

三重四级杆气质联用法测定食品和生物体中多氯联苯 (PCBs) 的分析方法研究

Dirk Krumwiede, Hans-Joachim Huebschmann,
Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany

关键词

TSQ Quantum XLS, dl-PCBs, 食品安全, 同位素稀释, PCBs, SRM, WHO-PCBs

简介

多氯联苯 (PCBs) 是一类耐用性极强的工业化学品, 主要用于变压器、电容器、油墨、涂料、农药、粉尘控制, 以及绝缘液体的制造。据估计, 全球的 PCBs 总产量已達一百五十万吨。在 1930 至 1977 年间, 美国是多氯联苯单一最大生产国, 生产了超过六十万吨的 PCBs。欧洲区紧随其后, 至 1984 年的产出为四十五万吨。

多氯联苯包括 209 种不同的单体 (同系物), 对健康有不同的影响。虽然美国早在 1977 年就禁止生产 PCBs, 用 PCBs 制造的产品却仍然在使用。由于多氯联苯在环境中降解缓慢, 所以它们可以被气流带到了地球的各个角落。PCBs 已经污染了地球上所有动物及人类的身体。

《关于持久性有机污染物的斯德哥尔摩公约》将 PCBs 列为世界上已知对人体和环境有害的十二种最危险的化合物之一。尽管体内二恶英水平在缓慢稳定的下降, 反映出多种防止扩散的努力总的来说取得了一定效果, 然而 PCBs 污染水平在全球来讲预计不会发生变化 (2007 东京二恶英研讨会)。对二恶英水平的监测作为斯德哥尔摩公约的工作项目还将继续多年, 会涉及大量样品的采集, 尤其是对于危险的类二恶英 PCBs (dl-PCB) 来说。值得一提的是共面 dl-PCB, 即非间位取代的 PCB, 由于具有与 2,3,7,8-TCDD 类似的毒性, 成为食品安全控制的焦点。dl-PCBs 也对样品毒性当量 (TEQ) 值有显著贡献。

本应用文章详细记录了一种使用 Thermo Scientific TSQ Quantum XLS 三重四级杆质谱仪, 对环境、食品和生物样品中的 PCB 进行定量分析的快速、可靠, 并且具有高选择性的痕量筛查方法。本方法的分析策略近似于美国国家环境保护局 (USEPA) 已建立的方法 1668A。



由于分析响应有差异, 每种氯代物都是根据各自同位素标记的内标化合物进行定量。这样保证了最佳的分析准确性和同类化合物相似性。内标化合物用 ^{13}C 对联苯骨架进行了标记, 共计十二个标记位点。 ^{13}C 标记的 PCB 被加入到样品中, 以保证在分析过程中实现准确的鉴定并对原始 (未标记) 化合物浓度进行校正。

该方法通常被称为“同位素稀释定量法”。本文在 IUPAC 同类编号后面加“L”来表示标记的化合物; 例如 101L 表示五氯联苯同类物 101 带同位素标记的形式。

实验条件

仪器设置

样品分析是利用 TSQ Quantum XLS™ GC-MS/MS 系统进行的，本系统配备了 Thermo Scientific TRACE GC Ultra 气相色谱仪。TRACE GC Ultra™ 配置了分流 / 不分流进样口，进样器采用的是 Thermo Scientific TriPlus AS 液态自动进样器。毛细管柱采用的是 30 米长的 Thermo Scientific TRACE TR-Dioxin 5MS 柱 (5% 苯基薄膜)，内径为 0.25 mm，薄膜厚度为 0.10 μm。表 1 记录了气相色谱、自动进样器，和质谱仪的各项参数。

表 1. TSQ Quantum XLS、TRACE GC Ultra，及 TriPlus 自动进样器仪器设置

TRACE GC Ultra	
进样口:	分流 / 不分流, 260 °C, 不分流时间: 1.2 分钟不分流
载气:	氦气, 恒流, 0.8 mL/min
温度 程序:	90 °C, 4 分钟 15 °C /min, 160 °C 4 °C /min, 225 °C 7 °C /min, 290 °C
总运行时间:	32.00 分钟
传输线温度:	260 °C
TriPlus™ 自动进样器	
进样体积:	1.0 μL
进样前延迟 (s):	0.2
进样后延迟 (s):	0.2
TSQ Quantum XLS	
离子源温度:	240 °C
离子化方式:	EI, 40 eV
发射电流:	100 μA
Q1 分辨率:	0.7 Da
Q3 分辨率:	0.7 Da
碰撞气:	氦气, 2.0 mTorr
碰撞气能量:	22 eV

样品测量

USEPA 方法 1668 描述了一种测定 PCB 同类物的方法。

…[方法 1668] 是由美国国家环境保护局的 (EPA) 科学与技术办公室开发的，专门针对世界卫生组织 (WHO) 指定的剧毒多氯联苯 (PCB) 同类物的特异性检测方法。方法 1668 的修正稿 A 里已经包含了超过 150 种氯代联苯 (CB) 同类物的特异性检测方法。有毒 PCB 以及氯代 PCB 的起始和终止水平是用同位素稀释高分辨气相色谱 / 高分辨质谱 (HRGC/HRMS) 测定的。其它 CB 用的是内标法 HRGC/HRMS。方法 1668A 适用于水相、固相、组织，以及多相样品基质。

本应用使用了商用 EPA 1668 标准品 (加拿大安大略省贵州市惠灵顿)。68A-CVS 是 USEPA 方法 1668 修正稿 A, HRGC/HRMS 方法常用的校准溶液。每个 PCB 氯代度的所有内标 (ISTD) 都是含 12 个 ¹³C 标记的相似物。样品和内标的处理以及分析策略完全遵照 EPA 方法 1668A 执行。

TSQ Quantum XLS SRM 设置

虽然 USEPA 方法 1668 要求被分析物是“…经气相色谱分离并由高分辨 (R 10,000) 质谱仪检出，[且包含]两个准确质荷比值…并且在提前确定的保留时间窗口中从头到尾对每个氯代水平进行监测”，本应用文章发展的方法实际上是利用了三重四极杆质谱仪作为 HRMS 的替代方案，TSQ Quantum XLS 的四极杆为双曲面四级杆，能够有效提高选择性。根据欧盟委员会指令 96/23/EC 中有关分析方法表现的排名，GC-MS/MS 方法的识别点数与 HRMS 相似或更高，尤其是当使用基于 MS/MS 的独立离子对时 (表 2)。

表 2. GC/MS 分析方法获得的识别点数范例 (n = 整数)。

* 标识的为本文所述方法。

Technique	Number of Ions	Identification Points
GC-MS (EI or CI)	n	n
GC-MS (EI and CI)	2 (EI) + 2 (CI)	4
GC-MS/MS	1 precursor and 2 product ions	4
GC-MS/MS*	2 precursor ions, each with 1 product ion	5
HRMS	n	2n

根据欧盟委员会指令 96/23/EC，有机物残留或污染物适用的确认方法必须是基于全扫技术或“若方法不记录全扫谱图，则需要至少四个识别点 (多氯联苯，二恶英，呋喃等)”，即常见的目标化合物多离子检测方法 (MID)。

通过使用来自两个 PCB 一级离子的二级质谱离子对，并为每个氯代度都进行特异性的子离子检测，本方法的测量体系遵循了欧盟委员会指令 96/23/EC，并为每种 PCB 单体化合物提供了 5 个识别点。

我们监测的是基于分子离子 (¹²C₁₂H_{10-x}³⁵Cl_x) 相对于 ³⁷Cl 同位素即 (¹²C₁₂H_{10-x}³⁵Cl_{x-1}³⁷Cl) 经碰撞诱导解离 (CID) 碎裂过程形成的丢失了两个氯的二级离子的离子对 (表 3)。同位素内标也用相同方法检测，不过，由于含有 12 个 ¹³C 标记，所以有 12 道尔顿的质量位移。

表 3. PCB 的 SRM 数据采集体系, 对每个一级离子都进行两个子离子的 MID 检测。PCB 的名称术语来自 EPA 方法 1668, 并反映了氯代水平。

PCB	Precursor 1 <i>m/z</i>	Precursor 2 <i>m/z</i>	Product 1 <i>m/z</i>	Product 2 <i>m/z</i>
MoCB	188.04	190.04	153.04	153.04
MoCB ISTD	200.08	202.08	165.10	165.10
DiCB	222.00	224.00	152.06	152.06
DiCB ISTD	234.04	236.04	164.10	164.10
TrCB	255.96	257.96	186.02	186.02
TrCB ISTD	268.00	270.00	198.02	198.02
TeCB	289.92	291.92	219.98	219.98
TeCB ISTD	301.96	303.96	232.02	232.02
PeCB	323.90	325.90	253.95	255.95
PeCB ISTD	335.92	337.92	265.99	267.99
HxCB	357.80	359.80	287.90	289.95
HxCB ISTD	369.90	371.90	299.51	301.95
HpCB	391.80	393.80	321.90	323.90
HpCB ISTD	403.80	405.80	333.90	335.90
OcCB	427.80	429.80	357.80	357.80
OcCB ISTD	439.80	441.80	369.90	369.90
NoCB	461.70	463.70	391.80	393.80
NoCB ISTD	473.80	475.80	403.80	405.80
DeCB	495.70	497.70	425.80	427.80
DeCB ISTD	507.70	509.70	437.80	439.80

需要注明的是, 在选择一级离子时, 只有单一同位素的 HxCB 的分子离子 M^+ , 例如 m/z 357.80 $C_{12}H_4^{35}Cl_6$, 会生成特异性的二级离子。同位素峰中的下一个离子, m/z 359.80, 携带一个 ^{37}Cl , 统计上来说会生成两个二级离子, 其中只有一个带有 ^{37}Cl 。这种同位素效应导致二级离子丰度会随着氯代程度升高而降低。

选择离子监测 (SRM) 模式下的分析序列使用了六个 (6) 保留时间窗口以及有重叠的质量区间来检测所有十个氯代程度 (LOC)。除了时段 1, 总要有两个氯代程度是被平行监测的。这种设置是由于相邻氯代程度的 PCB 同类物总是交替洗脱的。每个 SRM 分析时段里进行分析的质量数之多显示出 TSQ Quantum XLS 在进行多组分平行检测任务时的能达到的速度和容量。表 4 和 5 详细列出了 SRM 时段和设置。

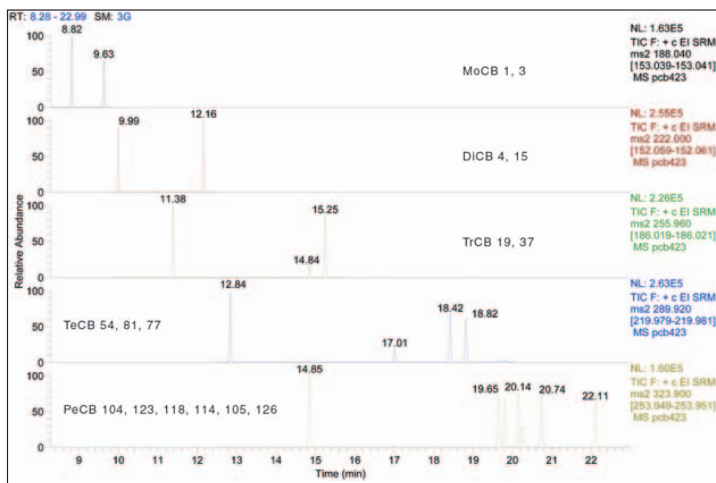


图 1. 一个 PCB 标准品从一氯代到五氯代 PCB 的提取离子色谱图 (柱上 1 pg)

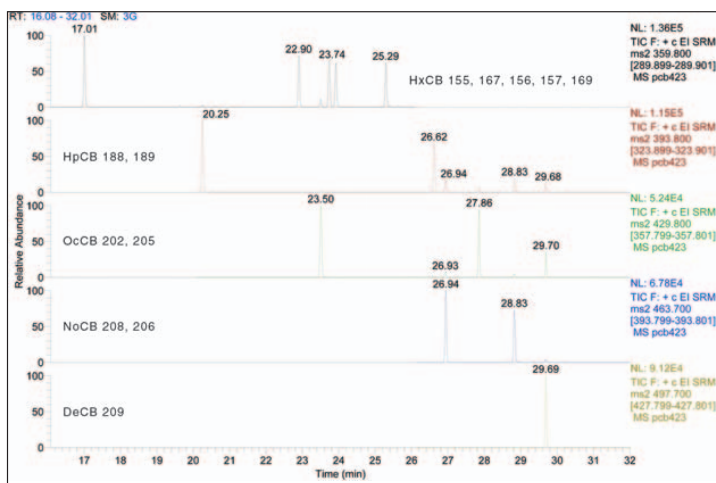


图 2. 一个 PCB 标准品从六氯代到十氯代 PCB 的提取离子色谱图 (柱上 1 pg)

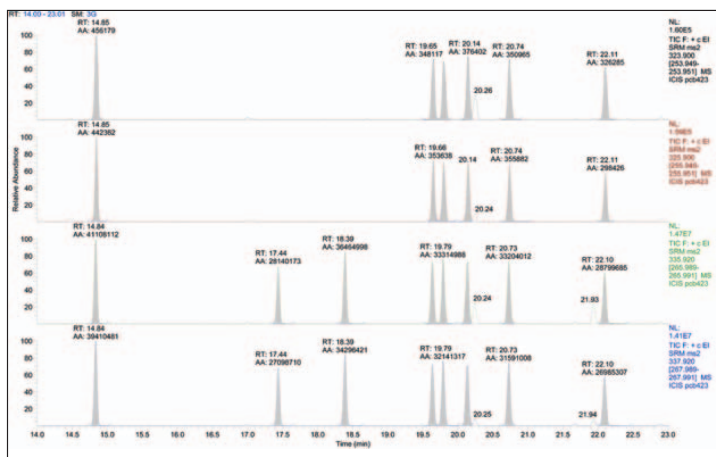


图 3. 标样中的五氯 -PCB 同类物, 用两个独立的 SRM 离子对分别检测目标化合物 (上图) 和同位素标记的 (下图) PCB 同类物 104, 123, 118, 114, 105, 126。ISTD 谱图也显示出 101L 和 111L 成分。

结果与讨论

方法开发

所有 PCB 同系物的每个氯代化合物都通过两个独立的 SRM 离子对进行检测。每个离子对使用分子离子的不同氯同位素峰作为一级离子。数据采集是根据表 4 和 5 中列出的 SRM 详表进行的。TSQ Quantum XLS 得到的 MS/MS 结果如图 1 和 2 所示。图 1 列出了从一氯代到五氯代 PCB 的谱图，而图 2 列出了从六氯代到十氯代联二苯的谱图。这些结果是使用表 3 中列出的 SRM 离子对参数得到的。图 1 和 2 中的质谱图使用了每个化合物丰度最高的一级离子来表明氯代度的顺序。所有同类物都能用每个 SRM 离子对实现高响应的检测。观察到的信号丰度的降低是由于当进样量为柱上 1 pg 时，PCB 分子离子的同位素峰浓度根据统计学规律产生的降低。

图 3 比较了一个氯代度的两个独立 SRM 离子对。顶部的质谱图代表源于未标记的五氯代 PCB 同类物的质荷比为 323.90 和 325.90 的一级离子，而底部质谱图则是同位素标记的内标化合物（质荷比为 335.92 和 337.92 的一级离子）。这一比较证明了不同 SRM 离子对之间谱图是高度吻合的，从而支持了对 PCB 的识别的可靠性。

TSQ Quantum XLS 三重四极杆质谱仪在标准分辨率模式下（0.7 Da 峰宽）得到的这些 SRM 质谱图与利用气相色谱和高分辨质谱仪（GC-HRMS）得到的数据显示出很好的相关度。如图 3 所示的五氯代 PCB 的情况，通过使用基于两个不同一级离子的独立离子对，本 TSQ Quantum XLS 方法能够达到欧盟指令所要求的高确定性。而即便在每个 SRM 窗口中都平行监测两个氯代度时，TSQ Quantum XLS 分析器的高运行速度也能为每个色谱峰提供至少 6 到 8 个数据点。这使得色谱峰的积分和定量的结果都十分可靠。



图 4. 血液样品中 dl- 五氯代 PCB

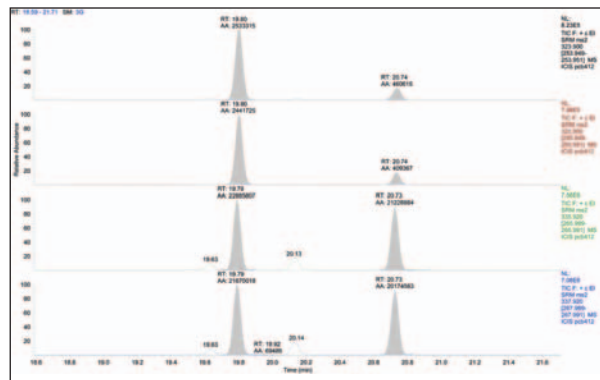


图 5. 牛奶样品中 dl- 五氯代 PCB

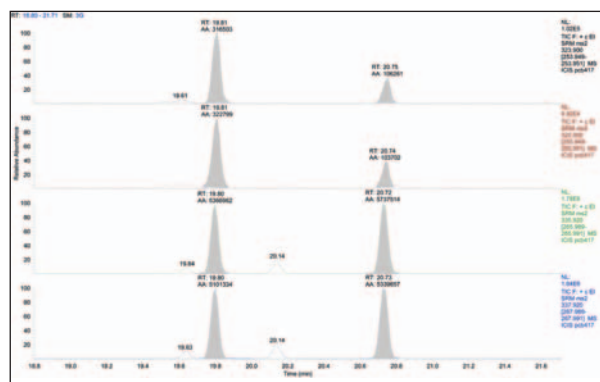


图 6. 蛋黄样品中 dl- 五氯代 PCB

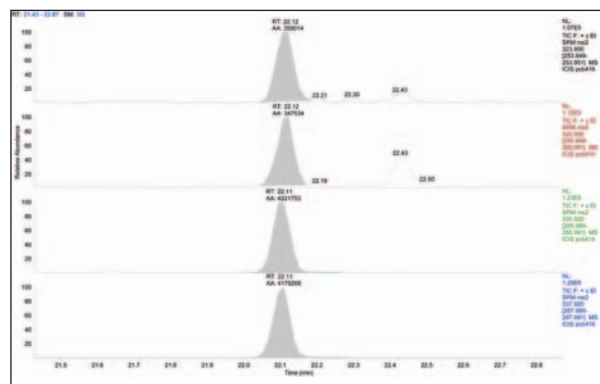


图 7. 绿卷心菜样品中 dl- 五氯代 PCB

在复杂样品基质中的表现

为了在复杂基质样品中验证本色谱和质谱方法，我们制备了若干种非常具挑战性的样品基质。TSQ Quantum XLS 在这些样品的分析中显示出极佳的灵敏度、选择性，和耐用性，如图 4 至图 7 所示。这些结果使我们得以比较在涵盖了血液、牛奶、蛋黄，和绿卷心菜等基质的样品中得到的五氯代 PCB 的分析结果。TSQ Quantum XLS 在所有这些基质中都能够提供干净、无背景的信号流图。在比较这些基质样品和图 1 至图 3 所示的标准品时，本方法的选择性更为显而易见。哪怕面对复杂样品基质，例如血液样品（图 4）和绿卷心菜样品（图 7）中，也没有观察到任何背景信号的升高。

经与标准品检测结果的比对，样品中的 PCB 浓度水平大致在中等含量飞克 (fg) 至低含量皮克 (pg) 区间。未标记 PCB 的检出浓度为 0.2 和 1.0 pg/ μ L，所有加入的 ^{13}C 标记的内标浓度为 100 pg/ μ L。TSQ Quantum XLS 的选择性实质上消除了背景干扰，可以获得较低的方法检出限，和可靠的定量结果，和化合物的准确鉴定。

结论

Thermo Scientific TSQ Quantum XLS 有利于复杂基质样品中低含量 PCB 的筛查和定量，并能够提供高度可靠的结果。本分析方法遵循 USEPA 方法 1668A，使用了同位素稀释定量法。对复杂基质样品的检测结果所示，加入 ^{13}C - 标记的内标组分能够实现高度可靠的检出。

确证方法提供了被分析物的化学结构信息。拥有独特双曲面四极杆技术的 TSQ Quantum XLS 为包括鸡蛋、牛奶、卷心菜和血液等复杂基质中低含量 PCB 样品的检测提供了无与伦比的高选择性。在 H-SRM 模式下运行 TSQ Quantum XLS 时，能够观察到在使用高分辨质谱仪（如扇形磁场质谱仪）时观察到的 PCB 典型分布模式。

本方法提出的使用两个一级离子并检测不同 SRM 离子对的 MS/MS 测量方法，是在各种复杂基质中筛查 PCB 的有效解决方案。对于食品管控来说，配备 TSQ Quantum XLS 的 GC-MS/MS 超出当前欧盟指令至少四个识别点，本文描述的方法提供了五个识别点。

对第三方及政府监控实验室来说，TSQ Quantum XLS 同样能够提供复杂基质样品高样品通量的高生产率方案。因为使用了简便的样品前处理方法，TSQ Quantum XLS 在为 PCB 痕量分析提供无与伦比的分析表现，同时还有附加的经济优势。

参考文献

1. General information about PCBs, see www.wikipedia.org
2. Fiedler, H., Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Uses and Environmental Releases, UNEP Persistent Organic Pollutants. www.chem.unep.ch/pops/POPs_Inc/proceedings/bangkok/FIEDLER1.html
3. Turner, W.E.; Welch, S.M.; et al., Instrumental approaches for improving the detection limit for selected PCDD congeners in samples from the general U.S. population as background levels continue to decline, Proceedings of the Dioxin Conference, Oslo 2006.
4. Method 1668, Revision A: Chlorinated Biphenyl Congeners in Water, Soil, Sediment, and Tissue by HRGC/HRMS, United States Environmental Protection Agency, Office of Water, EPA No. EPA-821-R-00-002, December 1999
5. EU Commission Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results, 12 August 2002, see <http://eur-lex.europa.eu>

注释

本文中用到了以下缩写：

MoCB = 一氯代联二苯

DiCB = 二氯代联二苯

TrCB = 三氯代联二苯

TeCB = 四氯代联二苯

PeCB = 五氯代联二苯

HxCB = 六氯代联二苯

HpCB = 七氯代联二苯

OcCB = 八氯代联二苯

NoCB = 九氯代联二苯

DeCB = 十二氯代联二苯

同类物编号后面加“L”表示标记的化合物。



