

流动注射-高分辨飞行时间质谱检测 毒饵大米中的氟乙酰胺

顾明松, 胡绪英, 刘 勤, 刘荫棠, 谢剑炜

(北京毒理药理研究所, 北京 100850)

摘要: 采用氨水加热水解氟乙酰胺-流动注射-大气压电喷雾电离-高分辨飞行时间质谱检测氟乙酰胺水解产物氟乙酸负离子。该方法具有离子质量检测误差小(误差 < 1 mD)、专属性强、简便快速、灵敏度高等特点, 可检测氟乙酰胺含量为 $10 \mu\text{g/g}$ 的毒饵大米, 大米空白不产生干扰。讨论了针对氟乙酸负离子检测的仪器参数优化、负离子质量校正物选择、内标选择、氟乙酰胺水解条件和水解率、检测方法的精密度等。对该方法在其它样品中的应用前景做了推测。

关键词: 质谱学; 氟乙酰胺质谱检测; 水解法-流动注射; 毒饵大米; 标定

中图分类号: O 657. 63; S 482. 5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2002) 04-0214-06

氟乙酰胺 (Fluoroacetamide, $\text{FCH}_2\text{CONH}_2$) 是一种剧毒农药, 主要用于杀灭鼠害, 其通过在体内脱胺水解成氟乙酸干扰三羧酸循环而产生毒性。由于氟乙酰胺毒性强、且可产生二次毒性, 我国农业部已明令禁止生产和使用(农业部第 199 号公告)。但由于氟乙酰胺生产工艺简单, 鼠食用后可很快死亡等原因, 仍有一些不法商贩在生产销售, 造成氟乙酰胺等剧毒鼠药在社会上广泛流失, 以致经常发生因投毒或误食而引起的中毒事件, 对人民生命造成极大危害, 也是社会治安的一大隐患。

由于氟乙酰胺具有很强的水溶性、热不稳定性以及不具备特征的可检测官能团, 因而氟乙酰胺的检测一直是个较为棘手的问题, 一般应用气相色谱法进行检测。文献[1]和[2]探讨了应用气相色谱法测定氟乙酰胺。结合应用毛细管^[3, 4]、GDX-102 填充柱^[5]气相色谱法测定鼠药中氟乙酰胺。其它方法有色谱-质谱联用^[6]、柠檬酸法^[7]、化学显色法、薄层色谱法^[8]、衍生化-气相色谱(质谱)法^[9]及 ^{19}F 核磁共振法^[10]。这些方法

各具特点, 但由于专属性差、干扰多, 或者检测时间长、灵敏度差, 目前仍无法满足实际工作需要。

陈锋等^[11]应用气相色谱法测定大隆毒饵中氟乙酰胺, 但采用高分辨飞行时间质谱检测大米毒饵中氟乙酰胺尚未见报道。本工作根据氟乙酰胺在碱性条件下可水解成氟乙酸并且氟乙酸负离子较易电离有利于检测的特点, 以氨水为水解介质, 使氟乙酰胺水解成氟乙酸负离子, 采用流动注射-大气压电喷雾电离-高分辨飞行时间质谱检测氟乙酸负离子。

1 实验部分

1.1 主要仪器

M ICROMASS LCT 高分辨飞行时间质谱仪: 英国 M ICROMASS 公司产品, 配大气压电喷雾离子源; HARVARD PUMP II 注射泵: HARVARD APPARATUS 公司产品; LG10-2 4A 台式离心机: 北京医用离心机厂产品。

1.2 主要试剂

氟乙酰胺(纯度 98%)、氟乙酸钠(纯度

收稿日期: 2002-08-23

作者简介: 顾明松(1959~), 男(汉族), 江苏人, 副研, 分析化学专业

E-mail: gums@nic.bmi.ac.cn



98%); 公安部二所提供; 质量校正用试剂: 丙酸、苯甲酸、苯乙酸、水杨酸、对硝基苯甲酸、对甲苯磺酸、3, 5-二硝基苯甲酸均为分析纯或化学纯; 内标及质量标定标准 5-磺基水杨酸: 分析纯, 北京国华化学试剂厂产品; 氨水: 分析纯, 北京益利精细化学品有限公司产品; 乙腈: 色谱纯, 邯郸四友产品; 亚沸蒸馏水自制。

1.3 实验方法

1.3.1 仪器主要参数

负离子电喷雾电离电压 1 300 V; 流动相为 V (乙腈): V (水) = 4: 1, 流速 60 $\mu\text{L}/\text{min}$; 进样阀定量环体积 2 μL ; 脱溶剂剂气流量 400 L/h; 微通道板检测器 (MCP) 电压 2 700 V; 仪器分辨率 $b_1 > 5\,000$ (在质荷比 m/z 约 500 处); 数据采集为连续方式。

1.3.2 仪器校正

将仪器置于负离子模式下, 用含丙酸、苯甲酸、苯乙酸、水杨酸、对硝基苯甲酸、对甲苯磺酸、3, 5-二硝基苯甲酸各约 1 mg/L 的校正液 V (乙腈): V (水) = 1: 1 以 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速检测校正液中各酸的负离子质量, 根据各酸的负离子理论质量建立校正文件。

1.3.3 质量标定

配制 1 mg/L 5-磺基水杨酸 (负离子质量 216 980 7) 为标定质量, 用以补偿因仪器环境变化造成的质量漂移。

(1) 氟乙酸负离子与 5-磺基水杨酸负离子的面积比线性

配制内标 5-磺基水杨酸 0.50 mg/L, 氟乙酸钠 0.02、0.05、0.10、0.30、1.0、3.0 mg/L 的水溶液, 检测氟乙酸负离子与 5-磺基水杨酸负离子响应面积比。

(2) 氟乙酰胺毒饵大米检测

制备含氟乙酰胺 40、20、10 $\mu\text{g}/\text{g}$ 的毒饵大米各 1.0 g, 空白大米 1.0 g, 各用 1.0 mL 水振荡提取, 与大米分离后的提取液在 4 000 r/min 转速下离心 10 min, 两份样品各取上清液 50.0 μL 于具塞玻璃试管中。一份室温放置; 另一份加入 20 μL 氨水 (25%), 沸水浴加热 10 min, 使氟乙酰胺部分水解成氟乙酸; 两份样品中加入 0.5 μg 内标 5-磺基水杨酸, 于室温放置的样品中加

入 20 μL 氨水 (25%), 用水稀释至 0.50 mL, 通过进样阀进样, 检测 m/z 217 处的 5-磺基水杨酸负离子和 m/z 77 处的氟乙酸负离子。

比较经加热水解和未经加热水解样品的氟乙酸负离子与 5-磺基水杨酸响应信号面积比, 如果有明显增加, 则表明样品中含氟乙酰胺。

2 结果与讨论

2.1 精确质量确定氟乙酸负离子

使用建立的校正文件并以 5-磺基水杨酸为标定质量, 测得氟乙酸负离子质量为 77.004 1 (理论质量为 77.003 9), 误差为 0.2 mD, 结果示于图 1。经元素精确质量组合, 在 ± 10 mD 范围内, 由常见的元素如 C、H、N、O、F、Cl、P、S、Si 等组合, 仅分子式为 $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{S}$ (负离子质量 77.006 1) 的负离子能产生质量干扰, 但因该化合物为醇类, 在本方法的检测条件下不易电离成负离子。根据在 $M + 2$ 处的特征同位素峰可判断是否存在该化合物干扰, 其它化学结构式组合均不是合理分子式, 表明该方法专属性较强。

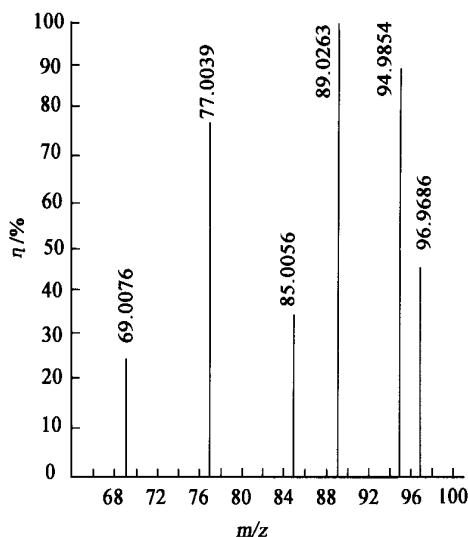


图1 以5-磺基水杨酸为标定质量时检测的氟乙酸负离子精确质量质谱图

Fig 1 Exact spectra of negative ion of fluoroacetic acid

(Negative ion of 5-sulfosalicylic acid 216 980 7 as calibration mass)

2.2 负离子峰面积比的线性

氟乙酸负离子与 5-磺基水杨酸负离子峰面积比与氟乙酸负离子浓度在 0.02~3.0 mg/L 呈良好线性, 线性相关系数 $r=0.999$ 。因此在此浓度范围内可采用同次检测固定仪器参数后单点定量的方法, 这样可以在异次检测间不必按照完全相同的仪器参数, 可较为灵活地调整一些仪器参数以获得较好的检测效果。

2.3 可能产生干扰的物质

由于本方法是采用与样品中氟乙酸负离子本底对照的方式检测氟乙酰胺的, 而氟乙酸负离子在 10% 氨水沸水浴条件下较稳定, 因此样品中的氟乙酸负离子不会产生干扰。但氟乙酸酯如氟乙酸甲酯或氟乙酸乙酯等在加热的碱性条件下可能部分水解产生氟乙酸负离子。

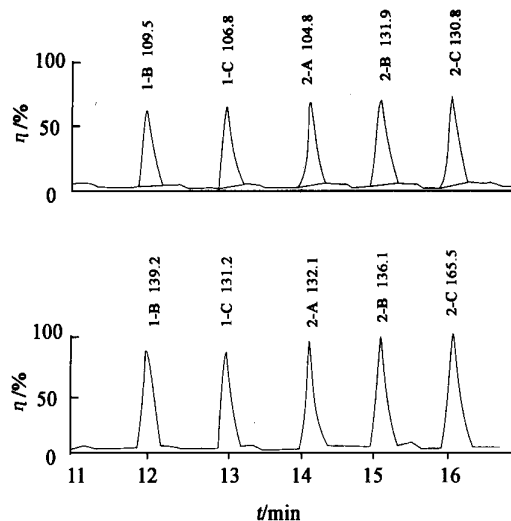


图 2 氟乙酸加热水解的变化

(上为氟乙酸负离子, 下为 5-磺基水杨酸负离子, 前三个峰为未加热, 后三个峰为加热)

Fig 2 Effect of boiling water bath for fluoroacetic acid

(upper——fluoroacetic acid;
below —— 5-sulfosalicylic acid; the first three peaks is formed under ambient condition; the last three peaks is formed in boiling water bath)

经按正态分布小样本容量简化检验, “1 平均”和“2 平均”的面积比是一致的 (显著性水平 0.01)。表明是否加热对氟乙酸负离子没有影响。

2.4 氟乙酰胺的检测

由于酰胺类物质的电喷雾离子化效率较低, 因此氟乙酰胺的检测灵敏度较差。氟乙酰胺在常温下水溶液较为稳定, 但采用浓度较高的氨水 (约 10%) 加热的方式可促使其部分水解并产生氟乙酸负离子。由于氟乙酰胺中多少掺杂一些氟乙酸盐杂质, 经实验表明氟乙酸盐在碱性加热条件下不发生变化, 而氟乙酰胺在 10% 氨水中加热下会部分水解成氟乙酸负离子。

图 2 为氟乙酸钠的 10% 氨水溶液在加热和不加热条件下的选择离子峰, 从图 2 中可见其峰面积基本一致。表 1 为图 2 检测的具体数据和统计结果。

图 3 为氟乙酰胺在约 10% 氨水溶液中加热和不加热条件下的选择离子图, 从图 3 中可见, 经加热后, 由于氟乙酰胺的水解, 氟乙酸负离子峰面积明显增加。

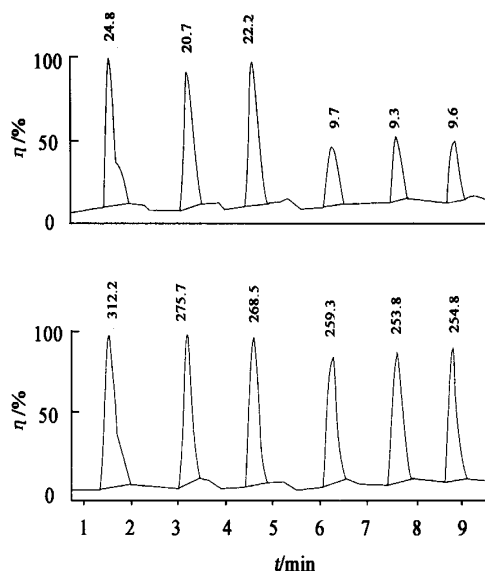


图 3 氟乙酰胺加热水解前后氟乙酸的变化

(上为氟乙酸负离子, 下为 5-磺基水杨酸负离子, 前三个峰为加热水解, 后三个峰为未加热水解)

Fig 3 Effect of boiling water bath on fluoroacetamide

(upper——negative ion of fluoroacetic acid;
below —— negative ion of 5-sulfosalicylic acid;
the first three peaks is formed in boiling water bath; the last three peaks is formed under ambient condition)

表 1 加热水解对氟乙酸负离子检测的影响

Table 1 Effect of boiling water bath on negative ion of fuluoroacetic acid

峰序号 (Peak no.)	$\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$		面积比	加热 (Heating)	Q_B (氨水) /%
	氟乙酸 (Fluroacetic acid)	5-磺基水杨酸 (5-Sulfo salicyic acid)			
1A	1	1	0.78	是	10
1B	1	1	0.82	是	10
1C	1	1	0.87	是	10
1 平均			0.82	是	10
2A	1	1	0.77	否	10
2B	1	1	0.79	否	10
2C	1	1	0.8	否	10
2 平均			0.85	否	10

表 2 加热水解对氟乙酰胺毒饵大米的影响

Table 2 Effect of boiling water bath on rice bait containing fluoroacetamide

样品 (Samples)	$A^{1)}$		$k^{2)}$	$\alpha^{3)}$ $/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	$\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$		样品处理 (Sample preparation)	$n^{4)}$
	氟乙酸 (Fluroacetic acid)	5-磺基水杨酸 (5-Sulfo salicyic acid)			氟乙酸 (Fluroacetic acid)	5-磺基水杨酸 (5-Sulfo salicyic acid)		
A 对照平均	15.60	16.43	0.95	0.0	0.5	1.0	-	3
A 1 平均	1.60	6.25	0.26	40.0	-	1.0	室温放置	4
A 2 平均	8.05	10.88	0.74	40.0	-	1.0	10% 氨水放置	4
A 3 平均	48.93	16.25	3.01	40.0	-	1.0	10% 氨水沸水浴	4
B 对照平均	34.50	65.77	0.52	0.0	0.5	1.0	-	3
B 1 平均	6.85	53.18	0.13	20.0	-	1.0	室温放置	4
B 2 平均	12.05	45.58	0.26	20.0	-	1.0	10% 氨水放置	4
B 3 平均	46.80	46.63	1.01	20.0	-	1.0	10% 氨水沸水浴	4
C 对照平均	27.43	54.03	0.51	0.0	0.5	1.0	-	3
C 1 平均	5.48	63.28	0.09	10.0	-	1.0	室温放置	4
C 2 平均	8.08	57.78	0.14	10.0	-	1.0	10% 氨水放置	4
C 3 平均	14.15	35.08	0.40	10.0	-	1.0	10% 氨水沸水浴	4
D 对照平均	21.97	52.03	0.42	0.0	0.5	1.0	-	3
D 1 平均	0.50	39.08	0.01	空白	-	1.0	室温放置	4
D 2 平均	0.68	49.65	0.01	空白	-	1.0	10% 氨水放置	4
D 3 平均	0.55	32.88	0.02	空白	-	1.0	10% 氨水沸水浴	4

注(Notes): 1)A 为峰面积(A is peak area);
2)k 为峰面积比(k is ratio of peak area);
3) α 为毒饵大米氟乙酰胺含量(α is fluoroacetamide content in rice bait);
4)n 为测量次数(n is measuring times)

从表 2 中的氟乙酸与 5-磺基水杨酸的峰面积比可以看出, 经氨水水解后(加热或室温放置)氟乙酸负离子的浓度明显增加, 加热效果更明显, 而大米空白不干扰检测。

2.5 内标和标定质量化合物的选择

由于本方法使用电喷雾离子化检测有机酸

负离子, 当待测样品中各种离子浓度高时会产生离子化抑制现象, 应选择适当的内标补偿离子化抑制的影响。内标物也应是 小分子有机酸, 且是待测样品中不存在并且没有质量干扰的物质。本方法选择 5-磺基水杨酸为内标和标定质量标准。

2.6 采用流动注射检测氟乙酸负离子

由于采用了高分辨质谱, 半峰高质量分辨率大于 5 000, 可分辨出质荷比差大于 20 mD 的物质, 采用精确质量测定确认是否存在干扰, 可以不经液相色谱预分离直接利用质谱的分辨能力检测, 采用流动注射检测可大大提高工作效率, 一般可在 1 h 内完成从样品预处理到检测全过程(含重复性实验)。

2.7 毒饵大米中氟乙酰胺的检出浓度

表 2 中的结果表明, 毒饵大米中氟乙酰胺含量为 10 $\mu\text{g/g}$ 时, 经加热水解仍可检测到氟乙酸负离子信号的明显增加, 说明本方法至少可检测氟乙酰胺含量为 10 $\mu\text{g/g}$ 的毒饵大米。氟乙酰胺对人的致死量为 100~ 900 mg, 本方法可检测的氟乙酰胺为人致死量的 1/10 (按一次食用 1 kg 计)。

2.8 电离电压的选择

由于本方法检测的是酸根负离子, 较易电离, 因此应选择较低的电离电压以减少其它化合物的干扰和电离抑制现象。实验选择电离电压为 1 300 V, 既可降低总离子信号强度又可使待测物充分电离, 此时电离抑制现象不明显。

2.9 方法精密度

表 3 为同一样品检测 10 次所得结果。结果表明本方法精密度比较好。

表 3 方法检测精密度

Table 3 Repeatability of the method (n= 10)

检测序号 (No.)	峰面积比 (Ratio of peak area)
1	1. 01
2	1. 11
3	1. 05
4	1. 10
5	1. 10
6	1. 13
7	0. 99
8	1. 05
9	1. 17
10	1. 12
平均值(A verage)	1. 08
s(Standard deviation)	$\pm 0. 058$
$S_r/\%$ (Relative standard deviation)	$\pm 5. 36$

2.10 氟乙酰胺水解率

根据检测到的氟乙酸浓度计算得氟乙酰胺水解率, 结果列于表 4。由表 4 可见经加热后氟乙酰胺水解率明显提高, 但由于氨水为弱碱, 氟乙酰胺只是部分水解, 若要提高水解率, 则加热时间更长。氟乙酰胺经氨水加热后的水解率在 30% 左右, 可大致推断出样品中氟乙酰胺含量。

表 4 氟乙酰胺水解率

Table 4 Hydrolysis rate of fluoroacetamide

样品处理 (Sample preparation)	$\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$		Y/%
	样品加入量 (Add)	检出量 (Found)	
10% 氨水沸水浴	40	1. 2	31
10% 氨水室温放置	40	0. 3	7
10% 氨水沸水浴	20	0. 8	38
10% 氨水室温放置	20	0. 2	10
10% 氨水沸水浴	10	0. 3	30
10% 氨水室温放置	10	0. 1	11

2.11 本方法其它应用前景的推测

从方法的原理和实践效果看, 本方法也可用于检测其它样品中的氟乙酰胺, 但需要根据具体样品的情况选择合适的样品预处理方法。

3 结论

采用氨水加热水解法将氟乙酰胺水解成氟乙酸负离子, 用流动注射-高分辨电喷雾飞行时间质谱检测氟乙酰胺水解产物-氟乙酸负离子, 此方法简便快速, 一般可在 1 h 内完成样品处理和检测; 灵敏度较高, 可检测氟乙酰胺含量为 10 $\mu\text{g/g}$ 的毒饵大米; 专属性较好, 测量的精确质量误差 $< 1 \text{ mD}$, 在 $\pm 10 \text{ mD}$ 范围内仅有 1 种可判别的化合物可能干扰, 且空白大米没有干扰; 检测精密度较高, 相对标准偏差为 5. 4% ($n= 10$)。

致谢:

公安部二所为本工作提供了氟乙酰胺和氟乙酸钠标准品, 在此表示感谢。

参考文献

- [1] 刘 深, 孟祥德, 信同艳, 等. 气相色谱法测定氟乙酰胺的方法探讨[J]. 预防医学文献信息, 2001, 6: 690
- [2] 韩会新, 陈桂茹, 常凤后, 等. 中毒样品中氟乙酰胺、毒鼠强的气相色谱测定[J]. 中国卫生检验杂志, 2001, 1: 39~40
- [3] 陈剑刚, 练海泉, 黄 彪, 等. 毛细管气相色谱法测定鼠药中毒者尿中氟乙酰胺和毒鼠强[J]. 中国卫生检验杂志, 2001, 1: 37~38
- [4] 陈剑刚, 张世靖, 黄 彪, 等. 鼠药中氟乙酰胺及毒鼠强的毛细管气相色谱法应用研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2001, 5: 515~516
- [5] 方亚琼, 向仕学, 周茂君, 等. GDX-102 填充柱气相色谱法测定氟乙酰胺[J]. 预防医学情报杂志, 2001, 4: 298~299
- [6] 徐先顺, 彭玉秀, 付 松, 等. 色-质联用法测定氟乙酰胺[J]. 预防医学情报杂志, 2001, 3: 190~191
- [7] 郑巧玲, 李伟均, 黄建勋, 等. 柠檬酸测定及其在氟乙酰胺中毒中的应用研究[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2001, 5: 380~381
- [8] 王涨富. 毒物快速系列分析手册[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1986. 1: 229, 23, 248, 323
- [9] 马永健, 冯 芳, 陈 蓓. 气相色谱-质谱法同时测定氟乙酰胺及毒鼠强方法研究[J]. 卫生研究, 2000, 29(6): 369, 378
- [10] 关福玉, 缪振春, 刘荫棠, 等. ^{19}F 核磁共振测定氟乙酰胺[J]. 军事医学科学院院刊, 1997, 21(2): 116~119
- [11] 陈 锋, 王宏光, 高宏航. 气相色谱法测定大隆毒饵中的甘氟和氟乙酰胺[J]. 分析试验室, 2001, 6: 35~37.

Detection of Fluoroacetamide in Rice Bait Using Hydrolysis-Flow Injection by HR-TOF-MS

GU Ming-song, HU Xu-ying, LIU Q in, LIU Yin-tang, XIE Jian-wei

(Beijing Institute of Pharmacology and Toxicology, Beijing 100850, China)

Abstract: The raticide fluoroacetamide (FAA) is detected by HR-TOF-MS using flow injection (FI). The FAA is first hydrolyzed with 10% ammonia in boiling water bath to produce fluoroacetic acid, and fluoroacetic acid as the hydrolysis product is detected. The mass deviation is less than 1 mD (77.0045 vs 77.0039) with 5-sulfosalicylic acid as calibration mass. The only possible mass interference within ± 10 mD is $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2\text{S}$ which can be identified by its $M+2$ peak abundance. $10 \mu\text{g/g}$ FAA in rice bait can be detected. The parameters of TOF-MS are discussed. There is no interference in blank rice. The whole procedure from sample preparation to FI-TOF-MS detection can be finished within 1 h.

Key words: mass spectrometry; detection of fluoroacetamide by HR-TOF-MS; hydrolysis-flow injection; rice bait; calibration