

实时直接分析质谱法快速鉴别天然驱蚊产品中的人工添加剂

祁婉舒 张立* 郭寅龙*

(中国科学院上海有机化学研究所 上海 200032)

摘要 采用 DART-MS(实时直接分析质谱法)建立了一种简单快速测定人工合成驱蚊化合物如 DEET(避蚊胺)、BAAPE(驱蚊酯)等的方法。在常温常压下,无需对天然驱蚊产品进行任何预处理,通过比对标准品的质谱信号离子,即可快速鉴别出天然驱蚊产品中的人工添加剂。该方法大大缩短了分析时间,并且具有原位、准确且高通量的优点。

关键词 实时直接分析; 质谱; 昆虫驱避剂; 快速鉴别

Rapid Identification of Synthetic Compounds in Natural Repellent Products by Direct Analysis in Real Time Mass Spectrometry

Qi, Wanshu Zhang, Li* Guo, Yinlong*

(Shanghai Mass Spectrometry Center, Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Science, Shanghai 200032)

Abstract A rapid and simple method for identification of the synthetic repellent compounds such as DEET and BAAPE has been developed based on direct analysis in real time mass spectrometry (DART-MS). Through this method, the synthetic compounds in natural repellent products can be identified by comparison of characteristic mass spectrometric signals. Without any sample pretreatment, all of these were achieved at room temperature and atmospheric pressure. This method greatly reduces the analysis time, with the advantages of accurate, high throughput and *in situ*.

Keywords direct analysis in real time (DART); mass spectrometry; insect repellent; rapid identification

昆虫驱避剂是一类具有驱避昆虫作用的活性化学物质。其本身没有杀虫活性,而是依据挥发出的气味驱避昆虫。昆虫驱避剂分为植物产生和人工合成两大类^[1]。天然的昆虫驱避剂多来自于桦树皮、柠檬尤加利、香茅、尼姆树中提取的有效成分^[2]。常见的人工合成昆虫驱避剂有 *N,N*-二乙基-3-甲基苯甲酰胺(DEET, 避蚊胺)、丁基乙酰氨基丙酸乙酯(BAAPE, 驱蚊酯)、埃卡瑞丁(KBR 3023)^[3]和 2-乙基-1,3-己二醇(驱蚊醇)(图 1)等。由于昆虫驱避剂可以有效驱避蚊虫叮咬,减少病毒经血液传播,并且具有无毒、效用持久等特点,现已广泛应用于市售的驱蚊产品中,如驱蚊花露水、驱蚊手环、驱蚊贴等。

DEET 自 1946 年由人工合成之初,为美国军队二战时进行丛林战专用,现已成为全球应用最为广泛的驱蚊产品。但伴随而来的对其作用位点及机理^[4]、毒性和安

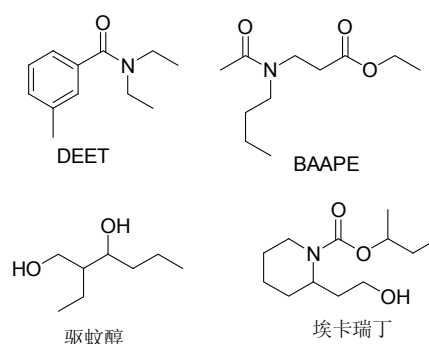


图 1 人工合成的昆虫驱避剂

Figure 1 Synthetic insect repellents

全性的研究^[5,6]从未间断。有研究^[7]表明 DEET 会抑制昆虫和哺乳动物的胆碱酯酶的活性,与氨基甲酸酯类杀虫剂共同使用时能增强其毒性。因此,加拿大卫生部也给

* E-mail: ylguo@mail.sioc.ac.cn

Received September 11, 2012; revised October 12, 2012; published online October 16, 2012.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 21202192, 21275155) and the Innovation Method Fund of China (Nos. 2011IM030200, 2011IM030400, 2011IM030700).

国家自然科学基金(Nos. 21202192, 21275155)及国家科技部创新工作方法(Nos. 2011IM030200, 2011IM030400, 2011IM030700)资助项目。

出了婴幼儿的建议使用频率和使用剂量。

由于昆虫驱避剂的安全性问题日益受到人们的关注,市场上出现很多标明天然植物精油成分的无毒驱蚊产品。然而有极少生产商在标明天然成分的驱蚊产品中加入人工合成的有效成分,从而误导消费者。尤其当这些产品给婴幼儿或孕妇使用时,可能会对其健康造成不利影响。

常用的测定 DEET 的方法有 GC-MS^[8], LC-MS^[9]。这些方法通常需要进行固相萃取、固相微萃取等对样品进行预处理^[10],需要较长的分析时间。而目前,对 BAAPE 和驱蚊醇的检测方法却很少^[11]。针对目前市面上销售的驱蚊产品,还没有直接、快捷、可靠的方法对其中的人工添加剂进行检测。

实时直接直接分析质谱法(DART)作为一种常温常压离子源^[12],自 2005 年首次报道^[13]以来,已被成功应用于药物研发与监管^[14~18]、法医科学^[19~22]、有机化学反应监测^[23~25]、食品安全检测^[26~29]、复杂样品成分分析^[30]、离子化机理研究^[31]等多个领域。DART 是一种非表面接触型热解析/离子化分析技术。其工作原理^[32]是在环境空气条件下,载气(如氮气、氦气或氙气)经放电产生的激发态原子,解吸并离子化样品表面的化合物分子,进而以质谱或串联质谱检测。DART 属于软电离质谱,能使有机物分子电离而又不产生很多的碎片离子。在正离子模式主要检测到 M^+ 和 $[M+H]^+$ 离子,负离子模式下主要检测到 $[M-H]^-$ 离子,并且只产生单电荷离子,简化了图谱,有利于复杂样品的分析。同时, DART 离子化技术适用于气体、固体、液体等各种形态样品的分析,具有简单的样品预处理过程、高通量以及不需要溶剂等优点。本工作采用 DART-MS/MS 方法,无需对

样品进行任何预处理,即可快速鉴别市售的 8 种天然驱蚊产品中人工添加的人工合成昆虫驱避剂成分。并以 DEET 为例,探究了其质谱信号强度与浓度间的关系。

1 结果与讨论

1.1 标准品的检测

利用 DART-MS 分别对标准品避蚊胺、驱蚊酯、驱蚊醇进行 DART 离子源及质谱条件优化,并分别得到其二级质谱图,便于在复杂样品分析时进一步确认,结果如图 2~4 所示。

在正离子检测模式下,三种化合物均会产生 $[M+H]^+$ 峰, DEET 与 BAAPE 还会产生加质子峰 $[M+H]^+$, 而驱蚊醇则没有 $[M+H]^+$ 。从质谱结果可以看出,使用 DART-MS 方法时,确实化合物的碎裂较少,这大大简化了对待测样品的筛选比对过程。

为了进一步说明该方法能在样品浓度较小时,质谱也能有较好的信号响应。我们以 DEET 为例,配制了 $10, 1 \times 10^2, 1 \times 10^3, 1 \times 10^4$ 和 1×10^5 ng/mL 的 DEET 的甲醇溶液,考察了质谱信号强度与浓度之间的关系(图 5, $[M_0]$ 为 1 ng/mL)。横坐标为浓度的对数,纵坐标取 m/z 192 峰的绝对丰度(取 5 次实验的平均值)。随着浓度的增加,特征质谱峰的强度是逐渐增强的。由于市售的驱蚊产品(驱蚊液)的含量多在 4%~5% (40~50 mg/mL 左右),由此可见,该检测方法是可以应用于驱蚊产品的检测的,并且其质谱信号的强度与 DEET 浓度正相关。

1.2 胺类气体的影响

实验中,我们还发现空气中的胺类气体会对实验结果造成影响。于是,我们还研究了胺类如氨气、二甲胺、

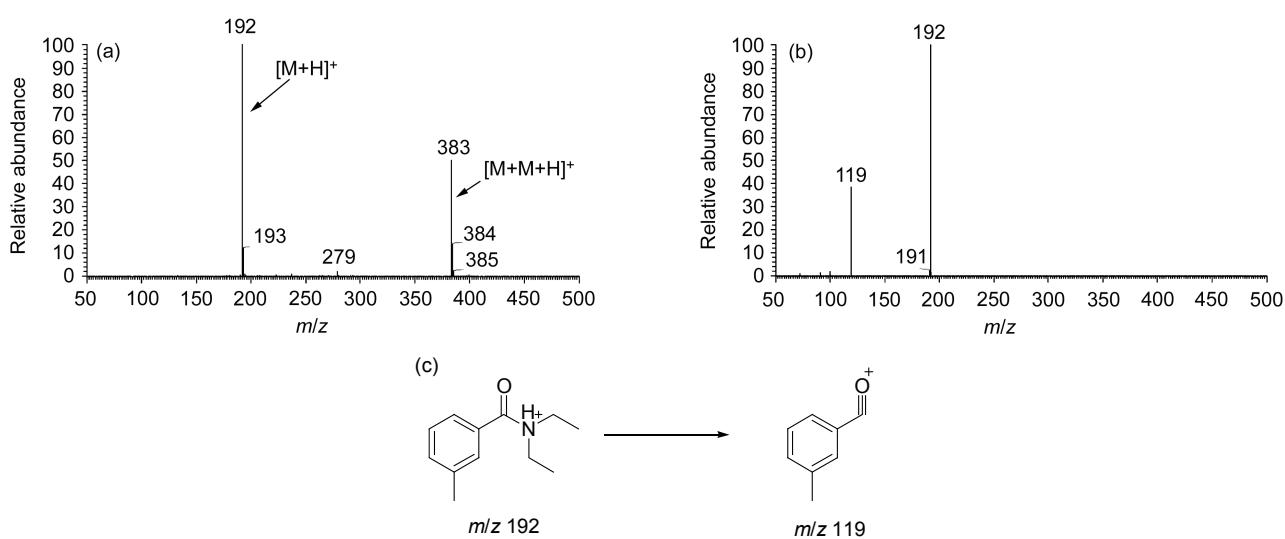


图 2 避蚊胺的(a) DART MS 谱图、(b) m/z 192 的离子对应的 MS/MS 谱图以及(c)可能的裂解方式

Figure 2 (a) DART MS spectra of the DEET, (b) MS/MS spectra of the ion at m/z 192 and (c) proposed fragmentation pathways

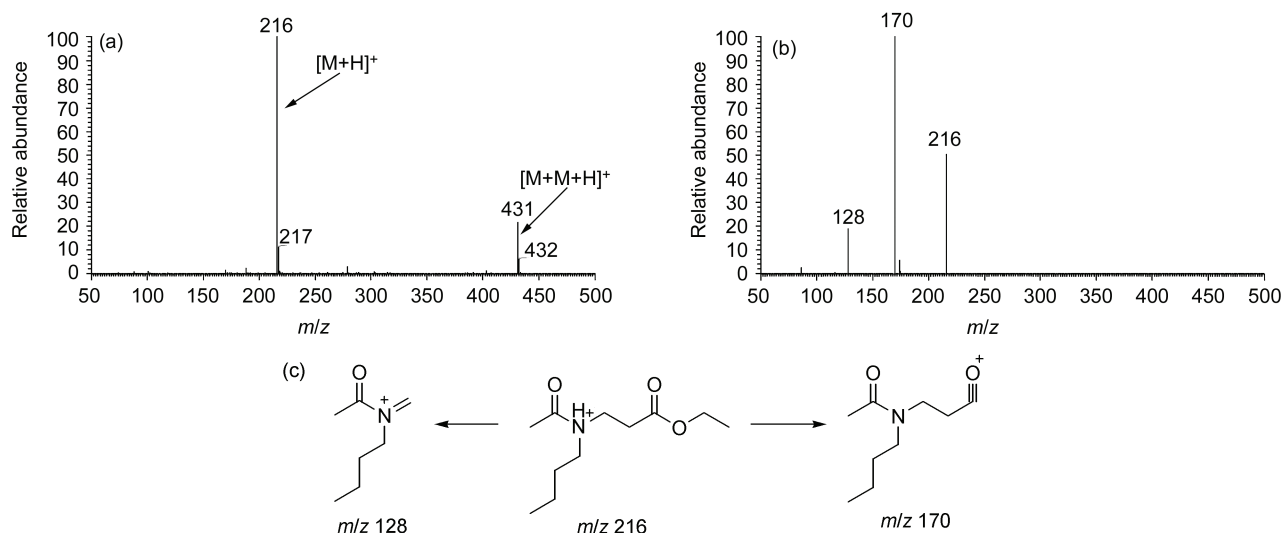


图3 驱蚊酯的(a) DART MS 谱图、(b) m/z 216 的离子对应的 MS/MS 谱图以及(c)可能的裂解方式

Figure 3 (a) DART MS spectra of the BAAPE, (b) MS/MS spectra of the ion at m/z 216 and (c) proposed fragmentation pathways

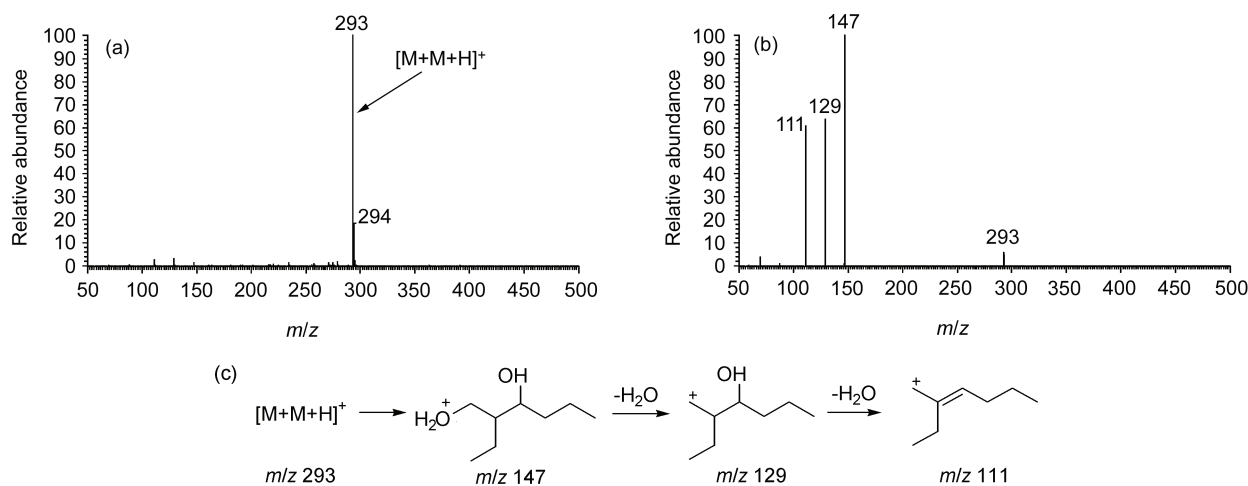


图4 驱蚊醇的(a) DART MS 谱图、(b) m/z 293 的离子对应的 MS/MS 谱图以及(c)可能的裂解方式

Figure 4 (a) DART MS spectra of the $C_8H_{18}O_2$, (b) MS/MS spectra of the ion at m/z 293 and (c) proposed fragmentation pathways

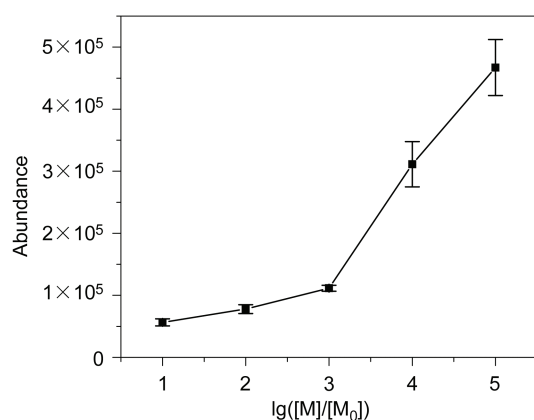


图5 DEET 质谱信号强度与浓度之间的关系

Figure 5 Relationship between the absolute abundance of mass spectra signal and the concentration of DEET

三甲胺、三乙胺的添加对 DART-MS 结果的影响. 尝试了在所配标准品溶液中加入 $10 \mu\text{L}$ 的胺溶液, 再进行 DART-MS 检测. 结果表明, DEET, BAAPE 和驱蚊醇在此条件下可能得到 $[M+NH_4]^+$, $[M+NHMe_2+H]^+$, $[M+NMe_3+H]^+$, $[M+NEt_3+H]^+$ 峰(见表 1). 尤其对于驱蚊醇, 在加入氨水和二甲胺后, 可以分别得到 $[M+NH_4]^+$ 和 $[M+NHMe_2+H]^+$ (见图 6 和图 7, 不经添加时其只能得到 $[M+H]^+$ 峰). 由此可以推断, 对于一些在 DART MS 实验中易于断裂, 不易得到 $[M+H]^+$ 的分子, 通过胺类气体添加, 可以在正离子模式下得到 $[M+NH_4]^+$ 峰, 这将为某些化合物的检测提供方便.

1.3 样品检测

使用优化后的 DART 离子源和质谱条件, 对驱蚊

表 1 胺类化合物的对 DART MS 结果的影响
Table 1 Influence of amine compounds to DART MS

标准品	氨水	二甲胺	三甲胺	三乙胺
避蚊胺	无 ^a	有 ^b	有	有
驱蚊酯	无	有	有	有
驱蚊醇	有	有	无	无

^a加入胺类化合物后, 不产生加合峰; ^b产生了 $[M+N+H]^+$ 峰, N: 胺类化合物。

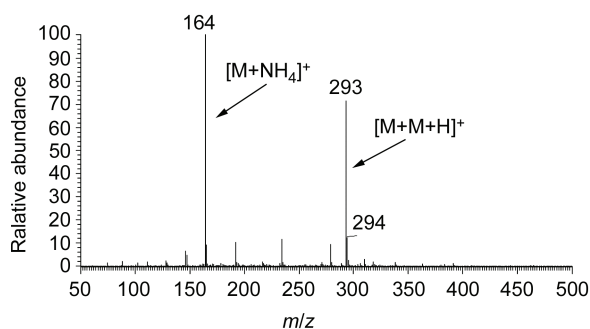


图 6 掺杂氨水后的驱蚊醇的 DART MS 谱图

Figure 6 DART MS spectra of ethohexadiol after doping ammonia

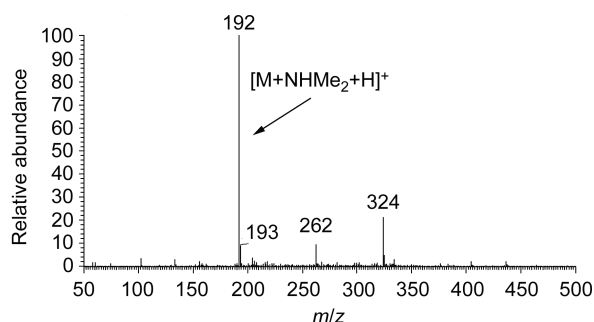


图 7 掺杂二甲胺后的驱蚊醇的 DART MS 谱图

Figure 7 DART MS spectra of ethohexadiol after doping dimethylamine

液、驱蚊手环和驱蚊贴共 8 种样品采取了不同的进样方式进行检测。

驱蚊液: 直接将毛细管末端浸入样品中 5 s, 将毛细管末端放在 DART 离子源气体流出口和质谱进样口之

间。

驱蚊贴和驱蚊手环: 直接用镊子将固体样品放在 DART 离子源气体流出口和质谱进样口连线下方(如图 8)。其中样品 A~D 为驱蚊贴, 样品 E, F 为驱蚊手环, 样品 G, H 为驱蚊液。得到的样品主要质谱峰列在表 2 中。

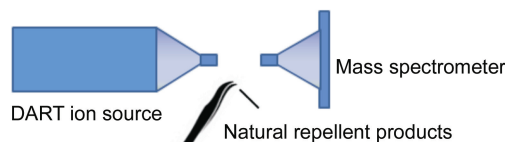


图 8 进样方式示意图

Figure 8 Schematic diagram of the sample injection

从表 2 中可以看出, 只有样品 A 中含有人工合成的驱蚊化合物 DEET, 通过二级质谱实验可以确认该 192 峰确实为 DEET 峰(图 9)。从质谱图可以看出, 对于复杂样品, 该方法中杂质对谱图的影响非常小。每个样品从处理到检测完成的时间少于 1 min。

同时, 我们还采用静态顶空-气相色谱-四极杆质谱(HS-GC-QMS)对样品 A(驱蚊贴)中的挥发性成分进行检测, 取驱蚊贴适量, 放入 20 mL 顶空瓶中, 置于 COMBI PAL 自动进样器中 120 °C 加热 15 min, 同时以 300 r/min 的转速振荡, 顶空气体进样量为 600.0 μL, 总离子流图见图 10。经 NIST2002 库和 Willey 库进行谱图检索, 初步确定其中保留时间在 8.0~12.0 min 范围内的峰 1~8 对应的化合物均为天然精油中的常见成分, 峰 9 对应的化合物为避蚊胺, 对应的质谱图见图 11, 该结果与 DART-MS 分析结果一致。

与 DART-MS 检测方法相比, 采用顶空-气相色谱-质谱联用方法耗时较长, 谱图复杂并易受复杂基质的干扰, 但可获得更为丰富的化合物信息, 实验中我们发现天然精油中的部分成分在 DART-MS 中的响应很低, 这也排除了其他杂质的干扰, 为 DART-MS 方法快速鉴别天然驱蚊产品中的人工添加剂提供了有利条件。

表 2 样品 A~H 的主要质谱特征峰
Table 2 MS spectra peaks of samples A~H

样品编号	质谱特征峰 m/z (%)
A	192 (100.00), 193 (11.21), 383 (42.52), 384 (10.27)
B	152 (65.30), 153 (11.63), 177 (18.80), 204 (14.72), 208 (10.47), 223 (100.00), 224 (13.57)
C	177 (19.24), 223 (100.00), 224 (12.06)
D	81 (11.98), 137 (100.00), 138 (9.90), 153 (13.61), 155 (9.20), 228 (13.52), 307 (19.33)
E	166 (100.00), 167 (7.97), 297 (36.06), 298 (6.30)
F	81 (13.40), 137 (100.00), 138 (10.29), 152 (27.19), 153 (9.96), 223 (13.75), 273 (13.80)
G	88 (11.08), 137 (74.42), 138 (8.40), 153 (24.29), 154 (3.96), 155 (12.02), 177 (14.44), 223 (100.00), 224 (11.91)
H	88 (23.08), 135 (20.62), 137 (100.00), 138 (10.72), 153 (17.52), 154 (11.04), 155 (12.09), 197 (10.43), 337 (21.20)

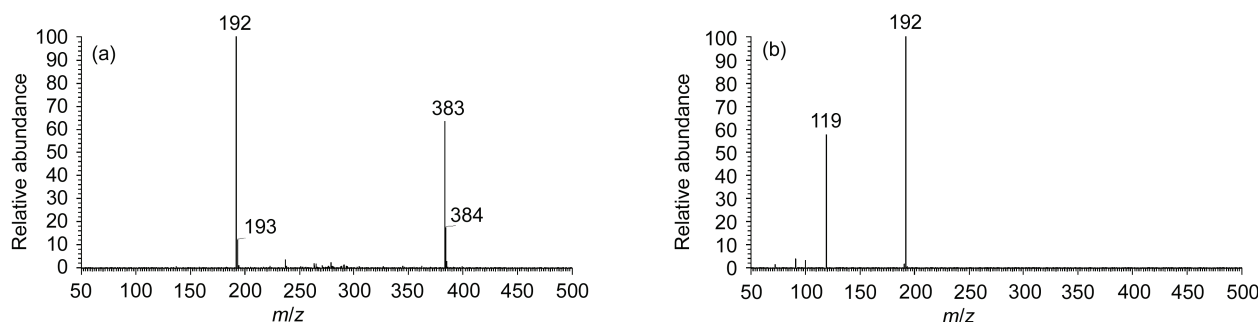


图9 样品 A (a) DART-MS 谱图及(b) m/z 192 的离子对应的 MS/MS 谱图
Figure 9 (a) DART-MS spectra of the sample A and (b) MS/MS spectra of the ion at m/z 192

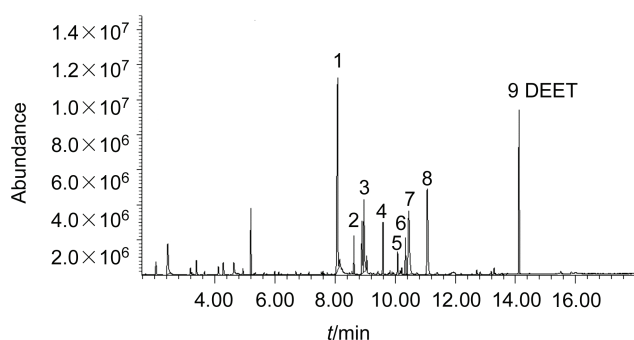


图10 样品 A 中挥发性成分的总离子流图
Figure 10 Total ion chromatograms of volatile components in the sample A

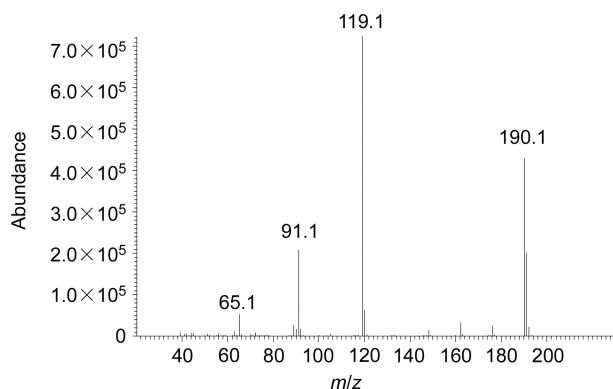


图11 9 号色谱峰的质谱图
Figure 11 MS spectra of peak No. 9

2 结论

采用 DART-MS/MS 方法, 建立了一种快速鉴别和确认天然驱蚊产品中人工合成驱蚊化合物 DEET, BAAPE 和驱蚊醇的方法. 该方法无需对天然驱蚊产品进行任何预处理, 平均只需 1 min 即可完成所有样品制备和质谱检测过程, 实验结果与顶空-气相色谱-质谱联用方法分析结果一致, 具有很好的可靠性. 但 DART-MS/MS 方法大大缩短了分析时间, 具有原位、准确、不

易受复杂基质干扰, 并可适用于该类化合物的高通量鉴别和检测.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

三重四级杆质谱仪(TSQ Quantum Access, 美国 Thermo 公司), 实时直接分析离子源(DART, 美国 Ionsense 公司); 美国安捷伦(Agilent Technologies)公司 GC 7890A/MS 5973N 气相色谱-四级杆质谱联用分析仪, 配 COMBI PAL 自动进样器、PAI System 顶空分析自动控制系统. 8 种标明天然成分的驱蚊产品(驱蚊贴两种、驱蚊手环驱蚊液各两种)均购自当地市场(分别以样品 A, B, C, D, E, F, G, H 标记), 标准品: DEET, BAAPE, 驱蚊醇, 氨水, 二甲胺, 三甲胺, 三乙胺均为分析纯, 甲醇为 HPLC 纯.

3.2 实验方法

3.2.1 DART-MS 分析条件

DART-MS 离子源参数: 栅网电压 350 V, 载气温度 250 °C. 质谱参数: 毛细管温度 270 °C. 在正离子模式下对样品进行分析.

进样方法: 标准品均配成 1 mg/mL 的甲醇溶液, 直接将毛细管末端浸入样品中 5 s, 将毛细管末端放在 DART 离子源气体流出口和质谱进样口之间进行检测.

3.2.2 GC-MS 分析条件

色谱条件: 色谱柱为 DB-WAX 毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 载气为 He, 载气流速为 1 mL/min (恒流模式); 进样口温度 230 °C; 程序升温条件: 初始温度 50 °C, 保持 2 min, 以 15 °C/min 升至 230 °C, 保持 8 min; 溶剂延迟 0.20 min; 分流比: 30 : 1; 顶空气体进样量 600.0 μL.

MS 条件: EI 电离方式; 电子轰击能量 70 eV; 离子源温度 230 °C; 四级杆温度 150 °C; 一级全扫描, 扫描范围 m/z 30~450.

References

- [1] Fradin, M. S. *Annals Intern. Med.* **1998**, *128*, 931.
- [2] Marta Ferreira Maia; Moore, S. J. *Malar. J.* **2011**, *10*, S11.
- [3] [3] Costantini, C.; Badolo, A.; Ilboudo-Sanogo, E. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2004**, *98*, 644.
- [4] Syed, Z.; Leal, W. S. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2008**, *105*, 13598.
- [5] Licciardi, S.; Herve, J. P.; Darriet, F.; Hougard, J. M.; Corbel, V. *Med. Vet. Entomol.* **2006**, *20*, 288.
- [6] Koren, G.; Matsui, D.; Bailey, B. *Can. Med. Assoc. J.* **2003**, *169*, 209.
- [7] Corbel, V.; Stankiewicz, M.; Penetier, C.; Fournier, D.; Stojan, J.; Girard, E.; Dimitrov, M.; Molgo, J.; Hougard, J.-M.; Lapiéd, B. *BMC Biol.* **2009**, *7*, 47.
- [8] Pietrogrande, M. C.; Basaglia, G. *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2007**, *26*, 1086.
- [9] Trenholm, R. A.; Vanderford, B. J.; Holady, J. C.; Rexing, D. J.; Snyder, S. A. *Chemosphere* **2006**, *65*, 1990.
- [10] Peck, A. *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, *386*, 907.
- [11] Marselos, S. C.; Archontaki, H. A. *J. Chromatogr., A* **2002**, *946*, 295.
- [12] Venter, A.; Nefliu, M.; Cooks, R. G. *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2008**, *27*, 284.
- [13] Cody, R. B.; Laramée, J. A.; Durst, H. D. *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 2297.
- [14] Petucci, C.; Diffendal, J.; Kaufman, D.; Mekonnen, B.; Terefenko, G.; Musselman, B. *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 5064.
- [15] Yu, S.; Crawford, E.; Tice, J.; Musselman, B.; Wu, J.-T. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 193.
- [16] Zhou, Z.; Zhang, J.; Zhang, W.; Bai, Y.; Liu, H. *Analyst* **2011**, *136*, 2613.
- [17] Grange, A. H.; Sovocool, G. W. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2011**, *25*, 1271.
- [18] Cheng, X. L.; Li, W. J.; Li, W. J.; Wei, F.; Xiao, X. Y.; Lin, R. C. *Chin. J. Pharm. Anal.* **2011**, *31*, 438 (in Chinese). (程显隆, 李文杰, 李卫健, 魏锋, 肖新月, 林瑞超, 药物分析杂志, **2011**, *31*, 438.)
- [19] Bennett, M. J.; Steiner, R. R. *J. Forensic Sci.* **2009**, *54*, 370.
- [20] Steiner, R. R.; Larson, R. L. *J. Forensic Sci.* **2009**, *54*, 617.
- [21] Howlett, S. E.; Steiner, R. R. *J. Forensic Sci.* **2011**, *56*, 1261.
- [22] Samms, W. C.; Jiang, Y. J.; Dixon, M. D.; Houck, S. S.; Mozayani, A. *J. Forensic Sci.* **2011**, *56*, 993.
- [23] Nath, M.; Saini, P. K.; Eng, G.; Song, X. J. *Organomet. Chem.* **2008**, *693*, 2271.
- [24] Watts, K. R.; Loveridge, S. T.; Tenney, K.; Media, J.; Valeriote, F. A.; Crews, P. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 6201.
- [25] Sanchez, L. M.; Curtis, M. E.; Bracamonte, B. E.; Kurita, K. L.; Navarro, G.; Sparkman, O. D.; Linington, R. G. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3770.
- [26] Vaclavik, L.; Cajka, T.; Hrbek, V.; Hajslova, J. *Anal. Chim. Acta* **2009**, *645*, 56.
- [27] Vaclavik, L.; Rosmus, J.; Popping, B.; Hajslova, J. *J. Chromatogr., A* **2010**, *1217*, 4204.
- [28] Crawford, E.; Musselman, B. *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, *403*, 2807.
- [29] Schurek, J.; Vaclavik, L.; Hooijerink, H.; Lacina, O.; Poustka, J.; Sharman, M.; Caldow, M.; Nielen, M. W. F.; Hajslova, J. *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 9567.
- [30] Zhang, J.; Zhou, Z.; Yang, J.; Zhang, W.; Bai, Y.; Liu, H. *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 1496.
- [31] Yu, Q.; Yu, B. B.; Yue, H.; Jiao, L. L.; Liu, S. Y. *Acta Chim. Sinica* **2012**, *70*, 1650 (in Chinese). (于擎, 于彬彬, 越皓, 焦丽丽, 刘淑莹, 化学学报, **2012**, *70*, 1650.)
- [32] Zhang, J. L.; Huo, F. F.; Zhou, Z. G.; Bai, Y.; Liu, H. W. *Prog. Chem.* **2012**, *24*, 101 (in Chinese). (张佳玲, 霍飞凤, 周志贵, 白玉, 刘虎威, 化学进展, **2012**, *24*, 101.)

(Zhao, C.)