

自动质谱退卷积定性系统(AMDIS)用于 重叠农药峰的 GC/MS 质谱图退卷积处理

张伟国¹, 雷宏洲², 韩天祥¹, 吴平², 李重九^{1,*}

(1. 中国农业大学理学院, 北京 100094; 2. 中国农业大学信电学院, 北京 100094)

摘要:采用自动质谱退卷积定性系统(AMDIS)分别对 4 组具有不同重叠程度的农药质谱图进行了退卷积拆分处理,并调用拆分前后的谱图在 NIST 谱库中进行检索。通过对检索结果的分析,初步研究了 AMDIS 对不同重叠程度的农药质谱图的拆分能力,同时对拆分后新建质谱图中错误或丢失离子进行了分析。结果发现,AMDIS 对于扫描数差距大于 1 的重叠农药峰有较好的拆分结果,可有效地排除重叠峰质谱图互相干扰,增加对目标农药定性的准确性,但同时也存在漏筛共存离子、灵敏度低等缺点。

关键词:农药残留;气相色谱-质谱(GC/MS);重叠农药峰;自动质谱退卷积定性系统(AMDIS)

中图分类号:O657.63;TQ453.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-2997(2005)03-155-05

Deconvolution Overlapping Pesticides Gas Chromatography-Mass Spectrometry Using Auto Mass Deconvolution & Identification System(AMDIS)

ZHANG Wei-guo¹, LEI Hong-zhou², HAN Tian-xiang¹, WU Ping², LI Chong-jiu^{1,*}

(1. Collage of Science, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

2. College of Information and Electrical Engineering, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: Auto Mass Spectral Deconvolution & Identification System (AMDIS) was used to deconvolute four examples of overlapped pesticides. The shortcoming and advantage of AMDIS were analyzed. The results show there is a good result when the scan number difference of overlapped pesticide exceeded 1. This advantage will help to remove the interference through overlapping components each other, and confirm results more correctly. On the other hand, there are shortcomings such as missing non-characteristic ions and low detect ability.

Key words: pesticides residue; gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS); overlapped pesticides; auto mass spectral deconvolution & identification system (AMDIS)

农产品中农药残留量超标不仅影响人民身体健康,而且影响我国农产品在国际市场的竞争

收稿日期:2004-11-22;修回日期:2005-03-17

作者简介:张伟国(1978~),男(汉族),黑龙江省绥化人,在读博士研究生,农药残留专业。E-mail:zhangwg161@163.com

*通讯作者:李重九(1948~),女(汉族),北京人,博士生导师。E-mail:cjliu@cau.edu.cn

力,因此引起我国政府高度重视和社会公众的广泛关注。农药残留检测方法需要同时检测几十种、甚至上百种农药。由于色谱的分离能力有限,某些极性、结构类似的农药在色谱图上出现部分甚至完全重叠,以致质谱图互相交错,干扰谱库检索,无法得到理想的结果,难以进行人工解析,因此对重叠农药峰的确证成为农药残留分析的难点。如果能从已生成的质谱数据入手,通过化学计量学的方法对重叠农药峰相对应的质谱数据进行处理,将重叠在一起的农药质谱图重新拆分,提取目标农药,可以避免重复性工作,使残留农药的确证更为准确。

自动质谱退卷积定性系统 (AMDIS) 是由美国国家标准技术局 (NIST) 在 Dromey^[1] 的算法基础上开发的一种退卷积处理质谱数据,“净化”质谱图的软件。作者已利用气相色谱-质谱-自动质谱退卷积定性系统 (GC/MS/AMDIS) 对韭菜中 17 种受基质干扰残留农药进行了确证分析^[2],研究了 AMDIS 去除基质干扰离子的能力。Shai Dagan^[3] 也曾利用 AMDIS 分析了土壤中的 6 种残留农药。目前关于 AMDIS 拆分农药重叠峰的能力进行的探索性研究还未见报道。本工作拟探究 AMDIS 对于扫描数差距大于 1 的重叠农药峰的拆分结果,有效地排除重叠峰质谱图相互干扰,增加对目标农药定性的准确性。

1 实验部分

1.1 主要仪器

Agilent 5973N 气相色谱-质谱仪;美国安捷伦 (Agilent) 公司产品;7683 Series 自动进样器;NIST98 谱库;AMDIS 软件 (NIST)。

1.2 主要试剂

农药标准品:购于德国 Augshurg Dr. Ehrenstorfer-Schafers Labor 和德国 Sigma 公司,用正己烷加合适比例的丙酮溶解制成 0.5 g/L 的标准储备液。

1.3 GC/MS 实验条件

1.3.1 色谱条件 J & W DB-5MS 毛细管色谱柱 (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m);载气 (氦气) 流速 1 mL/min;进样口温度 250 $^{\circ}$ C;不分流进样 1 μ L;升温程序:初始温度 70 $^{\circ}$ C,以 15 $^{\circ}$ C/min 升温至 150 $^{\circ}$ C,保持 1 min,再以 2 $^{\circ}$ C/min 升温至 230 $^{\circ}$ C,5 $^{\circ}$ C/min 升温至 280 $^{\circ}$ C,保持 10 min。

1.3.2 质谱条件 电子倍增器电压 1 100 V;

离子源温度 230 $^{\circ}$ C;四级杆温度 150 $^{\circ}$ C;传输线温度 280 $^{\circ}$ C;质量扫描范围 m/z 50 ~ 450;扫描速度 1 scan/s。

1.4 AMDIS 处理 GC/MS 数据文件

用 AMDIS 对文件中每个离子的质量色谱图进行分析,对不同的峰选取 1 ~ 2 个模型离子 (Model Ion),比较其它离子与模型离子峰在保留时间和峰形上的相似度,确定该离子是否归属于此峰。整个文件扫描后,将所有具有相同保留值和峰形的离子组合成一张新的质谱图。分别对新建谱图、原始谱图在 NIST98 谱库中进行检索,分析比较不同重叠程度对拆分结果的影响。

2 结果与讨论

本研究主要分析色谱峰重叠程度不同对 AMDIS 拆分能力的影响,为了排除浓度差异对拆分结果产生的干扰,调整每组农药的浓度比,使同组之间的农药在总离子流图上有相似的响应值。

2.1 保留时间差距为 3 次扫描的重叠峰拆分

仲丁威 (Fenobucarb) 和残杀威 (Propoxur) 保留时间差距为 3 次扫描,虽然色谱峰部分重叠,但在所选定的保留时间处,各自所对应的质谱图只存在个别离子的干扰:在仲丁威 (Scan: 526) 中,丰度为 40% 的 m/z 110 为来自于残杀威干扰离子;而在残杀威 (Scan: 529) 的扫描谱图中有丰度很小的 m/z 121 干扰离子。调用这两张原始扫描质谱图通过 NIST 谱库检索,相似度和逆相似度都可达到 800 以上 (表 1),可获得较为准确的定性结果。

虽然原始扫描谱图的检索结果已较为准确,但质谱图中仍有一些干扰离子,用 AMDIS 对此重叠峰进行处理后 (图 1),仲丁威 (Scan: 526) 中的干扰离子 m/z 110、残杀威 (Scan: 529) 中的干扰离子 m/z 121 得到了有效的去除,调用拆分提取后的质谱图通过 NIST 谱库检索,检索匹配度与原始扫描谱图相比有一定的提高 (表 1),定性结果更为准确。

-六六六 (-666) 和莠去津 (Atrazine) 的保留时间同样相差 3 次扫描,原始扫描谱图在 NIST 谱库中检索的相似度和逆相似度均大于 800。通过 AMDIS 处理后,相似指数进一步提高,只有 -666 的逆相似度由未提取前的 913 下降为提取后的 889,分析其原因为 AMDIS 对于

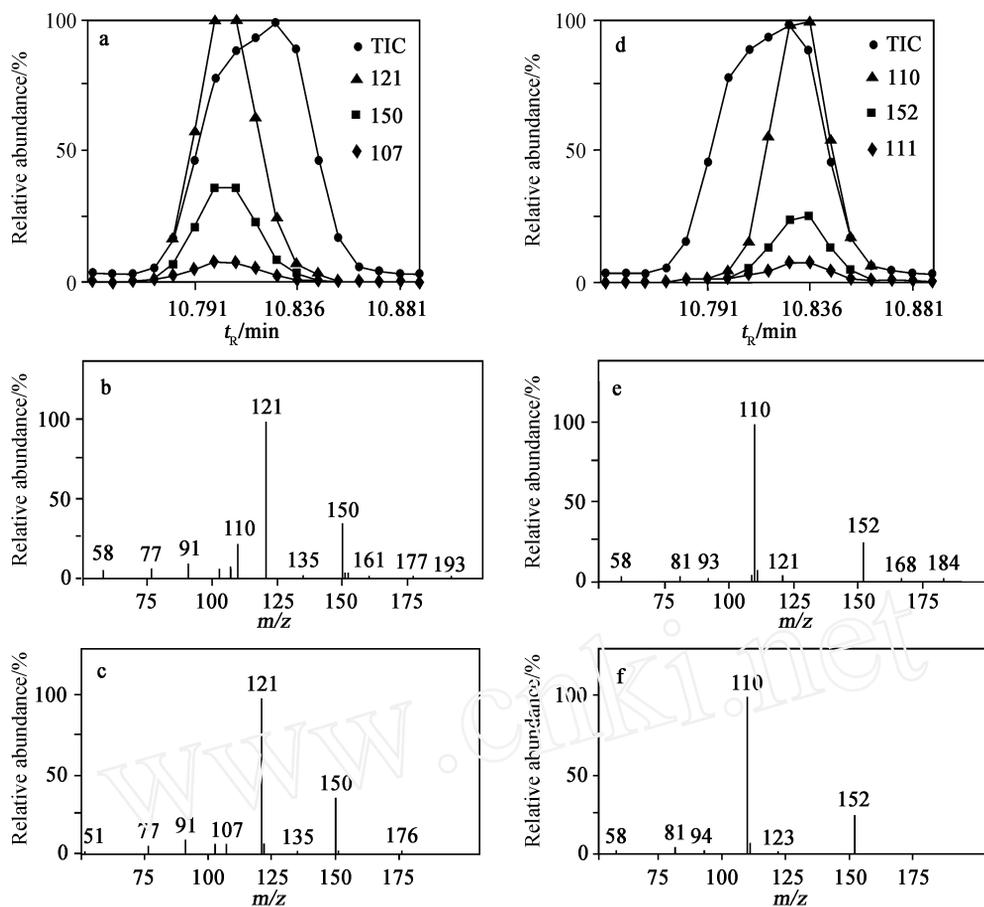


图 1 AMDIS 处理仲丁威和残杀威重叠峰的结果图

Fig. 1 AMDIS deconvolution of a GC/MS peak containing Fenobucarb and Propoxur

a—10.78~10.84 min 总离子流色谱图(TIC)和 m/z 121、150、91 的质量色谱图(total ion and select ion (m/z 121、150、91) chromatogram from 10.78 min to 10.84 min); b—10.81 min 处的质谱图(mass spectrum at 10.81 min); c—仲丁威的提取质谱图(extracted mass spectrum of Fenobucarb); d—10.80~10.86 min 总离子流色谱图(TIC)和 m/z 110、152、111 的质量色谱图(total ion and select ion (m/z 110、152、111) chromatogram from 10.80 to 10.86 min); e—10.84 min 处的质谱图(mass spectrum at 10.84 min); f—残杀威的提取质谱图(extracted mass spectrum of Propoxur)

一些丰度较小的离子的识别程度不够理想,谱图中丰度较小的离子往往会被错误地删除,从而导致逆相似度的降低。在干扰较少的情况时,这一现象尤为明显,但相似度并不会发生太大的变化,AMDIS 这一缺点对定性结果影响不大。

2.2 保留时间差距为 2 次扫描的重叠峰拆分

cis-氯丹(*cis*-chlordane)和乙基溴硫磷(ethyl-bromophos),保留时间相差为 2 次扫描,二者色谱峰重叠在一起。各自保留时间处的原始扫描质谱图存在着大量的来自于对方的干扰离子。图 2(a)为 *cis*-氯丹(Scan:1 559)的质谱图,右上角为在 NIST 谱库中检索的差谱图,通过比较可明显发现 m/z 359、303、242 等来自乙基溴硫磷(Scan:1 561)的干扰离子,而(b)图乙基溴硫磷(Scan:1 561)的质谱图则存在着 m/z 408、373

等 *cis*-氯丹(Scan:1 559)的离子。由于这些干扰离子的存在,使原始质谱图在 NIST 谱库中检索相似度较低(分别为 m/z 786、612),而同时仍然会保持较高的逆相似度(850 以上)(表 1)。

用 AMDIS 对重叠峰处理后,结果示于图 3。去除了彼此之间的离子干扰,重建的质谱图与 NIST 谱图基本吻合,*cis*-氯丹的正、逆相似度超过 900,乙基溴硫磷的相似度也在 800 以上。与未提取前的数据比较有明显的提高。

2.3 保留时间差距为 1 次扫描的重叠峰拆分

溴苯磷(Leptophos)和伏杀硫磷(Phosalone)保留时间分别为 30.90 min、30.91 min,扫描数为 2 768、2 779。色谱峰及质谱图完全重叠,采集 2 768 和 2 769 处所得到的质谱图基本相同,示于图 4。

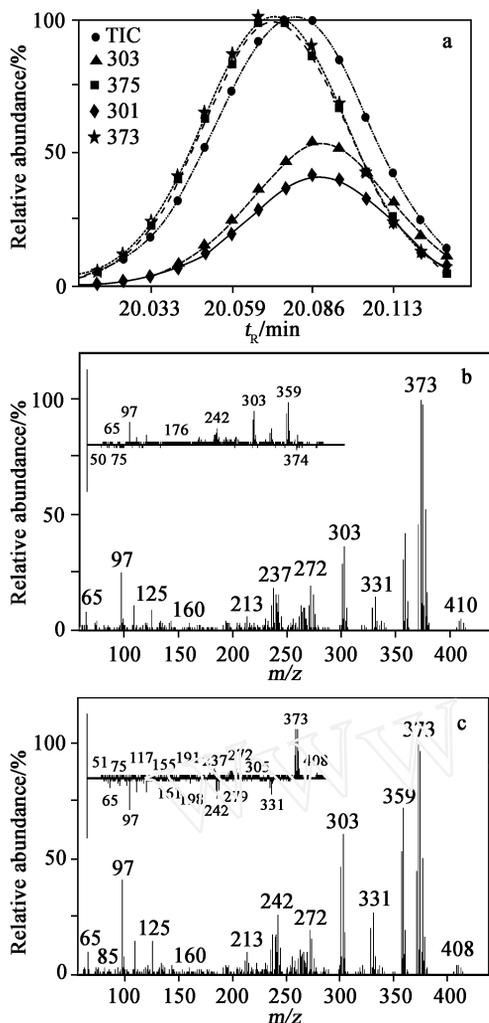


图 2 AMDIS 处理 *cis*-氯丹和乙基溴硫磷重叠峰的结果图

Fig. 2 AMDIS deconvolution of a GC/MS peak containing *cis*-chlordane and ethyl-bromophos

a—20.01 ~ 20.14min 总离子流色谱图(TIC)和 m/z 301、303、373、375 的质量色谱图(total ion and select ion (m/z 301、303、373、375) chromatogram from 20.01 to 20.14 min); b—保留时间 20.07 min 处的质谱图(mass spectrum at 20.07 min); c—保留时间 20.09 min 处的质谱图(mass spectrum at 20.09 min)

根据图 4,通过 NIST 谱库进行检索,在第一位检索到伏杀硫磷相似度和逆相似度分别为 726、871,在第六位检索到溴苯磷正、逆相似度分别为 503、611。此质谱图中,伏杀硫磷的碎片离子 m/z 367、182、121 丰度相对较高,得到了较为理想的检索结果,而溴苯磷的碎片离子丰度相对较弱,检索结果不理想。退卷积处理后,提取质谱图到 NIST 谱库中进行检索,2 768 点提取质谱图在第二位检索到溴苯磷,相似指数上升到 585、780,虽有提高,但仍未达到理想的结果。在

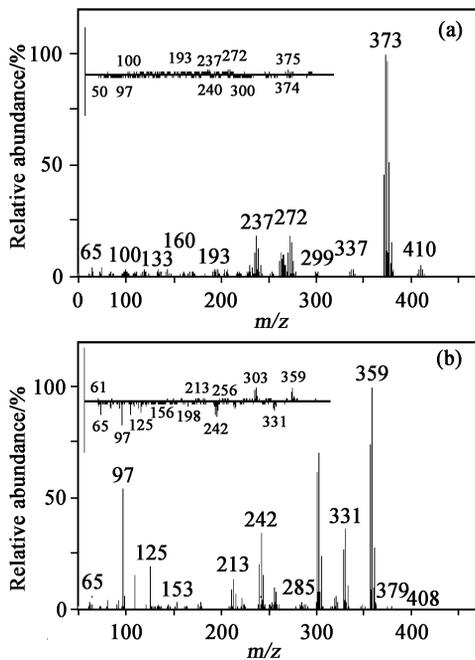


图 3 (a) *cis*-氯丹和 (b) 乙基溴硫磷的提取质谱图
Fig. 3 Extracted mass spectra of (a) *cis*-chlordane and (b) ethyl-bromophos

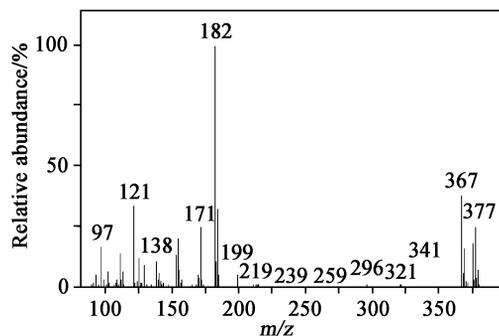


图 4 保留时间 30.91 min 处的质谱图
Fig. 4 Mass spectrum at 30.91 min

2 769 点,提取质谱图进行检索,第一位检索到伏杀硫磷,相似指数分别为 833、855,正相似度有提高,逆相似度有一定的降低。

当扫描数差距为 1 时,离子的峰形及保留时间所存在的差异性已不能满足 AMDIS 实现有效的计算要求,而对离子丰度相对较弱的化合物,AMDIS 的提取效果更加不明显,因此溴苯磷在提取后仍未得到理想的检索结果。对于伏杀硫磷,由于一些丰度较低的离子被去除,与 -666 一样,在经过退卷积处理后逆相似度有所降低。

表1 NIST98对不同重叠程度农药的扫描质谱图、提取质谱图的检索结果

Table 1 Confirmation results of the different overlapping pesticides (scan, extracted spectrum) using NIST98

组 Segment	农药 Pesticide	保留时间 <i>t_R</i> /min	扫描数 Scan number	扫描质谱图 Scan spectrum		提取质谱图 Extracted spectrum	
				相似度 Match	逆相似度 R,Match	相似度 Match	逆相似度 R,Match
1	仲丁威 Fenobucarb	10.81	526	825	874	878	884
	残杀威 Propoxur	10.84	529	901	925	932	935
2	莠去津 Atrazine	12.99	770	800	897	908	915
	-六六六 -666	13.01	773	869	913	889	889
3	<i>cis</i> -氯丹 <i>cis</i> -chlordane	20.07	1 559	786	872	912	915
	乙基溴硫磷 Bromophos-ethyl	20.09	1 561	612	868	844	850
4	溴苯磷 Leptophos	30.90	2 769	503	611	585	780
	伏杀硫磷 Phosalone	30.91	2 770	726	871	833	855
5	艾氏剂 Aldrin	17.04	1 223	870	873	843	858
	禾草丹 Thiobencarb	17.04	1 223	No	No	No	No

注: No—未检索到目标化合物。

2.4 保留时间差距为0次扫描的重叠峰拆分

艾氏剂(Aldrin)和禾草丹(Thiobencarb)保留时间相同,色谱峰完全重叠。由于艾氏剂为环状化合物,在质谱仪中稳定,离子丰度相对较高,所以在NIST谱库中只检索到艾氏剂,正、逆相似度分别为870、873。退卷积处理后,一些丰度相对较弱的禾草丹的离子和艾氏剂的离子都被去除,虽然重建的质谱图可以检索出艾氏剂,但其正、逆相似度都有了一定程度的降低,分别降为843、858,而禾草丹仍未检出。

3 结论

从以上结果可以看出,当色谱重叠峰保留时间差距大于1次扫描时,AMDIS可以拆分色谱图,重建各自的质谱图。但当两化合物完全重叠时,只能检出离子相对丰度强的化合物。在日常分析中使用气相色谱毛细管柱对农药进行分离,出现目标化合物完全重合的几率是比较小的。即使色谱峰完全重合,改变色谱条件或更换色谱柱,只要在一定程度上分离重叠峰,使保留时间的扫描数差异大于1,便可使用AMDIS拆分色

谱图重建质谱图。

AMDIS虽然存在一些问题,但其在拆分重叠峰,增加定性的准确性上却有很强大的功能,在农药残留分析中具有一定的实际应用价值。

参考文献:

- [1] Dromey RG, Stefik MJ, Rindfleisch TC, et al. Extraction of Mass Spectra Free of Background and Neighboring Component Contributions from Gas Chromatography/Mass Spectrometry Data [J]. Anal Chem, 1976, 48(9): 1368~1375.
- [2] 张伟国,陶传江,李重九. GC/MS/AMDIS技术用于韭菜中残留农药的确证[J]. 质谱学报, 2004, 25(3): 141~144.
- [3] Shai Dagan. Comparison of Gas Chromatography-pulsed Flame Photometric Detection-Mass Spectrometry, Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System and Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry as Tools for Trace Level Detection and Identification [J]. J Chromatogr A, 2000, 868: 229~247.