

# 為滿足歐盟法規 709/2014 的要求 驗證戴奧辛及戴奧辛類多氯聯苯 的 GC/MS/MS 確認法

## 應用簡報

食品

### 作者

Joerg Riener  
安捷倫科技公司  
Waldbronn  
Germany

### 摘要

利用 Agilent 7890B GC 和 Agilent 7000C 系列三段四極柱 GC/MS 系統開發出一種 GC/MS/MS 方法，並全面驗證動物飼料中多氯代二苯-對-戴奧辛 (PCDD)、多氯二苯呋喃 (PCDF) 和多氯聯苯 (PCB) 的監測方法，以滿足歐盟法規 709/2014 的要求。儘管質譜的技術存在差異，但該系統的性能與之前歐盟法規所要求的分析平台 GC/HRMS 相似。



**Agilent Technologies**

## 前言

多氯代二苯-對-戴奧辛 (PCDD)、多氯二苯呋喃 (PCDF) 和多氯聯苯 (PCB) 為劇毒的難降解有機污染物 (POP)。因此，為保護環境和人類健康，2001 年頒布的關於 POP 的斯德哥爾摩公約中對其進行了管制 [1]。這些化合物中的許多種類與癌症、內分泌失調和生殖障礙有關。它們是工業過程、農藥生產、焚燒過程及其他來源的副產物。

這些有毒化合物在環境中非常穩定，它們的親脂性使其能够在動物的脂肪組織中累積。因此，歐盟委員會要求必須對市場上銷售的所有食品或動物飼料進行監測，確保這些污染物在此類產品中沒有超出規定的最大濃度 (ML)。歐盟法規還強制要求對食品和飼料中的這些化合物進行持續監測。這些法規能够有效降低人們隨時間推移的接觸量，並減少人們每天對這些有毒化合物的攝入量 [1]。

以前，確認和定量分析痕量戴奧辛需要採用高解析率質譜 (HRMS)。然而，自 2014 年 6 月起，歐盟 (EU) 頒布的法規 (709/2014) 規定了可使用氣相層析儀/串聯質譜 (GC/MS/MS) 系統對食品和飼料中 PCDD、PCDF、戴奧辛類 PCB 和非戴奧辛類 (NDL) PCB 的含量進行確認檢驗，以滿足 EU ML 的要求。這一改變是由於人們發現三段四極柱質譜儀能够提供與 HRMS 系統類似的性能 [2]。

本應用簡報將介紹一項已發表的研究，該研究驗證了氣相層析儀/三段四極柱質譜在植物油中戴奧辛及戴奧辛類 PCB 的確認分析 [1]。使用 Agilent 7890 GC 和 Agilent 7000 三段四極柱 GC/MS 系統，證實這一方法滿足了歐盟法規所規定的嚴格分析標準（例如選擇性、準確度和重現性）的要求。結果與採用 GC/HRMS 所獲得的類似，從而為 GC/HRMS 提供了一種可行且經濟的替代方法。

## 實驗部分

### 試劑和標準品

溶劑和試劑均按所述方式獲得 [1]。使用相應的 13C 標記內標 (EDF-4144，劍橋同位素實驗室 (CIL)) 對 PCDD/PCDF (2,3,7,8 取代) 和非鄰位 (NO-) PCB (PCB 81、77、126 和 169) 的所有同族物進行定量分析。使用回收率標準品 (EDF-4145，替代回收標樣，CIL) 測定回收率。用於 PCDD/PCDF 和 NO-PCB (EDF-4143) 的校正曲線標準品同樣購自 CIL。13C 標記的單鄰位 (MO-)PCB (包括 PCB 105、114、118、123、156、157、167 和 189) 的內標加標溶液 (MBP-MKX) 購自 Wellington Laboratories。利用 EC-4987、EC-5179、EC-4058 (CIL) 和 MBP-MKX 標準品創建 MO-PCB 和 NDL-PCB (PCB 28、52、101、138、153 和 180) 的校正曲線。

## 儀器

本研究採用 Agilent 7890B GC 系統與 Agilent 7000C 系列三段四極柱 GC/MS 系統聯用。儀器條件列於表 1 中。每 10 天採用 EI 高靈敏度自動調諧模式重複對儀器進行校正和調諧，並對儀器性能進行驗證。

表 1. GC/MS 運行條件

GC 條件	
層析管柱	Agilent DB-5 MS UI 60 m × 250 μm × 0.25 μm (部件號 122-5562UI) 進樣口 PTV，出口真空
進樣量	PCDD/PCDF 和 NO-PCB：5 μL MO 和 NDL-PCB：2 μL
進樣口	PTV，用液態 CO <sub>2</sub> 冷卻
進樣口襯管	多擋板，去活，PTV 襯管 (部件號 5183-2037)
進樣模式	溶劑排空 45 °C (3 min)，以 720 °C/min 升溫至 320 °C 排空流速 100 mL/min，壓力 10 psi， 持續 2.8 min 吹掃設置為 5 min 後，流速為 1200 mL/min
載氣	氦氣
載氣模式	恆流
層析管柱流速	0.96 mL/min
滯留時間鎖定	PCB-105，鎖定在 19.66 min 處
柱溫箱升溫程序	120 °C (5 min) 以 25 °C/min 升溫至 250 °C (5 min) 以 3 °C/min 升溫至 285 °C (15 min) MO-PCB 鎰分採用相同程序，不同之處在於在 285 °C 下保持 0 min
總運行時間	41.6 min
質譜條件	
運行模式	電子轟擊電離 (EI)，多反應監測 (MRM)
傳輸線溫度	280 °C
離子源溫度	280 °C
四極柱溫度	150 °C

利用多反應監測 (MRM) 模式進行數據採集，通過調整採集窗口和駐留時間優化採集頻率，達到每個峰獲得 10 個數據點。對每種目標物使用兩個 MRM 離子對，一個用於定量分析，另一個用於定性分析。這兩個離子對使用兩個不同的特定母離子 (通常偏移 2 Da) 和兩個不同的子離子。表 2 提供了分析物滯留時間和 MRM 離子對的完整列表。

定量分析僅採用定量離子對，而定性離子對僅用於驗證兩個離子對之間的離子比率。該流程降低了對錯誤峰或干擾物進行積分的風險。如果離子比率未處於法規 709/2014 規定的可接受限值範圍內 (±15%)，系統將檢查層析圖以確保對合乎要求的峰進行積分。該方法可最大程度降低對干擾物或錯誤峰進行積分的風險。採用 PCB-105 進行滯留時間鎖定。

## 樣品前處理

植物油樣品按所述方法進行製備 [1]。

## 數據採集和分析

利用 Agilent MassHunter 採集軟件 (B.07.02) 採集數據。利用 Agilent MassHunter 定量分析軟件 (B.07.01) 進行數據分析。

表 2. 天然 PCDD、PCDF 單鄰位、非鄰位和 NDL-PCB 同系物以及 <sup>13</sup>C 內標的採集參數

名稱	類型	RT*	定量離子			定性離子		
			母離子	子離子	CE†(V)	母離子	子離子	CE†(V)
<sup>13</sup> C-PCB 28	ndl-PCB	14.19	268.0	198.0	26	270.0	200.0	26
PCB 28	ndl-PCB	14.19	256.0	186.0	26	258.0	188.0	26
<sup>13</sup> C-PCB 52	ndl-PCB	14.79	301.9	231.9	28	303.9	233.9	28
PCB 52	ndl-PCB	14.79	289.9	219.9	28	291.9	221.9	28
<sup>13</sup> C-PCB 101	ndl-PCB	16.81	337.9	267.9	28	339.9	269.9	28
PCB 101	ndl-PCB	16.81	325.9	255.9	28	327.9	257.9	28
<sup>13</sup> C-PCB 123	MO-PCB	18.62	337.9	267.9	28	339.9	269.9	28
PCB 123	MO-PCB	18.62	325.9	255.9	28	327.9	257.9	28
<sup>13</sup> C-PCB 118	MO-PCB	18.74	337.9	267.9	28	339.9	269.9	28
PCB 118	MO-PCB	18.74	325.9	255.9	28	327.9	257.9	28
<sup>13</sup> C-PCB 114	MO-PCB	19.12	337.9	267.9	28	339.9	269.9	28
PCB 114	MO-PCB	19.12	325.9	255.9	28	327.9	257.9	28
<sup>13</sup> C-PCB 153	ndl-PCB	19.43	371.9	301.9	28	373.9	303.8	28
PCB 153	ndl-PCB	19.43	359.9	289.9	28	361.9	291.8	28
<sup>13</sup> C-PCB 105	MO-PCB	19.66	337.9	267.9	28	339.9	269.9	28
PCB 105	MO-PCB	19.66	325.9	255.9	28	327.9	257.9	28
<sup>13</sup> C-PCB 138	ndl-PCB	20.46	371.9	301.9	28	373.9	303.8	28
PCB 138	ndl-PCB	20.46	359.9	289.9	28	361.9	291.8	28
<sup>13</sup> C-PCB 167	MO-PCB	21.56	371.9	301.9	28	373.9	303.8	28
PCB 167	MO-PCB	21.56	359.9	289.9	28	361.9	291.8	28
<sup>13</sup> C-PCB 156	MO-PCB	22.51	371.9	301.9	28	373.9	303.8	28
PCB 156	MO-PCB	22.51	359.9	289.9	28	361.9	291.8	28
<sup>13</sup> C-PCB 157	MO-PCB	22.71	371.9	301.9	28	373.9	303.8	28
PCB 157	MO-PCB	22.71	359.9	289.9	28	361.9	291.8	28
<sup>13</sup> C-PCB 180	ndl-PCB	23.14	405.8	335.8	30	407.8	337.8	30
PCB 180	ndl-PCB	23.14	393.8	323.8	30	395.8	325.8	30
<sup>13</sup> C-PCB 189	MO-PCB	25.76	405.8	335.8	30	407.8	337.8	30
PCB 189	MO-PCB	25.76	393.8	323.8	30	395.8	325.8	30
<sup>13</sup> C-PCB 80	非鄰位 PCB	16.23	301.9	231.9	28	303.9	233.9	28
<sup>13</sup> C-PCB 81	非鄰位 PCB	17.72	301.9	231.9	28	303.9	233.9	28
PCB 81	非鄰位 PCB	17.73	289.9	219.9	28	291.9	221.9	28
<sup>13</sup> C-PCB 77	非鄰位 PCB	18.04	301.9	231.9	28	303.9	233.9	28
PCB 77	非鄰位 PCB	18.05	289.9	219.9	28	291.9	221.9	28
<sup>13</sup> C-2378-TCDF	PCDF	20.32	315.9	251.9	33	317.9	253.9	33
2378-TCDF	PCDF	20.34	303.9	240.9	33	305.9	242.9	33
<sup>13</sup> C6-1234-TCDD	PCDD	20.44	325.9	262.9	28	327.9	264.9	28
<sup>13</sup> C-2378-TCDD	PCDD	20.74	331.9	267.9	24	333.9	269.9	24
2378-TCDD	PCDD	20.75	319.9	256.9	24	321.9	258.9	24
<sup>13</sup> C-PCB 126	非鄰位 PCB	20.93	335.9	265.9	28	337.9	267.9	28
PCB 126	非鄰位 PCB	20.95	323.9	253.9	28	325.9	255.9	28
<sup>13</sup> C-12378-PeCDF	PCDF	23.29	351.9	287.9	35	349.9	285.9	35
12378-PeCDF	PCDF	23.29	339.9	276.9	35	337.9	274.9	35

名稱	類型	RT*	定量離子			定性離子		
			母離子	子離子	CE†(V)	母離子	子離子	CE†(V)
<sup>13</sup> C-23478-PeCDF	PCDF	24.08	351.9	287.9	35	349.9	285.9	35
23478-PeCDF	PCDF	24.10	339.9	276.9	35	337.9	274.9	35
<sup>13</sup> C-PCB 169	非鄰位 PCB	24.19	371.9	301.9	28	369.9	299.9	28
PCB 169	非鄰位 PCB	24.20	359.9	289.9	28	357.8	287.9	28
<sup>13</sup> C-12378-PeCDD	PCDD	24.34	365.9	301.9	25	367.9	303.9	25
12378-PeCDD	PCDD	24.36	355.9	292.9	25	353.9	290.9	25
<sup>13</sup> C-123478-HxCDF	PCDF	27.04	385.8	321.9	35	387.8	323.9	35
123478-HxCDF	PCDF	27.05	373.8	310.9	35	375.8	312.9	35
<sup>13</sup> C-123678-HxCDF	PCDF	27.18	385.8	321.9	35	387.8	323.9	35
123678-HxCDF	PCDF	27.19	373.8	310.9	35	375.8	312.9	35
<sup>13</sup> C-234678-HxCDF	PCDF	27.83	385.8	321.9	35	387.8	323.9	35
234678-HxCDF	PCDF	27.85	373.8	310.9	35	375.8	312.9	35
<sup>13</sup> C-123478-HxCDD	PCDD	28.00	403.8	339.8	25	401.8	337.9	25
123478-HxCDD	PCDD	28.02	389.8	326.9	25	391.8	328.8	25
<sup>13</sup> C-123678-HxCDD	PCDD	28.12	403.8	339.8	25	401.8	337.9	25
123678-HxCDD	PCDD	28.14	389.8	326.9	25	391.8	328.8	25
<sup>13</sup> C-123789-HxCDD	PCDD	28.49	403.8	339.8	25	401.8	337.9	25
123789-HxCDD	PCDD	28.50	389.8	326.9	25	391.8	328.8	25
<sup>13</sup> C-123789-HxCDF	PCDF	28.98	385.8	321.9	35	387.8	323.9	35
123789-HxCDF	PCDF	29.00	373.8	310.9	35	375.8	312.9	35
<sup>13</sup> C-1234678-HpCDF	PCDF	31.13	419.8	355.8	36	421.8	357.8	36
1234678-HpCDF	PCDF	31.14	407.8	344.8	36	409.8	346.8	36
<sup>13</sup> C-1234678-HpCDD	PCDD	32.97	437.8	373.8	25	435.8	371.8	25
1234678-HpCDD	PCDD	33.01	423.8	360.8	25	425.8	362.8	25
<sup>13</sup> C-1234789-HpCDF	PCDF	33.97	419.8	355.8	36	421.8	357.8	36
1234789-HpCDF	PCDF	34.00	407.8	344.8	36	409.8	346.8	36
<sup>13</sup> C-OCDD	PCDD	39.38	469.7	405.8	26	471.7	407.8	26
OCDD	PCDD	39.41	457.7	394.8	26	459.7	396.8	26
<sup>13</sup> C-OCDF	PCDF	39.83	453.7	389.8	35	455.7	391.8	35
OCDF	PCDF	39.84	441.7	378.8	35	443.7	380.8	35

\* RT = 滯留時間

† CE = 碰撞能量

## 結果與討論

### 驗證標準

歐盟法規 709/2014 對 PCDD、PCDF、戴奧辛類 PCB 和非戴奧辛類 (NDL) PCB 的 GC/MS 確認方法列出了具體的合規性要求 [1]。這些標準中的某一些標準取決於質譜儀的類型。例如，氣相層析儀/三段四極柱質譜在串聯 (MS/MS) 模式下運行，而 GC/HRMS 則在選擇離子監測 (SIM) 模式下運行。其他要求（如選擇性、上界和下界差異）就兩種儀器的方法學來說均相同。

本研究考慮了每一項標準，並且根據法規要求對飼料中戴奧辛的官方控制進行了全面的方法驗證，從而對該儀器的所有參數和性能進行了系統考察 [1]。該驗證方法易於轉換至其他飼料和食品，因為其採用植物油進行驗證，其最大限量 (ML) 處於這些化合物的最低濃度範圍內 (1.5 pg WHO2005-PCDD/F-PCB-TEQ/g (ppt)) [3]，且分析標準也完全相同。每克毒性當量 (WHO2005-TEQ) 的 ML 值等於經毒性當量因子 (TEF, WHO 2005 年制定) 校正後得到的各個單獨同族物的濃度之和。食品和飼料中 NDL-PCB 的測定標準通常比 PCDD/PCDF 和 DL-PCB 的標準略低，因為 ML 處於 ng/g (ppb) 範圍內易於達到 [4]。然而在本驗證研究中，PCDD/PCDF 和 DL-PCB 的測定標準也適用於 NDL-PCB。例如，歐盟法規 709/2014 [5] 僅規定一種母離子用作 NDL-PCB 的定量和定性 MRM 離子對，但測定 PCDD/PCDF 和 DL-PCB 需要兩種不同的母離子。在本研究中，對 NDL-PCB 也採用兩個特定的母離子。

### 儀器定量極限 (iLOQ)

氣相層析儀/三段四極柱 MS/MS 和 GC/HRMS 方法之間的主要區別之一在於建立合適的定量極限 (LOQ)。高效離子過濾和隨之產生的背景雜訊顯著降低是氣相層析儀/三段四極柱 MS/MS 的主要優勢。該儀器方法的特性在於具有無背景雜訊信號和平坦的基線。結果，使用此類基線測定的任何信噪比 (S/N) 計算結果將產生不真實的 S/N 值。

因此，本驗證研究對方法定量極限 (mLOQ) (考慮到可能的基質效應和空白濃度的實際 LOQ) 與儀器定量極限 (iLOQ) (性能指標 LOQ) 進行了區分。本研究使用統計方法評估氣相層析儀/三段四極柱 MS/MS 方法的 iLOQ，以專業實驗室和歐盟國家參考實驗室 (NRL) 的成員組成的 EU 核心工作組所提供的報告為基礎 [6]。

利用最低可接受校正點的八次重複進樣結果計算 iLOQ，該 iLOQ 被定義為與這些重複測定結果相關的標準偏差 (SD) 的 10 倍。為確定最低可接受校正點，計算得到的最低濃度的所有同族物的相對標準偏差 (RSD) 必須  $\leq 15\%$ 。儘管 15% 的這一標準不包括在法規 709/2014 中，但它是在如此低的分析物濃度下可接受的 RSD 典型值。

此外，法規規定了相對感應因子的可接受偏差（指最低校正點下獲得的平均強度因子 (RF) 與所有點獲得的平均 RF 之差）需要達到  $\leq 30\%$ 。僅在滿足這兩個標準時才可接受該校正線性度。如上一段所述，隨後可使用所得的最低校正濃度確定 iLOQ。

在滿足大多數標準的情況下，計算 iLOQ 時得到的一些例外列於表 3 中。例如，對 1,2,3,6,7,8-HxCDF 的最低校正點進行三次重複分析所得到的 RSD 為 17.9%，在計算 iLOQ 時應當將其排除。然而，這一數據的校正係數 ( $R^2$ ) 非常出色 (0.9990)，最低點的平均 RF 與所有點的平均 RF 之差僅為 -1.21%，因此決定使用這一最低校正點計算 iLOQ。

表 3. iLOQ、校正曲線數據和 mLOQ

	iLOQ (pg/µL)	R <sup>2</sup>	最低校正點 (pg/µL)	最低校正點的 RSD (%)	RF 差值 (%)	平均空白濃度 (ng/kg)	mLOQ (ng WHO2005 TEQ/kg)
<b>PCDF</b>							
2,3,7,8-TCDF	0.010	0.9919	0.016	5.5	-11.82	33	0.010
1,2,3,7,8-PeCDF	0.022	0.9969	0.016	13.7	-9.38	92	0.017
2,3,4,7,8-PeCDF	0.021	0.9922	0.016	7.7	-3.25	8	0.025
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.016	0.9990	0.016	3.8	8.99	17	0.007
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.009	0.9990	0.016	17.9	-1.21	25	0.006
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.007	0.9993	0.016	9.3	7.17	33	0.008
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.020	0.9993	0.016	14.2	-7.19	50	0.018
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.053	0.9946	0.080	9.8	-8.94	92	0.005
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.020	0.9990	0.016	14.9	-2.23	25	0.000
OCDF	0.027	0.9933	0.016	12.4	18.92	83	0.000
						mLOQ 之和	0.096
<b>PCDD</b>							
2,3,7,8-TCDD	0.018	0.9960	0.016	2.5	-1.94	0	0.005
1,2,3,7,8-PeCDD	0.029	0.9949	0.016	12.8	-3.72	0	0.007
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.022	0.9949	0.016	8.9	0.11	8	0.001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.032	0.9996	0.040	4.6	8.23	25	0.014
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.062	0.9962	0.080	4.0	-6.60	17	0.004
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.053	0.9990	0.400	3.4	2.32	100	0.004
OCDD	0.465	0.9900	4.000	2.3	-11.83	100	0.001
						mLOQ 之和	0.036
						PCDD/PCDF mLOQ 之和	0.132
<b>NO-PCB</b>							
PCB 81	0.030	0.9933	0.320	1.7	-10.65	75	0.001
PCB 77	0.037	0.9931	0.320	1.4	-10.31	100	0.005
PCB 126	0.077	0.9905	0.320	1.7	-9.96	92	0.137
PCB 169	0.071	0.9935	0.320	2.1	-7.19	0	0.001
						mLOQ 之和	0.144
<b>MO-PCB</b>							
PCB-105	2.109	0.9958	1.000	9.8	-0.38	100	0.006
PCB-114	1.504	0.9938	1.000	8.8	-4.89	100	0.000
PCB-118	1.930	0.9994	1.000	8.7	15.32	100	0.018
PCB-123	1.537	0.9945	1.000	11.8	-4.86	100	0.000
PCB-156	1.897	0.9892	1.000	5.6	-5.38	100	0.000
PCB-157	1.287	0.9882	1.000	4.2	-7.09	100	0.000
PCB-167	2.067	0.9925	1.000	10.0	-6.32	100	0.001
PCB-189	1.626	0.9893	1.000	2.5	-7.48	100	0.000
						mLOQ 之和	0.025
						PCDD/PCDF-PCB mLOQ 之和	0.300
<b>NDL-PCB</b>							
PCB-28	3.928	0.9944	4.000	2.0	8.39	100	994.601*
PCB-52	6.530	0.9983	4.000	1.5	16.98	100	1909.234
PCB-101	2.733	0.9964	4.000	2.4	11.11	100	1303.266
PCB-138	1.587	0.9817	4.000	4.3	-5.59	100	161.674
PCB-153	1.469	0.9780	4.000	2.0	-6.03	100	171.672
PCB-180	0.904	0.9723	4.000	0.4	-1.64	100	34.941
						mLOQ 之和	4575.388

\* 報告為 ng/kg



NDL-PCB 的 iLOQ 遠高於 PCDD、PCDF 和非鄰位 (NO-)PCB，其中一些 iLOQ 也高於單鄰位 (MO-)PCB 的 iLOQ (表 3)。這是由於同族物的 1 pg/ $\mu$ L 最低校正點在計算 NDL-PCB 的 iLOQ 時被排除，因為其 RF 差值 > 30% 並且 RSD > 15%。然後使用 4 pg/ $\mu$ L 校正點計算所有 NDL-PCB 的 iLOQ，因為該點所有 RSD 值均遠低於 15%。儘管對於六種 NDL-PCB 中的三種化合物 (PCB-138、PCB-153 和 PCB-180) 而言， $R^2$  值略低於 0.9900，但 RF 差值非常低，4 pg/ $\mu$ L 校正點也用於計算這三種 NDL-PCB 的 iLOQ。計算得到的所有分析物的 iLOQ 值均與利用 GC/HRMS 所獲得的結果接近 (數據未示出)。

### 方法定量極限 (mLOQ)

mLOQ 是實際環境下方法的真實分析靈敏度的指標。通過重複分析空白樣品來測定同族物的方法定量極限，在這種情況下對每個同族物採用 12 個程序空白樣品，由此計算平均值和 SD。mLOQ 的定義使高於 mLOQ 的值被統計驗證是因樣品中存在同族物而並非來自背景雜訊。這樣，mLOQ 被定義為空白加六倍標準偏差的平均值。

表 3 列出了 35 種同族物中每種化合物的 12 個單獨程序空白所得到的平均空白濃度以及 mLOQ (ng WHO2005TEQ/kg)。在本研究中基於 4 g 的樣品量對 35 種同族物中的大多數化合物進行了分析，得出了用於計算 mLOQ 的可測定空白濃度 (表 3)。對於空白中不存在的同族物 (2,3,7,8-TCDD、1,2,3,7,8-PeCDD 和 PCB-169)，通過將 iLOQ 調整至樣品量來確定其 mLOQ。

歐盟法規規定的 PCDD 和 PCDF 之和 (WHO2005-PCDD/F-TEQ/kg) 的 ML 為 0.75 ng/kg，PCDD、PCDF、NO-PCB 和 MO-PCB 之和 (WHO2005-PCDD/F-PCB-TEQ/kg) 的 ML 為 1.50 ng/kg，6 種 NDL-PCB 之和的 ML 為 10  $\mu$ g/kg。法規要求 mLOQ 必須小於 ML 的 20%。表 3 示出了用於直接比較 ML 的每個同族物組的 mLOQ 之和。0.132 ng WHO2005-PCDD/F-TEQ/kg 之和為 ML 的 18%，0.30 ng WHO2005-PCDD/F-PCB-TEQ/kg 之和為 ML 的 20%。就這兩組同族物而言，該方法符合法規要求。對於 NDL-PCB，其總和為 4.6  $\mu$ g/kg，大於 ML 的 20%。這是由於實驗室的污染程度較高，採用 GC/HRMS 方法時也同樣能看到這一現象。

### 選擇性與定量/定性離子對

歐盟法規未對氣相層析儀/三段四極柱 MS/MS 方法的選擇性設定特定標準。然而，三段四極柱離子過濾可得到平坦的基線，使這些層析圖與使用 GC/HRMS 得到的層析圖差異很大。為避免信號的任何人為增強並盡可能接近原始數據，本研究中使用未經平滑的層析圖。極難分離的 1,2,3,4,7,8- 和 1,2,3,6,7,8-六氯代呋喃同族物 (HxCDF) 獲得了基線分離。使用平滑的層析圖校正未觀察到準確度或精密度 (RSD) 結果的改善。

使用定量離子與定性離子的強度比率 (定量/定性) 確保不存在干擾物和正確的峰積分。某一分析物的定性離子對 (帶有 +2 Da 偏移的定量離子對) 具有較低強度，而定量 MRM 離子對則具有更高強度，則使用相同的碰撞能量等質譜參數根據校正曲線由實驗確定定量/定性比率 (表 4)。PCDD/PCDF 和 DL-PCB 的允許容差為  $\pm 15\%$ ，NDL-PCB 則更高 [1]。為保證獲得準確結果，無論同族物定量/定性比率是否超出範圍，均需要更深入地考察原始數據。



表 4. 定量/定性離子比率測定平均值

	平均值	RSD%	容差 (%)
<b>PCDF</b>			
2,3,7,8-TCDF	94.0	14	15
1,2,3,7,8-PeCDF	81.7	14	15
2,3,4,7,8-PeCDF	88.0	26	15
1,2,3,4,7,8-HxCDF	62.3	19	15
1,2,3,6,7,8-HxCDF	60.8	10	15
2,3,4,6,7,8-HxCDF	62.7	10	15
1,2,3,7,8,9-HxCDF	62.6	16	15
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	76.1	11	15
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	82.3	29	15
OCDF	93.0	20	15
<b>PCDD</b>			
2,3,7,8-TCDD	96.4	10	15
1,2,3,7,8-PeCDD	81.6	21	15
1,2,3,4,7,8-HxCDD	64.7	15	15
1,2,3,6,7,8-HxCDD	64.4	17	15
1,2,3,7,8,9-HxCDD	73.3	19	15
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	79.7	18	15
OCDD	94.3	12	15
<b>NO-PCB</b>			
PCB 81	64.3	14	15
PCB 77	62.4	1	15
PCB 126	95.1	9	15
PCB 169	73.3	8	15
<b>MO-PCB</b>			
PCB-105	30.5	4	15
PCB-114	30.0	3	15
PCB-118	30.3	2	15
PCB-123	29.9	3	15
PCB-156	46.8	2	15
PCB-157	47.6	3	15
PCB-167	47.0	2	15
PCB-189	62.7	2	15
<b>NDL-PCB</b>			
PCB-28	31.8	2	25
PCB-52	63.2	1	20
PCB-101	30.5	3	25
PCB-138	47.3	2	25
PCB-153	47.4	2	25
PCB-180	62.9	2	20

## 背景扣除

可通過扣除以相同方式製備的相同類型樣品的單獨空白來校正所測得的分析物濃度。每一系列樣品採用一個這種空白（例如每 10 個樣品 1 個空白）。或者，隨時間測得的一系列受控空白的平均空白值可用於校正。後一種方法具有兩項優勢，故本研究中採用這種方法。隨時間變化繪製的控制濃度圖能夠看出趨勢，突出污染問題，並為污染控制提供前瞻方法。其次，該方法在單個樣品系列中可減小統計異常空白值的影響。在置信區間內對主動控制的空白濃度進行平均有助於對此類異常值作重複進樣，反過來也可將空白的統計變異包括在測定不確定度中，這種不確定度可在控制濃度圖中得到監測。這是測定 mLOQ 的要點。

## 準確度

使用葵花籽油中的加標樣品對 PCDD/PCDF、NO-PCB 和 MO-PCB 的方法偏差進行評估。沒有在未加標植物油基質空白中發現同族物。在三天內對加標兩倍 ML (2ML)、ML 和一半 ML (ML/2) 的六個樣品系列進樣（每天兩個系列），所有樣品的結果均處於可接受的重現性限值內（表 5）。結果完全滿足歐盟法規的要求，方法偏差小於 20% 且隨機誤差 (%RSD) 小於 15% [1]。

表 5. 使用加標 ML 附近三個濃度的六個樣品系列所得到的 DL-PCB 和 PCDD/PCDF 的方法偏差

	目標值*	平均值*	SD	RSD%	偏差%
<b>DL-PCB</b>					
2ML	1.3	1.26	0.02	1.6	-3.42
ML	0.65	0.59	0.02	3.4	-8.53
ML/2	0.33	0.31	0.03	9	-7.00
<b>PCDD/PCDF</b>					
2ML	1.58	1.6	0.03	2.2	1.3
ML	0.79	0.78	0.04	5.7	-1.54
ML/2	0.4	0.41	0.03	7.1	2.36

\* ng WHO2005TEQ/kg

## 品質控制與穩定性

在實驗室中製備的兩個空白和兩個 QC 樣品（猪油）於 2013 年 9 月至 10 月以及 2014 年 4 月和 5 月（約 6 個月後）期間每周進樣兩次。所有 QC 樣品值均處於 95% 的置信區間內（圖 1）。其中包括 6 個月期間系統用於其他目的（包括系統排空和多次更換層析管柱）之後運行的 QC 樣品。

## 結論

歐盟法規 709/2014 允許使用氣相層析儀/三段四極柱 MS/MS 作為動物飼料中 PCDD、PCDF 和 DL-PCB 官方控制的確認方法，根據該法規的標準開發出一種氣相層析儀/三段四極柱 MS/MS 方法並對其進行了全面驗證。所開發的方法採用 Agilent 7890B GC 系統與 Agilent 7000C 系列三段四極柱 GC/MS 系統聯用，方法滿足法規要求並可獲得與 GC/HRMS 類似的性能。儘管質量分析器技術存在差異，但獲得的實際測定不確定度處於 HRMS 方法的典型範圍內，且分析參數非常相近。遵循最嚴格的標準是為證明該方法在最大濃度 (ML) 測定方面可提供準確、一致且可靠的結果。

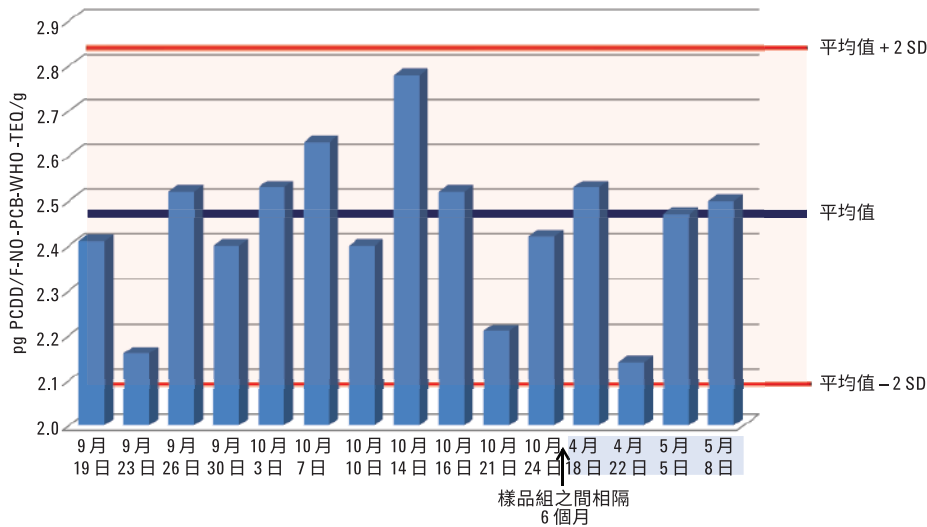


圖 1. 9-10 月與 4-5 月驗證期間的 QC 圖。所有值均處於 95% 的置信區間內 ( $\pm 2$  SD)

## 參考文獻

1. B. L'Homme, G. Scholl, G. Eppe, J.-F. Focant. "Validation of a gas chromatography–triple quadrupole mass spectrometry method for confirmatory analysis of dioxins and dioxin-like polychlorobiphenyls in feed following new EU Regulation 709/2014." *J. Chromatogr. A* **1376**, 149-58 (2015)
2. J.-F. Focant, G. Eppe, C. Pirard, A.-C. Massart, J.-E. André, E. De Pauw. "Levels and congener distributions of PCDDs, PCDFs and non-ortho PCBs in Belgian food stuffs: assessment of dietary intake" *Chemosphere* **48**, 167–179 (2002)
3. A. Kotz, R. Malisch, K. Wahl, N. Bitomsky, K. Adamovic, I. Gerteisen, S. Leswal, J. Schächtele, R. Tritschler, H. Winterhalter. "GC–MS/MS determination of PCDD/Fs and PCBs in feed and food – comparison with GC–HRMS" *Organohalogen Compd.* **73**, 688–691 (2011)
4. Commission Regulation (EC) No 277/2012 of 28 March 2012 amending Annexes I and II to Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council as regards maximum levels and action thresholds for dioxins and polychlorinated biphenyls, *Offic. J. Eur. Commun.* (2012), L91/1-7
5. Commission Regulation (EU) No 709/2014 of 20 June 2014 amending Regulation (EC) No 152/2009 as regards the determination of the levels of dioxins and polychlorinated biphenyls, *Offic. J. Eur. Commun.* (2014), L188/1-18
6. A. Kotz, R. Malisch, J.-F. Focant, G. Eppe, T. L. Cederberg, P. Rantakokko, P. Fürst, T. Bernsmann, L. Leondiadis, C. Lovasz, G. Scortichini, G. Diletti, A. Di Domenico, A.M. Ingelido, W. Traag, F. Smith, A. Fernandez. "Analytical criteria for use of MS/MS for determination of dioxins and dioxin-like PCBs in feed and food." *Organohalogen Compd.* **74**, 156–159 (2012)

## 更多信息

這些數據僅代表典型的結果。有關我們的產品與服務的詳細信息，請訪問我們的網站 [www.agilent.com](http://www.agilent.com)。

台灣安捷倫科技公司  
免費專線：0800-018768  
按

- (1) 維修服務相關
- (2) 耗材產品和訂單查詢
- (3) 儀器訂單查詢及報價諮詢
- (4) 維修服務合約及發票查詢

傳真專線：  
0800-026369 (維修服務相關)  
0800-286337 (耗材/儀器/合約相關)

電子信箱：  
lsca-taiwan\_ccc@agilent.com  
(維修服務相關)  
pdl-lsca-bc-taiwan@agilent.com  
(耗材/儀器/合約相關)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

安捷倫對本資料可能存在的錯誤或由於提供、展示或使用本資料所造成的間接損失不承擔任何責任。

本文中的信息、說明和技術指標如有變更，恕不另行通知。

© 台灣安捷倫科技股份有限公司，2016  
2016年1月19日，台灣出版  
5991-6590CHTW



**Agilent Technologies**