

CMS-TQ8050 应用于牛肉中二噁英 (PCDD/Fs) 的检测

GCMSMS-127

摘要: 本文介绍了一种气相色谱 - 三重四极杆质谱法 (GC-MS/MS) 测定牛肉中超痕量二噁英 (PCDD/Fs) 的分析方法。方法具有良好的灵敏度和重现性, 对绝对进样量为 20-200 fg 的 17 种 PCDD/Fs 信噪比均大于 50, 色谱峰面积的相对标准偏差 (RSD) 小于 20%(n=12)。方法在较宽的浓度范围内具有良好的线性, 标准曲线的相对响应因子 (RRF) 的 RSD 均小于 15%。利用本方法测定了牛肉中二噁英的浓度, 其检测结果与高分辨气相色谱 / 高分辨质谱法 (HRGC/HRMS) 结果具有良好的一致性, 可以满足 EPA 1613B 方法的技术要求。

关键词: GCMS-TQ8050 牛肉 二噁英

二噁英是多氯代二苯并 - 对 - 二噁英 (PCDDs) 和多氯代二苯并呋喃 (PCDFs) 的统称。PCDD/Fs 共有 210 种同类物 (包括 75 种 PCDDs 同类物和 135 种 PCDFs 同类物), 其中 17 种 2,3,7,8- 位氯取代的同类物具有较强的毒性。这 17 种同类物由于与芳香烃受体 (AhR) 具有较强的亲和性, 长期接触会对生物体产生毒害作用, 包括引发癌症, 造成免疫系统损伤, 干扰神经系统和内分泌系统的发育, 影响生殖功能等。PCDD/Fs 具有较强的亲脂性, 当其从环境进入生物体后在脂肪组织中累积, 并沿食物链富集, 会对位于食物链顶端的哺乳动物和人类产生健康危害。

2017 年 4 月 5 日, 欧盟委员会发布 EU 2017/644 号

法规, 制定食品中二噁英、二噁英类多氯联苯 (PCDDs) 和非二噁英类多氯联苯取样和检测方法。法规指出, 对于食品和饲料中的 PCDD/Fs 和二噁英类多氯联苯 (dl-PCDDs) 含量是否满足欧盟法规的最高限值要求, 可采用 GC-MS/MS 作为确认方法进行分析。

岛津 GCMS-TQ8050 采用了新高效检测器和 3 种降噪技术, 其灵敏度水平得到极大提高, 可实现飞克级的定量分析, 并提高了仪器的耐用性与稳定性。本文利用岛津 GCMS-TQ8050 结合 Smart MRM 功能建立牛肉中 PCDD/Fs 的分析方法, 并对实际样品进行了检测, 其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。



岛津GCMS-TQ8050

实验部分

1.1 仪器

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

牛肉样品购于当地超市, 其前处理方法基于 EPA method 1613B 并进行适当修改。样品冷冻干燥后, 研磨过筛, 适量样品萃取采用加速溶剂萃取 (ASE) 法, 净化采用酸 / 碱复合硅胶柱和活性炭柱。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-TQ8050。表 1 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。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 0.35 s；为保证各组中化合物的循环采集时间在 1.1 s，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 0.2 s。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 1。

GCMS 的仪器条件

气相条件

色谱柱: DB-5 MS (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: 300 kPa (2 min)

进样时间: 1 min

进样温度: 290 $^{\circ}\text{C}$ 色谱柱柱温程序: 150 $^{\circ}\text{C}$ (3 min)_(20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$)230 $^{\circ}\text{C}$ (18 min)_(5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$)235 $^{\circ}\text{C}$ (10 min)_(4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$)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 $^{\circ}\text{C}$ 接口温度: 270 $^{\circ}\text{C}$

采集模式: MRM 模式

CID 气: 氙气

Q1 分辨率: Unit

Q3 分辨率: Unit

发射电流: 250 μA

循环时间: 1.1 sec

CID 气压力: 150 kPa

检测器电压: 1.6 kV

表1 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

峰号	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	^{13}C -2,3,7,8-TCDF	26.572	315.90>251.90	31	317.90>253.90	31
2	2,3,7,8-TCDF	26.597	303.90>240.90	31	305.90>242.90	31
3	^{13}C -1,2,3,4-TCDD	26.857	331.90>267.90	25	333.90>269.90	25
4	^{13}C -2,3,7,8-TCDD	27.749	331.90>267.90	25	333.90>269.90	25
5	2,3,7,8-TCDD	27.807	319.90>256.90	25	321.90>258.90	25
6	^{13}C -1,2,3,7,8-PeCDF	35.283	351.90>287.90	34	349.90>285.90	34
7	1,2,3,7,8-PeCDF	35.312	339.90>276.90	34	337.90>274.90	34
8	^{13}C -2,3,4,7,8-PeCDF	38.217	351.90>287.90	37	349.90>285.90	37
9	2,3,4,7,8-PeCDF	38.276	339.90>276.90	37	337.90>274.90	37
10	^{13}C -1,2,3,7,8-PeCDD	39.103	367.90>303.90	25	365.90>301.90	25
11	1,2,3,7,8-PeCDD	39.125	355.90>292.90	25	353.90>290.90	25
12	^{13}C -1,2,3,4,7,8-HxCDF	45.332	385.80>321.90	37	387.80>323.90	37
13	1,2,3,4,7,8-HxCDF	45.361	373.80>310.90	37	375.80>312.90	37
14	^{13}C -1,2,3,6,7,8-HxCDF	45.594	385.80>321.90	37	387.80>323.90	37
15	1,2,3,6,7,8-HxCDF	45.609	373.80>310.90	37	375.80>312.90	37
16	^{13}C -2,3,4,6,7,8-HxCDF	46.825	385.80>321.90	37	387.80>323.90	37
17	2,3,4,6,7,8-HxCDF	46.836	373.80>310.90	37	375.80>312.90	37
18	^{13}C -1,2,3,4,7,8-HxCDD	47.204	401.80>337.90	25	403.80>339.80	25

19	1,2,3,4,7,8-HxCDD	47.205	389.80>326.90	25	391.80>328.80	25
20	¹³ C-1,2,3,6,7,8-HxCDD	47.418	401.80>337.90	25	403.80>339.80	25
21	1,2,3,6,7,8-HxCDD	47.427	389.80>326.90	25	391.80>328.80	25
22	¹³ C-1,2,3,7,8,9-HxCDD	47.890	401.80>337.90	25	403.80>339.80	25
23	1,2,3,7,8,9-HxCDD	47.919	389.80>326.90	25	391.80>328.80	25
24	¹³ C-1,2,3,7,8,9-HxCDF	48.452	385.80>321.90	34	387.80>323.90	34
25	1,2,3,7,8,9-HxCDF	48.541	373.80>310.90	34	375.80>312.90	34
26	¹³ C-1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	51.214	419.80>355.80	37	421.80>357.80	37
27	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	51.230	407.80>344.80	37	409.80>346.80	37
28	¹³ C-1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	53.068	435.80>371.80	25	437.80>373.80	25
29	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	53.084	423.80>360.80	25	425.80>362.80	25
30	¹³ C-1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	53.848	419.80>355.80	37	421.80>357.80	37
31	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	53.867	407.80>344.80	37	409.80>346.80	37
32	¹³ C-OCDD	57.454	469.70>405.80	25	471.70>407.80	25
33	OCDD	57.464	457.70>394.80	25	459.70>396.80	25
34	OCDF	57.687	441.70>378.80	34	443.70>380.80	34

结果与讨论

2.1 色谱图

图 1 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。

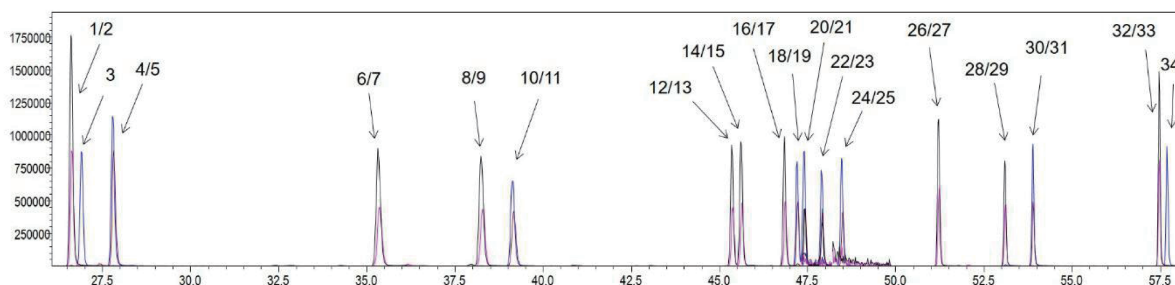
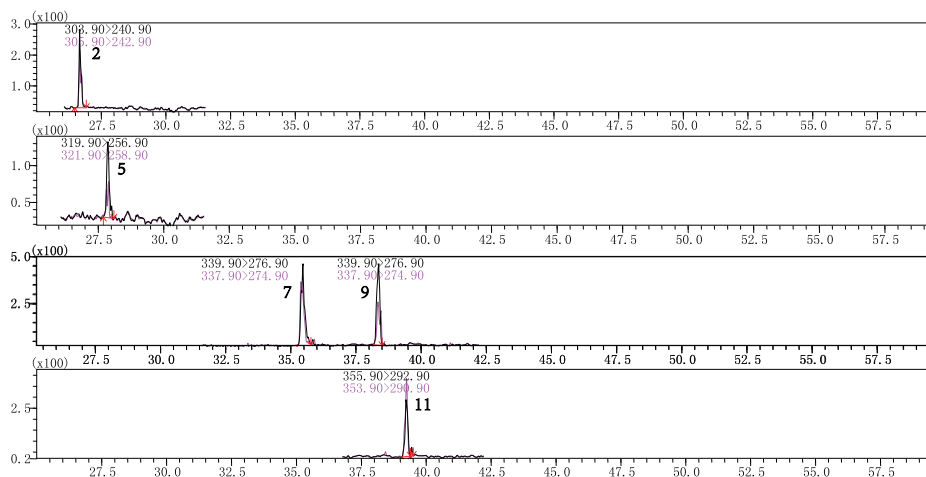


图1 PCDD/Fs (10-100 pg/ μ L)的质量色谱图 (EPA 1613-CS3), 峰号对应目标物参见表2

2.2 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 2。



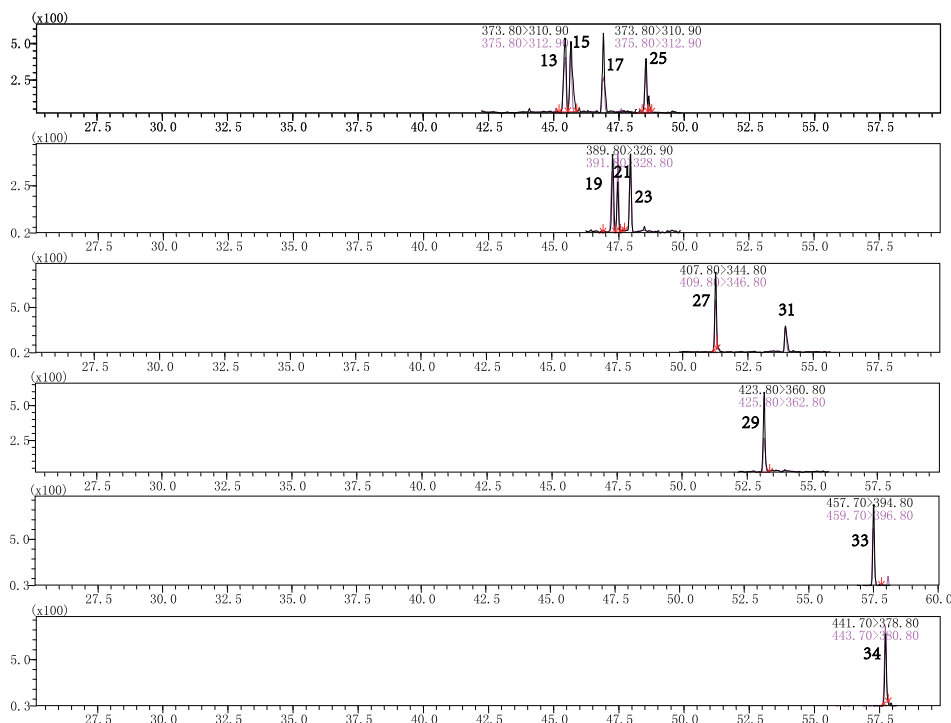


图2 PCDD/Fs同系物(10-100 fg/ μ L, 2 μ L 进样体积)的MRM分析质量色谱图

2.3 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 20%(见图 3), 表明仪器响应的重复性和稳定性均较好。

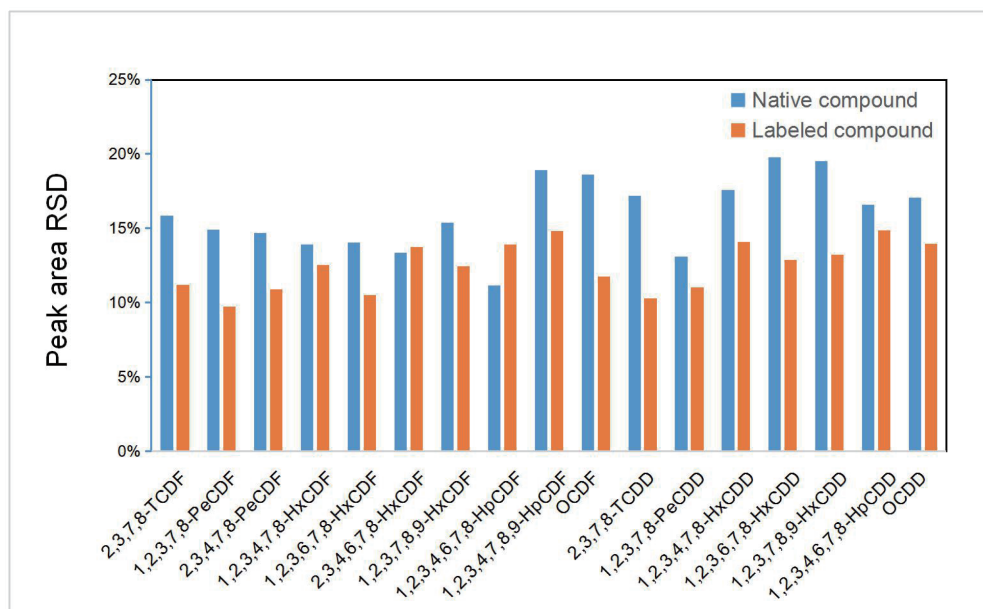


图3 PCDD/Fs与 ^{13}C 标记同位素内标峰面积的重复性(n=12)

2.4 线性考察

采用 EPA-1613CVS 系列 (CSL,CS0.5,CS1-CS4) 制作标准曲线。标准溶液进样量为 1 μ L。所有化合物在设定范围内 (例: 0.1-40 ng/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 3。图 4-6 分别列举了 2,3,7,8-TCDD, 2,3,7,8-TCDF 和 1,2,3,7,8-PeCDD 的校正曲线。

表2 17种PCDD/Fs校准曲线的相关系数及各同系物的平均响应因子及对应方法检出限

化合物	浓度范围	平均相对响应因子	相对标准偏差	方法检出限 (pg/g)
2,3,7,8-TCDF	0.1-40	1.19	4.5	0.033
1,2,3,7,8-PeCDF	0.5-200	1.08	4.5	0.150
2,3,4,7,8-PeCDF	0.5-200	1.12	6.6	0.092
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.5-200	1.08	7.1	0.183
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.5-200	1.06	6.8	0.211
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.5-200	1.11	8.6	0.107
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.5-200	0.99	4.7	0.190
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.5-200	1.13	5.7	0.106
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.5-200	1.12	5.0	0.154
OCDF	1.0-400	1.30	7.1	0.397
2,3,7,8-TCDD	0.1-40	1.32	11.5	0.033
1,2,3,7,8-PCDD	0.5-200	1.10	5.5	0.099
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.5-200	1.09	4.2	0.179
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.5-200	1.06	7.1	0.194
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.5-200	0.99	7.6	0.157
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.5-200	1.15	9.2	0.185
OCDD	1.0-400	1.10	6.1	0.442

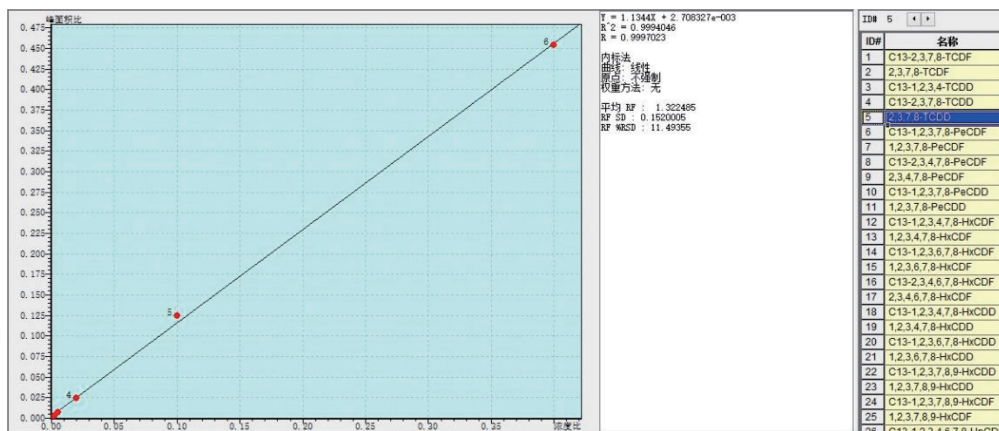


图4 2,3,7,8-TCDD的6点线性拟合校准曲线及平均响应因子

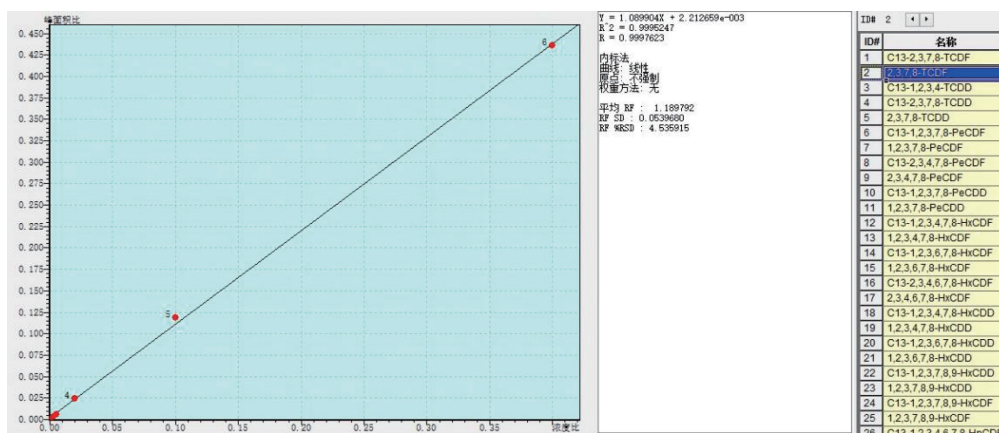


图5 2,3,7,8-TCDF的6点线性拟合校准曲线及平均响应因子

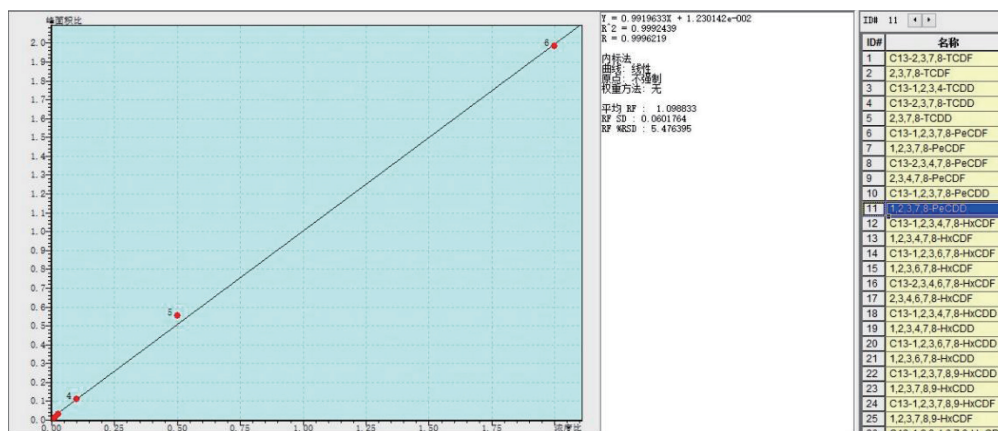


图6 1,2,3,7,8-PeCDD的6点线性拟合校准曲线及平均响应因子

2.5 方法检出限

使用作为空白牛肉样品进行加标实验以计算方法检出限 (MDL)。设置 3 个平行样品，分别向其中添加 10 μL EPA-1613PAR 稀释液 (100-1000 pg/mL) 及 1 ng 同位素添加内标 (EPA-1613LCS)，后续的前处理方法与实际样品相同，在仪器分析前加入 1 ng 同位素进样内标 (EPA-1613ISS)。将净化后的每个空白样品重复进样 3 次并计算其 3 倍 $\text{RSD}(n=9)$ 作为方法检出限 (表 3)。计算得到 PCDD/Fs 同类物的方法检出限范围为 0.033-0.442 pg/g ，低于样品中欧盟规定的食品中二噁英物质最高残留限量的检测要求。

2.6 实际样品分析

牛肉样品经前处理后，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，并以 HRGC/HRMS 的测定结果作为参考值。在本研究中，如果化合物浓度低于方法检出限，则以方法检出限计算。每个样品在 GC-MS/MS 上重复进样 6 次以验证 GC-MS/MS 方法测定结果的精密度。在 GC-MS/MS 的检测结果中，牛肉中 PCDD/Fs 的毒性相当量 (TEQ) 为 0.51 $\text{pg WHO-TEQ2005/g fat}$ ；而 HRGC/HRMS 的检测结果中，牛肉中 PCDD/Fs 的毒性相当量 (TEQ) 分别为 0.58 $\text{pg WHO-TEQ2005/g fat}$ 。二者相对偏差 $\text{RD}<15\%$ ，表明 GC-MS/MS 与 HRGC/HRMS 的分析结果具有较好的一致性。

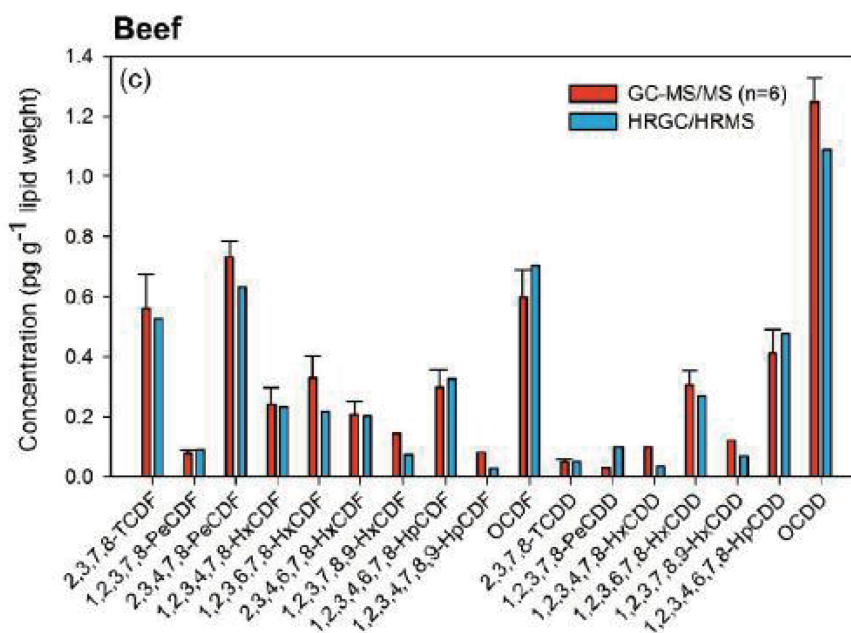


图8 牛肉中PCDD/Fs同系物的GC-MS/MS和HRMS检测结果对比图

■ 结论

岛津 GCMS-TQ8050 系统能够实现对牛肉中 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。结果表明岛津的 GCMS-TQ8050 可以胜任牛肉中二噁英类的定量检测，并且完全满足欧盟法规的要求。