

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 测定土壤中 20 种氨基甲酸酯类农药残留

LCMSMS-280

摘要：本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定土壤中 20 种氨基甲酸酯类农药的方法。该方法在 12 min 内完成 20 种氨基甲酸酯的分析，校准曲线的相关系数均在 0.997 以上。对不同浓度氨基甲酸酯的混合标准溶液各平行测试 6 次，20 种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.015%~0.263% 和 0.554%~4.917% 之间，仪器精密度良好。不同浓度下基质加标回收率范围在 88.1~108.4% 之间。该方法可应用于土壤中 20 种氨基甲酸酯类农药残留的同时检测。

关键词：三重四极杆质谱 氨基甲酸酯 农药 土壤

氨基甲酸酯农药是一类高效、广谱杀虫剂，在农作物保护中发挥着重要作用，约占据 15% 世界杀虫剂市场份额，且使用量逐年增长。氨基甲酸酯在环境中的累积和危害已经成为亟待解决的问题。急性中毒时可出现流泪、肌肉颤动、瞳孔缩小等胆碱酯酶抑制症状。目前研究较多的是针对水和食品中氨基甲酸酯类农残的分析以及标准制定。土壤是污染物的源和汇，直接影响农产品的质量，沉积物在水体污染物的迁移转化中发挥重要作用。目前，对土壤及沉积物中氨基甲酸酯残留分析研究甚少，且已有的研究较多采用液相色谱 - 柱后衍生荧

光法或气相色谱法。前者操作繁琐，且定性能力有限；由于大部分氨基甲酸酯农药具有热不稳定性，气相色谱法应用范围有限。

高效液相色谱 - 串联质谱联用技术是近些年来快速发展的分析技术，具有很高的选择性和灵敏度，对复杂基质中的氨基甲酸酯类农药残留具有很强的定性和定量能力，准确度高，是目前痕量残留分析的首选方法。本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定土壤中 20 种氨基甲酸酯残留的方法。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A₅ 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8045 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.86 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS III (2.0 mm I.D.
×75 mmL, 1.6 μm)

流动相：A 相 -5 mM 醋酸铵水溶液；B 相 - 甲醇

流速：0.3 mL/min

柱温：45°C

进样量：2 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 20%，洗脱程序见表 1。

表1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.0	Pumps	Pump B Conc.	20
2.0	Pumps	Pump B Conc.	60
6.0	Pumps	Pump B Conc.	95
7.5	Pumps	Pump B Conc.	95
7.6	Pumps	Pump B Conc.	20
12	Controller	Stop	

质谱条件

分析仪器: LCMS-8045

离子化模式: ESI(+)

加热气: 空气 10.0 L/min

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 10.0 L/min

碰撞气: 氩气

源温度: 200℃

DL 温度: 150℃

加热模块温度: 400℃

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

延迟时间: 3 ms

MRM 参数: 见表 2

表2 MRM优化参数

NO	化合物	英文名	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
1	杀线威	Oxamyl	23135-22-0	237.1	72.1*	-11	-13	-27
					90.2	-11	-8	-17
2	灭多威	Methomyl	16752-77-5	163.1	88.1*	-16	-8	-17
					106.1	-16	-10	-11
3	二氧威	Dioxacarb	6988-21-2	224.0	123.0*	-10	-14	-24
					167.1	-10	-8	-17
4	涕灭威	Aldicarb	116-06-3	208.1	116.1*	-19	-10	-20
					89.1	-21	-20	-20
5	恶虫威	Bendiocarb	22781-23-3	224.1	167.1*	-16	-9	-17
					109.1	-16	-18	-21
6	残杀威	Propoxur	114-26-1	210.1	111.1*	-10	-14	-21
					168.1	-10	-9	-18
7	克百威	Carbofuran	1563-66-2	222.1	165.1*	-10	-11	-17
					123.1	-10	-22	-22
8	甲萘威	Carbaryl	63-25-2	202.1	145.1*	-21	-9	-15
					127.1	-20	-26	-13
9	乙硫苯威	Ethiofencarb	29973-13-5	226.1	107.1*	-16	-15	-20
					164.1	-16	-9	-17
10	抗蚜威	Pirimicarb	23103-98-2	239.2	72.1*	-11	-21	-28
					182.2	-12	-15	-19
11	异丙威	Isoprocarb	2631-40-5	194.2	95.1*	-14	-15	-19
					137.2	-14	-11	-14

12	仲丁威	Fenobucarb	3766-81-2	208.1	95.1*	-10	-14	-19
					152.1	-10	-10	-16
13	甲硫威	Methiocarb	2032-65-7	226.1	169.1*	-16	-10	-18
					121.1	-16	-18	-23
14	猛杀威	Promecarb	2631-37-0	208.1	109.1*	-10	-16	-20
					151.2	-21	-10	-17
15	4-溴-3,5-二 甲基苯基 -N-甲基氨 基甲酸酯	4-bromo-3,5-dimethyl Phenyl	672-99-1	258.0	201.0*	-12	-10	-21
					N-methylcarbamate(BDMC)	122.1	-10	-22
							72.1*	-12
16	苯硫威	Fenothiocarb	62850-32-2	254.1	160.0	-18	-9	-17
					238.1*	-15	-9	-18
17	棉铃威	Alanycarb	83130-01-2	400.2	91.0	-19	-35	-19
					249.1*	-20	-16	-12
18	茚虫威	Indoxacarb	144171-61-9	528.1	218.0	-20	-24	-22
					190.2*	-15	-11	-13
19	丙硫克百 威	Benfuracarb	82560-54-1	411.3	252.0	-15	-13	-18
					195.1*	-14	-17	-20
20	呋线威	Furathiocarb	65907-30-4	383.2	252.1	-14	-12	-18
					88.1*	-12	-10	-17
21	灭多威 D3	Methomyl-D3	398109-07-3	165.9	106.1	-12	-10	-11
					152.1*	-15	-10	-28
22	甲萘威 D7	Carbaryl-D7	362049-56-7	208.9	133.1	-15	-30	-26

注：*表示定量离子

1.3 标准溶液的配制

分别称取氨基甲酸酯类标准品适量，用甲醇溶解、配制成 1.0 mg/mL 的混合标准储备液，置于 -18℃ 冰箱中保存。混合对照品浓储备溶液以 20% 甲醇溶液按一定比例稀释，得系列浓度的对照品工作溶液。最终配成：(1) 残杀威、灭多威、二氧威、恶虫威、甲萘威、乙硫苯威、异丙威、仲丁威、甲萘威、猛杀威、BDMC、茚虫威、丙硫克百威 1、2、10、20、50、100、200 ng/mL 的系列标准溶液。(2) 克百威、苯硫威、涕灭威、棉铃威浓度为 0.5、1、5、10、25、50、100 ng/mL 的系列标准溶液。(3) 杀线威、呋线威、抗蚜威浓度为 0.25、0.5、2.5、5、12.5、25、50 ng/mL 的系列标准溶液。各浓度溶液中加入内标甲萘威 -D7 和灭多威 -D3，终浓度均为 50 ng/mL。根据保留时间就近原则，保留时间在 4.5 min 之前选用灭多威 -D3 作为内标，4.5 min 之后选用甲萘威 -D7 作为内标。

1.4 样品前处理方法

土壤中氨基甲酸酯类物质提取方法参照标准《HJ783-2016 土壤和沉积物有机物的提取加压流体萃取法》。称取土壤试样 10 g (精确到 0.1 g)，用加压流体萃取仪进行萃取，条件如下：萃取剂二氯甲烷 - 甲醇 (1:1)，温度 80℃，循环 3 次，冲洗 80%。用旋转蒸发器将萃取液浓缩至 1.0 mL，通过预先用 6.0 mL 二氯甲烷 - 甲醇混合溶剂 (1:1) 活化的 GCB/PSA 固相萃取小柱，继续用 6 mL 二氯甲烷 - 甲醇混合溶剂 (1:1) 洗脱小柱，收集滤出液。用氮吹仪浓缩至近干，加入内标，用初始流动相定容至 1.0 mL，内标浓度为 50 ng/mL。然后进液相色谱 - 串联质谱测定。

■ 结果讨论

2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

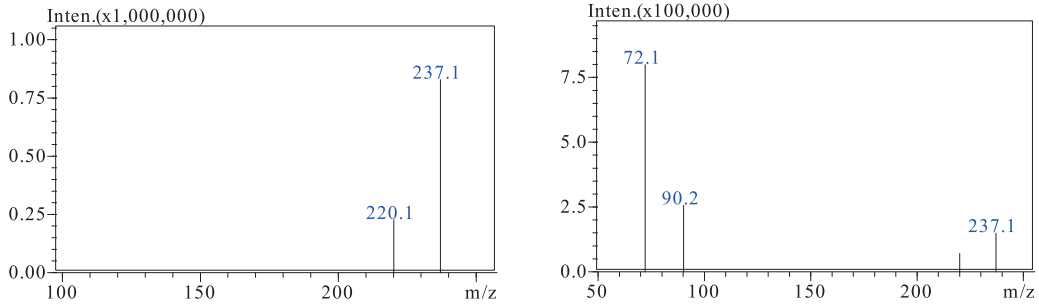


图1 杀线威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-10 V)(右图)

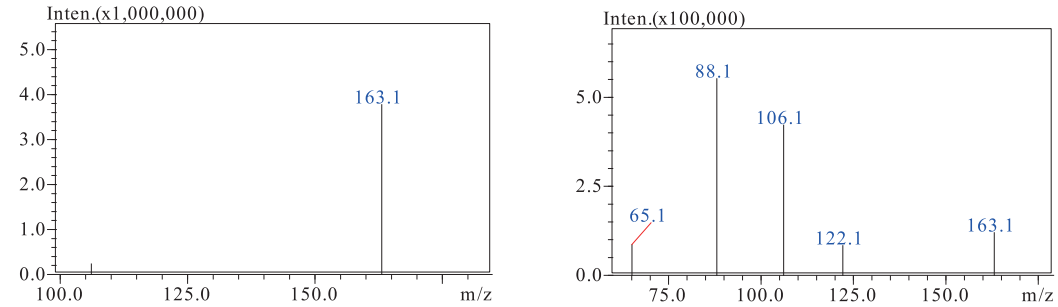


图2 灭多威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-10 V)(右图)

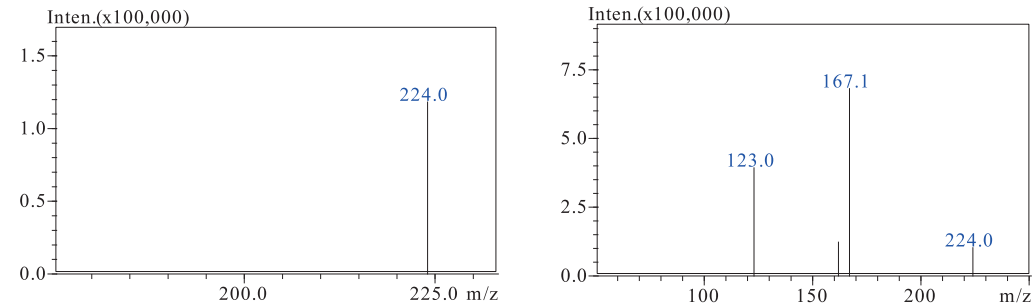


图3 二氧威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-10 V)(右图)

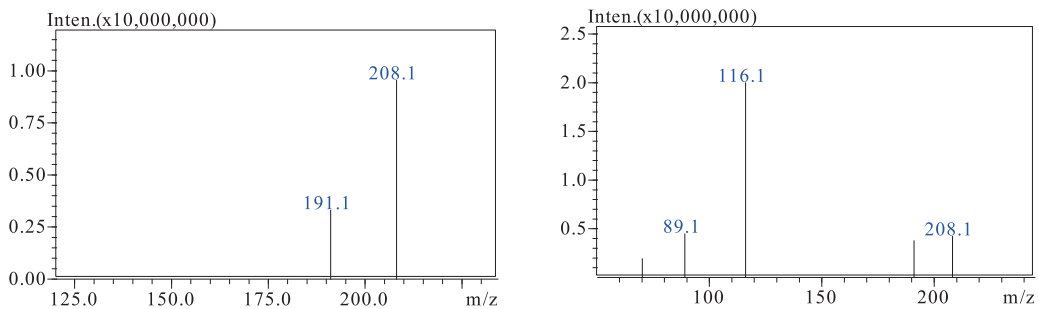


图4 涕灭威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-8 V)(右图)

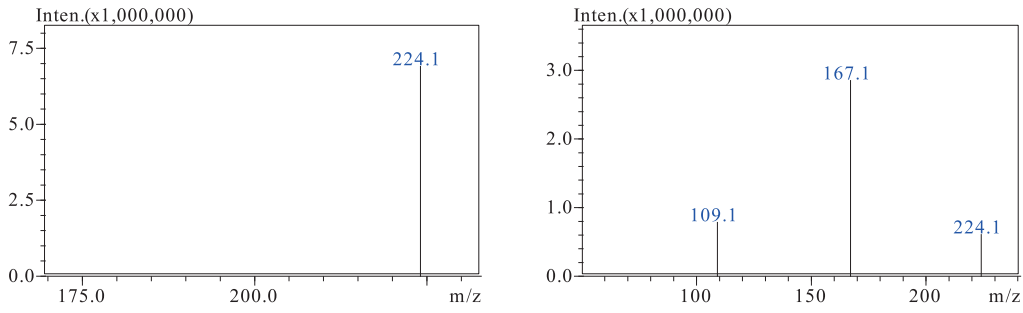


图5 恶虫威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-10 V)(右图)

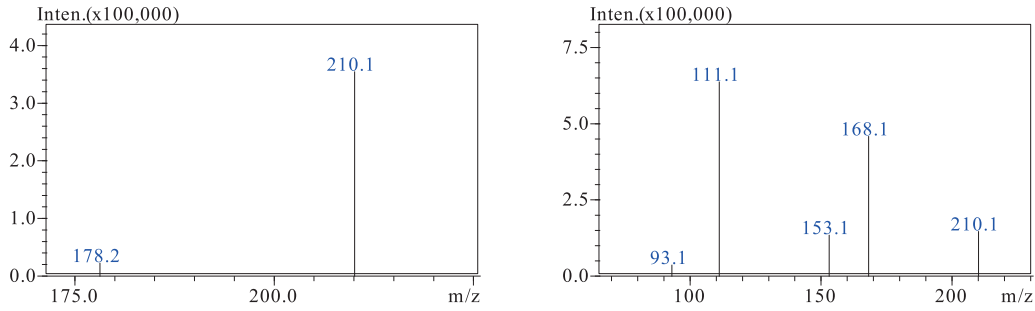


图6 残杀威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-10 V)(右图)

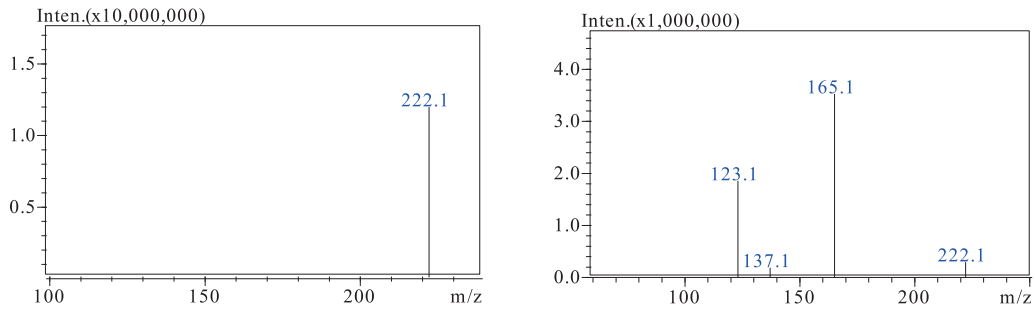


图7 克百威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-15 V)(右图)

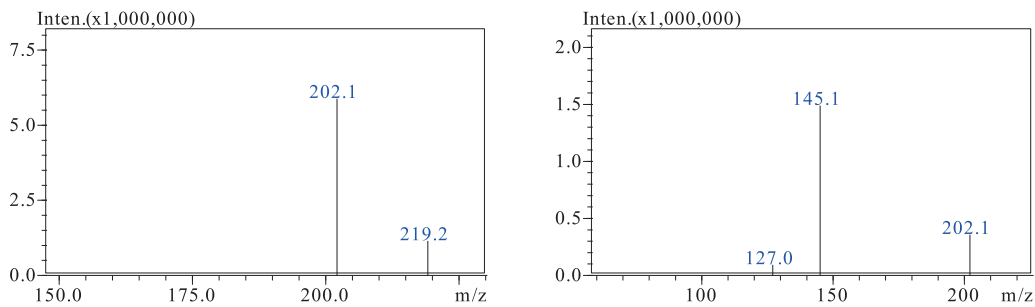


图8 甲萘威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-10 V)(右图)

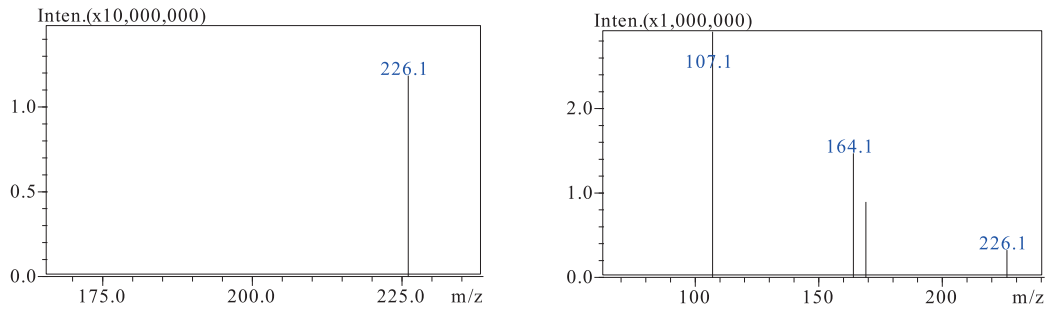


图9 乙硫苯威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-8 V)(右图)

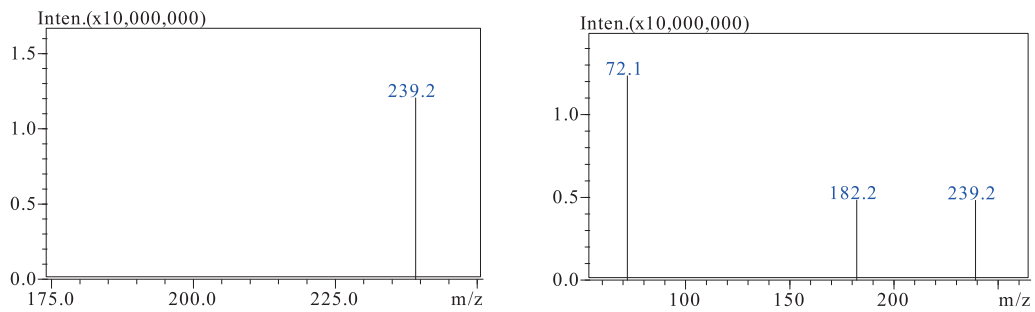


图10 抗蚜威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-15 V)(右图)

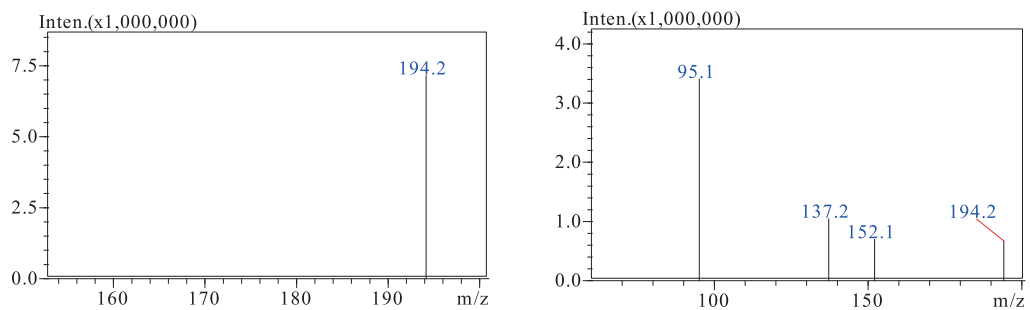


图11 异丙威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-25 V)(右图)

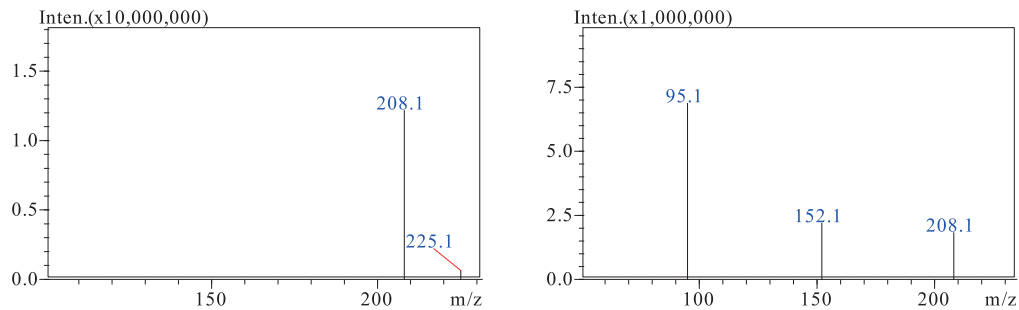


图12 仲丁威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-10 V)(右图)

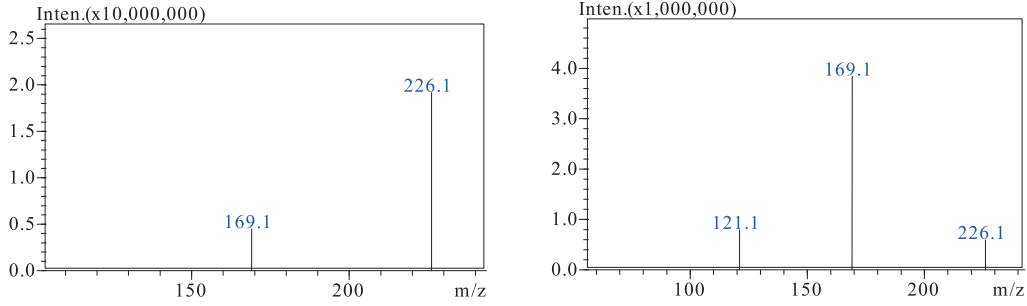


图13 甲硫威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-10 V)(右图)

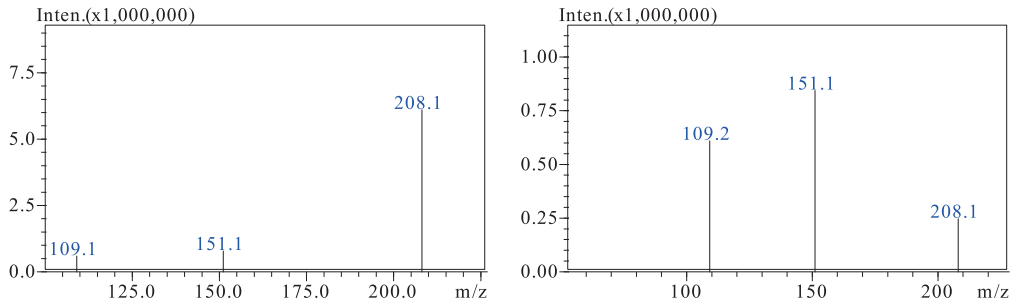


图14 猛杀威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-10 V)(右图)

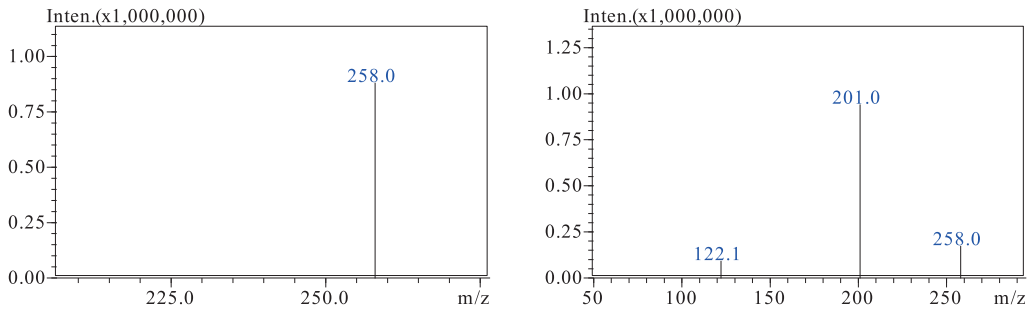
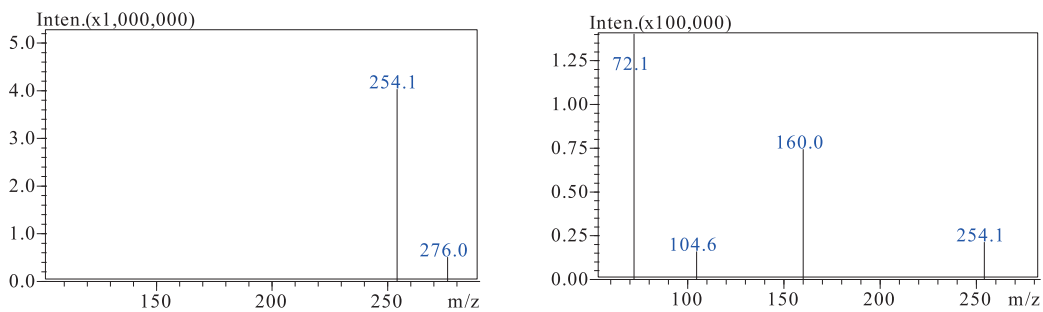


图15 BDMC的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-10 V)(右图)



16

CE -10 V

图16 苯硫威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-10 V)(右图)

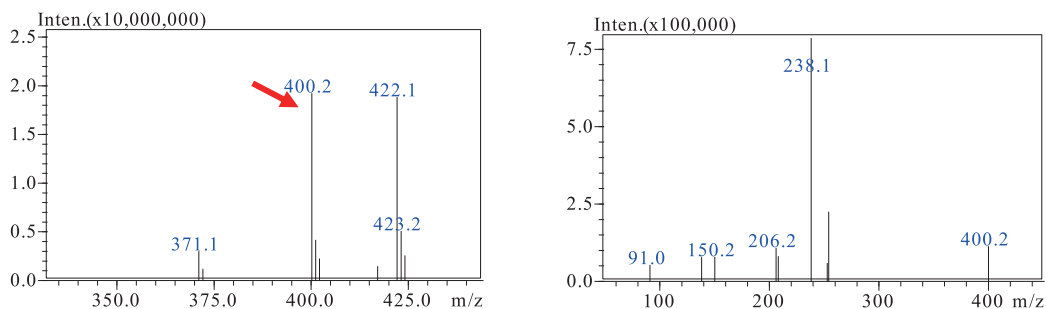


图17 棉铃威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-8 V)(右图)

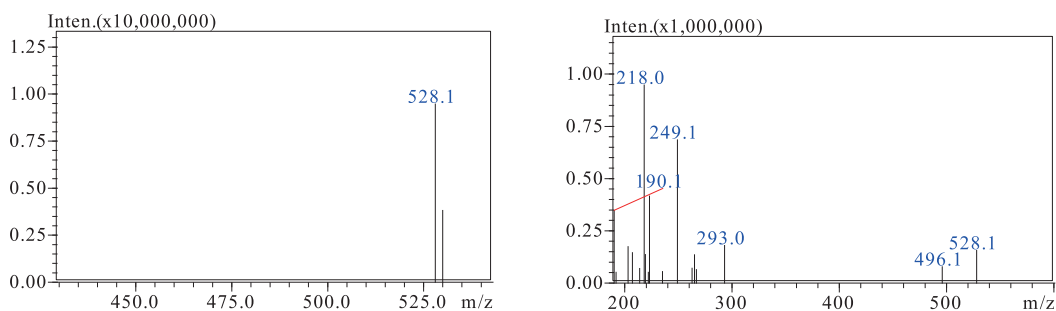


图18 芬虫威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-20 V)(右图)

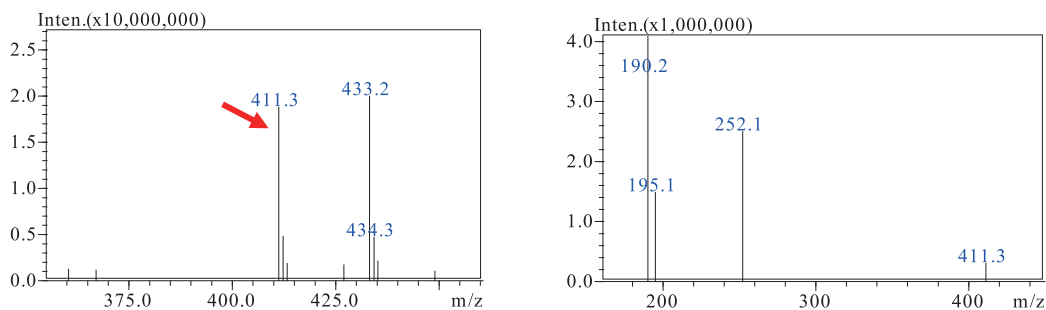


图19 丙硫克百威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-15 V)(右图)

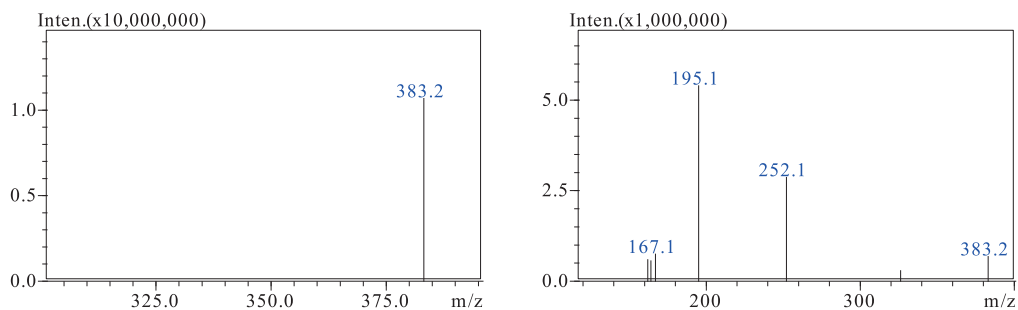


图20 呋线威的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(CE值-15 V)(右图)

2.2 20种氨基甲酸酯标准溶液的MRM色谱图

残杀威、灭多威、二氧威、恶虫威、甲萘威、乙硫苯威、异丙威、仲丁威、甲萘威、猛杀威、BDMC、茚虫威、丙硫克百威为 10 ng/mL 的系列标准溶液。(2) 克百威、苯硫威、涕灭威、棉铃威浓度为 5 ng/mL 的系列标准溶液。(3) 杀线威、呋线威、抗蚜威浓度为 2.5 ng/mL 的系列标准溶液。内标甲萘威-D7 和灭多威-D3，终浓度均为 50 ng/mL。其 MRM 色谱图如下图 21 所示。

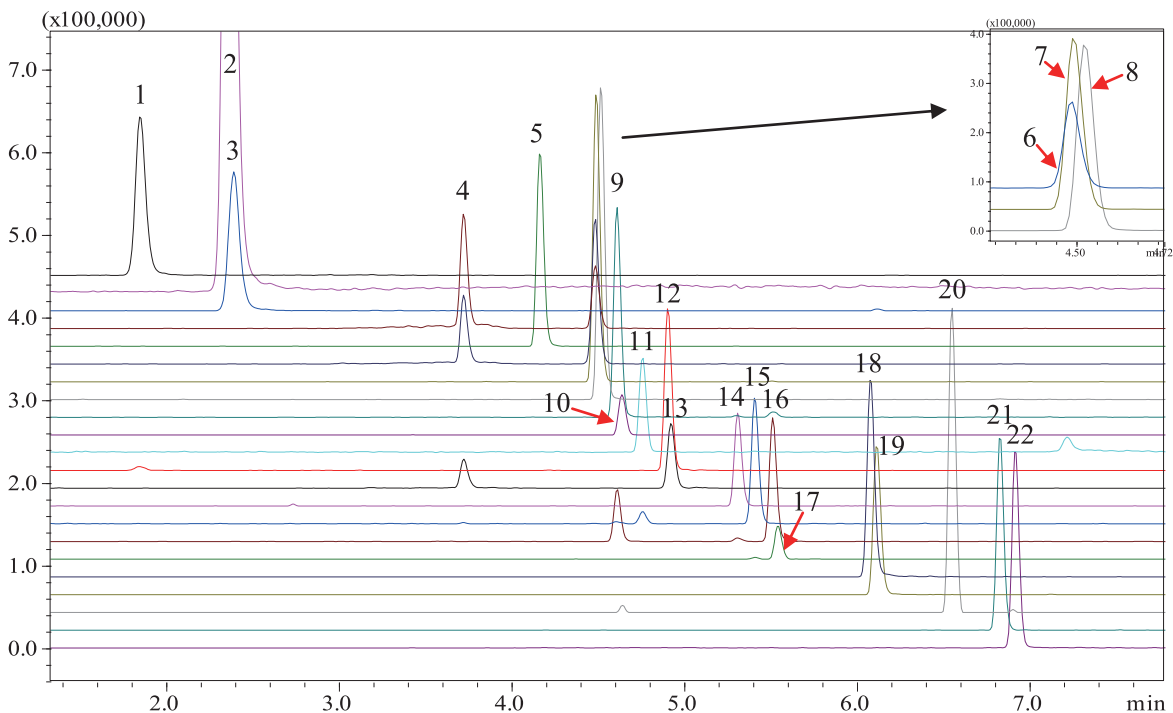
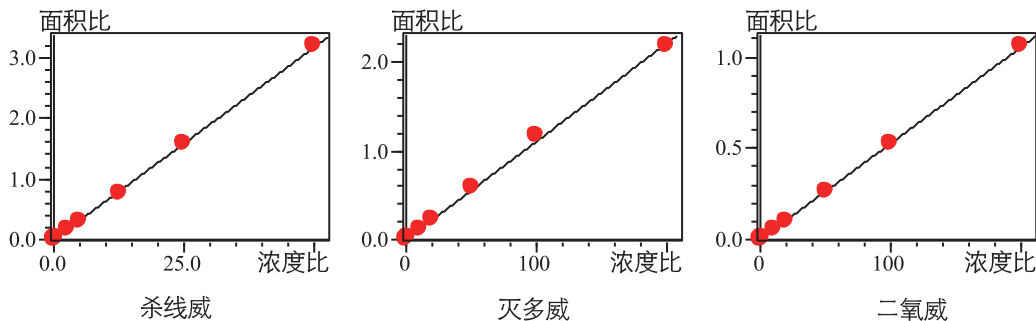


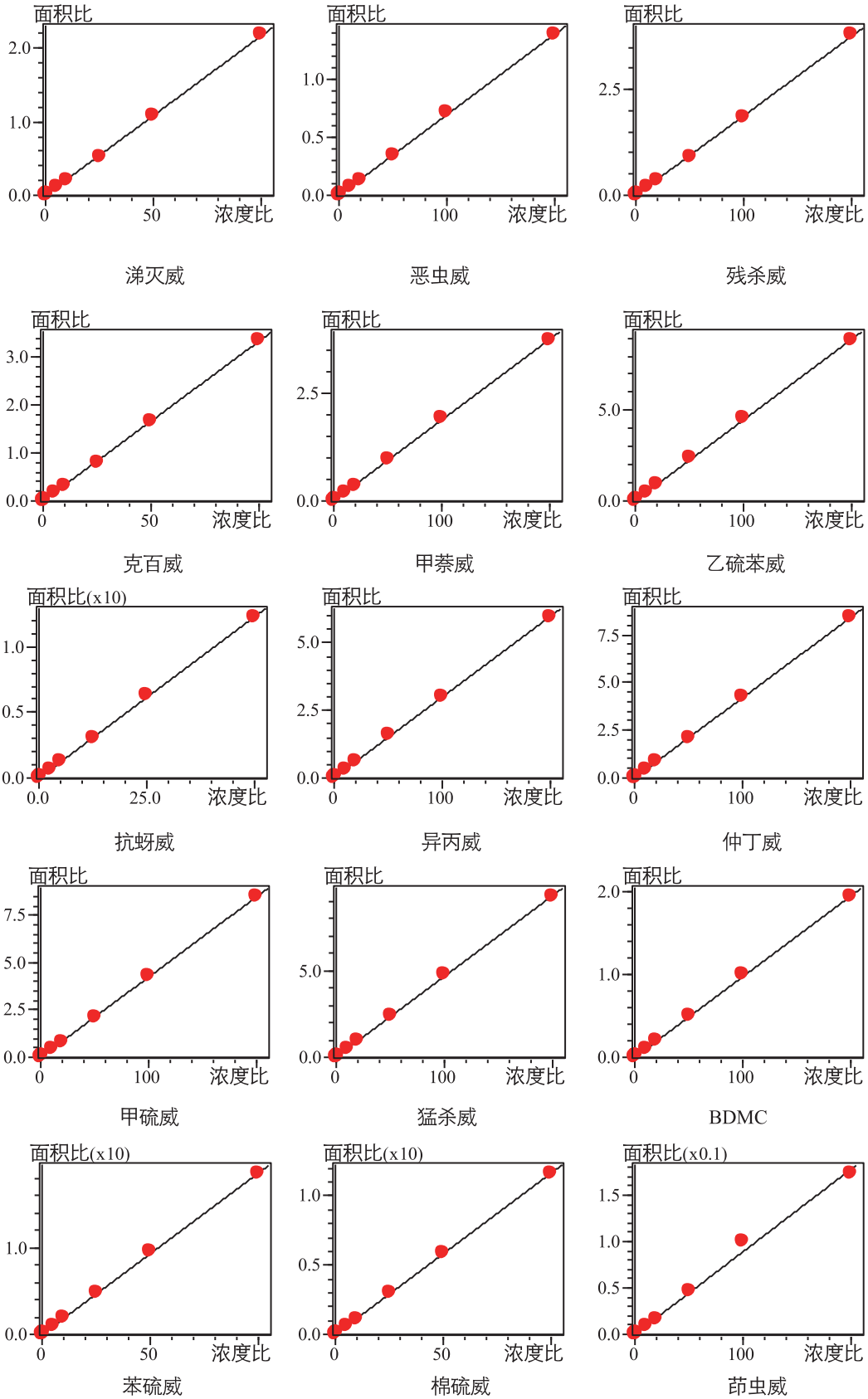
图21 20种氨基甲酸酯农残的MRM色谱图

(1 杀线威, 2 灭多威-D3, 3 灭多威, 4 二氧威, 5 涕灭威, 6 恶虫威, 7 残杀威, 8 克百威, 9 甲萘威-D7, 10 甲萘威, 11 乙硫苯威, 12 抗蚜威, 13 异丙威, 14 仲丁威, 15 甲硫威, 16 猛杀威, 17 BDMC, 18 苯硫威, 19 棉铃威, 20 茚虫威, 21 丙硫克百威, 22 呋线威)

2.3 线性范围

按照 1.3 配制成各浓度混合标准工作液。以工作溶液浓度和内标浓度之比为横坐标，峰面积和内标峰面积之比为纵坐标，内标法绘制标准工作曲线（见下图 22），所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。





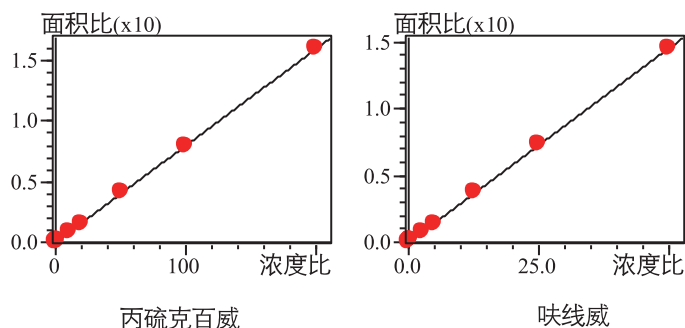


图22 20种氨基甲酸酯的标准曲线

表3 校准曲线参数

序号	名称	校准曲线	线性范围 (μg/L)	相关系数 r	准确度%
1	杀线威	$Y = 0.0634370X$	0.25~50	0.9999	87.4~100.5
2	灭多威	$Y = 0.0110982X$	1~200	0.9994	98.4~109.7
3	二氧威	$Y = 0.00528174X$	1~200	0.9999	86.1~100.6
4	涕灭威	$Y = 0.0217154X$	0.5~100	0.9999	87.6~100.6
5	恶虫威	$Y = 0.00693232X$	1~200	0.9999	95.8~110.3
6	残杀威	$Y = 0.0188432X$	1~200	0.9998	87.6~100.8
7	克百威	$Y = 0.0334726X$	0.5~100	0.9999	92.9~100.4
8	甲萘威	$Y = 0.0187430X$	1~200	0.9997	93.7~112.6
9	乙硫苯威	$Y = 0.0446606X$	1~200	0.9999	93.2~113.3
10	抗蚜威	$Y = 0.245836X$	0.25~50	0.9999	92.5~108.7
11	异丙威	$Y = 0.0299024X$	1~200	0.9998	87.8~112.2
12	仲丁威	$Y = 0.0421050X$	1~200	0.9999	86.8~102.5
13	甲硫威	$Y = 0.0424351X$	1-200	0.9999	86.3~110.9
14	猛杀威	$Y = 0.0467029X$	1-200	0.9998	90.0~106.3
15	BDMC	$Y = 0.00973255X$	1-200	0.9999	99.3-114.4
16	苯硫威	$Y = 0.186315X$	0.5-100	0.9998	87.9-102.6
17	棉铃威	$Y = 0.116527X$	0.5-100	0.9999	87.0-111.6
18	茚虫威	$Y = 0.000892791X$	1-200	0.9968	85.8-111.7
19	丙硫克百威	$Y = 0.0800311X$	1-200	0.9998	87.9-104.2
20	呋线威	$Y = 0.291325X$	0.25-50	0.9999	99.5-106.8

2.4 精密度实验

对不同浓度混合标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.015%~0.263% 和 0.554%~4.917% 之间，仪器精密度良好。

表4 保留时间和峰面积重复性及灵敏度结果

样品名称	RSD% (1 µg/L)		RSD% (20 µg/L)		RSD% (160 µg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
残杀威	0.034	4.152	0.058	1.735	0.042	1.353
灭多威	0.180	3.434	0.215	1.017	0.198	0.843
二氧威	0.056	4.833	0.092	3.487	0.069	1.119
恶虫威	0.056	3.010	0.056	2.125	0.042	0.911
甲萘威	0.075	3.335	0.049	2.276	0.042	1.520
乙硫苯威	0.066	4.261	0.051	2.675	0.037	1.126
异丙威	0.077	2.536	0.051	3.565	0.037	1.186
仲丁威	0.077	4.775	0.040	1.483	0.031	1.604
甲硫威	0.077	4.145	0.045	1.611	0.026	0.835
猛杀威	0.076	2.368	0.042	1.802	0.028	1.539
BDMC	0.038	4.917	0.051	4.815	0.027	2.000
茚虫威	0.104	4.318	0.015	4.806	0.026	4.255
丙硫克百威	0.022	3.739	0.036	1.369	0.023	1.394
	RSD% (0.5 µg/L)		RSD% (10 µg/L)		RSD% (80 µg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
克百威	0.068	4.98	0.058	1.735	0.040	0.592
苯硫威	0.035	3.904	0.049	2.455	0.018	1.346
涕灭威	0.056	2.035	0.069	2.639	0.055	1.434
棉铃威	0.062	4.033	0.049	2.455	0.016	1.501
	RSD% (0.25 µg/L)		RSD% (5 µg/L)		RSD% (40 µg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
杀线威	0.263	4.031	0.256	1.624	0.201	0.554
呋线威	0.022	3.739	0.036	1.369	0.024	1.171
抗蚜威	0.072	2.723	0.058	1.735	0.035	0.809

2.5 灵敏度实验

为考察仪器的灵敏度，将低浓度混合标准工作液按 1.2 中的分析条件下进行测定。方法检出限根据 HJ 168-2010《环境监测分析方法标准制修订技术导则》规定，以 7 次空白试验平均标准偏差为 S，按照 $MDL=t(6,0.99) \times S$ 进行计算，以 4 倍检出限作为测定下限，20 种化合物的信噪比和方法检出限如下表 5 所示。

表5 信噪比(S/N)和方法检出限以及定量限

名称	浓度水平($\mu\text{g}/\text{kg}$)	S/N	测定下限($\mu\text{g}/\text{kg}$)	检出限($\mu\text{g}/\text{kg}$)
杀线威	0.025	27.59	0.020	0.005
灭多威	0.100	24.98	0.048	0.012
二氧威	0.100	10.22	0.092	0.023
涕灭威	0.050	27.59	0.036	0.009
恶虫威	0.100	19.37	0.068	0.017
残杀威	0.100	55.33	0.036	0.009
克百威	0.050	28.28	0.040	0.010
甲萘威	0.100	54.07	0.052	0.013
乙硫苯威	0.100	12.22	0.024	0.006
抗芽威	0.025	31.67	0.016	0.004
异丙威	0.100	15.49	0.076	0.019
仲丁威	0.100	30.92	0.060	0.015
甲硫威	0.100	72.88	0.032	0.008
猛杀威	0.100	32.27	0.088	0.022
BDMC	0.100	58.56	0.040	0.010
苯硫威	0.050	13.64	0.044	0.011
棉铃威	0.050	64.20	0.036	0.009
茚虫威	0.100	10.73	0.052	0.013
丙硫克百威	0.100	39.73	0.084	0.021
呋线威	0.025	19.13	0.012	0.003

2.6 基质加标实验

按照 1.4 中样品制备方法，加标浓度如下表 6 所示，各平行测定 3 次。测试结果显示：20 种氨基甲酸酯样品的加标回收率在 88.1~108.4% 之间，结果如表 6。

表6 基质加标实验结果

样品名称	加标浓度 (2 μg/kg)		加标浓度 (16 μg/kg)	
	检测值	回收率	检测值	回收率
残杀威	1.812±0.023	90.6	16.016±0.285	94.3
灭多威	2.123±0.033	106.2	16.584±0.193	103.7
二氧威	1.949±0.051	94.1	15.911±0.181	91.4
恶虫威	1.832±0.028	91.6	16.278±0.167	101.7
甲萘威	2.041±0.106	97.7	16.353±0.278	102.2
乙硫苯威	2.049±0.082	92.2	16.260±0.397	96.6
异丙威	2.067±0.056	103.4	16.652±0.348	98.1
仲丁威	2.042±0.087	102.1	16.597±0.491	103.7
甲硫威	1.980±0.055	95.0	16.393±0.318	99.5
猛杀威	2.038±0.080	101.9	16.731±0.419	94.6
BDMC	2.071±0.086	103.6	16.971±0.269	106.1
茚虫威	1.761±0.096	88.1	17.385±0.428	108.4
丙硫克百威	1.923±0.086	96.3	17.145±0.270	107.2

	加标浓度 (1 μg/kg)		加标浓度 (8 μg/kg)	
	检测值	回收率	检测值	回收率
克百威	0.922±0.011	92.2	8.158±0.863	102.0
苯硫威	0.925±0.039	92.5	7.628±0.161	95.3
涕灭威	0.904±0.018	90.4	7.610±0.106	95.1
棉铃威	0.995±0.046	99.5	8.323±0.190	104.0

	RSD% (0.5 μg/kg)		RSD% (4 μg/kg)	
	检测值	回收率	检测值	回收率
杀线威	0.473±0.010	94.7	3.935±0.036	98.9
呋线威	0.489±0.020	97.9	4.022±0.685	100.6
抗蚜威	0.503±0.018	100.8	3.864±0.0927	96.6

2.7 实际土壤样品测定结果

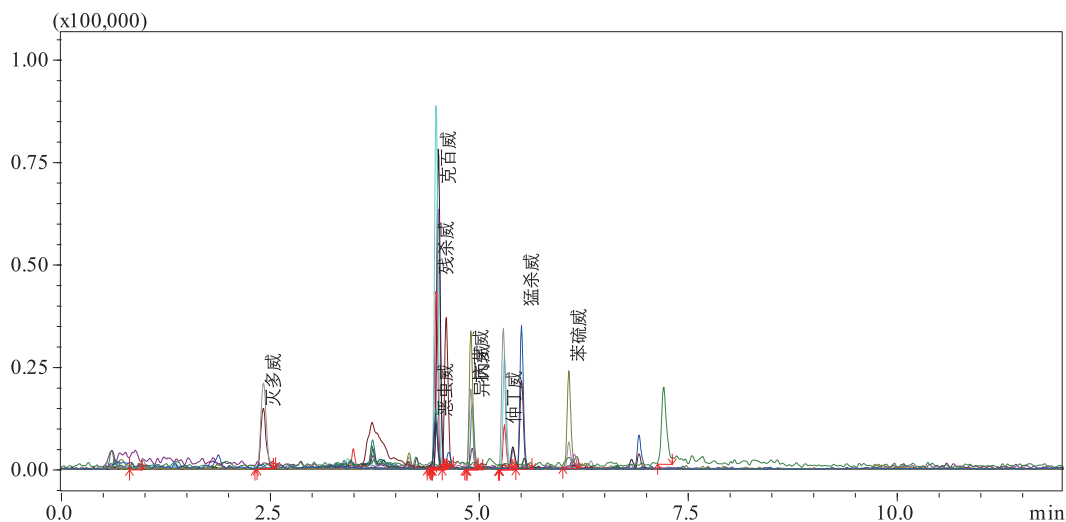


图23 土壤样品20种氨基甲酸酯色谱图

按照 1.4 中样品制备方法处理土壤样品，平行测定 3 次，结果如图 23 所示，测得某土壤样品含有 0.296 ± 0.026 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 灭多威， 0.491 ± 0.047 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 残杀威， 0.235 ± 0.012 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 克百威， 0.237 ± 0.013 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 恶虫威， 0.379 ± 0.025 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 异丙威， 0.462 ± 0.053 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 仲丁威， 0.517 ± 0.048 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 猛杀威， 0.095 ± 0.015 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 苯硫威。

■ 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定土壤中氨基甲酸酯残留的方法。该方法在 12 min 内完成 20 种氨基甲酸酯的分析，校准曲线的相关系数均在 0.997 以上。对不同浓度的混合标准溶液，各平行测试 6 次，12 种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.015%~0.263% 和 0.554%~4.917% 之间，仪器精密度良好。对于空白基质经过样品前处理后上机分析，回收率在 88.1~108.4% 之间。该方法具有分析速度快、灵敏度高、重复性好的优势，可用于土壤中多种氨基甲酸酯残留检测。