

气相色谱-质谱法测定水体中乙酰甲胺磷和甲胺磷残留量

马红枣^{1,2}, 潘立刚^{2*}, 李安², 张志勇¹

(1. 北京农学院植物科学技术学院, 农业应用新技术北京市重点实验室, 北京 102206; 2. 北京农业质量标准与检测技术研究中心, 农业部农产品质量安全风险评估实验室(北京), 北京 100097)

摘要: **目的** 建立气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)同时检测乙酰甲胺磷和甲胺磷的残留量。**方法** 通过正交试验优化并确定升温程序参数, 利用液液萃取方法从水中提取乙酰甲胺磷及甲胺磷后, 采用基质匹配标准溶液对两种农药的回收率进行校准。**结果** 升温程序应采用一阶程序升温, 初始温度为 95 °C, 升温速度为 10 °C/min, 末温为 280 °C; 进样口采用惰性衬管; 添加水平为 0.1~1 mg/L 时, 回收率在 80.3%~110.5%之间, 相对标准偏差在 5.5%~6.5%之间。乙酰甲胺磷和甲胺磷在用纯溶剂(丙酮)和空白基质配制 0.01~0.5 mg/L 浓度范围内线性关系良好($r^2>0.999$), 乙酰甲胺磷和甲胺磷的检出限分别为 0.02 mg/L、0.008 mg/L, 定量检测分别为 0.066 mg/L、0.027 mg/L。**结论** 该方法的精密性、重复性和稳定性良好, 可适用于乙酰甲胺磷和甲胺磷残留量的检测。

关键词: 乙酰甲胺磷; 甲胺磷; 气相色谱-质谱法; 条件优化

Determination of acephate and methamidophos residues by gas chromatography-mass spectrometry

MA Hong-Zao^{1,2}, PAN Li-Gang^{2*}, LI An², ZHANG Zhi-Yong¹

(1. Beijing Key Laboratory of New Technology in Agricultural Application, College of Plant Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China; 2. Beijing Research Center for Agricultural Standards and Testing, Risk Assessment Lab for Agro-products (Beijing), Ministry of Agriculture, Beijing 100097, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for detection of acephate and methamidophos by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Methods** The temperature program of GC was optimized and determined by orthogonal experiment, and pesticides were extracted from aqueous solution by liquid-liquid extraction. In addition, the recovery rates of extraction from aqueous solution were corrected by matrix-matched standard calibration. **Results** The temperature program used first order temperature programming as follows: the temperature of column was from 95 °C to 280 °C at a speed of 10 °C/min,. The inert liner was inert. Under the optimized conditions, the average recoveries of the method ranged from 80.3% to 110.5% at the spiked levels of 0.1~1 mg/L with the relative standard deviations of 5.5%~6.5%. Acephate and methamidophos had good linear relationship in the

基金项目: 北京市农林科学院科技创新能力建设专项 (KJCX20150408)、国家农产品质量安全风险评估项(GJFP201601402)

Fund: Supported by Beijing Academy of Agriculture and Forestry Special Plan for Technical Innovation (KJCX20150408) and the Project of Risk Assessment of Quality and Safety of Nation Agro-Products (GJFP201601402)

*通讯作者: 潘立刚, 研究员, 主要从事农药毒理学和农产品质量安全研究。E-mail: Panlg@brcast.org.cn

*Corresponding author: PAN Li-Gang, Researcher, Beijing Research Center for Agricultural Standards and Testing, Risk Assessment Lab for Agro-products (Beijing), Ministry of Agriculture, Beijing 100097, China. E-mail: Panlg@brcast.org.cn

range of 0.01~0.5 mg/L ($r^2 > 0.999$), the limits of detection (LODs) were 0.02 mg/L and 0.008 mg/L, and the limits of quantitation (LOQs) were 0.066 mg/L and 0.027 mg/L for acephate and methamidophos, respectively. **Conclusion** The established method had good precision, repeatability and stability, which can be applied to the detection of acephate and methamidophos.

KEY WORDS: acephate; methamidophos; gas chromatography-mass spectrometry; optimization

1 引言

乙酰甲胺磷是一种高效、低残留、具有胃毒和触杀作用的缓效型有机磷杀虫剂,可防治多种咀嚼式、刺吸式口器害虫和螨害虫,应用作物广泛,如小麦、玉米、果树、蔬菜等^[1]。研究证实,乙酰甲胺磷在某些环境条件下可发生 C-N 键断裂,代谢出甲胺磷,导致农作物在使用乙酰甲胺磷后引起甲胺磷残留风险^[2-4]。而甲胺磷已经在多数农作物上被禁止使用。因此,加强乙酰甲胺磷、甲胺磷等有机磷农药残留监控,是保障农产品质量安全的重要措施。

目前,同时检测乙酰甲胺磷、甲胺磷的常用方法有气相色谱法(gas chromatography, GC)^[5-8]、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)^[2,9,10]、气质联用法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[11,12]等。乙酰甲胺磷和甲胺磷的极性较强,容易被仪器系统吸附,故采用 GC 或 GC-MS 法进行检测时,经常出现进样不出峰或峰信号较弱等情况,不能满足实际工作要求。因此,系统优化气相分离参数,明确各参数对仪器检测灵敏度的影响对于环境中乙酰甲胺磷和甲胺磷残留的准确检测以及气相色谱法应用水平的提高具有重要意义。

本研究通过正交试验确定优化 GC-MS 检测条件中程序升温参数、进样口采用惰性衬管,同时利用基质匹配标准溶液对其水溶液的回收率进行校准,以期对水体中乙酰甲胺磷、甲胺磷的 GC-MS 检测提供试验依据。

2 材料与方 法

2.1 仪器与试剂

GS-MS QP 2010 型气相色谱质谱联用仪(日本岛津公司); Rotavapor R-210 旋转蒸发仪(瑞士 Buchi 公司); KG-400KDE 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

农药标准品:乙酰甲胺磷(acephate), GSB05-2322-2008, 100 mg/L(丙酮),农业部环境保护科研监测(北京);甲胺磷(methamidophos), GSB05-2289-2008, 100 mg/L(丙酮),农业部环境保护科研监测(北京)。丙酮(色谱纯,北京化工厂);二氯甲烷、氯化钠、无水硫酸钠(分析纯,北京化工厂);实验中所用水均为去离子水。

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液的配制

用丙酮将 100 mg/L 的乙酰甲胺磷与甲胺磷标准品分别稀释得到 10 mg/L 的标准储备液,待用。取此标准储备液用丙酮按照一定比例逐级稀释,绘制标准曲线,本研究采用外标法进行定量。

2.2.2 样品前处理

取试样 10 mL 于 100 mL 具塞试管中,加入 4 g 氯化钠、5 g 无水硫酸钠、30 mL 丙酮和 40 mL 二氯甲烷。振荡摇匀,静止 1 h,取上清液经无水硫酸钠干燥脱水,收集 30 mL 转入 50 mL 圆底烧瓶中,旋转蒸发近干,丙酮定容后上样。

2.2.3 GC-MS 检测条件

色谱条件:色谱柱:DB-5(30 m×0.25 mm, 0.25 μm),载气:99.999%高纯氮气,流量为 1.0 mL/min。进样方法:不分流进样;进样量:1 μL;进样口温度:220 °C;色谱柱升温程序的试验方案如表 1^[13]。

质谱条件:离子源温度:230 °C;四极杆温度:200 °C;传输线温度:280 °C;溶剂延迟:5 min;调谐方式:自动调谐。采集方式选择离子扫描。甲胺磷的特征离子为 94 m/z 、126 m/z 、141 m/z ;乙酰甲胺磷标液的特征离子分别为:95 m/z 、136 m/z 、142 m/z 。

表 1 色谱柱程序升温优化试验方案^[13]

Table 1 The optimization experimental scheme of temperature programming of chromatographic column

试验序号	水平组合		
	A 初始温度 (°C)	B 升温速率 (°C/min)	C 末端温度 (°C)
1	A ₁ (80)	B ₁ (5)	C ₁ (220)
2	A ₁ (80)	B ₂ (10)	C ₂ (250)
3	A ₁ (80)	B ₃ (15)	C ₃ (280)
4	A ₂ (95)	B ₁ (5)	C ₂ (250)
5	A ₂ (95)	B ₂ (10)	C ₃ (280)
6	A ₂ (95)	B ₃ (15)	C ₁ (220)
7	A ₃ (110)	B ₁ (5)	C ₃ (280)
8	A ₃ (110)	B ₂ (10)	C ₁ (220)
9	A ₃ (110)	B ₃ (15)	C ₂ (250)

注:初始温度(A₁: 80 °C、A₂: 95 °C、A₃: 110 °C);升温速度(B₁: 5 °C/min、B₂: 10 °C/min、B₃: 15 °C/min);末温(C₁: 220 °C、C₂: 250 °C、C₃: 280 °C)

表 2 甲胺磷与乙酰甲胺磷优化试验结果
Table 2 Optimization experimental results of methamidophos and acephate

试验组	甲胺磷		乙酰甲胺磷		分离度
	保留时间(min)	峰面积	保留时间(min)	峰面积	
1	9.569	437296	14.805	45529	19.179
2	7.465	439492	10.324	113686	13.647
3	6.465	444625	8.459	122788	15.049
4	7.051	340398	11.909	76152	22.336
5	5.96	469332	8.796	148617	17.399
6	5.37	341884	7.411	124586	12.37
7	—	—	9.191	127320	—
8	—	—	7.280	111266	—
9	—	—	—	—	—

3 结果与分析

3.1 GC-MS 检测条件优化

3.1.1 升温程序的确定

进样口温度的设定要保证乙酰甲胺磷和甲胺磷全部气化,且能够全部流入色谱柱。实际操作中,进样口温度可在一定范围内设定,只要保证乙酰甲胺磷和甲胺磷全部气化,不必精确优化^[14]。故在参考相关文献后^[6,7],将进样口温度设定为 220 °C。气相条件参数中以柱温、升温程序对响应值和分离度的影响最大^[14]。在参考文献及相关资料的基础上,采用正交试验对 0.5 mg/L 混标溶液进行升温程序的优化。连续进 0.5 mg/L 的混标溶液,其结果如表 2 所示。

由表 2 可知,甲胺磷峰面积大小依次为: 5>3>2>1>6>4; 乙酰甲胺磷峰面积大小依次为: 5>7>6>3>2>8>4>1; 前 5 组其分离度都大于 1.5,即前 5 组中甲胺磷和乙酰甲胺磷完全分离。升温程序选择的原则为:分析时间短,峰面积大,两种农药有较好的分离。综合考虑应选择第 5 组,即初始温度为 95 °C,升温速度为 10 °C/min,末温为 280 °C。95 °C 的色谱柱初始温度接近样品中最轻组分的沸点即甲胺磷的沸点 100 °C,能够使甲胺磷和乙酰甲胺磷在色谱柱前段瞬间冷凝堆积,减少峰形拖尾。色谱柱初始温度 110 °C 时,甲胺磷在色谱柱前段分解,不能瞬间冷凝堆积,故第 7、8、9 组甲胺磷未检测出。280 °C 的末温能够将本针农药残留热分解,以避免影响下一针的分析,同时可高温分解样品基质组分热分解产物,以防止其沉积于色谱柱中导致甲胺磷、乙酰甲

胺磷被吸附^[15]。

3.1.2 衬管的选择

分别选用去活不分流惰性衬管和去活不分流普通玻璃衬管进行乙酰甲胺磷和甲胺磷测定的比较试验,对比情况如图 1。使用普通衬管的甲胺磷和乙酰甲胺磷响应值分别为 325332 和 151946; 使用惰性衬管的响应值分别为 565796 和 317664。由此可见,进样端使用惰性衬管,可明显增大甲胺磷和乙酰甲胺磷的响应值,提高方法的灵敏度。乙酰甲胺磷和甲胺磷极性很强,易在活性位点被吸附,导致分析物从进样口进入检测器的传输量减少,检测信号减弱。惰性衬管与玻璃衬管相比,其钝化性强,可以有效减少衬管的活性位点,进而减少甲胺磷和乙酰甲胺磷的吸附,增大其检测响应。因此选择去活不分流惰性衬管。

3.2 基质校正

乙酰甲胺磷和甲胺磷极性很强,属于基质效应敏感化合物^[16]。从其水溶液中提取后,两种相同浓度的农药在基质溶液中的色谱响应比在纯溶剂(丙酮)中高(如图 2),可见其检测存在基质效应。这种基质诱导响应增强现象出现的原因是样品基质减少了气化过程中热不稳定农药的分解,且屏蔽了进样口的活性位点,从而减少了甲胺磷、乙酰甲胺磷这类极性农药在活性位点的吸附,减缓解析速度,增加甲胺磷、乙酰甲胺磷从进样口向色谱柱的传输量^[17]。为了减少基质效应对检测的影响,本试验通过基质匹配标准溶液对其回收率进行校准^[16]。校准后乙酰甲胺磷和甲胺磷回收率为 80.3%~110.5%,相对标准偏差为 5.5%~6.5%,达到农药残留定量分析要求(如表 3)。

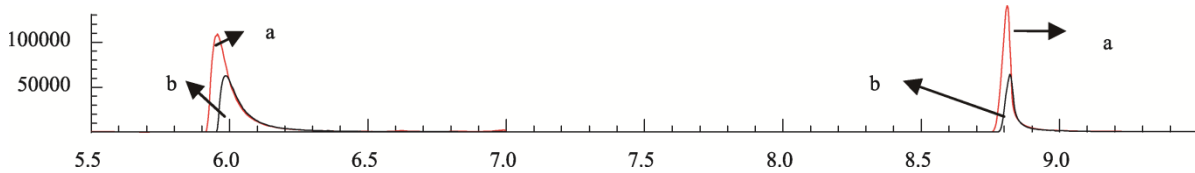


图1 衬管优化的 TIC 对比图

Fig. 1 Comparison of optimizing liners

注: a 为惰性衬管图谱(1.0 mg/L 标准溶液); b 为普通玻璃衬管图谱(1.0 mg/L 标准溶液)。

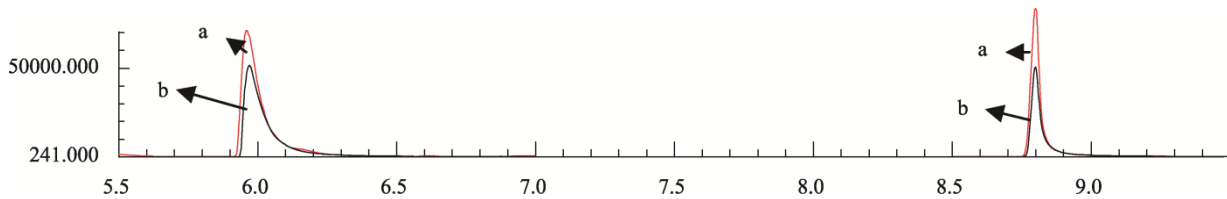


图2 乙酰甲胺磷和甲胺磷检测中的基质效应

Fig. 2 Matrix effect of acephate and methamidophos

注: a 为基质稀释的 0.5 mg/L 标准溶液; b 为丙酮稀释的 0.5 mg/L 标准溶液

表3 基质匹配标准溶液校准的影响

Table 3 The effect of matrix-matched standard calibration

名称	添加浓度 (mg/L)	丙酮标准溶液校正		基质匹配标准溶液校准	
		平均回收率(%)	相对偏差(%)	平均回收率(%)	相对偏差(%)
乙酰甲胺磷	0.1	130.9	6.0	110.5	6.5
	1	127.3	5.5	95.5	5.7
甲胺磷	0.1	124.0	4.3	92.2	6.0
	1	117.5	6.8	80.3	5.5

3.3 线性关系和检测限

分别用纯溶剂(丙酮)和空白基质配制浓度为 0.01、0.025、0.05、0.1、0.25 和 0.5 mg/L 标准溶液。绘制得到的标准曲线线性方程和相关系数如表 4 所示。其中检出限以信噪比(S/N)为 3 计算,定量限以信噪比(S/N)为 10 计算。经计算,乙酰甲胺磷的检出限与定量限分别为 0.02 mg/L 和 0.066 mg/L;甲胺磷的检出限与定量限分别为 0.008 mg/L 和 0.027 mg/L。

表4 乙酰甲胺磷、甲胺磷的线性关系
Table 4 Linearity of acephate and methamidophos

名称	校正溶液	线性方程	r^2
乙酰甲胺磷	丙酮	$Y = 261836.6X - 2257.207$	0.9993
	基质	$Y = 228613.8X + 2553.432$	0.9997
甲胺磷	丙酮	$Y = 521391.7X - 1158.539$	0.9999
	基质	$Y = 490590.0X + 1774.562$	0.9997

4 结论

本试验在查阅文献、总结现有方法的基础上,通过正交试验获得了 GC-MS 检测乙酰甲胺磷、甲胺磷的最佳升温程序:初始温度为 95 °C,升温速度为 10 °C/min,末温为 280 °C。同时对 GC-MS 进样口衬管进行优化,研究发现惰性衬管比普通玻璃衬管更加适合应用于乙酰甲胺磷、甲胺磷这类极性较强农药的检测。该研究采用基质匹配标准溶液对 2 种农药在水溶液中的提取回收率进行校准,校准后回收率为 80.3%~110.5%,相对标准偏差为 5.5%~6.5%,乙酰甲胺磷的检出限与定量限分别为 0.02 mg/L 和 0.066 mg/L;甲胺磷的检出限与定量限分别为 0.008 mg/L 和 0.027 mg/L,其结果可达到农药残留定性和定量分析要求。

参考文献

- [1] 华乃震. 乙酰甲胺磷的市场、剂型、应用和发展趋势[J]. 中国农药, 2014, (03): 29-34.
Hua NZ. The application and developing trend of the market of acephate

- dosage forms [J]. *J China Agrochem*, 2014, (03): 29–34.
- [2] 洪文英, 吴燕君, 王道泽, 等. 乙酰甲胺磷及其高毒代谢物甲胺磷在白菜中的残留动态[J]. *农业环境科学学报*, 2011, 30(5): 860–866.
Hong WY, WU YJ, Wang DZ, *et al.* Residue dynamics of acephate and its metabolite methamidophos in cabbage [J]. *J Agro-Environ Sci*, 2011, 30(5): 860–866.
- [3] Wang X, Li Z, Zhang H, *et al.* Environmental behavior of the chiral organophosphorus insecticide a and its chiral metabolite methamidophos: enantioselective transformation and degradation in soils [J]. *Environ Sci Technol*, 2013, 47(16): 9233.
- [4] 张慧涵, 朱光艳, 汪清, 等. 土壤中乙酰甲胺磷向番茄果实中的转运代谢与积累[J]. *安徽农业大学学报*, 2014, 41(05): 892–894.
Zhang HH, Zhu GY, Wang Q, *et al.* Absorption, transport, metabolism and accumulation of acephate from soil to tomato [J]. *J Anhui Agric Univ*, 2014, 41(05): 892–894.
- [5] 陈恩祥, 周艳琳, 陈新来, 等. 乙酰甲胺磷在辣椒上的残留降解动态研究[J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(29): 10177–10178.
Chen AX, Zhou YL, Chen XL, *et al.* Residues degradation dynamics of acephate in pepper [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2014, 42(29): 10177–10178.
- [6] 沈群超, 胡仕孟, 胡寅侠, 等. 不同剂型的乙酰甲胺磷在小白菜中的残留动态研究[J]. *农学学报*, 2014, 4(09): 33–36.
Shen QC, Hu SM, Hu YX, *et al.* Residue dynamics about acephate of different formulations in cabbage [J]. *J Agric*, 2014, 4(09): 33–36
- [7] 沈群超, 吴华新, 胡寅侠, 等. 乙酰甲胺磷在豇豆上安全使用的研究[J]. *江西农业学报*, 2014, 26(06): 46–48.
Shen QC, Wu HX, Hu YX, *et al.* Safety evaluation of acephate in cowpea [J]. *Acta Agric Jiangxi*, 2014, 26(06): 46–48.
- [8] 刘莉, 袁名安, 王艳, 等. 乙酰甲胺磷乳油热稳定性及甲胺磷的降解动态[J]. *浙江农业科学*, 2014, 1(12): 1804–1806.
Li L, Yuan MA, Wang Y, *et al.* The thermostability of acephate emulsifiable concentrates and the dissipation dynamics of methamidophos [J]. *J Zhejiang Agric Sci*, 2014, 1(12): 1804–1806.
- [9] 王玲. 乙酰甲胺磷农药的高效液相色谱法测定[J]. *宁夏农林科技*, 2011, 52(12): 231–232.
Wang L. Determination of acephate pesticides by high performance liquid chromatography [J]. *Ningxia J Agric Fores Sci Tech*, 2011, 52(12): 231–232.
- [10] 姚陆铭, 刘燕红, 武天龙. 乙酰甲胺磷在扁豆中残留的研究[J]. *农药科学与管理*, 2012, 33(11): 29–32.
Yao LM, Liu YH, Wu TL. Residue analysis of acephate in *lablab purpureus* [J]. *Pest Sci Admin*, 2012, 33(11): 29–32.
- [11] 张水坝, 易军, 叶江雷, 等. 气相色谱法测定茶叶中的噻嗪酮、甲胺磷、乙酰甲胺磷及三唑磷残留[J]. *色谱*, 2004, 22(02): 154–157.
Zhang SB, Yi J, Ye JL, *et al.* Determination of buprofezin, methamidophos, acephate, and triazophos residues in chinese tea samples by gas chromatography [J]. *Chin J Chromatogr*, 2004, 22(02): 154–157.
- [12] 贺敏, 铁柏清, 戴荣彩, 等. 青油菜中乙酰甲胺磷、甲胺磷残留量的 GC/MS 分析[J]. *农药*, 2008, 47(02): 122–124.
He M, Tie BQ, Dai RC, *et al.* Residue analysis method of acephate and methamidophos in rape plants by GC/MS [J]. *Agrochemicals*, 2008, 47(02): 122–124.
- [13] 刘瑞江, 张业旺, 闻崇炜, 等. 正交试验设计和分析方法研究[J]. *实验技术与管理*, 2010, 9(27): 52–55.
Liu RJ, Zhang YW, Wen CW, *et al.* Study on the design and analysis methods of orthogonal experiment [J]. *Exp Technol Manag*, 2010, 9(27): 52–55.
- [14] 刘虎威. 气相色谱方法及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
Liu HW. The method and application of gas chromatography [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2000.
- [15] 冯丽丽, 胡晓芳, 于晓娟, 等. 气相色谱法测定有机磷农药残留的常见问题探讨[J]. *环境监测管理与技术*, 2013, 25(03): 47–50.
Feng LL, Hu XF, Wang XJ, *et al.* Research on some problems in determination of organophosphorus pesticide by gas chromatography [J]. *Admin Tech Environ Monit*, 2013, 35(03): 47–50.
- [16] 黄宝勇, 欧阳喜辉, 潘灿平. 色谱法测定农产品中农药残留时的基质效应[J]. *农药学报*, 2005, 7(04): 299–305.
Huang BY, Ouyang CH, Pan CP. Matrix effects in the analysis of pesticide residue in agro-products by chromatographic methods [J]. *Chin J Pest Sci*, 2005, 7(04): 299–305.
- [17] Hajslová J, Zrostliková J. Matrix effects in (ultra)trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices [J]. *J Chromatogr A*, 2003, 1000(1–2): 181–197.

(责任编辑: 姚 菲)

作者简介



马红枣, 研究生, 主要研究方向为农产品质量安全研究。
E-mail: syacyma@126.com



潘立刚, 研究员, 主要从事农产品质量安全研究。
E-mail: Panlg@brcast.org.cn