

# 同位素稀释-气相色谱-串联质谱法同时测定肉制品中16种欧盟优控多环芳烃

鞠 香<sup>1</sup>, 陈克云<sup>1</sup>, 李海霞<sup>1</sup>, 李 洁<sup>1</sup>, 王艳丽<sup>1</sup>, 李芳芳<sup>1</sup>,  
张 卉<sup>1</sup>, 刘艳明<sup>1\*</sup>, 汪 勇<sup>2</sup>

[1. 山东省食品药品检验研究院, 国家市场监督管理总局重点实验室(肉及肉制品监管技术), 产业技术基础公共服务平台, 济南 250101; 2. 岛津企业管理(中国)有限公司, 上海 210005]

**摘要:** **目的** 基于分子印迹特异性净化及同位素稀释-气相色谱-串联质谱法建立同时检测肉制品中16种欧盟优控多环芳烃的分析方法。**方法** 样品中加入氘代同位素内标, 经正己烷-二氯甲烷(7:3, V:V)混合溶液提取, 特异性分子印迹柱净化, 采用DB-EUPAH色谱柱分离, 在多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式下采集, 内标法定量。**结果** 为降低基质效应, 采用基质匹配标准曲线的定量方法。在0.2~200.0 ng/mL范围内, 16种欧盟优控多环芳烃均有良好的线性关系, 线性相关系数( $r^2$ )均大于0.9990, 在1.0、5.0、10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  3个浓度水平下进行加标回收实验, 16种欧盟优控多环芳烃的回收率在85.9%~118.3%之间, 相对标准偏差( $n=6$ ) 在0.4%~6.6%之间, 方法的检出限为0.03~0.10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限为0.10~0.30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。**结论** 该方法前处理简便高效、灵敏度高、准确度高、抗干扰能力强, 可同时实现肉制品中16种欧盟优控多环芳烃的测定。

**关键词:** 欧盟优控多环芳烃; 气相色谱-串联质谱法; 同位素稀释; 分子印迹柱; 肉制品

## Simultaneous determination of 16 kinds of European priority polycyclic aromatic hydrocarbons in meat products by isotope dilution-gas chromatography-tandem mass spectrometry

JU Xiang<sup>1</sup>, CHEN Ke-Yun<sup>1</sup>, LI Hai-Xia<sup>1</sup>, LI Jie<sup>1</sup>, WANG Yan-Li<sup>1</sup>, LI Fang-Fang<sup>1</sup>,  
ZHANG Hui<sup>1</sup>, LIU Yan-Ming<sup>1\*</sup>, WANG Yong<sup>2</sup>

[1. Key Laboratory of Supervising Technology for Meat and Meat Products for State Market Regulation, Industrial Technology Foundation Public Service Platform, Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan 250101, China; 2. Shimadzu Enterprise Management (China) Co., Ltd., Shanghai 210005, China]

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the simultaneous determination of 16 kinds of European priority polycyclic aromatic hydrocarbons in meat products based on the molecular imprinting purification and isotope dilution-gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** Deuterium isotope internal standards were added to the samples, which were extracted by *n*-hexane-dichloromethane (7:3, V:V) mixed solution. The samples were purified by the molecular imprinted column, separated by the DB-EUPAH column, and collected in multiple reaction monitoring (MRM) mode, then quantified by the internal standard method. **Results** In order to reduce the matrix effect, the quantitative method of matrix matching standard curve was used in this experiment. In the range of

基金项目: 山东省药品监督管理局科研项目(SDNMPAFZLS202301)

Fund: Supported by the Scientific Research Project of Shandong Medical Products Administration (SDNMPAFZLS202301)

\*通信作者: 刘艳明, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: msymliu@163.com

\*Corresponding author: LIU Yan-Ming, Ph.D, Professor, Shandong Institute of Food and Drug Control, No.99, Tianluo Road, Gaoxin District, Jinan 250101, China. E-mail: msymliu@163.com

0.2–200.0 ng/mL, all the 16 kinds of European priority polycyclic aromatic hydrocarbons had good linear relationships, and the linear correlation coefficients were all greater than 0.9990. The detection limits of the method were 0.03–0.10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , and the limits of quantification were 0.10–0.30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . The recoveries of 16 kinds of European priority polycyclic aromatic hydrocarbons ranged from 85.9% to 118.3% and the relative standard deviations ( $n=6$ ) ranged from 0.4% to 6.6% at the spiked levels of 1.0, 5.0 and 10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . **Conclusion** The method has the advantages of simple pretreatment, high sensitivity, high accuracy and strong anti-interference ability, and can determine the 16 kinds of European priority polycyclic aromatic hydrocarbons in meat products simultaneously.

**KEY WORDS:** European priority polycyclic aromatic hydrocarbons; gas chromatography-tandem mass spectrometry; isotope dilution; molecular imprinted column; meat products

## 0 引言

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是一类广泛存在的环境污染物,主要来源于工业应用中有机物的不完全燃烧,对人类具有致癌性、遗传毒性及诱变性,严重威胁人类健康<sup>[1-2]</sup>。目前,多环芳烃通常指美国环保署(Environmental Protection Agency, EPA)在 1979 年提出的 16 种优控 PAHs(表 1),简称 EPA-PAHs; 2008 年欧盟食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)对食物中 PAHs 重新进行评估,提出应该优先检测的 16 种 PAHs,即欧盟优先控制 16 种 PAHs(表 1),简称 EU-PAHs,其毒性远大于 EPA 提出的 16 种 PAHs,均为重质多环芳烃,沸点高,脂溶性强,更能真实反映食品中 PAHs 的污染情况,更具代表性。多环芳烃具有高亲脂性,可通过食物链的方式富集于动物脂肪组织中,并在肉制品的生产、加工和存储过程中发生迁移和进一步的富集,因此,肉制品中多环芳烃存在的风险因素很大<sup>[3-5]</sup>。肉类是蛋白质的重要来源,考虑到它们在人类饮食中的高消耗量以及肉类生产、加工过程中的意外污染等其他因素,监测肉制品中 16 种 EU-PAHs 的含量显得尤为重要。

目前,食品中 PAHs 检测的前处理方法有索氏提取<sup>[6-7]</sup>、超声辅助萃取<sup>[8-11]</sup>、微波辅助萃取<sup>[12]</sup>、固相萃取法<sup>[13]</sup>、磁固相萃取法<sup>[14-15]</sup>、分子印迹固相萃取<sup>[16]</sup>等。索氏提取法溶剂消耗量大,对环境不友好;超声波辅助萃取和微波辅助萃取法易将杂质等非目标物共萃取,影响结果的准确性,磁固相萃取法需要制备材料,而分子印迹固相萃取柱商品化程度高,具有特异性好、操作简单、使用溶剂少、高通量等优点。PAHs 的仪器检测方法主要有高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)<sup>[17]</sup>、液相色谱-串联质谱法<sup>[18-20]</sup>、气相色谱-质谱法<sup>[21-22]</sup>、气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)<sup>[23-25]</sup>等。某些不具备荧光性的 PAHs 限制了 HPLC 的测定种类,且 HPLC 的分析时间长、基线易漂移。童兰艳等<sup>[22]</sup>采用 GC-MS 测定了烟熏及烧烤肉制品中 16 种欧盟优控多环芳烃,该方法有很高的选择性和分辨率,但

表 1 16 种 EPA-PAHs 和 16 种 EU-PAHs  
Table 1 The 16 kinds of EPA-PAHs and 16 kinds of EU-PAHs

序号	EU-PAHs		化学结构
	名称		
1	萘 <sup>#</sup>	/	
2	苊烯 <sup>#</sup>	/	
3	苊 <sup>#</sup>	/	
4	芘 <sup>#</sup>	/	
5	菲 <sup>#</sup>	/	
6	蒽 <sup>#</sup>	/	
7	荧蒽 <sup>#</sup>	/	
8	䓛 <sup>#</sup>	/	
9	苯并(a)蒽	BaA	
10	䓞	CHR	
11	苯并(b)荧蒽	BbFA	
12	苯并(k)荧蒽	BkFA	
13	苯并(a)䓛	BaP	
14	茚并(1,2,3-cd)䓛	IP	
15	二苯并(a,h)蒽	DBaA	
16	苯并(g,h,i)䓞	BghiP	
17	苯并(c)芘 <sup>&amp;</sup>	BcFL	
18	环戊并(c,d)䓛 <sup>&amp;</sup>	CPP	
19	5-甲基䓞 <sup>&amp;</sup>	MCH	
20	苯并(j)荧蒽 <sup>&amp;</sup>	BjFA	
21	二苯并(a,l)䓛 <sup>&amp;</sup>	DBaIP	
22	二苯并(a,e)䓛 <sup>&amp;</sup>	DBaeP	
23	二苯并(a,i)䓛 <sup>&amp;</sup>	DBaiP	
24	二苯并(a,h)䓛 <sup>&amp;</sup>	DBahP	

注: /表示无此项; PAHs 名称左上角无上标的同属于 EPA-PAHs 和 EU-PAHs; <sup>#</sup>EPA-PAHs; <sup>&</sup>EU-PAHs。

单四极杆选择离子监测模式受基质影响较大, 实际样品测定时干扰多, 容易导致部分目标物与杂质的分离达不到要求, 影响结果的定性和定量, 降低方法的灵敏度; 而串联质谱的多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式在降低基质干扰方面有明显优势, 目标物的母离子在碰撞前, 大部分干扰已被四极杆筛选过滤掉, 碰撞后特征母离子和子离子的一一对应性使其抗干扰能力更强, 灵敏度和选择性更高。同位素标记物作为内标的同位素稀释质谱法进一步降低基质效应、减少前处理和质谱检测器等因素对分析结果的影响<sup>[26]</sup>, 有效校正分析方法中可能出现的误差, 大大提高方法灵敏度和定性定量的准确性。

GC-MS 已被广泛应用于多环芳烃的检测, 但检测种类以 16 种 EPA-PAHs 为主。16 种 EU-PAHs 有更多的高环 PAHs 和同分异构体, 分离和检测难度较大, 对前处理方法和仪器有更高的要求。且肉制品基质复杂, 富含脂肪、蛋白质、有机酸等物质, 多环芳烃的含量较低, 因此, 高特异性、高灵敏度检测肉制品中 16 种欧盟优控 PAHs 残留的精准检测方法亟待建立。目前, 国内对于肉制品中 16 种 EU-PAHs 的研究较少, 童兰艳等<sup>[22]</sup>采用的分散固相萃取-超低温液液萃取净化方法, 对实验温度要求较高且步骤较为烦琐, 不适用于实验室中批量样品的检验工作。本研究利用分子印迹柱的特异性识别进行净化, 拟建立一种简单高效的同位素稀释-GC-MS/MS 测定肉制品中 16 种 EU-PAHs 方法, 为肉制品中 16 种 EU-PAHs 的检测提供技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

GC-MS/MS-8040 气相色谱-串联质谱仪[配有电子轰击离子源(electron impact, EI)、分子印迹柱(300 mg/6 mL, 日本岛津公司); MS3 涡旋混合器(德国 IKA 公司); 3-18KS 离心机(德国 Sigma 公司); N-EVAP116 氮吹仪(美国 Organomation 公司); SQP 型电子天平(精度 0.01 g, 北京赛多利斯天平有限公司); EMR-lipid 固相萃取柱(300 mg/6 mL)、DB-EUPAH 毛细管柱(20 m×0.18 mm, 0.14 μm)(美国安捷伦公司)。

正己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、异辛烷(色谱纯, 德国默克有限公司); 无水硫酸钠、氯化钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); QuEChERS 净化管[900 mg MgSO<sub>4</sub>+150 mg N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)+150 mg C<sub>18</sub>, 美国沃特世公司]; 16 种多环芳烃混合标准溶液(10 μg/mL)、7 种内标的混合标准溶液[D<sub>12</sub>-苯并(a)蒽、D<sub>12</sub>-蒽、D<sub>12</sub>-苯并(b)荧蒽、D<sub>12</sub>-苯并(a)芘、D<sub>14</sub>-二苯并(a,h)蒽、D<sub>14</sub>-二苯并(g,h,i)和 D<sub>12</sub>-茚并(1,2,3-c,d)芘](100 μg/mL)(北京曼哈格生物科技有

限公司)。

### 1.2 标准溶液配制

标准储备液: 将多环芳烃混合标准溶液、内标溶液分别用异辛烷+丙酮(1:1, V:V)稀释至 10 mL 容量瓶中, 得到 1 μg/mL 的混合标准储备液和 2.5 μg/mL 的内标混合储备液。

中间工作液: 准确移取适量标准储备液, 用异辛烷+丙酮(1:1, V:V)稀释成质量浓度为 0.1 μg/mL 的混合中间液。

系列标准工作液: 用异辛烷+丙酮(1:1, V:V)稀释中间工作液和内标溶液, 得到质量浓度分别为 0.2、1.0、5.0、10.0、50.0、100.0、200.0 ng/mL, 内标质量浓度为 50 ng/mL 的系列标准工作液。

基质匹配工作溶液: 选取空白样品, 不加内标, 其余步骤按照 1.3 操作处理至氮吹浓缩近干后, 分别加入 1 mL 上述 7 个质量浓度的系列标准工作溶液, 配制成基质匹配工作溶液, 临用时现配。

### 1.3 前处理方法

#### 1.3.1 样品的提取

准确称取 2.0 g(准确至 0.01 g)匀浆样品至 50 mL 具塞离心管中, 加入 20 μL 内标溶液, 加入 10 mL 正己烷+二氯甲烷(7:3, V:V), 涡旋提取 5 min 后, 加入 4 g 氯化钠, 涡旋混匀 2 min, 8500 r/min 离心 3 min, 取上清液于 15 mL 具塞刻度管中, 40°C 水浴下氮吹至近干, 用 5 mL 正己烷复溶后待净化。

#### 1.3.2 样品的净化

将分子印迹柱依次用 3 mL 二氯甲烷和 3 mL 正己烷淋洗活化, 将待净化液转移至分子印迹柱上, 流速控制在 1.0 mL/min 左右, 待液体全部通过填料后, 先用 5 mL 正己烷淋洗除去非极性杂质, 再用 5 mL 二氯甲烷-乙酸乙酯(1:1, V:V)洗脱, 收集洗脱液于 15 mL 具塞离心管中, 洗脱液在 40°C 水浴中氮吹近干, 准确加入 1.0 mL 丙酮-异辛烷(1:1, V:V)溶解残留物, 并转移至进样瓶中, 供 GC-MS/MS 测定。

### 1.4 仪器条件

气相色谱条件: 进样口温度: 280°C; 进样模式: 不分流进样; 柱流量: 1.75 mL/min。色谱柱: DB-EUPAH 毛细管柱(20 m×0.18 mm, 0.14 μm); 色谱柱升温程序: 起始温度为 50°C, 保持 2 min, 以 15°C/min 速率程序升温至 220°C, 然后 3.5°C/min 升至 315°C 保持 9 min。

质谱条件: EI: 70 eV; 离子源温度: 250°C; 接口温度: 300°C; 采集模式: MRM 模式。

### 1.5 基质效应评价方法

由于共提取物的存在, 样品溶液注入仪器后, 分析目标物的信号可能会增强或者减弱, 进而产生基质效应(matrix effect, ME), 本研究通过比较基质匹配标准曲线的斜率与溶

剂标准曲线的斜率来评价基质效应,按照公式(1)计算。

$$ME/\%=[\text{基质匹配标准曲线的斜率}/\text{溶剂标准曲线的斜率}-1]\times 100\% \quad (1)$$

## 1.6 数据处理

使用日本岛津公司 Lab Solution GCMS Solution Ver 4.50 软件和 Origin 9.0 软件进行相关数据处理和分析。

## 2 结果与分析

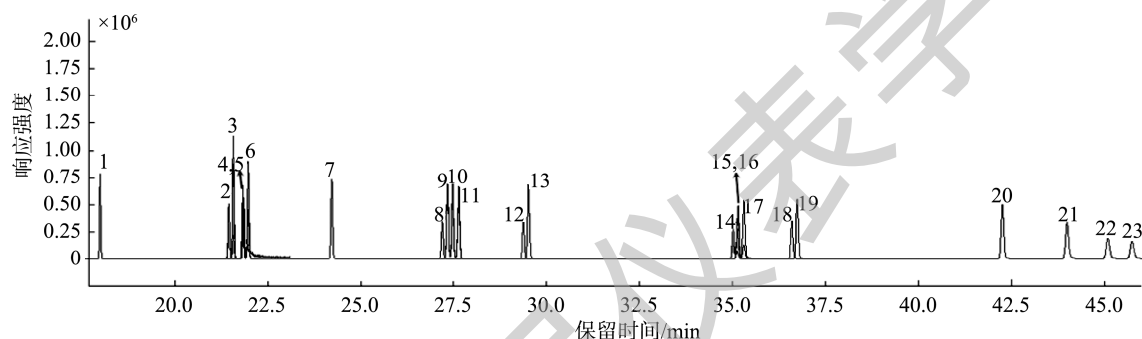
### 2.1 色谱条件的选择

EU-PAHs 种类多,对色谱柱的分离效果要求高,其中,互为同分异构体的苯并(b)荧蒹、苯并(k)荧蒹和苯并(j)荧蒹在 HP-5MS 色谱柱中不能有效分离。本研究选用

DB-EUPAH 色谱柱,对升温程序、离子化温度、色谱柱流量等进行优化,使得苯并(b)荧蒹、苯并(k)荧蒹和苯并(j)荧蒹基本达到基线分离,其余目标物及其内标在色谱柱中也达到有效分离,满足检测要求。16 种 PAHs 和 7 种内标的总离子流图见图 1。

### 2.2 质谱条件的优化

将 16 种目标物和 7 种氘代内标的混合标准溶液注入气相色谱-串联质谱仪中进行全扫描,通过比对 NIST 谱库,得到保留时间和碎片离子,选择质量数大且强度较高的离子作为前级离子,然后利用岛津仪器软件自带的 Auto SRM 功能,得到离子对和碰撞能量的优化曲线,选择最优的离子对和碰撞能量(表 2)。



注: 1. 苯并(c)芘; 2. D<sub>12</sub>-苯并(a)蒹; 3. 苯并(a)蒹; 4. D<sub>12</sub>-蒹; 5. 环戊并(c,d)芘; 6. 蒹; 7. 5-甲基蒹; 8. D<sub>12</sub>-苯并(b)荧蒹; 9. 苯并(b)荧蒹; 10. 苯并(k)荧蒹; 11. 苯并(j)荧蒹; 12. D<sub>12</sub>-苯并(a)芘; 13. 苯并(a)芘; 14. D<sub>12</sub>-苊并(1,2,3-c,d)芘; 15. D<sub>14</sub>-二苯并(a,h)蒹; 16. 苊并(1,2,3-c,d)芘; 17. 二苯并(a,h)蒹; 18. D<sub>12</sub>-苯并(g,h,i)花; 19. 苯并(g,h,i)花; 20. 二苯并(a,l)芘; 21. 二苯并(a,e)芘; 22. 二苯并(a,i)芘; 23. 二苯并(a,h)芘。

图 1 16 种 PAHs 和 7 种内标的总离子流色谱图(50 ng/mL)

Fig.1 Total ion chromatograms of 16 kinds of PAHs and 7 kinds of internal standards (50 ng/mL)

表 2 MRM 模式下 16 种 PAHs 和 7 种内标的保留时间、定量定性离子对及碰撞能量

Table 2 Retention times, monitoring ion pairs and collision energies of 16 kinds of PAHs and 7 kinds of internal standards in MRM mode

序号	化合物	保留时间/min	定量离子对(m/z), 碰撞能量/eV	定性离子对(m/z), 碰撞能量/eV
1	苯并(c)芘	18.015	215.00>213.10, 27	215.00>189.10, 24; 216.00>213.00, 45
2	D <sub>12</sub> -苯并(a)蒹	21.477	240.00>236.10, 30	236.00>232.00, 36; 240.00>212.10, 30
3	苯并(a)蒹	21.599	228.00>226.00, 30	226.00>224.00, 33; 228.00>224.90, 45
4	D <sub>12</sub> -蒹	21.854	240.00>236.00, 36	236.00>232.00, 36; 240.00>212.10, 33
5	环戊并(c,d)芘	21.878	226.00>223.90, 42	224.00>221.80, 33; 227.00>225.00, 36
6	蒹	21.998	228.00>226.00, 33	226.00>224.10, 33; 229.00>227.10, 33
7	5-甲基蒹	24.253	241.00>239.10, 27	242.00>239.00, 39; 239.00>236.90, 33
8	D <sub>12</sub> -苯并(b)荧蒹	27.221	264.00>260.10, 42	260.00>256.00, 39; 264.00>232.20, 45
9	苯并(b)荧蒹	27.367	252.00>250.00, 33	250.00>247.80, 42; 253.00>251.00, 33
10	苯并(k)荧蒹	27.505	252.00>250.00, 33	250.00>247.90, 33; 253.00>251.20, 36

表 2(续)

序号	化合物	保留时间/min	定量离子对( <i>m/z</i> ), 碰撞能量/eV	定性离子对( <i>m/z</i> ), 碰撞能量/eV
11	苯并(j)荧蒽	27.668	252.00>250.00, 33	250.00>247.80, 39 253.00>251.10, 33
12	D <sub>12</sub> -苯并(a)芘	29.402	264.00>260.00, 36	260.00>256.00, 33 260.00>258.00, 30
13	苯并(a)芘	29.544	252.00>250.00, 33	250.00>248.00, 30 253.00>251.10, 30
14	D <sub>12</sub> -茚并(1,2,3-c,d)芘	35.052	288.00>284.10, 42	284.00>280.10, 42 288.00>285.80, 39
15	D <sub>14</sub> -二苯并(a,h)蒽	35.158	292.00>288.00, 39	288.00>283.90, 39 292.00>284.00, 45
16	茚并(1,2,3-c,d)芘	35.181	276.00>274.00, 39	277.00>275.00, 39 274.00>272.20, 36
17	二苯并(a,h)蒽	35.336	278.00>276.00, 36	276.00>273.90, 33 279.00>277.00, 36
18	D <sub>12</sub> -苯并(g,h,i)芘	36.628	288.00>283.90, 39	288.00>286.10, 36 284.00>280.00, 39
19	苯并(g,h,i)芘	36.768	276.00>273.90, 39	274.00>271.90, 36 277.00>274.90, 39
20	二苯并(a,l)芘	42.292	302.00>299.90, 33	300.00>297.90, 33 303.00>301.00, 33
21	二苯并(a,e)芘	44.039	302.00>299.90, 39	300.00>298.00, 33 303.00>301.00, 39
22	二苯并(a,i)芘	45.138	302.00>299.90, 39	300.00>297.60, 45 303.00>300.90, 36
23	二苯并(a,h)芘	45.797	302.00>300.00, 39	303.00>301.10, 36 300.00>298.10, 36

### 2.3 提取溶剂的选择

提取溶剂的选择要充分考虑样品基质的复杂性和待测目标物的物理化学性质, 多环芳烃为脂溶性化合物, 易溶于正己烷、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯和异辛烷等非极性或中等极性溶剂。通过查阅文献[27-30], 本研究选择正己烷、正己烷+二氯甲烷(7:3, V:V)、正己烷+丙酮(1:1, V:V)

和丙酮+乙酸乙酯+异辛烷(2:2:1, V:V:V)作为提取溶剂, 通过添加回收率的对比筛选最佳的提取溶剂。结果如图 2 所示, 非极性溶剂正己烷作为提取溶剂时, 提取出的脂肪较多, 对后续净化不利。正己烷+二氯甲烷(7:3, V:V)、正己烷+丙酮(1:1, V:V)和丙酮+乙酸乙酯+异辛烷(2:2:1, V:V:V)这 3 种溶剂, 极性溶剂的比例逐渐增大, 提取溶剂的极性依次增

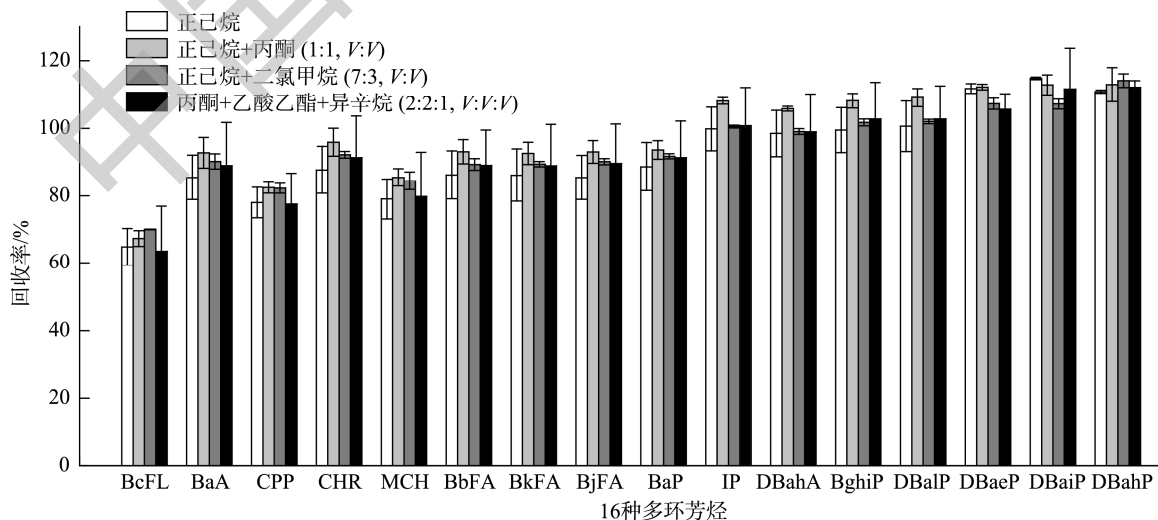


图 2 不同提取溶剂对提取效率的影响

Fig.2 Effects of different extraction solvents on extraction efficiency

强,提取过程中对非极性目标物提取率逐渐降低,对极性非目标物的提取越来越高。正己烷、正己烷+丙酮(1:1, V:V)和丙酮+乙酸乙酯+异辛烷(2:2:1, V:V:V)作为提取溶剂时,回收率分别在 64.5%~115.1%、60.0%~113.2%和 63.4%~112.2%之间,回收率的相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)分别在 1.4%~7.8%、2.3%~5.0%和 1.9%~13.4%之间;正己烷+二氯甲烷(7:3, V:V)作为提取溶剂时,16种 PAHs 的回收率最好,在 70.5%~114.2%之间,回收率的偏差最小,在 0.5%~2.0%之间,重现性最佳。本研究将以正己烷+二氯甲烷(7:3, V:V)作为提取溶剂。

## 2.4 提取溶剂体积的优化

提取溶剂的体积会影响目标物的提取效率,体积太少,目标物不能被充分提取出来,灵敏度不能满足要求,体积太大会造成溶剂浪费,提高实验成本并造成环境污染。鉴于以上原因,本研究对提取溶剂的体积进行优化,分别用 5、10、15、20 mL 的正己烷+二氯甲烷(7:3, V:V)对 16 种 PAHs 进行提取,考察其回收率。结果如图 3 所示,随着提取体积的增大,目标物的回收率提高,当提取体积为 10 mL 时提取效率达到最高,回收率在 70.1%~96.2%之间,所以本研究选择 10 mL 作为最终提取体积。

## 2.5 净化方式的选择

肉制品基质复杂,正己烷+二氯甲烷(7:3, V:V)作为提取溶剂时部分脂肪作为共萃物被提取出来,影响目标物的准确定量并会对色谱系统产生污染,因此,如何高效去除提取液中脂肪等杂质是肉制品中 PAHs 检测的关键步骤。传统的脂质净化方法有皂化法、凝胶渗透色谱法(gel permeation chromatography, GPC)净化和冷冻除脂等。皂化法可以有效去除大部分脂质,但皂化过程中 PAHs 特别是

BcFL 损失较大,皂化条件苛刻,前处理过程烦琐、耗时,不适合快速检测。GPC 净化设备成本高、溶剂消耗量大、耗时长,不适用于批量样品的检测。冷冻除脂虽然操作简便、成本低,但该方法耗时长、效率较低,且提取液脱离冷冻环境后部分油脂很快又溶解在溶剂中,降低净化效果。鉴于此,本研究考察了 QuEChERS 净化、EMR-lipid 固相萃取和 MIP-PAHs 分子印迹固相萃取 3 种净化方式对样品提取液的净化效果。QuEChERS 净化具有简便、快速、经济等优势,广泛应用于农药残留、污染物检测等领域,其填料 PSA 和  $C_{18}$  能有效去除有机酸、脂肪等杂质;EMR-lipid 固相萃取是基于体积排阻和吸附剂与脂质的长脂肪链官能团之间的疏水相互作用来去除脂质,能够高选择性、高效去除脂质基质;MIP-PAHs 分子印迹柱是通过合成分子印迹聚合物,并利用其构效预定性和特异识别性,对目标组分进行吸附,达到分离纯化目的。将上述 3 种净化液进行质谱全扫描,由全扫描图(图 4a)可以看出, MIP-PAHs 分子印迹柱作为净化方式时,其总离子流图杂质峰最少,基线最平稳。

同时,本研究考察了 3 种净化方式下 16 种 PAHs 的回收率,在空白样品中添加质量浓度为 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的标准混合溶液,比较 3 种净化方式的回收率,结果见图 4b。QuEChERS 净化的回收率在 78.2%~96.7%之间,EMR-lipid 固相萃取柱净化的回收率在 86.8%~97.7%之间,分子印迹柱净化的回收率在 90.4%~106.6%之间,3 种净化方式的回收率都能满足实验要求,但 MIP-PAHs 分子印迹柱回收率相对更好,且分子印迹柱净化后的样品杂质峰最少,最干净,综合考虑净化效果对后续仪器和灵敏度的影响,本研究选择 MIP-PAHs 分子印迹柱作为最终的净化除脂方式。

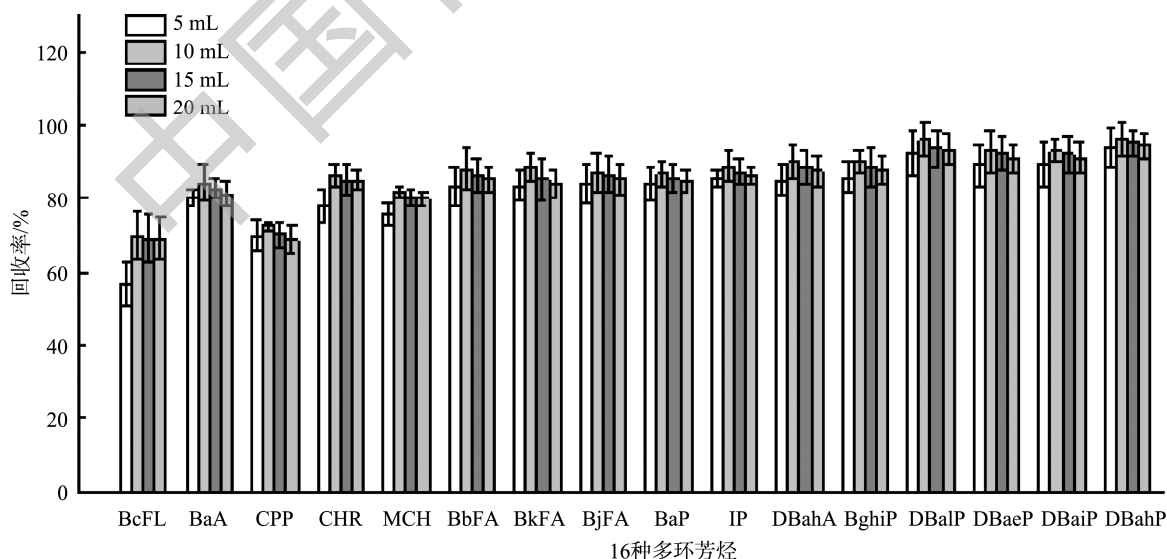


图 3 不同提取体积对提取效率的影响

Fig.3 Effects of different solvent extraction volumes on extraction efficiency

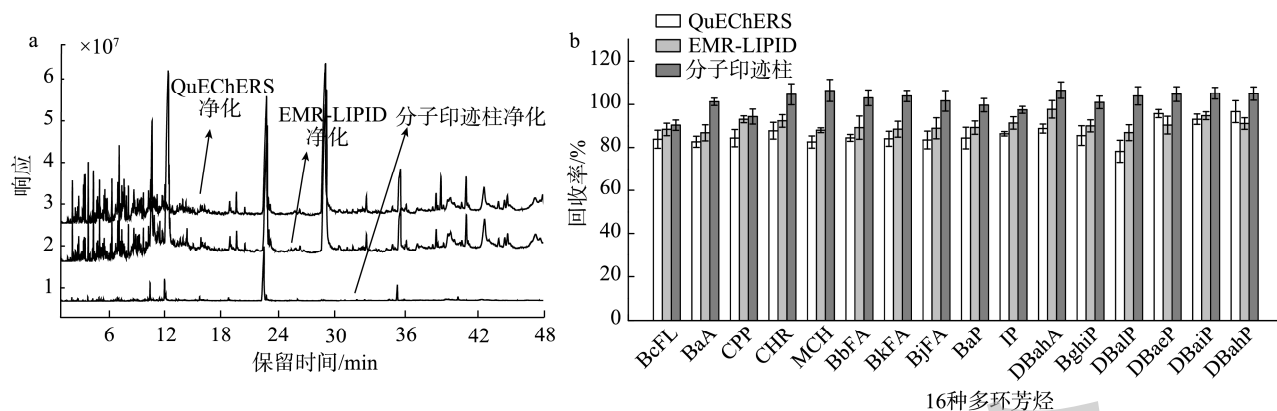


图 4 3 种净化液的全扫描色谱图(a)及 3 种净化方式的回收率(b)

Fig.4 Full-scan chromatograms of 3 kinds of purification solutions (a) and recoveries of 3 kinds of purification methods (b)

2.6 基质效应

基质效应是影响检测结果准确性和重复性的重要因素, 本研究考察了 16 种目标物的基质效应。结果显示, 4 种目标物[二苯并(a,l)芘、二苯并(a,e)芘、二苯并(a,i)芘、二苯并(a,h)芘]的 MEs 在 20%~50%范围内, 表现为中等增强基质效应, 其余 12 种目标物的 ME 均小于 20%, 无显著基质效应。肉制品基质复杂, 种类繁多, 为降低基质效应对检测结果带来的影响, 本研究采用基质匹配标准工作溶液进行定量分析。

2.7 方法学评价

2.7.1 线性范围、相关系数及定量限

将质量浓度为 0.2、1.0、5.0、10.0、50.0、100.0、200.0 ng/mL 的系列基质匹配标准工作溶液, 按照 1.4 仪器分析条件进行测定, 以质量浓度为横坐标(X, ng/mL), 以各

PAHs 与内标峰面积的比值(Y)为纵坐标绘制标准曲线, 得出线性方程。同时, 在肉制品空白样品中添加不同含量水平的 PAHs, 以信噪比(S/N)≥3 时对应的添加水平为检出限(limits of detection, LODs), 信噪比(S/N)≥10 时对应的添加水平为定量限(limits of quantification, LOQs), 结果表明: 16 种 PAHs 在 0.2~200.0 ng/mL 范围内具有良好的线性关系, 相关系数均大于 0.9990, 16 种 PAHs 的 LODs 在 0.03~0.10 μg/kg 之间, LOQs 在 0.10~0.30 μg/kg 之间, 满足 16 种 PAHs 的检测要求。具体结果见表 3。

2.7.2 方法准确度和精密度

利用本研究建立的检测方法, 进行空白样品中 3 个不同浓度水平(1.0、5.0、10.0 μg/kg)的加标回收实验, 每个加标水平平行测定 6 次, 16 种 PAHs 的平均回收率在 85.9%~118.3%之间, RSDs 在 0.4%~6.6%之间, 表明方法的灵敏度高和准确度均较高。具体结果见表 3。

表 3 16 种 PAHs 的线性方程、线性相关系数、LODs、LOQs 和加标回收实验结果(n=6)  
Table 3 Linear equations, linear correlation coefficients, LODs, LOQs and experimental results of labeling recoveries for 16 kinds of PAHs (n=6)

序号	化合物	线性方程	线性相关系数	LODs / (μg/kg)	LOQs / (μg/kg)	平均回收率/%(RSDs/%)		
						1.0 μg/kg	5.0 μg/kg	10.0 μg/kg
1	苯并(c)芘	$Y=0.6358X-3.518E^{-004}$	0.9990	0.10	0.30	98.1(0.8)	85.9(2.8)	87.4(2.5)
2	苯并(a)蒽	$Y=1.2335X-2.584E^{-003}$	0.9997	0.03	0.10	110.8(2.0)	106.1(1.1)	101.2(1.0)
3	环戊并(c,d)芘	$Y=0.6637X-6.068E^{-003}$	0.9996	0.10	0.30	99.6(5.6)	94.3(2.3)	94.4(6.1)
4	蒽	$Y=1.0098X-1.060E^{-003}$	0.9993	0.10	0.30	114.7(1.7)	107.6(1.3)	104.8(4.9)
5	5-甲基蒽	$Y=0.5182X-2.830E^{-004}$	0.9993	0.10	0.30	99.7(1.5)	100.2(0.4)	106.5(5.9)
6	苯并(b)荧蒽	$Y=1.9353X-1.149E^{-002}$	0.9996	0.03	0.10	114.5(1.9)	108.3(1.7)	103.1(1.1)
7	苯并(k)荧蒽	$Y=1.7092X-9.266E^{-003}$	0.9995	0.03	0.10	118.3(6.6)	112.9(2.2)	114.0(1.1)
8	苯并(j)荧蒽	$Y=1.8790X-6.262E^{-003}$	0.9997	0.03	0.10	106.6(1.2)	105.4(1.9)	101.7(1.2)
9	苯并(a)芘	$Y=3.6168X-1.009E^{-002}$	0.9993	0.03	0.10	104.5(1.1)	102.7(1.6)	99.7(0.7)
10	茚并(1,2,3-c,d)芘	$Y=1.8846X-9.352E^{-003}$	0.9996	0.03	0.10	105.5(2.4)	101.7(1.7)	97.5(1.2)
11	二苯并(a,h)蒽	$Y=1.2744X-3.684E^{-003}$	0.9994	0.03	0.10	104.2(3.2)	109.7(2.4)	106.6(0.8)
12	苯并(g,h,i)芘	$Y=1.5349X-7.012E^{-003}$	0.9997	0.03	0.10	113.0(1.4)	106.9(1.5)	101.0(0.6)
13	二苯并(a,l)芘	$Y=1.2531X-6.362E^{-003}$	0.9997	0.03	0.10	105.3(2.3)	107.7(1.1)	104.0(1.4)
14	二苯并(a,e)芘	$Y=0.9655X-8.715E^{-003}$	0.9994	0.10	0.30	116.3(2.4)	109.8(3.1)	114.8(3.3)
15	二苯并(a,i)芘	$Y=0.5846X-3.640E^{-003}$	0.9996	0.10	0.30	115.7(2.7)	115.9(2.5)	115.3(1.6)
16	二苯并(a,h)芘	$Y=0.5826X-5.895E^{-003}$	0.9994	0.10	0.30	114.5(4.2)	114.9(1.9)	115.1(2.3)

## 2.8 实际样品的检测

利用建立的方法对市售的 10 批次火腿肠、5 批次酱香鸡和 5 批次酱牛肉样品进行了检测。结果显示, 10 批次火腿肠中有 6 批次检出苯并(a)蒽和苯并(g,h,i)芘, 检出值分别在 0.10~0.24  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 0.15~0.42  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之间, 1 批次样品检出苯并(a)芘, 检出值为 0.16  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 5 批次酱香鸡中有 4 批次检出苯并(a)蒽, 检出值在 0.11~0.17  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之间, 1 批次检出环戊并(c,d)芘, 检出值为 1.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 1 批次检出苯并(a)芘, 检出值为 0.23  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 5 批次酱牛肉中, 有 1 批次检出苯并(a)蒽, 检出值为 0.20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。GB 2762—2022《食品安全国家标准 食品中污染物限量》中, 对肉及肉制品仅规定苯并(a)芘的含量不得超过 5.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 欧盟 Regulation (EC) No 835/2011 法规规定, 烟熏肉及肉制品中苯并(a)芘含量不能超过 2.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 苯并(a)芘、苯并(a)蒽、苯并(b)荧蒽、蒽 4 种之和不能超过 12.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。从检测结果可以看出, 所检测样品有不同程度、不同种类的多环芳烃检出, 其中, 苯并(a)芘及其与苯并(a)蒽、苯并(b)荧蒽和蒽 4 项之和的检出值均低于我国和欧盟的限量规定, 处于较安全水平。

## 3 结论

区别于传统的 16 种 EPA-PAHs, 本研究以沸点高、脂溶性强、毒性更大且均为重质多环芳烃的 16 种欧盟优控 PAHs 为研究内容, 利用稳定同位素内标和分子印迹特异性净化, 结合 GC-MS/MS 的 MRM 模式, 最大程度地排除基质干扰, 提高选择性和灵敏度, 解决肉制品中多环芳烃含量低, 除杂效果差, 皂化、GPC 等传统除脂方法过程烦琐且灵敏度难以达到要求等问题, 建立了肉制品中 16 种欧盟优控 PAHs 的同位素稀释-GC-MS/MS 精准检测方法。在此基础上, 本研究优化了提取溶剂种类和提取体积, 实现 16 种欧盟优控 PAHs 的高效提取; 并考察了不同净化方式, 利用分子印迹柱的特异识别技术实现样品的最佳净化。该方法前处理过程简便高效, 检测方法灵敏度高、操作特异性好、准确度高, 可同时实现 16 种欧盟优控 PAHs 的精准定性和精确定量, 检测结果准确、可靠, 可满足肉制品中 16 种欧盟优控 PAHs 的监测需求。

为兼顾种类较多的目标物极性, 本研究以正己烷+二氯甲烷(7:3, V:V)复合溶剂进行提取, 其中的二氯甲烷毒性较大; 肉制品基质复杂, 目标物同分异构体较多, 实际样品测定时, 为尽量避免出现目标物和干扰物不能完全分离的情况, 本研究采用了较长的色谱分析时间。在以后的研究中, 将进一步优选毒性低且能兼顾提取效率的提取溶剂, 并对净化方式作进一步优化来缩短色谱分析时间。

## 参考文献

[1] CHEN BH, INBARAJ BS, HSU KC. Recent advances in the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in food and water [J]. *J Food Drug Anal*, 2022, 30(4): 494–522.

- [2] SINGH L, VARSHNEY JG, AGARWAL T. Polycyclic aromatic hydrocarbons formation and occurrence in processed food [J]. *Food Chem*, 2016, 199: 768–781.
- [3] TSUTSUMI T, ADACHI R, MATSUDA R, *et al.* Concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked foods in Japan [J]. *J Food Prot*, 2020, 83(4): 692–701.
- [4] BARBOSA FJ, ROCHA BA, SOUZA MCO, *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): Updated aspects of their determination, kinetics in the human body, and toxicity [J]. *J Toxicol Environ Health B*, 2023, 26(1): 28–65.
- [5] 邢巍, 刘兴运, 许朝阳, 等. 食品中痕量多环芳烃检测技术的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(17): 7036–7042.
- XING W, LIU XY, XU CY, *et al.* Research progress on detection technology of trace polycyclic aromatic hydrocarbons in food [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(17): 7036–7042.
- [6] 王丽霞, 张敬轩, 李挥, 等. 自动索氏提取-高效液相色谱法同时测定油炸面制品中的 16 种多环芳烃[J]. *河北省科学院学报*, 2009, 26(1): 43–46.
- WANG LX, ZHANG JX, LI H, *et al.* Determination of sixteen polycyclic aromatic hydrocarbons in fried wheat products by automated soxhlet extraction-HPLC analysis [J]. *J Hebei Acad Sci*, 2009, 26(1): 43–46.
- [7] SUN Y, PANG Y, ZHANG J, *et al.* Application of molecularly imprinted polymers for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in lipid matrix-based biological samples [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2017, 409(29): 6851–6860.
- [8] 朱严华, 杨波, 黄菊, 等. 超声提取-气相色谱-串联质谱法测定煎烤鱿鱼中 16 种多环芳烃[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(16): 263–270.
- ZHU YH, YANG B, HUANG J, *et al.* Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fried squid by ultrasonic extraction-gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2021, 42(16): 263–270.
- [9] LIU YH, WU PP, LIU Q, *et al.* A simple fluorescence spectroscopic approach for simultaneous and rapid detection of four polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH4) in vegetable oils [J]. *Food Anal Method*, 2016, 9(11): 3209–3217.
- [10] TAGHVAEE Z, PIRAVIVANAK Z, REZAEI K, *et al.* Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in olive and refined pomace olive oils with modified low temperature and ultrasound-assisted liquid-liquid extraction method followed by the HPLC/FLD [J]. *Food Anal Method*, 2016, 9(5): 1220–1227.
- [11] LEE J, LEE SY, PARK KW, *et al.* Simultaneous determination of PCBs, OCPs and PAHs in mussel by ultrasound-assisted cloudy extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Addit Contam A*, 2020, 37(10): 1730–1743.
- [12] GHASEMZADEH MV, MOHAMMADI A, HASHEMI M, *et al.* Microwave-assisted extraction and dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry for isolation and determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1237: 30–36.
- [13] LIU Q, GUO Y, SUN X, *et al.* Determination of 15 polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic products by solid-phase extraction and GC-MS [J]. *J Sep Sci*, 2018, 41(10): 2188–2196.
- [14] WANG Q, LIAN J, HUA ZD, *et al.* Hybrid nanomaterial based on magnetic multiwalled carbon nanotube-octadecylphosphonic acid modified zirconia for magnetic solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from edible oils [J]. *Anal Method*, 2018. DOI: 10.1039/C8AY01902A
- [15] ZHANG Y, ZHOU H, ZHANG ZH, *et al.* Three-dimensional ionic liquid



- functionalized magnetic graphene oxide nanocomposite for the magnetic dispersive solid phase extraction of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils [J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1489: 29–38.
- [16] SUN Y, PANG YM, ZHANG JX, *et al.* Application of molecularly imprinted polymers for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in lipid matrix-based biological samples [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2017, 409(29): 6851–6860.
- [17] 阳文武, 谭顺中, 郭娅, 等. 多环芳烃分子印迹柱-高效液相色谱荧光检测法快速测定烤肉中 15 种多环芳烃[J]. *肉类研究*, 2018, 32(11): 47–52.
- YANG WW, TAN SZ, GUO Y, *et al.* Determination of 15 polycyclic aromatic hydrocarbons in barbecued meat by molecularly imprinted solid-phase extraction combined with high performance liquid chromatography-fluorescence detection [J]. *Meat Res*, 2018, 32(11): 47–52.
- [18] 张婧婧, 朱峰, 刘华良. UPLC-MS/MS 法同时测定人尿中 12 种多环芳烃代谢物[J]. *环境卫生学杂志*, 2020, 10(6): 590–596.
- ZHANG JJ, ZHU F, LIU HL. Simultaneous determination of 12 polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in human urine by UPLC-MS/MS [J]. *J Environ Hyg*, 2020, 10(6): 590–596.
- [19] 薛洪海, 汪雨薇, 王颖, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定水中痕量硝基多环芳烃[J]. *东北师大学报(自然科学版)*, 2017, 49(4): 134–139.
- XUE HH, WANG YW, WANG Y, *et al.* Determination of trace nitro-pahs in water by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Northeast Norm Univ (Nat Sci Ed)*, 2017, 49(4): 134–139.
- [20] 石龙凯, 刘玉兰. 液相色谱-串联质谱法检测食用油脂中多环芳烃[J]. *中国粮油学报*, 2015, 30(12): 114–119.
- SHI LK, LIU YL. Simultaneous determination of PAHs in edible oils by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Chin Cereal Oil Ass*, 2015, 30(12): 114–119.
- [21] 何雯倩, 韦誉, 马承鸿, 等. 稳定同位素稀释-增强脂质去除净化-联用气质法快速测定水产品中的多环芳烃[J]. *食品安全导刊*, 2022, 13(35): 64–68.
- HE WQ, WEI Y, MA CH, *et al.* Rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic products by stable isotope dilution combined with enhanced matrix removal purification and gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2022, 13(35): 64–68.
- [22] 童兰艳, 肖昭竞, 代政华, 等. 分散固相萃取-超低温液液微萃取-气相色谱质谱法测定烟熏及烧烤肉制品中 16 种欧盟优控多环芳烃[J]. *食品科学技术学报*, 2021, 39(2): 143–151.
- DONG LY, XIAO ZI, DAI ZH, *et al.* Determination of 16 EU priority PAHs in smoked and roasted meat products by dispersive solid-phase extraction with ultra-low temperature liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Food Sci Technol*, 2021, 39(2): 143–151.
- [23] 胡国绅, 余可垚, 张睿莹, 等. 加速溶剂萃取-凝胶渗透色谱-气相色谱-串联质谱法测定中华绒螯蟹中 16 种多环芳烃[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(17): 6894–6901.
- HU GS, YU KY, ZHANG RX, *et al.* Determination of 16 kinds of polycyclic aromatic hydrocarbons in eriocheir sinensis by accelerated solvent extraction-gel permeation chromatography-gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(17): 6894–6901.
- [24] 钟冬莲, 喻宁华, 王玫鹃, 等. 分子印迹固相萃取-气相色谱-串联质谱法测定油茶籽油中 16 种多环芳烃[J]. *中国油脂*, 2022, 47(10): 118–123, 129.
- ZHONG DL, YU NH, WANG MJ, *et al.* Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in oil-tea camellia seed oil using molecularly imprinted solid-phase extraction coupled with GC-MS/MS [J]. *China Oils Fats*, 2022, 47(10): 118–123, 129.
- [25] 王征, 徐清, 詹重清, 等. 气相色谱-三重四极杆串联质谱法同时测定茶叶中 16 种多环芳烃[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(19): 7585–7591.
- WANG Z, XU Q, ZHAN ZQ, *et al.* Simultaneous determination of 16 kinds of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea by gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(19): 7585–7591.
- [26] GUIFFARD I, GENY T, VEYRAND B, *et al.* Quantification of light polycyclic aromatic hydrocarbons in seafood samples using on-line dynamic headspace extraction, thermodesorption, gas chromatography tandem mass spectrometry, based on an isotope dilution approach [J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1619: 460906.
- [27] 高军刚, 孔彩虹, 何强, 等. 气相色谱-串联质谱法测定大豆提取物中 16 种多环芳烃和 16 种邻苯二甲酸酯类[J]. *分析实验室*, 2013, 32(5): 65–70.
- GAO JG, KONG XH, HE Q, *et al.* Determination of 16 kinds of PAHs and 16 kinds of PAEs in soybean extract by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Lab*, 2013, 32(5): 65–70.
- [28] 周政, 李晨曦, 张新中, 等. 气相色谱-串联质谱法测定外卖餐盒中的 16 种多环芳烃及不同样品前处理技术研究[J]. *西北师范大学学报(自然科学版)*, 2022, 58(2): 68–73.
- ZHOU Z, LI CX, ZHANG XZ, *et al.* Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in take-out food boxes by gas chromatography-tandem mass spectrometry and study on the sample pretreatment methods [J]. *J Northwest Norm Univ (Nat Sci)*, 2022, 58(2): 68–73.
- [29] 彭姚珊, 李永利, 陈鹰, 等. 气相色谱-同位素稀释质谱法测定肉中多环芳烃含量[J]. *食品科学*, 2019, 40(12): 321–325.
- PENG YS, LI YL, CHEN Y, *et al.* Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in meat samples by gas chromatography-isotope dilution mass spectrometry approach [J]. *Food Sci*, 2019, 40(12): 321–325.
- [30] FORSBERG ND, WILSON GR, ANDERSON KA. Determination of parent and substituted polycyclic aromatic hydrocarbons in high-fat salmon using a modified QuEChERS extraction, dispersive SPE and GC-MS [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(15): 8108–8116.

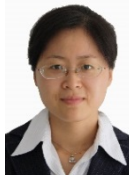
(责任编辑: 郑丽于梦娇)

## 作者简介



鞠 香, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: juxiang315@163.com



刘艳明, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: msymliu@163.com