

◆ 开发与分析 ◆

13%氯氟吡啶酯·氰氟草酯乳油的高效液相色谱分析

刘淑琴¹, 赵燕杰², 王昌锦², 刘细平², 姜艳娟², 刘雨晴¹, 刘旭阳², 高 瑞², 徐 妍^{2*}

(1. 北京锦悦生物科技有限公司, 北京 100089; 2. 北京宇悦生物科技有限公司, 北京 100089)

摘要:本文建立一种高效液相色谱分析方法测定13%氯氟吡啶酯·氰氟草酯乳油中有效成分。使用ZORBAX SB-C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)和可变波长紫外检测器,以乙腈+0.05%磷酸水溶液(体积比70:30)为流动相,在245 nm检测波长下,对试样中的有效成分进行分离和测定,外标法定量。结果表明,在该色谱条件下,氯氟吡啶酯和氰氟草酯的线性相关系数分别为0.999 3和0.999 6,相对标准偏差分别为0.87%和0.62%,平均回收率分别为99.80%和99.96%。该方法操作简单、准确性高、选择性强,适用于同时测定制剂中氯氟吡啶酯和氰氟草酯。

关键词:氯氟吡啶酯; 氰氟草酯; 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.1671-5284.2025.03.008

Analysis of florpyrauxifen-benzyl·cyhalofop-butyl 13% EC by HPLC

LIU Shuqin¹, ZHAO Yanjie², WANG Changjin², LIU Xiping², JIANG Yanjuan², LIU Yuqing¹, LIU Xuyang², GAO Rui², XU Yan^{2*}

(1. Beijing Jinyue Biological Technology Co., Ltd., Beijing 100089, China; 2. Beijing Yuyue Biological Technology Co., Ltd., Beijing 100089, China)

Abstract: A method was developed for the simultaneous determination of florpyrauxifen-benzyl and cyhalofop-butyl 13% EC using high performance liquid chromatography with ZORBAX SB-C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) and ultraviolet detector. Acetonitrile-0.05% phosphoric acid solution was used as mobile phase with the volume ratio of 70:30, and the active ingredients were determined and quantified by external standard method at 245 nm. The results showed that the linear correlation coefficients of florpyrauxifen-benzyl and cyhalofop-butyl were 0.999 3 and 0.999 6, the relative standard deviations were 0.87% and 0.62%, and the average recoveries were 99.80% and 99.96%, respectively. The method was simple, precise and selective, and was suitable for simultaneous determination of florpyrauxifen-benzyl and cyhalofop-butyl in formulated products.

Key words: florpyrauxifen-benzyl; cyhalofop-butyl; HPLC; analysis

氯氟吡啶酯是陶氏益农继氟氯吡啶酯之后研制开发的第2个芳基吡啶甲酸酯类苗后茎叶除草剂^[1]。氯氟吡啶酯被杂草的根、茎和叶吸收后,通过韧皮部和木质部传导,与植物体内激素受体结合,从而干扰植物正常生理生化功能,最终导致杂草死亡^[2-3]。其常用于水稻田防除禾本科杂草、阔叶杂草和

莎草,具有广谱性、无交互抗性、高效性,且对环境友好^[4]。氰氟草酯是陶氏益农研制开发的芳氧苯氧丙酸酯类除草剂,此类除草剂通过抑制乙酰辅酶A羧化酶(ACCase)活性,阻断脂肪酸合成,影响细胞的生长分裂,破坏膜系统等含脂结构,最终造成杂草死亡^[5-6]。其主要用于水稻田防除禾本科杂草,尤其对

收稿日期: 2024-12-04

作者简介: 刘淑琴(1995—),女,硕士,助理工程师,主要从事农药剂型加工工作。E-mail: liushuqin@bjyyswkj.com

通信作者: 徐妍,女,博士,正高级工程师,主要从事农药剂型加工及使用技术研究工作。E-mail: xuyan@bjyyswkj.com

千金子、马唐、狗尾草、牛筋草、看麦娘等防效良好^[7]。氯氟吡啶酯混用性强,与氰氟草酯复配,具有协同增效作用,且对环境友好,对其他生物安全^[8-9]。

目前,尚无研究报道同时测定农药产品中氯氟吡啶酯和氰氟草酯的分析方法。本研究建立了一种同时测定13%氯氟吡啶酯·氰氟草酯乳油中有效成分含量的高效液相色谱分析方法。该方法操作简单,分析结果准确,满足该产品在实际生产中的质量控制需求。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Agilent 1260高效液相色谱仪,配紫外检测器和自动进样器,安捷伦科技有限公司;Agilent色谱工作站(采用岛津UV-1800紫外可见分光光度计),岛津公司;GD410DP10L型超声波清洗机,深圳市光点超声波设备有限公司;AB265-S双量程分析天平,梅特勒-托利多集团,精密度为0.000 01、0.000 1 g。

98%氯氟吡啶酯标准品、96.4%氰氟草酯标准品、13%氯氟吡啶酯·氰氟草酯乳油,均由北京宇悦生物科技有限公司提供。乙腈为色谱纯,磷酸为分析纯,水为新蒸2次蒸馏水。

1.2 色谱条件

ZORBAX SB C₁₈不锈钢色谱柱(250 mm×4.6 mm),内装粒径5 μm填充物。流动相为乙腈+0.05%磷酸水溶液,体积比为70:30;流速1.0 mL/min;柱温35°C;检测波长245 nm;进样体积5 μL。采用外标法定量。标样溶液及试样溶液色谱图见图1和图2。

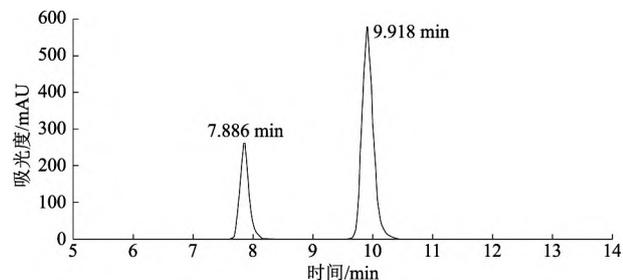


图1 氯氟吡啶酯、氰氟草酯标样溶液液相色谱图

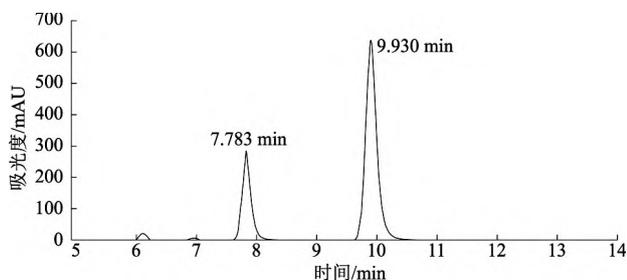


图2 13%氯氟吡啶酯·氰氟草酯乳油液相色谱图

1.3 测定步骤

1.3.1 标样溶液的制备

准确称取氯氟吡啶酯标准品约0.005 g(精确到0.000 1 g)、氰氟草酯标准品约0.03 g(精确到0.000 1 g),置于同一50 mL容量瓶中,选择乙腈作为溶剂溶解并定容至刻度,混合均匀后备用。

1.3.2 样品溶液的制备

准确称取13%氯氟吡啶酯·氰氟草酯乳油制剂样品约0.3 g(精确到0.000 1 g),置于50 mL容量瓶中,选择乙腈为溶剂溶解并定容至刻度,混合均匀后备用。

1.3.3 样品测定

按1.2中色谱条件,对13%氯氟吡啶酯·氰氟草酯乳油样品进行分析。待仪器基线波动幅度符合要求后,连续注入数针标样溶液,待相邻2针中有效成分相对响应值小于1.5%时,按照标样-样品-样品-标样溶液的顺序进行测定。

1.3.4 结果计算

制剂样品中氯氟吡啶酯(或氰氟草酯)的质量分数 $w(\%)$ 按式(1)计算:

$$w/\% = \frac{A_1 \times m_0 \times P_0}{A_0 \times m_1} \times 100 \quad (1)$$

式中: A_0 为氯氟吡啶酯(或氰氟草酯)标样溶液峰面积的平均值; A_1 为氯氟吡啶酯(或氰氟草酯)试样溶液峰面积的平均值; m_0 为氯氟吡啶酯(或氰氟草酯)标准品的质量; m_1 为13%氯氟吡啶酯·氰氟草酯乳油试样的质量; P_0 为标准品中氯氟吡啶酯(或氰氟草酯)的质量分数。

2 结果与讨论

2.1 流动相的选择

不同流动相及比例的选择对试样的分离检测有着重要影响。本试验通过配制不同比例的甲醇+水、乙腈+水为流动相,对试样进行分离检测。结果表明,当选用乙腈+0.05%磷酸水溶液为流动相,两者体积比为70:30时,色谱峰峰形对称,分离效果良好,出峰时间适中。加入磷酸有利于改善峰形,提高分离效果。

2.2 检测波长的选择

使用紫外可见分光光度计UV-1800分别对氯氟吡啶酯和氰氟草酯在190~800 nm波长范围进行紫外扫描,结果如图3所示。氯氟吡啶酯和氰氟草酯在245 nm处有较强的吸收,且受溶剂干扰少,可对杂质和有效成分进行分离;320 nm后无特征紫外吸收

峰。故最终选择245 nm作为检测波长。

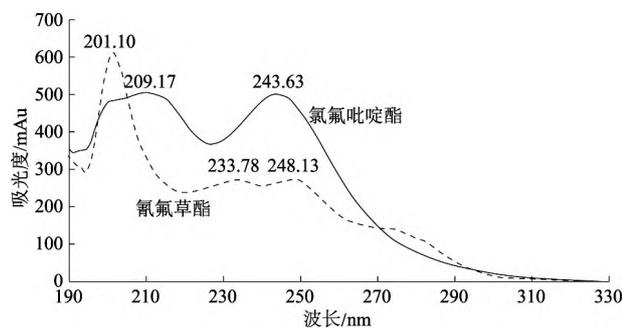


图 3 紫外扫描图

2.3 特异性的测定

本研究采用全波长紫外扫描检测峰纯度分析法来确定特异性。氯氟吡啶酯最小峰纯度相似度为1.000 000, 最小峰纯度阈值为0.999 974, 最小峰纯度指数为正值, 所有峰的纯度指数均大于0.999。氰氟草酯最小峰纯度相似度为1.000 000, 最小峰纯度阈值为0.999 966, 最小峰纯度指数为正值, 所有峰的纯度指数均大于0.999。说明样品色谱峰中不含杂质。

2.4 线性相关性测定结果

为考察本研究所建立检测方法的线性相关性, 将氯氟吡啶酯和氰氟草酯标样溶液稀释成不同质量浓度的梯度溶液, 按1.2中色谱条件进行分析测定。以氯氟吡啶酯和氰氟草酯质量浓度为横坐标, 氯氟吡啶酯和氰氟草酯的峰面积为纵坐标, 绘制氯氟吡啶酯和氰氟草酯的标准曲线, 结果见图4和图5。氯氟吡啶酯的回归方程为 $y=23.088x+21.613$, 相关系数(R^2)为0.999 3; 氰氟草酯的回归方程为 $y=11.615x+230.670$, 相关系数(R^2)为0.999 6。

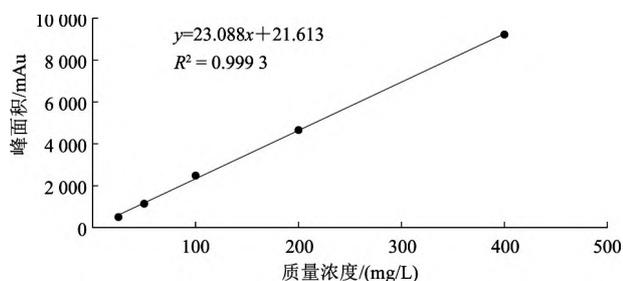


图 4 氯氟吡啶酯线性关系图

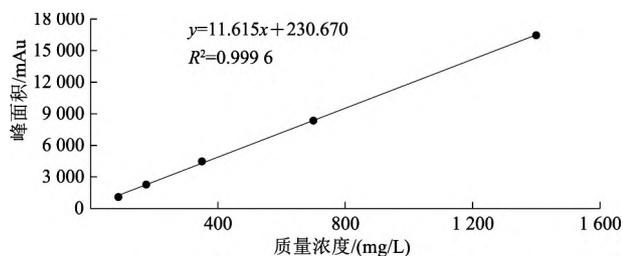


图 5 氰氟草酯线性关系图

2.5 精密度试验结果

为分析本研究建立的13%氯氟吡啶酯·氰氟草酯乳油中有效成分测定方法的精密度, 在本研究建立的色谱条件下对13%氯氟吡啶酯·氰氟草酯乳油样品平行测定5次, 同时计算相对标准偏差(RSD), 结果见表1。氯氟吡啶酯的相对标准偏差为0.87%, 氰氟草酯的相对标准偏差为0.62%。

表 1 精密度测定结果

有效成分	序号	质量分数/%	平均值/%	标准偏差	RSD/%
氯氟吡啶酯	1	2.08	2.09	0.018	0.87
	2	2.10			
	3	2.12			
	4	2.09			
	5	2.08			
氰氟草酯	1	10.98	10.97	0.069	0.62
	2	11.03			
	3	11.04			
	4	10.92			
	5	10.88			

2.6 准确度试验结果

为验证本研究所建立的13%氯氟吡啶酯·氰氟草酯乳油检测方法的准确度, 在已知质量浓度的样品中加入一定量的氯氟吡啶酯、氰氟草酯标准品, 试验平行进行5次。在本研究建立的色谱条件下, 测定有效成分的回收率, 结果见表2。氯氟吡啶酯的平均回收率为99.80%, 氰氟草酯的平均回收率为99.96%。

表 2 准确度测定结果

有效成分	序号	添加量 / mg	实测值 / mg	回收率 / %	平均回收率 / %
氯氟吡啶酯	1	4.05	4.02	99.25	99.80
	2	4.13	4.17	100.93	
	3	4.02	4.04	100.45	
	4	4.18	4.14	99.12	
	5	4.08	4.05	99.24	
氰氟草酯	1	20.09	20.07	99.90	99.96
	2	20.21	20.23	100.09	
	3	20.12	20.07	99.77	
	4	20.05	20.03	99.89	
	5	20.17	20.20	100.13	

3 结论

本研究建立了一种用于测定13%氯氟吡啶酯·氰氟草酯乳油中有效成分含量的高效液相色谱分
(下转第 64 页)

溴氰虫酰胺原药对3种蜜蜂的毒性表现为中华蜜蜂>卡尼鄂拉蜂>意大利蜜蜂,对中华蜜蜂的毒性是意大利蜜蜂的1.9倍,对卡尼鄂拉蜂的毒性是意大利蜜蜂的1.4倍,供试药剂对3种蜜蜂的敏感性差异较小,均在2倍以内。

3 讨论

本文研究结果表明,与意大利蜜蜂和卡尼鄂拉蜂相比,中华蜜蜂对吡虫啉敏感性差异相对较大,尤其是急性经口毒性,差异高达25.1倍,这与李梦^[8]的研究结果相符合,中华蜜蜂相比于意大利蜜蜂对新烟碱类杀虫剂更敏感。针对新烟碱类杀虫剂,登记管理时只采用对意大利蜜蜂的评估数据,不能完全涵盖对我国本土物种中华蜜蜂的风险。3种蜜蜂对灭多威和溴氰虫酰胺的敏感性差异不大,均在3倍以内,采用意大利蜜蜂评估数据完全可以起到保护其他蜜蜂种群的作用。因此,在环境风险评估中选择意大利蜜蜂作为试验生物可以覆盖对卡尼鄂拉蜂的风险,但不能完全覆盖对中华蜜蜂的风险,这与王瀛寰等^[9]的研究结果一致。由于中华蜜蜂是我国的本土蜜蜂种群,对保护蜜蜂种质资源和生物多样性具有重要意义,建议在实际风险评估中,尤其是针对一些新的作用机制的农药,应尽可能测试更多种类的蜜蜂品种。

从急性毒性试验结果来看,上述3种杀虫剂对蜜蜂均为高毒,存在潜在高风险性,这与林涛等^[10]、孟顺龙等^[4]、苍涛等^[11]和谭丽超等^[12]的研究结果一致。但本研究主要测试了3种蜜蜂成蜂在农药急性经口和急性接触毒性方面的敏感性差异,未开展在

蜜蜂幼虫急性毒性及慢性毒性方面对农药的敏感性差异研究,待将来进一步研究。

参考文献

- [1] 卜元卿,单正军,周军英,等. 农药对蜜蜂生物毒性及安全性评价研究回顾[J]. 农药, 2009, 48(6): 399-401.
- [2] MITCHELL E, MULHAUSER B, MULOT M, et al. A worldwide survey of neonicotinoids in honey[J]. Science, 2017, 358(6359): 109-111.
- [3] 冯建国. 苹果病虫草害防治手册[M]. 北京: 金盾出版社, 2014: 289.
- [4] 孟顺龙,陈锋,陈曦,等. 灭多威对藻-溘-鱼典型水生食物链生物的急性毒性研究[J]. 中国农学通报, 2023, 39(23): 121-126.
- [5] TEIXEIRA L A, ANDALORO J T. Diamide insecticides: global efforts to address insect resistance stewardship challenges[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2013, 106(3): 76-78.
- [6] 孙丽娜,闫晓静,芮昌辉,等. 以昆虫鱼尼丁受体为靶标的化合物活性筛选方法研究进展[J]. 农药学报, 2010, 12(4): 402-407.
- [7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 化学农药环境安全评价试验准则 第10部分: 蜜蜂急性毒性试验: GB/T 31270.10—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [8] 李梦. 新烟碱类杀虫剂胁迫下中、意蜂行为和生理响应的比较研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2018.
- [9] 王瀛寰,张艳峰,张旭,等. 五种农药对中华蜜蜂和意大利蜜蜂经口的毒性比较[J]. 农药学报, 2012, 14(4): 453-456.
- [10] 林涛,游泳,郑丽祯,等. 3种双酰胺类杀虫剂制剂对环境非靶标生物的急性毒性[J]. 农药学报, 2015, 17(6): 757-762.
- [11] 苍涛,王彦华,吴长兴,等. 新烟碱类杀虫剂对蜜蜂的急性毒性及风险评估[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(4): 285-292.
- [12] 谭丽超,卜元卿,程燕,等. 吡虫啉对蜜蜂幼虫的室内毒性研究[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(4): 253-257.

(编辑:顾林玲)

(上接第60页)

析方法,采用ZORBAX SB C₁₈色谱柱,以乙腈+0.05%磷酸水溶液为流动相,在波长245 nm时检测。该方法具有分离效果、线性关系良好,精密度、准确度高的特点,适用于13%氯氟吡啶酯·氟氟草酯乳油的日常检测和实际生产中对质量控制的要求。

参考文献

- [1] 顾林玲,柏亚罗. 新颖芳基吡啶甲酸酯类除草剂——氟氟吡啶酯和氯氟吡啶酯[J]. 现代农药, 2017, 16(1): 44-48.
- [2] 许梦娇,孙徐涛,彭震,等. 氯氟吡啶酯对水稻的安全性及选择性机制研究[J]. 南京农业大学学报, 2023, 46(6): 1069-1076.
- [3] 刘洋,赵秀梅,王立达,等. 氯氟吡啶酯与敌稗茎叶处理对水稻产量及田间杂草防治效果的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2023(11):

67-71.

- [4] 朱友理,吴小美,何东兵. 氯氟吡啶酯在机插稻田杂草防除中的应用技术[J]. 现代农药, 2021, 20(3): 56-60; 64.
- [5] 李广雨,黄元炬,王春,等. 黑龙江省稻田稗草对氟氟草酯抗性研究及药剂筛选[J]. 农药, 2024, 63(8): 620-624.
- [6] 谭正堂,付宇,何钰,等. HPLC法分析30%氟氟草酯·噁唑酰草胺可分散油悬浮剂[J]. 农药, 2024, 63(7): 507-509; 527.
- [7] 张思思,刘敏,方宇航,等. 稻田稗草种群对氟氟草酯的抗性水平和抗性机理初探[J]. 现代农药, 2024, 23(3): 17-22.
- [8] 凌舟洋,应小军. 氯氟吡啶酯+氟氟草酯防除单季直播稻杂草的效果[J]. 浙江农业科学, 2018, 59(4): 586-587.
- [9] 董灵江,黄贤夫,陈海波,等. 氯氟吡啶酯与氟氟草酯混配防除早稻直播田杂草效果探索[J]. 新农业, 2017(9): 23-26.

(编辑:顾林玲)