

GC-MS/MS 测定中药中 18 种多氯联苯

谭春梅, 程巧驾, 马临科, 赵维良* (浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310052)

摘要: 目的 建立 GC-MS/MS 测定中药材中 18 种多氯联苯(PCBs)的方法。方法 采用超声提取, 浓硫酸净化, 内标法定量; 采用 EI 源, 在多反应监测(MRM)模式下进行检测。结果 18 种 PCBs 在 0.5~50 ng·L⁻¹ 时线性关系良好, 相关系数(*r*)为 0.999 8~1.000 0, 方法的检出限为 0.013~0.080 μg·kg⁻¹, 定量限为 0.054~0.328 μg·kg⁻¹。在 2, 5, 10 μg·L⁻¹ 下平均回收率分别为 106.7%~118.7%, 93.5%~114.7% 和 89.9%~115.6%, 相对标准偏差分别为 1.6%~8.0%, 2.7%~4.6% 和 1.0%~3.1%。结论 本方法样品处理简单、快速, 灵敏度高, 准确性好, 可用于中药材中 18 种 PCBs 的测定。

关键词: 多氯联苯; 气相色谱-三重四级杆质谱联用法; 中药材

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2017)10-1447-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.10.018

引用本文: 谭春梅, 程巧驾, 马临科, 等. GC-MS/MS 测定中药中 18 种多氯联苯[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(10): 1447-1450.

Determination of 18 Polychlorinated Biphenyls in Traditional Chinese Medicine with GC-MS/MS

TAN Chunmei, CHEN Qiaoyuan, MA Linke, ZHAO Weiliang* (Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310052, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a method for the determination of polychlorinated biphenyls (PCBs) in traditional Chinese medicine by GC-MS/MS. **METHODS** PCBs in traditional Chinese medicine were extracted by ultrasonic and purified by sulfuric acid, internal standard method for quantification; and then determined in multiple reaction monitoring (MRM) mode with EI source. **RESULTS** The method showed good linearity when the concentration of 18 PCBs were within 0.5–50.0 ng·L⁻¹, with the correlation coefficient (*r*) within 0.999 8–1.000 0. The limits of detection were within 0.013–0.080 μg·kg⁻¹. The limits of quantification were 0.054–0.328 μg·kg⁻¹. The average recoveries were within 106.7 %–118.7 % at the spiked levels of 2 μg·L⁻¹, within 93.5%–114.7% at the spiked levels of 5 μg·L⁻¹ and within 89.9 %–115.6 % at the spiked levels of 10 μg·L⁻¹. The relative standard derivations were within 1.6%–8.0%, 2.7%–4.6% and 1.0%–3.1%, respectively. **CONCLUSION** The method for determination of PCBs in traditional Chinese medicine was rapid, simple, sensitive and accurate. It is suitable for determination of 18 PCBs in traditional Chinese medicine.

KEY WORDS: polychlorinated biphenyls; Gas chromatography triple quadrupole mass spectrometry; traditional Chinese medicine

多氯联苯 (Polychlorinated biphenyls 或 Polychlorodiphenyls, PCBs) 指联苯苯环上的氢被氯取代而形成的多氯化合物, 又称氯化联苯。PCBs 的联苯苯环上有 10 个可被氢取代的位置, 按分子中氯原子数或氯的百分含量不同, 共有 209 种不同的 PCBs 单体, 属于持久性污染物之一, 具有生物累积性和难降解性, 有致畸、致癌、致突变等毒性^[1-3]。由于 60 年代的大量应用及不当管理, 我国的水环境及土壤环境中存在多氯联苯污染^[4-8]。中药中有较多的多年生药材, 在生长过程中容易富集土壤中的残留物, 同时水生动植物中药, 如昆布、海带、牡蛎等, 在污染严重的水域生长时, 也容易遭受水中污染物的侵袭, 如杨志军等^[9]对牡蛎和贻贝中二噁英及多氯联苯同类物进行了研究。且各国对 PCBs 触发水平较低, 我国对食品中多氯

联苯类物质均设定了相应的最大残留限量^[10-11], 其中欧盟对肉及其制品、水产品及其制品、乳制品等设定了最大残留量要求^[12], USP 规定 PCBs 的总量不得>10 pg·g⁻¹, 而目前我国尚无中药中 PCBs 测定的方法及限量, 因此有必要建立中药材多氯联苯的测定方法。

1 试剂与仪器

7890B 型气相色谱-三重四级杆质谱仪(美国 Agilent 公司); BUCHI 旋转蒸发仪(瑞士 BUCHI 公司); Elmasonicp 超声仪(ELMA 公司); 19 种 PCB 单体包括 PCB28、PCB52、PCB101、PCB118、PCB138、PCB153、PCB180、PCB81、PCB77、PCB123、PCB114、PCB105、PCB126、PCB167、PCB156、PCB157、PCB169、PCB189、PCB198, 均来自德国 Dr. E. 正己烷、二氯甲烷、异辛烷

作者简介: 谭春梅, 女, 硕士, 主管中药师 Tel: (0571)87180345
主任中药师 Tel: (0571)86452373 E-mail: zwl@zjyj.org.cn

E-mail: tanchunmei83@163.com *通信作者: 赵维良, 男, 硕士,

(HPLC 级, 美国 Merck); 共收集了 16 批样品, 具体见表 1。

表 1 样品信息表

Tab. 1 Sample information

名称	来源	部位	名称	来源	部位
三七*	云南	根	金银花	宝龙安庆	花
三七	云南	根	枸杞子	宁夏	果实
延胡索	仙居	茎	枸杞子	青海	果实
延胡索	磐安	茎	枸杞子	宁夏	果实
浙贝母	鄞州	茎	薏苡仁	福建	种子
浙贝母	鄞州	茎	薏苡仁	河北	种子
菊花	黄山	花	薏苡仁	辽宁	种子
菊花	桐乡	花	昆布	亳州	海产

注: *—方法学试验的样品。

Note: *—sample of methodology test.

2 方法与结果

2.1 色谱条件

进样口温度为 280 °C; 进样量为 1.0 µL; 采用不分流模式进样; 色谱-质谱接口温度为 280 °C; DB-5MS 色谱柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 µm); 升温程序: 初始温度为 130 °C, 以 20 °C·min⁻¹ 的速率升至 200 °C, 保持 2 min, 再以 7 °C·min⁻¹ 的速率升至 285 °C, 保持 6 min; 载气为纯度 >99.999% 的氦气; 载气流速为 1.0 mL·min⁻¹。质谱条件: 电离方式为 EI 模式; 电

离能量为 70 eV; 离子源温度为 230 °C; 四极杆温度为 150 °C; 多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM)。GC-MS 的保留时间、定量离子、定性离子及碰撞气能量见表 2。标准溶液的色谱图见图 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液的配制 分别取各多氯联苯对照品适量, 精密称定, 置不同的量瓶中, 加异辛烷溶解并分别制成每 1 mL 中含 0.4 mg 的溶液, 再分别取各溶液适量, 用异辛烷制成含各化合物 100 µg·L⁻¹ 水平混合对照品溶液。

2.2.2 内标溶液的配制 取 PCB198 适量, 用异辛烷制成含 PCB198 1 mg·L⁻¹ 的溶液, 作为内标储备液。

2.2.3 系列混合线性对照品溶液的配制 取混合对照品溶液, 加内标储备液(1 mg·L⁻¹)适量, 制成每 1 mL 分别含内标 20 ng, 含混合对照品 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50 ng 的系列混合对照品溶液。

2.2.4 供试品溶液的制备 称取粉碎后的试样 1~2 g(根据根、茎、叶、花、果实和种子调整取样量), 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加正己烷-二氯甲烷(1:1)混合溶液 20 mL, 超声提取 30 min, 离心, 取上清液置梨形瓶中, 残渣加正己烷-二氯甲烷(1:1)混合溶液 20 mL, 重复操作 1 次, 合并上

表 2 目标化合物保留时间、定量离子、定性离子及碰撞能量

Tab. 2 Retention time, quantitative ions, qualitative ions and collision energy of the selected target compounds for GC-MS/MS analysis

化合物	分子量	保留时间/min	定量离子	碰撞气能量/V	定性离子	碰撞气能量/V
PCB28	257.5	8.900	256→186	25	258→186	25
PCB52	292	9.683	290→220	10	255→220	25
PCB77	326.5	11.825	290→220	35	292→222	30
PCB81	326.5	12.536	290→220	30	292→220	30
PCB101	326.5	12.788	326→256	25	254→184	25
PCB105	326.5	13.421	326→256	25	326→254	25
PCB114	326.5	13.421	326→256	30	326→254	30
PCB118	326.5	13.728	326→256	25	326→254	25
PCB123	326.5	13.974	326→256	40	326→254	25
PCB126	326.5	14.122	326→256	30	326→254	30
PCB138	361	14.706	360→290	40	288→218	30
PCB153	361	14.930	360→290	25	288→218	25
PCB156	361	15.398	360→290	25	362→290	25
PCB157	361	15.995	360→290	25	362→290	25
PCB167	361	16.142	360→290	30	362→290	30
PCB169	361	16.396	360→290	30	362→290	15
PCB180	395.5	16.923	394→324	30	394→359	30
PCB198(ISTD)	430	17.278	430→428	15	393→395	15
PCB189	395.5	17.844	394→324	30	396→326	30

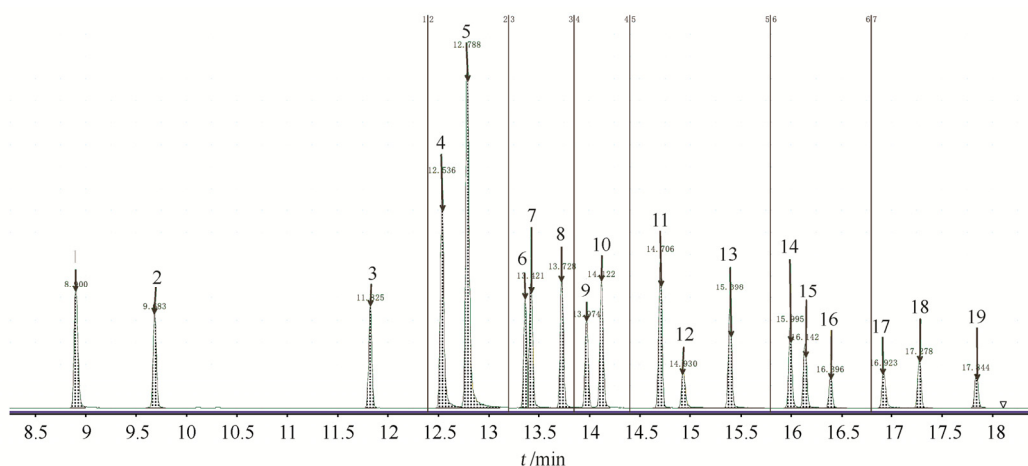


图1 18种PCBs标准溶液色谱图

1-PCB28; 2-PCB52; 3-PCB101; 4-PCB77; 5-PCB81; 6-PCB118; 7-PCB105; 8-PCB153; 9-PCB123; 10-PCB114; 11-PCB138; 12-PCB126; 13-PCB167; 14-PCB157; 15-PCB156; 16-PCB180; 17-PCB169; 18-PCB198(ISTD); 19-PCB189)。

Fig. 1 Chromatogram of the standard solution of 18 polychlorinated biphenyl(PCBs)

1-PCB28; 2-PCB52; 3-PCB101; 4-PCB77; 5-PCB81; 6-PCB118; 7-PCB105; 8-PCB153; 9-PCB123; 10-PCB114; 11-PCB138; 12-PCB126; 13-PCB167; 14-PCB157; 15-PCB156; 16-PCB180; 17-PCB169; 18-PCB198(ISTD); 19-PCB189)。

清液,于40℃旋转蒸发至近干。残渣加内标适量,异辛烷复溶至2.0 mL(含内标20 ppb)。向2 mL提取液中加入浓硫酸2 mL,以450 r·min⁻¹转速剧烈振摇1 min,以4 000 r·min⁻¹转速离心10 min,有机相转移至样品瓶中用于气相色谱分析。

2.3 结果

2.3.1 线性试验 取系列混合线性对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样分析,记录各待测化合物与内标MRM定量离子对峰面积,以各化合物的质量浓度为横坐标(X),相应的定量离子对峰面积与内标定量离子对峰面积比为纵坐标(Y),进行回归分析,结果见表3。结果表明各待测组分在选定的浓度范围内线性良好。

2.3.2 精密度试验 取混合对照品溶液,连续进样6次,记录定量离子对峰面积,计算待测组分峰面积和内标峰面积比值,求该比值的RSD值,结果各化合物RSD<4.0%,表明仪器精密度良好。

2.3.3 重复性及回收率试验 采用加样回收的方法考察方法重复性。取三七粉末2 g,共12份,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入混合对照品溶液(浓度为100 ppb)各40, 100, 200 μL,其中3个低水平,6个中间水平,3个高水平,同供试品溶液制备方法制得加样回收试验供试品溶液。计算回收率及相应RSD值,中间水平回收率结果作为重复性结果,结果见表4。各化合物3个水平的平均回收率均在85%~120%内,RSD<8.0%,表明方法重复性及准确性较好。

2.3.4 基质效应试验 取三七空白基质加标溶液(20 ppb水平)与相同浓度对照品溶液(20 ppb水平)测定值相比,结果基质效应为85%~115%,认为基质效应不明显。结果见表5。

2.3.5 灵敏度试验 将低浓度加标样品进样分析,测定信噪比。取信噪比约为3的溶液浓度作为方法检出限,取信噪比约为10的溶液浓度作为方法定量限。方法检出限范围为0.013~0.080 μg·kg⁻¹,方法定量限范围为0.054~0.328 μg·kg⁻¹,结果见表3。

表3 线性关系考察及检出限和定量限

Tab.3 Linear relationship, limits of detection and quantification

化合物	a	b	r	检出限/ μg·kg ⁻¹	定量限/ μg·kg ⁻¹
PCB28	7.353 1	-0.078 1	0.999 9	0.017	0.078
PCB52	7.552 6	-0.143 0	0.999 8	0.021	0.076
PCB101	5.968 1	-0.069 3	0.999 8	0.022	0.062
PCB81	30.356 2	-0.475 1	0.999 8	0.013	0.073
PCB77	7.656 6	-0.164 8	0.999 9	0.043	0.302
PCB123	10.786 8	-0.102 8	0.999 8	0.023	0.096
PCB118	9.038 0	-0.065 3	0.999 9	0.035	0.110
PCB114	8.151 0	-0.102 8	0.999 8	0.030	0.127
PCB153	3.260 8	-0.083 2	0.999 8	0.061	0.054
PCB105	8.246 2	-0.065 3	0.999 9	0.038	0.120
PCB138	6.925 5	-0.102 6	0.999 8	0.033	0.078
PCB126	2.752 3	0.006 0	0.999 9	0.043	0.244
PCB167	5.852 6	-0.041 6	0.999 9	0.035	0.101
PCB156	5.800 1	-0.019 6	1.000 0	0.030	0.122
PCB157	6.389 9	-0.041 6	0.999 9	0.032	0.093
PCB180	2.009 8	0.003 6	1.000 0	0.080	0.160
PCB169	2.394 2	0.010 7	0.999 9	0.074	0.328
PCB189	2.075 3	0.020 0	0.999 8	0.047	0.234

表 4 回收率试验结果

Tab. 4 Results of recovery test							%
化合物	平均回收率			RSD			
	低水平	中水平	高水平	低水平	中水平	高水平	
PCB28	106.70	95.50	91.90	2.90	3.50	2.10	
PCB52	108.50	93.50	89.90	4.10	4.60	2.10	
PCB101	109.30	98.50	96.60	3.50	4.40	1.20	
PCB81	117.50	106.30	104.00	3.40	3.50	2.60	
PCB77	114.10	106.20	105.60	5.00	3.90	2.00	
PCB123	118.70	109.30	107.10	2.90	3.90	2.60	
PCB118	115.50	107.80	106.50	4.80	3.90	2.20	
PCB114	118.70	109.30	107.10	2.90	3.90	2.60	
PCB153	116.90	103.80	101.00	3.10	4.00	2.30	
PCB105	115.50	107.80	106.50	4.80	3.90	2.20	
PCB138	112.90	105.20	102.70	3.80	3.20	1.90	
PCB126	109.90	111.50	111.40	3.00	3.20	1.20	
PCB167	117.70	111.10	110.10	4.80	2.70	2.10	
PCB156	115.10	111.00	110.10	1.60	3.60	2.50	
PCB157	117.70	111.10	110.10	4.80	2.70	2.10	
PCB180	109.10	108.20	107.30	8.00	3.10	1.70	
PCB169	111.00	113.60	115.60	4.20	3.40	3.10	
PCB189	109.80	114.70	115.50	6.50	4.60	1.00	

表 5 基质效应结果

Tab. 5 Result of matrix effect				%
化合物	基质效应	化合物	基质效应	
PCB28	85	PCB105	111	
PCB52	87	PCB138	110	
PCB101	99	PCB126	112	
PCB81	108	PCB167	117	
PCB77	110	PCB156	115	
PCB123	114	PCB157	86	
PCB118	111	PCB180	114	
PCB114	114	PCB169	115	
PCB153	107	PCB189	111	

2.3.6 样品测定结果 对收集的 16 批样品进行测定, 结果样品中均未检出多氯联苯。说明样品中多氯联苯残留的风险较低。

3 讨论

多氯联苯属于脂溶性成分, 提取时采用脂溶性同时具有较好渗透性的正己烷-二氯甲烷(1:1)混合溶剂提取^[8]。

样品净化过程中, 考虑到操作简便性, 试验对照品在硫酸磺化后, 计算回收率, 结果对照品经过处理后, 18 个化合物回收率为 95%~120%, 表明该 18 个化合物在硫酸磺化过程中比较稳定,

可以采用该法净化样品, 极大地简化了净化过程。同时对不同部位的样品进行随行回收试验, 结果回收率均符合要求, 说明该方法的适用性较好。

色谱优化过程中尽量使每个化合物基线分离, 同时采用 MRM, 相对于选择离子模式(SIM), 可以降低干扰, 同时优化每个化合物的碰撞能量, 提高检测灵敏度及降低检出限。

该方法定量线性良好、灵敏度高, 精密度和准确度均达到要求, 测定过程简便、快捷、准确, 可用于中药材的分析。

REFERENCES

- [1] CHEN J M. Environmental Toxicology(环境毒物学)[M]. Tianjin: Tianjin University Press, 2007: 158-160.
- [2] DING L P, CAI C P, WANG D H. Determination of indicator polychlorinated biphenyls in aquatic products by double depuration/gas chromatography [J]. J Instrument Anal(分析测试学报), 2014, 33(10): 1178-1183.
- [3] SHAO Y, YANG G S, HAN S, et al. Determination of organochlorine pesticides and biphenyls in surface water using accelerate solvent extraction coupling with gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Analytic Chem(分析化学), 2016, 44(5): 698-706.
- [4] LI Q, HUANG Y, TANG Q X. Determination of the 19 PCB Congeners in Soil by GC-ECD with ASE [J]. Adm Techn Envir Monit(环境监测管理和技术), 2008, 20(6): 37-39.
- [5] TONG L, WU S Q, YANG J J. Rapid determination of total polychlorinated biphenyls in soil and sediment by Gas Chromatography-Mass Spectrometric method [J]. J Instrument Anal(仪器分析), 2010, 29(4): 398-402.
- [6] YU S D, ZEN Z A, LIN D. Determination of PCBs in soil by accelerated solvent extraction, GC/MS and GC/ECD [J]. Arid Envir Monit(干旱环境监测), 2009, 23(1): 1-5.
- [7] PAN Y. Simultaneously determination of seven kinds of aroclor in soil by accelerated solvent extraction and gas chromatography mass spectrometry [J]. Envir Monit China(中国环境监测), 2014, 30(2): 99-103.
- [8] MEHMET E A, ALI T, SENAR O. Determination of selected polychlorinated biphenyls in soil by miniaturized ultrasonic solvent extraction and gas chromatography-mass-selective detection [J]. Anal Chim Acta, 2006, 577(2): 232-237.
- [9] YANG Z J, ZHANG Q, NI Y W, et al. Distributions of PCDD/Fs and PCBs congeners in oysters and marine mussels [J]. Ecol Envir(生态环境), 2004, 13(4): 512-514.
- [10] GB/T 5009.10-2014, 食品中指示多氯联苯含量的测定[S]. 2014.
- [11] GB/T 2762-2012, 食品安全国家标准-食品中污染物限量[S]. 2012.
- [12] Commission Regulation(EC) No 1881/2006, 食品中特定污染物的最大限量[S]. 2012: 29-30.

收稿日期: 2017-02-10

(本文责编: 蔡珊珊)