

气质联机快速检测确证毒鼠强食物中毒

李永香¹, 李发生², 明佳佳¹, 房其美¹

(1. 郑州市疾病预防控制中心, 河南 郑州 450053; 2. 河南省疾病预防控制中心, 河南 郑州 450003)

摘要:目的 建立中毒食物样品中快速检测毒鼠强的气质联机方法。方法 依靠特征离子所表达的结构信息进行定性, 依靠特征定量离子峰面积进行定量测定, 克服气相色谱单靠保留时间定性和总离子流峰面积定量所带来的误差。结果 本方法 SM 采集方式时最低检测量 0.05 ng, 多个样品、不同浓度加标, 回收率在 65.3% - 85.0% 之间。结论 该方法简单快捷, 一般单样品可在 40 min 内得出结论, 特别适合应急毒检要求, 定性定量准确性、灵敏度均优于气相色谱法。

关键词:气质联机; 快速确证; 食物中毒; 毒鼠强

中图分类号: R15; R155.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006 - 8414(2005)01 - 0019 - 03

毒鼠强是一种剧毒物质, 化学名称为四次甲基二砷四胺, 它对所有温血动物都有剧毒, (鼠口服 LD₅₀ 为 0.1 - 0.3 mg/Kg), 国家有关部门已严令禁止使用。但在农村, 其作为鼠药仍有使用, 且时有发生因投毒、及误服中毒事件。毒鼠强检测方法有化学法、气相色谱法, 气质联机法等。气质联机法作为唯一确证方法, 没有统一的国家标准, 传统前处理过程复杂繁琐, 耗时过长, 难以适应突发公共卫生事件的快速毒检要求。本文从实际工作中, 总结方法检测的经验, 建立了从中毒食物样品中快速检测毒物的气质联机方法, 为毒鼠强中毒的确认, 提供了科学依据。现介绍如下。

1 仪器及试剂

1.1 岛津 GC2010 气相色谱仪带 NPD 检测器 岛津 GCMS-QP2010 气相色谱质谱仪, 电子轰击源。

1.2 台式离心机 (4000 r/min 以上)

1.3 GL - 16 高速台式离心机 (16000 r/min 以上)

1.4 旋涡式振荡器

1.5 N₂ 吹仪

1.6 一次性注射器 (5 ml) 一次性刻度滴管; 一次性塑料离心管 (10、5、1.5、0.5 ml) 各少量, 用前分别以苯处理。具塞三角烧瓶, 漏斗、滤纸等常见实验器材。

1.7 加样枪 (200 μl - 1000 μl; 20 μl - 100 μl; 2 μl - 20 μl) 枪头用前以苯处理。

1.8 苯; 乙酸乙酯; 丙酮; 无水硫酸钠 (分析纯以上)

2 测定步骤

2.1 各种样品前处理过程

2.1.1 血液样品 取 5 ml 血液注入一次性玻璃 (或用苯处理过的塑料) 离心管中, 定量加入 0.50 ml - 1.00 ml 苯, 旋涡振荡 1 min; 4000 r/min 离心 5 min 左右; 取上清液或有机乳化层转入 1.5 ml 一次性离心试管中。重复上述操作, 合并有机相; 16000 r/min, 高速离心 1 - 2 min; 上清液定量转入 1.5 ml 一次性离心试管中, 16000 r/min, 高速离心 2 min; 反复转移离心至有机相澄清后取 1 μl 进样。同时对试剂空白进样测定。

2.1.2 呕吐物、胃内容物、洗胃液、误食物等含水样品 定量称取毒检样品入具塞三角烧瓶中, 加入一定量苯直接振荡提取 15 min, 吸出上层苯液, 4000 r/min 离心 5 min 左右; 再吸出上层清液 1 mL, 16000 r/min, 高速离心 1 - 2 min, 至有机相澄清后取 1 μl 进样, 进行定性测定。若样品中毒鼠强含量过低, 将上述样品再以苯重复提取后, 合并苯提取液进一步浓缩、提取、离心后, 取 1 μl 进样, 进行定量测定。

2.1.3 干燥固体样品 定量称取毒检样品入具塞三角烧瓶中, 加入一定量乙酸乙酯, 直接振荡提取 15 min, 过滤脱水后, 参照上述 2.1.2 步骤进行操作。

2.1.4 食用油及含油较多样品 定量取样后, 先以丙酮 - 水 (V/V = 1:3) 混合溶液振荡提取 15 min, 保留水层, 并将水层置敞口容器中挥去丙酮; 再将该水层置具塞三角烧瓶中, 加入一定量苯, 参照上述 2.1.2 试验步骤进行操作

收稿日期: 2004 - 10 - 16

作者简介: 李永香 (1966年 -), 女, 副主任检验师, 主要从事有机质谱分析工作。

2.2 气相色谱 - 质谱仪测定条件

2.2.1 色谱条件

色谱柱: DB17MS (DB - 5MS; DB - 1MS) 30m \times 0.25mm \times 0.25 μ m; 载气: 氦气; 进样口温度: 270 $^{\circ}$ C; 进样方式: 不分流进样; 进样时间: 1min; 进样量: 1 μ l; 柱流量: 1ml/min; 分流比: 10; 升温程序 (1): 150 $^{\circ}$ C 保持 1min, 以 10 $^{\circ}$ C/min 升到 250 $^{\circ}$ C 保持 5min; 升温程序 (2): 150 $^{\circ}$ C 保持 1min, 以 10 $^{\circ}$ C/min 升到 225 $^{\circ}$ C 保持 1min, 再 5 $^{\circ}$ C/min 升到 235 $^{\circ}$ C, 以 10 $^{\circ}$ C/min 升到 250 $^{\circ}$ C 保持 4min。

2.2.2 质谱条件 离子源温度: 220 $^{\circ}$ C; 接口温度: 250 $^{\circ}$ C; 电子轰击能: 70eV; 溶剂切除时间: 3.5min; 检测方式: 全扫描, 扫描时间段 8.0 - 15min; 选择离子扫描, 扫描时间段 10.0 - 10.6min; 采样间隔: 0.5s; 扫描质量范围: 40 - 400; 特征选择离子: 240 212 132 121 92。

2.3 气相色谱 - 质谱仪定性定量 定性: 全扫描检测, 采用全扫描谱库检索, 与提取与标准物质相对应保留时间下的质量色谱图进行特征选择离子定性相结合的方法定性; 选择离子扫描检测定性, 要求 240 212 132 121 92 五种特征离子中, 至少三个特征离子与 240 的丰度比, 不大于标准的相同离子丰度比的 $\pm 20\%$ 。定量计算: 以毒鼠强特征离子 212 作为定量离子, 峰面积与标准曲线比较 (外标法) 定量。

2.4 气相色谱仪筛选测定条件 色谱柱 OV - 1701 (或 DB - 5) 30m \times 0.32mm \times 0.25 μ m; 检测器 NPD; 气化室温度 270 $^{\circ}$ C; 检测器温度 270 $^{\circ}$ C; 载气 (N₂) 1.5ml/min, 分流比: 30; 燃气 (H₂) 3ml/min; 助燃气 (Air) 60ml/min; 升温程序: 120 $^{\circ}$ C 保持 1min, 以 50 $^{\circ}$ C/min 升到 220 $^{\circ}$ C 保持 10min;

2.5 气相色谱仪定性定量 定性: 本文中采用 DB - 5, ov1701 双柱外标保留时间定性法。定量计算: 样品峰面积与标准比较 (外标法) 定量。

3 结果与讨论

3.1 近两年对本省 14 起毒鼠强中毒事件中 52 份中毒检样的检验结果显示: (对投毒食品及误食溯源样品作质谱定性检测, 仅对病人血样进行质谱定性、定量测定), 被投毒食品及误食溯源样品的定性阳性检出率达 100%。对 27 份病人血样进行的检测中, 1 - 3 岁幼儿定性阳性检出率达 100%, 定量检出率为 0; 5 - 10 岁儿童定性阳性检出率 100%, 定量检出率 33%, 定量检出的血中浓度在 0.023 - 0.161mg/L 之间; 10 - 18 岁中学生定性阳性检出率 70%, 定量检出率 0, (中毒时间短抢救洗胃及时);

慢性接触中毒、及中毒治疗一定时间段后复查的成人血样, 定性阳性检出率达 100%, 定量检出率 50%, 定量检出的血中浓度在 0.059 - 0.234mg/L 之间。

3.2 样品前处理中应注意的事项

3.2.1 在仪器检测灵敏度有限的前提下, 对提取后的有机相进行浓缩和物理净化, 可减少靶物质损失、提高测定灵敏度。

3.2.2 采集的血样 37 $^{\circ}$ C 水浴放置 30 分钟以上再行提取离心有减轻乳化现象的效果。血液提取过程中, 会出现有机相乳化或不分层的现象, 可增加苯的用量, 再重复操作一次, 转移有机相时最好使用加样枪定量转移, 以便在含量极低时用 N₂ 吹干后再以少量苯溶解, 以达到定量浓缩的目的。

3.2.3 油的前处理过程中, 挥去的体积只有在大于等于提取液中丙酮体积时才可确定丙酮已挥尽。

3.3 仪器测定中应注意的事项

3.3.1 2.2.1 中升温程序 (1) 适合于有机相未乳化, 上层较清的样品; 升温程序 (2) 适合于样品提取过程中有机相乳化, 提取液成分复杂的样品。

3.3.2 被投毒食品及误食溯源样品等一般为毒鼠强含量很高样品, 测定中进样量过大往往对仪器系统带来难以消除的污染, 因此下一次进样前要进行试剂空白测定, 定量测定时需扣除试剂空白对定量离子峰面积带来的贡献。

3.4 低浓度定性的特别注意事项

3.4.1 因 LD₅₀ 为 0.1 - 0.3mg/Kg, 按体重 60Kg 重成人全血 4800ml 推算, 血样毒鼠强浓度约大于 1.25mg/L 即可能引起死亡。临床上, 体重 60Kg 的成人, 血样毒鼠强浓度大于 0.1mg/L; 体重 11Kg 儿童, 血样毒鼠强浓度大于 0.01mg/L, 即可有明显间歇性抽搐等临床症状。因此, 低浓度检测确证尤需谨慎, 符合离子比例的才可确证, 有机相浓缩倍数要足够。

3.4.2 用 SM 检测方式对低浓度毒鼠强作确证时, 计算离子比例时不仅要考虑试剂空白对中毒样特征离子的贡献, 还必须考虑到样品本身及其前处理过程带来的影响, 考虑到扫描时间段选择带来的影响, 并扣除仪器背景本底。

4 试验与结论

4.1 笔者曾对含低浓度毒鼠强的血样的定性、定量测定作如下试验

4.1.1 对浓度 9.50ng/ml 毒鼠强标准 (进样 1 μ l) 进行全扫描方式质谱分析, 在保留时间 10.350min 处提取靶峰毒鼠强的特征离子的质量色谱图, 进行

适当的背景扣除处理后,毒鼠强标准的质谱图中特征离子:212 240 132 121 92的丰度比为:100:61.5:21.4:20.4:16.9;(DB-17MS柱)。

4.1.2 再对浓度 9.50ng/ml毒鼠强标准(进样 1 μ l),在时间段 10.300 - 10.400min进行选择离子扫描方式的质谱分析,进行适当的背景扣除处理后,靶峰毒鼠强标准的特征离子:212 240 132 121 92的丰度比为:100:65.3:25.7:24.6:22.8;与上述全扫描谱图中的特征离子丰度比相符合。这说明无论采用全扫描方式还是采用特征离子扫描方式,无样品本底干扰的情况下,在本文的操作方法下,对定性都没有影响。(DB-17MS柱)。

4.1.3 对提取浓缩后的样品(进样 1 μ l),进行全扫描方式质谱分析,在保留时间 10.337min处提取靶峰毒鼠强的特征离子的质量色谱图,进行适当的背景扣除处理后,该中毒样品的质谱图中特征离子:212 240 132 121 92的丰度比为:100:61.1:20.7:19.4:16.7,与标准相符合,可以确证为毒鼠强中毒。进行定量计算(以特征离子 212峰面积计),经过换算,结果为血中毒鼠强浓度 0.059 mg/L。(DB-17MS柱)。

4.1.4 对提取浓缩后的样品(进样 1 μ l),在时间段 10.300 - 10.400min进行 SM方式质谱分析,进行背景扣除处理后,该中毒样品的质谱图中特征离子:212 240 132 121 92的丰度比为:89:100:27.6:43.2:32.4,与标准不相符合,难以确证为毒鼠强中毒,更无法进行定量计算。

4.2 结论

4.2.1 由于样品基质、前处理过程和不同仪器状

态带来的化学噪声和物理噪声叠加在一起,严重影响了低含量样品的定性确证。较好的方法是进行全扫描方式的检测,在相应保留时间段提取质量色谱图进行适当背景扣除后计算离子丰度比例。

4.2.2 本文中质谱采用 Scan采集方式时最低检测量 0.10ng;采用 SM采集方式时最低检测量 0.05ng;采用气相色谱 NPD检测器时最低检测量 0.05ng;作多个样品加标,加标浓度分别为 0.10 mg/L;0.30 mg/L;0.50mg/L,回收率在 65.3% - 85%之间。

4.2.3 在临床中毒治疗上往往要求对血液中的低浓度进行定性、定量,以观察治疗效果或对慢性中毒者进行确认。两年来经笔者检测确证的血中毒鼠强含量极低的病人(包括几例低年龄幼儿病人),经对症治疗后均治愈出院,说明此方法灵敏度能满足实际工作需要。

4.2.4 投毒样等毒鼠强含量很高样品,定性确证的意义更大,通常简单提取离心净化后即可进样测定,该方法简单快捷,一般单样品可在 40min内得出结论,特别适合应急毒检要求。

参考文献:

- [1] 张红旗.生物检材中毒鼠强的 GC/MS检验 [X][J]. 刑事技术,1999.
- [2] 随松遐译.毒物分析方法学 [M]. 群众出版社,1986.
- [3] 徐婉.常见毒物的微量分析 [M]. 群众出版社,1982.
- [4] 王光辉,姜龙飞,汪聪慧译.质谱解析 [M]. 第三版,化学工业出版社,1987.
- [4] DB13/T444 - 2000.鼠药及中毒样品中氟乙酰胺、毒鼠强的气相色谱法测定 [S].

本刊加入中国学术期刊(光盘版)和中国期刊网的声明

为适应我国信息化建设的需要,扩大作者学术交流渠道,本刊已加入《中国学术期刊(光盘版)》和《中国期刊网》全文数据库,其作者著作使用费与本刊稿酬一次性给附。如作者不同意将文章编入该数据库,请在来稿时声明,本刊将做适当处理。(网址: <http://www.chinajournal.net.cn>)

(本刊编辑部)

本刊加入“万方数据——数字化期刊群”的声明

为了实现科技期刊编辑、出版发行工作的电子化,推进科技信息交流的网络化进程,本刊现已入网“万方数据——数字化期刊群”,所以,向本刊投稿交录用的稿件文章,将一律由编辑部统一纳入“万方数据——数字化的期刊群”,进入因特网提供信息服务。凡有不同意见者,请另投它刊。本刊所付稿酬包含刊物内容上网服务报酬,不再另付。

“万方数据——数字化期刊群”是国家“九五”重点科技攻关项目。本刊全文内容按照统一格式制作,读者可上网查询浏览本刊内容,并订阅本刊。(网址: <http://www.wanfangdata.com.cn>)

(本刊编辑部)