

含两个手性中心的三唑类杀菌剂色谱分离研究进展

唐守英, 王 飞, 孟秀柔, 张钰萍*

(贵州大学 精细化工研究开发中心, 绿色农药与农业生物工程国家重点实验室,
教育部绿色农药与生物工程重点实验室, 贵阳 550025)

摘 要: 三唑类杀菌剂是目前世界上广泛应用的杀菌剂, 而绝大多数三唑类杀菌剂属于手性农药, 具有 1 个或 2 个手性中心, 存在 2 个或 4 个对映异构体。本文在近年有关三唑类杀菌剂研究成果的基础上, 综述了采用高效液相色谱、超临界流体色谱、毛细管电泳、气相色谱和合相色谱法等方法对含两个手性中心的 11 种三唑类杀菌剂 (氟环唑、多效唑、三唑醇、联苯三唑醇、丙环唑、苯醚甲环唑、叶菌唑、苄氯三唑醇、环唑醇、糠菌唑和乙环唑) 进行分离测定的研究进展, 可为多个手性中心三唑类化合物的分离、分析和深入研究提供参考。

关键词: 手性农药; 多手性中心; 三唑类杀菌剂; 色谱分离; 研究进展

中图分类号: S482.2; TQ450.2

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2021)04-0617-11

Research progress in chromatographic separation of triazole fungicides containing two chiral centers

TANG Shouying, WANG Fei, MENG Xiurou, ZHANG Yuping*

(Guizhou University Fine Chemical Research and Development Center, State Key Laboratory of Green Pesticides and Agricultural Biotechnology, Key Laboratory of Green Pesticide and Biological Engineering, Ministry of Education, Guiyang 550025, China)

Abstract: Triazole fungicides are widely used fungicides in the world. The vast majority of triazole fungicides are chiral pesticides with one or two chiral centers and two or four enantiomers. Based on the research results of triazole fungicides in recent years, this article summarized the chromatographic methods such as high performance liquid chromatography, supercritical fluid chromatography, capillary electrophoresis, gas chromatography, and convergence chromatography for the chiral analysis of 11 triazole fungicides with two chiral centers including epoxiconazole, paclobutrazol, triadimenol, bitertanol, propiconazole, difenoconazole, metconazole, diclobutrazol, cyproconazole, bromuconazole, and etaconazole. The research progress in the separation and determination of triazoles with different chiral centers can provide references for the separation, analysis, and in-depth study of triazole compounds with multiple chiral centers.

Keywords: chiral pesticide; multi-chiral center; triazole fungicides; chromatographic separation; research progress

收稿日期: 2020-10-16; 录用日期: 2021-01-16.

基金项目: 国家重点研发计划子课题 (2016YFD0200206-3); 国家自然科学基金 (21866009, 21667007).

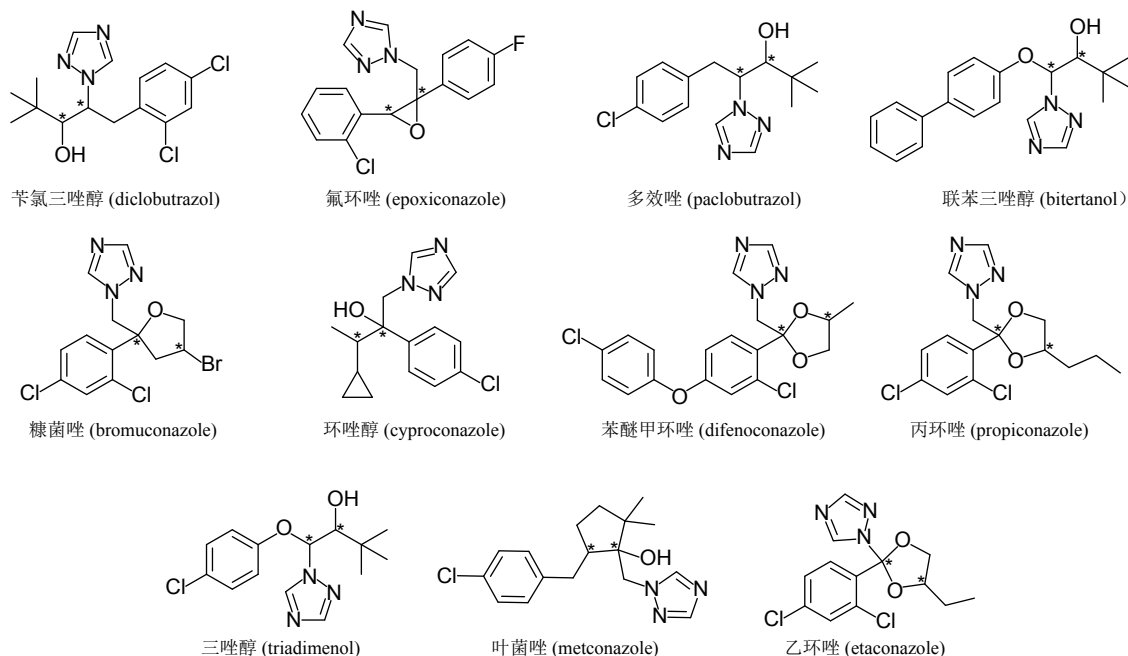
作者简介: 唐守英, 女, 硕士研究生, E-mail: 1261718747@qq.com; *张钰萍, 通信作者 (Author for correspondence), 女, 副教授, 主要从事农药残留分析与环境行为研究, E-mail: zhangyupinggz@163.com

据统计, 中国市场上的手性农药比例约占 40%, 并且比例还在不断上升^[1]。目前, 大部分手性农药仍以外消旋体形式生产和销售。手性农药的不同对映异构体之间往往存在活性或毒性的差异, 其使用进入到环境后在吸收、分布、降解和代谢方面均有可能存在立体选择性, 其中一种异构体可能存在高活性且低毒性。因此, 使用高活性的异构体会对生态环境更友好。获得单一异构体是从对映体水平展开研究的基础。目前获得单一异构体主要有天然提取法和外消旋体分离两种方法^[2], 其中天然提取法主要用于获得生物体内特有的单一异构体, 如糖类、氨基酸、生物碱等; 外消旋体的拆分主要用于化学合成的手性农药, 而色谱技术则是对外消旋体进行快速拆分的理想方式。现如今, 用于手性农药拆分的色谱技术主要有高效液相色谱 (HPLC)、毛细管电泳 (CE)、超临界流体色谱 (SFC) 和气相色谱 (GC) 等。

三唑类杀菌剂具有杀菌谱广、活性高、杀菌速度快、持效期长及内吸传导性强等特点, 在农业生产中应用广泛^[3]。目前, 在中国已商品化的三唑类杀菌剂有 30 余种, 其中除三环唑和氟硅唑不

含手性中心外, 有 18 种含有 1 个手性中心, 11 种含有 2 个手性中心, 以及 1 种 (种菌唑) 含有 3 个手性中心^[4], 而有关种菌唑对映异构体的拆分研究还未见报道。2009 年, 张艳川等^[5]对三唑类杀菌剂手性分离进行了综述, 但由于时间较早, 很多含两个手性中心的三唑类杀菌剂如苯醚甲环唑、联苯三唑醇、叶菌唑、苄氯三唑醇的手性分离情况尚未见报道。2019 年, 崔璇等^[1]对农产品中残留的手性农药对映体的色谱分析研究进展进行了综述, 梳理了农产品中手性农药残留分析方法。以上两篇报道均未对含有两个手性中心的三唑类杀菌剂对映异构体的色谱分离条件及分离结果进行系统的归类整理和总结。鉴于此, 本文拟对国内外近年来研究较多的 11 种含有 2 个手性中心的三唑类杀菌剂对映异构体的色谱分离条件及结果进行综述, 旨在为三唑类手性农药的进一步研发提供参考, 为多手性中心的三唑类手性农药的分离分析和深入研究提供参考方法。

11 种化合物的结构式见图式 1, 其异构体活性差异等信息见表 1。



图式 1 11 种含两个手性中心的三唑类杀菌剂的化学结构式

Scheme 1 Structural formula of 11 triazole fungicides with two chiral centers

手性固定相是手性农药进行手性识别和分离的关键, 本文提到的色谱分离中所用到的手性柱的具体信息见表 2。

1 高效液相色谱法

高效液相色谱法 (HPLC) 是三唑类手性农药对

表 1 11 种含两个手性中心的三唑类杀菌剂基本信息

Table 1 Basic information of 11 triazole fungicides with two chiral centers			
杀菌剂 Pesticide	CAS号 CAS number	对映体抑菌活性 Biological activity of enantiomers	参考文献 Reference
氟环唑 epoxiconazole	135319-73-2	(<i>R</i> , <i>S</i>)-体是 (<i>S</i> , <i>R</i>)-体的1.3~7.25倍 (<i>R</i> , <i>S</i>)-epoxiconazole is 1.3-7.25 times of (<i>S</i> , <i>R</i>)-epoxiconazole	[6]
多效唑 paclobutrazol	76738-62-0	(<i>R</i> , <i>R</i>)-体 > (<i>S</i> , <i>R</i>)-体 > (<i>R</i> , <i>S</i>)-体≈(<i>S</i> , <i>S</i>)-体, (<i>S</i> , <i>S</i>)-体植物生长调节作用最强 (<i>R</i> , <i>R</i>)- > (<i>S</i> , <i>R</i>)- > (<i>R</i> , <i>S</i>)- ≈ (<i>S</i> , <i>S</i>)-paclobutrazol, the growth regulation of (<i>S</i> , <i>S</i>)- paclobutrazol was the strongest)	[7]
三唑醇 triadimenol	55219-65-3	(<i>S</i> , <i>R</i>)-体是 (<i>R</i> , <i>S</i>)-体、(<i>R</i> , <i>R</i>)-体、(<i>S</i> , <i>S</i>)-体的1 000多倍 (<i>S</i> , <i>R</i>)-triadimenol is more than 1000 times of (<i>R</i> , <i>S</i>)-, (<i>R</i> , <i>R</i>) - and (<i>S</i> , <i>S</i>)- triadimenol.	[8]
联苯三唑醇 bitertanol	55179-31-2	(<i>S</i> , <i>R</i>)-体比其他异构体抗真菌生物活性强4.3~314.7倍 The antifungal activity of (<i>S</i> , <i>R</i>)-bitertanol was 4.3-314.7 times stronger than that of other stereoisomers	[9]
丙环唑 propiconazole	60207-90-1	活性不同靶标活性最大相差23.47倍, (<i>2R</i> -体的植物生长调节作用比 <i>2S</i> -体强) The activity of different targets was 23.47 times higher than that of <i>2R</i> -enantiomers (<i>2R</i> -enantiomershas stronger plant growth regulation than <i>2S</i> -enantiomers)	[10]
苯醚甲环唑 difenoconazole	119446-68-3	(<i>R</i> , <i>S</i>)-体 > (<i>R</i> , <i>R</i>)-体 > (<i>S</i> , <i>R</i>)-体 > (<i>S</i> , <i>S</i>)-体 (<i>R</i> , <i>S</i>)- > (<i>R</i> , <i>R</i>)- > (<i>S</i> , <i>R</i>)- > (<i>S</i> , <i>S</i>)-difenoconazole	[11]
叶菌唑 metconazole	125116-23-6	(<i>S</i> , <i>R</i>)-体为活性体 (<i>S</i> , <i>R</i>)-metconazole are active bodies	[12]
苄氯三唑醇 diclobutrazol	75736-33-3	(<i>R</i> , <i>R</i>)-体远高于 (<i>R</i> , <i>S</i>)-、(<i>S</i> , <i>R</i>)-、(<i>S</i> , <i>S</i>)-体 The activity of (<i>R</i> , <i>R</i>)-diclobutrazol was much higher than that of (<i>R</i> , <i>S</i>)-, (<i>S</i> , <i>R</i>)- and (<i>S</i> , <i>S</i>)- diclobutrazol	[13]
环唑醇 cyproconazole	94361-06-5	(<i>S</i> , <i>S</i>)-体 > 立体异构体混合物 > (<i>S</i> , <i>R</i>)-体 > (<i>R</i> , <i>R</i>)-体 > (<i>R</i> , <i>S</i>)-体 (<i>S</i> , <i>S</i>)- > racemic > (<i>S</i> , <i>R</i>)- > (<i>R</i> , <i>R</i>)- > (<i>R</i> , <i>S</i>)-cyproconazol	[14]
糠菌唑 bromuconazole	116255-48-2	未见报道 Not reported	-
乙环唑 etaconazole	60207-93-4	(<i>S</i> , <i>R</i>)-体远高于 (<i>R</i> , <i>S</i>)-、(<i>R</i> , <i>R</i>)-、(<i>S</i> , <i>S</i>)-体 The activity of (<i>S</i> , <i>R</i>)-etaconazole was much higher than that of (<i>R</i> , <i>S</i>)-, (<i>R</i> , <i>R</i>)- and (<i>S</i> , <i>S</i>)- etaconazole	[15]

表 2 手性色谱柱基本信息

Table 2 Basic information about chiral columns			
固定相 Stationary phase	类型 Type	商品名 Trade name	生产公司 Company
纤维素-三 (3, 5-二甲苯基氨基甲酸酯) Cellulose-tris (3, 5-dimethyl phenyl carbamate), CDMPC	涂敷型 Coating type	Chiralcel OD	Daicel
		Enantiopak OD	Guangzhou Yanchuang Biotechnology Development Co., Ltd
	键合型 Bond type	Chiralpak IB	Daicel
		Lux-cellulose-1	Phenomenex
直链淀粉-三 (3, 5-二甲苯基氨基甲酸酯) Amylose-tris (3, 5-dimethyl phenyl carbamate), ADMPC	涂敷型 Coating type	Chiralcel AD-H	Daicel
		Enantiopak AD	Guangzhou Yanchuang Biotechnology Development Co., Ltd
	键合型 Bond type	Chiralpark IA-3	Daicel
		Lux-cellulose-3	Phenomenex
纤维素-三 (4-甲基苯基甲酸酯) Cellulose-tris (4-methyl-phenyl formate), CTMB	涂敷型Coating type	Chiralcel OJ Sino-ChiralOJ	Daicel Daicel
直链淀粉-三[S- α -乙苯基氨基甲酸酯] Amylose-tris [S- α - ethyl phenyl carbamate], ATEPC	涂敷型 Coating typ	Chiralpak AS-H	Daicel
直链淀粉-三 (3-氯-5-甲基苯基氨基甲酸酯) Amylose-tris (3-chloro-5-methyl phenyl carbamate), ACMPC	键合型 Bond type	Chiralcel IG	Daicel
纤维素-三 (3-氯-4-甲基苯基氨基甲酸酯) Cellulose-tris (3-chloro-4-methyl phenyl carbamate), CCMPC	键合型 Bond type	Lux-cellulose-2	Phenomenex
直链淀粉-三 (5-氯-2-甲基苯基氨基甲酸酯) Amylose-tris (5-chloro-2-methyl phenyl carbamate)	键合型 Bond type	Lux Amylose-2	Phenomenex
20%三-丁基二甲基硅烷基- β -环糊精 20% tris-butyl dimethylsilyl β -cyclodextrin	毛细管 Capillary	BGB 172	BGB

映体拆分的主要方法,多使用紫外检测器(UV)和二极阵列检测器(DAD)。为了得到更灵敏的检测信号,高效液相色谱也常与质谱联用。高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)具有灵敏度高、分辨率高、重现性好等优点,在农药残留检测中得到了广泛的应用。研究表明,在采用HPLC法拆分三唑类手性农药时,多糖手性固定相(chiral stationary phase, CSP)应用较为广泛,其中,Chiralcel OD和Chiralcel OJ两种手性柱应用最多^[5]。

1.1 正相色谱法

采用HPLC-UV法对含有两个手性中心的三唑类杀菌剂进行拆分,大多是在正相液相色谱条件下进行,一般以正己烷为流动相主体,用乙醇和异丙醇调节流动相的极性。其特点是异构体在检测器中不被破坏,流动相中成分容易浓缩,非常适用于异构体的分析、制备。

采用正相色谱法拆分含有两个手性中心的三唑类杀菌剂可分为3种情况:第一,只含有一对对映体,拆分时只涉及到2个对映体的分离,如氟环唑和多效唑;第二,为4个对映异构体的外消旋体混合物,现有的正相色谱分离技术还不能在某种手性柱上完全拆分4个对映异构体,但能将其拆分成两对对映体,如三唑醇和联苯三唑醇;第三,由4个对映异构体组成,且都能成功拆分,如丙环唑、苯醚甲环唑和叶菌唑;目前,尚未见采用正相色谱法拆分苯氯三唑醇、环唑醇、糠菌唑和乙环唑的报道。

1.1.1 氟环唑和多效唑 1985年,巴斯夫公司创制了氟环唑,其分子中含有2个手性中心,存在4个对映异构体,但是商品化的氟环唑中只包含(2*R*, 3*S*)-(+)-氟环唑和(2*S*, 3*R*)-(-)-氟环唑两个对映体。2008—2010年,韩小茜等^[16-17]研究发现,以正己烷和异丙醇为流动相在Chiralcel OD-H和Chiralcel OJ-H柱上拆分氟环唑能达到基线分离。2008年,常静等^[18]在Chiralcel AD-H柱上基线分离了氟环唑,且最佳分离的流动相为 $V(\text{正己烷}):V(\text{无水乙醇})=70:30$ 。具体分离条件及分离度见表3。

商品化的多效唑由(2*R*, 3*R*)-(+)-多效唑和(2*S*, 3*S*)-(-)-多效唑一对对映体组成。2008年,武彤等^[19]利用Chiralcel OD-H和Chiralcel OJ-H手性柱拆分了多效唑。结果表明,Chiralcel OJ-H柱拆分效果比Chiralcel OD-H柱好,色谱分离条件及分离度

见表3。

1.1.2 三唑醇和联苯三唑醇 2008年,曹巧^[20]研究发现,三唑醇外消旋体在Chiralpak AS-H柱上能将其4个对映异构体分开,但是第二、三峰未能达到基线分离。以 $V(\text{正己烷}):V(\text{乙醇})=95:5$ 为流动相,其保留时间分别为7.172、7.917、8.729和9.330 min,三唑醇的流出顺序依次为(1*R*, 2*S*)-(+)-、(1*S*, 2*R*)-(-)-、(1*R*, 2*R*)-(+)-和(1*S*, 2*S*)-(-)-三唑醇。随后,Dong等^[8]在Chiralpak AS-H柱上也以正己烷和乙醇为流动相,发现三唑醇的出峰顺序与曹巧的相同。为满足研究需要,研究人员将反式三唑醇对映体称为三唑醇-A,即(1*R*, 2*S*)和(1*S*, 2*R*),顺式三唑醇对映体称为三唑醇-B,即(1*R*, 2*R*)和(1*S*, 2*S*)。2012年,曹雅虹^[21]先在非手性硅胶柱上把三唑醇拆分为三唑醇-A和三唑醇-B,再分别在手性柱上对三唑醇-A和三唑醇-B进行了拆分。以 $V(\text{正己烷}):V(\text{异丙醇})=100:3$ 为流动相,三唑醇-A在Chiralcel OD-H柱上得到基线分离,且(1*R*, 2*S*)-(+)-三唑醇先于(1*S*, 2*R*)-(-)-三唑醇出峰;三唑醇-B在Chiralcel OJ-H柱上取得很好的分离效果,(1*R*, 2*R*)-(+)-三唑醇先于(1*S*, 2*S*)-(-)-三唑醇出峰。正相色谱法分离三唑醇的色谱条件及分离度见表3。

同年,武彤等^[19]利用Chiralcel OD-H和Chiralcel OJ-H手性柱拆分了联苯三唑醇,结果只能实现联苯三唑醇两对对映体的基线拆分,且Chiralcel OJ-H柱拆分效果较好。色谱分离条件及分离度见表3。

1.1.3 丙环唑、苯醚甲环唑和叶菌唑 目前尚未确定丙环唑4个对映异构体的旋光性与绝对构型的关系。为了方便研究,程有普^[10]根据丙环唑制剂及标准品中两对对映体的含量,将丙环唑顺式对映体定义为A体,包括(2*R*, 4*S*)和(2*S*, 4*R*);反式对映体定义为B体,包括(2*R*, 4*R*)和(2*S*, 4*S*);并将A体标记为(+)-丙环唑A,(-)-丙环唑A;B体标记为(+)-丙环唑B,(-)-丙环唑B。2003—2014年,Li等^[22]、Bi等^[23]、Zhou等^[24]和程有普^[10]分别报道了在正相色谱条件下拆分丙环唑,且丙环唑4个对映异构体在Chiralcel OD柱上拆分效果较好。其中,程有普^[10]发现在Chiralcel OD-H柱上,丙环唑4个对映异构体的出峰顺序为:(+)-丙环唑A、(-)-丙环唑B、(+)-丙环唑B、(-)-丙环唑A,在Chiralpak AD-H柱上依次为(+)-丙

表 3 正相色谱法分离检测三唑类手性农药

Table 3 Separation and detection of chiral triazole pesticides by normal phase chromatography

农药 Pesticide	手性柱 Chiral column	流动相 (体积比) Mobile phase (V/V)	流速 Flow rate/ (mL/min)	柱温 Column temperature/ ℃	检测波长 Wavelength/ nm	分离度 Resolution R_{S12} , R_{S23} , R_{S34}	参考文献 Reference
氟环唑 ^a epoxiconazole ^a	Chiralcel OD-H	正己烷/异丙醇 (80 : 20) <i>n</i> -hexane/isopropanol (80 : 20)	0.5	室温 Room	254	5.88	[16]
	Chiralcel OJ-H	正己烷/异丙醇 (60 : 40) <i>n</i> -hexane/isopropanol (60 : 40)	0.5	室温 Room	254	1.98	[17]
	Chiralcel AD-H	正己烷/乙醇 (70 : 30) <i>n</i> -hexane/ethanol (70 : 30)	0.5	室温 Room	254	4.52	[18]
多效唑 ^a paclobutrazol ^a	Chiralcel OD-H	正己烷/异丙醇 (100 : 2) <i>n</i> -hexane/isopropanol (100 : 2)	0.8	20	225	1.84	[19]
	Chiralcel OJ-H	正己烷/异丙醇 (10 : 1) <i>n</i> -hexane/isopropanol (10 : 1)	0.8	20	225	4.05	[19]
三唑醇 triadimenol	Chiralpak AS-H	正己烷/乙醇 (95 : 5) <i>n</i> -hexane/ethanol (95 : 5)	1.0	25	225	2.28, < 1.5, 1.88	[20]
三唑醇-A atriadimenol-A	Chiralcel OD-H	正己烷/异丙醇 (100 : 3) <i>n</i> -hexane/isopropanol (100 : 3)	1.0	30	225	3.25	[21]
	Chiralcel OJ-H	正己烷/异丙醇 (100 : 3) <i>n</i> -hexane/isopropanol (100 : 3)	1.0	30	225	3.79	[21]
三唑醇-B btriadimenol-B	Chiralcel OD-H	正己烷/异丙醇 (100 : 3) <i>n</i> -hexane/isopropanol (100 : 3)	1.0	30	225	0.79	[21]
	Chiralcel OJ-H	正己烷/异丙醇 (100 : 3) <i>n</i> -hexane/isopropanol (100 : 3)	1.0	30	225	2.08	[21]
联苯三唑醇 ^b bitertanol ^b	Chiralcel OD-H	正己烷/异丙醇 (100 : 3) <i>n</i> -hexane/isopropanol (100 : 3)	0.8	20	254	1.52	[19]
	Chiralcel OJ-H	正己烷/异丙醇 (10 : 1) <i>n</i> -hexane/isopropanol (10 : 1)	0.8	20	254	3.70	[19]
丙环唑 propiconazole	Chiralcel OD-H	正己烷/乙醇 (95 : 5) <i>n</i> -hexane/ethanol (95 : 5)	0.6	25	220	6.67, 4.06, 2.05	[10]
	Chiralcel AD-H	正己烷/乙醇 (95 : 5) <i>n</i> -hexane/ethanol (95 : 5)	0.6	25	220	4.97, 2.94, 2.24	[10]
	Chiralcel OD	正己烷/异丙醇 (90 : 10) <i>n</i> -hexane/isopropanol (90 : 10)	0.4	10	230	5.25, 3.98, 2.40	[24]
苯醚甲环唑 difenoconazole	Chiralcel OJ	正己烷/乙醇 (90 : 10) <i>n</i> -hexane/ethanol (90 : 10)	0.5	10	230	1.32, 0.88, 4.30	[24]
	Chiralpak IB-3	甲醇和正己烷梯度 methanol and <i>n</i> -hexane gradient	—	—	—	1.62, 1.59, 1.56	[4]
苯醚甲环唑及代谢物 difenoconazole and metabolin	Chiralcel OJ-H	正己烷/乙醇 (90 : 10) <i>n</i> -hexane/ethanol (90 : 10)	0.8	20	220	2.01, 1.66, 2.21, 1.76, 7.07	[11]
叶菌唑 metconazole	Enantiopak AD	正己烷/乙醇 (97 : 3) <i>n</i> -hexane/ethanol (97 : 3)	1.0	25	220	3.91, 2.05, 1.51	[12]
	Enantiopak OD	正己烷/乙醇 (97 : 3) <i>n</i> -hexane/ethanol (97 : 3)	1.0	25	220	2.37, 2.43, 4.55	[12]

注：^a 商品化农药只含一对对映异构体；^b 4 个对映异构体只能分成两对对映异构体。三唑醇-A 为一对反式三唑醇对映体，三唑醇-B 为一对顺式三唑醇对映体。

Note : ^a Commercial pesticides contained only one pair of enantiomers. ^b The four enantiomers could only be separated into two pairs. Triadimenol-A is a pair of *trans*-enantiomers, and triadimenol-B is a pair of *cis*-enantiomers.

环唑 B、(-)-丙环唑 B、(-)-丙环唑 A、(+)-丙环唑 A，且在 2 种手性柱上丙环唑 4 个对映异构体均实现了基线分离。丙环唑在 Chiralcel OD、Chiralcel OD-H 和 Chiralcel AD-H 柱上典型的分离条件及分离度见表 3。

此外，Zhou 等^[24]、李晶^[11] 和 Dong 等^[25] 研究表明，正相条件下，苯醚甲环唑在 Chiralcel OD

柱上没能拆分，而在 Chiralcel OJ-H 柱上以正己烷和乙醇为流动相的拆分效果比其在 Chiralcel OD 柱上好，洗脱顺序为 (2*R*, 4*R*)、(2*R*, 4*S*)、(2*S*, 4*R*)、(2*S*, 4*S*)-苯醚甲环唑^[25]。贺敏^[4] 利用超高效液相色谱-串联质谱法 (UPLC-MS/MS) 以正己烷和甲醇梯度洗脱，在 Chiralpak IB-3 柱上实现了苯醚甲环唑 4 个对映异构体的基线分离；出峰顺序分别

为 (2*R*, 4*R*)、(2*S*, 4*S*)、(2*S*, 4*R*)、(2*R*, 4*S*)-苯醚甲环唑, 保留时间分别为 5.96、6.38、6.82、7.37 min。分离度见表 3。2018 年, He 等^[12] 采用 Enantiopak OD 和 Enantiopak AD 柱成功拆分了叶菌唑 4 个对映异构体, 分离度均大于 1.5。

1.2 反相色谱法

反相色谱系统的流动相以水为主体, 以甲醇、乙腈等调节流动相的极性。根据报道, 反向色谱法拆分含两个手性中心的三唑类杀菌剂多是用质谱做检测器, 通常使用 HPLC-MS/MS 或 UPLC-MS/MS 技术分析。为了提高质谱信号, 流动相中经常加入少量甲酸、乙酸、醋酸铵等调节 pH 值。

采用反相色谱法拆分含两个手性中心的三唑类杀菌剂可分为 4 种情况: 第一, 只含有一对对映体, 如氟环唑和多效唑; 第二, 对于含有 4 个对映异构体的外消旋体混合物, 反相色谱分离技术能将其拆分成两对对映体, 如苄氯三唑醇; 第三, 能够实现 4 个对映异构体的基线分离, 如三唑醇、联苯三唑醇、丙环唑、环唑醇和糠菌唑; 第四, 没有完全实现 4 个对映异构体的基线分离, 如苯醚甲环唑。上述 9 种杀菌剂的色谱分离条件及分离度见表 4。特别的是, 在反相系统下能成功拆分正相色谱法无法完成 4 个对映异构体拆分的 3 种杀菌剂 (三唑醇、联苯三唑醇和环唑醇), 但是尚未见采用反相色谱法成功拆分乙环唑和叶菌唑的报道。

1.2.1 氟环唑和多效唑 在反相色谱条件下, 氟环唑和多效唑能在多种固定相中实现基线分离。如韩小茜等^[16]、Zhang 等^[26]、李远播^[27]、梁宏武^[28]、Chen 等^[29]、Kaziem 等^[6] 和 Qi 等^[30] 采用 CDMPC 固定相成功拆分了氟环唑和多效唑, 结果均为 (2*S*, 3*R*)-(-)-氟环唑先于 (2*R*, 3*S*)-(+)-氟环唑出峰; (2*R*, 3*R*)-(+)-多效唑先于 (2*S*, 3*S*)-(-)-多效唑出峰。此外, Zhang^[26] 还在 CCMPC 固定相中成功拆分了氟环唑和多效唑。Zhao 等^[31-32] 和 Matias 等^[33] 在 ACMPC 固定相中也成功拆分了氟环唑和多效唑。采用反相色谱法拆分氟环唑和多效唑的分离条件及分离度见表 4。

1.2.2 苄氯三唑醇 目前, 采用反相色谱法尚未实现对苄氯三唑醇 4 个对映异构体的完全拆分, 但是能将其拆分成两对对映体。2012 年, Zhang 等^[26] 采用反相 HPLC-MS/MS 法研究发现, 苄氯三唑醇 4 个对映异构体在 Lux cellulose-1 和 Lux

amylose-2 柱上均只能拆分成两对对映体, 分离条件及分离度见表 4。

1.2.3 三唑醇、联苯三唑醇、丙环唑、环唑醇和糠菌唑 环唑醇、丙环唑、三唑醇、联苯三唑醇和糠菌唑在反相色谱条件下均能够实现 4 个对映异构体的基线拆分。2006 年, Buerge 等^[34] 在由纯多孔硅胶微球制成的 Zorbax Rx-C₁₈ 柱 [25 cm × 4.6 mm (*i.d.*)] 上分离了环唑醇, 以 $V(\text{水}):V(\text{乙腈}):V(\text{甲醇}) = 55:35:10$ 为流动相, 在 11.25~12.00 min 处收集提取 A 组分, 在 12.75~13.75 min 收集提取 B 组分。2012 年, Zhang 等^[26] 在 4 种手性柱 (Lux cellulose-1、Lux cellulose-2、Lux cellulose-3、Lux amylose-2) 上研究了环唑醇、丙环唑、糠菌唑、三唑醇和联苯三唑醇的拆分。结果发现, 以上 5 个化合物的 4 个对映异构体均能实现基线分离, 分离条件及分离度见表 4。之后, 李远播^[27] 利用超高效液相色谱-串联四极杆液质联用仪 (Acquity UPLC-TQD) 在 Chiralpak OD-RH 柱上以 $V(\text{乙腈}):V(2 \text{ mmol/L 乙酸铵水溶液}) = 55:45$ 为流动相拆分了三唑醇。结果表明, 三唑醇 4 个对映异构体的出峰顺序依次为 (1*S*, 2*R*)-(-)-三唑醇、(1*R*, 2*S*)-(+)-三唑醇、(1*S*, 2*S*)-(-)-三唑醇、(1*R*, 2*R*)-(+)-三唑醇。2020 年, Li 等^[9] 采用 UPLC-MS/MS 技术, 在 Chiralcel OD-3R 手性柱上实现了联苯三唑醇手性异构体的基线分离。

1.2.4 苯醚甲环唑 采用反向色谱系统尚未实现对苯醚甲环唑 4 个对映异构体的基线分离。Zhang 等^[26] 采用 Lux cellulose-3 手性柱对苯醚甲环唑进行了分离, 其分离度为 1.48、1.18 和 1.25。Matias 等^[33] 在 Chiralpak IG-3 柱上拆分苯醚甲环唑, 发现第一和第二峰没有基线分离, 但第二、三、四峰均获得了基线分离, 分离度为 <1.00、2.95 和 3.95。

2 超临界流体色谱法

超临界流体色谱 (supercritical fluid chromatography, SFC) 作为一种绿色的色谱分离技术, 也被用于含两个手性中心的三唑类杀菌剂的分离。超临界二氧化碳流体的黏度接近于气体, 密度接近于液体, 溶质的传质阻力小, 传质速度快, 具有高效、快速的特点, 但超临界 CO₂ 极性较弱, 在色谱分离中需加入一定量的极性溶剂以提高洗脱强度和选择性。

表 4 反相色谱法分离检测三唑类手性农药

Table 4 Separation and detection of triazole chiral pesticides by reversed-phase chromatography

农药 Pesticide	手性柱 Chiral column	流动相(体积比) Mobile phase/(V/V)	流速 Flow rate/ (mL/min)	柱温 Column temperature/°C	分离度 Resolution R_{S12} , R_{S23} , R_{S34}	参考文献 Reference
氟环唑 ^b epoxiconazole ^b	Chiralcel OD-H	甲醇/水 (80 : 20) Methanol/water (80 : 20)	0.5	室温 (Room)	6.50	[16]
	Lux Cellulose-1	乙腈/0.1%甲酸水溶液 (60 : 40) Acetonitrile/0.1% formic acid aq. (60 : 40)	0.2	25	9.05	[26]
	Lux Cellulose-2	甲醇/0.1%甲酸水溶液 (70 : 30) Methanol/0.1% formic acid aq. (70 : 30)	0.2	25	14.00	[26]
	Lux Cellulose-2	乙腈/0.1%甲酸水溶液 (60 : 40) Acetonitrile/0.1% formic acid aq. (60 : 40)	0.2	25	17.6	[26]
	Chiralcel OD-3R	乙腈/0.05%甲酸水溶液 (60 : 40) Acetonitrile/0.05% formic acid aq. (60 : 40)	0.25	30	10.96	[29]
	Lux-Cellulose-1	乙腈/水 (70 : 30) Acetonitrile/water (70 : 30)	0.3	20	10.45	[28]
	Chiralpak IG	乙腈/0.05%甲酸水溶液和5 mmol/L醋酸铵 (53 : 47) Acetonitrile/0.05% formic acid aq. and 5 mmol/L ammonium acetate (53 : 47)	0.25	30	3.21	[31]
	Chiralpak IG-3	乙腈/0.1%二乙胺和1.1%三氟乙酸水溶液 (80 : 20) Acetonitrile/0.1% diethylamine and 1.1% trifluoroacetic acid aq. (80 : 20)	1.0	20	3.25	[33]
	Lux Cellulose-1	乙腈/水 (55 : 45) Acetonitrile/water (55 : 45)	0.6	30	12.03	[35]
	Chiralcel OD	乙腈/水 (50 : 50) Acetonitrile/water (50 : 50)	0.8	25	9.23	[36]
多效唑 ^b paclobutrazol ^b	Lux Cellulose-1	甲醇/0.1%甲酸水溶液 (70 : 30) Methanol/0.1% formic acid aq. (70 : 30)	0.2	25	1.77	[26]
	Lux Cellulose-2	乙腈/0.1%甲酸水溶液 (50 : 50) Acetonitrile/0.1% formic acid aq. (50 : 50)	0.2	25	1.80	[26]
	Lux Amylose-2	乙腈/0.1%甲酸水溶液 (60 : 40) Acetonitrile/0.1% formic acid aq. (60 : 40)	0.2	25	1.54	[26]
	Chiralpak AD-RH	甲醇/水 (70 : 30) Methanol/water (70 : 30)	0.45	25	2.48	[27]
	Lux Amylose-2	乙腈/水 (55 : 45) Acetonitrile/water (55 : 45)	0.25	25	2.23	[27]
三唑醇 triadimenol	Lux Cellulose-1	甲醇/0.1%甲酸水溶液 (50 : 50) Methanol/0.1% formic acid aq. (50 : 50)	0.2	35	1.52, 3.02, 1.51	[26]
	Lux Cellulose-1	甲醇/水 (75 : 25) Methanol/water (75 : 25)	0.5	室温 Room	1.26, 1.44, 2.41	[29]
	Lux Cellulose-1	甲醇/水 (60 : 40) Methanol/water (60 : 40)	0.5	室温 Room	1.45, 2.73, 2.16	[29]
联苯三唑醇 bitertanol	Lux Cellulose-1	乙腈/0.1%甲酸水溶液 (45 : 55) Acetonitrile/0.1% formic acid aq. (60 : 40)	0.2	25	1.54, 4.33, 9.08	[26]
丙环唑 propiconazole	Lux Cellulose-2	甲醇/0.1%甲酸水溶液 (60 : 40) Methanol/0.1% formic acid aq. (60 : 40)	0.2	40	2.00, 2.20, 1.55	[26]
苯醚甲环唑 difenoconazole	Lux Cellulose-3	乙腈/0.1%甲酸水溶液(30 : 70) Acetonitrile/0.1% formic acid water (30 : 70)	0.2	25	1.48, 1.18, 1.25	[26]
	Chiralpak IG-3	甲醇/三氟乙酸/二乙胺 (100 : 0.1 : 0.3) Methanol/trifluoroacetic acid /diethylamine (100 : 0.1 : 0.3)	1	20	<1.00, 2.95, 3.95	[33]
苄氯三唑醇 ^a diclobutrazol ^a	Lux Cellulose-1	甲醇/0.1%甲酸水溶液 (70 : 30) Methanol/0.1% formic acid aq. (70 : 30)	0.2	25	2.02	[26]
	Lux Cellulose-1	乙腈/0.1%甲酸水溶液 (50 : 50) Acetonitrile/0.1% formic acid aq. (50 : 50)	0.2	25	1.93	[26]
	Lux Amylose-2	乙腈/0.1%甲酸水溶液 (70 : 30) Acetonitrile/0.1% formic acid aq. (70 : 30)	0.2	25	2.69	[26]
环唑醇 cyproconazole	Lux Cellulose-1	乙腈/0.1%甲酸水溶液 (45 : 55) Acetonitrile/0.1% formic acid aq. (45 : 55)	0.2	25	3.10, 1.97, 17.4	[26]
	Lux Cellulose-2	甲醇/0.1%甲酸水溶液 (60 : 40) Methanol/0.1% formic acid aq. (60 : 40)	0.2	25	3.54, 1.77, 6.61	[26]
糠菌唑 bromuconazole	Lux Cellulose-2	乙腈/0.1%甲酸水溶液 (60 : 40) Acetonitrile/0.1% formic acid aq. (60 : 40)	0.2	25	5.24, 2.12, 1.82	[26]
	Lux Amylose-2	乙腈/0.1%甲酸水溶液 (40 : 60) Acetonitrile/0.1% formic acid aq. (40 : 60)	0.2	25	1.69, 3.28, 5.15	[26]

注: ^a 苄氯三唑醇拆分成两对对映异构体; ^b 商品化农药只含一对对映异构体; aq.为水溶液。
Note : ^aDiclobutrazol could be separated into two pairs of enantiomers. ^bCommercial drugs contained only one pair of enantiomers. aq. is an aqueous solution.

超临界流体色谱法拆分含两个手性中心的三唑类杀菌剂可分为 4 种情况：

第一，商品药中只含有一对对映体，如氟环唑和多效唑。研究发现^[37-39]，氟环唑和多效唑在 Chiralcel OD-H 柱上能实现最优分离。

第二，商品药为 4 个对映异构体的外消旋体混合物，但只能将其拆分成两对对映体，如三唑醇；在 SFC 条件下，三唑醇在 Chiralpak AD 柱上拆分效果最好^[40]。

第三，商品药中含有 4 个对映异构体，且都能实现成功拆分，如丙环唑、联苯三唑醇、苄氯三唑醇、叶菌唑和糠菌唑。Toribio 等^[41]采用 Chiralpak AD 柱实现了丙环唑的分离。此外，缪

叶隆等^[38]、郑夏琼^[39] 分别用 Chiralcel OD-H、Chiralpak IB 和 Sino-Chiral OJ 柱实现了联苯三唑醇、苄氯三唑醇、叶菌唑和糠菌唑的拆分。

第四，化合物的 4 个对映异构体没有实现完全基线分离，如苯醚甲环唑、环唑醇和乙环唑。但苯醚甲环唑和乙环唑在 Chiralcel OD-H 柱上实现了最优分离。Toribio 等^[41]采用 Chiralpak AD 柱实现了环唑醇的部分分离；此外，环唑醇 4 个对映异构体在 Enantiopak OD 手性柱上通过 $V(\text{乙腈}) : V(\text{水}) = 60 : 40$ 的洗脱顺序为 (2*R*, 3*R*)-(+)-、(2*R*, 3*S*)-(+)-、(2*S*, 3*S*)-(-)-、(2*S*, 3*R*)-(-)-环唑醇^[35]。超临界流体色谱法拆分 11 种农药的色谱分离条件及分离度见表 5。

表 5 超临界流体色谱法分离检测含两个手性中心的三唑类杀菌剂

Table 5 Separation and detection of ten triazole fungicides with two chiral centers by supercritical fluid chromatography								
杀菌剂 Fungicide	手性柱 Chiral column	流速 Flow rate/ (mL/min)	柱温 Column temperature/ ℃	系统背压 System back pressure/ MPa	改性剂 (体积分数) Modifier(Volume fraction)	分离度 Resolution $R_{S12}, R_{S23}, R_{S34}$	参考文献 References	
氟环唑 ^a epoxiconazole ^a	Chiralcel OD-H	2	34	15	15% 异丙醇 15% isopropanol	23.37	[39]	
多效唑 ^a paclobutrazol ^a	Chiralcel OD-H	2	34	15	5% 甲醇 5% methanol	1.87	[37]	
	Chiralcel OD-H	2	34	15	9% 乙醇 9% ethanol	1.85	[39]	
三唑醇 ^b triadimenol ^b	Chiralpak AD	2	35	20	3% 甲醇 3% methanol	8.53	[40]	
	Chiralpak AD	2	35	20	3% 乙醇 3% ethanol	7.25	[40]	
联苯三唑醇 bitertanol	Sino-Chiral OJ	2	34	15	13% 乙醇 13% ethanol	2.08, 7.41, 13.55	[38-39]	
丙环唑 propiconazole	Chiralpak AD	2	35	20	5% 异丙醇 5% isopropanol	4.26, 2.59, 3.24	[41]	
苯醚甲环唑 difenoconazole	Chiralcel OD-H	2	34	15	5% 乙醇 5% ethanol	4.19, 1.52, 1.33	[38-39]	
叶菌唑 metconazole	Chiralpak IB	2	34	15	6% 甲醇 6% methanol	2.74, 5.83, 5.50	[38-39]	
苄氯三唑醇 diclobutrazol	Chiralcel OD-H	2	34	15	3% 乙醇 3% ethanol	1.55, 3.97, 3.88	[38-39]	
环唑醇 cyproconazole	Chiralpak AD	2	35	20	5% 甲醇 5% methanol	1.49, 1.01, 2.83	[41]	
糠菌唑 bromuconazole	Sino-Chiral OJ	2	34	15	7% 乙醇 7% ethanol	5.24, 1.80, 1.71	[38-39]	
乙环唑 etaconazole	Chiralcel OD-H	2	35	15	7% 乙醇 7% ethanol	1.11, 1.55, —	[38-39]	

注：^a 商品化农药只含一对对映异构体；^b 三唑醇只能拆分成两对对映异构体。
Note: ^a Commercial pesticides contained only one pair of enantiomers. ^b Triadimenol could only be split into two pairs of enantiomers.

3 毛细管电泳法

毛细管电泳 (capillary electrophoresis, CE) 以其高分辨能力在各个分析领域被认为是一种高效的分离技术^[42]。近年来，在医药和农业科学领域，毛细管电泳在微尺度和快速分析方面得到了广泛的应用^[43]。在三唑类手性农药的分离中，毛细管电泳也显示了良好的拆分能力。

目前，已有采用毛细管电泳成功拆分三唑醇、氟环唑、环唑醇、丙环唑、多效唑、联苯三唑醇、三唑醇及苯醚甲环唑的报道。如 Wu 等^[44]以磺酸化-β-环糊精 (S-β-CD) 作为手性选择剂成

功拆分了三唑醇种对映异构体；之后，Otsuka 等^[45]以衍生化-γ-环糊精 (HP-γ-CD) 为手性选择剂，在胶束电动毛细管电泳技术 (CD-MEKC) 模式及 pH7.0 的条件下，也实现了三唑醇 4 种对映异构体的完全拆分。不久，Wu 等^[44]课题组进一步成功拆分了多效唑、三唑醇、联苯三唑醇、丙环唑、苯醚甲环唑及环唑醇。此外，Buerge 等^[34]曾使用自制的 HP-β-CD 分别成功拆分了氟环唑和环唑醇，在 20 min 内，对映体均能得到很好的拆分。Ibrahim 等^[46]和 Garrison 等^[47]采用环糊精修饰的 CD-MEKC，以 HP-γ-CD 为手性选择剂，在 pH 值分别为 7 和 3 的情况下，实现了丙环唑 4 种异构

体的基线分离。相对来说, 采用毛细管电泳拆分三唑类手性农药的研究较少, 还有待进一步研究。

4 气相色谱法

气相色谱 (gas chromatography, GC) 是一种高效的分离技术, 具有足够的灵敏度, 并且很容易与质谱结合, 这些特性使 GC 成为分析农药残留和污染物的合适工具。然而, 有限的适用于气相色谱分离的固定相数量限制了 GC 的使用。2010 年, Kenneke 等^[48] 利用 GC-MS 结合瑞士 BGB 172 (20% 三-丁基二甲基硅烷基- β -环糊精) 手性毛细管气相色谱柱实现了三唑醇 4 个对映异构体的基线分离。2011 年, Garrison 等^[47] 报道了用 BGB 172 柱能够实现丙环唑一对对映体的基线分离, 但另一对对映体分离程度仅达到 13%。

5 合相色谱法

超高效合相色谱 (ultra performance convergence chromatography, UPC²) 利用超临界状态下液化气体的密度差异进行色谱分离, 兼具正相色谱的优势及选择性和反相色谱的易用性及简便的方法开发功能。2014 年, 程有普^[10] 采用 UPC²-MS/MS 和 Chiralpak IA-3 柱, 以含 1.0% 甲酸的甲醇为流动相, 在流速 2.2 mL/min、30 °C 条件下丙环唑 4 个对映异构体的分离度分别为 1.77、1.61 和 2.80, 且最后出峰时间约 5 min, 出峰顺序为 (+)-丙环唑 B、(-)-丙环唑 B、(-)-丙环唑 A 和 (+)-丙环唑 A。

6 总结及展望

三唑类杀菌剂具有长久的应用前景和研究价值。迄今为止, 含一个手性中心的三唑类杀菌剂的分离及对映体毒性、环境行为差异性已有广泛的研究, 但是含两个手性中心的三唑类杀菌剂因具有 4 个对映异构体, 在分离检测时难度相对更大, 有的农药分离效果并不理想, 纯对映体的获得和检测方法均受到一定程度的限制, 导致其对映体毒性、环境行为差异性研究还不是很充分, 所以还有待进一步深入研究。从本文综述内容可知, 11 种含两个手性中心的三唑类杀菌剂中除了乙环唑没能实现 4 个对映异构体的基线分离外, 其他 10 种已均有使其异构体实现基线分离的方法。从分析方法看, 目前仍是以高效液相色谱法为主,

其中反相色谱法结合质谱检测的 HPLC-MS/MS 技术因其对复杂样品的高分离能力、高选择性、高灵敏度等优点, 在手性农药对映异构体的分离检测方面表现出较好的应用前景。手性农药中往往存在活性体和非活性体, 并且其毒性及环境行为存在差异。现阶段, 含两个手性中心的三唑类杀菌剂在对映体水平上开展的活性、非靶标毒性、毒性机制、生物降解、生物富集、对映异构体稳定性等研究还相当缺乏。三唑类杀菌剂手性分离与检测技术的开发, 将为上述对映体水平上的相关研究提供良好的技术基础, 对未来更好地开发一类高效、超低用量、高选择性、对人类健康安全的手性三唑类杀菌剂具有重要的科学意义。

参考文献 (References):

- [1] 崔璇, 钟青, 张新忠, 等. 农产品中手性农药对映体残留色谱法分析研究进展[J]. *分析测试学报*, 2019, 38(2): 249-262.
CUI X, ZHONG Q, ZHANG X Z, et al. Progress on analysis of chiral pesticide enantiomers residues in agricultural products based on chromatographic method[J]. *J Instrum Anal*, 2019, 38(2): 249-262.
- [2] ZHANG Y R, WU D R, WANG-IVERSON D B, et al. Enantioselective chromatography in drug discovery[J]. *Drug Discovery Today*, 2005, 10(8): 571-577.
- [3] 周子燕, 李昌春, 高同春, 等. 三唑类杀菌剂的研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(27): 11842-11844.
ZHOU Z Y, LI C C, GAO T C, et al. Research progress on triazole fungicides[J]. *J Anhui Agric Sci*, 2008, 36(27): 11842-11844.
- [4] 贺敏. 苯醚甲环唑手性异构体活性差异及其在稻田的立体环境行为[D]. 北京: 中国农业科学院, 2016.
HE M. Bioactivity difference of difenoconazole stereoisomers and their stereoselective environmental behavior in paddy field[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2016.
- [5] 张艳川, 李朝阳, 李巧玲, 等. 三唑类农药手性分离的研究进展[J]. *农药*, 2009, 48(9): 629-632.
ZHANG Y C, LI Z Y, LI Q L, et al. Development of chiral separation of triazole pesticides[J]. *Agrochemicals*, 2009, 48(9): 629-632.
- [6] KAZIEM A E, GAO B B, LI L S, et al. Enantioselective bioactivity, toxicity, and degradation in different environmental mediums of chiral fungicide epoxiconazole[J]. *J Hazard Mater*, 2020, 386: 121951.
- [7] ZHANG A P, XIE X M, LIU W P. Enantioselective separation and phytotoxicity on rice seedlings of paclobutrazol[J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(8): 4300-4305.
- [8] DONG F S, LIU X G, ZHENG Y Q, et al. Stereoselective degradation of fungicide triadimenol in cucumber plants[J]. *Chirality*, 2010, 22(2): 292-298.
- [9] LI L S, GAO B B, WEN Y, et al. Stereoselective bioactivity, toxicity and degradation of the chiral triazole fungicide bitertanol[J]. *Pest Manag Sci*, 2020, 76(1): 343-349.
- [10] 程有普. 手性农药丙环唑立体异构体稻田环境行为及其生物活性、毒性研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2014.
CHENG Y P. Study on environmental behavior, biological activity

- and toxicity of chiral pesticide propiconazole stereoisomer in paddy field[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2014.
- [11] 李晶. 三唑类手性杀菌剂苯醚甲环唑的立体选择性生物活性与环境行为研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.
LI J. Studies on stereoselective bioactivity and behavior of chiral triazole fungicide of difenoconazole in environments[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2012.
 - [12] HE R J, FAN J, TAN Q, et al. Enantioselective determination of metconazole in multi matrices by high-performance liquid chromatography[J]. *Talanta*, 2018, 178: 980-986.
 - [13] KURIHARA N, MIYAMOTO J, PAULSON G D, et al. Pesticides report 37: chirality in synthetic agrochemicals: bioactivity and safety consideration (Technical Report)[J]. *Pure Appl Chem*, 2013, 69(6): 2007-2026.
 - [14] HE R J, MAI B L, FAN J, et al. Identification, quantification, and stereoselective degradation of triazole fungicide cyproconazole in two matrixes through chiral liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(38): 10782-10790.
 - [15] 董丰收, 李晶, 李远播, 等. 手性三唑类杀菌剂立体生物活性、生态毒性及选择性富集研究进展[J]. *中国科学(生命科学)*, 2016, 46(5): 613-618.
DONG F S, LI J, LI Y B, et al. Enantioselective bioactivity, ecotoxicity and enrichment of triazole fungicides[J]. *Sci China Ser C*, 2016, 46(5): 613-618.
 - [16] 韩小茜, 魏燕, 刘艳华, 等. 氟环唑外消旋体在纤维素-三(3, 5-二甲苯基氨基甲酸酯) 手性固定相上的高效液相色谱法拆分[J]. *色谱*, 2008, 26(5): 631-633.
HAN X Q, WEI Y, LIU Y H, et al. Chiral separation of racemic epoxiconazole on cellulose tris (3, 5-dimethylphenylcarbamate) chiral stationary phase using high performance liquid chromatography[J]. *Chin J Chromatogr*, 2008, 26(5): 631-633.
 - [17] 韩小茜, 安丽丽, 刘万良. 外消旋农药氟环唑在 Chiralcel OJ-H 柱上的直接手性拆分[J]. *化学试剂*, 2010, 32(11): 1030-1032.
HAN X Q, AN L L, LIU W L. Enantioseparation of racemic epoxiconazole on Chiralcel OJ-H column in normal phase, reversed-phase and polar organic phase modes[J]. *Chemical Reagents*, 2010, 32(11): 1030-1032.
 - [18] 常静, 韩小茜, 仇伟, 等. 直链淀粉-三(3, 5-二甲苯基氨基甲酸酯) 手性固定相在正相条件下对氟环唑外消旋体的直接拆分[J]. *化学试剂*, 2008, 30(8): 600-602.
CHANG J, HAN X Q, QIU W, et al. The direct chiral separation of racemic epoxiconazole on amylose tris (3, 5-dimethylphenylcarbamate) chiral stationary phase in normal phase mode[J]. *Chem Reagents*, 2008, 30(8): 600-602.
 - [19] 武彤, 李朝阳, 李巧玲, 等. 三唑类手性农药高效液相色谱分离的研究[J]. *河北科技大学学报*, 2008, 29(4): 279-282, 291.
WU T, LI Z Y, LI Q L, et al. Study on chiral separation of triazole pesticides by high-performance liquid chromatography[J]. *J Hebei Univ Sci Technol*, 2008, 29(4): 279-282, 291.
 - [20] 曹巧. 三唑醇对映体在黄瓜植株中的残留行为及其光解研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2008.
CAO Q. Studies on residual behavior of triadimenol enantiomers in cucumber plants and its photolysis[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2008.
 - [21] 曹雅虹. 手性农药三唑醇对映体选择性环境行为的研究 [D]. 石家庄: 河北科技大学, 2012.
CAO Y H. Study on enantioselective environmental behavior of triadimefon[D]. Shijiazhuang: Hebei University of Science and Technology, 2012.
 - [22] LI Z Y, ZHANG Z C, ZHOU Q L, et al. Stereo- and enantioselective determination of pesticides in soil by using achiral and chiral liquid chromatography in combination with matrix solid-phase dispersion[J]. *J Aoac Int*, 2003, 86(3): 521-528.
 - [23] BI C L, ZHAO E C, LIU Y, et al. Direct optical resolution of chiral pesticides by HPLC on emamectin CSP under normal phase conditions[J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2006, 29(11): 1601-1607.
 - [24] ZHOU Y, LI L, LIN K D, et al. Enantiomer separation of triazole fungicides by high-performance liquid chromatography[J]. *Chirality*, 2009, 21(4): 421-427.
 - [25] DONG F S, LI J, CHANKVETADZE B, et al. Chiral triazole fungicide difenoconazole: absolute stereochemistry, stereoselective bioactivity, aquatic toxicity, and environmental behavior in vegetables and soil[J]. *Environ Sci Technol*, 2013, 47(7): 3386-3394.
 - [26] ZHANG H, QIAN M R, WANG X Q, et al. HPLC-MS/MS enantioseparation of triazole fungicides using polysaccharide-based stationary phases[J]. *J Sep Sci*, 2012, 35(7): 773-781.
 - [27] 李远播. 几种典型手性三唑类杀菌剂对映体的分析、环境行为及其生物毒性研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.
LI Y B. Analysis of enantiomers, environmental behavior and biological toxicity of several typical chiral triazole fungicides[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2013.
 - [28] 梁宏武. 几种典型手性农药对映体的环境行为及水生生物毒性研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
LIANG H W. Environmental behavior and aquatic toxicity of several typical chiral pesticide enantiomers[D]. Beijing: China Agricultural University, 2014.
 - [29] CHEN J H, WANG H L, GUO B Y, et al. LC-MS/MS method for simultaneous determination of myclobutanil, hexaconazole, diniconazole, epoxiconazole and tetraconazole enantiomers in soil and earthworms[J]. *Int J Environ Anal Chem*, 2014, 94(8): 791-800.
 - [30] QI P P, DI S S, CANG T, et al. Enantioselective behaviors of cis-epoxiconazole in vegetables-soil-earthworms system by liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry[J]. *Sci Total Environ*, 2020, 706: 136039.
 - [31] ZHAO P F, WANG Z K, LI K J, et al. Multi-residue enantiomeric analysis of 18 chiral pesticides in water, soil and river sediment using magnetic solid-phase extraction based on amino modified multiwalled carbon nanotubes and chiral liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1568: 8-21.
 - [32] ZHAO P F, WANG Z K, GAO X, et al. Simultaneous enantioselective determination of 22 chiral pesticides in fruits and vegetables using chiral liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry[J]. *Food Chem*, 2019: 277.
 - [33] MATÍAS E D M, ROMINA N E, ESTER L. Enantioseparation of the racemates of a number of pesticides on a silica-based column with immobilized amylose tris (3-chloro-5-methylphenylcarbamate)[J]. *Microchem J*, 2019: 149.
 - [34] BUERGE I J, POIGER T, MÜLLER M D, et al. Influence of pH on the stereoselective degradation of the fungicides epoxiconazole and cyproconazole in soils[J]. *Environ Sci Technol*, 2006, 40(17): 5443-5450.
 - [35] QIU J, DAI S H, ZHENG C M, et al. Enantiomeric separation of triazole fungicides with 3- μ m and 5- μ m particle chiral columns by

- reverse-phase high-performance liquid chromatography[J]. *Chirality*, 2011, 23(6): 479-486.
- [36] TIAN Q, LV C G, WANG P, et al. Enantiomeric separation of chiral pesticides by high performance liquid chromatography on cellulose tris-3, 5-dimethyl carbamate stationary phase under reversed phase conditions[J]. *J Sep Sci*, 2007, 30(3): 310-321.
- [37] 林春绵, 郑夏琼, 俞游, 等. 四种三唑类杀菌剂的超临界色谱手性分离[J]. *浙江工业大学学报*, 2013, 41(5): 473-477.
- LIN C M, ZHENG X Q, YU Y, et al. Chiral separation of four triazole fungicides by supercritical fluid chromatography[J]. *J Zhejiang Univ Technol*, 2013, 41(5): 473-477.
- [38] 缪叶隆, 徐明仙, 郑夏琼, 等. 六种手性三唑类杀菌剂对映体的超临界流体色谱法分离[J]. *农药学报*, 2015, 17(4): 432-438.
- MIAO Y L, XU M X, ZHENG X Q, et al. Chiral separation of six triazole fungicides by supercritical fluid chromatography[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2015, 17(4): 432-438.
- [39] 郑夏琼. 手性三唑类杀菌剂在超临界流体色谱中的对映体分离研究 [D]. 杭州: 浙江工业大学, 2013.
- ZHENG X Q. Study on enantiomeric separation of chiral triazole fungicides in supercritical fluid chromatography[D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2013.
- [40] DEL NOZAL M J, TORIBIO L, BERNAL J L, et al. Separation of triadimefon and triadimenol enantiomers and diastereoisomers by supercritical fluid chromatography[J]. *J Chromatogr A*, 2003, 986(1): 135-141.
- [41] TORIBIO L, DEL NOZAL M J, BERNAL J L, et al. Chiral separation of some triazole pesticides by supercritical fluid chromatography[J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1046(1-2): 249-253.
- [42] 王树民. 胶束毛细管电动色谱新方法的研究与应用 [D]. 兰州: 兰州大学, 2007.
- WANG S M. Research and application of a new method of micellar capillary electrokinetic chromatography[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2007.
- [43] 陈丽霞, 赵志毅, 刘明霞, 等. 毛细管电泳分析中手性化合物的定性检测[J]. *色谱*, 2020, 38(9): 1038-1045.
- CHEN L X, ZHAO Z Y, LIU M X, et al. Qualitative determination of chiral compounds using capillary electrophoresis[J]. *Chin J Chromatogr*, 2020, 38(9): 1038-1045.
- [44] WU Y S, LEE H K, LI S F. Simultaneous chiral separation of triadimefon and triadimenol by sulfated *beta*-cyclodextrin-mediated capillary electrophoresis[J]. *Electrophoresis*, 2000, 21(8): 1611-1619.
- [45] OTSUKA K, MATSUMURA M, KIM J B, et al. On-line preconcentration and enantioselective separation of triadimenol by electrokinetic chromatography using cyclodextrins as chiral selectors[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2003, 30(6): 1861-1867.
- [46] IBRAHIM W A W, HERMAWAN D, SANAGI M M. On-line preconcentration and chiral separation of propiconazole by cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography[J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1170(1-2): 107-113.
- [47] GARRISON A W, AVANTS J K, MILLER R D. Loss of propiconazole and its four stereoisomers from the water phase of two soil-water slurries as measured by capillary electrophoresis[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2011, 8(8): 3453-3467.
- [48] KENNEKE J F, EKMAN D R, MAZUR C S, et al. Integration of metabolomics and *in vitro* metabolism assays for investigating the stereoselective transformation of triadimefon in rainbow trout[J]. *Chirality*, 2010, 22(2): 183-192.

(责任编辑: 金淑惠)