

DOI: 10.3724/SP.J.1096.2010.00453

微量果汁中痕量乐果的快速质谱检测

王 姜¹ 杨水平¹ 鄢飞燕¹ 刘 艳² 李明¹
宋宇航¹ 占叶兵¹ 陈焕文^{*1}

¹(东华理工大学应用化学系, 抚州 344000) ²(北京市理化分析测试中心, 北京 100089)

摘 要 利用自行研制的纳升级微量取样器,建立了在无需样品预处理的前提下,对纳升级的市售果汁中痕量残留农药乐果进行快速分析的表面解吸常压化学电离质谱方法。实验结果表明,微量取样器的最小取样量为 0.11 nL,果汁样品中的乐果在 0.0010 ~ 10.0 mg/kg 浓度范围内线性关系较好,相关系数为 0.988,回收率为 80.5% ~ 120.6%,相对标准偏差为 8.4% ~ 17.2%,检出限可达 1.2×10^{-11} mg/kg。

关键词 纳升; 表面解吸常压化学电离; 质谱; 乐果; 果汁

1 引 言

有机磷农药是应用最为广泛的一类高效杀虫剂,但其残留对食品安全和人体健康存在较大的威胁。为此,世界各国不断加强对食品中农药残留的监控力度^[1~5]。现有的农药残留检测方法如液相色谱质谱法^[6]、气相色谱质谱法^[7,8]、液液微萃取色谱法^[9]等,都需要复杂的预处理过程,具有分析时间长、操作复杂^[4,9]等缺点。质谱分析方法具有灵敏度高、定性分析准确等优点,被认为是最有前景的农药残留检测方法^[10]。开发能够在无需样品预处理条件下,对实际样品中痕量农残进行快速分析的质谱方法具有重要意义。

采用微流控技术能够对微升以上的样品进行处理,制备成合适的液体样品后可以实现皮升级样品的质谱分析^[11]。对于一些非均相样品(如果汁、菜汤、粥等),目前尚难以采用微流控技术对微升级样品进行预处理。显然,建立对纳升复杂基体样品的快速质谱分析技术具有现实意义,不但可以将样品消耗量降低到纳升水平,显著降低样品的耗量,而且可望用于活体生物组织的取样(减小对生物体的损伤)和微量复杂珍稀样品的快速分析。为此,本实验自行研制了复杂样品的微量取样装置,并结合表面解吸常压化学电离质谱能够在无需样品预处理条件对复杂基体样品进行直接分析的特点^[12~18],以含有大量果粒残渣的市售果汁为代表性对象,建立了纳升取样表面解吸常压化学电离质谱(Nano-SDAPCI-MS)检测果汁中乐果农药残留的方法,应用于果汁中痕量乐果的快速检测,结果满意。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

纳升取样器:自制的纳升取样器由取样针和可伸缩外壳组成(图 1a)。取样针采用 15 cm 长不锈钢针为基本材料,将其前端在 1 mol/L HCl 中浸泡 0.5 h 后即可获得纤细的尖端,其直径在微米级后即可停止腐蚀,对其表面用蒸馏水和甲醇进行反复清洗后即可进行使用。针尖直径为 0.08 mm,由于制备的针尖非常脆,需避免针尖与硬物磕碰。可调节的伸缩外壳由聚四氟乙烯材料加工而成,既方便取样针探出取样,又保护取样针。取样时将取样针探出外壳约 1 ~ 2 mm,调节其延展长度可以调节取样量;针尖

2010-01-28 收稿;2010-03-04 接受

本文系中国创新方法基金(No. 2008IM040400)和江西省教育厅科技项目(No. GJJ10504)资助

* E-mail: chw8868@gmail.com

划过果汁样品表面蘸取样品,与样品接触的时间约 0.5 s;然后直接放置在表面解吸常压化学电离源下进行检测。

SDAPCI 离子源:实验室自制^[12-18]。LTQ-XL 线性离子阱质谱仪(美国 Finnigan 公司),配有 Xcalibur 数据处理系统。

乐果(乳油 40%,市售),使用时配制成有效浓度 1.0 mg/mL 水溶液备用;实验用多种果汁均购自当地超市,使用前无需进行纤维分离、萃取等预处理。

2.2 实验方法

设置 SDAPCI 离子源为正离子模式,质量范围 50 ~ 400 Da,电离电压 3.5 kV,离子传输管温度为 200 °C。离子源放电针与水平面夹角 α 为 30°。放电针针尖与质谱进样口水平;进样时,为保证取样器的尖端上的痕量样品能够直接进行表面解吸化学电离,将取样器针尖垂直放置(图 1b),并仔细调节其高度到合适位置。实验中,二级质谱母离子隔离宽度为 1.4 Da,碰撞能量为 20%。其它条件系统自动优化。

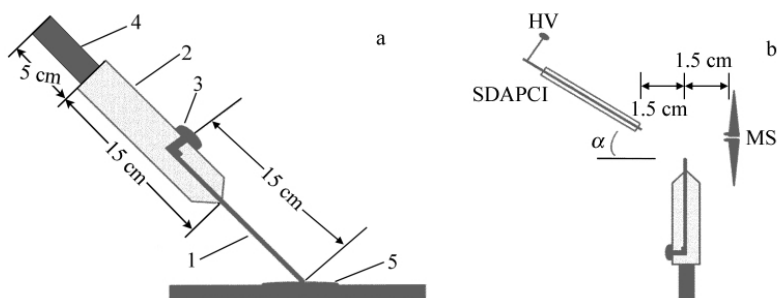


图 1 痕量复杂基体样品的快速表面解吸常压化学电离质谱原理图

Fig. 1 Rapid analysis of nano liter of heterogeneous juice sample by desorption atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry (SDAPCI-MS)

a. 纳升取样器装置 (Schematic illustration of homemade nanoliter sampler): 1. 取样针 (Stainless steel needle); 2. 塑料外壳 (Teflon shell); 3. 取样针伸缩调节手柄 (Adjustor for needle); 4. 手持绝缘手柄 (Teflon handle); 5. 样品 (Sample); b: SDAPCI 检测痕量农残装置 (Schematic diagram of SDAPCI source for rapid analysis of juice samples on the tip of sampler)。

3 结果与讨论

3.1 取样量的确定

为了比较精确的确定取样器最小取样量,用 ESI-MS 测定 1×10^{-7} , 1×10^{-8} , 1×10^{-9} , 1×10^{-10} , 1×10^{-11} 和 1×10^{-12} g/mL 精氨酸标准水溶液,通过精氨酸在 ESI 正离子模式下形成 $[M + H]^+$ 的分子离子 (m/z 175) 二级质谱碎片 m/z 116 的信号强度制作工作曲线,离子强度 (y) 与浓度 (x) 具有较好的线性关系。线性回归方程为 $y = 8 \times 10^8 x$ (g/L) + 9.12, 相关系数 $R = 0.993$ 。取 5 mL 果汁,配制成的 0.10 g/L 精氨酸含果汁溶液。取一干燥果汁瓶盖,倒入少量果汁,再将瓶盖中果汁倒出,使瓶盖表面留有一层精氨酸果汁溶液的液膜。瓶盖内侧边缘残余的滴状果汁用吸水纸吸去,使液膜更加均一。用取样器在液膜上取样 20 次,每次取样后均都在同一 2 mL 二次水中涮洗。测定涮洗取样针的 2 mL 二次水中精氨酸的二级碎片离子 m/z 116 的信号强度为 96.4,对应的浓度为 1.09×10^{-7} g/mL。按照上述方法,测定没有添加精氨酸的果汁,未测出果汁中含有精氨酸。因此,根据 $V = c \cdot m$ (c 为溶液的浓度, m 为溶液中溶质质量),得 20 次取样精氨酸质量 (m_1) 为 $m_1 = C \cdot V = 1.09 \times 10^{-7}$ mg/mL \times 2 mL = 2.182×10^{-7} , 则 20 次取样的精氨酸果汁溶液的体积 (V_1) 为 $V_1 = m_1 / c_1 = 2.182 \times 10^{-7}$ mg / (0.1 g mg/mL) = 2.18×10^{-6} mL, c_1 为精氨酸果汁溶液的浓度。则每次取样体积 (V) 为 $V = V_1 / 20 = 1.09 \times 10^{-7}$ mL, 即 0.11 nL。

由于取样量与取样针针尖的直径、样品液膜的厚度、液体粘稠度有关。所以当取样针足够细,样品液膜足够薄的时候取样量会更小。

3.2 乐果的 SDAPCI 串联质谱分析

在复杂样品中痕量物质分析中,一般通过串联质谱排除假阳性^[12,13]。因此,先用取样器取乐果水

溶液进行实验,研究在实验条件下乐果的信号及其分裂模式。乐果在 SDAPCI 正离子模式下易形成 $[M + H]^+$ 的分子离子,因而在质谱中获得较强的信号峰(m/z 230)(图 2a)。选择 m/z 230 分子离子峰进行二级质谱研究,主要特征离子 m/z 199 和 182(图 2a 插图),是母离子分别丢失 CH_3NH_2 和 CH_3SH 所致。另外,在二级质谱碎片离子 m/z 199 的三级质谱中,可产生 m/z 125 和 143 的碎片离子,分别为母离子 m/z 199 进一步丢失 CH_3 , OCH_3 及 $2CH_2$ 所致。为了确保实验结果的可靠性,实验还采用了 ESI-MS 方法对乐果进行了 MS/MS 谱对照分析(图略),结果发现,乐果 SDAPCI-MS/MS 谱图与 ESI-MS/MS 谱图完全吻合。因此,如果在实际样品中能够检测到信号峰 m/z 230,并且在 MS/MS 谱中观察到主要特征离子 m/z 199(基峰)和 182,则可以判断该样品中含有乐果。

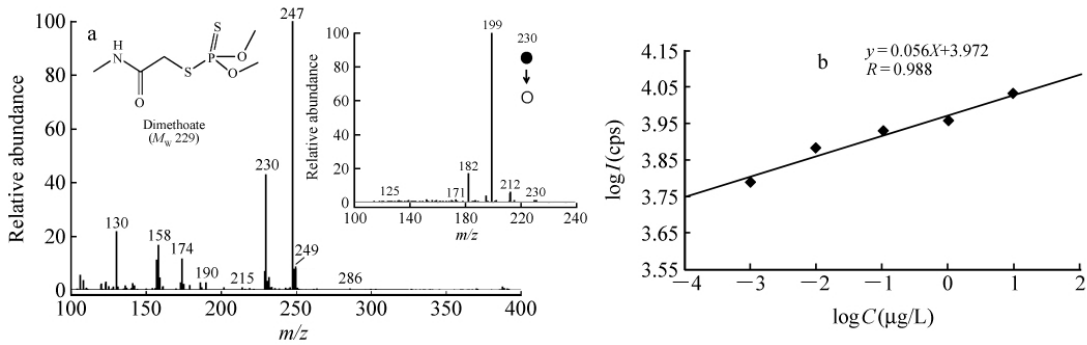


图 2 乐果标准样品质谱图(a)及其工作曲线(b) 插图为 m/z 230 的二级质谱图

Fig. 2 SDAPCI mass spectra of dimethoate in juice samples (a) and calibration curve of dimethoate (b), Inset: characteristic fragments obtained from MS/MS spectrum

3.3 线性范围和检出限

配制浓度为 0.10, 1.0, 10.0, 100 和 1000 mg/kg 的乐果标准溶液,分别取 100 μ L 加入 10 mL 农夫果园(不含乐果)饮料中,配制成含 0.0010, 0.010, 0.10, 1.0 和 10.0 mg/kg 乐果的果汁溶液,按前述实验方法进行 SDAPCI-MS 实验。将二级质谱中获得的信号扣除背景后以 m/z 199 的净响应信号强度表示,每个浓度的标准样品测定 6 次,测定净响应信号强度平均值及相应相对标准偏差(括号内)依次为:6166(19.1%), 7512(25.7%), 8359(14.0%), 9030(9.0%), 10817(26.9%)。信号强度与样品浓度分别取对数,绘制工作曲线,结果如图 2b 所示。在 0.0010 ~ 10.0 mg/kg 范围内,离子强度的对数(y)与浓度的对数(x)具有较好的线性关系。线性回归方程为 $y = 0.056x + 3.972$ 相关系数 $r = 0.988$ 。

对空白样品进行测定,获得扣除背景后净响应信号强度为 1156.5 ($S/N \geq 3$, $n = 20$) 并测得空白样品的 3 倍标准偏差为 1109.4。根据公式 $x = (y + 3\sigma - a) / b$ (σ 为空白样品标准偏差, y 为空白样品净相应信号强度, a 为工作曲线截距, b 为工作曲线斜率)^[19],进行变换得: $\log x = -[a' - \log(y + 3\sigma)] / b'$ (a' 为本实验工作曲线截距, b' 为本实验工作曲线斜率),计算得本方法对乐果检出限为 1.2×10^{-11} mg/kg。

3.4 实际样品分析

采用本方法对 5 种市售果汁饮品进行测定,通过二级质谱鉴定排除假阳性,所检测果汁样品中均未检出乐果。取 5 种果汁各 10 mL,分别向其中添加 50 mg/kg 乐果标准溶液 50 μ L,配得含 0.25 mg/kg 乐果的果汁溶液,进行测定,获得的除了乐果信号 m/z 230 外,谱图中有大量的高强度基体信号(图 3)。这可能是因为这些果汁中都有较多絮状或颗粒状果肉成分,果汁粘稠,成分复杂,导致常用检测方法难以对如此复杂基体的样品进行快速测定。每个样品测定 6 次,每个样品在 20 s 内获得了检测

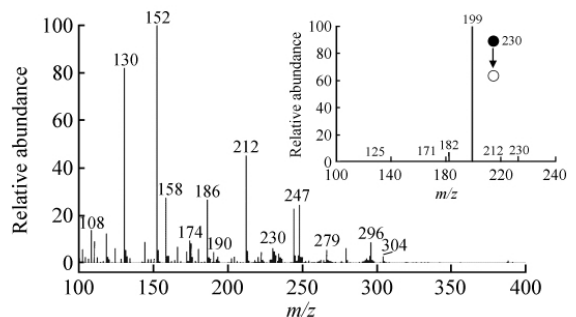


图 3 乐果果汁溶液 SDAPCI 质谱图,插图为 m/z 230 的二级质谱图

Fig. 3 Mass spectra of dimethoate in juice samples recorded using SDAPCI-MS, Inset: characteristic fragments of ions of m/z 230

结果。

回收实验时,在 9 份 10 mL 果汁样品中,先分别加入 50 mg/kg 乐果标准溶液 50 μ L,然后 3 份加入 100 μ L 水,6 份分别加入 100 μ L 10.0 mg/kg 和 50.0 mg/kg (各 3 份)乐果的标准溶液,按照实验方法进行测定。获得样品中乐果含量为 0.21 mg/kg ($n = 6$),加标回收率为 80.5% ~ 120.6%,见表 1。5 种添加乐果的果汁中乐果信号强度的相对标准偏差 (RSD) 在 8.4% ~ 17.2% 之间。相对偏差较大的原因可能是手动进样时的不稳定性和取样量的不精确造成的,如果采用自动进样则可能克服此问题。实验结果表明,本方法在进行低含量物质的快速质谱分析方面具有优势,方法灵敏、快捷,取样简单,样品耗量少,在微量复杂基体样品的快速分析方面具有较好的发展前景。

表 1 实际样品测定的回收率

Table 1 Recovery for rapid analysis of actual juice samples

样品编号 Sample	加标量 Amounts spiked (mg/kg)	测得总量 Amounts found (mg/kg)	回收率 Recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%)
1	0.10	0.31	95.3	8.4
2	0.10	0.29	80.5	10.2
3	0.10	0.32	110.9	17.2
4	0.50	0.67	91.5	11.4
5	0.50	0.74	106.7	10.3
6	0.50	0.81	120.6	15.2

References

- Sconacher H B, Mes J. *Food Addit. Contam.*, **1993**, 10(1): 5 ~ 11
- Fernandez-Alba A R, Garcia-Reyes J F. *Anal. Chem.*, **2008**, 27(11): 973 ~ 990
- Martinez Vidal J L, Arrebola F J, Mateu-Sanchez M. *J. Chromatogr. A*, **2002**, 959(1-2): 203 ~ 213
- ZHONG Wei-Ke(仲维科), HAO Jian(郝戡), FAN Yao-Bo(樊耀波), WANG Min-Jian(王敏健). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2000**, 28(7): 904 ~ 910
- WU Yan(吴岩), KANG Qing-He(康庆贺), GAO Kai-Yang(高凯扬), LI Zhibin(李志斌). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2009**, 37(5): 753 ~ 757
- Venkateswarlu P, Mohan K R, Ravi Kumar Ch, Seshaiiah K. *Food Chem.*, **2007**, 105(4): 1760 ~ 1766
- SHEN Wei-Jian(沈伟健), XU Jin-Zhong(徐锦忠), ZHAO Zeng-Yun(赵增运), Ding Tao(丁涛), JIANG Yuan(蒋原), CHU Xiao-Gang(储晓刚), SHEN Chong-Yu(沈崇钰). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2008**, 36(5): 663 ~ 667
- Silva M G D, Aquino A, Dorea H S, Navickiene S. *Talanta*, **2008**, 76(3): 680 ~ 684
- Lambropoulou D A, Albanis T A. *J. Biochem. Biophys. Methods*, **2007**, 70(2): 195 ~ 228
- CHAI Li-Yue(柴丽月), CHANG Wei-Min(常卫民), CHEN Shu-Bing(陈树兵), HU Qiu-Hui(胡秋辉). *Food Science* (食品科学), **2006**, 27(07): 260 ~ 264
- Kelly R T, Page J S, Marginean I, Tang K Q, Smith R D. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, 48(37): 6832 ~ 6835
- Chen H, Zheng J, Zhang X, Luo M, Wang Z, Qiao X. *J. Mass Spectrom.*, **2007**, 42(8): 1045 ~ 1056
- CHEN Huan-Wen(陈焕文), LAI Jin-Hu(赖劲虎), ZHOU Yu-Fen(周瑜芬), LI Jian-Qiang(李建强), ZHANG Xie(张燮), LUO Ming-Biao(罗明标), WANG Zhi-Chang(王志畅). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2007**, 35(8): 1233 ~ 1235
- Chen H, Liang H, Ding J, Lai J, Huan Y, Qiao X. *J. Agric. Food Chem.*, **2007**, 55(125): 10093 ~ 10100
- Yang S, Ding J, Zheng J, Hu B, Li J, Chen H, Zhou Z, Qiao X. *Anal. Chem.*, **2009**, 81(7): 2426 ~ 2436
- YANG Shui-Ping(杨水平), CHEN Huan-Wen(陈焕文), YANG Yu-Ling(杨宇玲), HU Bin(胡斌), ZHANG Xie(张燮), ZHOU Yu-Fen(周瑜芬), ZHANG Li-Li(张丽丽), GU Hai-Wei(顾海威). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2009**, 37(3): 315 ~ 318
- YANG Shui-Ping(杨水平), HU Bin(胡斌), LI Jian-Qiang(李建强), HAN Jing(韩京), ZHANG Xie(张燮), CHEN Huan-Wen(陈焕文), LIU Qing(刘清), LIU Qing-Jun(刘清珺), ZHENG Jian(郑建). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2009**, 37(5): 691 ~ 694
- Wu Z, Chen H, Wang W, Jia B, Yang T, Zhao Z, Ding J, Xiao X. *J. Agric. Food Chem.*, **2009**, 57(20): 9356 ~ 9364
- Hibbert D B, Gooding J J. *Data Analysis for Chemistry*. New York: Oxford University Press, **2006**: 155 ~ 161

Rapid Determination of Dimethoate in Nanoliter of Juice Using Surface Desorption Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry

WANG Jiang¹, YANG Shui-Ping¹, YAN Fei-Yan¹, LIU Yan², LI Ming¹,
SONG Yu-Hang¹, ZHAN Ye-Bing¹, CHEN Huan-Wen^{*1}

¹ (College of Chemistry, Biology and Material Science, East China Institute of Technology, Fuzhou 344000)

² (Beijing Center for Physical and Chemical Analysis, Beijing 100089)

Abstract A method based on a nanoliter level sampling technique and desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry (SDAPCI-MS) was developed for the rapid detection of trace dimethoate in juice without sample pretreatment. The precise sampling of untreated commercial juice samples was performed by using a homemade nanoliter sampler (diameter of 80 μm), which was made from a stainless steel needle. The minimum sampling volume was 0.11 nL. A good linearity of dimethoate signals was obtained in a range of 0.001 – 10.0 mg/kg with the correlation coefficient (R) of 0.988. The recoveries of real sample analysis were 80.5% – 120.6%. The detection limit of dimethoate was 1.2×10^{-11} mg/kg for the juice sample.

Keywords Nano level; Surface desorption atmospheric pressure chemical ionization; Mass spectrometry; Dimethoate; Juice

(Received 28 January 2010; accepted 4 March 2010)

全国生物医药色谱学术交流会(2010)征文

由中国化学会色谱专业委员会和北京理化分析测试技术学会北京色谱学会主办的“全国生物医药色谱学术交流会(2010)”定于2010年5月7~11日在景德镇市召开。

会议将就色谱技术在生命科学、生物技术、药物、环境、食品安全等领域的分离、分析和质量控制等方面的发展和應用进行学术研讨,热诚欢迎全国从事生物医药色谱工作的科技人员及相关企业与会交流。

论文摘要请于2010年3月31日前向本会网站投稿。会议的部分征文将以全文在《化学通报》发表,请有意发表全文的作者,除向网站投递摘要外,按照《化学通报》的格式准备好全文文稿,于2010年3月31日前用电子邮件发送到会议学术组。

欢迎国内外分析仪器公司和厂商到会介绍和展出产品,具体事宜请与会务组联系。

会议网站: <http://www.cbmcn.org> (2010年二月初启用)

学术组联系人: 赵睿, 010-62557910, Email: zhaorui@iccas.ac.cn; 中国科学院化学研究所, 北京中关村北一街2号 邮编 100190

会务组联系人: 于靖琦, 010-68731259, 桂三刚, 010-88417672, 传真: 010-68471169, Email: VIP001@21cn.com; 北京理化分析测试技术学会, 北京海淀区西三环北路27号, 邮编 100089