

气相色谱-质谱法同时测定三文鱼中 12 种多氯联苯含量

许志彬¹, 李巧琪¹, 区硕俊^{1*}, 李婷¹, 贺丽苹²

(1. 广州质量监督检测研究院, 国家加工食品质量监督检验中心, 广州 511447; 2. 华南农业大学, 广州 510642)

摘要: **目的** 建立气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)同时测定三文鱼中 12 种多氯联苯的方法。**方法** 样品经石油醚提取后, 用浓硫酸和层析柱进行净化, 正己烷洗脱。得到的提取物经 DB-5MS 色谱柱(30 m×250 μm, 0.25 μm)分离, 载气为氦气, 流速为 1.5 mL/min, 温度为 270 °C。然后采用电子轰击离子源进行质谱测定, 全扫描方式采集数据。**结果** 12 种多氯联苯在 10.0~1000 μg/L 浓度范围内呈良好的线性关系, 相关系数 $r > 0.9989$, 方法检出限为 0.3~1.2 μg/kg, 3 个不同加标水平下 PCBs 的平均回收率为 85.5%~99.6%, 日内相对标准偏差在 3.56%~8.12% 范围内。**结论** 该方法灵敏度高、准确度和精密度良好, 适用于三文鱼中 12 种 PCBs 含量的快速检测。

关键词: 气相色谱-质谱法; 三文鱼; 多氯联苯; 同时测定

Simultaneous determination of 12 kinds of polychlorinated biphenyls in salmon by gas chromatography-mass spectrometry

XU Zhi-Bin¹, LI Qiao-Qi¹, QU Shuo-Jun^{1*}, LI Ting¹, HE Li-Ping²

(1. Guangzhou Quality Supervision and Testing Institute, National Centre for Quality Supervision and Testing of Processed Food, Guangzhou 511447, China; 2. South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for simultaneous determination of 12 kinds of polychlorinated biphenyls (PCBs) in salmon by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Methods** The salmon samples were extracted with petroleum ether, then purified by concentrated sulfuric acid and chromatographic column, followed by elution with n-hexane. After being separated by DB-5MS chromatographic column (30 m×250 μm, 0.25 μm) with helium as carrier gas, the flow rate of 1.5 mL/min, and the temperature of 270 °C, the extractive was detected by mass spectrometry with electron impact ion source. The data were collected by full scan mode. **Results** The calibration curves of 12 kinds of PCBs showed good linearities when the concentrations range from 10.0 μg/L to 1000 μg/L, and the correlation coefficients (r) were all larger than 0.9989. The limits of detection (LODs) of the method were 0.3 μg/kg to 1.2 μg/kg, the average recoveries of PCBs at 3 different standard addition levels were 85.5% to 99.6%, and the intra-day relative standard deviations (RSDs) were 3.56% to 8.12%. **Conclusion** This method is sensitive, accurate and repeatable, which is suitable for the rapid determination of 12 kinds of PCBs in salmon.

KEY WORDS: gas chromatography-mass spectrometry; salmon; polychlorinated biphenyls; simultaneous determination

*通讯作者: 区硕俊, 助理工程师, 主要研究方向为气液相色谱分析研究。E-mail: 846476388@qq.com

*Corresponding author: QU Shuo-Jun, Assistant Engineer, Guangzhou Quality Supervision and Testing Institute, National Centre for Quality Supervision and Testing of Processed Food, Guangzhou 511447, China. E-mail: 846476388@qq.com

1 引言

多氯联苯(polychlorinated biphenyls, PCBs)是联苯苯环上的氢被氯取代后的产物, 由于其物理化学性质稳定, 因此作为工业添加剂在多种工业产品生产中广泛使用。但同时由于其性质稳定, 在自然环境中极难分解, 因此能长期稳定存在, 造成环境污染^[1-4]。PCBs 极难溶于水而易溶于大部分有机溶剂, 因而在脂肪含量较高的生物体中能够大量富集^[5]。近年来, 我国水产品中的有毒有害化学物质残留得到了高度重视。由于工业生产中废料处理不当, PCBs 在水产品中极易富集, 长期食用 PCBs 残留量较高的水产品会引发脑部、皮肤及内脏疾病, 严重时甚至会影响神经、生殖及免疫系统或者致癌^[6-9]。因此, 为避免 PCBs 富集的水产品对消费者的健康造成影响, 应建立快速有效的方法对 PCBs 进行测定。

目前, 我国和一些发达国家都对水产品中的 PCBs 含量作了规定, 例如, 美国对进口水产品中 PCBs 含量的规定为不高于 2.0 mg/kg, 欧盟规定不得检出, 日本规定近海水产品中 PCBs 的含量应不高于 3.0 mg/kg, 而我国则规定水产品中最为常见的 PCBs(PCB28、PCB52、PCB101、PCB138 和 PCB153)的限量为 2.0 mg/kg^[10,11]。在日常检测中, PCBs 测定最常用的方法是薄层色谱法、高效液相色谱法、气相色谱法和气相色谱-质谱法。其中薄层色谱法和高效液相色谱法难以对 PCBs 的残留量进行准确的定性定量, 而气相色谱法采用电子捕获检测器, 其灵敏度虽然高, 但容易出现基线不稳定的情况, 且线性范围较小。气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)具有前处理简单、快速、准确、灵敏度高及选择性强等优点^[12-14]。本研究对 PCBs 提取中的样品前处理过程进行优化, 然后对样品提取物进行气相色谱-质谱测定, 为水产品贸易中的检测监管提供参考方法。

2 材料与方法

2.1 材料、试剂与仪器

三文鱼 500 g (广州市售); 无水硫酸钠、石油醚、硫酸、丙酮、弗罗里硅土和硅胶(分析纯, 广州试剂厂); 正己烷(色谱纯, 美国 Fisher 公司); 层析柱(20 cm×2 cm); PCBs(PCB18、PCB33、PCB44、PCB70、PCB105、PCB128、PCB170、PCB187、PCB194、PCB195、PCB199 和 PCB206)标准品(纯度大于 99%, 上海甄准生物科技有限公司)。

6890N/59731 气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司); MS3 basic 漩涡混合器(德国 IKA 公司); D3024R 冷冻高速台式离心机(美国 Scilogex 公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液的配制

PCBs 标准储备液的配制: 准确称取各 PCBs 标准品,

用正己烷溶解并定容, 配制成浓度均为 1000 μg/L 的标准储备液。

PCBs 混合标准工作液的配制: 将上述 12 种 PCBs 的标准储备液用正己烷稀释, 配制成各 PCBs 浓度均为 0、10.0、20.0、100、200 和 1000 μg/L 的混合标准工作液。

2.2.2 样品前处理

制样: 取 100 g 三文鱼样品的可食部分绞碎, 存放于 -18 °C 冰箱中。

提取: 准确称取 5 g 绞碎的三文鱼样品于 50 mL 离心管中, 加入 10 g 无水硫酸钠, 20 mL 石油醚, 涡旋混匀, 超声提取 20 min, 离心, 取上清液。样品按照上述步骤重复提取 1 次, 将 2 次的提取液合并。于提取液中加入 4 mL 浓硫酸(提取液和浓硫酸的体积比为 10:1), 轻轻振摇 30 s 后, 静置分层, 弃去酸层, 再按上述操作重复净化 1~2 次, 至酸液呈无色或淡黄色。将得到的提取液吹氮浓缩至 2 mL 左右。

净化: 装柱(层析柱 20 cm×2 cm), 从下往上分别是 1 cm 无水硫酸钠, 5 cm 弗罗里硅土, 5 cm 硅胶和 1 cm 无水硫酸钠。用 10 mL 丙酮活化后上样, 用正己烷洗脱 2 次, 每次 10 mL, 洗脱液用氮气浓缩至 1 mL, 供 GC-MS 分析。

2.2.3 分析条件

气相色谱条件: DB-5MS 色谱柱(30 m×250 μm, 0.25 μm); 色谱柱升温程序: 60 °C(0 min), 以 10 °C/min 的速率升至 220 °C(保持 4 min), 再以 15 °C/min 升至 285 °C(保持 5 min); 进样口温度: 270 °C; 载气为氦气, 流速为 1.5 mL/min; 接口温度: 270 °C。

质谱条件: 离子源温度为 230 °C; 传输线温度为 280 °C; 电子轰击电离源(70 eV); 溶剂延迟 10 min。通过全扫描获得 12 种 PCBs 的总离子流图。

3 结果与分析

3.1 12 种 PCBs 的定性和定量离子

选择丰度高的特征离子作为定量离子, 2 个以上丰度相对较高的特征离子作为定性离子, 得到 12 种 PCBs 的定性和定量特征离子见表 1。12 种 PCBs 的总离子流色谱图见图 1。

3.2 样品前处理条件的优化

3.2.1 超声时间对 PCBs 回收率的影响

由于三文鱼中含有一定量的脂肪, 因此超声可提高石油醚对样品中 PCBs 的提取率, 但长时间的超声会使石油醚挥发, 导致提取出过多的油性杂质, 从而影响净化效果, 因此超声时间不宜过长。本研究探究了超声时间对 PCBs 回收率的影响, 每个样品平行测定 6 次($n=6$), 结果如图 2 所示。从图中可以看出, PCBs 的回收率随超声时间的延长而提高, 当超声时间超过 20 min 时, 12 种 PCBs 的平均回收率变化不明显, 但考虑到节省时间, 因此选择 20 min 为超声提取时间。

表 1 12 种 PCBs 的定性和定量离子
Table 1 Qualitative and quantitative ions of 12 kinds of PCBs

化合物	扫描时间段(min)	定性离子(m/z)	定量离子(m/z)
PCB18	10.0~18.0	150,186,221	186
PCB33	10.0~18.0	186,256,258	258
PCB44	10.0~18.0	220,257,292	292
PCB70	10.0~18.0	110,220,292	292
PCB105	18.0~28.0	254,326	326
PCB128	18.0~28.0	145,290,360	360
PCB170	18.0~28.0	324,394	394
PCB187	18.0~28.0	324,396	396
PCB194	18.0~28.0	358,430	430
PCB195	18.0~28.0	358,430	430
PCB199	18.0~28.0	358,430	430
PCB206	18.0~28.0	429,464	464

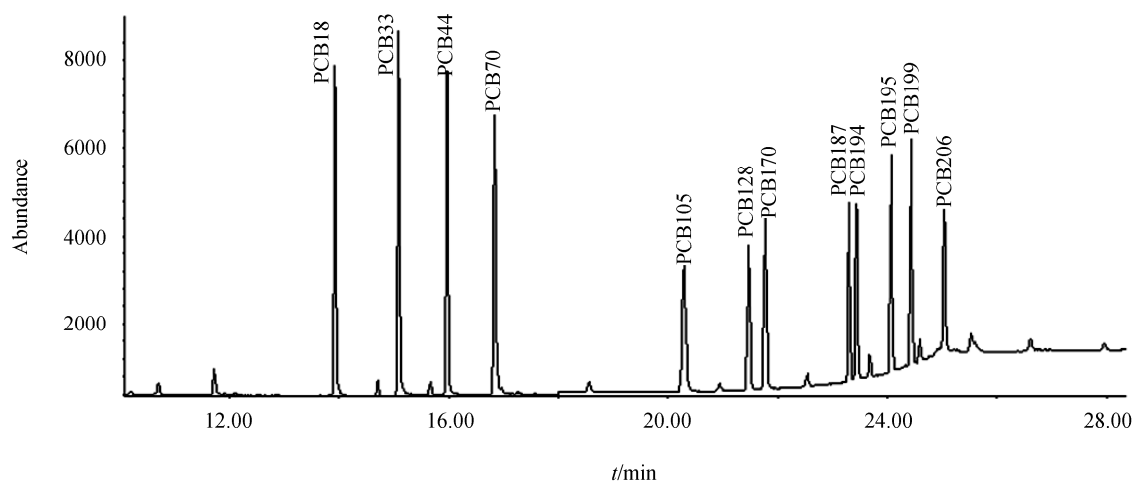


图 1 12 种 PCBs 的总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion chromatogram of 12 kinds of PCBs

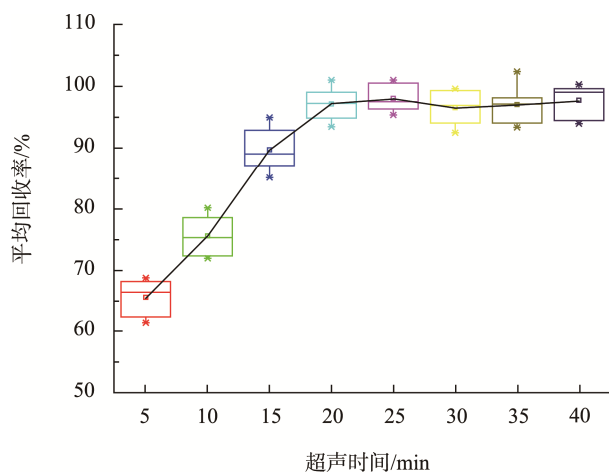


图 2 超声时间对 PCBs 回收率的影响($n=6$)

Fig. 2 Effect of ultrasonic time on the recovery of PCBs ($n=6$)

3.2.2 浓硫酸比例对 PCBs 回收率的影响

由于石油醚对油溶性物质具有较强的提取效果,而 PCBs 具有高度耐酸碱的能力,因此使用浓硫酸能有效除去 PCBs 以外的杂质。但由于浓硫酸具有强氧化性,若浓硫酸一次性加入量过大,会使 PCBs 发生氧化反应,从而降低 PCBs 的回收率。本研究对比了不同浓硫酸加入量对 PCBs 回收率的影响,结果如图 3 所示。从图中可以看出,当浓硫酸的加入比例(浓硫酸:提取液, V:V)小于 10:1 时对 PCBs 的回收率影响较小,表明加入比例为 10:1 时的净化效果较好;随着浓硫酸比例的增加,12 种 PCBs 的平均回收率逐渐降低,因此选取浓硫酸和提取液的体积比为 10:1。

3.2.3 提取次数对 PCBs 回收率的影响

由于样品基质中含有较多脂肪,因此对 PCBs 具

有较强的吸附能力, 可能导致 PCBs 提取不充分, 需要多次提取, 从而提高 PCBs 的提取率。本研究对比了 1~5 次重复提取的效果, 结果如图 4 所示。从图中可以看出, 提取 2 次以上的 PCBs 回收率明显高于提取 1 次的回收率, 且提取 2 次时的 PCBs 回收率已经能够达到检测要求, 考虑到操作的简便性, 选取提取次数为 2 次。

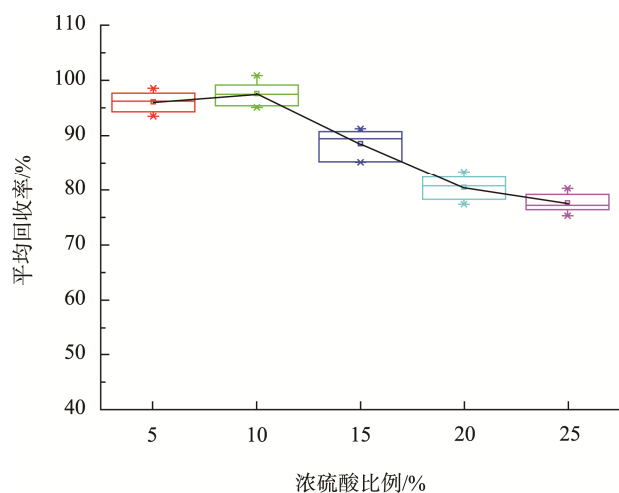


图 3 浓硫酸加入比例对 PCBs 回收率的影响(n=6)
Fig. 3 Effect of vitriol ratio on the recovery of PCBs (n=6)

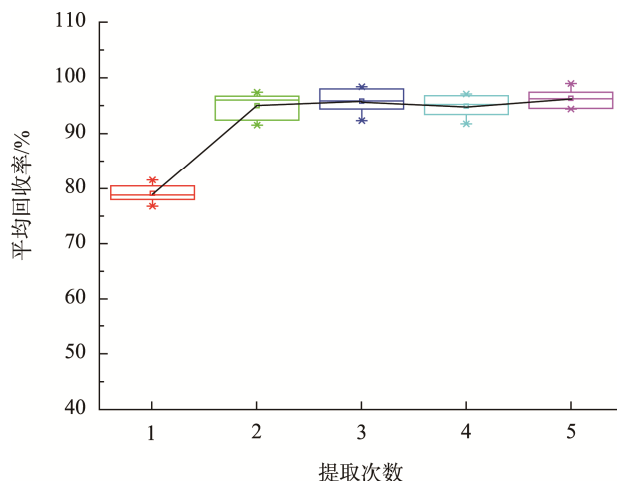


图 4 提取次数对 PCBs 回收率的影响(n=6)
Fig. 4 Effect of times of extraction on the recovery of PCBs (n=6)

3.3 方法的线性关系和检出限

在本研究确定的气相色谱-质谱条件下对 PCBs 混合标准工作溶液进行测定, 以各 PCB 标准品的峰面积(Y)为纵坐标, 相应的浓度(X, $\mu\text{g/L}$)为横坐标, 进行线性回归。结果表明, 各 PCB 标准品的浓度与其相应的峰面积呈良好的线性关系, 线性方程的相关系数 r 均在 0.9989~0.9999 之间。以信噪比 $R_{S/N}=3$ 计算, 得到 12 种 PCBs 的仪器检出限, 对阴性样品进行一定浓度水平的加标, 使上机浓度满足仪器检出限, 确定方法检出限, 结果列于表 2。

表 2 12 种 PCBs 的线性方程、相关系数和方法检出限
Table 2 The linear equations, correlation coefficients and detection limits of 12 kinds of PCBs

组分	浓度范围($\mu\text{g/L}$)	线性方程	相关系数(r)	方法检出限($\mu\text{g/kg}$)
PCB18	10~1000	$Y=156.0X+373.2$	0.9999	1.5
PCB33	10~1000	$Y=231.6X-1609$	0.9993	3.0
PCB44	10~1000	$Y=146.2X-794.3$	0.9998	2.0
PCB70	10~1000	$Y=199.9X+1544$	0.9997	3.0
PCB105	10~1000	$Y=181.1X-1003$	0.9999	2.0
PCB128	10~1000	$Y=104.7X-327.6$	0.9999	2.5
PCB170	10~1000	$Y=105.7X-327.6$	0.9999	2.5
PCB187	10~1000	$Y=108.4X-1413$	0.9995	2.5
PCB194	10~1000	$Y=107.9X-255.9$	0.9999	2.0
PCB195	10~1000	$Y=128.2X+1182$	0.9989	1.5
PCB199	10~1000	$Y=55.99X-622.3$	0.9996	6.0
PCB206	10~1000	$Y=47.60X+457.3$	0.9992	6.0

表 3 回收率及精密度实验结果($n=6$)
Table 3 Results of recovery and precision of the method ($n=6$)

组分	平均本底值($\mu\text{g}/\text{kg}$)	PCBs 添加水平($\mu\text{g}/\text{kg}$)	PCBs 测定平均值($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回收率(%)	日内 RSD(%)
PCB18	5.2	2.5	7.51	92.4	3.67
		5.0	9.93	94.6	4.82
		10.0	14.50	93.0	5.23
PCB33	0.0	2.5	2.21	88.4	4.42
		5.0	4.62	92.4	5.56
		10.0	9.53	95.3	4.77
PCB44	0.0	2.5	2.32	92.8	5.56
		5.0	4.44	88.8	6.58
		10.0	9.81	98.1	7.62
PCB70	0.0	2.5	2.32	92.8	5.80
		5.0	4.39	87.8	6.01
		10.0	9.08	90.8	6.99
PCB105	4.2	2.0	5.97	88.5	8.12
		4.0	7.85	91.3	5.46
		8.0	11.40	90.0	4.57
PCB128	0.0	2.5	2.16	86.4	6.49
		5.0	4.78	95.6	5.14
		10.0	8.99	89.9	3.56
PCB170	0.0	2.5	2.17	86.8	4.64
		5.0	4.55	91.0	3.91
		10.0	9.71	97.1	3.96
PCB187	4.6	2.0	6.35	87.5	4.18
		4.0	8.02	85.5	5.76
		8.0	12.10	93.8	7.55
PCB194	0.0	2.5	2.14	85.6	6.05
		5.0	4.98	99.6	6.12
		10.0	8.98	89.8	4.86
PCB195	0.0	2.5	2.22	88.8	3.74
		5.0	4.56	91.2	7.01
		10.0	9.65	96.5	6.90
PCB199	0.0	2.5	2.32	92.8	5.00
		5.0	4.74	94.8	6.29
		10.0	9.45	94.5	3.74
PCB206	0.0	2.5	2.30	92.0	6.29
		5.0	4.77	95.4	6.25
		10.0	9.21	92.1	4.58

3.4 回收率及精密度实验

用市售三文鱼进行加标实验,先重复测定本底值 6 次,取平均值,并根据本底值进行 3 个不同水平的 PCBs 加标,再分别对 3 个加标水平的样品平行测定 6 次,测得 12 种

PCBs 的平均回收率为 85.5%~99.6%。日内相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)在 3.56%~8.12%范围内,表明方法的重现性好且精密度高,能够达到分析要求。实验结果如表 3 所示。

4 结 论

本研究建立了气相色谱-质谱法同时测定三文鱼中 12 种 PCBs 的方法。在样品的前处理过程中, 采用石油醚进行提取, 浓硫酸和层析柱净化, 有效提高了前处理效率。在本研究的气相色谱-质谱法条件下, 12 种 PCBs 在短时间内得到了较好的分离, 大大缩短了分析时间, 并且得到了良好的定性和定量结果。方法学实验结果表明, 该方法灵敏度高、准确度和精密度良好, 适用于三文鱼中 12 种 PCBs 的快速检测。

参考文献

- [1] 罗庆, 孙丽娜. 超声波提取-GC/MS 法同时测定农田土壤中有氯农药和多氯联苯[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(22): 12195-12197.
Luo Q, Sun LN. Ultrasonic extraction-GC/MS simultaneous determination of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyl residues in agricultural soil [J]. J Anhui Agric Sci, 2010, 38(22): 12195-12197.
- [2] 马召辉, 金军, 王英, 等. GC-NCI-MS 法测定底泥中类二英多氯联苯[J]. 环境科学与技术, 2011, 34(10): 123-126.
Ma ZH, Jin J, Wang Y, et al. Determination of dioxin-like PCBs in sediment by gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry [J]. Environ Sci Technol, 2011, 34(10): 123-126.
- [3] 黄业茹, 施钧慧, 唐莉. GC-MS 分析环境样品中的多氯联苯(PCBs)[J]. 分析测试技术与仪器, 2000, 6(4): 216-224.
Huang YR, Shi JH, Tang L. Analysis of PCBs in environmental samples by GC-MS [J]. Anal Test Technol Instrum, 2000, 6(4): 216-224.
- [4] 邵阳, 杨国胜, 韩深, 等. 加速溶剂萃取-硅胶萃取净化-气相色谱/质谱法检测地表水中有机氯农药和多氯联苯[J]. 分析化学, 2016, 44(5): 698-706.
Shao Y, Yang GS, Han S, et al. Determination of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in surface water using accelerate solvent extraction-silica gel extraction-gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2016, 44(5): 698-706.
- [5] 贺行良, 夏宁, 张媛媛, 等. ASE/GC-MS 法同时测定海洋沉积物中 65 种多氯联苯、多环芳烃与有机氯农药[J]. 分析测试学报, 2011, 30(2): 152-160.
He XL, Xia N, Zhang YY, et al. Simultaneous determination of 65 polychlorinated biphenyls, polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in marine sediments by GC-MS with accelerated solvent extraction [J]. J Instrum Anal, 2011, 30(2): 152-160.
- [6] 王玉飞, 金米聪, 陈晓红. 海产品中指示性多氯联苯单体的 GC/MS/MS 法快速定量测定[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(8): 1511-1512.
Wang YF, Jin MC, Chen XH. Determination of indicator polychlorinated biphenyls in foods by GC/MS/MS [J]. Chinese J Health Lab Technol, 2008, 18(8): 1511-1512.
- [7] 胡红美, 郭远明, 郝青, 等. 超声波萃取-分散固相萃取净化-气相色谱电子捕获法测定土壤或底泥中的多氯联苯[J]. 分析化学, 2016, 44(1): 88-94.
Hu HM, Guo YM, Hao Q, et al. Determination of polychlorinated biphenyls in soil or sediment by gas chromatography-electron capture detection combined with ultrasonic extraction and dispersive solid phase extraction cleanup [J]. Chin J Anal Chem, 2016, 44(1): 88-94.
- [8] 吴益春, 祝世军, 罗海军, 等. 鱼油中多氯联苯检测方法的研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(1): 29-34.
Wu YC, Zhu SJ, Luo HJ, et al. Determination of polychlorinated biphenyls in fish oil [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(1): 29-34.
- [9] 许华, 易荣, 陈大舟, 等. 鱼油中多氯联苯的气相色谱-质谱(GC/MS)分析[J]. 质谱学报, 2003, 24(1): 261-265.
Xu H, Yi R, Chen DZ, et al. Determination of PCBs in Fish Oil by GC/MS [J]. J Chin Mass Spectr Soc, 2003, 24(1): 261-265.
- [10] 唐子刚, 王琳, 郭晓青, 等. 基于 QuEChERS 和 GC-ECD 法检测鱼体中 17 种有机氯农药和多氯联苯残留[J]. 世界科技研究与发展, 2015, 37(3): 277-280.
Tang ZG, Wang L, Guo XQ, et al. Simultaneous analysis of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides residues in Fish by QuEChERS combined with GC-ECD [J]. World Sci Technol Res Dev, 2015, 37(3): 277-280.
- [11] 秦明友, 张新申, 康莉, 等. 全自动固相萃取分子筛脱水气质联用法测定水中多氯联苯[J]. 分析化学, 2013, 41(1): 76-82.
Qin MY, Zhang XS, Kang L, et al. Determination of polychlorinated biphenyls in water samples using automated solid phase extraction and molecular sieve dehydration coupled with gas chromatography/mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2013, 41(1): 76-82.
- [12] 李娟, 高丹. 超声波萃取-GC/MS 法测定土壤中多氯联苯[J]. 环境监测管理与技术, 2007, 19(6): 31-32.
Li J, Gao D. Determination of arochlors in soil by ultrasonic extraction and GC/MS [J]. Admin Techniq Environ Monit, 2007, 19(6): 31-32.
- [13] 张景明, 胡冠九, 周春宏, 等. 多氯联苯的气相色谱/质谱/质谱(GC/MS/MS)法测定[J]. 中国环境监测, 2003, 19(3): 5-8.
Zhang JM, Hu GJ, Zhou CH, et al. Determination of polychlorinated biphenyls by GC/MS/MS method [J]. Environ Monit China, 2003, 19(3): 5-8.
- [14] 谢振伟, 杨坪, 廖琳, 等. 串联四极杆质谱(GC-QqQ-MS/MS)测定土壤中的有机氯农药和多氯联苯[J]. 中国环境监测, 2008, 24(5): 20-24.
Xie ZW, Yang P, Liao C, et al. Determination of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in soil by gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry [J]. Environ Monit China, 2008, 24(5): 20-24.

(责任编辑: 刘 丹)

作者简介



许志彬, 工程师, 主要研究方向为食品及食品相关产品检测, 仪器分析技术。
E-mail: 543715255@qq.com



区硕俊, 助理工程师, 主要研究方向为气液相色谱分析研究。
E-mail: 846476388@qq.com