

GCMS-TQ8040 应用于食品和动物饲料中二恶英(PCDD/Fs)检测

摘要: 本文介绍了一种气相色谱-三重四极杆质谱法(GC-MS/MS)测定食品和动物饲料中超痕量二恶英(PCDD/Fs)的分析方法。方法采用岛津GCMS-TQ8040仪结合MRM监测模式进行检测,采用¹³C标记同位素内标法定量。结果显示该方法具有较好的灵敏度和重复性(2,3,7,8-TCDD绝对进样量为20 fg时,峰面积RSD%<15% (n=12),信噪比S/N>40),且在0.1-200 ng/mL (TCDD)浓度范围内具有良好的线性(线性相关系数 $R^2>0.999$)。实际样品的检测结果与高分辨气相色谱-高分辨质谱(HRGC/HRMS)法的测定结果具有较好的一致性,表明GCMS-TQ8040能够按照欧盟法规要求实现对食品和动物饲料中痕量二恶英的分析检测。

关键词: GCMS-TQ8040 食品 动物饲料 二恶英

多氯代二苯并-对-二恶英/多氯代二苯并呋喃(PCDD/Fs)是一类典型的持久性有机污染物(POPs),具有致癌、致畸、致突变等特性,被国际癌症研究机构(IARC)列为一级致癌物(Group 1)。PCDD/Fs广泛分布于各种环境介质中,其化学性质稳定,难以生物降解,且具有生物富集和放大能力。人体暴露的PCDD/Fs90%以上来源于饮食摄入,其中90%以上来源于动物源性食物^[1]。因此,与食物和动物饲料相关的二恶英污染事件曾在世界范围内引起极大的关注,如:2010-2011年德国农场饲料二恶英污染事件导致近4700家农场被迫关闭,最终造成巨大经济损失。

早在21世纪初期,欧盟法规就制定了用于食品和动物饲料中PCDD/Fs和多氯联苯(PCBs)污染监控的采样和分析方法,并设定了污染物的最大限量标准。2014年欧盟委员会第589/2014号^[2]和709/2014法规^[3]首次将气相色谱-三重四级杆质谱法(GC-MS/MS)列为食品和饲料中PCDD/Fs和PCBs的分析确认方法(confirmatory method),这表明GC-MS/MS不仅能够在超痕量污染物的筛查中发挥重要作用,而且在政府监控食物和饲料样品中PCDD/Fs和PCBs等方面承担更多角色。

本文介绍了基于岛津GCMS-TQ8040结合SmartMRM功能建立的食品和动物饲料中PCDD/Fs的分析方法,并对实际食品和饲料样品进行了检测分析,结果与高分辨气相色谱/高分辨质谱法(HRGC/HRMS)检测结果具有较好的一致性。

表 1. PCDD/Fs 毒性当量因子(TEF)列表

化合物	WHO ₁₉₉₈ -TEF	WHO ₂₀₀₅ -TEF	化合物	WHO ₁₉₉₈ -TEF	WHO ₂₀₀₅ -TEF
2,3,7,8-TCDD	1	1	2,3,7,8-TCDF	0.1	0.1
1,2,3,7,8-PeCDD	1	1	1,2,3,7,8-PeCDF	0.05	0.03
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1	0.1	2,3,4,7,8-PeCDF	0.5	0.3
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1	0.1	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	0.1	1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.001	0.001	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1

OCDD	0.0001	0.0003	1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1	0.1
			1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.001	0.001
			1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.001	0.001
			OCDF	0.0001	0.0003

1 实验部分

1.1 试剂

PCDD/Fs 标准品及 ^{13}C 标记同位素内标分别购自美国 Cambridge Isotope Laboratories 和 加拿大 Wellington Laboratories。

1.2 样品前处理

食品和动物饲料样品的前处理方法基于 EPA method 1613B^[4] 并进行适当修改。样品萃取采用加速溶剂萃取 (ASE) 法, 净化采用酸/碱复合硅胶柱, 氧化铝柱和活性炭柱等。样品萃取前加入 ^{13}C 标记替代内标 (1613-LCS), 仪器分析前加入 ^{13}C 标记进样内标 (1613-IS)。

1.3 仪器条件

样品分析采用岛津 GCMS-TQ8040。表 2 是 GC-MS/MS 的仪器分析条件。PCDD/Fs 分析的 MRM 方法采用岛津的 MRM 自动优化工具, 在一个序列中优化最佳的产物离子及碰撞能量, 并将 MRM 的相关参数自动注册到 Smart MRM 数据库, 建立 MRM 的仪器方法 (见图 1)。该 MRM 方法中所监测的 17 种 PCDD/Fs 及其 ^{13}C 标记同位素内标均选择两个不同的前体离子和对应产物离子, 并给出各离子对的驻留时间 (dwell time)。为改善低浓度下目标物色谱峰的峰型 (2,3,7,8-TCDD/F, 10 fg/ μL), 以及灵敏度和重现性, 设置中将 2,3,7,8-TCDD/F 的驻留时间增加至 0.35s; 为保证各组中化合物的循环采集时间在 1.1s, 将 ^{13}C 标记同位素内标的 2,3,7,8-TCDD/F 的驻留时间减少至 0.2s。PCDD/Fs 同系物和 ^{13}C 标记内标的保留时间及 MRM 条件设置见表 3。

表 2. GCMS 的仪器条件

气相条件	
色谱柱	DB-5MS (60 m $\times$ 250 μm $\times$ 0.25 μm)
进样口模式	不分流进样
进样体积	2 μL
高压进样	300kPa (2 min)
进样时间	1 min
进样温度	290 $^{\circ}\text{C}$
色谱柱柱温程	150 $^{\circ}\text{C}$ (3 min) $\rightarrow$ (20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$) $\rightarrow$ 230 $^{\circ}\text{C}$
序	(18 min) $\rightarrow$ (5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$) $\rightarrow$ 235 $^{\circ}\text{C}$ (10 min) $\rightarrow$ (4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$) $\rightarrow$ 320 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)
控制模式	恒线速度控制
流量	1.03 mL/min

质谱条件

离子化方式	EI
离子源温度	250 °C
接口温度	270 °C
采集模式	MRM 模式
CID 气	氦气
发射电流	250 μ A
循环时间	1.1 sec
CID 气压力	150 kPa
检测器电压	1.8 kV

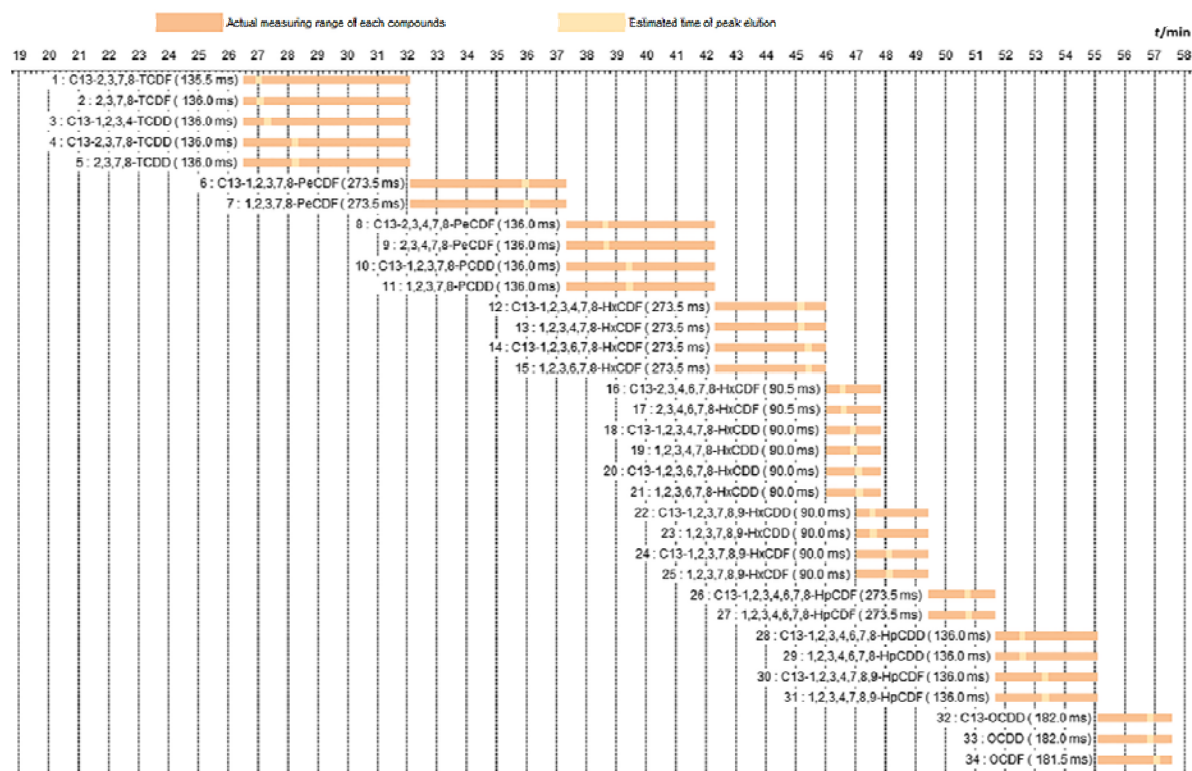


图 1 采用 Smart MRM 功能建立的 PCDD/Fs 同系物 MRM 自动采集方法

表 3. PCDD/Fs 同系物和 ^{13}C 标记同位素内标的保留时间及 MRM 条件设置

峰	分析物	保留时间	前体离子>产物离子	CE(V)	前体离子>产物离子	CE(V)
1	C13-2,3,7,8-TCDF	27.024	315.90>251.90	31	317.90>253.90	31
2	2,3,7,8-TCDF	27.076	303.90>240.90	31	305.90>242.90	31
3	C13-1,2,3,4-TCDD	27.323	331.90>267.90	25	333.90>269.90	25
4	C13-2,3,7,8-TCDD	28.235	331.90>267.90	25	333.90>269.90	25
5	2,3,7,8-TCDD	28.253	319.90>256.90	25	321.90>258.90	25
6	C13-1,2,3,7,8-PeCDF	35.953	351.90>287.90	34	349.90>285.90	34
7	1,2,3,7,8-PeCDF	36.01	339.90>276.90	34	337.90>274.90	34
8	C13-2,3,4,7,8-PeCDF	38.625	351.90>287.90	37	349.90>285.90	37
9	2,3,4,7,8-PeCDF	38.673	339.90>276.90	37	337.90>274.90	37

10	C13-1,2,3,7,8-PCDD	39.419	367.90>303.90	25	365.90>301.90	25
11	1,2,3,7,8-PCDD	39.441	355.90>292.90	25	353.90>290.90	25
12	C13-1,2,3,4,7,8-HxCd	45.168	385.80>321.90	37	387.80>323.90	37
13	1,2,3,4,7,8-HxCDF	45.183	373.80>310.90	37	375.80>312.90	37
14	C13-1,2,3,6,7,8-HxCd	45.413	385.80>321.90	37	387.80>323.90	37
15	1,2,3,6,7,8-HxCDF	45.438	373.80>310.90	37	375.80>312.90	37
16	C13-2,3,4,6,7,8-HxCd	46.568	385.80>321.90	37	387.80>323.90	37
17	2,3,4,6,7,8-HxCDF	46.604	373.80>310.90	37	375.80>312.90	37
18	C13-1,2,3,4,7,8-HxCd	46.911	401.80>337.90	25	403.80>339.80	25
19	1,2,3,4,7,8-HxCDD	46.935	389.80>326.90	25	391.80>328.80	25
20	C13-1,2,3,6,7,8-HxCd	47.1	401.80>337.90	25	403.80>339.80	25
21	1,2,3,6,7,8-HxCDD	47.139	389.80>326.90	25	391.80>328.80	25
22	C13-1,2,3,7,8,9-HxCd	47.577	401.80>337.90	25	403.80>339.80	25
23	1,2,3,7,8,9-HxCDD	47.591	389.80>326.90	25	391.80>328.80	25
24	C13-1,2,3,7,8,9-HxCd	48.126	385.80>321.90	34	387.80>323.90	34
25	1,2,3,7,8,9-HxCDF	48.145	373.80>310.90	34	375.80>312.90	34
26	C13-1,2,3,4,6,7,8-HpC	50.755	419.80>355.80	37	421.80>357.80	37
27	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	50.788	407.80>344.80	37	409.80>346.80	37
28	C13-1,2,3,4,6,7,8-HpC	52.584	435.80>371.80	25	437.80>373.80	25
29	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	52.596	423.80>360.80	25	425.80>362.80	25
30	C13-1,2,3,4,7,8,9-HpC	53.348	419.80>355.80	37	421.80>357.80	37
31	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	53.357	407.80>344.80	37	409.80>346.80	37
32	C13-OCDD	56.85	469.70>405.80	25	471.70>407.80	25
33	OCDD	56.867	457.70>394.80	25	459.70>396.80	25
34	OCDF	57.081	441.70>378.80	34	443.70>380.80	34

2 结果与讨论

2.1 色谱图

图 2 是 17 种 PCDD/Fs 同系物的分析质量色谱图 (EPA 1613-CS3), 仪器分析时间共计 60 min。

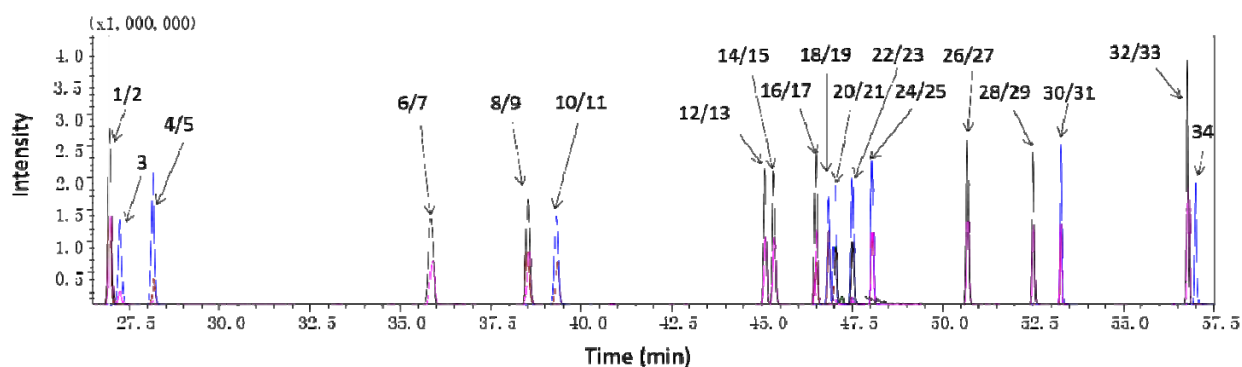


图 2. PCDD/Fs (10-100 pg/μL) 的质量色谱图 (EPA 1613-CS3), 峰号对应目标物参见表 3.

2.2 线性考察

采用 EPA-1613 CVS 系列 (CSL,CS0.5,CS1-CS5)制作标准曲线。标准溶液进样量为 1 μL。

所有化合物在设定范围内(例:0.1-200ng/ml (TCDD))线性相关系数 $R^2 > 0.999$ 。17 种 PCDD/Fs

同系物的平均相对响应因子见表 4。图 3-5 分别例举了 2,3,7,8-TCDD, 2,3,7,8-TCDF 和 1,2,3,7,8-PeCDD 的校正曲线。

表 4.PCDD/Fs 校准曲线的相关系数及各同系物的平均响应因子。

化合物	线性回归方程	R ²	平均 RF	RF %RSD
2378-TCDD	$Y = 1.150399X + 3.29953e-004$	0.99999	1.22794	8.06
12378-PCDD	$Y = 1.014733X + 3.009239e-003$	1.00000	1.03887	1.96
123478-HxCDD	$Y = 1.079761X - 5.260601e-004$	0.99997	1.09358	3.65
123678-HxCDD	$Y = 0.9705907X + 5.362575e-002$	0.99915	1.08710	5.37
123789-HxCDD	$Y = 1.024768X + 3.682249e-002$	0.99967	1.00394	14.48
1234678-HpCDD	$Y = 0.9429045X + 1.331675e-002$	0.99998	1.02985	6.92
OCDD	$Y = 1.242978X - 6.145206e-002$	0.99929	1.14683	6.10
2378-TCDF	$Y = 1.15754X + 9.032785e-004$	0.99996	1.18104	3.57
12378-PeCDF	$Y = 1.015266X - 5.771587e-003$	0.99997	1.07846	7.83
23478-PeCDF	$Y = 1.045151X - 6.304552e-003$	0.99998	1.04210	4.49
123478-HxCDF	$Y = 1.006328X + 2.605984e-002$	0.99988	1.09930	6.04
123678-HxCDF	$Y = 0.9307018X + 3.432044e-002$	0.99971	1.06611	8.06
234678-HxCDF	$Y = 0.9080292X + 3.053454e-002$	0.99983	1.00464	6.34
123789-HxCDF	$Y = 0.960272X + 2.450491e-002$	0.99993	1.03403	9.10
1234678-HpCDF	$Y = 0.9732686X + 4.031919e-002$	0.99958	1.08255	4.88
1234789-HpCDF	$Y = 0.9562794X + 3.622056e-002$	0.99969	1.06788	5.48
OCDF	$Y = 1.424071X + 3.271179e-003$	0.99999	1.50245	8.94

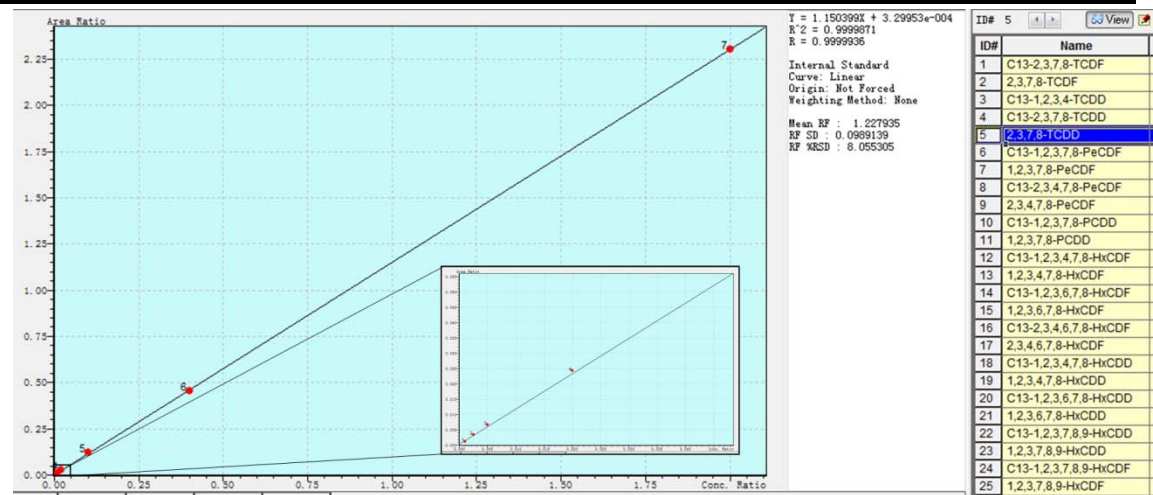


图 3. 2,3,7,8-TCDD 的 7 点线性拟合校准曲线及平均响应因子

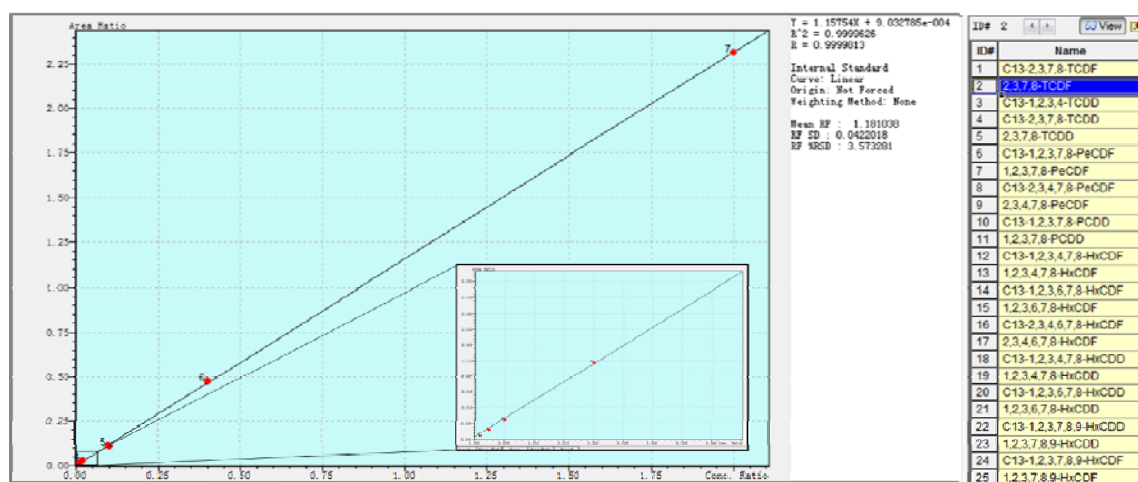


图 4. 2,3,7,8-TCDF 的 7 点线性拟合校准曲线及平均响应因子

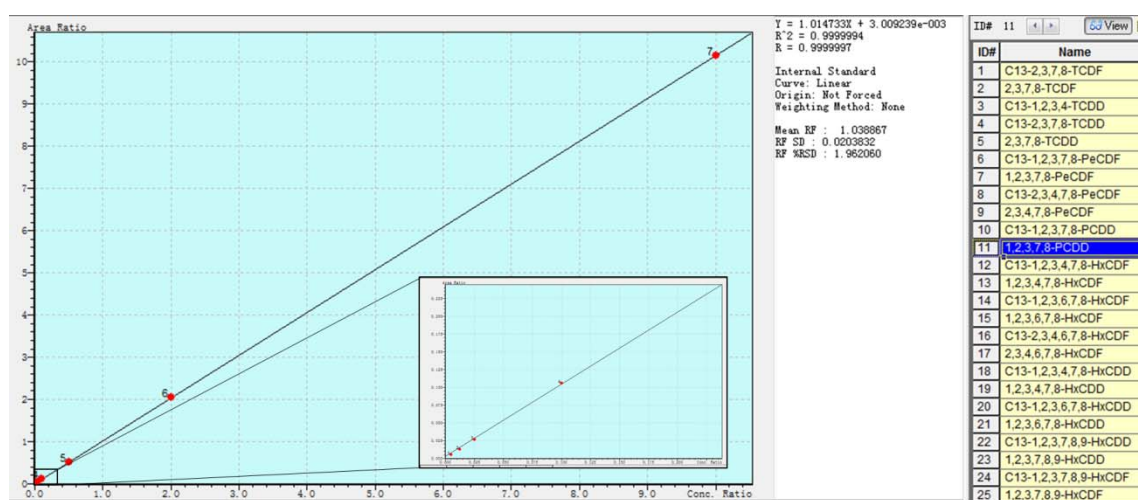


图 5. 1,2,3,7,8-PeCDD 的 7 点线性拟合校准曲线及平均响应因子

2.3 灵敏度考察

为考察 GC-MS/MS 在低进样浓度的响应灵敏度,将 EPA-1613CS1 标准溶液稀释 50 倍(10 fg/ μ L 2,3,7,8-TCDD),进样量为 2 μ L,即绝对进样量为 20 fg。PCDD/Fs 同系物的 MRM 分析质量色谱图如图 6。

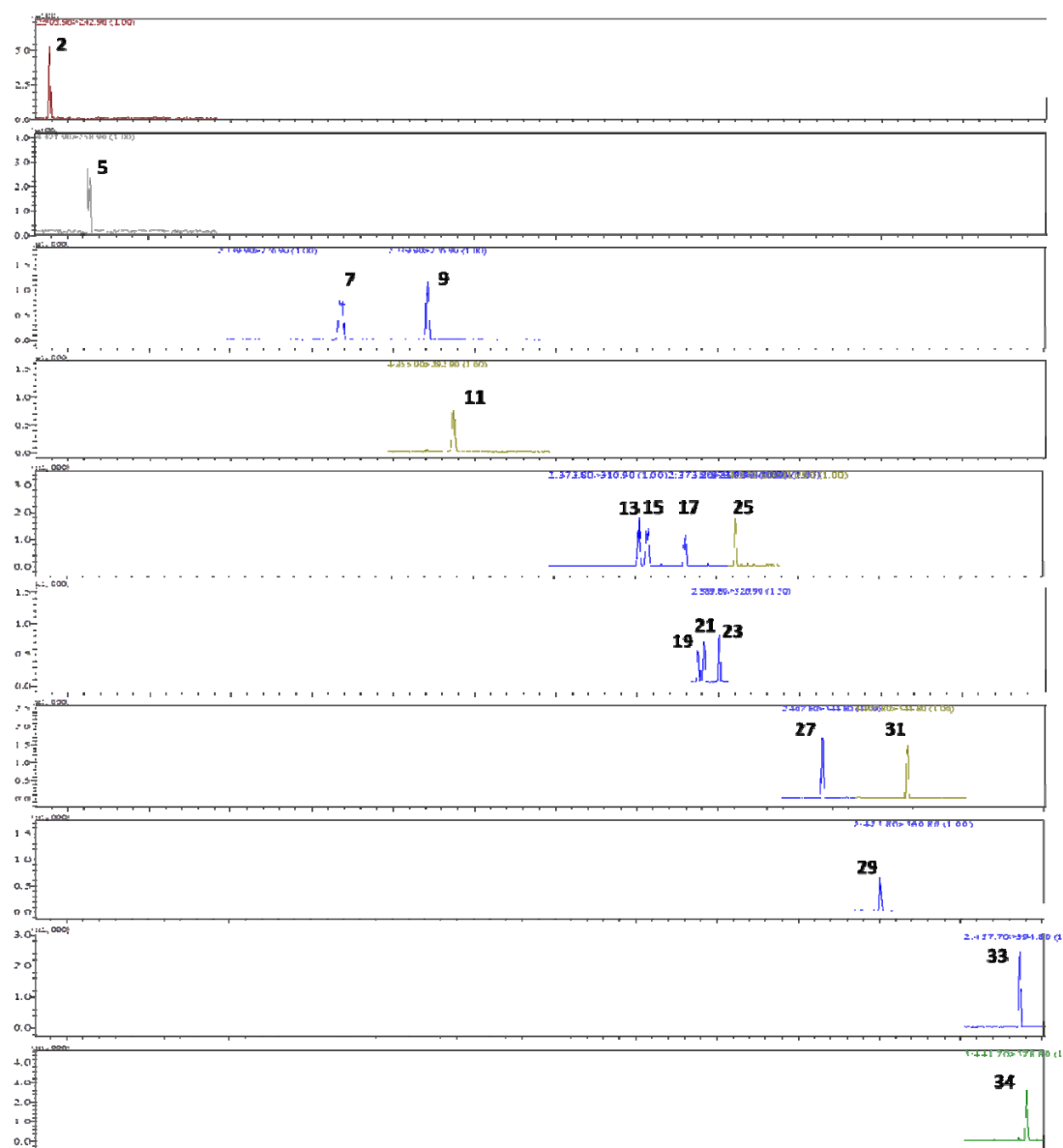


图 6. PCDD/Fs 同系物(10-100 fg/ μ L, 2 μ L 进样体积)的 MRM 分析质量色谱图。图中峰号代表的化合物参见表 3。

2.4 重复性考察

将稀释 50 倍的 EPA-1613CS1 (10 fg/ μ L, 2,3,7,8-TCDD)分别进行日内和日间进样,考察仪器响应的重复性和稳定性。日内连续进样 4 次,日间连续进样 3 天,共计 12 次。峰面积变化的结果见图 7,17 种 PCDD/Fs 同系物与对应 ^{13}C 标记同位素内标的峰面积 RSD 均小于 15% (见图 7),表明仪器响应的重复性和稳定性均较好。

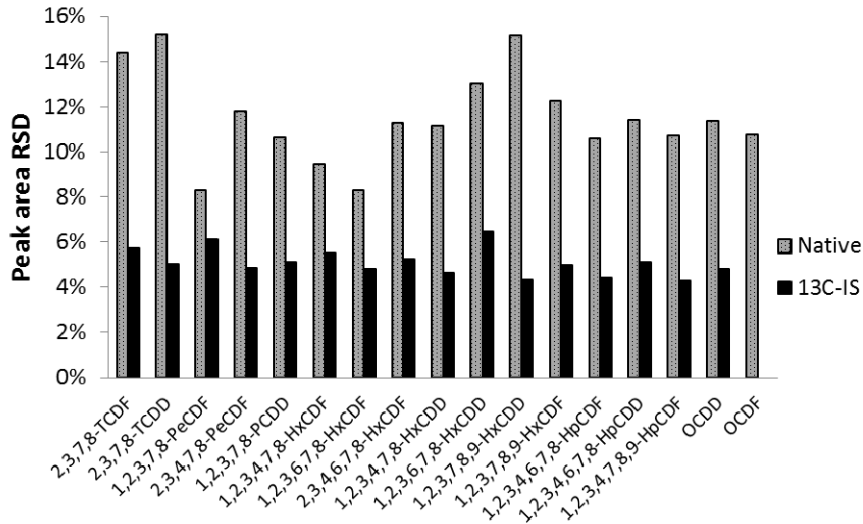


图 7. PCDD/Fs 与 ¹³C 标记同位素内标峰面积的重现性(n=12)

2.5 实际样品分析

牛奶和饲料用鱼油样品经前处理后，在相同的气相色谱条件下分别进行 GC-MS/MS 和 HRGC/HRMS 检测分析。图 8 是鱼油样品中 2,3,7,8-TCDF, 2,3,7,8-TCDD 和 1,2,3,7,8-PCDD 及其对应的 ¹³C 标记同位素内标 MRM 分析质量色谱图。图 9 和图 10 分别是鱼油和奶粉样品中 PCDD/Fs 同系物的 GC-MS/MS 和 HRGC/HRMS 检测结果对比。在 GC-MS/MS 的检测结果中，鱼油和奶粉中 PCDD/Fs 的毒性相当量（TEQ）分别为 29.5 pg WHO-TEQ₂₀₀₅/g 脂肪和 1.38 pg WHO-TEQ₂₀₀₅/g；而 HRGC/HRMS 的检测结果中，鱼油和奶粉中 PCDD/Fs 的毒性相当量（TEQ）分别为 24.9 pg WHO-TEQ₂₀₀₅/g 脂肪和 1.37 pg WHO-TEQ₂₀₀₅/g。二者相对偏差 RD<10%，表明 GC-MS/MS 与 HRGC/HRMS 的分析结果具有较好的一致性。

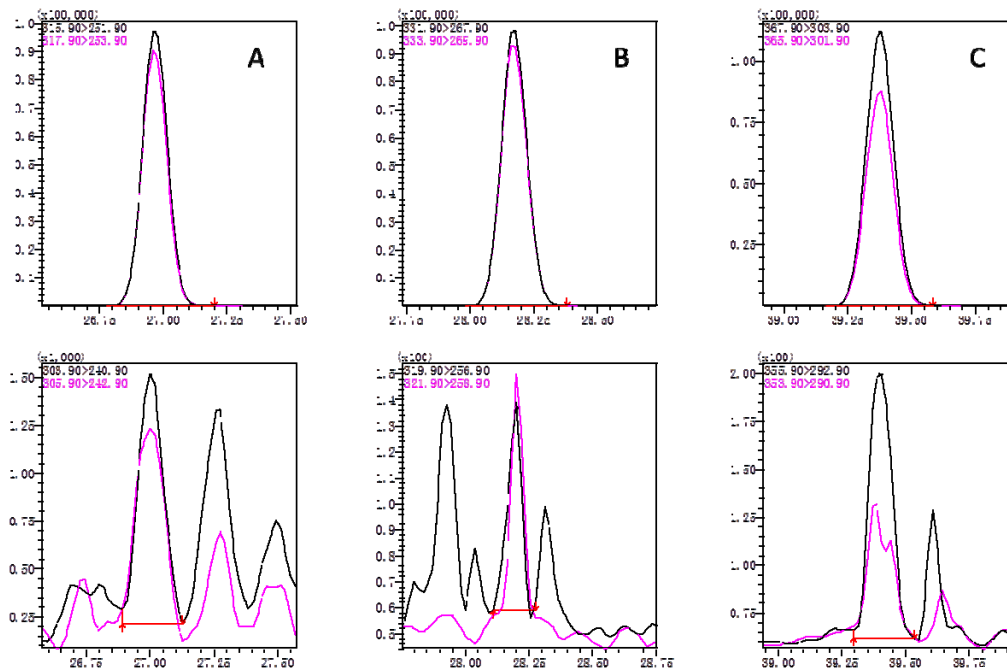


图 8. 鱼油样品中 2,3,7,8-TCDF (A), 2,3,7,8-TCDD (B) 和 1,2,3,7,8-PCDD (C) 及其对应的 ¹³C 标记同位素内

标的 MRM 分析质量色谱图

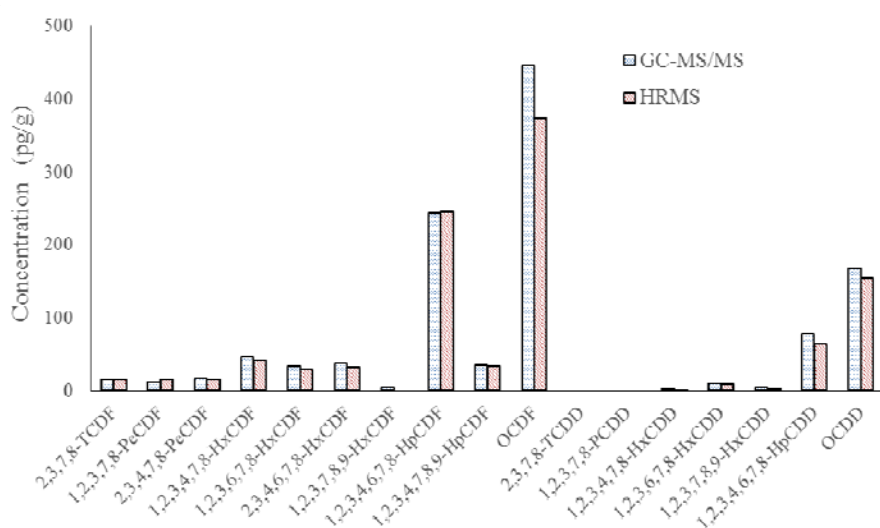


图 9. 鱼油中 PCDD/Fs 同系物的 GC-MS/MS 和 HRGC/HRMS 检测结果对比图

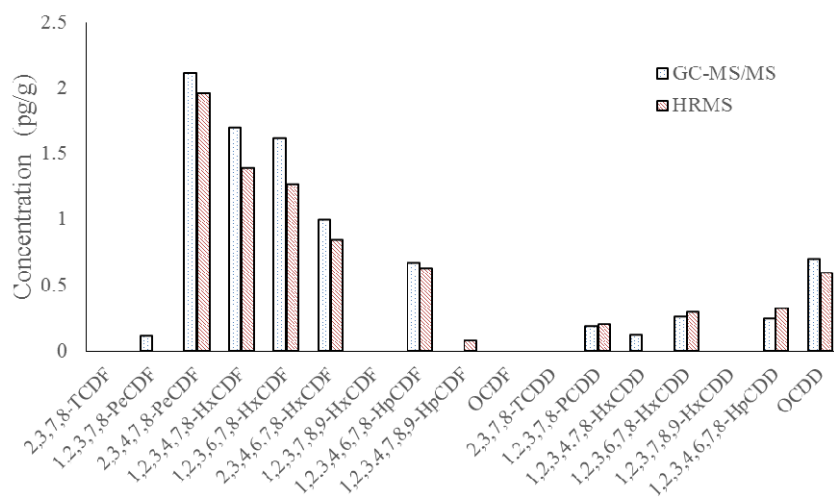


图 10. 奶粉中 PCDD/Fs 同系物的 GC-MS/MS 和 HRMS 检测结果对比图

3 结论

岛津 GCMS-TQ8040 系统能够实现对食品和动物饲料中 PCDD/Fs 的有效筛查和定量分析。该方法具有较高的灵敏度，良好的线性和重现性。对实际样品的分析显示，GC-MS/MS 能够获得与 HRGC/HRMS 的基本一致的分析结果，表明 GCMS-TQ8040 能够按照欧盟法规要求实现对食品和动物饲料中痕量 PCDD/Fs 的分析检测。



岛津企业管理（中国）有限公司
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话： 800-810-0439
400-650-0439

免责声明：

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；

* 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。如有变动，恕不另行通知。