

敌百虫·啮虫脒混配制剂的高效液相色谱分析方法研究

吴仁海,王恒亮,李秀杰,张永超,孙建伟
(河南省农业科学院 植物保护研究所,河南 郑州 450002)

摘要:采用高效液相色谱法,以C18柱为固定相,甲醇+水为流动相,采用210nm检测波长,测定敌百虫·啮虫脒混剂的有效成分含量。在此检测方法中,敌百虫·啮虫脒的标准偏差分别为0.0162、0.0120;变异系数分别为0.08%、0.12%;平均回收率分别为98.87%、100.2%;线性相关系数 r 分别为0.9999、0.9995。

关键词:敌百虫;啮虫脒;高效液相色谱

中图分类号:S482.3 O657.7⁺2 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-3268(2009)09-0135-03

棉盲蝽属半翅目盲蝽科,是棉花上的主要害虫之一。近年来,由于转Bt基因抗虫棉种植面积逐年扩大,全球气候变暖,冬季气温普遍偏高,棉盲蝽的越冬死亡率大大降低,加之苜蓿、豆类、蔬菜、果树等其他寄主作物栽培面积不断扩大,棉盲蝽发生和危害呈逐年加重的趋势^[1]。邱峰等^[2]研究发现,敌百虫(trichlorfon)和啮虫脒(acetamiprid)混配对棉盲蝽有很好的增效作用,目前30%敌百虫·啮虫脒乳油已经由河南省农业科学院植物保护研究所农药实验厂登记开发。有关敌百虫、啮虫脒单剂的检测方法已有报道^[3~6],但无二者混合制剂的检测方法的报道。为了保证产品质量,简化操作手续,为敌百虫与啮虫脒混配产品的生产提供质量控制方法,经过反复研究,建立起敌百虫·啮虫脒混合试样反相高效液相色谱检测方法,取得良好的分离效果,具有较高的准确度和精密度。

1 材料和方法

1.1 仪器与试剂

Agilent1100 高效液相色谱仪,具二级管阵列可见紫外检测器,在线脱气;甲醇:色谱纯;水:2次重蒸水;敌百虫标准品:98.3%,国家农药质检中心(北京);啮虫脒标准品:99.5%,国家农药质检中心(北京)。

1.2 检测条件

色谱柱:Agilent C-18,250mm×4.6mm;柱温:25℃;流动相流速:1mL/min;进样量:10 μ L。调节检测波长和流动相比例,确定合适检测条件。

1.3 溶液配制

1.3.1 标准溶液配制 称取敌百虫标样0.04g(精确至0.0002g),置于10mL容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,用0.45 μ m孔径滤膜过滤。

称取啮虫脒标样约0.01g(精确至0.0002g),置于10mL容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,用0.45 μ m孔径滤膜过滤。

1.3.2 试样溶液的制备 称取约含敌百虫0.1g(精确至0.0002g)的试样,置于50mL容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,用0.45 μ m孔径滤膜过滤。

称取约含0.05g(精确至0.0002g)啮虫脒的试样,置于100mL容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,用0.45 μ m孔径滤膜过滤。

1.4 样品的测定

在上述色谱条件下,待仪器基线稳定以后,连续注入数针标准溶液,直至相邻两针峰面积相对变化小于误差允许后,进行样品测定。将3次重复所得峰面积平均值代入已经建立的标准曲线回归方程中,分别计算出啮虫脒、敌百虫的含量。

2 结果与分析

2.1 检测波长选择

在同一流动相比例下,设定不同波长,分别对啮虫脒和敌百虫标准液进行检测,啮虫脒和敌百虫的液相色谱检测面积见表1。在205nm、210nm、215nm、220nm、246nm检测波长下,啮虫脒的检测面积逐渐增大,而敌百虫检测面积逐渐减少。啮虫

收稿日期:2009-06-10

基金项目:郑州市金水区技术与开发经费支持项目(金科字[2008]18号)

作者简介:吴仁海(1976-),男,河南信阳人,助理研究员,博士,主要从事农药应用技术研究。

脘检测面积远大敌百虫, 表明各检测波长下脘虫脘的敏感度远高于敌百虫, 因此, 首要考虑检测方法中敌百虫的敏感性。虽然敌百虫在 205nm 下检测面积最大, 但考虑到甲醇的紫外吸收截止波长为 205nm, 因此, 将 210nm 设定为检测波长。

表 1 不同检测波长脘虫脘和敌百虫的液相色谱检测面积

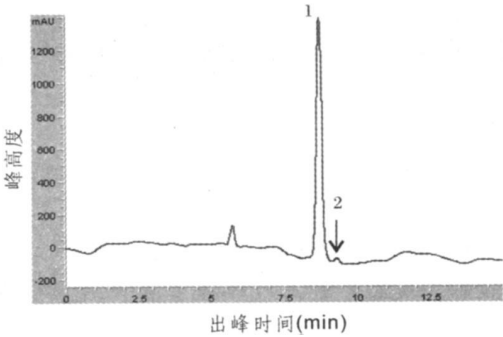
检测波长 (nm)	脘虫脘峰面积 (mAU · s)	敌百虫峰面积 (mAU · s)
205	26427.5	3 657.6
210	31844.5	2 610.9
215	36005.2	1 470.4
220	37884.3	730.5
246	55687.3	20.5

2.2 流动相的确定

在 210nm 检测波长下, 以不同比例的甲醇和水为流动相, 调节脘虫脘和敌百虫出峰时间和分离效果, 结果见表 2。随着甲醇含量的降低, 脘虫脘和敌百虫出峰时间逐渐推迟, 二者的分离效果也越来越好, 在甲醇 : 水为 35 : 65 时, 二者能够完全分离, 保留时间适中, 分别为 8.6min 和 9.2min, 于是确定甲醇 : 水为 35 : 65 为流动相, 其色谱图见图 1。

表 2 不同流动相脘虫脘和敌百虫的液相色谱分离效果

流动相比例 (甲醇 : 水)	脘虫脘出峰 时间(min)	敌百虫出峰 时间(min)	分离效果
50 : 50	6.9	7.0	未完全分离
60 : 40	6.8	6.9	未完全分离
40 : 60	7.7	8.1	未完全分离
45 : 55	7.0	7.4	未完全分离
35 : 65	8.6	9.2	完全分离
30 : 70	10.5	11.2	完全分离



1 脘虫脘; 2 敌百虫

图 1 敌百虫·脘虫脘标样液相色谱分离效果

2.3 线性相关性测定

准确称取脘虫脘和敌百虫标准品, 以甲醇溶解定容, 并以甲醇稀释为不同浓度梯度。脘虫脘的标准曲线浓度为: 1g/L、0.5g/L、0.25g/L、0.1g/L、0.05g/L; 敌百虫的标准曲线浓度为: 4g/L、2g/L、1g/L、0.4g/L、0.2g/L。在上述色谱条件下对脘虫脘、敌百虫进行测定, 分别以脘虫脘、敌百虫溶液的浓度为横坐标, 以测得的峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 求得回归方程。脘虫脘的线性方程为: $Y=43.717x-13.847$, $r=0.99995$; 敌百虫的线性方程为: $Y=1.0668x-7.7339$, $r=0.9999$ 。

2.4 精密度和准确度

对同一敌百虫与脘虫脘混合样品, 按照上述方法平行检测 5 次, 确定此检测方法中敌百虫、脘虫脘的精密度, 结果见表 3。敌百虫的标准偏差为 0.0120, 变异系数为 0.12%; 脘虫脘的标准偏差为 0.0162, 变异系数为 0.08%, 说明方法精密度较高。

表 3 精密度试验结果

检测项目	样品 1 含量 (%)	样品 2 含量 (%)	样品 3 含量 (%)	样品 4 含量 (%)	样品 5 含量 (%)	平均含量 (%)	标准偏差	变异系数 (%)
脘虫脘	9.99	10.01	10.01	9.98	10.00	10.00	0.0120	0.12
敌百虫	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.02	0.0162	0.08

方法准确度检测结果见表 4。对 5 个敌百虫与脘虫脘混合样品进行检测, 测得脘虫脘的平均回收

率为 100.2%, 敌百虫的平均回收率为 98.87%, 显示出较好的准确度。

表 4 准确度试验结果

脘虫脘				敌百虫			
理论检测值 (mg)	实际检测值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	理论检测值 (mg)	实际检测值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)
10.0	10.0	100.00	100.2	20.0	20.0	100.00	98.87
10.2	10.3	100.98		20.2	20.2	100.00	98.87
10.2	10.3	100.98		21.4	20.8	97.20	
10.2	10.2	100.00		21.8	21.6	99.08	
10.4	10.3	99.04		21.0	20.6	98.10	

(下转第 154 页)

艺学报, 1993, 20(2): 167—170.

[2] 栗根义, 高睦枪, 赵秀山. 高温处理对大白菜游离小孢子培养的影响[J]. 实验生物学报, 1993, 26(2): 165—169.

[3] Gao Muqiang, Li Genyi. Effects of different high temperatures and incubation time periods on embryogenesis in isolated microspore culture of Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis*)[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 1994, 9(suppl.): 16—18

[4] 栗根义, 高睦枪, 杨建平, 等. 豫园一号大白菜[J]. 长江蔬菜, 1997(10): 20.

[5] 栗根义, 高睦枪, 杨建平, 等. 游离小孢子培养技术育成豫白菜 7 号[J]. 中国蔬菜, 1998(4): 16—19.

[6] 高睦枪, 栗根义, 杨建平, 等. 通过游离小孢子培养育成的优质大白菜新品种“豫白菜 12 号”[J]. 园艺学报, 2001, 28(1): 88.

[7] 张晓伟, 耿建峰, 原玉香, 等. 耐热大白菜豫早 1 号(豫白 1 号)的选育[J]. 中国蔬菜, 2002(5): 18—19.

[8] 张晓伟, 耿建峰, 原玉香, 等. 早熟大白菜新品种豫新 3 号选育[J]. 长江蔬菜, 2002(6): 39—40.

[9] 耿建峰, 张晓伟, 原玉香, 等. 利用游离小孢子培养技术育成抗热大白菜新品种“豫园 50”[J]. 园艺学报, 2002, 29(1): 89.

[10] 原玉香, 耿建峰, 张晓伟, 等. 利用游离小孢子培养技术育成抗热大白菜新品种“豫园 60”[J]. 园艺学报, 2004, 31(5): 704.

[11] 蒋武生, 张晓伟, 原玉香, 等. 耐热极早熟大白菜新品种“豫新 50 号”的选育[J]. 中国瓜菜, 2005(4): 27—29.

[12] 栗根义, 高睦枪, 耿建峰, 等. 春秋适应型大白菜新品种豫白菜 11 号的选育[J]. 河南农业科学, 1999(3): 24—26.

[13] 耿建峰, 原玉香, 张晓伟, 等. 耐热早熟大白菜豫新 60 及其栽培技术[J]. 河南农业科学, 2003(5): 43.

[14] 耿建峰, 张晓伟, 原玉香, 等. 中晚熟高抗大白菜新品种豫白菜 12 号的选育[J]. 河南农业科学, 2001(6): 41—42.

[15] 史宣杰, 陈晓. 反季节大白菜豫早 1 号高效栽培技术[J]. 河南农业科学, 2001(4): 38.

[16] 徐小利, 史宣杰, 何太平. 豫早 1 号大白菜在双高栽培模式中的应用 小麦、菠菜(黄心菜)、西瓜、大白菜间套作栽培模式[J]. 河南农业科学, 2000(9): 30.

[17] 蒋武生, 原玉香, 张晓伟, 等. 提高大白菜游离小孢子胚诱导率的研究[J]. 华北农学报, 2005, 20(6): 34—37.

[18] 蒋武生, 原玉香, 张晓伟, 等. 小白菜游离小孢子培养及其再生植株[J]. 河南农业大学学报, 2005, 39(4): 398—402.

[19] 田保明, 蒋武生, 张晓伟, 等. 提高油菜游离小孢子胚诱导频率的研究[J]. 华北农学报, 2007, 22(1): 116—119.

[20] 蒋武生, 张晓伟, 原玉香, 等. 结球甘蓝游离小孢子培养胚的形成和再生植株[M] //中国园艺学会十字花科蔬菜分会. 中国十字花科蔬菜研究进展. 北京: 中国农业科技出版社, 2008.

[21] 蒋武生, 姚秋菊, 张晓伟, 等. 活性炭和振荡培养对提高大白菜游离小孢子胚诱导率的研究[J]. 中国瓜菜, 2008(4): 1—4.

[22] 蒋武生, 张晓伟, 姚秋菊, 等. 活性炭对小白菜小孢子培养的影响[J]. 华北农学报, 2008, 23(5): 93—96.

[23] Sato T, Nishio T, Hirai M. Plant regeneration from isolated microspore culture of chinese cabbage(*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*) [J]. Plant Cell Reports, 1989, 8: 486—488.

[24] Suanson E B. Microspore culture in *Brassica*[J]. Plant Cell and Tissue Culture, 1990, 11: 159—169.

(上接第 136 页)

3 结论

本方法能同时测定啶虫脒和敌百虫的含量。通过试验表明, 采用本方法对啶虫脒和敌百虫混配试剂进行同柱分析, 具有定量准确、重复性好、分析速度快、线性关系良好、操作简便等特点, 能够满足产品的常规分析和质控研究的要求。

参考文献:

[1] 牛庆国, 申卫民, 董中民. 棉田棉盲蝽虫口回升的成因及

治理对策[J]. 河南农业科学, 2006(9): 72—73.

[2] 邱峰, 封峰强, 阎文斌, 等. 敌百虫啶虫脒乳油复配农药: 中国, 101057587 P[J]. 2007—03—29.

[3] 张明国, 邹鸿享, 覃尼. 敌百虫的液相色谱分析[J]. 湖北化工, 1999(5): 32.

[4] 张建江, 李茂青, 高清. 敌百虫高压液相色谱分析方法的改进[J]. 现代农药, 2003, 2(5): 18—20.

[5] 朱行善, 郭维荣. 敌百虫含量的气相色谱分析[J]. 化工标准化与质量监督, 1999(1): 13—15.

[6] 汤富彬, 罗逢健, 刘光明, 等. 啶虫脒的高效液相色谱分析[J]. 农药, 2006, 45(9): 618—619.