

固相萃取 - 气相色谱 - 质谱联用法测定人血清中甲胺磷和乙酰甲胺磷

李勇竞

【摘要】 目的 建立一种人血清中乙酰甲胺磷及其代谢物甲胺磷的测定方法,即固相萃取 - 气相色谱 - 质谱联用法。方法 取 0.3ml 待测血清,用去离子水稀释至 3ml,经固相萃取小柱(Carb 柱 400mg)提取,目标化合物经丙酮洗脱,氮气吹干后,加入 10 μ l 的内标物(苯酚),再用丙酮定容至 1ml,取 1 μ l 进样。结果 甲胺磷和乙酰甲胺磷的线性范围分别为 20 ~ 100mg/L 和 10 ~ 80mg/L;方法的加标回收率范围为:92.1% ~ 114%;RSD 为:3.5% - 10.4%。当取样量为 0.3ml 时,甲胺磷和乙酰甲胺磷的最低检出限分别为 10 mg/L 和 5 mg/L。结论 该方法分析快速、定性、定量准确,完全能满足突发性中毒事件的确诊分析。

【关键词】 GC - MS; 固相萃取; 乙酰甲胺磷; 甲胺磷; 血清

【中图分类号】 R0657.71 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007 - 1040(2012)01 - 004 - 03

Determination Of Methamidophos And Acetphate In Human Serum by Solid Phase Extraction Gas Chromatography - Mass Spectrometry Li Yong - jing (Wuhu Municipal Center for Disease Control and Prevention, Wuhu, Anhui 241000, China)

【Abstract】 Objective To explore a determination method of acetphate and methamidophos in human serum, that is solid phase extraction gas chromatography - mass spectrometry (GC - MS). **Methods** 0.3ml Sera to be assayed were taken and diluted to 3ml with the deionized water, and were extracted and purified by Carb 400 column. After the elution of acetone and the blow dry of nitrogen, the titled compounds were settled to the volume of 1 ml through adding into 10 μ l Phenol which was thought to be internal standard, then 1 μ l sample was injected into GC - MS for analysis. **Results** The linear range for the determination of methamidophos and acetphate were 20 ~ 100 mg/L and 10 ~ 80 mg/L respectively. The recovery of standard addition of the samples was 92.1% ~ 114%. The relative standard deviation (RSD) was 3.5% ~ 10.4%. The lowest detection limits of methamidophos and acetphate were 10 mg/L and 5 mg/L respectively when the 3ml sample was analyzed. **Conclusion** This method was rapid, accurate quantitatively and qualitatively, could satisfactorily meet the requirements of confirmatory analysis of emergency poisoning accidents.

【Key words】 Gas Chromatography - Mass Spectrometry; Solid Phase Extraction; Acetphate; Methamidophos; Serum

乙酰甲胺磷是一种应用广泛的有机磷农药,乙酰甲胺磷在人体中可以转化成剧毒的甲胺磷,对人体造成威胁。由于目前乙酰甲胺磷在农业上面被广泛使用^[1,2],人群接触到这种农药的几率就很大。国内在判断甲胺磷中毒的原因时,往往直接分析食物材料、胃内容物或血清胆碱酯酶含量^[3,4],逐一排查这些检材消耗的时间非常多,同时这些检材基质干扰大,定性定量困难。虽然目前国内仅有 1 篇文章报道了用气相色谱方法测定血液中的甲胺磷^[5],但是运用固相萃取 - 气相色谱 - 质谱联用法同时分析血清中甲

胺磷和乙酰甲胺磷的方法国内未见报道。本文就此进行一些研究,予以报道。

1 材料与方法

1.1 试剂与耗材 丙酮(色谱纯,美国 Tedia);上海月旭公司 SPE 小柱(Carb, 500mg/6mL);美国 OV 公司 OV - 5MS(30m \times 0.25mm \times 0.25 μ m)毛细管色谱柱。

1.2 仪器 PE Clarus600 GC - MS 分析仪;上海月旭 12 位固相萃取装置;上海新拓 XT NS1 自动氮吹仪。

1.3 标准溶液配制 分别准确称取 10.00mg 农药标准品,置于 10ml 棕色容量瓶中,用丙酮定容到 10ml,制成 1mg/ml 的标准储备液。另准确称取 10.

【作者单位】 芜湖市疾病预防控制中心,安徽 芜湖 241000

【作者简介】 李勇竞(1978 ~),男,主管检验师,主要从事食品安全理化分析工作。

00mg 内标物标准品,置于 10ml 棕色容量瓶中,用丙酮定容到 10ml 制成 1mg/ml 的内标储备液。分别取甲胺磷: 20 μ l, 30 μ l, 50 μ l, 70 μ l, 100 μ l; 乙酰甲胺磷: 10 μ l, 20 μ l, 30 μ l, 60 μ l, 80 μ l; 向上述各浓度标准液中加入苯酚内标 10 μ L; 分别用丙酮定容到 1ml 制成甲胺磷和乙酰甲胺磷浓度分别为 20mg/L、30mg/L、50mg/L、70mg/L、100mg/L 和 10mg/L、20mg/L、30mg/L、60mg/L、80mg/L 混合标准工作液。

1.4 样品处理 取 0.3ml 血清加入 2.7ml 蒸馏水,混匀,制成 3ml 的样品溶液,备用。活化: 加入 10ml 丙酮和 20ml 蒸馏水淋洗 SPE 小柱,使小柱处于水溶性状态。上样: 将 3ml 样品溶液加入到 SPE 柱上,抽真空,流速保持在 2ml/min,弃去流出液。淋洗: 用 10ml 蒸馏水淋洗 SPE 小柱,将小柱上的水溶性杂质洗脱,弃去淋洗液。吹干: 用氮气吹小柱 20min,使其干燥。洗脱: 用 5ml 丙酮洗脱 SPE 小柱上的目标物,将此 5ml 丙酮收集,氮气 30 $^{\circ}$ C 吹干,加入 10 μ L 的内标物(苯酚),再用丙酮定容至 1ml。

1.5 色谱条件 进样口: 230 $^{\circ}$ C 载气流速: 1ml/min 进样方式: 不分流,不分流时间为 1.5min,分流比为

50:1, 进样体积: 1 μ l。程序升温: 初温 40 $^{\circ}$ C 保持 3min, 20 $^{\circ}$ C/min 升至 250 $^{\circ}$ C, 保持 5min。

1.6 质谱条件 EI 离子源(70eV), EI 源温度: 230 $^{\circ}$ C; 传输线: 230 $^{\circ}$ C; 溶剂延迟: 4min; 质谱扫描范围: 60~350amu; 扫描方式: SCAN + SIR

2 结果与分析

2.1 质谱定性与定量参数选择 在选定的分析条件下,首先采用全扫描 SCAN 得到内标及待测农药的保留时间与特征定性、定量离子,进行 SIR 扫描以保证方法的灵敏度和准确性。根据 SCAN 扫描结果,选定苯酚(内标)和甲胺磷的定量离子为 94m/z,定性离子为 141 m/z,乙酰甲胺磷的定量离子为 136 m/z,定性离子为 94 m/z。(表 1)。甲胺磷和乙酰甲胺磷质谱图如图 1~2 所示。

表 1 三种待测物的 SIR 定量分析参数

通道	农药名称	定量离子(m/z)	采集时间(min)	驻留时间(min)
1	苯酚	94	6.9-8.0	0.02
2	甲胺磷	141	9.9-11	0.02
3	乙酰甲胺磷	136	11-12.3	0.02

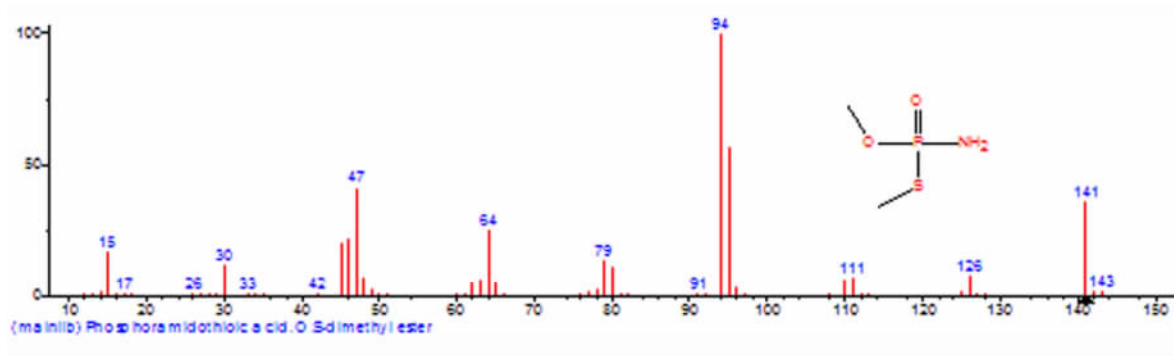


图 1 甲胺磷质谱图

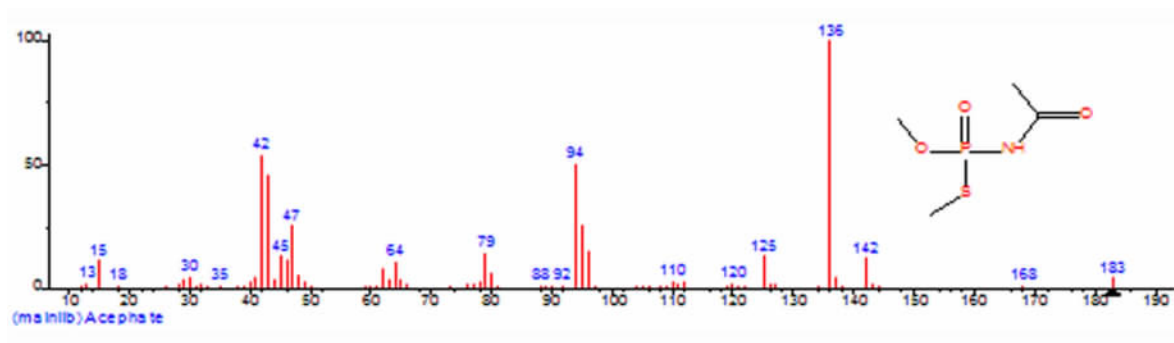


图 2 乙酰甲胺磷质谱图

2.2 样品前处理条件及色谱条件的优化 本文选择石墨化碳黑填料(Carb)的 SPE 小柱,可以很好的吸附血清中的目标农药,该填料成本相对较低,同时回

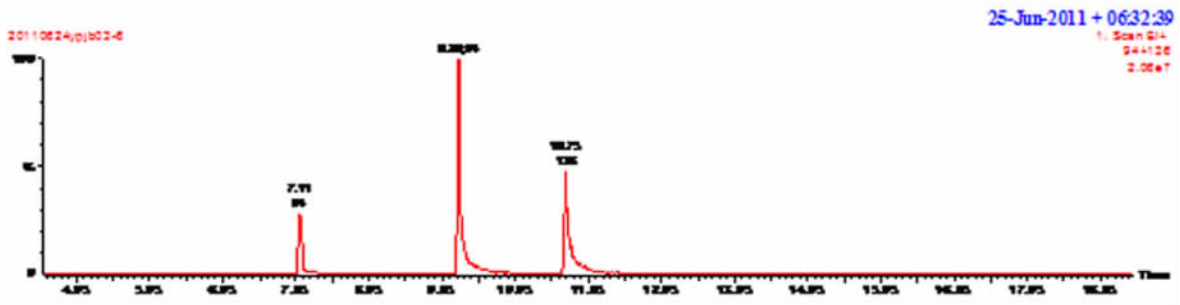
收率也满足了要求。在 SPE 的处理过程上,本文经过优化选择,使得整个 SPE 程序样品处理时间缩短为 30min,并且步骤少,需要的血清样本量少,这样在突

发事件中只需采集极少量的样本就能实现快速检测。

在定量方式设计上 本文采用内标法而没有采用外标法 这样做的好处是避免在前处理过程中样本损失导致定量不准确 从而减少了样品处理过程中的误差 保证了定量的准确性。在计算定量峰面积时 使用 SIR 扫描每种农药的定量离子 确定峰面积 保证了定量结果的准确性和稳定性。选择苯酚为内标 该物质和目标农药有近似的化学性质和色谱行为 且不与目标农药发生反应 在色谱柱上又能很好的分开 是很好的内标物质 对于准确定量很有帮助。

在定性方式设计上 对于每种目标农药选择 2 ~ 3 种特征离子定性 通过 SCAN + SIR 扫描方式分析特征离子的比例关系 然后和 NIST 标准谱库比对 排除了假阳性的可能。

考虑到甲胺磷和乙酰甲胺磷的热不稳定的特点 。



1: 苯酚; 2: 甲胺磷; 3: 乙酰甲胺磷

图 3 空白血样加标总离子色谱图

2.4 方法的回收率、精密度 向空白血清样品中分别加入高、中、低水平的农药标准品 每个浓度做 6 个平行样品 测定回收率和精密度。甲胺磷和乙酰甲胺磷的平均回收率为 92.1% ~ 114% 精密度为 3.5% ~ 10.4% 均满足定量要求。(表 3)。

表 3 样品回收率及精密度测定结果 (n=6)

农药名称	加标水平(μg)	平均测定值(μg)	回收率(%)	RSD(%)
甲胺磷	20	21.58	107.9	10.4
	50	50.03	100.1	8.5
	200	184.26	92.1	3.5
乙酰甲胺磷	10	11.44	114.0	8.3
	50	50.92	101.8	10.2
	400	377.51	94.4	4.9

3 结论

本方法样品前处理过程简单 样品需要量少 定

本文的进样口温度选择在 230℃ 在保证农药于进样口处完全气化的同时不被分解 如果进样口温度设定到 260℃ 甚至更高 那么甲胺磷和乙酰甲胺磷会有部分分解 降低了检测的灵敏度。另外 程序升温到 250 度并保持 5min 可以将血清中难挥发的杂质从色谱柱上赶走 消除下次进样的背景干扰。

2.3 方法的线性范围 在标准系列浓度范围内 甲胺磷和乙酰甲胺磷均呈现良好的线性关系 相关系数 (r) 均大于 0.99。方法检出限以仪器 3 倍 S/N 对应的样品浓度来计算。(表 2)。

表 2 方法线性与检出限

农药名称	线性方程	相关系数(r)	检出限(mg/L)
甲胺磷	y = 0.0757x - 0.8291	0.995	10
乙酰甲胺磷	y = 0.0345x - 0.3148	0.996	5

性和定量准确 完全能够满足突发公共卫生事件中的中毒原因分析和定量要求。

参考文献

[1] 过成吉. 乙酰甲胺磷市场局部升温 [J]. 农药市场信息, 2002, 13: 15.

[2] 李本昌. 农药残留量实用检测方法手册 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 28 - 35.

[3] 吴燕, 刘建成. 一起甲胺磷农药所致食物中毒的实验室分析 [J]. 江苏预防医学, 2009, 20(4): 40.

[4] 姚蔚, 丁建华, 邵吉库. 一起由甲胺磷残留引起的工地食堂食物中毒调查报告 [J]. 现代预防医学, 2008, 35(13): 2524.

[5] 陈雁君, 高知义, 卢英华等. 血中甲胺磷的气相色谱分析及灌流吸附后的清除效率 [J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(2): 238 - 239.

收稿日期: 2011 - 09 - 15