



高效液相色谱柱后衍生方法测定 10种氨基甲酸酯类农药

No.LC-028

摘要：建立了10种氨基甲酸酯类农药的HPLC柱后衍生分析方法。用5个不同浓度标准品进样(50, 100, 200, 500, 1000 $\mu\text{g/L}$)，得到校准曲线相关系数均大于0.9999，检测限低于5 $\mu\text{g/L}$ ，定量限低于16 $\mu\text{g/L}$ 。连续5针进样(250 $\mu\text{g/L}$, 5 μL)，保留时间相对标准偏差低于0.1%，峰面积相对标准偏差低于0.6%。

关键词：氨基甲酸酯 UFLC 柱后衍生

氨基甲酸酯类农药由于具有杀虫谱广、用量少、药效快等优点而得到了广泛的应用。但是这类杀虫剂一旦进入人体内，可生成具有致癌作用的亚硝化合物，故而氨基甲酸酯类农药并不是绝对安全的。鉴于此，农业部于2008年制定了新的《蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定》标准(NY/T 761-2008)。其中氨基甲酸酯类农药的检测种类增加到10种。本文参考新标准，使用岛津快速色谱柱shim-pack XR-ODS (3.0 mm I.D. \times 75 mm L, 2.2 μL)，建立了针对10种氨基甲酸酯类农药的检测方法。

原理

采用高效液相色谱柱后衍生方法测定氨基甲酸酯类农药。样品经ODS柱分离后，氨基甲酸酯类化合物与氢氧化钠发生水解反应生成甲胺。甲胺与邻苯二甲醛(OPA)和2-巯基丙酸(MEPA)反应生成一种异吲哚产物，可用荧光检测器定量。

色谱条件

色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS (75 mm L \times 4.6 mm I.D., 2.2 μL)；流动相：A相-水，B相-甲醇；流速：1.0 mL/min；柱温：50 $^{\circ}\text{C}$ ；进样量：5 μL ；波长： $E_x=330\text{nm}$ ， $E_m=465\text{nm}$ ；一级衍生温度100 $^{\circ}\text{C}$ ，流速0.5 mL/min；二级衍生温度50 $^{\circ}\text{C}$ ，流速0.5 mL/min。梯度洗脱程序如表1所示：

表1：梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value (%)
0.01	Pumps	Pump B Conc.	8
5.00	Pumps	Pump B Conc.	8
6.00	Pumps	Pump B Conc.	35
11.00	Pumps	Pump B Conc.	45
15.00	Pumps	Pump B Conc.	80
16.00	Pumps	Pump B Conc.	80
16.01	Pumps	Pump B Conc.	8
18.00	Controller	Stop	

试剂与仪器

标准品：10种单标均购于安谱公司。准确称量单一标准品，使用甲醇配制成1000 mg/L的标准溶液。取一定量单标配制成10 mg/L混标母液，然后逐级稀释成不同浓度的混标。母液保存于-28 $^{\circ}\text{C}$ 环境中。

试剂：甲醇，HPLC级；纯水，Milli-Q超纯水仪制备得到；氢氧化钠，AR；硼酸，AR；2-巯基丙酸和邻苯二甲醛(OPA)，购自国药集团化学试剂有限公司；一级衍生试剂：称取1.0 g氢氧化钠，溶于500 mL水中；二级衍生试剂：称取15 mg邻苯二甲醛(OPA)，溶于50 mL甲醇中，得到A液；称取3.34 g硼酸和0.18 g氢氧化钠，溶于400 mL纯水中，得到B液；将A液和B液混合，过滤，脱气后加入11 μL 2-巯基丙酸，混合，使用当天配制。所有试剂和样品需用0.45 μm 滤膜过滤。

仪器：Shimadzu氨基甲酸酯柱后衍生系统。具体配置为：输液泵LC-20AD \times 2和LC-20AB，脱气机DGU-20A5，自动进样器SIL-20A，检测器RF-10Ax1，柱温箱CTO-20A，化学反应箱CRB-6A，控制器CBM-20A，工作站LCSolution。

实验方法

标准品用甲醇配制成50, 100, 200, 500和1000 $\mu\text{g/L}$ 的溶液。采用5点外标法制做校准曲线；连续5针进样(250 $\mu\text{g/L}$, 5 μL)，考察重现性。

结果与讨论

1. 线性关系和最低检测浓度

标准品进样后图谱如下图1所示。10种氨基甲酸酯农药均得到很好的分离。使用Shim-pack XR-ODS快速柱洗脱时间仅为18min，农业部标准所用的时间为26min，且不包含重新平衡的时间。因此使用该方法单次分析时间节约一半左右。

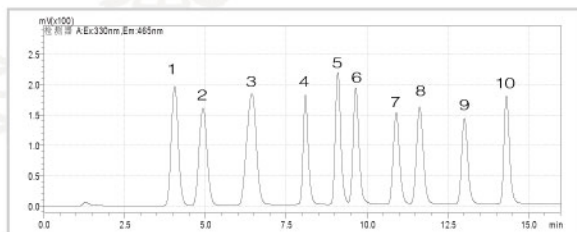


图1：标准品进样图谱(1000 μ g/L)

1-Aldicarb sulfoxide; 2-Aldicarb sulfone; 3-Methomyl;
4-3-hydroxycarbofuran; 5-Aldicarb; 6-Metolcarb;
7- Carbofuran; 8-Carbaryl; 9-Isoprocab; 10-Fenobucarb

标准品分别进样后得到的校准曲线如图2所示：

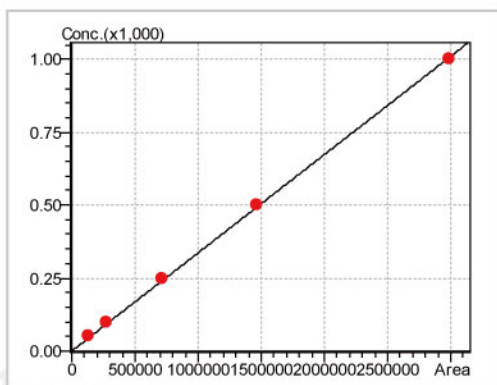


图2：Aldicarb sulfoxide的校准曲线

校准曲线相关系数 $R = 0.99998$ ，检测限($S/N=3.3$)为 $3.49 \mu\text{g/L}$ ，定量限($S/N=10$)为 $10.56 \mu\text{g/L}$ 。

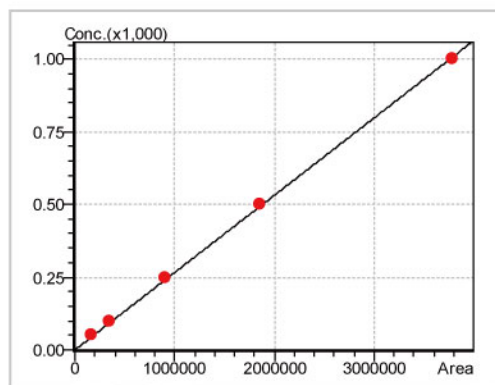


图4：Methomyl的校准曲线

校准曲线相关系数 $R = 0.99998$ ，检测限($S/N=3.3$)为 $3.97 \mu\text{g/L}$ ，定量限($S/N=10$)为 $12.04 \mu\text{g/L}$ 。

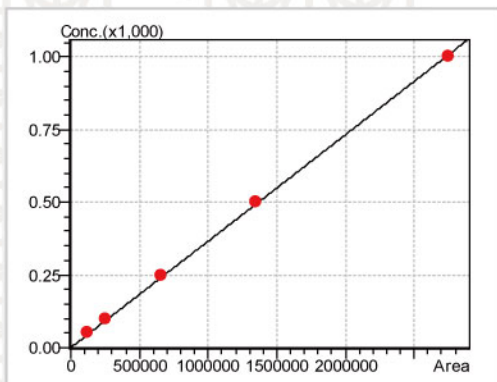


图3：Aldicarb sulfone 的校准曲线

校准曲线相关系数 $R = 0.99998$ ，检测限($S/N=3.3$)为 $4.37 \mu\text{g/L}$ ，定量限($S/N=10$)为 $13.25 \mu\text{g/L}$ 。

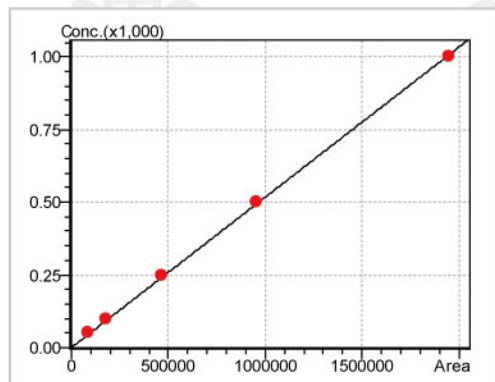


图5：3-hydroxycarbofuran的校准曲线

校准曲线相关系数 $R = 0.99997$ ，检测限($S/N=3.3$)为 $4.01 \mu\text{g/L}$ ，定量限($S/N=10$)为 $12.15 \mu\text{g/L}$ 。

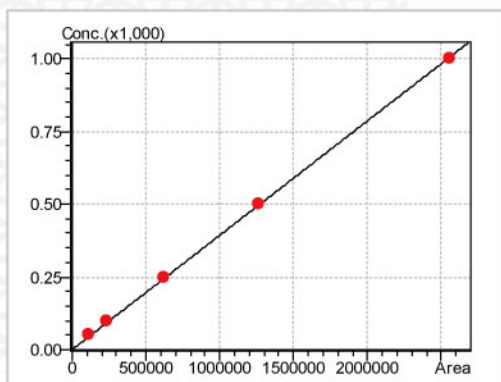


图6: Aldicarb的校准曲线

校准曲线相关系数 $R = 0.99998$, 检测限($S/N=3.3$)
为 $4.59 \mu\text{g/L}$, 定量限($S/N=10$)为 $10.05 \mu\text{g/L}$ 。

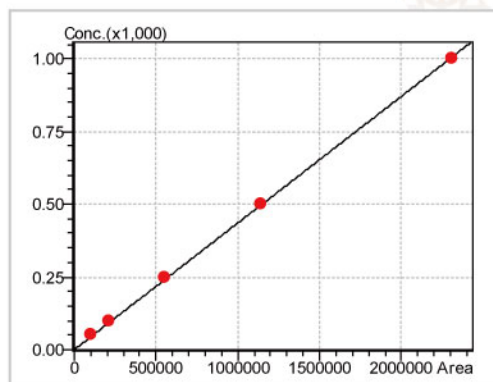


图9: Carbaryl的校准曲线

校准曲线相关系数 $R = 0.99999$, 检测限($S/N=3.3$)
为 $4.54 \mu\text{g/L}$, 定量限($S/N=10$)为 $13.75 \mu\text{g/L}$ 。

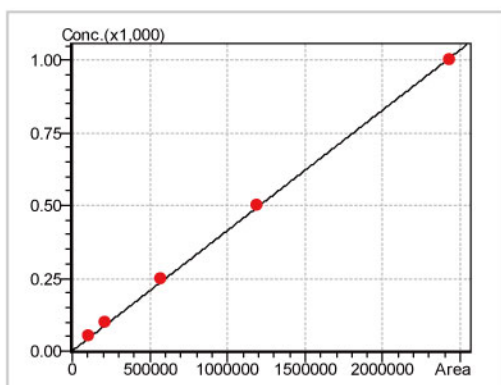


图7: Metolcarb 的校准曲线

校准曲线相关系数 $R = 0.99997$, 检测限($S/N=3.3$)
为 $3.84 \mu\text{g/L}$, 定量限($S/N=10$)为 $11.53 \mu\text{g/L}$ 。

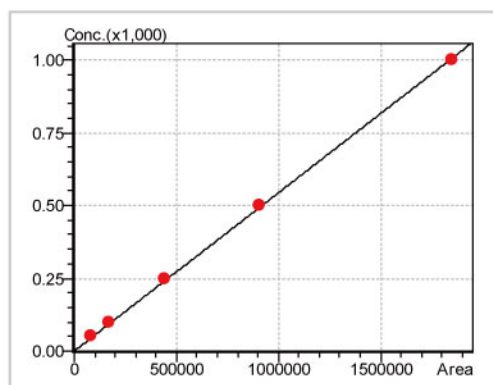


图10: Isoprocab的校准曲线

校准曲线相关系数 $R = 0.99998$, 检测限($S/N=3.3$)
为 $5.14 \mu\text{g/L}$, 定量限($S/N=10$)为 $15.56 \mu\text{g/L}$ 。

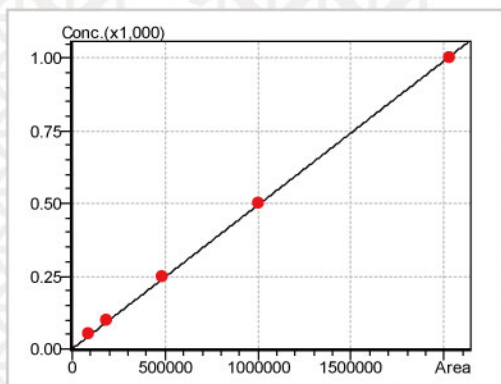


图8: Carbofuran的校准曲线

校准曲线相关系数 $R = 0.99999$, 检测限($S/N=3.3$)
为 $4.80 \mu\text{g/L}$, 定量限($S/N=10$)为 $14.53 \mu\text{g/L}$ 。

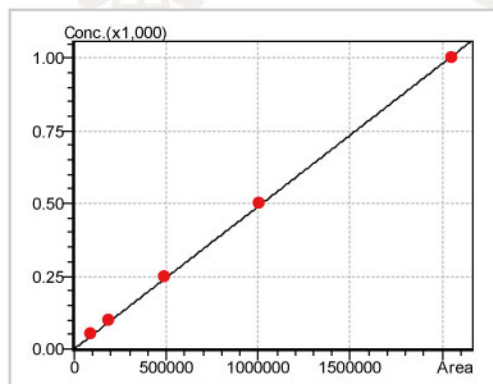


图11: Fenobucarb的校准曲线

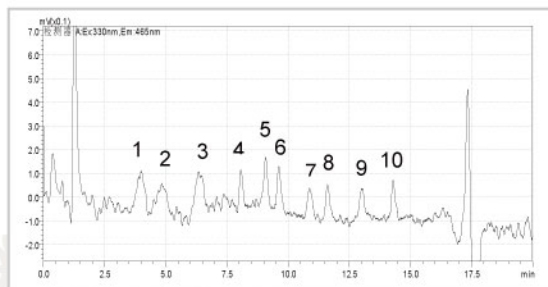
校准曲线相关系数 $R = 0.99998$, 检测限($S/N=3.3$)
为 $4.07 \mu\text{g/L}$, 定量限($S/N=10$)为 $12.34 \mu\text{g/L}$ 。

标准样品的检测限及定量限见表2。从表中可以看出其检测限低于5.14 $\mu\text{g/L}$ ，相比农业部标准灵敏度要高的多。定量限低于15.56 $\mu\text{g/L}$ 。

表2. 标准样品检测参考数据表

No	Name	RT(min)	Area ($\mu\text{v.S}$)	Det.Lim ($\mu\text{g/L}$)	Quan. Lim. ($\mu\text{g/L}$)
1	Aldicarb sulfoxide	4.043	1117029	3.49	10.56
2	Aldicarb sulfone	4.0921	1026144	4.37	13.25
3	Methomyl	6.434	1412322	3.97	12.04
4	3-hydroxycarbofuran	8.088	726825	4.01	12.15
5	Aldicarb	9.093	957020	4.59	10.05
6	Metolcarb	9.648	904271	3.84	11.53
7	Carbofuran	10.899	758507	4.80	14.53
8	Carbaryl	11.626	862561	4.54	13.75
9	Isoprocarb	13.012	690233	5.14	15.56
10	Fenobucarb	14.309	766222	4.07	12.34

最低检测浓度下 (5 $\mu\text{g/L}$) 样品的谱图见图12, 进样体积为5 μL 。

图12. 标准品进样图谱(5 $\mu\text{g/L}$)

1-Aldicarb sulfoxide; 2-Aldicarb sulfone; 3-Methomyl;
4-3-hydroxycarbofuran; 5-Aldicarb; 6-Metolcarb; 7-Carbofuran;
8-Carbaryl; 9-Isoprocarb; 10-Fenobucarb

结论

本文使用快速液相UFLC，配合岛津Shim pack XR-ODS 75 mm L. \times 4.6 mm I.D., 2.2 μm 快速分析色谱柱，参考农业部标准，并在其基础上建立了10种氨基甲酸酯类农药的检测方法。实验证明该方法得到的校准曲线线性度良好，检测限低于5 $\mu\text{g/L}$ 。定量限低于16 $\mu\text{g/L}$ 。保留时间RSD低于0.1%，峰面积RSD低于0.6%。使用岛津快速分析色谱柱能够将检测时间至少缩短8分钟，即节省了时间又节省了测试成本。相比农业部标准灵敏度要高。本法可以给所有从事农残检测的人员做参考。

参考文献:

[1] NY/T 761-2008, 《蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定》，农业部标准, p25-30。

2. 重现性

用250 $\mu\text{g/L}$ 标准品进样4次后，重现性结果如表3所示:

表3: 5针标准品(250 $\mu\text{g/L}$)数据重现性

No.	Name	%RSD	
		RT	Area
1	Aldicarb sulfoxide	0.083	0.172
2	Aldicarb sulfone	0.079	0.121
3	Methomyl	0.099	0.230
4	3-hydroxycarbofuran	0.060	0.225
5	Aldicarb	0.060	0.109
6	Metolcarb	0.058	0.560
7	Carbofuran	0.054	0.205
8	Carbaryl	0.055	0.257
9	Isoprocarb	0.038	0.310
10	Fenobucarb	0.029	0.317