

生物组织中多种农药成分的 GC/MS 分析

张春水, 刘克林, 何毅, 郑珲, 徐鹏

(公安部物证鉴定中心, 北京 100038)

Determination of Multi Pesticides in Biological Tissue by GC/MS

Zhang Chunshui, Liu Kelin, He Yi, Zheng Hui, Xu Peng (Institute of Forensic Science of Public Security Ministry, Beijing 100038)

Abstract: A determination method of multi pesticides in biological samples was introduced in this paper, 8 of pesticides were determined in human stomach tissue and 6 of the 8 pesticides were determined in liver tissue and blood. Different polarity pesticides were determined in biological sample by a simple method, which provided some important information for forensic identification and toxicants distribution in tissues.

Keyword: pesticide; GC/MS; poison

摘要: 本文介绍了对多种农药中毒死亡者体内样品进行检验的方法。组织样品经过液-液萃取及 GC/MS 检测, 从胃组织样品中检出了敌敌畏、克百威、毒鼠强、甲基对硫磷、敌百虫、氯氰菊酯、甲胺磷、马拉硫磷等 8 种农药残留, 并检出甲基对硫磷的代谢产物甲基对氧磷; 肝组织、血液样品均检出敌敌畏、克百威、毒鼠强、甲基对硫磷、敌百虫、甲胺磷等 6 种成分。本文在生物样品中同时检出多种不同极性的残留农药, 为在刑事技术领域内毒物的检测、代谢和分布提供了一定的经验及实验数据。

关键词: 农药; 气相色谱与质谱联用仪; 中毒

中图分类号: S481.1; O657.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-5480(2005)01-0013-04

1 简介

本文所涉及被分析检测的几种毒物均属于农药范畴, 根据它们的物质化学结构特点, 我们可以将其分成几个大的类型: 敌敌畏 (dichlorvos)、甲胺磷 (methamidophos)、甲基对硫磷 (parathion-methyl)、甲基对氧磷 (paraoxon-methyl)、敌百虫 (trichlorfon)、马拉硫磷 (malathion) 均为有机磷类农药; 克百

威 (carbofuran) 为氨基甲酸酯类农药; 氯氰菊酯 (cypermethrin) 为拟除虫菊酯类农药; 而毒鼠强 (tetramine) 则为禁用杀鼠药。从中毒机理上看, 每种类型的毒物均具有相似的规律和特点, 有机磷类农药中毒是典型的酶毒剂反应, 主要中毒方式是毒物通过与体内胆碱酯酶结合使其失去活性, 从而造成死亡。据文献考证^[1], 本文涉及的几种有机磷农药毒

收稿日期: 2004-08-13

性大小应为甲基对氧磷(代谢物)>甲胺磷>甲基对硫磷>敌敌畏>敌百虫>马拉硫磷。氨基甲酸酯类农药的中毒机理也是作用于乙酰胆碱酯酶,但此类物质对胆碱酯酶抑制较弱。而拟除虫菊酯类农药具有广谱、高效、低残留等特点,在国内外得到广泛应用。其毒理被认为是神经系统受损。值得注意的是其与有机磷农药混合后毒性增强。毒鼠强是上述农药中毒性最大的,其毒理作用仍不清楚,用作灭鼠药时有严重的二次中毒现象。

目前,我国刑事技术领域内对农药中毒检验的方法很多,有化学试剂法、薄层色谱法、气相色谱法、液相色谱法等^[2]。但对于刑事案件中的中毒样品而言,因所含的杂质较多,干扰现象十分严重,同时农药种类又很多,更容易产生混乱,因此利用上述方法进行定性不能得到满意的效果。而本文利用气相色谱质谱联用技术对样品进行分析检测,则很好地解决了这个问题,顺利地检出了全部农药成分及其中一种的代谢物。

2 实验部分

2.1 样品及试剂 中毒死亡者胃组织、肝组织及血液(现场提取);氯仿、乙酸乙酯、苯(均为分析纯)。

2.2 仪器 QP-5050A 气相质谱联用仪(GC/MS,日本岛津制作所);高速离心机(KENDRO 公司,美国)。

2.3 色谱条件 色谱柱:DB-5 MS 毛细石英柱(30m, 0.25mm, 0.25 μ m);进样口温度:280 $^{\circ}$ C;离子源温度:250 $^{\circ}$ C;载气:氦气;离子轰击源:EI 源;分流比 40:1;流速:1mL/min;扫描速率:0.5s;质量范围:40~500 amu;温度程序:100 $^{\circ}$ C(保持 3 min)—40 $^{\circ}$ C/min—280 $^{\circ}$ C。

2.4 净化柱制备 在层析柱中由下至上添加 5g 无水硫酸钠、5g 三氧化二铝、5g 无水硫酸钠,如果有色素,再加 0.5g 活性碳,以 10mL 溶剂润湿层析柱,备用。

2.5 提取

2.5.1 组织提取 取胃组织、肝组织各 5g,将组织物理性破坏,加入 10g 无水硫酸钠,研磨成干砂状,加入氯仿、乙酸乙酯、苯(2:1:1)混合溶剂 50mL,在震荡器上震荡 15min,高速离心后静置分层,然后样品溶液以 5mL/min 速度过净化柱,并用 20mL 混合溶剂冲洗层析柱,最后浓缩至 0.5mL,供 GC/MS 分析。

2.5.2 血液提取 取血液 10mL,加入氯仿、乙酸乙酯、苯(2:1:1)混合溶剂 100mL,高强度机械振荡 15min,高速离心分层后取有机溶液层,以 5mL/min 速度过净化柱,并用 20mL 混合溶剂冲洗层析柱,浓缩至 0.5mL,供 GC/MS 分析。

3 结果和讨论

3.1 提取 有机磷农药因含有磷酸基团,在碱性环境下容易分解,而在中性及酸性条件下可以有较高的回收率,因此,本实验采用的是中性提取。另外农药种类众多,在物质结构上也各不相同,分子极性存在着很大差别。例如在有机磷农药中,甲胺磷即属于强极性物质;马拉硫磷、甲基对硫磷、甲基对氧磷(代谢物)为中等极性;而敌敌畏、敌百虫为弱极性。其它农药也因为分子结构、官能团的不同而产生极性的差异,这样在提取样品时就要根据物质极性不同,按照“同性相溶”原则选取相应极性溶剂才能很好地提取。但在本文的分析中存在着不同极性的物质,因此我们采用氯仿、乙酸乙酯、苯 3 种极性不同的溶剂混合起来作为提取溶剂,形成提取强度范围比较广的溶剂系统。在空白血液中添加 10 μ g 甲胺磷、甲基对硫磷及敌敌畏 3 种标准样品,平均回收率分别为 83%、93% 及 90%,RSD 分别为 3.2%、2.5% 及 2.6%,检测限为 1 μ g(分流模式下)。

3.2 净化 图 1 到图 3 分别为胃组织、肝组织、血液样品的质谱全谱图,除血液样品外,在胃组织、肝组织中杂质成分较大,虽然本文中已经进行了净化处理,但杂质检出量仍然很突出,反映了组织样品的处理和净化很复杂。本文所检测样品因含量较大,故

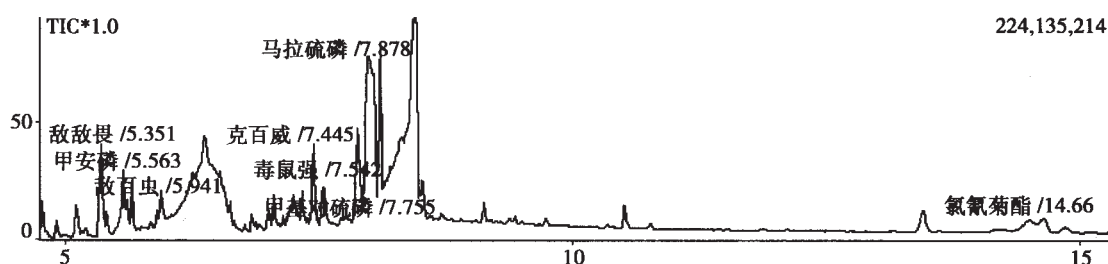


图1 胃组织样品 GC/MS 总离子流图

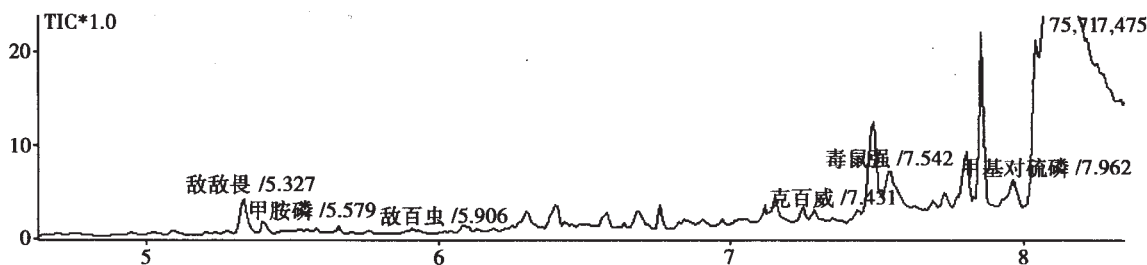


图2 肝组织样品中 GC/MS 总离子流图

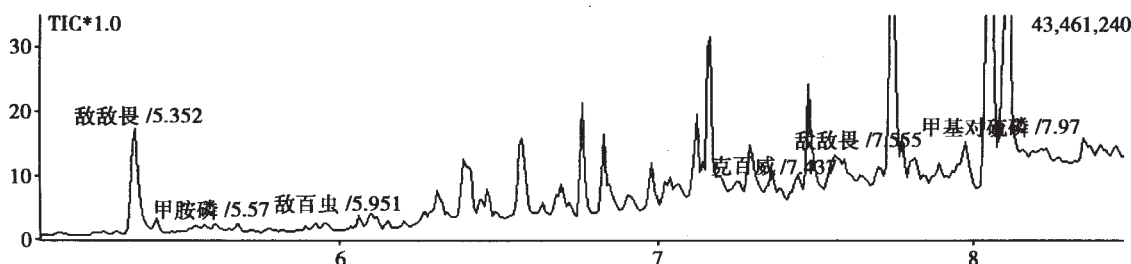


图3 血液样品中 GC/MS 总离子流图

在定性方面可以确证,但对于微量含量的样品来说,杂质干扰将严重影响定性的准确性,因此,在净化手段上就需要进一步的处理。

3.3 质谱条件的选择 本文在胃组织、肝组织、血液等样品中均检出多种残留农药,表1和图4给出了在本文的色谱温度程序下9种农药成分的保留时间及质谱碎片信息,可见,各个检出组分均可实现较好的分离,这样便

于GC/MS的认定,提高定性准确性。

3.4 代谢情况的讨论 有机磷农药在人体内会发生代谢,某些有机磷农药在肝脏内可进行生化反应,转化成毒性更强的物质,甲基对氧磷就是甲基对硫磷的体内代谢物,而马拉硫磷在体内也可转化成马拉氧磷,此代谢物在本实验中未检出;敌百虫在人体内的代谢物则是敌敌畏,也是毒性增强的情况,

表1 胃组织样品中9种阳性检出结果保留时间及主要质谱碎片表

药物名称	保留时间(min)	碎片 M/Z	碎片 M/Z	碎片 M/Z	检出部位
敌敌畏	5.35	109	185	220	胃,肝,血
甲胺磷	5.56	94	95	141	胃,肝,血
敌百虫	5.94	109	139	221	胃,肝,血
克百威	7.45	149	164	221	胃,肝,血
毒鼠强	7.54	42	212	240	胃,肝,血
甲基对氧磷	7.76	109	230	247	胃
马拉硫磷	7.88	93	125	173	胃
甲基对硫磷	7.97	109	125	263	胃,肝,血
氯氰菊酯	14.66	161	183	209	胃

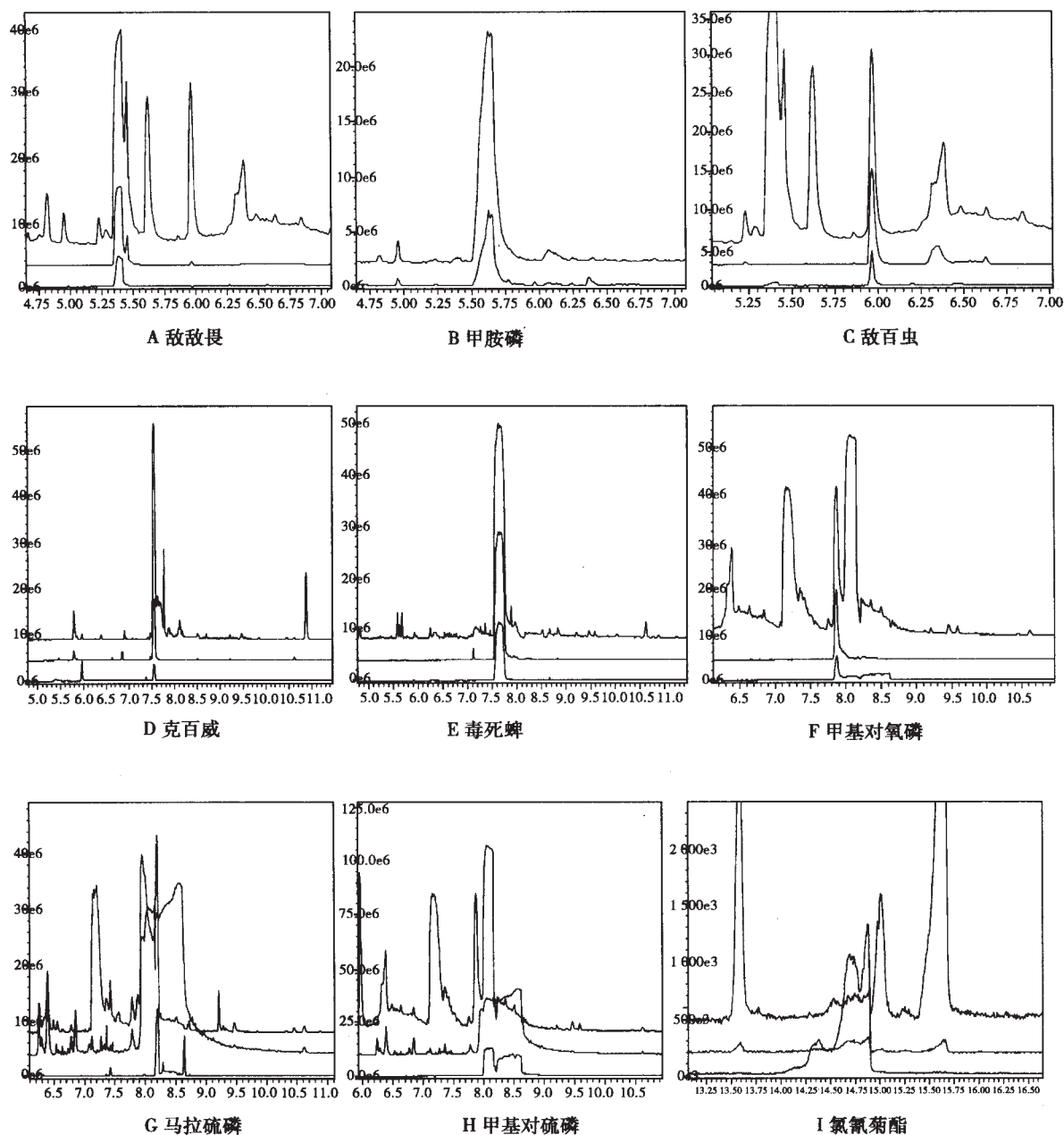


图4 9种农药的GC/MS离子图谱

本检验中敌敌畏为阳性检出,其可能是敌百虫代谢物,也可能是进入人体前两者就混和存在,但因为敌敌畏相对含量很大,故极可能有部分敌百虫转化成敌敌畏而来。另外,有机磷农药在体内的主要代谢物磷酸三甲酯一般均能与其原体一同被检出,如本检验中敌敌畏就能代谢成磷酸三甲酯。甲胺磷则具有自身的特点,其同分异构体通常能一同

被检出,在质谱图甲胺磷主要碎片离子为94,而其同分异构体的主要碎片离子则为78,这样,在甲胺磷没有检出或不能认定时,利用其同分异构体也可以认定甲胺磷的存在。

参考文献

- [1] 纪云晶.实用毒理学手册.288~296
- [2] 刘志民.现代实用毒物分析.412~413