应用简报

食品与农业

使用 Intuvo 9000/7010 GC-QQQ 系统分析食品和饲料中的二恶英

作者

Rebecca Veeneman 和
Anna Cali
安捷伦科技有限公司

Stefano Mazzotta 博士
Direttore Tecnico,
Studio Effemme Chimica
Applicata

摘要

二恶英属于所谓的“肮脏的一打”— 即被称为持久性有机污染物 (POPs) 的一组化学物质。二恶英和呋喃是与多氯代二苯并对二恶英 (PCDDs) 和多氯代二苯并呋喃 (PCDFs) 相关的更常用名称，其中毒性最大的是 2,3,7,8-四氯联苯并对二恶英 (TCDD)。二恶英和呋喃因其化学骨架和骨架上替代氯的数量不同而被表征。

前言

二恶英和呋喃是持久性环境污染物，已得到广泛研究与证明在环境中的生物累积。

过去，需要使用高分辨率质谱 (HRMS) 来确认并定量二恶英的痕量水平，如 EPA 方法 1613B[1] 所示。而截至 2014 年 6 月，欧盟 (EU) 已制定了关于食品和饲料中 PCDDs、PCDFs、二恶英类 PCBs 和非类二恶英类 (NDL) PCBs 水平的法规 (709/2014)，以使用气相色谱/串联四极杆质谱 (GC/TQ MS) 系统对 EUMLs 的符合性进行确认测试[2]。这一改变是由于人们发现三重四极杆质谱仪能够提供与 HRMS 系统类似的性能，这一情形先前已在 Agilent 7890B/7000C GC/TQ MS 系统中得到证实[3]。

随着 Intuvo 9000 气相色谱仪及其直接加热技术的推出，可以为这一关键分析探索更快分离的最新可能。

实验部分

使用配备分流/不分流进样口的 Agilent Intuvo 9000 气相色谱仪与采用高效离子源 (HES) 的 Agilent 7010 系列三重四极杆气相色谱仪联用进行性能评价。为满足不同需求，开发了两种方法。第一种方法的运行时间为 52.5 分钟，使用的温度程序也可能适用于传统 GC 柱温箱。另外利用 Intuvo 9000 气相色谱仪的快速直接柱加热开发了一种更快的方法。两种方法的仪器条件见表 1。

样品前处理

用于测定食品和动物饲料中 PCDD/PCDF 和 DL-PCB 的最常用方法结合了脂肪提取（索氏法）和使用不同柱色谱（具有硫酸、硅酸镁载体、氧化铝和活性炭涂层的硅胶）的净化步骤。

手动二恶英样品前处理非常繁复；根据 1613 方法制成多柱自动化系统，可自动进行二恶英样品萃取，以缩短分析时间并尝试降低成本。

表 1. Intuvo 9000 气相色谱系统参数

参数	52.5 分钟方法	31.12 分钟方法
气相色谱条件		
进样口衬管	部件号 5181-3315 和 5190-2293	
进样量	1 µL	1 和 0.5 µL
脉冲不分流	在 60 psi 下保持 0.6 min；0.8 min 时流速为 50 mL/min	
色谱柱	DB-5MS UI (60 m × 250 µm, 0.25 µm)	
色谱柱流速	1.6 mL/min	1.6 mL/min
柱温箱	130 °C (2 min)， 以 20 °C/min 升至 220 °C (15 min)， 以 5 °C/min 升至 235 °C (7 min)， 以 5 °C/min 升至 330 °C (2 min)	130 °C (1 min)， 以 100 °C/min 升至 200 °C (6 min)， 以 7.5 °C/min 升至 235 °C (4 min)， 以 20 °C/min 升至 310 °C (11 min)
芯片式保护柱	310 °C	310 °C
总线温度	325 °C	325 °C
质谱条件		
运行模式	电子轰击电离 (EI)，多反应监测 (MRM)	
传输线温度	330 °C	330 °C
离子源温度	280 °C	280 °C
四极杆温度	150 °C	150 °C

结果与讨论

采用 52.5 分钟方法和 31.12 分钟方法对含有天然 PCDDs、天然 PCDFs、进样针标准品和 ^{13}C 标记的内标（表 2）进行了评价。图 1 和图 2 显示了两种条件下分离得到的色谱图。

对两种分离方法的校准曲线进行了回归分析。对于原始的长时方法，分析了六点校准曲线，浓度详情见表 3。使用测定相关性评价线性，结果值如表 4 所示。

表 2. 测试的化合物

化合物	类型	化合物	类型
2378-TCDD	天然	2378-TCDD-LCS*	内标
2378-TCDF	天然	2378-TCDF-LCS*	内标
12378-PCDD	天然	12378-PCDD-LCS*	内标
12378-PCDF	天然	12378-PCDF-LCS*	内标
23478-PCDF	天然	23478-PCDF-LCS*	内标
123478-HxCDD	天然	123478-HxCDD-LCS*	内标
123478-HxCDF	天然	123478-HxCDF-LCS*	内标
123678-HxCDD	天然	123678-HxCDD-LCS*	内标
123678-HxCDF	天然	123678-HxCDF-LCS*	内标
123789-HxCDD	天然	123789-HxCDD-ISS	进样针标准品
123789-HxCDF	天然	123789-HxCDF-LCS*	内标
234678-HxCDF	天然	234678-HxCDF-LCS*	内标
1234678-HpCDD	天然	1234678-HpCDD-LCS*	内标
1234678-HpCDF	天然	1234678-HpCDF-LCS*	内标
1234789-HpCDF	天然	1234789-HpCDF-LCS*	内标
OCDD	天然	OCDD-LCS*	内标
OCDF	天然	OCDF-LCS*	内标
1234-TCDD-ISS	进样针标准品		

LCS = 标记化合物标准品
ISS = 内部进样针标准品

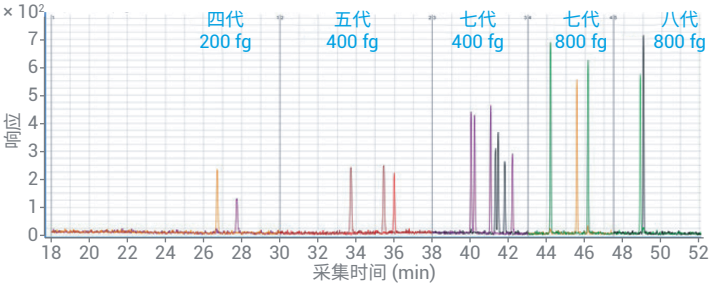

图 1. 52.5 分钟方法，1 µL 进样量，2 级标准品

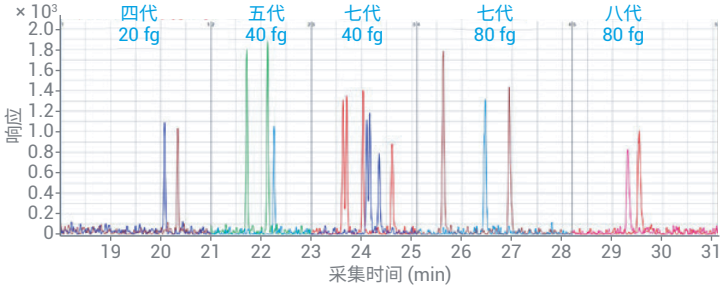

图 2. 31.12 分钟方法，1 µL 进样量

表 3. 52.5 分钟方法的校准曲线；1 µL 进样量

fg/µL	四代	五代	六代	七代	八代
L1	50	100	100	200	200
L2	200	400	400	800	800
L3	1000	2000	2000	4000	4000
L4	4000	8000	8000	16000	16000
L5	20000	40000	40000	80000	80000
L6	80000	160000	160000	320000	32000

表 4. 52.5 分钟方法的化合物特定相关系数结果

分析物	R^2	分析物	R^2
2378-TCDD	0.99997	23478-PCDF	0.99991
12378-PCDD	0.99983	123478-HxCDF	0.99999
123478-HxCDD	0.99978	123678-HxCDF	0.99994
123678-HxCDD	0.99998	234678-HxCDF	0.99999
123789-HxCDD	0.99928	123789-HxCDF	0.99999
1234678-HpCDD	0.99998	1234678-HpCDF	0.99996
OCDD	0.99999	1234789-HpCDF	0.99999
2378-TCDF	0.99991	OCDF	0.99993
12378-PCDF	0.99987		

更详细的数据统计学评价见表 5。在该表中，提供了用于各目标化合物的离子对以及仪器特定限值和信噪比。在最低校准点进行 10 次重复进样，计算仪器定量限 (iLOQ)。

方法 2：更快的升温程序

使用表 1 所示的加速程序升温，并使用表 6 所示的 1 µL 进样制备标准品进样生成第二条校准曲线。

以与长时方法评价相似的方式，按序列运行校准标样，然后使用数据系统进行处理，其中生成了每个化合物的测定相关性。应用于各化合物的离子对与表 5 中提供的离子对保持一致。表 7 显示了相关值。

表 5. RT、MRM 离子对、LOQ 和 LOD

名称	保留时间	离子对	浓度 RSD	MDL (fg/µL)	LOQ	LOD	噪音	信噪比
2378-TCDF	26.64	303.9 → 240.9	2.6	3.8184	13.5334	4.06	1.92	18.54
2378-TCDD	27.835	319.9 → 256.9	3.9	5.7684	20.445	6.1335	1.61	14.62
12378-PCDF	33.638	339.8 → 277.0	4.9	14.8674	52.6945	15.8083	2.02	17.6
23478-PCDF	35.359	339.8 → 277.0	6.4	20.1087	71.271	21.3813	1.99	21.43
12378-PCDD	35.921	355.9 → 292.9	6.5	20.0992	71.2375	21.3713	1.48	19.69
123478-HxCDF	39.96	373.8 → 310.9	6.4	19.4782	69.0366	20.711	1.55	24.45
123678-HxCDF	40.141	373.8 → 310.9	4.6	14.2778	50.6047	15.1814	1.55	25.08
234678-HxCDF	41.148	373.8 → 310.9	3.4	10.0481	35.6132	10.684	1.96	22.2
123478-HxCDD	41.237	389.8 → 326.9	4.2	12.5373	44.4357	13.3307	1.51	23.82
123678-HxCDD	41.533	389.8 → 326.9	8.1	24.7315	87.6558	26.2967	1.45	25.78
123789-HxCDD	41.737	389.8 → 326.9	7.3	21.5291	76.3055	22.8916	1.55	26.1
123789-HxCDF	42.135	373.8 → 310.9	4.9	14.8626	52.6774	15.8032	1.39	30.68
1234678-HpCDF	44.133	407.8 → 344.8	4	23.4349	83.06	24.918	1.76	46.85
1234678-HpCDD	45.674	423.8 → 360.8	3.5	20.7641	73.594	22.0782	1.9	34.19
1234789-HpCDF	46.105	407.8 → 344.8	8.7	52.986	187.7979	56.3394	1.52	52.61
OCDD	48.83	457.7 → 394.8	2.8	16.7276	59.2874	17.7862	1.33	44.22
OCDF	48.995	441.7 → 378.8	2.5	14.9213	52.8855	15.8656	1.35	49.63

表 6. 32.12 分钟方法的校准曲线；1 µL 进样量

fg/µL	四代	五代	六代	七代	八代
SC1	20	40	40	80	80
SC2	80	40	160	320	320
SC3	400	200	800	1600	1600
SC4	1600	800	3200	6400	6400
SC5	8000	4000	16000	32000	32000
SC6	32000	16000	64000	128000	128000

表 7. 加速方法的测定相关性

分析物	R^2
2378-TCDD	0.99995
12378-PCDD	0.99984
123478-HxCDD	0.99975
123678-HxCDD	0.9999
123789-HxCDD	0.99931
1234678-HpCDD	0.99998
OCDD	0.99999
2378-TCDF	0.99992
12378-PCDF	0.99985
23478-PCDF	0.99991
123478-HxCDF	0.99999
123678-HxCDF	0.99993
234678-HxCDF	0.99979
123789-HxCDF	0.99998
1234678-HpCDF	0.99997
1234789-HpCDF	0.99999
OCDF	0.99993

质谱分析的最大提升是 7010 TQ 上的 HES，表现出更低的检测限以及后续更小的样品体积。为评价 HES 对加速分离方法的影响，增加了较小的进样量，从而提供了最低校准点时 1 µL 和 0.5 µL 的进样数据。表 8 显示了进样量的比较，使用表 6 中所列 SC1 标准品 7 次重复测定的 RSD%。

结论

如欧盟委员会法规第 589/2014 号和第 709/2014 号所示，监管机构认可串联四极杆系统有效鉴定和定量二恶英和呋喃化合物的能力，法规中增加了 GC/TQ 作为某些食品确认分析的选项。与高分辨率 MS 系统 (HRAM) 相比，GC/TQ 是分析潜在污染样品更经济的系统。质谱离子源的提升，特别是本研究中评价的 HES 选项，允许使用更小进样量提升检测，而不损失数据可信度或精度。同样，气相色谱的提升（如 Intuvo 9000 系统）以直接加热能力加速分离，为快速筛选和更高通量开辟了道路。

本研究开发了两种分离方法来证明使用更快分离和更小样品体积的性能。得益于 Intuvo 9000 气相色谱仪中内置的创新技术与 7010 TQ 质谱仪可靠性能之间的强强联合，能够获得以上成果。

表 8. 使用两种不同进样量（1 µL 和 0.5 µL）对目标二恶英和呋喃进行加速分离的比较统计

名称	离子对	1 µL	0.5 µL
		RSD	RSD
2378-TCDF-LCS-REC	315.8 → 252.0	2.3	3.2
2378-TCDD	319.9 → 256.9	4.0	3.9
2378-TCDD-LCS-REC	331.8 → 268.0	3.2	3.7
2378-TCDF	303.9 → 240.9	5.3	6.1
23478-PCDF	339.8 → 277.0	5.9	6.8
12378-PCDF-LCS-REC	351.9 → 287.9	2.0	2.1
23478-PCDF-LCS-REC	351.9 → 287.9	1.3	2.1
12378-PCDD	355.9 → 292.9	8.0	7.2
12378-PCDD-LCS-REC	367.8 → 304.0	3.6	3.4
12378-PCDF	339.8 → 277.0	5.2	5.4
123478-HxCDF-LCS-REC	385.8 → 322.0	2.0	3.1
123478-HxCDD	389.8 → 326.9	4.1	7.1
123678-HxCDF-LCS-REC	385.8 → 322.0	1.6	4.5
123478-HxCDF	373.8 → 310.9	6.8	7.0
123678-HxCDF	373.8 → 310.9	7.6	8.5
1234678-HpCDD	423.8 → 360.8	6.8	7.0
234678-HxCDF-LCS-REC	385.8 → 322.0	0.6	3.7
234678-HxCDF	373.8 → 310.9	7.5	7.5
1234678-HpCDF	407.8 → 344.8	8.5	8.7
123789-HxCDF-LCS-REC	385.8 → 322.0	3.6	2.4
OCDD	457.7 → 394.8	7.7	7.7
123789-HxCDF	373.8 → 310.9	5.4	5.4
123478-HxCDD-LCS-REC	401.8 → 338.0	3.8	2.3
OCDF	441.7 → 378.8	8.7	8.5
123678-HxCDD-LCS-REC	401.8 → 338.0	3.6	4.6
123678-HxCDD	389.8 → 326.9	4.5	5.2
123789-HxCDD	389.8 → 326.9	7.8	7.7
1234678-HpCDF-LCS-REC	419.8 → 356.0	1.9	1.0
1234678-HpCDD-LCS-REC	435.8 → 372.0	2.5	4.4
1234789-HpCDF-LCS-REC	419.8 → 356.0	2.6	3.0
1234789-HpCDF	407.8 → 344.8	6.0	5.6
OCDD-LCS-REC	469.7 → 405.8	1.8	3.5
OCDF-LCS-REC	453.7 → 389.8	2.7	4.0

参考文献

1. US EPA Method 1613 “Tetra- through Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS”, U.S. EPA Office of Water Engineering and Analysis Division (4303) 401 M Street S.W. Washington, D.C. 20460. **1994**
2. 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 polychlo-rinated biphenyls, Offic. *J. Eur. Commun.* **2014**, *L188*, 1–18
3. Riener, J.，为满足欧盟法规 709/2014 的要求验证二恶英及二恶英类 PCBs 的 GC/MS/MS 确证法，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5991-6590CHCN，**2016**

查找当地的安捷伦客户中心：
www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：
800-820-3278，400-820-3278（手机用户）

联系我们：
LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：
www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

DE.6419560185

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2020

2020 年 11 月 13 日，中国出版
5991-9399ZHCN

Agilent
Trusted Answers