

整体柱毛细管电色谱法测定蔬菜中 有机磷农药的含量^①

吕海霞^② 王家斌^a 王晓春^a

(福州大学材料科学与工程学院 福州市闽侯上街 350108)

^a(福州大学化学化工学院 福州市闽侯上街 350108)

摘 要 采用加压毛细管电色谱法, 在整体柱上实现了马拉硫磷、二嗪农、甲基对硫磷、杀螟硫磷、倍硫磷、甲基毒死蜱和毒死蜱等 7 种有机磷类化合物的分离检测。整体固定相具有渗透性好, 传质速度快等优点, 7 种物质 10 min 内实现快速分离测定。在最佳电色谱条件下, 马拉硫磷、二嗪农、甲基对硫磷、杀螟硫磷、倍硫磷、甲基毒死蜱和毒死蜱的线性范围分别为 2—50 $\mu\text{g/mL}$, 2—50 $\mu\text{g/mL}$, 2—50 $\mu\text{g/mL}$, 2—50 $\mu\text{g/mL}$, 1.4—50 $\mu\text{g/mL}$, 2.5—50 $\mu\text{g/mL}$, 2.5—50 $\mu\text{g/mL}$; 相关系数 r^2 为 0.9925—0.9984; 检测限 ($S/N = 3$) 在 0.3—1.5 $\mu\text{g/mL}$ 之间。本法操作简单、快速, 适合于蔬菜中有机磷农药残留的分析测定。

关键词 毛细管电色谱, 整体柱, 有机磷农药, 白菜。

中图分类号: O 657.7 文献标识码: A 文章编号: 1004-8138(2007)04-0735-04

1 前言

作为除草剂、杀真菌剂、杀虫剂, 有机磷农药具有广谱、高效、量小以及作用方式多、使用方便、半衰期短等优点, 广泛应用于农业、工业、医药等领域。有机磷农药的测定常采用气相色谱法^[1,2], 可是, 大部分有机磷农药具有很强的极性和热不稳定性, 给气相色谱分析带来一定的难度。Hans^[3]以 C_{18} 柱为分离柱, 采用高效液相色谱 (HPLC) 梯度洗脱在 8 min 完成了对乙酰甲胺磷等 6 种有机磷农药的分析测定。HPLC 虽然分离效能好, 检测速度快, 但有机溶剂的大量使用也对环境造成了一定的污染。

加压毛细管电色谱 (pCEC) 是近年发展起来的一种新型微分离分析技术, 它结合了毛细管电泳与微径液相色谱的优点, 近几年开始用于农药分离^[4]。本文以整体固定相作为分析柱, 结合加压毛细管电色谱-紫外检测同时分离马拉硫磷、二嗪农、甲基对硫磷、杀螟硫磷、倍硫磷、甲基毒死蜱和毒死蜱等 7 种有机磷类化合物。由于整体固定相具有渗透性好, 传质速度快等优点, 可实现快速分离测定。考察了等度洗脱条件下, 流动相乙腈配比、缓冲液浓度、酸度及分离电压的影响, 建立了最优色谱分离条件。

2 实验部分

2.1 仪器和试剂

Trisep-2100GV 加压毛细管电色谱仪 (上海通微分析技术有限公司), 含两台高压输液模块, 高

① 资助项目: 校科研项目 (No. 0180826102)

② 联系人, 手机: (0) 13328657077; E-mail: hxlv@fzu.edu.cn

作者简介: 吕海霞 (1979—), 女, 山东省济宁市人, 讲师, 主要从事毛细管电色谱整体柱的制备及应用研究。

收稿日期: 2007-06-26; 接受日期: 2007-07-02

压电源模块($\pm 30\text{kV}$), 可变波长紫外检测器(190—600nm), 微流控模块, pH-2C 型精密酸度计(上海雷磁仪器厂)。KQ-100E 医用超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

马拉硫磷、二嗪农、甲基对硫磷、杀螟硫磷、倍硫磷、甲基毒死蜱和毒死蜱农药标准品均购自美国 Sigma 公司; 乙腈(色谱纯, 上海化学试剂研究所), 其他试剂均为分析纯。实验用水为二次蒸馏水。

马拉硫磷、二嗪农、甲基对硫磷、杀螟硫磷、倍硫磷、甲基毒死蜱和毒死蜱标准溶液: 分别称取马拉硫磷、二嗪农、甲基对硫磷、杀螟硫磷、倍硫磷、甲基毒死蜱和毒死蜱标样 0.01g (准确至 0.0001g), 用丙酮溶解并定容于 10mL 容量瓶中, 即制得 1.0mg/mL 的农药标准储备液, 在 4°C 冰箱避光保存备用。

2.2 实验方法

2.2.1 色谱工作条件

毛细管电色谱整体柱(制备见^[5]); 流动相: 乙腈-磷酸盐缓冲液(PBS) (5mmol/L , $\text{pH} 7.5$) = $58/42(\text{V/V})$; 流速: 0.1mL/min ; 检测波长: 220nm ; 柱压: 689.5kPa ; 电压: -10kV (色谱柱末端); 柱温: 室温。

2.2.2 校准曲线绘制

分别吸取马拉硫磷、二嗪农、甲基对硫磷、杀螟硫磷、倍硫磷、甲基毒死蜱和毒死蜱标准溶液, 以水稀释至质量浓度为 $0.5\text{—}100\mu\text{g/mL}$ 的标准系列, 各取 $2\mu\text{L}$ 进样分析, 据峰面积与相应的质量浓度进行线性回归, 绘制校准曲线。

2.2.3 样品处理与分析

准确称取 2.5g 粉碎好的白菜样品, 置于 $50\text{—}100\text{mL}$ 电动匀浆机中, 加入 50mL 乙腈, 高速匀浆 1min 后过滤到 100mL 具塞量筒中, 再向收集的滤液中加入 0.5g 无水氯化钠后剧烈振摇 1min , 静置 10min 。准确吸取 1.0mL 上层乙腈溶液, 35°C 下通氮气缓慢吹干, 残留物用 0.5mL 流动相溶解, 经 $0.2\mu\text{m}$ 滤膜过滤后待 pCEC 分析。

3 结果与讨论

3.1 加压毛细管电色谱分离条件的建立

3.1.1 流动相的选择

流动相中有机溶剂所占比例常常会对电渗流产生影响, 从而影响溶质的迁移速率和分离效能。实验表明, 随着乙腈所占比例从 55% 升至 60% , 各物质的保留时间也随着减小, 这主要是由于增加乙腈在流动相中所占的体积分数, 使得电渗流增大, 从而缩短了分析时间; 同时随着乙腈比例的增加, 各物质之间的分离程度也随着下降。所以当乙腈在流动相中的比例为 58% 时, 各物质之间都达到基线分离, 同时峰形、保留时间均较好。

为了分析有机磷农药在整体柱固定相上的保留机理, 考察了流动相中乙腈含量在 $55\% \text{—} 62\%(\text{V/V})$ 范围内对有机磷农药的保留行为的影响。研究表明, 有机磷农药的保留因子随着流动相中乙腈含量的增加而降低, $\lg k'$ 与流动相中乙腈含量基本呈线性关系 ($r > 0.9907$), 故有机磷农药在该整体柱上的分离主要以有机磷农药与固定相之间的疏水作用为主。

3.1.2 缓冲液浓度的选择

为了研究流动相中缓冲液浓度对此分离体系的保留时间及分离度的影响, 我们固定流动相中

乙腈的体积分数为 58%, 当缓冲液浓度从 2mmol/L 到 10mmol/L 变化时, 分析时间有增加的趋势。另一方面, 随着缓冲液浓度的升高, 物质之间的分离度也有所增大。相比之下, 在 5mmol/L 时保留时间和分离度均较好, 所以选择 5mmol/L 作为缓冲液的浓度。

此外, 我们还进行了柱压、分离电压、流速等实验条件的优化。实验表明, 当柱压为 689 5kPa、分离电压为- 10 0kV, 流速为 0 1mL /m in 时, 分离效果最好。在最优色谱工作条件下, 7 种有机磷农药在 10m in 内基线分离。

3 2 方法线性范围及检出限

在最优色谱条件下, 配制一系列不同浓度的 7 种物质混合标准液系列进行电色谱分析。根据不同浓度下测得的峰面积绘制校准曲线求出线性回归方程。所得结果见表 1。

表 1 线性回归方程、相关系数及检出限

组分	线性方程 ^①	相关系数 (r^2)	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	检出限 ^② ($\mu\text{g/mL}$)
马拉硫磷	$y = 25\ 394x + 145\ 90$	0.9925	2.0—50	0.7
二嗪农	$y = 43\ 864x + 319\ 28$	0.9976	2.0—50	0.7
甲基对硫磷	$y = 80\ 435x + 583\ 46$	0.9960	2.0—50	0.7
杀螟硫磷	$y = 87\ 923x + 564\ 04$	0.9984	2.0—50	0.7
倍硫磷	$y = 131\ 83x + 897\ 42$	0.9981	1.4—50	0.3
甲基毒死蜱	$y = 112\ 63x + 907\ 15$	0.9932	2.5—50	0.7
毒死蜱	$y = 102\ 37x + 763\ 05$	0.9943	2.5—50	1.5

① y —— 峰面积($\text{mV} \times \text{S}$); x —— 质量浓度($\mu\text{g/mL}$); ② —— 以 $S/N = 3$ 计算得出。

3 3 样品分析

分别将未添加和添加一定浓度的马拉硫磷、二嗪农、甲基对硫磷、杀螟硫磷、倍硫磷、甲基毒死蜱和毒死蜱的蔬菜样品按 2.2.3 方法处理后, 在色谱优化条件下进行 pCEC 分析, 分别得到蔬菜样品空白色谱图(图 1a)和加标蔬菜样品色谱图(图 1b)。由图可见, 通过样品前处理, 蔬菜基底并不干扰实际样品分析测定, 因此, 该方法可用于蔬菜中有机磷类农药残留问题的研究。

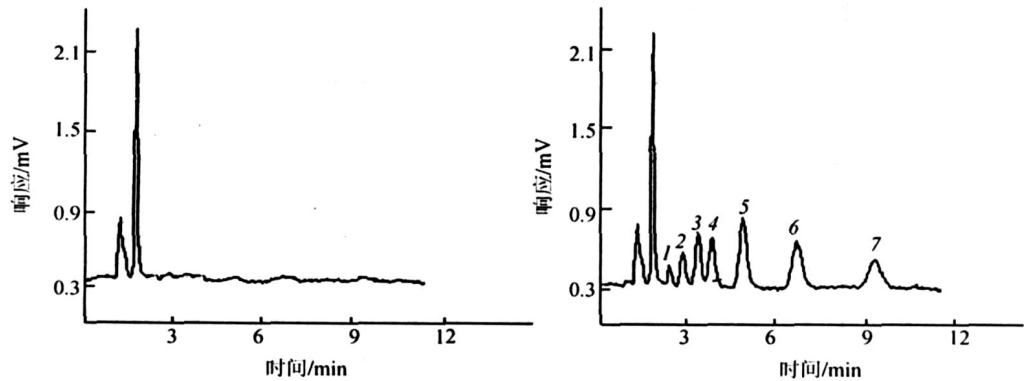


图 1 白菜空白样品色谱图(a); 白菜加标样品色谱图(b)

1 —— 马拉硫磷($5.0\mu\text{g/mL}$); 2 —— 二嗪农($5.0\mu\text{g/mL}$); 3 —— 甲基对硫磷($5.0\mu\text{g/mL}$);
4 —— 杀螟硫磷($5.0\mu\text{g/mL}$); 5 —— 倍硫磷($5.0\mu\text{g/mL}$); 6 —— 甲基毒死蜱($5.0\mu\text{g/mL}$); 7 —— 毒死蜱($5.0\mu\text{g/mL}$)。

4 结论

本文以有机聚合物毛细管整体柱为固定相, 采用加压毛细管电色谱法分离马拉硫磷、二嗪农、甲基对硫磷、杀螟硫磷、倍硫磷、甲基毒死蜱和毒死蜱 7 种有机磷类农药。建立了最优电色谱条件:

5mmol/L, pH 7.5 磷酸盐含 58% 乙腈(V/V) 作为流动相; 检测波长: 220nm; 流速为 0.1 mL/min; 柱压 689.5 kPa; 在电色谱柱末端施加 10kV 负电。在建立的最优电色谱条件下, 7 种物质 10min 内分离完全。该法简便、快速, 适合于蔬菜中有机磷农药的残留分析。

参考文献

- [1] Patel K, Fussell R J, Goodall D M, Keely B J. Application of Programmable Temperature Vaporisation Injection with Resistive Heating-Gas Chromatography Flame Photometric Detection for the Determination of Organophosphorus Pesticides[J]. *J. Sep. Sci.* 2006, **29**, 90—95.
- [2] Patel K, Fussell R J, Macarthur R, Goodall D M, Keely B J. Method Validation of Resistive Heating-Gas Chromatography with Flame Photometric Detection for the Rapid Screening of Organophosphorus Pesticides in Fruit and Vegetables[J]. *J. Chromatogr. A*, 2004, **1046**, 225—234.
- [3] Mol H G J, Van Dam R C J, Steijger O M. Determination of Polar Organophosphorus Pesticides in Vegetables and Fruits Using Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry: Selection of Extraction Solvent[J]. *J. Chromatogr. A*, 2003, **1015**, 119—127.
- [4] Wu X P, Wang L, Xie Z H, Lu J S, Yan C, Yang P Y, Chen G N. Rapid Separation and Determination of Carbamate Insecticides Using Isocratic Elution Pressurized Capillary Electrochromatography[J]. *Electrophoresis*, 2006, **27**: 768—777.
- [5] Lü X, Wang J B, Wang X C, Lin X C, Wu X P, Xie Z H. Rapid Separation and Determination of Structurally Related Anthraquinones in Rhubarb by Pressurized Capillary Electrochromatography[J]. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2007, **43**: 352—357.

Determination of Organophosphorus Pesticides by Monolithic Column Pressurized Capillary Electrochromatography

LU Hai-Xia WANG Jia-Bin^a WANG Xiao-Chun^a

(College of Materials Science and Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350002, P. R. China)

^a(Department of Chemistry, Fuzhou University, Fuzhou 350002, P. R. China)

Abstract A pressurized capillary electrochromatography (pCEC) with monolithic column has been developed for the rapid separation and determination of malathion, diazinon, parathion-methyl, fenitrothion, fenthion, chlorpyrifos-methyl and chlorpyrifos. The possibility of rapid separation resulted from the unique pore structure with high permeability and favorable mass transfer characteristics of the monolithic stationary phase. The seven organophosphorus pesticides could be baseline-separated rapidly within 10 min under optimum condition. The calibration graphs of malathion, diazinon, parathion-methyl, fenitrothion, fenthion, chlorpyrifos-methyl and chlorpyrifos were linear by plotting the peak area against the analytes concentration over the range of 2—50, 2—50, 2—50, 2—50, 1.4—50, 2.5—50 and 2.5—50 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The detection limits of seven organophosphorus pesticides were ranged from 0.3 to 1.5 $\mu\text{g/mL}$. This proposed method was successfully applied to determination of the seven organophosphorus pesticides in cabbage with satisfactory results.

Key words Capillary Electrochromatography, Monolithic Column, Organophosphorus Pesticides, Cabbage