



应用资料

气相色谱/质谱

作者:

Meng Yuan

PerkinElmer, Inc., USA

姜洁

毛婷

冯丽萍

北京市食品安全监测中心

肉类样品中多环芳烃的检测：样品制备与 GC/MS 分析

前言

多环芳烃 (PAHs) 是包含两个及两个以上芳环的碳氢化合物。有些多环芳烃例如 3,4-苯并芘是致癌物质；多环芳烃作为有机物（如石油、塑料、橡胶、润滑剂和木材等）烧焦后产生的物质广泛存在于环境中。除关注其环境方面的问题外，我们还需关注多环芳烃在食品特别是烤肉中的残留问题。

2005 年初，欧盟议会针对欧盟食品科学委员会 (SCF) 收集的食品中污染物数据立法。欧盟食品科学委员会认定 15 种多环芳烃具有致癌性。欧盟议会和欧盟理事会于 2005 年 11 月 16 日通过 2005/69/EC 法案，认定另一种多环芳烃也具有疑似致癌性。【1】这

样就构成了欧盟优先监测的 15+1 种多环芳烃。为了执行欧盟的法令以及保证食品安全，有必要准确测定食品中这 15+1 种多环芳烃的浓度水平。

本文将提供一种使用气相色谱/质谱联用仪（GC/MS）检测低浓度水平的欧盟优先监测的 15+1 种多环芳烃的方法。文中描述了一种可靠的肉类样品中多环芳烃的提取与净化方法。样品的制备只涉及 3,4-苯并芘一种化合物。除去方法的优化以及校准，文中对多种肉类样品进行分析并检测了实际样品中多环芳烃的浓度含量。

试验

溶剂提取

文中使用戴安公司的加速溶剂提取器（Dionex® ASE 300）来提取肉类样品中的多环芳烃。萃取池出口末端连接有一玻璃微纤维过滤器。玻璃微纤维过滤器上填充有 1g 硅藻土。5g 均质过的肉类样品与 5g 弗罗里硅土混合，而后将混合物灌注到萃取池中。2g 无水硫酸钠放入收集瓶中以除去肉样中的所有水分。表 1 显示了加速溶剂萃取仪的仪器参数设置。

凝胶渗透色谱（GPC）

萃取液使用旋转蒸发器在 35 °C 浓缩至 2 mL，其后用环己烷：乙酸乙酯(50:50 v/v)定容至 5 mL。然后将定容液过 PTFE 滤膜（5 μm）以除去颗粒杂质。

文中的GPC系统来源于J2 Scientific 公司的AccuPrep™ MPS 凝胶渗透色谱样品净化系统，配有 AccuVap™ 全自动的定量浓缩系统以及 Express™ GPC 净化柱。样品进样量为2 mL。流动相为环己烷：乙酸乙酯(50:50 v/v)，流速为4.7 mL/min，0至15分钟不收集流出物，15至20分钟收集流出物。

待分析的目标化合物是前言中已经提到的3,4-苯并芘。因此，GPC收集的开始时间恰好在3,4-苯并芘被洗脱下来之前，以便最大限度的减少基质的干扰。这一时间选择会排除大量的基质共提物；然而，这也导致5种分子量最高的多环芳烃类化合物伴随基质被大量排除。如果我们关注这5种多环芳烃类化合物，GPC的收集时间就要进行调整以收集所有PAHs化合物。在收集流出物之后，最终的样品体积将用环己烷调整至1.5 mL。

标准溶液的制备

使用环己烷将 0.2 mL 的 1000 μg/mL PAHs 标准溶液稀释至 10 mL 得到 20 μg/mL 的储备液。用环己烷将 0.5 mL 的储备液稀释至 10 mL 最终得到 1 μg/mL 的标准工作溶液。

用环己烷将 0.2 mL 的 1000 μg/mL 内标混合物萘-D8、菲-D10、屈-D12 和二苯并[a,h]蒽-D12 标准溶液稀释至 10 mL 最终得到 20 μg/mL 的内标混合物标准溶液。

每天配制新的工作曲线标准溶液（5、10、20、50、100、200、500 ng/mL）。分别将5 μL的20 ng/μL内标混合物标准溶液加入到装有1mL的工作曲线标准溶液或者样品的进样小瓶中。

GC/MS条件

本文中，使用Perkin-Elmer Clarus 680 GC/MS 系统对多环芳烃进行定性定量分析。表2显示了GC/MS系统的仪器参数设置。

法规中对3,4-苯并芘的残留限量对灵敏度的要求较高。为了达到这一检测灵敏度，有必要选择选择离子检测模式（SIM）。以下列出了创建选择离子模式质谱方法的步骤：

- 每个多环芳烃化合物都有一个定量离子和两个定性离子（见表3-4）；
- 每个离子的驻留时间为0.04 秒；
- 所有异构体在同一组中，其他的多环芳烃化合物在其他不同的组。

实验结果

方法的精密度通过100 ng/mL的标准溶液来评价—表3显示了本实验数据的相对标准偏差。图1为200 ng/mL标准溶液进样后的色谱图。

屈-D12和二萘嵌苯-D12用作内标。峰-面积比用来计算多环芳烃的量。

样品中目标化合物的峰-面积比是指用化合物的峰面积（特定定量离子）除以内标标准物的峰面积（特定定量离子）所得到的比率。公式如下：

峰-面积比（简称峰-面比）= 待测组分定量离子的峰面积 / 内标化合物定量离子的峰面积

多环芳烃的量可通过绘制校准函数中的峰-面积比来计算。函数公式见下：

$$\text{浓度}(x) = \frac{y(\text{峰-面比}) - b^{y=ax+b}}{a}$$

系统校准之后，分别定量分析了5g熏肉、腊肠和香肠中的多环芳烃类化合物的浓度（见表4）。表4还显示了100 ng/mL水平下多环芳烃类化合物的添加回收试验的回收率和重复性。腊肠中多环芳烃的色谱图见图2。

讨论

苯并（g, h, i）二萘嵌苯、二苯并（a, l）芘、二苯并（a, e）芘、二苯并（a, i）芘和二苯并（a, h）芘在肉类样品中的添加回收率都是0%。正如本文试验部分讨论过，本实验重点研究3, 4-苯并芘，因此GPC的流出物收集时间根据3, 4-苯并芘进行了优化。肉样基质中干扰物十八烯酸的浓度很高。十八烯酸的分子量为282，与苯并（g, h, i）二萘嵌苯（分子量 276）、二苯并（a, l）芘、二苯并（a, e）芘、二苯并（a, i）芘和二苯并（a, h）芘（分子量302）的分子量相近。当收集时间设定在15至20分钟时，基质干扰对于3, 4-苯并芘的影响很小，但会消弱高分子量的多环芳烃类化合物的检出。

如果上述的高分子量的多环芳烃类化合物很重要，那么必须调整GPC收集时间为14至20分钟。这时基质干扰会增加，然而苯并（g, h, i）二萘嵌苯（分子量 276）、二苯并（a, l）芘、二苯并（a, e）芘、二苯并（a, i）芘和二苯并（a, h）芘等高分子量多环芳烃类化合物的回收率也将得到改善。

结论

本文证明了Clarus 600 GC/MS 系统可以高效的对肉类样品中的多环芳烃类化合物进行分析，并且开发出一种有效的样品制备方法用于提取肉类样品中的多环芳烃类化合物。GPC用于除去肉类样品中的大部分基质干扰物质。GC/MS 系统响应在5 - 500 ng/mL浓度范围呈现出良好的线性。试验中分析了三种肉类样品，并且完成了多环芳烃类化合物的添加回收试验并给出了回收率结果。

参考文献

1. DIRECTIVE 2005/69/EC of the European Parliament and of the Council of 16 November 2005.
2. J. A. Gomez-Ruiz, et al., Talanta (2009), doi:10.1016/j.talanta. 2009.07.041.

表1. 加速溶剂萃取仪的参数设置

溶剂	环己烷
氮气压力	1400 psi
提取温度	100 °C
加热时间	5分钟
静置时间	5分钟
循环	2次
冲水量	60%
排残液时间	100秒

表2. 仪器参数

气相色谱仪	PerkinElmer Clarus 680 GC
程序升温初始温度	50 °C
保持时间1	2分钟
升温速率1	25 °C/分钟 升温至 200 °C
保持时间2	0分钟
升温速率2	15 °C/分钟 升温至 310 °C
保持时间3	19.67分钟
平衡时间	0.2分钟
气相色谱柱	PerkinElmer - Elite™-5ms 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm
进样口	可编程的分流/不分流进样口
进样模式	不分流-压力脉冲
进样体积	1 µL
传输线温度	280 °C
隔垫	脱活隔垫(P/N N6502002)
载气	氦气
载气流速	1 mL/分钟
质谱仪	PerkinElmer Clarus 600 MS
质量范围	45-450 u
溶剂延迟时间	6分钟
扫描时间	0.20秒
扫描间延迟时间	0.05秒
传输线温度	280 °C
离子源温度	240 °C
倍增器电压	500 V
通道间延迟时间	0.05秒
SIM模式	8 x SIM组
SIR驻留时间	0.04秒
软件	TurboMass™ 5.4.2

表3. 多环芳烃类化合物的校准表

物质名称	保留时间	定量离子	定性离子1	定性离子2	峰面积的%RSD (n=7) 100 ng/mL	R ² (5 - 500 ng/mL)
蔡-D8	7.28	136	137	108		
菲-D10	10.79	188	189	80		
环戊二烯并 (c, d) 芘	14.78	226	227	224	0.5	0.9999
苯并蒽	14.78	228	229	226	1.1	0.9996
屈-D12	14.79	240	241	236		
屈	14.83	228	229	226	3	0.9999
5-甲基屈	15.52	242	241	239	1.5	0.9997
苯并 (b) 荧蒽	16.56	252	253	250	0.3	0.9986
苯并 (j) 荧蒽	16.56	252	253	250	0.3	0.9986
苯并 (k) 荧蒽	16.56	252	253	250	0.3	0.9987
苯并 (a) 芘	17.19	252	253	250	0.3	0.9981
二蔡嵌苯-D12	17.29	264	265	260		
茚并 (1, 2, 3-cd) 芘	19.89	276	277	138	0.4	0.9972
二苯并 (a, h) 蒽	19.96	278	279	276	0.1	0.9965
苯并 (g, h, i) 二蔡嵌苯	20.65	276	277	138	0.9	0.9997
二苯并 (a, l) 芘	25.09	302	151	150	0.3	0.9959
二苯并 (a, e) 芘	26.85	302	151	150	0.2	0.9942
二苯并 (a, i) 芘	27.56	302	151	150	0.2	0.9913
二苯并 (a, h) 芘	27.94	302	151	150	0.2	0.9926

表4. 样品分析以及添加回收试验结果

样品	化合物名称	检出浓度 (ng/mL)	MS回收率(%)	MSD回收率(%)
Bacon	环戊二烯并 (c, d) 芘	9.3	14.6	11.6
	苯并蒽	22.1	78	76.5
	屈	18.4	76.6	75.1
	5-甲基屈	9.5	73.9	64
	苯并 (b) 荧蒽	15.2	63.4	61.7
	苯并 (j) 荧蒽	15.2	63.4	61.7
	苯并 (k) 荧蒽	15.1	63.5	60.8
	苯并 (a) 芘	14.2	61.3	50.9
	茚并 (1, 2, 3-cd) 芘	11.7	47.4	36.4
	二苯并 (a, h) 蒽	14.3	38	35.1
Preserved Ham	环戊二烯并 (c, d) 芘	12	11.2	13.3
	苯并蒽	21.8	89.1	75.7
	屈	15.6	90	76.8
	5-甲基屈	12	81.6	61.9
	苯并 (b) 荧蒽	17	73.7	63.1
	苯并 (j) 荧蒽	17	73.7	63.1
	苯并 (k) 荧蒽	16.9	73.8	63.3
	苯并 (a) 芘	14.4	73.1	65.5
	茚并 (1, 2, 3-cd) 芘	10.5	63.7	56.9
	二苯并 (a, h) 蒽	12	40.1	44.7
Sausage	环戊二烯并 (c, d) 芘	7.8	68.1	75.7
	苯并蒽	21.6	63.3	69.1
	屈	11.3	66.3	74.4
	5-甲基屈	6.3	70.7	78
	苯并 (b) 荧蒽	12.8	51.3	56.3
	苯并 (j) 荧蒽	12.8	51.3	56.3
	苯并 (k) 荧蒽	12.7	51.5	53.2
	苯并 (a) 芘	12	50.4	54.7

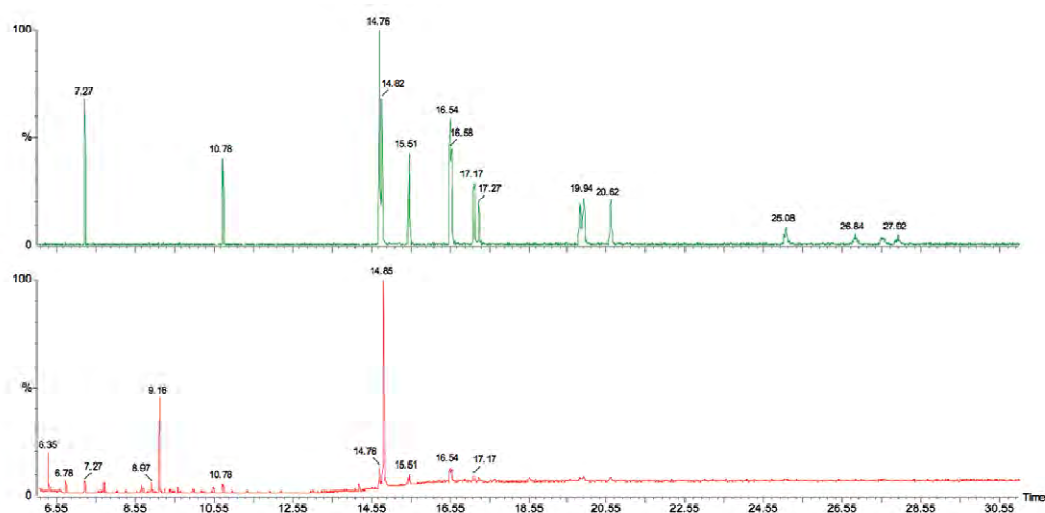


图1. 200 µg/mL 多环芳烃类化合物标准溶液的总离子流色谱图 (TIC) (下图); 提取不同多环芳烃类化合物的定量离子后的色谱图 (上图)

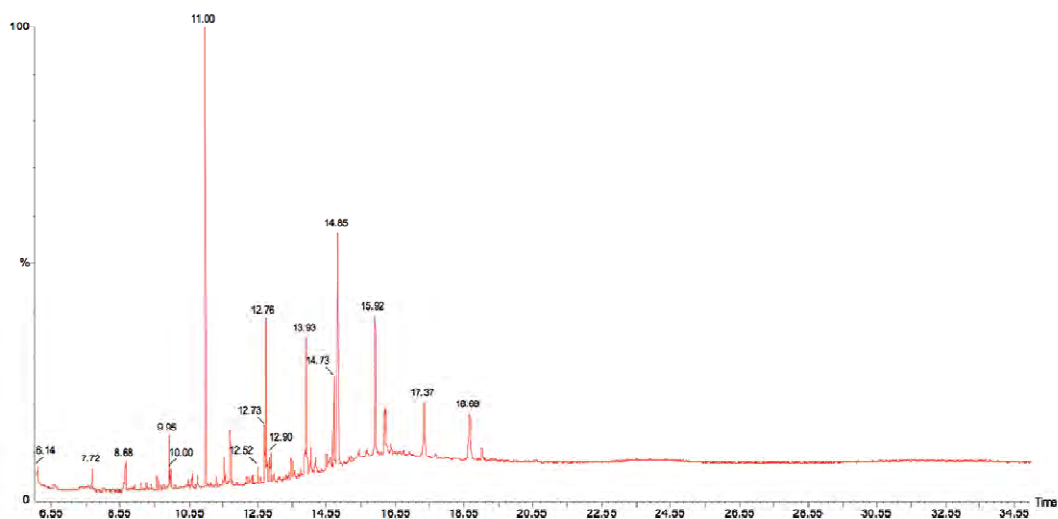


图2. 腊肠样品分析中的总离子流色谱图 (TIC)

PerkinElmer, Inc.

大中华区总部

地址: 上海张江高科园区李冰路67弄4号

邮编: 201203

电话: (021) 3876 9510

传真: (021) 387 91316

www.perkinelmer.com.cn



要获取全球办事处的完整列表, 请访问 <http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs>

©2010 PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer徽标和外观设计是PerkinElmer的注册商标。文中提及的其它非PerkinElmer及其子公司所有的其它商标均为其各自所有者的财产。PerkinElmer保留随时更改此文档的权利, 恕不另行通知。对于编辑、图片或排版错误概不承担任何责任。