

◆ 开发与分析 ◆

25%烯啶虫胺·氟啶虫酰胺纳米乳液 高效液相色谱分析

单永潘¹, 闫晓会¹, 马亚杰¹, 王丹¹, 宋贤鹏¹, 张银宝², 刘军², 马小艳^{1*}, 马艳^{1*}

(1. 中国农业科学院棉花研究所, 棉花生物育种与综合利用全国重点实验室, 河南安阳 455000; 2. 新疆金丰源种业
有限公司, 新疆阿克苏 842008)

摘要:采用高效液相色谱建立了同时测定25%烯啶虫胺·氟啶虫酰胺纳米乳液中有效成分质量分数的分析方法。以甲醇和0.1%甲酸水溶液(体积比20:80)为流动相,流速为0.2 mL/min,使用Shim-pack GIS C₁₈不锈钢柱和光电二极管阵列紫外可见光检测器(SPDA-M20A),在265 nm波长下测定。烯啶虫胺的变异系数、平均回收率和线性相关系数分别为1.41%、100.46%和0.999 9;氟啶虫酰胺的变异系数、平均回收率和线性相关系数分别为0.51%、100.62%和0.999 6。该方法具有定量准确,重复性好,操作简便等特点。

关键词:烯啶虫胺;氟啶虫酰胺;纳米乳液;高效液相色谱;分析

中图分类号: TQ 450.7 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1671-5284.2024.02.010

Analysis of nitenpyram·flonicamid 25% nanoemulsion by HPLC

SHAN Yongpan¹, YAN Xiaohui¹, MA Yajie¹, WANG Dan¹, SONG Xianpeng¹, ZHANG Yinbao², LIU Jun², MA Xiaoyan^{1*}, MA Yan^{1*}

(1. Institute of Cotton Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, National Key Laboratory of Cotton Bio-breeding and Integrated Utilization, Henan Anyang 455000, China; 2. Xinjiang Jinfengyuan Seed Industry Co., Ltd., Xinjiang Aksu 842008, China)

Abstract: An analytical method for determination of nitenpyram·flonicamid 25% nanoemulsion was established by HPLC, using methanol and 0.1% formic acid solution (20:80, V/V) as mobile phase at the flow rate of 0.2 mL/min. The contents of nitenpyram and flonicamid were determined on Shim-pack GIS C₁₈ column and UV-vis detector with the wavelength of 265 nm. The results showed that the relative standard deviation, the average recovery, and linear correlation coefficient of nitenpyram were 1.41%, 100.46%, and 0.999 9, respectively. The relative standard deviation, the average recovery, and linear correlation coefficient of flonicamid were 0.51%, 100.62%, and 0.999 6, respectively. The method had the characteristics of quantitative accuracy, good repetitiveness, and simple operation.

Key words: nitenpyram; flonicamid; nanoemulsion; HPLC; analysis

烯啶虫胺(nitenpyram)为新烟碱类杀虫剂,具有卓越的内吸性和渗透作用,主要作用于昆虫神经系统,通过阻断对害虫突触受体的神经作用,致使

害虫麻痹死亡。在实际生产中,烯啶虫胺主要用于防治蚜虫、稻飞虱、白粉虱、梨木虱、叶蝉、蓟马等刺吸式口器害虫^[1]。氟啶虫酰胺(flonicamid)是一种吡

收稿日期:2023-10-17

基金项目:国家现代农业产业技术体系(CARS-15-22);国家重点研发计划(2022YFD1400300);安徽荃银高科种业股份有限公司资助(GMLM 2023-06)

作者简介:单永潘(1994—),男,河南周口人,助理研究员,主要从事农药剂型加工与分析/纳米农药制备及应用研究。E-mail: shanyongpan@caas.cn

通信作者:马艳(1970—),女,贵阳人,研究员,主要从事植物保护及农药应用技术研究。E-mail: aymayan@126.com

共同通信作者:马小艳(1981—),女,河南焦作人,研究员,主要从事杂草综合防除技术研究。E-mail: maxy_caas@126.com

啶酰胺类杀虫剂,具有出色的渗透性,以及触杀和胃毒作用,并表现出较好的神经毒性和拒食效果。在实际生产中,氟啶虫酰胺主要用于防治各种刺吸式口器害虫^[2]。在化学农药的使用过程中,合理的复配或混用具有扩大防治谱,提高防治效果,减少用药量,降低药害,减少残留,延缓抗性的发生与发展等积极特点^[3-4]。烯啶虫胺与氟啶虫酰胺复配,具有明显的增效作用,能够更好地防治虫害,两者复配制剂产品已应用于农业生产。

目前,烯啶虫胺检测方法^[5]、氟啶虫酰胺单剂及复配制剂的检测方法^[6-7]、液相色谱-串联质谱法同时测定蜂王浆中烯啶虫胺和氟啶虫酰胺的残留^[8]已有文献报道,但相关高效液相色谱检测方法还未见报道。因此,有必要建立一种同时检测烯啶虫胺和氟啶虫酰胺的方法,为质检机构质量检测及农药企业生产过程中质量控制提供参考。本文采用反相高效液相色谱仪,建立了一种快速、有效分离和测定制剂中烯啶虫胺和氟啶虫酰胺的液相色谱法。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

岛津LC-20AD高效液相色谱仪,具光电二极管阵列紫外可见光检测器(SPDA-M20A)、柱温箱(CTO-20A)和自动进样器(SIL-20A)、Lab Solutions工作站;色谱柱:Shim-pack GIS C₁₈不锈钢柱(70 mm×2.1 mm,3 μm);SB-5200DTD超声波清洗机,宁波新芝生物科技股份有限公司。

甲醇(色谱纯);超纯水;烯啶虫胺标准品(质量分数99.0%)、氟啶虫酰胺标准品(质量分数99.6%),北京勤诚亦信科技开发有限公司;25%烯啶虫胺·氟啶虫酰胺纳米乳液(5%烯啶虫胺+20%氟啶虫酰胺)、空白纳米乳液,均由中国农业科学院棉花研究所植物保护研究室配制。

1.2 液相色谱测定条件

流动相:甲醇:0.1%甲酸水溶液(体积比20:80);柱温:30℃;流速:0.2 mL/min;波长:265 nm;进样量:5 μL。在此条件下,烯啶虫胺保留时间约3.0 min,氟啶虫酰胺保留时间约6.6 min。

典型的烯啶虫胺和氟啶虫酰胺标准品溶液、25%烯啶虫胺·氟啶虫酰胺纳米乳液样品高效液相色谱图见图1、图2。

1.3 测定方法

1.3.1 标准样品溶液配制

烯啶虫胺标准母液配制:称取0.06 g(精确至

0.000 2 g) 烯啶虫胺标准品于50 mL容量瓶中,加入适量50%甲醇水溶液溶解,超声振荡30 min后,冷却至室温,用50%甲醇水溶液定容,摇匀备用。

混合标准母液配制:称取0.06 g(精确至0.000 2 g) 氟啶虫酰胺标准品于50 mL容量瓶中,用移液管移取12.0 mL烯啶虫胺标准母液于容量瓶中,加入适量50%甲醇水溶液,超声振荡30 min后,冷却至室温,用50%甲醇水溶液定容,摇匀备用。

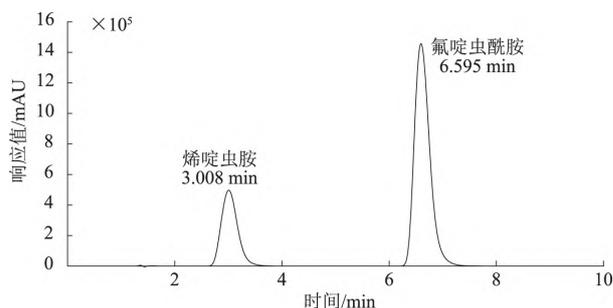


图1 标样中烯啶虫胺、氟啶虫酰胺高效液相色谱图

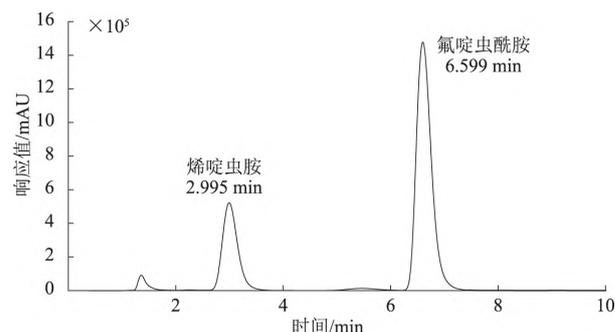


图2 试样中烯啶虫胺、氟啶虫酰胺高效液相色谱图

1.3.2 试样溶液配制

称取0.30 g(精确至0.000 2 g) 25%烯啶虫胺·氟啶虫酰胺纳米乳液试样于50 mL容量瓶中,加入适量50%甲醇水溶液,超声振荡30 min后,冷却至室温,用50%甲醇水溶液定容,摇匀备用。

1.3.3 有效成分质量分数测定

根据1.2中测定条件,待仪器稳定至最佳状态后,连续测定标准溶液,当相邻2针峰面积相对变化小于1.5%后,按照标准溶液、试样溶液、试样溶液、标准溶液的顺序进行测定。

1.3.4 计算

取2针试样溶液以及试样前后2针标准溶液中烯啶虫胺(氟啶虫酰胺)峰面积的平均值。根据公式(1)计算试样中烯啶虫胺(氟啶虫酰胺)质量分数 $w_1(\%)$ 。

$$w_1/\% = \frac{A_2 \times m_1 \times w}{A_1 \times m_2} \times 100 \quad (1)$$

式中: w_1 为试样中烯啶虫胺(氟啶虫酰胺)质量

分数,%; A_1 为标准溶液中烯啶虫胺(氟啶虫酰胺)峰面积; A_2 为试样溶液中烯啶虫胺(氟啶虫酰胺)峰面积; m_1 为烯啶虫胺(氟啶虫酰胺)标准品的质量,g; m_2 为试样的质量,g; w 为烯啶虫胺(氟啶虫酰胺)标准品的质量分数,%。

2 结果与讨论

2.1 流动相比比例的优化

流动相的比例、种类及流速是决定样品分离效果的关键,结合烯啶虫胺和氟啶虫酰胺理化性质,以50%甲醇水溶液配制标准品和试样溶液,并以甲醇和0.1%甲酸水溶液为流动相。调节流动相比比例进行分离测试,在流速为0.5 mL/min时,不同流动相比比例条件下,烯啶虫胺的出峰时间都过快;当流速为0.2 mL/min时,随着甲醇比例的增加,保留时间减少且烯啶虫胺和氟啶虫酰胺分离度降低。最终选择甲醇和0.1%甲酸水溶液(体积比20:80)作为流动相。该条件下,烯啶虫胺和氟啶虫酰胺可以较好地分离,且峰型较好,保留时间合适。

2.2 检测波长的确定

利用紫外可见光检测器对烯啶虫胺和氟啶虫酰胺溶液在200~500 nm范围内进行全波长扫描。紫外光谱图如图3所示,烯啶虫胺在214、269 nm处有较大吸收(实线)。氟啶虫酰胺在200、265 nm处有较大吸收(虚线)。由于甲醇在230 nm以下有较强的紫外吸收,综合考虑选择以265 nm为检测波长。

2.3 分析方法的线性关系

按1.3.1标准样品溶液配制方法配制烯啶虫胺

和氟啶虫酰胺混合标准溶液,用50%甲醇水溶液梯度稀释,得到5个浓度级别的混合标样溶液。根据以上操作条件,待仪器稳定后,对不同浓度级别的混标溶液进行测定,每个样品测定2次,计算2次测定的峰面积平均值。以烯啶虫胺(氟啶虫酰胺)质量浓度为横坐标,平均峰面积为纵坐标绘制线性回归曲线。结果表明:烯啶虫胺在质量浓度为0.023 9~0.286 9 g/L时,具有良好的线性,线性方程式为 $y=36\ 865x-2\ 420.9$,线性相关系数 $r=0.999\ 9$ 。氟啶虫酰胺在质量浓度0.099 6~1.195 2 g/L时,具有良好的线性,线性方程式为 $y=24\ 525x+191\ 779$,线性相关系数 $r=0.999\ 6$ 。

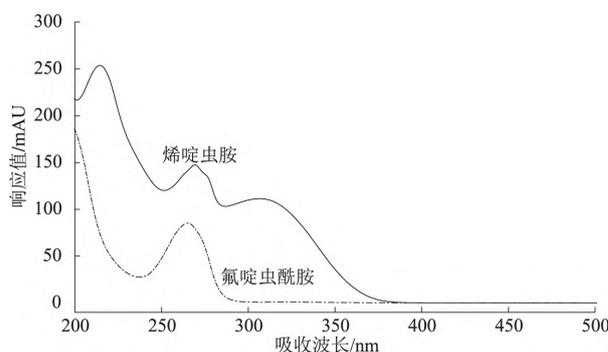


图 3 烯啶虫胺和氟啶虫酰胺紫外吸收谱图

2.4 精密度测定

分别称取同一批次25%烯啶虫胺·氟啶虫酰胺纳米乳液于50 mL容量瓶中,按上述色谱条件测定5次,试验结果见表1。结果表明:烯啶虫胺和氟啶虫酰胺的标准偏差分别为0.07和0.10,变异系数分别为1.41%和0.51%。该分析方法符合分析要求,具有较好的精密度。

表 1 精密度试验结果

有效成分	质量分数/%					平均值	标准偏差	变异系数/%
	1	2	3	4	5			
烯啶虫胺	5.13	5.09	5.11	5.08	4.95	5.07	0.07	1.41
氟啶虫酰胺	20.34	20.35	20.17	20.36	20.16	20.28	0.10	0.51

2.5 准确度测定

称取5个空白纳米乳液试样于50 mL容量瓶中,分别添加不等量的烯啶虫胺、氟啶虫酰胺标准品,

进行准确度测定,测定结果见表2。烯啶虫胺、氟啶虫酰胺的平均回收率分别为100.46%、100.62%。该分析方法具有较高的准确度。

表 2 准确度试验结果

有效成分	序号	添加量/mg	测定量/mg	回收率/%	平均回收率/%
烯啶虫胺	1	5.57	5.61	100.72	100.46
	2	6.05	6.20	102.48	
	3	5.63	5.60	99.47	
	4	5.67	5.71	100.71	
	5	5.57	5.51	98.92	

(续表2)

有效成分	序号	添加量/mg	测定量/mg	回收率/%	平均回收率/%
氟啶虫酰胺	1	22.75	22.92	100.75	100.62
	2	21.25	21.49	101.13	
	3	22.65	22.73	100.35	
	4	21.60	21.77	100.79	
	5	21.44	21.46	100.09	

3 结论

本文建立了对25%烯啶虫胺·氟啶虫酰胺纳米乳液中的有效成分烯啶虫胺和氟啶虫酰胺进行定性定量分析的方法,并对此方法进行了科学的验证。结果表明:本方法分离效果较好,准确度和精密度高,线性关系良好;与已报道烯啶虫胺和氟啶虫酰胺单一有效成分测定方法相比,具有操作简单、快速、准确等优点。因此,可以采用此方法进行烯啶虫胺和氟啶虫酰胺复配制剂产品的有效成分分析。

参考文献

- [1] 李海屏,成四喜,李敏,等.新烟碱类杀虫剂烯啶虫胺述评[J].世界农药,2013,35(1):20-23;36.
[2] 仇是胜,柏亚罗,顾林玲.氟啶虫酰胺的研究开发及市场前景[J].

现代农药,2014,13(5):6-11.

- [3] 刘瑞莹,魏书艳,曹洪玉,等.三氟苯嘧啶与烯啶虫胺复配对褐飞虱防效[J].农药,2021,60(8):614-616;620.
[4] 冯辉,马海芹,李真峰.氟啶虫酰胺复配剂对烟粉虱田间防治方案探索[J].浙江农业科学,2024,65(1):166-169.
[5] 钱训,郭翠娟,王莉,等.80%吡蚜酮·烯啶虫胺水分散粒剂高效液相色谱分析[J].农药,2017,56(1):38-40.
[6] 于乐祥,刘敬民,狄凤娟,等.50%氟啶虫酰胺·螺虫乙酯悬浮剂的高效液相色谱分析方法[J].农药,2022,61(2):102-104.
[7] 白亮,徐军,陈昶,等.15%吡丙醚·氟啶虫酰胺悬乳剂高效液相色谱分析[J].现代农药,2023,22(3):70-72.
[8] 侯建波,谢文,张文华,等.液相色谱-串联质谱法测定蜂王浆中新型烟碱类药物及其代谢物残留量[J].质谱学报,2019,40(2):139-150.

(编辑:顾林玲)

(上接第25页)

参考文献

- [1] 牛德,付佳,王丽娟.黄瓜霜霉病研究新进展[J].东北林业大学学报,2008,36(9):94-98.
[2] 张艳菊,左洪波,曲丽,等.黑龙江省黄瓜白粉病病原鉴定[J].东北农业大学学报,2010,41(4):20-23.
[3] 张乃楼,李亚美,康文强,等.辽宁省黄瓜靶斑病菌对苯醚甲环唑和戊唑醇的敏感性[J].农药学报,2014,16(4):452-456.
[4] 李宝聚,赵彦杰,于淑晶,等.2008年秋季河北青县黄瓜棒孢叶斑病大发生[J].中国蔬菜,2008(11):51-52.
[5] 孙福在,何礼远.黄瓜细菌性角斑病病原菌与寄生范围鉴定[J].植物病理学报,1988,18(1):23-28.
[6] 赵聚勇,宋铁峰,刘永丽,等.温室黄瓜黑星病的发病原因及防治措施[J].上海蔬菜,2010(3):48.
[7] 尹长清,朱国强,陆明如,等.大棚黄瓜菌核病的发生及其防治[J].长江蔬菜,1993(5):14-15.
[8] 康萍芝,白小军,张丽荣,等.尖孢镰刀菌黄瓜专化型生物学特性研究[J].北方园艺,2018(22):65-69.
[9] 马耀杰,程开勇,徐秉良,等.榆中县黄瓜根结线虫鉴定及根系定殖效果测定[J].西北农业学报,2023,32(4):630-637.
[10] 孟润杰,韩秀英,吴杰,等.河北省黄瓜霜霉病菌对甲霜灵和啶菌

酯的抗性动态及七种药剂的田间防效[J].植物保护学报,2017,44(5):849-855.

- [11] 王文桥,韩秀英,吴杰,等.河北省和山东省黄瓜霜霉病菌对氟吡菌胺的抗性及常规药剂对黄瓜霜霉病的田间防效[J].植物保护学报,2019,46(2):385-392.
[12] 禾丽菲,李晓旭,孙作文,等.几种QoIs和DMIs杀菌剂对山东不同地区黄瓜白粉病菌的毒力差异及年度间的防效变化[J].河北农业大学学报,2018,41(4):34-41.
[13] 王美琴,赵晓军,张鑫,等.黄瓜灰霉病菌对多菌灵、速克灵及乙霉威的抗性检测[J].山西农业科学,2011,39(8):853-855;910.
[14] 余正军,刘慧平.山西省蔬菜灰霉病菌对啶菌胺的抗性监测[J].山西农业大学学报(自然科学版),2012,32(1):9-11.
[15] ZHU F D, SHI Y X, XIE X W, et al. Occurrence, distribution, and characteristics of boscalid-resistant *Corynespora cassicola* in China[J]. Plant Disease, 2019, 103(1): 69-76.
[16] 李桂香,李秀环,郝新昌,等.山东省多棒孢对三种常用杀菌剂的敏感性监测及对氟吡菌胺的抗性[J].中国农业科学,2022,55(7):1359-1370.
[17] LI X H, LI C C, LI G X, et al. Detection of a point mutation (G143A) in Cyt b of *Corynespora cassicola* that confers pyraclostrobin resistance[J]. Horticulturae, 2021, 7(6): 155.

(编辑:顾林玲)