

气相色谱负化学电离质谱法在污染物残留分析中的应用

摘要：本文简要介绍了气相色谱负化学电离质谱法的原理和特点，详细综述了此类方法在农药和环境污染物残留分析中的应用，为此类化合物的分析提供指导。

关键词：负化学电离，农药，环境污染物，残留分析，气相色谱质谱联用

近年来，随着社会公众对食品安全和环境污染问题的日益重视，食品和环境中的污染物残留已成为世界各国共同关注的热点问题。在此类污染物残留检测中，气相色谱质谱法已经成为一种必不可少的技术。目前，气质联用法中最常用的电离方式是电子轰击电离(Electron Impact, EI)，由灯丝产生的热电子直接轰击样品分子，这使得一些化合物的分子离子峰信号变弱，甚至检测不到。为了解决此类问题，Munson 和 Field^[1] 于 1966 年提出化学电离(Chemical Ionization, CI)技术，相对于 EI，CI 是一种软电离，一般生成 $[M+H]^+$ 或 $[M-H]^-$ 等准分子离子峰。按照化学反应的类型，CI 可以分为正化学电离(Positive Chemical Ionization, PCI)和负化学电离(Negative Chemical Ionization, NCI)，PCI 发生的分子-离子反应主要包括质子转移反应、电荷交换反应、亲电加成反应；NCI 发生的分子-离子反应主要有电子捕获反应、负离子加成反应等。多年以来，CI 技术在诸多研究领域都得到了广泛应用，其中 NCI 技术以其对含有强电负性原子的化合物具有高选择性和高灵敏度而发挥了巨大的作用。本文将对气相色谱负化学电离质谱法(GC-NCI-MS)的原理特点以及其在污染物残留分析中的应用进行介绍。

1. NCI-MS 的原理和特点

负化学电离是指在电离过程中，通过引入大量的反应气(CH_4 , $i-C_4H_{10}$, NH_3 , CH_3OH 等)，使样品分子与灯丝产生的电子不直接作用，而是反应气分子与电子发生碰撞后，产生热电子，样品分子捕获热电子产生负离子，从而使样品分子实现电离。其中又根据捕获热电子的能量不同，分为共振捕获(resonance capture)：样品捕获 0 eV 的热电子产生分子离子；裂解捕获(dissociative capture)：样品捕获 0-5eV 的热电子产生碎片离子。在 NCI-MS 中，反应气 CH_4 和 $i-C_4H_{10}$ 的作用为降低电子的能量，产生热电子，因此又称之为缓冲气(moderating gas)。NCI 发生的分子-离子反应主要有电子捕获反应、负离子加成反应等。^[2-3]

作者

张新忠, 马晓东, 李重九
(中国农业大学理学院应用化学系, 北京, 100193)

在污染物残留分析方面,样品基质中一般含有各种各样的杂质,如脂肪、色素等,会对污染物的检测存在较大干扰。由于 NCI 具有对强电负性的物质的高选择性和高灵敏度,对很多杂质没有响应,而对待测化合物有较高的灵敏度,从而避免了杂质的干扰,从而可以简化样品的前处理过程。

2. NCI-MS 在污染物残留分析中的应用

随着人们对环境和食品安全的关注,越来越多的化合物出现在食品和环境安全污染物监控名单中,其中最常见化合物种类包括有机磷类农药、卤素类化合物(含氟、氯、溴类农药及环境污染物)等。多年以来,国内外研究人员在负化学电离质谱方面进行了大量的研究,下面将详细介绍负化学电离质谱法在各类主要污染物残留分析中的应用。

2.1 有机磷类农药

有机磷类农药作为世界范围内曾广泛使用的一类农药,长期以来,在食品和环境监控中受到较多的关注。孙秀燕^[4]研究发现,对于有机磷类农药,在 CI 中采用 CH₄ 为反应气,除对硫磷、杀螟硫磷、三唑磷和甲基对硫磷以外,乐果、毒死蜱、甲拌磷、磷胺、马拉硫磷、敌敌畏和氧乐果在 NCI-MS 中几乎见不到准分子离子峰,主要产生碎片离子或分子离子。王素娟^[3]研究中表明有机磷农药在 NCI-MS 中主要产生磷酸酯基负离子,不同的取代基可产生相应的质量位移;某些有苯环与磷酸酯相连的农药,其分子离子峰也较强,如对硫磷、杀螟硫磷等,均有明显的分子离子峰;邻对位有吸电基团取代的芳香硫代磷酸酯还可以发生重排反应,产生重排离子,如杀螟硫磷产生 m/z 168,毒死蜱产生 m/z 214,对硫磷和甲基对硫磷产生 m/z 154。

意大利的 Luca Amendola^[5]等人研究了不同的 NCI-MS 离子化条件下,如不同的反应气(CH₄, i-C₄H₁₀,NH₃,含不同浓度 NH₃ 的 CH₄)、不同的源温度、不同的电子能量以及反应气的气压强度等,对 19 种有机磷农药的质谱裂解谱图的影响,结果表明相对于 CH₄ 和 i-C₄H₁₀,NH₃ 作为反应气能更好的降低背景噪音,19 种有机磷化合物的 LOD 均小于 1μg/L。Mario Vincenzo Russo^[6]等人采用乙酸乙酯提取,凝胶渗透色谱净化,气相色谱负化学电离质谱选择离子模式测定了不同人体器官组织(包括肝脏,健康的肾,癌变的肾和脂肪组织)中的 37 种有机磷农药残留。在 NCI-MS 中,采用 CH₄ 作为反应气,有机磷农药的特征碎片离子取决于化合物的类型,不同结构的化合物亦有相同的最特征的碎片离子,如乙硫磷、氟杀磷、三硫磷、特丁硫磷、乙拌磷、anziphos-ethyl、甲拌磷均有碎片离子 m/z185,对应结构为[(C₂H₅O)₂PS₂]⁻;马拉硫磷、杀扑磷、甲基三硫磷、乐果和保棉磷均有碎片离子 m/z157,对应结构为[(CH₃O)₂PS₂]⁻;氧甲拌磷、二嗪农均有碎片离子 m/z169,对应结构为[(C₂H₅O)₂PSO]⁻;氧化乐果和倍硫磷均有碎片离子 m/z141,对应结构为[(CH₃O)₂PSO]⁻。这些离子都是有机磷农药在 GC-NCI-MS 分析时的特征离子,结合保留时间数据来定性。对于有些有机磷类化合物,分子离子[M]⁻为基峰,如对硫磷组(甲基对氧磷、甲基对硫磷、乙基对氧磷、杀螟硫磷和乙基对硫磷)和含有芳香环的有机磷农药(苯硫磷、氧化蝇毒磷类似物和蝇毒磷,但是氯代的有机磷农药除外)。这归因于在 NCI 条件下,分子中存在芳香环时,[M]⁻会非常稳定,当分子中有硝基存在时甚至更重要。在 NCI-MS 分析时,氯代有机磷农药会产生丢失氯([M-HCl])的高强度峰或者基峰,如毒死蜱和乙基溴硫磷。而一些含苯氧基团的硫代磷酸酯如甲基对硫磷、乙基对硫磷、杀螟硫磷、苯硫磷和蝇毒磷,在离子化过程中芳环上的氧原子与分子中硫原子位置互换,裂解形成了含苯硫结构的碎片[X-Ar-S]⁻如 m/z168(杀螟硫磷)、m/z225(蝇毒磷)和 m/z154(甲基对硫磷、苯硫磷和乙基对硫磷)。以上这些规律跟孙秀燕的研究结果相一致。此方法回收率介于 60%到 106%之间,标准偏差在±2 到±10 之间,在 1.0–500 pg/μL 浓度范围内,标准曲线 r²≥0.9878,峰面积重复性 RSD≤4.8%。方法的最低检出限在 0.01 到 0.09ng/g 之间,RSD≤9.5%。在对实际病人的器官组织测定时发现,没有进行病理学处理时,有机磷农药浓度最高为肝脏样品中在浓度在 0.4–28.0ng/g 之间,最低的浓度在健康肾样品中为 0.01–1.50 ng/g,在癌变的肾样品中有机磷农药的浓度比在健康肾中高约 1–2 倍,在 0.03–4.6 ng/g 之间。由此可见 GC-NCI-MS 可用于有机磷农药残留分析中,并且有很好的检测限。

2.2 含卤素类化合物

在环境污染物中,含卤素的有机化合物占很大比例,这类化合物对人和动物的生存环境存在巨大威胁。根据所含卤素原子不同,分为含氯化物(如有机氯类农药、多氯联苯、氯代菊酯等)、含溴化合物(如多溴联苯醚)以及含氟类化合物,其电负性为氟>氯>溴。

目前, 对于此类化合物的检测多采用电子捕获检测器 (ECD), 但是随着分析家们对 NCI-MS 的认识逐渐加深, NCI-MS 越来越多地用于各类基质中此类化合物的残留分析。

含氯有机化合物

不同的有机氯农药在不同的实验条件下, 所产生的 NCI-MS 质谱图差异较大。王素娟^[3]研究发现在 NCI-MS 下, 烷烃有机氯农药 (HCHs、DDTs、氯丹类) 的 C-Cl 键易于断裂, 其特征离子为 $m/z35(\text{Cl}^-)$ 和 $m/z71(\text{HCl}_2^-)$, 而高质量区的离子相对丰度较小; 芳香有机氯农药的 C-Cl 键较稳定, 其特征离子为丢失其它取代基 (如 NO 、 NO_2 、 CH_3 等) 产生的碎片; 而在 PCI-MS 方式下, 烷烃有机氯农药检测限较高, 不适合残留分析。

六氯苯中含有六个强电负性的氯原子, 卢彦^[7]采用 GC-NCI-MS 技术对出口农药毒莠定中的六氯苯 (HCB) 残留进行检测, 选择 CH_4 作为反应气, 选择性离子 $m/z283$ 、 $m/z285$ 、 $m/z287$ 监测, 获得比 GC-EI-MS 技术高 2 个数量级的检测灵敏度, 方法的检测限可达 $0.012\mu\text{g/L}$, 定量下限为 $1\mu\text{g/L}$, 样品加标回收率在 $81.2\%\sim113.8\%$ 之间。

Sadao Nakamura^[8]等采用微液液萃取法对样品进行前处理, 应用气相色谱-质谱大体积进样负化学电离法 (LVI-GC-NCI-MS) 测定河水中 24 种有机氯农药。在不分流-GC-EI-MS、不分流-GC-NCI-MS 和 LVI-GC-NCI-MS 条件下分别对有机氯农药进行测定, 三种方法得到的检测限水平 (信噪比设为 3, 前两种方法进样量为 $1\mu\text{L}$, LVI 进样量为 $100\mu\text{L}$) 分别为 $260\sim26000\text{pg/mL}$ 、 $3.1\sim1700\text{pg/mL}$ 和 $0.017\sim5.6\text{pg/mL}$ 。NCI-MS 对六氯苯、七氯、艾氏剂、异狄氏剂、 β -硫丹、硫丹烟盐和灭蚊灵的灵敏度很高, 约是 EI-MS 条件下的 40 倍, LVI-GC-NCI-MS 方法测定目标化合物的灵敏度比不分流-GC-NCI-MS 方法灵敏度高 80 倍以上。Jasna Dmitrovic^[9]等采用 GC-EI-MS 和 GC-NCI-MS 对比分析了血浆中 25 种多氯联苯 (PCB) 和 15 种有机氯农药, 结果表明采用 GC-NCI-MS 测定时大多数 PCB 的 LOQs 为 0.01ng/mL , 大多数农药的 LOQs 为 0.05ng/mL , 而当这些农药采用 GC-EI-MS 分析时 LOQs 为 0.25ng/mL 或更高。周瑞泽^[10]采用 GC-NCI-MS 测定咖啡中的 8 种有机氯农药, 获得方法检出限为 $0.002\sim0.069\mu\text{g/kg}$, 去除干扰能力大大优于 EI-MS 测定。G.A. Bonwick^[11]等采用 GC-NCI-MS 方法测定水和沉积物中的 α -氯菊酯和 γ -氯菊酯, 结果表明两种化合物的最低检测限为 50fg , 方法不需要进行样品的净化, 回收率分别为 $97.3\pm4.8\%$ 和 $93.9\pm5.3\%$, 此方法成功地应用于污染地区采集的样品测定。这些都表明 GC-NCI-MS 有很好的去除干扰能力。

谢孟峡^[12]采用 BSTFA 衍生化和 GC-NCI-MS 选择离子定量检测鸡肉、猪肉、猪肝、鸭肝等动物组织样品中的氯霉素残留, 发现氯霉素衍生物的 NCI 质谱, 除准分子离子 $[\text{M}-\text{H}]^+$ 同位素峰簇 ($m/z466$ 、 $m/z468$ 、 $m/z470$) 很强外, 其它碎片峰 ($m/z304$ 、 322 、 358 、 360 、 376 、 378) 都相对较弱, 且 304 、 322 两个离子的相对丰度随源温的变化波动较大; $m/z358$ 、 360 两个离子的相对丰度只有 $m/z466$ 的 5% 左右; $m/z376$ 、 378 的相对丰度在 $m/z466$ 的 10%-18% 之间, 特异性较强, 且 $m/z378$ 的丰度是 $m/z376$ 丰度的 70% 左右; 方法对不同基体样品的加标回收率为 $80\%\sim100\%$ 之间; 相对标准偏差小于 20%; 方法的检出限为 $0.1\mu\text{g/kg}$ 。

由此可见, 在有机氯化合物的残留测定上, NCI-MS 比 EI-MS 有更低的检测限, 与 ECD 相比具有定性准确的优点, 同时由于 NCI-MS 能够更好的降低背景干扰, 还可以节省样品前处理。

含溴氟有机化合物

Agustina de la Cal^[13]分别采用加压流体萃取方法和索氏提取固相萃取净化结合 GC-NCI-MS 测定沉积物样品中的 39 种多溴联苯醚 (PBDE), 试验中主要监测 PBDE 电离过程中丢失的 $[\text{Br}]^-$ 的同位素离子对 $m/z79$ 和 $m/z81$, 两种方法的检测限分别为 $1\sim46\text{pg/g}$ 和 $3\sim50\text{pg/g}$ 。金军^[14]等人研究亦发现, 对于溴代数较多的 PBDE 采用 NCI 较之 EI 和 PCI 能更好的离子化, NCI 有非常好的灵敏度和碎片峰, 使用 NCI 源时, BDE209 会产生高丰度的 $[\text{C}_6\text{Br}_5\text{O}]^+$ 分子碎片峰, 其它同族体的分子离子峰和碎片峰 $[(\text{M}-x)(\text{H}-y)\text{Br}]^+$ 的丰度较低, 而溴同位素离子 $m/z79$

和 m/z 81 的丰度相对较高；由此建立了 GC-NCI-MS 法分析环境土壤及底泥样品中多溴联苯醚(PBDEs) 的方法。样品采用索氏提取、多层硅胶柱分离纯化、内标法(对于 BDE28、47、99、100、153、154、183) 及同位素稀释法(对于 BDE209) 定量。上述定量的 8 种 BDE 同族体的方法回收率在 96.7%-138.5%之间, RSD 为 9.1%-22.3 %, BDE28、47、99、100、153、154、183 的仪器检出限在 0.2-0.5pg, BDE209 的检出限为 10pg。

张晟瑞^[15]研究了虫螨腈这种含有电负性强的原子氟、氯和溴的新型杀虫、杀螨剂在茄子和土壤中的残留分析方法, 发现虫螨腈采用 EI 分析时, 基峰为 m/z 59, 是分子离子中的碳氮键断裂而形成 $[\text{CH}_3\text{CH}_2\text{-O=CH}_2]^+$, 其它离子丰度不到基峰的 30%, 采用 m/z 59 检测, 样品中存在干扰; 而采用 NCI-MS 分析时, 图谱中同位素离子簇 m/z 347、 m/z 349 和 m/z 351 丰度比为 3:4:1, 表明其含一个氯原子和一个溴原子, 碎片结构为 $[\text{M-CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3]^+$, 而不像多氯化合物和多溴联苯醚那样 Cl 或 Br 丢失下来生成 $[\text{Cl}]^+$ 或 $[\text{Br}]^+$, 虫螨腈的这组同位素离子特异性强, 丰度高, 能更好的定性定量, 方法的最低检出限为 1ug/kg。

2.3 其他污染物

除有机磷农药、含卤素化合物之外, NCI-MS 在其他污染化合物的残留分析上也有广泛应用。如孙新熙^[16]等采用 GC-NCI-MS 和 GC-EI-MS 分别测定了空气颗粒物中的四种硝基多环芳烃(2-硝基茚、9-硝基蒽、1-硝基茈和 2-硝基萤蒽), 结果表明 GC-NCI-MS 对硝基多环芳烃有较高的选择性和灵敏性, 并且简化了对样品前处理的要求。陈捷^[17]通过用酸水解植物蛋白及酱油样品, 经 Aoisa-HBL 固相萃取柱富集, 正己烷-乙酸乙酯洗脱净化, 七氟丁酰咪唑衍生待测物 3-氯-1, 2-丙二醇(3-MCPD), 衍生物经 GC-NCI-MS 分析, 发现基峰 m/z 213 存在干扰, 故用其他特征离子 m/z 446、482、502 进行选择离子(SIM) 检测, 外标法定量。结果表明 3-MCPD 的定量检测限为 0.5 $\mu\text{g/kg}$, 平均回收率为 92.2%-97.4%, 相对标准偏差为 3.6%-10.9%。对 3-MCPD 衍生物的测定, NCI-MS 要优于 EI-MS。王建华^[18]等建立了牛尿中残留的雌二醇经乙酸缓冲溶液, 酶水解过夜后, 用甲醇-四丁基甲醚作为洗脱液, 固相萃取柱净化, 五氟苯甲酰氯衍生化后的 GC-NCI-MS 检测方法, 选择其特征离子为分子离子 m/z 660 ($[\text{M}]^+$, 雌二醇衍生物的分子量为 660), m/z 450($[\text{M-HCOOC}_6\text{F}_5+\text{H}_2]^+$), m/z 448($[\text{M-HCOOC}_6\text{F}_5]^+$), 方法回收率为 76%-104%, 定量限为 0.25 ng/mL, 测定结果的标准偏差为 2.9%-5.7%, 方法抗干扰能力强, 提高了雌二醇的检测灵敏度。

综上所述, 在农药及环境污染物的残留分析测定上, GC-NCI-MS 不仅提供了相对于 GC-EI-MS 之外的另一种定性确证途径, 同时由于能够更好的降低背景信号, 具有优越的抗干扰能力, 可以简化样品前处理步骤, 在污染物残留测定中能获得更低的检测限, 有定性定量准确度高和灵敏度高的特点。随着残留限量标准制定的更加严格, 对残留分析方法的要求日益提高, GC-NCI-MS 必将在污染物残留分析中会得到更为广泛的应用。