

◆ 加工与分析 ◆

2%丁子香酚·香芹酚可溶液剂高效液相色谱分析

李 婷, 聂 果, 许艳秋, 陈丙坤, 王广成, 高立明*

(四川省农药检定所, 成都 610041)

摘要:本研究建立了一种测定2%丁子香酚·香芹酚可溶液剂的高效液相色谱(HPLC)定量分析方法。采用HPLC法,使用ZORBAX SB-C₁₈色谱柱,以甲醇-0.1%磷酸水溶液(70:30,V/V)作流动相,检测波长为275 nm,对2%丁子香酚·香芹酚可溶液剂中有效成分进行定量分析。结果表明,丁子香酚和香芹酚相关系数(R^2)依次为0.999 6和0.999 7,均大于0.999;标准偏差分别为0.004 9%和0.004 0%,RSD分别为0.32%和0.75%,二者RSD均小于其RSD_r;平均回收率分别高达99.52%和99.97%。该分析方法操作简便,分离效果好,线性关系好,精密度和准确度高,满足定性定量分析要求。

关键词:丁子香酚;香芹酚;高效液相色谱;分析;可溶液剂

中图分类号:TQ 450.7 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2022.03.010

Analysis of 2% Eugenol·Carvacrol SL by HPLC

LI Ting, NIE Guo, XU Yanqiu, CHEN Bingkun, WANG Guangcheng, GAO Liming*

(Institute for the Control of Agrochemical of Sichuan Province, Chengdu 610041, China)

Abstract: An analysis for the detection of 2% eugenol·carvacrol SL by HPLC was established. The 2% eugenol·carvacrol SL were separated and determined with ZORBAX SB-C₁₈ column, methanol-0.1% phosphoric acid solution(70 : 30, V/V) at 275 nm detection wavelength by HPLC method. The linear correlation coefficients of eugenol and carvacrol were 0.999 6 and 0.999 7($R^2>0.999$), the standard deviations were 0.004 9% and 0.004 0%, and the RSD were 0.32% and 0.75%, respectively. Both of RSD were smaller than their RSD_r. The average recoveries of eugenol and carvacrol were 99.52% and 99.97%, respectively. The method was an ideal method for the qualitative and quantitative analysis of 2% eugenol·carvacrol SL with simple operation, good linearity, high precision and accuracy.

Key words: eugenol; carvacrol; HPLC; analysis; SL

丁子香酚(Eugenol)又名丁香酚,CAS登录号为97-53-0,EINECS(欧洲现有商业化学品目录)登录号为202-589-1,分子式C₁₀H₁₂O₂,化学名称为4-烯丙基-2-甲氧基苯酚。因具备有抑菌、杀病毒的作用,其常作为医用药物,在农用方面作为植物源杀菌剂,对黄瓜枯萎病、苹果斑点落叶病等有较好防效,且与苦参碱合理混配后对葡萄灰霉病菌增效明显^[1-3]。

香芹酚(Carvacrol)又名异百里香酚,CAS登录号为499-75-2,EINECS登录号为207-889-6,分子式C₁₀H₁₄O,化学名称为2-甲基-5-异丙基苯酚。香芹酚常用于消毒剂、杀菌剂、香料及化妆品的配方中。香

芹酚作为植物源杀虫剂,对玉米害虫具有较好的防效;作为植物源杀菌剂,对辣椒白粉病、葡萄霜霉病具有较好防效,同时能够调节辣椒和葡萄生长,对杨梅致病菌也具有非常好的抑菌效果^[4-7]。

目前,国内已有8个丁子香酚单剂、7个香芹酚单剂、1个两者混配农药登记,均是前景较好的植物源农药。国内外在饲料和中药材的香芹酚和丁子香酚的液相色谱分析方法已有相关报道^[8-9],使用高效液相色谱同时检测香芹酚和丁子香酚的质量分数的方法未见报道,因此本研究采用反相高效液相色谱法对丁子香酚·香芹酚可溶液剂进行定量分析。

收稿日期:2021-05-21

作者简介:李婷(1985—),女,四川遂宁人,硕士,高级农艺师,主要从事农药质量检测和农药管理工作。E-mail: liting5114@163.com

通信作者:高立明(1964—),男,重庆垫江人,本科,正高级农艺师,主要从事农药质量与农药残留分析工作。E-mail: cdglm2003@126.com

该方法操作简便、快速,准确度和精密性均能达到定量分析的要求,可为企业生产过程质量控制和质检机构检测提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Agilent 1260高效液相色谱仪、ZORBAX SB-C₁₈色谱柱,安捷伦科技有限公司。丁子香酚标准品(纯度≥99.0%)、香芹酚标准品(纯度≥99.0%),山东西亚化学股份有限公司;2%丁子香酚·香芹酚可溶液剂,成都新朝阳作物科学股份有限公司;甲醇(色谱纯),四川西陇科学有限公司;磷酸(分析纯)、乙腈(色谱纯),成都市科隆化学有限公司。

1.2 色谱条件

Agilent 1260二极管阵列检测器;色谱柱:ZORBAX SB-C₁₈[250 mm×4.6 mm (i.d.), 5 μm]不锈钢柱;流动相:甲醇-0.1%磷酸溶液(70:30, V/V);流量:1.0 mL/min;柱温:30℃;检测波长275 nm;进样体积:5.0 μL;保留时间:丁子香酚约为5.2 min;香芹酚约为8.2 min。

上述典型操作条件,可根据不同仪器特点,对给定的操作条件作适当调整,以期获得最佳效果。典型的色谱图见图1和图2。

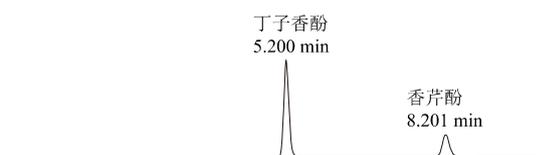


图1 标样液相色谱图

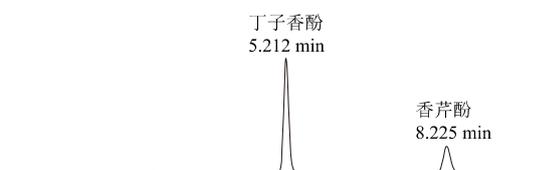


图2 试样液相色谱图

1.3 测定步骤

1.3.1 标样溶液的配制

准确称取丁子香酚标准品0.15 g、香芹酚0.05 g(精确至0.000 2 g),用甲醇溶解并用50 mL容量瓶定容;分别准确移取上述两者溶液10.0 mL于50 mL容量瓶中,用甲醇溶解并定容,备用。

1.3.2 试样溶液的配制

准确称取2%丁子香酚·香芹酚可溶液剂样品2 g

(精确至0.000 2 g),用甲醇溶解并用50 mL容量瓶定容,超声波溶解提取10 min,用0.45 μm孔径滤膜过滤,收集滤液备用。

1.3.3 线性溶液的配制

分别称取丁子香酚标样0.167 2 g、香芹酚标样0.059 3 g于50 mL容量瓶中,用甲醇溶解并定容,配制成丁子香酚浓度为3.310 6 mg/mL、香芹酚浓度为1.174 1 mg/mL的混合标准母液。分别准确移取丁子香酚和香芹酚标准母液2.0、4.0、5.0、6.0、10.0 mL于25 mL容量瓶中,用甲醇溶解并定容。

1.3.4 测定

在1.2色谱操作条件下,待仪器基线稳定后,连续数针标准溶液进样,当相邻2针的峰面积变化小于1.5%时,按照标准溶液、试样溶液、试样溶液、标准溶液的顺序进样进行分析测定。

1.4 数据分析

根据标准品和样品溶液中丁子香酚和香芹酚的峰面积,按式(1)计算试样中丁子香酚和香芹酚的质量分数 w 。

$$w = \frac{A_2 \times m_1 \times w_s}{A_1 \times m_2 \times 5} \quad (1)$$

式中: A_1 、 A_2 分别为标样和试样溶液中丁子香酚(香芹酚)峰面积的平均值, mAU·min; m_1 为丁子香酚(香芹酚)标样的质量, g; m_2 为试样的质量, g; w_s 为标样中丁子香酚(香芹酚)的质量分数, %; 5为丁子香酚(香芹酚)标样稀释倍数。

方法回收率 P , %按照式(2)进行计算。

$$P/\% = \frac{m_{\text{实测}} - m_{\text{样品}}}{m_{\text{添加}}} \times 100 \quad (2)$$

式中: $m_{\text{实测}}$ 为加标样品有效成分质量的实测值, mg; $m_{\text{样品}}$ 为试样中有效成分的理论质量, mg; $m_{\text{添加}}$ 为试样中添加有效成分的质量, mg。

根据CIPAC方法验证指南^[10],评价该分析方法的精密性,即当精密性试验中的RSD<RSD_r时,精确性结果才是可接受的,按式(3)计算RSD_r:

$$\text{RSD}_r = 2^{1-0.51gC} \times 0.67 \quad (3)$$

式中:RSD_r为室内相对标准偏差, %; C 为测定质量分数, %。

2 结果与讨论

2.1 检测波长的选择

通过二极管阵列检测器的光谱数据采集功能,对丁子香酚、香芹酚标样在190~400 nm波长下进行扫描。丁子香酚的最大吸收波长为220 nm,次大

吸收波长为280 nm; 香芹酚的主要吸收波长为220、275 nm。丁子香酚与香芹酚紫外曲线交叉点吸收波长为230、280 nm。因在低紫外补充下易产生杂质干扰, 且香芹酚的含量较低, 选择香芹酚的较大吸收波长275 nm作为方法的检测波长。经检测验证, 在此波长下, 2种物质均有较好的吸收, 且无干扰杂质峰, 基线平稳, 峰高适中, 故275 nm波长适用于本分析方法。

2.2 流动相的选择

分别用不同比例的甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.1%磷酸水溶液作为流动相, 对试样进行分离检测。试验结果表明, 采用甲醇-水为流动相时, 出峰不对称, 峰形拖尾; 改用磷酸溶液为流动相, 峰形对称; 乙腈-0.1%磷酸水溶液, 分离效果比较好, 但乙腈成本较高、毒性较大, 故选择甲醇-0.1%磷酸溶液(70:30, V/V)作为流动相。其试样分离情况较佳, 峰形对称, 保留时间适中, 是较好的分离条件。

2.3 方法的线性相关性分析

用1.3.3配制5个不同浓度的丁子香酚、香芹酚标准品溶液, 丁子香酚浓度为0.264 9~1.324 2 mg/mL, 香芹酚浓度为0.093 9~0.469 6 mg/mL, 在1.2所述色谱操作条件下对系列溶液进行分析。以标准品的质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 得到丁子香酚的线性方程为 $y=4\ 019.6x+12.548$, $R^2=0.999\ 6$; 香芹酚的线性方程为 $y=3\ 880.6x-2.217\ 9$, $R^2=0.999\ 7$ 。丁子香酚和香芹酚的 R^2 均大于0.999, 则说明该方法线性关系良好。

2.4 方法精密度

取同一丁子香酚·香芹酚可溶液剂样品, 按照1.2所述分析条件进行6次平行测定, 结果见表1。丁子香酚质量分数平均值为1.514%, 标准偏差为0.004 9%, RSD为0.32%; 香芹酚质量分数平均值为0.531%, 标准偏差为0.004 0%, RSD为0.75%。丁子香酚、香芹酚的RSD均远小于对应的RSD_r, 符合CIPAC方法验证指南要求, 说明该方法精密度高。

表 1 精密度测定结果

有效成分	质量分数/%						平均值/%	标准偏差/%	RSD/%	RSD _r /%
	1	2	3	4	5	6				
丁子香酚	1.508	1.511	1.515	1.522	1.510	1.517	1.514	0.004 9	0.32	2.52
香芹酚	0.534	0.527	0.530	0.533	0.535	0.524	0.531	0.004 0	0.75	2.95

2.5 方法准确度

分别称取已测定质量分数的2%丁子香酚·香芹酚可溶液剂样品, 每个样品中都加入一定量的丁子香酚和香芹酚标准品, 按照1.2所述的色谱条件测定样品中丁子香酚和香芹酚的总质量, 计算回收率, 结

果见表2。丁子香酚回收率范围为:98.73%~100.18%, 平均值为99.52%; 香芹酚回收率范围为:99.32%~100.64%, 平均值为99.97%。丁子香酚、香芹酚的回收率在98.73%~100.64%, CIPAC方法验证指南中要求为97%~103%, 满足定量分析对回收率的要求。

表 2 丁子香酚和香芹酚添加回收率测定结果

有效成分	序号	本底量/mg	添加量/mg	实测值/mg	回收率/%	平均回收率/%
丁子香酚	1	15.33	16.55	31.91	100.18	99.52
	2	15.28	16.55	31.75	99.52	
	3	14.97	16.55	31.31	98.73	
	4	12.95	16.55	29.35	99.09	
	5	12.31	26.48	38.73	99.77	
	6	12.48	26.48	38.92	99.85	
香芹酚	1	5.44	5.87	11.28	99.49	99.97
	2	5.42	5.87	11.31	100.34	
	3	5.31	5.87	11.17	99.83	
	4	4.59	5.87	10.42	99.32	
	5	4.36	9.39	13.77	100.21	
	6	4.43	9.39	13.88	100.64	

3 结论

试验结果表明,本方法对测定2%丁子香酚·香芹酚可溶剂剂的有效成分含量具有简便、快速及分离效果好的优点,方法重现性好,准确度高,线性关系良好,可用于配制剂中丁子香酚、香芹酚有效成分质量分数的质量控制和检测。

参考文献

- [1] 贾会玲,黄晓德,钱骅,等.9种植物精油及精油单体成分对黄瓜枯萎病的抑菌活性[J].安徽农业科学,2017,45(31):160-162;181.
- [2] 赵国康,李焰,张树武,等.5种植物源农药对苹果斑点落叶病的防效评价[J].中国果树,2020(5):46-49.
- [3] 刘刚.丁子香酚和苦参碱合理混配对葡萄灰霉病菌增效明显[J].农药市场信息,2017(6):55.
- [4] 李铭东,沈彤,何意林,等.5%香芹酚水剂对玉米叶螨的田间防效试验[J].安徽农业科学,2019,47(16):179-181.
- [5] 安永学,董芳.5%香芹酚对辣椒白粉病的防治效果[J].兰州交通大学学报,2016,35(4):162-164.
- [6] 董芳,沈彤,何意林,等.5%香芹酚水剂防治葡萄霜霉病的田间药效试验[J].兰州交通大学学报,2018,37(4):138-142.
- [7] 王双辉,罗林,罗丽娟,等.香芹酚和丁香酚对杨梅致病菌的抑菌作用[J].湖南农业科学,2017(3):63-65.
- [8] 张玮,李会荣,宫玲玲.高效液相色谱法测定混合型饲料添加剂中肉桂醛、丁香酚、香芹酚和百里香酚含量[J].饲料研究,2020(2):64-69.
- [9] 吉力,汪芳,刘元艳,等.高效液相色谱法测定香薷药材中香芹酚和百里香酚的含量[J].中国中药杂志,2004,29(11):1030-1032.
- [10] CIPAC. No.3807: Guidelines on method validation to be performed in support of analytical methods for agrochemical formulations [R/OL]. 2003-6-28.

(责任编辑:金兰)

巴西农化市场简析

2019年巴西农化市场价值135亿美元,2020年其作物保护产品价值降至121亿美元,下降了10.4%,全国植物防护产品工业联盟(SINDIVEG)预测,2021年约为133亿美元,比2020年增长9.9%。根据巴西化学工业协会(ABIQUIM)数据显示,巴西大约需要536 000 t农化产品。2021年,获得499件产品注册,是近年来巴西农业、畜牧业和供应部(MAPA)注册产品数量最多的一次,其中原药注册16项,生物77项,化学制剂243项,其中470项(94%)已经申请专利。

在2021年新注册的产品中,有6个是基于halauxifen-metil、ciclaniliprole、oxatiapiprolim、ametoctradrina(啞啞菌胺)、isofetamida、impirfluxam活性成分的新技术产品。

据SINDIVEG称,巴西使用的农用化学品根据使用方式分为四类,除草剂市场份额最大,其次是杀虫剂、杀菌剂等产品。巴西用于大豆、玉米、甘蔗和棉花作物上的农药占比最高,约为81%。巴西的农药产品的增涨随着该国种植面积的增长而增涨。据Companhia Nacional de Abastecimento / National Supply Company (CONAB)的数据显示,2020—2021年种植面积6 900万多hm²,种植面积比上年增长4.6%;CONAB预测对于2021—2022生长季为7 270万hm²,比去年增长4.4%。2021—2022年的增长主要源于大豆和玉米的增涨,大豆从3 920万hm²增加到4 070万hm²,玉米从1 990万hm²增加到2 110万hm²,两种作物占6 180万hm²,占种植面积的85%。预计2021—2022年度粮食产量约为2.693亿t,比上年度的2.555亿t增长5.4%。

ABIQUIM表示,巴西在2021年11月进口了64亿美元的化学产品。比上月增长了4.3%,同期增涨了65%。进口量约达620万t,比10月份增加0.7%,比去年同期增加17.1%。而2021年1月—8月巴西农药进口额较2020年同期下降22.3%。截至11月,进口化工产品总额为550亿美元,同比增长45.6%。巴西经济部外贸秘书处(SECEX)的数据显示,植物检疫产品主要来自美国、中国和印度,2020年中国占总量的32%,领先于美国(均为11%)。

在IBAMA和Phillips McDougall Consulting的一项研究中,巴西使用最多的活性成分其商业上的重要性排列:

除草剂:草甘膦、2,4-D、莠去津、百草枯、敌草隆、精-异丙甲草胺、硝磺草酮、乙草胺、麦草畏、磺酰唑草酮

杀菌剂:代森锰锌、铜基化合物、硫磺、吡唑醚菌酯、啞啞菌酯、丙硫菌酯、氟唑菌酰胺、戊唑醇和氟环唑

杀虫剂:醋酸酯、吡虫啉和联苯菊酯

中国是巴西制剂产品和农用化学品制剂原料的主要供应国。中国的能源政策将影响农化中间体和活性成分的供应和价格,如云南和江苏省工厂生产的黄磷是草甘膦、醋酸盐和马拉硫磷的原料。这种情况在很大程度上影响了草甘膦及其中间体和原料如甘氨酸的价格,截至2021年9月,巴西的原药价格翻了一番。

影响巴西农用化学品商业化的一个重要因素是农业农药非法市场的威胁。边境经济和社会发展研究所(IDESF)开展了“巴西农业防御非法市场”的研究,该研究表明巴西走私最多的产品是阿维菌素苯甲酸盐、噻虫嗪和百草枯等。在IDESF的报告中,估计在巴西销售的农药中有25%是非法来源的,30%的种子来源不明。

(金兰译)