

• 研究简报 •

杀菌剂啉菌恶唑的高效液相色谱分析

韩平¹, 刘鹏飞¹, 司乃国², 刘西莉^{1*}

(1. 中国农业大学 植物病理学系, 北京 100094; 2. 沈阳化工研究院, 辽宁 沈阳 110021)

摘要:建立了一种用反相高效液相色谱测定啉菌恶唑的定量分析方法。采用 C₁₈ ODS 色谱柱, 以甲醇-水 (75:25 体积比) 作为流动相, 流速 1.0 mL/min, 检测波长 220 nm。啉菌恶唑色谱图显示两个吸收峰, 分别为两个同分异构体 Z 体和 E 体。在 400~700 μg/mL 浓度范围内, 标准溶液浓度和吸收峰面积之间有良好的线性关系, 回归方程为 $Y = 4\,846\,7X + 232\,85$, 相关系数 r 为 0.999 2。对原药溶液及其制剂溶液测定的重复性 S_R 分别为 0.004 0 和 0.004 7。该方法准确、精密, 适用于啉菌恶唑的定量分析。

关键词:啉菌恶唑; 高效液相色谱; 分析方法

中图分类号: O 657.72

文献标识码: A

文章编号: 1008-7303(2006)03-0288-03

Determination of Fungicide SYP-Z048 by High Performance Liquid Chromatograph

HAN Ping¹, LIU Peng-fei¹, SINAI-guo², LIU Xi-li^{1*}

(1. Department of Plant Pathology, China Agricultural University, Beijing 100094 China;

2. China Shenyang Research Institute of Chemical Industry, Shenyang 110021, China)

Abstract A method for quantitative analysis of fungicide SYP-Z048 [5-(4-chlorophenyl)-2,3-dimethyl-3-(pyridine-3-yl)-oxazoline] was developed by a reversed-phase highperformance liquid chromatograph. The chromatogram of SYP-Z048 showed two absorbance peak by a C₁₈ ODS column, which belonged to Z and E, respectively. The mobile phase consisted of methanol and water (V/V = 75:25) and the flow rate was 1 mL/min. The wavelength of detector was 220 nm. When concentration of standard solvent ranged from 400~700 μg/mL, there was good linear relationship between concentration of standard solvent and area of absorbed peak. The regression equation was $Y = 4\,846\,7X + 232\,85$ and the correlation coefficient of the standard curve was 0.999 2. The repeatability S_R of technical SYP-Z048 and its formulation were 0.004 0, 0.004 7, respectively. The method was proved to be accurate and precise to successfully measure the SYP-Z048.

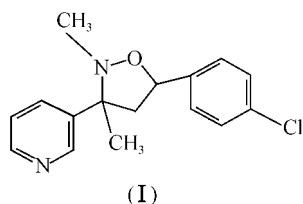
Key words SYP-Z048; high performance liquid chromatograph; analysis method

啉菌恶唑 (试验代号 SYP-Z048), 又名灰霉净, 化学名称为 5-(4-氯苯基)-2,3-二甲基-3-(吡啶-3-基)-异恶唑啉 (), 是沈阳化工研究院创制的一种结构新颖的新型杀菌剂^[1], 具有保护、治疗

及良好的内吸传导性, 对子囊菌、担子菌和半知菌亚门真菌引起的多种植物病害具有良好的防治作用, 对番茄灰霉病有特效^[1,2]。

收稿日期: 2005-10-21; 修回日期: 2006-07-18.

作者简介: 韩平 (1981-), 男, 硕士研究生, 从事杀菌剂药理学及病原菌抗药性方面的研究; * 通讯作者: 刘西莉 (1969-), 女, 副教授. 联系电话 (传真): 010-62731013. E-mail: seedling@cau.edu.cn



目前国内外尚未见有关其定量分析的报道。作者采用反相高效液相色谱, 用外标法^[3]测定了啉菌恶唑原药及其乳油中有效成分的含量。方法简便快捷且精密度高, 适用于啉菌恶唑的定量分析。

1 材料与方法

1.1 仪器与药剂

HP1100 高效液相色谱仪 (安捷伦公司), 包括: UV 200 紫外可变波长检测, P200 高压泵, Echrm 98 色谱数据处理工作站; KQ-250E 型医用超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。啉菌恶唑标样 (纯度 94.98%)、啉菌恶唑原药 (有效成分质量分数 84%) 和啉菌恶唑乳油 (有效成分质量分数 25%), 均由沈阳化工研究院创制并提供; 甲醇 (色谱纯)、水 (重蒸水)。

1.2 溶液的配制

分别称取啉菌恶唑标准品 0.0263 g、啉菌恶唑原药 0.0161 g、25% 啉菌恶唑乳油 0.0640 g (均精确至 0.0002 g), 各置于 25 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 摇匀, 放置备用。

1.3 高效液相色谱操作条件及分析方法

色谱柱: 250 mm × 4.6 mm (i.d.) 不锈钢色谱柱, VPO-DS C₁₈, 5 μm; 色谱柱: 150 mm × 4.6 mm (i.d.) 不锈钢色谱柱, Eclipse XDBC₈, 5 μm; 柱温: 室温。流速: 1.0 mL/min; 进样体积: 10 μL。流动相: 甲醇-水, 按照不同的比例混合, 经变换流动相得到适合的分度。全波长扫描确定 UV 检测波长。

待仪器系统平衡稳定后, 按照标样溶液、原药 (制剂) 溶液、标样溶液的顺序进行测定。

1.4 计算

按式 (1) 计算啉菌恶唑质量分数 X。

$$X(\%) = \frac{M_1 \cdot A_2 \cdot P}{M_2 \cdot A_1} \times 100 \quad (1)$$

式中: M_1 为啉菌恶唑标样的质量; M_2 为啉菌

恶唑原药或制剂的质量; A_1 为标样溶液中啉菌恶唑吸收峰面积的平均值; A_2 为样品溶液或制剂溶液中啉菌恶唑吸收峰面积的平均值; P 为标样中啉菌恶唑的质量分数 (%)。

2 结果与分析

2.1 检测波长的选择

图 1 为啉菌恶唑的全波长扫描图, 通过比较 220、230、240、250 nm 条件下啉菌恶唑标准品的吸收情况, 发现 220 nm 响应值高, 其他杂峰也较少, 故选择检测波长为 220 nm。因该化合物含有的 Z 式和 E 式两个异构体均有活性, 在检测波长为 220 nm 时, 两者具有相同的吸光系数, 因此啉菌恶唑的吸收峰面积为两个异构体的吸收峰面积之和。

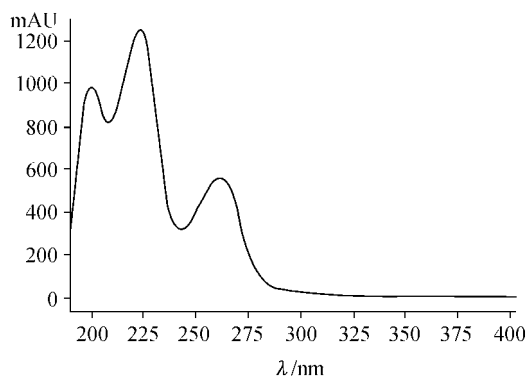


Fig. 1 Wavelength scanning over the range 190~400 nm

2.2 色谱测定条件

采用双柱法分析测定了啉菌恶唑原药和乳油样品, 为试验结果提供了分析特异性和无干扰性证明, 并选择色谱条件 A 作为高效液相色谱分析的核心方法。条件 A: 色谱柱在流动相为甲醇-水 = 75:25 (体积比)、流速为 1.0 mL/min, UV 检测波长为 220 nm 的条件下可得到良好的分离 [见图 2(a)]。条件 B: 色谱柱在流动相为甲醇-水 = 65:35 (体积比)、流速为 1.0 mL/min, UV 检测波长为 220 nm 的条件下可得到良好的分离 [见图 2(b)]。

2.3 线性相关性实验

配制浓度为 700、625、500、400 μg/mL 的啉菌恶唑标准溶液, 在条件 A 下进样测定, 以浓度为横坐标, 吸收峰面积为纵坐标建立标准曲线。结果表明, 在此浓度范围内, 啉菌恶唑标准溶液浓度和

吸收峰面积之间有良好的线性关系, 回归方程为 $Y = 4.8467x + 232.85$, 相关系数 r 为 0.9992。

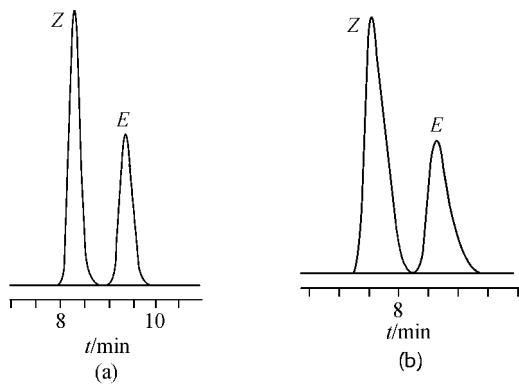


Fig. 2 The chromatogram of SYP-Z048 on column (a) and (b)

2.4 方法的准确度和精密度

溶液如表 1 所示, 在色谱条件 A 下, 将一定量的标样溶液加入空白样品中, 测定标样溶液的质量分数, 准确度为 99.33%。分别对原药及其乳油进行重复测定。原药质量分数分别为 84.96%, 85.18%, 85.73%; 乳油制剂的质量分数为 24.67%, 23.77%, 24.4%; 对原药溶液及其制剂乳油测定的重复性 S_R 分别为 0.0040 和 0.0047。

按照 CIPAC 对农药和制剂常量分析的要求, 在相同条件下对原药及其乳油制剂进行测定, 室内重复性 r 分别为 0.004、0.018; 在不同条件下对原药及其乳油进行测定, 室间再现性 R 分别为 0.047 和 0.005。

Table 1 The accuracy and precision of method A

Sample of SYP-Z048	Concentration(%)			Average (%)	S_R	RSD (%)
	1	2	3			
Technical material	84.96	85.18	85.73	85.29	0.0040	0.47
Formulation	24.67	23.77	24.40	24.28	0.0047	1.92

3 小结

采用反相高效液相色谱建立了啉菌恶唑的常量分析方法。通过对啉菌恶唑原药和制剂重复性 S_R 、室内重复性 r 、室间再现性 R 的方法学考察, 均符合 CIPAC 对农药和制剂常量分析的要求。同一样品的 3 次测定结果满足 $C_{max} - C_{min} \leq CD = 3.31 \times S_R$ 。同时, 两种色谱条件下对原药及其乳油进行测定, 其室间再现性 R 也为原药和制剂分析提供了无干扰证明。啉菌恶唑原药为 Z、E 异构体, 两者活性是否相同目前尚未见报道。此方法能够将 Z、E 异构体完全分开, 对于研究不同异构体的活性以及检测不同批次原药和制剂的质量具有一定的指导意义。

参考文献:

[1] SINai-guo(司乃国), ZHANG Zong-jian(张宗俭), LIU Jun-li (刘君丽), et al. 创制杀菌剂啉菌恶唑生物活性及应用研究 (I)——番茄灰霉病 [J]. Chin J Pestic (农药), 2004, 43(1): 16-18.

[2] LIU Jun-li(刘君丽), SINai-guo(司乃国), CHEN Liang(陈亮), et al. 创制杀菌剂啉菌恶唑生物活性及应用研究 ()——番茄叶霉病 [J]. Chin J Pestic (农药), 2004, 43(3): 103-105.

[3] LI Chong-jiu(李重九). Chromatography (色谱学) [M]. Beijing(北京): Beijing Agriculture Press(北京农业出版社), 1995.

(Ed. JIN SH)