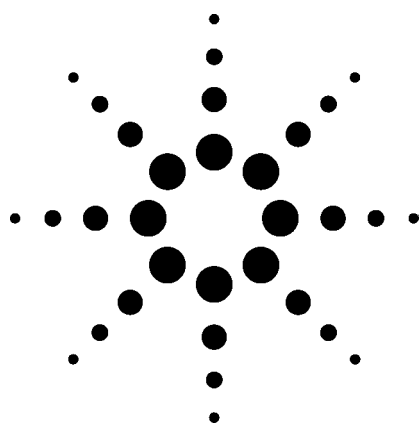




应用 LC/MSD TOF 和离子阱 MSⁿ 鉴别未知农药 应用

食品安全

作者

E. Michael Thurman and Imma Ferrer
Pesticide Residue Research Group
University of Almería
04120 Almería
Spain

Agilent Contact: Jerry Zweigenbaum
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808-1610

摘要

监控食品中未知农药的传统做法是使用气相色谱/质谱 (GC/MS) 方法，并使用常规的谱库检索。然而，许多新的极性及热不稳定性农药，即使没有可查询的谱库（除非用户自创谱库），也可以使用液相色谱/质谱 (LC/MS) 方法更快更简便地分析测定。因此，开发 LC/MS 方法测定现实的未知农药势在必行。

本应用开发了使用 LC/MSD TOF 及 LC/MSD 离子阱 (MSⁿ) 技术测定未知农药的方法，并用精确质量数及 ChemINDEX 或 Merck Index[®] 数据库检索实验分子式。该方法不同于常规的离子谱库检索方式，包含多重步骤。

首先，使用 LC/MSD TOF 或 LC/MSD 离子阱仪器对市场中的蔬菜（西红柿或其它沙拉蔬菜）提取物中可能的未知农药进行初步检测。

然后应用“双重方法”。这包括，利用经验分子式或分子量（通常含一个 A+2 的同位素标记，如 S 或 Cl）进行精确质量数鉴别，随后用 MS/MS 离子阱确认含硫或含氯的农药及其主要碎片离子和氯、硫同位素。

第三步，使用含 10,000 种化合物的 Merck Index CD 或含 77,000 种化合物的 ChemINDEX CD 及一个手提 PC 进行经验分子式数据库分析。

在给出的范例中，未知农药被鉴定为黄瓜中有机磷杀虫剂，马拉硫磷；及西红柿提取物中昆虫生长抑制剂，布洛吩。

第四步，也就是最后的步骤是用已知标准确认化合物。

简介

鉴定及定量研究蔬菜中杀虫剂对于每个人及健康组织有着重大意义。由于人们对于健康的关注，欧盟建立了蔬菜中低浓度农药的指南。比如，新的法规如欧洲指南 91/414/EEC [1]，或美国食品质量保护法案 (FQPA) [2]，这些法规提高了人们健康，工作及环境保护标准。法规同时要求对以往使用的农药进行重新登记。



Agilent Technologies

另外还取消了许多目前市场上使用的植物保护产品，其中美国 177 种，欧洲 320 种。并且，欧洲还宣布一共 110 种产品将在近期被撤消 [1]。欧洲的这一变动举措规定，现有的超过 450 种活性物质将于 2008 年前被撤出市场，仅留下大约 400 种农药继续使用。

再者，新规则的质量标准包括重新核定蔬菜中农药最大残留限量 (MRL)，EU 指南对于每种食品的每种农药设立了不同的最大残留限量 (MRL)。而且新指南将决定每个 EU 国家是否使用不同的 MRL。EU 新指南规定各个国家的 MRL 将在新计划中被保留。最后，违禁的化合物要设定最低的 MRL，现在定为 0.01 mg/kg (ppm)。由于有许多化合物将计划被除去，所以应用 LC/MS 测定蔬菜提取物中未知农药就显得非常重要甚至必要。因为通常不可能知道是哪一种违禁物质被使用，所以使用一种快速准确的系统监控食品中未知物质对于食品环境监测至关重要。

因此，需要使用新型质谱仪器研究开发食品中未知农药的分析方法，例如联合使用精确质量测定仪器 LC/MSD TOF 及 LC/MS 离子阱 MS/MS。本研究是首次尝试使用新型安捷伦的 LC/MSD TOF 及 LC/MSD 离子阱仪器，及商业数据库如 Merck Index 和 ChemINDEX 数据库，鉴定食品中未知农药。

联用 LC/MSD TOF 和 LC/MSD 离子阱的几个优点在于，可以获得精确质量数和实验分子式，而且结合 MS/MS 谱图或者 MSⁿ 可以获得光谱信息。应用 LC/MSD TOF 和 LC/MSD 离子阱鉴定未知物包括以下六个步骤。

1. 使用离子阱全扫描方式或 CID 离子源 LC/MSD TOF 分析蔬菜提取物中重要的未知峰。
2. 然后查看 A+2 同位素分布，看是否存在 Cl, Br 或 S。
3. 利用分子量，A+2 同位素和分子式在 Merck Index 或 ChemINDEX 中查找可能的未知物。
4. 继续用离子阱进行二级三级质谱分析。鉴定离子碎片，精准质量碎片和可能的结构。
5. 结合 LC/MSD TOF 测定的碎片离子质量及分子离子的精确质量，作出初步鉴定。
6. 获得并分析合适的标准物进行最后确认。

下面举两个实例，测定的是从商店购买的沙拉蔬菜：黄瓜和西红柿，使用的是上述方法，样品中均含有“未知白色粉末”，随后被上述方法鉴定为不同的“未知农药”。

实验方法

标准蔬菜提取 [3]

1. 从市场购买 2 kg 的西红柿，生菜，青椒和黄瓜，切碎并混匀。
2. 准确称取 15 g 混匀的蔬菜，置于 200 mL 的 PTFE 离心管中。
3. 加入乙酸乙酯 45 mL 和 6.5 M 的氢氧化钠 1 mL，在 21,000 转/分 [4] 的高速离心下混匀 30 s。然后加入 13 g 无水硫酸钠，重复萃取 30 s。
4. 合并提取物，使之通过 20 g 无水硫酸钠的薄层。固体部分用 50 mL 乙酸乙酯冲洗。合并提取物在 45 ± 5 °C 水浴条件下旋转蒸发干。
5. 干燥的残渣用 15 mL 甲醇超声溶解。含 1 g/mL 样品的提取物，过 0.2 μm 的 PTFE 过滤器 (Millex® FG，微孔过滤器)，再进行 LC/MS 分析。

快速蔬菜提取

1. 从市场上选取含白色粉末的西红柿或黄瓜。
2. 用甲醇仔细洗蔬菜表皮三次，除去白色粉末，回收总量 2 – 5 mL (根据蔬菜量而定) 的淋洗液于一个 150 mL 的 Pyrex® 烧杯中。
3. 混匀后，转移至 5 mL 的注射器中，通过 Millex-FH PTFE 过滤器过滤为 0.3 mL 每份。
4. 用 0.6 mL 去离子水稀释
5. 用 LC/MSD TOF 或 LC/MSD 离子阱分析。

LC/MSD TOF 方法

仪器：安捷伦 LC/MSD TOF 配电喷雾源

使用安捷伦 1100 二元泵，标准安捷伦自动进样器，进样体积 50 μ L。

色谱柱：ZORBAX Eclipse® XDB-C8，4.6 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5 μ m，部件号 993967-906。

流动相：A：ACN，B：0.1% 甲酸水溶液

梯度：15% A – 100% A，30 min，0.6 mL/min 流速

正模式 ESI，毛细管电压 4000 V

雾化器 40 psig，干燥气 9 L/min，气体温度 300 °C

裂解电压 190 V，撇除器电压 60 V

八极杆电压 37.5 V，八极杆 RF 电压 250 V

参考质量： m/z 121.0509 和 922.0098，分辨率：在 m/z 922.0098 处为 9500 ± 500

参考 A 喷雾 2 在测定时设为常规流速

LC/MSD 离子阱方法

为直接比较色谱峰，色谱条件与 LC/MSD TOF 完全一致

仪器：LC/MSD 离子阱

安捷伦 1100 二元泵，标准安捷伦自动进样器，进样体积 50 μ L。

色谱柱：ZORBAX Eclipse XDB-C8，4.6 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5 μ m，部件号 993967-906。

流动相：A：ACN，B：0.1% 甲酸水溶液

梯度：15%A–100%A，30 min，0.6 mL/min 流速

正模式 ESI，毛细管电压 3000 V

雾化器 40 psig，干燥气 9 L/min，气体温度 350 °C

撇除器1电压：20 V，撇除器 2 电压：10 V，毛细管出口电压补偿：50 V，毛细管出口电压 70 V

八极杆电压 3 V，八极杆 RF 电压 100 V，八极杆 Δ ：2 V，透镜 1 电压：-3V，阱电压：50，透镜 2 电压：-50 V

目标：最大 50,000，滞留时间：200 ms，扫描 m/z 50 到 800，平均：5

变动平均：开，MS/MS m/z 2.0 分离宽度，幅度：1.2 V，裂解中止 m/z 83

结果与讨论

黄瓜提取物

图 1 显示了店售黄瓜白色粉末快速提取物的离子阱测定总离子流谱图。色谱图中最大峰为 m/z 331 和 353 的离子峰，TIC 中加星号的峰 Star*TIC，其谱图在图 1 下给出。 m/z 相差 22 是和钠离子的加和结果。由于分析在正模式下进行， $[M+H]^+$ 是 m/z 331，而 $[M+Na]^+$ 是 m/z 353。而且， m/z 331 还含 A+2 的同位素峰 m/z 333，占 m/z 331 离子的 8%。这两个重要的 A+2 离子被认为是未知物中含氯或硫（可能含溴）。S-34 的天然丰度为 4.8 %；因此 8% 这个峰很有可能是未知峰 m/z 331 的化合物中含两个 S-34 原子。

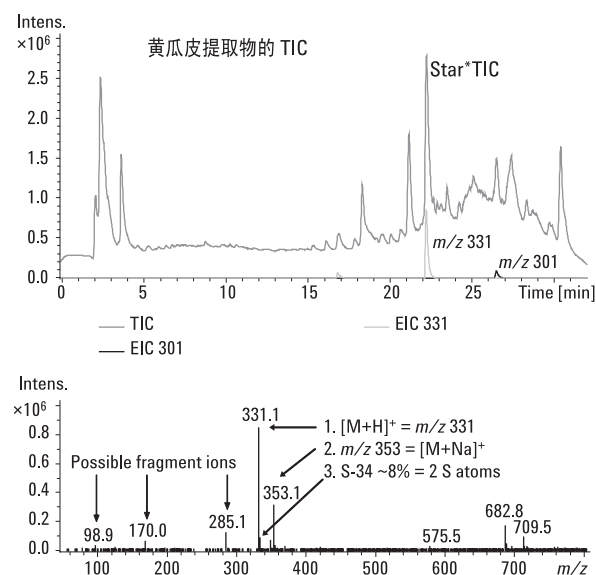


图 1. 上面是黄瓜皮提取物的离子阱 TIC 图；下面是 m/z 331 的 EIC。下图是 Star*TIC 峰的谱图。

图 2 显示了 m/z 331 离子的 LC/MS/MS。包含： m/z 285, 240, 127 和 99。在查阅 Merck Index 数据库找到可能的结构后，可以用这些离子推断鉴别化合物结构。

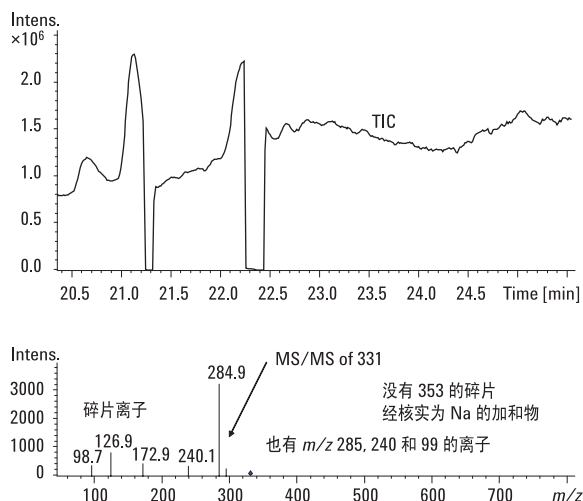


图 2. 离子阱 MS/MS 图和相应的 m/z 331 的质谱图。

下一步是查找 Merck Index 数据库有关分子量和硫原子含量。图 3 显示了在手提电脑上查询图表的样板。由于离子阱给出分子离子峰 m/z 331，在查询时减去一个质子获得 330 的分子量。分子量然后在一个质量单位内搜索至 331。在数据库查询时遵照分子式仅含两个 S 原子。

Monograph number:		Return to Browse Perform Search	
Structure: double-click to edit			
Molecular Weight: 330-331			
Molecular Formula: S2			
Title: Example: alpha-ketone			
All Names and Synonyms:			
CAS Name:			
Manufacturers' Codes: Example: NDC-149			
Trademarks: Example: Cymbush			
Manufacturer Name: Example: BASF			
CAS Registry Number: Example: 79-69-6			
Percent Composition: Example: C 85.62%, H 14.37%			
Line Formula:			
		Properties (full text):	
		Melting point: in degrees Celsius	
		Boiling point: in degrees Celsius	
		Flash point: F C	
		pKa: unless	
		Optical rotation: in degrees	

The Merck Index
THE MERCK INDEX® is a trademark of Merck & Company, Incorporated, Whitehouse Station, New Jersey, USA and is registered in the United States Patent and Trademark Office. Published originally as The Merck Index, Thirteenth Edition. Copyright © 2001 by Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, New Jersey, USA. All Rights Reserved. Reproduction of any portion of The Merck Index without the written consent of Merck & Co., Inc., is prohibited.
MERCK **CambridgeSoft**

图 3. 数据库中检索分子量为 330-331。

图 4a 和图 4b 显示了 Merck Index 数据查询的两个结果。找到的化合物为潘尼西林 O 和马拉硫磷，分子量分别为 330.43 和 330.36。

数据库中检索分子量为330-331的结果
分子中含有两个S

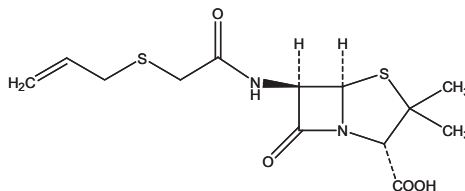


CambridgeSoft

Monograph Number: 7170

Title: Penicillin O

CAS Registry Number: 87-09-2



CAS Name: (2S,5R,6R)-3,3-Dimethyl-7-oxo-6-[[[(2-propenylthio)acetyl]amino]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid

Additional Names: [[allylthio)methyl] penicillin; allylmercaptomethylpenicillin; allylmercaptomethylpenicillanic acid; penicillin AT

Molecular Formula: $C_{13}H_{18}N_2O_2S_2$
Molecular Weight: 330.43

Percent Composition: C 47.25%, H 5.49%, N 8.48%, O 19.37%, S 19.41%

Literature References: Antibiotic produced by *Penicillium chrysogenum*. Biosynthesis of salts: Behrens *et al.*, *J. Biol. Chem.* **175**, 793 (1948); Rhodehamel, Behrens *et al.*, *US 2528175* and *US 2623876* (1950, 1952, both to Lilly); Ford *et al.*, *Antibiot. & Chemother.* **3**, 1149 (1953); Ford, *US 2647894* (1953 to Upjohn); Palecková, Slechta, *C.A.* **50**, 17309g (1956).

Derivative Type: 2-Chloroprocaine salt monohydrate

Additional Names: Chloroprocaine penicillin O; penicillin O 2-chloroprocaine

Trademarks: Depo-Cer-O-Cillin Chloroprocaine (Upjohn)

Molecular Formula: $C_{26}H_{37}ClN_4O_6S_2H_2O$
Molecular Weight: 619.20

Percent Composition: C 50.43%, H 6.35%, Cl 5.73%, N 9.05%, O 18.09%, S 10.36%

Properties: Slender needles from hot water, mp 79-81°. Practically insol in cold water. Stable in dry form at room temp. Aq suspensions are stable at room temp for 1 week, at refrigerator temps for 3 weeks. Calculated activity: 949 units/mg. Solubilities: Weiss *et al.*, *Antibiot. & Chemother.* **7**, 374 (1957).

Melting point: mp 79-81°

图 4a. 数据库检索的第一个结果



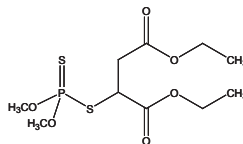
CambridgeSoft

Monograph Number: 5723

Title: Malathion

CAS Registry Number: 121-75-5

CAS Name: [(Dimethoxyphosphinothioyl)thio]butanedioic acid diethyl ester



Additional Names: diethyl mercaptosuccinate S-ester with O,O-dimethyl phosphorothioate; S-(1,2-dicarbethoxyethyl) O,O-dimethyldithiophosphate; insecticide no. 4049; carbofos; malathon (obsolete); mercaptothion; phosphothion

Manufacturers' Codes: ENT-17034

Trademarks: Cythion; Derbac-M (International); Malamar 50; Malaspray; Organoderm (Mundipharma); Prioderm (Coates & Cooper); Suleo-M (International)

Molecular Formula: $C_{10}H_{19}O_6P_2S_2$
Molecular Weight: 330.36

Percent Composition: C 36.36%, H 5.80%, O 29.06%, P 9.38%, S 19.41%

Literature References: Cholinesterase inhibitor. Prep'n: Johnson *et al.*, *J. Econ. Entomol.* **45**, 279 (1952); Cassaday, *US 2578652* (1951 to Am. Cyanamid). Purification: Usui, *US 2962521* (1960 to Sumitomo). Treatment of *Pediculus humanus* (head lice) infestation: D. Taplin *et al.*, *J. Am. Med. Assoc.* **247**, 3103 (1982). Toxicity data: T. B. Gaines, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **14**, 515 (1969). Review of distribution, transport and fate in the environment: M. S. Mulla *et al.*, *Residue Rev.* **81**, 1-159 (1981); of carcinogenic risk: *IARC Monographs* **30**, 103-129 (1983).

Properties: Deep brown to yellow liq, mp 2.9°. bp_{156-157°}. Characteristic odor. d₂₅ 1.23. n_D 25 1.4985. Vapor pressure at 30°: 4 × 10⁻⁵ mm Hg. Slightly sol in water (145 ppm). Misc with many organic solvents including alcohols, esters, ketones, ethers, aromatic and alkylated aromatic hydrocarbons and vegetable oils. Limited soly in certain paraffin hydrocarbons. Petroleum ether is sol to about 35% in malathion. Hydrolyzed at pH >7.0 or <5.0. Stable in an aq soln buffered to pH 5.26. LD₅₀ in female, male rats (mg/kg): 1000, 1375 orally (Gaines).

Melting point: mp 2.9°

Boiling point: bp_{156-157°}

Index of refraction: n_D 25 1.4985

Density: d₂₅ 1.23

Toxicity data: LD₅₀ in female, male rats (mg/kg): 1000, 1375 orally (Gaines)

CAUTION: Potential symptoms of overexposure are miosis, aching eyes, blurred vision and lacrimation; eye and skin irritation; salivation; anorexia, nausea, vomiting, abdominal cramps, diarrhea, giddiness, confusion and ataxia; rhinorrhea, headache; tightening of chest, wheezing and laryngeal spasms. See *NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards* (DHHS/NIOSH 97-140, 1997) p 188.

Use: Insecticide.

Therap-Cat: Pediculicide.

Therap-Cat-Vet: Ectoparasiticide.

图 4b. 数据库检索的第二个结果

图 5 显示的碎片离子与图 2 的 m/z 331 MS/MS 实验结果相符。所以，马拉硫磷是从 Merck Index 查到的比较可能的判断。

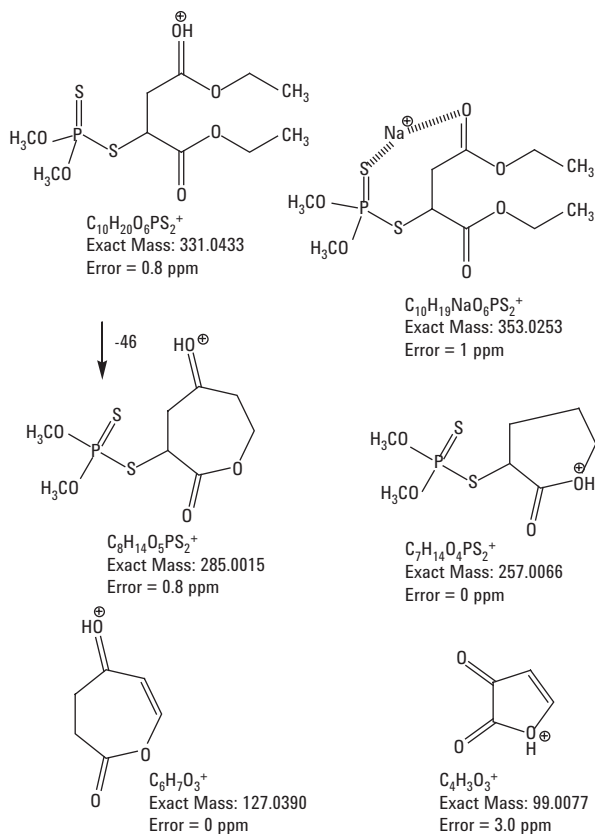


图 5. 马拉硫磷可能的碎片

下一步是用 LC/MSD TOF 获得精确质量。图 6a 是总离子流图，因为使用了相同的 HPLC 柱，两个仪器对于总离子流图中 Star*TIC 获得了非常相近的保留时间。图 6b 显示了精确质量数为 m/z 331.0435，只有一种分子式符合，为 $C_{10}H_{19}O_6PS_2$ 。

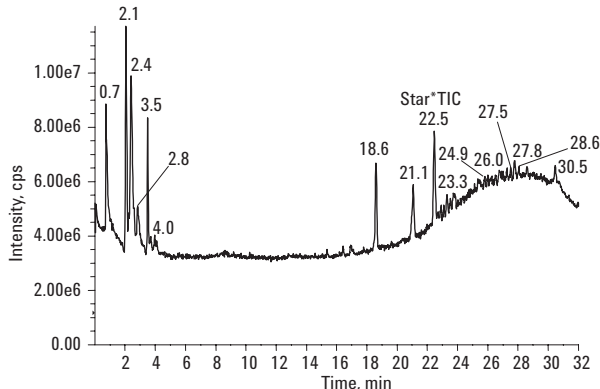


图 6a. 用 LC/MS TOF 分析黄瓜提取物

当该分子式输入 Merck Index 数据库进行查询时，只有马拉硫磷符合（图 7）。

所以，精确质量给出了同样的分子式，与离子阱测定结果相符。另外，图 6b 也给出了可能的未知化合物碎片离子 m/z 353.0256, 285.0017, 127.0389 和 99.0081 的精确质量数。这些精确质量的离子与离子阱在 m/z 331 的测定结果相符（除去加和离子 m/z 353）。这些离子的质量与图 5 的分子式相符，包括 m/z 331 的与钠离子的加和离子。因此，鉴定结果具有很高的可信度。

最后与标准鉴别比较。使用离子阱 MS/MS 和 LC/MS TOF 同时测定；两个仪器均给出了正确的鉴定。马拉硫磷是黄瓜中违禁的物质，所以该鉴定意义重大。基于未知物鉴定方案，该化合物的分子离子获得 2 分， m/z 285 的离子获得 2 分，MS/MS 中从 m/z 331 变到 m/z 285 获得 1.5 分，该化合物共获得 5.5 分。鉴定食品中未知违禁物质需要 4 分（见 Stolker 等的参考文献 [5] 和 Ferrer 与 Thurman 所著的书 [6]）。这两种仪器的互补性也在下面的未知样品分析中给出。

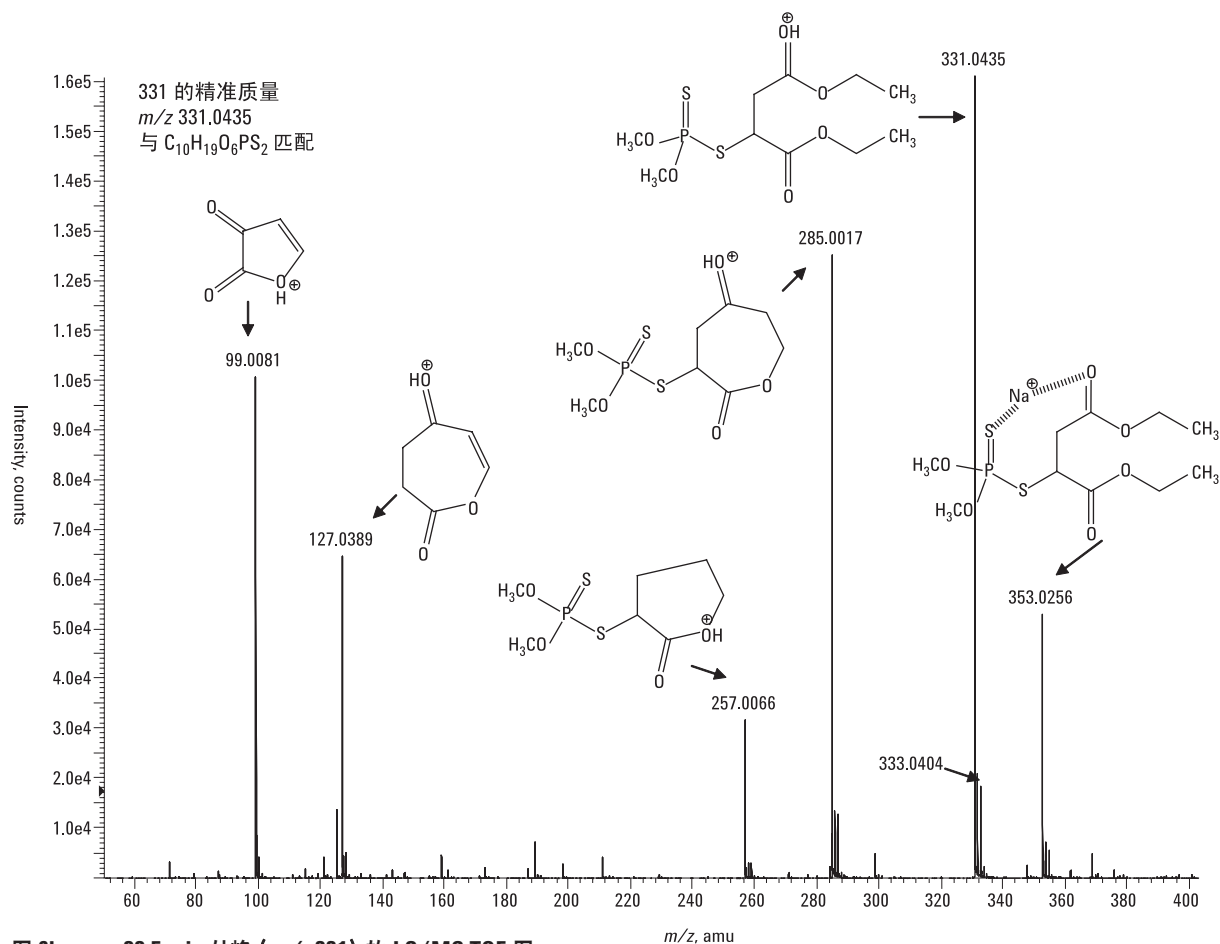


图 6b. 22.5 min 处峰 (m/z 331) 的 LC/MS TOF 图



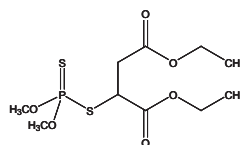
CambridgeSoft

Monograph Number: 5723

Title: Malathion

CAS Registry Number: 121-75-5

CAS Name: [(Dimethoxyphosphinothioyl)thio]butanedioic acid diethyl ester



Additional Names: diethyl mercaptosuccinate S-ester with O,O-dimethyl phosphorothioate; S-(1,2-dicarbethoxyethyl) O,O-dimethyldithiophosphate; insecticide no. 4049; carbofos; malathion (obsolete); mercaptothion; phosphothion

Manufacturers' Codes: ENT-17034

Trademarks: Cythion; Derbac-M (International); Malamar 50; Malaspray; Organoderm (Mundipharma); Prioderm (Coates & Cooper); Suleo-M (International)

Molecular Formula: $C_{10}H_{19}O_6PS_2$

Molecular Weight: 330.36

Percent Composition: C 36.36%, H 5.80%, O 29.06%, P 9.38%, S 19.41%

Literature References: Cholinesterase inhibitor. Prepn: Johnson *et al.*, *J. Econ. Entomol.* **45**, 279 (1952); Cassaday, *US 2578652* (1951 to Am. Cyanamid).

Purification: Usui, *US 2962521* (1960 to Sumitomo). Treatment of *Pediculus humanus* (head lice) infestation: D. Taplin *et al.*, *J. Am. Med. Assoc.* **247**, 3103 (1982).

Toxicity data: T. B. Gaines, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **14**, 515 (1969). Review of distribution, transport and fate in the environment: M. S. Mulla *et al.*, *Residue Rev.* **81**, 1-159 (1981); of carcinogenic risk: *IARC Monographs* **36**, 103-129 (1983).

Properties: Deep brown to yellow liq, mp 2.9°. bp 156-157°. Characteristic odor. d 25 1.23. n_D^{25} 1.4985. Vapor pressure at 30°: 4 × 10⁻⁵ mm Hg. Slightly sol in water (145 ppm). Misc with many organic solvents including alcohols, esters, ketones, ethers, aromatic and alkylated aromatic hydrocarbons and vegetable oils.

Limited sol in certain paraffin hydrocarbons. Petroleum ether is sol to about 35% in malathion. Hydrolyzed at pH >7.0 or <5.0. Stable in an aq soln buffered to pH 5.28. LD₅₀ in female, male rats (mg/kg): 1000, 1375 orally (Gaines).

Melting point: mp 2.9°

Boiling point: bp 156-157°

Index of refraction: n_D^{25} 1.4985

Density: d 25 1.23

Toxicity data: LD₅₀ in female, male rats (mg/kg): 1000, 1375 orally (Gaines)

CAUTION: Potential symptoms of overexposure are miosis, aching eyes, blurred vision and lacrimation; eye and skin irritation; salivation; anorexia, nausea, vomiting, abdominal cramps, diarrhea, giddiness, confusion and ataxia; rhinorrhea, headache; tightening of chest, wheezing and laryngeal spasms. See NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards (DHHS/NIOSH 97-140, 1997) p 188.

Use: Insecticide.

Therap-Cat: Pediculicide.

Therap-Cat-Vet: Ectoparasiticide.

图 7. 在数据库中检索 $C_{10}H_{19}O_6PS_2$

西红柿提取物

在这个例子中，使用基本上相同的方法，只是这次先用 LC/MSD TOF 获得源内 CID 谱图。图 8a 显示了西红柿中白色粉末快速提取物的 Star*TIC。

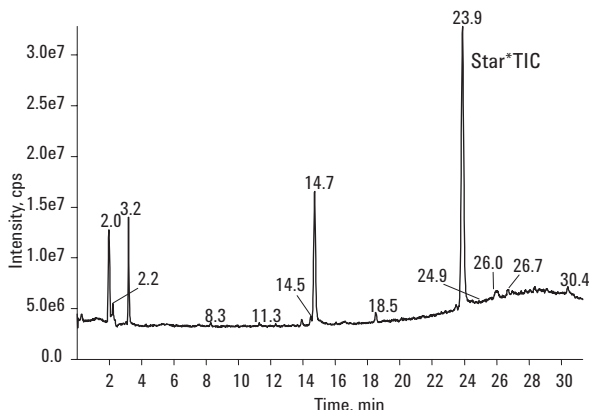


图 8a. 用 LC/MS TOF 分析西红柿提取物

精确质量数为 m/z 306.1642，在检查了 A+2 同位素分布后，知道化合物含一个硫原子，而得出两种可能的分子式。然后，A+1 的相对峰面积相当于 m/z 306 的 17%，表明含 15 个碳原子。见图 8b。

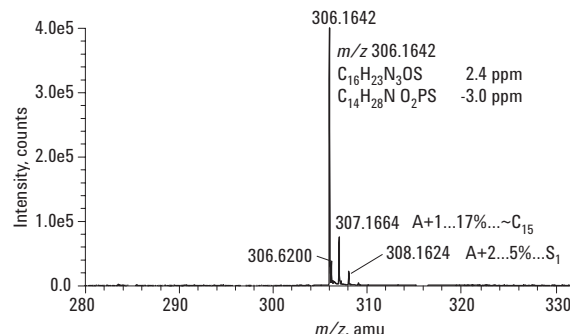


图 8b. 23.9 min 处峰的 LC/MS TOF 图

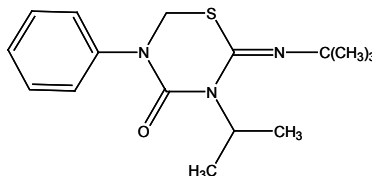
在 Merck Index 数据库中查询这两种分子式，只有一种分子式符合。这种化合物为 $C_{16}H_{23}N_3OS$ ，昆虫生长抑制剂布洛吩。根据 Merck Index 数据库得知，布洛吩常广泛用于杀灭白色昆虫（图 9）。所以，该化合物的可能性非常大。



CambridgeSoft

Monograph Number: 1486

Title: Buprofezin



CAS Registry Number: 69327-76-0

CAS Name: 2-[(1,1-Dimethylethyl)imino]tetrahydro-3-(1-methylethyl)-5-phenyl-4H-1,3,5-thiadiazin-4-one

Additional Names: 2-tert-butylimino-3-isopropyl-5-phenylperhydro-1,3,5-thiadiazin-4-one

Manufacturers' Codes: NNI-750; NNK-758; NN-29285; PP-618

Trademarks: Applaud (Nihon Nohyaku)

Molecular Formula: $C_{16}H_{23}N_3OS$

Molecular Weight: 305.45

Percent Composition: C 62.92%, H 7.59%, N 13.76%, O 5.24%, S 10.50%

Literature References: Insect growth regulator which inhibits chitin synthesis. Prepn: Z. Grunewald *et al.*, **DE 2824126**; K. Ikeda *et al.*, **US 4159328** (1978, 1979 both to Nihon Nohyaku); H. Kanno, *Pure Appl. Chem.*, **59**, 1027 (1987). Mode of action study: T. Asai *et al.*, *Appl. Entomol. Zool.*, **20**, 111 (1985). Control of whiteflies and scale insects: I. Ishaaya *et al.*, *Meded. Fac. Landbouwwet., Univ. Gent*, **54**, 1003 (1989). GC-MS determin in clementine citrus: P. Cabras *et al.*, *J. Agr. Food Chem.*, **46**, 4255 (1998). Persistence in olives and olive oil: *idem et al.*, *Food Addit. Contam.*, **17**, 855 (2000). Review of physical properties, activity and field trials: H. Kanno *et al.*, *Proc. Br. Crop Prot. Conf. - Pests Dis.*, **1981**, 59-68.

Properties: Crystals from isopropyl alcohol, mp 106.1 °C. Solubility at 25 °C (g/l): acetone 240, chloroform 520, ethanol 80, toluene 320; water 0.9 mg/l. Vapor pressure at 25 °C: 9.4 · 10⁻⁶ mmHg. LD₅₀ in mice, rats (mg/kg): 10000, 8740 orally. LC₅₀ (48 hr) in carp: 2-10 mg/l (Kanno, 1981).

Melting point: mp 106.1 °C

Toxicity data: LD₅₀ in mice, rats (mg/kg): 10000, 8740 orally; LC₅₀ (48 hr) in carp: 2-10 mg/l (Kanno, 1981)

Use: Insecticide.

数据库检索结果... $C_{14}H_{28}NO_2PS$...没有相符的
分子量 = $C_{16}H_{23}N_3OS$

图 9. 在数据库中检索 $C_{14}H_{28}NO_2PS$ 和 $C_{16}H_{23}N_3OS$

注意，在图 10 中 m/z 201.1059 这个离子的存在。
LC/MSD 离子阱 MS/MS 的 m/z 306 离子给出 m/z 201 的离子，继续 MS^3 给出 m/z 116 的离子。

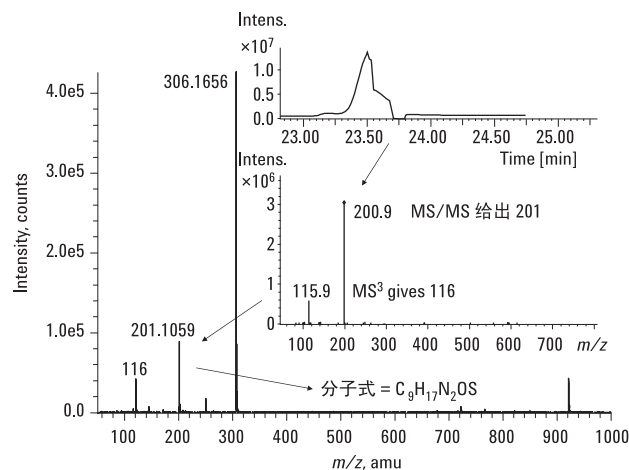


图 10. m/z 306 的 LC/MS TOF 和 LC/MS/MS 离子阱色谱图

另外，预计可获得的 201.1056 碎片离子与 LC/MSD TOF (201.1059) 测定值非常匹配（仅差 0.0003 u），说明鉴定的可靠性很高。在获得布洛吩标准物后，最终的实验数据匹配非常完美，进一步说明 LC/MSD TOF 和 LC/MSDv 离子阱鉴定未知物的能力。布洛吩可以在西红柿中使用；所以，它不是个禁用物质。布洛吩的允许量可以用标准提取后测定，继而制定欧盟蔬菜允许标准。

结论

- LC/MSD TOF 和 LC/MSD 离子阱是鉴定蔬菜中农药的互补且有力的工具，并且提供了使用 LC/MS 方法解决环境食品化学问题的新方案。
- 两种质谱手段的结合加上农药数据库，Merck Index 或 ChemINDEX，可以经常用于未知农药的鉴定。
- 当与 LC/MSD TOF CID 谱图结合测定时，用 MS^2 和 MS^3 鉴定碎片离子也是个很好的手段。
- 将 TOF 和离子阱结合可以用于鉴定未知物 [4, 7]！未来的研究将包含色谱数据，有助于鉴定未知物，并且通过经验分子式计算和同位素比率建立简单的农药谱库。

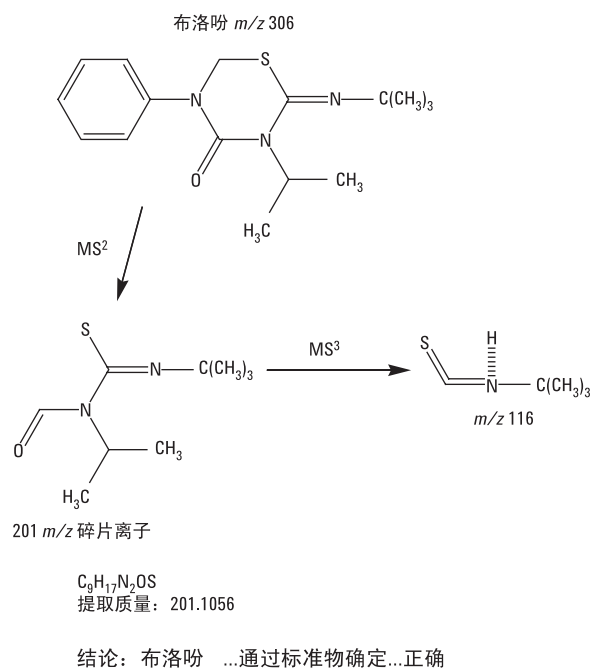


图 11. 从布洛吩结构推论的碎片离子合理结构

参考文献

1. EU Food Directives, 2002, 91/414/EEC
2. Food Quality Protection Act, 1998 (FQPA)
3. Aguera, A.; Lopez, S.; Fernandez-Alba, A.R.; Contreras, M.; Crespo, J.; Piedra, W., 2004, *J. Chromatogr. A.*, **1045**: 125-135.
4. Imma Ferrer and E. Michael Thurman, "Determination of Chloronicotinyl Insecticides in Salad Vegetables by LC/MS/ESI/TOF and LC/MS Ion Trap", Agilent Technologies publication 5989-1842EN, www.agilent.com/chem
5. A.A.M Stolker, E. Dijkman, W. Niesing, E.A. Hogendoorn, 2003, "Identification of residues by LC/MS/MS" In: Imma Ferrer and E. Michael Thurman, editors Liquid Chromatography/Mass Spectrometry/Mass Spectrometry and Time-of-Flight Mass Spectrometry for the analysis of emerging contaminants, (2003) American Chemical Society Symposium Volume 850.
6. Imma Ferrer and E.M. Thurman, (2003), Liquid Chromatography/Mass Spectrometry/Mass Spectrometry and Time-of-Flight Mass Spectrometry for the analysis of emerging contaminants, American Chemical Society Symposium, 850.
7. E. Michael Thurman, Imma Ferrer, A. R. Fernandez-Alba, (2005), "Matching Unknown Empirical Formulas to Chemical Structure Using LC/MS TOF Accurate Mass and Database Searching: Example of Unknown Pesticides on Tomato Skins" *Journal of Chromatography*, Special Issue on Mass Spectrometry, In press.

致谢

Amadeo Fernandez-Alba, Almería 大学水文地质和分析化学部门提供分析支持

带 Chemfinder 的 ChemOffice, Merck Index 和 ChemIndex 是 CambridgeSoft 的产品

ZORBAX® 是 E.I. duPont de Nemours Co. Inc 的注册商标

Millex® 是 Millipore Corp 的注册商标

Merck Index® 是 Merck 的注册商标

Pyrex® 是 Corning Corporation 的注册商标

安捷伦科技公司对本材料中可能有的错误或与装置、性能及材料使用有关内容而带来的意外伤害和问题不负任何责任。

本文的信息、说明和技术指标若有变更,恕不另行通知。

© 安捷伦科技公司, 2005

中国印刷
2005 年 2 月
5989-1924CHCN



Agilent Technologies