

◆ 农药分析 ◆

# 用正相色谱法氰基键合柱定量分析 甲维·柴油油中的甲维盐

毕富春<sup>1</sup>, 吴国旭<sup>2</sup>

(1. 南开大学元素有机化学研究所, 天津 300071; 2. 天津渤海职业技术学院, 天津 300402)

**摘要:** 研究了用氰基键合相色谱柱定量分析甲维·柴油油中甲维盐 HPLC 的方法。本方法在 1.25 μg~20 μg 进样范围内呈线性, 相关系数值 (R) 为 0.9999。测得的回收率范围为 98%~100.5%, 变异系数小于 10%。

**关键词:** 甲维盐; 分析; 高效液相色谱法

中图分类号: TQ 450.7 文献标识码: A 文章编号: 1671-5284(2007)04-0047-03

## Quantitative Analysis of Emamectin Benzoate in the Formulation of Emamectin Benzoate-Diesel Oil by Normal Phase-Liquid Chromatography Using a CN Column

BI Fu-chun<sup>1</sup>, WU Guo-xu

(1. Institute of Elemental Organic Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071, China; 2. Tianjin Bohai College of Professional Technology, Tianjin 300402, China)

**Abstract:** A HPLC method for quantitative analysis of emamectin benzoate in the formulation of emamectin benzoate-diesel oil by Hypersil CN Column has been studied. This method was linear and reproducible over the range of 1.25 μg to 20 μg analyte. The linear correlation was 0.9999. The recoveries were ranged between 98% and 100.5%. The variation coefficient was less than 10%.

**Key words:** emamectin benzoate; analysis; HPLC

自我国开发甲氨基阿维菌素苯甲酸盐 (简称甲维盐) 以来<sup>[1]</sup>, 国内有关定量分析方法的报道都是用反相高效液相色谱法<sup>[2-3]</sup>。用正相高效液相色谱法分析时, 胡晓敏等指出, 用 V(二氯甲烷): V(甲醇)=95:5 作为流动相, 一次进样后, 基线稳定时间长。用反相高效液相色谱法分析柴油和甲维盐混配的制剂时, 柴油成分严重干扰甲维盐分析, 甲维盐的 b<sub>1b</sub> 峰和柴油的成分峰重叠, 甲维盐的 b<sub>1a</sub> 峰也不能和柴油的峰完全分开, 并且甲维盐 b<sub>1a</sub> 的峰前峰后都是杂质峰, 使得甲维盐的 b<sub>1a</sub> 峰定性也很困难, 因此反相高效液相色谱法很难用于该混剂中的甲维盐定量分析。作者用国产高效液相色谱仪、氰基键合相色谱柱对甲维盐进行正相高效液相色谱法定量分析研究, 结果表明, 本方法可以解决柴油成分对甲维盐的干扰,

定量分析低含量的甲维·柴油乳油。

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器和试剂

KLC 321 型高效液相色谱仪 (中国科学院上海原子核所科学仪器厂);

HP 3392 A 积分仪 (美国 HP 公司)。

99.52% 甲维盐标样, b<sub>1a</sub> 为 94.08%, b<sub>1b</sub> 为 5.44% (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH); 93.89% 甲维盐, b<sub>1a</sub> 为 90.33%, b<sub>1b</sub> 为 3.56%;

15.2% 甲维·柴油乳油 (含有 0.2% 甲维盐, 四川福达农用化工有限公司)。

无水甲醇、正己烷、无水乙醚 (分析纯)。

0 号柴油 (天津某加油站购买)。

收稿日期: 2006-12-05

作者简介: 毕富春 (1945—), 男, 北京市人, 高级工程师, 从事农药生物测定及农药分析研究。

## 1.2 色谱条件

色谱柱 25 cm×5 mm 不锈钢柱, 内填 Hypersil CN, 粒径 5 μm (大连依特利科学仪器有限公司); 检测波长 254 nm; 柱温: 室温; 流动相: V(正己烷): V(无水甲醇): V(无水乙醚)=88:7:5 及少量调正剂; 流速 2.0 mL/min; 量程 0.04 AUFS; 进样量 20 μL。在上述色谱条件下, 甲维盐保留时间约为 7.8 min。

## 2 测定步骤

### 2.1 标准曲线溶液的配制

称取甲维盐标样 125 mg (精确至 0.2 mg), 置于 25 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 此溶液为 A 液。从 A 液中分别吸取 6、4、2、1、0.5、0.25 mL 溶液于 6 个 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀备用。最终甲维盐系列标准溶液: 3、2、1、0.5、0.25、0.125 mg/mL。再从 0.125 mg/mL 溶液中吸 5 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 此溶液浓度为 0.0625 mg/mL。

### 2.2 标样溶液的配制

称取甲维盐标样 50 mg (精确至 0.2 mg), 置于 50 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀。从上述溶液中吸取 2 mL 溶液于 10 mL 容量瓶中, 加 2 mL 乙酸乙酯振荡溶解, 再用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 做标准液备用。

### 2.3 样品溶液的配制

称取含有 2 mg 甲维盐的甲维·柴乳油 (精确至 0.2 mg, 约 1 g), 于 10 mL 容量瓶中, 加 2 mL 乙酸乙酯振荡溶解, 再用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 做样品溶液备用。

### 2.4 测定

按上述色谱条件, 连进数针标样溶液, 待相邻两针的相对响应值变化 < 1.5% 时, 按照标样溶液、样品溶液、样品溶液、标样溶液的顺序进样测定。

### 2.5 计算

将测得的两针试样溶液以及其前后两针标样溶液中甲维盐峰面积分别进行平均。以质量分数表示甲维盐的含量  $W$  (%) 按式 (1) 计算:

$$W = \frac{A_{ims}P}{A_{smi}} \times 0.04 \quad (1)$$

式中:  $A_i$ ——试样溶液中甲维盐峰面积之和的平均值;  $m_s$ ——甲维盐标样质量, mg;  $P$ ——标样中甲维盐质量分数, %;  $A_s$ ——标样溶液中甲维盐峰面积之和的平均值;  $m_i$ ——试样的质量, mg; 0.04——标样溶液的稀释系数

## 3 结果分析

### 3.1 甲维盐分析的标准曲线

表 1 为甲维盐不同进样量和峰面积的数据, 以甲维盐峰面积为纵座标, 以进样量为横座标, 求出直线回归式:  $Y=0.065+0.127 X$ , 相关系数 ( $r$ ) 为 0.999 1; 说明当甲维盐进样量在 1.25 μg~60 μg 时与峰面积呈线性关系; 但从图 1 中看出, 当进样量增加到 60 μg 时, 该点已经较明显偏离直线下降, 说明该进样量已经达到极限, 不宜再提高。当甲维盐定量分析时, 进样量应在上述范围内中间选取, 最佳进样量为 2.5 μg~10 μg 之间。而图 2 为甲维盐进样量在 1.25 μg~20 μg 时的曲线, 5 个点都基本上在直线上, 相关系数 ( $r$ ) 也提高到 0.999 9。

表 1 甲维盐进样质量和峰面积

进样质量/μg	峰面积×10 <sup>7</sup>
1.25	0.172 21
2.5	0.335 06
5	0.679 75
10	1.393 90
20	2.734 20
30	3.946 70
40	5.048 60
60	6.973 50

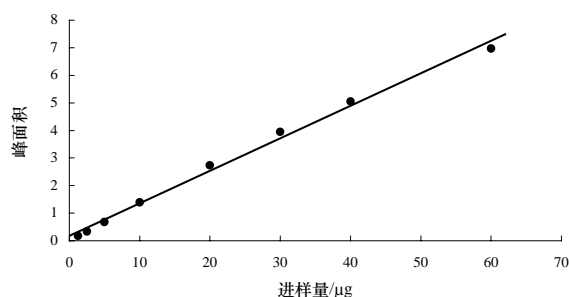


图 1 甲维盐分析的标准曲线

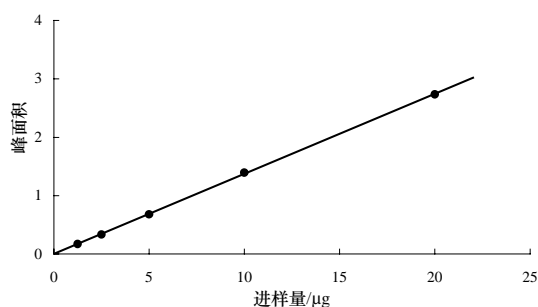


图 2 甲维盐分析的标准曲线 (5 数据点)

### 3.2 甲维盐分析的准确度和精密度

通过标准加入量法, 测定甲维盐的平均回收率为 99.33%, 回收率的范围为 98.0%~100.5%。说明

分析的方法准确度能满足分析的需要。

通过对千分之几的低含量甲维盐·柴油乳油分析,本方法的精密度较好,变异系数为4.94%,一般小于10%,可满足低含量甲维盐的定量分析。

#### 4 讨论

1) 从图3看,甲维盐成分中的 $b_{1a}$ 、 $b_{1b}$ 在文中的色谱条件下同时出峰,为单一色谱峰, $b_{1a}$ 、 $b_{1b}$ 是不能分离的,因此不推荐用本方法对甲维盐原药和其它剂型进行定量分析,本方法仅适用于生产甲维·柴油乳油的企业,作为监测产品质量的方法。其过程应该是:①对制剂用的原药进行反相高效液相色谱定量分析,求出甲维盐 $b_{1a}$ 、 $b_{1b}$ 的各自峰面积,以此求出甲维盐 $b_{1a}/b_{1b}$ 值;②用此原药的提纯品对制剂进行定量分析;③保留、标记每批原药的提纯品,并记录对应的制剂,以备对制剂等定量分析时用。应该特别指出:本方法不能应用于市场、质检部门的定量分析,除非生产厂家能够提供生产制剂时的原药提纯品。

2) 甲维盐属于大环内酯大分子化合物,在正相高效液相色谱中,用一般的少量极性溶剂是不能将其洗脱下来的。作者曾使用 $V(\text{石油醚}):V(\text{乙醇}):V(\text{甲醇})=80:15:5$ 为流动相,不能很好的将甲维盐洗脱出来;使用 $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{甲醇})=95:5$ 作为流动相时,出峰很快,但峰的保留时间太短,制剂中的杂质分离差,重复性也不好。此外作者还试验过石油醚、二氯甲烷和甲醇不同的配比作流动相,出峰也不好,只有使用氰基键合相色谱柱、正己烷与12%的甲醇和乙醚极性溶剂作流动相,甲维盐出峰保留时间适中(约8 min),峰形好,并且不受柴油成分峰的影响。

在正相氰基键合相的条件下,作者曾用不同极性的溶剂,如异丙醇、四氢呋喃、乙酸乙酯、乙腈等和正己烷的不同配比组合,均不能将甲维盐成分

中的 $b_{1a}$ 、 $b_{1b}$ 成分分离。因此,甲维盐成分中 $b_{1a}$ 、 $b_{1b}$ 成分分离,还应使用反相高效液相色谱法。

3) 在本文条件下,经作者测定,0号柴油的全部成分均在甲维盐出峰前出完(见图5),对甲维盐分析无影响。

4) 据胡晓敏等<sup>[2]</sup>紫外光谱扫描测定,甲维盐紫外吸收光谱最大在245 nm处,有条件应采用此检测波长,以提高检测灵敏度。

5) 在正相色谱HPLC的条件下,有时某些乳化剂的杂质峰也可能影响分析定量,所以必要时应对乳化剂进行分析,尽量减少其影响。

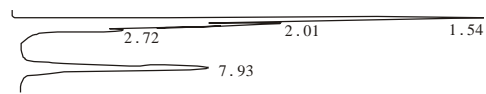


图3 甲维盐标样色谱图

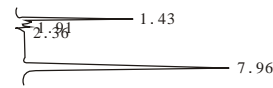


图4 甲维·柴油油色谱图



图5 0号柴油乳油色谱图

#### 参考文献

- (上接第39页)
- 参考文献
- [1] Michelangelo Anastassiades, Steven J Lehotay, Frank J Schenck. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/partitioning and "Dispersive Solid-phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce [J]. Journal of AOAC International, 2003, 86 (2): 412 - 431.
  - [2] NY/T 761 - 2004. 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留检测方法 [S].
  - [3] 全国农药残留试验研究协作组. 农药残留量实用检测方法手册 (第2卷) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 179 - 181.
  - [4] 朴秀英, 吴凌云, 邹积鑫, 等. 烯酰吗啉在土壤中残留测定方法研究 [J]. 农药科学与管理, 2006, 27 (1): 7 - 9.
  - [5] 慕卫, 陈召亮, 杨连来, 等. 烯唑醇、三唑醇和腈菌唑的 GC 和 HPLC 分析方法 [J]. 现代农药, 2005, 4 (6): 17 - 19.
  - [1] 河北威远生物化工股份有限公司. 新农药介绍 [J]. 农药科学与管理, 2001, 22 (1): 47.
  - [2] 胡晓敏, 费国良, 王介庆. HPLC 法测定甲氨基阿维菌素苯甲酸酯 [J]. 兽药与饲料添加剂, 2001, 6: 13 - 14.
  - [3] 毕富春, 赵建平. 高效液相色谱法定量分析甲氨基阿维菌素苯甲酸酯 [J]. 农药科学与管理, 2003, 24 (3): 13 - 14.
  - [4] 毕富春, 吴国旭. 高效液相色谱法定量分析甲维·柴油油中的甲维盐 [J]. 农药科学与管理, 2004, 25 (9): 3 - 5.