

Application News

三重四极杆 GC-MS/MS 同位素稀释法定量测定饮用水中的二噁英

ASMS 2016 ThP 152

Jackie, Chiew Mei Chong, Hui Xian Crystal Yeong, Cynthia Melanie Lahey, Lai Chin Loo, Application Development and Support Centre, Shimadzu (Asia Pacific) Pte Ltd, 79 Science Park Drive, #02-01/08, Cintech IV, Singapore Science Park 1, Singapore 118264

■ 引言

多氯代二苯并二噁英 (PCDDs) 和多氯代二苯并呋喃 (PCDFs)，通常称为二噁英，是持久性有机污染物。它们的稳定性不断累积，导致环境问题。除了气相色谱 - 高分辨质谱联用 (GC-HRMS) 系统，欧盟法规第 589/2014 号还将气相色谱 - 串联质谱 (GC-MS/MS) 系统作为测定饲料和食品中二噁英的确认方法^[1]。

这就促使人们使用价格低廉且用户友好的 GC-MS/MS 系统来鉴定和定量二噁英。本研究报道了一种采用三重四极杆 GC-MS/MS 系统开发的高灵敏度检测和定量水样中二噁英的方法，作为 EPA 1613 方法的建议替代方法，但更换了检测器。

■ 实验部分

校准标准品、17 种二噁英同系物的天然和 ¹³C 标记化合物加标溶液直接购自 Cambridge Isotope Laboratory，用于方法开发和性能评估。校准标准品可以直接进样。

本研究使用了三种水样：当地自来水、瓶装矿泉水和游泳池用水。

样品制备按照 EPA 1613 方法进行，采用液 - 液萃取法，浓缩系数为 50,000。这些相对干净的样品无需净化^[2]。

本研究采用三重四极杆气相色谱质谱联用仪 GCMS-TQ8040 (日本株式会社岛津制作所)。分析条件见表 1。

表 1 GCMS-8040 用于二噁英分析的 GCMS-MS/MS 分析条件

GC 条件	
自动进样器	: AOC-20i
色谱柱	: SH-Rxi-5Sil MS 60 m x 0.25 mm ID x 0.25 μm df
进样条件	: 285 °C, 不分流模式
进样量	: 2 μL
气流条件	: 氦气, 恒定线速度模式 线速度 29.4 cm/s 吹扫流量 5 mL/min
柱温箱温度程序	: 150 °C (1 min) → 20 °C/min-220 °C → 2 °C/min-260 °C (3 min) → 5 °C/min-320 °C (8.5 min)

MS/MS 参数	
离子源温度	: 230 °C
接口温度	: 280 °C
离子化模式	: EI, 70 eV
Q1 分辨率	: 0.9 amu
Q3 分辨率	: 0.9 amu
溶剂延迟时间	: 16 min
MRM 通道	: 最优
碰撞能量	: 最优
检测器电压	: 程序设定
最短延迟时间	: 25 ms

■ 结果和讨论

方法开发

所有 17 种二噁英同系物，包括关键的六异构体区域，均实现了良好的气相色谱分离 (图 1)。峰峰重叠很小 (< 1% 重叠)。

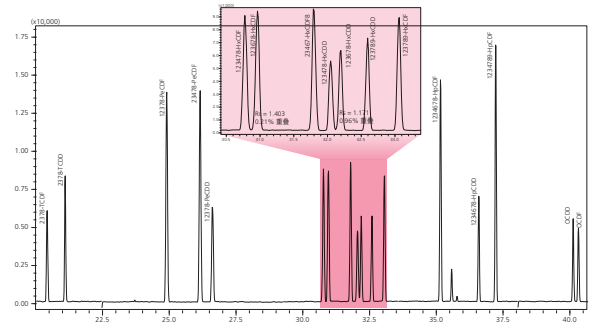


图 1 17 种同系物的 TIC 总离子流图 (TCDD 为 0.05 ng/mL (CS0.1 水平))，六异构体 - 二噁英区域突出显示

所使用的仪器参数基于以前的工作^[3,4]。本研究纳入了检测器电压的时间程序。在毒性较大的二噁英同系物流出区域，通过增大检测器电压，提高仪器的灵敏度，在分析即将结束时降低电压。

系统和实验室性能

方法验证的工作流程如图 2 所示。建立了每种同系物七种浓度水平的校准曲线，如表 2 所示。发现每个水平的重复性均小于 10% RSD (n=7)。所有 17 种同系物线性关系良好 ($R^2 > 0.999$)。其中三种毒性最强的同系物的校准曲线如图 3 所示。

在每批样品前，进样浓度为 CS3 的 VER 标准品（校准验证）对校准曲线进行验证（结果见表 3）。

接着进行过程精密度和回收率分析 (OPR)。OPR 实验是在水样中加标(加标浓度为 VER)来考察系统性能。对所有加标样品进行回收率检查 (REC)，以确保方法性能良好。然后进行方法空白分析，以确保系统无污染和残留。OPR 和方法空白 (含回收率) 的结果如表 5 所示。

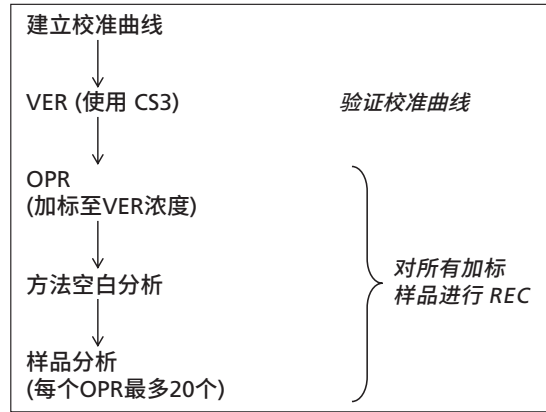


图 2 方法验证工作流程

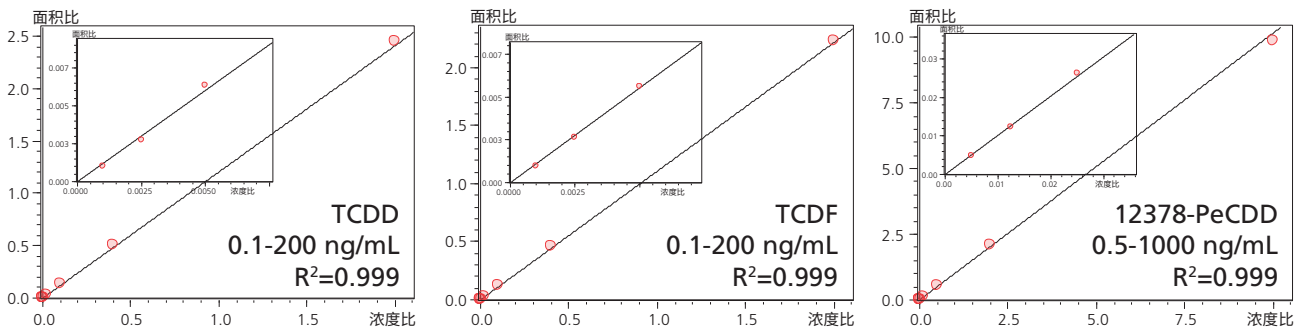


图 3 代表性校准曲线

表 2 使用同位素稀释内标法的校准曲线信息 (R^2 均 > 0.999)，以及 17 种二噁英同系物的重复性 (n=7)

二噁英同系物 *	校准曲线范围 (ng/mL)						
	CS0.2 (RSD)	CS0.5 (RSD)	CS1 (RSD)	CS2 (RSD)	CS3 (RSD)	CS4 (RSD)	CS5 (RSD)
2378-TCDD	0.1 (9.9)	0.25 (5.1)	0.5 (3.4)	2 (4.2)	10 (1.3)	40 (1.4)	200 (2.6)
12378-PeCDD	0.5 (2.5)	1.25 (2.1)	2.5 (3.4)	10 (3.3)	50 (2.4)	200 (1.8)	1000 (1.5)
123478-HxCDD	0.5 (7.9)	1.25 (2.0)	2.5 (3.8)	10 (2.3)	50 (1.5)	200 (2.2)	1000 (0.9)
123678-HxCDD	0.5 (2.3)	1.25 (3.9)	2.5 (2.6)	10 (0.9)	50 (1.2)	200 (2.3)	1000 (2.9)
123789-HxCDD	0.5 (8.6)	1.25 (3.1)	2.5 (1.8)	10 (2.4)	50 (1.3)	200 (3.2)	1000 (2.4)
1234678-HpCDD	0.5 (4.5)	1.25 (5.1)	2.5 (3.7)	10 (2.7)	50 (1.2)	200 (2.3)	1000 (2.9)
OCDD	1 (4.4)	2.5 (4.5)	5 (4.2)	20 (2.2)	100 (2.5)	400 (1.9)	2000 (1.3)
2378-TCDF	0.1 (8.7)	0.25 (5.2)	0.5 (5.0)	2 (2.6)	10 (2.1)	40 (1.2)	200 (1.8)
12378-PeCDF	0.5 (6.0)	1.25 (4.1)	2.5 (4.8)	10 (1.9)	50 (0.7)	200 (2.5)	1000 (2.1)
23478-PeCDF	0.5 (3.8)	1.25 (2.6)	2.5 (3.2)	10 (3.2)	50 (1.4)	200 (2.6)	1000 (2.0)
123478-HxCDF	0.5 (5.3)	1.25 (4.0)	2.5 (3.7)	10 (2.7)	50 (1.3)	200 (2.7)	1000 (1.5)
123678-HxCDF	0.5 (3.9)	1.25 (3.5)	2.5 (4.6)	10 (2.5)	50 (1.2)	200 (1.6)	1000 (2.0)
234678-HxCDF	0.5 (5.6)	1.25 (5.0)	2.5 (5.0)	10 (2.1)	50 (1.2)	200 (3.0)	1000 (2.2)
123789-HxCDF	0.5 (7.6)	1.25 (2.0)	2.5 (3.9)	10 (2.8)	50 (2.8)	200 (2.3)	1000 (3.0)
1234678-HpCDF	0.5 (4.6)	1.25 (2.6)	2.5 (4.4)	10 (3.5)	50 (0.7)	200 (2.8)	1000 (1.7)
1234789-HpCDF	0.5 (4.8)	1.25 (3.2)	2.5 (3.5)	10 (2.6)	50 (2.1)	200 (2.6)	1000 (2.9)
OCDF	1 (3.5)	2.5 (3.2)	5 (1.9)	20 (2.7)	100 (2.3)	400 (2.4)	2000 (1.8)

* 缩略语：“T” = 四；“Pe” = 五；“Hx” = 六；“Hp” = 七；“O” = 八；“CDD” = 氯二苯并二噁英；“CDF” = 氯二苯并呋喃；TCDD/F=2,3,7,8-四氯二苯并二噁英/呋喃

表 3 VER 分析测试标准和结果

名称	测试浓度 (ng/mL)	VER (ng/mL)	
		标准	结果
2378-TCDD	10	7.8-12.9	10.0
12378-PeCDD	50	39-65	47.8
123478-HxCDD	50	39-64	49.3
123678-HxCDD	50	39-64	48.9
123789-HxCDD	50	41-61	49.1
1234678-HpCDD	50	43-58	48.6
OCDD	100	79-126	81.6
2378-TCDF	10	8.4-12.0	10.0
12378-PeCDF	50	41-60	47.8
23478-PeCDF	50	41-61	48.4
123478-HxCDF	50	45-56	48.2
123678-HxCDF	50	44-57	48.6
234678-HxCDF	50	45-56	48.3
123789-HxCDF	50	44-57	48.0
1234678-HpCDF	50	45-55	47.2
1234789-HpCDF	50	43-58	45.5
OCDF	100	63-159	89.5

■ 方法检出限 (MDL)

以加标浓度为 0.05 ng/mL 的样品，重复 7 次提取的结果来计算 MDL，结果（单位：ng/mL）如表 4 所示。对于 7 份重复样品（自由度为 6），t 值为 3.143，MDL 计算如下^[5]：

$$\begin{aligned}
 MDL_{\text{在提取物中}} &= s.d. \times t = 0.0041 \times 3.143 \\
 &= 0.013 \text{ ng/mL}
 \end{aligned}$$

以加标相当于在水样中的浓度为：

$$\begin{aligned}
 MDL_{\text{在样品中}} &= \frac{MDL_{\text{extract}} \times V_{\text{extract}}}{V_{\text{sample}}} = \frac{0.013 \text{ ng/mL} \times 20 \mu\text{L}}{1 \text{ L}} \\
 &= 0.26 \text{ pg/L}
 \end{aligned}$$

MDL 通过五点检查进行验证^[6]：

- | | | |
|------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| 1. 加标水平 (MDL×10 > 加标) | : (0.013×10) ng/mL = 0.13 ng/mL | [通过, 加标 = 0.05 ng/mL] |
| 2. 加标水平 (MDL < 加标) | : MDL = 0.013 ng/mL | [通过, 加标 = 0.05 ng/mL] |
| 3. MDL < 所需最低水平 (ML) | : MDL = 0.26 pg/L | [通过, ML = 10 pg/L] |
| 4. S/N 估计值 (平均值 / 标准差) | : 0.0309/0.0041 = 7.54 | [通过, S/N 为 3-10] |
| 5. 平均回收率 (%) | : 61.7% | [通过, % 回收率为 25-164] |

样品分析

用所建立的方法对三个水样进行分析。样品中报告的最低水平：TCDD/F 为 10 pg/L（提取物中为 0.5 ng/mL），Pe-、Hx-、Hp-CDD/F 为 50 pg/L，OCDD/F 为 100 pg/L。

本研究使用的三种样品均符合 REC 标准，并且不含任何超过最低报告水平 (ML) 的二噁英同系物，结果（含回收率）列于表 5。

表 4 MDL 结果 (ng/mL)

样品 #	结果	% 回收率
样品 1	0.032	64%
样品 2	0.034	68%
样品 3	0.034	68%
样品 4	0.024	48%
样品 5	0.027	54%
样品 6	0.030	60%
样品 7	0.035	70%
平均值	0.0309	61.7%
s.d.	0.0041	

表 5 OPR 分析、方法空白和水样分析的测试标准和结果。
低于最低水平的结果表示为“< ML”

名称	测试浓度 (ng/mL)	OPR (ng/mL)		浓度 (ng/mL)			
		标准	结果	方法空白	样品 1 [†]	样品 2 [†]	样品 3 [†]
2378-TCDD	10	6.7-15.8	10.0	< ML	< ML	< ML	< ML
12378-PeCDD	50	35-71	44.5	< ML	< ML	< ML	< ML
123478-HxCDD	50	35-82	48.5	< ML	< ML	< ML	< ML
123678-HxCDD	50	38-67	48.8	< ML	< ML	< ML	< ML
123789-HxCDD	50	32-81	38.3	< ML	< ML	< ML	< ML
1234678-HpCDD	50	35-70	44.8	< ML	< ML	< ML	< ML
OCDD	100	78-144	91.0	< ML	< ML	< ML	< ML
2378-TeCDF	10	7.5-15.8	9.8	< ML	< ML	< ML	< ML
12378-PeCDF	50	40-67	43.3	< ML	< ML	< ML	< ML
23478-PeCDF	50	34-80	45.1	< ML	< ML	< ML	< ML
123478-HxCDF	50	36-67	47.9	< ML	< ML	< ML	< ML
123678-HxCDF	50	42-65	48.4	< ML	< ML	< ML	< ML
234678-HxCDF	50	39-65	47.7	< ML	< ML	< ML	< ML
123789-HxCDF	50	35-78	46.0	< ML	< ML	< ML	< ML
1234678-HpCDF	50	41-61	40.6	< ML	< ML	< ML	< ML
1234789-HpCDF	50	39-69	41.6	< ML	< ML	< ML	< ML
OCDF	100	63-170	85.9	< ML	< ML	< ML	< ML
¹³ C-1234-TCDD	100	IS	100	100	100	100	100
¹³ C-2378-TCDD	100	25-164	83.5	63.7	76.4	68.0	66.3
¹³ C-12378-PeCDD	100	25-181	86.7	65.4	77.3	69.7	70.5
¹³ C-123478-HxCDD	100	32-141	80.7	63.5	74.2	71.8	68.8
¹³ C-123678-HxCDD	100	28-130	80.8	62.7	73.8	70.9	70.8
¹³ C-123789-HxCDD	100	IS	100	100	100	100	100
¹³ C-1234678-HpCDD	100	23-140	80.3	60.5	74.9	74.2	77.4
¹³ C-OCDD	200	34-313	148.9	108.4	143.7	143.8	148.7
¹³ C-2378-TeCDF	100	24-169	81.7	68.3	74.6	68.3	66.5
¹³ C-12378-PeCDF	100	24-185	84.8	67.2	73.9	67.9	69.7
¹³ C-23478-PeCDF	100	21-178	85.0	67.2	76.3	68.2	69.4
¹³ C-123478-HxCDF	100	26-152	79.4	62.4	70.7	67.9	68.1
¹³ C-123678-HxCDF	100	26-123	78.7	63.4	71.4	67.8	68.0
¹³ C-234678-HxCDF	100	29-147	79.6	64.4	72.0	67.1	64.7
¹³ C-123789-HxCDF	100	28-136	76.7	62.4	69.6	69.6	68.4
¹³ C-1234678-HpCDF	100	28-143	80.5	64.7	74.5	75.4	75.2
¹³ C-1234789-HpCDF	100	26-138	79.4	63.9	75.4	73.2	74.2

[†] 样品 1 为当地自来水, 样品 2 为当地购买的矿泉水, 样品 3 为游泳池用水。

■ 结论

开发了 GC-MS/MS 方法，并根据 EPA 1613 标准进行了优化和验证。在 7 个水平上进行校准（RSD 均 < 10%，n=7），线性度良好（ $R^2 > 0.999$ ）。结果表明，该方法具有良好的系统性能和实验室性能，用该方法测定的 TCDD 的 MDL 为 0.26 pg/L。对三个水样进行了分析，结果表明所开发的方法是 EPA 1613 的有效替代方法。

■ 参考文献

1. 欧盟委员会条例第 589 号 /2014 年。
2. 美国环境保护署（EPA）1613 方法。
3. “采用 GC/MS/MS 进行二噁英分析的简单 MRM 参数优化的数据库”，二噁英 2015 年会，巴西。
4. 岛津应用报告 AD-0092。
5. 40 CFR 第 136 部分的附录 B。
6. “分析检出限指南”，威斯康辛州自然资源部，1996 年。

免责声明：本介绍中的产品和应用仅供研究使用（RUO），不用于诊断程序。

岛津应用云



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。

第一版发行日：2016 年 6 月