

乙唑螨腈原药的高效液相色谱分析

叶艳明

(沈阳中化农药化工研发有限公司 沈阳 110021)

摘要 [目的]建立乙唑螨腈原药(SYP-9625)中有效成分含量测定的分析方法。[方法]采用安捷伦公司C₁₈色谱柱,以乙腈-水为流动相,在检测波长220 nm下对乙唑螨腈原药有效成分进行定量测定。[结果]该方法的线性相关系数为1.0,标准偏差为0.02,平均回收率为99.8%。[结论]该方法分离效果好、样品溶液稳定性强,同时具有快速、精密度和准确度高、线性关系好的特点。

关键词 乙唑螨腈(SYP-9625)原药;高效液相色谱;C₁₈柱;定量分析

中图分类号:TQ450.7 文献标志码:A 文章编号:1006-0413(2017)06-0424-03

Analysis of SYP-9625 TC by HPLC

YE Yan-ming

(Shenyang Sinochem Agrochemicals R&D Co., Ltd., Shenyang 110021, China)

Abstract: [Aims] A HPLC method for the quantitative determination of SYP-9625 TC was developed. [Methods] The content of SYP-9625 TC was determined with the mixture of acetonitrile and water (80:20, by vol) as the mobile phase, and with C₁₈ column at 220 nm. [Results] The linear correlation coefficient was 1.0, the standard deviation was 0.02, and the average recovery was 99.8%. [Conclusions] This method has the advantage of fast, good stability, good separation, high precision and accuracy, good linear correlation.

Key words: SYP-9625 TC; HPLC; C₁₈ column; quantitative analysis

乙唑螨腈(SYP-9625)为沈阳中化农药化工研发有限公司(原沈阳化工研究院农药所)发现并开发的新型丙烯腈类高活性杀螨化合物^[1],对哺乳动物低毒,并对非靶标生物如蜜蜂等安全,是以cyenopyrafen为先导化合物,经过结构优化发现,现已申请中国发明专利和PCT发明专利^[2-3]。该化合物纯品为白色粉末,在50~100 mg/L质量浓度下可有效防治柑橘和苹果红蜘蛛,通过生测部门对乙唑螨腈进行室内和田间药效试验,其结果为乙唑螨腈对朱砂叶螨和柑橘红蜘蛛的防效高于cyenopyrafen,并具有明显的杀卵活性,对苹果、柑橘红蜘蛛具有较好的速效性。对乙唑螨腈原药采用反相高效液相色谱进行了定量分析方法的探索和优化完善,使乙唑螨腈有效成分与其杂质得到有效分离从而进行定量分析,该分析方法准确、简便、快速,具有可行性。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器

安捷伦公司高效液相色谱仪 1260 Infinity(配制部件为G1314F可变波长紫外检测器、G1312 Bin Pump VL、

G1329B 1260 ALS、G1316A TCC、G4225A 1260 高性能脱气机、OpenLAB ChemStation色谱工作站系统);色谱柱:安捷伦Eclipse XDB-C₁₈ 150 mm×4.6 mm(i.d.) 5 μm;梅特勒AL204-IC万分之一电子天平;KQ3200DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Milli-Q超纯水系统。

1.1.2 试剂

乙腈(色谱纯);磷酸(分析纯);水(超纯水);乙唑螨腈标样(实验室提纯,标定纯度为99.0%);乙唑螨腈原药(沈阳中化农药化工研发有限公司)。

1.2 操作条件

色谱柱 安捷伦Eclipse XDB-C₁₈ 150 mm×4.6 mm(i.d.), 5 μm;流动相:乙腈-水(体积比为80:20);检测波长:220 nm;流速1.0 mL/min;柱温 30 °C;进样量5 μL;乙唑螨腈保留时间:12.7 min。

1.3 测定步骤

1.3.1 配制乙唑螨腈标样溶液

准确称取2份乙唑螨腈标样约50.0 mg(精确至0.1 mg)分别置于100 mL校正过的容量瓶中,先加入30 mL乙腈超声震荡,待样品溶解后取出冷却至室温,再加入流动相定容,摇匀备用。

1.3.2 配制乙唑螨腈试样溶液

将样品研磨均匀后,准确地称取2份乙唑螨腈原药约50.0 mg(精确至0.1 mg)分别置于100 mL校正过的容量瓶中,先加入30 mL乙腈超声震荡,待样品溶解后取出冷却至室温,再加入流动相定容,摇匀备用。

1.3.3 测定

在上述试验条件下,待仪器压力稳定后,连续注入数针乙唑螨腈标样溶液,得出各针响应值,如果相邻2针标样溶液的主峰保留时间一致,且其相应的响应值(峰面积)变化小于1.0%,说明该试验条件稳定。然后依次按照标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液的顺序进行实验操作,即可得出乙唑螨腈标样溶液和样品溶液的色谱图及其各自的峰面积(见图1、2)。

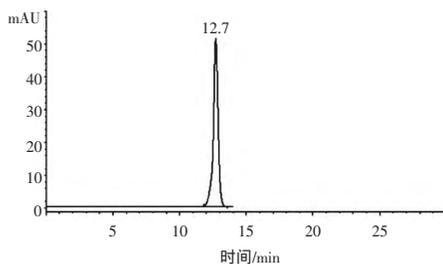


图1 乙唑螨腈标准样品高效液相色谱图

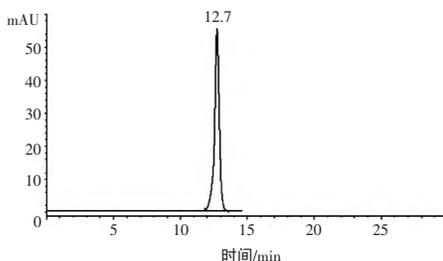


图2 乙唑螨腈原药高效液相色谱图

1.3.4 计算

根据1.3.3测得的2次试样溶液及试样前后2次标样溶液中乙唑螨腈的峰面积分别进行平均,按下式计算试样中乙唑螨腈质量分数 $X_1(\%)$:

$$X_1 = \frac{A_2 \cdot m_1 \cdot P}{A_1 \cdot m_2} \times 100$$

式中 A_1 为乙唑螨腈标样溶液中乙唑螨腈的峰面积平均值, A_2 为乙唑螨腈试样溶液中乙唑螨腈的峰面积平均值, m_1 为乙唑螨腈标样的质量(mg), m_2 为乙唑螨腈试样的质量(mg), P 为乙唑螨腈标样的质量分数(%)。

2 结果和讨论

2.1 液相色谱条件的选择与优化

2.1.1 溶剂的选择

取乙唑螨腈纯品进行不同极性溶剂的溶解度试验,得出其溶解度(见表1)。

表1 乙唑螨腈纯品在不同溶剂中的溶解度

溶剂	二氯甲烷	乙酸乙酯	丙酮	乙腈	甲醇	石油醚	正庚烷	水
溶解度/(g·L ⁻¹)	1688	619	430	195	123	50	47	难溶

2.1.2 色谱柱选择

根据表1乙唑螨腈溶解度表所示,可以选择 C_{18} 反相色谱柱进行试验。分别采用Agilent Eclipse XDB- C_{18} 、ZORBAX SB- C_{18} 、ZORBAX Extend- C_{18} 进行试验,均能达到完好的分离,对称性和峰宽均满足定量要求。但为了同时满足乙唑螨腈整个项目的原料、中间体、产品的中控分析要求,最终采用Agilent Eclipse XDB- C_{18} ,150 mm×4.6 mm(i.d.)色谱柱完成其定量分析。

2.1.3 流动相和柱温的选择

由表1溶解度数据表明:乙唑螨腈在乙腈中的溶解度比甲醇大,故选择乙腈作为流动相中的有机相。采用上述色谱柱在室温条件下以流速1.0 mL/min、波长为225 nm时5 μ L进样量对流动相进行选择试验,分别以乙腈-水不同的体积比85:15、80:20、75:25、70:30作流动相进行测定,通过试验数据保留时间、峰对称性、峰宽以及峰的尖锐性得出当乙腈-水的体积比为80:20时实现了乙唑螨腈及其杂质的有效分离,出峰时间短、色谱峰较尖锐,峰宽小且对称性良好。为了得到更好的峰型,将柱温提高至30 $^{\circ}$ C,得到尖锐峰,对称性更好。

再采用乙腈-0.01 mol/L磷酸(体积比80:20)作流动相进行试验,发现在该色谱分析条件下其保留时间和相应响应值都未明显变化。

故采用乙腈-水(体积比80:20)作为流动相来进行乙唑螨腈原药的定量分析。

2.1.4 检测波长的选择

通过上述色谱条件:色谱柱:Agilent Eclipse XDB- C_{18} ,150 mm×4.6 mm(i.d.),流速1.0 mL/min,流动相:乙腈-水(体积比80:20),柱温30 $^{\circ}$ C,进样量5 μ L,对乙唑螨腈进行波长选择。将乙唑螨腈标准样品溶液在190~400 nm的波长范围内扫描,如图3所示在225 nm处有最大的吸收。由于乙唑螨腈原药溶液中杂质在220 nm波长下有较大响应值,故选择220 nm作为乙唑螨腈的检测波长。其紫外波长扫描图见图3。

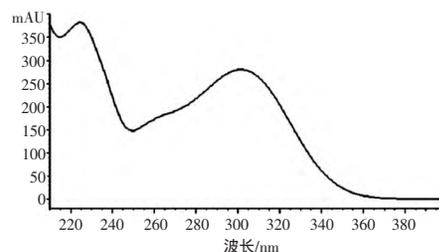


图3 乙唑螨腈的紫外光谱图

2.2 方法评价

2.2.1 线性关系

以乙唑螨腈标准样品配制5个不同质量浓度的溶液,采用上述乙唑螨腈的色谱操作条件进行分析测定,得到其相应的响应值。然后以乙唑螨腈的质量浓度为横坐标(mg/L),以其相应的响应值为纵坐标(mAU·s)绘制曲线图,发现质量浓度在100~700 mg/L时乙唑螨腈标准样品溶液的线性相关性曲线很好,而且基本满足乙唑螨腈原药的定量要求,其线性方程为 $y=167.26x+98.27$,相关系数为1.0。

2.2.2 乙唑螨腈精密度的测定

选择实验室合成的乙唑螨腈试样,按照乙唑螨腈的色谱操作条件连续测定5次,得出其平均值,计算出乙唑螨腈的标准偏差和变异系数(见表2)。根据这组数据得出乙唑螨腈的精密度较高。

表2 乙唑螨腈精密度测定

序号	质量分数/%	平均值/%	标准偏差	变异系数/%
1	98.15	98.15	0.02	0.02
2	98.18			
3	98.13			
4	98.15			
5	98.14			

2.2.3 乙唑螨腈准确度的测定

在已知含量为98.3%的乙唑螨腈中加入适量的乙唑螨腈的标准品(纯度为99.0%),按上述乙唑螨腈的分析实验条件测定,根据其理论质量和实际测定质量计算出其回收率(见表3)。由以下数据可知该方法回收率较高,可以准确分析乙唑螨腈的质量分数。

表3 乙唑螨腈回收率测定

编号	试样质量/mg	标样质量/mg	理论质量/mg	实测质量/mg	回收率/%	平均回收率/%
1	34.4	11.1	44.80	44.82	100.04	99.8
2	37.3	10.2	46.77	46.50	99.42	
3	45.7	11.4	56.21	55.93	99.50	
4	49.4	10.7	59.15	59.22	100.12	
5	55.4	8.5	62.87	62.48	99.38	

2.2.4 乙唑螨腈标样溶液稳定性测定

以乙唑螨腈标准样品配制4个不同质量浓度的溶液,采用上述乙唑螨腈的色谱操作条件进行分析测定,得到其响应值。将样品瓶进行封口膜封口置于冰箱冷藏室保存。12 d后将样品瓶取出至室温,以相同条件下再次做同样试验,其样品保留时间和其相应的响应值几乎未发生变化(见表4)。说明乙唑螨腈样品溶液稳定性很好,可以完成日常的定量分析工作。

表4 乙唑螨腈溶液稳定性测定

编号	标样质量/mg	1 d保留时间/min	1 d响应值/mAU·s	12 d保留时间/min	12 d响应值/mAU·s	响应值平均变化率/%
1	13.4	12.71	2341	12.75	2329	0.2
2	27.2	12.72	4632	12.77	4634	
3	44.6	12.75	7590	12.78	7568	
4	62.2	12.76	10 492	12.79	10 478	

3 结论

对乙唑螨腈原药定量分析工作中通过溶剂的选择、流动相及其比例的优化试验、波长的选择以及柱温、样品进样量的确定,建立了乙唑螨腈有效成分的质量分数的高效液相色谱分析方法。并且从该方法的准确度、精密度、回收率和样品溶液稳定性这4个方面进行了评估,结果表明该分析方法操作简便、准确、快速,而且样品溶液稳定性好,完全适用于乙唑螨腈原药的定量分析。

参考文献:

- [1] 薛振祥. 农药中间体手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 200.
- [2] 李斌, 于海波, 张弘, 等. 吡唑基丙烯酸酯类化合物及其应用: CN, 102395566[P]. 2012-03-28.
- [3] LI Bin, YU Hai-bo, ZHANG Hong, et al. Pyrazolyl Acrylonitrile Compounds and Uses Thereof: WO, 2010124617[P]. 2010-11-04.

责任编辑 李新

欧盟将提交草甘膦续登 10 年的申请

欧洲化学品管理局(ECHA) 3 月份发布的研究并未将草甘膦划入致癌物一类,称该物质能引起严重的眼部损伤,且对水生生物有毒性,对其具有长期影响。但现有的科学数据并不能支撑将草甘膦划入致癌物一类,抑或是致畸或具有生殖毒性。之后,欧盟委员会与各欧盟成员国就草甘膦续登 10 年这一问题进行谈判。截至目前,欧盟与各成员国代表进行磋商,日期尚未最终确定。

虽然世界卫生组织的癌症机构,国际癌症研究机构(IARC)将草甘膦归为“可能致癌”物质,但包括美国在内的许多其他政府监管机构认为草甘膦这一除草剂不太可能增加人类患癌症风险。

欧盟称,草甘膦是 Roundup 除草剂的核心成分,不应被归类为致癌物质。欧盟委员会的发言人说,“我们会将最新的科学研究结果考虑进去,并将与各成员国合作,寻求一个能获得社会各界支持的解决方案”。

欧洲食品安全局(EFSA)称,草甘膦“不太可能对人类造成致癌危害”,并对 ECHA 的研究结果表示支持。

欧盟议会绿色小组成员 Bart Staes 表示:“认为草甘膦广泛存在风险是没有意义的。”

欧洲作物保护组织称,草甘膦续登 10 年时间太短,应该申请续登更长时间,这是一种“短视”行为。

根据 IARC 公布的数据,草甘膦于 2010 年在 130 多个国家获得登记,是全球使用量最大的除草剂之一。分析师预计,若草甘膦在欧洲被禁,那么孟山都销售额将损失 1 亿美元。