

同位素稀释高分辨气相色谱-高分辨磁质谱法测定 大闸蟹中二噁英及其类似物

王红¹, 沈伟健^{1*}, 陈国强², 余可垚¹, 胡国绅¹, 张幸³, 丁涛¹, 陆慧媛¹

(1. 南京海关动植物与食品检测中心, 南京 210019; 2. 苏州海关虎丘办事处, 苏州 215021;
3. 南京师范大学食品与制药工程学院, 南京 210019)

摘要: **目的** 建立同位素稀释高分辨气相色谱-高分辨磁质谱法测定大闸蟹中二噁英类化合物及二噁英类多氯联苯(dioxin-like polychlorinated biphenyls, DL-PCBs)的分析方法。**方法** 样品经加速溶剂萃取(丙酮:正己烷:二氯甲烷=20:40:40, V:V:V)、酸化硅胶初步净化、全自动二噁英净化系统净化后, 分别收集多氯代二苯并二噁英类/多氯代二苯并呋喃(polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, PCDD/Fs)、二噁英类多氯联苯的净化液, 浓缩后上机分析。采用同位素稀释内标法定量。**结果** 白肉 PCDD/Fs 的检出限为 0.016~0.106 ng/kg, DL-PCBs 的检出限为 0.036~0.252 ng/kg; 棕肉 PCDD/Fs 的检出限为 0.052~0.158 ng/kg, DL-PCBs 的检出限为 0.138~0.596 ng/kg。大闸蟹白肉 PCDD/Fs、DL-PCBs 的平均回收率分别为 62.0%~103.8%、76.7%~93.5%; 相对标准偏差分别为 6.7%~25.7%、9.8%~22.6%; 大闸蟹棕肉 PCDD/Fs、DL-PCBs 的平均回收率分别为 56.8%~84.8%、60.9%~90.9%; 相对标准偏差分别为 8.4%~25.8%、12.6%~24.1%。**结论** 本研究建立的方法灵敏度高、干扰小, 能满足国内外的检测需要。

关键词: 同位素稀释; 高分辨气相色谱法; 高分辨磁质谱法; 大闸蟹; 二噁英

Determination of dioxins and their analogues in hairy crabs by isotope dilution high resolution gas chromatography and high resolution mass spectrometry

WANG Hong¹, SHEN Wei-Jian^{1*}, CHEN Guo-Qiang², YU Ke-Yao¹, HU Guo-Shen¹, ZHANG Xing³,
DING Tao¹, LU Hui-Yuan¹

(1. Animal, Plant and Food Inspection Center, Nanjing 210019, China; 2. Huqiu Office of Suzhou Customs House of People, Suzhou 215021, China; 3. School of Food Science and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of dioxins and dioxin-like polychlorinated biphenyls (DL-PCBs) in hairy crabs by isotope dilution high resolution gas chromatography-high resolution magnetic mass spectrometry. **Methods** Samples were extracted with accelerated solvent (acetone:hexane:dichlo

基金项目: 海关总署科研项目(2020HK205, 2019HK118)、江苏省现代农业重点研发计划(BE2019393-3)、南京海关科研项目(2020KJ16)

Fund: Supported by Scientific Research Project of General Administration of Customs (2020HK205, 2019HK118), Jiangsu Province Modern Agriculture Key Research and Development Program (BE2019393-3), and Scientific Research Project of Nanjing General Administration of Customs (2020KJ16)

*通信作者: 沈伟健, 高级工程师, 主要研究方向为食品真伪鉴别、功能成分检测、食品中有毒有害物质检测。E-mail: 45467447@qq.com

*Corresponding author: SHEN Wei-Jian, Senior Engineer, Animal Plant and Food Inspection Center, Nanjing Customs, No.39, Chuangzhi Road, Jianye District, Nanjing 210019, China. E-mail: 45467447@qq.com

romethane=20:40:40, V:V:V), initially purified by acidified silica gel, and purified by automatic dioxin purification system. The purification of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans (PCDD/FS) and purification liquid of dioxin polychlorinated biphenyls were collected. After concentration, the purged liquor was analyzed on the machine. Isotope dilution internal standard method was used for quantification. **Results** The limits of detection of PCDD/FS in white meat were 0.016–0.106 ng/kg, and the limits of detection of DL-PCBs were 0.036–0.252 ng/kg. The limits of detection of PCDD/FS in brown meat were 0.052–0.158 ng/kg, and the limits of detection of DL-PCBs were 0.138–0.596ng/kg. The average recoveries of PCDD/FS and DL-PCBs in white meat of hairy crab were 62.0%–103.8% and 76.7%–93.5%, respectively. The relative standard deviations were 7.0%–25.7% and 9.8%–22.6%, respectively. The average recoveries of PCDD/FS and DL-PCBs in brown meat of hairy crab were 56.8%–84.8% and 60.9%–90.9%, respectively. The relative standard deviations were 8.4%–23.7% and 12.6%–24.1%, respectively. **Conclusion** The method established in this study has high sensitivity and low interference, and can meet the needs of detection at home and abroad.

KEY WORDS: isotope dilution; high resolution gas chromatography; high resolution mass spectrometry; hairy crabs; dioxins

0 引言

二噁英类化合物是多氯代二苯并二噁英类/多氯代二苯并呋喃类化合物的总称 (polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, PCDD/Fs)。该类化合物是一类非常稳定的亲脂性化合物, 具有高度持久性, 能严重威胁人类健康和生态环境安全^[1-2]。二噁英类化合物根据氯原子的取代数目和取代位置不同, 毒性也不相同, 其中 2,3,7,8 位同时被氯原子取代的同类物具有较高毒性, 共有 17 种^[3]。多氯联苯 (polychlorinated biphenyls, PCBs) 是一类以联苯为原料在金属催化剂作用下高温氯化生成的氯代芳烃, 共有 209 种同类物和异构体, 其中 12 种共平面分子结构的 PCBs 的毒性与 PCDD/Fs 相似, 因此也称这类 PCBs 为二噁英类多氯联苯 (dioxin-like polychlorinated biphenyls, DL-PCBs), 通常可与 PCDD/Fs 进行同时测定^[4]。

大闸蟹是我国常见的水产养殖产品, 其营养价值高、味道鲜美, 深受广大人民群众喜爱。但由于环境污染及二噁英类化合物的生物富集作用^[5-6], 近几年来频繁出现大闸蟹中检出二噁英的事件^[7-9]。2016 年 11 月, 香港食物环境卫生署食品安全中心检验出来自江苏太湖的大闸蟹样本二噁英及二噁英类多氯联苯超过欧盟标准。2018 年 11 月, 台湾“食药署”公布, 经当局检验的 42 批大陆的大闸蟹中, 8 批共计 40 t 的大闸蟹二噁英含量超标。这些事件一方面造成了严重的经济损失, 影响了大闸蟹行业的发展, 另一方面也损害了消费者的身体健康。

目前同位素稀释高分辨气相色谱-高分辨磁质谱是国际上通用的测定食品^[10-11]、饲料^[12]及环境样品^[13-14]中二噁英质量浓度的方法。虽然也有相关文献报道采用气相色谱三重四极杆质谱法测定二噁英类化合物^[15-17], 以及采用飞

行时间质谱进行非靶标筛查^[18], 但该方法仍有一定的局限性, 比较适合用于含高浓度样品的测定, 对于复杂的食品基质并不适用。因此本研究针对大闸蟹这类复杂的食品基质, 建立同位素稀释高分辨气相色谱-高分辨磁质谱法测定 29 种二噁英类化合物及二噁英类多氯联苯, 以期能满足国内外的检测要求。

1 材料与方法

1.1 试剂与标准品

Trace1310-DFS 气相色谱-高分辨磁质谱联用仪 (美国 Thermo Fisher 公司); ASE350 快速溶剂萃取仪 (美国 Dionex 公司); R-3 型旋转蒸发器 (瑞士 Buchi 公司); SACS-1 全自动二噁英净化系统 (北京普利泰科仪器有限公司); 74200-70 冷冻干燥系统 (美国 Labconco 公司); HSC-B 手动氮吹仪 (恒奥科技有限公司)。

甲醇、甲苯、丙酮、二氯甲烷、正己烷、壬烷 (农残级, 美国 J. T. Baker 公司); 硫酸、无水硫酸钠 (优级纯, 国药集团化学试剂有限公司); 中性硅胶 (德国默克公司, 使用前用正己烷:二氯甲烷=1:1(V:V)清洗 2 次, 并在 180°C 下至少烘烤 1 h); 酸性硅胶 (按硫酸:硅胶质量比为 1:2 配制); 全自动二噁英净化柱 (美国 FMS 公司)。

PCDD/Fs 标准溶液 1613CVS(0.1~2000 ng/mL)、PCDD/Fs 同位素提取内标 1613LCS(100 ng/mL)、PCDD/Fs 同位素进样内标 1613ISS(200 ng/mL)、PCDD/Fs 回收率检查标准溶液 (40~400 ng/mL)、DL-PCBs 标准溶液 WPCVS(0.1~800 ng/mL)、DL-PCBs 同位素提取内标 (100 ng/mL)、DL-PCBs 同位素进样内标 (100 ng/mL)、DL-PCBs 回收率检查标准溶液 (2000 ng/mL) (美国 Wellington 公司)。

中华绒螯蟹样品来源于宜兴、宿迁、苏州、常州、泰

州、常熟、淮安、南京等地区。样品分别制备成棕肉样品(螃蟹肌肉、蟹黄和蟹膏)与白肉样品(螃蟹肌肉),均在实验前密封避光, -20 °C 冷冻储存,防止其变质腐坏。

1.2 样品前处理

1.2.1 提取

称取 10.00 g(精确至 0.01 g)大闸蟹样品于研钵中,加入适量硅藻土,研磨充分后装入 66 mL 萃取池中,加入 PCDD/Fs 同位素提取内标(100 ng/mL)、DL-PCBs 同位素提取内标(100 ng/mL)各 5 μ L,用加速溶剂萃取仪进行萃取,收集萃取液。

1.2.2 净化

萃取液经旋转蒸发器浓缩至近干,正己烷复溶,向其中少量多次加入酸化硅胶,并不断振摇,直至上层有机相澄清。将全部试剂过无水硫酸钠,用鸡心瓶收集净化液进行下步净化。

鸡心瓶中净化液使用旋转蒸发器浓缩至近干,加入 10 mL 正己烷复溶。全部转移至全自动二噁英净化系统进行下一步净化。分别收集 PCDD/Fs、DL-PCBs 的净化液。使用旋转蒸发器浓缩至近干,待转移。

1.2.3 浓缩及进样

鸡心瓶中净化液使用手动氮吹仪转移至配有内插管的进样小瓶中,并吹干,使用 30 μ L 正己烷复溶,加入 PCDD/Fs 同位素进样内标(100 ng/mL) 5 μ L,待上机。PCDD/Fs 分析完后将 PCBs 的净化液吹至 PCDD/Fs 进样小

瓶中,加入 DL-PCBs 同位素进样内标(100 ng/mL),后分析 DL-PCBs。

1.3 仪器条件

1.3.1 色谱条件

PCDD/Fs: 色谱柱, DB-5MS UI(60 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m); 程序升温,初始温度为 140 °C,保持 1min,以 20 °C/min 的速率升温至 200 °C,保持 1 min,以 5 °C/min 的速率升温至 220 °C,保持 16 min,以 5 °C/min 的速率升温至 235 °C,保持 7 min,以 5 °C/min 的速率升温至 310 °C,保持 10 min; 载气:高纯 He(纯度 \geq 99.999%); 流速: 1 mL/min; 进样口温度: 250 °C; 进样量: 1 μ L; 进样方式: 不分流进样。

DL-PCBs: 色谱柱, DB-5MS UI (60 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m); 程序升温,初始温度为 120 °C,保持 2min,以 30 °C/min 的速率升温至 200 °C,以 2 °C/min 的速率升温至 270 °C,保持 3 min,以 30 °C/min 的速率升温至 330 °C,保持 1 min; 载气:高纯 He(纯度 \geq 99.999%); 流速: 1 mL/min; 进样口温度: 290 °C; 进样量: 1 μ L; 进样方式: 不分流进样。

1.3.2 质谱条件

电子轰击电离源; 传输线温度: 280 °C; 扫描方式: 选择离子监测。在确定的仪器条件下 17 种 PCDD/Fs、DL-PCBs 的保留时间、定量离子、定性离子等见表 1。PCDD/Fs、DL-PCBs 的总离子流图见图 1。

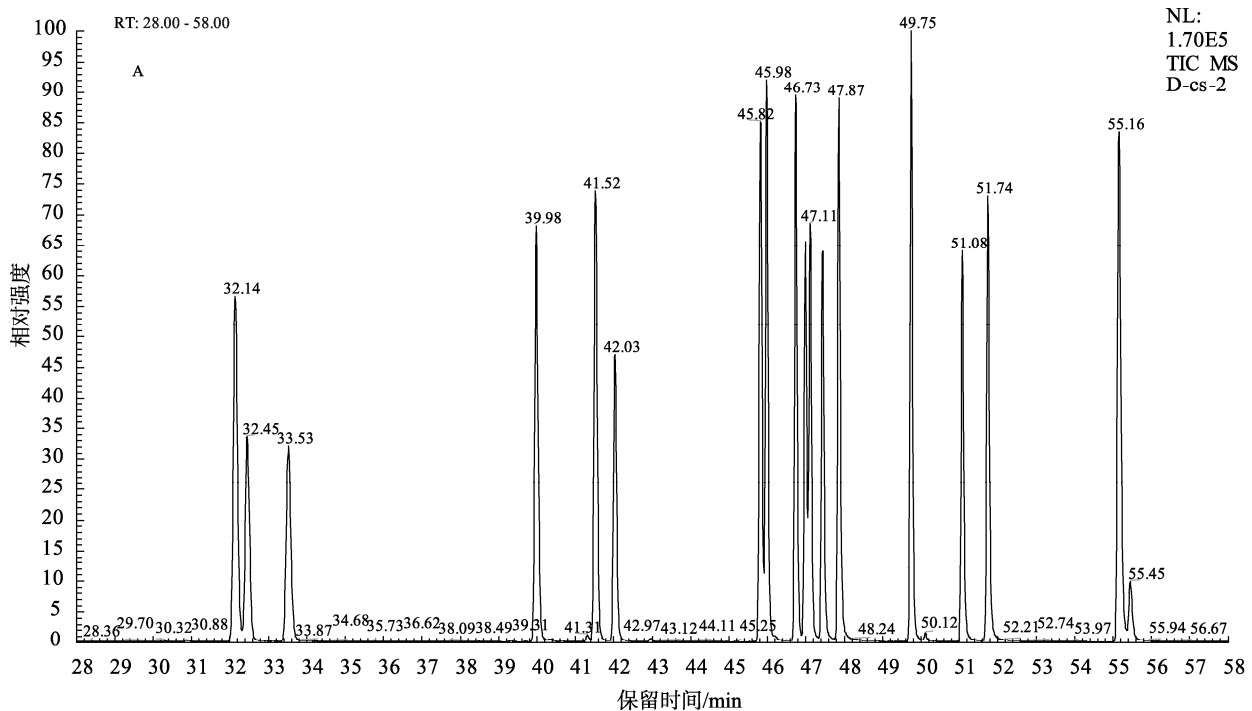
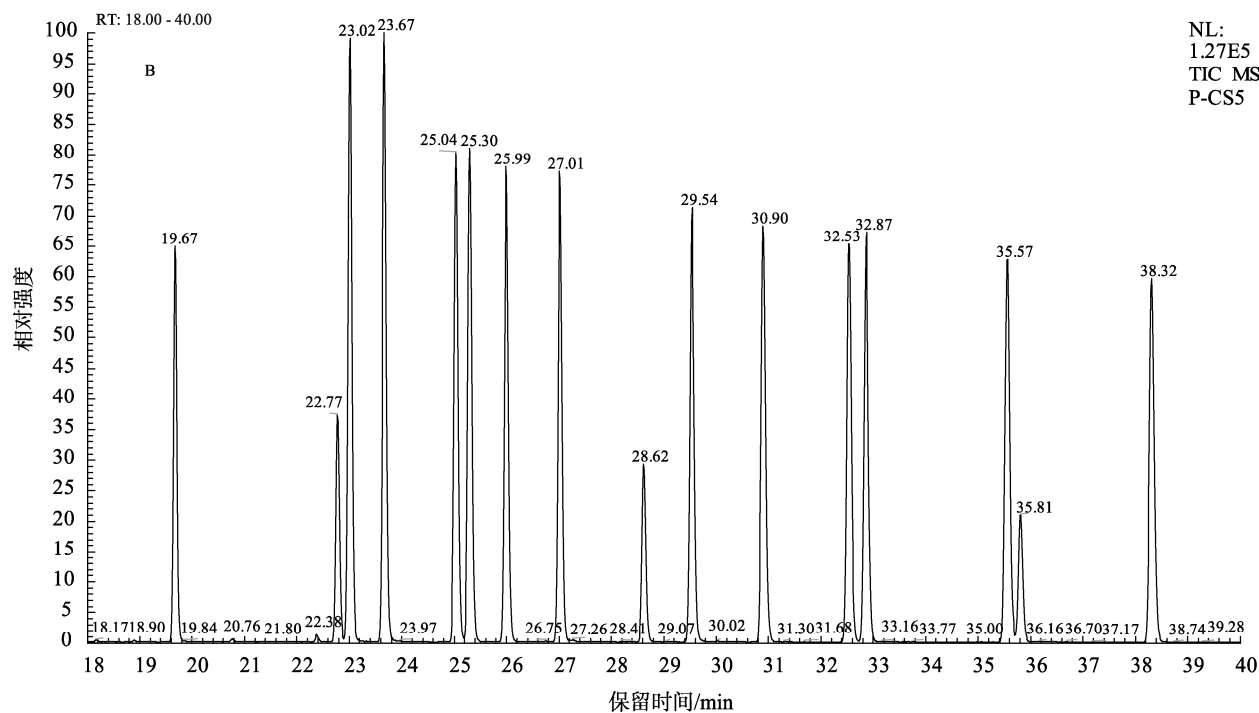


图1 PCDD/Fs、DL-PCBs 总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of PCDD/Fs and DL-PCBs



注: B: DL-PCBs。

图 1(续) PCDD/Fs、DL-PCBs 总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of PCDD/Fs and DL-PCBs

表 1 PCDD/Fs、DL-PCBs 的保留时间、定量离子、定性离子

Table 1 Retention time, quantitative ion, qualitative ion of PCDD/Fs and DL-PCBs

化合物	保留时间/min	定量离子(m/z)	定性离子(m/z)	毒性当量因子
2,3,7,8-TCDF	32.46	305.89813	303.90108	0.1
1,2,3,7,8-PeCDF	40.25	339.85925	341.85620	0.03
2,3,4,7,8-PeCDF	41.76	339.85925	341.85620	0.3
1,2,3,4,7,8-HxCDF	46.02	373.82018	375.81723	0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	46.16	373.82018	375.81723	0.1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	46.92	373.82018	375.81723	0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	48.07	373.82018	375.81723	0.01
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	49.91	407.78121	409.77826	0.01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	51.93	407.78121	409.77826	0.01
OCDF	55.68	443.73929	441.74224	0.0003
2,3,7,8-TCDD	34.01	321.89304	319.89559	1.0
1,2,3,7,8-PeCDD	42.22	355.86407	357.85112	1.0
1,2,3,4,7,8-HxCDD	47.19	389.81510	391.81215	0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	47.28	389.81510	391.81215	0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	47.63	389.81510	391.81215	0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	51.25	423.77612	425.77317	0.01
OCDD	55.40	459.73420	457.73715	0.0003
PCB-77	23.67	291.91947	289.92236	0.0001
PCB-81	22.98	291.91947	289.92236	0.0003
PCB-105	27.01	327.87759	325.88049	0.00003
PCB-114	25.99	327.87759	325.88049	0.00003

表 1(续)

化合物	保留时间/min	定量离子(m/z)	定性离子(m/z)	毒性当量因子
PCB-118	25.32	327.87759	325.88049	0.00003
PCB-123	25.03	327.87759	325.88049	0.00003
PCB-126	29.55	327.87759	325.88049	0.1
PCB-156	32.54	361.83861	359.84152	0.00003
PCB-157	32.89	361.83861	359.84152	0.00003
PCB-167	30.91	361.83861	359.84152	0.00003
PCB-169	35.55	361.83861	359.84152	0.03
PCB-189	38.33	395.79958	393.80250	0.00003

2 结果与分析

2.1 前处理方法优化

2.1.1 提取方法优化

GB 5009.205—2013《食品安全国家标准食品中二噁英及其类似物毒性当量的测定》中推荐的提取方法有索氏提取法、液液萃取法及加速溶剂萃取(accelerate solvent extraction, ASE)。索氏提取法是从一种固体样品中提取脂肪的方法,其利用溶剂回流和虹吸原理,使固体物质每一次都能为纯的溶剂所萃取,所以萃取效率较高,可用于二噁英提取方法^[19-20]。但由于二噁英类化合物属于超痕量分析,采用索氏提取法需多次提取,耗费时间较长。而液液萃取法通常适用于液体样品提取,若用于提取大闸蟹则会造成提取不充分,从而导致回收率偏低。ASE是利用高温、高压的作用将目标物从样品基质中提取出来,与索氏提取、液液萃取相比,具有有机溶剂用量少、基质影响小、回收率高和重现性好的优点,可用于大批量二噁英样品的分析。综合加速溶剂萃取的各项优点,本研究采用 ASE 作为提取方法。另外有研究报道对于含水量较高的样品通常在提取前需用冷冻干燥仪进行干燥,再使用正己烷和二氯甲烷进行提取。考虑到冷冻干燥的时间较长,本研究直接称取样品于研钵中,加入硅藻土研磨充分后,采用丙酮-正己烷-二氯甲烷(20:40:40, V:V:V)作为萃取溶剂进行萃取。

本研究根据文献报道将大闸蟹样品进行冷冻干燥后,采用正己烷-二氯甲烷(50:50, V:V)提取,与不采用冷冻干燥,直接采用丙酮-正己烷-二氯甲烷(20:40:40, V:V:V)作为萃取溶剂与 ASE 进行对比,实验结果表明,PCDD/Fs 与 DL-PCBs 的同位素提取内标的回收率区别不大,见表 2。而采用本文的提取方法不需对样品进行冷冻干燥,大大减少了样品处理的时间。因此最终 ASE 提取条件为:提取试剂为丙酮-正己烷-二氯甲烷(20:40:40, V:V:V),提取液体积为萃取池体积的 60%,系统压力 1500psi,提取温度 150 °C,加热 7min,静态提取 8min,循环 3 次。

表 2 2 种 ASE 提取方法下 PCDD/Fs 与 DL-PCBs 的同位素提取内标的回收率

Table 2 Recoveries of internal standard of PCDD/FS and DL-PCBs under 2 ASE extraction methods

化合物	正己烷-二氯甲烷		丙酮-正己烷-二氯甲烷	
	白肉	棕肉	白肉	棕肉
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDF	94.1	93.5	93.4	95.4
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDF	104.6	108.9	110.6	106.8
¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PeCDF	100.3	102.8	104.5	102.6
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDF	91.3	87.2	92.2	91.4
¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDF	99.1	103.1	99.6	102
¹³ C ₁₂ -2,3,4,6,7,8-HxCDF	93.7	93.3	92	93.6
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDF	87.8	91.8	92.9	90
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	87.9	86.1	89.3	86.5
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	83.4	77.2	82.6	78.4
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDD	90.8	91.3	98.8	94.2
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDD	96.1	98.3	104	98.6
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDD	86.3	82.1	88.7	83.4
¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDD	94.2	100.3	99.7	99.3
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	84.8	78.1	85.8	78.1
¹³ C ₁₂ -OCDD	69.6	62.3	76.1	64.1
¹³ C ₁₂ -PCB-77	77.9	66.6	69.8	61.1
¹³ C ₁₂ -PCB-81	77.4	76.7	81.0	74.2
¹³ C ₁₂ -PCB-105	112.7	102	111.7	117.1
¹³ C ₁₂ -PCB-114	108.7	93.2	108.8	98.9
¹³ C ₁₂ -PCB-118	116.1	103.4	104.1	104.3
¹³ C ₁₂ -PCB-123	115.9	116.3	111.7	101.8
¹³ C ₁₂ -PCB-126	107.4	67.3	100.2	73.3
¹³ C ₁₂ -PCB-156	112.8	104.8	114.2	116.7
¹³ C ₁₂ -PCB-157	96.9	100.4	118.8	118.2
¹³ C ₁₂ -PCB-167	108.7	110.5	106.8	116.8
¹³ C ₁₂ -PCB-169	82.7	86.8	73.4	84.8
¹³ C ₁₂ -PCB-189	107.7	93.3	109.6	101.2

2.1.2 净化方法优化

根据需求不同, 通常可分别对大闸蟹的白肉及棕肉进行 PCDD/Fs、DL-PCBs 含量的测定。白肉为大闸蟹的肌肉组织, 棕肉为大闸蟹的肌肉组织和蟹黄蟹膏。秋冬季节成熟的大闸蟹蟹黄蟹膏较饱满, 因此脂肪含量较高, 同时还含量大量的色素, 若净化不充分会给后续的分析带来一定的压力, 同时还会污染仪器。因此本研究采用 33% 的酸化硅胶进行初步净化, 再采用全自动二噁英净化系统进行二次净化。采用 33% 的酸化硅胶的目的是去除掉大闸蟹样品中大部分的油脂, 减轻全自动二噁英净化系统的净化压力。全自动二噁英净化系统采用商品化硅胶柱、氧化铝柱、活性炭柱进行串联, 可达到 PCDD/Fs 与 DL-PCBs 净化与分离的目的。为考察酸化硅胶及全自动二噁英净化系统对实验结果的影响, 取 PCDD/Fs 与 DL-PCBs 的同位素提取内标于平底烧瓶中, 加入正己烷溶解, 少量多次加入酸化硅胶, 净化液过无水硫酸钠并浓缩后, 使用全自动二噁英净化系统进行下步净化, 考察同位素提取内标的回收率。实验结果显示, PCDD/Fs 各单体的平均回收率为 66.1%~92.3%, DL-PCBs 各单体的平均回收率为 77.9%~95.3%, 实验结果表明净化方法可行。

2.2 方法学验证

2.2.1 方法的检出限、定量限

利用上述条件分别对大闸蟹的白肉、棕肉进行测定, 采用同位素稀释法进行定量, 根据 PCDD/Fs、DL-PCBs 标记的同位素提取内标, 校正 PCDD/Fs、DL-PCBs 的回收率。根据测定的相对响应和样品取样量与 PCDD/Fs、DL-PCBs 标记进样内标加入量, 计算样品中目标化合物的浓度。以 3 倍信噪比确定 PCDD/Fs、DL-PCBs 的检出限(limit of detection, LOD), 以 10 倍信噪比确定 PCDD/Fs、DL-PCBs 的定量限(limit of quantitation, LOQ), 详细数据见表 3。

白肉的检出限和定量限较棕肉低, 主要是因为白肉的脂肪含量较低, 棕肉由于含有油脂较多的蟹黄蟹膏, 净化效果不如白肉, 故导致仪器的噪音较高。另外 DL-PCBs 的检出限与定量限也较 PCDD/Fs 高, 造成这种现象的原因可能是 DL-PCBs 是将其净化液浓缩至 PCDD/Fs 的进样瓶中, 进样液中杂质较多, 从而仪器噪音升高, 检出限与定量限升高。

2.2.2 精密度及加标回收率

分别称取大闸蟹的白肉和棕肉各 4 份, 研磨充分后装入铺有醋酸纤维滤膜的萃取池中, 加入 PCDD/Fs、DL-PCBs 的精密度和回收率检查标准溶液, 利用本方法对样品进行分析测定, 得到 PCDD/Fs、DL-PCBs 各单体的加标回收率及相对标准偏差(relative standard deviation, RSD), 具体数据见表 4。棕肉的回收率较白肉低, 主要是因为棕肉的脂肪含量高, 前处理净化过程造成了目标物的部分损失。

表 3 大闸蟹中 PCDD/Fs、DL-PCBs 的检出限与定量限($n=6$)
Table 3 LODs and LOQs of PCDD/Fs and DL-PCBs in crabs($n=6$)

化合物	LOD/(ng/kg)		LOQ/(ng/kg)	
	白肉	棕肉	白肉	棕肉
2,3,7,8-TCDF	0.040	0.089	0.133	0.297
1,2,3,7,8-PeCDF	0.016	0.061	0.053	0.203
2,3,4,7,8-PeCDF	0.016	0.064	0.053	0.213
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.029	0.057	0.097	0.190
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.028	0.052	0.093	0.173
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.030	0.057	0.100	0.190
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.038	0.066	0.127	0.220
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.060	0.122	0.200	0.407
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.088	0.158	0.293	0.527
OCDF	0.096	0.110	0.320	0.367
2,3,7,8-TCDD	0.029	0.057	0.097	0.190
1,2,3,7,8-PeCDD	0.036	0.052	0.120	0.173
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.031	0.063	0.103	0.210
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.033	0.069	0.110	0.230
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.034	0.067	0.113	0.223
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.032	0.067	0.107	0.223
OCDD	0.106	0.119	0.353	0.397
PCB-77	0.236	0.317	0.787	1.057
PCB-81	0.221	0.581	0.737	1.937
PCB-105	0.189	0.441	0.630	1.470
PCB-114	0.176	0.391	0.587	1.303
PCB-118	0.169	0.419	0.563	1.397
PCB-123	0.171	0.323	0.570	1.077
PCB-126	0.252	0.302	0.840	1.007
PCB-156	0.105	0.288	0.350	0.960
PCB-157	0.108	0.596	0.360	1.987
PCB-167	0.106	0.526	0.353	1.753
PCB-169	0.130	0.226	0.433	0.753
PCB-189	0.036	0.138	0.120	0.460

表 4 大闸蟹中 PCDD/Fs、DL-PCBs 平均添加回收率及 RSDs ($n=4$)
Table 4 Average recoveries and RSDs of PCDD/Fs and DL-PCBs in crabs ($n=4$)

化合物	添加浓度 (ng/mL)	平均加标 回收率/%		RSD/%	
		白肉	棕肉	白肉	棕肉
2,3,7,8-TCDF	10	82.0	75.4	9.3	12.4
1,2,3,7,8-PeCDF	50	68.2	60.1	8.4	15.2
2,3,4,7,8-PeCDF	50	62.0	56.8	12.4	10.6
1,2,3,4,7,8-HxCDF	50	88.3	84.8	17.7	22.5
1,2,3,6,7,8-HxCDF	50	103.8	83.9	7.5	8.4
2,3,4,6,7,8-HxCDF	50	97.4	77.4	18.3	23.7
1,2,3,7,8,9-HxCDF	50	79.6	69.5	11.2	12.6
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	50	88.1	75.7	14.6	17.4
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	50	76.6	67.8	6.7	13.5
OCDF	100	72.3	65.4	19.3	16.4
2,3,7,8-TCDD	10	72.0	73.3	21.4	21.8
1,2,3,7,8-PeCDD	50	70.8	71.1	10.8	19.9
1,2,3,4,7,8-HxCDD	50	79.7	81.8	17.2	8.6
1,2,3,6,7,8-HxCDD	50	88.7	79.7	7.0	17.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	50	63.7	61.2	19.6	25.8
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	50	87.3	81.1	25.7	18.2
OCDD	100	78.5	83.3	23.1	16.5
PCB-77	50	93.5	90.9	10.3	14.5
PCB-81	50	88.3	76.2	15.9	12.7
PCB-105	50	81.0	77.8	22.1	20.1
PCB-114	50	79.6	80.7	13.2	17.4
PCB-118	50	78.2	78.3	18.4	12.6
PCB-123	50	76.7	68.6	10.7	18.3
PCB-126	50	93.5	62.6	22.6	13.5
PCB-156	50	82.1	74.3	20.4	19.8
PCB-157	50	82.8	82.8	16.9	17.4
PCB-167	50	84.8	80.7	9.8	15.8
PCB-169	50	86.4	88.0	21.9	13.1
PCB-189	50	77.1	60.9	17.4	24.1

2.3 实际样品测定

利用本方法对实验室内 68 个大闸蟹(其中白肉 23 个, 棕肉 45 个)样品进行测定。68 个样品中 PCDD/Fs 与 DL-PCBs 均有不同程度的检出, 其中白肉 PCDD/Fs 的含量

为 0.024~0.53 pg/g, DL-PCBs 的含量为 0.152~1.87 pg/g, 棕肉中 PCDD/Fs 的含量为 0.189~2.13 pg/g, DL-PCBs 的含量为 0.197~4.54 pg/g。但通过计算 PCDD/Fs 与 DL-PCBs 的毒性当量总和发现 23 个白肉与 45 个棕肉均未超过欧盟规定的限量 6.5 pg/g, 但棕肉中有部分样品接近于欧盟限量, 因此需重点关注。从实际样品检测结果可以看出, 棕肉的 PCDD/Fs 与 DL-PCBs 检出率要比白肉的高, 这主要由于二噁英类化合物具有脂溶性, 所以蟹黄蟹膏中的目标物含量会较白肉高, 从而导致棕肉检出的含量较高。

3 结论

本研究针对大闸蟹这类复杂的食品基质, 建立了同位素稀释高分辨气相色谱-高分辨磁质谱法测定其中 29 种二噁英类化合物及二噁英类多氯联的分析方法, 该方法采用加速溶剂萃取为提取方法, 经酸化硅胶及全自动二噁英净化系统两步净化步骤, 有效减少了大闸蟹中脂肪成分对实验结果的干扰。本研究建立的方法具有灵敏度高、选择性好, 能满足国内外的检测要求。采用本研究建立的方法对来源于宜兴、宿迁、苏州、常州、泰州、常熟、淮安、南京等地区的大闸蟹样品, 共 68 个白肉、棕肉样品进行测定, 结果显示均未超出欧盟规定的限量, 但棕肉中有部分样品接近欧盟限量, 这主要是因为二噁英类化合物具有脂溶性, 蟹黄蟹膏中的含量会较白肉高, 从而导致棕肉中二噁英检出的含量较高。

参考文献

- [1] KNUTSEN, ALEXANDER HK, BARREGARD J, *et al.* Risk for animal and human health related to the presence of dioxins and dioxin like PCBs in feed and food [J]. EFSA J, 2018, 16(11): e05333.
- [2] 张庄, 陈卫红. 二噁英类化合物的健康危害[J]. 环境与职业医学, 2019, 36(11): 1007-1009.
ZHANG Z, CHEN WH. Health hazards of dioxin-like compounds [J]. J Environ Occup Med, 2019, 36(11): 1007-1009
- [3] VAN DBM, BIRNBAUM LS, DENISON M, *et al.* The 2005 world health organization reevaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds [J]. Toxicol Sci, 2006, (2): 223-241.
- [4] REINER EJ. The analysis of dioxins and related compounds [J]. Mass Spectrom Rev, 2010, 29(4): 526-559.
- [5] LIU Y, PENG P, LI X, *et al.* Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDD/Fs) in water and suspended particulate matter from the Xijiang River, China [J]. J Hazard Mater, 2008, 152(1): 40-47.
- [6] WAN GP, ZHANG QH, LANY H, *et al.* Dioxins contamination in the feed additive (feed grade cupric sulfate) tied to chlorine industry [J]. Sci Rep, 2014, 4(1): 45975.
- [7] 张佳明, 陈国强, 牛纪元, 等. 水产品中二噁英污染研究进展[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(22): 18-19, 33.
ZHANG JM, CHEN GQ, NIU JY, *et al.* Research progress on dioxin in aquatic products [J]. J Anhui Agric Sci, 2018, 46(22): 18-19, 33.

- [8] 韩莹, 刘文彬, 邢颖, 等. 我国大闸蟹中二噁英类持久性有机污染物的暴露水平研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(16): 4302-4307.
HAN Y, LIU WB, XING Y, *et al.* Study on exposure levels of dioxin-like persistent organic pollutants in Chinese hairy crabs [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(16): 4302-4307.
- [9] 陶涛, 丁洪流, 金萍. 我国大闸蟹中二噁英研究现状探讨[J]. 中国标准化, 2019, (4): 169-171.
TAO T, DING HL, JIN P. Research status of dioxins in hairy crab in China [J]. *China Stand*, 2019, (4): 169-171.
- [10] 张莉娜, 郎春燕, 李德豪, 等. 同位素稀释高分辨气相色谱-高分辨质谱法测定植物油中的氯代二苯并二噁英(PCDDs)、多氯代二苯并呋喃(PCDFs)[J]. 粮食储藏, 2012, 41(1): 47-51.
ZHANG LN, LANG CY, LI DH, *et al.* Determination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans in vegetable oil by isotope dilution HRGC/HRMS [J]. *Grain Stor*, 2012, 41(1): 47-51.
- [11] 李翔, 刘汉霞, 李礼, 等. 加速溶剂萃取-FMS 净化-高分辨气相色谱-高分辨质谱(HRGC-HRMS)定量测定鱼组织中二噁英类多氯联苯[J]. 分析测试学报, 2007, (S1): 269-271, 274.
LI X, LIU HX, LI L, *et al.* Determination of polychlorinated biphenyls (PCBs) in fish tissue by accelerated solution extraction, fluid management systems, high resolution gas chromatography/high resolution mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2007, (S1): 269-271, 274.
- [12] 刘迅, 王祯潇, 孙毅之, 等. 同位素稀释法测定饲料用维生素 E 中二噁英的不确定度评定[J]. 饲料研究, 2015, (1): 58-64.
LIU X, WANG YX, SUN YZ, *et al.* Evaluation of uncertainty for the determination of dioxins in vitamin E in feed by isotope dilution method [J]. *Feed Res*, 2015, (1): 58-64.
- [13] 任曼, 彭平安, 张素坤, 等. 气相色谱/高分辨质谱联用测定环境样品中的二噁英和类二噁英多氯联苯[J]. 分析化学, 2007, (2): 176-180.
REN M, PENG PA, ZHANG SK, *et al.* Determination of 2, 3, 7, 8-substituted polychlorinated dibenzo-p-dioxins-dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls in environmental samples by gas chromatography/high resolution mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2007, (2): 176-180.
- [14] 郭志顺, 李新宇, 张晓岭, 等. 土壤样品中多溴联苯醚、多氯联苯和二噁英类同时测定方法研究[J]. 中国资源综合利用, 2019, 37(3): 31-34.
GUO ZS, LI XY, ZHANG XL, *et al.* Study on simultaneous determination of PCDD/Fs, PCBs and PBDEs in solid samples by isotope dilution-HRGC/HRMS [J]. *China Res Compr Util*, 2019, 37(3): 31-34.
- [15] 邬静, 胡吉成, 马玉龙, 等. 加速溶剂萃取-硅胶柱净化-碱性氧化铝柱分离-气相色谱三重四极杆质谱法测定土壤中的二噁英类化合物[J]. 分析化学, 2017, 45(6): 799-808.
WU J, HU JC, MA YL, *et al.* Determination of dioxin-like compounds in soil by accelerated solvent extraction-silica gel column cleanup-basicalumina column separation coupled with gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2017, 45(6): 799-808.
- [16] 张利飞, 任玥, 许鹏军, 等. 气相色谱-三重四级杆质谱测定环境样品中 17 种二噁英[J]. 中国环境科学, 2014, (4): 1052-1058.
ZHANG LF, REN Y, XU PJ, *et al.* Triple quadrupole mass spectrometry for the analysis of 17 dioxins and furans in environmental samples [J]. *China Environ Sci*, 2014, (4): 1052-1058.
- [17] LI X, WANG R, LI T, *et al.* Application of gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry (GC-(APCI)MS/MS) in determination of PCBs (mono-to deca-) and PCDD/Fs in Chinese mitten crab food webs [J]. *Chemosphere*, 2020, 265: 129055.
- [18] 朱超飞, 武姿辰, 杨文龙, 等. 土壤中有有机污染物的气相色谱-四极杆飞行时间质谱非靶标筛查[J]. 环境化学, 2021, 40(2): 662-664.
ZHU CF, WU ZC, YANG WL, *et al.* Non-target screening of organic pollutants in soil based on GC-QTOF/MS [J]. *Environ Chem*, 2021, 40(2): 662-664.
- [19] 许鹏军, 陶哺, 李楠, 等. 固定源废气中二噁英及多氯联苯、溴代阻燃剂和溴代二噁英的分析[J]. 分析化学, 2015, (3): 356-365.
XU PJ, TAO B, LI N, *et al.* Determination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins/dibenzofurans, dioxin like polychlorinated biphenyls, brominated flame retardants and polybrominated dibenzo-p-dioxins/dibenzofurans in flue gas from stationary source [J]. *Chine J Anal Chem*, 2015, (3): 356-365.
- [20] 沈海涛, 丁钢强, 李敬光, 等. 酸水解法测定婴幼儿配方食品、乳和乳制品中二噁英类持久性有机污染物[J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(6): 569-572.
SHEN HT, DING GQ, LI JG, *et al.* Acid digestion for the determination of dioxin like POPs in infant formula, milk and milk-based products [J]. *Chin J Food Hyg*, 2014, 26(6): 569-572.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



王 红, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品中农药残留及持久性有机污染物检测。
E-mail: wh13770320256@sina.com



沈伟健, 高级工程师, 主要研究方向为食品真伪鉴别、功能成分检测、食品中有毒有害物质检测。
E-mail: 45467447@qq.com