

毛细管电泳- 安培检测法对甲基 对硫磷、对硫磷、西维因和速 灭威农药残留的测定研究

费新平¹, 王立世¹, 张水锋¹, 杨晓云²

(1. 华南理工大学 应用化学系, 广东 广州 510641; 2. 华南农业大学
资源环境学院, 广东 广州 510642)

摘要: 采用高效毛细管电泳- 安培检测法对农药甲基对硫磷、对硫磷、西维因和速灭威水解产物酚类进行了测定研究, 考察了影响水解和毛细管分离的各种因素: 磷酸盐缓冲溶液的浓度、体系的 pH 值、分离高压、检测电位等。结果表明: 在优化的实验条件下, 标准样品 15 min 内实现了基线分离, 线性范围(mg/L): 间_甲酚、 α _萘酚和对硝基苯酚均为 0.05~ 10, 信噪比为 3 时, 测定检出限(mg/L): 间_甲酚 0.04, α _萘酚 0.02, 对硝基苯酚 0.03; 对硫磷、速灭威和西维因回收率分别为 91%, 94% 和 101%, 相对标准偏差分别为 3.3%、2.5% 和 2.2% ($n=6$)。可用于对所选该类农药残留的快速测定。

关键词: 毛细管电泳; 安培检测; 酚类; 农药残留

中图分类号: O657.8; S481.8 文献标识码: A 文章编号: 1004- 4957(2004) 05- 0070- 04

Determination of Pesticide Residues of Parathion_methyl, Parathion, Carbaryl and Metolcarb by HPCE with Amperometric Detection

FEI Xin_ping¹, WANG Li_shi¹, ZHANG Shui_feng¹, YANG Xiao_yun²

(1. Department of Chemistry, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China; 2. College of Resources and Environment, South China Agriculture University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The determination of parathion, parathion_methyl, metolcarb and carbaryl residues by high-performance capillary electrophoresis with amperometric detection is reported. The pesticides were hydrolyzed in alkaline aqueous solutions, resulting in the formation of *m*-methylphenol, α -naphthol and *p*-nitrophenol, which were determined amperometrically after capillary electrophoretic separation. A series of factors affecting pesticide hydrolysis and capillary separation were studied and optimized. The suitable conditions are as follows: potassium dihydrogen phosphate buffer concentration of 5 mmol/L, buffer pH 10.0, separation potential 20.0 kV, working electrode potential 1.0 V (vs. SCE), NaOH concentration for alkaline hydrolysis by 1.0 mol/L, hydrolysis temperature- boiling water bath, and hydrolysis duration by 15 min. Under these conditions, baseline separation of mixed standard phenol samples was achieved within 15 min. The same linear range of 0.05~ 10 mg/L was obtained for *m*-methylphenol α -naphthol and *p*-nitrophenol, and their detection limits ($S/N=3$) were found to be 0.04, 0.02 and 0.03 mg/L, respectively. Thus, metolcarb, carbaryl and parathion can be determined indirectly with recovery of 91%, 94% and 101%, and RSD of 2.5%, 2.2% and 3.3%, respectively. The technique was successively applied to the rapid determination of the pesticide residues of metolcarb, carbaryl, parathion and parathion_methyl in vegetables and fruits.

Key words: Capillary electrophoresis; Amperometric detection; Phenol; Pesticide residues

对硫磷和甲基对硫磷属于剧毒有机磷杀虫剂, 由于毒性极高、对环境影响大, 从而在有的国家被限制或禁止使用。同时, 也由于近年来新的、超高效、对环境相容性更高的新产品不断问世, 此类农药有被取代的趋势。但是此类农药相对而言具有药效较高、使用方便、易在自然条件下降解等特点,

收稿日期: 2003- 09- 28; 修回日期: 2004- 06- 08

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(批准号 20005003)

作者简介: 费新平(1978-), 男, 湖北天门人, 硕士研究生; 王立世, 联系人。

并且因为价廉以及农民的使用习惯, 目前在我国仍然是被广泛使用的有机磷农药^[1]。西维因和速灭威都属于氨基甲酸酯类农药, 因为毒性中等且高效, 在农业生产中也得到广泛使用。人类食入被农药污染的蔬菜食品后, 残留在其中的农药会在人体内积累或富集, 当富集到一定浓度时, 将造成人体急性或慢性中毒, 致病、致癌, 甚至于致死。随着生活水平的提高, 人们越来越关注食品卫生安全。因此, 有必要发展快速、可靠、灵敏的食品蔬菜农药残留分析方法。

残留农药的分析研究多采用极谱分析法、薄层色谱法、高效液相色谱法(HPLC)及气相色谱法(GC)/液相色谱(LC)-质谱(MS)联用、超临界流体色谱法、毛细管电泳, 近来发展起来的免疫分析法(IA)、生物传感器、直接光谱分析等方法还有待于进一步的研究和开发^[2, 3]。

有文献曾报道研究用高效毛细管电泳安培法监测酚类化合物^[4], 而且对硫磷和甲基对硫磷能水解生成对硝基苯酚, 速灭威、西维因遇碱快速分解, 分别生成间_甲苯酚和 α -萘酚, 同时放出甲胺^[5, 6]。鉴于此, 实验时可将测得的对硝基苯酚、间_甲苯酚、 α -萘酚分别换算为等当量的对硫磷(或甲基对硫磷)、速灭威、西维因的量, 因此本实验通过检测酚类来间接检测残留农药, 从而建立了用高效毛细管电泳-安培法检测所选 4 种农药残留的方法。该方法应用简便快捷、成本低、灵敏度高。

1 实验部分

1.1 仪 器

自行组装的高效毛细管电泳仪: 直流高压源 SYS/CE99(中山医科大学科技开发部); 分离毛细管通道: 75 cm $\times$ 25 μ m(i. d.)(河北永年光纤厂); 恒电位安培检测采用三电极体系: 工作电极为铂微电极(自制), 参比电极为饱和甘汞电极, 对电极为铂电极; 采用微机控制的网络数据采集器完成电化学检测的数据采集, 流动体系电化学检测的参数通过软件设置, 预先设定采样电位和采样频率。

CHI600A 系列电化学分析仪/工作站(上海辰华仪器公司); 酸度计: pH_S_25 型(上海雷磁仪器厂); 微量移液器(上海求精生化试剂仪器有限公司)。

1.2 试 剂

间_甲苯酚、 α -萘酚、 β -萘酚、对苯二酚和对硝基苯酚均为分析纯, 用二次蒸馏水配置成质量浓度为 50 mg/L 储备液, 于 4 $^{\circ}$ C 下保存, 实验时用缓冲溶液稀释到标准系列。对硫磷、西维因和速灭威标准品均用丙酮配成 195 mg/L 标准液, 于 4 $^{\circ}$ C 下保存。

1.3 安培检测设置

制作铂微电极是将直径为 100 μ m 的铂丝放入一小段 150 μ m 毛细管中, 铂丝比毛细管略长, 用环氧树脂粘合剂和乙二胺固化剂调配, 在毛细管两端将铂丝粘牢, 并使一端伸出约 1 cm 长, 以便和电线焊接; 另一端伸出形成铂丝探头。固化 12 h 后和导线焊接, 焊接部位用 PVC 小管套上, 烫化牢固。以直径约 3 cm、高 5 cm 的 PVC 圆筒杯作为检测池。将 7 寸医用注射器针头中间磨出约 5 mm 的缺口, 横穿透圆筒。将工作电极和毛细管的出口在缺口处对上^[7, 8]。同时将参比电极、辅助电极和高效毛细管电泳仪高压源的负极固定在检测池中适当位置。参比电极的盐桥的顶端总是靠近工作电极, 以便准确控制电位。

1.4 实验条件

以 5 mmol/L KH_2PO_4 (NaOH 调节 pH 值为 10.0) 为缓冲溶液, 管柱温度 25 $^{\circ}$ C, 分离高压 20.0 kV, 检测电位 1.0 V(vs. SCE), 重力虹吸进样 10 s, 进样高度 20 cm。毛细管依次用 0.1 mol/L NaOH、二次蒸馏水和缓冲溶液冲洗 5 min。每次分析后用缓冲溶液冲洗 5 min, 再进行下一次分析。每 3 次分析后再依次用 0.1 mol/L NaOH、二次蒸馏水和缓冲溶液冲洗一遍。

2 结果与讨论

2.1 标准试样的分离色谱图

将 5 种酚的混合贮备液用缓冲溶液配成 20 mg/L 的标准样品, 按照实验条件进行分离, 得到分离结果如图 1。

2 2 电泳条件的影响

2.2.1 缓冲溶液浓度和 pH 值 对磷酸盐缓冲液浓度为 0.5~20 mmol/L 时对分离的影响进行了试验,结果表明随着浓度的增大,5 种酚的迁移时间减少,但同时基线变得不稳定,实验选用的缓冲溶液为 5 mmol/L,此时各峰分离较好,基线稳定,分离时间较短。

对缓冲溶液 pH 值分别为 7.0、8.0、9.0、9.5、9.8、10.0、10.2、10.5、11.0 和 11.5 时对分离的影响进行了实验,结果表明,随着 pH 值的增大,各组分保留时间逐渐增加。当体系的 pH 值大于 9.5 时,5 种酚开始基线分离;当 pH 值为 10.0 时能同时得到较好的分离,出峰较快,电流响应较大,峰形比较好,所以选择最佳的 pH 值为 10.0。

2.2.2 检测电位和分离高压 在 CE 条件下作 5 种酚在 Pt 微电极上的循环伏安结果显示:当电位大于-0.40 V 时,间_甲苯酚、 α _萘酚和 β _萘酚有明显的氧化还原峰;在 0.10~0.20 V 之间对硝基苯酚明显被氧化,出现明显的氧化峰;在 0.70 V 左右对苯二酚有氧化峰出现。实验中综合各种因素考虑,发现采用 1.0 V 作为工作电极的检测电位时,5 种酚都能出现比较好的流出峰形,响应较好,因此本实验选取 1.0 V(vs. SCE)作为优化的检测电位。

实验中考察了电压对分离的影响,表明当分离电压增大时,各酚迁移时间减少;但电压太高时,在同样的温度和湿度条件下峰基线变得不稳定,同时分离度下降。选用 20.0 kV 作为分离电压,能在较短的时间内得到基线分离。

2 2 工作曲线和检出限

将储备液用缓冲溶液稀释成所需的一系列标准溶液,分别进样,以各酚峰高 Y (nA) 对其质量浓度 X (mg/L) 作图制作标准曲线,以信噪比等于 3 确定检出限。由表 1 可知 5 种酚在其线性范围内有良好的线性关系。在文献[9~11]中气相色谱法用于检测农药残留时得到的最低检出限在 0.010 mg/kg 左右,本实验采用高效毛细管电泳-安培检测法方法获得的检出限与之接近,但是操作更为简便快捷,运行成本低,具有一定的应用优势。

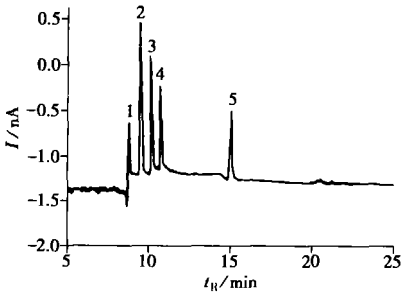


图 1 5 种酚毛细管电泳分离谱图
Fig 1 Electropherograms of five phenols
1. 间_甲苯酚(*m*_methylphenol); 2. α _萘酚(α _naphthol); 3. 对苯二酚(*p*_diphenol); 4. β _萘酚(β _naphthol); 5. 对硝基苯酚(*p*_nitrophenol)

表 1 5 种酚的线性范围、回归方程、相关系数和检出限

Table 1 Linear ranges, regression equations, correlation coefficients and detection limits of five phenols

Compound	Linear range $\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	Regression equation ($n=6$)	Correlation coefficient	Detection limit $\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$
<i>m</i> _Methylphenol	0.05~10	$Y=0.023+0.041X$	0.9992	0.04
α _Naphthol	0.05~10	$Y=0.084+0.085X$	0.9995	0.02
<i>p</i> _Diphenol	0.10~10	$Y=0.035+0.025X$	0.9984	0.03
β _Naphthol	0.05~10	$Y=0.033+0.018X$	0.9965	0.03
<i>p</i> _Nitrophenol	0.05~10	$Y=0.030+0.015X$	0.9991	0.03

2 3 水解条件

对硫磷和甲基对硫磷在中性及酸性条件下较稳定,在碱性条件下能水解生成对硝基苯酚。用微量移液器取对硫磷 100 μL 于 20 mL 1.0 mol/L NaOH 溶液中,实验表明在此情况下对硫磷在温室下 30 min 不会发生水解。在沸水浴中 15 min 后即可完全水解。甲基对硫磷水解速度较快,在 5 min 内就完全水解。速灭威和西维因遇碱性溶液迅速水解,分别生成间_甲苯酚和 α _萘酚,同时放出甲胺。所以水解实验时选用条件是:样品加入 1.0 mol/L NaOH 溶液中,在沸水浴中水解 15 min,所选的农药样品均可水解完全。

2 4 回收率和相对标准偏差

用微量移液器取所选农药标准样品 200 μL 于 10 mL 1.0 mol/L NaOH 溶液中,按实验水解条件进

行水解, 然后在优化条件下进样测定, 重复进样 6 次, 由表 2 可知回收率在 91% ~ 101% 之间, 相对标准偏差在 2.2% ~ 3.3% 之间。

表 2 农药标准样的回收率和相对标准偏差
Table 2 Recoveries and RSDs of pesticide samples

Sample	Added $\rho_A/(mg \cdot L^{-1})$	Found $\rho_F/(mg \cdot L^{-1})$	Recovery $\bar{R}/\%$	RSD $s_r/\%$
Parathion	3.90	3.68, 3.61, 3.55, 3.42, 3.46, 3.37	91	3.3
Metolcarb	3.90	3.59, 3.62, 3.57, 3.80, 3.74, 3.66	94	2.5
Carbaryl	3.90	3.81, 3.97, 3.90, 4.02, 4.05, 3.98	101	2.2

3 实际样品的分析

取喷洒农药速灭威、西维因和对硫磷后 2 h 的大棚生菜 22.469 8 g, 捣碎过滤, 沉淀, 取 5.00 mL 上层清液, 按照实验优化的条件进行水浴水解测定, 电泳图如图 2 所示。加入标准样, 确定其中含有间_甲苯酚、 α _萘酚和对硝基苯酚, 测得含量分别是 4.20、1.25 和 43.13 mg/L, 即相当于含有 6.42 mg/L 速灭威, 1.74 mg/L 西维因和 90.30 mg/L 对硫磷。

参考文献:

[1] 张一宾, 孙 晶. 国内外有机磷农药的概况及对我国有机磷农药发展的看法[J]. 农药, 1999, 38(7): 1- 3.
[2] 黄德智, 岳永德, 汤 锋. 农药残留分析的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2002, 30(4): 526- 526, 541.
[3] 曲虹云, 张军民. 当前国际上先进的农药残留分析技术[J]. 黑龙江农业科学, 2000, 37(5): 37- 39.
[4] 杨晓云, 王立世, 莫金垣, 等. 毛细管电泳安培法检测酚类化合物[J]. 分析试验室, 2001, 20(5): 69- 72.
[5] 中国农业科学院植物保护研究所, 农牧渔业部农药检定所, 商业部农业生产资料局. 农药分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 1988: 89- 108, 242- 247.
[6] 谭培功, 朱世文, 于彦彬. 荧光光度法测定水和废水中的对硫磷和甲基对硫磷[J]. 理化检验- 化学分册, 1998, 34(5).
[7] 王立世, 杨晓云, 莫金垣, 等. 毛细管电泳微机化扫描伏安检测器[J]. 高等学校化学学报, 1999, 20(5): 713- 716.
[8] 杨晓云, 莫金垣, 谢天尧, 等. 高效毛细管电泳安培检测器的研制[J]. 分析试验室, 1999, 18(1): 93- 95.
[9] 马恒麟, 张永刚, 赵秀华, 等. 苹果中多种农药残留气相色谱分析方法的研究[J]. 化工环保, 1997, 17(2): 71- 78.
[10] 谢明勇, 万益群. 中药中有机磷农药残留量的毛细管气相色谱测定方法[J]. 南昌大学学报, 2003, 27(4): 338- 340.
[11] 林秋萍, 贾 斌, 王铁良, 等. 气相色谱法测定蔬菜中多种农药残留[J]. 河南农业科学, 2003, 10: 44- 46.

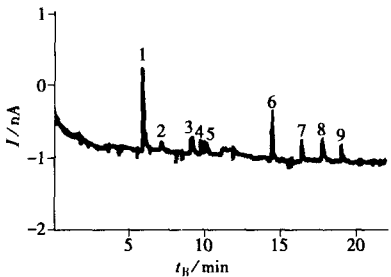


图 2 生菜汁样品电泳图
Fig 2 Electropherograms of lettuce sample
3. 间_甲苯酚(*m*-Methylphenol); 4. α _萘酚(α -Naphthol); 6. 对硝基苯酚(*p*-Nitrophenol); 1, 2, 5, 7, 8 和 9 为未知峰(unidentified peaks)

(上接第 69 页)

参考文献:

[1] EDWARD J, GLAMKOWSKI, GEORGE G, *et al.* A new synthesis of the antibiotic phosphonmycin[J]. J Org Chem, 1970, 35(10): 3510- 3512.
[2] SAINZ- DIAZ C I, GALVEZ- RUANO E, HERNANDEZ- LAGUNA A, *et al.* Synthesis, molecular structure and spectroscopical properties of alkenylphosphonic derivatives. 1. vinyl-, propenyl-, (bromoalkenyl)-, and (cyanoalkenyl) phosphonic compounds[J]. J Org Chem, 1995, 60(1): 74- 83.
[3] 王宗明, 何欣翔, 孙殿卿. 实用红外光谱学[M]. 北京: 石油工业出版社, 1982. 348- 349.