

超高效液相色谱-串联质谱法快速测定地表水中 20 种氨基甲酸酯类农药残留

张 明¹, 唐访良¹, 徐建芬¹, 陈 峰¹, 范晓开¹, 吴志旭²

(1. 杭州市环境监测中心站, 浙江 杭州 310007; 2. 淳安县环境保护监测站, 浙江 杭州 311700)

摘要: 为了更准确的检测氨基甲酸酯类农药在地表水中的残留水平, 建立了无需前处理, 直接进样快速测定氨基甲酸酯类农药残留的超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)分析方法。样品经 0.2 μm 针式滤头过滤除去颗粒性杂质后, UPLC-MS/MS 进样分析, 采用 Waters Acquity Uplc™ BEH C₁₈ 色谱柱, 甲醇和 5 mM 乙酸铵水溶液作为流动相进行梯度洗脱, 电喷雾离子源电离, 正离子多反应监测模式进行定性和定量分析。20 种氨基甲酸酯类农药在 0.10~100 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性关系良好, 相关系数 r 在 0.995 6~0.999 7 之间, 方法的检出限为 0.01~0.05 $\mu\text{g/L}$; 高、中、低 3 个添加水平的回收率为 72.2%~117%, 相对标准偏差在 1.82%~14.2% 之间。结果表明, 该方法灵敏、准确且检测范围广、分析速度快。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS); 氨基甲酸酯; 多反应监测; 地表水; 农药残留

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997(2012)05-0175-06

Rapid Determination of 20 Carbamate Residues in Surface Water by Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

ZHANG Ming¹, TANG Fang-liang¹, XU Jian-fen¹, CHEN Feng¹, FAN Xiao-kai¹, WU Zhi-xu²

(1. Hangzhou Environmental Monitoring Central station, Hangzhou 310007, China;

2. Chun'an Environmental Monitoring Station, Hangzhou 311700, China)

Abstract: A method without any pre-treatment steps using Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (UPLC-MS/MS) was developed and applied for the rapid determination of carbamate residues in surface water. Water sample was filtered with 0.2 μm syringe filter for particle removal and injected directly into UPLC, and separation was performed on an Acquity Uplc™ BEH C₁₈ column utilizing a gradient elution program of methanol and water (containing 5 mM ammonium acetate) as the mobile phase. Identification and quantification were achieved by UPLC-ESI-MS/MS in positive mode and multiple reactions monitoring (MRM). Good linearity was observed in the range of 0.10—100 $\mu\text{g/L}$ with correlation coefficients from 0.995 6 to 0.999 7, limit of detection (LOD) for the 20 carbamates was in the ranges of 0.01—0.05 $\mu\text{g/L}$. The recoveries ranged from

收稿日期: 2012-03-12; 修回日期: 2012-04-17

基金项目: 杭州市环境保护科技项目(2011003); 杭州市科技发展计划项目(20100933B37)资助

作者简介: 张明(1981~), 男(汉), 浙江三门人, 硕士, 从事环境监测方法研究。E-mail: zjuzhang@gmail.com

72.2% to 117% with the relative standard deviations were between 1.82% and 14.2%. The method is characterized by high sensation and precision, extensive analytical range and quick analytical rate.

Key words: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS); carbamate; MRM; surface water

氨基甲酸酯类农药具有分解快、残留期短、高效、选择性强等特点,而且原料易得,合成简单,成为继有机磷、有机氯农药后广泛使用的杀虫剂^[1-2]。此类杀虫剂进入体内可抑制乙酰胆碱酯酶,造成急性中毒^[3-4]。氨基甲酸酯类农药残留由于地表径流、大气干湿沉降等环境迁移行为进入地表水体,势必造成水环境及水产动物的污染,进而通过饮水或食物链直接或间接影响人体健康。因此,氨基甲酸酯类农药在水中的残留问题引起人们广泛的关注。

我国地表水环境质量标准^[5]中,氨基甲酸酯农药中最典型的甲萘威为集中式生活饮用地表水源地 80 个特定项目之一,其标准限值为 50 $\mu\text{g/L}$ 。生活饮用水卫生标准^[6]中规定克百威(呋喃丹)的限值为 7 $\mu\text{g/L}$ 。目前关于氨基甲酸酯类农药残留检测的研究已有大量文献报道^[7-19]以及相关标准^[20],但是这些方法,特别是针对地表水中氨基甲酸酯类农药残留检测的方法尚存以下问题^[10,12,14,18]:由于方法检出限不能满足相关要求,需要较复杂的前处理技术富集样品;检测农药品种单一,适用范围窄。因此,为了更准确的定性和定量分析水中种类繁多的氨基甲酸酯类农药残留,需要有更加高效准确、快速灵敏的多组分同时监测的分析方法。

本工作以目前使用最为广泛的 20 种氨基甲酸酯类农药作为待测目标化合物,利用超高效液相色谱-串联四极杆质谱联用技术,建立地表水中该类农药残留的快速检测方法。

1 试验部分

1.1 主要仪器与装置

超高效液相色谱-串联四极杆质谱仪(UPLC-Xevo TQMS;美国 Waters 公司产品,配有电喷雾离子源(ESI)及 Masslynx 4.1 数据处理系统);超纯水机:Milli-Q Advantage A10,美国密理博公司产品;移液枪:1 mL,法国吉尔森公司

产品。

1.2 主要材料与试剂

甲醇:色谱纯,德国 Merck 公司产品;乙酸铵:色谱纯,美国 TEDIA 公司产品;氨基甲酸酯农药标准品(S-22828-01,100 mg/L):美国 Accu Standard 公司产品。

1.3 标准溶液配制

取适量氨基甲酸酯农药标准品,用甲醇稀释并定容,配制成 1 mg/L 标准储备液。用 50% 甲醇水溶液分别将其稀释成相应的标准工作溶液。因氨基甲酸酯类化合物易降解,标准溶液及标准储备液需在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下冷冻保存,标准工作溶液现用现配。

1.4 试验条件

1.4.1 色谱条件 色谱柱:Waters Acquity UPLC BEH C_{18} (1.7 μm , 2.1 mm \times 50 mm) 柱;流动相:5 mM 乙酸铵水溶液(A)和甲醇(B);梯度洗脱程序:0~0.5 min、40% B,0.5~5.0 min、40%~80% B,5.0~6.5 min、80%~90% B,6.5~7.0 min、40% B;柱温 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$;流速 0.4 mL/min;进样量 5 μL 。分析流程用时 7.5 min。

1.4.2 质谱条件 电喷雾电离源(ESI);正离子扫描;多反应监测(MRM)模式;毛细管电压:3.5 kV;离子源温度:150 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂温度:500 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂气流量(氮气):800 L/h;锥孔气流量(氮气):30 L/h;碰撞气流量(氩气):0.15 mL/min。在分析过程中,以离子对(母离子和两个子离子)信息比较和保留时间进行定性分析;以母离子和响应高的子离子通道进行定量分析。

1.5 实际样品采集和分析

选取合适的采样日期,确保地表水样品采集前 2 天未下大雨。对于水库水,采样点位于水库中间;对于河流水,采样点位于河流中垂线上。水样采集后置于棕色玻璃瓶中,锡箔纸包裹后用冰块保存,当天送回实验室,24 h 之内完成仪器分析。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件和质谱条件的选择

超高效液相色谱中流动相的选择对目标物离子化效率具有非常显著的影响。综合文献报道以及试验结果,选择甲醇/水作为流动相体系。在流动相中加入缓冲盐调节系统的pH值,增加氨基甲酸酯在色谱柱上的保留并改善峰形,本试验比较了添加不同缓冲盐(甲酸、乙酸、甲酸铵、乙酸铵)条件下,目标物的离子化效率以及色谱峰形。试验中发现,选用5 mM 乙酸铵作为缓冲盐,目标物的离子化效率佳,色谱峰形对称且无拖尾。20种氨基甲酸酯类农药混合标准溶液进样分析,甲醇起始浓度为40%,最终浓度为90%,运行7.5 min,梯度洗脱,通过调节在不同分析时间里流动相的配比,20种目标化合物分离良好,混合标准溶液(10 $\mu\text{g/L}$)的MRM离子流图示于图1。

根据氨基甲酸酯类化合物的结构特征,选择正离子模式。采用流动注射泵进样,分别对20种标准溶液(浓度为100 $\mu\text{g/L}$)进行一级质谱扫描,确定各种氨基甲酸酯的准分子离子峰,并分别优化其锥孔电压。然后分别以其准分子离子为母离子,通过氩气碰撞产生碎片离子进行二级质谱扫描,同时优化碰撞能量,选择丰度较高的2种碎片离子作为定量与定性特征离子。为了保证每种化合物的灵敏度,采用分时段分别监测的方法。通过试验优化,20种氨基甲酸酯类农药的定性定量特征离子及优化的质谱参数列于表1。

2.2 标准曲线和检出限

用50%甲醇水溶液配制氨基甲酸酯标准溶液,浓度系列为0.10、0.50、1.0、10、50、100 $\mu\text{g/L}$,进样5 μL 检测。以目标组分响应值 y 对相应的质量浓度 x 绘制标准曲线。目标化合物的质量浓度在0.10~100 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性关系良好,相关系数 r 在0.9956~0.9997之间。以3倍信噪比($S/N=3$)和10倍信噪比($S/N=10$)确定方法的最低检出限和定量限,结果列于表2。结果表明,该方法的检出限远低于我国相关标准^[5-6]中该类化合物的控制标准,能满足直接进样测定地表水样品中氨基甲酸酯类农药残留的要求。

2.3 回收率和精密度

选用不含20种待测组分的地表水样品,分

别添加3个浓度水平(0.50、10和50 $\mu\text{g/L}$)的混合标准溶液,按照上述方法进行前处理,每个水平平行测定6次,考察方法的回收率和精密度,结果列于表3。高、中、低3个添加水平的回收率多在72.2%~117%之间,相对标准偏差在1.82%~14.2%之间,说明该方法有较好的回收率且具有较高的精密度,适合实际样品的检测分析。

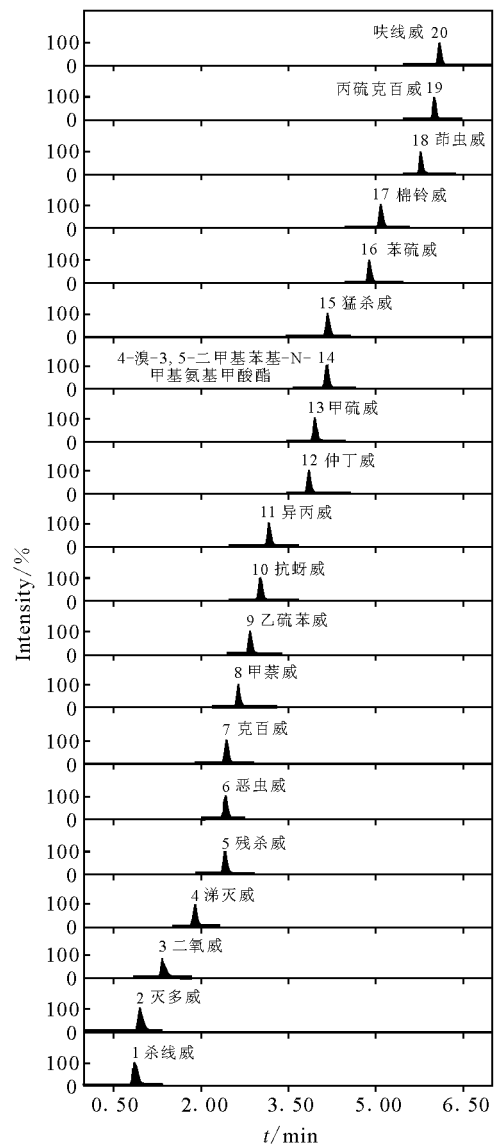


图1 20种氨基甲酸酯的MRM图

Fig. 1 MRM of 20 carbamates

2.4 实际样品检测

2011年1~12月,按照上述方法,对杭州市集中式生活饮用水水源地8个取水点水质进行每月一次的监测,所有样品均未检出氨基甲酸酯

类农药残留。另外分别于平水期(2011年4月)、丰水期(2011年7月)和枯水期(2011年10月)在千岛湖布点采样对湖水中氨基甲酸酯含量进行监测,也未检出氨基甲酸酯类化合物。

表 1 20 种氨基甲酸酯类农药的保留时间和优化的质谱分析参数
Table 1 UPLC retention time and optimized MS/MS parameters for 20 kinds of carbamates

化合物	母离子/(<i>m/z</i>)	子离子/(<i>m/z</i>)	锥孔电压/(V)	碰撞电压/(eV)	保留时间/(min)
杀线威	237.0	71.8*	12	13	0.82
		81.9		10	
灭多威	163.0	105.9*	12	7	0.92
		87.8		7	
二氧威	223.9	122.9*	18	17	1.32
		166.9		9	
涕灭威	208.1	88.9*	10	15	1.88
		115.9		9	
残杀威	210.0	110.9*	15	15	2.41
		167.9		8	
恶虫威	224.0	108.9*	18	19	2.42
		166.9		10	
克百威	222.0	122.9*	20	21	2.45
		164.9		13	
甲萘威	202.0	126.9*	16	25	2.67
		144.8		13	
乙硫苯威	226.0	106.8*	14	18	2.86
		163.9		9	
抗蚜威	239.1	71.9*	24	22	3.05
		182		18	
异丙威	194.0	94.9*	17	16	3.21
		136.9		11	
仲丁威	208.1	108.9*	20	18	3.89
		150.9		10	
甲硫威	226.1	120.8*	18	16	4.00
		168.9		12	
4-溴-3,5-二甲基苯基-N- 甲基氨基甲酸酯	257.9	121.8*	18	22	4.21
		200.8		12	
猛杀威	208.0	108.9*	20	18	4.22
		150.9		10	
苯硫威	254.0	71.8*	10	17	4.94
		159.8		12	
棉铃威	400.0	90.8*	10	22	5.13
		237.9		12	
茛虫威	528.0	217.9*	25	22	5.81
		248.8		18	
丙硫克百威	411.0	251.8*	15	13	6.05
		189.9		13	
呋线威	383.0	194.8*	22	18	6.14
		251.9		13	

注: * 为定量离子

表 2 20 种化合物的线性关系、相关系数和检出限

Table 2 Linear range, correlation coefficient and limits of detection of 20 compounds

化合物	线性方程	相关系数 r	线性范围/ $(\mu\text{g/L})$	检出限/ $(\mu\text{g/L})$	定量限/ $(\mu\text{g/L})$
杀线威	$y=3\ 442x+119$	0.998 4	0.10~100	0.01	0.05
灭多威	$y=712x-6.9$	0.999 5	0.10~100	0.02	0.05
二氧威	$y=2\ 056x-31.5$	0.999 6	0.10~100	0.05	0.10
涕灭威	$y=323x-2.0$	0.999 7	0.10~100	0.05	0.10
残杀威	$y=2\ 087x-183$	0.997 7	0.10~100	0.01	0.05
恶虫威	$y=2\ 005x-133$	0.998 8	0.10~100	0.05	0.10
克百威	$y=1\ 412x-23$	0.999 6	0.10~100	0.05	0.20
甲萘威	$y=489x+1.0$	0.998 9	0.10~100	0.05	0.10
乙硫苯威	$y=2\ 212x-77$	0.998 9	0.10~100	0.05	0.10
抗蚜威	$y=6\ 039x-187$	0.998 5	0.10~100	0.01	0.05
异丙威	$y=1\ 630x-22$	0.999 7	0.10~100	0.05	0.10
仲丁威	$y=3\ 669x-4.3$	0.999 5	0.10~100	0.05	0.10
甲硫威	$y=1\ 613x-31$	0.999 1	0.10~100	0.05	0.10
4-溴-3,5-二甲基苯基-N-甲基氨基甲酸酯	$y=1\ 972x-22$	0.998 9	0.10~100	0.05	0.10
猛杀威	$y=4\ 016x-195$	0.998 8	0.10~100	0.01	0.05
苯硫威	$y=2\ 624x+58$	0.999 2	0.10~100	0.02	0.06
棉铃威	$y=813x-8.1$	0.998 6	0.10~100	0.02	0.06
茚虫威	$y=186x-13$	0.995 6	0.10~100	0.05	0.10
丙硫克百威	$y=603x-22$	0.995 9	0.10~100	0.05	0.10
呋线威	$y=4\ 159x+103$	0.999 4	0.10~100	0.01	0.05

y : 响应值; x : 质量浓度, $\mu\text{g/L}$

表 3 方法的回收率和精密度 ($n=6$)Table 3 Test of recoveries and precision ($n=6$)

化合物	添加水平					
	0.50 $\mu\text{g/L}$		10 $\mu\text{g/L}$		50 $\mu\text{g/L}$	
	平均回收率/%	相对标准偏差/%	平均回收率/%	相对标准偏差/%	平均回收率/%	相对标准偏差/%
杀线威	82.8	11.6	80.5	8.49	86.6	5.26
灭多威	107	8.94	99.7	3.15	105	4.24
二氧威	117	7.69	111	4.46	112	2.25
涕灭威	72.2	14.2	94.8	3.84	97.2	1.83
残杀威	94.1	8.84	106	4.62	97.9	2.95
恶虫威	97.0	6.86	99.2	2.68	96.4	1.87
克百威	83.7	7.44	93.5	4.19	110	4.16
甲萘威	93.6	10.6	90.5	6.38	93.4	2.70
乙硫苯威	83.2	11.4	85.1	2.98	80.1	3.07
抗蚜威	105	3.87	100	2.84	99.1	3.00
异丙威	104	4.51	99.4	1.25	101	2.40
仲丁威	115	5.30	108	3.45	102	1.80
甲硫威	93.6	9.60	96.5	5.78	101	3.19
4-溴-3,5-二甲基苯基-N-甲基氨基甲酸酯	104	8.65	110	9.87	96.5	2.28
猛杀威	114	3.67	104	1.89	100	2.46
苯硫威	94.1	4.72	98.7	4.25	115	4.21
棉铃威	105	10.3	94.1	3.87	96.4	5.28
茚虫威	113	13.8	108	10.8	102	2.87
丙硫克百威	98.5	4.51	94.7	5.79	108	1.82
呋线威	104	7.91	114	5.97	112	6.55

3 结 论

本研究建立的超高效液相色谱-串联质谱同时检测地表水中 20 种氨基甲酸酯类农药残留的方法,选择性好、灵敏度高,线性关系、回收率和重现性等方法学指标较好。与原有的检测方法相比,方法的灵敏度大大提高,无需前处理程序直接进样检测即可满足相关法规对地表水中氨基甲酸酯类农药残留的控制标准要求,避免了繁杂的前处理程序,降低了实验人员因前处理过程中使用强毒性溶剂所面临的健康威胁。特别是检测范围广、分析时间短,仅用时 7.5 min 即能同时检测水中的 20 种氨基甲酸酯,是一种高效、快速的适于实际水样中氨基甲酸酯类农药残留检测分析的方法。在杭州市集中式生活饮用水水源地及千岛湖水质监测中,成功应用本方法对来自各个点位的水样进行了分析测定。结果显示,杭州市集中式生活饮用水水源地及千岛湖的水中,未检出氨基甲酸酯类农药。

参考文献:

- [1] 许春向,邹学贤. 现代卫生化学[M]. 北京:人民卫生出版社,2000:822-825.
- [2] 朱淑萍,丁越江,汪建秀,等. 一起氨基甲酸酯类农药涕灭威引起的食物中毒案例[J]. 现代预防医学,2008,35(14):2658-2664.
- [3] 张寿林,黄金祥,丁茂柏. 氨基甲酸酯杀虫剂中毒机理与临床[J]. 中国工业医学杂志,1988,1(1):29-33.
- [4] 胡维国,朱明学,杜先林. 氨基甲酸酯类化合物的毒性特点[J]. 职业卫生与应急救援,1998,16(3):132-135.
- [5] GB 3838—2002. 地表水环境质量标准[S].
- [6] GB 5749—2006. 生活饮用水卫生标准[S].
- [7] SCHULTEN H R, STOBER I, 孙思恩. 应用高压液体色谱和场解吸质谱测定和鉴定水中苯脲、氨基甲酸酯和硫代氨基甲酸酯类型农药[J]. 质谱学报,1982,3(2):51-58.
- [8] 万益群,毛雪金,鄢爱平. GC-NPD 同时测定中草药中有机磷和氨基甲酸酯农药残留量[J]. 分析试验室,2009,28(7):34-37.
- [9] 李劲峰,金叶舟,郑涛. 固相萃取-气相色谱法测定蔬菜中氨基甲酸酯类农药残留[J]. 理化检验-化学分册,2010,46(5):537-541.
- [10] 杨元,高玲,景露,等. SPE-GC/MS 法测定水中有机磷和氨基甲酸酯农药[J]. 中国测试,2009,35(2):86-89.
- [11] 庄剑波,谢伟宏,程建波,等. 微波萃取-GPC 净化-GC/MS 法检验血中氨基甲酸酯和沙蚕毒素类农药[J]. 质谱学报,2009,30(1):47-50.
- [12] 黄薇,刘祥萍. 水中甲萘威和莠去津的固相萃取-高效液相色谱测定法[J]. 环境与健康杂志,2009,26(1):73-74.
- [13] 程盛华,唐斌,郑龙,等. 在线柱后衍生-荧光检测-高效液相色谱法测定果蔬中残留氨基甲酸酯农药[J]. 理化检验-化学分册,2010,46(7):816-819.
- [14] 林诗云,吴晓波,陈海云,等. 固相萃取-高效液相色谱法测定水中 6 种氨基甲酸酯类农药残留量[J]. 农药,2010,49(12):909-929.
- [15] 杨如箴,王金花,张蓉,等. 凝胶渗透色谱净化超高效液相色谱串联质谱法检测甘草及其提取物中的 11 种氨基甲酸酯类农药残留[J]. 色谱,2010,28(8):769-775.
- [16] 王静,刘铮铮,潘荷芳,等. 浙江省市级饮用水源地氨基甲酸酯农药的分析、污染特征及健康风险[J]. 环境化学,2010,29(4):623-628.
- [17] 孙涛,刘河疆,胡开峰,等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定蔬菜中 7 种氨基甲酸酯农药残留[J]. 分析试验室,2010,29(4):87-91.
- [18] 刘春阳,云霞,那广水,等. HPLC-MS-MS 法测定水体中残留的氨基甲酸酯类农药[J]. 分析试验室,2010,29(11):36-40.
- [19] 田宏哲,赵瑛博,周艳明. 高效液相色谱-质谱法测定牛奶中 6 种氨基甲酸酯农药残留[J]. 食品科学,2011,23(2):187-190.
- [20] GB/T 5750.9—2006. 生活饮用水标准检验方法-农药指标[S].