

凝胶渗透色谱法在分析食品中多氯联苯的应用*

张 磊 李敬光 赵云峰 吴永宁* *

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京, 100050)

摘 要 以凝胶渗透色谱 (GPC)系统处理 食品样品中的脂质, 并结合碱性氧化铝柱净化, 旨在建立快速有效的多氯联苯 (PCBs)分析的前处理技术. 对油脂样品的检测结果显示, ¹³C 标记 PCBs定量内标的回收率及 RSD 均符合 EPA 1668a方法的要求, 20种天然 PCBs的加标回收率在 71%—122%, 方法精密度≤10%.

关键词 食品, 多氯联苯, 凝胶渗透色谱, 分析.

食品中多氯联苯 (PCBs)的分析要求采取良好的前处理技术, 以除去样品基质对测定的影响. 前处理技术主要包括酸处理法^[1]、碱处理法^[2]、凝胶渗透色谱法 (GPC)^[3-5]、固相吸附及萃取法等. 对于一般性食品, 采用酸处理后, 再经碱性氧化铝柱、弗罗里土柱或活性碳柱净化, 可以实现良好的净化效果. 但是, 对于某些富含脂质的天然食品及加工食品, 因复杂基质的存在对测定产生干扰. 采用一般化学方法难以达到理想的前处理效果.

本文采用 GPC系统处理这类基质复杂的脂质样品, 并结合氧化铝柱进一步净化, 以提高 PCBs检测的可靠性.

1 实验部分

1.1 样品的前处理

对于固态食物样品, 采用正己烷:二氯甲烷 (1:1)溶剂系统进行索氏提取, 提取后将提取液浓缩至近干, 加入乙酸乙酯:环己烷 (1:1)溶解残渣. 液态油脂类样品, 如植物油、黄油、鱼肝油等直接用乙酸乙酯:环己烷 (1:1)溶解. 如有沉淀等杂质, 可以用玻璃棉过滤.

1.2 GPC 净化

- (1) 自动 GPC 系统净化: 将上述提取液用乙酸乙酯:环己烷 (1:1)定容至 10ml 摇匀后经 Accu-PrepTM 自动凝胶色谱系统 (美国 J2 Scientific公司)进样 5.0ml 洗脱液为乙酸乙酯:环己烷 (1:1), 流速为 5ml·min⁻¹, 收集 7.5—17min 的洗脱液, 转移到茄形瓶中, 旋转蒸发至 1ml
- (2) 手动 GPC柱净化: 将乙酸乙酯:环己烷 (1:1)充分溶胀的 Bio-Beads S-X3凝胶湿法装入内径为 2.5cm 的玻璃层析柱, 柱底垫少许玻璃棉, 柱床高度 26cm. 将上述浓缩的提取液上柱, 用 5ml 乙酸乙酯:环己烷 (1:1)分 3次冲洗样品瓶, 洗液转移至柱上. 待液面降至 GPC层时, 以乙酸乙酯:环己烷 (1:1)洗脱, 收集 30—85ml 的洗脱液, 旋转蒸发至 1ml

1.3 碱性氧化铝柱净化

玻璃柱底端添加少量玻璃棉后, 依次装入 2.5g活化碱性氧化铝、2g无水硫酸钠. 用 30ml正己烷预淋洗. 将浓缩的 GPC净化溶液全部转移至层析柱上, 用约 5ml正己烷冲洗茄型瓶 3—4次, 洗液一并转移至柱上, 随即开始收集流出液. 当液面降至无水硫酸钠层时加入 30ml正己烷洗脱柱子, 待液面降至无水硫酸钠层时加入 25ml二氯甲烷:正己烷 (5:95)洗脱, 洗脱液全部收集. 将洗脱液浓缩至少量体积并转移到锥形小管中, 氮气流下浓缩至 50μl

1.4分析方法

MAT 95XP HRGC-HRMS联用系统 (美国 Thermo公司).

2006年 9月 20日收稿.

* 基金项目: 国家重大科技专项 《食品安全关键技术》(2002BA804A19). * * 通讯作者.

GC条件: 色谱柱: DB-5MS 60m × 0.25mm (ID) × 0.25μm (膜厚); 进样口温度 290℃; 传输线温度 300℃; 色谱柱升温程序: 90℃保持 1min, 以 20℃ · min⁻¹的速度升至 180℃, 保持 1min后, 以 3℃ · min⁻¹的速度升至 300℃, 保持 2min; 载气: 氦气, 恒流模式, 不分流进样.

质谱条件: 电子轰击源 (EI), 电子能量 40eV, 源温度 250℃, 灯丝电流 0.58mA, 倍增器增益 10⁶. 以 FC43的 m/z 313.9834峰调节仪器分辨率达一万, 透过率应大于 1:15, 以多离子检测 (MD) 方式进行检测.

2 结果与讨论

2.1 GPC洗脱曲线

采用分子量与之相近的有机氯农药作为模拟化合物, 以确定其洗脱范围. 有机氯农药包括从六氯苯 (282Da)到灭蚁灵 (540Da)在内共 26种, 与 3—10氯取代 PCBs的分子量 (256—510Da)范围接近, 以空白溶剂添加 2ng指示性 PCBs定量内标 EC9605-SS加以验证, 在 7.5—17min(相当于 37.5—85ml)范围内时, ¹³C 标记内标的回收率在 77%—117%之间. 而手动 GPC柱的洗脱体积参照 《动物性食品中有机氯农药和拟除虫菊酯农药多组分残留量的测定 (GB/T 5009.162—2003)》的 GPC洗脱方法, 并适当进行调整, 将原洗脱体积由 35—75ml调整为 30—85ml后, 提高了高氯取代 PCBs的回收率, 使各组分回收率均达到 70%以上, 可满足 PCBs分析的要求.

2.2 内标回收率的验证

以食用调合油作为基质空白样品, 在其中定量添加精密度和回收率标准 (EC9605-PAR)作为加标样品. 进行指示性 PCBs(定量内标 EC9605-SS含 ¹³C 标记同族物 PCB28L, 52L, 118L, 153L, 180L, 202L, 206L和 209L)测定, ¹³C 标记内标回收率结果见表 1.

表 1 指示性 PCBs内标回收率 (%)
Table 1 The recovery of ¹³C labeled PCBs and its RSD

PCB (IUPAC)	自动 GPC 系统		手动 GPC 柱	
	基质空白*	加标样品*	基质空白	加标样品*
28L	61 ±4 (6)	54 ±4 (8)	73	65 ±4 (6)
52L	71 ±7 (10)	68 ±8 (12)	82	78 ±5 (6)
118L	82 ±6 (8)	77 ±1 (2)	92	62 ±6 (10)
153L	75 ±17 (22)	72 ±2 (2)	81	61 ±6 (9)
180L	96 ±6 (6)	93 ±9 (10)	97	98 ±20 (21)
202L	95 ±5 (5)	97 ±14 (1)	80	112 ±24 (22)
206L	70 ±9 (13)	61 ±13 (21)	67	68 ±4 (6)
209L	76 ±12 (16)	65 ±3 (5)	77	68 ±4 (5)

* 括号内为 RSD值, n= 3

由表 1可见, 自动 GPC方法基质空白样品的 PCBs ¹³C 内标回收率为 61%—96%, RSD< 23%; 加标样品的 ¹³C 内标回收率为 54%—97%, RSD< 22%. 手动 GPC方法基质空白样品的 ¹³C 内标回收率在 67%—97%之间; 加标样品的 ¹³C 内标回收率均为 61%—112%, RSD< 23%. 两种 GPC处理方式的内标回收率均符合美国 EPA 1668a方法的分析要求.

2.3 天然化合物加标回收率的验证

在基质空白样品中添加 EC9605-PAR 标准, 20种指示性 PCBs的添加水平均为 1ng · g⁻¹. 按上述方法进行样品处理及测定. 结果见表 2

结果表明, 自动 GPC方法的天然 PCBs回收率为 71%—122%, RSD≤10%, 具有较好的准确度和精密度, 而手动 GPC方法的准确度和精密度略差于自动 GPC方法, 也能满足分析要求. 其中 GEMS/FOOD规定监测的 7种指示性 PCBs同族体 PCB28, 52, 101, 118, 138, 153和 180的回收率均在 85%—100%之间, 两种 GPC方式的测定结果无明显差异.

表 2 天然化合物加标回收试验结果 (%)

Table 2 The recovery of ¹³C labeled 20 native PCBs

PCB (U PAC)	自动 GPC 系统			手动 GPC 柱		
	平均值	标准差	RSD	平均值	标准差	RSD
18	101	16	16	123	0	0
28*	96	2	3	88	3	4
33	122	17	14	102	4	4
52*	90	3	4	85	4	4
44	96	4	4	88	3	4
70	106	7	7	81	5	6
101*	85	6	7	100	1	1
118*	88	0	1	85	2	2
105	94	3	3	87	2	3
153*	90	1	1	86	4	5
138*	98	2	2	95	2	2
128	101	4	4	84	0	0
187	92	13	14	113	11	10
180*	91	2	2	86	3	3
170	96	6	6	87	2	3
199	84	10	12	78	1	2
195	83	6	7	69	6	8
194	71	5	7	55	5	9
206	87	9	11	90	5	6
209	91	4	4	95	3	3

* GEMS/FOOD 规定监测的 7 种指示性 PCB.

2.4 样品测定

以海参提取物为原料的加工食品，由于该样品为软胶囊剂，组方中含有较多的蜂蜡成分，使用常规的酸化硅胶处理无法有效去除基质干扰，样品净化液微量浓缩过程中，会在样品小瓶中形成固体蜡样结晶，对测定的准确性和仪器都有不良影响。采用碱化硅胶处理同样没有明显改善。为有效去除蜂蜡的影响，采用 GPC 分离取得理想的效果，满足了低含量 PCBs 测定的要求。图 1 为样品检测色谱图，内标回收率为 69%—90%，定量结果及检出限见表 3

表 3 海参提取物样品中 20 种指示性 PCBs 测定结果及检出限 (ng•g⁻¹)

Table 3 The concenerations and limited of determ ination on 20 labeled PCBs in hobothurian extract sample

PCB (U PAC)	浓度	LOD	PCB (U PAC)	浓度	LOD
18	0.039	0.002	138	0.050	0.001
28	0.044	0.001	128	0.010	0.001
33	0.041	0.001	187	0.015	0.001
52	0.021	0.001	180	0.025	0.001
44	0.018	0.001	170	0.007	0.001
70	0.020	0.001	199	0.003	0.001
101	0.036	0.001	195	0.002	0.001
118	0.033	0.001	194	0.001	0.001
105	0.016	0.001	206	0.006	0.001
153	0.068	0.001	209	0.034	0.001

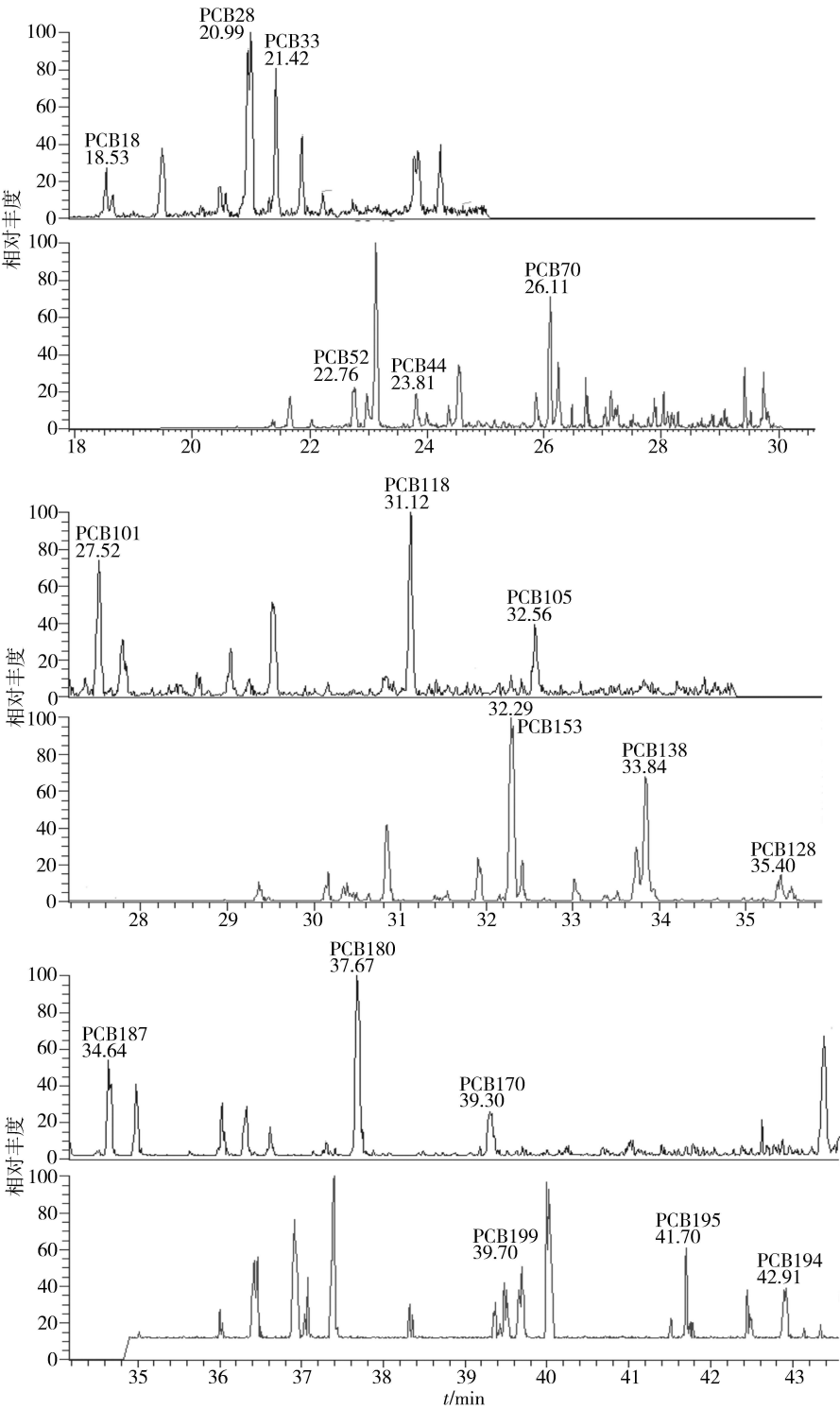


图 1 海参提取物中指示性 PCBs 色谱图 (3—8 氯)
Fig 1 Chromatogram of PCBs in holothurian extract samples

3 结论

利用 GPC 前处理技术进行含脂质样品的前处理, 有效地保证了测定结果的准确度和精密度, 提高了样品前处理的速度, 简化了操作, 适用于富含脂质食品中 PCBs 分析的前处理, 对 20 种天然 PCBs 的加标加收率在 71%—122%, 方法的精密度 $\leq 10\%$.

参 考 文 献

[1] 李敬光、吴永宁, 同位素稀释 GC-LRMS法测定鱼肉中指示性多氯联苯方法研究 [J] . 卫生研究, 2005 34 (3) : 322—325

[2] I F, Milk and Milk Products Determination of Polychlorinated Biphenyls Guidance on Gas Liquid Chromatographic Methods[S]. International I F Standard 130A, 1991

[3] Tuinstra L G M Th Traag W A, Van JA Rhijn et al, The Dutch PCB /Dioxin Study Development of a Method for the Determination of Dioxin, Planar and Other PCBs in Human Milk [J] . *Chemosphere*, 1994 29 (9—11) : 1859—1875

[4] Nerin C, Domeo C, Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Compounds in Industrial Waste Oils by GPC-HPLC-UV [J] . *Analyst*, 1999 124: 67—70

[5] Saio K, Sjödin A, Sandau C D et al, Development of an Accelerated Solvent Extraction and Gel Permeation Chromatography Analytical Method for Measuring Persistent Organohalogen Compounds in Adipose and Organ Tissue Analysis [J] . *Chemosphere*, 2004 57: 373—381

APPLICATION OF GEL PERMEATION CHROMATOGRAPHY IN ANALYSIS OF POLYCHLORINATED BIPHENYLS FROM FOOD MATRICES

ZHANG Lei LI Jing-guang ZHAO Yun-feng WU Yong-ning
(National Institute for Nutrition and Food Safety Chinese CDC, Beijing 100050, China)

ABSTRACT

To develop a rapid pretreatment technique for determination of polychlorinated biphenyls in food, remove lipid compounds in food stuff effectively, the lipid riched foods were pretreated with gel permeation chromatography and then cleaned up using alkali alumina column. Oil samples were analyzed using this method. The results shown that the recovery of ¹³C labeled PCBs and its RSD well accorded with EPA 1668a method. The recovery of 20 native PCBs were 71%—122%, RSD ≤ 10%.

Keywords food, polychlorinated biphenyls, gel permeation chromatography, analytical