



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103298337 B

(45) 授权公告日 2015. 11. 25

(21) 申请号 201180063244. 9

G01N 33/53(2006. 01)

(22) 申请日 2011. 11. 24

(56) 对比文件

(30) 优先权数据

61/416, 902 2010. 11. 24 US

CN 1617932 A, 2005. 05. 18,

EP 0327163 A2, 1989. 08. 09,

WO 2008010837 A2, 2008. 01. 24,

WO 9010450 A1, 1990. 09. 20,

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 06. 28

G. LENG等. Human dose-excretion studies

with the pyrethroid insecticide cyuthrin :

urinary metabolite pro ?

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2011/070906 2011. 11. 24

lefollowing inhalation.

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/069571 EN 2012. 05. 31

《XENOBIOTICA》. 1997, 第 27 卷 (第 12

期), 1273-1283.

(73) 专利权人 奇华顿股份有限公司

地址 瑞士韦尔涅

审查员 曹猛猛

(72) 发明人 K·C·安 S·J·吉

M·R·迈克寇伊 杨征

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 罗菊华

(51) Int. Cl.

A01N 25/12(2006. 01)

A01N 53/00(2006. 01)

C07C 43/315(2006. 01)

C07K 16/44(2006. 01)

权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54) 发明名称

用于确定 II 型拟除虫菊酯的存在的体外方法

(57) 摘要

一种用于确定样品中 II 型拟除虫菊酯化合物的存在的体外方法, 其中所述样品经受如水解和氧化的条件, 在这样的条件下, II 型拟除虫菊酯化合物转变成 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸, 然后通过 GC、LC、HPLC、MS、免疫分析或其组合来分析样品中这些酸的存在。

1. 一种用于确定样品中 II 型拟除虫菊酯化合物的存在的体外方法,该方法包括步骤:
 - (I) 使样品经受存在于样品中的 II 型拟除虫菊酯化合物会转变成 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的条件,及
 - (II) 接着分析该样品中 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的存在,以及所述方法在所述使样品经受 II 型拟除虫菊酯化合物会转变成 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的条件之前,还包括首先确定 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的存在步骤。
2. 根据权利要求 1 的方法,其中 II 型拟除虫菊酯化合物会转变成 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的条件按顺序包括以下步骤:
 - (I) 在碱性条件下使用氢氧化钠水溶液水解 II 型拟除虫菊酯基团以形成 α - 氰基醇 α - 羟基 -3- 苯氧基苯乙腈或 α - 羟基 -4- 氟 -3- 苯氧基苯乙腈,
 - (II) 将 α - 羟基 -3- 苯氧基苯乙腈或 α - 羟基 -4- 氟 -3- 苯氧基苯乙腈氧化成 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸,及
 - (III) 可选地,中和步骤 II 中所用的氧化剂。
3. 根据权利要求 1 的方法,其中 II 型拟除虫菊酯化合物会转变成 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的条件按顺序包括以下步骤:
 - (I) 在碱性条件下使用氢氧化钠水溶液水解 II 型拟除虫菊酯基团以形成 α - 氰基醇 α - 羟基 -3- 苯氧基苯乙腈或 α - 羟基 -4- 氟 -3- 苯氧基苯乙腈,
 - (II) 使用过氧化氢将 α - 羟基 -3- 苯氧基苯乙腈或 α - 羟基 -4- 氟 -3- 苯氧基苯乙腈氧化成 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸,及
 - (III) 可选地,中和步骤 II 中所用的氧化剂。
4. 根据权利要求 1 的方法,其中 II 型拟除虫菊酯化合物会转变成 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的条件按顺序包括以下步骤:
 - (I) 在碱性条件下使用氢氧化钠水溶液水解 II 型拟除虫菊酯基团以形成 α - 氰基醇 α - 羟基 -3- 苯氧基苯乙腈或 α - 羟基 -4- 氟 -3- 苯氧基苯乙腈,
 - (II) 将 α - 羟基 -3- 苯氧基苯乙腈或 α - 羟基 -4- 氟 -3- 苯氧基苯乙腈氧化成 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸,其中氧化是以酶法进行的,及
 - (III) 可选地,中和步骤 II 中所用的氧化剂。
5. 根据权利要求 1 的方法,其中 II 型拟除虫菊酯化合物会转变成 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的条件按顺序包括以下步骤:
 - (I) 在碱性条件下使用氢氧化钠水溶液水解 II 型拟除虫菊酯基团以形成 α - 氰基醇 α - 羟基 -3- 苯氧基苯乙腈或 α - 羟基 -4- 氟 -3- 苯氧基苯乙腈,
 - (II) 将 α - 羟基 -3- 苯氧基苯乙腈或 α - 羟基 -4- 氟 -3- 苯氧基苯乙腈氧化成 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸,及
 - (III) 可选地,中和步骤 II 中所用的氧化剂,其中中和是使用铂催化剂进行的。
6. 根据权利要求 1 的方法,其中确定 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的浓度是通过 ELISA 进行的。
7. 根据权利要求 1 的方法,其中所述样品是柑橘油样品。

用于确定 II 型拟除虫菊酯的存在的体外方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种确定样品中的 II 型拟除虫菊酯化合物的存在的方法。

背景技术

[0002] II 型拟除虫菊酯类化合物是一大类在如农业、林业的各种各样行业中以及在住宅设置中广泛用于病虫害防治目的的化学杀虫剂。它们都是合成酯类化合物并都包含氰基(CN)基团。

[0003] II 型拟除虫菊酯化合物的非限制性的实例包括氟酯菊酯、氯氰菊酯、氟氯氰菊酯、三氟氯氰菊酯、溴氰菊酯、苯氰菊酯、氰戊菊酯、甲氰菊酯、氟氯苯菊酯、氟氰戊菊酯、氟胺氰菊酯、四溴菊酯。

[0004] II 型拟除虫菊酯化合物是有毒的,而且在某些情况下是致癌的。这是食品行业特别关注的,因为一般人群主要是通过摄入受污染的食物和饮料,如通过食用已被这种化合物处理过的受污染的水、水果和蔬菜或其提取物,而暴露于该化合物。

[0005] 对食物和水污染的担忧已经导致食品制造商及其供应商需要检测水、食材和例如添加剂如调味剂的食物成分中 II 型拟除虫菊酯化合物的存在。

[0006] 目前有很多种分析技术用于确定如食物或水样品的样品中 II 型拟除虫菊酯化合物的存在。传统的通用分析技术包括提取,例如液相提取,随后是气相色谱(GC)、与质谱(MS)联用的液相色谱(LC)、或免疫化学分析。

[0007] 当对仅仅一种或两种 II 型拟除虫菊酯化合物进行分析时,如上面例举的那些已知技术是有效的,但是,当需要确定多种类型 II 型拟除虫菊酯化合物时,它们会变得耗时、复杂和昂贵。另外,通常在特定的情况下的 II 型拟除虫菊酯化合物,在某些情况下是同分异构体的水平,污染的样品必须已经是已知的,以进行准确的分析。在免疫测定分析的情况下,尤其是这样。

[0008] 由于很多杀虫剂配方包含多种 II 型拟除虫菊酯化合物的混合物,并且由于并不总是能够知晓某种杀虫剂的配方,以及因此知晓某种 II 型拟除虫菊酯化合物,样品,尤其是食物和 / 或水样品,已经暴露,通常有必要对多种,如果不是全部种类, II 型拟除虫菊酯化合物进行分析,造成劳动和时间密集型的过程。

[0009] 因此,建立一种简单、具有成本效益和时间效益的确定样品中存在的 II 型拟除虫菊酯化合物的全部种类的方法将是有益的。

发明内容

[0010] 现在,申请人已经发现样品中 II 型拟除虫菊酯化合物的存在可通过多种分析技术快速、容易、经济地确定,尤其是免疫分析,通过使样品经受将 II 型拟除虫菊酯化合物转变成 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的条件,然后分析这样处理后的样品中 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的存在。

[0011] 除了可转变成 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的被称为氟氯苯菊酯和氟氯氰菊酯的 II 型

拟除虫菊酯化合物之外,所有现在已知的 II 型拟除虫菊酯化合物均可转变成 3- 苯氧基苯甲酸。

[0012] 本发明所使用的术语“样品”指可包括 II 型拟除虫菊酯化合物的任何媒介,固体或液体。样品的非限制性的实施例包括,水,水果和蔬菜提取物例如柑橘油,饮料,食材,食品添加剂,调味剂,香料,作物匀浆,房屋尘土,生物固体(biosolid),和土壤样品。

[0013] 因此,在本发明的第一方面,提供了一种用于确定样品中 II 型拟除虫菊酯化合物的存在的体外方法,该方法包括的步骤:

[0014] I. 使样品经受存在于样品中的 II 型拟除虫菊酯化合物会转变成 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的条件

[0015] II. 接着分析该样品中 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的存在

[0016] 可能经受这样分析的样品已经包含了 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸。在这种情况下,确定 II 型拟除虫菊酯化合物存在的方法不能(fall to)在转变之前和之后通过测量所述样品以检测 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的浓度的变化来确定。

[0017] 在样品中的 II 型拟除虫菊酯化合物转变之后的 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸浓度的任何升高均会指示样品中 II 型拟除虫菊酯的存在。

[0018] 在本发明的一个方面,提供了一种用于确定样品中 II 型拟除虫菊酯化合物的存在的体外方法,包括以下步骤:

[0019] I. 分析样品中 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的存在

[0020] II. 使样品经受存在于样品中的 II 型拟除虫菊酯化合物会转变成 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的条件

[0021] III. 接着分析该样品中 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的存在或其浓度升高。

[0022] II 型拟除虫菊酯化合物可通过多种已知方法使用市售的起始原料、试剂和溶剂转变成 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸。

[0023] 在一个示例性实施例中,II 型拟除虫菊酯化合物在下述方法中转变成 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸,所述方法包括以下步骤:

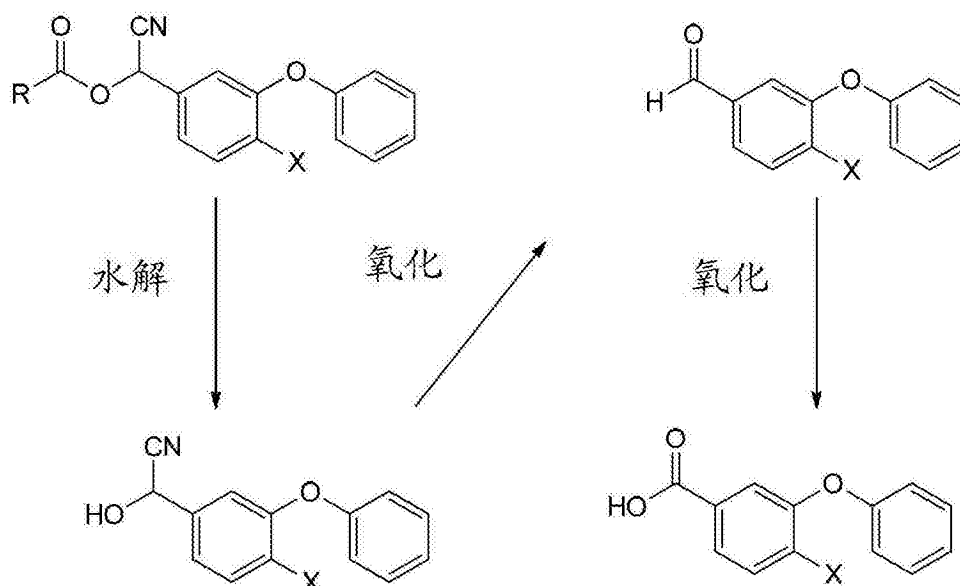
[0024] I. 在碱性或酸性条件下水解 II 型拟除虫菊酯化合物以形成相应的 α - 氰基醇, α - 羟基 -3- 苯氧基苯乙腈或 α - 羟基 -4- 氟 -3- 苯氧基苯乙腈

[0025] II. 将 α - 羟基 -3- 苯氧基苯乙腈或 α - 羟基 -4- 氟 -3- 苯氧基苯乙腈氧化成相应的 3- 苯氧基苯甲醛,以及

[0026] III. 氧化成 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸

[0027] 方案 1 示出了将 II 型拟除虫菊酯化合物转变为 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的过程。

[0028]



[0029] 其中 X=H 或 F

[0030] 方案 I

[0031] 应当选择所用的水解和氧化试剂的类型和数量以确保样品中包括的 II 型拟除虫菊酯化合物的转变。

[0032] 可与决定所用的水解和氧化试剂的类型和数量相关的因素可为与具体类型样品中通常包括的 II 型拟除虫菊酯化合物的相对比例以及样品的性质,例如由于柑橘油包含许多天然抗氧化剂,因而难以氧化包含于其中的 II 型拟除虫菊酯化合物。此外,柑橘油的不溶性质使得难于水解。

[0033] 通常情况下,应当使用与 II 型拟除虫菊酯化合物的相对比例相应的大量过量的氧化性和水解试剂,通常包括于具体类型的样品中,以确保样品中 II 型拟除虫菊酯化合物的转变,尤其是在柑橘油样品中。

[0034] 通常情况下,样品例如食物,水,水果和蔬菜提取物例如柑橘油,饮料,食材,食品添加剂,调味剂,香料,作物匀浆,房屋尘土,和土壤样品以 ppb 或 ppm 浓度包含这些化合物,并因此本领域技术人员一般可以采用在几个数量级过量的数量例如千分之几以确保样品中 II 型拟除虫菊酯化合物的转变。

[0035] 使用大量过量的氧化性和水解试剂的一个额外的有益之处在于这可以基于样品中存在的 II 型拟除虫菊酯化合物的浓度确保达到伪一级反应速率。

[0036] 在一个示例性的实施方案中 II 型拟除虫菊酯化合物的所述水解是在碱性条件下进行的。

[0037] 常用碱性水解试剂的非限制性实例包括金属氢氧化物水溶液,其非限制性实例包括氢氧化钠(NaOH),氢氧化钾(KOH),氢氧化锂(LiOH),氢氧化铵水溶液,三乙胺, N, N- 二异丙基乙胺(DIEA),三乙醇胺,氨气。

[0038] 在一个示例性的实施方案中 II 型拟除虫菊酯化合物的所述水解是在使用金属氢氧化物水溶液的碱性条件下进行的。

[0039] 在一个示例性的实施方案中 II 型拟除虫菊酯化合物的所述水解是在使用 NaOH 水溶液的碱性条件下进行的。

[0040] 常用氧化剂的非限制性实例包括次氯酸钠,过氧化氢,高氯酸钠,银离子,铜离子,高锰酸钾,臭氧,氧气,卤素(其非限制性实例包括氯、氟、溴),高碘酸,铬酸盐试剂(其非限制性实例包括三氧化铬),芬顿催化剂和光氧化。

[0041] 在一个示例性的实施方案中氧化是使用过氧化氢进行的。

[0042] 水解和氧化,在本文中如上所述,可独立进行或同时进行。

[0043] 在本发明的一个实施方案中水解和氧化是同时进行的。

[0044] 在一个示例性的实施方案中氧化和水解是对 100 μ l 样品使用 800 μ l 30% 过氧化氢和 0.4M NaOH 的溶液进行的。

[0045] II 型拟除虫菊酯化合物还可通过酯交换反应转变成 α -氰基醇 α -羟基-3-苯氧基苯乙腈和 / 或 α -羟基-4-氟-3-苯氧基苯乙腈。

[0046] 在一个示例性的实施方案中,II 型拟除虫菊酯化合物通过酯交换反应转变成 α -氰基醇 α -羟基-3-苯氧基苯乙腈和 / 或 α -羟基-4-氟-3-苯氧基苯乙腈。

[0047] 正如本文中有关的水解试剂,选择用于酯交换反应的试剂,及其使用的量,将取决于样品的性质,和包括于具体类型样品中的 II 型拟除虫菊酯化合物的相对比例。至于水解试剂酯交换反应试剂应当大量过量添加如例如千分之几从而确保样品中 II 型拟除虫菊酯化合物的转变。

[0048] 在一个示例性的实施方案中酯交换反应是在甲醇存在下使用甲醇钠进行的。

[0049] 酯交换反应,和氧化,在本发明中如上所述,可独立进行或同时进行。

[0050] 水解和氧化还可以酶法进行。

[0051] 在一个示例性的实施方案中氧化和水解是使用一种或更多种氧化还原酶,和一种或更多种羧酸酯酶,或前述的酶体系以酶法进行的。

[0052] 本发明所使用的术语酶体系是指包括多于一种酶的组合物。

[0053] 氧化还原酶的非限制性实例包括:NAD(P)+ 转氢酶(AB- 特异的),NAD(P)+ 转氢酶(B- 特异的),细胞色素 b5 还原酶豆血红蛋白还原酶,NADPH- 细胞色素 -c2 还原酶,NADPH- 血红蛋白还原酶,2- 羟基-1,4- 苯醌还原酶,三甲胺 -N- 氧化物还原酶,芳基醛脱氢酶,乙醇脱氢酶。

[0054] 羧酸酯酶的非限制性实施例包括:甲基丁酯酶,羧酸酯酶,丁酯酶,酯酶 A,酯酶 B,酯酶 D,羧酸酯酶 1

[0055] 在一个示例性的实施方案中水解是使用羧酸酯酶 1 以酶法进行的。

[0056] 在一个示例性的实施方案中氧化是使用芳基醛脱氢酶以酶法进行的。

[0057] 在一个示例性的实施方案中水解和氧化是独立使用羧酸酯酶 1 和芳基醛脱氢酶均以酶法进行的。

[0058] 在一个示例性的实施方案中水解和氧化是同时使用羧酸酯酶 1 和芳基醛脱氢酶均以酶法进行的。

[0059] 本发明中所使用的酶可以固定或非固定的形式使用。

[0060] 在一个示例性的实施方案中酶是非固定的。

[0061] 通常已知的是,与未结合状态的酶相比,固定化酶常常显示对有机溶剂增强的耐性。

[0062] 在一个示例性的实施方案中酶是固定的。

[0063] 氧化后,尤其是化学氧化,且在随后确定 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸存在之前,可以中和反应混合物,和 / 或可以进行固相萃取(SPE),或液-液萃取(LLE)步骤,

[0064] 当随后确定 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸存在是要进行免疫分析时中和尤其有用。这是因为通过例如从基质中使干扰最小化会导致更敏感的分析,和 / 或防止氧化剂对免疫分析中所使用的抗体产生任何变性效果。

[0065] 当随后确定 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸存在是要通过 GC 或 MS 进行时 SPE 或 LLE 尤其有用,因为这起到浓缩和纯化所分析的样品的作用。

[0066] 这是本领域技术人员可以在其职权范围内很好决定的事情,取决于氧化和水解是如何已经进行的例如以酶法,以及取决于所选择的分析技术例如 LC, GC, 或免疫分析,来决定中和或 SPE 步骤是必需的或期望的。

[0067] 在一个示例性的实施方案中中和步骤是在氧化之后和随后确定样品中 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸存在之前进行的。

[0068] 中和试剂,以及使用的量,将取决于所使用的具体的中和试剂、样品的性质、和所使用的量和氧化剂。必须选择以中和氧化剂

[0069] 常用中和试剂的非限制性实例包括抗坏血酸,铂催化剂,金属锌,偏亚硫酸氢钠,氢气,金属银,金属钯,氧化锰,过氧化氢酶。

[0070] 这是本领域技术人员可以在其职权范围内很好决定的事情,基于已经使用的氧化剂和量来决定中和试剂的具体试剂和量。反应混合物的 pH 可用于指示何时已经添加了足够量的中和试剂。

[0071] 在一个示例性的实施方案中中和是使用铂催化剂进行的。

[0072] 在一个示例性的实施方案中中和是,在 100 μ l 样品使用 800 μ l 30% 过氧化氢溶液氧化 II 型拟除虫菊酯化合物之后,使用 0.5% 在氧化铝上的铂进行的。

[0073] 在一个示例性的实施方案中 SPE 步骤是在氧化之后和随后确定样品中 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸存在之前进行的。

[0074] 在本发明的一个特定的实施方案中所述样品是柑橘油样品。

[0075] 在本发明的一个示例性的实施方案中所述样品是柑橘油并且水解是使用氢氧化钠,氧化是使用过氧化氢,及中和是使用固相载体上的铂催化剂进行的。

[0076] 在本发明的另一个示例性的实施方案中所述样品是掺入柑橘油的水并且水解是使用氢氧化钠,氧化是使用过氧化氢,及中和是使用固相载体上的铂催化剂进行的。

[0077] 在一个示例性的实施方案中 100 μ l 柑橘油样品是使用 800 μ l 30% 过氧化氢溶液水解和氧化的,并且使用氧化铝颗粒上的 0.5% 的铂中和的。

[0078] 包括于柑橘油样品中的 II 型拟除虫菊酯化合物转变成 3- 苯氧基苯甲酸或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的过程示例于图 1。

[0079] 在样品中的 II 型拟除虫菊酯化合物转变之前或之后 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸存在,可通过本领域技术人员已知的任何技术确定,例如免疫分析, GC, LC, MS, 高压液相色谱(HPLC), 及其组合。

[0080] 在本发明的一个示例性的实施方案中在 II 型拟除虫菊酯化合物转变之前或之后 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸存在是通过免疫分析确定的。

[0081] 在通过免疫分析之前样品的 pH 可调整为在 6 至 9 范围内的 pH。

[0082] 可使用能够确定 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的存在和 / 或浓度的任何类型的免疫分析。可能的免疫分析的非限制性实例包括, 竞争性免疫分析, 非竞争性免疫分析, 放射免疫分析, 荧光免疫分析, 磁性免疫分析, PCR 免疫分析, 电化学发光免疫分析, 和酶联免疫吸附分析(以下简称 ELISA)。

[0083] 在本发明的一个示例性的实施方案中在 II 型拟除虫菊酯化合物转变之前或之后 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸存在是通过 ELISA 确定的。

[0084] 可在 ELISA 中使用能够确定 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的存在任何酶, 抗原, 和抗体组合。

[0085] 可能的酶的非限制性实例包括: 过氧化物酶, 磷酸酶, β - 半乳糖苷酶。

[0086] 在一个示例性的实施方案中使用过氧化物酶来确定样品中 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的存在。

[0087] 可能的抗原的非限制性实施例包括: 作为免疫原的 3- ((2- 氧代乙氧基) 乙氧基) 苯氧基苯甲酸的甲状腺球蛋白缀合物, 和在这个竞争性形式中作为包被抗原的 3-PBA- 牛血清白蛋白。

[0088] Shan, G. ;Huang, H. ;Stoutamire, D. W. ;Gee, S. J. ;Leng, G. ;Hammock, B. D. Chem. Res. Toxicol. 2004, 17, 218-225, 通过引用的方式并入本文, 包含这些抗原的更多信息。

[0089] 任何与 3-PBA 反应的抗体可用于 ELISA 中以确定样品中 3- 苯氧基苯甲酸和 / 或 4- 氟 -3- 苯氧基苯甲酸的存在。

[0090] 在一个示例性的实施方案中抗体兔抗 3-PBA#294 用于 ELISA 中。

[0091] Shan, G. ;Huang, H. ;Stoutamire, D. W. ;Gee, S. J. ;Leng, G. ;Hammock, B. D. Chem. Res. Toxicol. 2004, 17, 218-225, 通过引用的方式并入本文, 包含这个抗体的更多信息。

[0092] 本文中公开的方法可用于检测样品中以 1ppm 或更高, 0. 5ppm 或更高, 1ppb 或更高, 0. 5ppb 或更高浓度存在的 II 型拟除虫菊酯化合物。检测下限取决于目的样品的性质即与水样品相比柑橘油样品的检测下限更高, 因为柑橘油的成分复杂和水解和氧化其中该类 II 型拟除虫菊酯化合物的困难。

[0093] 在一个示例性的实施方案中所述样品是水并且所述检测下限是 0. 5ppb

[0094] 在一个示例性的实施方案中所述样品是柑橘油并且所述检测下限是 0. 5ppm

[0095] 本发明现在将通过以下非限制性实施例进一步详细描述。

[0096] 实施例 1 - 使用过氧化氢作为氧化剂和铂催化剂作为中和剂转变橙油中的 II 型拟除虫菊酯化合物

[0097] 掺入橙油以所指示的杀虫剂的最终浓度为 10 μ M 并且所有样品均一式三份运行。100 μ L 橙油样品吸到玻璃小瓶中, 然后再在稳定的压缩空气流下挥发 1 小时。然后向样品添加 200 μ L 二恶烷和 800 μ L 的 30w/v 过氧化氢和 0. 4N NaOH。然后样品于 50° C 温育搅拌 1 小时。样品然后通过加入氧化铝颗粒上的 0. 5% 的铂中和, 其允许于 25° C 不搅拌温育 2 小时完成中和。然后样品在通过 ELISA 分析之前稀释 200x 至 10%MeOH90%0. 1M 磷酸盐缓冲液中。在图 2 中可以看到结果。

[0098] 实施例 2 - 使用次氯酸钠作为氧化剂和抗坏血酸作为中和剂从橙油转变 II 型拟除虫菊酯化合物

[0099] 掺入橙油以所指示的杀虫剂的最终浓度并且所有样品均一式三份运行。100 μ L 橙油样品吸到玻璃小瓶中,然后再在稳定的压缩空气流下挥发 1 小时。然后向样品添加 200 μ L 二噁烷和 800 μ L 的 10%w/v 次氯酸钠和 0.4N NaOH。然后样品于 75° C 温育搅拌 1 小时。然后冷却样品并在两种分离的方式中分析。添加 1.0mL 的 1.0M 抗坏血酸的样品通过 ELISA 分析。通过 ELISA 分析之前,通过添加 NaOH 将 pH 调高至 $\sim$ 7,然后以 10%MeOH90%0.1M 磷酸盐缓冲液将样品稀释 400x。通过 GC 和 LC/MS 分析的样品用 HCl 调整它们的 pH 低至 5 并用 1.0mL 的 0.2M 的 pH4.5 的醋酸钠缓冲液稀释。然后在被通过 LC/MS 和 GC/MS 分析之前使用 Strata-screen A 混合模式 SPE 柱清理这些样品。Ahn KC, Lohstroh P, Gee SJ, Gee NA, Lasley B, Hammock BD. Anal Chem. 200779 (23):8883-8890 通过引用的方式并入本文,包含该 SPE 方法的更多信息。

[0100] 结果可见于表 1。

[0101]

ELISA	SD	GC/MS	SD	LC/MS	SD	掺入水平	拟除虫菊酯
5.8	0.5	12.9	2.1	23.2	3.4	10.6	溴氰菊酯
5.8	0.9	N/A		N/A		11.3	β -氯氰菊酯
5.6	0.7	6.9	1.0	15.5	2.8	9.5	(4,6)-溴氰菊酯 (4,9)-氯酯菊酯
6.6	0.9	6.7	1.2	19.5	3.8	11.3	(3,7)-溴氰菊酯 (3,8)-氯酯菊酯 和 (3,8)-氯氯氰菊酯
0.9	0.1	<LOQ		5.5	0.4	2.1	溴氰菊酯
1.0	0.2	N/A		N/A		2.3	β -氯氯氰菊酯
1.5	0.3	3.4	0.1	6.7	0.5	1.9	(0.92)-溴氰菊酯 (0.98)-氯酯菊酯
1.5	0.2	4.3	0.4	8.3	0.5	2.3	(0.74)-溴氰菊酯 (0.76)-氯酯菊酯 和 (0.76)-氯氯氰菊酯

[0102] 表 1

[0103] 实施例 3-使用次氯酸钠作为氧化剂和抗坏血酸作为中和剂从橙油转变拟除虫菊酯化合物

[0104] 将葡萄柚和柠檬油以 2.5ppm 的终浓度掺入溴氰菊酯,所有样品均一式三份运行。100 μ L 橙油样品吸到玻璃小瓶中,然后再在稳定的压缩空气流下挥发 1 小时。然后向样品添加 200 μ L 二噁烷和 800 μ L 的 10%w/v 次氯酸钠和 0.4N NaOH。然后样品于 75° C 温育搅拌 1 小时。然后冷却样品并以两种分离的方式分析。添加 1.0mL 的 1.0M 抗坏血酸至样品。在通过 ELISA 分析之前,通过添加 NaOH 将 pH 调高至 $\sim$ 7,然后将样品以 10%MeOH90%0.1M 磷酸盐缓冲液稀释 400x。结果可见于图 3。

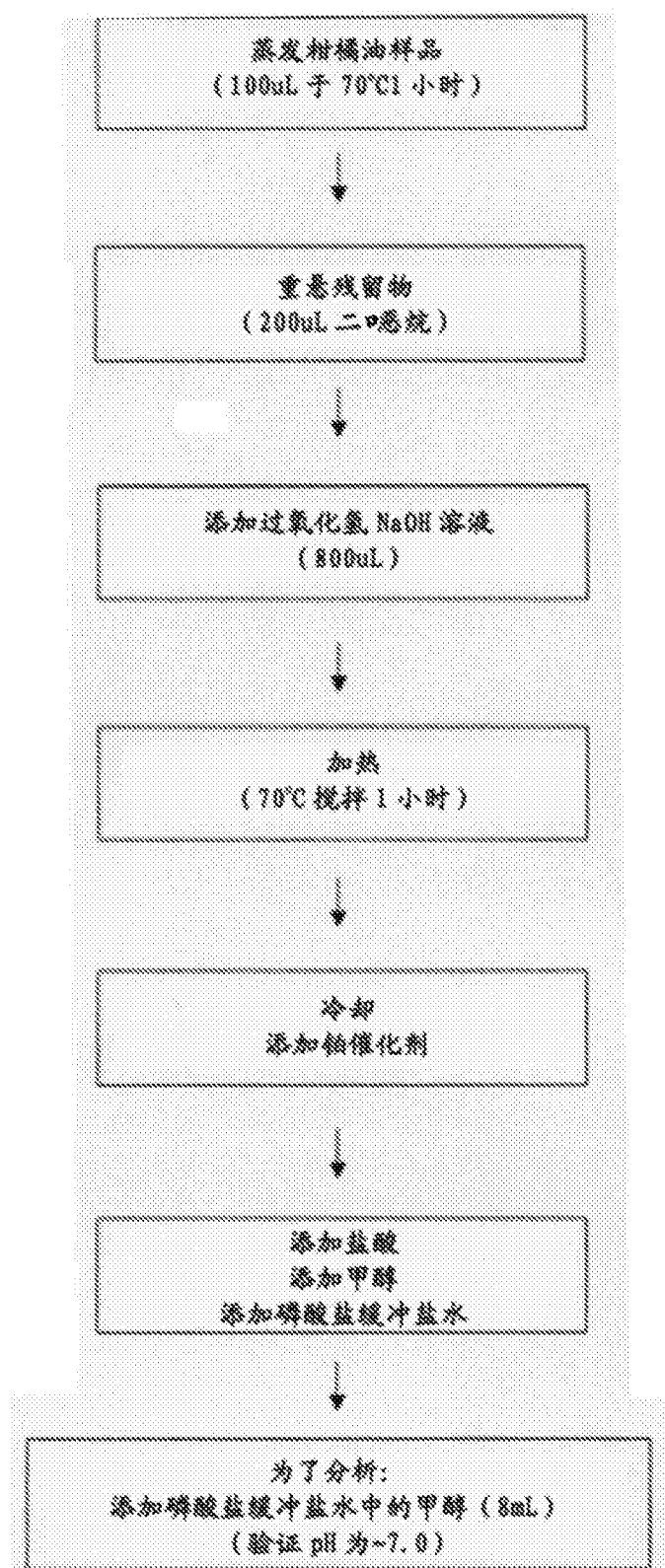


图 1

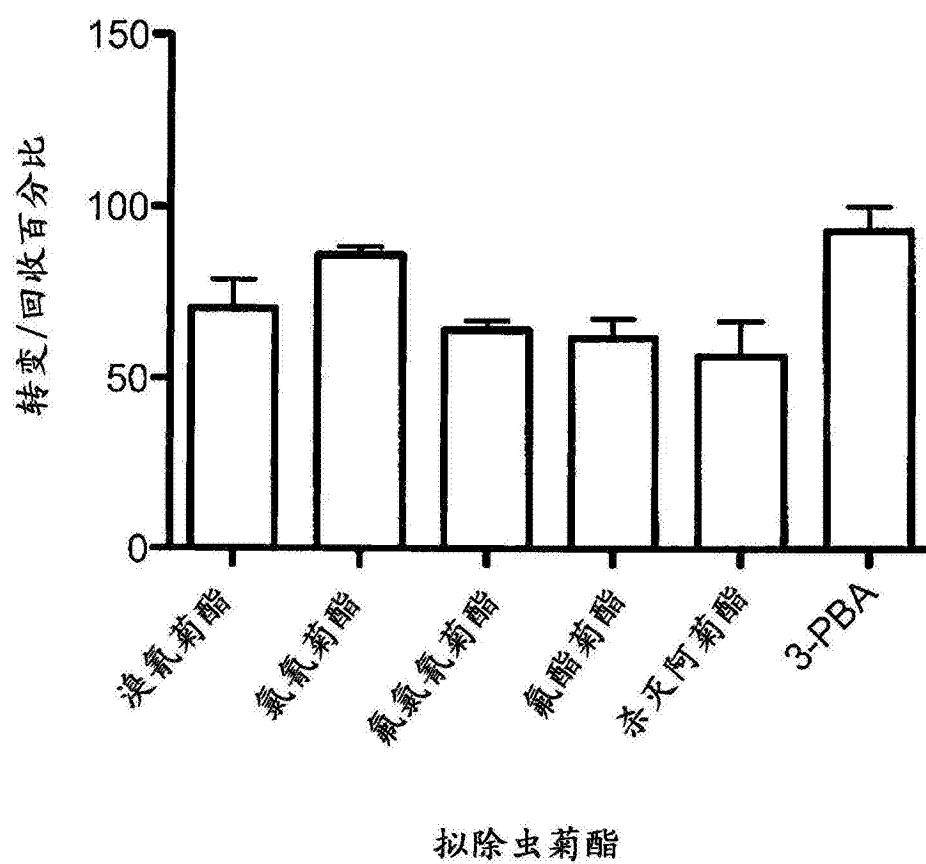


图 2

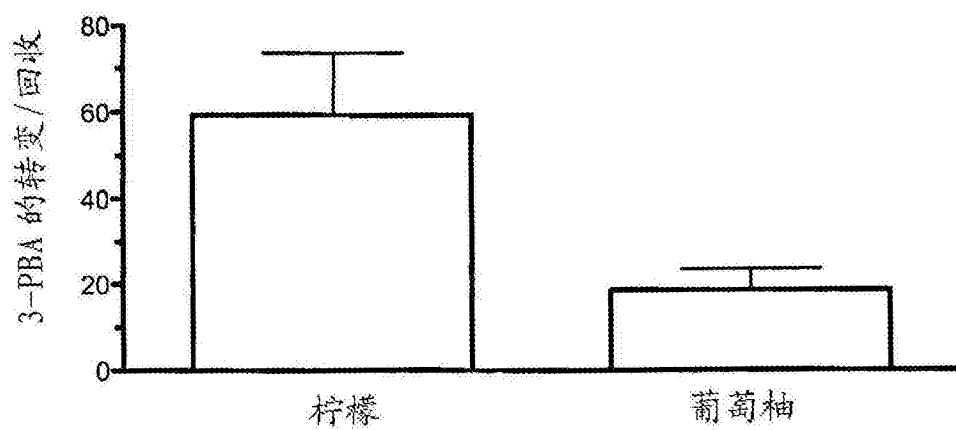


图 3

专利名称(译)	用于确定II型拟除虫菊酯的存在的体外方法		
公开(公告)号	CN103298337B	公开(公告)日	2015-11-25
申请号	CN201180063244.9	申请日	2011-11-24
[标]申请(专利权)人(译)	吉万奥丹股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	奇华顿股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	奇华顿股份有限公司		
[标]发明人	KC安 SJ吉 MR迈克寇伊 杨征		
发明人	K·C·安 S·J·吉 M·R·迈克寇伊 杨征		
IPC分类号	A01N25/12 A01N53/00 C07C43/315 C07K16/44 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/54306 A01N53/00 G01N33/5308 Y10T436/24		
优先权	61/416902 2010-11-24 US		
其他公开文献	CN103298337A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种用于确定样品中II型拟除虫菊酯化合物的存在的体外方法，其中所述样品经受如水解和氧化的条件，在这样的条件下，II型拟除虫菊酯化合物转变成3-苯氧基苯甲酸或4-氟-3-苯氧基苯甲酸，然后通过GC、LC、HPLC、MS、免疫分析或其组合来分析样品中这些酸的存在。

