

使用 Agilent 7000 三重四极杆气相色谱/质谱系统测定海洋贝类中的化学污染物

应用简报

食品安全

作者

Praveen Kutty, Anthony Gravell,
Kathleen Thompson
分析研究与开发中心
国家实验服务中心
Innovation Environment Agency
Llanelli Carmarthenshire SA15 4EL
UK (英国)

Chris Sandy
安捷伦科技(英国)有限公司
610 Wharfedale Road Winnersh
Triangle Wokingham
Berkshire RG41 5TP
UK (英国)

摘要

目前已开发出基于改进的 QuEChERS 萃取的样品前处理方法, 结合 GC/MS/MS 技术测定选定的有机氯农药、多环芳烃和多氯联苯同系物。该分析方法可满足“英国清洁海洋环境监测项目”所规定的海洋贝类组织(贻贝)中有机化学污染物的检测限要求。



Agilent Technologies

引言

清洁海洋环境监测项目 (CSEMP) 是专门监测英国海岸和河口区域的化学污染物浓度的一项计划。本项目的主要驱动力为：

- 满足奥斯陆-巴黎公约 (Oslo and Paris Convention, OSPAR) 中的联合评估与监测项目 (JAMP) 的强制性监测要求
- 满足 EC 指令的合规性要求

《EC 危险物质指令 (76/464/EEC)》要求对沉积物或生物群进行分析以确定污染物的排放趋势。为满足《贝类水体指令 (79/923/EEC)》、《贝类卫生指令 (91/492/EEC)》及其修订版指令 97/61/EC, 以及《渔产品指令 (91/493/EEC)》的某些要求, 也需要对贝类体内的有机污染物进行监测 [1]。

该项目规定了 16 种有机氯化物 (OCP)、28 种多环芳烃 (PAH) 和 7 种多氯联苯同系物 (PCB)。对 OCP 和 PCB 的检测限 (LoD) 要求为 0.1 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, 对 PAH 的检测限要求为 0.5 – 1.0 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 。

基于改进的 QuEChERS [2], [3] 提取方法, 针对海洋贝类组织 (贻贝) 中的此类有机污染物开发出了一种提取方法, 采用气相色谱-

三重四极杆质谱联用仪 (GC- QQQ) 对提取物进行分析。气相色谱方法中包含柱后压力控制三通, 其有利于通过柱后的后运行反吹除去高沸点基质组分, 如果不去除这些组分, 它们将在分析过程中残留于色谱柱上, 造成色谱性能的下降和质谱仪离子源的污染。关于柱后反吹的有效性已在此前出版的安捷伦应用文摘中进行了说明 [4]。

实验部分

校准标样

天然 PAH 和同位素标记的 PAH 内标物分别购自 SPEX Certiprep 和 Cambridge Isotopes。定制的 OCP 和 PCB 同系物混合标样购自 LGC Promochem。PCB 155 和同位素标记的 OCP 内标物购自 QMX 和 CDN Isotopes。

样品前处理

采用改进的 QuEChERS 提取方法提取 2 g 的均质化贻贝组织样品。提取和净化工作流程如图 1 所示。

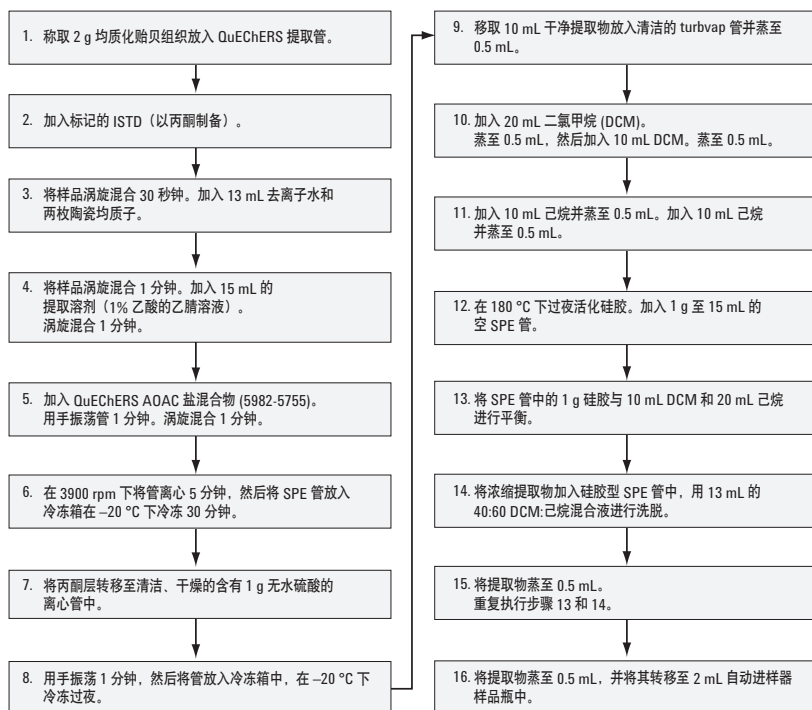


图 1. 样品提取和净化步骤的流程图。

气相色谱/质谱/质谱分析

使用 Agilent 7890 气相色谱/7000 三重四极杆气相色谱/质谱系统进行分析。7890 系列气相色谱配备了二氧化碳冷却的多模式进样口 (MMI) 和 15 m × 0.25 mm 内径的 0.25 μm DB-5MS UI 毛细管柱和 0.65 mm 内径 × 0.15 mm 内径, 0.15 μm DB-5MS UI 限流器, 该限流器通过微板流路压力控制三通连接至质谱仪。该气相色谱/质谱/质谱系统配置的示意图如图 2 所示。

分析色谱柱在恒流模式下运行, 色谱采用保留时间锁定, 采用保留时间为 12.370 分钟处的 PCB 118 作为锁定化合物。压力控制三通在恒压模式下运行, 采用气路控制模块 (PCM) 控制氦气。

配备 Agilent 7693A 自动液体进样器, 使用 10 μL 注射器进行 1 μL 冷不分流进样 (在气相色谱/质谱/质谱方法优化过程中) 或者使用 25 μL 注射器进行 10 μL 溶剂排空进样 (用于仪器校准和样品分析)。

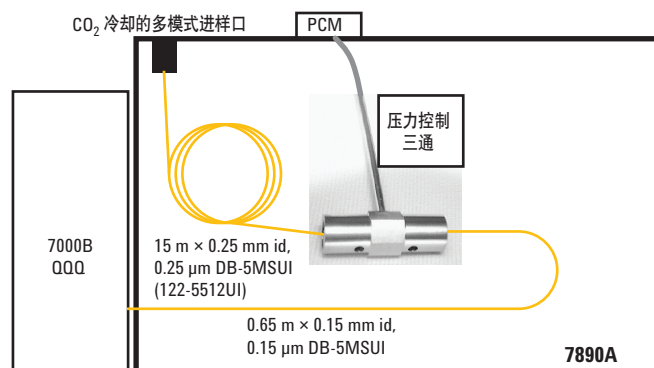


图 2. GC/MS/MS 系统配置示意图。

GC 仪器条件在表 1 中列出。

质谱仪在电子碰撞电离 (EI) MS/MS 模式下运行, 对于所有分析物及其相关的内标物均使用多反应监测 (MRM)。质谱仪运行条件在表 2 中列出, 所有分析物及其各自的保留时间、监测离子转换、碰撞能量和驻留时间列于表 3 中。

表 1. 气相色谱分析条件

色谱柱 (1)	15 m × 0.25 mm 内径, 0.25 μm DB-5MS UI (122-5512UI)
色谱柱 (2)	0.65 m × 0.15 mm 内径, 0.15 μm DB-5MS UI (由 165-6626 切割得到)
进样模式 (1)	1 μL 冷脉冲不分流进样, 使用 CO ₂ 进行冷却的多模式进样口和 10 μL 注射器
进样口温度程序	50 °C (保持 0.05 min), 以 600 °C/min 的速率升至 325 °C
进样口压力脉冲	13.0 psig, 0.75 min
分流口的吹扫流速	50 mL/min, 1.0 min
进样口衬管	2 mm 内径, 多阻板 (5190-2296)
进样模式 (2)	10 μL 溶剂排空进样模式, 使用 CO ₂ 冷却的多模式进样口 (MMI) 和 25 μL 注射器
进样口温度程序	40 °C (保持 0.31 min), 以 600 °C/min 的速率升至 325 °C
进样口排空压力	5.0 psig
进样口排空流速	100 mL/min
进样口排空时间	0.31 min
出口压力	0 psig
进样进样速度	100 μL/min
分流口的吹扫流速	50 mL/min, 1.0 min
进样口衬管	2 mm 内径, 多阻板 (5190-2296)
载气	氦气, 恒流, 1.2 mL/min
柱温程序	50 °C (1) – 20 – 200 °C/min (0) – 10 °C/min – 300 °C (1.5)
RTL 化合物	PCB 118, 锁定于 12.370 min 处
压力控制三通	G3186B, 在 2.0 psig 恒压模式下运行
反吹条件	进样口压力 1.0 psig, PCM 压力 60 psig 时间 2.0 分钟

表 2. 质谱仪运行条件

MS 传输线温度	325 °C
MS 源	300 °C
MS 四极杆 1、2 温度	150 °C, 150 °C
碰撞池气体	氮气 1.5 mL/min, 氦气 2.25 mL/min
MS1 / MS2 分辨率	宽/宽
MRM 设置	见表 3
电子能量	-70 eV
电离模式	电子碰撞 (EI)
EI 自动调谐	增益归一化
增益因子	5

表 3. OCP、PAH、PCB 同系物和标记的内标物的质谱/质谱设置

TS	时间	分析物	保留时间			驻留时间		前体	产物	驻留时间	
			(min)	母离子	子离子	(ms)	碰撞能量(V)			(ms)	碰撞能量(V)
1	4.0	d3-135-TCB	5.050	182.9	147.9	25	35	182.9	110.9	25	35
		135-TCB	5.068	179.9	144.9	25	35	179.9	108.9	25	35
		d8-萘	5.479	136.0	108.0	25	25				
		萘	5.504	128.0	102.0	25	22	128.0	127.0	25	20
		HCBd	5.658	224.9	189.9	25	22	224.9	187.9	25	22
2	6.8	d8-萘烯	7.308	160.0	132.0	25	30	160.0	108.0	25	30
		萘烯	7.321	152.0	151.0	25	40	152.0	150.0	25	40
		d10-萘	7.494	164.0	162.0	25	30	164.0	160.0	25	30
		萘	7.525	154.0	152.0	25	40	153.0	152.0	25	40
3	7.8	d10-芴	8.099	176.0	174.0	15	30				
		芴	8.131	166.0	165.0	15	30				
		d6-HCH - α	8.699	224.0	187.0	15	15	224.0	150.0	15	15
		HCH - α	8.730	181.0	145.0	15	15	181.0	109.0	15	30
		HCB	8.770	283.9	248.8	15	25	283.9	213.9	15	35
		HCH - β	8.990	181.0	145.0	15	15	181.0	109.0	15	30
		d6-HCH- γ	9.077	224.0	187.0	15	15	224.0	150.0	15	15
		HCH - γ	9.107	218.8	183.0	15	5	181.0	109.0	15	30
		硫芴	9.110	184.0	152.0	15	40	184.0	139.0	15	40
		d10-菲	9.274	188.0	184.0	15	40	188.0	160.0	15	40
		菲	9.299	178.0	176.0	15	34				
		蒽	9.367	178.0	176.0	15	34				
HCH - δ	9.428	181.0	145.0	15	15	181.0	109.0	15	30		
4	9.6	PCB 28	9.820	256.0	186.0	20	26	258.0	186.0	20	26
		PCB 52	10.250	289.9	220.0	20	28	291.9	222.0	20	28
		艾氏剂	10.480	298.0	263.0	20	8	263.0	191.0	20	30
		异艾氏剂	10.880	262.9	193.0	20	35	262.9	191.0	20	35
5	11.0	d10-荧蒽	11.103	212.0	210.0	15	45	212.0	208.0	15	45
		荧蒽	11.128	202.0	201.0	15	30	202.0	200.0	15	50
		PCB 155	11.280	357.8	287.9	15	28	359.8	289.9	15	28
		op-DDE	11.375	248.0	176.0	15	30	246.0	211.0	15	20
		PCB 101	11.437	323.9	253.9	15	28	325.9	255.9	15	28
		d10-芘	11.486	212.0	210.0	15	45	212.0	208.0	15	45
		芘	11.512	202.0	201.0	15	30	202.0	200.0	15	45

表 3. OCP、PAH、PCB 同系物和标记的内标物的质谱/质谱设置 (续表)

TS	时间	分析物	保留时间			驻留时间		母离子	子离子	驻留时间 (ms)	碰撞能量(V)
			(min)	母离子	子离子	(ms)	碰撞能量(V)				
5		pp-DDE	11.857	248.0	176.0	15	30	246.0	211.0	15	20
		C13-狄氏剂	11.933	269.8	200.0	15	40	269.8	198.0	15	40
		狄氏剂	11.940	262.8	193.0	15	30	262.8	191.0	15	30
		op-DDD	11.956	237.0	165.0	15	20	235.0	200.0	15	8
6	12.15	异狄氏剂	12.265	281.0	245.0	25	20	263.0	193.0	25	35
		PCB 118 (RTL 化合物)	12.370	323.9	253.9	25	28	325.9	255.9	25	28
		pp-DDD	12.500	237.0	165.0	25	20	235.0	199.1	25	8
		op-DDT	12.543	237.0	165.0	25	20	235.0	199.1	25	20
		PCB 153	12.698	357.8	287.9	25	28	359.8	289.9	25	28
		C13-pp-DDT	13.091	247.0	177.0	25	20	247.0	211.0	25	20
		pp-DDT	13.099	237.0	165.0	25	20	235.0	199.1	25	20
		PCB 138	13.112	357.8	287.9	25	28	359.8	289.9	25	28
7	13.5	苯并[a]蒽	13.897	228.0	226.0	40	38				
		d12-屈	13.915	240.0	236.0	40	35				
		屈 / 三亚苯	13.965	228.0	226.0	40	38				
		PCB 180	14.175	393.8	323.9	40	30	395.8	325.9	40	30
8	15.0	苯并[b+j]荧蒽	16.06	252.0	250.0	75	42	250.0	248.0	75	40
		d12-苯并[k]荧蒽	16.084	264.0	260.0	75	40				
		苯并[k]荧蒽	16.116	252.0	250.0	75	42	250.0	248.0	75	40
		苯并[e]蒽	16.561	252.0	250.0	75	42	250.0	248.0	75	40
		d12-苯并[a]蒽	16.616	264.0	260.0	75	40				
		苯并[a]蒽	16.654	252.0	250.0	75	42	250.0	248.0	75	40
		蒽	16.814	252.0	250.0	75	42	250.0	248.0	75	40
9	18.0	d12-茚并[123-cd]芘	18.600	288.0	284.0	75	50				
		茚并[123-cd]芘	18.631	276.0	274.0	75	42				
		d14-二苯[a,h]蒽	18.662	292.0	288.0	75	50				
		二苯[a,h]蒽	18.712	278.0	276.0	75	38				
		d12-苯并[g,h,i]芘	19.020	288.0	284.0	75	45				
		苯并[ghij]芘	19.064	276.0	274.0	75	38				

结果与讨论

色谱

所有分析物的全部 MRM 转换的总离子流色谱图 (TIC) 如图 3 所示。
为了看得更加清楚, OCP、PAH 和 PCB 同系物的标记 TIC MRM 色谱图分别见于图 4、5 和 6。

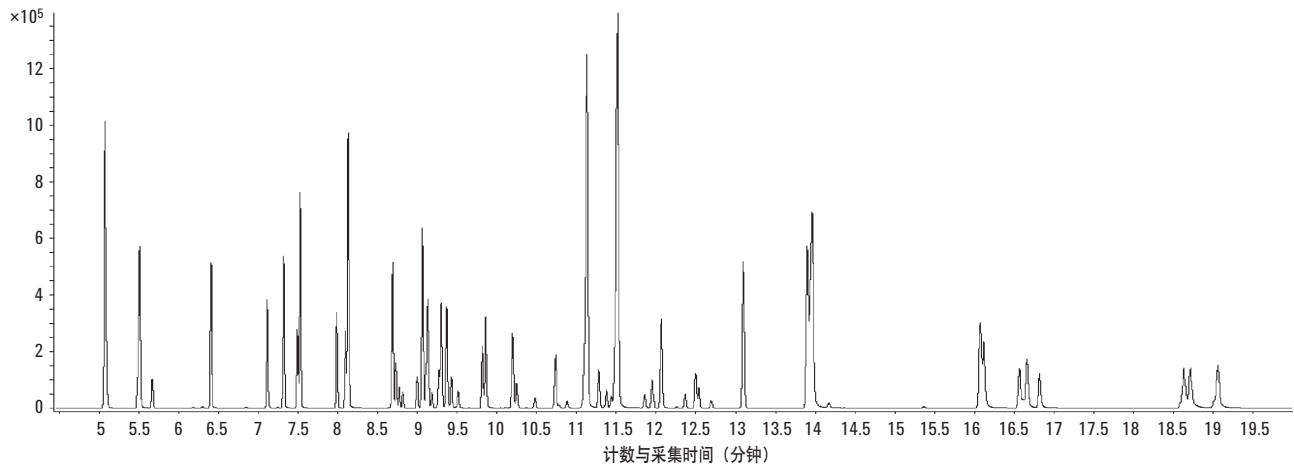


图 3. 校准样品的 TIC MRM 色谱图。

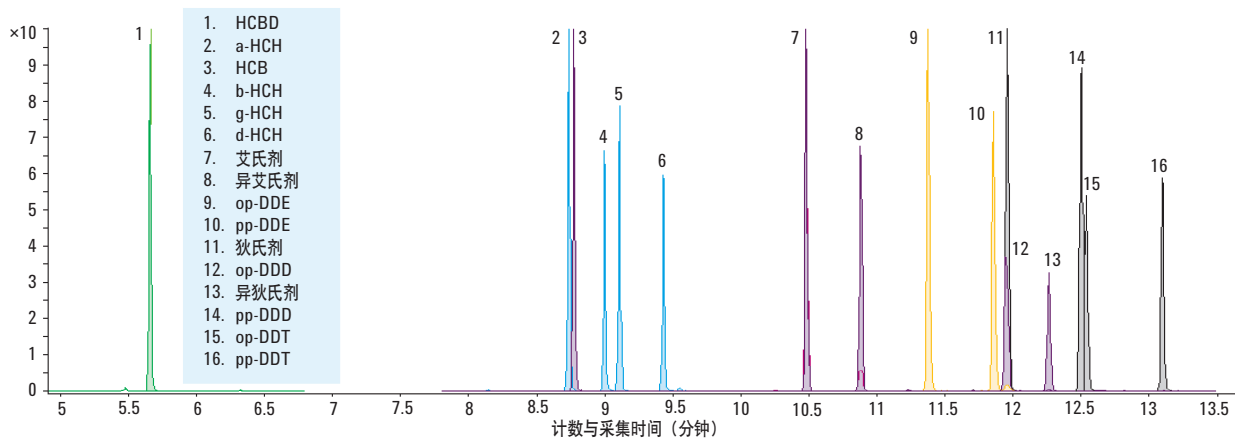


图 4. OCP 分析物的 TIC MRM 色谱图。

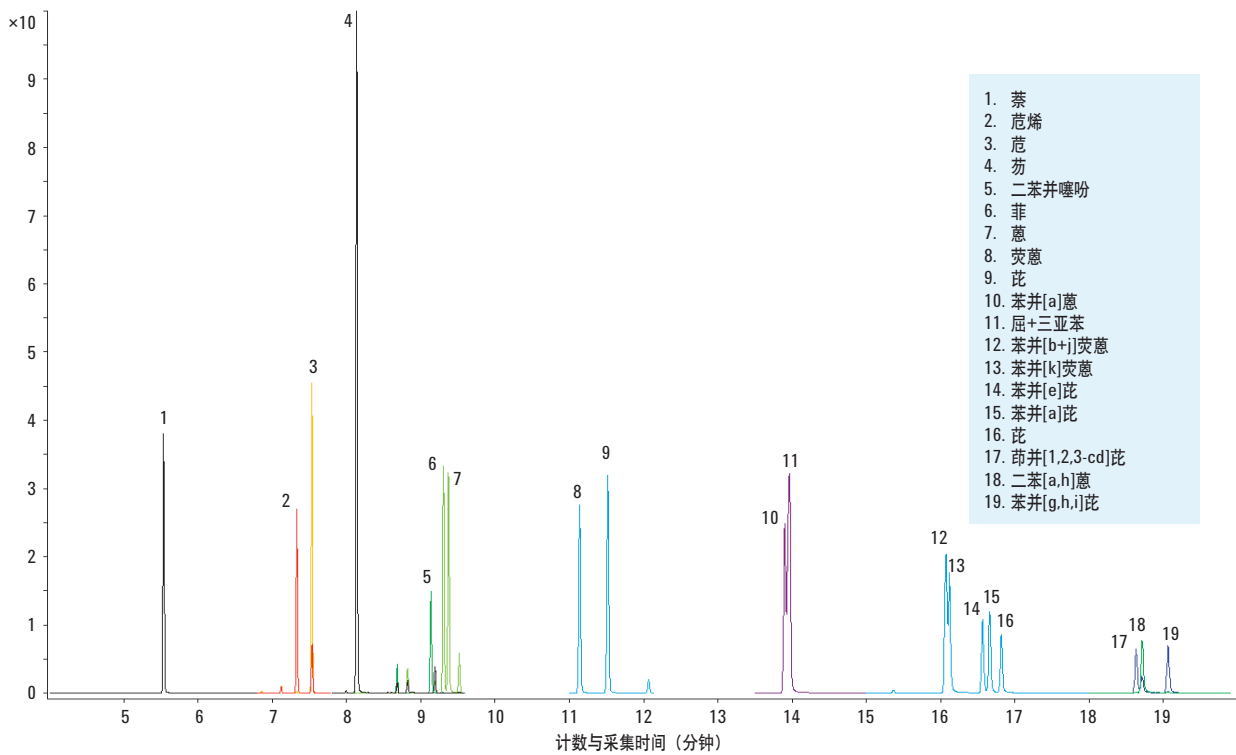


图 5. PAH 分析物的 TIC MRM 色谱图。

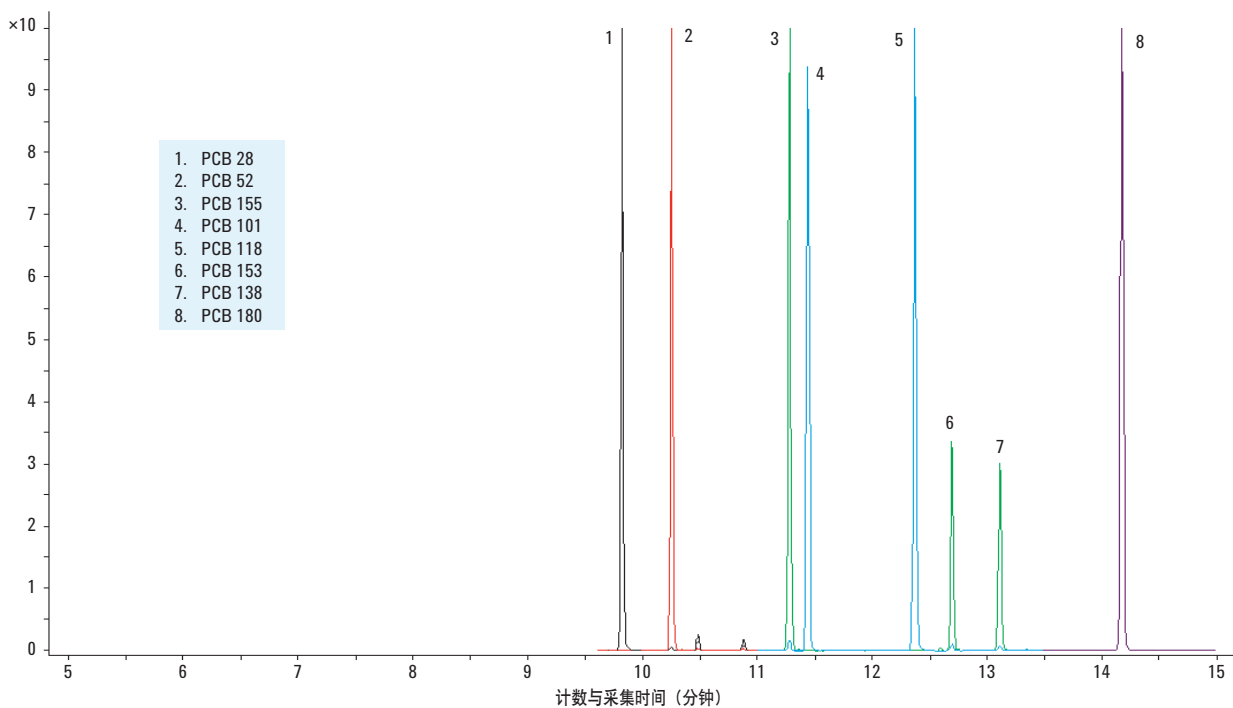


图 6. PCB 同系物的 TIC MRM 色谱图。

分析物校准曲线

使用五点内标 (ISTD) 校准法对 GC-MS/MS 系统进行校准。使用己烷配制目标分析物的校准标样，标样浓度分别为 0.4、2.0、8.0、80.0 和 200.0 pg/μL。添加的所有内标物均为 80.0 pg/μL。使用 10 μL 溶剂排空模式进样创建校准曲线。所有分析物校准曲线的相关系数均大于 0.999。表 4 列出了曲线拟合类型和相关系数值。

表 4. ISTD 校准曲线的曲线拟合和相关系数

分析物	曲线拟合	R ²
HCBD	二次	0.9994
a-HCH	线性	0.9996
HCB	线性	0.9998
b-HCH	线性	0.9995
g-HCH	线性	0.9999
d-HCH	线性	0.9991
艾氏剂	线性	0.9999
异艾氏剂	线性	0.9999
op-DDE	线性	0.9998
p,p-DDE	线性	0.9993
狄氏剂	线性	0.9992
op-DDD	线性	0.9999
异狄氏剂	线性	0.9997
pp-DDD	线性	0.9997
o,p-DDT	线性	0.9992
p,p-DDT	线性	0.9995
萘	线性	0.9997
萘烯	线性	0.9997
萘	线性	0.9999
苊	线性	0.9997
硫苊	线性	0.9999
菲	线性	0.9999
蒽	线性	0.9997
荧蒽	线性	0.9992
芘	线性	0.9996
苯并[a]蒽	线性	0.9998
屈+三亚苯	线性	0.9999
苯并[b+j]荧蒽	线性	0.9998
苯并[k]荧蒽	线性	0.9997
苯并[e]芘	线性	0.9996
苯并[a]芘	线性	0.9998
芘	线性	0.9999
茚并[123-cd]芘	线性	0.9996
二苯[a,h]蒽	线性	0.9999
苯并[g,h,i]芘	线性	0.9997
PCB 28	线性	0.9998
PCB 52	线性	0.9998
PCB 101	线性	0.9999
PCB 118	线性	0.9996
PCB 153	线性	0.9998
PCB 138	线性	0.9998
PCB 180	线性	0.9994

处于目标浓度范围的 g-HCH、PCB 118 和苯并[a]芘的示例校准曲线如图 7 所示。

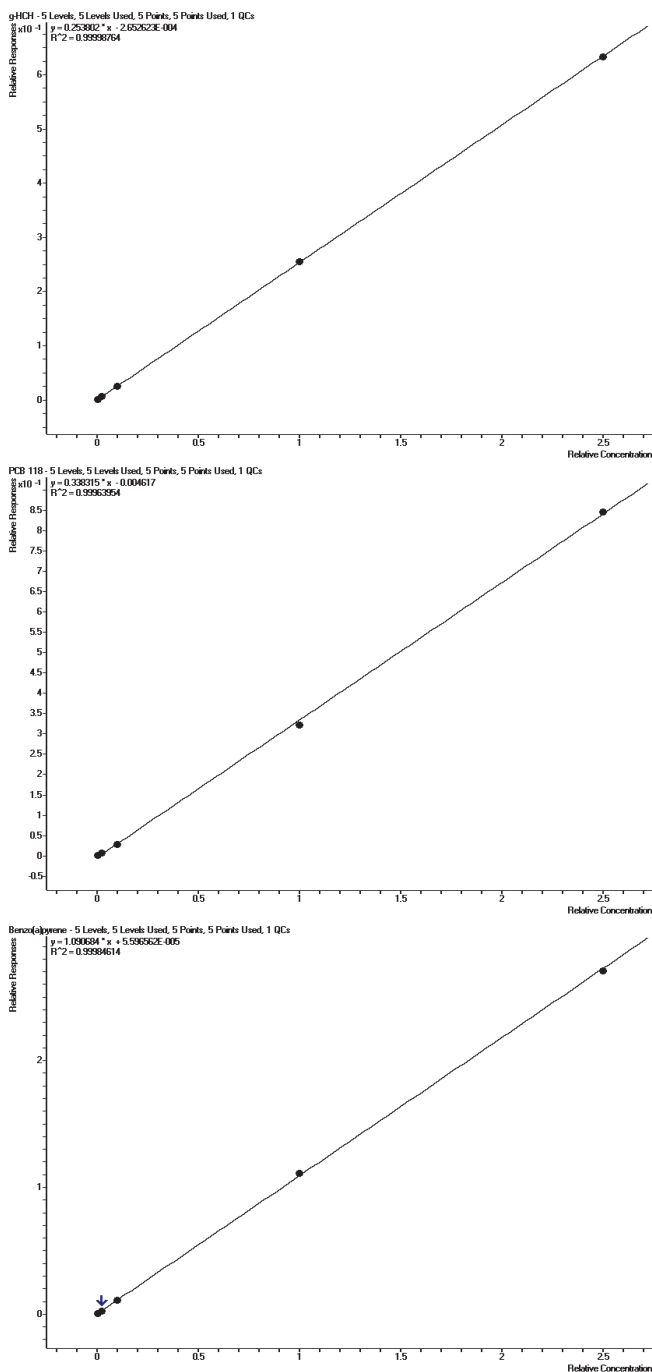


图 7. g-HC (上图)、PCB 11 (中图) 和苯并[a]芘 (下图) 的五点 ISTD 校准曲线。

目标分析物的回收率和定量分析

称取五份等量的均质化贻贝组织样品 (2 g) 放入 QuEChERS 提取管内。使用浓度相当于 4 µg/Kg (8 ng/2g 样品) 的目标分析物的丙酮溶液和内标物加标至样品中。然后将提取管涡旋混合 1 分钟, 使用图 1 所示的步骤提取样品。

各目标分析物的相对标准偏差 (RSD%) 和加标回收率 (回收率 %) 根据下列公式进行计算:

$$\text{相对百分比标准偏差} = \frac{\text{标准偏差}}{\text{平均值}} \times 100$$

$$\text{回收率} = \frac{\text{平均值(已加标)}}{[\text{平均值(未加标)} + \text{加标量}]} \times 100$$

其中, SD 为标准偏差。

按化学类别 (OCP、PAH 和 PCB) 分组的目标分析物及其相关的内标物、定量重现性和百分比回收率在表 5 中列出。加标贻贝组织中的 OCP、PAH 和 PCB 同系物的百分比回收率值还以图示形式分别显示于图 8 (a)、(b) 和 (c) 中。

表 5. 目标分析物及其相关的 ISTD, 定量重现性 RSD% 值

分析物	ISTD	RSD% [n=5]	回收率%
HCBd	d3-135-TCB	11.1	85.4
a-HCH	d6-g-HCH	3.9	115.1
HCB	d6-a-HCH	13.3	92.0
b-HCH	PCB-155	7.0	116.8
g-HCH	d6-g-HCH	2.3	114.1
d-HCH	PCB-155	6.7	123.9
艾氏剂	PCB-155	15.8	108.9
异艾氏剂	PCB-155	13.9	108.7
op-DDE	PCB-155	3.5	120.4
p,p-DDE	PCB-155	4.8	121.5
狄氏剂	¹³ C-异狄氏剂	4.0	93.4
op-DDD	PCB-155	4.0	119.9
异狄氏剂	¹³ C-异狄氏剂	7.7	112.7
pp-DDD	¹³ C-pp-DDT	6.1	101.6
o,p-DDT	¹³ C-pp-DDT	3.5	104.1
p,p-DDT	¹³ C-pp-DDT	1.1	100.0
萘	d8-萘	3.7	107.7
萘烯	d8-萘烯	7.4	98.5
芴	d10-芴	5.0	102.5
芴	d10-芴	8.4	100.9
硫芴	d10-芴	8.5	105.6
菲	d10-菲	7.8	102.6
蒽	d10-菲	5.6	100.2
荧蒽	d10-荧蒽	0.9	101.0
苊	d10-苊	7.0	92.3
苯并[a]蒽	d12-屈	4.1	103.5
屈+三亚苯	d12-屈	1.1	104.5
苯并[b+j]荧蒽	d12-苯并[k]荧蒽	24.0	107.7
苯并[k]荧蒽	d12-苯并[k]荧蒽	5.4	104.1
苯并[e]苊	d12-苯并[a]苊	1.6	105.0
苯并[a]苊	d12-苯并[a]苊	3.3	102.9
差	d12-苯并[a]苊	1.1	106.4
茚并[123-cd]苊	d14-二苯[a,h]蒽	2.8	94.9
二苯[a,h]蒽	d14-二苯[a,h]蒽	2.4	103.0
苯并[g,h,i]苊	d14-二苯[a,h]蒽	4.8	103.1
PCB 28	PCB-155	3.9	105.5
PCB 52	PCB-155	3.0	105.8
PCB 101	PCB-155	3.5	112.3
PCB 118	PCB-155	6.1	107.0
PCB 153	PCB-155	3.6	107.6
PCB 138	PCB-155	4.5	109.9
PCB 180	PCB-155	4.8	110.1



图 8. 加标贻贝组织中的 (a) OCP, (b) PAHs 和 (c) PCB 同系物的分析物百分比回收率图示。

样品分析

海洋贻贝样品购自当地市售贝类供应商，使用上述样品前处理和气相色谱/质谱/质谱条件对样品进行均质化、提取和分析。贻贝样品中定量分析检测到的 HCH 异构体的 MRM 色谱图如图 9 所示，检测到的荧蒽和芘 PAH 的色谱图如图 10 所示，检测到的 PCB 180 同系物的色谱图如图 11 所示。

结论

目前已开发出基于改进的 QuEChERS 提取和净化方法的样品前处理方法，并将其应用于从海洋贻贝组织中提取 OCP、PAH 和 PCB 同系物。对于贻贝加标样品，气相色谱/质谱/质谱定量方法对所有分析物都可获得良好的重现性和回收率，回收率范围为 85.4%–123.9%。

Agilent 7000 三重四极杆气相色谱/质谱系统能够可重现、高灵敏度地检测贻贝组织中的 OCP、PAH 和 PCB 同系物，检出浓度最低至 0.1 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 。所用提取/净化方法和采用气相色谱/质谱/质谱方法进行分析的效果能够满足 CSEMP 法规要求。

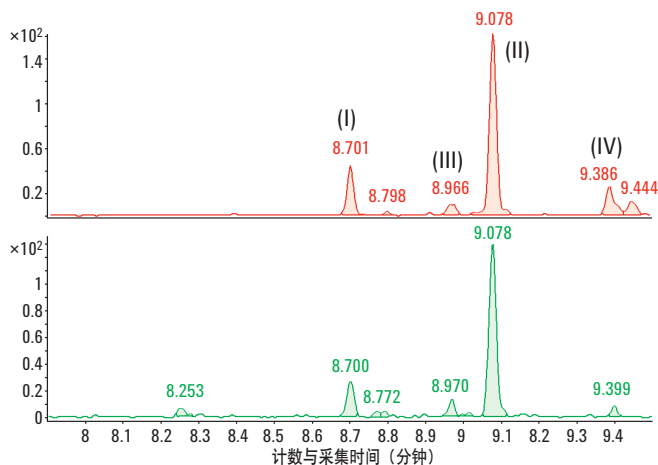


图 9. 贻贝样品中检测到的 (i) a-HCH 和 (ii) g-HCH 的 MRM 色谱图，其浓度分别为 0.06 和 0.30 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 。峰 (iii) 和 (iv) 分别为检测到的痕量 b-HCH 和 d-HCH。

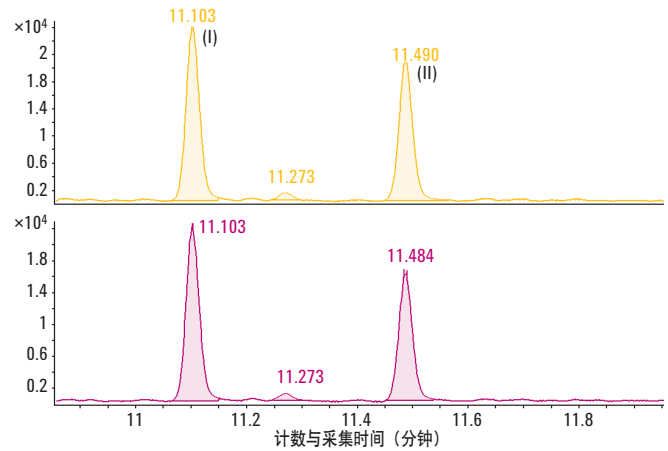


图 10. 贻贝样品中检测到的 (i) 荧蒽和 (ii) 芘的 MRM 色谱图，其浓度分别为 8.64 和 5.83 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 。

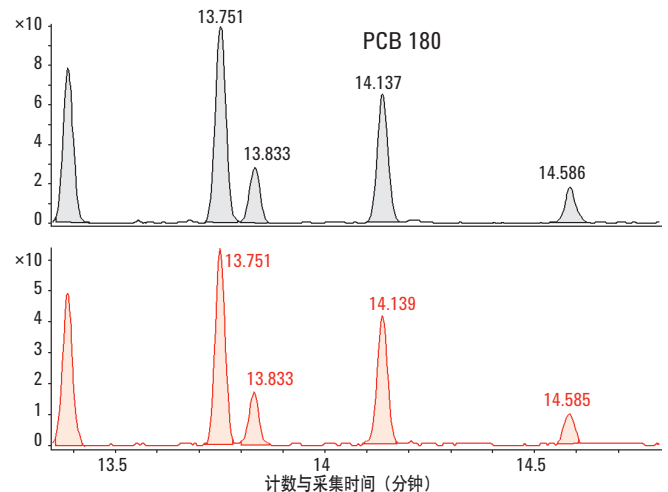


图 11. 贻贝样品中检测到的 PCB 180 的 MRM 色谱图，其浓度为 0.14 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 。

参考文献

1. Clean Seas Environmental Monitoring Program - GREEN BOOK, Marine Assessment and Review Group (MARG) UK.
2. Rapid sample preparation procedure for the simultaneous determination of PCBs, PBDEs and PAHs in fish. J Hajslova et al. Accessed from www.xcdtech.com on 14.01.2011.
3. Development of a simple extraction and clean-up procedure for determination of organo-chlorine pesticides in soil using gas chromatography–tandem mass spectrometry. A. Rashid et al. *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 2933-2939.
4. Improving GC-MS Method Robustness and Cycle Times Using Capillary Flow Technology and Back flushing (使用微板流路控制和反吹技术提高 GC-MS 方法的耐用性并缩短分析周期), 安捷伦应用摘要 5990-3367EN, 2009 年 1 月。

致谢

作者衷心感谢安捷伦科技（美国）有限公司化学品和消耗品部的样品前处理应用科学家 Joan Stevens 博士在样品提取和净化过程中给予的大力帮助。

如需更多信息

有关我们的产品和服务的详细信息，请访问我们的网站：
www.agilent.com/chem。

www.agilent.cn/chem

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。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2011
2011 年 4 月 6 日，中国印刷
5990-7714CHCN