

农药制剂中异硫氰酸烯丙酯气相色谱分析方法

朱 峰, 廖国会*, 张海艳, 宋邦燕, 陈湘燕, 秦立新,
于宁波, 姜 婷, 陈明贵, 陈才俊*

(贵州省农业科学院植物保护研究所, 贵阳 550006)

摘要 本研究建立了一种农药制剂中异硫氰酸烯丙酯的气相色谱分析方法。采用气相色谱仪分析农药制剂中异硫氰酸烯丙酯的质量分数,使用 HP-5 毛细管柱和氢火焰离子化检测器,在载气流速 1.5 mL/min,分流比 30:1,进样口温度 180℃,柱温 70℃,检测器室 180℃的条件下,用癸烷作为内标,用内标法对有效成分进行定性、定量分析。结果表明,本文所建立的方法在异硫氰酸烯丙酯质量浓度为 1 029.1~5 204.6 mg/L 时,异硫氰酸烯丙酯与内标物癸烷的峰面积比与质量比线性关系良好,线性相关系数为 1.000 0;异硫氰酸烯丙酯可溶液剂、水乳剂标准偏差分别为 0.01%、0.18%,平均回收率分别为 99.01%、100.85%。所建立的检测方法灵敏、快速,适用于农药制剂中异硫氰酸烯丙酯的含量检测。

关键词 异硫氰酸烯丙酯; 气相色谱; 分析方法

中图分类号: S48 文献标识码: A DOI: 10.16688/j.zwbh.2021414

Analysis of allyl isothiocyanate in pesticide formulations by GC

ZHU Feng, LIAO Guohui*, ZHANG Haiyan, SONG Bangyan, CHEN Xiangyan, QIN Lixin,
YU Ningbo, JIANG Ting, CHEN Minggui, CHEN Caijun*

(Institute of Plant Protection, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006, China)

Abstract A method for the determination of allyl isothiocyanate in pesticide formulations by gas chromatography was established in this study. The content of allyl isothiocyanate in pesticide formulations was analyzed by gas chromatography. Under the conditions of carrier gas 1.5 mL/min, split ratio 30:1, injection port temperature 180℃, column temperature 70℃, and detector 180℃, decane was used as internal standard for qualitative and quantitative analysis. The results indicate that the peak area ratio of allyl isothiocyanate to decane has a good linear relationship with the mass ratio, and the linear correlation coefficient is 1.000 0 when the mass concentration of allyl isothiocyanate is between 1 029.1–5 204.6 mg/L. The standard deviations of allyl isothiocyanate soluble agent and water emulsion were 0.01% and 0.18% respectively, and the average recovery were 99.01% and 100.85% respectively. The results showed that the developed method in this study was sensitive, rapid and suitable for the determination of allyl isothiocyanate in pesticide formulations.

Key words allyl isothiocyanate; GC; analytical method

异硫氰酸烯丙酯(allyl isothiocyanate, AITC)是辣根素的主要成分,为广泛存在于辣根 *Armoracia rusticana*、芥菜 *Brassica juncea* 和山葵 *Eutrema yunnanense* 等十字花科蔬菜中的天然含硫次生代谢物,对土传病害、线虫及杂草等具有良好的抑制作用^[1-3]。异硫氰酸烯丙酯在农药方面有很大应用潜力,目前在我国有 4 个农药登记证号,其中 2 个母药,1 个水乳剂和 1 个可溶液剂,但是对其质量控制

方面研究报道较少。在异硫氰酸烯丙酯检测方面,已建立了血浆^[4]、水体^[5]等基质中液相色谱分析方法,以及白芥子油中异硫氰酸烯丙酯分析方法^[6]。对挥发性农药产品的检测是研究热点^[7],也是市场监管的重要基础。方法简单快速是决定挥发性农药准确定量的重要因素^[8],对于异硫氰酸烯丙酯的检测,目前建立了异硫氰酸烯丙酯母药的液相色谱分析方法^[9],而不同农药制剂中异硫氰酸烯丙酯的分

收稿日期: 2021-07-29 修订日期: 2021-09-11

基金项目: 农业农村部标准化制修订项目(HYB-20443);贵州省科技计划[黔科合支撑(2020)1Y174 号];贵州省科研机构服务企业行动计划[黔科合服企(2020)4007]

* 通信作者 E-mail: 廖国会 646613118@qq.com;陈才俊 chencj1123@126.com

析方法未见报道。气相色谱法广泛用于农药产品质量的检测分析,具有良好的分离和定量效果,广泛应用于检测机构及农药生产企业的日常检测工作,是挥发性农药的重要分析手段^[10]。为此,本文采用气相色谱法对异硫氰酸烯丙酯可溶液剂和水乳剂的含量进行分析,建立具有较好分离效果及较好的准确度和精密度的检测方法,以满足异硫氰酸烯丙酯定量分析的要求,为异硫氰酸烯丙酯可溶液剂和水乳剂质量控制,以及该产品气相色谱分析方法标准的建立提供参考。

1 材料与方法

1.1 试剂

丙酮和无水乙醇均为分析纯;癸烷,99%;异辛醇,99%;异辛烷,99%;乙酸乙酯,99%;癸醇,99%;壬烷,99%;异硫氰酸烯丙酯标样,98.2%;17%异硫氰酸烯丙酯可溶液剂(SL)和30%异硫氰酸烯丙酯水乳剂(EW),委托贵州省无公害植物保护工程技术研究中心配制。

1.2 仪器

Agilent GC 8890 气相色谱仪(氢火焰离子化检测器),安捷伦公司;十万分之一电子天平,梅特勒 XSR105;0.45 μm 滤膜,比克曼公司。

1.3 气相色谱操作条件

色谱柱:HP-5 毛细管柱(30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25 μm);氢火焰离子化检测器(flame ionization detector, FID);气化室温度 180 $^{\circ}\text{C}$;柱室温度 70 $^{\circ}\text{C}$;检测器室温度 180 $^{\circ}\text{C}$;载气 1.5 mL/min;氢气 35 mL/min;空气 400 mL/min;分流比 30:1;进样体积 1 μL 。

1.4 测定步骤

1.4.1 内标溶液的配制

称取癸烷 1.5 g(精确至 0.01 g)于 500 mL 容量瓶中,用丙酮溶解并稀释至刻度,摇匀。

1.4.2 标准溶液的配制

称取 0.03 g(精确至 0.000 01 g)异硫氰酸烯丙酯标准品于 10 mL 容量瓶中,加入 5 mL 内标溶液,用丙酮稀释至刻度,摇匀。

1.4.3 待测样品溶液的配制

称取含 0.03 g(精确至 0.000 01 g)异硫氰酸烯丙酯的制剂样品于 10 mL 容量瓶中,加入 2 mL 无水乙醇使之完全溶解后加入 5 mL 内标溶液,用丙酮稀释至刻度,摇匀。

1.4.4 测定

在上述操作条件下,待仪器稳定之后,在所建立的色谱分析条件下,在相邻两针样品的峰面积变化小于 1.2%后,按照标准品溶液、试样溶液、试样溶液、标准品溶液的顺序进样检测。计算异硫氰酸烯丙酯可溶液剂和水乳剂中有效成分的含量。

1.4.5 计算

将测得的两针试样溶液以及试样前后两针标样溶液中异硫氰酸烯丙酯峰面积分别进行平均。试样中异硫氰酸烯丙酯有效成分含量按公式(1)计算:

$$\omega_1 = \frac{r_2 \times m_1 \times \omega}{r_1 \times m_2} \quad (1)$$

式中: ω 和 ω_1 分别为标样和待测样品中异硫氰酸烯丙酯的质量分数,以百分数表示; r_1 和 r_2 分别为标样溶液和样品溶液中异硫氰酸烯丙酯与内标物峰面积比的平均值; m_1 和 m_2 分别为标样和待测样品的质量,单位为克(g)。

方法回收率 R 按公式(2)进行计算:

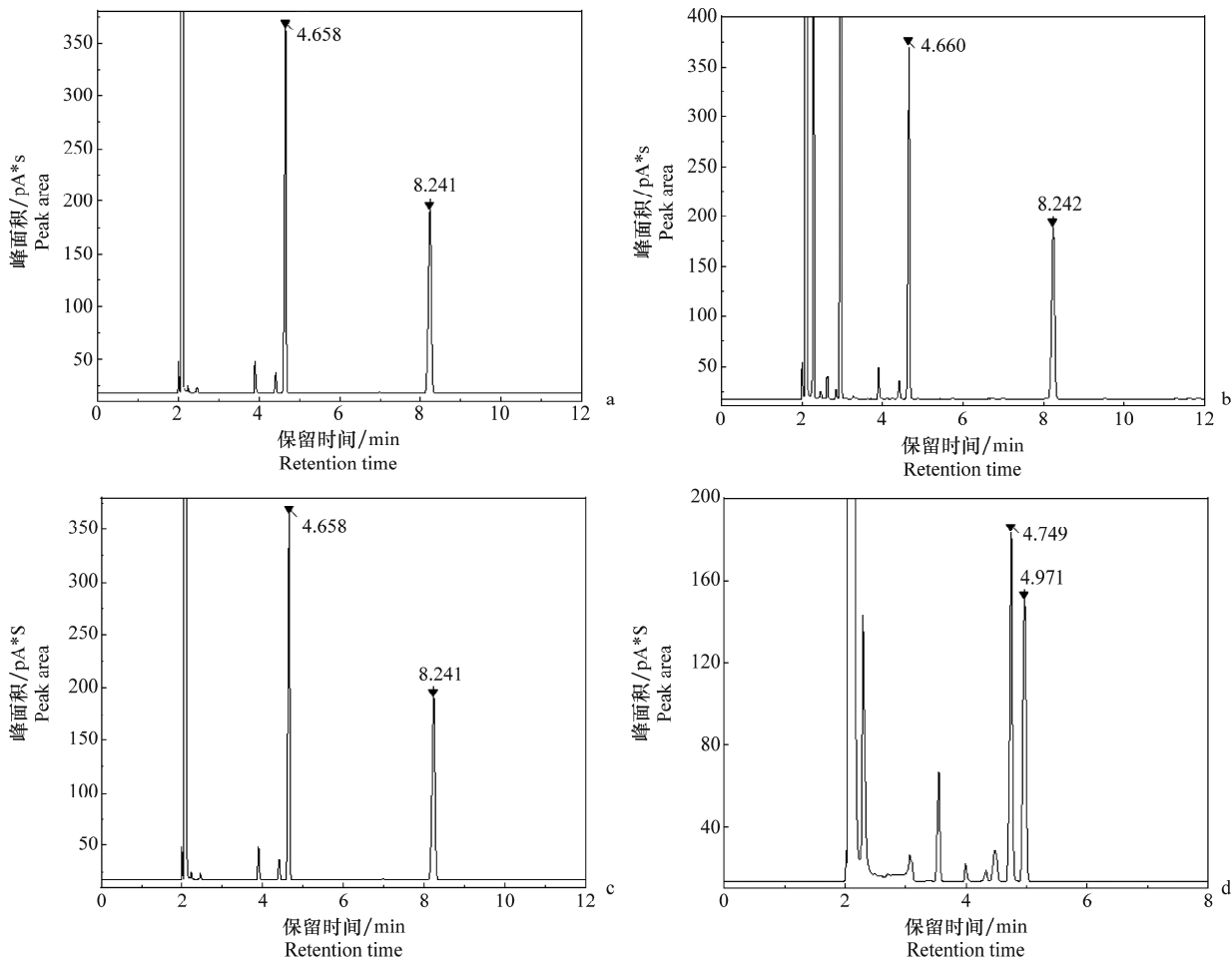
$$R = \frac{a-b}{c} \times 100 \quad (2)$$

式中: R 为回收率,单位为百分率(%); a 、 b 和 c 分别为加标样品中待测组分的实测值,待测样品中待测组分的理论质量和添加的标样质量,单位为克(g)。

2 结果与分析

2.1 内标的选择

根据异硫氰酸烯丙酯物化性质,使用丙酮作为溶剂溶解样品,色谱柱选择常用的 HP-5 非极性毛细管色谱柱。用内标法对异硫氰酸烯丙酯进行定量分析需要选择一个合适的内标。本试验测试了异辛醇、异辛烷、乙酸乙酯、癸醇、壬烷、癸烷等为内标的效果,用异辛醇、异辛烷、乙酸乙酯为内标时,内标出峰太快并且不能与样品中的杂质完全分离;以壬烷做内标时,异硫氰酸烯丙酯可溶液剂中有效成分与内标保留时间相隔比较近(图 1d);癸醇为内标时,异硫氰酸烯丙酯与内标保留时间相隔长;以癸烷为内标时,有效成分与内标物能很好地分离,不受杂质的干扰,而且峰形对称,分析时间较短,提高了工作效率。异硫氰酸烯丙酯保留时间约 4.7 min,癸烷保留时间约 8.2 min(图 1a~1c)。综上表明,在上述色谱操作条件下,采用癸烷作为异硫氰酸烯丙酯定量分析的内标最合适。



a: 异硫氰酸烯丙酯标准品气相色谱图; b, d: 异硫氰酸烯丙酯可溶液剂气相色谱图; c: 异硫氰酸烯丙酯水乳剂气相色谱图。a~c: 峰上数字分别为异硫氰酸烯丙酯保留时间 (约4.7 min), 癸烷保留时间 (约8.2 min); d: 峰上数字分别为异硫氰酸烯丙酯保留时间 (约4.7 min), 壬烷保留时间 (约4.9 min)
a: Gas chromatogram of standard of allyl isothiocyanate; b, d: Gas chromatogram of allyl isothiocyanate SL; c: Gas chromatogram of allyl isothiocyanate EW.
a~c: The figures on the peak are the retention time of allyl isothiocyanate (about 4.7 min) and retention time of decane (about 8.2 min); d: The figures on the peak are the retention time of allyl isothiocyanate (about 4.7 min) and retention time of n-nonane (about 4.9 min)

图 1 异硫氰酸烯丙酯气相色谱图

Fig. 1 Gas chromatogram of allyl isothiocyanate

2.2 方法的线性范围测定

按 1.4.2 标样溶液的制备方法, 配制 5 个不同浓度的异硫氰酸烯丙酯溶液, 分别标记为 STD1 至 STD5。在上述操作条件下, 待仪器稳定后, 按照 STD1 至 STD5 的顺序测定每个溶液中异硫氰酸烯丙酯的峰面积, 取两次测定的平均值 (表 1)。以异硫氰酸烯丙酯质量浓度和峰面积结果分别为横坐标和纵坐标绘制标准曲线, 结果表明, 当异硫氰酸烯丙酯与内标物质量比在 0.695 7~3.518 5 (异硫氰酸烯丙酯质量浓度 1 029.1~5 204.6 mg/L) 时, 相应的异硫氰酸烯丙酯与内标物峰面积比呈现良好的线性关系 (图 2), 计算得到回归方程为 $y=0.509\ 5x+0.000\ 8$, 相关系数 $r=1.000\ 0$, 完全可以满足定量分析的要求。本方法中异硫氰酸烯丙酯标样的质量浓度为 3 327.0 mg/L (进样体积 1 μ L)。

2.3 方法精密度测定

按 1.4.3 试样溶液的制备方法配制 5 个异硫氰酸烯丙酯可溶液剂和 5 个异硫氰酸烯丙酯水乳剂的样品溶液用于测定方法的精密度。结果显示, 5 个可溶液剂重复样品的标准偏差为 0.01%, 变异系数为 0.05% (表 2); 5 个水乳剂重复样品的标准偏差为 0.18%, 变异系数为 0.62% (表 3)。

2.4 方法准确度测定

分别称取含 0.015 g (精确至 0.000 01 g) 异硫氰酸烯丙酯的异硫氰酸烯丙酯可溶液剂和水乳剂, 分别置于 10 mL 容量瓶中, 加入异硫氰酸烯丙酯标样 0.015 g (精确至 0.000 01 g), 采用 1.4.4 分析方法, 按照公式 (2) 计算得到异硫氰酸烯丙酯的平均回收率分别为 99.01% (表 4) 和 100.85% (表 5)。

表 1 异硫氰酸烯丙酯分析方法线性范围的测定¹⁾

Table 1 Determination of linear range of analytical method of allyl thiocyanate

样品编号 No.	样品质量/g Mass	峰面积/mAu * s Peak area		异硫氰酸烯丙酯与 内标物峰面积比 Peak area ratio of allyl isothiocyanate to internal standard	峰面积比 平均值 Average peak area ratio	异硫氰酸烯丙酯与 内标物质量比 Mass ratio of allyl isothiocyanate to internal standard	相关系数 Correlation coefficient
		异硫氰酸烯丙酯 Allyl isothiocyanate	内标物 Internal standard				
STD1	0.010 48	315.7	891.7	0.354 1	0.354 2	0.695 7	1.000 0
		316.8	894.2	0.354 3			
STD2	0.023 81	719.2	889.6	0.808 5	0.808 4	1.580 7	
		714.6	884.0	0.808 4			
STD3	0.033 88	1 016.1	887.2	1.145 3	1.145 1	2.249 2	
		1 014.8	886.4	1.144 9			
STD4	0.044 62	1 335.3	883.4	1.511 5	1.511 4	2.962 2	
		1 332.7	881.8	1.511 3			
STD5	0.053 00	1 583.2	883.3	1.792 4	1.792 6	3.518 5	
		1 584.8	884.0	1.792 8			

1) 异硫氰酸烯丙酯标样质量分数为 98.2%,加入内标物的质量为 0.015 1 g。
The mass fraction of allyl isothiocyanate standard is 98.2%, and mass of internal standard added is 0.015 1 g.

表 2 异硫氰酸烯丙酯可溶液剂分析方法精密度试验结果

Table 2 Precision test results of analytical method for allyl thiocyanate SL

异硫氰酸烯丙酯含量/% Content of allyl thiocyanate					标准偏差/% Standard deviation	变异系数/% Coefficient of variation
1	2	3	4	5		
平均值 Average value						
16.98	16.99	16.99	16.97	16.97	0.01	0.05

表 3 异硫氰酸烯丙酯水乳剂分析方法精密度试验结果

Table 3 Precision test results of analytical method for allyl thiocyanate EW

异硫氰酸烯丙酯含量/% Content of allyl thiocyanate					标准偏差/% Standard deviation	变异系数/% Coefficient of variation
1	2	3	4	5		
平均值 Average value						
29.34	29.39	29.00	29.46	29.38	0.18	0.62

表 4 异硫氰酸烯丙酯可溶液剂分析方法准确度试验结果

Table 4 Accuracy test results of analytical method for allyl isothiocyanate SL

重复 Duplication	样品称样量/g Sample mass	标样称样量/g Standard mass	异硫氰酸烯丙酯含量/g Content of allyl isothiocyanate		回收率/% Recovery	平均回收率/% Average recovery
			理论值 Theoretical value	实测值 Measured value		
1	0.112 50	0.016 23	0.035 04	0.034 82	98.60	99.01
2	0.109 58	0.016 13	0.034 45	0.034 42	99.84	
3	0.112 02	0.015 18	0.033 93	0.033 72	98.59	
4	0.099 37	0.015 62	0.032 21	0.032 07	99.08	
5	0.105 14	0.016 98	0.034 53	0.034 35	98.94	

表 5 异硫氰酸烯丙酯水乳剂分析方法准确度试验结果

Table 5 Accuracy test results of analytical method for allyl isothiocyanate EW

重复 Duplication	样品称样量/g Sample mass	标样称样量/g Standard mass	异硫氰酸烯丙酯含量/g Content of allyl isothiocyanate		回收率/% Recovery	平均回收率/% Average recovery
			理论值 Theoretical value	实测值 Measured value		
1	0.055 78	0.017 33	0.033 37	0.033 55	101.08	100.85
2	0.048 78	0.014 30	0.028 34	0.028 35	100.05	
3	0.064 05	0.015 24	0.033 74	0.033 94	101.31	
4	0.057 78	0.016 06	0.032 71	0.032 95	101.54	
5	0.068 79	0.014 43	0.034 33	0.034 37	100.27	

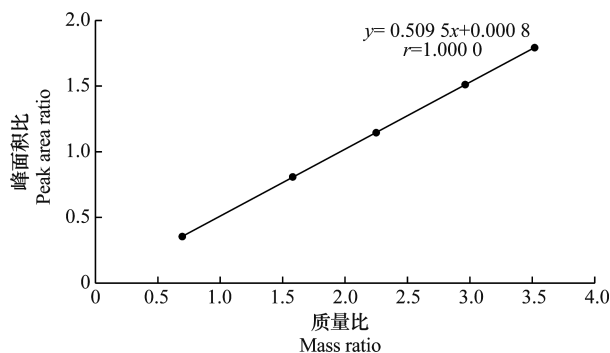


图2 异硫氰酸烯丙酯与内标物峰面积比与质量比线性关系
Fig. 2 Linear relationship between peak area ratio and mass ratio of allyl isothiocyanate and internal standard

3 结论与讨论

试验结果表明,采用 HP-5 毛细管柱时,得到了很好的分离效果。在内标筛选方面,壬烷和癸烷均可作为内标,但壬烷有效成分与内标保留时间相隔比较近,选用癸烷与异硫氰酸烯丙酯分离效果较好。在进行样品检测时,每做一个样节约 15 min,提高了效率。由于异硫氰酸烯丙酯有很强的挥发性,在称取样品时,由于样品瓶中量很少,有一定的损失,因此,在进行室内检测时应控制检测室温度。在称取好样品后,立即加入 2 mL 溶剂,减少样品损失。利用所建立的气相色谱分析方法对异硫氰酸烯丙酯可溶液剂和异硫氰酸烯丙酯水乳剂进行定量分析,该方法的平均回收率分别为 99.01%、100.85%,具有较高的准确度和精密度,线性关系良好,符合《农药产品质量分析

方法确认指南》^[11]的要求,并且操作简便、快速,是异硫氰酸烯丙酯可溶液剂和异硫氰酸烯丙酯水乳剂产品进行质量检测的理想方法。

参考文献

- [1] 李迎宾,曹永松,罗来鑫,等. 异硫氰酸烯丙酯的农用活性与应用研究进展[J]. 植物保护, 2018, 44(5): 108-119.
- [2] 王泽荟. 4种药剂处理土壤防治设施黄瓜根结线虫的效果[J]. 中国植保导刊, 2019, 39(5): 67-69.
- [3] 刘晓漫. 三七种子带菌检测与根腐病快速分子检测方法的建立及防治[D]. 北京:中国农业科学院, 2019.
- [4] 曹银,汪电雷,陶秀华,等. 超高效液相色谱法测定大鼠血浆中异硫氰酸烯丙酯含量及药动学参数[J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(4): 264-266.
- [5] 陈浩华,何海坚,卢泽镔,等. 水体中异硫氰酸烯丙酯高效液相色谱分析方法的建立[J]. 科技创新导报, 2017, 14(10): 107-108.
- [6] 曹银,李曼,汪电雷,等. 气相色谱法测定白芥子挥发油中异硫氰酸烯丙酯的含量[J]. 安徽中医药大学学报, 2013, 32(3): 78-80.
- [7] 王翠萍,王山,张欢,等. 顶空固相萃取/表面增强拉曼法对挥发性农药的快速检测研究[J]. 分析测试学报, 2021, 40(8): 1158-1163.
- [8] 陈正毅,李运达,张卓旻,等. 微热助吹扫描集-超高压液相色谱-串联质谱法快速测定蔬菜中 12 种半挥发性农药残留[J]. 色谱, 2020, 38(1): 120-126.
- [9] 刘雁雨,魏京华,田建利,等. 80%异硫氰酸烯丙酯母药 HPLC 法分析[J]. 农药科学与管理, 2019, 40(8): 50-53.
- [10] 赵锡锋,胡陈春,严纲,等. 农药中挥发性溶剂的气体检测方法研究[J]. 现代化工, 2020, 40(6): 243-246.
- [11] 农业部种植业管理司. 农药产品质量分析方法确认指南: NY/T 2887-2016 [S]. 北京:中国农业出版社, 2016.

(责任编辑:田 喆)

(上接 196 页)

- [5] SUNG D E, LEE J, HAN Y, et al. Effects of enzymatic hydrolysis of buckwheat protein on antigenicity and allergenicity [J]. Nutrition Research & Practice, 2014, 8(6): 278-283.
- [6] DURAZZO A, ZACCARIA M, POLITO A, et al. Lignan content in cereals, buckwheat and derived foods [J]. Foods, 2013, 2(1): 53-63.
- [7] 王安虎,谢平. 凉山地区荞麦资源、营养价值及其发展前景[J]. 园艺与种苗, 2006, 26(2): 147-149.
- [8] 向达兵,彭镰心,邹亮,等. 荞麦栽培研究进展[J]. 作物杂志, 2013(3): 1-6.
- [9] 范小君. 凉山州苦荞麦产业发展研究[D]. 雅安:四川农业大学, 2009.
- [10] 林巧,惠广萍,肖诗明,等. 凉山苦荞产业发展状况探究[J]. 南方农业, 2018(2): 105-109.
- [11] 王滨. 凉山:世界苦荞之都[J]. 黑龙江粮食, 2019(5): 41-44.
- [12] 齐杨菊,陈振江,李振霞,等. 荞麦病害研究进展[J]. 草业科学, 2020, 37(1): 75-86.
- [13] AJIEKCEBA E C, 李森,卢瑞芳. 提高荞麦的抗病性[J]. 国

外农学: 杂粮作物, 1992(5): 46-49.

- [14] 梁宇. 荞麦细菌性叶斑病病原鉴定[C]//中国植物病理学会. 中国植物病理学会 2014 年学术年会论文集. 北京:中国农业科学技术出版社, 2014.
- [15] LANE D J. 16S/23S rRNA sequencing [C]//STACKEBRANDT E, GOODFELLOW M. Nucleic acid techniques in bacterial systematics. Chichester, UK: Wiley, 1991: 115-175.
- [16] 谢关林,徐传雨,任小平. 稻谷病原细菌 *Pantoea agglomerans* 的特征化研究[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2001, 27(3): 317-320.
- [17] 廖映凯,罗吉,许芮涵,等. 四川地区藜麦叶斑病病原菌的分离及鉴定[J]. 江苏农业学报, 2021, 37(1): 60-66.
- [18] 王大会,蒋承耿,王忠宇,等. 一种烟草细菌性叶枯病病原鉴定及防治药剂筛选[J]. 中国烟草科学, 2021, 42(3): 65-70.
- [19] 黄荣,姚博,张玉娟,等. 成团泛菌 CQ10 脂多糖对紫花苜蓿种子萌发及苗期生长的影响[J]. 草地学报, 2021, 29(5): 965-971.

(责任编辑:杨明丽)