第 32 卷第 5 期　　河 北 科 技 大 学 学 报　　Vol. 32, No. 5
2011 年 10 月　　Journal of Hebei University of Science and Technology　　Oct. 2011

文章编号：1008-1542(2011)05-0421-05

胶束电动毛细管色谱推扫富集测定蜂蜜中残留的杀虫脒和单甲脒

石　杰，陈冠华，童明珠，吴　娴，王　坤

（江苏大学食品与生物工程学院，江苏镇江　212013）

摘　要：建立了胶束电动毛细管色谱推扫富集测定蜂蜜中杀虫脒和单甲脒残留的分析新方法，对影响分离度和峰高的诸因素进行了选择。获得的最佳分离和富集条件如下：30 mmol/L 硼酸盐-20 mmol/L 十二烷基硫酸钠-20%（体积分数）甲醇运行缓冲溶液（pH 值为 9.67），进样量为 10 kV×90 s，分离电压为 20 kV。在此优化条件下，杀虫脒和单甲脒的富集倍数分别为 1 100 和 1 000 倍，线性范围为 0.03～0.25 mg/L，检出限为 0.88 μg/kg 和 0.62 μg/kg，加标回收率为 91.8%～100.6%和 90.5%～102.6%。该方法满足相关标准中的残留限量要求，可用于蜂蜜中杀虫脒和单甲脒农药残留的检测。

关键词：杀虫脒；单甲脒；胶束电动毛细管色谱；推扫

中图分类号：O657.8　　**文献标志码**：A

Determination of chlordimeform and semiamitraz chloride in honey by micellar electrokinetic capillary chromatography with sweeping

SHI Jie, CHEN Guan-hua, TONG Ming-zhu, WU Xian, WANG Kun

(College of Food and Bioengineering, Jiangsu University, Zhenjiang Jiangsu 212013, China)

Abstract: A new assay of micellar electrokinetic capillary chromatography with sweeping was developed to determine chlordimeform and semiamitraz chloride in honey. The factors affecting resolution and peak height were studied. The optimum condition for separation and enrichment is determined as that the running buffer consists of 30 mmol/L borate, 20 mmol/L sodium dodecyl sulfate and 20% (V/V) methanol whose pH is adjusted to 9.67. The sample is injected at 10 kV for 90 s, and the separation voltage is 20 kV. Under the optimum condition, the peak enrichment factors of chlordimeform and semiamitraz-chloride are 1 100 and 1 000; the linear dynamic range is 0.03～0.25 mg/L; the detection limits and the average recoveries of spiked sample are 0.88 μg/kg and 91.8%～100.6% for chlordimeform, and 0.62 μg/kg and 90.5%～102.6% for semiamitraz chloride, respectively. The assay can meet the requirements of determination of maximum residue limits regulated by a number of countries and organizations, and can be applied to determine the residues in honey.

Key words: chlordimeform; semiamitraz chloride; MEKC; concentration

杀虫脒和单甲脒属脒类农药，是一类广谱性杀螨剂，其结构式见图 1。该类农药除可用于果树、蔬菜、茶

收稿日期：2011-05-13；修回日期：2011-09-10；责任编辑：张士莹

基金项目：教育部高等学校博士学科点专项科研基金资助项目（20093227110010）；江苏大学科研基金资助项目（08JDG001）；江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者简介：石　杰（1986-），女，山东济宁人，硕士研究生，主要从事食品安全检测方面的研究。

通讯作者：陈冠华教授。E-mail: chengh@ujs.edu.cn

叶、棉花等作物的螨害防治外，尤以其对蜜蜂无毒的特点而被广泛用于蜂螨的防治，近年来其使用量有逐年增加的趋势。该类农药对人体有潜在的致癌、致畸危害[1-2]，特别是杀虫脒，属于高毒农药，其不当使用可造成蜂蜜中的杀螨类农药残留量超标，危害人类健康，因此世界上许多国家对蜂蜜中的农药残留量均有限制[3]。国内外已报道的该类农药的分析方法主要是比色法[4]、气相色谱法[5-8]、高效液相色谱法[9]、气相色谱-质谱法[10-14]、薄层色谱法[15]等。毛细管电泳法具有分离效率高、试剂和样品消耗量少等诸多优点，但是由于其管径细小，导致采用其吸收检测时的检出限较差。推扫富集是以胶束电动毛细管色谱为基础的在线富集方法[16]，利用样品塞前后界面存在的移动速度差实现区带的压缩，可使分析物浓度提高2～3个数量级[17-20]。以电动模式进样，可使富集过程扩展至进样阶段，并对提高富集倍数产生积极作用。这种推扫富集方法可有效弥补毛细管电泳因管径细小导致的吸收检测限差的不足，能够满足农药残留分析的要求。笔者对采用此方法检测蜂蜜中残留杀虫脒和单甲脒进行了研究。

杀虫脒　　单甲脒

图1　农药的分子结构

Fig. 1　Molecular structures of the acaricides

1　实验部分

1.1　仪器与试剂

P/ACE MDQ毛细管电泳仪，配32Karat数据采集工作站（美国Beckman-Coulter公司提供）；毛细管，内径为75 μm的未涂层毛细管柱（邯郸市鑫诺光纤色谱有限公司提供），总长60 cm，有效长度为50 cm；pHS-2型酸度计（上海第二分析仪器厂提供）；电子分析天平（赛多利斯BS 124S）；超声清洗器（必能信B5500S-MT）。

单甲脒原药（质量分数为95%），购自保定农药厂；杀虫脒标准品（质量分数为98%），购自德国Ehrenstorfer公司；硼酸，硼砂，氢氧化钠，十二烷基硫酸钠（SDS），盐酸，石油醚，均为分析纯试剂；实验用水为去离子水，电阻率为182 kΩ·m。

1.2　电泳条件

运行缓冲液含有30 mmol/L硼酸盐、20 mmol/L的SDS和20%（体积分数，下同）甲醇，pH值为9.67，使用前用0.22 μm微孔滤膜过滤。分离电压为20 kV，电动进样10 kV×90 s，分离柱温为25 ℃，检测波长为210 nm。每次开始实验前用0.1 mol/L的NaOH，水和运行缓冲液分别冲洗5 min，样品间用0.1 mol/L的NaOH，水和运行缓冲液分别冲洗3 min。

1.3　标准与样品制备

准确称取适量单甲脒和杀虫脒，用甲醇溶解后，用水定容，用时用水稀释至所需浓度。

称取4.00 g均匀样品，放入离心管中，加入4 mL浓度为5.0 mol/L的氢氧化钠和4 mL石油醚，快速混匀3 min，在离心机上于3 000 r/mim的转速下离心2 min。弃去水相，加入2 mL浓度为1.0 mol/L的盐酸，快速混匀，以2 000 r/min转速离心1 min。弃去石油醚层，加入5.0 mol/L的氢氧化钠1 mL和石油醚2 mL，混匀，以2 000 r/min的转速离心1 min。将石油醚相取出，于水浴（温度低于60 ℃）中挥发至干，用甲醇定容至适当体积，此为待测样品。

2　结果与讨论

当样品以电动方式进样时，样品中组分在进样电压的作用下以电渗流与自身电泳速度的合速度由毛细管的进口端进入毛细管，而在缓冲液与样品的前界面处的胶束则以慢于组分运动的速度向检测窗方向运动，于是产生了进样过程中胶束对组分的推扫过程。当进样完成后，在分离电压的作用下，与进样过程类似的推扫继续进行，直到样品塞的后界面与前界面处的胶束相遇，所有的推扫完成，同时组分的区带被压缩，其中的

组分浓度由于区带的压缩而被提高，从而实现了分析物的富集。在推扫和分离过程中，缓冲液参数、进样量和分离电压都会通过影响电渗流的大小、组分在胶束相中的停留时间以及分离通道的长度而对富集效果及组分间的分离度产生影响，需要对这些参数进行优化。

2.1　缓冲液 pH 值和浓度的影响

缓冲液 pH 值可以影响电渗流，从而影响分析物的峰高和分离度。以不同 pH 值的 30 mmol/L SDS-20%甲醇-30 mmol/L 硼酸盐缓冲液分离杀虫脒和单甲脒的混合溶液。结果表明：当缓冲液 pH 值低于 9.0 时 2 种物质无法基线分离，它们的分离度随 pH 值的升高而逐渐改善。随着 pH 值的升高，2 种物质的峰高逐渐增加，当 pH 值为 9.67 时，两者的峰高达到最大，如图 2 所示（其中缓冲液为 30 mmol/L 硼酸盐-30 mmol/L SDS-20%甲醇）。故缓冲液 pH 值选为 9.67。

缓冲液浓度的变化会引起溶液黏度及管壁 Zeta 电势的变化，使电渗流发生改变，并影响分析物的峰高和迁移时间。笔者考察了硼酸盐缓冲液浓度为 20～60 mmol/L 对分析物峰高的影响，结果如图 3 所示（其中缓冲液为硼酸盐-30 mmol/L SDS-20%甲醇，pH 值为 9.67）。杀虫脒和单甲脒的峰高均在 30 mmol/L 时达到最大，其中杀虫脒的峰高变化最为明显，故缓冲液浓度选为 30 mmol/L。

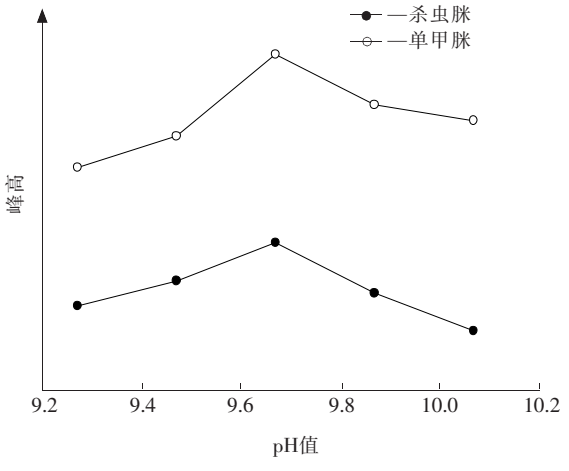

图 2　pH 值对峰高的影响

Fig. 2　Effect of pH on peak height

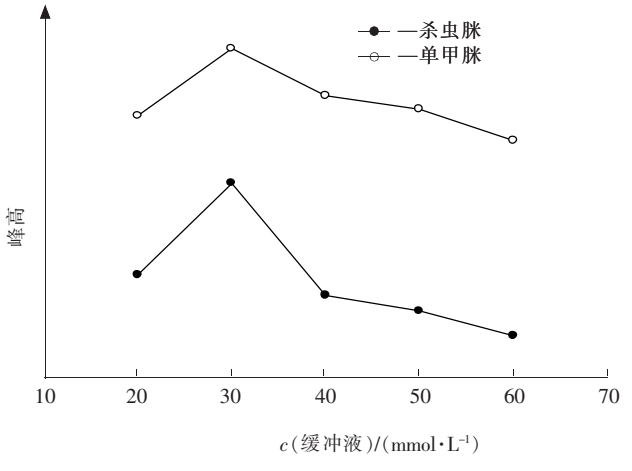

图 3　缓冲液浓度对峰高的影响

Fig. 3　Effect of buffer concentration on peak height

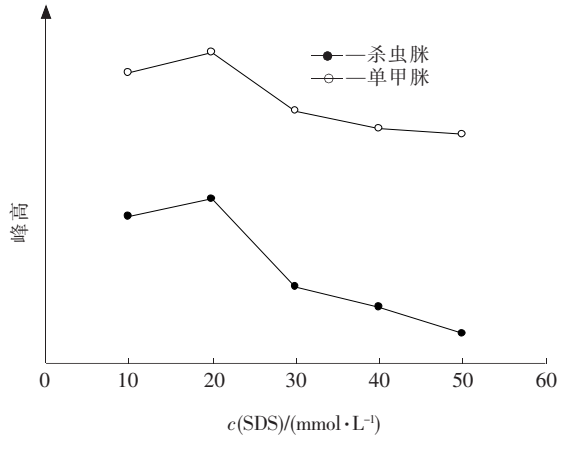

图 4　SDS 浓度对峰高的影响

Fig. 4　Effect of SDS concentration on peak height

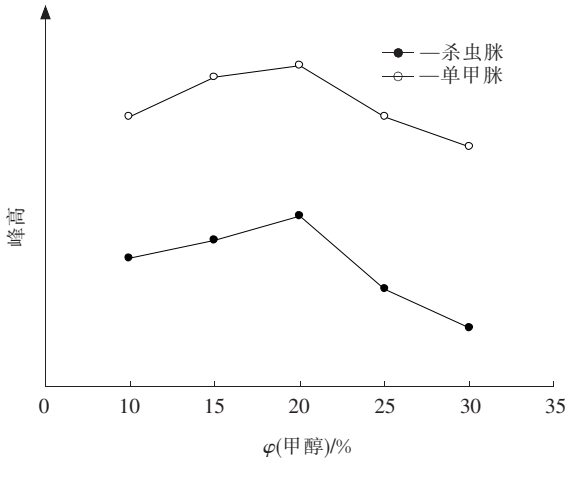

图 5　甲醇体积分数对峰高的影响

Fig. 5　Effect of methanol on peak height

SDS 胶束通过分析物与其相互作用而使分析物运动速度发生改变，从而影响分析物的峰高和迁移时间。在 10～50 mmol/L 范围内改变 SDS 浓度，结果如图 4 所示（其中缓冲液为 30 mmol/L 硼酸盐-SDS-

20%(体积分数)甲醇,pH 值为 9.67),分析物的峰高在 SDS 浓度为 20 mmol/L 时达到最大,故 SDS 浓度选择为 20 mmol/L。

2.2 缓冲液中甲醇浓度的影响

在缓冲液中加入有机溶剂,可增加溶质的溶解度,减小管壁的吸附效应,从而使分析物的峰高和分离度有所改善。笔者考察了甲醇体积分数为 10%～30%时对峰高和分离度的影响,结果如图 5 所示(其中缓冲液为 30 mmol/L 硼酸盐-20 mmol/L SDS-甲醇,pH 值为 9.67)。结果得知:当甲醇体积分数在 10%以下时,2 种物质无法达到基线分离;随着甲醇浓度的升高,分离度逐渐增大;随着甲醇体积分数的改变,分析物的峰高也在发生变化,当甲醇体积分数为 20%时,峰高达到最大。故缓冲液中甲醇体积分数选择为 20%。

2.3 分离电压和进样时间对峰高的影响

分离电压可对电渗流和柱效产生影响,从而对分析物的峰高和迁移时间产生影响。在其他条件不变的情祝下,分别以不同分离电压分离 2 种农药,如图 6 所示(其中缓冲液为 30 mmol/L 硼酸盐-20 mmol/L SDS-20%(体积分数)甲醇,pH 值为 9.67)。结果表明:随着电压的升高,分析物迁移时间缩短,峰高在 20 kV 时达到最大,故选择分离电压为 20 kV。

采用电泳条件中的缓冲液和分离电压,进样时间对峰高有直接影响,如图 7 所示(其中缓冲液为 30 mmol/L 硼酸盐-20 mmol/LSDS-20%(体积分数)甲醇,pH 值为 9.67)。结果表明:分析物的峰高随着进样时间的增加而增加,当进样时间超过 90 s 时,峰高开始下降,两峰由于分析物进入毛细管内样品区带过长而发生部分重叠,综合考虑对峰高的影响,确定进样时间为 90 s。

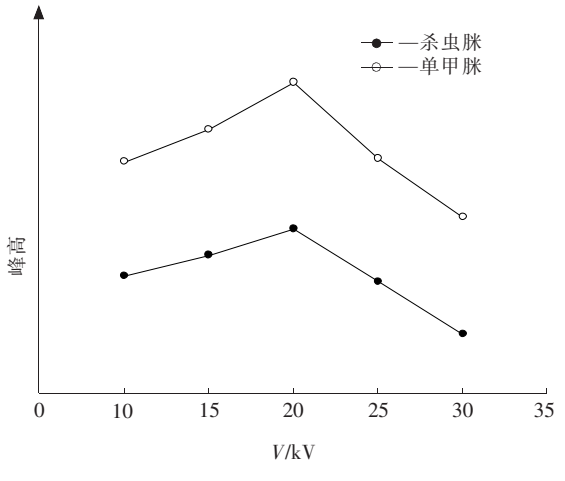

图 6 分离电压对峰高的影响

Fig. 6 Effect of separation voltage on peak height

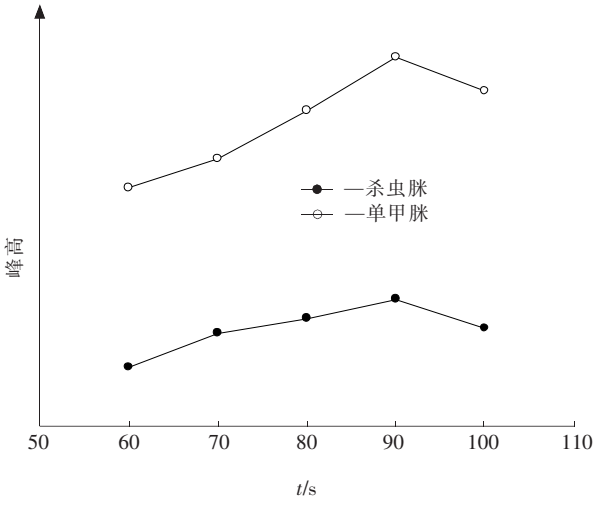

图 7 进样时间对峰高的影响

Fig. 7 Effect of sample time on peak height

2.4 富集倍数

采用上述优化分离条件和进样量分离质量浓度为 0.5 mg/L 的 2 种农药混合样品,测得各自峰高为 H_i;以同样分离条件和 10 kV×3 s 进样量分离 50 mg/L 的 2 种农药混合样品,测得各自峰高为 h_i;则有富集倍数 $f_i=(H_i/h_i)\times(50/0.5)$,由此可计算出杀虫脒和单甲脒的富集倍数分别为 1 100 和 1 000 倍。

2.5 线性范围、检出限和精密度

在优化条件下,测定标准溶液系列和 11 次空白样品,得到 2 种农药的工作曲线和线性范围,按 3 倍信噪比计算可得检出限,如表 1 所示(其中 Y 为峰面积,X 为质量浓度)。取质量浓度分别为 0.25 mg/L 的 2 种农药的标准溶液连续进样 6 次,测得杀虫脒和单甲脒的 RSD 值分别为 2.09%和 2.16%。

2.6 样品的测定结果

对市售蜂蜜中的杀虫脒和单甲脒残留进行了测定,未检出。对其进行了 0.01,0.05 和 0.10 mg/kg 水平的加标回收率试验,每种农药在每个质量浓度水平均平行测定 3 次,得到回收率,如表 2 所示。标准和加标样品的电泳图见图 8。

表 1　检出限、工作曲线及其线性范围

Tab. 1　Detection limits calibration curves and linear dynamic ranges

农药种类	检出限/（$\mu g \cdot kg^{-1}$）	工作曲线	相关系数 R	线性范围/（$mg \cdot L^{-1}$）
杀虫脒	0.88	$Y=16.804X+0.696\ 1$	0.999 6	0.03～0.25
单甲脒	0.62	$Y=68.203X+0.012\ 7$	0.998 0	0.03～0.25

表 2　加标样品回收率和相对标准偏差

Tab. 2　Recoveries of spiked sample and RSD

农药种类	加入量/（$mg \cdot kg^{-1}$）	回收率/%	RSD 值/%
杀虫脒	0.01	91.8	3.4
	0.05	94.5	2.1
	0.10	100.6	2.2
单甲脒	0.01	90.5	1.6
	0.05	93.4	2.5
	0.10	102.6	2.9

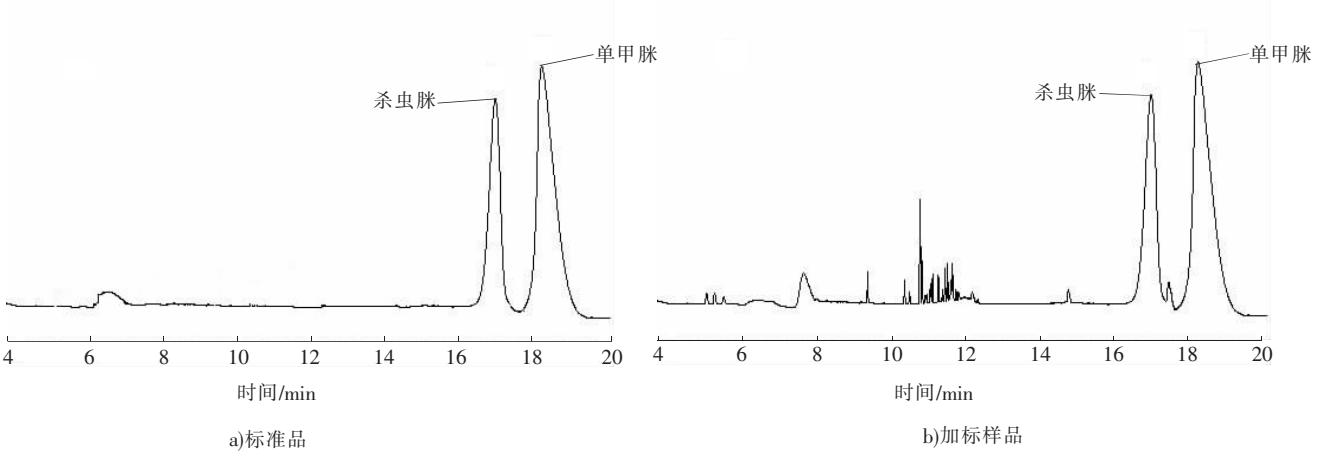

图 8　标准品和加标样品的电泳图

Fig. 8　Electropherogram of standard and spiked sample

3　结　语

所建立方法的检出限可满足欧盟、美国对食品中杀虫脒和单甲脒最大残留限量规定的要求，可用于蜂蜜中杀虫脒和单甲脒残留量的检测。

参考文献：

[1]　姜秋玲. 蜂蜜中有害物质对人体的影响[J]. 中国养蜂(Apicultune of China)，2004，55(1)：24-25.

[2]　王晓军，王　静，姜文玲，等. 单甲脒盐酸盐原药的亚慢性毒性研究[J]. 中国工业医学杂志(Chinese Journal of Industrial Medicine)，2006，19(3)：160-162.

[3]　霍春生，姚昌莉，颜志立. 世界蜂蜜主要进口国和欧盟对蜂蜜药物残留及常规指标的合同要求[J]. 蜜蜂杂志(Journal of Bee)，2003(3)：7-8.

[4]　刘　静，汤　龙. 空气中杀虫脒的测定——盐酸萘乙二胺比色法[J]. 职业与健康(Occupation and Health)，1995(3)：30-31.

[5]　黄志强，聂洪勇，彭三和. 溴化法气相色谱测定食品中杀虫脒残留量[J]. 色谱(Chromatography)，1991，9(1)：53-55.

[6]　汪　敏，张如午，屈家瑛，等. 气相色谱法测定尿中杀虫脒及其主要代谢产物对氯邻甲苯胺之研究[J]. 工业卫生与职业病(Industrial Health and Occupational Diseases)，1991，17(4)：233-235.

[7]　卢康全. 气-液色谱法测定蜂蜜中杀虫眯的残留量[J]. 农药(Pesticides)，1989，28(4)：28-29.

（下转第 445 页）

[2] 张文军. 外流式电磁流量计在大庆油田聚驱注入剖面测井中的应用[J]. 国外油田工程(Foreign Oilfield Engineering),2004,20(8):35-37.
[3] MICHALSKI A,WINCENCIAK S. Method of optimization of primary transducer for electromagnetic flow meter[J]. IEEE Instrumentation and Measurement Technology,1996,2:1 350-1 353.
[4] MICHALSKI A,STAEZYNSKI J,WINCENCIAK S. 3 D approach to designing the excitation coil of an electromagnetic flowmeter[J]. IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement,2002,51(4):833-839.
[5] 金宁德,宗艳波,张玉辉,等. 四电极电磁流量计磁场分布特性数值模拟[J]. 工业计量(Industrial Measurement),2009,19(2):2-6.
[6] 邬惠峰,严　义,吴红娉,等. 基于 Ansys 的电磁流量计建模研究[J]. 仪器仪表学报(Chinese Journal of Scientific Instrument),2008,29(2):372-376.
[7] 张志刚. 外流式电磁流量计权重函数分布的仿真研究[J]. 石油仪器(Petroleum Instrument),2010,24(1):12-14.
[8] 班怀国,吴兰鹰,王令刚. 关于 ANSYS 谱分析的二次开发[J]. 河北科技大学学报(Journal of Hebei University of Science and Technology),2007,28(1):41-48.
[9] 王　彬,杨庆山. 弱耦合算法的实现及其应用[J]. 工程力学(Engineering Mechanics),2008,25(12):48-59.
[10] 翟建华. 计算流体力学(CFD)的通用软件[J]. 河北科技大学学报(Journal of Hebei University of Science and Technology),2005,26(2):160-165.

(上接第 425 页)

[8] 赵婴荣,梁　张,李金良,等. 单甲脒在苹果中残留量的测定[J]. 农药(Pesticides),1991,30(5):26-27.
[9] 张　莹,魏开坤,郑　宇,等. 水果中单甲脒残留量的高效液相色谱分析[J]. 中国食品卫生杂志(Chinese Journal of Food Hygiene),1998,10(2):9-11.
[10] JIMENEZ J J,BERNAL J L,TORIBIO L,et al. Capillary gas chromatography with mass spectrometric and atomic emission detection for characterization and monitoring chlordimeform degradation in honey[J]. Journal of Chromatography A,2002,946(1/2):247-253.
[11] 潘建伟,罗荣杰,李淑娟,等. 气相色谱-质谱法测定蜂蜜中杀虫脒及其代谢物残留量的研究[J]. 检验检疫科学(Inspection and Quarantine Science),2002,12(1):28-29.
[12] 周召千,丁慧瑛,蒋晓英,等. 气相色谱-质谱法测定蜂王浆中杀虫脒及其代谢产物残留量[J]. 农药研究与应用(Agrochemicals Research and Application),2009,13(3):27-31.
[13] 黄志强,聂洪勇. 杀虫脒溴化产物的气相色谱/质谱鉴定[J]. 色谱(Chromatography),1993,11(2):97-98.
[14] KORTA E,BAKKALI A,BERRUETA L A,et al. Determination of amitraz and other acaricide residues in beeswax[J]. Analytica Chimica Acta,2003,475(1/2):97-103.
[15] 周　昱. 用大口径毛细管柱气相色谱法测定蜂蜜中杀虫脒残留量[J]. 分析测试学报(Journal of Instrumental Analysis),1994,13(4):60-62.
[16] HORAKOVA J,PETR J,MAIER V,et al. Combination of large volume sample stacking and dynamic pH junction for on-line preconcentration of weak electrolytes by capillary electrophoresis in comparison with isotachophoretic techniques[J]. Journal of Chromatography A,2007,1 155:193-198.
[17] QUIRION J P,TERABE S. Sweeping of analytes zone in electrokinetic chromatography[J]. Analytical Chemistry,1999,7:1 638-1 644.
[18] MERIKE V,MIHKEL K. Separation of polyphenolic compounds extracted from plant matrices using capillary electrophoresis[J]. Journal of Chromatography A,2003,990:225-230.
[19] KIM J B,QUIRINA J P,OTSUKA K. On-line sample concentration in micellar electrokinetic chromatography using cationic surfactants [J]. Journal of Chromatography A,2001,916:123-130.
[20] QUIRINO J P,TERABE S. Exceeding 5000-fold concentration of dilute analytes in mecellar electrokinetic chromatography[J]. Science,1998,19:465-468.
[21] 张亚莉,习立鹏,阎　正. 毛细管气相色谱法测定白芍中有机氯农药的含量[J]. 河北科技大学学报(Journal of Hebei University of Science and Technology),2005,26(4):275-276.
[22] 张亚莉,阎　正. 中药中农药残留分析技术进展[J]. 河北工业科技(Hebei Journal of Industrial Science and Technology),2004,21(5):56-59.