

杨勇, 顾中怡, 徐春春, 等. 高效液相色谱法测定氟啶虫胺胍制剂中有效成分含量[J]. 农药, 2015, 54(7): 512-515.

## 高效液相色谱法测定氟啶虫胺胍制剂中有效成分含量

杨 勇<sup>1</sup>, 顾中怡<sup>1</sup>, 徐春春<sup>2</sup>, 强 音<sup>1</sup>

(1.上海出入境检验检疫局, 上海 200135; 2.东华大学, 上海 201620)

**摘要:**[目的]建立高效液相色谱法测定氟啶虫胺胍悬浮剂和水分散粒剂中有效成分含量的分析方法。[方法]使用C<sub>18</sub>色谱柱,以乙腈-醋酸溶液为流动相,在波长260 nm进行测定。[结果]方法的线性相关系数为0.999 9,定量限为47.9 mg/L,标准偏差为0.034 6和0.042 9,变异系数为0.160%和0.087%,平均回收率为100.2%~102.7%。[结论]该方法具有较宽的线性范围及良好的精密度和准确度,操作简便、快速,可作为氟啶虫胺胍制剂质量控制的定量分析方法。

**关键词:**氟啶虫胺胍;高效液相色谱法;有效成分;定量分析

**中图分类号:**TQ450.7 **文献标志码:**A **文章编号:**1006-0413(2015)07-0512-04

## Determination of Active Ingredient Content in Sulfoxaflor Preparations by HPLC

YANG Yong<sup>1</sup>, GU Zhong-yi<sup>1</sup>, XU Chun-chun<sup>2</sup>, QIANG Yin<sup>1</sup>

(1.Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shanghai 200135, China; 2.Dong Hua University, Shanghai 201620, China)

**Abstract:** [Aims] A HPLC method was developed for the determination of active ingredient content in sulfoxaflor suspension concentrate and water dispersible granule. [Methods] The chromatographic conditions were systematically investigated with C<sub>18</sub> column as the stationary phase, the mixture of acetonitrile and acetic acid as the mobile phase at 260 nm. [Results] The linear correlation coefficient was 0.999 9, the limit of quantification was 47.9 mg/L, and the average recoveries were 100.2-102.7%. In addition, the standard deviations were 0.034 6 and 0.042 9, the variation coefficients were 0.160 and 0.087%, respectively. [Conclusions] This method has a wide linear range, high precision and accuracy. It is simple and rapid, which is suitable for quantitative analysis and quality control of sulfoxaflor preparations.

**Key words:** sulfoxaflor; HPLC; active ingredient; quantitative analysis

新型烟碱类广谱杀虫剂氟啶虫胺胍(sulfoxaflor),化学名称(1-(6-(三氟甲基)吡啶-3-基)乙基)- $\lambda$ 4-巯基氨胍,由美国陶氏益农公司研制开发,目前我国登记的制剂规格有50%水分散粒剂(WG)和22%悬浮剂(SC)<sup>[1-2]</sup>,它作用于昆虫的神经系统,通过激活烟碱型乙酰胆碱受体体内独特的结合位点而发挥其杀虫功能,并经叶、茎、根吸收而进入植物体内,能有效防治刺吸式害虫<sup>[3-5]</sup>。因氟啶虫胺胍具有高效、低毒、低使用量、与其他化学类别的杀虫剂无交互抗性等特点,在激烈的市场竞争中具有较强优势<sup>[6-7]</sup>。

目前国内外皆没有公开发布的氟啶虫胺胍有效成分含量检测标准,仅见少量农残检测方法的报道,主要是采用液相或气相方法研究了氟啶虫胺胍在棉花、柑橘和土壤中的残留的检测方法与残留动态<sup>[8-9]</sup>。由于近年来该农药的进口量不断增长,为了对氟啶虫胺胍农药制剂

的品质和药效优劣作出正确评判,其有效成分含量的快速、简便的分析检测方法的研究很有必要。本文采用高效液相色谱法,通过对色谱条件的优化,建立了氟啶虫胺胍制剂中有效成分含量的分析方法,相较于文献报道的方法,检测时间大大缩短,达到了简便、快速地检测制剂中有效成分的目的。

### 1 材料和方法

#### 1.1 仪器和试剂

仪器:HP1100高效液相色谱仪(美国Agilent公司),配260 nm波长紫外检测器;色谱柱:ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub>,150 mm × 4.6 mm (i.d.),5  $\mu$ m、Kromasil 100-5 C<sub>18</sub>,250 mm × 4.6 mm (i.d.),5  $\mu$ m、Kromasil 100-5 C<sub>8</sub>,250 mm × 4.6 mm (i.d.),5  $\mu$ m;0.45  $\mu$ m孔径尼龙滤膜;Milli-Q超纯水一体机(Millipore公司)。

收稿日期:2015-05-08,修返日期:2015-06-02

基金项目:国家质检总局科研专项(2014IK259)

作者简介:杨勇(1962—),男,高级工程师,从事化学分析检测及实验室管理工作。E-mail:yang\_yong@shciq.gov.cn。

试剂:乙腈、正己烷、甲醇、异戊烷,均为色谱纯;磷酸、冰醋酸,均为分析纯;实验用水为超纯水;0.1%磷酸、0.2%醋酸(均按体积分数配制水溶液);氟啶虫胺胍标准品(纯度99.7%)、22%氟啶虫胺胍SC、50%氟啶虫胺胍WG(均为质量分数),均由上海出入境检验检疫局提供。

## 1.2 溶液配制

标准溶液配制:精密称取2份氟啶虫胺胍标准品0.01 g(精确至0.000 01),分别置于50 mL容量瓶中,用乙腈溶解定容,超声、摇匀,过滤备用。

试样溶液配制:精密称取0.02~0.03 g(精确至0.000 01)50%氟啶虫胺胍WG和0.04~0.05 g(精确至0.000 01)22%氟啶虫胺胍SC各2份,分别置于50 mL容量瓶中,用乙腈-0.2%醋酸(体积比80:20)作溶剂溶解定容,超声、摇匀,过滤备用。

## 1.3 HPLC检测条件

色谱柱:Eclipse XDB-C<sub>18</sub>, 150 mm × 4.6 mm(i.d.), 5 μm;流动相:乙腈-0.2%醋酸(体积比30:70);流速1.0 mL/min;检测波长260 nm;进样量5 μL;柱温25 ℃。

## 1.4 测定

在1.3的色谱条件下,待仪器基线稳定后,测定样品。将2个峰的峰面积加和后,按外标法计算含量。2种氟啶虫胺胍制剂液相色谱图见图1、2。

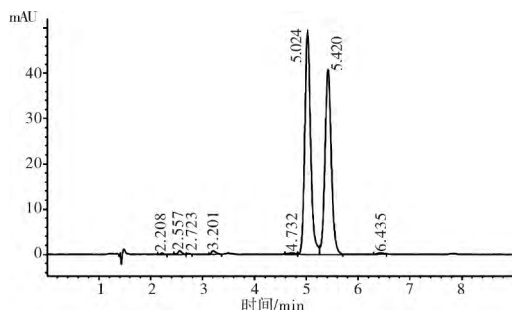


图1 22%氟啶虫胺胍悬浮剂的高效液相色谱图

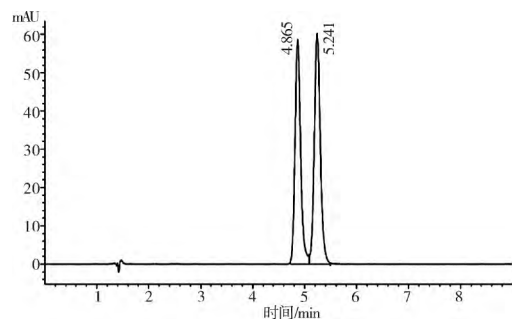


图2 50%氟啶虫胺胍水分散粒剂的高效液相色谱图

# 2 结果与讨论

## 2.1 HPLC检测条件的优化

### 2.1.1 检测波长

取氟啶虫胺胍标准溶液,在波长190~400 nm范围内

进行紫外扫描(见图3),发现在波长210、260 nm处有最大吸收峰,且2个色谱峰的吸收光谱是一致的,能基本重合。考虑到乙腈、甲醇的紫外截止波长在190~205 nm左右,为了减少溶剂的干扰,选择260 nm作为检测波长。

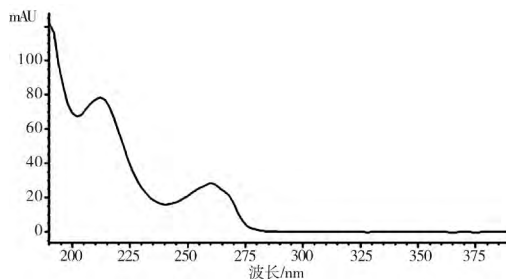


图3 氟啶虫胺胍的紫外吸收光谱图

### 2.1.2 保留时间

取氟啶虫胺胍标准溶液,按照1.3中的色谱条件进样检测,所得色谱图见图4。

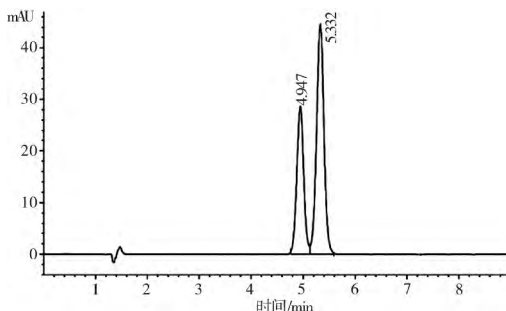


图4 氟啶虫胺胍标样的高效液相色谱图

由图4可见,在保留时间4.9 min与5.3 min处出现了2个色谱峰,原因可由图5的氟啶虫胺胍结构图得以解释。

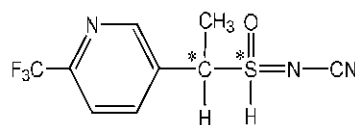


图5 氟啶虫胺胍结构示意图

氟啶虫胺胍为手性分子,图中星号标注的分别是1个碳原子和1个硫原子的2个手性中心,因此该分子存在1对非对映异构体。有别于对映异构体,由于非对映异构体的物理与化学性质的差异,导致它们之间用普通的色谱柱即可基本分离。故图5的2个色谱峰属于氟啶虫胺胍分子的1对非对映异构体。

根据氟啶虫胺胍标准品(纯度99.7%)的标样证书,将4.9 min峰定为非对映异构体A,而5.3 min峰定为非对映异构体B,A与B的质量分数分别为37.2%和62.5%。在实验过程中发现,配制的标准溶液中,A与B在色谱图中的峰面积百分比随着溶液存放时间的推移而发生较大的

变化,实验数据见表1。

表1 不同时间的非对映异构体峰面积百分比

| 溶液存放时间   | 峰面积百分比 /% |      |      |
|----------|-----------|------|------|
|          | 1 d       | 10 d | 30 d |
| 非对映异构体 A | 38.0      | 49.9 | 51.7 |
| 非对映异构体 B | 61.2      | 49.4 | 48.3 |

可见,随着时间的递增,非对映异构体A的质量分数呈单边上升,B则不断下降,提示在实际操作中需关注2个非对映异构体质量分数的变化,需在配制当天尽快完成检测。

### 2.1.3 色谱柱

高效液相色谱作为1种分离分析手段,分离是核心,因此担负分离作用的色谱柱的选择就显得尤为重要。本文选用了a) Kromasil 100-5 C<sub>18</sub>, 250 mm × 4.6 mm(i.d.), 5 μm;b) Kromasil 100-5 C<sub>8</sub>, 250 mm × 4.6 mm(i.d.), 5 μm和c) ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub>, 150 mm × 4.6 mm(i.d.), 5 μm 3种色谱柱,按照1.3中的色谱条件进行分析检测,以22%氟啶虫胺胍SC的保留时间、柱压力、峰宽、异构体间分离度和组分与杂质间分离度等指标为考察对象,用以选择较佳的色谱柱,实验结果见表2。

表2 22%氟啶虫胺胍 SC 在不同色谱柱上分离效果比较

| 色谱柱 | 保留时间 / min | 柱压力 / × 10 <sup>5</sup> Pa | 峰宽 / min | 异构体间分离度 | 组分与杂质间分离度 |
|-----|------------|----------------------------|----------|---------|-----------|
| a   | 12.4; 13.5 | 1.22                       | 0.7      | 1.40    | 1.30      |
| b   | 14.0; 15.1 | 1.0                        | 0.8      | 1.32    | 1.25      |
| c   | 5.0; 5.4   | 0.76                       | 0.4      | 1.06    | 1.19      |

结果表明,氟啶虫胺胍在3种色谱柱上都能得到良好的分离,但由于a和b两种色谱柱保留时间较长,且产生的柱压力较大,综合考虑各项分离效果,选择Eclipse XDB-C<sub>18</sub>, 150 mm × 4.6 mm(i.d.), 5 μm色谱柱为宜。

### 2.1.4 流动相

取少量氟啶虫胺胍标准品进行溶解度试验,分别测试其在有机溶剂(乙腈、正己烷、甲醇、异戊烷)和水相(水、0.1%磷酸、0.2%醋酸)中的溶解度。由测定结果可知,其在有机溶剂乙腈、甲醇中的溶解度较大,在水相中微溶。故为了使各组分能得到很好的分离,拟采用易溶介质-微溶介质二元系作流动相,考虑到甲醇产生的柱压力比乙腈大,本文初步选择乙腈与水相作为流动相。

选择5组不同体积比的有机相:乙腈-水相(水、0.1%磷酸、0.2%醋酸)二元系流动相,按照1.3中的色谱条件进行分析检测,以22%氟啶虫胺胍SC的保留时间、柱压、峰宽、异构体间分离度和组分与杂质间分离度等指标为考察对象,用以选择较佳的流动相体系,实验结果见表3。

表3 不同流动相分离效果比较

| 流动相(体积比)         | 保留时间 / min | 柱压力 / × 10 <sup>5</sup> Pa | 峰宽 / min | 异构体间分离度 | 组分与杂质间分离度 |
|------------------|------------|----------------------------|----------|---------|-----------|
| 乙腈-水(30:70)      | 11.6; 12.8 | 1.03                       | 1.1      | 1.28    | 1.28      |
| 乙腈-0.1%磷酸(30:70) | 5.9; 6.4   | 0.77                       | 0.7      | 1.01    | 0.79      |
| 乙腈-0.2%醋酸(30:70) | 5.0; 5.4   | 0.76                       | 0.4      | 1.06    | 1.19      |
| 乙腈-0.2%醋酸(40:60) | 3.3; 3.5   | 0.75                       | 0.4      | 0.58    | 0.27      |
| 乙腈-0.2%醋酸(50:50) | 2.4; 2.5   | 0.73                       | 0.3      | 0.33    | 0.45      |

选用乙腈-水二元系作流动相时,峰宽较宽,保留时间长,柱压力大,不宜用作本文的流动相;选用乙腈-0.1%磷酸和乙腈-0.2%醋酸(流动相体积比皆为30:70)时,检测时间短,柱压力小,但从2种分离度考虑,选择0.2%的醋酸溶液为水相较好。

为了解同一乙腈-0.2%醋酸流动相体系,但不同有机相与水相体积比对检测效果的影响,以体积比50:50、40:60、30:70分别进行试验。结果显示,有机相比比例较高时不利于制剂中杂质的分离,当乙腈-0.2%醋酸(体积比30:70)时,氟啶虫胺胍制剂中有效成分与杂质能得到很好分离,峰形较好,检测时间短,为本文中适宜的流动相。

## 2.2 方法评价

### 2.2.1 线性范围及定量限

准确称取已知含量的氟啶虫胺胍标准品0.3 g(精确到0.000 1 g)于50 mL容量瓶中,用乙腈溶解并定容至刻度,再按一定比例逐步稀释至定量检测限(接近S/N=10时的浓度),在1.3中的色谱条件下进行测定。绘制氟啶虫胺胍质量浓度(mg/L)-峰面积响应值(mAU·s)曲线,所得线性回归方程为 $y=3\ 016.3x+10.102$ ,相关系数 $r=0.999\ 9$ ,定量限为47.9 mg/L,结果表明,在质量浓度为20~5 700 mg/L的范围内呈现很好的线性关系。

### 2.2.2 精密度

分别对同一22%氟啶虫胺胍SC和50%氟啶虫胺胍WG采用1.3中的色谱条件平行测定6次,测得精密度,结果见表4。

表4 精密度测试数据

| 样品          | 编号 | 实测值 / % | 平均值 / % | 标准偏差    | 变异系数 / % |
|-------------|----|---------|---------|---------|----------|
| 22%氟啶虫胺胍 SC | 1  | 21.56   | 21.59   | 0.034 6 | 0.160    |
|             | 2  | 21.58   |         |         |          |
|             | 3  | 21.59   |         |         |          |
|             | 4  | 21.54   |         |         |          |
|             | 5  | 21.62   |         |         |          |
|             | 6  | 21.63   |         |         |          |
| 50%氟啶虫胺胍 WG | 1  | 49.28   | 49.27   | 0.042 9 | 0.087    |
|             | 2  | 49.28   |         |         |          |
|             | 3  | 49.22   |         |         |          |
|             | 4  | 49.29   |         |         |          |
|             | 5  | 49.21   |         |         |          |
|             | 6  | 49.32   |         |         |          |

### 2.2.3 加标回收率

按照1.2配制2个氟啶虫胺胍制剂(22% SC、50% WG)的试样溶液各2组(每组各6个),分别加入定量的标准品进行加标回收试验,按1.3中的色谱条件进行测定,结果见表5,该方法的平均回收率为100.2%~102.7%。

表5 样品加标回收率和相对标准偏差 (n=6)

| 样品          | 样品中组分<br>含量 /mg | 添加组分<br>含量 /mg | 平均回收<br>率 /% | 相对标准<br>偏差 /% |
|-------------|-----------------|----------------|--------------|---------------|
| 22%氟啶虫胺胍 SC | 2.805           | 7.687          | 100.9        | 0.134         |
|             | 3.072           | 5.941          | 102.7        | 0.142         |
| 50%氟啶虫胺胍 WG | 2.548           | 7.687          | 100.2        | 0.126         |
|             | 7.821           | 2.969          | 101.4        | 0.242         |

## 3 结论

本文通过对高效液相色谱分析条件如检测波长、保留时间、色谱柱、流动相组成等进行了选择与优化,建立了22%氟啶虫胺胍SC和50%氟啶虫胺胍WG的高效液相色谱分析方法,并进行了方法验证。结果表明:该方法的准确度和精密性很高,在称量范围内呈现良好的线性关系;具有分析快速、准确、分离效果好的优点,适用于氟啶虫胺胍原药和制剂的日常含量的定量检测。

## 参考文献:

- [1] 石小丽. 2010年世界农药会议新品种——氟啶虫胺胍[J]. 农药研究与应用, 2010(6): 42-43.
- [2] 于福强, 黄耀师, 苏州, 等. 新颖杀虫剂氟啶虫胺胍 [J]. 农药, 2013, 52(10): 753-755.
- [3] RASOULPOUR R J, ELLIS-HUTCHINGS R G, TERRY C, *et al.* A Novel Mode-of-action Mediated by the Fetal Muscle Nicotinic Acetylcholine Receptor Resulting in Developmental Toxicity in Rats[J]. Toxicological Sciences, 2012, 127(2): 522-534.
- [4] 林仁魁, 邹华娇, 吴德飞. 氟啶虫胺胍对褐飞虱的田间防治效果[J]. 农药, 2012, 51(8): 619-620.
- [5] 崔元英. 50%氟啶虫胺胍WDG对棉花盲蝽蟥和烟粉虱的防治效果研究[J]. 农业灾害研究, 2012, 2(2): 14-16.
- [6] BABCOCK J M, GERWICK C B, HUANG J X, *et al.* Biological Characterization of Sulfoxaflor, A Novel Insecticide [J]. Pest Management Science, 2011, 67(3): 328-334.
- [7] ZHU Yuan-ming, LOSO M R, WATSON G B, *et al.* Discovery and Characterization of Sulfoxaflor, A Novel Insecticide Targeting Sap-feeding Pests[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(7): 2950-2957.
- [8] 秦旭, 徐应明, 孙杨, 等. 氟啶虫胺胍在棉花和土壤中的检测方法 与残留动态研究 [J]. 农业资源与环境学报, 2014, 31(4): 381-387.
- [9] 黄庆, 欧晓明, 陈力华, 等. 气相色谱法测定柑橘和土壤中氟啶虫胺胍的残留量[J]. 光谱实验室, 2013, 30(2): 985-990.

责任编辑:李新

(上接第 511 页)

- [10] 朱福送, 杨秀全, 白亮, 等. 醇醚糖苷在农药微乳液中的应用[J]. 农药, 2011, 50(6): 417-419.
- [11] ROSANO H L, CLAUSSE M. Microemulsion Systems [M]. New York: CRC Press, 1987: 19-21.
- [12] 陆杨燕, 夏强, 夏勇, 等. 载药微乳液相行为的研究[J]. 物理化学学报, 2005, 21(1): 98-101.
- [13] 黄啟良, 张文吉, 折东梅, 等. 高效氯氟菊酯微乳化分散体系的电导性质[J]. 农药, 2006, 45(8): 522-524.
- [14] 张子勇, 翟溯航, 王金慧. 高效氯氟菊酯微乳剂的制备及其液径尺寸[J]. 农药, 2012, 51(5): 351-354.
- [15] PONS R, CARRERA I, CAELLES J, *et al.* Formation and Properties of Miniemulsions Formed by Microemulsions Dilution[J]. Adv Colloid Interface Sci, 2003, 106(1): 129-146.
- [16] SOL I, SOLANS C, MAESTRO A, *et al.* Study of Nano-Emulsion Formation by Dilution of Microemulsions [J]. J Colloid Interf Sci, 2012, 376(1): 133-139.
- [17] ROGER K, CABANE B, OLSSON U. Emulsification through Surfactant Hydration: The PIC Process Revisited [J]. Langmuir, 2010, 27(2): 604-611.
- [18] EASTOE J, DALTON J S. Dynamic Surface Tension and Adsorption Mechanisms of Surfactants at the Air-water Interface[J]. Adv Colloid Interface Sci, 2000, 85(2): 103-144.
- [19] RADULOVIC J, SEFIANE K, SHANAHAN M E. Dynamics of Trisiloxane Wetting: Effects of Diffusion and Surface Hydrophobicity[J]. J Phys Chem C, 2010, 114(32): 13620-13629.
- [20] 张龙, 李佳佳, 刘天晴. 水基型氯氟菊酯微乳剂的稳定性及润湿展布性研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(30): 227-232.

责任编辑:李新

## 孟山都称若先正达收购案告吹 拜耳农化业务可成为其下一个选择

在孟山都向先正达提出 450 亿美元的收购意向之后,历经 3 个月,这家美国种子巨头公司已经在考虑如果先正达坚持拒绝此项交易后的其他选择。近日,孟山都 COO Brett Begemann 在一次电话采访中表示,如果先正达收购案告吹,孟山都将接洽德国拜耳公司商谈收购其植保业务。虽然孟山都正在想法设法收购先正达,但其表示公司不会永远停留在这一步。

Begemann 说,“在化学领域我们也有其他选择。我们并不清楚拜耳对其植保业务的规划,也不了解他们是否会出售这块业务,但是我很肯定他们会很乐意商谈类似的计划。”

此前孟山都与先正达的谈判争论正处于不断升级的阶段,Begemann 的此番言论也意欲将这家瑞士巨头重新拉回到谈判桌上来。先正达董事长 Michel Demare 曾指出孟山都的报价过于简单化,并且不太可能会被当局批准。除了 Roundup 除草剂以外,孟山都希望能拥有更多的专利化学物质,与新开发的转基因种子配套,从而使种子的潜力发挥到最大,也能更迅速地进入市场。先正达是全球最大的农药生产商,拜耳位居第二。