

为满足欧盟法规 709/2014 的要求验证二恶英及二恶英类 PCB 的 GC/MS/MS 确证法

应用简报

食品

作者

Joerg Riener
安捷伦科技公司
Waldbronn
Germany

摘要

利用 Agilent 7890B GC 和 Agilent 7000C 系列三重四极杆质谱的气质联用系统开发出一种 GC/MS/MS 方法，并全面验证动物饲料中多氯代二苯-对-二恶英 (PCDD)、多氯二苯并呋喃 (PCDF) 和多氯联苯 (PCB) 的监测方法，以满足欧盟法规 709/2014 的要求。尽管质量分析器的技术存在差异，但该系统的性能与之前欧盟法规所要求的分析平台 GC/HRMS 相似。



Agilent Technologies

前言

多氯代二苯-对-二恶英 (PCDD)、多氯二苯并呋喃 (PCDF) 和多氯联苯 (PCB) 为剧毒的难降解有机污染物 (POP)。因此, 为保护环境和人类健康, 2001 年颁布的关于 POP 的斯德哥尔摩公约中对其进行了管制 [1]。这些化合物中的许多种类与癌症、内分泌失调和生殖障碍有关。它们是工业过程、农药生产、焚烧过程及其他来源的副产物。

这些有毒化合物在环境中非常稳定, 它们的亲脂性使其能够在动物的脂肪组织中累积。因此, 欧盟委员会要求必须对市场上销售的所有食品或动物饲料进行监测, 确保这些污染物在此类产品中没有超出规定的最大浓度 (ML)。欧盟法规还强制要求对食品和饲料中的这些化合物进行持续监测。这些法规能够有效降低人们随时间推移的接触量, 并减少人们每天对这些有毒化合物的摄入量 [1]。

以前, 确证和定量分析痕量二恶英需要采用高分辨率质谱 (HRMS)。然而, 自 2014 年 6 月起, 欧盟 (EU) 颁布的法规 (709/2014) 规定了可使用气相色谱/串联质谱 (GC/MS/MS) 系统对食品和饲料中 PCDD、PCDF、二恶英类 PCB 和非二恶英类 (NDL) PCB 的含量进行确证性试验, 以满足 EU ML 的要求。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 [2]。

本应用简报将介绍一项已发表的研究, 该研究验证了气相色谱/三重四极杆质谱在植物油中二恶英及二恶英类 PCB 的确证性分析 [1]。使用 Agilent 7890 GC 和 Agilent 7000 三重四极杆质谱的气质联用系统, 证实这一方法满足了欧盟法规所规定的严格分析标准 (例如选择性、准确度和重现性) 的要求。结果与采用 GC/HRMS 所获得的类似, 从而为 GC/HRMS 提供了一种可行且经济的替代方法。

实验部分

试剂和标准品

溶剂和试剂均按所述方式获得 [1]。使用相应的 ^{13}C 标记内标 (EDF-4144, 剑桥同位素实验室 (CIL)) 对 PCDD/PCDF (2,3,7,8 取代) 和非邻位 (NO-) PCB (PCB 81、77、126 和 169) 的所有同族物进行定量分析。使用回收率标准品 (EDF-4145, 注射器标准品, CIL) 测定回收率。用于 PCDD/PCDF 和 NO-PCB (EDF-4143) 的校准曲线标准品同样购自 CIL。 ^{13}C 标记的单邻位 (MO-) PCB (包括 PCB 105、114、118、123、156、157、167 和 189) 的内标加标溶液 (MBP-MKX) 购自 Wellington Laboratories。利用 EC-4987、EC-5179、EC-4058 (CIL) 和 MBP-MKX 标准品创建 MO-PCB 和 NDL-PCB (PCB 28、52、101、138、153 和 180) 的校准曲线。

仪器

本研究采用 Agilent 7890B 气相色谱系统与 Agilent 7000C 系列三重四极杆质谱相结合的气质联用系统。仪器条件列于表 1 中。每 10 天采用 EI 高灵敏度自动调谐模式重复对仪器进行校准和调谐，并对仪器性能进行验证。

表 1. GC/MS 运行条件

气相色谱条件

色谱柱	Agilent DB-5 MS UI 60 m × 250 μm × 0.25 μm (部件号 122-5562UI) 进样口 PTV, 出口 真空
进样量	PCDD/PCDF 和 NO-PCB: 5 μL MO 和 NDL-PCB: 2 μL
进样口	PTV, 用液态 CO ₂ 冷却
进样口衬管	多挡板, 去活, PTV 衬管 (部件号 5183-2037)
进样模式	溶剂排空 45 °C (3 min), 以 720 °C/min 升温至 320 °C 排空流速 100 mL/min, 压力 10 psi, 持续 2.8 min 吹扫设置为 5 min 后, 流速为 1200 mL/min
载气	氦气
载气模式	恒流
色谱柱流速	0.96 mL/min
保留时间锁定	PCB-105, 锁定在 19.66 min 处
柱温箱升温程序	120 °C (5 min) 以 25 °C/min 升温至 250 °C (5 min) 以 3 °C/min 升温至 285 °C (15 min) MO-PCB 馏分采用相同程序, 不同之处在于在 285 °C 下保持 0 min
总运行时间	41.6 min

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	280 °C
离子源温度	280 °C
四极杆温度	150 °C

利用多反应监测 (MRM) 模式进行数据采集, 通过调整采集窗口和驻留时间优化采集频率, 达到每个峰获得 10 个数据点。对每种目标物使用两个 MRM 离子对, 一个用于定量分析, 另一个用于定性分析。这两个离子对使用两个不同的特定母离子 (通常偏移 2 Da) 和两个不同的子离子。表 2 提供了分析物保留时间和 MRM 离子对的完整列表。

定量分析仅采用定量离子对, 而定性离子对仅用于验证两个离子对之间的离子比率。该流程降低了对错误峰或干扰物进行积分的风险。如果离子比率未处于法规 709/2014 规定的可接受限值范围内 (± 15%), 系统将检查色谱图以确保对合乎要求的峰进行积分。该方法可最大程度降低对干扰物或错误峰进行积分的风险。采用 PCB-105 进行保留时间锁定。

样品前处理

植物油样品按所述方法进行制备 [1]。

数据采集和分析

利用 Agilent MassHunter 采集软件 (B.07.02) 采集数据。利用 Agilent MassHunter 定量分析软件 (B.07.01) 进行数据分析。

表 2. 天然 PCDD、PCDF 单邻位、非邻位和 NDL-PCB 同系物以及 ¹³C 内标的采集参数

名称	类型	RT*	定量离子			定性离子		
			母离子	子离子	CE [†] (V)	母离子	子离子	CE [†] (V)
¹³ C-PCB 28	ndl-PCB	14.19	268.0	198.0	26	270.0	200.0	26
PCB 28	ndl-PCB	14.19	256.0	186.0	26	258.0	188.0	26
¹³ C-PCB 52	ndl-PCB	14.79	301.9	231.9	28	303.9	233.9	28
PCB 52	ndl-PCB	14.79	289.9	219.9	28	291.9	221.9	28
¹³ C-PCB 101	ndl-PCB	16.81	337.9	267.9	28	339.9	269.9	28
PCB 101	ndl-PCB	16.81	325.9	255.9	28	327.9	257.9	28
¹³ C-PCB 123	MO-PCB	18.62	337.9	267.9	28	339.9	269.9	28
PCB 123	MO-PCB	18.62	325.9	255.9	28	327.9	257.9	28
¹³ C-PCB 118	MO-PCB	18.74	337.9	267.9	28	339.9	269.9	28
PCB 118	MO-PCB	18.74	325.9	255.9	28	327.9	257.9	28
¹³ C-PCB 114	MO-PCB	19.12	337.9	267.9	28	339.9	269.9	28
PCB 114	MO-PCB	19.12	325.9	255.9	28	327.9	257.9	28
¹³ C-PCB 153	ndl-PCB	19.43	371.9	301.9	28	373.9	303.8	28
PCB 153	ndl-PCB	19.43	359.9	289.9	28	361.9	291.8	28
¹³ C-PCB 105	MO-PCB	19.66	337.9	267.9	28	339.9	269.9	28
PCB 105	MO-PCB	19.66	325.9	255.9	28	327.9	257.9	28
¹³ C-PCB 138	ndl-PCB	20.46	371.9	301.9	28	373.9	303.8	28
PCB 138	ndl-PCB	20.46	359.9	289.9	28	361.9	291.8	28
¹³ C-PCB 167	MO-PCB	21.56	371.9	301.9	28	373.9	303.8	28
PCB 167	MO-PCB	21.56	359.9	289.9	28	361.9	291.8	28
¹³ C-PCB 156	MO-PCB	22.51	371.9	301.9	28	373.9	303.8	28
PCB 156	MO-PCB	22.51	359.9	289.9	28	361.9	291.8	28
¹³ C-PCB 157	MO-PCB	22.71	371.9	301.9	28	373.9	303.8	28
PCB 157	MO-PCB	22.71	359.9	289.9	28	361.9	291.8	28
¹³ C-PCB 180	ndl-PCB	23.14	405.8	335.8	30	407.8	337.8	30
PCB 180	ndl-PCB	23.14	393.8	323.8	30	395.8	325.8	30
¹³ C-PCB 189	MO-PCB	25.76	405.8	335.8	30	407.8	337.8	30
PCB 189	MO-PCB	25.76	393.8	323.8	30	395.8	325.8	30
¹³ C-PCB 80	非邻位 PCB	16.23	301.9	231.9	28	303.9	233.9	28
¹³ C-PCB 81	非邻位 PCB	17.72	301.9	231.9	28	303.9	233.9	28
PCB 81	非邻位 PCB	17.73	289.9	219.9	28	291.9	221.9	28
¹³ C-PCB 77	非邻位 PCB	18.04	301.9	231.9	28	303.9	233.9	28
PCB 77	非邻位 PCB	18.05	289.9	219.9	28	291.9	221.9	28
¹³ C-2378-TCDF	PCDF	20.32	315.9	251.9	33	317.9	253.9	33
2378-TCDF	PCDF	20.34	303.9	240.9	33	305.9	242.9	33
¹³ C6-1234-TCDD	PCDD	20.44	325.9	262.9	28	327.9	264.9	28
¹³ C-2378-TCDD	PCDD	20.74	331.9	267.9	24	333.9	269.9	24
2378-TCDD	PCDD	20.75	319.9	256.9	24	321.9	258.9	24
¹³ C-PCB 126	非邻位 PCB	20.93	335.9	265.9	28	337.9	267.9	28
PCB 126	非邻位 PCB	20.95	323.9	253.9	28	325.9	255.9	28
¹³ C-12378-PeCDF	PCDF	23.29	351.9	287.9	35	349.9	285.9	35
12378-PeCDF	PCDF	23.29	339.9	276.9	35	337.9	274.9	35

名称	类型	RT*	定量离子			定性离子		
			母离子	子离子	CE [†] (V)	母离子	子离子	CE [†] (V)
¹³ C-23478-PeCDF	PCDF	24.08	351.9	287.9	35	349.9	285.9	35
23478-PeCDF	PCDF	24.10	339.9	276.9	35	337.9	274.9	35
¹³ C-PCB 169	非邻位 PCB	24.19	371.9	301.9	28	369.9	299.9	28
PCB 169	非邻位 PCB	24.20	359.9	289.9	28	357.8	287.9	28
¹³ C-12378-PeCDD	PCDD	24.34	365.9	301.9	25	367.9	303.9	25
12378-PeCDD	PCDD	24.36	355.9	292.9	25	353.9	290.9	25
¹³ C-123478-HxCDF	PCDF	27.04	385.8	321.9	35	387.8	323.9	35
123478-HxCDF	PCDF	27.05	373.8	310.9	35	375.8	312.9	35
¹³ C-123678-HxCDF	PCDF	27.18	385.8	321.9	35	387.8	323.9	35
123678-HxCDF	PCDF	27.19	373.8	310.9	35	375.8	312.9	35
¹³ C-234678-HxCDF	PCDF	27.83	385.8	321.9	35	387.8	323.9	35
234678-HxCDF	PCDF	27.85	373.8	310.9	35	375.8	312.9	35
¹³ C-123478-HxCDD	PCDD	28.00	403.8	339.8	25	401.8	337.9	25
123478-HxCDD	PCDD	28.02	389.8	326.9	25	391.8	328.8	25
¹³ C-123678-HxCDD	PCDD	28.12	403.8	339.8	25	401.8	337.9	25
123678-HxCDD	PCDD	28.14	389.8	326.9	25	391.8	328.8	25
¹³ C-123789-HxCDD	PCDD	28.49	403.8	339.8	25	401.8	337.9	25
123789-HxCDD	PCDD	28.50	389.8	326.9	25	391.8	328.8	25
¹³ C-123789-HxCDF	PCDF	28.98	385.8	321.9	35	387.8	323.9	35
123789-HxCDF	PCDF	29.00	373.8	310.9	35	375.8	312.9	35
¹³ C-1234678-HpCDF	PCDF	31.13	419.8	355.8	36	421.8	357.8	36
1234678-HpCDF	PCDF	31.14	407.8	344.8	36	409.8	346.8	36
¹³ C-1234678-HpCDD	PCDD	32.97	437.8	373.8	25	435.8	371.8	25
1234678-HpCDD	PCDD	33.01	423.8	360.8	25	425.8	362.8	25
¹³ C-1234789-HpCDF	PCDF	33.97	419.8	355.8	36	421.8	357.8	36
1234789-HpCDF	PCDF	34.00	407.8	344.8	36	409.8	346.8	36
¹³ C-OCDD	PCDD	39.38	469.7	405.8	26	471.7	407.8	26
OCDD	PCDD	39.41	457.7	394.8	26	459.7	396.8	26
¹³ C-OCDF	PCDF	39.83	453.7	389.8	35	455.7	391.8	35
OCDF	PCDF	39.84	441.7	378.8	35	443.7	380.8	35

*RT = 保留时间

†CE = 碰撞能量

结果与讨论

验证标准

欧盟法规 709/2014 对 PCDD、PCDF、二恶英类 PCB 和非二恶英类 (NDL) PCB 的 GC/MS 确证性方法列出了具体的合规性要求 [1]。这些标准中的某一些标准取决于质谱分析仪的类型。例如，气相色谱/三重四极杆质谱在串联 (MS/MS) 模式下运行，而 GC/HRMS 则在选择离子监测 (SIM) 模式下运行。其他要求（如选择性、上界和下界差异）就两种仪器的方法学来说均相同。

本研究考虑了这些标准中的每一项标准，并且根据法规要求对饲料中二恶英的官方控制进行了全面的方法验证，从而对该仪器的所有参数和性能进行了系统考察 [1]。该验证方法易于转换至其他饲料和食品，因为它采用植物油进行验证，其最大限量 (ML) 处于这些化合物的最低浓度范围内 (1.5 pg WHO2005-PCDD/F-PCB-TEQ/g (ppt)) [3]，且分析标准也完全相同。每克毒性当量 (WHO2005-TEQ) 的 ML 值等于经毒性当量因子 (TEF, WHO 2005 年制定) 校正后得到的各个单独同族物的浓度之和。食品和饲料中 NDL-PCB 的测定标准通常比 PCDD/PCDF 和 DL-PCB 的标准略低，因为 ML 处于 ng/g (ppb) 范围内是易于达到的 [4]。然而在本验证研究中，PCDD/PCDF 和 DL-PCB 的测定标准也适用于 NDL-PCB。例如，欧盟法规 709/2014 [5] 仅规定一种母离子用作 NDL-PCB 的定量和定性 MRM 离子对，但测定 PCDD/PCDF 和 DL-PCB 需要两种不同的母离子。在本研究中，对 NDL-PCB 也采用两个特定的母离子。

仪器定量限 (iLOQ)

气相色谱/三重四极杆 MS/MS 和 GC/HRMS 方法之间的主要区别之一在于建立合适的定量限 (LOQ)。高效离子过滤和随之产生的噪音显著降低是气相色谱/三重四极杆 MS/MS 的主要优势。该仪器方法的特性在于具有无噪音信号和平坦的基线。结果，使用此类基线测定的任何信噪比 (S/N) 计算结果将产生不真实的 S/N 值。

因此，本验证研究对方法定量限 (mLOQ) (考虑到可能的基质效应和空白浓度的实际 LOQ) 与仪器定量限 (iLOQ) (性能指标 LOQ) 进行了区分。本研究使用统计方法评价气相色谱/三重四极杆 MS/MS 方法的 iLOQ，以专业实验室和欧盟国家参考实验室 (NRL) 的成员组成的 EU 核心工作组所提供的报告为基础 [6]。

利用最低可接受校准点的八次重复进样结果计算 iLOQ，该 iLOQ 被定义为与这些重复测定结果相关的标准偏差 (SD) 的 10 倍。为确定最低可接受校准点，计算得到的最低浓度的所有同族物的相对标准偏差 (RSD) 必须 $\leq 15\%$ 。尽管 15% 的这一标准不包括在法规 709/2014 中，但它是在如此低的分析物浓度下可接受的 RSD 典型值。

此外，法规规定了相对响应因子的可接受偏差（指最低校准点下获得的平均响应因子 (RF) 与所有点获得的平均 RF 之差）需要达到 $\leq 30\%$ 。仅在满足这两个标准时才可接受该校准线性度。如上一段所述，随后可使用所得的最低校准浓度确定 iLOQ。

在满足大多数标准的情况下，计算 iLOQ 时得到的一些例外列于表 3 中。例如，对 1,2,3,6,7,8-HxCDF 的最低校准点进行三次重复分析所得到的 RSD 为 17.9%，在计算 iLOQ 时应当将其排除。然而，这一数据的校准系数 (R^2) 非常出色 (0.9990)，最低点的平均 RF 与所有点的平均 RF 之差仅为 -1.21%，因此决定使用这一最低校准点计算 iLOQ。

表 3. iLOQ、校准曲线数据和 mLOQ

	iLOQ (pg/μL)	R ²	最低校准点 (pg/μL)	最低校准点的 RSD (%)	RF 差值 (%)	平均 空白浓度 (ng/kg)	mLOQ (ng WHO2005 TEQ/kg)
PCDF							
2,3,7,8-TCDF	0.010	0.9919	0.016	5.5	-11.82	33	0.010
1,2,3,7,8-PeCDF	0.022	0.9969	0.016	13.7	-9.38	92	0.017
2,3,4,7,8-PeCDF	0.021	0.9922	0.016	7.7	-3.25	8	0.025
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.016	0.9990	0.016	3.8	8.99	17	0.007
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.009	0.9990	0.016	17.9	-1.21	25	0.006
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.007	0.9993	0.016	9.3	7.17	33	0.008
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.020	0.9993	0.016	14.2	-7.19	50	0.018
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.053	0.9946	0.080	9.8	-8.94	92	0.005
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.020	0.9990	0.016	14.9	-2.23	25	0.000
OCDF	0.027	0.9933	0.016	12.4	18.92	83	0.000
						mLOQ 之和	0.096
PCDD							
2,3,7,8-TCDD	0.018	0.9960	0.016	2.5	-1.94	0	0.005
1,2,3,7,8-PeCDD	0.029	0.9949	0.016	12.8	-3.72	0	0.007
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.022	0.9949	0.016	8.9	0.11	8	0.001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.032	0.9996	0.040	4.6	8.23	25	0.014
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.062	0.9962	0.080	4.0	-6.60	17	0.004
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.053	0.9990	0.400	3.4	2.32	100	0.004
OCDD	0.465	0.9900	4.000	2.3	-11.83	100	0.001
						mLOQ 之和	0.036
						PCDD/PCDF mLOQ 之和	0.132
NO-PCB							
PCB 81	0.030	0.9933	0.320	1.7	-10.65	75	0.001
PCB 77	0.037	0.9931	0.320	1.4	-10.31	100	0.005
PCB 126	0.077	0.9905	0.320	1.7	-9.96	92	0.137
PCB 169	0.071	0.9935	0.320	2.1	-7.19	0	0.001
						mLOQ 之和	0.144
MO-PCB							
PCB-105	2.109	0.9958	1.000	9.8	-0.38	100	0.006
PCB-114	1.504	0.9938	1.000	8.8	-4.89	100	0.000
PCB-118	1.930	0.9994	1.000	8.7	15.32	100	0.018
PCB-123	1.537	0.9945	1.000	11.8	-4.86	100	0.000
PCB-156	1.897	0.9892	1.000	5.6	-5.38	100	0.000
PCB-157	1.287	0.9882	1.000	4.2	-7.09	100	0.000
PCB-167	2.067	0.9925	1.000	10.0	-6.32	100	0.001
PCB-189	1.626	0.9893	1.000	2.5	-7.48	100	0.000
						mLOQ 之和	0.025
						PCDD/PCDF-PCB mLOQ 之和	0.300
NDL-PCB							
PCB-28	3.928	0.9944	4.000	2.0	8.39	100	994.601*
PCB-52	6.530	0.9983	4.000	1.5	16.98	100	1909.234
PCB-101	2.733	0.9964	4.000	2.4	11.11	100	1303.266
PCB-138	1.587	0.9817	4.000	4.3	-5.59	100	161.674
PCB-153	1.469	0.9780	4.000	2.0	-6.03	100	171.672
PCB-180	0.904	0.9723	4.000	0.4	-1.64	100	34.941
						mLOQ 之和	4575.388

* 报告为 ng/kg。

NDL-PCB 的 iLOQ 远高于 PCDD、PCDF 和非邻位 (NO-)PCB，其中一些 iLOQ 也高于单邻位 (MO-)PCB 的 iLOQ (表 3)。这是由于同族物的 1 pg/ μ L 最低校准点在计算 NDL-PCB 的 iLOQ 时被排除，因为其 RF 差值 > 30% 并且 RSD > 15%。然后使用 4 pg/ μ L 校准点计算所有 NDL-PCB 的 iLOQ，因为该点所有 RSD 值均远低于 15%。尽管对于六种 NDL-PCB 中的三种化合物 (PCB-138、PCB-153 和 PCB-180) 而言， R^2 值略低于 0.9900，但 RF 差值非常低，4 pg/ μ L 校准点也用于计算这三种 NDL-PCB 的 iLOQ。计算得到的所有分析物的 iLOQ 值均与利用 GC/HRMS 所获得的结果接近 (数据未示出)。

方法定量限 (mLOQ)

mLOQ 是实际环境下方法的真实分析灵敏度的指标。通过重复分析空白样品来测定同族物的方法定量限，在这种情况下对每个同族物采用 12 个程序空白样品，由此计算平均值和 SD。mLOQ 的定义使得高于 mLOQ 的值被统计验证是因样品中存在同族物而非来自背景噪音。这样，mLOQ 被定义为空白加六倍标准偏差的平均值。

表 3 列出了 35 种同族物中每种化合物的 12 个单独程序空白所得到的平均空白浓度以及 mLOQ (ng WHO2005TEQ/kg)。在本研究中基于 4 g 的样品量对 35 种同族物中的大多数化合物进行了分析，得出了用于计算 mLOQ 的可测定空白浓度 (表 3)。对于空白中不存在的同族物 (2,3,7,8-TCDD、1,2,3,7,8-PeCDD 和 PCB-169)，通过将 iLOQ 调整至样品量来确定其 mLOQ。

欧盟法规规定的 PCDD 和 PCDF 之和 (WHO2005-PCDD/F-TEQ/kg) 的 ML 为 0.75 ng/kg，PCDD、PCDF、NO-PCB 和 MO-PCB 之和 (WHO2005-PCDD/F-PCB-TEQ/kg) 的 ML 为 1.50 ng/kg，6 种 NDL-PCB 之和的 ML 为 10 μ g/kg。法规要求 mLOQ 必须小于 ML 的 20%。表 3 示出了用于直接比较 ML 的每个同族物组的 mLOQ 之和。0.132 ng WHO2005-PCDD/F-TEQ/kg 之和为 ML 的 18%，0.30 ng WHO2005-PCDD/F-PCB-TEQ/kg 之和为 ML 的 20%。就这两组同族物而言，该方法符合法规要求。对于 NDL-PCB，其总和为 4.6 μ g/kg，大于 ML 的 20%。这是由于实验室的污染程度较高，采用 GC/HRMS 方法时也同样能看到这一现象。

选择性与定量/定性离子对

欧盟法规未对气相色谱/三重四极杆 MS/MS 方法的选择性设定特定标准。然而，三重四极杆离子过滤可得到平坦的基线，使这些色谱图与使用 GC/HRMS 得到的色谱图差异很大。为避免信号的任何人为增强并尽可能接近原始数据，本研究中使用未经平滑的色谱图。极难分离的 1,2,3,4,7,8- 和 1,2,3,6,7,8-六氯代呋喃同族物 (HxCDF) 获得了基线分离。使用平滑的色谱图校正未观察到准确度或精密度 (RSD) 结果的改善。

使用定量离子与定性离子的强度比率 (定量/定性) 确保不存在干扰物和正确的峰积分。某一分析物的定性离子对 (带有 +2 Da 偏移的定量离子对) 具有较低响应，而定量 MRM 离子对则具有更高响应，则使用相同的碰撞能量等质谱参数根据校准曲线由实验确定定量/定性比率 (表 4)。PCDD/PCDF 和 DL-PCB 的允许容差为 $\pm 15\%$ ，NDL-PCB 则更高 [1]。为保证获得准确结果，无论同族物定量/定性比率是否超出范围，均需要更深入地考察原始数据。

表 4. 定量/定性离子比率测定平均值

	平均值	RSD%	容差 (%)
PCDF			
2,3,7,8-TCDF	94.0	14	15
1,2,3,7,8-PeCDF	81.7	14	15
2,3,4,7,8-PeCDF	88.0	26	15
1,2,3,4,7,8-HxCDF	62.3	19	15
1,2,3,6,7,8-HxCDF	60.8	10	15
2,3,4,6,7,8-HxCDF	62.7	10	15
1,2,3,7,8,9-HxCDF	62.6	16	15
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	76.1	11	15
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	82.3	29	15
OCDF	93.0	20	15
PCDD			
2,3,7,8-TCDD	96.4	10	15
1,2,3,7,8-PeCDD	81.6	21	15
1,2,3,4,7,8-HxCDD	64.7	15	15
1,2,3,6,7,8-HxCDD	64.4	17	15
1,2,3,7,8,9-HxCDD	73.3	19	15
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	79.7	18	15
OCDD	94.3	12	15
NO-PCB			
PCB 81	64.3	14	15
PCB 77	62.4	1	15
PCB 126	95.1	9	15
PCB 169	73.3	8	15
MO-PCB			
PCB-105	30.5	4	15
PCB-114	30.0	3	15
PCB-118	30.3	2	15
PCB-123	29.9	3	15
PCB-156	46.8	2	15
PCB-157	47.6	3	15
PCB-167	47.0	2	15
PCB-189	62.7	2	15
NDL-PCB			
PCB-28	31.8	2	25
PCB-52	63.2	1	20
PCB-101	30.5	3	25
PCB-138	47.3	2	25
PCB-153	47.4	2	25
PCB-180	62.9	2	20

背景扣除

可通过扣除以相同方式制备的相同类型样品的单独空白来校正所测得的分析物浓度。每一系列样品采用一个这种空白（例如每 10 个样品 1 个空白）。或者，随时间测得的一系列受控空白的平均空白值可用于校正。后一种方法具有两项优势，故本研究中采用这种方法。随时间变化绘制的控制浓度图能够看出趋势，突出污染问题，并为污染控制提供前瞻方法。其次，该方法在单个样品系列中可减小统计异常空白值的影响。在置信区间内对主动控制的空白浓度进行平均有助于对此类异常值作重复进样，反过来也可将空白的统计变异包括在测定不确定度中，这种不确定度可在控制浓度图中得到监测。这是测定 mLOQ 的要点。

准确度

使用葵花籽油中的加标样品对 PCDD/PCDF、NO-PCB 和 MO-PCB 的方法偏差进行评价。没有在未加标植物油基质空白中发现同族物。在三天内对加标两倍 ML (2ML)、ML 和一半 ML (ML/2) 的六个样品系列进样（每天两个系列），所有样品的结果均处于可接受的重现性限值内（表 5）。结果完全满足欧盟法规的要求，方法偏差小于 20% 且随机误差 (%RSD) 小于 15% [1]。

表 5. 使用加标 ML 附近三个浓度的六个样品系列所得到的 DL-PCB 和 PCDD/PCDF 的方法偏差

	目标值*	平均值*	SD	RSD%	偏差%
DL-PCB					
2ML	1.3	1.26	0.02	1.6	-3.42
ML	0.65	0.59	0.02	3.4	-8.53
ML/2	0.33	0.31	0.03	9	-7.00
PCDD/PCDF					
2ML	1.58	1.6	0.03	2.2	1.3
ML	0.79	0.78	0.04	5.7	-1.54
ML/2	0.4	0.41	0.03	7.1	2.36

* ng WHO2005TEQ/kg

质量控制与稳定性

在实验室中制备的两个空白和两个 QC 样品（猪油）于 2013 年 9 月至 10 月以及 2014 年 4 月和 5 月（约 6 个月后）期间每周进样两次。所有 QC 样品值均处于 95% 的置信区间内（图 1）。其中包括 6 个月期间系统用于其他目的（包括系统排空和多次更换色谱柱）之后运行的 QC 样品。

结论

欧盟法规 709/2014 允许使用气相色谱/三重四极杆 MS/MS 作为动物饲料中 PCDD、PCDF 和 DL-PCB 官方控制的确定性方法，根据该法规的标准开发出一种气相色谱/三重四极杆 MS/MS 方法并对其进行了全面验证。所开发的方法采用 Agilent 7890B 气相色谱系统与 Agilent 7000C 系列三重四极杆质谱的气质联用系统，方法满足法规要求并可获得与 GC/HRMS 类似的性能。尽管质量分析器技术存在差异，但获得的实际测定不确定度处于 HRMS 方法的典型范围内，且分析参数非常相近。遵循最严格的标准是为了证明该方法在最大浓度 (ML) 测定方面可提供准确、一致而可靠的结果。

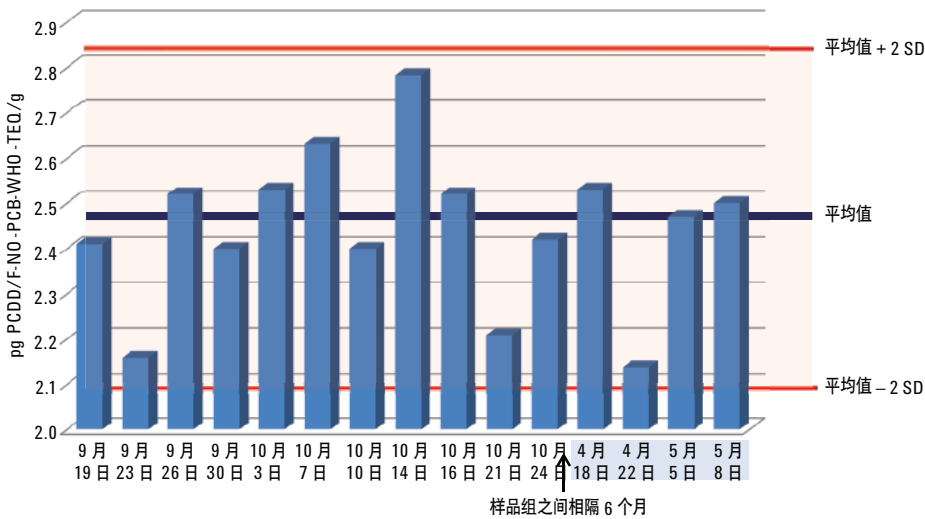


图 1. 9-10 月与 4-5 月验证期间的 QC 图。所有值均处于 95% 的置信区间内 ($\pm 2SD$)

参考文献

1. B. L'Homme, G. Scholl, G. Eppe, J.-F. Focant. "Validation of a gas chromatography–triple quadrupole mass spectrometry method for confirmatory analysis of dioxins and dioxin-like polychlorobiphenyls in feed following new EU Regulation 709/2014." *J. Chromatogr. A* **1376**, 149-58 (2015)
2. J.-F. Focant, G. Eppe, C. Pirard, A.-C. Massart, J.-E. André, E. De Pauw. "Levels and congener distributions of PCDDs, PCDFs and non-ortho PCBs in Belgian food stuffs: assessment of dietary intake" *Chemosphere* **48**, 167–179 (2002)
3. A. Kotz, R. Malisch, K. Wahl, N. Bitomsky, K. Adamovic, I. Gerteisen, S. Leswal, J. Schächtele, R. Tritschler, H. Winterhalter. "GC–MS/MS determination of PCDD/Fs and PCBs in feed and food – comparison with GC–HRMS" *Organohalogen Compd.* **73**, 688–691 (2011)
4. Commission Regulation (EC) No 277/2012 of 28 March 2012 amending Annexes I and II to Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council as regards maximum levels and action thresholds for dioxins and polychlorinated biphenyls, *Offic. J. Eur. Commun.* (2012), L91/1-7
5. 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, *Offic. J. Eur. Commun.* (2014), L188/1-18
6. A. Kotz, R. Malisch, J.-F. Focant, G. Eppe, T. L. Cederberg, P. Rantakokko, P. Fürst, T. Bernsmann, L. Leondiadis, C. Lovasz, G. Scortichini, G. Diletti, A. Di Domenico, A.M. Ingelido, W. Traag, F. Smith, A. Fernandez. "Analytical criteria for use of MS/MS for determination of dioxins and dioxin-like PCBs in feed and food." *Organohalogen Compd.* **74**, 156–159 (2012)

更多信息

这些数据仅代表典型的结果。有关我们的产品与服务的信息，请访问我们的网站 www.agilent.com。

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

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2016

2016年1月19日，中国出版

5991-6590CHCN



Agilent Technologies