

◆ 开发与分析 ◆

12%虫螨腈·多杀菌素悬浮剂液相色谱分析

白亮¹, 马超¹, 赵宜君¹, 徐军^{1,2*}, 陈昶^{1,2*}

(1. 河北中保绿农作物科技有限公司, 北京 100193; 2. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193)

摘要:本研究建立一种采用高效液相色谱法测定12%虫螨腈·多杀菌素悬浮剂的定量分析方法。采用高效液相色谱法,以甲醇-乙腈-缓冲盐为流动相,使用C₁₈色谱柱为固定相和2489 UV-Vis检测器,在245 nm波长下对样品中的12%虫螨腈·多杀菌素悬浮剂进行分离和定量分析。结果表明,虫螨腈和多杀菌素的线性相关系数(R^2)分别为0.999 2和0.999 8($R^2 > 0.999$);相对标准偏差(RSD)分别为0.43%和0.62%;平均回收率分别为98.29%和96.29%。该方法的分离效果、线性关系、精密度和准确度良好,均符合分析标准。

关键词:虫螨腈;多杀菌素;液相色谱;分析方法

中图分类号:TQ 450.7 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2022.03.008

Analysis of 12% Chlorfenapyr·Spinosad SC by High Performance Liquid Chromatography

BAI Liang¹, MA Chao¹, ZHAO Yijun¹, XU Jun^{1,2*}, CHEN Chang^{1,2*}

(1. Hebei Zhongbao Green Agricultural Crop Technology Co., Ltd., Beijing 100193, China; 2. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100193, China)

Abstract: An analytical method was established for the quantitative determination of 12% chlorfenapyr-spinosad SC by high performance liquid chromatography (HPLC). The separation and quantitative analysis of samples were conducted by HPLC and 2489 UV/Vis detector at 245 nm with the mixture of methanol, acetonitrile and ammonia as mobile phase, and C₁₈ column as fixed phase. The results showed that the linear correlation coefficients (R^2) of chlorfenapyr and spinosad were 0.999 2 and 0.999 8 ($R^2 > 0.999$), respectively. The relative standard deviations (RSD) were 0.43% and 0.62%, respectively. The average recoveries were 98.29% and 96.29%, respectively. In conclusion, the method had the characteristics of good separation effect, linear relations, precision, and accuracy, which could meet analytical standards.

Key words: chlorfenapyr; spinosad; HPLC; analytical method

虫螨腈又名溴虫腈 (Chlorfenapyr), 作用于昆虫细胞的线粒体, 主要抑制二磷酸腺苷 (ADP) 向三磷酸腺苷 (ATP) 的转化^[1-2], 其具有胃毒、触杀作用与内吸活性, 对鳞翅目、同翅目等多重害虫的防治具有高效性^[3-5], 因而被广泛应用于蔬菜、水果等作物^[6-7]。多杀菌素 (Spinosad) 是一种作用于烟碱型乙酰胆碱受体的抗生素类药剂^[8], 其对鳞翅目^[9-10]等靶害虫同样具有优异的防效。关于虫螨腈、多杀菌素单剂分析方法已有研究^[11], 但二者混配制剂的高效液相

色谱分析方法未见报道。本研究采用高效液相色谱法同时检测12%虫螨腈·多杀菌素悬浮剂中的虫螨腈和多杀菌素。该方法具有较高的准确度和精密度, 是较为实用的分析方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

甲醇 (色谱纯), 默克 (德国) 股份有限公司; 乙腈 (色谱纯), 美国飞世尔科技公司; 氨水 (分析纯),

收稿日期: 2021-12-07

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2016YFD0200507)

作者简介: 白亮 (1994—), 男, 内蒙古乌兰察布人, 本科, 主要从事农药分析检测工作。E-mail: 18311361391@163.com

通信作者: 徐军 (1973—), 男, 北京人, 硕士, 助理研究员, 主要从事农药制剂研究。E-mail: Junxu@ippcass.cn

共同通信作者: 陈昶 (1971—), 男, 江西弋阳人, 硕士, 研究员, 主要从事农药应用研究。E-mail: xsfz@zhongbaony.com

北京广达恒益科技有限公司; 虫螨腈标准品(纯度99.0%)和多杀菌素标准品(纯度 $\geq 92.0\%$), 沈阳化工研究院; 12%虫螨腈·多杀菌素悬浮剂(10%虫螨腈+2%多杀菌素), 河北中保绿农作物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

Waters e2695高效液相色谱仪、2489UV-Vis紫外检测器, 沃特世科技(上海)有限公司; C₁₈色谱柱(4.6 mm $\times$ 200 mm, 5 μ m), 北京海诚中仪科技有限公司; UV-6100紫外分光光度计, 上海元析仪器有限公司; 真空抽滤器(内置孔径为0.45 μ m的水系滤膜), 天津科亿龙试验设备有限公司; 0.45 μ m有机滤膜, 上海密粒膜分离技术有限公司; AL104电子天平, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

1.3 液相色谱分析条件

流动相: 甲醇-乙腈-缓冲盐(42:42:16, V/V/V), 其中, 缓冲盐为水-氨水(300:1, V/V), 经真空抽滤器抽滤除杂, 并采用超声排空液体中气泡; 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 室温; 进样体积: 5 μ L; 检测波长: 245 nm。

1.4 溶液配制

1.4.1 标准溶液的配制

称取多杀菌素标准品0.05 g(精确至0.000 2 g), 加入适量甲醇溶解, 置于100 mL容量瓶中, 超声震荡20 min后, 取出冷却至室温; 准确称取虫螨腈标准品0.05 g(精确至0.000 2 g), 用甲醇溶解, 置于100 mL容量瓶中, 随后准确量取20 mL上述多杀菌素标准溶液加入至虫螨腈标准溶液中, 用甲醇定容后上下颠倒混匀, 制得多杀菌素标准溶液的浓度为0.1 mg/mL, 虫螨腈标准溶液浓度为0.5 mg/mL, 过滤后存于4℃冰箱, 待测。

1.4.2 试样溶液的配制

精确称取含多杀菌素和虫螨腈的试样0.5 g(精确至0.000 2 g), 加入适量甲醇溶解, 置于100 mL容量瓶中, 超声震荡20 min后, 取出冷却至室温, 待样品完全溶解后用甲醇定容, 过滤后装入进样瓶, 存于4℃冰箱, 待测。

1.5 有效成分质量分数测定

在1.3中检测样品有效成分的分析条件下平衡仪器, 使仪器达到最佳使用状态(基线波动范围应小于 10^{-3}), 取1.4中配制好的标准溶液和试样溶液进行测定。

1.6 计算

样品中的有效成分多杀菌素和虫螨腈的质量

分数 w 按式(1)进行计算。

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

式中: A_1 为标样溶液中虫螨腈(多杀菌素)峰面积的平均值, mAU $\cdot$ min; A_2 为试样溶液中虫螨腈(多杀菌素)峰面积的平均值, mAU $\cdot$ min; m_1 、 m_2 分别为虫螨腈(多杀菌素)标样、试样质量, g; P 为标样中虫螨腈(多杀菌素)的质量分数, %; f 为稀释倍数($f_{\text{虫螨腈}}=1$, $f_{\text{多杀菌素}}=5$)。

2 结果与分析

2.1 检测波长的选择

使用紫外分光光度计分别对虫螨腈和多杀菌素的标准溶液进行全波长扫描, 得到在200~300 nm波长范围的紫外光谱图(图1)。在245 nm波长条件下, 虫螨腈和多杀菌素均有较强的吸收峰, 且杂峰较少。因此, 本方法选择245 nm作为检测波长。

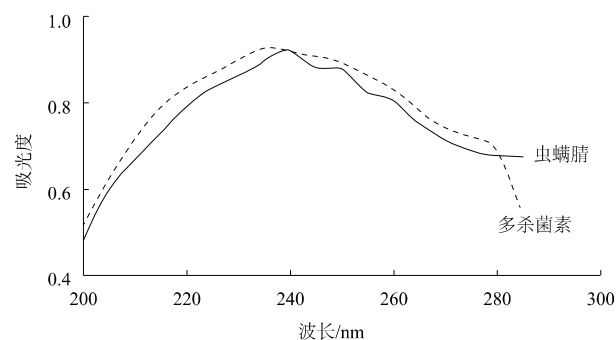


图1 虫螨腈和多杀菌素的紫外吸收光谱图

2.2 流动相的选择

在12%虫螨腈·多杀菌素悬浮剂有效质量分数检测中, 对流动相各分相的比例进行调整, 观察峰型的变化和出峰的先后顺序, 来确定流动相的最佳配比。最终结果表明, 当 $V_{\text{乙腈}}:V_{\text{甲醇}}:V_{\text{缓冲盐}}$ 为42:42:16时, 色谱峰型较好(图2、图3), 出峰较快, 分离效果最佳, 满足分析检测要求。

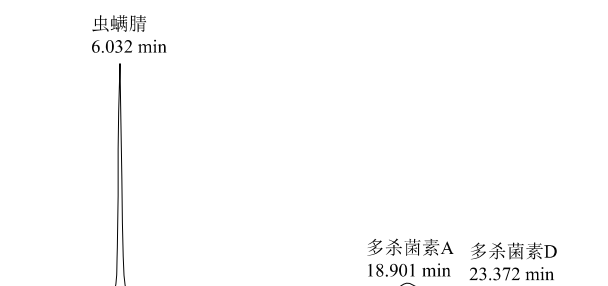


图2 虫螨腈和多杀菌素标样液相色谱图

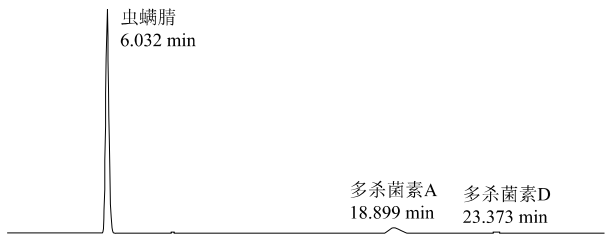


图 3 虫螨腈和多杀菌素试样液相色谱图

2.3 分析方法的线性关系

依次吸取多杀菌素和虫螨腈标准溶液1.0、2.0、5.0、8.0、10.0 mL进行浓度稀释，制得0.2~2.0 mg/mL多杀菌素和0.05~0.5 mg/mL的虫螨腈系列标准溶液。之后，用1.3所述的色谱分析条件对各浓度的标样溶液进行测定并记录峰面积。绘制标准曲线，计算出多杀菌素和虫螨腈的线性回归方程。多杀菌素的回归方程为 $y=1\ 028\ 812.278\ 9x-303\ 559.850\ 3$ ， $R^2=0.999\ 8$ ；虫螨腈的回归方程为 $y=424\ 359.738\ 1x+55\ 725.761\ 9$ ， $R^2=0.999\ 2$ ，两者的 R^2 值均大于0.999。结果表明，多杀菌素和虫螨腈均具有良好的线性关系。

2.4 分析方法的精密度

在上述色谱检测条件下，对12%虫螨腈·多杀菌素悬浮剂试样进行 $n(n\geq 5)$ 次独立分析检测。由检测结果可知，样品中虫螨腈的相对标准偏差为0.43%，多杀菌素的相对标准偏差为0.62%，分别小于Horwitz公式 $^{[12]}2^{1-0.5\log C}\times 0.67$ （其中 C 为样品中有效成分含量的平均值）的计算值0.947 5和1.207。以上结果均符合分析标准要求 $^{[12]}$ ，说明该分析方法的精密度良好（表1）。

表 1 分析方法的精密度检测结果 ($n=5$)

有效成分	序号	质量分数/%	平均值/%	标准偏差/%	相对标准偏差/%
虫螨腈	1	10.86	10.83	0.047	0.43
	2	10.85			
	3	10.76			
	4	10.80			
	5	10.87			
多杀菌素	1	1.899	1.909	0.012	0.62
	2	1.916			
	3	1.917			
	4	1.893			
	5	1.919			

2.5 分析方法的准确度

准确称取5份12%虫螨腈·多杀菌素的试样，再分别加入多杀菌素标准品（约0.05 g）和虫螨腈标准品（约0.05 g），对其质量分数进行测定，计算回收率，结果见表2。多杀菌素和虫螨腈的平均回收率分

别为96.29%和98.29%，均较高，说明该分析方法的准确度良好。

表 2 分析方法的准确度测定结果 ($n=5$)

有效成分	序号	加入量/g	测定值/g	回收率/%	平均回收率/%
虫螨腈	1	0.055 7	0.054 3	97.49	98.29
	2	0.054 2	0.053 5	98.71	
	3	0.050 4	0.049 6	98.41	
	4	0.055 4	0.054 2	97.83	
	5	0.049 8	0.049 3	99.00	
多杀菌素	1	0.011 4	0.010 9	95.61	96.29
	2	0.013 0	0.012 5	96.15	
	3	0.012 5	0.011 9	95.20	
	4	0.012 0	0.011 7	97.50	
	5	0.013 2	0.012 8	96.97	

3 结 论

本文建立了能够同时对12%虫螨腈·多杀菌素悬浮剂中的有效成分虫螨腈和多杀菌素进行检测的高效液相色谱分析方法，并对此方法进行合理的方法验证。结果表明，虫螨腈和多杀菌素有效成分的分离效果较好，精密度较高，检测方法重现性良好，高效，易操作，因此该方法可用于12%虫螨腈·多杀菌素悬浮剂产品的有效成分的定量分析。

参考文献

[1] 刘育清. 虫螨腈的高效液相色谱分析方法[J]. 农药科学与管理, 2002, 23(4): 14-15.

[2] 李哲, 徐冬梅, 张兰, 等. QuEChERS-超高效液相色谱法测定水样中吡虫啉和虫螨腈[J]. 农药, 2019, 58(4): 291-292.

[3] 武怀恒, 黄民松, 许东, 等. 四种农药对斜纹夜蛾幼虫的生物测定[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(24): 5110-5112.

[4] 姜瑞德, 王继清, 张涛, 等. 7种农药对茶园假眼小绿叶蝉和捕食性蜘蛛的影响研究[J]. 安全与环境学报, 2011, 11(2): 12-14.

[5] 李承护, 黄文九, 宋娜, 等. 200g/L虫螨腈悬浮剂防治大白菜小菜蛾田间药效试验[J]. 广西植保, 2011, 24(1): 28-29.

[6] 王兵, 李斌, 张媛媛, 等. QuEChERS-高效液相色谱仪法测定绿茶中虫螨腈残留[J]. 中国食品学报, 2017, 17(1): 240-245.

[7] 石隆平, 薄瑞, 王胜翔, 等. 虫螨腈原药高效液相色谱仪分析方法研究[J]. 农药科学与管理, 2011, 32(3): 37-39.

[8] 余化斌, 李萍萍, 李大银. 10%多杀菌素悬浮剂对甘蓝小菜蛾田间药效试验[J]. 南方农业, 2021, 15(16): 119-121.

[9] 刘慧敏, 侯红敏, 卢征, 等. 虫酰肼再水稻及其环境系统中的残留分析方法[J]. 现代农药, 2011, 10(5): 48-50.

[10] 陈夏娇. 高氯·虫酰肼乳油中虫酰肼的液相色谱分析[J]. 农药科学与管理, 2003, 24(11): 7-9.

[11] 王鹏思, 薛健, 侯少岩, 等. 虫螨腈在中药材金银花上得残留检验方法与消解动态研究[J]. 中国药学, 2020, 55(1): 58-61.

[12] 中华人民共和国农业农村部. 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)