

超声提取/超高效液相色谱-串联质谱法测定 土壤中乙酰甲胺磷与甲胺磷的研究

魏立菲*, 李逸, 张莹

(珠江流域水环境监测中心, 广东 广州 510611)

摘要: 建立了超声提取/超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱(UPLC-MS/MS)快速测定土壤中乙酰甲胺磷和甲胺磷的方法。10.0 g 土壤样品采用 20.0 mL 甲醇超声萃取 30 min, 取上清液过 0.22 μm 滤膜后进行 UPLC-MS/MS 分析, 外标法定量。结果表明: 乙酰甲胺磷和甲胺磷在 0.002 ~ 20.0 μg/L 质量浓度范围内线性良好($r^2 > 0.999$), 方法检出限分别为 0.004 9 μg/kg 和 0.003 4 μg/kg。在 0.400、4.00、40.00 μg/kg 加标水平下, 土壤样品中乙酰甲胺磷和甲胺磷的平均回收率分别为 83.0% ~ 91.5% 和 88.0% ~ 94.8%, 相对标准偏差(RSD, $n = 6$)分别为 2.3% ~ 4.8% 和 1.8% ~ 4.2%。该方法前处理简单快捷、灵敏度高、定性定量准确, 可用于土壤样品中乙酰甲胺磷和甲胺磷含量的快速检测。

关键词: 乙酰甲胺磷; 甲胺磷; 超声提取; 超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)

中图分类号: O657.7; X83 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2019)02-0219-05

Study on Determination of Acephate and Methamidophos in Soil by UPLC-MS/MS with Ultrasonic Extraction

WEI Li-fei*, LI Yi, ZHANG Ying

(Monitoring Centre of Pearl River Valley Aquatic Environment, Guangzhou 510611, China)

Abstract: A method was developed for the determination of acephate and methamidophos in soil by ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry(UPLC-MS/MS) with ultrasonic extraction. 10.0 g soil sample was extracted with 20.0 mL methanol under ultrasonic assistance for 30 min. Then the clear supernatant extract was filtered through 0.22 μm membrane, and analyzed by UPLC-MS/MS with external standard method. There were good linear relationships for acephate and methamidophos both in the range of 0.002 - 20.0 μg/L with their correlation coefficients(r^2) larger than 0.999. The detection limits for acephate and methamidophos in soil were 0.004 9 μg/kg and 0.003 4 μg/kg, respectively. The recoveries for acephate and methamidophos at three spiked levels of 0.400, 4.00 and 40.00 μg/kg were in the ranges of 83.0% - 91.5% and 88.0% - 94.8% with their relative standard deviations(RSDs, $n = 6$) of 2.3% - 4.8% and 1.8% - 4.2%, respectively. The method was simple, rapid, sensitive and accurate in both quantitation and qualification, and was suitable for the routine determination of acephate and methamidophos in soil samples.

Key words: acephate; methamidophos; ultrasonic extraction; UPLC-MS/MS

甲胺磷(Methamidophos)是一种毒性强、污染大的高效有机磷杀虫剂,我国自2008年1月起全面禁止甲胺磷的生产和使用。乙酰甲胺磷(Acephate),学名O,S-二甲基-N-乙酰基-硫代磷酰胺,为甲胺磷的乙酰化产物,因具有高效、低毒、廉价等特点而作为甲胺磷的替代物之一在农业领域广泛使用。乙酰甲胺磷由甲胺磷乙酰化制得,其制剂中有少量甲胺磷存在,同时,乙酰甲胺磷的制剂产品稳定性差,在降解过程中能代谢出甲胺磷^[1]。我国农业部于2002年6月5日发布的第199号公告中规定禁止甲胺磷在蔬菜上使用,然而近年来甲胺磷农药残留超标事件时有发生,这与乙酰甲胺磷的使用密切相关。为保障农产品质量和农业环境健康,有必要对土壤中乙酰甲胺磷和甲胺磷的残留量进行监控。

收稿日期: 2018-06-07; 修回日期: 2018-10-10

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(41303082)

* 通讯作者: 魏立菲, 硕士, 工程师, 研究方向: 环境监测, E-mail: 12093374@qq.com

目前,检测乙酰甲胺磷和甲胺磷的常用方法有气相色谱法(GC)^[2-7]和气相色谱-质谱联用法(GC-MS)^[8-9]。乙酰甲胺磷和甲胺磷极性高、热不稳定、易分解,易在GC进样口被衬管和色谱柱前端吸附及降解,对仪器系统洁净度要求较高,易出现进样不出峰、峰信号弱、峰形差的情况,而土壤样品基质复杂,易污染仪器,因此用GC或GC-MS分析土壤样品中乙酰甲胺磷和甲胺磷的难度较大。文献^[10-12]使用高效液相色谱-紫外法(HPLC-UV)进行检测,但灵敏度不够,且紫外检测无法准确定性^[13-14]。

本文采用超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱(UPLC-MS/MS)检测,对比了不同前处理方法,建立了土壤中乙酰甲胺磷和甲胺磷的超声提取/UPLC-MS/MS分析方法。该法简便高效、灵敏度高、回收率好、定性准确,可满足土壤中乙酰甲胺磷和甲胺磷残留的检测要求。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

UPLC I-Class/Xevo TQ-S超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪(美国Waters公司);MassLynx V4.1工作站;S120H超声波振荡器(德国Elma公司);Soxtec 2050全自动索氏抽提系统(丹麦FOSS公司)。50 mL螺口尖底带盖离心管(聚丙烯材质);聚醚砜滤膜(直径13 mm,孔径0.22 μm,津腾公司);化学分析滤纸(双圈牌)。

标准物质:乙酰甲胺磷(GSB05-2322-2016)、甲胺磷(GSB05-2289-2016)的质量浓度均为100 mg/L(以丙酮为溶剂,农业部环境保护科研监测所);甲醇、丙酮(色谱纯,Merck公司);乙酸铵、甲酸(优级纯,Merck公司);超纯水(电阻率18.2 MΩ·cm,美国Millipore公司)。土壤样品:采自增城迟菜心菜地。

1.2 前处理方法

1.2.1 样品采集与保存 选取代表性的菜地,采集表层土壤,用镊子剔除植物和叶等有机残体,风干过20目筛,置于阴凉干燥处保存。

1.2.2 超声提取 称取10.0 g新鲜土壤样品于50 mL带盖离心管中,加适量无水硫酸钠混匀,加入20.0 mL甲醇,旋紧离心管盖。超声萃取30 min后静置30 min,取上清液过0.22 μm滤膜于2 mL样品瓶中,待分析。

1.2.3 全自动索氏抽提 称取10.0 g新鲜土壤样品于抽提纸筒中,加适量无水硫酸钠混匀,以脱脂棉覆盖样品,量取80 mL甲醇(或丙酮)至抽提杯中。将装有样品的抽提纸筒、抽提杯放入抽提装置。设定加热板温度160 ℃(丙酮用120 ℃),浸没沸腾30 min,回流淋洗60 min后,抽提杯中剩余约5 mL溶剂,将残液全部转移至20 mL比色管中,加甲醇定容至刻度,摇匀后取溶液过0.22 μm滤膜于2 mL样品瓶中,待分析。

1.3 标准溶液的配制

准确移取100 mg/L的乙酰甲胺磷、甲胺磷溶液各0.1 mL于同一10 mL容量瓶中,以甲醇定容至刻度,混匀,得1.00 mg/L的乙酰甲胺磷、甲胺磷混合中间溶液。再用甲醇将混合中间溶液稀释成质量浓度分别为0.002、0.20、0.50、1.00、2.00、5.00、10.0、15.0、20.0 μg/L的乙酰甲胺磷、甲胺磷混合标准工作溶液。

1.4 色谱条件

Waters超高效液相色谱柱(ACQUITY UPLC HSS T3, 2.1 mm×100 mm×1.8 μm);流动相:甲醇-10 mmol/L乙酸铵水溶液(体积比65:35);等度洗脱;流速:0.3 mL/min;柱温:30 ℃;运行时间:2 min;进样体积:1 μL。

1.5 质谱条件

采用多反应监测(MRM)模式检测,外标法定量。离子化方式为电喷雾正离子化(ESI⁺),毛细管电压为1 kV,离子源温度为150 ℃,脱溶剂温度为500 ℃,脱溶剂气流量为650 L/h,锥孔气流量为150 L/h,雾化气压力为700 kPa,碰撞气流量为0.15 mL/min。乙酰甲胺磷和甲胺磷的其他质谱参数见表1。

表1 乙酰甲胺磷和甲胺磷的MRM分析参数
Table 1 MRM analytical parameters of acephate and methamidophos

Compound	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Product ion (<i>m/z</i>)	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
Acephate	184.2	95.1, 143.1*	10, 10	20, 8
Methamidophos	142.1	94.1*, 125.1	30, 30	12, 12

* quantitative ion

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择

比较了 Waters 超高效液相色谱柱 HSS T3 (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm) 和 BEHC₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm) 对目标物的分离效果, 发现两种色谱柱均无法分离甲胺磷和乙酰甲胺磷, 但由于 2 种化合物有各自的 MRM 特征离子对, 能提取出独立的选择离子流图, 因此保留时间重叠并不影响对 2 种化合物的定性和定量。在相同的流动相条件下, HSS T3 色谱柱对极性大的乙酰甲胺磷和甲胺磷有更强的保留, 且峰形更好。同时考察了甲醇-水、甲醇-10 mmol/L 乙酸铵水溶液、甲醇-0.1% 甲酸水溶液作为流动相等度洗脱的分离效果, 结果显示以甲醇-10 mmol/L 乙酸铵水溶液(65:35)为流动相时的峰形和灵敏度最佳。综上所述, 本实验选择 HSS T3 色谱柱, 以甲醇-10 mmol/L 乙酸铵水溶液(65:35)为流动相等度洗脱, 所得选择离子流图及 TIC 图见图 1。

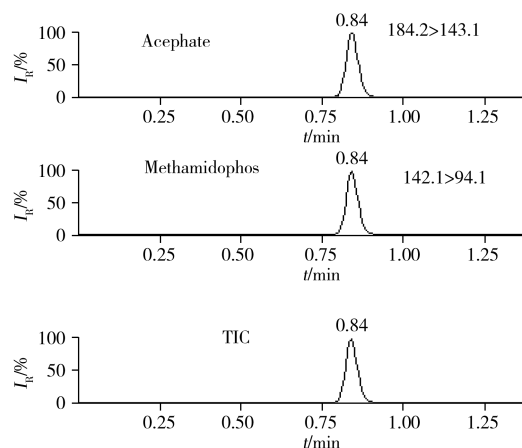


图1 加标土壤(40.0 μg/kg)提取液中乙酰甲胺磷和甲胺磷的选择离子流图及 TIC 谱图

Fig. 1 Select ion chromatograms and TIC spectrum of acephate and methamidophos in 40.0 μg/kg spiked soil sample extract

2.2 前处理方法的选择

比较了超声提取(提取液不过滤纸)、超声提取(提取液不过滤纸)、全自动索氏抽提(以甲醇为溶剂 160 °C 下提取)和全自动索氏抽提(以丙酮为溶剂 120 °C 下提取)4 种提取条件对土壤中乙酰甲胺磷和甲胺磷回收率的影响(表 2)。结果显示, 对于全自动索氏抽提法, 由于乙酰甲胺磷和甲胺磷有一定挥发性, 且均为热不稳定化合物, 在较高温度下提取易损失, 因此提取温度越高, 回收率越低。而超声提取法在室温下进行, 避免了因加热导致的损失, 因此回收率明显优于全自动索氏抽提法。由于滤纸会吸附少量的乙酰甲胺磷和甲胺磷, 导致超声后提取液用滤纸过滤的回收率偏低。还比较了不同超声时间(10、20、30、60 min)对测试结果的影响, 结果显示回收率无明显差异。实验最终选择土壤样品经超声提取 30 min 后静置 30 min, 直接(不过滤纸)取上清液过滤膜进行检测, 该前处理方法简单快捷, 回收率也更满意。

表2 不同提取条件下乙酰甲胺磷和甲胺磷的回收率

Table 2 Recoveries of acephate and methamidophos under different extraction conditions

Extraction method	Extraction solvent	Extraction temperature	Recovery (%)	
			Acephate	Methamidophos
Ultrasound-assisted(with filter)	Methanol	Room-temperature	83.9	87.7
Ultrasound-assisted(without filter)	Methanol	Room-temperature	91.5	94.8
Automated soxhlet extraction	Methanol	160 °C	38.5	48.7
Automated soxhlet extraction	Acetone	120 °C	53.4	51.2

2.3 基质效应

在土壤等复杂样品中, 基质效应往往对分析物的检测产生显著干扰^[12]。本实验在多份空白土壤中加入甲醇, 按照“1.2.2”方法处理土壤样品后, 用所得提取液配成质量浓度分别为 0.2、2、20 μg/L 的乙酰甲胺磷和甲胺磷混合溶液进行分析(响应峰面积 *A*), 同时以甲醇配制上述 3 种质量浓度的对照

液进行分析(响应峰面积 A'),以2种方法所得峰面积的比值(A/A')表示基质效应。结果显示,3种质量浓度样品的峰面积非常接近, $A/A' \approx 1$,说明本方法基质效应影响小,无需净化可直接进样。

2.4 线性关系、检出限与定量下限

按“1.3”配制标准系列工作溶液,按照本法进行测定,以乙酰甲胺磷或甲胺磷的峰面积(Y)对其质量浓度(X , $\mu\text{g/L}$)进行线性回归。结果表明,乙酰甲胺磷和甲胺磷的线性范围均为0.002~20.0 $\mu\text{g/L}$,线性方程分别为 $Y=44\,991.5X+3\,529.96$ 和 $Y=118\,393X+43.38$,相关系数(r^2)分别为0.999 9、0.999 5。

空白土壤中添加0.012 $\mu\text{g/kg}$ 的乙酰甲胺磷、甲胺磷标准溶液,按照本方法平行测定7份,计算标准偏差(S)。按照 $MDL=t_{(n-1,0.99)} \times S$ 确定方法检出限,当 $n=7$ 、置信度为99%时, $t=3.143$;以4倍方法检出限作为定量下限^[15]。得到土壤中乙酰甲胺磷和甲胺磷的检出限分别为0.004 9、0.003 4 $\mu\text{g/kg}$,定量下限分别为0.020、0.014 $\mu\text{g/kg}$ 。

2.5 方法回收率与相对标准偏差

对空白土壤样品进行0.400、4.00、40.00 $\mu\text{g/kg}$ 3个浓度水平的加标实验,按“1.2.2”方法对样品进行处理,每个浓度平行测定6份,考察方法回收率和相对标准偏差(RSD),结果见表3。由表3可知,乙酰甲胺磷、甲胺磷在低、中、高3个浓度水平下的加标回收率分别为83.0%~91.5%和88.0%~94.8%,RSD分别为2.3%~4.8%和1.8%~4.2%。

表3 空白土壤中乙酰甲胺磷和甲胺磷的加标回收率和相对标准偏差($n=6$)

Table 3 Recoveries and RSDs of acephate and methamidophos from blank soil samples at different spiked levels($n=6$)

Compound	Added($\mu\text{g/kg}$)	Found($\mu\text{g/kg}$)	Recovery(%)	RSD(%)
Acephate	0.400	0.332	83.0	4.8
	4.00	3.49	87.2	2.8
	40.00	36.60	91.5	2.3
Methamidophos	0.400	0.352	88.0	4.2
	4.00	3.62	90.5	2.5
	40.00	37.92	94.8	1.8

2.6 实际样品测定

采用本方法测定了广东省增城市小楼镇迟菜心种植基地24个土壤样品的乙酰甲胺磷和甲胺磷含量,结果均未检出,表明该地区菜地土壤样品未受目标物污染。

3 结论

本文建立了超声提取/UPLC-MS/MS检测土壤中乙酰甲胺磷和甲胺磷的方法,样品经超声提取、过滤膜后(无需浓缩)直接上机测试,简化了前处理流程,提高了测试效率,且避免了前处理过程繁琐导致的回收率损失。方法简便高效、回收率好、灵敏度高、定性准确,可用于大量实际土壤样品中乙酰甲胺磷和甲胺磷含量的检测。

参考文献:

- [1] Hong W Y, Wu Y J, Wang D Z, Xie G X, Zhou H, Hong K X. *J. Argo - Environ. Sci.* (洪文英, 吴燕君, 王道泽, 谢国雄, 周航, 洪奎贤. 农业环境科学学报), **2011**, 30(5): 860-866.
- [2] Liu L, Yuan M A, Wang Y, Chen G H. *J. Zhejiang Agric. Sci.* (刘莉, 袁名安, 王艳, 陈桂华. 浙江农业科学), **2014**, (12): 1804-1806.
- [3] Shen Q C, Hu S M, Hu Y X, Hua X X, Pan D X. *J. Agric.* (沈群超, 胡仕孟, 胡寅侠, 华晓霞, 潘丹霞. 农学学报), **2014**, 4(9): 33-36.
- [4] Chen E X, Zhou Y L, Chen X L, Li B L, Ma G, Wang L M, Tang W J. *J. Anhui Agric. Sci.* (陈恩祥, 周艳琳, 陈新来, 李宝林, 马刚, 王丽梅, 唐文娟. 安徽农业科学), **2014**, 42(29): 10177-10178.
- [5] Shen Q C, Wu H X, Hu Y X, Ma J J. *Acta Agric. Jiangxi*(沈群超, 吴华新, 胡寅侠, 马金山. 江西农业学报), **2014**, 26(6): 46-48.
- [6] Wu X. *Chin. J. Health Lab. Technol.* (吴璇. 中国卫生检验杂志), **2013**, 23(2): 520-522.
- [7] Wu M, Hu X Q, Zhao H, Zhu Y H, Xu H, Ping L F, Wang X Q, Li Z. *Chin. J. Pest. Sci.* (吴珉, 胡秀卿, 赵华, 朱亚红, 徐浩, 平立凤, 王新全, 李振. 农药学报), **2009**, 11(1): 114-120.

- [8] He M, Tie B Q, Dai R C, Chen L, Yu P Z. *Agrochemicals*(贺敏, 铁柏清, 戴荣彩, 陈莉, 余平中. 农药), **2008**, 47(2): 122 - 124.
- [9] Ma H Z, Pan L G, Li A, Zhang Z Y. *J. Food Saf. Qual.* (马红枣, 潘立刚, 李安, 张志勇. 食品安全质量检测学报), **2017**, 8(2): 481 - 485.
- [10] Wang L. *Ningxia J. Agric. Fores. Sci. Technol.* (王玲. 宁夏农林科技), **2011**, 52(12): 231 - 232.
- [11] Yu L. *Agrochemicals*(于力. 农药), **1996**, 35(10): 11 - 12.
- [12] Zhang Y, Luo Q. *Agric. Dev. Equip.* (张莹, 罗茜. 农业开发与装备), **2013**, (3): 56.
- [13] Yang K L, Xie C L. *Appl. Chem. Ind.* (杨开莲, 谢承礼. 应用化工), **2007**, 36(4): 407 - 408.
- [14] Zhang M S, Li T Y, He S H, Liang Y. *J. Instrum. Anal.* (张鸣珊, 李腾崖, 何书海, 梁焱. 分析测试学报), **2016**, 35(9): 1195 - 1198.
- [15] HJ 168 - 2010. Environmental Monitoring - Technical Guideline on Drawing and Revising Analytical Method Standards. Environmental Protection Professional Standard of the People's Republic of China(环境监测分析方法标准制修订技术导则. 中华人民共和国环境保护行业标准).

(责任编辑: 丁 岩)

中央级大型科研仪器设备购置新规出台 4 “赞” 4 “否”

近日, 财政部和科技部发布联合通知, 依据《国务院关于国家重大科研基础设施和大型科研仪器向社会开放的意见》, 正式出台《中央级新购大型科研仪器设备查重评议管理办法》(简称《办法》)。此举旨在为规范中央级新购大型科研仪器设备查重评议工作, 减少重复浪费, 促进资源共享, 提高财政资金的使用效益。

根据《办法》规定: 大型科研仪器设备是指中央财政资金购置的单台(套)价格在200万元人民币及以上, 用于科学研究、技术开发及其他科技活动的科研仪器设备。有关单位在申请购置大型科研仪器设备经费预算时, 需提请组织查重部门进行查重评议并提交购置申请报告。

进行查重评议时, 将主要从学科相关性、必要性、合理性等维度对新购大型科研仪器设备进行评议。当满足以下任意一条原则时, 即建议购置: (一) 申购单位及所在地区无同类仪器设备或有同类仪器设备但其功能无法满足当前研究需要。(二) 申购单位及所在地区虽有同类设备但机时饱满(原则上年平均机时达1200小时以上), 无法满足当前研究需要。(三) 申购单位及所在地区虽有同类仪器设备, 但由于实验性质和条件所限不适合共享。(四) 申购仪器设备为在线仪器设备或对已有设备的配套和升级改造等。

当出现以下情况之一时, 则不建议购置: (一) 申购单位及本地区现存同类仪器设备较多且功能可以满足当前研究需要, 可以通过共享支撑当前研究(一般按照现有共享仪器设备利用机时不足1200小时来判断)。(二) 申购仪器设备与本项目的研究方向不符。(三) 对申购仪器设备刻意拆分、打包或未使用规范名称。(四) 申购单位缺乏合适的专职/兼职实验管理人员、仪器设备操作人员。

(信息来源: 仪器信息网)