

加速溶剂萃取-QuEChERS 法测定高活性干酵母粉中 12 种有机持久污染物残留

李 芳¹, 栗有志¹, 李艳美¹, 雷红琴¹, 孟 茹¹, 储晓刚^{*2}

(1. 伊犁出入境检验检疫局综合技术服务中心, 伊犁 伊宁 835000; 2. 中国检验检疫科学研究院, 北京 100025)

摘要: 建立了加速溶剂萃取 (ASE)-QuEChERS-气相色谱-质谱法测定高活性干酵母粉中六氯苯、 α -666、七氯等 12 种有机持久污染物 (POPs) 的分析方法。样品经乙腈加速溶剂萃取, N-丙基乙二胺 (PSA) 净化, 气相色谱-质谱法选择离子监测模式 (GC-MS-SIM) 检测。结果表明, 12 种 POPs 在 0.025~2.500 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好, 相关系数 $R^2 \geq 0.992$, 在 3 个添加水平 (0.05、0.25、1.00 mg/kg) 的平均回收率在 74.5%~111.7% 之间, 相对标准偏差 (RSDs) 为 3.1%~11.3% ($n=6$), 检出限 (LODs) 为 0.002~0.009 mg/kg。本方法操作简便、快速、节省溶剂, 能够满足高活性干酵母粉中 12 种 POPs 残留检测需求。

关键词: QuEChERS; 加速溶剂萃取 (ASE); 气相色谱-质谱联用 (GC-MS); 有机持久污染物 (POPs); 酵母粉

中图分类号: O 657.63 文献标志码: A 文章编号: 1673-1689(2018)02-0185-06

Determination of 12 Persistent Organic Pollutants in Highly Active Dry Yeast Powder by Accelerated Solvent Extraction-QuEChERS

LI Fang¹, SU Youzhi¹, LI Yanmei¹, LEI Hongqin¹, MENG Ru¹, CHU Xiaogang^{*2}

(1. Comprehensive Technical Service Center of Yili Exit-Entry Inspection and Quarantine Bureau, Yining 835000, China; 2. Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100025, China)

Abstract: A method for the simultaneous determination of 12 persistent organic pollutants (POPs) for example hexachlorobenzene, α -666, heptachlor, etc in highly active dry yeast powder was developed using accelerated solvent extraction (ASE)-QuEChERS-gas chromatography-mass. The Sample was extracted by acetonitrile with accelerated solvent extraction apparatus, and then cleaned up by PSA. The qualification and quantification of target compound were performed by gas chromatography-mass in selected ion monitoring mode (GC-MS-SIM). The results show that the 12 POPs were linear in the range of 0.025~2.500 $\mu\text{g/mL}$ with good correlation coefficients ($R^2 \geq 0.992$).

收稿日期: 2015-07-22

基金项目: 国家质检总局科研专项 (2014K125)。

作者简介: 李 芳 (1981—) 女, 硕士, 工程师, 主要从事食品安全分析研究。E-mail: lifang8115@163.com

* 通信作者: 储晓刚 (1958—), 男, 黑龙江哈尔滨人, 研究员, 工学博士, 博士研究生导师, 主要研究方向有害物质分析与代谢机理研究。
E-mail: xgchu@vip.sina.com

引用本文: 李芳, 栗有志, 李艳美, 等. 加速溶剂萃取-QuEChERS 法测定高活性干酵母粉中 12 种有机持久污染物残留[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(2): 185-190.

The average recoveries of the 12 POPs in highly active dry yeast powder were 74.5%~111.7 % with relative standard deviations (RSDs, $n=6$) of 3.1%~11.3%, at the spiked level of 0.05, 0.25, 1.00 mg/kg. The limits of detection of the method (LODs) were 0.002~0.009 mg/kg. The method is convenient operation, rapid, saving on solvent, could meet determination of 12 POPs residual in highly active dry yeast powder.

Keyword: QuEChERS, accelerated solvent extraction (ASE), gas chromatography-mass (GC/MS), persistent organic pollutants (POPs), yeast powder

有机持久污染物 (POPs) 主要包括滴滴涕 (DDT)、艾氏剂等有机氯农药, 很多持久性有机污染物具有致癌、致畸、致突变性, 对人类生存繁衍和可持续发展构成重大威胁, 对人类的影响会持续几代。POPs 残效期长、降解缓慢, 因此这些残留在环境中可能造成对新种植物或新储存食品等的再次污染^[1-2]。酵母粉是以甜菜糖蜜原料, 以化学物质为氮、磷、钾等营养源, 经发酵罐有氧逐级扩大培养的产物^[3]。有机持久污染物的存在不仅使酵母发酵过程中额外损耗原料, 破坏原有营养条件, 增加生产成本, 而且严重影响酵母的品质、保存与应用, 甚至会导致生产失败, 给企业带来严重经济损失。

加速溶剂萃取 (Accelerated Solvent Extraction, ASE) 是在一种高温度和高压条件下, 设定溶剂和萃取时间, 实现自动萃取的方法。该方法大大减少了溶剂用量, 方法快速, 回收率高, 在实际工作中被广泛应用^[4-10], 已被美国国家环境保护局 (EPA) 收录为处理固体样品的标准方法之一^[11]。QuEChERS 技术以快速、简单、廉价、高效、耐用、安全著称, 已广泛用于农药的检测^[12-16]。本文作者结合实际检测工作需要, 将 ASE 萃取和 QuEChERS 净化有效结合, 利用 GC-MS 建立了高活性干酵母粉中 12 种有机持久污染物残留检测方法。本方法前处理操作简单、快速、对人体毒害性小、节省溶剂用量, 各项检测指标均能满足国内外 MRL 要求。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

7890A-7975C 型气相色谱-质谱联用仪 (配置 7683 系列自动进样器, 增强型化学工作站), Agilent 公司产品; ASE 350 型加速溶剂萃取仪, 美国 Dionex 公司产品; 涡旋混合器, 德国 IKA 公司产品; MG-

2200 型氮气吹扫浓缩装置, 日本 EYE 公司产品; SK8210LHC 超声波清洗器, 上海科导超声仪器有限公司产品; Allegra X-22R 多功能台式冷冻离心机, 美国贝克曼公司产品; RV10 旋转蒸发器, 德国 IKA 公司产品。

乙腈、正己烷、甲醇、丙酮 (均为色谱纯), TEDIA 天地试剂公司产品; C18 散装吸附剂、N-丙基乙二胺粉 (PSA)、氨丙基粉 (均为粒径 40 μm), Agilent 公司产品; 标准品: 六氯苯、 α -666、 β -666、 δ -666、p,p'-DDE、狄氏剂、 γ -666、七氯、艾氏剂、o,p'-DDD、o,p'-DDT、p,p'-DDT (纯度 > 98.5%), 均购自德国 Dr Ehrenstorfer 公司产品。

标准溶液的配制: 称取各标准品适量, 将标准品以丙酮配制成 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液, 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存, 做样时将此溶液依次用正己烷稀释成 0.025、0.100、0.200、0.500、1.00、2.50 $\mu\text{g/mL}$ 的系列质量浓度混合标准工作溶液。

1.2 色谱和质谱条件

色谱条件: DB-1701 石英毛细管柱 (30 $\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$); 载气: 高纯氮气 (纯度 > 99.999%), 流速为 1 mL/min ; 脉冲压力为 206.8 kPa, 脉冲时间 0.75 min, 吹扫时间 1 min; 进样口温度: 260 $^{\circ}\text{C}$; 柱升温程序: 初始温度 70 $^{\circ}\text{C}$ 保持 1 min, 以 20 $^{\circ}\text{C/min}$ 升温至 270 $^{\circ}\text{C}$, 保持 12.5 min; 进样方式: 不分流进样, 进样量 1 μL 。

质谱条件: 离子源 EI (70 eV); 离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$; 四极杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$; 辅助加热器温度: 280 $^{\circ}\text{C}$; 溶剂延迟: 7 min; 采集方式: 选择离子监测 (SIM), 条件参见表 1。

1.3 加速溶剂萃取 (AES) 条件

以乙腈为提取剂, 系统压力为 1 500 psi, 温度 80 $^{\circ}\text{C}$, 静态萃取 9 min, 循环次数 1 次, 冲洗体积为 34 mL 不锈钢萃取池的 60%, 氮气吹扫时间 60 s。

表 1 12 种 POPs 的保留时间和特征离子

Table 1 Retention times and Selected ions of 12 POPs

序号	有机污染物	保留时间/min	定量离子	定性离子
1	六氯苯	8.012	245	249,284
2	α -666	8.222	219	183,221
3	β -666	8.455	219	217,181
4	δ -666	9.726	219	217,181
5	p,p'-DDE	10.183	318	316,246
6	狄试剂	10.618	263	261,237
7	γ -666	10.766	219	217,181
8	七氯	11.702	272	237,337
9	艾氏剂	11.784	263	93,261
10	o,p'-DDD	13.369	235	237,165
11	o,p'-DDT	14.054	235	237,165
12	pp'-DDT	16.033	235	237,246

1.4 样品提取与净化

提取:准确称高活性干酵母粉取 5.0 g、4.0 g 硅藻土混合均匀,全部转入 34 mL 萃取池中(池底部铺专用滤膜),按照 1.3 萃取条件提取。

净化:将提取溶剂转移至入鸡心瓶中于 50 ℃ 下旋蒸近干,用正己烷定容至 10.0 mL,移取 8.0 mL 于 15 mL 离心管中加入 50 mg PSA,涡旋,离心,吸取上清液 5.0 mL 置于具塞试管中,氮吹近干,用正己烷准确定容至 1.0 mL,旋涡混合混匀,供气相色谱-质谱测定。

2 结果与讨论

2.1 提取温度的选择

以乙腈为提取溶剂,静态萃取时间为 9 min 时,比较了 30、50、70、80、90 ℃ 5 种温度条件下的萃取效果,30 ℃ 时部分有机持久性污染物的回收率达不到检测要求, α -666 的回收率仅为 48.0%;随着温度的增高,大部分的有机持久性污染物回收率逐渐上升,当温度达到 80 ℃ 时,除 α -666 外 12 种 POPs 的回收率不再上升,回收率范围在 74.5%~111.7%;然而当提取温度为 90 ℃ 时,虽然 α -666 的回收率有所改善,但基质干扰显著增加(不同提取温度下样品的色谱图见图 1 所示),故提取温度选择 80 ℃。随着温度的增高,目标提取物分子和样品基体之间的作用力如范德华力、氢键减弱,加速了目标提取物分子的解析动力学过程,提取效果改善明显。

2.2 静态萃取时间的选择

以乙腈为提取溶剂,萃取温度为 80 ℃ 时,进一步确定最佳的萃取时间,比较了静态萃取时间为 3、

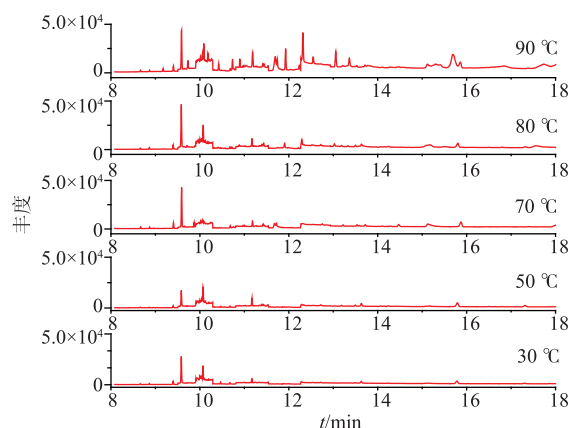


图 1 高活性干酵母粉经不同提取温度处理的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of highly active dry yeast powder extracted by different temperature

6、9、12 min 的提取效果。结果如图 2 所示,静态萃取时间小于 6 min 时,部分分析物的回收率达不到检测要求;当前萃取时间超过 9 min 时,12 种分析物的回收率无明显的提升。综合考虑,静态萃取 9 min 可满足分析测试的需求,故选择静态萃取时间为 9 min。

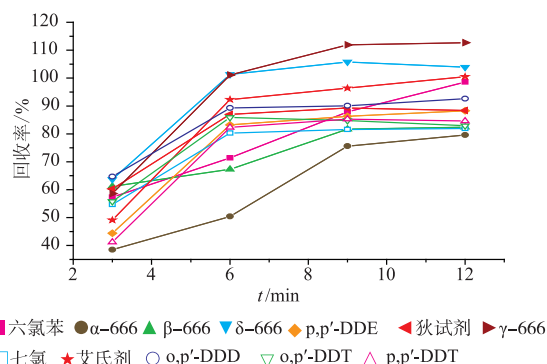


图 2 静态萃取时间的影响

Fig. 2 Effect of static extraction time

2.3 循环次数

增加萃取循环次数,目标物的回收率增加,当循环次数为 1 次时,目标物的回收率达到检测要求,再增加循环次数会增加萃取时间,浪费溶剂,因此循环次数选择 1 次。

2.4 净化条件的选择

活性干酵母富含蛋白质、脂肪、维生素、糖等物质,这些物质会严重干扰目标分析物的测定^[17-18],在 QuEChERS 净化方法中,PSA、C18 及石墨化炭黑 (GCB) 是常用的吸附剂。其中 PSA 吸附在硅胶键合了乙二胺-N-丙基官能团,主要作用力是极性相互

作用及弱阴离子交换作用,可去除提取液中的脂类和糖类物质,去除色素、甾醇和维生素效果一般,C18具有良好的除脂能力。

按照 1.4 处理样品,经实验比较了未净化、50 mg 氨丙基粉、100 mg 氨丙基粉、50 mg PSA、100 mg PSA、200 mg PSA、50 mg C18+100 mg PSA 净化时的效果。如图 3 所示,加入净化剂均能改善样品基质干扰,加入 100 mg 氨丙基粉、200 mg PSA、50 mg C18+50 mg PSA 在 12.5~13.5 min 谱图基线起伏,结合加标回收率结果如图 4 所示,加入氨丙基粉净化 α -666 回收率偏低;加入 50 mg C18+50 mg PSA 净化 p,p'-DDT 的回收率仅为 43.8%;加入 PSA 的量增加,p,p'-DDT 的回收率降低较明显;加入 50 mg PSA 时 12 种 POPs 的回收率在 74.5%~111.7%,能达到较好的净化效果,故确定添加 50 mg PSA 净化。

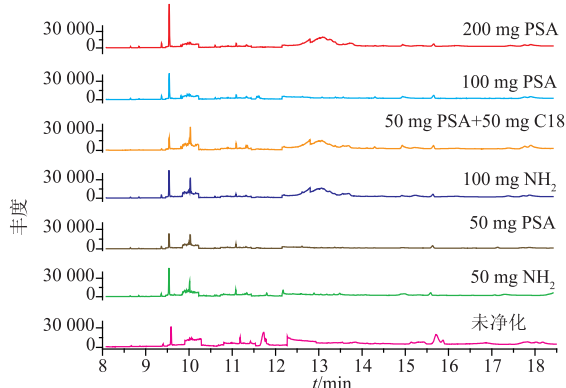


图 3 高活性干酵母粉样品不使用及使用不同净化剂的提取效果图

Fig. 3 Chromatogram of purification by without or using different purification in highly active dry yeast powder

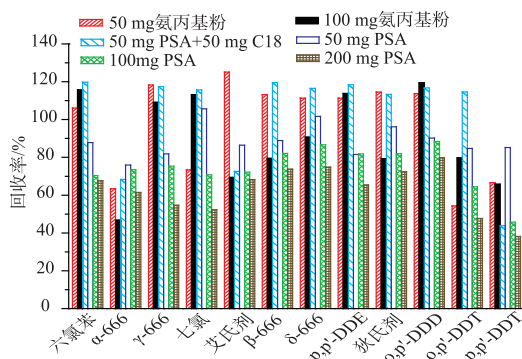
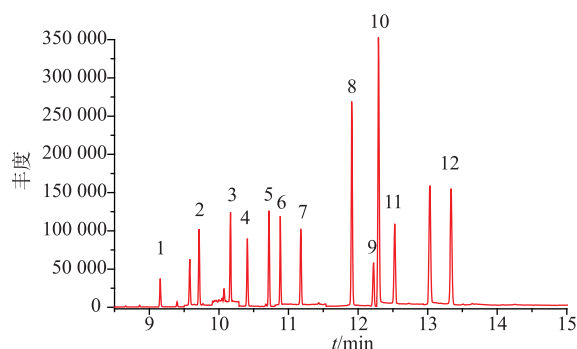


图 4 高效活性干酵母粉中添加 12 种 POPs 不同净化方式的回收率

Fig. 4 Recoveries of 12 POPs spiked in highly active dry yeast powder using different purification method

2.5 线性关系与检出限

配制 12 种有机持久性污染物的系列混合标准溶液,浓度在 0.025~2.5 $\mu\text{g/mL}$ 之间,以峰面积对质量浓度作线性回归,绘制标准曲线,12 种 POPs 线性相关系数 $R^2 \geq 0.992$ 。以信噪比(S/N) ≥ 3 时确定方法的检出限,12 种 POPs 的检出限在 0.002~0.009 mg/kg,线性系数、方法检出限详见表 2。图 5 为高活性干酵母粉中添加 12 种 POPs 的选择离子(SIM)色谱图。



1. 六氯苯;2. α -666;3. β -666;4. δ -666;5. p,p'-DDE;6. 狄氏剂;7. γ -666;8. 七氯;9. 艾氏剂;10. o,p'-DDD;11. o,p'-DDT;12. p,p'-DDT

图 5 高效活性干酵母粉中添加持久有机 12 种 POPs 的 SIM 色谱图

Fig. 5 SIM Chromatogram of 12 POPs spiked in Highly active dry yeast powder

2.6 回收率和精密度

按照 1.4,用高活性干酵母粉样品进行加标回收试验,每个水平 6 次重复,3 个加标水平添加质量浓度分别为 0.05、0.25、1.00 mg/kg,12 种 POPs 的回收率在 74.5%~111.7%之间,见表 3。

2.7 实际样品分析

应用本方法对 36 批高活性干酵母中上述 12 种有机持久污染物进行分析,结果均未检出目标分析物,应用本方法能有效降低基质干扰,加标回收率良好,满足实际样品分析的要求。

3 结语

本文中建立了 QuEChERS-加速溶剂萃取测定高活性干酵母粉中 12 种有机持久污染物的气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析方法,应用该方法进行对高活性干酵母粉进行加标回收实验,标回收率为

表 2 12 种 POPs 的线性方程、相关系数、检出限

Table 2 Linear equations, correlation coefficients and LODs of 12 POPs ($n=6$)

序号	有机污染物	相关系数 R^2	线性方程	检出限 LOD/(mg/kg)
1	六氯苯	0.996	$Y=1.699 \times 10^2 X - 5.347 \times 10^2$	0.009
2	α -666	0.997	$Y=4.462 \times 10^4 X - 1.883 \times 10^3$	0.004
3	β -666	0.997	$Y=4.146 \times 10^4 X - 6.114 \times 10^2$	0.003
4	δ -666	0.994	$Y=3.640 \times 10^4 X - 1.476 \times 10^3$	0.005
5	p,p'-DDE	0.994	$Y=7.788 \times 10^4 X - 3.993 \times 10^2$	0.003
6	狄试剂	0.993	$Y=3.497 \times 10^4 X - 3.681 \times 10^2$	0.004
7	γ -666	0.997	$Y=3.656 \times 10^2 X - 1.134 \times 10^3$	0.004
8	七氯	0.992	$Y=4.260 \times 10^4 X - 3.938 \times 10^3$	0.002
9	艾氏剂	0.998	$Y=6.409 \times 10^4 X - 1.040 \times 10^3$	0.007
10	o,p'-DDD	0.997	$Y=1.809 \times 10^5 X - 1.765 \times 10^3$	0.002
11	o,p'-DDT	0.997	$Y=9.079 \times 10^4 X - 1.339 \times 10^4$	0.004
12	p,p'-DDT	0.997	$Y=1.883 \times 10^5 X - 3.246 \times 10^4$	0.003

表 3 高活性干酵母粉中添加 12 种 POPs 的平均回收率 ($n=6$)

Table 3 Average recoveries and RSDs of 12 POPs spiked in highly active dry yeast powder ($n=6$)

有机污染物 POPs	加标 0.05 mg/kg		加标 0.25 mg/kg		加标 1.00 mg/kg	
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
1.六氯苯	82.3	7.3	87.8	6.9	102.1	4.3
2. α -666	74.5	11.3	75.9	10.4	83.2	8.7
3. β -666	79.8	9.7	81.8	8.5	88.9	5.4
4. δ -666	108.6	10.3	111.7	9.8	96.2	3.9
5.p,p'-DDE	84.5	7.6	81.5	5.9	94.9	4.8
6.狄试剂	88.7	6.5	96.2	4.8	104.4	4.0
7. γ -666	77.6	10.9	81.8	6.1	107.6	6.1
8.七氯	96.7	3.8	105.7	6.2	112.0	3.2
9.艾氏剂	85.5	6.9	86.4	3.1	91.4	4.1
10.o,p'-DDD	93.6	4.1	90.2	5.4	109.5	8.6
11.o,p'-DDT	87.8	5.7	84.7	4.2	97.8	4.3
12.p,p'-DDT	90.5	4.6	85.2	3.8	110.8	4.4

74.5%~111.7%,相对标准偏差为 3.1%~11.3%,结果表明,此方法操作简便、快速、节省溶剂、加标回收

率良好、方法稳定,能有效降低基质干扰,能够满足实际样品分析的要求。

参考文献:

- [1] YOU Yuanhang, QI Shihua, YE Qin, et al. Advances in study of organochlorine pesticides' residue in soils[J]. **Resource Environment & Engineering**, 2005, 19(2): 115-119. (in Chinese)
- [2] 王大宁, 董益阳, 邹明强, 等. 农药残留检测与监控技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 468.
- [3] 刘绪斌, 武运, 孟茹, 等. 酵母生产技术及安全性检测分析[M]. 北京: 中国质检出版社, 中国标准出版社, 2014: 2-3.
- [4] WANG Yao, LIU Shaobin, XIE Cuimei, et al. Determination of organophosphate pesticide residues in salt fish using accelerated solvent extraction and gel permeation chromatography/solid phase extraction with gas chromatography-mass spectrometry[J]. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, 2011, 39(1): 67-71. (in Chinese)
- [5] XU Dunming, LU Shengyu, CHEN Dajie, et al. Determination of ten pesticides of pyrazoles and pyrroles in tea by accelerated solvent extraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. **Chinese Journal of Chromatography**, 2013,

- 31(3):218-220.(in Chinese)
- [6] CHEN Qirong, LANG Shuang, WEI Yan, et al. Determination of 15 organochlorine pesticides in soil by gas chromatography-mass spectrometry with accelerated solvent extraction and gel permeation chromatograph [J]. **Journal Instrumental Analysis**, 2010, 29(5):473-477.(in Chinese)
- [7] OUYANG Yunfu, TANG Hongbing, WU Ying. Rapid determination of pesticide multiresidues in vegetables and fruits by accelerated solvent extraction coupled with online gel permeation chromatography-gas chromatography-mass spectrometry [J]. **Chinese Journal of Chromatography**, 2012, 30(7):654-659.(in Chinese)
- [8] WANG Na. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in Soil by ASE-SPE and gas chromatography accelerated solvent extraction [J]. **Environmental Chemistry**, 2013, 32(3):524-525.(in Chinese)
- [9] WANG Daowei, ZHAO Shiming, JIN Wei, et al. Determination of polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons in Soil by ASE-SPE and gas chromatography accelerated solvent extraction [J]. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, 2013, 41(6):861-868.(in Chinese)
- [10] GUI Jianye, WEI Fuxiang, QI Jixiang, et al. Simultaneous determination of organochlorine pesticides and acid herbicides in soil by in situ derivatization method with accelerated solvent extraction [J]. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, 2011, 39(12):1877-1881.(in Chinese)
- [11] EPA SW-846. Method 3545A pressurized fluid extraction [S]. United States: United States Environmental Protection Agency (EPA), 2000.
- [12] WANG Lianzhu, ZHOU Yu, CHEN Yong, et al. Evaluation of QuEChERS methods for the analysis of 66 organophosphorus pesticide residues in vegetables by liquid chromatography-tandem [J]. **Chinese Journal of Chromatography**, 2012, 30(2):146-153.(in Chinese)
- [13] JESSICA L W, FRANK L D. QuEChERS extraction of benzodiazepines in biological matrices [J]. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, 2013, 3(6):509-517.
- [14] ENOCK D, CHRISTOPHER G, DERICK C, et al. Fomsgaard. Quantification of neonicotinoid insecticide residues in soils from cocoa plantations using a QuEChERS extraction procedure and LC-MS/MS [J]. **Science of The Total Environment**, 2014, 499:276-283.
- [15] XU R, WUA J W, LIUC Y G. Analysis of pesticide residues using the quick easy cheap effective rugged and safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in traditional Chinese medicine by gas chromatography with electron capture detection [J]. **Chemosphere**, 2011, 84(7):908-912.
- [16] JONAS D S S, RUBENS C D C, GILLIANE D A A, et al. Evaluation of an analytical methodology using QuEChERS and GC-SQ/MS for the investigation of the level of pesticide residues in Brazilian melons [J]. **Food Chemistry**, 2013, 141(3):2675-2681.
- [17] BI Ruifeng, FAN Zhixian, FU Meng. Determination of aflatoxins in cashew by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. **Chinese Journal of Chromatography**, 2011, 29(12):1155-1159.(in Chinese)
- [18] PENG Xiaojun, ZENG Yi, PANG Jinshan, et al. Determination of aflatoxin B1, M1 in foods using homemade mixed solid phase extraction column coupled with high performance liquid chromatography [J]. **Journal of Instrumental Analysis**, 2013, 32(8):958-962.(in Chinese)