

氧化石墨烯分散固相萃取 - LC - MS/MS 法 检测花生油中涕灭威及其代谢物残留

倪永付¹, 朱涛¹, 卢经², 高洁¹, 李修平¹

(1. 济宁出入境检验检疫局, 山东 济宁 272000;

2. 黄岛出入境检验检疫局, 山东 青岛 266555)

摘要:建立了氧化石墨烯分散固相萃取—液相色谱串联质谱法(LC-MS/MS)检测花生油中涕灭威及其代谢物涕灭威砜和涕灭威亚砜3种农药残留的方法。样品经乙腈提取,以氧化石墨烯分散固相萃取净化后,注入LC-MS/MS检测。色谱柱采用Poroshell 120 EC-C18(3.0×100 mm, 2.7 μm),在多反应监测模式下检测,外标法定量。结果表明:上述3种农药在浓度5~150 μg/L范围内线性关系良好,相关系数 $r=0.991\sim 0.999$,方法检测限为0.6~1.8 μg/kg,在不同添加水平下,平均回收率为62%~103%。该方法简便、快速、成本低,能够满足花生油中涕灭威及其代谢物的检测要求。

关键词:氧化石墨烯;分散固相萃取;液相色谱—质谱/质谱;花生油;涕灭威

中图分类号:TS 201.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2017)02-0065-04

Determination of aldicarb and its metabolites residues in peanut oil by graphene oxide DSPE combined with LC-MS/MS

NI Yong-fu¹, ZHU Tao¹, LU Jing², GAO Jie¹, LI Xiu-ping¹

(1. Jining Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Jining Shandong 272000;

2. Huangdao Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Qingdao Shandong 266555)

Abstract: A method was established to determine three pesticides residues, aldicarb and its metabolites aldicarb-sulfone and aldicarb-sulfoxide, in peanut oil by graphene oxide dispersive solid phase extraction (DSPE) combined with liquid chromatography-tandem mass spectrum (LC-MS/MS). The sample was extracted by acetonitrile and purified by graphene oxide with DSPE and then separated by LC with Poroshell 120 EC-C18, 3.0×100 mm, 2.7 μm column. The analysis was carried out in the multi-reaction monitoring mode and external standard method was used for quantification. The results showed that the calibration curve of the three pesticides showed a good linear relationship in the range of 5~150 μg/L with the correlation coefficient $r=0.991\sim 0.999$, the detection limit of the method was 0.6~1.8 μg/kg, and the average recovery was 62%~103% at different level. The method is simple, fast, cheap, can meet the requirements of the determination of aldicarb and its metabolites residues in peanut oil.

Key words: graphene oxide; dispersive solid-phase extraction (DSPE); liquid chromatography-mass spectrometry / mass spectrometry (LC-MS/MS); peanut oil; aldicarb

涕灭威是一种剧毒、广谱氨基甲酸酯类杀虫剂,对胆碱酯酶有很强的抑制作用,能导致副交感神经中毒从而达到杀虫效果。由于其高效、经济而被广泛应用于蔬菜水果的种植过程,涕灭威在氧化物质、微生物等条件的作用下容易被氧化成毒性更高的涕

灭威砜、涕灭威亚砜。我国食品安全国家标准 GB 2763—2014《食品中农药最大残留限量》^[1]规定花生油中涕灭威的最大残留限量为0.01 mg/kg,检测方法按照标准 GB 14929.2—1994的规定,使用层析柱进行净化,最后用气相色谱进行检测。该标准目前尚无新版本,所涉及的操作过程繁琐,不能适应批量、快速检测的需求。目前关于涕灭威及其代谢物报道最多的检测方法是液相色谱串联质谱

收稿日期:2016-08-29

基金项目:山东出入境检验检疫局科研项目(SK201426)

作者简介:倪永付,1983年出生,男,工程师。

法^[2-5]。在行业标准 SN/T 2441—10^[6]中也介绍了液相色谱串联质谱检测涕灭威及其代谢物的方法,但该标准中的样品基质未涉及到植物油,同时该标准在样品净化时使用的是 SPE 柱,操作相对繁琐。

分散固相萃取技术使用分散固相萃取材料吸附杂质,消除样品基质干扰,从而达到净化的目的,因其操作简便、快速高效而被广泛应用于农药残留检测,目前用于分散固相萃取的材料有 C18、GCB、PSA 等。石墨烯比表面积大,理论值达 2 630 m²/g,具有良好的耐碱性、耐热性能和化学稳定性、极强的疏水性、易于进行功能化修饰等优点,亦可与有机分子产生强的 $\pi-\pi$ 相互作用^[7]。氧化石墨烯是石墨烯的一种重要的衍生物,其不仅具有超大的比表面积,还带有羧基和羰基等活性基团,吸附性能好。目前石墨烯作为萃取吸附剂已有相关文献报道^[8-11],但氧化石墨烯作为分散固相萃取吸附剂用于花生油中涕灭威及其代谢物的检测尚未见报道。本实验以氧化石墨烯作为分散固相萃取剂,结合液相色谱串联质谱仪,建立了花生油中涕灭威及其代谢物残留检测的新方法。

1 材料与方

1.1 仪器和试剂

1290-6460 液相色谱—串联质谱仪:美国 Agilent 公司; MMV-1000W 型振荡器:日本东京理化公司; CR22G III 型高速冷冻离心机:日本 Hitachi 公司; MS3 型涡旋混匀器:德国 IKA 公司。

氧化石墨烯:济宁利特纳米技术有限责任公司; 乙腈、甲醇、甲酸均为色谱纯;实验用水为超纯水;涕灭威、涕灭威砒、涕灭威亚砒标准品(均为 100 mg/L, 1 mL):农业部环境保护科研监测所。

1.2 分析条件

1.2.1 色谱条件

色谱柱:Poroshell 120 EC-C18(3.0 mm × 100 mm, 2.7 μ m);柱温:30 $^{\circ}$ C;进样体积:1 μ L;流动相:A 甲醇、B 水;流速:0.3 mL/min。流动相梯度洗脱程序为:0~1 min, 5% A;1~4 min, 5%~70% A;4~5 min, 70% A;5~7 min, 70%~5% A;7~10 min, 5% A。

1.2.2 质谱条件

离子源:喷射流离子聚焦电喷雾离子源;扫描模式:正离子模式;检测方式:多反应监测;干燥气温度:325 $^{\circ}$ C;干燥气流速:10 L/min;雾化气压力:45 psi;鞘气温度:350 $^{\circ}$ C;鞘气流速:11 L/min;毛细管电压:4 000 V;碰撞气:高纯氮;各离子对驻留时间均为 70 ms。

1.3 样品前处理

称取 5 g 试样(精确至 0.01 g)于 50 mL 离心管中,加入 5 mL 乙腈饱和的正己烷,涡旋 1 min,再加入 10 mL 正己烷饱和的乙腈,震荡提取 30 min 后,在 4 $^{\circ}$ C, 9 000 r/min 条件下离心 5 min,吸取乙腈层 2 mL 至 15 mL 离心管中,加入 15 mg 氧化石墨烯,涡旋 30 s,静置 5 min,过 0.22 μ m 有机相滤膜,进仪器检测。

2 结果与分析

2.1 净化条件优化

2.1.1 氧化石墨烯用量

氧化石墨烯的用量是影响净化效果的一个重要因素。使用浓度为 10 μ g/L 的 1 mL 涕灭威及其代谢物空白基质标准溶液,分别考察了氧化石墨烯用量为 5、10、15、20、25 和 30 mg 时对净化效果的影响,当氧化石墨烯的用量为 15 mg 时,色谱图基线低,响应值最好,结果如图 1 所示(以涕灭威砒为例),此时回收率能够满足检测要求。因此本实验中氧化石墨烯用量选用 15 mg。

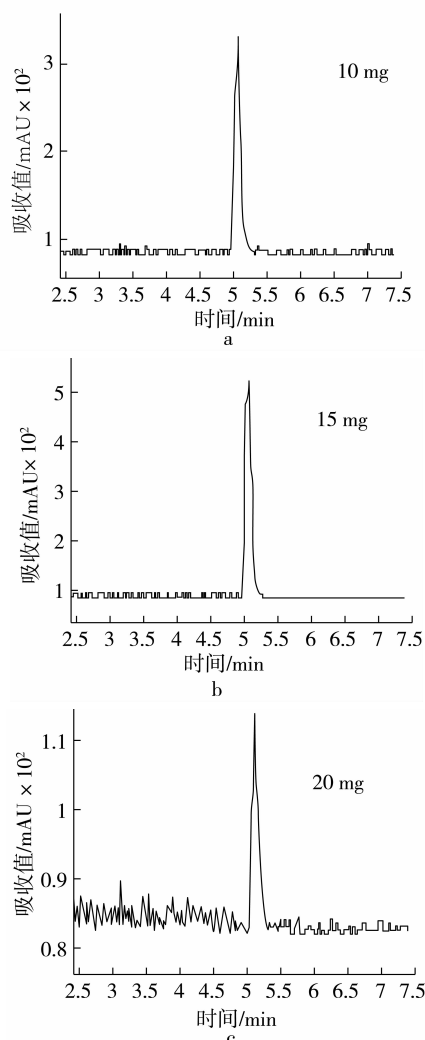


图1 氧化石墨烯添加量对净化效果的影响

2.1.2 萃取时间确定

分别考察了萃取时间为10、20、30、40、50、60 s时氧化石墨烯的净化效果,实验结果见图2。实验结果表明,在10~30 s时间内随着萃取时间的增加,涕灭威砒的回收率呈下降趋势,涕灭威亚砒的回收率呈上升趋势,涕灭威的回收率整体呈上升趋势;30~50 s三种化合物的回收率变化不大。涕灭威、涕灭威砒回收率下降可能是由于氧化石墨烯对其产生了吸附。为保证3种化合物均能达到较好的回收率,同时节约实验时间,本研究选择30 s作为分散固相萃取时间。

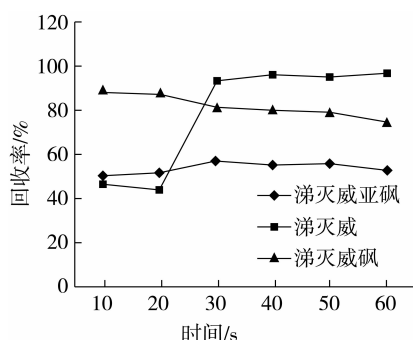


图2 分散固相萃取时间对净化效果的影响

2.1.3 离心与静置的影响

为比较分散固相萃取后离心与静置对净化效果的影响,进行了平行实验。萃取操作后一组在9 000 r/min条件下离心5 min,另一组静置5 min,分别取上清液过0.22 μm有机相滤膜,注入LC-MS/MS检测。图3为不同后处理方式对回收率的影响。结果表明,离心或静置对待测物的回收率影响不大,且两种方式均能实现样品溶液与氧化石墨烯的分离,得到上清液。本研究选择使用静置的方式进行分散固相萃取后处理。

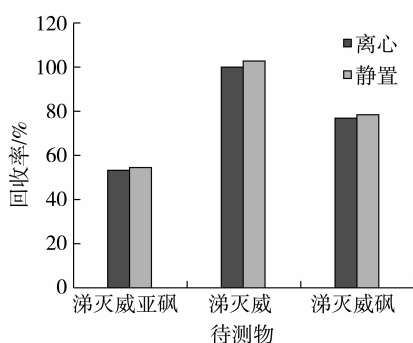


图3 不同后处理方式对回收率的影响

2.2 仪器条件优化

2.2.1 质谱条件的优化

选择ESI+作为电离模式,对涕灭威及其代谢

物的母离子、子离子、碰撞能量等参数进行优化。首先采用全扫描(MS2 Scan)的方式进行一级质谱扫描,获取3种化合物的母离子;然后对选取的母离子进行选择离子监测扫描(SIM)、子离子扫描(Product Scan),获取化合物相应的碎裂能量、碰撞能量,确定在做多重反应监测时使用的定量离子和定性离子。通过优化最终得到3种化合物的最佳质谱参数,进而建立3种化合物的多反应监测数据参数,详见表1。

表1 涕灭威及其代谢物的质谱参数

序号	名称	定性离子对 / (m/z)	定量离子对 / (m/z)	碎裂电压 /V	碰撞能量 /eV
1	涕灭威亚砒	207.0/89.3	207.0/132.2	110	14
		207.0/132.2		110	5
2	涕灭威砒	223.0/86.3	223.0/86.3	120	13
		223.0/148.1		120	6
3	涕灭威	213.0/89.3	213.0/89.3	120	16
		213.0/98.3		120	11

2.2.2 色谱条件的优化

取涕灭威及其代谢物的混合标准使用液,进样5 μL,测试了0.1%的甲酸水—甲醇、0.1%的甲酸水—乙腈为流动相时涕灭威及其代谢物有较好的峰形和响应值,发现化合物峰型不好,调整流动相比比例也没有影响;而将甲酸水换成水后,峰形变好,甲醇—水、乙腈—水组合均能实现较好的峰形和响应值。本研究选取了毒性小的甲醇,调节各组分的比例和流速对色谱条件进行优化。结果表明,在流动相流速为0.3 mL/min,甲醇—水梯度洗脱的条件下涕灭威及其代谢物能够达到最佳的峰形和响应值。在优化的质谱、色谱条件下对涕灭威及其代谢物标准品进样,得到总离子流图,见图4,图中峰序号与表1相同。

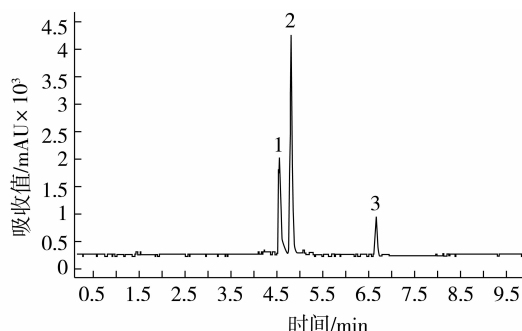


图4 涕灭威及其代谢物标准品总离子流图

2.3 线性范围和相关系数

用花生油空白基质溶液配制 5、10、20、50、100、150 μg/L 的标准溶液,进仪器检测。以浓度为横坐标,定量离子峰面积为纵坐标绘制标准曲线,得到线

性回归方程(见表2)。结果表明,在 5 ~ 150 μg/L 浓度范围内,各化合物与其峰面积呈良好的线性关系,相关系数为 0.991 ~ 0.999。

表2 方法的线性回归方程、相关系数、检出限、定量限以及加标回收率

化合物	线性回归方程	相关系数	检出限/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)	回收率/%		
					10 μg/kg	20 μg/kg	50 μg/kg
涕灭威	$Y = 82\ 385.3 * X + 26.6$	0.999	0.6	1.9	98	103	92
涕灭威亚砷	$Y = 56\ 348.8 * X + 222.7$	0.991	1.7	5.6	62	65	70
涕灭威砷	$Y = 71\ 012.1 * X + 50.9$	0.998	1.8	5.8	79	82	83

2.4 检出限、定量限与回收率

称取 5.00 g(精确到 0.01 g)空白试样(使用前已经检测确认不含待测物),在 10、20 和 50 μg/kg 三个浓度水平下按照所建立的方法进行加标回收实验,每个添加水平进行 6 次平行测定。根据称样量和溶液体积,以 3 倍信噪比确定方法的检出限,以 10 倍信噪比确定方法的定量限,方法的平均回收率为 62% ~ 103%,结果详见表 2。

3 结论

以氧化石墨烯作为分散固相萃取吸附剂,建立了氧化石墨烯固相萃取—液相色谱串联质谱法检测花生油中涕灭威、涕灭威砷、涕灭威亚砷残留的方法。对影响检测的分散固相萃取的条件,如氧化石墨烯用量、分散固相萃取时间、后处理方式以及液相、质谱等仪器条件进行了优化,方法具有良好的线性关系,回收率高,检出限和定量限均能满足检测需要,适用于花生油中涕灭威及其代谢物残留的检测。

参考文献:

[1] GB 2763—2014, 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量 [S].
 [2] 达晶,王钢力,曹进,张庆生. QuEChERS - 液相色谱—串联质谱法测定植物性食品中 30 种氨基甲酸酯类农药残留[J]. 色谱, 2015, 33(8): 830 - 837.

[3] 左海根,伍彩花,罗晓洪,等. 高效液相色谱—串联质谱法测定生姜中涕灭威及其代谢物的残留量[J]. 理化检验(化学分册), 2012, 48(8): 909 - 911, 914.
 [4] 陈冬东,侯士聪,代汉慧,等. 固相萃取/高效液相色谱—串联质谱法测定食品中涕灭威及其代谢产物涕灭威亚砷与涕灭威砷残留量[J]. 分析测试学报, 2011, 30(12): 1367 - 1371.
 [5] 王敬,陈瑞春,郭春海,窦彩云. 液相色谱—串联质谱法测定植物源性食品中 16 种氨基甲酸酯类农药及其代谢物[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 4(5): 1458 - 1466.
 [6] SN/T 2441—2010, 进出口食品中涕灭威、涕灭威砷、涕灭威亚砷残留量检测方法 液相色谱—质谱法[S].
 [7] 王雨莹. 石墨烯固相萃取—原子吸收光谱法在几种痕量金属元素分析中的应用[D]. 河北:河北农业大学, 2013.
 [8] 龚强,丁利,肖家勇,等. 石墨烯固相萃取—液相色谱—质谱联用法测定食品接触材料中 9 种双酚—二环氧甘油醚的迁移量[J]. 食品与生物技术学报, 2014, 33(12): 1264 - 1271.
 [9] 王玲玲,余晟,余萌. 石墨烯固相萃取测定水中稠环芳烃[J]. 化学通报, 2012, 75(7): 648 - 652.
 [10] 余晟,黄克靖,余萌,韦彩云,固相萃取—高效液相色谱法同时检测水样中戊唑醇、乙霉威、啉菌唑、精甲霜灵和扑草净 5 种农药残留[J]. 分析化学, 2012, 40(7): 1065 - 1070.
 [11] 王欢,吕莎莎,魏丹毅,等. 基于改性石墨烯固相萃取—液相色谱法测定联苯菊酯[J]. 环境化学, 2014, 33(11): 1986 - 1993.