

# HPLC 柱后衍生方法测定 10 种氨基甲酸酯类农药

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 年制定了的新《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》(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 (3.0mmI.D.×75mmL, 2.2μm),建立了针对 10 种氨基甲酸酯类农药的检测方法,供相关检测人员参考。

## ■ 实验部分

### 检测原理

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。

### 试剂与仪器

**标准品:** 准确称量单一标准品,使用甲醇配置成 1000 mg/L 的标准溶液。取一定量单标配置成 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℃。

0.18g 氢氧化钠,溶于 400mL 纯水中,得到 B 液;将 A 液和 B 液混合,过滤,脱气后加入 11μL 2-巯基丙酸,混合,使用当天配制。所有试剂和样品需用 0.45μm 以下滤膜过滤。

**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; 一级反应试剂: 称取 1.0g 氢氧化钠, 溶于 500mL 水中; 二级衍生试剂: 称取 15mg 邻苯二甲醛(OPA), 溶于 50mL 甲醇中, 得到 A 液; 称取 3.34g 硼酸和

**仪器:** Shimadzu 氨基甲酸酯柱后衍生系统。具体配置为: 输液泵 LC-20AD×2 和 LC-20AB, 脱气机 DGU-20A<sub>5</sub>, 自动进样器 SIL-20A, 检测器 RF-10A<sub>XL</sub>, 柱温箱 CTO-20A, 化学反应箱 CRB-6A, 控制器 CBM-20A, 工作站 LC-Solution。

### 色谱条件

色谱柱: Shimadzu Shim-pack XR-ODS 75mmL.×4.6mm I.D., 2.2μm; 流动相: A 相—水, B 相—甲醇; 流速: 1.0mL/min; 柱温: 42℃; 进样量: 5μL; 波长: Ex=330nm, Em=465nm; 一级反应温度 100℃, 流速 0.5mL/min; 二级衍生温度 50℃, 流速 0.5mL/min。梯度洗脱程序如表 1 所示:

Time	B Conc.
0.00	8
5.00	8
6.00	35
11.00	45
15.00	80
16.00	80
16.01	8
18.00	Stop

表 1 梯度洗脱程序

## 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 点外标法做校准曲

线；连续 5 针进样(250 $\mu\text{g/L}$ , 5 $\mu\text{L}$ )，考察重现性。

## ■ 结果与讨论

### 线性关系和最低检测浓度

标准品进样后谱图如图 1 所示。

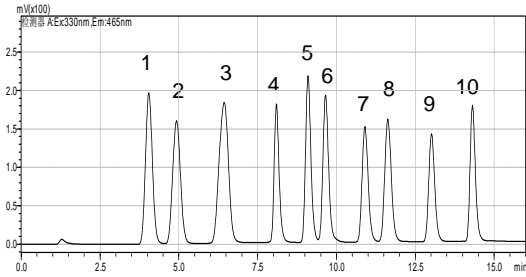


图 1 标准品进样图谱(1000 $\mu\text{g/L}$ )

1-涕灭威亚砷; 2-涕灭威砷; 3-灭多威; 4-三羟基克百威; 5-涕灭威; 6-速灭威; 7-克百威; 8-甲萘威; 9-异丙威; 10-仲丁威

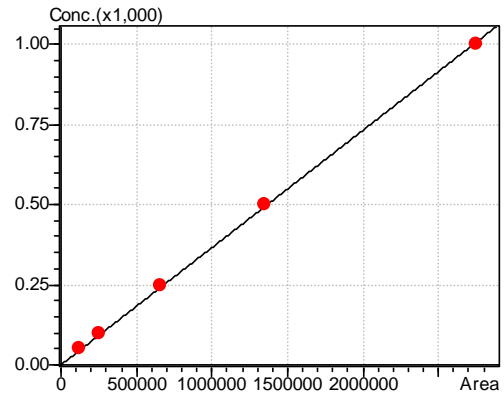


图 3 涕灭威砷的校准曲线

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 $\mu\text{g/L}$ 。

标准品分别进样后得到的校准曲线如图 2 所示:

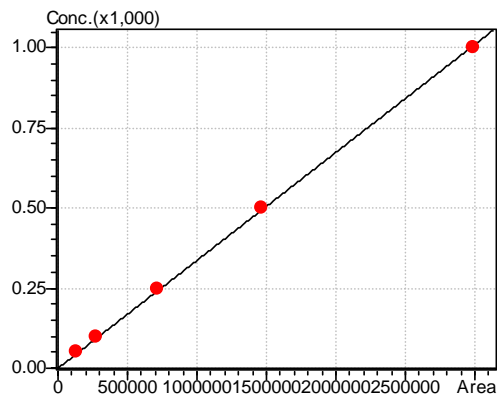


图 2 涕灭威亚砷的校准曲线

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 $\mu\text{g/L}$ 。

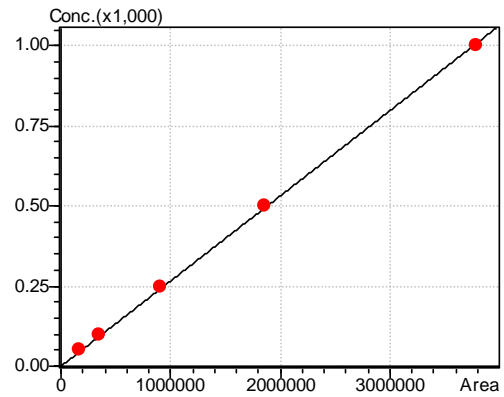


图 4 灭多威的校准曲线

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 $\mu\text{g/L}$ 。

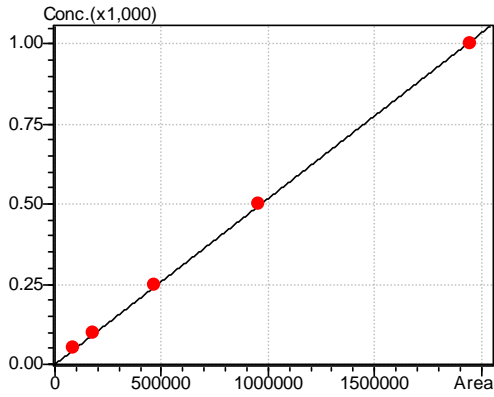


图5 三羟基克百威的校准曲线

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  $12.15\mu\text{g/L}$ 。

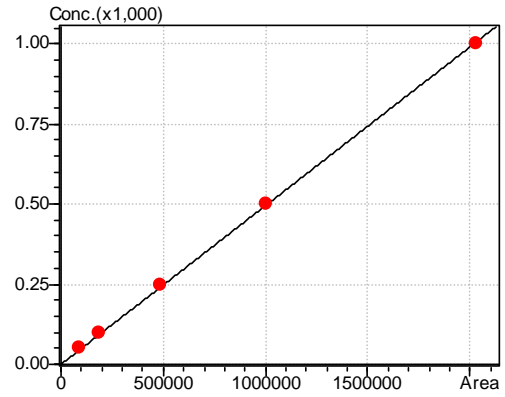


图8 克百威的校准曲线

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  $14.53\mu\text{g/L}$ 。

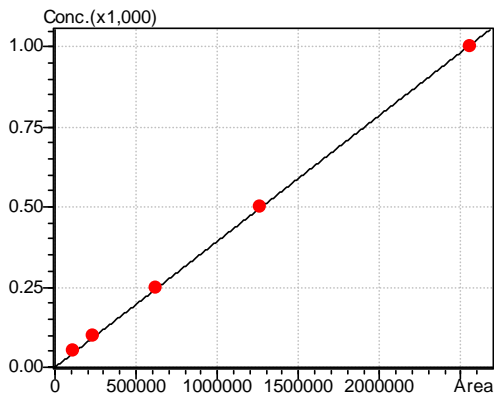


图6 涕灭威的校准曲线

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  $10.05\mu\text{g/L}$ 。

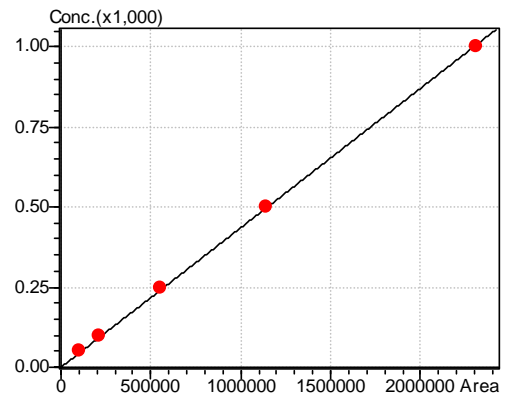


图9 甲萘威的校准曲线

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  $13.75\mu\text{g/L}$ 。

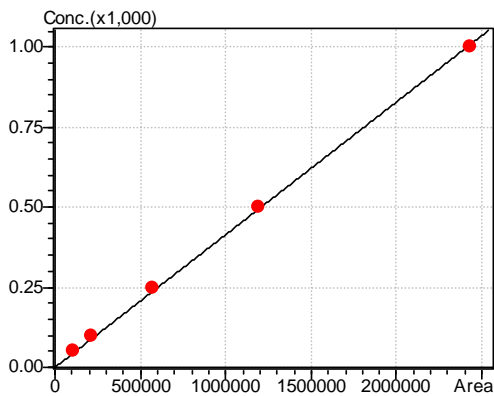


图7 速灭威的校准曲线

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  $11.53\mu\text{g/L}$ 。

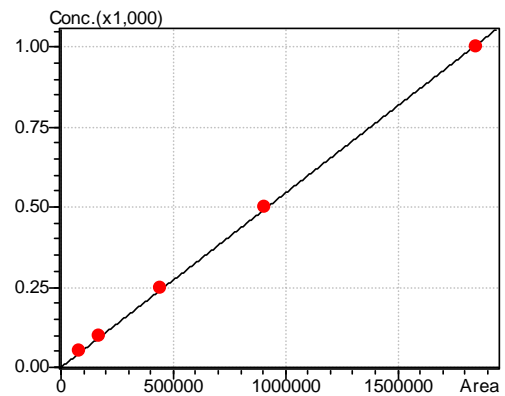


图10 异丙威的校准曲线

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  $15.56\mu\text{g/L}$ 。

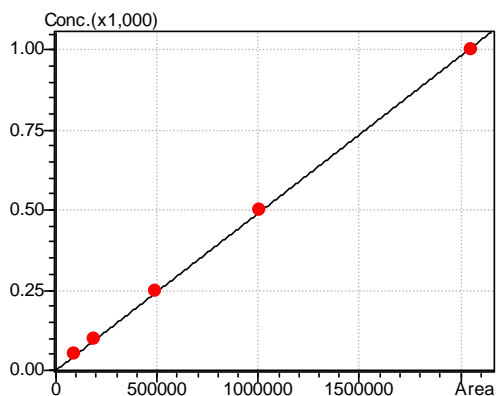


图 11 仲丁威的校准曲线

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。质量限低于  $15.56\mu\text{g/L}$ 。  
从表中可以看出其检测限低于  $5.14\mu\text{g/L}$ ,

表 2 标准样品检测参考数据表

No	Name	RT(min)	Area (uv.S)	Det.Lim $\mu\text{g/L}$	Quan. Lim. $\mu\text{g/L}$
1	涕灭威亚砷	4.043	1117029	3.49	10.56
2	涕灭威砷	4.0921	1026144	4.37	13.25
3	灭多威	6.434	1412322	3.97	12.04
4	三羟基克百威	8.088	726825	4.01	12.15
5	涕灭威	9.093	957020	4.59	10.05
6	速灭威	9.648	904271	3.84	11.53
7	克百威	10.899	758507	4.80	14.53
8	甲萘威	11.626	862561	4.54	13.75
9	异丙威	13.012	690233	5.14	15.56
10	仲丁威	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  $5\mu\text{L}$ 。

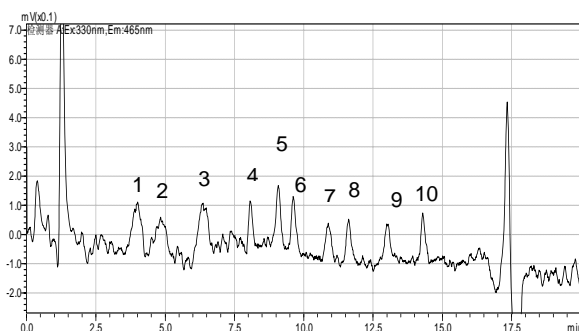


图 12 标准品进样图谱( $5\mu\text{g/L}$ )

1-涕灭威亚砷; 2-涕灭威砷; 3-灭多威; 4-三羟基克百威; 5-涕灭威; 6-速灭威; 7-克百威;  
8-甲萘威; 9-异丙威; 10-仲丁威

## 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		No.	Name	%RSD	
		RT	Area			RT	Area
1	涕灭威亚砷	0.083	0.172	6	速灭威	0.058	0.560
2	涕灭威砷	0.079	0.121	7	克百威	0.054	0.205
3	灭多威	0.099	0.230	8	甲萘威	0.055	0.257
4	三羟基克百威	0.060	0.225	9	异丙威	0.038	0.310
5	涕灭威	0.060	0.109	10	仲丁威	0.029	0.317

## ■ 结论

本文使用快速液相 UFLC, 配合岛津 shim pack XR-ODS 75mm L. $\times$ 4.6mm I.D., 2.2 $\mu\text{m}$  快速分析色谱柱, 参考农业部标准, 并在此基础上建立了 10 种氨基甲酸酯类农药的检测方法。该方法得到的校准曲线线性良好, 检测限

低于 5 $\mu\text{g/L}$ , 定量限低于 16 $\mu\text{g/L}$ , 保留时间重复性低于 0.1%, 面积重复性低于 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。

注: 数据出自岛津公司上海分析中心