

新化合物氟氧虫酰胺悬浮剂高效液相色谱方法的分析

周红霞¹, 华 春¹, 唐慧敏²

(1.南京晓庄学院生物化工与环境工程学院, 江苏 南京 211171; 2.江苏省农产品质量检验检测中心, 江苏 南京 210036)

摘 要:建立新化合物氟氧虫酰胺的高效液相色谱分析方法, 使用紫外检测器、C₁₈液相色谱柱, 以甲醇和水为流动相, 在紫外检测波长250 nm条件下对其进行定性定量分析。结果表明, 方法的相对标准偏差为0.27%, 回收率在97.1%~105.6%之间, 线性相关系数为0.999 8。

关键词: 氟氧虫酰胺; 高效液相色谱; 外标法

Analysis of Novel Compound ZJ3757 Using High Performance Liquid Chromatography

ZHOU Hong-xia¹, HUA Chun¹, TANG Hui-min²

(1. School of Biochemical and Environmental Engineering, Nanjing Xiaozhuang University, Nanjing 211171, China;

2. Jiangsu Agro-product Quality Test Center, Nanjing 210036, China)

Abstract: A high performance liquid chromatography (HPLC) method for the quantitative and qualitative analysis of ZJ3757, an insecticide suspension, was established using a C₁₈ column as the stationary phase, methanol and water as the mobile phase, and UV detection at 250 nm. Results showed that the recovery of spiked samples was 97.1%–105.6% with relative standard derivation (RSD) of 0.27%, and the linear correlation coefficient was 0.999 8.

Key words: ZJ3757; high performance liquid chromatography (HPLC); external standard method

中图分类号: TS255

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 20-0139-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201420028

氟氧虫酰胺是浙江省化工研究院有限公司以氯虫苯甲酰胺为先导, 通过新化合物的设计、合成及筛选, 得到的1个高杀虫活性的化合物ZJ3757, 化学名称为*N*-[2-(叔丁基甲氧基)-4-氯-6-甲基苯基]-1-(3-氯吡啶-2-基)-3-氟甲氧基-1*H*-吡唑-5-甲酰胺^[1-2]。研究表明, 氟氧虫酰胺是一种新型杀虫剂, 对小菜蛾、斜纹夜蛾、甜菜夜蛾和菜青虫等害虫具有较高的毒力和田间防效, 具有良好的应用开发前景^[3-5]。有关氟氧虫酰胺的色谱分析方法, 目前尚未见公开报道。本实验采用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法, 对氟氧虫酰胺悬浮剂中的氟氧虫酰胺进行分离测定^[6-7], 该方法稳定、快速、操作简便, 准确度和精密度都能达到定量分析的要求, 是一种比较实用的分析方法, 为此类杀虫剂的分析管理起到一定的借鉴作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

氟氧虫酰胺标准品(纯度98%)、20%氟氧虫酰胺

悬浮剂 连云港禾田化工; 甲醇、乙腈(均为色谱纯) 美国J.T.Baker公司; 0.1%磷酸水溶液 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

Acquity液相色谱仪、二极管阵列检测器 美国Waters公司; 过滤器、超声波振荡器 上海沪西分析仪器厂有限公司。

1.3 方法

1.3.1 HPLC条件

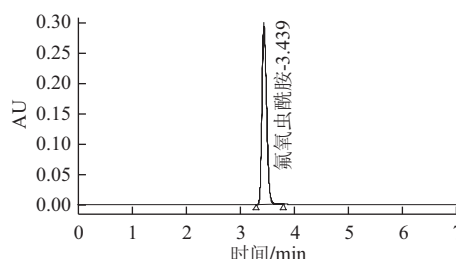


图1 氟氧虫酰胺标样的HPLC色谱图

Fig.1 Liquid chromatogram of ZJ3757 standard

收稿日期: 2014-01-21

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2012AA021701)

作者简介: 周红霞(1976—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为食品安全检测。E-mail: 799935685@qq.com

色谱柱: BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 不锈钢柱; 检测波长250 nm; 流动相: 甲醇-水 (7:3, V/V), 采用梯度洗脱方法; 流动相流量0.2 mL/min; 柱温: 室温 (温差变化不应大于2℃); 进样体积1 μL; 保留时间3.4 min, 无升温。如图1、2所示。

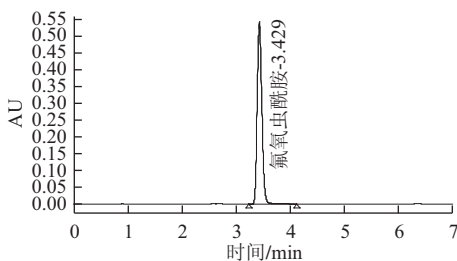


图2 质量分数20%氟氧虫酰胺悬浮剂的HPLC色谱图

Fig.2 Liquid chromatogram of sample containing 20% ZJ3757

1.3.2 标准溶液的配制

称取氟氧虫酰胺标准品10.6、20.5、29.9、40.1、50.2 mg (精确至0.2 mg) 置于50 mL容量瓶中, 用甲醇溶解, 放入超声波振荡器中超声溶解5 min后取出, 冷却至室温, 用甲醇定容, 摇匀。

1.3.3 试样溶液的配制

称取质量分数20%氟氧虫酰胺悬浮剂, 置于50 mL容量瓶中, 用甲醇溶解, 放入超声波振荡器中超声溶解5 min。取出, 冷却至室温后, 用甲醇定容, 摇匀。再用滤膜孔径为0.25 μm的过滤器过滤 (表1)。

表1 质量分数20%氟氧虫酰胺悬浮剂样品称样量

Table 1 Sampling of 20% ZJ3757

样品	样品1	样品2	样品3	样品4	样品5
质量/mg	109.0	120.6	102.5	127.5	93.2

1.3.4 HPLC测定

在上述色谱操作条件下, 待仪器稳定后, 连续注入数针标样溶液, 直至相邻两针氟氧虫酰胺峰面积相对变化小于1.0%后, 按照标样溶液、试样溶液、标样溶液、试样溶液的顺序进样分析^[6]。

1.4 计算

将测得的两针试样溶液以及试样前后两针的标样溶液中的氟氧虫酰胺的峰面积分别进行平均。试样中氟氧虫酰胺的质量分数按公式 (1) 计算。

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

式中: ω 为氟氧虫酰胺的质量分数/%; A_1 为标样溶液中氟氧虫酰胺峰面积的平均值; A_2 为试样溶液中氟氧虫酰胺峰面积的平均值; m_1 为标样的质量/mg; m_2 为试样的质量/mg; C 为标样中氟氧虫酰胺的质量分数/%。

2 结果与分析

2.1 色谱条件的选择

2.1.1 检测波长的选择

将某一质量浓度的氟氧虫酰胺标准溶液进行色谱分析, 利用光电二极管阵列检测器进行扫描。由图3可知, 甲醇和乙腈在波长210 nm以下均有吸收, 会造成一定的干扰, 因此选择波长210~400 nm处的吸收波长进行分析。在波长210~240 nm处氟氧虫酰胺吸收波长下降幅度剧烈, 在这一波段选点会造成吸收不稳定, 影响实验效果^[7]。波长275 nm以后吸收太小, 不适宜选择。因而经过多次实验, 选择波长250 nm作为相对最大吸收波长, 各种杂质成分不影响主成分测定, 为本方法最佳吸收波长。

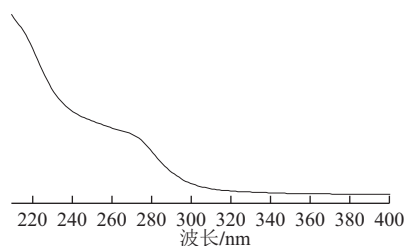


图3 氟氧虫酰胺紫外吸收光谱图

Fig.3 UV absorption spectrum of ZJ3757

2.1.2 流动相的选择

氟氧虫酰胺为悬浮剂, 除原药成分外还含有较多的杂质成分, 为混配农药^[8]。为确保分离的效果, 分别用乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸水、甲醇-水按不同体积比做了多个流动相配比实验。再根据峰形、保留时间等来确定合适的流动相及流动相配比。实验发现用甲醇作为流动相时, 拖尾现象得到一定的改善, 各组分能得到较为理想的分离, 且基线平稳, 峰形对称, 见图4。

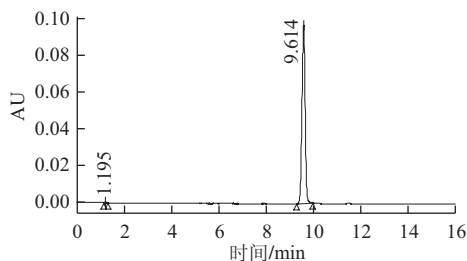


图4 氟氧虫酰胺紫外吸收光谱图 (250 nm)

Fig.4 Liquid chromatogram of ZJ3757 (250 nm) using a mobile phase consisting of methanol and water

甲醇虽然能得到较好的分离效果, 但实验过程中发现压力不稳定, 从而影响了数据的重复性。因而采取了梯度洗脱的方法。梯度洗脱是流动相中含有2种或者2种

以上的不同溶剂,在洗脱过程中连续或间断改变流动相的组成。HPLC有等梯度洗脱和梯度洗脱2种方式^[8-9]。本实验采取梯度洗脱、梯度淋洗技术,有效地改善了峰形、提高分离度、缩短了分析时间^[8-9],并且能够较好地解决压力不稳的问题(表2)。

表2 梯度洗脱表
Table 2 Gradient elution program

时间/min	流动相体积分数/%	
	甲醇	水
0	70	30
6	70	30
6.2	98	2
10	98	2
10.2	70	30
15	70	30

2.2 分析方法的精密度

将同一产品,按上述方法连续平行的测定5次,测得结果经统计,氟氧虫酰胺的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为0.27%(表3)。根据协同国际农药分析会(Collaborative International Pesticides Analytical Council, CIPAC)对方法的精密度建议,重复性数据结果确认应以修改的Horwitz公式(2)为依据:

$$RSDr < 2^{(1-0.51g^{2C})} \times 0.67 \quad (2)$$

式中: C 为样品中的分析质量分数/%; $RSDr$ 为实验室间的变异系数(CV)。

从实验数据看,本方法满足CIPAC对方法精密度要求^[10-11]。

表3 分析方法精密度测量结果
Table 3 Precision of the developed method

组分	试样测得含量					平均值	标准偏差	RSD
	1	2	3	4	5			
氟氧虫酰胺	20.21	20.19	20.32	20.20	20.26	20.24	0.054	0.27

2.3 线性相关性

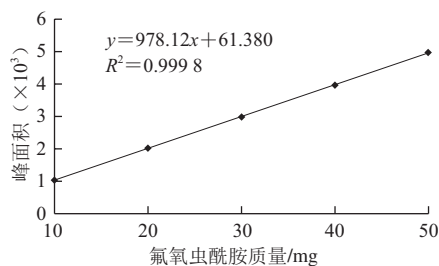


图5 氟氧虫酰胺标准曲线
Fig.5 Standard curve of ZJ3757

称取氟氧虫酰胺标准品(精确至0.1 mg) 10.6、20.5、29.9、40.1、50.2 mg分别于50 mL容量瓶中,用甲

醇溶解定容至刻度线,摇匀,配制成5个系列质量浓度的标准溶液进行分析。以峰面积 Y 对进样量 X 进行线性回归,得线性回归方程。氟氧虫酰胺为 $Y=978.12X+61.38$,相关系数 $R^2=0.9998$ (图5)。结果表明,该方法测定氟氧虫酰胺在测定范围内线性相关性很好。

2.4 分析方法的准确度

称取标样9.5、9.7、10.8、10.0、10.2 mg置于50 mL容量瓶中,称取样品45.5、54.0、52.4、50.4、56.8 mg于上述标样容量瓶中,用甲醇定容至刻度线,用超声波振荡器振荡5 min或摇匀,按上述方法进行测定,测得氟氧虫酰胺的平均回收率为99.62%。满足CIPAC对方法的准确度要求,即有效成分含量大于10%,平均回收率在97.1%~105.6%范围内^[10-11]。

表4 氟氧虫酰胺回收率的测定结果
Table 4 Recoveries of ZJ3757

样品号	样品称样量/mg	加入氟氧虫酰胺标样量/mg	理论值/%	实测值/%	回收率/%	平均回收率/%
1	45.5	9.5	18.7	17.7	105.6	99.62
2	54.0	9.7	20.6	21.1	97.6	
3	52.4	10.8	21.4	21.4	100	
4	50.4	10.0	20.2	20.8	97.1	
5	56.8	10.2	21.7	22.2	97.8	

2.5 检出限

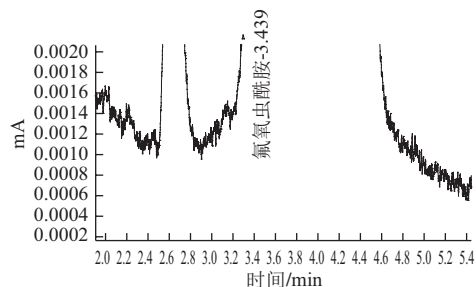


图6 氟氧虫酰胺信噪比
Fig.6 Signal/noise ratio of ZJ3757

检出限按公式(3)计算,检出限为 4.21×10^{-4} mg/mL。

$$D = (3 \times C) / R_{SN} \quad (3)$$

式中: C 为标样溶液中氟氧虫酰胺质量分数/%; R_{SN} 为仪器信噪比; D 为氟氧虫酰胺检出限。

3 结论

综上所述,通过对HPLC分析条件的选择与优化,用本方法测定20%氟氧虫酰胺悬浮剂的质量分数,其有效成分与杂质能有效分离,其准确度和精密度也能满足要求,线性关系良好,操作稳定易行,同时最低检出限也能满足检测要求,是此种悬浮制剂较为理想的分析方法。

参考文献:

- [1] 窦花妮, 陈杰, 郑昀红, 等. 一种含一氟甲氧基吡唑的邻甲酰氨基苯类化合物其合成方法及应用: 中国, 101967139A[P]. 2011-02-09.
- [2] 许勇华, 胡冬松, 袁静, 等. 20%ZJ3757悬浮剂的研制[J]. 农药, 2012, 51(2): 100-101.
- [3] 袁静, 陈杰, 邢佳华, 等. 新化合物氟氧虫酰胺对蔬菜鳞翅目害虫的毒力及田间防治效果[J]. 农药学报, 2012, 14(5): 510-514.
- [4] BASSI A, ALBER R. Chlorantraniliprole: a novel anthranilicdiamide insecticide[C]//IAPPS. X V I International PlantProtection Congress. Glasgow. UK: BCPC, 2007: 52-59.
- [5] LAHM G P, SELBY T P, FREUDENBERGER J H, et al. Insecticidal anthranilic diamides: a new class of potentryanodinereceptor activators[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2005, 15(22): 4898-4906.
- [6] 武中平, 高巍, 颜春荣, 等. 氟虫腈高效液相色谱分析方法的研究[J]. 现代农药, 2006, 5(2): 21-23.
- [7] 郑杨, 戴海波, 刘运凤, 等. 吡啶醚菌酯·烯酰吗啉18.7%水分散粒剂高效液相色谱分析[J]. 农业科学与管理, 2008(12): 9-13.
- [8] 农业部. NY/T 1680—2009 蔬菜水果中多菌灵等4种苯并咪唑类农药残留量的测定: 高效液相色谱法[S].
- [9] 农业部. GB 4285—1989 农药安全使用标准[S].
- [10] 唐慧敏, 杨淑娟, 徐成辰. 顶空气相色谱法测定乙烯利原药的含量[J]. 现代农药, 2013, 12(2): 32-34.
- [11] 唐慧敏, 丁夏萍. 60%百·甲可湿性粉剂的液相色谱分析[J]. 现代农药, 2003, 2(3): 19-21.