沉积物及鱼肉组织 18 种指示性和二噁英类多氯联苯的测定高分辨气相色谱-高分辨质谱法

王申 赛默飞世尔科技（中国）有限公司
刘绿叶 张清 实朴检测技术（上海）股份有限公司

关键词
指示性多氯联苯 二噁英类多氯联苯 高分辨双聚焦磁质谱 沉积物 鱼肉

引言

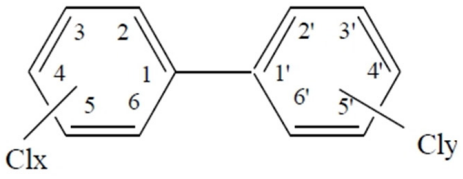
本文使用高分辨双聚焦磁式质谱仪DFS（德国，不莱梅），TR-DIOXIN-5MS对沉积物和鱼肉组织中18种指示性和二恶英类多氯联苯的含量的检测方法进行了气相色谱质谱方法开发及条件优化。多氯联苯同系物共209种，对209种化合物都进行精确的定性定量比较困难，基于目前方法标准和市场检测项目的需求，我们选择18个多氯联苯单体进行双柱保留时间定性，和同位素稀释法二级内标法定量。净化方式选择多层硅胶柱净化。色谱柱选择：TR-DIOXIN-5MS 60*0.25mm*0.25um，固定相为5%苯基-95%甲基聚硅氧烷，RH12-ms 60m*0.25mmID，进样方式采用不分流进样，质谱分辨率R 10000（10% 峰谷定义）。实验表明：在高分辨双聚焦磁质谱分辨率R 10000的情况下，不同基质对不同单体的干扰还是非常复杂，同时要在色谱分离进行科学的选择和优化，才能避免不同样品带来的基质干扰，做到准确定性定量。优化后的色谱质谱方法完全适合沉积物和鱼肉组织中的多氯联苯的分析，结合同位素的二级内标法，经过标准参考物质的验证，能够带来准确的样品数据和低含量多氯联苯的准确检出。

方法要点：

1. 使用两种不同极性色谱柱分离18种多氯联苯，目的是避免在分析不同样品时带来的基质干扰。
2. 标准品使用液需要使用不同厂商的产品进行手工配制，暂时没有含同位素的混合标准品出售。
3. 净化步骤，使用多层硅胶柱+碱性氧化铝柱+活性炭柱，避免二噁英给多氯联苯定量带来的干扰。
4. 使用沉积物和食品标准参考物质进行方法验证。
5. 使用与二噁英分析相同的色谱柱进行分析，二噁英和多氯联苯可以同时在序列中分析，无需更换色谱柱和仪器配置。

多氯联苯简介

多氯联苯（PCBs）又称氯化联苯，是一类人工合成有机物，是联苯苯环上的氢原子为氯所取代而形成的一类氯化物。 多氯联苯在工业上的广泛使用，已造成全球性环境污染问题。多氯联苯结构如图所示，根据氯原子在苯环上的取



PCBs

代位置以及含氯原子数目的不同，理论上可以存在 209 种PCBs同系物。在这 209 种 PCBs 同系物中，指示性 PCBs 和共平面 PCBs 这两类 PCBs 一直被重点关注。指示性 PCBs 指联合国 GEMS/FOOD 中规定作为 PCBs 污染状况进行替代监测的指示性单体，包括 PCB-28、PCB-52、PCB-101、PCB-118、PCB-138、PCB-153、PCB-180 共 7 种。共平面PCBs 指毒性与二噁英接近的 PCBs 同系物，具有与二噁英相似的结构和毒性效应，因此被称为二噁英类多氯联苯（dioxin-like PCBs），包括 PCB-77、PCB-81、PCB-123、PCB-118、PCB-114、PCB-105、PCB-126、PCB-167、PCB-156、PCB-157、PCB-169、PCB-189 共 12 种。其中PCB-118与指示性PCB-118重复，所以指示性PCBs加上二噁英类多氯联苯共18种。世界卫生组织根据多氯联苯的毒性，将每个同类物的毒性与毒性最强的 2,3,7,8-TCDD 进行比较得出同类物单体的生物毒性因子。正是由于其具有长期

Thermo Fisher SCIENTIFIC

毒性，因此在 2001 年 5 月 22 日至 23 日，由联合国环境署（UNEP）组织，在瑞典通过国际斯德哥尔摩公约，将多氯联苯列为首批 12 类持久性有机污染物之一，在全球范围内进行销毁、处置。

1 实验部分

1.1 仪器/耗材

高分辨气相色谱-高分辨质谱联用仪：Thermo Scientific DFS包括：

-TriPlus RSH 自动进样器；

-TRACE 1310 气相色谱仪；

-DFS 双聚焦磁式质谱仪

色谱柱：TR-DIOXIN-5MS 60*0.25mm*0.25um (PN26AF154P)，固定相为5%苯基-95%甲基聚硅氧烷，

RH12-ms 60m*0.25mmID

1.2 试剂与标准品

硅胶：Silica gel 60（0.063-0.100mm），

硅藻土：Thermo Scientific，P/N 062819

活性炭： 80-100mesh，Carbopack™ C，

分散剂：Celite 545，

丙酮：农残级；正己烷：农残级；壬烷：农残级；二氯甲烷：农残级；甲苯：农残级

无水硫酸钠：优级纯；浓硫酸：优级纯；氢氧化钠：优级纯。

全氟代煤油（PFK）：纯度98%，低沸点

沉积物参考物质：Wellington，WMS-01；

鱼组织参考物质：InterCinD IC8 ed2020 FISH

标准品：PCB-Mix18/18种多氯联苯混标（含pcb28、pcb52、pcb77、pcb81、pcb101、pcb105、pcb114、pcb118、pcb123、pcb126、pcb138、pcb153、pcb156、pcb157、pcb167、pcb169、pcb180、pcb189），100μg/mL Bepure;

P48-M-ES（含13C标记pcb28、pcb52、pcb101、pcb138、pcb153、pcb180），1.2ml，Wellington，1000ng/ml；

WP-LCS（含13C标记pcb77、pcb81 Pcb105、pcb114、pcb118、pcb123、pcb126、pcb156、pcb157、pcb167、pcb169、pcb189），1.2ml，Wellington，1000ng/ml;

P48-W-RS（含13C标记pcb70、pcb111、pcb170），1.2ml，Wellington，100ng/ml.

工作曲线配置：使用液配置工作曲线溶液，P48-M-ES、WP-LCS净化内标浓度50ng/ml，上机标P48-W-RS浓度50ng/ml，7个点CS1-CS7，浓度如下：

表1.2.1校准曲线浓度

	标准溶液编号	浓度（ng/ml）						
		CS1	CS2	CS3	CS4	CS5	CS6	CS7
未标记化合物	244'-T3PCB(28)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800
	22'55'-T4PCB(52)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800
	33'44'-T4PCB(77)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800
	344'5-T4PCB(81)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800
	22'455'-P5PCB(101)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800
	233'44'-P5PCB(105)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800
	2344'5-P5PCB(114)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800
	23'44'5-P5PCB(118)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800
	2'344'5-P5PCB(123)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800
	33'44'5-P5PCB(126)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800
	22'344'5'-H6PCB(138)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800
	22'44'55'-H6PCB(153)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800
	233'44'5-H6PCB(156)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800
	233'44'5'-H6PCB(157)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800
	23'44'55'-H6PCB(167)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800
	33'44'55'-H6PCB(169)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800
	22'344'55'-H7PCB(180)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800
	233'44'55'-H7PCB(189)	0.1	0.5	2.5	10	50	200	800

工作曲线：CS1-CS7上机测试，通过Thermo Scientific TargetQuan™数据处理软件处理，得到7点的RRF曲线。

1.3 样品前处理

提取：土壤/沉积物避光风干，称取10g的60目风干土，取适量硅藻土混合均匀，加入WP-LCS\P48-M-ES稀释10倍使用液10ul，以甲苯溶液为提取剂，ASE350提取，提取温度150℃，静态提取5min，循环3次。

鱼组织样品：新鲜鱼组织样品经研磨匀浆之后冷冻干燥24h，取适量硅藻土混合均匀，加入WP-LCS\P48-M-ES稀释10倍使用液10ul，以正己烷：二氯甲烷=1：1（v：v）甲烷为溶剂使用快速溶剂萃取仪提取，提取温度150℃，静态提取5min，循环3次。

净化：样品溶液经酸性硅胶脱脂后过无水硫酸钠柱，分3次加入10ml正己烷溶液洗涤平底烧瓶，洗涤液转入无水硫酸钠柱，洗脱液经旋转蒸发仪浓缩至2-3mL，样品经复合硅胶柱净化，收集正己烷洗脱液，浓缩至2-3ml，再经碱性氧化铝净化，收集二氯甲烷：正己烷（1:1，v:v）40　ml洗脱液，浓缩至2-3mL，再经活性炭柱净化，收集正己烷洗脱液，采用旋转蒸发仪浓缩洗脱液至2-3mL，浓缩洗脱液转移至进样小瓶中，采用氮吹仪，氮吹浓缩至近干。

氮吹加标：2ml浓缩液氮吹转移至全回收进样小瓶，加入10ul的P48-W-RS，壬烷定容至20ul。

1.4 仪器条件

气相色谱条件： 130℃保持1min，以15℃/min升至210℃保持1min,以3℃/min升至310℃保持1min。

进样方式：不分流进样；进样口温度：270℃；进样量：1.0μL；

载气：高纯氦气，流量：1.2ml/min；传输线温度：290℃。

质谱条件：离子源温度：270℃；电子能量45eV；数据采集方式：采用多离子监测模式扫描（MID）；动态分辨率°10000 。

表1.4.1 各种目标物及21种同位素内标定性定量离子、离子丰度比

化合物	化学式	化合物代号	定性离子（m/z）	定量离子（m/z）	理论离子丰度比
三氯联苯	$C_{12}H7Cl_3$	pcb28	255.9613	257.9584	1.04
四氯联苯	$C_{12}H6\ Cl_4$	pcb52 pcb77 pcb81	289.9224	291.9194	0.77
五氯联苯	$C_{12}H_5\ Cl_5$	pcb101 pcb105 pcb114 Pcb118 pcb123 pcb126	325.8804	327.8775	1.55
六氯联苯	$C_{12}H_4Br\ Cl_6$	pcb138 pcb153 pcb156 pcb157 pcb167 pcb169	359.8415	361.8385	1.24
七氯联苯	$C_{12}H_3\ Cl_7$	pcb180 pcb189	393.8025	395.7995	1.05
^{13}C- pcb28	$^{13}C_{12}H_7Cl_3$	净化内标	268.0016	269.9986	1.04
^{13}C- pcb52 ^{13}C- pcb77 ^{13}C- pcb81	$^{13}C_{12}H_6\ Cl_4$		301.9626	303.9597	0.77
^{13}C- pcb101 ^{13}C- pcb105 ^{13}C- pcb114 ^{13}C- pcb118 ^{13}C- pcb123 ^{13}C- pcb126	$^{13}C_{12}H_5\ Cl_5$		337.9207	339.9178	1.55
^{13}C- pcb138 ^{13}C- pcb153 ^{13}C- pcb156 ^{13}C- pcb157 ^{13}C- pcb167 ^{13}C- pcb169	$^{13}C_{12}H_4\ Cl_6$		371.8817	373.8788	1.24
^{13}C- pcb180 ^{13}C- pcb189	$^{13}C_{12}H_3\ Cl_7$		405.8428	407.8398	1.05

^{13}C- pcb70	$^{13}C_{12}H_6Cl_4$	上机内标	301.9626	303.9597	0.77
^{13}C- pcb111	$^{13}C_{12}H_5Cl_5$		337.9207	339.9178	1.55
^{13}C- pcb170	$^{13}C_{12}H_3Cl_7$		405.8428	407.8398	1.05

定量计算

采用多离子监测模式扫描（MID），同位素稀释法进行定量，section划分、依赖关系、保留时间如表1.4.2所示：

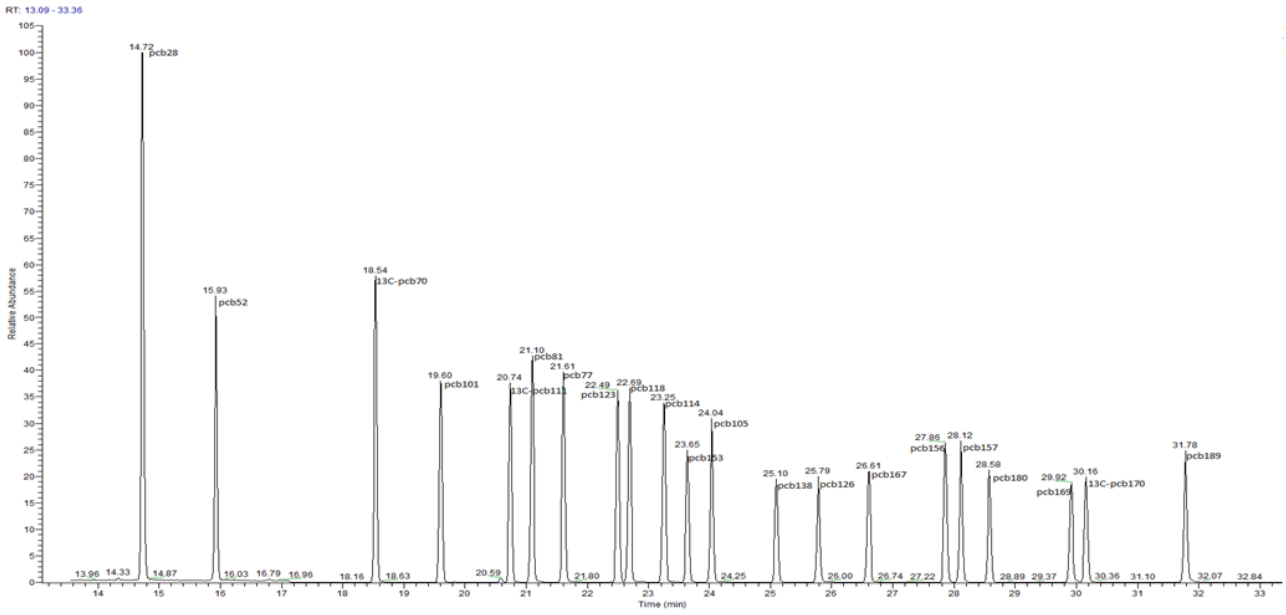
表1.4.2 section划分、依赖关系、保留时间

Section	锁定质量数	化合物代号	保留时间TR-DIOXIN-5MS（min）	保留时间RH-12ms（min）	内标
1	Lock：242.98508 Cali：318.97869	pcb28	14.73	14.51	^{13}C- pcb28
		pcb52	15.94	15.79	^{13}C- pcb52
		^{13}C- pcb28	14.73	14.50	^{13}C- pcb70
		^{13}C- pcb52	15.94	15.78	
2	Lock：280.98189 Cali：380.97550	^{13}C- pcb70	18.53	18.35	-
		pcb77	21.62	21.74	^{13}C- pcb77
		pcb81	21.13	21.08	^{13}C- pcb81
		pcb101	19.61	19.31	^{13}C- pcb101
		pcb105	24.06	24.50	^{13}C- pcb105
		pcb114	23.32	23.41	^{13}C- pcb114
		Pcb118	22.70	22.49	^{13}C- pcb118
		pcb123	22.42	22.32	^{13}C- pcb123
		pcb126	25.78	25.81	^{13}C- pcb126
		pcb138	25.13	25.32	^{13}C- pcb138
		pcb153	23.67	23.22	^{13}C- pcb153
		pcb167	26.58	26.21	^{13}C- pcb167
		^{13}C- pcb111	20.74	19.93	-
		^{13}C- pcb77	21.62	21.71	^{13}C- pcb70
		^{13}C- pcb81	21.13	21.07	
		^{13}C- pcb101	19.61	19.29	^{13}C- pcb111
		^{13}C- pcb105	24.06	24.49	
		^{13}C- pcb114	23.32	23.39	
		^{13}C- pcb118	22.70	22.46	
		^{13}C- pcb123	22.42	22.31	
		^{13}C- pcb126	25.78	25.79	
		^{13}C- pcb138	25.13	25.29	
		^{13}C- pcb153	23.67	23.19	^{13}C- pcb170
		^{13}C- pcb167	26.58	26.19	
3	Lock：342.97869 Cali：430.97231	pcb156	27.89	28.05	^{13}C- pcb156
		pcb157	28.14	28.47	^{13}C- pcb157
		pcb169	30.20	29.69	^{13}C- pcb169
		pcb180	28.62	28.42	^{13}C- pcb180
		pcb189	31.82	331.70	^{13}C- pcb189
		^{13}C- pcb156	27.89	28.03	^{13}C- pcb170
		^{13}C- pcb157	28.14	28.46	
		^{13}C- pcb169	30.20	29.68	
		^{13}C- pcb180	28.62	28.40	
		^{13}C- pcb189	31.82	31.69	
		^{13}C- pcb170	30.18	30.70	-

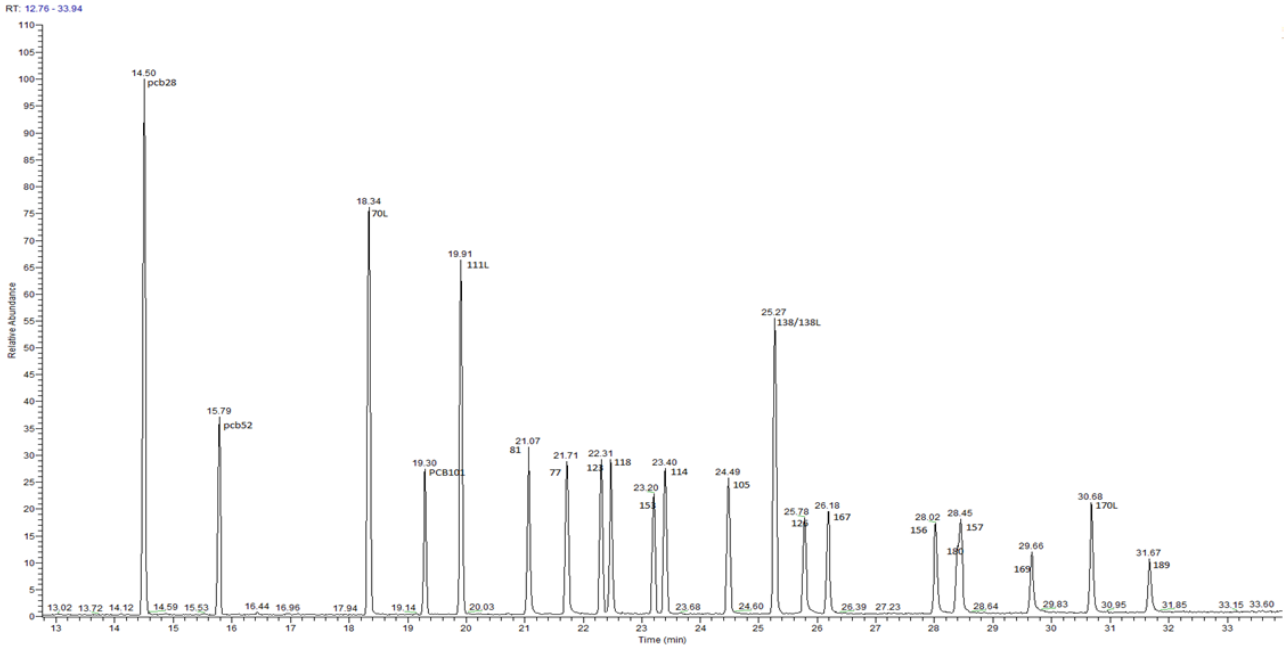
2 结果与讨论

2.1 结果

2.1.1标准品TIC图



TR-DIOXIN-5MS 18种pcb浓度2.5ng/ml



RH-12ms 18种pcb浓度10ng/ml

2.1.2 样品分析结果及结论

2.1.2.1沉积物样品分析结果

PCBs	Certified Reference Value（pg/g）1	Reference Value（pg/g）2	Provisional Reference Value（pg/g）3	TR-DIOXIN-5MS(pg/g)			RH-12ms(pg/g)		
				sediment-1	sediment-2	sediment-3	sediment-1	Sediment-2	sediment-3
33'44'-T4PCB(77)	1580±50	1717±520	-	1590.34	1571.12	1585.86	1628.51	1521.35	1529.24
344'5-T4PCB(81)	37.2±0.8	-	75±79	135.19	106.64	100.19	35.15	38.07	35.86
233'44'-P5PCB(105)	3800±80	3998±951	-	3340.64	3247.22	3201.62	3491.34	3317.26	3461.87
2344'5-P5PCB(114)	170±4	207±128	-	183.01	147.24	161.11	149.24	153.17	174.68
23'44'5-P5PCB(118)	7770±230	8115±1663	-	7217.03	6727.17	6639.71	7523.05	7065.12	7430.94
2'344'5-P5PCB(123)	192±4	209±191	-	170.37	135.95	175.76	180.47	168.41	173.61
33'44'5-P5PCB(126)	77.3±1.1	84.9±35	-	95.36	87.93	88.34	73.81	80.15	80.61
233'44'5-H6PCB(156)	646±9	715±248	-	629.23	605.96	637.44	618.03	573.59	594.33
233'44'5'-H6PCB (157)	168±4	186±81	-	153.48	156.64	156.87	151.30	157.57	145.40
23'44'55'-H6PCB(167)	326±7	330±85	-	289.70	265.12	267.24	283.59	264.85	290.73
33'44'55'-H6PCB(169)	6.41±0.12	7.97±5.3	-	8.44	8.88	7.23	7.10	7.26	6.09
233'44'55'-H7PCB(189)	77.2±1.1	85.2±17.8	-	78.99	71.41	72.39	79.01	76.78	72.39
244'-T3PCB(28)	-	-	-	2718.01	3099.36	2995.53	2480.67	3257.26	3059.97
22'55'-T4PCB(52)	-	-	-	2352.76	2391.98	2410.81	2119.49	2364.01	2379.07
22'455'-P5PCB(101)	-	-	-	5171.41	5541.85	4823.95	4405.72	4921.08	4285.33
22'344'5'-H6PCB(138)	-	-	-	3350.10	3371.84	4255.35	4954.24	4578.42	4715.30
22'44'55'-H6PCB(153)	-	-	-	4870.13	5039.04	4553.22	5419.95	5449.09	4873.29
22'344'55'-H7PCB(180)	-	-	-	3079.91	2992.95	2655.21	2880.95	2841.49	2665.30

注：1 Certified Reference Value:该值由ISO/IEC 17025认证实验室获得。

2 Reference Value：该值是从实验室间比对报送数据的一部分获得，表示为平均值±2倍的标准偏差。

3 Provisional ReferenceValue：该数据仅做参考，该目标物的浓度会根据后续更多有效数据的获得而更新。

2.1.2.2鱼组织样品分析结果

Q25四分之一分位值，Q75四分之三分位值

				TR-DIOXIN-5MS(pg/g)			RH-12ms(pg/g)		
DL-PCBs	Average（pg/g）	Q25(pg/g）	Q75（pg/g）	Tissue-1	Tissue-2	Tissue-3	Tissue-1	Tissue-2	Tissue-3
33'44'-T4PCB(77)	19.718	13.567	24.342	21.66	23.79	23.97	24.07	23.89	24.15
344'5-T4PCB(81)	1.292	0.915	1.519	10.60	9.38	5.16	1.02	1.25	1.14
233'44'-P5PCB(105)	233.425	178.48	263.917	247.42	257.80	254.37	227.02	245.85	254.56
2344'5-P5PCB(114)	12.776	11.62	13.823	12.02	12.67	11.95	12.18	12.53	12.18
23'44'5-P5PCB(118)	705.454	568.076	789.056	731.14	783.44	772.39	695.49	719.36	775.19
2'344'5-P5PCB(123)	13.239	8.344	16.178	13.05	12.36	15.12	13.84	15.99	15.73
33'44'5-P5PCB(126)	3.236	2.668	3.567	21.13	17.43	14.67	2.98	2.90	3.27
233'44'5-H6PCB(156)	139.756	110.738	156.334	148.05	156.06	153.03	150.40	141.85	142.00
233'44'5'-H6PCB (157)	22.094	17.697	23.909	19.17	23.62	22.06	19.34	22.83	21.06
23'44'55'-H6PCB(167)	87.832	72.352	102.357	79.76	84.05	74.34	85.82	94.16	92.90
33'44'55'-H6PCB(169)	0.409	0.312	0.529	0.36	0.46	0.47	0.35	0.44	0.35
233'44'55'-H7PCB(189)	23.116	18.618	25.229	24.20	26.19	25.31	23.88	22.90	22.74
ICES-6 pcb	Average（pg/g）	Q25(pg/g）	Q75（pg/g）	Tissue-1	Tissue-2	Tissue-3	Tissue-1	Tissue-2	Tissue-3
244'-T3PCB(28)	226	178	228	193.49	187.03	207.81	180.35	225.33	186.07
22'55'-T4PCB(52)	490	373	607	409.38	476.36	407.45	382.00	449.71	379.51
22'455'-P5PCB(101)	1355	1216	1509	1420.32	1256.50	1446.64	1316.93	1461.86	1415.76
22'344'5'-H6PCB(138)	2316	2221	2550	2481.34	2425.43	2441.95	2337.95	2339.61	2460.43
22'44'55'-H6PCB(153)	4289	3564	4903	4401.65	4592.59	4451.57	4666.98	4736.64	4735.17
22'344'55'-H7PCB(180)	2642	2548	2865	2857.09	2855.52	2751.05	2761.78	2751.35	2800.12

2.1.3 两支色谱柱对18种pcb分离效果

18种PCBs标准品在两支色谱柱上的都能实现良好的分离，但在实际样品的测定中，样品基质不同，目标物与干扰物的分离情况有差异。结合分离情况及定量结果，分析沉积物和鱼组织中的18种PCB时，TR-DIOXIN-5MS与RH-12ms相结合使用，能实现更准确定量。

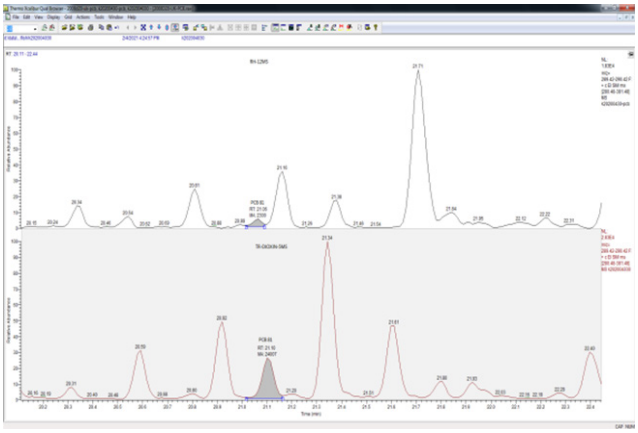


图2.3.1 pcb 81分离效果图

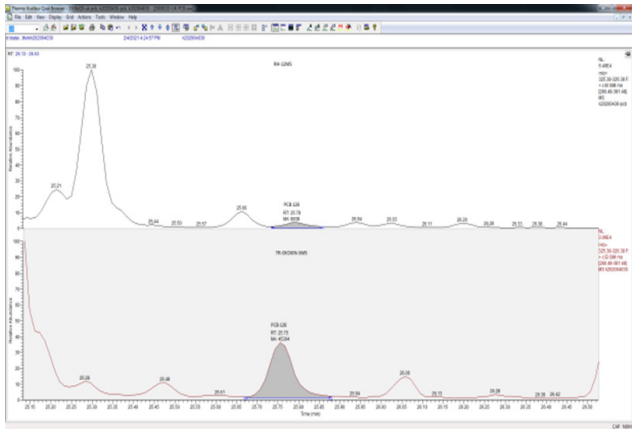


图2.3.2pcb 126分离效果图

PCB81在沉积物样品与鱼组织样品中都存在物质干扰并影响定量结果，PCB126在鱼组织中存在干扰物质并影响定量结果。

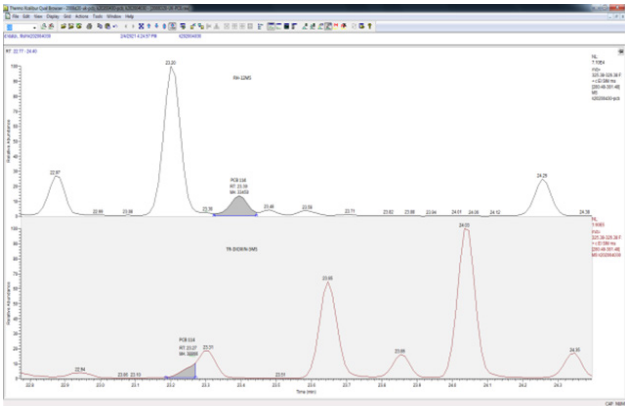


图2.3.2 pcb 114分离效果图

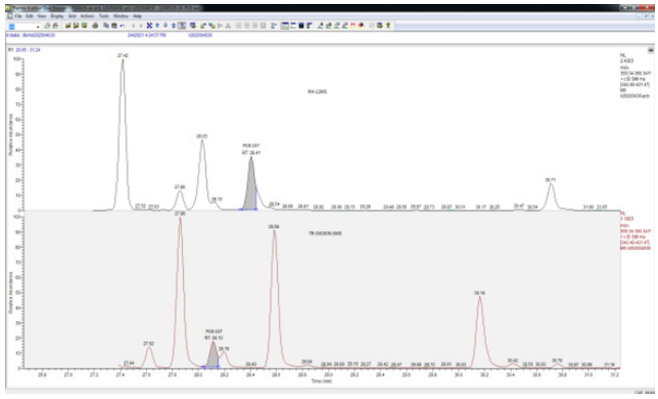


图2.3.2 pcb 157分离效果图

沉积物和鱼组织样品中PCB114，PCB167存在干扰物质，在RH-12ms可以完全分离，在TR-DIOXIN-5MS上仅能实现部分分离，但不影响最终定量结果，而PCB157在TR-DIOXIN-5MS柱上与干扰物质分离情况相比于RH-12ms柱上更好，但对最终定量结果无影响。

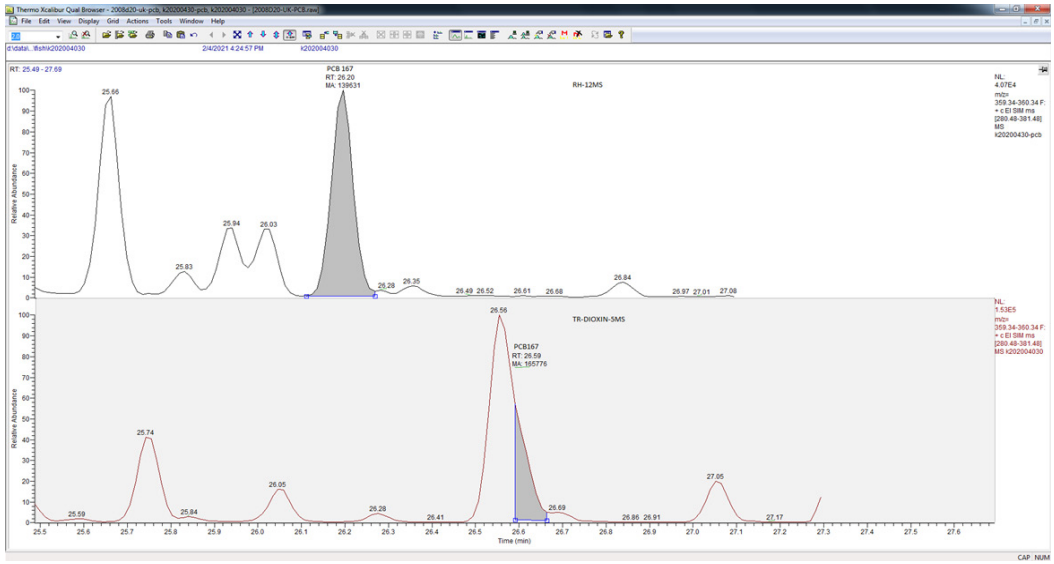


图2.3.2 pcb 167分离效果图

2.2 结果讨论

2.2.1 校准曲线

两支色谱柱的7点校准曲线18种PCBs的相对响应因子的RSD均＜20%，其中13C标记的五氯联苯的RSD较大在10%-15%之间，其他13C标记多氯联苯及目标物的RSD均＜10%。

2.2.2 出峰顺序及分离情况

TR-DIOXIN-5MS和RH-12ms色谱柱对混合标准品中的18种PCBs都能实现良好的分离，出峰顺序上部分五氯代及六氯代多氯联苯在两支色谱柱上有差异，其他无差异，其中TR-DIOXIN-5MS柱上PCB114先于PCB153出峰，PCB157先于PCB180出峰，而RH-12ms柱上PCB153先于PCB114出峰，PCB180先于PCB157出峰。

2.2.3 有证参考物质结果分析

2.2.3.1沉积物样品结果分析

沉积物样品在两支色谱柱上分析结果对比，除PCB81外其他17种PCB在TR-DIOXIN-5MS上的测定值均在Certified Reference Value范围，而PCB81值仅在Provisional ReferenceValue 范围，该沉积物样品在RH-12ms柱上18种PCBs的测定值更接近Certified Reference Value范围，通过谱图分析，PCB81测定在TR-DIOXIN-5MS柱上存在共流出影响定量结果，在RH-12ms柱PCB81与干扰物质能完全分离，实现准确定量。

2.2.3.2鱼组织样品结果分析

鱼组织样品中PCB81及PCB126在TR-DIOXIN-5MS柱上定量结果超出了Q25-Q75范围，其他16种pcb定量结果均在范围内，在RH-12ms柱上，18种PCBs均在Q25-Q75范围，通过谱图分析，鱼肉基质中存在PCB81及PCB126测定的干扰物质，而RH-12ms色谱柱能实现干扰物质与目标物分析，准确定量。

本文的前处理方法和仪器方法中的部分，参考《固定污染源废气 共平面多氯联苯的测定 同位素稀释高分辨气相色谱-高分辨质谱法 （征求意见稿）》编制说明及Method 1668C Chlorinated Biphenyl Congeners in Water, Soil, Sediment, Biosolids, and Tissue by HRGC/HRMS。

仅用于研究目的。 不可用于诊断目的。 © 2021 Thermo Fisher Scientific Inc. 保留所有权利。
所有商标均为 Thermo Fisher Scientific Inc. 及其子公司的资产, 除非另有指明。