

赛默飞全新 AEI 源三重四极杆气质联用仪 TSQ 9000 结合同位素稀释法分析土壤和沉积物中的二噁英类化合物

蔡宇¹, 王申¹, 李春丽¹, 赵波²

¹ 赛默飞世尔科技(中国)有限公司

² 环境保护部华南环境科学研究所

摘要

本文采用配备全新 AEI 源的 TSQ 9000 GC-MS/MS 系统, 结合同位素稀释分析法分析土壤中和沉积物中的二噁英类化合物。赛默飞全新 AEI 源在极低浓度的样品 (20 fg 2,3,7,8-TCDD) 测试中展现出无与伦比的灵敏度和稳定性 (峰面积 RSD%=3.42%, ; 离子比率 RSD%=2.83%)。实验数据采用 TargetQuan 3.2 进行处理, EPA 1613 系列标准品实测响应因子为 0.88-2.13, 相对标准偏差小于 10%。实际样品测试结果展示出方法具有良好的稳定性和回收率, 测试结果与 GC-HRMS (磁质谱) 的结果的偏差小于 5%, 具有良好的一致性。

关键词

二噁英、同位素稀释分析法、AEI 源、土壤和沉积物、GC-MS/MS、TargetQuan

1、前言

二噁英是持久性有机污染物 (POPs) 的重要组成部分, 可以通过食物链和食物网从环境污染介质向生物圈转移, 亲脂性决定了其在动物体内的蓄积能力明显高于植物, 二噁英类可通过吸入、食入或皮肤接触进入人体。2,3,7,8- 位置

取代的化合物毒性最为明显, 其中 2,3,7,8-TCDD 毒性最大, 为氰化钾的 1000 倍以上。气相色谱 - 高分辨质谱 (GC-HRMS, 磁质谱) 因其高分辨率和高灵敏度, 一直以来都是二噁英检测的“黄金标杆”。

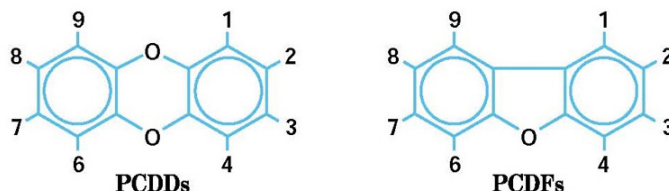


图 1. PCDDs 和 PCDFs 的分子结构式

2014 年, EU 589/2014 和 EU 709/2014 首次将 GC-MS/MS 分析方法纳入食品和饲料中二噁英类化合物的确证方法, 2017 年更新的 EU 644/2017 和 771/2017 亦再次重申了对串联气质筛查和确证二噁英类化合物的要求: (1) 对于每个目标化合物和添加的内标物质, 选择待测化合物的两对或两对以上离子对进行监测; (2) 试样特征离子的相对丰度与标准溶液测定的相对丰度偏差不超过 $\pm 15\%$; (3) 每个四极杆的分辨率都不得低于单位质量分辨率。三重四极杆通过离子对 (“母离子 - 子离子”) 来实现高选择性,

然而，制约三重四极杆气质在二噁英检测中推广的一大原因始终还是二噁英检测中对仪器灵敏度的要求。

赛默飞全新 AEI 源，采用与灯丝方向一致的大体积回旋磁铁设计，并使灯丝与离子束在同一直线上，独特的设计增长电离距离，大大提高了离子化效率和聚焦能力，从而显著地提高了仪器的灵敏度。因此，本文采用配备 AEI 源的全新 TSQ 9000 三重四极杆气质联用仪，对土壤和沉积物中的二噁英类化合物进行分析，通过灵敏度、选择性、稳定性、回收率等指标，评估了配备 AEI 源的 GC-MS/MS 系统在二噁英实际样品分析中的性能。

2、实验部分

2.1 仪器：

质谱仪：TSQ 9000 三重四极杆串联质谱仪（赛默飞世尔科技，美国）；

气相色谱仪: Trace 1310 气相配 TriPlus RSH 自动进样器(赛默飞世尔科技，美国) ；

色谱柱：TG-Dioxin（60 m*0.25 mm*0.25 μm）毛细管色谱柱；

2.2 试剂和材料：

正己烷、二氯甲烷、石英砂、Florisil、碱性氧化铝、中性硅胶、碱性硅胶、酸性硅胶、无水硫酸钠等；

2.3 仪器方法：

气相色谱	
升温程序：	100 ℃保持 2 min，以 25 ℃/min 升温到 250 ℃保持 1 min，以 2.5 ℃/min 升温到 285 ℃保持 1 min，以 10 ℃/min 升温到 330 ℃并保持 9 min；
载气：	氦气，1.2 mL/min（恒流）；
进样口：	260 ℃；
进样方式：	不分流进样（不分流时间 1 min）
进样量：	2 μL
质谱条件	
电离方式：	电子轰击电离 (EI)，电子能量 45eV；
离子源温度：	300 ℃；
传输线温度：	280 ℃；
扫描模式：	采用 Acquisition-Timed SRM 方法扫描, SRM 离子对见表 1;

表 1. 目标化合物、提取内标、进样内标定量离子、辅助定性离子和碰撞能量

序号	化合物	定量离子对		定量离子对		碰撞能量
		母离子	子离子	母离子	子离子	
1	2,3,7,8-TCDD	321.89	258.93	319.89	256.93	20
2	2,3,7,8-TCDF	305.89	242.94	303.89	240.94	26
3	1,2,3,7,8-PCDD	357.85	294.89	355.85	292.89	25
4	1,2,3,7,8-PCDF	341.86	278.89	339.86	276.89	26
5	2,3,4,7,8-PCDF	341.86	278.89	339.86	276.89	26
6	1,2,3,4,7,8-HxCDD	389.82	326.85	387.82	324.85	20
7	1,2,3,6,7,8-HxCDD	389.82	326.85	387.82	324.85	20
8	1,2,3,7,8,9-HxCDD	387.82	324.85	389.82	326.85	20
9	1,2,3,4,7,8-HxCDF	373.82	310.86	371.82	308.86	28
10	1,2,3,6,7,8-HxCDF	373.82	310.86	371.82	308.86	28
11	1,2,3,7,8,9-HxCDF	373.82	310.86	371.82	308.86	28
12	2,3,4,6,7,8-HxCDF	373.82	310.86	371.82	308.86	28
13	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	425.78	362.81	423.78	360.81	20
14	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	409.78	346.82	407.78	344.82	26
15	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	409.78	346.82	407.78	344.82	26
16	OCDD	459.74	396.77	457.74	394.77	20
17	OCDF	443.76	380.79	441.76	378.79	26
18	¹³ C-2,3,7,8-TCDF	317.94	253.97	315.94	251.97	26

19	¹³ C-2,3,7,8-TCDD	333.93	269.97	331.94	267.97	20
20	¹³ C-1,2,3,7,8-PCDF	353.89	289.93	351.89	287.93	26
21	¹³ C-2,3,4,7,8-PCDF	353.89	289.93	351.89	287.93	26
22	¹³ C-1,2,3,7,8-PCDD	369.89	305.89	367.89	303.93	22
23	¹³ C-1,2,3,4,7,8-HxCDF	385.86	321.89	383.86	319.89	26
24	¹³ C-1,2,3,6,7,8-HxCDF	385.86	321.89	383.86	319.89	26
26	¹³ C-1,2,3,4,7,8-HxCDD	401.86	337.89	399.86	335.89	20
27	¹³ C-1,2,3,6,7,8-HxCDD	401.86	337.89	399.86	335.89	20
28	¹³ C-2,3,4,6,7,8-HxCDF	385.86	321.89	383.86	319.89	26
29	¹³ C-1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	437.82	373.85	435.82	371.85	20
30	¹³ C-1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	421.82	357.86	419.82	355.86	28
31	¹³ C-1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	421.82	357.86	419.82	355.86	28
32	¹³ C-OCDD	471.78	407.81	469.78	405.81	20
33	¹³ C-1,2,3,4-TCDD	333.93	269.97	331.94	267.97	20
34	¹³ C-1,2,3,7,8,9-HxCDD	401.86	337.89	399.86	335.89	20

2.4 样品制备：

取 10 g 样品参考 HJ/T 77.3-2008 《固体废物 二噁英类的测定 同位素稀释高分辨气相色谱 - 高分辨质谱法》进行试样的制备，索氏提取（16-24 h，虹吸次数 3-5 次/h）后采用一段式复合层析柱净化法对样品进行净化处理，复合柱由硅烷化玻璃棉、石英砂、弗罗里硅酸镁、碱性氧化铝、中性硅胶、碱性硅胶、酸性硅胶及无水硫酸钠构成。最终样品定容至 20 μL，然后进行 GC-MS/MS 分析。

2.5 数据处理方法：

数据处理采用 ThermoFisher Scientific™ TargetQuan 3.2 软件完成，该软件专为日常环境中持久性有机污染物（POPs）定量分析而设计，为高分辨磁式质谱仪（DFS）配套软件，可处理 MS、MS/MS 和 HRMS 数据。

3、结果与讨论

3.1 全新 AEI 高灵敏度离子源

一直以来，灵敏度是限制 GC-MS/MS 用于二噁英检测的一个重要因素。随着赛默飞全新 TSQ 9000 GC-MS/MS 的发布，AEI 高灵敏度离子源为痕量浓度水平的二噁英检测提供了新的可能性。传统用于 GC-MS 的 EI（电子电离）源，如 Thermo Scientific ExtractaBrite 源，其灯丝与离子束垂直，而 AEI 源的设计中，灯丝与离子束在同一直线上，加上使用磁场更强且与灯丝方向一致的回旋磁体（与灯丝方向一致），以提高离子化效率，实现超高的离子聚焦，并最终显著提高仪器检测灵敏度（图 1）。

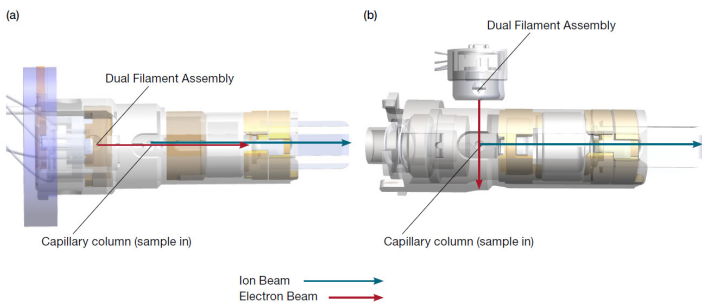


图 1. AEI 源（a）与常规 EI 源（ExtractaBrite 源）的比较（b）

为了验证配备 AEI 源的 TSQ 9000 GC-MS/MS 系统的灵敏度与低浓度水平下的稳定性，本实验选用 GC-HRMS（高分辨磁质谱，Thermo Fisher Scientific DFS）的验收标样——20 fg 2,3,7,8-TCDD，连续进样 8 针，进样量 1 μL，考察峰面积及离子比率重复性。如图 2 所示，即使在极低浓度下，2,3,7,8-TCDD 的峰型依然出色，峰面积 RSD% 为 3.42%，离子比率 RSD% 为 2.83%。GC-MS/MS 由于背景噪音非常小，仪器检出限（IDL）通常由一系列重复进样的数据通过统计学分析计算所得，公式如下： $IDL=t_{(n-1,0.99)} \times RSD\% \times \text{浓度}$ 。本实验通过八针重复进样 20 fg 2,3,7,8-TCDD 计算所得 IDL 为 2.05 fg。

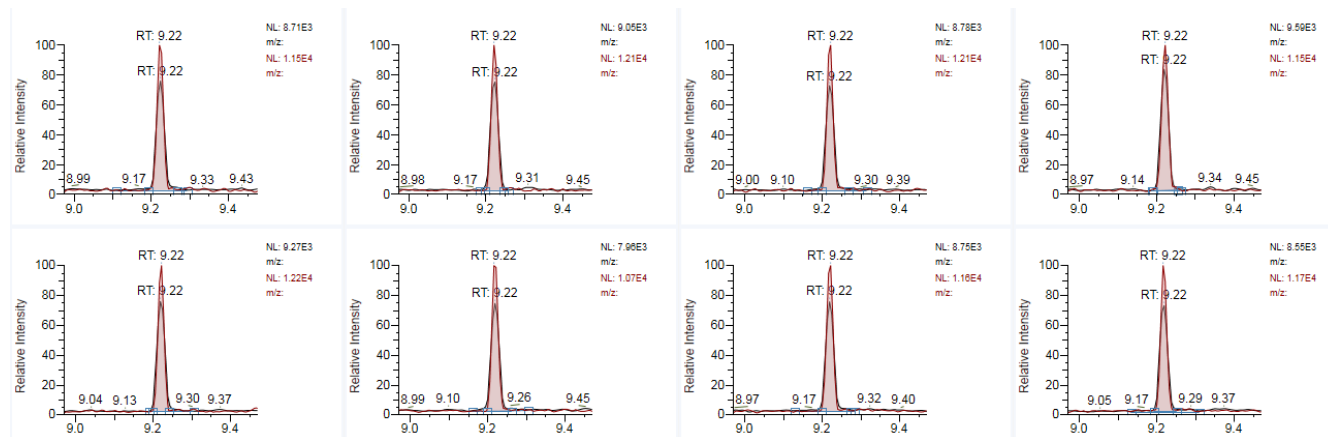


图 2-a. 连续 8 针 20 fg 2,3,7,8-TCDD 重复进样的色谱图

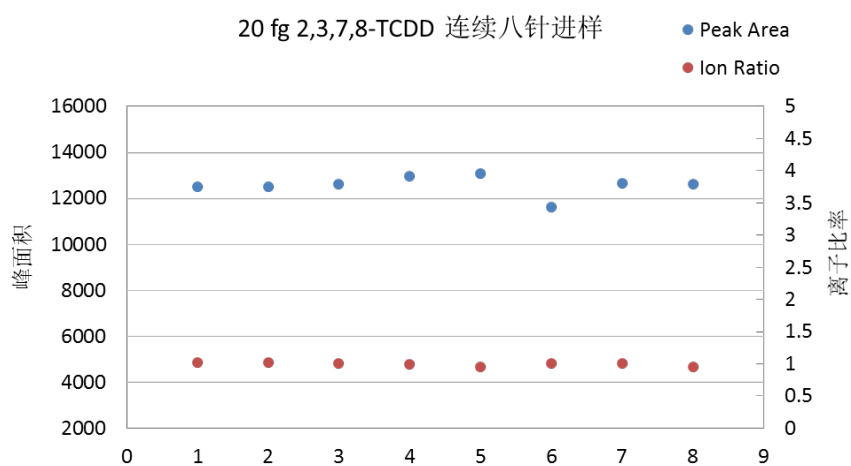


图 2-b . 连续 8 针 20 fg 2,3,7,8-TCDD 重复进样的定量峰面积 (321.89->258.93) 及离子比率

3.2 色谱分离

Thermo Scientific TG-Dioxin 色谱柱在上述色谱、质谱条件下，能有效分离二噁英类化合物，实验选用 EPA1613 的标准溶液进行，CS1 标准溶液的总离子流图如图 3-a 所示。

1,2,3,4,7,8-HxCDF 与 1,2,3,6,7,8-HxCDF 在 CS1 标准溶液

和沉积物实际样品中的分离效果如图 3-b 和图 3-c 所示。

1,2,3,4,7,8-HxCDF 和 1,2,3,6,7,8-HxCDF 的分离度均优于 75%，满足二噁英类化合物测定的分离度要求。

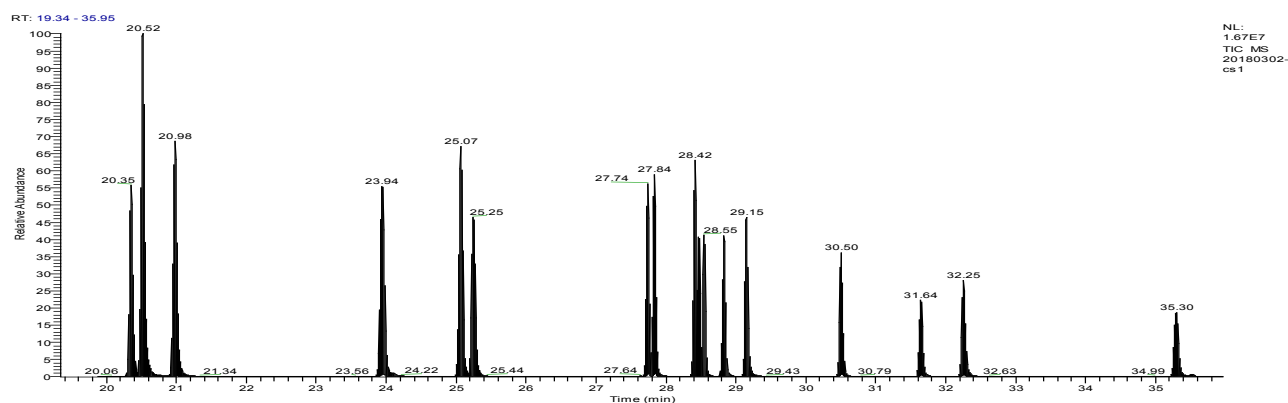


图 3-a. 标准溶液 (EPA1613 CS1) 中 17 种二噁英及其同位素的总离子流图 (TIC)

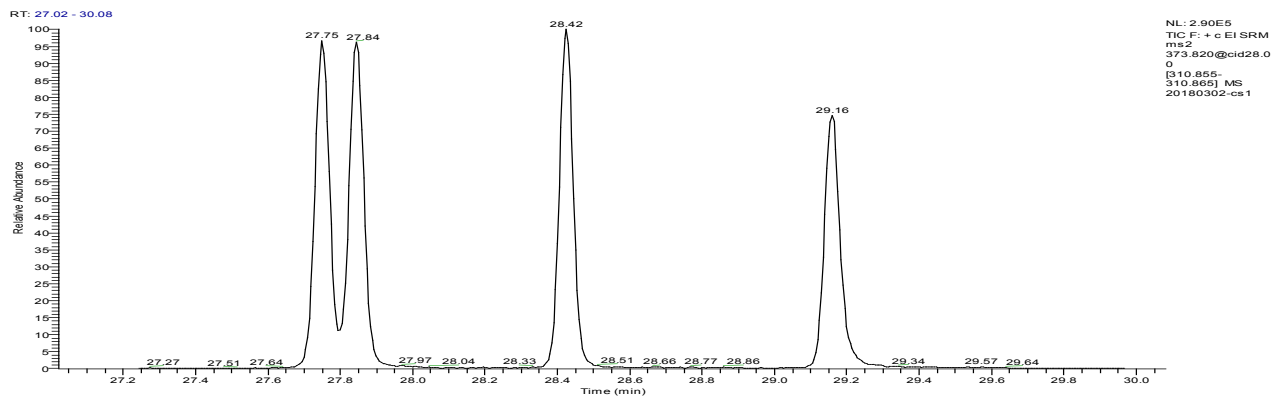


图 3-b. 标准溶液 (EPA1613 CS1) 中 4 种 1,2,3,4,7,8-HxCDF 与 1,2,3,6,7,8-HxCDF 的分离效果

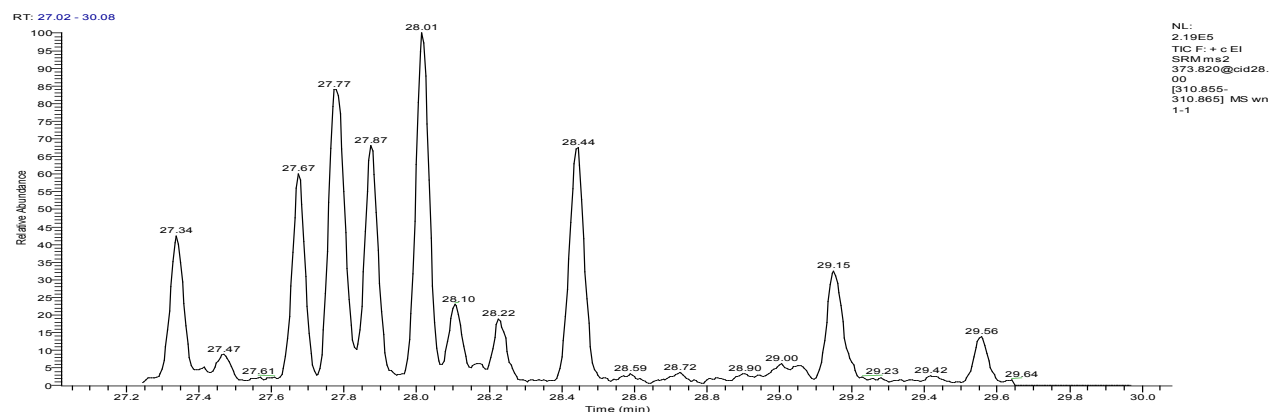


图 3-c. 沉积物实际样品中 4 种 1,2,3,4,7,8-HxCDF 与 1,2,3,6,7,8-HxCDF 的分离效果

3.3 标准曲线响应因子

二噁英类化合物的定量采用同位素稀释分析法二级内标法进行，通过 TargetQuan 3.2 软件进行数据处理。TargetQuan 3.2 软件是专门为 POPs 定量分析设计，适用于

处理 GC-HRMS (DFS) 和 GC-MS/MS 的数据。软件可以清晰地展示化合物之间的内标依赖关系，并可以轻松地进行参数编辑 (见图 4-a)。

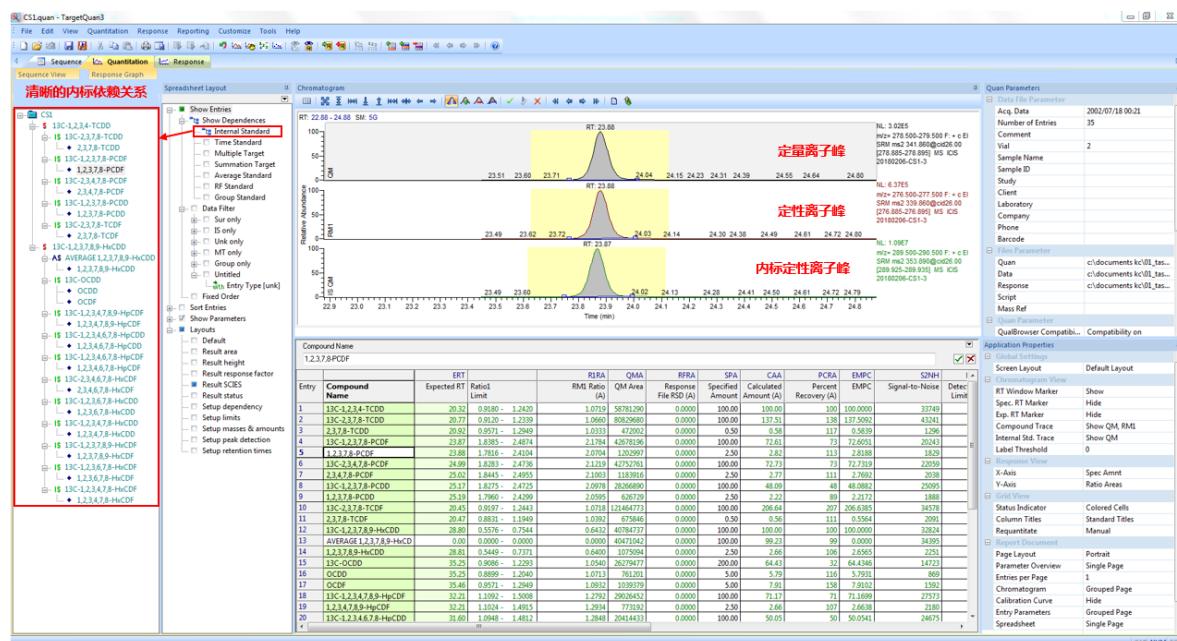


图 4-a. TargetQuan 软件截图 (二级内标法)

目标化合物的定量通过平均相对响应因子进行计算（图 4-b）。采用 EPA-1613 系列标准品（线性范围：四氯代二噁英 0.5-200 ng/mL；五氯、六氯和七氯代二噁英 2.5-1000 ng/mL；八氯代二噁英 5-2000 ng/mL）绘制的标准曲线计算所得的平均响应因子及相对标准偏差见表 2。17 种二噁英待测物的响应因子为 0.88-1.64，相对标准偏差为 0.59-3.26%；15 种同位素化合物的响应因子为 0.42-2.13，相对标准偏差为 0.72-9.58%，符合二噁英分析中标准曲线响应因子的标准偏差应小于 20% 的要求。

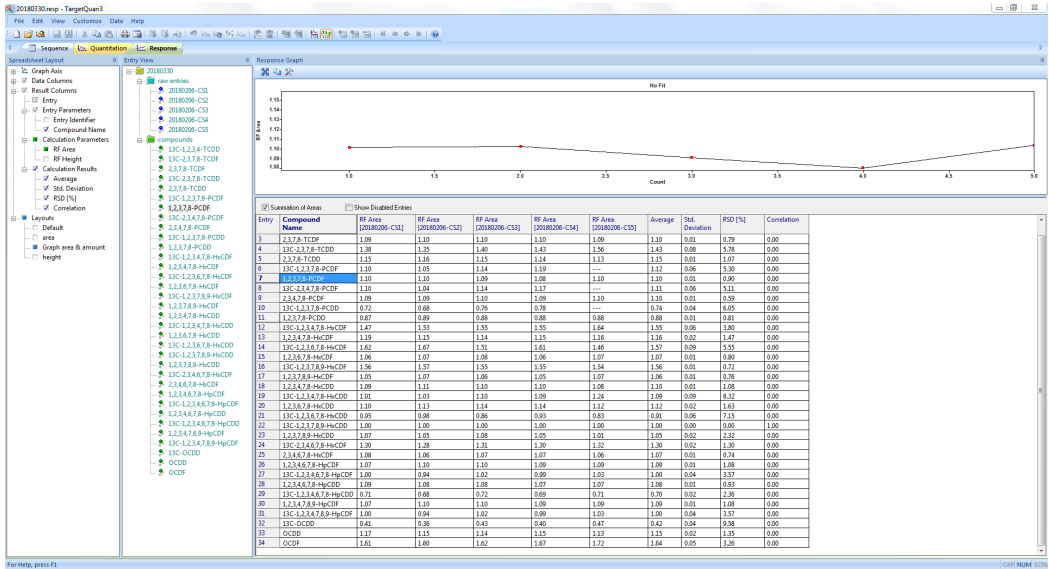


图 4-b . TargetQuan 软件截图（标准曲线响应因子）

序号	化合物	响应因子	响应因子相对标准偏差 (%)
1	2,3,7,8-TCDD	1.15	1.07
2	2,3,7,8-TCDF	1.10	0.79
3	1,2,3,7,8-PCDD	0.88	0.81
4	1,2,3,7,8-PCDF	1.10	0.90
5	2,3,4,7,8-PCDF	1.10	0.59
6	1,2,3,4,7,8-HxCDD	1.10	1.08
7	1,2,3,6,7,8-HxCDD	1.12	1.63
8	1,2,3,7,8,9-HxCDD	1.05	2.32
9	1,2,3,4,7,8-HxCDF	1.16	1.47
10	1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.07	0.80
11	1,2,3,7,8,9-HxCDF	1.06	0.76
12	2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.07	0.74
13	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1.08	0.93
14	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.09	1.08
15	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1.09	1.08
16	OCDD	1.15	1.35
17	OCDF	1.64	3.26
18	¹³ C-2,3,7,8-TCDF	2.13	4.06
19	¹³ C-2,3,7,8-TCDD	1.43	5.78
20	¹³ C-1,2,3,7,8-PCDF	1.12	5.30
21	¹³ C-2,3,4,7,8-PCDF	1.11	5.11
22	¹³ C-1,2,3,7,8-PCDD	0.74	6.05
23	¹³ C-1,2,3,4,7,8-HxCDF	1.55	3.80
24	¹³ C-1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.57	5.55
25	¹³ C-1,2,3,7,8,9-HxCDF	1.56	0.72
26	¹³ C-1,2,3,4,7,8-HxCDD	1.09	8.32
27	¹³ C-1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.91	7.15
28	¹³ C-2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.30	1.30
29	¹³ C-1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.70	2.36
30	¹³ C-1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.00	3.57
31	¹³ C-1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1.00	3.57
32	¹³ C-OCDD	0.42	9.58

3.4 实际样品中的二噁英

称取 18 份 10 g 的污泥样品，其中 12 份分别加入不同浓度的标准品，然后按照样品测定流程进行分析，污泥样品和两个浓度梯度的加标回收率及精密度测定结果如表 3 所示。污泥样品中实测二噁英含量在 1.12 pg-13915 pg 之间，六次实验的相对标准偏差为 1.29-11.1%。除 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD 和 OCDD 外，低浓度加标回收率为

92.3%-115%，相对标准偏差 1.06%-16%；高浓度加标回收率为 89.4%-113%，相对标准偏差为 0.69%-2.91%，1,2,3,4,6,7,8-HpCDD 和 OCDD 的 RSD% 和回收率略高与其他化合物，可能是由于实际样品中这两个化合物的含量较高所导致，其中一个污泥样品的 17 种二噁英待测物色谱图如图 5 所示。

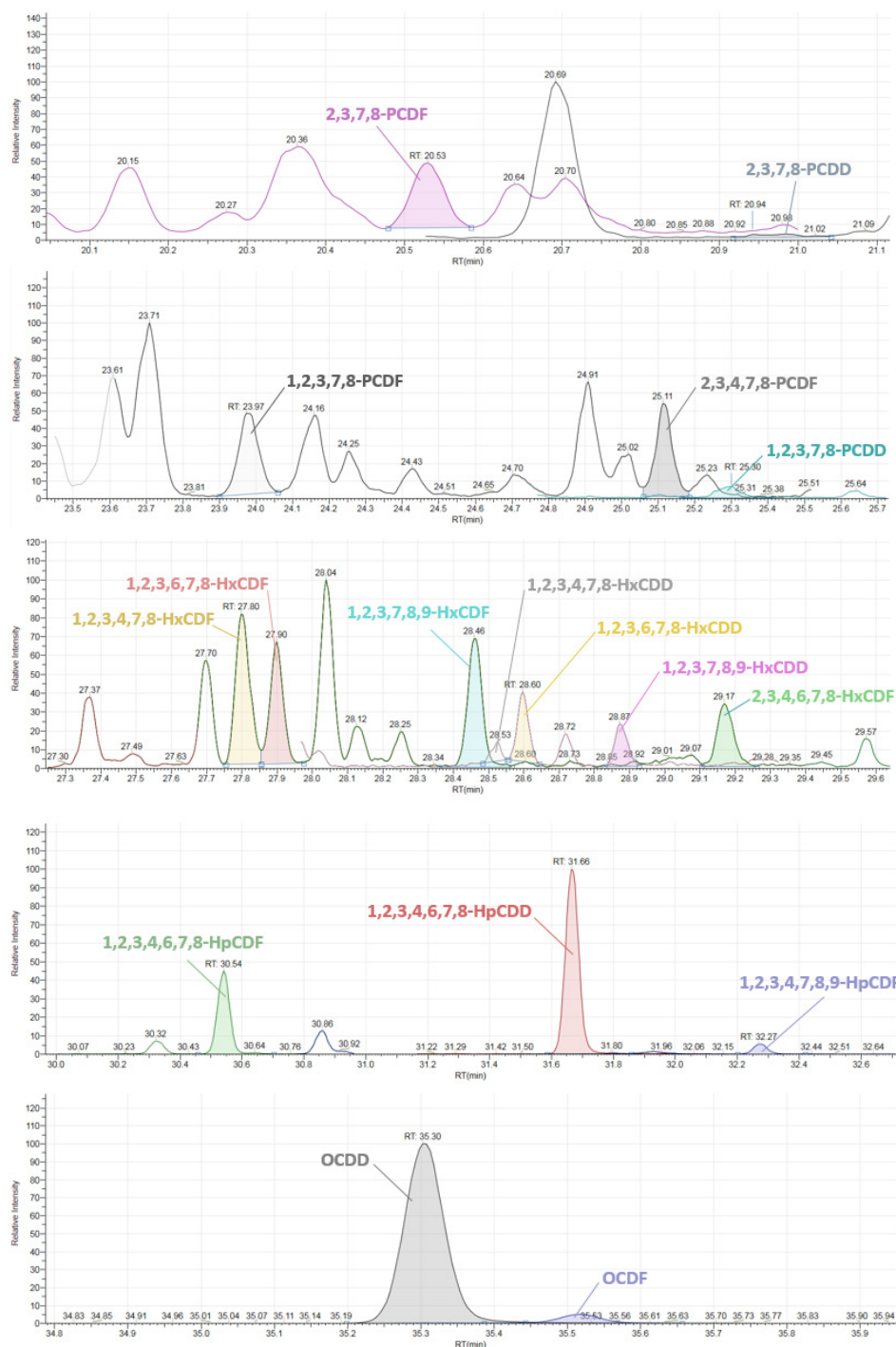


图 5. 某污泥样品中 17 种二噁英待测物的色谱图

表 3. 污泥实际样品及不同浓度水平加标回收率测试

化合物名称	实际样品 (pg)						平均值 (pg)	RSD%	低浓度加标			高浓度加标		
	1	2	3	4	5	6			加标量 (pg)	RSD%	回收率 %	加标量 (pg)	RSD%	回收率 %
2,3,7,8-TODF	28.60	26.10	31.20	30.50	31.60	31.50	29.90	7.28	20	3.23	97.6	100	1.2	97.6
2,3,7,8-TODD	1.27	1.25	1.14	1.06	0.97	1.05	1.12	10.6	20	6.25	111	100	2.02	113
1,2,3,7,8-PCDF	33.40	32.70	34.20	33.30	34.20	33.90	33.60	1.78	100	2.98	106	500	2.64	103
2,3,4,7,8-PCDF	30.20	26.60	32.60	30.70	34.50	25.80	30.10	11.1	100	3.93	98.7	500	2.28	94.5
1,2,3,7,8-PCDD	14.70	14.90	16.60	15.20	15.90	15.10	15.40	4.72	100	2.77	108	500	1.67	108
1,2,3,4,7,8-HxCDF	79.50	68.00	77.10	76.80	77.40	78.20	76.20	5.43	100	2.61	96.2	500	1.82	95.6
1,2,3,6,7,8-HxCDF	47.30	38.90	46.10	46.60	45.70	45.10	44.90	6.84	100	3.71	104	500	2.54	101
1,2,3,7,8,9-HxCDF	56.30	57.40	55.90	55.60	58.60	56.50	56.70	1.94	100	3.5	108	500	2.38	107
1,2,3,4,7,8-HxCDD	11.20	11.30	11.10	10.80	11.50	11.70	11.30	2.63	100	1.06	104	500	1.75	99.7
1,2,3,6,7,8-HxCDD	35.50	38.20	35.60	34.50	37.00	36.50	36.20	3.6	100	2.49	98.9	500	1.31	97
1,2,3,7,8,9-HxCDD	24.20	24.10	23.90	24.80	24.90	24.10	24.30	1.76	100	2.95	115	500	0.69	112
2,3,4,6,7,8-HxCDF	30.20	29.70	29.80	31.10	30.00	29.70	30.10	1.8	100	2.03	103	500	1.99	101
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	58.80	56.20	57.00	54.90	55.10	55.70	56.30	2.62	100	3.67	108	500	1.68	106
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1234.00	1215.00	1249.00	1255.00	1255.00	1254.00	1244.00	1.29	100	18.2	102	500	3.74	106
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	58.80	56.20	57.00	54.90	55.10	55.70	56.30	2.62	100	3.67	108	500	1.68	106
OCDD	14378.00	14204.00	13592.00	13532.00	13893.00	13891.00	13915.00	2.38	200	27.5	88.4	1000	36.5	73
OCDF	530.00	521.00	499.00	495.00	506.00	515.00	511.00	2.63	200	16	92.3	1000	2.91	89.4

注：每个加标浓度重复实验 6 次，计算 RSD%。

3.5 土壤样品中的二噁英定量结果

部分土壤样品的测试分别在配备 AEI 源的 TSQ 9000 GC-MS/MS 和 GC-HRMS (Thermo Fisher Scientific DFS) 上进行, 计算出各样品中二噁英的含量 (单位 WHO-TEQ pg/g)。如图 6-a 和图 6-b 所示, GC-MS/MS 和 GC-HRMS 的检测结果匹配程度较好, 两者实测总 TEQ 值偏差 < 5%。

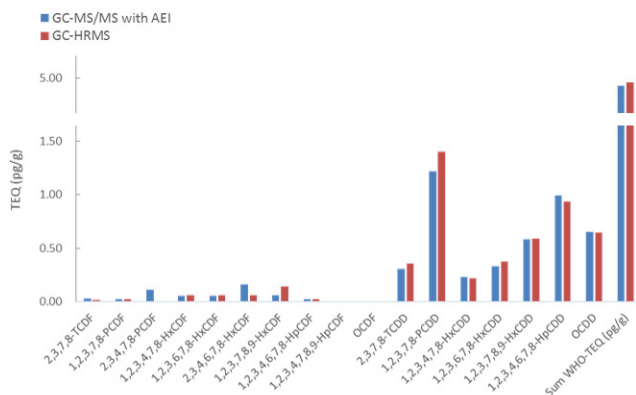


图 6-a. 土壤样品 a 的定量结果 (GC-MS/MS with AEI 与 GC-HRMS 对比)

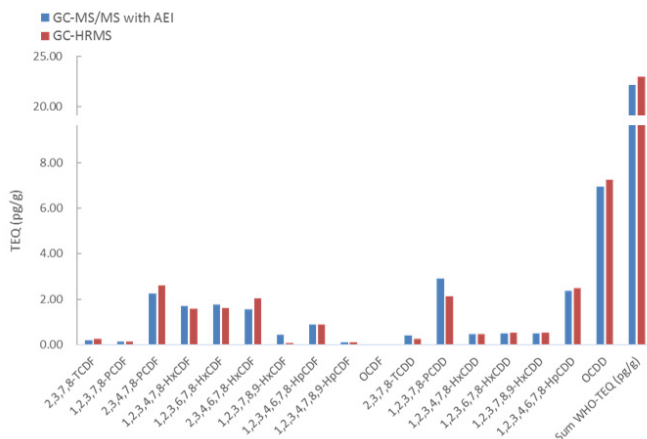


图 6-b. 土壤样品 b 的定量结果 (GC-MS/MS with AEI 与 GC-HRMS 对比)

4、结论

- (1) 配备 AEI 源的 TSQ 9000 GC-MS/MS 在实验中展现出极高的灵敏度和稳定性, 重复进样 8 针 20 fg 的 2,3,7,8-TCDD, 峰面积 RSD% 为 3.42%, 离子比率 RSD% 为 2.83%, 灵敏度和稳定性完全可以胜任环境中二噁英的检测和确证工作。
- (2) 使用 TargetQuan 3.2 软件, 可以轻松实现同位素稀释分析法 (二级内标法) 分析二噁英。TSQ 9000 分析 EPA 1613 系列标准品, 二噁英待测物及其同位素化合物的响应因子为 0.88-2.13, 相对标准偏差小于 10%, 符合二噁英分析要求。
- (3) 实际样品测试中, 方法显示出良好的重现性和回收率。二噁英定量结果 (TEQ 值) 与 GC-HRMS (磁质谱) 的定量结果有较高的一致性, 充分证明配备 AEI 源的 TSQ 9000 GC-MS/MS 系统在二噁英分析中的可靠性。



赛默飞
官方微信



赛默飞色谱
和质谱中国

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC