

国产微流量 LC/TOF-MS 联用仪在食品安全检测中的应用

徐国宾¹ 陶芊¹ 许生蛟² 李钧² 张祥民¹ 杨原¹

(¹上海精科-复旦分析仪器研发实验室 上海 200433 ²上海精密科学仪器有限公司 上海 200233)

摘 要 上海精科-复旦分析仪器研发实验室开发的微流量 LC/TOF-MS 联用仪是国内首创的通用液质联用系统。它的 NanoLC 部分采用了新型热膨胀高压泵体, 实现了无活动部件的微流高压梯度 HPLC; 质谱部分使用先进的 TOFMS 技术, 能够完成多数的 LC-MS 检测工作, 并保持较低的拥有成本。在食品安全领域, 该仪器可以检测苏丹红等有害物质。

关键词 TOF; LC; MS800; 热膨胀; 食品安全

中图分类号 0657.6 TH84

A NanoLC/TOF-MS for Domestic Market and its Application in Food Security Analysis

Xu Guobin¹, Tao Qian¹, Xu Shengjiao², Li Jun², Zhang Xiangmin¹, Yang Pengyuan¹

(¹SPSIC-Fudan Joint Lab of Analytical Instrument, Shanghai 200433, China)

(²Shanghai Precision & Scientific Instrument Co.,LTD, Shanghai 200233, China)

Abstract A nanoLC-TOF-MS is designed by SPSIC-Fudan R&D Lab for Analytical Instrument. This nanoLC, utilizing novel thermo-pump which uses no moving parts, is capable of LC gradient separation; the TOF-MS part is best for routine LC-MS analysis while keeping the total owner cost low. Instrument application on Sudan Red I is demonstrated in this paper.

Key words TOF; LC; MS800; thermo pump; food security

1 引言

上海精密科学仪器有限公司(上海精科)和复旦大学在上海市科委组织下, 研制出了拥有自主知识产权的国产微流量液相-飞行时间质谱联用仪(NanoLC-TOF-MS)。该仪器可以用于常规的液相分析检测工作, 能够胜任质量控制、科学研究和生物制药等领域的工作需要。

在食品安全领域中, LC-MS 是最常用的检测仪器。但是我国从过去的农药残留问题, 到现在的食品中有害添加剂问题, 往往采用 HPLC 作为国标检测手段。这是一种无奈却又符合我国现阶段国情的暂时性做法。以苏丹红的检测为例, 国际通用的方法是 HPLC-ESI-MS, 其基本仪器配置最低需要 250 万人民币。这对于国内广大基层质检部门来说是很难承担的。使得我国无法制定以 LC-MS 为核心的食品安全国家质量体系, 这对于人民健康有着潜在的不利影响。而且在与国际交流的进出口贸易领域, 我国根本无法规避 LC-MS 检测手段, 特别是在农牧产品的出口问题上, 近几年来发达国家的技术性贸易壁垒(绿色壁垒)经常将我出口商品拒之门外。由于无法出示达到国际先进水平的检测报告来回应诸如日本“肯定列表”等制度, 对我国造成较大损失。根本

解决途径在于增强国力和开发国产先进的分析检测仪器。

2 仪器硬件特点

“热膨胀高压微流梯度毛细管 HPLC-TOF-MS 联用仪”分为 nanoHPLC 和 MS800 型 TOF-MS 两台仪器。NanoHPLC 由复旦大学张祥民教授组织研发, TOF-MS 由杨芄原教授牵头开发。两台仪器可以单独使用, 也可以组成 LC-MS 联用仪, 来发挥更大效用。

NanoHPLC 是一种采用热膨胀泵体为核心的全新概念 HPLC。此前市场上销售的液相色谱都是采用机械泵。我们是利用液体加热膨胀的特性, 以高纯水为工作物质, 精确计算预测不同温度、压力下水的密度, 同时考虑水在不同压力和温度下的压缩系数, 给出工作物质的精确体积, 通过控制液体受热的升温速率, 来实现恒流或者恒压输出。高纯水经过除气和老化后, 注入容积为 5mL 的高压容器内, 然后放入程控温度控制器内, 构成一支与以往液相色谱泵完全不同的创新性的热膨胀高压微流泵。它工作在 50~300 之间, 每次温度从 50 加热至 300, 可以最多提供约 10 μL 的液体, 而后泵体被快速降温, 并从另一单向阀重新吸入损失的液体。使用两支热膨胀高压微流泵交替工作, 就可以完成液相色谱不间断的恒流或者恒压输出; 使

收稿日期: 2006-09-16

作者简介: 徐国宾(1981-), 博士研究生, 主要课题为“质谱仪器开发”。

用四支泵，分成两组分别输送两种液体，就可以完成二元梯度洗脱的操作。

热膨胀高压微流泵比较传统液相泵有很多优势。第一，原理简单，没有活动部件，寿命长、维护方便；第二，密封难度小，理论工作压力高，可以达到 80 ~ 100MPa，但是由于我们的色谱柱和接头的压力限制，目前实际使用的最大压力为 35MPa；第三，成本低廉，容易加工制造；第四，这种泵体的流量精度在纳升级范围内远高于传统活塞泵。在上样量极少的应用领域，如生物样品的蛋白分离中，有很好的应用前景。NanoHPLC 的流量精度与流速关系如图 1 所示。

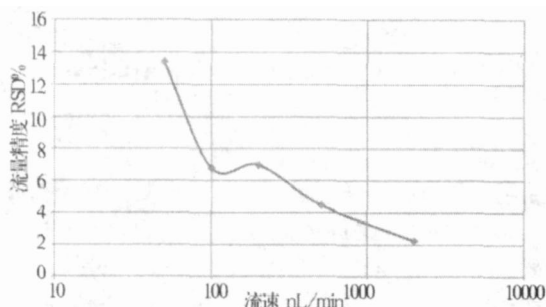


图 1 NanoHPLC 的流量精度与流速的关系

MS800 型 TOF-MS 是大规模集成和开发改进的仪器。是一种高分辨、高灵敏度的飞行时间质谱仪。它采用了垂直加速反射式飞行时间质量分析器技术 (oaTOF)，在高度为 700mm 的飞行管中，可以提供最佳达 10,000 (IUPAC FWHM 全宽半高，相当于 10% 谷底的 5,000 或者 GC-MS 中的 10M) 的分辨能力 (如图 3)；质荷比范围为 30 ~ 20,000Th；使用纳升级电喷雾离子源检测 100fmol/ μ L 的降压药物利血平 (Reserpine) 时 $m/z = 609$ Th 的单电荷同位素峰信噪比为 110。MS800 的真空系统采用德国生产的新型分流式分子泵，可以在三处真空腔中、分别提供 220l/s、150l/s 和 10l/s 的梯度真空抽速，为飞行时间质量分析器提供工作所需的 10^{-7} Torr 高真空，而且它体积小、寿命长、性价比高。离子通过六极杆透镜组离子传输系统被引入到分析器中，跨越 4 级真空梯度，最终被 V 型安装的两级微通道板检测，其信号通过 2.5GHz 的时间数字转换器 (TDC) 实时记录在电脑中，图谱采样率为 10 ~ 0.1Hz，最小可检测 LC 峰宽为 1s。我们研制的 3 种电喷雾离子源可以匹配不同流速的液相色谱工作需要；与 NanoHPLC 相连的 NanoESI 离子源有四个自由度可以调节，充分发挥不同位置、角度电喷雾离子化的特性，如避免溶剂峰干扰以及低流速纳喷雾等。纳升级电喷雾喷射有激光拉制的石英毛细管、钠玻璃离线喷针以及不锈钢毛细管喷针三类，其中前两类有镀金、镀钼或无镀层多种选择，尖端口径覆盖了 2 ~ 100 μ m 数个档次。MS800 型 LC-TOF-MS 的内部结构示意图如图 2 所示。

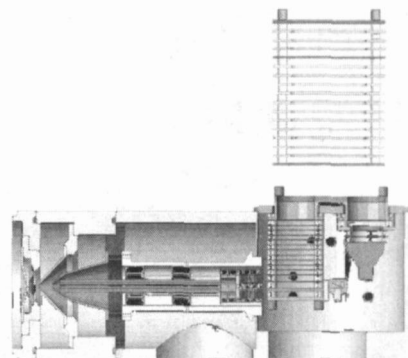


图 2 MS800 型 LC-TOF-MS 的内部结构示意图

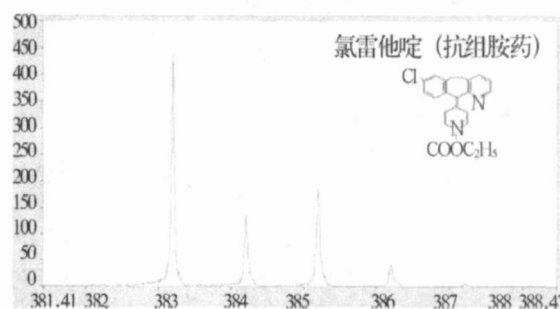


图 3 MS800 测得的氯雷他啶质谱图谱。根据上海测试中心 2006 年 9 月 13 日的报告，其主要同位素峰分辨率大于 9,000

MS800 型 TOF-MS 面向的目标用户是以往以 LC 为主要检测手段的工作者，整体设计大量采用最新的仪器技术和零部件，如 2006 年设计的 GHz 级前置放大器、峰值甄别器、时间数字转换器等电子设备，其性能和 1998 年多数国外仪器产品相比，有了很大提高；但成本，反而下降。又例如采用分流式分子泵是 2003 年底才专门为质谱仪器厂家定制、并首先运用在 LTQ 这类仪器上；另外一体化设计，不但减小了体积，提高性能，还降低了购买和维护成本。同时 MS800 采用了“薄板一体化加速器和反射器”、“六极杆离子反应器”等自主研发的技术，增强了仪器性能，我们将在以后另文介绍。当采用了上述若干先进技术后，其成本反而下降。

3 实验与结果分析

3.1 苏丹红 I 的 LC-MS 检测

苏丹红 I 是潜在的致癌物质。之前它曾被广泛用作食品中的色素 (红色或者橙红色)，2005 年 2 月被英国食品标准管理局宣布召回含有苏丹红 I 的食品，成为禁止使用的添加剂；我国于同年 2 月 23 日，宣布严查含有苏丹红 I 的食品。苏丹红系列色素属于偶氮类染料，其中苏丹红 I 直接溶于乙腈，II ~ IV 需要用少量氯仿溶解，再用乙腈稀释。

我们对苏丹红 I 与两种农药 (除草剂 S10C0211 和 S10C0272) 的混合样品进行了 LC-MS 同时分析。其中苏丹红 I 溶液浓度为 100ng/ μ L，S10C0211 和 S10C0272

(来自中科院上海有机所)浓度均为 10ng/ μL 。三种溶液混合后,用乙腈稀释 1000 倍定容;上样量 10 μL ;色谱流速为 500nL/min (比通常 LC 仪器小许多),用甲醇和水进行梯度洗脱 (7:3 至 3:7);色谱柱为自制的 8cm 毛细管 C18 柱;电喷雾离子源使用了外径 5 μm 的镀铂石英毛细管喷针,并施加 4800V 的喷雾离子化电压;质谱扫描时间是 1s。各组分检测结果如图 4-6 所示。

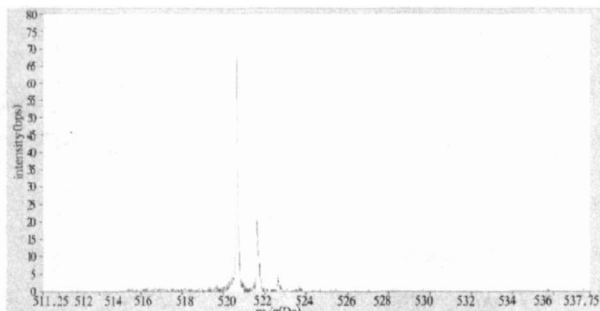


图 4 农药 SIOCO211 在 LC-MS 分析中的质谱图谱
保留时间为 16' 51", 峰宽 20s

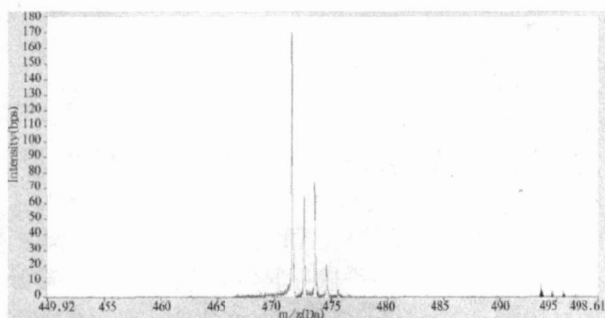


图 5 农药 SIOCO272 在 LC-MS 分析中的质谱图谱
保留时间为 17' 45"

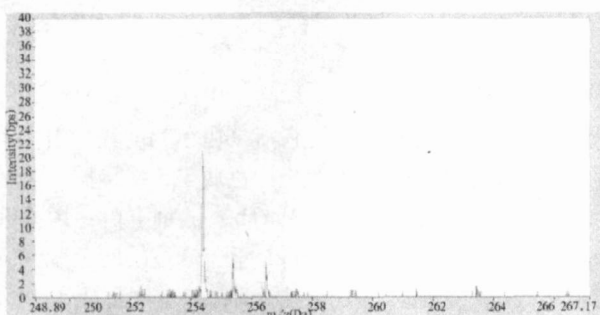


图 6 苏丹红 I 在 LC-MS 分析中的质谱图谱
保留时间为 18' 48"

3.2 苏丹红 I 的定性分析

为了进一步定性确定苏丹红,我们进行了离子碎裂试验。取 100 μL 100pg/ μL 的苏丹红 I 溶液,加入到钠玻璃离线电喷雾喷针;质谱条件同前所述;逐渐加高两级采样锥之间的电压,可得不同能量下苏丹红离子与氮气分子碰撞作用的结果。通过查找苏丹红 I 的特征

峰,我们可以肯定样品种的主要成分为苏丹红 I,如图 7,图 8,图 9。

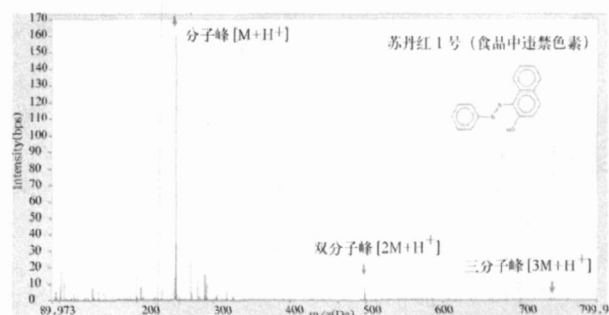


图 7 苏丹红 I 离子的质谱图谱。离子能量 12~18eV

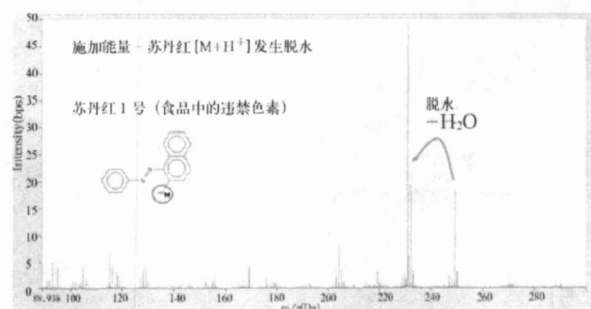


图 8 苏丹红 I 离子的质谱图谱。离子能量 22eV, 分子发生脱水

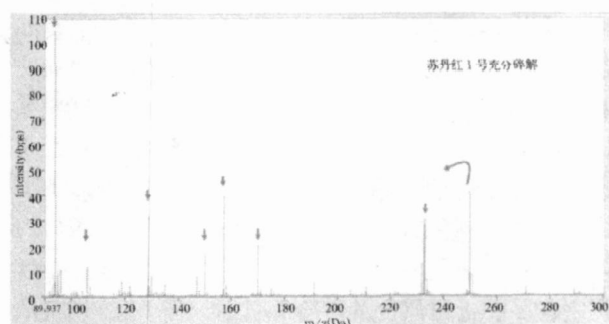


图 9 苏丹红 I 离子的质谱图谱。离子能量 38eV, 箭头所指为苏丹红 I 的特征碎裂峰

4 结论

以上结果显示 LC/TOF-MS 联用仪,可以完成通常 LC-MS 的检测任务。NanoLC 创新的原理设计,允许在纳升级小流量 LC 应用中,比机械活塞式液相色谱有更多的灵活性。MS800 型 LC-TOF-MS 可以完成许多 LC-MS 的分析和测试,同时维持一个较低的总体拥有成本。

2007 年,上海精科-复旦分析仪器研发实验室将完成两台仪器的产业化步骤。在进行 5 台试产产品的分发测试后,我们将根据用户的需求和建议,进一步改进,以适应国内用户的需要,解决我国基层 LC-MS 分析测试工作。