

高效微流电动液相色谱法快速分离测定氨基甲酸酯类杀虫剂

1. 背景介绍

近几十年来，由于残留问题，复杂食品和环境基质中的杀虫剂分析受到特别关注。氨基甲酸酯类杀虫剂作为有机氯和有机磷农药的替代品，由于其生物活性广泛和消失速度相对较快，被广泛用于农业和家庭中虫害的控制。然而，毒理学研究表明，食物链中氨基甲酸酯的过度使用和残留，可能会抑制突触中胆碱酯酶的活性，导致神经系统功能失常，从而显示出较高的急性毒性，对环境和人类具有潜在的致癌和致突变危害。官方实验室已经确定并利用氨基甲酸酯农药的最大残留量（MRL）进行监测和管理。水果、蔬菜等食品中氨基甲酸酯类农药及其代谢物残留量的检测，是全部饮食研究和食品控制的重要内容。因此，有必要开发一种快速、易用、灵敏和经济有效的残留分析技术。

使用电驱动的微柱分离技术可以实现相对简单，快速，经济地分离和测定复杂的食品样品，如毛细管电压（CE）、毛细管电色谱（CEC）、高效微流电动液相色谱（eHPLC）。因为他们具有简单，样品和溶剂消耗极低，分辨率高和效率高等特点。随着固相萃取等样品富集技术的发展，这些技术在农药分析中的重要性越来越受到分析工作者的关注。

众所周知，CEC的分离机制基于色谱和电泳，允许使用各种功能化的固定相，并在流动相的选择中具有更大的通用性。因此，CEC既可以分离中性物质，也可以分离带电物质。CEC在农药分析领域仍处于早期发展阶段。尽管在商业CE仪器上使用纯CEC的过程中，使用10 bar的氮气对入口和出口小瓶进行加压，有时还会出现形成气泡或毛细管柱干燥的问题，这将导致电流和基线噪声的不稳定。eHPLC通过微量双柱塞泵在电色谱分离中引入高压，将改变流动相的流动类型，结合电渗流（EOF）和补充压力的好处，增加峰容量，缩短分析时间，抑制气泡形成。通过调节辅助压力和电压的比值，可以很好地调节保留系数。它在样品装载和梯度洗脱的可能性方面提供了额外的优势，这为方法优化提供了更多的可能。eHPLC的独特特性有利于分离的选择性和重复性，同时其分离效率也介于纯CEC和高效液相色谱之间。到目前为止，eHPLC在复杂矩阵中的大部分分析和应用集中在生命科学和药物领域。然而，用eHPLC分析食品样品中农药残留的研究却很少。

在本研究中，选择8种蔬菜用于研究。在通过eHPLC进行紫外检测分析之前，通过SPE从植物样品中提取10种氨基甲酸酯进行检测。并对SPE-eHPLC紫外法在样品分析中的应用进行了评价。

2. 测试条件

仪器:	TriSep®-3000 高效微流电动液相色谱, UV 检测器
色谱柱	通微 200 mm x 75 μm (i.d.) x 375 μm (o.d.) 3 μm

3. 测试结果

1) 检测图谱

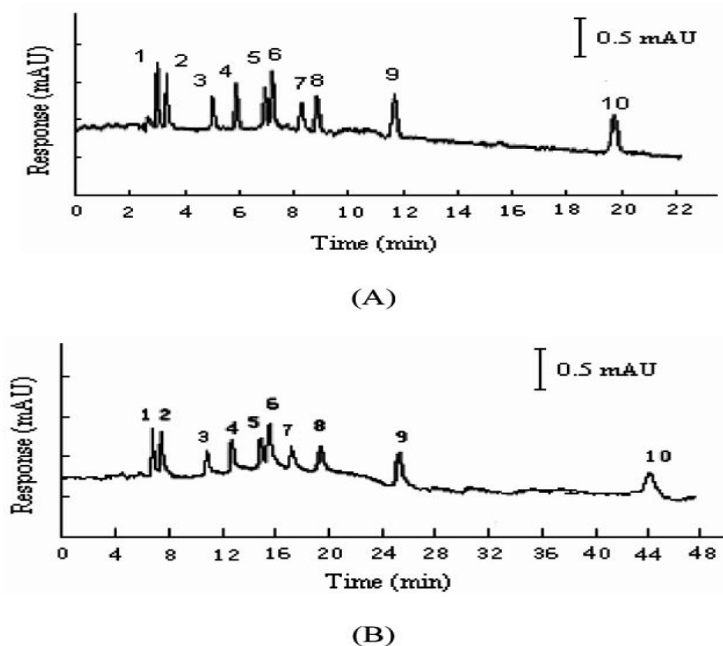


图 1 10 种氨基甲酸酯类残留在最佳条件下的 eHPLC (A) 电色谱和 uHPLC (B) 色谱图

注: 1、灭多威; 2、3-羟基克百威; 3、涕灭威; 4、速灭威; 5、残杀威; 6、克百威; 7、抗蚜威; 8、甲萘威; 9、异丙威; 10、甲硫威。

2) 检测方法的考察

表 1 用 eHPLC 测定蔬菜中氨基甲酸酯标准混合物的分析参数

Analyte	Linear regression equation ^{a)}	Correlation coefficient	Linear range (μg/mL)	LODs for standard solution ^{b)} (μg/mL)	LODs for vegetable (mg/kg) ^{c)}	RSD for time (%)	RSD for area (%)
Methomyl	$y = 31.5x + 49.7$	0.9984	1-70	0.7	0.8	0.47	3.44
3-OH Carbofuran	$y = 33.3x + 37.7$	0.9950	2.5-80	0.8	0.9	0.57	4.51
Aldicarb	$y = 14.2x + 0.3$	0.9950	3-100	1.4	1.6	0.31	5.04
Metolcarb	$y = 23.9x + 10.3$	0.9980	2.5-75	0.7	0.8	0.37	8.35
Propoxur	$y = 19.0x + 58.1$	0.9884	3-75	0.8	0.9	0.47	2.80
Carbofuran	$y = 25.5x + 49.0$	0.9810	2.5-70	0.7	0.7	0.38	3.35
Pirimicarb	$y = 31.6x - 12.3$	0.9918	2.5-80	0.7	0.7	0.33	3.83
Carbaryl	$y = 237.0x + 5.1$	0.9834	0.2-10	0.1	0.05	0.32	9.00
Isoprocarb	$y = 34.7x - 11.0$	0.9961	1-75	0.7	0.8	0.31	6.00
Methiocarb	$y = 43.2x + 46.2$	0.9930	2-70	0.7	0.8	0.47	2.44

表 2 8 种蔬菜样品中添加不同浓度的 10 种氨基甲酸酯标准品的平均回收率 (n = 5)

Analyte	Cabbage		Spinach		Carrot		Cauliflower	
	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)
Methomyl	- ^{b)}	-	67.1	4.9	82.3	4.5	-	-
3-OH Carbofuran	-	-	51.3	6.8	81.4	6.2	-	-
Aldicarb	80.6	5.2	79.0	7.5	75.7	5.7	67.1	6.8
Metolcarb	78.6	9.8	59.1	8.6	97.5	8.5	66.1	8.7
Propoxur	95.8	7.7	53.0	8.0	88.3	7.3	105.2	7.3
Carbofuran	82.7	9.1	71.6	8.8	78.8	8.4	82.3	7.1
Pirimicarb	87.7	6.3	79.5	7.0	101.8	7.0	92.1	7.4
Carbaryl	82.2	10.2	73.0	9.7	90.5	10.9	93.9	9.6
Isoprocarb	90.8	8.1	59.4	7.9	102.1	8.6	85.2	9.0
Methiocarb	109.2	4.9	66.5	5.7	97.2	4.7	101.3	5.1

Analyte	Legume		Green pepper		Onion		Tomato	
	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)
Methomyl	74.8	5.2	76.9	6.0	77.2	4.6	81.0	5.8
3-OH Carbofuran	78.6	5.3	77.0	5.6	81.3	5.7	89.1	6.2
Aldicarb	82.8	6.4	57.6	7.1	76.9	6.6	86.0	7.1
Metolcarb	72.4	8.1	54.2	9.2	62.8	8.3	77.4	8.8
Propoxur	91.0	7.7	86.3	7.7	-	-	70.6	7.9
Carbofuran	87.2	8.0	73.2	8.3	80.1	9.3	85.1	7.9
Pirimicarb	79.4	7.2	65.3	6.9	63.7	7.2	74.1	6.4
Carbaryl	75.4	9.8	64.8	10.2	75.3	10.1	80.7	11.4
Isoprocarb	62.2	8.9	65.2	8.7	53.7	9.7	77.7	10.2
Methiocarb	74.6	5.0	57.2	4.9	76.8	6.0	88.7	5.3

4. 结论

开发出 SPE-eHPLC 方法, 为同时分离和测定蔬菜中杀虫剂所含的 10 种氨基甲酸酯类化合物, 提供了一种快速和具有选择性的方法。在较适宜的条件下, 10 个氨基甲酸酯类化合物可通过等度洗脱, 在 20 分钟内实现基线分离。与反相高效液相色谱法相比, 该方法简单、省时、成本低。采用固相萃取法对复杂样品进行净化, 10 种氨基甲酸酯的检出限为 0.05-1.6 mg/kg, 8 种蔬菜样品在不同浓度氨基甲酸酯下的平均回收率为 51.3-109.2%。相对标准偏差小于 11.4%。实际样品分析结果表明, 该 SPE-pCEC 方法具有较高的选择性和灵敏度, 可用于蔬菜中低浓度氨基甲酸酯类残留的分离和测定, 为氨基甲酸酯直接测定提供了一种快速, 经济的方法。

5. 配置列表

仪器配置	TriSep ®-3000 高效微流电动液相色谱 (配二元梯度泵、柱温箱、UV 检测器、高压电源、自动进样器、微流控、控制器)
	Clarity Lite 色谱工作站