

文章编号:1003-8779(2012)01-0003-04

嘧霉胺高效液相色谱和气相色谱 2 种分析方法研究

蒋廷福

(广西壮族自治区农药检定管理所,南宁市 530022)

摘 要:采用高效液相色谱法和气相色谱法对嘧霉胺进行定性定量比较分析。结果表明:高效液相色谱法的线性相关系数为 0.9992,标准偏差为 0.086,变异系数为 0.27%,平均回收率为 99.43%;气相色谱法的线性相关系数为 1,标准偏差为 0.15,变异系数为 0.46%,平均回收率为 99.52%。

关键词:嘧霉胺;气相色谱;高效液相色谱

中图分类号:0657.72 **文献标识码:**B

嘧霉胺是防治灰霉病的一种高效、低毒杀菌剂,具有内吸传导和熏蒸作用,施药后可迅速传到植物体内各部位,有效抑制病原菌侵染酶的产生,从而阻止病菌侵染,彻底杀死病菌。其化学名称为 N-(4,6-二甲基嘧啶-2-基)苯胺。气相色谱法或高效液相法对嘧霉胺进行定性定量分析方法已有报道,但采用气相色谱法和高效液相法 2 种分析方法对嘧霉胺进行定性定量比较分析未见报道。

1 材料与方法

1.1 液相色谱法

1.1.1 试剂和溶液 甲醇:色谱纯;水:新蒸 2 次蒸馏水;嘧霉胺标样的质量分数为 98.0% (由农业部

农药检定所提供);30% 嘧霉胺 SC(由桂林集琦生化有限公司提供)。

1.1.2 仪器 高效液相色谱仪:Waters1525 液相色谱仪,配有 2487 可变波长紫外检测器和 717 自动进样器;Waters 色谱工作站,色谱柱:250 mm×4.6 mm (i. d.) 不锈钢柱,内装 Inertsil ODS-3 C18 填充料,粒径为 5μm。

1.1.3 液相色谱操作条件流动相:甲醇+水=75+25(V/V);流量:1.0ml/min;柱温:35℃;检测波长 270nm,进样体积:5μl。在上述液相色谱操作条件下,系典型操作参数,可根据不同仪器特点,对给定的操作参数作适当调整,以期获得最佳效果。典型的嘧霉胺高效液相色谱图(见图 1、2)。

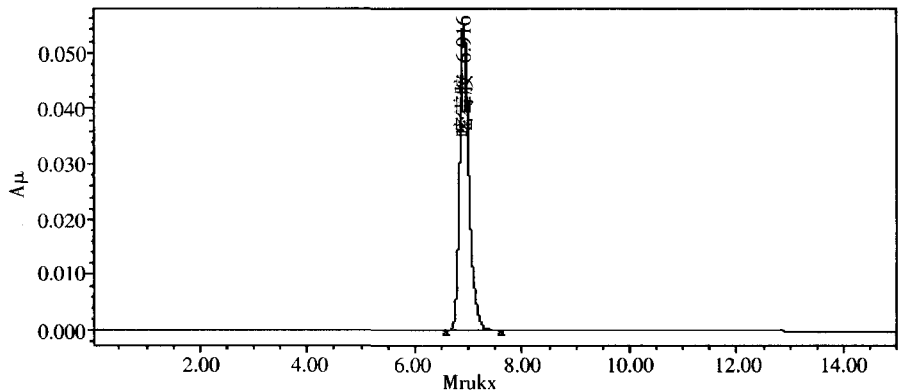


图 1 嘧霉胺标样高效液相色谱图

1.1.4 测定步骤

1.1.4.1 标样溶液的配制 称取嘧霉胺标样 0.05g (精确至 0.0001g),置于 50ml 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,作为母液。准确移取 1.0ml 上述标准

溶液于 25ml 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀。

1.1.4.2 试样溶液的配制 称取含嘧霉胺约 0.05g (精确至 0.0001g) 的试样,置于 50ml 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀、超声、离心、过滤。准确移取

收稿日期:2011-12-08

[作者简介:蒋廷福(1976-),男,广西灌阳县人,助理农艺师,学士。]

1.0ml 上述滤液于 25ml 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀。

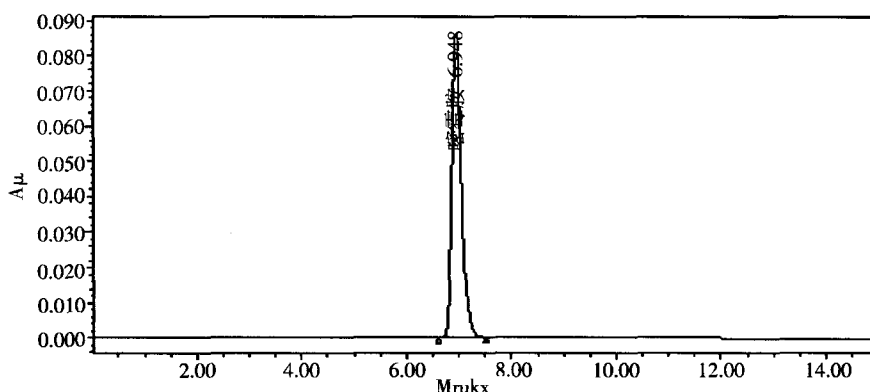


图2 30% 嘧霉胺 SC 试样高效液相色谱图

1.1.4.3 测定 在上述液相色谱操作条件下,待仪器基线稳定后,连续注入数针标样溶液,直至相邻两针标样溶液的响应值相对变化 < 1.5% 后,按照标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液的顺序进行测定。

1.1.5 计算 将测得的两针试样溶液以及试样前后两针标样溶液中嘧霉胺峰面积分别进行平均,试样中嘧霉胺的质量分数 X(%) 按下式计算:

$$X(\%) = \frac{A_2 \cdot m_1 \cdot \omega_1}{A_1 \cdot m_2}$$

式中: A_1 ——标样溶液中,嘧霉胺峰面积的平均值;

m_1 ——嘧霉胺标样的质量,单位为克(g);

ω_1 ——嘧霉胺标样的质量分数,数值以(%)表示;

A_2 ——试样溶液中,嘧霉胺峰面积的平均值;

m_2 ——试样的质量,单位为克(g)。

1.2 气相色谱法

1.2.1 试剂和溶液 丙酮:分析纯;嘧霉胺标样的质量分数为 98.0% (由农业部农药检定所提供);30% 嘧霉胺 SC,内标物:邻苯二甲酸二戊酯(无干扰杂质)。

1.2.2 仪器 气相色谱仪:AgilentGC6890N,配备自动进样器;氢火焰离子化检测器(FID);Agilent-GC6890N 色谱工作站;色谱柱:30 m × 0.32 mm × 0.25 μm 毛细管柱,内填 HP-5 固定液。

1.2.3 气相色谱操作条件 柱温:起始温度 190℃,保持 5 min,升温速率 10℃/min,到达 230℃,保持 10 min;进样口温度:280℃;检测器温度:290℃。氮气:23.7 ml/min。氢气:40 ml/min。空气:450 ml/min。尾吹:25 ml/min。柱流量:2.5 ml/min。分流比:20:1。进样体积:1.0 μL。相对保留时间:嘧霉胺约 5.1

min。邻苯二甲酸二戊酯约 9.4 min。

在上述气相色谱操作条件下,系典型操作参数,可根据不同仪器特点,对给定的操作参数作适当调整,以期获得最佳效果。典型的嘧霉胺气相色谱图(图3、4)。

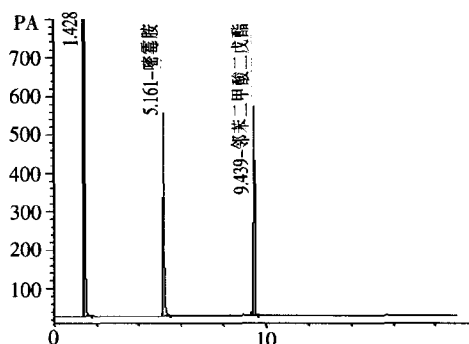


图3 嘧霉胺标样气相色谱图

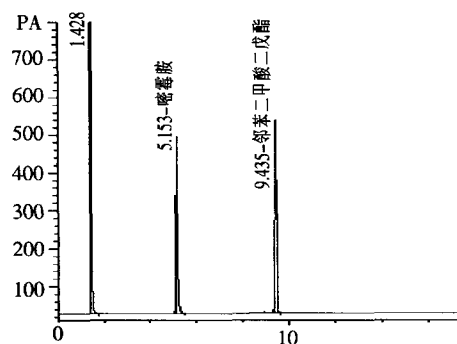


图4 30% 嘧霉胺 SC 试样气相色谱图

1.2.4 测定步骤

1.2.4.1 内标溶液的配制 称取 1.5g(精确至 0.0001 g)邻苯二甲酸二戊酯于 100ml 容量瓶中,用丙酮溶解,定容,摇匀备用。

1.2.4.2 标样溶液的配制 称取嘧霉胺标样 0.05g(精确至 0.0001g),置于 25ml 容量瓶中,准确加入内标溶液 5.0ml,用丙酮稀释至刻度,摇匀备用。

1.2.4.3 试样溶液的配制 称取嘧霉胺试样约 0.16g(精确至 0.0001g),置于 25ml 容量瓶中,准确加入内标溶液 5.0ml,用丙酮稀释至刻度,超声、离心、过滤,滤液备用。

1.2.4.4 测定 在上述气相色谱操作条件下,待仪器基线稳定后,连续注入数针标样溶液,直至相邻两针标样溶液的响应值相对变化 <1.5% 后,按照标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液的顺序进行测定。

1.2.5 计算 将测得的两针试样溶液以及试样前后两针标样溶液中的嘧霉胺与内标物的峰面积比值分别进行平均,试样中嘧霉胺的质量分数 X 按下式计算:

$$X(\%) = \frac{A_2 \cdot m_1 \cdot \omega_1}{A_1 \cdot m_2}$$

式中: A₁——标样溶液中,嘧霉胺与内标物峰面积比的平均值;

m₁——嘧霉胺标样的质量,单位为克(g);

ω₁——嘧霉胺标样的质量分数,数值以(%)表示;

A₂——试样溶液中,嘧霉胺与内标物峰面积比的平均值;

m₂——试样的质量,单位为克(g)。

2 结果与讨论

2.1 液相色谱法

2.1.1 色谱条件的选择 利用紫外检测器在 190nm~370nm 之间对嘧霉胺进行紫外扫描,获得嘧霉胺的紫外波长扫描图(见图 5)。从图中可以看到嘧霉胺在 199 nm 波长时吸收最大,扣除溶剂和杂质影响,最后确定嘧霉胺检测波长为 270 nm。

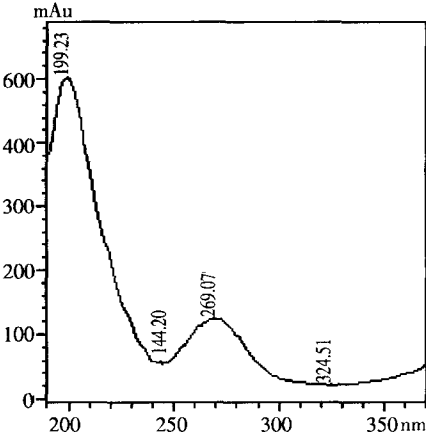


图5 嘧霉胺紫外吸收谱图

选用甲醇为溶剂溶解样品,分别对甲醇和水按不同比例,在色谱柱上进行选择。当选择甲醇+水=75+25(v/v),流速为 1.0ml/min 时,嘧霉胺峰形对称,基线平稳,分离效果好,分析时间短。

2.1.2 方法线性相关性的测定 准确移取 1.1.4.1 配制好的标样母液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0ml,分别于 50ml 容量瓶中,用甲醇定容,摇匀。在上述色谱条件下进行分析,以嘧霉胺的质量浓度为横坐标,相应的峰面积为纵坐标绘制标准曲线,得到嘧霉胺线性回归方程为: Y = 435093X - 76072 其线性相关系数为 0.9992。(见表 1、图 6)

表 1 分析方法的线性相关性试验结果

编号	嘧霉胺质量浓度(μg/ml)	嘧霉胺峰面积
1	21.56	489482
2	43.11	958719
3	64.67	1404529
4	86.22	1819441
5	107.7	2234588

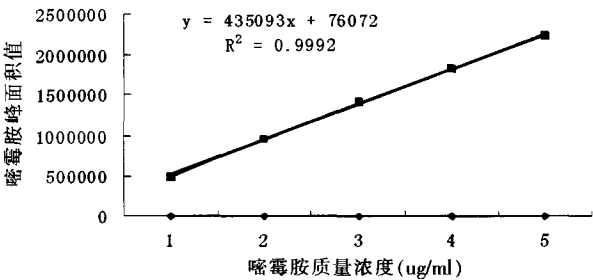


图 6 嘧霉胺线性关系图

2.1.3 分析方法的精密度试验 对同一样品,在上述色谱条件下平行测定 5 次,测得嘧霉胺的标准偏差为 0.086,变异系数为 0.27%(见表 2)。

表 2 嘧霉胺精密度试验结果

编号	嘧霉胺(%)	平均值(%)	标准偏差	变异系数(%)
1	32.312	32.29	0.086	0.27
2	32.253			
3	32.20			
4	32.43			
5	32.28			

2.1.4 分析方法的准确度试验 称取 5 个已知含量的试样 0.2876 g、0.1875 g、0.1983g、0.2171 g、0.1905g,分别加入 2.0ml 上述 1.1.4.1 配制的标样溶液,在上述色谱条件下进行分析,测得嘧霉胺的平均回收率为 99.43 %(见表 3)。

表 3 嘧霉胺准确度试验结果

有效成份	理论值 (mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)
嘧霉胺	77.75	76.59	98.51	99.43
	51.88	51.92	100.08	
	54.67	54.60	99.87	
	59.53	59.19	99.43	
	52.65	52.27	99.28	

2.2 气相色谱法

2.2.1 内标物的选择 为了对嘧霉胺进行准确的定量测定,需选择 1 个合适的内标物,因此分别对邻苯二甲酸二丙酯、癸二酸二丁酯、邻苯甲酸二戊酯 3 个内标物进行选择试验。结果表明在上述色谱条件下,选用邻苯甲酸二戊酯和癸二酸二丁酯作内标物时,两者与各组份及杂质均能得到很好的分离效果,且峰形对称。本文选用邻苯甲酸二戊酯作为嘧霉胺分析的内标物。

2.2.2 分析方法的线性相关性试验 准确称取 98.7% 嘧霉胺标样 0.2557 g 到 25 ml 容量瓶中,用丙酮稀释至刻度,用移液管准确移取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml 于 10 ml 容量瓶中,分别用移液管准确加入 2.00 ml 上述 1.2.4.1 中配制的内标物溶液,在上述气相色谱操作条件下测定,以嘧霉胺与内标物的质量比为横坐标,相应的峰面积比为纵坐标绘制标准曲线,得到嘧霉胺线性回归方程为 $Y = 0.3545X - 0.0216$ 其线性相关系数为 1 (见图 7)。

表 4 分析方法的线性相关性试验结果

编号	嘧霉胺与内标物的 质量比	嘧霉胺与内标物的峰 面积比
1	0.3349	0.3293
2	0.6698	0.6926
3	1.0047	1.0415
4	1.3396	1.3966
5	1.6745	1.7499

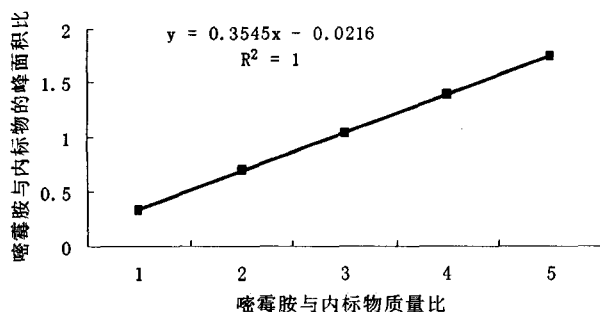


图 7 嘧霉胺线性关系图

2.2.3 分析方法的精密度试验 对同一产品,按 2.2.4 的方法平行测定 5 次,测得嘧霉胺的标准偏差为 0.15,变异系数为 0.46% (表 5)。

表 5 嘧霉胺精密度试验结果

编号	嘧霉胺 (%)	平均值 (%)	标准偏差	变异系数 (%)
1	32.46	32.65	0.15	0.46
2	32.86			
3	32.71			
4	32.64			
5	32.57			

2.2.4 分析方法的准确度试验

a、标样溶液的配制:称取嘧霉胺标样 0.0544g 置于 50ml 容量瓶中用丙酮稀释至刻度,摇匀备用。

b、内标溶液的配制:称取邻苯二甲酸二戊酯 0.5390g 容量瓶中用丙酮稀释至刻度,摇匀备用。

c、称取 5 个已知含量的试样 0.2115 g、0.2036 g、0.2121 g、0.2046 g、0.2155g,分别准确加入上述标准溶液 2.0ml 和内标物溶液 5.0ml,在上述色谱条件下进行分析,测得嘧霉胺的平均回收率为 99.52 %。(表 6)

表 6 嘧霉胺准确度试验结果

有效成份	理论值 (mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)
嘧霉胺	71.18	71.38	100.28	99.52
	68.61	67.96	99.05	
	71.38	71.10	99.61	
	68.93	68.46	99.32	
	72.49	72.13	99.50	

3 小结

综上所述,用上述 2 种方法检测嘧霉胺均具有操作简便、分离效果好、精密度和准确度高等优点,2 种方法均适合于质检部门和生产企业的分析,质检部门和企业可根据具体情况选择分析方法。