

高效液相色谱法测定兽用敌百虫的含量

赵英¹, 刘迎贵¹, 亚萍², 张平¹, 赵桂英¹

(1. 内蒙古自治区兽药监察所, 内蒙古呼和浩特 010010; 2. 内蒙古自治区药械站, 内蒙古呼和浩特 010010)

[收稿日期] 2004-09-13 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2005)03-0023-03 [中图分类号] TQ460.72

[摘要] 利用高效液相色谱法测定兽用敌百虫的含量。方法的线性范围为 0.4 ~ 3.6 mg/mL, 回归方程为 $y = 63\,700x - 347$, $r = 0.999\,9$, 变异系数 0.28% ($n = 6$)。该法与经典容量测定法比较, 节省了大量的试剂, 简化了操作程序, 得到了满意的结果。

[关键词] 高效液相色谱法; 敌百虫; 含量

敌百虫是一种长期使用的有机磷杀虫剂, 其化学名称为: 0,0-二甲基-2,2,2-三氯-1-羟基乙基磷酸酯。敌百虫制剂的含量分析常采用容量法和气相色谱法。由于容量法所用的试剂繁多, 敌百虫对热与碱不稳定, 对操作条件要求严格, 因此, 在实际操作中带来诸多不便; 而采用气相色谱法, 由于敌百虫遇高温分解的原因, 使得重现性差。鉴于上述情况, 笔者采用高效液相法测定敌百虫含量, 不仅简便、快速, 而且具有很好的精密度及稳定性。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪, 岛津 LC-10Avp, 检测器为 SPD-10Avp, 日本岛津公司产品。敌百虫对照品, 纯度 99.69%, 中国生物制品检定所提供。精制敌百虫粉, 批号为 20030401 和 20030630, 宁夏百草神农药有限公司生产; 敌百虫片, 批号为 20031018, 规格 0.3 g/片, 山东济兴兽药厂生产; 敌百虫片, 批号为 20030824, 规格 0.5 g/片, 陕西长江动物药业公司生产。甲醇为色谱纯, 冰醋酸为优级纯, 其他均为分析纯试剂, 重蒸馏水。

2 方法和结果

2.1 色谱条件的确定

2.1.1 流动相的选择 选择常用的甲醇-水体系。分别以甲醇-水体积比为 85:15、80:20、75:25、70:30、65:35、60:40 作为流动相进行试验, 同时考虑到敌百虫遇碱不稳定的特点, 在流动相中加入

0.1% 的冰醋酸^[1]。试验结果显示, 流动相的甲醇、水和冰醋酸比例为 65:35:0.1 时, 敌百虫的色谱峰峰形与保留时间最佳, 且此时的拖尾因子为 0.97, 符合分析要求。

2.1.2 检测波长的选择 在所选最佳流动相配比且其他测定条件均不变的情况下, 在 200 ~ 220 nm 之间, 每隔 5 nm 测定一个值, 测得最大吸收在 200 nm 左右。由于甲醇的截止波长为 210 nm, 且敌百虫在 210 nm 处有足够的灵敏度, 因此选 210 nm 为检测波长。

根据 2.1.1 和 2.1.2 项试验结果, HPLC 色谱条件设定为: 流动相为甲醇-水-冰醋酸, 其体积比为 65:35:0.1, 检测波长为 210 nm, 流速为 0.6 mL/min, 柱温为室温, 色谱柱为 Hypersil ODS 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)。在此条件下, 按敌百虫峰计算的理论塔板数约 4 500。

2.2 标准曲线 精密称取敌百虫对照品适量, 用流动相依次配成浓度为 0.4 ~ 4.0 mg/mL 的标准溶液, 在高效液相色谱仪上依次进样 10 μL。经计算求得回归方程 $y = 63\,700x - 347$, 线性范围在 0.4 ~ 3.6 mg/mL 之间, $r = 0.999\,9$ 。

2.3 测定方法

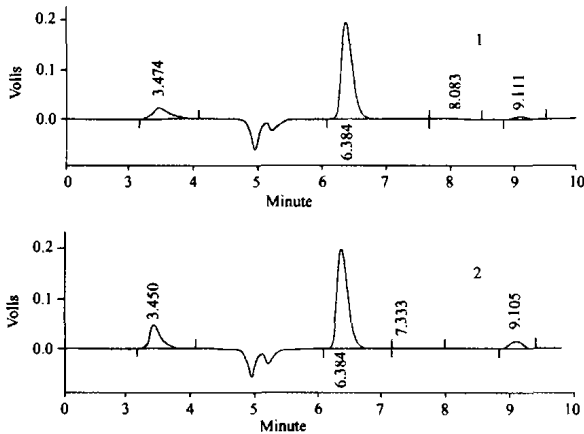
2.3.1 对照品溶液 精密称量敌百虫对照品 0.1 g, 置 50 mL 容量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3.2 供试品溶液 a 精密称量精制敌百虫粉约

0.1 g,与对照品溶液同法操作。

2.3.3 供试品溶液 b 取敌百虫片 10 片,精密称定,研细,精密称取一定量,准确加入一定体积的流动相,制成每 1 mL 含敌百虫 2 mg 的溶液,超声溶解 3 min 后过滤,取续滤液作为供试品溶液 b。

2.3.4 色谱分析 将对照品及供试品溶液注入色谱仪,按照色谱条件进行分析,根据峰面积计算样品占标示量的百分含量。对照品溶液与供试品溶液的色谱图见图 1。



1. 对照品溶液; 2. 供试品溶液

图 1 对照品和供试品溶液色谱图

2.4 稳定性试验 取 2.2 项下的标准溶液测试。在室温下放置 48 h 后再进行测试,其相对偏差为 1.0%,稳定性良好。

2.5 精密度试验 称取批号为 20030401 的精制敌百虫粉 6 份,按 2.3 项下方法操作,分别进行样品含量测定,并计算变异系数。测得结果见表 1。

表 1 方法精密度试验结果

样品	峰面积	测得结果/%	平均值/%	变异系数(CV)/%
1	2348278	96.73		
2	2318192	96.62		
3	2244494	96.90		
4	2263549	96.46	96.82	0.28
5	2335606	97.00		
6	2327132	97.21		

2.6 检测限试验 用流动相将 2 mg/mL 的敌百虫对照品溶液依次稀释成表 2 所列各浓度,按照色谱条件操作,仍然可得到较理想的峰面积。

表 2 检测限试验结果

浓度(mg/mL)	1	0.5	0.25	0.1	0.05
峰面积	504823	252117	124538	43025	20462

2.7 方法对照试验 照 2.3 项下的方法分别对兽用精制敌百虫粉与精制敌百虫片共 4 批样品进行方法对照试验,以原方法^[2]结果为标准与精密度试验比较,采用 t 检验法,选择 99% 的置信度为检验标准,通过统计处理,|t| = 3.28 < 4.03,说明差异不显著,该方法准确可靠。测定结果分别见表 3 和表 4。

表 3 HPLC 法和容量法测定精制敌百虫粉结果对照

批号	敌百虫含量/%			
	容量法		HPLC 法	
	测定值	平均值	测定值	平均值
20030401	96.93	97.00	97.38	97.28
	97.08		97.18	
20030630	97.79	97.76	98.16	97.93
	97.74		97.70	

表 4 HPLC 法和容量法测定敌百虫片含量对照

批号	规格 g/片	敌百虫含量/%			
		容量法		HPLC 法	
		测定值	平均值	测定值	平均值
20031018	0.3	45.47	45.08	46.40	46.58
		44.69		46.77	
20030824	0.5	72.60	72.91	74.13	73.86
		73.22		73.58	

注:表中含量数据为占标示量的百分含量。

3 讨论

采用两种方法对兽用敌百虫粉和片剂的含量进行了测定,测定结果显示,含量测定值无显著性差异。高效液相法简便易行,不仅有较高的精密度(变异系数 0.28%,标准偏差 0.27%,准确度也较高),而且在实际操作中无需考虑碱性物质和温度等因素的干扰,可真实地反映制剂中敌百虫的含量,有效地进行质量监控。

参考文献:

[1] 张建江. 敌百虫的高压液相色谱分析[J]. 岛津分析通讯, 2004, 1: 23-26.
 [2] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药规范一部 一九九二年版[S]. 76-78.

Determination of trichlorfon content by HPLC

ZHAO Ying¹, LIU Ying-gui¹, YA Ping², ZHANG Ping¹, ZHAO Gui-ying¹

(1. Inner Mongolia Institute of Animal Drug Control, Huhehote, Mongolia 010010;

2. Inner Mongolia Station of Medicinal Drugs and Apparatus, Huhehote, Mongolia 010010; China)

Abstract: A method was developed for the rapid determination of trichlorfon by HPLC. The linear range of standard curve was 0.4 ~ 3.6 mg/mL and the correlation coefficient was 0.999 9, the coefficient of variation was 0.28% ($n=6$). The HPLC method was simple, rapid, accurate and suitable for determining the content of trichlorfon.

Key words: trichlorfon; HPLC; content

农业部下发《2005年兽药管理工作要点》

为贯彻落实《兽药管理条例》，加强兽药管理，保证兽药质量，2005年1月18日，农业部以“农办医[2005]1号”文件下发《2005年兽药管理工作要点》。《要点》指出：2005年是全面贯彻新《兽药管理条例》的第一年，各地畜牧兽医行政管理部门要认真贯彻落实全国农业工作会议和畜牧兽医专业会议精神，根据《行政许可法》和《兽药管理条例》规定，进一步加强兽药管理工作，强化兽药生产、经营和使用的质量监管，推进兽药GMP改造，全面开展兽药地方标准的清理，开展新的行政许可审批工作，抓好畜产品中兽药残留监测，把兽药管理工作推上一个新台阶。

一、加快兽药立法进程：(一)完善《兽药管理条例》配套规章的制订。2005年，农业部计划完成《兽药监督管理办法》等十余部《兽药管理条例》配套规章的制修订工作。二、进一步推进兽药GMP工作：(二)完善规章制度建设，提高工作效率。通过建章立制，进一步完善GMP检查验收标准，建立廉洁自律等相关制度，提高工作质量和工作效率。(三)正确引导企业GMP改造，做好矛盾化解工作。农业部规定，自2006年1月1日起，兽药生产企业要全部实现兽药GMP管理，未通过GMP检查验收的企业一律停产。各地要区别不同情况，着力抓好兽药GMP实施工作。(四)强化对非GMP企业的管理。2006年7月1日起，非兽药GMP企业生产的兽药产品不得经营和使用。各地要做好宣传教育工作，加强对非兽药GMP企业的监管。(五)注意对GMP达标企业的管理。各地要注意加强对达标企业的日常监督检查工作。三、做好兽药标准制修订工作：(六)做好兽药地方标准清理工作。2005年农业部将全面组织开展地方标准清理工作。(七)完成第三版《中国兽药典》及其配套丛书的编制工作。2005年要完成第三版《中国兽药典》及其配套丛书《中药显微鉴别图谱》、《中药薄层色谱图谱》和《兽药使用规范》的定稿、出版和发行工作。四、进一步做好兽药质量抽检和兽药残留监测工作：(八)合理制订并实施兽药质量抽检计划和兽药残留监控计划。2005年农业部将适度调整全国兽药质量监督抽检计划和动物性产品中兽药残留监控计划，合理确定监督抽检重点和监控范围，加强对重点动物性产品的禁用兽药和常用兽药的残留监测。(九)推进质量抽检信息发布工作。2005年农业部将加大对不合格产品的公开曝光力度，充分发挥舆论监督和社会监督的作用。五、履行好《兽药管理条例》赋予的职责：(十)认真做好兽药行政审批。(十一)做好兽药质量检验工作。六、加强兽药监管工作：(十二)认真开展兽药打假及案件查处工作。农业部将全面部署打假治劣工作重点，加大对兽药生产、经营、使用环节的监督管理，对假劣兽药案件的查处要做到执法必严，违法必究。(十三)加强自身建设。2005年农业部将组织相关培训工作。(十四)落实责任制。各地要认真抓好责任制落实，严格实行“属地管理、分级负责”制度。