

异噁唑草酮原药分析方法

迟志娟¹, 邢诗晗², 王蓓¹, 王姣¹, 王淳纯¹, 母昌立¹

(1. 江苏省太仓市农产品质量监督检验测试中心, 江苏太仓 215412; 2. 中国农业大学烟台研究院, 山东烟台 264000)

摘要 [目的] 建立异噁唑草酮原药的高效液相色谱分析方法。[方法] 采用高效液相色谱法, 以乙腈-乙酸(55:45, V/V) 为流动相, 应用 C₁₈ 色谱柱和 SPD-M20A PDA 检测器分析异噁唑草酮的含量。[结果] 该色谱分析条件下异噁唑草酮的标准偏差为 0.008, 变异系数为 0.09%, 回收率为 104%。[结论] 该方法适用于定性、定量分析异噁唑草酮原药。

关键词 异噁唑草酮; 高效液相色谱; 分析方法

中图分类号 S482.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)143-02

Analysis Method of Isoxaflutole TC

CHI Zhi-juan¹, XING Shi-han², WANG Bei¹ et al (1. The Supervision, Inspection & Testing Center of Agricultural Quality & Security of Taicang City, Taicang, Jiangsu 215412; 2. Yantai Institute, China Agricultural University, Yantai, Shandong 264000)

Abstract [Objective] To establish an analysis method for the high performance liquid chromatography (HPLC) of isoxaflutole TC. [Method] High performance liquid chromatography was adopted. With acetonitrile : acetic acid (55:45, V/V) as the mobile phase, C₁₈ chromatographic column and SPD-M20A PDA detector were used to analyze the content of isoxaflutole. [Result] Under the chromatographic analysis conditions, the standard deviation of isoxaflutole was 0.008, the variation coefficient was 0.09%, and the recovery rate was 104%. [Conclusion] This method is suitable for the qualitative and quantitative analysis of isoxaflutole TC.

Key words Isoxaflutole; High performance liquid chromatography; Analysis method

异噁唑草酮是由罗纳-普朗克公司于 1992 年发现的芽前或芽后早期除草剂, 主要用于防治玉米和甘蔗田阔叶杂草和禾本科杂草。目前, 关于异噁唑草酮有效成分分析方法的研究较多^[1-2]。笔者在前人研究的基础上, 以乙腈-乙酸为流动相, 采用高效液相色谱法对异噁唑草酮原药成分进行了分析, 以期对异噁唑草酮分析方法的建立提供理论依据。

1 材料与方

1.1 材料 乙腈(色谱纯), 乙酸, 异噁唑草酮标准品(Sigma-Aldrich 公司); Shimadzu LC-20AD 高效液相色谱仪, 配有 LC-20AD 二级泵, SPD-M20A 检测器, SIL-20A 自动进样器, CTO-20A 柱温箱, C₁₈ 色谱柱 5 μm × 250.0 mm × 2.0 mm; 分析天平: ±0.1 mg; 容量瓶: 10、25 mL; 移液器: 100 ~ 1 000 μL。

1.2 高效液相色谱条件 流动相: 乙腈-1.5% 乙酸(55:45, V/V), 流速: 0.30 mL/min, 柱温: 35 °C, UV 检测波长: 269 nm, 进样体积: 5 μL, 保留时间: 8.737 min。异噁唑草酮标样高效液相色谱图见图 1。

1.3 测定方法

1.3.1 样品溶液的配制。称取异噁唑草酮样品 0.025 g(精确至 0.000 2 g)于 25.0 mL 容量瓶中, 用乙腈溶解并定容, 摇匀。用移液管移取 0.8 mL 上述溶液, 用乙腈稀释至 10.0 mL 用于定量检测。

1.3.2 标准溶液的配制。称取异噁唑草酮标样 0.010 g(精确至 0.000 2 g)用 1.0 mL 乙腈溶解, 并定容至 10.0 mL, 溶液浓度为 1 000 mg/L。用移液器分别取 500、600、700、800、900、

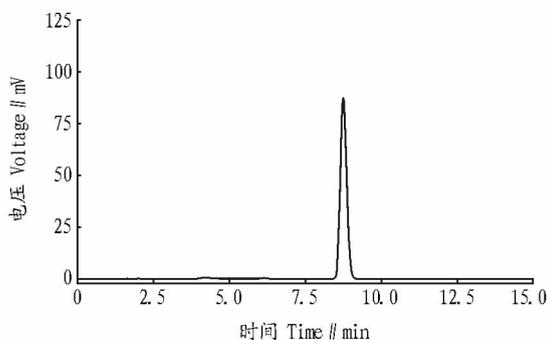


图 1 异噁唑草酮有效成分高效液相色谱图谱

Fig. 1 High performance liquid chromatography of the effective components of isoxaflutole

1 000 μL 上述溶液, 在“1.2”色谱条件下进行分析, 以异噁唑草酮浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线。

1.3.3 测定。待仪器基线稳定后, 对标准溶液连续数次测定, 计算异噁唑草酮相对响应值, 直至相邻 2 次响应值相对变化 < 1.5%, 按标准溶液、样品溶液、样品溶液、标准溶液的顺序进行测定。

1.3.4 计算。将 2 针试样溶液中异噁唑草酮的峰面积以及试样溶液前后 2 针标准溶液中异噁唑草酮的峰面积分别进行平均值, 计算出异噁唑草酮的质量分数(X)。

$$X = A_2 \times m_1 \times P / (A_1 \times m_2) \times 100\%$$

式中, A₁ 为标样溶液中异噁唑草酮峰面积的平均值; A₂ 为试样溶液中异噁唑草酮峰面积的平均值; m₁ 为标样的质量(g); m₂ 为试样的质量(g); P 为标样中异噁唑草酮的质量分数(%)。

2 结果与分析

2.1 异噁唑草酮线性关系 异噁唑草酮线性方程为 $y = 16\ 184x - 16\ 208$, 线性相关系数为 0.999 6(图 2), 线性关系

良好。

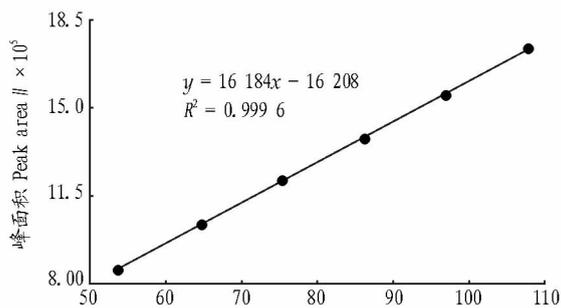


图2 异噁唑草酮线性关系

Fig.2 Linear relationship of isoxaflutole

2.2 检测波长的选择 经过全波长扫描仪扫描,由图3可知,在269 nm附近的吸收最大。

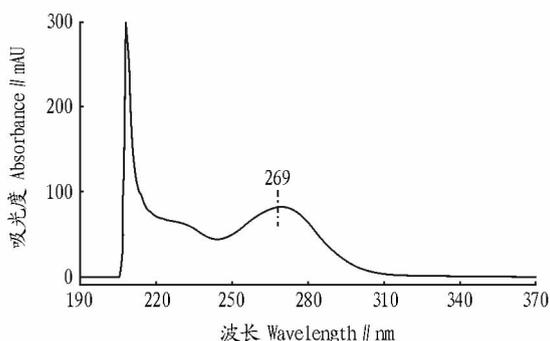


图3 异噁唑草酮紫外扫描图谱

Fig.3 UV scanning spectrum of isoxaflutole

2.3 方法的精密度 分别称取异噁唑草酮原药样品7份,进行7次平行测定,测得异噁唑草酮标准偏差为0.008,变异系数为0.09%,说明该方法精密度较高(表1)。

2.4 方法的准确度 采用标准添加法,在已知含量的样品中加入不同量的异噁唑草酮标准溶液,按照“1.2”色谱条件测定其含量,计算回收率,平均回收率为104%(表2)。

表1 分析方法的精密度试验结果

Table 1 Results of precision test of analysis method

| 编号 Code | 保留时间 Retention time//min | 峰面积 Peak area//mAU |
|---------------------------|-----------------------------|-----------------------|
| 1 | 8.748 | 1 210 387 |
| 2 | 8.743 | 1 209 047 |
| 3 | 8.724 | 1 207 800 |
| 4 | 8.735 | 1 206 091 |
| 5 | 8.745 | 1 206 447 |
| 6 | 8.734 | 1 206 214 |
| 7 | 8.736 | 1 205 123 |
| 平均值 Mean | 8.738 | 1 207 301 |
| 标准偏差 Standard deviation | 0.008 | 1 868 |
| 变异系数 Variable coefficient | 0.09 | 0.15 |

表2 分析方法的准确度试验结果

Table 2 Accuracy test results of analysis method

| 编号 Code | 实际值 Actual value mg/L | 理论值 Theoretical value//mg/L | 回收率 Recovery rate//% |
|------------|-----------------------------|-----------------------------------|----------------------------|
| 1 | 0.036 | 0.034 | 106 |
| 2 | 0.052 | 0.050 | 104 |
| 3 | 0.069 | 0.067 | 103 |
| 平均值 Mean | | | 104 |

3 结论

试验结果表明,采用高效液相色谱法分析异噁唑草酮原药,具有准确性和精密度较高、线性关系良好、操作简单、快速、分离效果好的优点,是定性、定量分析异噁唑草酮原药较为理想的方法。

参考文献

- [1] LEE P W, AIZAWA H, BAREFOOT A C. Handbook of residue analytical methods for agrochemicals [M]. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2003: 509-518.
- [2] LIN C H, LERCH R N, THURMAN E M, et al. Determination of isoxaflutole (balance) and its metabolites in water using solid phase extraction followed by high-performance liquid chromatography with ultraviolet or mass spectrometry [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2002, 50 (21): 5816-5824.

(上接第113页)

3 讨论

该研究利用 TaqMan 特异性荧光标记法快速检测玉米籽粒中转基因成分,可达到快速、准确检测大量样品的目的,无需配制标准曲线,可做定性分析。目前实时荧光定量 PCR 均采用外标定量,需要已知浓度的检测物作为参照样品,参照标准品的制备费时、费力、成本高。当无需被测样品转基因成分含量只需定性分析时,用普通 PCR 仪后期工作量大,在环境中易形成气溶胶,造成二次污染,影响结果正常分析。实时荧光 PCR 反应可避免对环境及人体造成危害,环保高

效,为人所用。

参考文献

- [1] 郭金超,付仲文,于晴,等. 对我国农业转基因作物研发及安全管理的思考 [J]. 安徽农业科学, 2015(25): 333-336.
- [2] 宋君,雷绍荣,刘勇,等. 转基因玉米 MON863 品系特异定量 PCR 方法的建立 [J]. 湖北农业科学, 2011, 50(24): 5250-5253.
- [3] 袁磊,红伟,李凡. 以实时荧光定量 PCR 技术检测转基因玉米 MON88017 [J]. 作物学报, 2011, 37(11): 2117-2121.
- [4] 中华人民共和国上海出入境检验检疫总局. 转基因产品检测 核酸定性 PCR 检测方法: GB/T19495.4-2004 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [5] 中华人民共和国山东出入境检验检疫总局. 转基因产品检测核酸定量 PCR 检测方法: GB/T19495.5-2004 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 转基因成分检测 玉米检测方法: SN/T 1196-2012 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.