

食物中毒

液相色谱-串联质谱法检测一起由化学物质引起的食物中毒

徐飞,刘峰,张亚军,关光玉,秦迎旭

(宁夏回族自治区疾病预防控制中心理化科,宁夏 银川 750004)

摘要:目的 以一起有毒化学物质引起的食物中毒事件为例,建立化学性食物中毒的检测体系。方法 利用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)的增强子离子扫描(EPI)模式对6份可疑食物样品进行16种有机磷类农药和12种氨基甲酸酯类农药的定性检测。结果 在烩菜和肝脏样品中检出氨基甲酸酯类毒性物质克百威,其他4份样品中均未检出该毒物。所有样品均未检出有机磷类农药和其他11种氨基甲酸酯类农药。结论 本次事件是由克百威引起的食物中毒。实验室建立灵敏、快速和准确的LC-MS/MS法和质谱数据库,在突发事件中具有重要的意义。

关键词:化学性食物中毒;食物中毒;液相色谱-串联质谱;增强子离子扫描;有机磷类农药;氨基甲酸酯类农药;克百威

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2017)06-0750-03

DOI:10.13590/j.cjfh.2017.06.023

Identify the toxicological factors of chemical food poisoning by using liquid chromatography tandem mass spectrometry

XU Fei, LIU Feng, ZHANG Ya-jun, GUAN Guang-yu, QIN Ying-xu
(Ningxia Hui Autonomous Region Center for Disease Control and Prevention,
Ningxia Yinchuan 750004, China)

Abstract: Objective In order to establish a method to identify chemical poisoning with an food poisoning incident as an example. **Methods** Sixteen organophosphorus and twelve carbamate pesticides was detected in 6 suspected samples using of 4000 QTRAP liquid chromatography-tandem mass spectrometry with EPI scan mode. **Results** The toxic substance carbofuran was detected in the vegetables and liver samples, and was not detected in the other four samples. No organophosphorus pesticides and other 11 carbamate pesticides were detected in all samples. **Conclusion** This food poisoning incident was caused by carbofuran. The establishment of a sensitive, rapid and accurate liquid chromatography-tandem mass spectrometry detection method and mass spectrometry database in the laboratory was of great significance for dealing with emergency events.

Key words: Chemical food poisoning; food poisoning; liquid chromatography-tandem mass spectrometry; enhancer ion scan; organophosphorus pesticides; carbamate pesticides; carbofuran

食物中毒是严重的食品安全事件,也是现阶段我国公共卫生食品安全领域的主要问题之一。食物中毒具有群发性、复杂性、突发性和危害性严重的特点,确定引起中毒的物质对及时妥善处理中毒应急事件、挽救患者的生命、避免事件进一步恶化起着关键性的作用^[1-2]。2016年11月3日上午9时,某村马某夫妇、妹妹马某和同村王某等4人,进食以萝卜、羊肉和粉面为主的烩菜10 min后,陆续出现头晕、头疼、恶心、呕吐和乏力等症状,其中,王某出现昏迷。当日上午10时,4人被送往某县医

院急诊科,经化验,王某胆碱酯酶1300 U/L,其余3人正常,4人洗胃后转送某市人民医院进行治疗。根据现场流行病学调查情况及临床检验提供的胆碱酯酶活性降低等特征,初步怀疑可能是有机磷类或氨基甲酸酯类农药中毒。故本实验室采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法增强子离子扫描(EPI)模式对送检的6份可疑食物样品进行16种有机磷类农药和12种氨基甲酸酯类农药的定性检测分析。部分可疑样品中检出氨基甲酸酯类农药克百威,有机磷类农药等均未检出。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源

样品:烩菜1份,动物肝脏1份,馍馍1份,植物

收稿日期:2016-11-27

基金项目:宁夏自然科学基金资助项目(NZ14226)

作者简介:徐飞 男 检验师 研究方向为食品安全与农药残留分析

E-mail: lengyue0524@163.com

油 1 份和动物油 2 份,共计 6 份可疑食物样品。

1.1.2 主要仪器与试剂

LC-20AD 超高效液相色谱仪(日本 Shimadzu), 4000 QTRAP 三重四级杆质谱系统(美国 AB Sciex),台式冷冻离心机,Mill-Q 超纯水仪。

甲醇和乙腈均为色谱纯,DisQuE™ 脱水剂(6.0 g 硫酸镁/1.5 g 醋酸钠,美国 Waters),试验用水为超纯水(18.2 MΩ/cm)。

1.2 方法

1.2.1 提取净化

称取 1.0 g 样品(精确至 0.01 g)于 10 ml 聚四氟乙烯具塞离心管中,加入 2 ml 超纯水匀浆,再加入 2 ml 乙腈,涡旋混匀,超声提取 5 min。取出后,加入 1 g 脱水剂,振荡混匀,−4 °C 下 8 000 r/min 离心 3 min,移取上层有机相 300 μl,用超纯水定容至 1 ml,经 0.2 μm 微孔滤膜过滤后,用 LC-MS/MS 分析。

1.2.2 仪器条件

色谱:色谱柱:Waters Atlantis T₃ 柱(100 mm × 2.1 mm, 3.0 μm),柱温 40 °C,流速 0.3 ml/min,进样体积 5.0 μl,流动相 A 为甲醇,流动相 B 为 0.1% 甲酸-水溶液,梯度洗脱。

质谱:电喷雾离子源(ESI),扫描方式为正离子扫描(ESI+),多反应监测(MRM)模式,电喷雾电压 5 500 V,离子源温度 550 °C,气帘气(CUR):103 kPa,雾化气(GS1):345 kPa,辅助气(GS2):345 kPa。

MRM-IDA-EPI(IDA 为智能信息相关采集参数):动态背景扣除,不排除前级扫描过的离子,扫描强度阈值为 1 000 cps;EPI 增强子离子扫描参数:扫描范围为 m/z 50 ~ 300,扫描速率为 1 000 Da/s,去簇电压(DP)、碰撞能量(CE)和碰撞能量范围(CES)分别为 80 V、30 eV 和 15 eV,离子源等其他质谱参数同 MRM 模式。

2 结果与分析

现场流行病学调查在食物中毒事件中尤为重要。某县疾病预防控制中心在接到上报电话后,第一时间前往事发地采集相关检材。另外,在将可疑食物样品送往实验室前进行了活体试验筛查,结果喂食过烩菜的 2 只鸡在 30 min 内相继死亡,结合患者中出现磷酸酯酶抑制的状况,初步判断可疑食物中可能含有有机磷类或氨基甲酸酯类农药,为实验室的检测提供检测方向,大大缩短了筛查中毒样品的时间。

王学琴等^[3]用固相萃取-高效液相色谱(SPE-HPLC)法分析了一起克百威中毒事件。该方法前处理过程中取样量较大,SPE 法主要针对已知化合物的富集净化,即明确化合物的结构选择合适的

SPE 柱,在未知毒物筛查时,往往不知道目标化合物结构,如果没有选择正确的 SPE 小柱,会造成目标物的丢失,而且 SPE 法的操作繁琐、耗时;采用 HPLC 法检测氨基甲酸酯类农药需要在线衍生,分析时间过长,只靠保留时间定性,存在一定误判的风险;因此,SPE-HPLC 法在化学性中毒物质筛查方面具有很大的局限性,不适合中毒事件的准确、快速定性检测的要求。此次食物中毒事件分析过程中,在前处理上采用快速的处理方法,1.0 g 样品加水匀浆后,先用乙腈提取,再加适量的脱水剂分层,无需浓缩和净化,吸取一定量上层有机相经超纯水定容后直接上机检测,前处理过程在 10 min 左右即可完成。在检测仪器方面,采用 QTRAP 三重四级杆质谱系统进行分析,该系统的特点是将线性离子阱(LIT)技术与三重四极杆技术相融合,通过 IDA 智能信息相关采集触发 EPI 模式,大大提高了检测的灵敏度,一次进样完成定量分析的同时,还可获得高质量的 MS² 二级质谱图并用于定性分析,在未知毒物筛查方面具有非常好的适用性。

首先,采用 MRM-IDA-EPI 模式,对 200 ng/ml 克百威标准溶液进行分析,标准物质保留时间为 9.41 min,母离子 222.1,及其主要特征碎片离子 165.0、123.0、91.0 和 77.0 等。其次,对 6 个中毒样品提取液进行 MRM-IDA-EPI 扫描,发现烩菜和肝脏样品提取液中均在 9.41 min 有一个明显的离子流峰,母离子 222.0,及其主要特征离子碎片 165.0、122.9、91.0 和 77.0 等。通过比较发现,标准物质和目标毒物的保留时间一致;子离子相对丰度比在 10% ~ 20% 之间,允许误差 ≤ 30%;高质量的 MS² 图匹配度 ≥ 90%,初步鉴定此物质是克百威。本次事件在烩菜和肝脏中检出毒性物质克百威,其他 4 份样品中均未检出。所有样品均未检出 16 种有机磷类农药和其他 11 种氨基甲酸酯类农药。由此可以确定本次事件为克百威引起的食物中毒事件。采用 LC-MS/MS 的 MRM 模式,对样品提取液中的克百威进行定量检测,羊肝和烩菜样品中克百威含量分别为 4.1 和 1.2 g/kg。标准物质和烩菜样品中克百威的 MRM-IDA-EPI 图见图 1 ~ 2。

3 讨论

氨基甲酸酯类农药和有机磷类农药一样,也是胆碱酯酶抑制剂,在水果和蔬菜中的残留量不得超过 0.02 mg/kg^[4]。但是与有机磷不同的是,氨基甲酸酯与胆碱酯酶的结合并非真正的结合物,仅是一种易于分解的络合物,在适当条件下很容易分解,使胆碱酯酶恢复活性。氨基甲酸酯在生物体内作

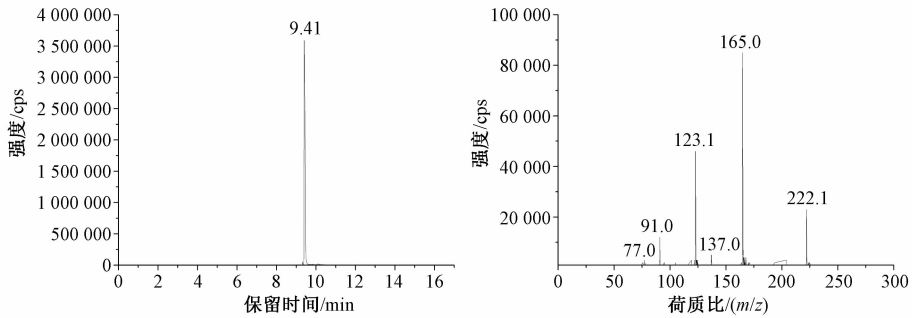


图1 标准物质中克百威的MRM-IDA-EPI图

Figure 1 MRM-IDA-EPI diagram of the carbofuran in the standard substance

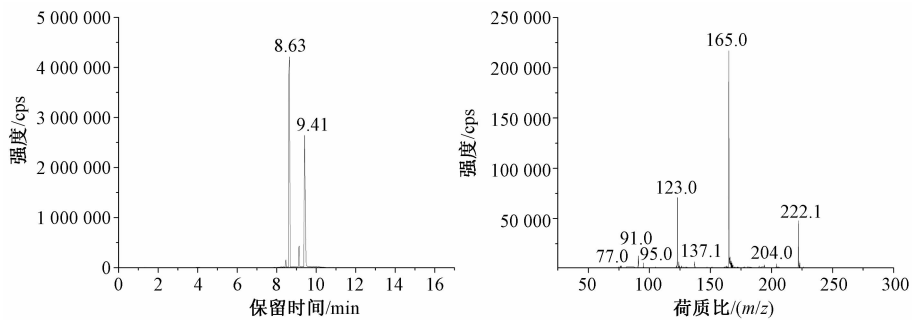


图2 烩菜样品中克百威的MRM-IDA-EPI图

Figure 2 MRM-IDA-EPI diagram of the carbofuran in the sample of stewed vegetable

用快,恢复也快,24 h后80%~90%的氨基甲酸酯会以结合物的形式经尿液排出体外。一次接触氨基甲酸酯类农药,血中胆碱酯酶在15 min降至最低,30~40 min后恢复至50%,60~120 min后基本恢复正常,因此,采集中毒患者的尿液和血液等检材一定要及时^[1]。

检测方法的储备和相关课题的研究为日常检测和中毒突发事件的处理等方面积累了一定的经验,这也是此次事件能够快速准确性的关键,但是在整个事件的处理过程中仍然存在着一些问题。本次食物中毒事件采集的样品与文献报道^[3,5]一样,只有可疑食物样品,没有采集呕吐物或胃内容物以及血液,同时对于在现场发现可疑药物等情况也未做出详细说明,检材的单一不利于全面分析评价整个中毒事件,因此,在今后的工作中,应该围绕化学性食物中毒检测技术研究中基本的科学和技术问题,从基于LC-MS/MS检测技术研究现状和实验室工作实际出发,开展更加系统、深入和独具特色的研究工作,建立一个常见化学性食物中毒物质的质谱数据库,以及探索食物中毒质谱图数据库系统平台的潜在应用^[6],切实推进应急检测工作的发展。

本研究在依据GB/T 20769—2008《水果和蔬菜中450种农药及相关化学品残留量的测定液相色谱-串联质谱法》^[7]的基础上简化了样品前处理方

法,利用乙腈提取后,盐析分层,直接将有机相稀释的前处理方法,采用4000 QTrap LC-MS/MS的MRM-IDA-EPI模式对食品样品进行了检测,确定食物中毒的物质为克百威。通过本次中毒事件表明,实验室建立灵敏、快速和准确的LC-MS/MS检测方法和质谱数据库,在突发事件中具有重要的意义。另外,本次中毒的警示,农户在购买农药后一定要明显标记,妥善保管,避免类似事件的再度发生。

参考文献

- [1] 廖林川. 法医毒物分析[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [2] 邵兵, 张晶, 高馥蝶, 等. 化学性食物中毒因子检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 4(3): 625-635.
- [3] 王学琴, 高贵桃, 胡建英, 等. 一起可疑食物中毒样品中克百威的检测分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2013, 25(3): 282-284.
- [4] 金化瑞, 徐晓枫, 单美娜, 等. 一起由克百威引起的群体性食物中毒检测报告[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(6): 885-886.
- [5] 王娟, 张骅, 施周文, 等. 化学性食物中毒样品克百威定性分析[J]. 环境卫生学杂志, 2016, 6(2): 162-163.
- [6] 张晨光, 吴永宁. 常见食物中毒质谱图数据库系统平台建设[J]. 计算机与应用化学, 2011, 28(4): 419-421.
- [7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 水果和蔬菜中450种农药及相关化学品残留量的测定液相色谱-串联质谱法: GB/T 20769—2008 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.