

# GC-MS快速检测中毒样品中氟乙酰胺

李峰, 洪萍, 楼冰冰, 应杏秋

(杭州市萧山区疾病预防控制中心, 杭州 311201)

**[摘要]** 目的: 建立气相色谱-质谱(GC-MS)快速测定氟乙酰胺的方法。方法: 样品经乙酸乙酯提取, 离心后取上清液直接进样测定, 通过色谱柱的选择和条件的优化, 确定最佳分析条件。结果: 氟乙酰胺的保留时间为 12.63 min, 氟乙酰胺浓度在 0.05~2.00  $\mu\text{g}/\text{ml}$  范围的标准曲线, 其线性相关系数  $r=1.000$ , 样品加标回收率在 92.5%~99.9% 之间, 相对标准偏差(RSD)为 0.94%。当取样量为 1 g 时, 最低检出浓度为 0.05 mg/kg。结论: 该方法简便、快速, 减少了溶剂及样品基质对测定的干扰, 方法精密度较好, 准确度较高, 结果较满意, 可用于中毒样品中氟乙酰胺的测定。

**[关键词]** GC-MS 快速检测; 氟乙酰胺

**[中图分类号]** O657.7+1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1004-8685(2009)02-0309-03

## A method for quick determination of fluoroacetamide in poisoning sample by GC-MS

LI Feng, HONG Ping, LOU Bing-bing, YING Xin-qiu

(Xiaoshan Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou 311201, China)

**[Abstract]** **Objective** To develop a method for determination of fluoroacetamide by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Methods** Fluoroacetamide extracted with ethyl acetate was centrifuged and the supernatant was analyzed. **Results** Retention time of fluoroacetamide was 12.63 min, calibration curve was linear (correlation coefficient  $r=1.000$ ) within the range of 0.05~200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . The recovery ranged as 92.5%~99.9%, the relative standard deviation (RSD) of the method 0.94% and the limit of determination (LOD) 0.05 mg/kg. **Conclusion** The method is simple, quick and can reduce the interference from solvent and sample matrix. The method can be used to determine the fluoroacetamide in poisoning samples with satisfactory sensitivity, accuracy and precision.

**[Key words]** GC-MS; Quick determination; Fluoroacetamide

国家相关部门早就明文禁止使用对人畜剧毒的灭鼠药氟乙酰胺。但是, 由于利益驱动, 不法分子仍然生产、销售含有氟乙酰胺成份的鼠药, 造成氟乙酰胺中毒时有发生<sup>[1]</sup>。氟乙酰胺中毒后的特效解毒药为乙酰胺, 每 6 h 左右使用一次, 需使用 5~7 d<sup>[2]</sup>, 为了指导临床用药, 对于中毒样品中的氟乙酰胺检测仍十分重要。

氟乙酰胺的检测有硫酸法、异羟酸比色法等化学方法<sup>[3]</sup>。由于化学显色反应依赖于检测者主观判断, 有色食品常常会干扰测试; 而色谱采用保留值定性, 不能排除不同物质在相同色谱条件下具有相同的色谱行为, 仅凭保留值定性, 其准确度不能令人满意<sup>[4-5]</sup>。因此, 近年来应用 GC-MS 法测定氟乙酰胺的报道逐渐增多<sup>[6-7]</sup>。由于氟乙酰胺的分子量较小, 极性大, 受热易挥发等特点, 对于氟乙酰胺的检测难度较大, 在色谱柱中出峰很快, 文献介绍的 GC-MS 法对氟乙酰胺测定一般出峰时间在 3~5 min, 大多与溶剂混在一起, 难以判断结果, 定性定量都存在一定问题, 虽然采用衍生化的方法能使氟乙酰胺与溶剂进行分离, 但是无疑会造成时间和试剂的浪费<sup>[8]</sup>。因此建立一种快速准确的方法非常及时重要。本研究就 GC-MS 测定氟乙酰胺的关键条件进行重点优化, 确定了最佳分析条件, 建立了运用 GC-MS 法快速测定中毒样品中

氟乙酰胺的方法。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 仪器与试剂

Agilent 6890N GC/5975B MS 气质联用仪 (美国安捷伦公司); LG10-2.4A 型自动平衡离心机 (北京京立离心机有限公司); 氟乙酰胺标准溶液: 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  预科院中毒控制中心提供, 稀释后备用; 乙酸乙酯、无水硫酸钠等均为市售分析纯。

#### 1.2 分析条件

1.2.1 GC 条件 色谱柱: Innowax 弹性石英毛细管柱 (30 m  $\times$  250  $\mu\text{m}$   $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ ); 载气: He, 恒流, 1.0 ml/min; 进样口: 240 $^{\circ}\text{C}$ ; 炉温: 程序升温, 初始温度 60 $^{\circ}\text{C}$ , 保持 1 min, 以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至 200 $^{\circ}\text{C}$ , 以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至 240 $^{\circ}\text{C}$ , 保持 2 min; 进样方式: 脉冲不分流; 进样量: 1  $\mu\text{L}$ 。

1.2.2 MS 条件 四极杆温度: 150 $^{\circ}\text{C}$ ; 离子源温度: 230 $^{\circ}\text{C}$ ; 接口温度: 280 $^{\circ}\text{C}$ ; 电子倍增管电压: 1294 V; 溶剂延迟: 10 min。

#### 1.3 样品处理

固体不含水样品: 称取 5 g 样品于具塞三角瓶中, 加入 10 ml 乙酸乙酯, 超声提取 5 min, 离心后取上清液分析。固体含水样品: 称取 5 g 样品, 用无水硫酸钠研磨为粉末, 置于具塞三角瓶中, 加入 10 ml 乙酸乙酯, 超声提取 5 min, 离心后取上清液分析。液体样品: 取 2 ml 液体于乳钵中, 无水硫酸钠研磨为粉末, 收集硫酸钠至具塞三角瓶中, 加入 10 ml 乙酸乙酯, 超

**[作者简介]** 李峰 (1975-), 男, 本科, 主管检验师, 主要从事化学性毒物分析工作。

声提取 5 min, 离心后取上清液分析。

2 结果与讨论

2.1 样品前处理

通常情况下, 浓缩提取液可进一步提高方法检出限, 但是由于氟乙酰胺易水解, 且具有受热升华的性质, 用水浴蒸干等方式浓缩样液, 在加热过程中氟乙酰胺会分解或升华, 均造成氟乙酰胺的损失, 降低回收率。而一般来说, 中毒样品中毒物含量较高, 且检测要求为快速、准确、定性。因此本文中并未对样品进行浓缩。

2.2 方法条件的优化

2.2.1 色谱柱的选择 本文尝试了用 HP-5MS 柱、DB-1701 柱和 Innowax 柱对氟乙酰胺进行分离, 发现在使用 HP-5MS 柱和 DB-1701 柱上氟乙酰胺出峰时间较快, 与溶剂混在一起出峰, 无法进行定性定量分析。而氟乙酰胺在 Innowax 柱上出峰时间为 12 min 左右, 能与溶剂进行充分的分离, 较为理想。

2.2.2 程序升温的温度设定 由于氟乙酰胺受热易挥发, 所以我们选择较低温度 (60℃) 开始升温, 温度设定见 GC 分析条件。

2.2.3 检测方法的选择 直接进样测定与衍生化后测定的选择, 由于直接测定的方法, 氟乙酰胺出峰较快, 与溶剂峰混在一起较难判断结果, 所以文献报道<sup>[8,9]</sup>较多为衍生化后测定, 但衍生化造成检测时间延长, 回收率低, 不是十分理想。我们已经从程序升温的温度设定与色谱柱的选择上解决了氟乙酰胺出峰快的问题, 所以我们选择直接进样, 加快了检测时间, 而且检测结果更准确。

2.3 检测方式的选择

Scan 方式搜集全部离子碎片信息与标准谱库信息比较而得到定性结果, 其定性准确度高。但在测量低含量样品或者在测定物峰有杂质干扰时, 其灵敏度将降低。为提高灵敏度, 可采用 SM 方式, 只采集设定质荷比 ( $m/z$ ) 的离子碎片, 同时结合各离子碎片的丰度比及保留值进行定性。

2.4 氟乙酰胺标准品 GC-MS 分析总离子流图和质谱图

氟乙酰胺的总离子流图和质谱图如图 1、图 2 所示。总离子流图的色谱峰给出氟乙酰胺的保留时间为 12.63 min, 所对应的主要离子碎片核质比 ( $m/z$ ) 为 77、44。其中 77 作为定量离子, 44 作为定性离子。

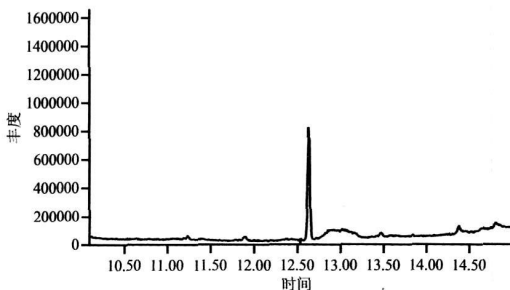


图 1 氟乙酰胺标准的总离子流图

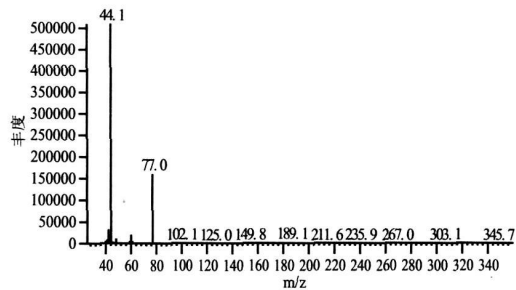


图 2 氟乙酰胺标准的质谱图

2.5 方法的重复性与检出限

方法的重复性测定采用 20  $\mu$ g/ml 氟乙酰胺标准品重复测定 6 次, 结果见下表。方法最低检出限的计算采用 10 倍信噪比 ( $S/N$  值) 为检出限, 本次实验测得为 0.05  $\mu$ g/ml。

	第一次	第二次	第三次	第四次	第五次	第六次	均值	RSD
结果 ( $\mu$ g/ml)	19.08	19.98	20.00	21.61	21.07	21.08	20.46	0.94%

2.6 加标回收测定

在各种样品中加入不同浓度氟乙酰胺标准, 回收率在 92.5% ~ 99.9% 之间, 说明该方法结果稳定、准确, 测定结果见下表。

样品名	加标量 (mg/kg)	测定值 (mg/kg)	回收率 (%)
大米	2.0	1.95	97.5
	5.0	4.97	99.4
	15.0	14.99	99.9
含氟乙酰胺鼠药	2.0	1.89	94.5
	5.0	4.90	98.0
	15.0	14.81	98.7
不含氟乙酰胺鼠药	2.0	1.98	99.0
	5.0	4.91	98.2
	15.0	14.89	99.3
自来水	2.0	1.95	97.5
	5.0	4.90	98.0
	15.0	14.85	99.0
酱油	2.0	1.85	92.5
	5.0	4.80	96.0
	15.0	14.78	98.5

2.7 方法的标准曲线

由图 3 可知该方法在 0.05  $\mu$ g/ml 至 2.0  $\mu$ g/ml 范围内, 线性方程为:  $y = 21900x + 636$ , 线性相关系数  $r = 1.000$ , 线性很好。

(下转第 328 页)

号处理的实验中同一样品吸光度值的重现性比较差,因此本次实验选用 0.1% 氯化钾 + 0.5% 硝酸镁作为基体改进剂。同时实验证明,当样品量为 10  $\mu$ l 混合基体改进剂加入量为 5 8 10  $\mu$ l 时对吸光度的影响不是太大,因此本次实验选用 5  $\mu$ l。

## 2.2 最佳灰化和原子化温度的选择

较高的灰化温度有助于降低背景吸收,较低的原子化温度可以相对延长石墨管的使用寿命,经过实验,样品灰化原子化曲线如下:

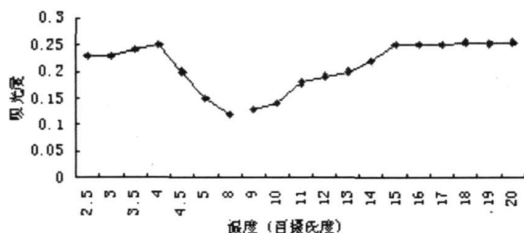


图 1 镉灰化原子化温度曲线

## 2.3 精密度实验

精密度实验要求对一定浓度的样品测定次数不能少于 6 次,本次实验中对豆奶粉中的镉进行了 14 次测定,相对标准偏差为 3.2%,重现性比较好。

## 2.4 回收率实验

样品的回收率实验见表 3。

表 3 样品的回收率实验

样品	本底值 (ng/ml)	加标量 (ng/ml)	测定值 (ng/ml)	回收率 (%)
样品 1	1.2	4	4.7	87.5
样品 2	2.4	4	6.0	90.0
样品 3	3.0	4	6.3	82.5

## 3 小结

本次测定中样品的背景值很高,在应用磷酸二氢铵等基体改进剂时虽然提高了样品的灰化温度,但重现性不好,选用 0.1% 氯化钾 + 0.5% 硝酸镁做基体改进剂,虽然灰化温度相对有所降低,但峰形比较光滑,回收率和精密度都符合测定要求,因此在实际测定中基体改进剂的选用应该视实际情况而定,具体情况具体分析,以使检测达到比较好的结果。

## [参考文献]

- [1] 线引林. 生物材料中有毒物质分析方法手册.
- [2] GB/T5009.15-2003. 食品中镉的测定[S].
- [3] GB/T5750.6-2006. 水中镉的测定[S].
- [4] 杨大鹏. 混合基体改进剂石墨炉原子吸收法测定食品中锡[J]. 中国卫生检验杂志, 2006 16(9): 1064-1065.

(收稿日期: 2008-09-22)

(上接第 310 页)

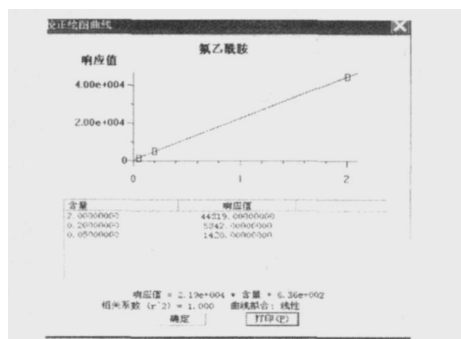


图 3 氟乙酰胺的标准曲线

2.8 我们在一例因鼠药中毒而送检的样品中检出氟乙酰胺, GC-MS 分析总离子流图如图 4 所示。

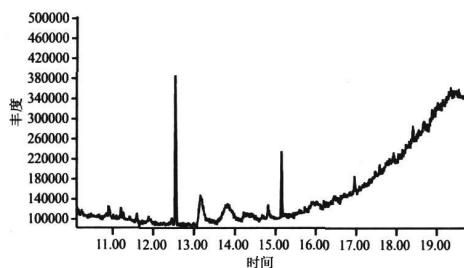


图 4 中毒样品的总离子流图

## 3 小结

本研究所建立的 GC-MS 对氟乙酰胺测定的方法,采用

直接溶剂提取进样,氟乙酰胺的出峰时间为 12 min 左右,大大减少了溶剂与样品基质对检测的影响,而且灵敏度较高,适合对中毒样品中氟乙酰胺的快速检测。

## [参考文献]

- [1] 周陆莎. 一宗服食“陈皮”引起的氟乙酰胺中毒检测报告[J]. 广东卫生防疫, 2000 26(3): 80-81.
- [2] 杨汉勤, 黑毅. 中毒急诊手册[M]. 第 1 版. 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1995.
- [3] 吕玲娥. 对毒物氟乙酰胺测定方法浅析[J]. 实用医技杂志, 2005, 12(9): 2374.
- [4] 叶世柏. 化学性食物中毒与检验[M]. 北京: 北京大学出版社, 1989: 104-106.
- [5] 蔡松武, 林立丰. 气相色谱法检测灭鼠药氟乙酰胺的应用研究[J]. 广东卫生防疫, 1999 25(1): 13-14.
- [6] 徐先顺, 彭玉秀. 气质联用法检测氟乙酰胺[J]. 预防医学情报杂志, 2001 17(3): 190-191.
- [7] 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): 377-388.
- [8] 张春水, 刘克林, 郑琰. 柱前衍生 GC-MS 法测定氟乙酰胺鼠药[J]. 化学计量分析, 2004 (13): 37-38.
- [9] 郑琰, 张春水, 欧阳津. 氟乙酰胺中毒个案的气相色谱-质谱检验[J]. 质谱学报, 2004 25(supple): 135-136.

(收稿日期: 2008-11-25)