

SPE 净化-气相色谱-三重四极杆质谱 对油脂中多环芳烃的测定

黄 华¹, 吴 颖^{2,*}, 赵雅松¹, 崔 芳²

(1.北京市食品安全监控中心,北京 100041;

2.北京市产品质量监督检验院,北京 101300)

摘要:采用改进的氧化铝固相萃取前处理法,结合气相-三重四极杆质谱(GC-MS/MS)技术建立了检测油脂中16种多环芳烃分析方法。样品用正己烷提取,提取液经活性氧化铝柱吸附净化,浓缩后进行GC-MS/MS测定,外标法定量。实验结果表明,16种多环芳烃物质在低质量浓度(1 $\mu\text{g/L}$)的加标水平下的平均加标回收率为77.3%~89.7%,高质量浓度(50 $\mu\text{g/L}$)的平均加标回收率为84.2%~97.2%,相对标准偏差均小于10%;其中16种物质的方法检出限(LOD)分别为0.17~3.01 $\mu\text{g/L}$;相关系数都大于0.991。该方法具有简单、快速、准确性高、检出限低的特点,适合于油脂中多环芳烃物质检测。

关键词:气相-三重四极杆质谱,多环芳烃,油脂

Determination of 16 PAHs in edible oil by SPE and GC-MS/MS

HUANG Hua¹, WU Ying^{2,*}, ZHAO Ya-song¹, CUI Fang²

(1.Beijing Foods Safety Monitoring Center, Beijing 100041, China;

2.Beijing Products Quality Supervision and Inspection Institute, Beijing 101300, China)

Abstract: A method was developed for rapid determination of 16 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in edible oil based on an improved Alumina solid phase extraction pre-treatment method combined with the gas-a triple quadrupole mass spectrometry (GC-MS/MS). Edible oil was extracted with n-hexane, the supernatant was purified by activated alumina column, the purifying liquid was concentrated then determined by GC-MS/MS with external standard method. The results showed that the ranges of spiked recoveries of 16 PAHs at 1 $\mu\text{g/L}$ and 50 $\mu\text{g/L}$ were 77.3%~89.7% and 84.2%~97.2%, respectively. The relative standard deviations were below 10%. The detection limits of 16 PAHs were 0.17~3.01 $\mu\text{g/kg}$; the correlation coefficients were larger than 0.991. This method was simple, rapid high accuracy, and characterized with acceptable sensitivity and accuracy to meet the requirements for the analysis of multiple PAHs in vegetable oil.

Key words: gas-a triple quadrupole mass spectrometry; Polycyclic Aromatic Hydrocarbons; edible oil

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)07-0308-04

多环芳烃(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs)是最早发现的具有“致癌、致畸、致突变”作用的有机污染物^[1],具有强亲脂性,广泛存在于各类谷物产品、植物油、水果、熏、煎、烤食品中,尤其当油脂因受环境影响、不当加工处理和包装储存联合作用时,更易受到PAHs污染^[1-2]。很多国家对油脂中PAHs的污染水平做了明确的限量规定。我国《GB 2716-2005 食用植物油卫生标准》中规定苯并(a)芘的最高残留限量为10 $\mu\text{g/kg}$;欧盟委员会规章(EC) NO 835/2011规定可直接消费或作为食品成分的油类和脂肪类(不包括可可油)中苯并(a)芘的最高残留限量为2 $\mu\text{g/kg}$,总重质多环芳烃残留量为10 $\mu\text{g/kg}$;烧

烤肉制品中暂时为苯并(a)芘5 $\mu\text{g/kg}$,总重质多环芳烃30 $\mu\text{g/kg}$;2014年9月1日后烧烤肉制品会执行更严格的残留限量:苯并(a)芘2 $\mu\text{g/kg}$,总重质多环芳烃12 $\mu\text{g/kg}$ ^[3]。

近几年来,欧盟和韩国等国多次从中国进口的植物油中检出苯并(a)芘超标,国家质检总局在日常风险监测中也发现食用油中苯并(a)芘严重超标情况。因此,建立快速、方便、有效的食用油中多环芳烃分析方法对于保障食用油安全和质量具有十分重要的意义。

气相色谱-质谱联用方法较液相色谱法^[4]、荧光光谱法^[5]等具有分析范围广、定性定量准确的特点,被广泛采用。但是,由于油脂具有快速饱和并降解色谱柱的性能,需要经过严格的净化过程。为了实现检验操作净化的目的,本研究通过氧化铝固相萃

收稿日期:2013-10-31 *通讯联系人

作者简介:黄华(1978-),男,硕士,工程师,研究方向:生物化学。

取方法实现样品净化,建立了 GC-MS/MS 同时测定油脂中 16 种多环芳烃检测方法。结果表明,该方法具有简单、快速、准确性高、检出限低的特点,适合于实验室进行大批量样品检测工作。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

色谱纯正己烷 美国 Fishier 公司;乙酸乙酯、环己烷 色谱纯 美国 Fishier 公司;正己烷 分析纯,国药集团化学试剂有限公司;氧化铝柱 Brockman 活度为 IV 级,22g/60mg,天津博纳艾杰尔科技有限公司。

EPA 16 种多环芳烃混合标准储备液的浓度为 200mg/L 溶于乙腈 美国 Supelco 公司,标准溶液储存在 -20℃ 暗处,以避免挥发和光降解。

多环芳烃标准工作溶液:移取适量的多环芳烃混合标准储备液,分别用乙酸乙酯-环己烷(体积比 1:1)制成质量浓度为 20mg/L 的标准储备溶液。

Agilent 7890A 气相色谱-7000A 三重四极杆质谱仪 美国 Agilent 公司;N-EVAP 112 氮吹浓缩仪 美国 Organomation 公司;HQ-60 水平振荡器 北方同正公司;B-490 旋转蒸发仪 瑞士 Buchi 公司;HP-5MS 石英毛细管气相色谱柱 30m × 0.25mm × 0.25 μm 膜厚,美国惠普公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理

1.2.1.1 提取 称取约 0.4g(精确至 0.01g)的油样,用 5mL 正己烷溶解,于涡旋混合器上充分混匀。待 SPE 柱活化后上样。

1.2.1.2 SPE 净化 依次用约 40mL 的分析纯正己烷和 40mL 色谱纯正己烷活化氧化铝柱。上样后用 80mL 色谱纯正己烷洗脱。

1.2.1.3 浓缩 将洗脱液在 35℃ 水浴中旋转蒸发至干,用总计 10mL 的正己烷分三次淋洗旋蒸瓶,合并淋洗液到氮吹管中,氮气吹干。添加 400 μL 的色谱纯正己烷到氮吹管中,在涡旋混合器上充分混匀,转移至 2mL 进样瓶中,进样分析。

1.2.1.4 前处理中的注意事项 在活化活性氧化铝小柱的时候注意柱体上部要不断添加正己烷,不能让正己烷低于柱子的上筛板,避免空气进入柱子。然后将溶解好的油样添加到预活化好的氧化铝柱子中。注意操作过程中上筛板不能干涸。待样品溶液通过 SPE 柱后,添加 80mL 正己烷,用 250mL 的旋蒸瓶接收,直到 80mL 的正己烷完全自然滴出。不需要加压或抽真空加快流速,让正己烷在重力作用下自然洗脱。

在旋蒸以及氮吹过程注意避免旋干与吹干,否则会造成萘的回收率下降。吹干对其它 15 种多环芳烃的回收率无影响;涡旋过程需避免正己烷蒸发影响最终定量浓度。

1.3 气相色谱条件

进样口温度 310℃,载气:高纯氦气,恒流模式 1.4mL/min,进样体积:1 μL;进样方式:不分流进样,溶剂延迟 5min。

升温程序:初始温度 50℃,保持 2min,以 25℃/min 升至 200℃,然后以 15℃/min 升至 310℃,保持 8min。

1.4 质谱条件

离子源温度:300℃,四极杆温度:180℃,色谱-质谱接口温度:280℃;离子化方式:EI;电子能量:70eV。

2 结果与分析

2.1 提取方法的优化分析

22g 的中性氧化铝小柱对 1g 以内的油脂有良好的吸附作用,对多环芳烃无保留。塑料柱体本身也可能含有微量多环芳烃以及其它杂质,因此需要大量溶剂活化。根据预实验,对不同批次的分析纯与色谱纯正己烷溶剂进行过柱旋蒸浓缩后进样,发现 100mL 分析纯正己烷过柱浓缩后轻质多环芳烃含量在 10~50 μg/L 之间,会严重影响低多环芳烃含量油样的测定。分析纯溶剂浓缩效果较好,但成本较高。最后用 40mL 分析纯正己烷与 40mL 色谱纯正己烷取得了良好的效果,同时降低了实验成本。

2.2 质谱条件的优化分析

16 种多环芳烃的分析,首先选择合适的 GC 柱箱程序升温条件,采用前级离子扫描方式测定各化合物的总离子流谱图,确定各自的保留时间,同时确定合适的母离子。母离子是具有较高 m/z 比和相对丰度的一级离子碎片。较高的 m/z 比能够提高分析的选择性,而较高的相对丰度能够保证分析的灵敏度。然后根据确定的母离子,进行不同碰撞能量(CE)下的产物离子扫描。通过比较不同碰撞能量下的产物离子丰度与信噪比,选择了合适的碰撞能力与子离子。实验结果表明,因为串接质谱的碰撞反应池能大大降低高能量中性粒子导致的背景噪音,因此采用较低的碰撞能量(10~30eV)可以得到很好的信噪比,同时维持较高的灵敏度(表 1)。

2.3 线性方程、相关系数及最低检测限

用 1、2、5、10、20、50 μg/L 的标准溶液分别进样,曲线横坐标为目标化合物的量,纵坐标为各多环芳烃目标化合物响应值。各目标化合物线性曲线的截距、斜率和相关系数见表 2,方法线性范围可以满足实际检测的需要。

本方法的仪器检出限(LDL)以 3 倍信噪比时 PAHs 标准溶液浓度计,16 种 PAHs 的仪器检出限范围为 0.15~2.5 μg/L。取 5ppb 浓度的标准溶液加入空白油脂样品,重复测定 7 次。

2.4 回收率及重复性

为了验证方法的准确度,对食用油样品进行了 1、10、50 μg/L 3 个不同水平的标准添加回收实验,按照 1.2 所述条件处理,每一水平分别做 6 份平行实验,计算得到的加标回收率和相对标准偏差(RSD)结果见表 3。16 种多环芳烃化合物在 1 μg/L 添加浓度下的平均回收率在 77.3%~89.7% 之间,在 10 μg/L 添加浓度下的平均回收率在 81.5%~95.7% 之间,50 μg/L 添加浓度下的平均回收率在 84.2%~97.2% 之间,标准添加回收实验中 RSD 均小于 9.7%。

表1 16种多环芳烃的MRM参数
Table 1 MRM parameters of 16 PAHs

编号	化合物	离子对 (m/z)	碰撞能量 (eV)	驻留时间 (ms)	保留时间 (min)
1	Naphthalene (萘)	128.0 > 127.0	10	25	6.771
		128.0 > 102.0	10	25	
2	Acenaphthalene (芴)	152.0 > 151.0	10	25	8.396
		152.0 > 150.0	15	25	
3	Acenaphthene (芴烯)	153.0 > 152.0	10	25	8.571
		154.0 > 153.0	10	25	
4	Fluorene (芴)	166.0 > 165.0	15	25	9.136
		165.0 > 164.0	30	25	
5	Anthracene (蒽)	178.1 > 178.0	25	50	10.311
		178.0 > 177.0	15	50	
6	Phenanthrene (菲)	178.1 > 178.0	25	50	10.372
		178.0 > 177.0	15	50	
7	Fluranthene (萤蒽)	202.0 > 201.0	15	50	11.984
		202.0 > 200.0	15	50	
8	Pyrene (芘)	202.0 > 201.0	15	50	12.312
		202.0 > 200.0	15	50	
9	Pyrenbenzo(b)anthracene(苯并(a)蒽)	228.0 > 227.0	30	50	14.187
		226.0 > 225.0	15	50	
10	Chrysene (屈)	228.0 > 227.0	30	50	14.241
		226.0 > 225.0	15	50	
11	Benzo(k)fluranthene (苯并(k)萤蒽)	252.1 > 252.0	40	40	15.870
		252.0 > 251.0	30	40	
12	Benzo(b)fluranthene (苯并(b)萤蒽)	252.1 > 252.0	40	40	15.890
		252.0 > 251.0	30	40	
13	Benzo(a)pyrene (苯并(a)芘)	252.1 > 252.0	40	40	16.392
		252.0 > 251.0	30	40	
14	Indezo(1,2,3-cd)pyrene (茛并(1,2,3-cd)芘)	276.1 > 276.0	40	40	18.696
		276.0 > 275.0	30	40	
15	Dibenz(a,h)anthracene (二苯并(a,h)蒽)	278.1 > 278.0	40	40	18.760
		278.0 > 277.0	30	40	
16	Benzo(g,h,i)perylene (苯并(g,h,i)芘)	276.1 > 176.0	40	40	19.338
		276.0 > 275.0	30	40	

表2 16种多环芳烃的LOD(方法检出限)、LOQ(定量限)、线性范围、相关系数
Table 2 LODs, LOQs, liner rangers, correlation and coefficients(r) of 16 PAHs

编号	化合物名称	LOD($\mu\text{g/L}$)	LOQ($\mu\text{g/L}$)	线性范围($\mu\text{g/L}$)	相关系数
1	萘	0.48	1.60	1~50	0.993
2	芴	0.76	2.54	1~50	0.987
3	芴烯	1.38	4.61	1~50	0.996
4	芴	1.49	4.95	1~50	0.997
5	蒽	1.32	4.41	1~50	0.994
6	菲	0.41	1.38	1~50	0.991
7	萤蒽	0.42	1.39	1~50	0.991
8	芘	0.60	1.99	1~50	0.992
9	苯并(a)蒽	0.33	1.10	1~50	0.995
10	屈	0.17	0.58	1~50	0.999
11	苯并(k)萤蒽	0.23	0.77	1~50	0.992
12	苯并(b)萤蒽	0.19	0.63	1~50	0.994
13	苯并(a)芘	0.30	1.00	1~50	0.994
14	茛并(1,2,3-cd)芘	0.47	1.56	1~50	0.993
15	二苯并(a,h)蒽	3.01	10.04	1~50	0.995
16	苯并(g,h,i)芘	0.43	1.44	1~50	0.997

表3 回收率及重复性结果
Table 3 Recoveries and RSDs

编号	化合物名称	1 $\mu\text{g/L}$		10 $\mu\text{g/L}$		50 $\mu\text{g/L}$	
		回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)
1	萘	87.6	3.4	93.4	7.8	92.1	8.4
2	蒽	85.5	6.7	95.7	4.5	96.4	8.3
3	蒽烯	88.2	8.2	90.2	2.6	92.0	4.5
4	芴	83.9	9.2	88.5	3.4	94.5	4.6
5	葱	81.6	8.3	86.8	3.4	89.2	7.8
6	菲	84.6	7.1	81.5	8.9	88.5	3.8
7	萤葱	89.1	4.3	85.4	5.8	85.0	8.4
8	芘	84.3	5.6	85.7	9.6	84.7	9.4
9	苯并(a)葱	85.7	9.0	92.5	8.7	91.5	3.5
10	屈	86.0	6.4	91.2	3.4	87.1	7.7
11	苯并(k)萤葱	89.7	8.3	93.3	3.6	91.5	9.5
12	苯并(b)萤葱	84.5	3.6	92.1	3.5	97.2	6.4
13	苯并(a)芘	83.6	7.4	86.4	9.7	95.4	5.6
14	茚并(1,2,3-cd)芘	81.4	6.3	88.3	8.3	94.1	5.0
15	二苯并(a,h)葱	78.5	5.9	87.9	4.6	88.7	4.6
16	苯并(g,h,i)芘	77.3	3.7	88.2	8.3	84.2	7.8

16种多环芳烃在50 $\mu\text{g/L}$ 添加水平下的MRM色谱图见图1,空白油脂样品的MRM谱图见图2。可以看出,经过提取和净化后的油脂样品在进行分离分析的过程中受样品基体干扰较小,具有较高的灵敏度,符合痕量分析的要求。

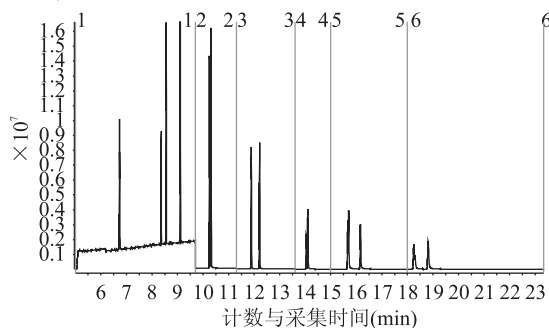


图1 16种多环芳烃质谱MRM谱图

Fig.1 MRM chromatogram of 16 PAHs

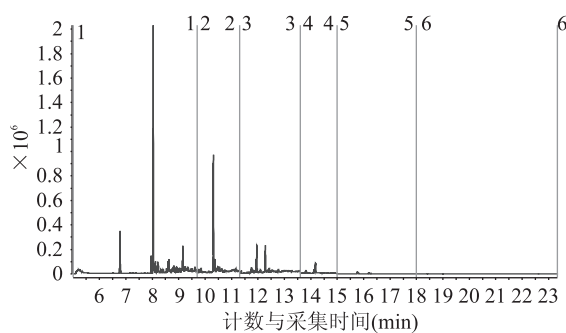


图2 空白油脂MRM谱图

Fig.2 MRM chromatogram of blank oil sample

3 结论

本文建立了SPE净化-气相色谱-三重四极杆质谱法测定油脂中的PAHs,前处理方法简单、快速、准确性高、检出限低,GC-MS/MS多离子反应监测MRM减少了基体杂质对PAHs定性的干扰,同时也提高了方法的灵敏度,PAHs的方法检测限与HPLC-荧光检测器FLD相比优势明显。结果表明,16种PAHs的回收率在77.3%~97.2%之间,相对标准偏差在3.4%~9.7%之间,分离效果好、准确度高、重复性好。应用本方法进行了大量本地区植物油脂样品的分析测试,在实际工作中取得了令人满意的效果。

参考文献

- [1] Roche S V, Falco M S G, Amigo S G. Enrichment of benzo[a] pyrene in vegetable oils and determination by HPLC- FL [J]. Talanta, 2000, 51: 1069-1076.
- [2] 张莉华, 俞益, 孙晓霞, 等. 天然维生素E中PAHs脱除工艺初探[J]. 中国食品添加剂, 2009(3): 91-99.
- [3] COMMISSION REGULATION (EU) No 835/2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs, 2011, 1-5 [S].
- [4] 郝建栓. 固相萃取等梯度高效液相色谱快速分析地表水中痕量多环芳烃化合物[J]. 现代科学仪器, 2000(2): 36-37.
- [5] 章法平, 郭健. 恒能量同步荧光法测定食品中的多环芳烃[J]. 食品工业科技, 2007, 28(12): 198-200.