

# 气相色谱-三重四级杆串联质谱法检测鱼肉中多环芳烃的研究

刘冰, 霍鲁格

(新乡学院化学与化工学院, 河南新乡 453000)

**摘要:** 本文建立了鱼肉中 16 种多环芳烃的气相色谱-三重四级杆串联质谱 (GC-QqQ-MS/MS) 的检测方法。样品通过正己烷/二氯甲烷(1/1, V/V)超声波提取, 经弗罗里硅土柱净化后, 采用 TR-5MS 毛细管柱分离, 以电子轰击 (EI) 电离、选择反应检测模式 (SRM) 检测。讨论了洗脱溶剂对净化效果的影响, 以及基质效应对各种多环芳烃测定的影响。通过基质匹配标准曲线进行定量, 16 种多环芳烃在 0.4 μg/kg 到 50 μg/kg 范围内线性关系良好, 线性相关系数为 0.9865~0.9999。方法检出限从 0.024 μg/kg 到 0.06 μg/kg, 方法的定量限从 0.08 μg/kg 到 0.2 μg/kg。16 种多环芳烃在 5、10、50 μg/kg 加标水平下的回收率为 68.5%到 106.3%, 相对标准偏差为 0.4%到 17.8%, 对常见的鱼类样品进行测定, 结果令人满意。

**关键词:** 气相色谱-三重四级杆串联质谱; 多环芳烃; 鱼肉

**文章编号:** 1673-9078(2013)6-1395-1399

## Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Fish by GC-QqQ-MS/MS

LIU Bing, HUO Lu-ge

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Xinxiang University, Xinxiang 453000, China)

**Abstract:** A new GC-QqQ-MS/MS method was developed to determine the polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fish. In this method, the samples were pretreated by ultrasonic extraction with hexane/dichloromethane and purified with hexane/acetone on florisil column, and then analyzed on a TR-5MS column. PAHs can be detected in the modes of electron impact ionization and selective reaction monitoring. The calibration curves had good linearity within 0.4~50 μg/kg for each pesticide ( $0.9999 > R > 0.9865$ ). The limits of the detection ranged from 0.024 μg/kg to 0.06 μg/kg and the limits of quantitation ranged from 0.08 μg/kg to 0.2 μg/kg. The recoveries of PAHs varied from 68.5% to 106.3% with the relative standard deviations of 0.3~17.8% at the spiked levels 5, 10 and 50 μg/kg. It was satisfied with successfully determination of fish samples by this analytical approach.

**Key words:** gas chromatography- triple quadrupole mass spectrometry; polycyclic aromatic hydrocarbons; fish

多环芳烃 (Polycyclic aromatic hydrocarbons PAHs), 是一大类分子中含有两个或两个以上苯环, 且苯环以线状、角状或簇状排列的有机化合物, 包括萘、蒽、菲、芘等 150 余种化合物。其最突出的特点是致畸、致癌和致突变性, 常见的具有致癌作用的多为四到六环的稠环化合物。PAHs 主要来自自然污染和人为污染, 自然污染包括火山爆发、森林火灾和生物合成等自然因素所形成的污染, 人为污染包括各种燃料、木材、纸以及其他含碳氢化合物的不完全燃烧或在还原状态下热解而形成的有毒物质污染。PAHs 具有难降解性和生物累积性, 广泛分布于

收稿日期: 2013-02-21

基金项目: 河南省基础前沿与技术研究计划项目 (122300410428)

作者简介: 刘冰 (1973-), 女, 硕士

自然环境中, 例如: 空气、水、沉积物、土壤、蔬菜及动物组织等<sup>[1~5]</sup>。1976 年美国国家环境保护局 (U.S. Environmental Protection Agency, 简称 EPA) 提出的 129 种“优先污染物”中, 多环芳烃有 16 种<sup>[6~7]</sup>,

多环芳烃的分析检测在文献中已报道的主要有液-液萃取法(LLE)、固相萃取法(SPE)、固相微萃取法(SPME)、油点萃取法(CPE)、超临界流体萃取法(SFE)、加速溶剂萃取法(ASE)等<sup>[8~9]</sup>, 净化方法主要有凝胶色谱法、(GPC)、酸碱硅胶柱法、弗罗里硅土柱法、中性氧化铝柱法等<sup>[10~13]</sup>, 仪器分析检测方法主要有 GC-ECD, GC-FID, GC-MS, GC-MS/MS, HPLC 比色法等<sup>[11,13~19]</sup>。

本文研究的 16 种多环芳烃即为 EPA 提出的优先控制污染物, 样品选用了食物中常见的 5 种鱼类, 前

处理方法为超声波提取, 弗罗里硅土柱净化, 采用 GC-QqQ-MS/MS 法进行检测, 定性定量检测选择反应检测模式(Selected reaction monitoring, SRM)来进行, 每种物质只选择其中特定的一对或几对母离子和子离子进行检测, 有效地去除干扰物质, 提高了检测的灵敏度和定性定量的准确度。

## 1 仪器与材料

### 1.1 主要仪器

气相色谱-三重四极杆串联质谱(TSQ Quantum GC, TRACE GC Ultra 与 TSQ Quantum XL 串联组成, Thermo Fisher Scientific Inc), triples autosampler 自动进样器, 采用分流/不分流进样口。TR-5MS 毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm)。

QILINBELER® QL-861 漩涡机, 海门市其林贝尔仪器制造有限公司; AL204 电子天平, 梅特勒-托利多仪器有限公司; Eppendorf 5804 R 离心机, 德国 Eppendorf 公司。

### 1.2 实验材料

多环芳烃标准品购自 AccuStandard Inc (USA), 标准物质以乙腈为介质, 密封于棕色玻璃安瓿瓶中, 储存于在-18 °C 冰箱中。多环芳烃的混标以正己烷为溶剂, 单标混合配制成 10 μg/mL, 然后逐级稀释到所需浓度, 储存于-18 °C 冰箱中备用。弗罗里硅土柱(Cleanert Florisil, Bonna-Agela 科技(中国天津)有限公司), 基质指标为平均孔径: 80Å, 比表面: 291 m<sup>2</sup>/g。

实验所用有机溶剂为分析纯, 固体试剂无水硫酸镁也为分析纯, 无水硫酸镁使用前在 200 °C 下烘 2 h。实验所用样品购自当地市场, 处理后储存于 3 °C 冰箱中备用。

### 1.3 GC-QqQ-MS/MS 条件

色谱进样口温度: 250 °C; 进样方式: 不分流进样, 分流阀开启时间为 0.75 min; 色谱柱升温程序: 50 °C 保持 1 min, 以 19 °C/min 速率升到 200 °C, 保持 2 min, 再以 4.5 °C/min 速率升至 240 °C, 保持 8 min, 最后以 30 °C/min 速率升到 290 °C, 保持 1 min; 载气(氦气, 纯度>99.999%) 流速 1.2 mL/min; 碰撞气(氩气): 1.2 mTorr; 离子源(EI 源)温度: 230 °C; 传输线温度: 260 °C; 溶剂延迟时间 6 min; 放射电流: 70 μA; 四极杆分辨率: Q1、Q3 均为 0.7; 扫描模式: SRM 模式; 扫描离子见表 1。

## 2 实验方法

### 2.1 样品的处理

鱼购自当地市场, 去皮, 去刺, 去内脏, 切碎后用粉碎机粉碎, 放入 3 °C 冰箱中备用。称取 4.0 g 样品于研钵内, 加入 8.0 g 无水硫酸钠, 充分研磨至粉末状, 转移至 50 mL 离心试管中, 以 10 mL 正己烷/二氯甲烷(1/1, V/V)冲洗研钵, 将冲洗液一并转移到离心试管内; 加入 15 mL 正己烷/二氯甲烷(1/1, V/V)后, 漩涡机上漩涡 1 min, 在冰水中超声提取 25 min, 提取液以 5000 r/min 离心 3 min 后过滤到平底烧瓶内, 再加入 25 mL 正己烷/二氯甲烷(1/1, V/V)重复漩涡、提取和离心的步骤, 合并两次的提取液, 合并后的提取液在 30 °C 的条件下旋转蒸发浓缩至近干, 用 2 mL 正己烷重新溶解后进行净化。弗罗里硅土小柱用 5 mL 正己烷活化后上样, 收集试样, 用 10 mL 正己烷/丙酮(4/1, V/V)分两次洗脱, 洗脱液一并收集, 收集到的溶液在 30 °C 的条件下旋转浓缩至干, 用 5 mL 正己烷重新溶解, 以待进样。

表 1 多环芳烃的 MS/MS 参数

Table 1 MS/MS parameters of PAHs

多环芳烃	分段	保留时间 /min	母离子 /(m/z)	子离子/(m/z) 碰撞能量/V
萘	1	6.79	128	127(20),102(20)*
芴烯	2	8.8	152	151(25),150(25)*
芴	2	9.03	153	151(25),152(25)*
芘	3	9.81	166	165(25)*
			165	163(30)
菲	4	11.91	178	152(25),176(25)*
蒽	4	12.04	178	152(25),176(25)*
荧蒽	5	15.84	202	201(25),200(35)*
芘	5	16.72	202	201(25),200(35)*
苯并(a)蒽	6	22.61	228	202(30),226(30)*
屈	6	22.83	228	202(30),226(30)*
苯并(b)荧蒽	7	31.75	252	226(25),250(30)*
苯并(k)荧蒽	7	32.01	252	226(25),250(30)*
苯并(a)芘	7	34.48	252	226(25),250(30)*
茚苯(1,2,3-c,d)	8	43.31	276	272(50),274(45)*
芘				276(50),274(45)*
二苯并(a,h)蒽	8	43.85	278	276(50),274(55)*
苯并(g,h,i)芘	8	45.06	276	272(50),274(45)*

注: 带\*的离子为定量离子, 其余的离子为定性离子。

### 2.2 样品的测定

使用 1.0 μL 适当浓度的多环芳烃标准溶液及样品提取物溶液, 按 1.3 色谱条件进行分析。

## 3 结果与讨论

### 3.1 色谱条件的选择

本文中所检测的 16 种多环芳烃存在同分异构体，进行分离时需要选择合适的色谱条件，其中升温程序的不同和载气流速的变化都会影响色谱分离度。通过实验选择，最终确定程序升温的条件，并选择流速为 1.2 mL/min。16 种多环芳烃的总离子流图(TIC)如图 1 所示。

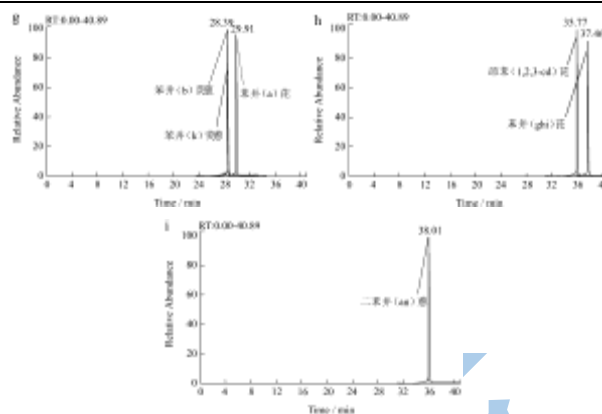
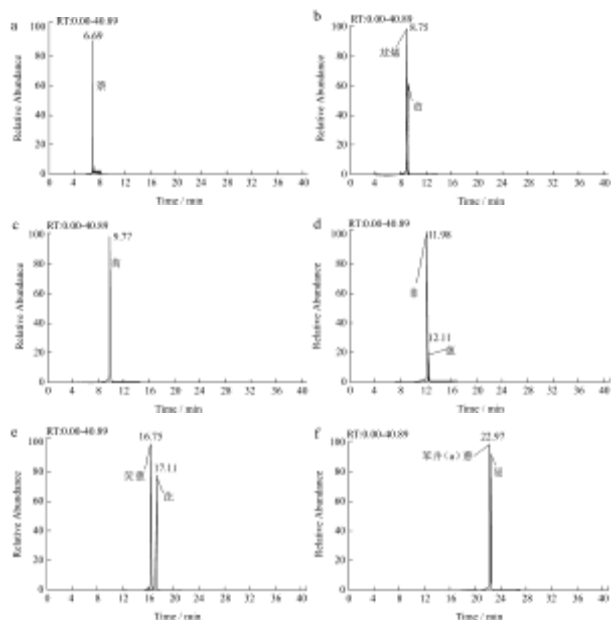


图 1 多环芳烃的总离子流图

Fig.1 Total ion chromatography of PAHs

### 3.2 洗脱溶剂的选择

本文采用弗罗里硅土柱进行净化，选择合适的洗脱液有利于提高实验的回收率。选取四种不同的洗脱液进行对照试验，分别是正己烷、正己烷/丙酮（4/1，V/V）、正己烷/丙酮（1/1，V/V）及丙酮。通过比较四种洗脱液对回收率的影响，确定合适的洗脱液组成。实验结果表明，使用单一溶剂进行洗脱时，效果普遍较差；使用正己烷/丙酮（4/1，V/V）作为洗脱剂效果最好。

表 2 多环芳烃的标准曲线及离子抑制率

Table 2 The standard curve and ion suppression of 16 PAHs

多环芳烃	纯溶剂标准曲线	决定系数	基质匹配标准曲线	决定系数	离子抑制率
萘	$y=14390x+97221$	0.9974	$y=6495.9x+78727$	0.9993	-0.55
苊烯	$y=17159x+879.47$	0.9967	$y=13544x+20272$	0.9982	-0.22
苊	$y=28460x+12703$	0.9994	$y=9882.8x+98468$	0.99	-0.65
芴	$y=49071x+28309$	0.9998	$y=34608x+334299$	0.9883	-0.3
菲	$y=27600x+15894$	1	$y=16658x+29400$	0.9731	-0.4
蒽	$y=14238x+1126.5$	0.9998	$y=33502x+287252$	0.9903	1.35
荧蒽	$y=26775x+7436$	0.9995	$y=25676x+69150$	0.9986	-0.04
芘	$y=19548x+8358$	0.9995	$y=21349x-2618$	0.9967	0.09
苯并(a)蒽	$y=38174x+13534$	0.9981	$y=51421x+8445.9$	0.9994	0.35
屈	$y=37595x+15467$	0.9991	$y=43348x+13929$	0.9992	0.15
苯并(b)荧蒽	$y=32509x+17166$	0.9989	$y=44293x+16011$	0.9996	0.36
苯并(k)荧蒽	$y=33103x+12259$	0.999	$y=44661x-2488.9$	0.9999	0.35
苯并(a)芘	$y=32740x+16235$	0.999	$y=44436x-6514$	0.9996	0.36
苯并(1,2,3-c,d)芘	$y=23879x+12946$	0.9985	$y=27673x-6430.6$	0.9997	0.16
二苯并(a,h)蒽	$y=6368.9+6484.2$	0.9973	$y=7047.4x-473.44$	0.9996	0.11
苯并(g,h,i)花	$y=28069x+30578$	0.9984	$y=25692x-749.88$	0.9997	-0.08

### 3.3 基质效应影响

基质效应(Matrix effect)是复杂基质痕量分析的主要问题之一。基质在分析过程中，会对分析的过程造成干扰并影响分析结果的准确性，采用基质加标的方法来建立基质标准曲线是降低基质效应的方法之一。

本文根据离子抑制现象来研究基质效应影响。离子抑制率计算采用文献<sup>[20]</sup>的方法，即离子抑制率 (ion suppression) = (B-A) / A, A 为纯溶剂校正曲线的斜率，B 为基质校正曲线的斜率。离子抑制率为 0，表示没有基质效应；离子抑制率大于 0，表示基质对目

标化合物的测定是加强作用，离子抑制率小于 0，表示基质对目标化合物的测定是抑制作用。分别作纯溶剂中 PAHs 的标准曲线和基质匹配后的标准曲线，结果见表 2。

表 2 数据显示，样品基质对 16 种多环芳烃的影响既有增强的，也有抑制的，大多数基质效应影响不大，萘、蒽、菲及葱的基质效应影响较大。为了最大限度降低基质效应的影响，提高定性定量分析的准确度，本研究采用基质匹配的标准曲线进行定量分析。

### 3.4 线性范围及检出限

本研究采用用六个点(0.4 μg/kg、0.8 μg/kg、2 μg/kg、4 μg/kg、10 μg/kg、50 μg/kg)完成基质匹配的标准曲线，线性范围为 0.4 μg/kg 到 50 μg/kg，目标化合物的相关系数 (R) 从 0.9865~0.9999 (表 2)，线性关系良好。

表 3 中列出了各目标化合物的检出限及定量限。本研究所采用的方法检出限从 0.024 μg/kg 到 0.06 μg/kg，定量限从 0.08 μg/kg 到 0.2 μg/kg。

表 3 多环芳烃的 LOQ 及 LOD

Table 3 LOQ and LOD of PAHs

多环芳烃	定量限 / (μg/kg)	检测限 / (μg/kg)	多环芳烃	定量限 / (μg/kg)	检测限 / (μg/kg)
萘	0.08	0.024	苯并(a)葱	0.1	0.03
蒽	0.08	0.024	屈	0.1	0.03
芘	0.08	0.024	苯并(b)荧葱	0.1	0.03
芘	0.08	0.024	苯并(k)荧葱	0.1	0.03
菲	0.08	0.024	苯并(a)芘	0.2	0.06
葱	0.1	0.03	苯并(1,2,3-c,d)芘	0.1	0.03
荧葱	0.1	0.03	二苯并(a,h)葱	0.2	0.06
芘	0.1	0.03	苯并(g,h,i)芘	0.1	0.03

### 3.5 方法的回收率和精密度

在空白样品中添加 16 种 PAHs，得到三种加标水平 (5 μg/kg、10 μg/kg、50 μg/kg) 的样品，提取净化后，进行添加回收实验，每种化合物在每个浓度点平行实验三次。表 4 的结果表明，除了萘在 5 μg/kg 时的平均回收率为 68.5%，其余的多环芳烃平均回收率为 70.4% 到 106.3%，相对标准偏差为 0.4% 到 17.8%。所得结果基本满足国际检测标准的要求 (回收率 70~120%，相对标准偏差小于 20%)。

### 3.6 实际样品的测定

样品检测结果见表 5。

从检测结果可以看出，所选取的样品中均含有不同种类、不同程度的多环芳烃，萘的污染最为普遍，其在淡水花鲢鱼含量最高，达到了 (65.8 μg/kg)。

表 4 多环芳烃的回收实验结果

Table 4 Recovery of PAHs at samples

多环芳烃	5μg/kg		10μg/kg		50μg/kg	
	回收率 /%	相对标准偏差 /%	回收率 /%	相对标准偏差 /%	回收率 /%	相对标准偏差 /%
萘	68.5	3.4	82.9	0.9	94.9	5
蒽	106.3	4.1	85.5	2.3	81.4	1.9
芘	77	10.3	83.4	1.2	77.7	9.9
芘	84.6	3.5	79.3	4.5	84.2	0.1
菲	74.5	13.9	86.1	2.9	79	17.8
葱	92.9	11.8	84.4	11.1	86.9	5.1
荧葱	90.3	5.8	87.5	4.8	83.5	2.1
芘	88.8	3.8	68.2	7.5	82.9	1.7
苯并(a)葱	70.4	8.1	79.8	2.2	81.1	5.9
屈	74.2	4.9	78.8	6.2	79.3	6.2
苯并(b)荧葱	81.3	14.2	70.9	3.1	75.9	6.9
苯并(k)荧葱	73.7	0.9	74.6	0.5	75.1	7.9
苯并(a)芘	80.7	14	71.8	1.7	74.6	7.3
苯并(1,2,3-cd)芘	70.7	3.4	77.4	1.1	73.5	6.3
二苯并(a,h)葱	72	11.5	81.2	6.7	74.3	7.2
苯并(g,h,i)芘	75.2	11	82.7	6.1	73.5	6.1

表 5 实际样品中多环芳烃的检测结果

Table 5 Determination of PAHs at actual samples

多环芳烃	实际样品/(μg/kg)				
	花鲢	草鱼	鲳鱼	鲈鱼	黄花鱼
萘	65.8	28.1	25.7	23.8	25.8
蒽	6.7	ND	ND	8.8	ND
芘	ND	ND	7.5	ND	ND
芘	ND	ND	ND	2	ND
菲	ND	ND	ND	ND	ND
葱	ND	ND	14.8	ND	ND
荧葱	ND	2.1	ND	ND	ND
芘	ND	ND	ND	ND	ND
苯并(a)葱	ND	ND	5.4	9.5	ND
屈	0.35	ND	ND	ND	ND
苯并(b)荧葱	ND	ND	ND	ND	ND
苯并(k)荧葱	ND	ND	ND	ND	0.64
苯并(a)芘	ND	ND	ND	ND	ND
茚并(1,2,3-cd)芘	ND	ND	1.12	ND	ND
二苯并(a, n)葱	ND	ND	ND	ND	ND
苯并(g,h,i)芘	ND	ND	1.18	ND	ND

注：ND 表示未检出/ND means that is not detected.

## 4 结论



本文采用气相色谱-三重四级杆串联质谱对于肉中的16种多环芳烃进行了检测。样品通过提取、净化后,使用基质加标方法建立基质匹配标准曲线进行测定,并对洗脱溶剂和基质效应进行了讨论,所用分析方法的检测限低,灵敏度较高,分析结果的回收率满足要求,方法的精密度和准确性良好,实际样品检测结果令人满意。

### 参考文献

- [1] 朱丽波,徐能斌,傅晓钦,等.ASE-GCP-MSMS 多离子反应监测(MRM)测定土壤中的16种多环芳烃(PAHs)[J].中国环境监测,2008,24(5):43-47
- [2] Leite N F, Patricio P Z, Grassi M T. Multifactorial optimization approach for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in river sediments by gas chromatography-quadrupole ion trap selected ion storage mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1192: 273-281
- [3] Wang W, Huang M J, Kang Y, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in urban surface dust of Guangzhou, China: Status, sources and human health risk assessment [J]. Science of the Total Environment, 2011, 409:4519-4527
- [4] 黄靖芬,李来好,陈胜军,等.烟熏食品中苯并(a)芘的产生机理及防止方法[J].现代食品科技,2007,7:73-76
- [5] 齐东梅,刘虎成,刘勤晋.毒性物质及食疗排毒[J].现代食品科技,2001,2:80-82
- [6] 张永涛,张莉,李桂香,等.固相萃取-气相色谱/质谱法测定地下水中多环芳烃[J].理化检验-化学分册,2010,46(8):900-902,905
- [7] Bergknut M, Frech K, Andersson P L, et al. Characterization and classification of complex PAH samples using GC-qMS and GC-TOFMS [J]. Chemosphere, 2006, 65:2208-2215
- [8] 俞晔,金青哲,刘海珍,等.食用油脂中多环芳烃检测的前处理技术研究进展[J].中国油脂,2011,36(7):1-4
- [9] 章汝平,何立芳.食品中多环芳烃的提取、纯化、以及检测方法的研究进展[J].食品科技,2007,1:20-25
- [10] Veyrand B, Brosseau A, Sarcher L, et al. Innovative method for determination of 19 polycyclic aromatic hydrocarbons in food and oil samples using gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry based on an isotope dilution approach [J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1149: 333-344
- [11] Liguori L, Heggstad K, Hove H T, et al. An automated extraction approach for isolation of 24 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from various marine matrixes [J]. Analytica Chimica Acta, 2006, 573-574: 181-188
- [12] Wolska L. Miniaturised analytical procedure of determining polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in bottom sediments [J]. Journal of Chromatography A, 2002, 959: 173-180
- [13] Wolska L, Zygmunt B, Namieśnik J. Organic pollutants in the Odra river ecosystem [J]. Chemosphere, 2003, 53:561-569
- [14] Gratz L D, Bagley S T, Leddy D G, et al. Interlaboratory comparison of HPLC-fluorescence detection and GC/MS: analysis of PAH compounds present in diesel exhaust [J]. Journal of Hazardous Materials, 2000, 74: 37-46
- [15] Pointet K, Milliet A. PAHs analysis of the whole gall bladders and livers from the Natural Reserve of Camargue by GC/MS [J]. Chemosphere, 2000, 40:293-299
- [16] Menezes H C, Cardeal Z D L. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons from ambient air particulate matter using a cold fiber solid phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry method [J]. Journal of Chromatography A, 2011, 1218: 3300-3305
- [17] Ströher G L, Poppi N R, Raposo J L J, et al. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry and source identifications by methods of diagnostic ratio in the ambient air of Campo Grande, Brazil [J]. Microchemical Journal, 2007, 86: 112-118
- [18] Wei M C, Jen J F. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples by microwave assisted headspace solid-phase microextraction and gas chromatography/flame ionization detection [J]. Talanta, 2007, 72: 1269-1274
- [19] Kawanaka Y, Sakamoto K, Wang N, et al. Simple and sensitive method for determination of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons in diesel exhaust particles by gas chromatography-negative ion chemical ionisation tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1163:312-317
- [20] Shao B, Jia X, Zhang J, et al. Multi-residual analysis of 16 [beta]-agonists in pig liver, kidney and muscle by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Food Chemistry, 2009, 114(3): 1115-1121