

应用 GC/MS/MS 测定超痕量多氯代二苯并-对-二噁英和多氯代二苯并呋喃

作者

徐驰、高丽荣和郑明辉
中国科学院生态环境研究中心
环境化学与生态毒理学国家
重点实验室
中国北京

王雯雯
安捷伦科技（中国）有限公司
中国北京

摘要

多氯代二苯并-对-二噁英 (PCDD) 和多氯代二苯并呋喃 (PCDF) 为剧毒的持久性有机污染物 (POPs)。由于在复杂样品中二噁英同类物的含量通常处于超痕量水平，因此它们的分析具有极大的挑战性。本研究开发了一种气相色谱三重四级杆质谱 (GC/MS/MS) 方法，用于分析 17 种 2,3,7,8-取代 PCDD/Fs 同类物。使用配备新型高效电子轰击电离源的 Agilent 7010 GC/MS/MS 进行分析，该离子源可实现痕量和超痕量分析物的高灵敏度检测，并提供可靠结果。

焚烧是环境中二恶英的主要来源之一。因此，分析垃圾焚烧飞灰样品中的二恶英对于控制二恶英的排放具有重要意义。使用 GC/MS/MS 对浓度为 2.1–32.6 pg (I-TEQ)/g 的 6 个飞灰样品进行了分析。GC/MS/MS 结果与使用 GC/HRMS 获得的结果一致。通过对鱼组织有证标准物质进行五次进样分析，对该方法进行了验证。对于所有同类物，GC/MS/MS 分析获得的平均结果均在认证的参考值范围内。所有同类物的相对标准偏差 (RSD) 均小于 10.0%。因此，该 GC/MS/MS 方法可作为 GC/HRMS 方法的一种可行且经济的替代选择。

前言

PCDD/Fs 因其毒性和在环境中的持久性而备受关注^[1]。由于在复杂环境样品中 PCDD/Fs 同类物的含量通常处于超痕量水平，因此它们的分析具有挑战性。GC/MS/MS 采用特异性多反应监测 (MRM) 模式，可生成 PCDD/Fs 的特异性片段。这种选择性反应可以减少干扰，提高灵敏度。因此，将气相色谱-串联质谱联用系统应用于 PCDD/Fs 分析。欧盟 (EU) 颁布的法规 (709/2014) 规定了可使用 GC/MS/MS 系统对食品和饲料中 PCDD 和 PCDF 的含量进行确证性试验，以满足 EU ML 的要求。这意味着三重四极杆质谱仪能够提供与 HRMS 系统类似的性能^[2]。本应用简报介绍了使用 Agilent 7010 三重四极杆 GC/MS 系统分析 17 种毒性 PCDD/Fs 的方法的灵敏度、选择性和精密度。表 1 列出了具体的化合物，以及指定的毒性当量因子 (TEF)、国际毒性当量因子 (I-TEF) 和世界卫生组织 TEF (WHO₂₀₀₅-TEF)，用于计算毒性当量 (TEQ)。本应用简报还表明，GC/MS/MS 结果与使用 GC/HRMS 获得的结果一致，从而为 GC/HRMS 提供了一种经济可行的替代方法。

实验部分

试剂与标准品

残留级正己烷、二氯甲烷和甲苯购自 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA)。EPA 方法 1613 规定的 2,3,7,8-PCDD/Fs 标准溶液，包括 EPA-1613 CVS、LCS 和 ISS 的标准溶液及有证标准物质 WMF-01 (参比鱼组织) 由 Wellington Laboratories Inc (Ontario, Canada) 提供。

仪器

在 Agilent 7890B 气相色谱和 Agilent 7010 三重四极杆 GC/MS 系统上进行分析。仪器条件如表 2 所示。方法采用 MRM 模式进行数据采集。对于每种目标分析物，采用了安捷伦食品和饲料分析仪方法的两种特异性母离子以及两种相应的子离子和碰撞能量^[4]。表 3 提供了 MRM 离子对的完整列表。

表 1. PCDD/Fs 的各种毒性当量因子 (TEF)^[3]

PCDD/Fs	I-TEF	WHO ₂₀₀₅ -TEF
2,3,7,8-TCDD	1	1
1,2,3,7,8-PeCDD	0.5	1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1	0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1	0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01	0.01
OCDD	0.001	0.0003
2,3,7,8-TCDF	0.1	0.1
1,2,3,7,8-PeCDF	0.05	0.03
2,3,4,7,8-PeCDF	0.5	0.3
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1	0.1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01	0.01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01	0.01
OCDF	0.001	0.0003

表 2. 仪器条件

气相色谱条件	
色谱柱	Agilent J&W DB-5ms UI, 60 m × 0.25 mm, 0.25 μm
进样量	1 μL
柱温箱程序升温温度	在 150 °C 下保持 3 min, 以 20 °C/min 的速率升温至 230 °C, 保持 18 min 以 5 °C/min 的速率升温至 235 °C, 保持 10 min 以 4 °C/min 的速率升温至 320 °C, 保持 1 min
进样模式	不分流, 1.5 min 后开启吹扫
进样口温度	290 °C
载气	氮气
流速	1.0 mL/min
质谱条件	
运行模式	电子轰击电离 (EI), MRM
电离电压	70 eV
离子源温度	320 °C
接口温度	320 °C
四极杆温度	150 °C
溶剂延迟	10 min
MS1 分辨率	Unit
MS2 分辨率	Unit
碰撞池气体流速	氮气 1.5 mL/min, 氦气 4.0 mL/min

表 3. PCDD/Fs 的 MS/MS 分析的主要参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)
TCDF	303.9	240.9	40
	305.9	242.9	40
¹³ C ₁₂ -TCDF	315.9	251.9	40
	317.9	253.9	40
TCDD	319.9	256.9	26
	321.9	258.9	26
¹³ C ₁₂ -TCDD	331.9	267.9	26
	333.9	269.9	26
PeCDF	337.9	274.9	40
	339.9	276.9	40
¹³ C ₁₂ -PeCDF	349.9	285.9	40
	351.9	287.9	40
PeCDD	353.9	290.9	26
	355.9	292.9	26
¹³ C ₁₂ -PeCDD	365.9	301.9	26
	367.9	303.9	26
HxCDF	373.8	310.9	40
	375.8	312.9	40
¹³ C ₁₂ -HxCDF	385.8	321.9	40
	387.8	323.9	40

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)
HxCDD	389.8	326.9	26
	391.8	328.8	25
¹³ C ₁₂ -HxCDD	401.8	337.9	26
	403.8	339.9	25
HpCDF	407.8	344.8	40
	409.8	346.8	40
¹³ C ₁₂ -HpCDF	419.8	355.8	40
	421.8	357.8	40
HpCDD	423.8	360.8	24
	425.8	362.9	24
¹³ C ₁₂ -HpCDD	435.8	371.8	24
	437.8	373.8	24
OCDF	441.7	378.8	40
	443.7	380.8	40
¹³ C ₁₂ -OCDF	455.8	391.8	40
	453.8	389.8	40
OCDD	457.7	394.8	24
	459.7	396.8	24
¹³ C ₁₂ -OCDD	469.7	405.8	24
	471.7	407.8	24

样品前处理

在进行仪器分析前，需要对样品进行复杂的萃取和净化程序。在萃取前，向样品中加入已知量的 EPA-1613 LCS ¹³C₁₂ 标记标准品，并平衡 12 小时。然后，使用正己烷和二氯甲烷 (1:1, V/V) 通过 Soxhlet 或 ASE 法萃取样品。浓缩后，提取物经三根色谱柱净化：酸化硅胶色谱柱、酸/碱/AgNO₃/中性多层硅胶色谱柱，以及活性炭色谱柱。用甲苯洗脱最终提取物，然后在柔和纯净氮气流下蒸发至适当体积。为进行回收率定量，在仪器分析前加入了 EPA-1613 ISS ¹³C₁₂ 标记标准品。图 1 所示为样品前处理步骤的汇总流程图。

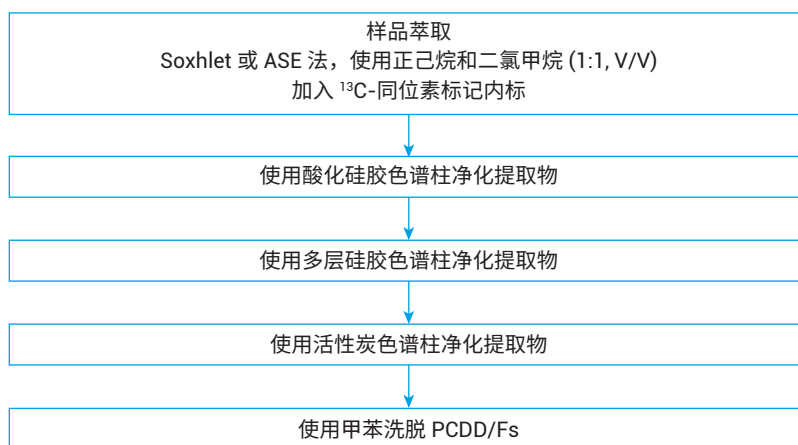


图 1. 样品萃取和净化程序的流程图

结果与讨论

二噁英/呋喃异构体的分离

图 2 所示为 17 种 PCDD/Fs 同类物的 MRM 色谱图，分析时间为 58 分钟。该图展示了 17 种 PCDD/Fs 同类物的出色分离，并对难以分离的六氯二苯并对二噁英/呋喃异构体进行了放大显示。

校准和平均相对响应因子

采用优化的 GC/MS/MS 方法对校准标样溶液 EPA-1613 CVS (CS1–CS5) 进行了分析 (表 4)。按照 EPA 方法 1613^[5]，通过 5 点校准曲线获得了各种 2,3,7,8-氯代 PCDD/Fs 同类物的相对响应因子 (RRF)。所有同类物的 RSD 均小于 3.0%，完全符合 EPA 小于 15% 的要求 (表 5)。

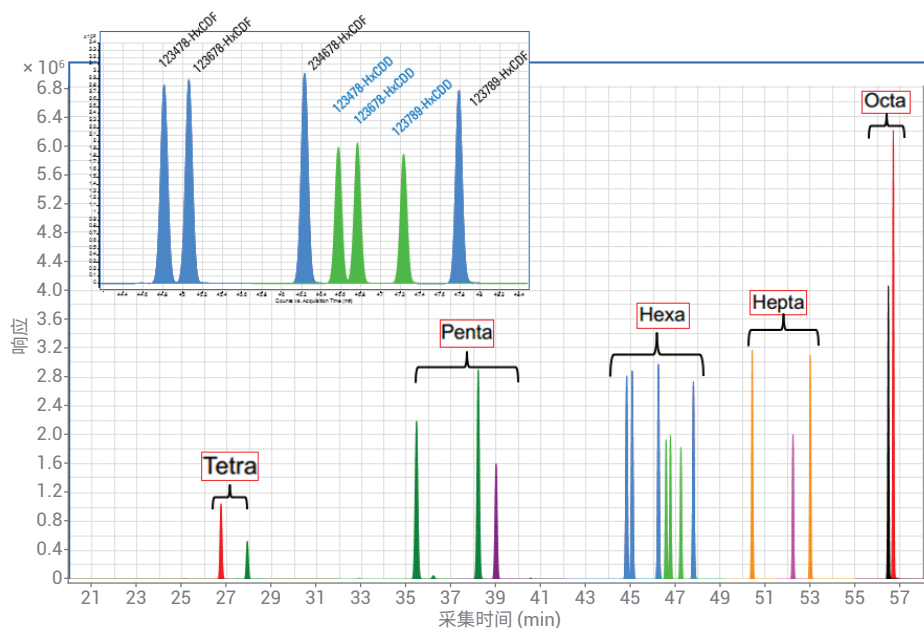


图 2. 17 种 PCDD/Fs 同类物的 MRM 色谱图

表 4. 校准溶液中各同类物的浓度 (ng/mL)

天然 PCDD/Fs	1613 CS1	1613 CS2	1613 CS3	1613 CS4	1613 CS5
2,3,7,8-TCDF	0.5	2	10	40	200
1,2,3,7,8-PeCDF	2.5	10	50	200	1000
2,3,4,7,8-PeCDF	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,4,7,8-HxCDF	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,6,7,8-HxCDF	2.5	10	50	200	1000
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,7,8,9-HxCDF	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	2.5	10	50	200	1000
OCDF	5.0	20	100	400	2000
2,3,7,8-TCDD	0.5	2	10	40	200
1,2,3,7,8-PeCDD	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,6,7,8-HxCDD	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,7,8,9-HxCDD	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	2.5	10	50	200	1000
OCDD	5.0	20	100	400	2000

检测限 (LOD)

根据 US EPA 方法, 通过对低浓度 PCDD/Fs (稀释 10 倍的 CS1) 的标准溶液进行七次重复分析, 确定 PCDD/Fs 的 LOD。获得的 17 种 PCDD/Fs 同类物的 LOD 范围为 0.008–0.08 pg/μL, 表明 GC/MS/MS 方法具有出色的灵敏度, 足以用于 PCDD/Fs 的超痕量分析。分析结果如表 5 所示。图 3 所示为 17 种 PCDD 和 PCDF 同类物的 MRM 色谱图 (将 CS1 稀释 10 倍, 浓度范围从 0.05 pg/μL 至 0.5 pg/μL)。

表 5. 各同类物校准的平均 RRF 以及相应的 LOD

化合物名称	平均 RRF	RSD (%)	LOD (pg/μL)
2,3,7,8-TCDF	1.07	1.07	0.01
1,2,3,7,8-PeCDF	1.03	1.27	0.049
2,3,4,7,8-PeCDF	1.06	1.39	0.039
1,2,3,4,7,8-HxCDF	1.02	1.81	0.04
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.01	1.89	0.04
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.08	1.36	0.04
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.95	1.46	0.04
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.99	1.56	0.04
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.98	1.17	0.04
OCDF	1.56	1.48	0.08
2,3,7,8-TCDD	1.15	0.86	0.008
1,2,3,7,8-PeCDD	1.07	1.96	0.04
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1.05	2.04	0.04
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.96	1.39	0.05
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.88	2.46	0.04
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.98	1.18	0.04
OCDD	1.00	0.95	0.08

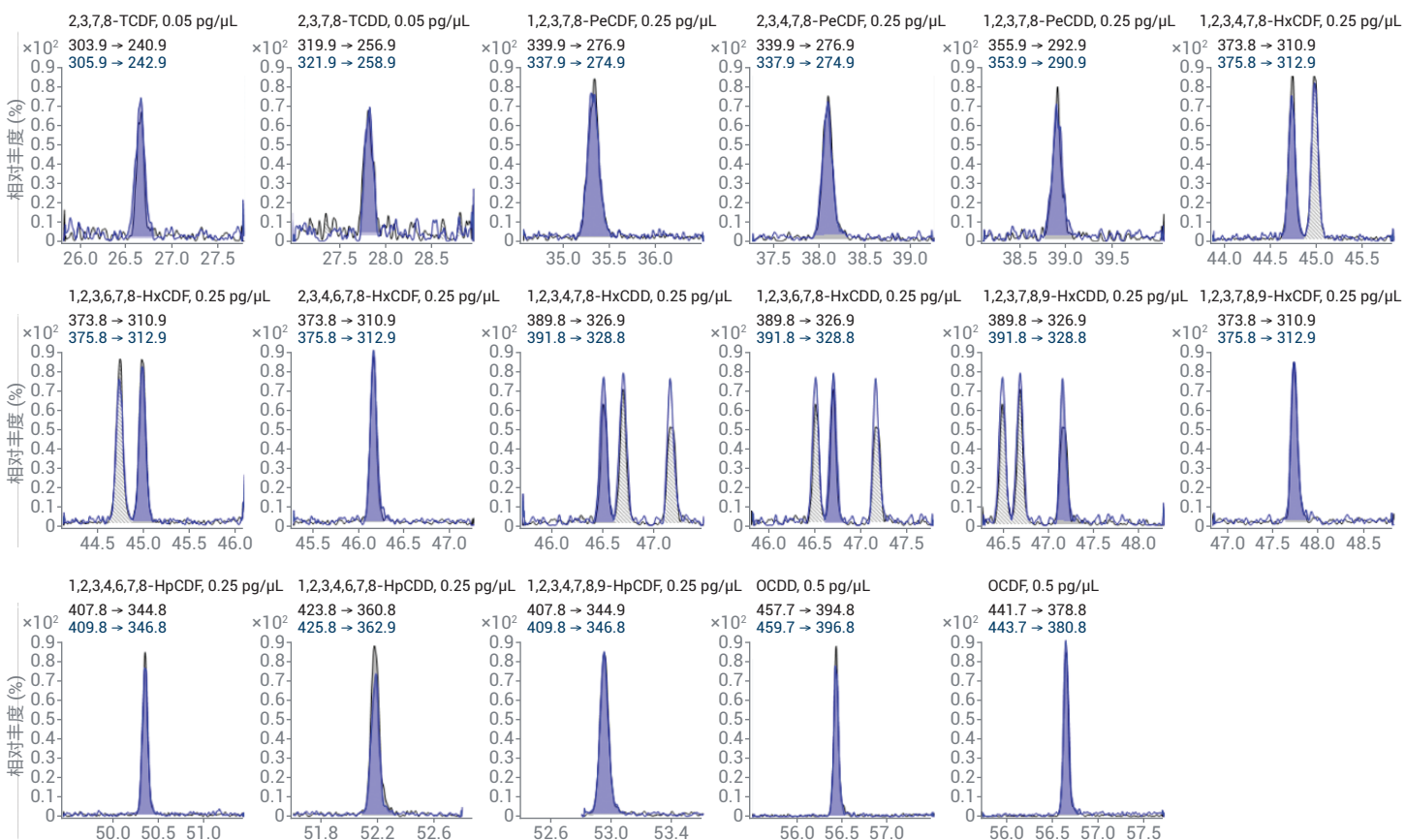


图 3. 17 种 PCDD 和 PCDF 同类物的 MRM 色谱图 (将 CS1 稀释 10 倍, 浓度范围从 0.05 pg/μL 至 0.5 pg/μL)

分析方法的评估

为评估所提出的 GC/MS/MS 方法的性能，使用该方法对有证标准物质 (CRM) 鱼组织进行了五次重复分析。由表 6 可知，鱼组织中 PCDD/Fs 的浓度范围为 0.23–13.6 pg/g，使用 GC/MS/MS 方法获得的所有同类物的平均结果均在认证的参考值范围内。GC/MS/MS 的总 I-TEQ 结果为 19.92 pg/g，与认证参考值 19.81 pg/g 接近。五次重复进样的 RSD 小于 10%。CRM 的 17 种 PCDD/Fs 同系物的平均离子丰度比（图 4）均在 CS1–CS5 的平均离子丰度的 ±15% 范围内，满足 EPA 1613 的要求。总体而言，所提出的分析方法具有良好的准确度和精密度。

表 6. 有证标准物质 (WMF-01) 中 PCDD/Fs 的分析

	认证参考值 (pg/g)	分析值 (n = 5)	
		平均值 (pg/g)	RSD (%)
2,3,7,8-TCDF	13.1 ± 4.9	12.97	1.0
1,2,3,7,8-PeCDF	1.53 ± 1.4	1.34	8.6
2,3,4,7,8-PeCDF	7.15 ± 2.2	6.43	3.3
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.86 ± 1.0	1.01	6.5
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.51 ± 0.7	0.62	6.0
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.68 ± 1.2	0.67	3.9
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.25 ± 0.4	0.26	8.8
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.01 ± 1.9	2.76	2.8
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.30 ± 0.5	0.61	3.8
OCDF	1.38 ± 2.1	2.94	8.7
2,3,7,8-TCDD	13.1 ± 4.4	13.6	2.4
1,2,3,7,8-PeCDD	2.72 ± 1.3	2.61	2.9
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.22 ± 0.3	0.27	7.4
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.88 ± 0.4	0.81	9.2
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.27 ± 0.4	0.23	7.6
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.59 ± 0.7	0.65	6.5
OCDD	3.91 ± 6.2	2.01	7.9
总 I-TEQ	19.81	19.92	

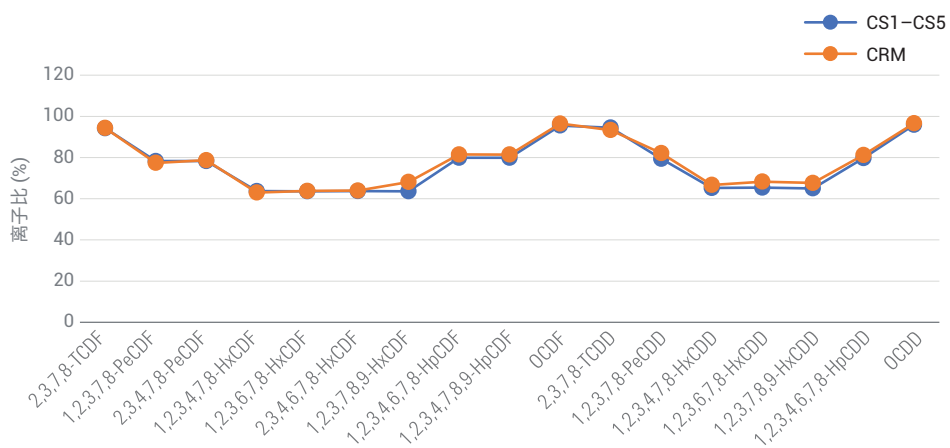


图 4. CS1–CS5 和 CRM 的 17 种 PCDD/Fs 同系物的平均离子丰度比对比

GC/HRMS 与 GC/MS/MS 分析飞灰样品中 PCDD/Fs 的比较

对 6 个飞灰样品进行了萃取处理，并使用 GC/HRMS 进行分析。随后，将同一样品转移至 GC/MS/MS 再次进行分析。图 5 展示了 GC/HRMS 和 GC/MS/MS 两组测定的样品结果对比（总 I-TEQ），所分析的 6 个飞灰样品浓度范围为 2.1–32.6 pg (I-TEQ)/g。GC/MS/MS 结果与使用 GC/HRMS 获得的结果具有很好的一致性。

结论

Agilent 7010 GC/MS/MS 系统对 17 种高毒性 PCDD/Fs 同系物实现了可重现的高灵敏度检测。将该方法应用于有证标准物质的分析，GC/MS/MS 获得的结果与认证参考值接近，证明其有很好的适用性。GC/HRMS 和 GC/MS/MS 分析结果比较的一致性，表明了 7010 GC/MS/MS 系统很好的适用性。

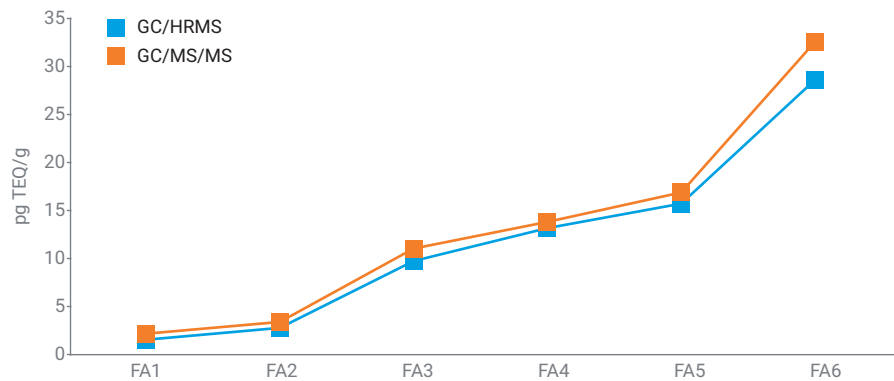


图 5. GC/HRMS 和 GC/MS/MS 两组测定的样品结果对比（总 I-TEQ）

参考文献

1. Zheng, G. J. et al. Polychlorinated Dibenzop-Dioxins and Dibenzofurans Pollution in China: Sources, Environmental Levels and Potential Human Health Impacts [J]. *Environment International* **2008**, 34(7), 1050-61
2. Union, P. O. of the E. 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 Text with EEA relevance, CELEX1 <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/d626811a-fdcc-11e3831f-01aa75ed71a1/language-en> (accessed Nov 16, 2018)
3. Bhavasar, S. P. et al. Converting Toxic Equivalents (TEQ) of Dioxins and Dioxin-Like Compounds in Fish From One Toxic Equivalency Factor (TEF) Scheme to Another [J]. *Environment International* **2008**, 34(7), 915-21
4. Riener, J, 二恶英及二恶英类 PCB 的 GC/MS/MS 确证方法的验证, 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 5991-6590CHCN, **2016**
5. Method 1613, Tetra- Through Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS. **1997**. *United States Environmental Protection Agency*

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

本文中的信息、说明和指标如有变更,恕不另行通知。