A[P]. 2017-02-22.
- [17] AIZAWA R, OKADA I. Method of producing 2-aminonicotinic acid benzyl ester derivatives: US, 20160318868A1[P]. 2016-03.
- [18] AIZAWA R, OKADA I. Method for producing benzyl ester 2-aminonicotinate derivative: EP, 3088391A1[P]. 2016-02-11.
- [19] ARAKI K, AIZAWA R. Method for manufacturing 2-aminonicotinic acid benzyl ester derivative: TW, 1631104B[P]. 2018-08-01.

(责任编辑:高蕾)

(上接第19页)

3 结论

利用高效液相色谱对96%苯酰菌胺原药和75%锰锌·苯酰菌胺水分散粒剂中的苯酰菌胺进行了定性定量分析。实验结果表明,该方法分离效果好、准确度和精密度高、线性关系良好,并且操作简便、快速,可以进行苯酰菌胺原药及制剂产品的有效成分分析。

参考文献

- [1] 张梅凤,范金勇,于乐祥.2011年—2015年专利到期的农药品种之苯酰菌胺[J].今日农药,2013,2:35-37.
- [2] 潘兴鲁.手性杀菌剂啶菌噁唑和苯酰菌胺对映体生物活性生态毒性及环境行为研究[D].北京:中国农业科学院,2018.
- [3] ANGIONI A, GARAU A, CABONI P, et al. Gas chromatographic ion trap mass spectrometry determination of zoxamide residues in grape, grape processing, and in the fermentation process[J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1097(1/2): 165-170.
- [4] 张春荣,平立凤,赵华,等.苯酰菌胺在黄瓜及土壤中的残留动态[J].浙江农业学报,2011,23(6):1177-1181.
- [5] 李皓. QuEChERS-气相色谱/质谱法检测香椿等芽菜类蔬菜中5种酰胺类杀菌剂残留量[J].食品安全质量检测学报,2019,10(17):5878-5883.
- [6] 迟梦宇,陈子雷,郭长英,等.超高效液相色谱-串联质谱法同时测定梨中22种农药残留[J].食品安全质量检测学报,2019,10(7):1976-1981.

(责任编辑:徐娟)