

# 咪鲜胺·抑霉唑混配制剂的反相离子对液相色谱分析

姜军侠<sup>1</sup>, 雷琪<sup>1</sup>, 刘伟<sup>1</sup>, 宋喜峰<sup>1</sup>, 刘琪<sup>2</sup>

(1. 陕西省农药管理检定所; 陕西 西安 710003;

2. 西北大学化学系, 陕西 西安 710003)

## Quantitative Analysis of Mixture of Prochloraz and Imazalil by Reversed Phase Ion Pair High Performance Liquid Chromatography.

Jiang Junxia, Lei Qi, Liu Wei, Song Xifeng (Institute for the Control of Agrochemicals, Shanxi Province, Xian 710003)

Liu Qi (North West University, Xian 710003)

**Abstract:** A reversed phase ion pair high performance liquid chromatography (RP-HPLC) method with gradient elution and external standard was proposed for the simultaneous determination of prochloraz and imazalil in the mixture. A C<sub>18</sub> column and a binary mobile phase of methanol and heptane sulfonic acid sodium were used with flow rate of 1.5mL/min. A photo diode array detector was used with 220nm. The results showed that the standard deviations were 0.024 and 0.065; the coefficient of variation were 1.13% and 0.53%; the linear correlations were 0.999 4 and 0.999 5; the average recoveries were 99.4% and 100.1% respectively.

**Keywords:** prochloraz; imazalil; RP-HPLC

**摘要:** 本文采用反相离子对色谱梯度洗脱外标法对咪鲜胺·抑霉唑乳油的 2 种有效成分进行一次定量检测, 采用 C<sub>18</sub> 色谱柱, 以 0.012mol/L 庚烷磺酸钠 (pH=2.5) + 甲醇=30+70; 20+80 为流动相, 流速 1.5mL/min, 二极管阵列检测器, 检测波长: 220nm。该方法中咪鲜胺和抑霉唑的标准偏差分别为 0.065 和 0.024, 变异系数分别为 0.53% 和 1.13%, 线性相关系数分别为 0.999 4 和 0.999 5, 平均回收率分别为 99.4%、100.1%。

**关键词:** 咪鲜胺; 抑霉唑; 反相离子对液相色谱

中图分类号: S482.1; O657.7\*2 文献标识码: A 文章编号: 1002-5480(2005)02-0008-04

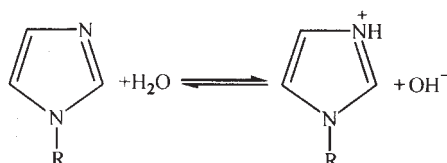
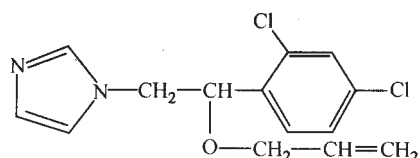
咪鲜胺 (prochloraz) 是一种咪唑类广谱性杀菌剂, 对于子囊菌及半知菌引起的各种作物病害有特效; 抑霉唑是内吸性广谱杀菌剂, 该药影响细胞膜的渗透性、生理功能和脂类合成代谢, 从而破坏霉菌的细胞膜, 同时抑制霉菌孢子的形成。咪鲜·抑霉乳油, 用

于防治柑橘青、绿霉病、酸腐病和蒂腐病。

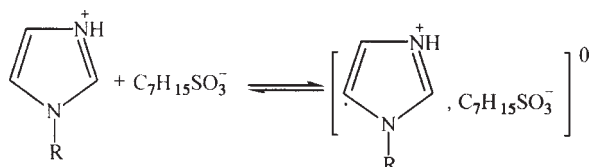
抑霉唑 (imazalil) 属较强的电解质, 采用常规 HPLC 在柱上保留值很小且拖尾, 故向流动相体系中加入一种带有与被分析离子相反电荷的所谓离子对试剂, 使其生成中性络合物, 此络合物便可在非极性的固定相表面

收稿日期: 2004-11-08

疏水缔合而被保留。由于抑霉唑在水溶液中极易离解成有机阳离子，故选用典型的离子对试剂庚烷磺酸钠。抑霉唑的结构式如下：



庚烷磺酸钠结合有机阳离子形成离子对，反应式如下：



一般认为溶质分子形成可逆离子对络合物（在两个相反电荷的离子间形成零电荷库仑络合物），分配进非极性固定相，而被其吸附。或者对离子通过其烷基部分与定位于表面的离子集团有相互作用，从而有能力参与离子对络合物的形成，通过洗脱液中相同电荷（正或负）的竞争离子推动样品离子通过色谱柱。用磷酸二氢钠-磷酸缓冲液控制 pH=2.5，能确保强碱和弱碱以质子形式存在，从而影响其保留；对离子烷基链越长，给定离子的保留就越强。对于碱性样品，可从戊烷磺酸钠盐至辛烷磺酸钠盐中选择。结合实际情况，本文选择的离子对试剂是庚烷磺酸钠。

目前国内单剂未制定行业标准，2组分同时测定的方法未见报道。作者通过反复实验，采用反相离子对梯度洗脱色谱分析方法，1次进样可同时测定2组分含量，快速、准确。

## 1 实验部分

1.1 仪器与试剂 美国安捷伦公司 HP1100 高效液相色谱仪，具四元梯度泵，真空脱气机，柱温箱，二极管阵列检测器，色谱工作站；西德沙多利斯 R200D 万分之一精密电子

天平；超声波清洗器。

甲醇：色谱纯；水：2次蒸馏水；磷酸：85%分析纯；磷酸二氢钠：99%分析纯；庚烷磺酸钠：分析纯；抑霉唑标准品：含量 99%（农业部农药检定所提供）；咪鲜胺标准品：含量 99%（农业部农药检定所提供）；14%咪鲜·抑霉乳油（由广东省珠海真绿色技术有限公司提供）；离子对溶液的配制：称 4.45g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  溶于 1000mL 2次蒸馏水中，滴加几滴 85%磷酸调 pH=2.5，摇匀，加入 20mL 0.6mol/L 的庚烷磺酸钠，超声波振荡 15min，用 0.45 $\mu\text{m}$  孔径滤膜过滤，备用。

1.2 色谱操作条件 色谱柱：250mm $\times$ 4.6mm (i.d.) 不锈钢色谱柱，内填  $\text{C}_{18}$  填料；流动相：甲醇+离子对溶液 (pH=2.5) =70+30 (V/V) 5.00min；=80+20 (V/V) 9.00min；流速：1.5mL/min；柱温：35 $^{\circ}\text{C}$ ；检测波长：220nm；进样体积：5 $\mu\text{L}$ 。

## 2 分析方法

2.1 标准溶液的配制 称取抑霉唑标准品 0.10g（精确至 0.2mg），置于 100mL 的容量瓶中，加入 40mL 甲醇，超声波振荡 15min，放置至室温用甲醇定容。准确移取上述抑霉唑母液 20mL，置于放有咪鲜胺标准品 0.10g（精确至 0.2mg）的 100mL 的容量瓶中，用甲醇定容，摇匀备用。

2.2 样品溶液的配制 称取样品约 0.9g（精确至 0.2mg）置于 100mL 容量瓶中，加入 40mL 甲醇，超声波振荡 15min，放置至室温后用甲醇定容。

2.3 进样分析 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，计算各针峰面积的重复性，待相邻两针的峰面积变化 $<1.0\%$ 时，按标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液的顺序进样分析。

2.4 计算 咪鲜胺（抑霉唑）的质量百分含量 X 按下式计算：

$$X = \frac{A_i \times M_s \times P}{A_s \times M_i \times K}$$

$M_s$ —咪鲜胺（抑霉唑）标样的质量，g；

$M_i$ —咪鲜胺（抑霉唑）混配制剂试样的质量，g；

$P$ —咪鲜胺（抑霉唑）标样的质量百分含量，%；

$A_s$ —咪鲜胺（抑霉唑）标样的峰面积；

$A_i$ —咪鲜胺（抑霉唑）混配制剂试样峰面积；

$K$ —稀释倍数，抑霉唑为 5，咪鲜胺为 1。

### 3 结果与讨论

3.1 检测波长的选择 利用二极管阵列检测器的紫外光谱扫描获得抑霉唑和咪鲜胺标样的紫外光谱图。从谱图上可看出，抑霉唑在 206~220nm 范围内均有较大吸收，咪鲜胺的最大吸收在 216nm 处，兼顾 2 种有效成分的响应值、基线噪音和杂质、溶剂的吸收值，故利用 DAD 检测器的单通道检测技术选取。紫外吸收光谱，最适检测波长为 220 nm（图 1）。

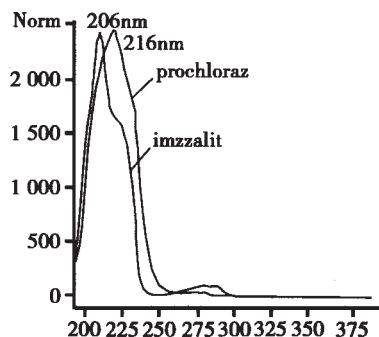


图 1 紫外吸收光谱图

3.2 流动相及色谱柱的选择 在分析过程中为了保证抑霉唑、咪鲜胺与其杂质完全分离，流动相的选择是关键。抑霉唑在水溶液中极易离解出有机阳离子，应使用烷基磺酸盐即考虑选用反相离子对色谱对其进行分离测定。经过反复实验，确定用 250mm×4.6mm (i.d.)  $C_{18}$  不锈钢色谱柱为色谱柱，庚烷磺酸钠为离子对试剂，当庚烷磺酸钠溶液浓度为 0.012mol/L，pH 为 2.5，柱温为 35℃，流速为 1.5mL/min，甲醇用量占 70%时，抑霉唑与咪鲜胺与其杂质分离完全，峰形对称；但咪鲜胺的保留时间太长，故进行梯度洗脱，甲醇用量占 70%时，保

留 5.00min，然后增大甲醇的比例，在 9.00min 内使甲醇在流动相的含量升高到 80%。在上述色谱条件下，抑霉唑保留时间约为 4.28min，咪鲜胺保留时间约为 10.49min。

3.3 色谱分离 在拟定的色谱条件下，得到咪鲜胺和抑霉唑的标准色谱图以及咪鲜·抑霉乳油样品的色谱图（图 2、3）。

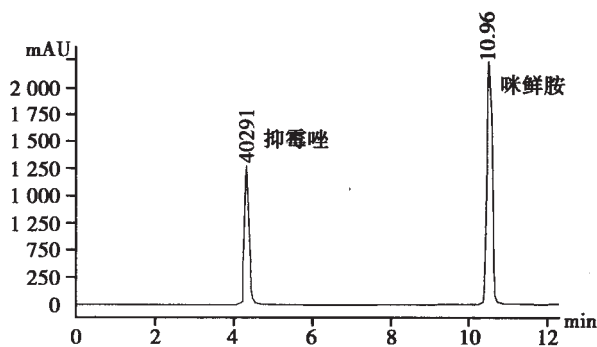


图 2 混合标样色谱图

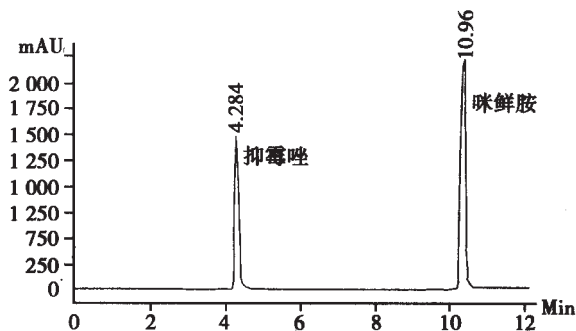


图 3 试样色谱图

3.4 分析方法的线性相关性测定 用抑霉唑和咪鲜胺标准品按上述标准溶液配制方法配制标准溶液 (mg/mL)：抑霉唑/咪鲜胺：0.2/1.0, 0.4/2.0, 0.6/3.0, 0.8/4.0, 1.0/5.0，在上述色谱条件下进样分析，以抑霉唑（咪鲜胺）标准溶液浓度为横坐标，抑霉唑（咪鲜胺）的峰面积为纵坐标，绘制工作曲线。

结果表明样品峰面积与浓度呈良好的线性关系，抑霉唑的回归方程为  $Y=5\ 930.9X+16.661$ ，相关系数为 0.999 5，咪鲜胺的回归方程为  $Y=4\ 052.8X+10\ 373$ ，相关系数为 0.999 4。实验中溶液的配制比例在方法的线性范围内（图 4、5）。

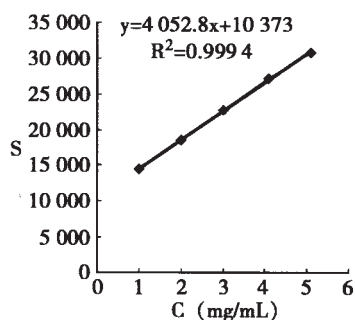


图4 咪鲜胺线性相关图

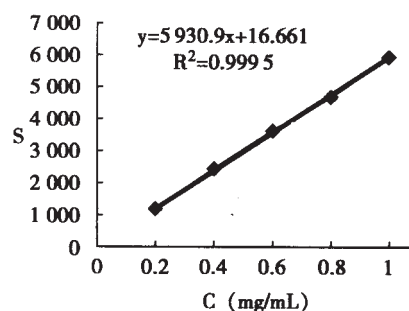


图5 抑霉唑线性相关图

3.5 方法精密度的测定 用14%咪鲜·抑霉乳油试样配制5个样品溶液按上述实验条件和操作步骤进行定量测定,每个样品平行测定2次,取其平均值,测定结果(表1)。

表1 方法精密度测定结果

序号	1	2	3	4	5	平均值	标准偏差	变异系数/%
咪鲜胺	2.13	2.15	2.12	2.09	2.10	2.12	0.024	1.13
抑霉唑	12.24	12.31	12.27	12.37	12.20	12.28	0.065	0.53

3.6 方法准确度的测定 在已知含量的样品中添加一定量的抑霉唑和咪鲜胺标准品,在上述色谱条件下测定,抑霉唑的平均回收率为100.1%,咪鲜胺的平均回收率为99.4%。测定结果(表2)。

表2 咪鲜胺和抑霉唑回收率的测定结果

序号	加入量(mg)		测得量(mg)		回收率/%	
	咪鲜胺	抑霉唑	咪鲜胺	抑霉唑	咪鲜胺	抑霉唑
1	13.12	10.57	12.97	10.61	98.86	100.38
2	17.69	13.01	17.71	12.98	100.11	99.77
3	21.43	14.09	21.32	14.16	99.49	100.50
4	28.68	15.42	28.59	15.45	99.82	100.19
5	29.72	18.76	29.41	18.73	98.96	99.84
平均					99.4	100.1

#### 4 结论

离子对色谱法克服了分离强极性、多离子化和强碱性的离子化或可离子化物质的困难。离子对色谱与常规反相HPLC或离子交换HPLC相比的优势是使离子和可电离化合物(尤其碱性或阳离子化合物)的样品分析简化。与传统离子交换不同,离子对色谱法能够分离同一样品的非离子化和离子化组分,且离子对色谱容易改变其保留规律来增大样品的分离度,应用于混配剂分析更容易选择合适条件对多种化合物洗脱。缺点是离子对溶液常常有腐蚀性,导致柱寿命缩短,某些离子在UV有吸收,故限制了UV检测器的使用。流动相

不能留在柱中过夜,而要用水取代。

试验结果表明,在上述色谱条件下,该混合制剂中抑霉唑和咪鲜胺可完全分离,线性关系良好,精密度与准确度较高,操作简单,是一种较为理想的分析方法。

#### 参考文献

- [1] [美] L.R.施奈德, J.L.格莱吉克, J.J.柯克兰, 著.王杰, 赵岚峰, 王树立, 丁杰, 译.实用高效液相色谱法的建立.科学出版社, 1998年第一版
- [2] 中国科学院长春应用化学研究所.分析化学.科学出版社, 第31卷, 第五期
- [3] [美] J.A.迪安, 主编.常文保, 等译校.分析化学手册.科学出版社, 2003年2月第一版