

高效液相色谱柱后衍生化法用于 氨基甲酸酯类农药的测定

蒋新明 蔡道基 华晓梅

(国家环保局南京环境科学研究所 南京 210042)

摘要 研究了用高效液相色谱(HPLC)柱后衍生化荧光检测系统测定氨基甲酸酯类农药的方法。用 Radial Pak C₁₈ 柱在不同流动相梯度条件下对六种农药和三种代谢产物进行分离,通过柱后衍生化技术提高荧光检测器的灵敏度。结果表明:该方法分离效果良好,最低检测浓度为2μg/L,最小检出量为2ng。

关键词 高效液相色谱法,柱后衍生化,氨基甲酸酯农药

1 前 言

氨基甲酸酯农药种类多,用量大,需建立一种选择性强而又灵敏、简便的多残留测定方法。常规的气相及液相色谱测定法分别具有前处理繁琐费时和检测灵敏度不高等问题^[1-6],均难以适应对环境微量残留农药快速分析的要求。本文研究的是应用 HPLC 柱后衍生化荧光检测系统进行测定的方法。该方法国外已有一些研究^[7-10],而国内尚未见报道。

本方法的建立是基于氨基甲酸酯类农药在结构上均带有甲胺基团(-NHCH₃),在碱液作用下都可水解产生甲胺这一特性。在 HPLC 的色谱柱与检测器间加一柱后反应装置,农药及其代谢物先经径向加压柱分离,再在装置内碱解产生甲胺,甲胺与衍生化试剂反应可生成一种强荧光物质1-(2-羟乙基)硫基-2-甲基异吲哚,用高灵敏的荧光检测器进行检测

即可。其反应式如下面所示。

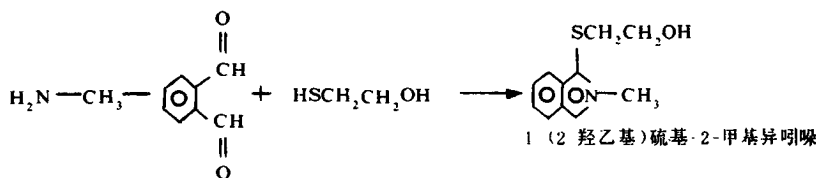
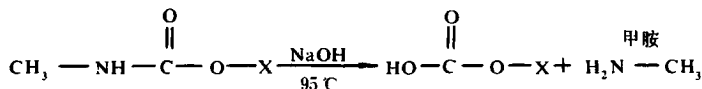
2 实验部分

2.1 仪器与试剂

仪器 美国 Waters 公司 ALC/GPC 244 HPLC,配有 M420 荧光检测器, M680 自动梯度控制器, M510 高压输液泵, U6K 进样器, M730 数据处理机以及温度控制器、柱后反应装置、Z 型径向加压器,柱为 Radial Pak μ Bondapak C₁₈ 径向加压柱。

试剂 氢氧化钠, 优级纯; 四硼酸钠、邻苯二甲醛 (OPTA), 分析纯; 巯基乙醇 (MERC), 化学纯; 甲醇, 分析纯, 重蒸过滤; 超纯水, 过滤备用。

农药标样 涕灭威, 涕灭威砒, 涕灭威亚砒, 呋喃丹, 3-OH 呋喃丹, 西维因, 速灭威, 叶蝉散, 巴沙等。



2.2 试验方法

2.2.1 试剂配制

OPTA-MERC 称 19.1g 四硼酸钠溶于约 800mL 超纯水中,另称 0.1g 邻苯二甲醛溶于 10mL 甲醇中,缓慢将邻苯二甲醛溶液滴加到硼砂溶液中,

边加边摇动。在通风橱内加 50μL 巯基乙醇于上述混合液中,摇匀后用超纯水稀释至 100mL,使四硼酸钠溶液浓度为 0.05mol/L。用 0.45μm 滤膜过滤,冰箱保存备用。

NaOH 溶液 称 2.0g NaOH 溶于 1000mL 超纯

水中,使其浓度为0.05mol/L。用0.45 μ m 滤膜过滤备用。

农药标准液 准确称取0.01g 各种农药纯品分别置于100mL 容量瓶中,其中涕灭威、涕灭威砒、涕灭威亚砒、呋喃丹、3-OH 呋喃丹和速灭威用超纯水溶解定容,西维因、叶蝉散、巴沙用甲醇定容,使各农药溶液的浓度为100mg/L。再分别用超纯水稀释成一定浓度直接进样测定(环境水样用0.45 μ m 滤膜过滤后直接进样测定。该滤膜具有滤速快、不易吸附的特点,样品过滤后浓度不变)。

2.2.2 分析条件

流动相:甲醇-水,流速1mL/min;OPTA-MERC、NaOH 泵流速均为0.5mL/min;荧光检测器 Excitation 338nm, Emission 455nm,灵敏度1/64;柱后反应温度95 \pm 0.2 C;记录仪纸速0.5cm/min;用外标法定量,进样量1mL。

梯度条件

| 进样时间(min) | 甲醇/水 (V/V) | 梯度曲线 |
|-----------|------------|------|
| 0.0 | 1/100 | — |
| 8.0 | 0/100 | 6 |
| 10.0 | 20/80 | 6 |
| 25.0 | 70/30 | 6 |
| 40.0 | 70/30 | 6 |
| 45.0 | 0/100 | 6 |

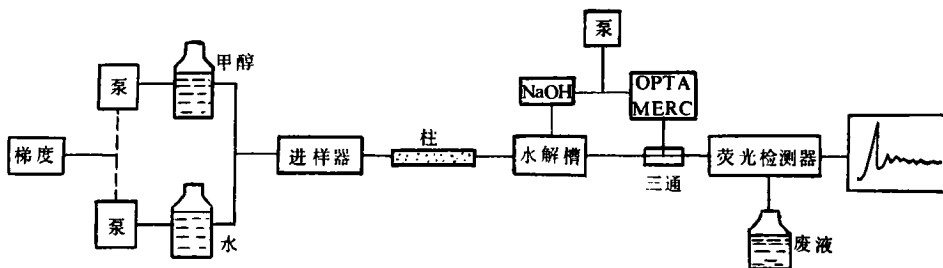


图1 柱后反应荧光检测系统图

3 结果和讨论

3.1 农药的分离及反应条件的选择

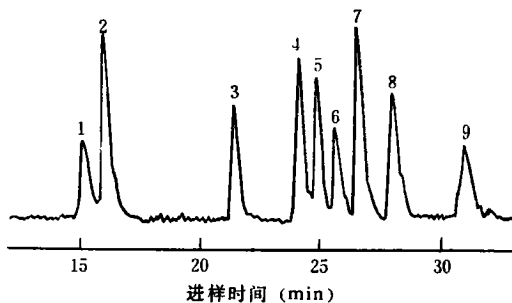


图2 用甲醇-水梯度洗脱的农药色谱图

1. 涕灭威亚砒, 2. 涕灭威砒, 3. 3-OH 呋喃丹, 4. 涕灭威,
5. 速灭威, 6. 呋喃丹, 7. 西维因, 8. 叶蝉散, 9. 巴沙。

按照上述仪器条件,对流动相进行了选择。用甲醇/水固定比例的流动相进行分离时,六种农药和三种代谢物在 Radial Pak C₁₈柱上得不到很好的分离,而用甲醇-水以一定程序进行梯度洗脱后得到了较好的分离效果(图2)。在此基础上若将其中的甲醇改为甲醇:乙腈=80:20 (V/V) 的混合液后再与水进行梯度淋洗,则分离效果更好,涕灭威的两个代谢产物可得到完全分离。

本试验中衍生化试剂 OPTA-MERC 及 NaOH 的浓度对检测也有较大影响。适宜的浓度,OPTA 为

0.1~0.2g/L, MERC 为50 μ L/L, NaOH 为0.05mol/L。浓度过高不仅不能增加灵敏度,反而会使背景噪音加大而干扰测定。试剂配制后的使用期均不宜超过一周。

3.2 方法的灵敏度与线性关系

在上述试验条件下,本方法的最低检出浓度为2 μ g/L,最低检出量为2ng。图3为进样量1mL 时农药的最低检测图谱。

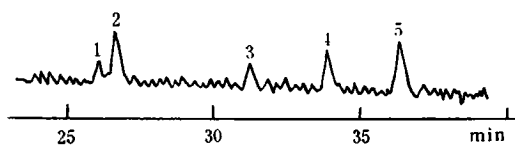


图3 氨基甲酸酯农药最低检出图谱(2 μ g/L)

1. 涕灭威亚砒, 2. 涕灭威砒, 3. 3-OH 呋喃丹,
4. 涕灭威, 5. 西维因。

将供试农药标液分别用超纯水稀释成2、4、6、8、10、12 μ g/L 的溶液,测得的标准曲线线性关系均良好(图4)。

3.3 土壤中氨基甲酸酯农药的测定

分别称取风干、过20目筛的土样10g,添加一定浓度的农药标液,加10mL 超纯水振荡提取,离心,取上清液用0.45 μ m 滤膜过滤后进样测定。每种浓度做三组平行试验,结果涕灭威、涕灭威砒和呋喃丹同样得到很好的分离(图5)。回收率为84.0~96.2%。

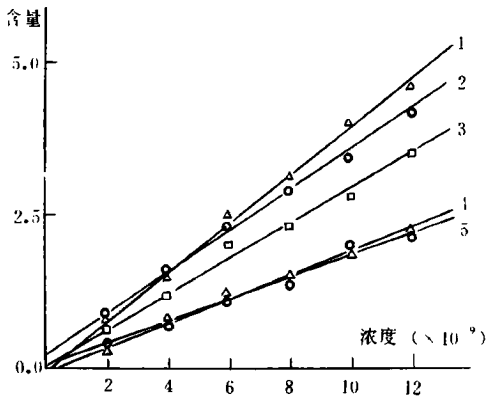


图4 涕灭威、呋喃丹及其代谢物的标准曲线

- 1. 涕灭威砒, $r=0.9979$; 2. 呋喃丹, $r=0.9984$;
- 3. 涕灭威, $r=0.9945$; 4. 3-OH 呋喃丹, $r=0.9916$;
- 5. 涕灭威亚砒, $r=0.9982$.

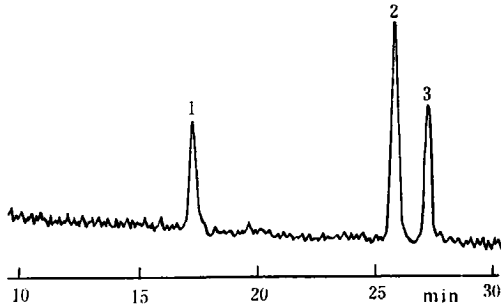


图5 土壤中氨基甲酸酯色谱图

- 1. 涕灭威砒, 2. 涕灭威, 3. 呋喃丹.

4 结 论

以上试验表明,用 HPLC 柱后衍生化法测定多残留的氨基甲酸酯农药具有简便、快速、灵敏的特

点,尤其适用于地下水和地表水中微量农药的检测^[11]。由于该方法的进样量较大,易造成色谱柱污染堵塞,因此在实际检测时最好在柱前加一支预保护柱以延长柱的使用寿命。

表1 涕灭威、涕灭威砒及呋喃丹在土壤中的回收率

| 农药 | 添加浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) | 平均回收量 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) | 平均回收率 (%) | 标准差 | 变异 系数 (%) |
|------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------|------|-----------------|
| 涕灭威 | 0.05 | 0.044 | 88.00 | 4.00 | 4.54 |
| | 0.50 | 0.461 | 92.20 | 4.03 | 4.37 |
| | 1.00 | 0.938 | 93.80 | 3.40 | 3.63 |
| 涕灭威砒 | 0.05 | 0.047 | 94.00 | 4.90 | 5.22 |
| | 0.50 | 0.473 | 94.60 | 3.92 | 4.14 |
| | 1.00 | 0.962 | 96.20 | 2.67 | 2.77 |
| 呋喃丹 | 0.05 | 0.042 | 84.00 | 5.62 | 6.69 |
| | 0.50 | 0.447 | 89.40 | 5.55 | 6.21 |
| | 1.00 | 0.913 | 91.30 | 3.21 | 3.51 |

参考文献

- 1 Snyder L R, Kirland J J. Introduction to modern liquid chromatography. New York: Wiley Interscience, 1974; 2
- 2 Strother A. J Gas Chromatogr, 1968; 6: 110
- 3 莫汉宏等. 环境科学, 1987; 8(2): 73
- 4 Lawrence J F, Leduc R. J Agric Food Chem, 1977; 25 (6): 1362
- 5 Lee Y W, Westcott. J Agric Food Chem, 1980; 28: 719
- 6 Grou E *et al.* J Chromatogr, 1983; 260: 502
- 7 Moye H A *et al.* Anal Lett, 1977; 10: 1049
- 8 Krause R T. J Chromatogr Sci, 1978; 16: 281
- 9 Krause R T. J Assoc Off Anal Chem, 1980; 63: 1114
- 10 Chaput D. J Assoc Off Anal Chem, 1986; 69: 985
- 11 蔡道基等. 环境科学学报, 1990; 10(4): 482

Determination of Carbamate Pesticides by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with Post-Column Derivatization

Jiang Xinmin, Cai Daoji and Hua Xiaomei

(Nanjing Institute of Environmental Sciences, NEPA, Nanjing, 210042)

This paper detailed an experimental method for determination of carbamate pesticides by HPLC with post-column derivatization. Six carbamate insecticides and their three metabolites were separated by Radial Pak C_{18} column at different mobile phase conditions. The sensitivity for carbamate pesticides was improved by post-column derivatization. The experimental results showed that under the experimental conditions the separation of the above 9 compounds was satisfactory and the minimum detectable concentration and amount were $2\mu\text{g}/\text{L}$ and 2ng , respectively.

Key words high performance liquid chromatography, post-column derivatization, carbamate pesticides