

分析测试

高效液相色谱法测定百菌清

林兴发, 陈国雄, 魏苗, 黎薇薇

(广东省化学工业公共实验室 广东省石油化工研究院, 广东 广州 510665)

[摘要]文章建立了百菌清高效液相分析方法。实验结果表明, 该方法测定百菌清在 158.40~792.00 $\mu\text{g/mL}$ 范围内有良好的线性关系, 相关系数 $R^2=0.9997$, 最小检测限为 2.01×10^{-10} g, 相对标准偏差为 0.054 %, 加标回收率在 99.0 %~99.8 %之间, 平均回收率为 99.3 %。本方法使用 C18 SB 反相柱, 以甲醇/二氧六环(98/2, V/V)为流动相, 在检测波长 250 nm 下进行定量分析。

[关键词]百菌清; 高效液相色谱法; 溶解度

[中图分类号]O65

[文献标识码]A

[文章编号]1007-1865(2012)11-0184-02

HPLC Analysis of Chlorothalonil

Lin Xingfa, Chen Guoxiong, Wei Miao, Li Weiwei

(Guangdong Publish Laboratory of Chemical Engineering, Guangdong Research Institute of Petrochemical Industry, Guangzhou 510665, China)

Abstract: The paper set up a HPLC method for analyzing chlorothalonil. As the results showed, the linear regression coefficient of the method was 0.9997 and the limits of the detection were 2.01×10^{-10} g. The relative standard deviation was 0.054 %. The recoveries were in the range of 99.0 %~99.8 %, and the average recovery was 99.3 %. The quantitative method was conducted by using C18 SB reversed-phase column. The mobile phase was methanol/1,4-Dioxane(98/2, V/V), and it was detected at 250 nm with VWD.

Keywords: chlorothalonil; HPLC; solubility

百菌清是一种广谱、低毒的保护性杀菌剂, 对多种作物真菌病害具有预防作用。鉴于百菌清的高效性、低毒性和广谱杀菌性, 百菌清在我国得到广泛使用, 所以百菌清在我国农业生产中起重要作用。我国对百菌清绝大多数剂型产品制定了国家标准, 包括可湿性粉剂、悬浮剂、烟粉剂和烟片剂, 但各种剂型检测方法仍采用气相色谱法^[1-5]进行检测, 这是由于百菌清在常用液相色谱分析的试剂(如甲醇、乙腈、水等)中溶解度较小, 而可溶于常用于作为气相色谱分析的溶剂如丙酮(20 g/L, 25 $^{\circ}\text{C}$)^[1]、二甲苯(80 g/L, 25 $^{\circ}\text{C}$)^[1]等。由于剂型配方和产品配方不同, 少数产品剂型中的微乳剂等助剂和产品中的杂质组分, 会对气相色谱分析造成干扰, 造成色谱衬管污染或是目标峰与杂质峰重合无法分离, 导致检测结果不准确或方法不适用。因此, 建立百菌清的液相色谱法作为国标方法的补充是十分有必要的。

1 实验部分

1.1 方法提要

文章采用 50 % 百菌清可湿性粉剂作为试验样品, 试样用 1,4-二氧六环溶解, 以甲醇和二氧六环为流动相, 使用 ODS C18 柱和紫外检测器, 对试样中百菌清进行高效液相色谱分离和测定, 外标法定量。

1.2 仪器与试剂

仪器: 安捷伦 Agilent1100 高效液相色谱仪, 具有可变波长紫外检测器 VWD, 在线脱气机, 自动进样器 7683B, 四元梯度泵及 Agilent 化学工作站;

色谱柱: Agilent Eclipse SB C18 柱(4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μm)。

电子连续移液器: 德国 Brand handystep。

试剂: 甲醇(色谱纯, burdick&Jackson 公司), 1,4-二氧六环(分析纯, 天津市大茂化学试剂厂)。

百菌清标准物质(纯度 99.1 %, 国家农药质检中心), 50 % 百菌清可湿性粉剂(广州市农药厂从化分厂)。

1.3 色谱条件

色谱柱: Agilent Eclipse SB C18 柱(4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μm)。

流动相: 甲醇/二氧六环(98/2, V/V), 流速 1.0 mL/min, 检测波长为 250 nm, 柱温为室温, 进样量 5 μL , 在此条件下, 百菌清保留时间约为 2.4 min, 色谱图见图 1、2。

1.4 测定步骤

1.4.1 标准溶液配制

称取百菌清标准品约 0.1 g(准确至 0.0001 g), 置于 50 mL 容量瓶中, 用 5 mL 二氧六环溶解, 甲醇定容至 50 mL, 超声波振荡 15 min, 冷却至室温摇匀, 该溶液为百菌清标准物质储备液。用电子连续移液器移取 2 mL, 甲醇稀释定容至 25 mL, 摇匀备用。

1.4.2 样品溶液配制

称取供试样品约 0.2 g(准确至 0.0001 g), 置于 50 mL 容量瓶中, 用 5 mL 二氧六环溶解, 用甲醇定容至 50 mL, 超声振荡 15 min, 取出静置至室温, 用电子连续移液器移取 2 mL, 甲醇稀释定容至 25 mL, 摇匀, 用 0.45 μm 孔径有机系滤膜过滤, 备用。

1.4.3 测定

在上述操作条件下, 待仪器基线稳定后, 连续注入数针标样溶液, 直至相邻两针百菌清峰面积相对变化均小于 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。

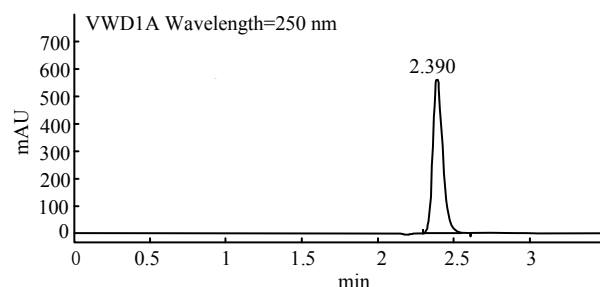


图1 百菌清标准品色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram of Chlorothalonil

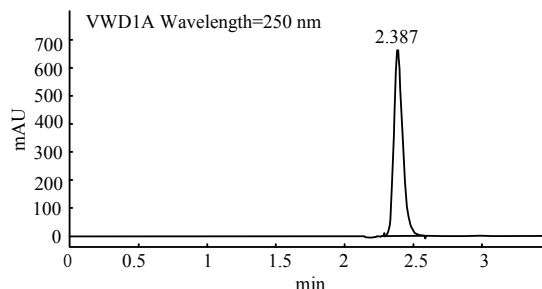


图2 百菌清可湿性粉剂试样高效液相色谱图

Fig.2 HPLC chromatogram of Chlorothalonil

1.4.4 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对应的

[收稿日期] 2012-05-20

[作者简介] 林兴发(1979-), 男, 福建柘荣人, 工程师, 主要研究方向为农药分析方法。

百菌清峰面积分别进行平均。试样中百菌清的质量分数 X 按式(1)进行计算:

$$x = \frac{A_2}{A_1} \times \frac{m_1}{m_2} \times p \times n \quad (1)$$

A_1 —两针标样溶液中百菌清峰面积的平均值; A_2 —两针试样溶液中百菌清峰面积的平均值; m_1 —百菌清标准物质质量, g; m_2 —试样的质量, g; P —百菌清标准物质纯度, %; n —稀释倍数, 文章中为1。

2 结果与讨论

2.1 溶剂的选择原则和确定

溶剂选择的原则一是溶剂本身的紫外截止波长应比较小, 有利于降低基线噪声和漂移, 可减小对百菌清分析的干扰影响; 二是百菌清在溶剂中应有足够的溶解度, 不至于在测定中析出, 影响分析结果; 三是溶剂应为较常见的试剂且价格便宜; 四是纯度要分析纯以上, 不对分析构成干扰。

按以上原则排除紫外截止波长为 330 nm 的丙酮和 290 nm 的二甲苯, 由于百菌清难溶于水(6×10^{-4} g/L, 25 °C), 不考虑水溶液或盐溶液作为流动相, 选择甲醇、乙腈、1,4-二氧六环、乙酸进行溶解度试验。

经试验, 1,4-二氧六环溶解百菌清约 34 g/L, 甲醇约 7.4 g/L, 百菌清在超声振荡下可溶于乙腈、乙酸。考虑到百菌清的性质和分析方法的成本与适用性, 选择 1,4-二氧六环为溶剂。

2.2 流动相和检测波长的确定

由于百菌清极性较弱且在甲醇中溶解度不大, 为保证百菌清的溶解又能较快洗脱, 选择甲醇和二氧六环混合液作为洗脱溶剂, 考虑到实际样品中杂质的分离和分析时间, 确定流动相组成为甲醇/1,4-二氧六环(98/2, V/V)。

为提高灵敏度, 探索最佳检测波长, 对流动相和百菌清进行紫外全波段(190~400 nm)扫描, 见图 3、4, 从图中看出, 在 235 nm 波长下百菌清有最大吸收, 在 250 nm 波长下百菌清有较大吸收, 为了排除流动相以及样品中其他杂质的干扰, 通过多次试验选定检测波长为 250 nm。

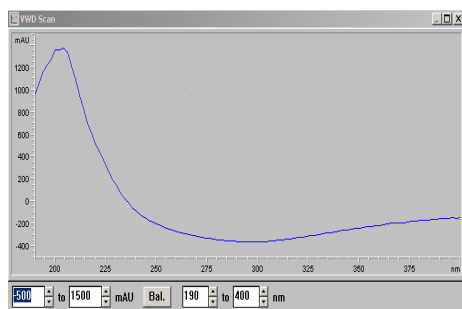


图 3 流动相空白紫外扫描图

Fig.3 UV scan absorption spectrum of the mobile phase

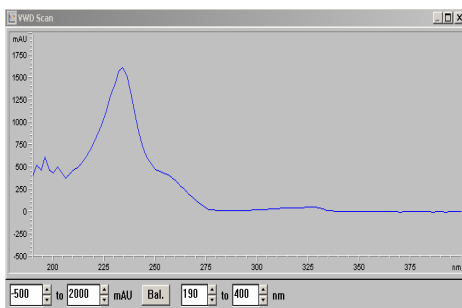


图 4 百菌清紫外扫描图

Fig.4 UV scan absorption spectrum of Chlorothalonil

2.3 最小检出限的确定

以 3 倍信噪比确定百菌清最小检出限, 该方法的最小检出限为 2.01×10^{-10} g, 表明该方法灵敏度高, 满足检测要求。

2.4 工作曲线以及线性关系的确定

取 1.4.1 中配制的百菌清标准物质储备液, 用电子连续移液器分别移取 2 mL、4 mL、6 mL、8 mL、10 mL 储备液于 5 个 25 mL 容量瓶中, 分别加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 配成 5 份标准溶液连

同未稀释标准溶液按照上述检测方法进行测定, 以测得峰面积为纵坐标, 浓度($\mu\text{g/mL}$)为横坐标做工作曲线, 得到回归方程分别为: $y=15.676x+38.098$, 相关系数为 $R^2=0.9997$ 。结果表明: 百菌清在 158.40~792.01 $\mu\text{g/mL}$ 范围内有良好的线性关系, 线性范围较宽, 见图 5。

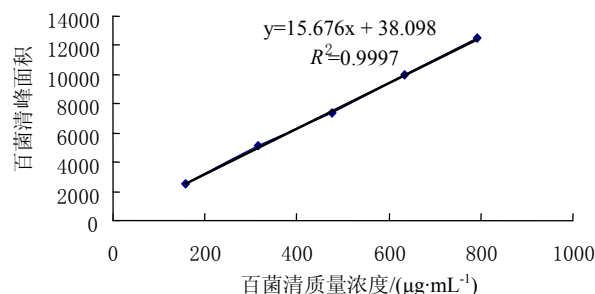


图 5 百菌清标准品线性图

Fig.5 The linear

2.5 精密度试验

对 158.40 $\mu\text{g/mL}$ 的百菌清标准溶液按方法重复测定 6 次(见表 1), 结果得出该方法的相对标准偏差为 0.054 %, 表明其精密度良好。

表 1 精密度试验结果

Tab.1 Precisions test

序号	峰面积	平均值	标准偏差	相对标准偏差/%
1	2499.21	2499.38	1.34	0.054
2	2500.56			
3	2500.92			
4	2498.27			
5	2497.45			
6	2499.84			

2.6 准确度试验

在已测定含量的样品中分别加入按 1.4.1 配制的百菌清标准溶液储备液 2 mL、4 mL、6 mL、8 mL、10 mL, 在上述色谱条件下测定含量, 计算加标回收率(见表 2), 测得在此条件下的分别回收率在 99.0 %~99.8 %之间, 平均回收率分别为 99.3 %, 相对标准偏差为 0.31 %。

表 2 回收率试验结果

Tab.2 Precisions test

序号	添加量/ μg	实测量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	相对标准偏差/%
1	158.4	158.1	99.8	99.3	0.31
2	316.8	314.6	99.3		
3	475.2	471.7	99.3		
4	633.6	627.4	99.0		
5	792.0	784.5	99.1		

2.7 本方法与国标方法^[1]的对比

使用 Agilent6890n, 配备 0.32 mm $\times$ 30 m, HP-5 柱对样品进行测定, 进样口温度 230 °C, 柱温 195 °C, 检测器温度 280 °C, 载气流量 2.5 mL/min, 进样量 1 μL , 内标法定量, 选邻二苯基苯为内标物, 检测平均结果为 50.4 %, 采用反相液相色谱方法测定平均结果为 50.2 %, 相对偏差为 0.40 %, 说明方法的等效性良好。

3 结论

文章提出的百菌清反相高效液相色谱法, 克服了气相色谱测定时百菌清产品助剂或杂质的干扰, 在百菌清的特征波长下对百菌清进行分析测定, 减小杂质作用的风险。该方法灵敏度高, 线性范围较宽, 有较高的准确度和精密度, 操作简便, 适用于百菌

(下转第 189 页)

当采用 ZLC 技术测定晶内扩散系数时, 为了满足 ZLC 技术的基本假设, 在实验上应尽量做到: 减少吸附剂用量; 降低吸附质浓度; 加大载气流量。另外, 通过减少样品池和管路的死体积来减少由此而引起的测定误差, 从而得到可靠的实验结果。

2.3 ZLC 理论模型

ZLC 的理论方程为^[2]

$$\frac{C}{C_0} = 2L \sum_{n=1}^{\infty} \frac{\exp(-\beta_n^2 \frac{D}{R^2} t)}{\beta_n^2 + L(L-1)}$$

其中: β_n 为 $\beta_n \cot \beta_n + L - 1 = 0$ 的根, $L = \frac{FR^2}{3V_s KD}$,

C 为被脱附吸附质在载气 He 中的浓度, D 为扩散系数, F 为载气流量, R 为分子筛晶粒特性扩散距离, K 为吸附平衡常数, V_s 为分子筛晶粒在样品池中的填充体积。

在脱附的中后期 (t 较大时), 上式可以近似为:

$$\ln \frac{C}{C_0} = \ln \frac{2L}{\beta_1^2 + L(L-1)} - \beta_1^2 \frac{D}{R^2} t$$

通过 $\ln(C/C_0) \sim t$ 关系的斜率求得特性扩散参数 D/R^2 , 这一方法称为长时间方法(LT)。在脱附的初期 (t 较小时), 上式可以近似为:

$$\frac{C}{C_0} = \left(\frac{R^2}{\pi L^2 D} \right)^{1/2} \frac{1}{\sqrt{t}} - \frac{1}{L}$$

通过 $C/C_0 \sim 1/t^{1/2}$ 关系的斜率求得特性扩散参数 D/R^2 , 这一方法称为短时间方法(ST)。

对于测定晶内扩散系数的 ZLC 技术, 简化模型的 ST 法得到的扩散系数值偏大, LT 法偏小。基于此, 韩明汉等^[3]提出了全程法(FR), 利用该法可减小 LT 法和 ST 法带来的误差。

扩散系数与温度的关系可以用 Arrhenius 方程描述:

$$D(T) = D_0 \exp\left(-\frac{E_a}{R_g T}\right)$$

2.4 ZLC 技术测定沸石分子筛晶内扩散系数

Eiç 和 Ruthven 等^[4-8]用 ZLC 技术对烷烃及芳烃在 Silicalite-1、NaX、5A 等沸石分子筛上的扩散做了一系列研究, 证明通过改变晶体尺寸和载气流速, ZLC 技术是测定沸石分子筛晶内扩散系数的有效手段。Hufton 等^[9]用 ZLC 技术研究了丙烷、正丁烷和异丁烷在沸石 Silicalite-1 中的扩散, 分别通过长时间法和短时间法计算得到晶内扩散系数, 并将该结果与其它方法测定值进行了比较, 发现通过短时间法得到的沸石晶体中的表观扩散系数值和频率响应法的结果接近, 但比 PFG-NMR 和 QENS 实验得到的扩散系数值低一个数量级, 而比膜池法得到的扩散系数值要大。

近年来, 研究者们开始尝试将 ZLC 技术应用于研究探针分子在微孔-介孔沸石分子筛中的扩散性能。Vinh-Thang 等^[10]用 ZLC 技术研究了微孔-介孔复合沸石分子筛 UL-MFI 材料(该材料是由 Laval University 的 Trong-On 等合成, 故命名 UL-MFI)中酸性位数量对正庚烷和甲苯在其中扩散的影响, 发现两种吸附质分子在 Na 型 UL-MFI 材料中的有效扩散系数高于在 H 型 UL-MFI 材料中的有效扩散系数, 作者认为这是由于 H 型 UL-MFI 材料中微孔体积较大、酸性位较多, 而导致吸附质分子和酸性位相互作用增强的缘故。此外, 他们^[11]用 ZLC 技术研究了正庚烷、异丙基苯和 1,3,5-三甲基苯在具有微孔-介孔结构的 SBA-15 中的扩散, 发现随着微孔率的降低, 吸附质分子的扩散系数增大, 活化能降低; 异丙基

苯和 1,3,5-三甲基苯在 SBA-15 中的扩散系数比传统微孔沸石分子筛(如 ZSM-5)的要大, 同时作者认为吸附质分子通过分子筛墙孔结构时受到微孔限制。Huang 等^[12]用 ZLC 技术表征了介孔材料的扩散孔道, 发现 SBA-15、SBA-16 和 MCM-48 样品的扩散孔道为三维的, 而微孔 SSZ-42 样品的扩散孔道是一维的。该技术对微孔及介孔材料中扩散孔道的分析被认为是快速有效且相对廉价的方法。

最近, 我们采用利用 ZLC 技术研究了苯分子在 Silicalite-1、H-ZSM-5 和 Fe-ZSM-5 三种沸石晶体内的扩散行为, 并根据长时间法计算出了晶内扩散系数。结果表明, 分子筛骨架外阳离子 H^+ 物种和铁物种对苯分子在沸石晶内的扩散有阻碍作用。

3 ZLC 技术应用展望

从上世纪 80 年代 ZLC 技术诞生到现在, ZLC 技术主要被用来研究烃类分子在微孔沸石分子筛中的扩散行为, 而研究烃类分子在微孔-介孔沸石分子筛及新型金属有机骨架材料(MOFs)中的扩散行为的研究报道还较少。因此, 研究者可以尝试使用适当的数学模型, 用 ZLC 技术研究烃类分子在微孔-介孔沸石分子筛及 MOFs 材料中的扩散行为, 以拓展 ZLC 技术应用范围。

参考文献

- [1]Doğu T. Diffusion and reaction in catalyst pellets with bidisperse pore size distribution[J]. Ind Eng Chem Res, 1998, 37: 2158-2171.
- [2]Crank J. The mathematics of diffusion[M]. London: Oxford University Press, 1975.
- [3]韩明汉, 尹秀艳, 金涌, 等. 改进的 ZLC 数据处理法——计算芳烃在 ZSM-5 晶内扩散系数[J]. 化工学报, 2000, 51: 126-129.
- [4]Eiç M, Ruthven D M. A new experimental technique for measurement of intracrystalline diffusivity[J]. Zeolites, 1988, 8: 40-45.
- [5]Eiç M, Ruthven D M. Intracrystalline diffusion of linear paraffins and benzene in silicalite studied by the ZLC method[J]. Stud Surf Sci Catal, 1989, 49: 897-905.
- [6]Ruthven D M, Eiç M, Richard E. Diffusion of C_8 aromatic hydrocarbons in silicalite[J]. Zeolites, 1991, 11: 647-653.
- [7]Eiç M, Goddard M, Ruthven D M. Diffusion of benzene in NaX and natural faujasite[J]. Zeolites, 1988, 8: 327-331.
- [8]Eiç M, Ruthven D M. Diffusion of linear paraffins and cyclohexane in NaX and 5A zeolite crystals[J]. Zeolites, 1988, 8: 472-479.
- [9]Hufton J R, Ruthven D M. Diffusion of light alkanes in silicalite studied by the zero length column method[J]. Ind Eng Chem Res, 1993, 32: 2379-2386.
- [10]Vinh-Thang H, Huang Q L, Ungureanu A, et al. Effect of the acid properties on the diffusion of C_7 hydrocarbons in UL-ZSM-5 materials[J]. Micropor Mesopor Mater, 2006, 92: 117-128.
- [11]Vinh-Thang H, Huang Q L, Eiç M, et al. Chemistry and materials science: Fluid transport in nanoporous materials: NATO science series: Effect of the intrawall microporosity on the diffusion characterization of bi-porous SBA-15 materials[M]. Amsterdam: IOS Press, 2006, 219: 591-602.
- [12]Huang Q L, Eiç M, Xiao H N, et al. Characterization of the diffusion path in micro-and meso-porous materials from ZLC analysis[J]. Adsorption, 2010, 16: 531-539.

(本文文献格式: 周伟赣, 张富民, 钟依均, 等. ZLC 技术测定沸石晶内扩散系数研究进展[J]. 广东化工, 2012, 39(11): 188-189)

(上接第185页)

清洁生产 and 质量检测等领域, 该方法可在认可的情况下作为标准方法的补充之一。

参考文献

- [1]国家质量技术监督局. 百菌清原药[S]. 中华人民共和国, 1999.
- [2]国家质量技术监督局. 百菌清可湿性粉剂[S]. 中华人民共和国, 1999.

- [3]国家质量技术监督局. 百菌清悬浮剂[S]. 中华人民共和国, 2000.
- [4]国家质量技术监督局. 百菌清烟粉剂[S]. 中华人民共和国, 2000.
- [5]国家质量技术监督局. 10%百菌清烟片剂[S]. 中华人民共和国, 2000.

(本文文献格式: 林兴发, 陈国雄, 魏苗, 等. 高效液相色谱法测定百菌清[J]. 广东化工, 2012, 39(11): 184-185)