

婴儿配方奶粉中多环芳烃的萃取与分析

使用 Agilent Captiva EMR-Lipid 小柱和以氢气为载气的 GC/MS

作者

Jessica Westland 和
Limian Zhao
安捷伦科技有限公司

摘要

本应用简报展示了一种样品前处理方法，用于从婴儿配方奶粉中萃取和净化多环芳烃 (PAHs)。使用 Agilent Captiva 增强型基质去除 (EMR-Lipid) 小柱可高选择性、高效地去除婴儿配方奶粉中的脂质，同时达到可接受的分析物回收率。样品处理包括乙腈:乙酸乙酯 (80:20) 混合溶剂萃取，Captiva EMR-Lipid 通过式基质清除，然后采用异辛烷反萃进行溶剂交换，从而更利于 GC/MS 分析。本应用还展现了在 Agilent 8890 GC 与 Agilent 5977C GC/MSD 联用系统上使用氢气 (H₂) 载气和 Agilent Hydro 惰性离子源进行的分析^[1]。

前言

人类暴露于 PAH 的常见途径之一是食物摄入。许多国家/地区都已起草法律法规，建立食物、食品和饮料中 PAHs 的容许极限，并对几种最相关的化合物实施监控策略^[2]。此外，世界卫生组织 (WHO) 和欧盟委员会 (EC) 等监管机构也发布了旨在降低食品中 PAHs 浓度的相关法规，尤其是要通过控制诱导 PAHs 形成过程的策略来实现此目的^[2]。

婴儿配方奶粉中的 PAHs 水平尤其受关注。EC 将婴儿定义为“12 个月以下的儿童”，将婴儿配方奶粉定义为“婴儿在出生后最初几个月食用的食物，其本身可满足婴儿对营养的需求，直到引入适当的补充喂养”^[3]。现行欧盟法律针对婴幼儿加工谷类食物和婴儿食物，以及婴儿配方奶粉和较大婴儿配方奶粉特别制定了 PAH 标准^[4]。根据欧盟法规 (EU) 835/2011，婴幼儿加工谷类食物和婴儿食物中苯并[a]芘 (BaP) 和 PAH4 (BaP、苯并[a]蒽 (BaA)、苯并[b]荧蒽 (BbF) 和蒽 (Chr) 的总和) 的含量不得超过 1 µg/kg。

Captiva EMR-Lipid 直通式净化产品自推出以来就备受关注。EMR-Lipid 吸附剂与脂类的无支链烃链发生选择性相互作用，在溶液中留下“大量”目标分析物以供后续分析。这一选择性相互作用基质使其成为了脂质食品基质中多类别多残留分析的理想选择。

随着市场上的全球氦气 (He) 危机日益严峻，许多实验室都开始寻求更具可持续性的氦气替代品，并探索 H₂ 载气的应用。使用 H₂ 作为气相色谱载气的经济效益广为人知，但它可能导致质谱仪离子源中发生加氢和脱氯反应，因此将 H₂ 用于 GC/MS 和 GC/MS/MS 充满了挑战。Agilent Hydro 惰性离子源是一款针对 GC/MSD 全新设计的 Extractor 离子源，可解决这些问题并提高 GC/MS 中 H₂ 载气的性能^[1]。

本研究考察了一种婴儿配方奶粉中 PAHs 的分析方法，该方法使用 Captiva EMR-Lipid 直通式净化小柱进行样品前处理，随后使用配备 Hydro 惰性离子源的 GC/MS，以 H₂ 为载气进行分析。

实验部分

样品前处理

开发样品前处理方法时参考了用于牛肉和三文鱼样品的已发表 PAH 分析方法^[5]。在溶剂萃取之前，需要先用水溶解婴儿配方奶粉。粗提物随后使用 Captiva EMR-Lipid 3 mL 小柱做进一步净化。为了在 GC/MS 上分析 PAHs，净化后的萃取物使用异辛烷（一种更适用于气相色谱分析的溶剂）进行反萃取。样品前处理流程概览如图 1 所示。整个样品前处理流程将婴儿配方奶粉样品稀释了 5 倍。

仪器分析

在定量方面，PAHs 可使用 GC/MS 进行定量。GC/MS 可高选择性地准确鉴别目标分析物及其对应的内标，因此减少了分析误差^[2]。从婴儿配方奶粉中萃取的 PAH 在 8890 GC 和 5977C GC/MSD 联用系统上使用 Hydro 惰性离子源以 H₂ 为载气进行分析 (图 2)。

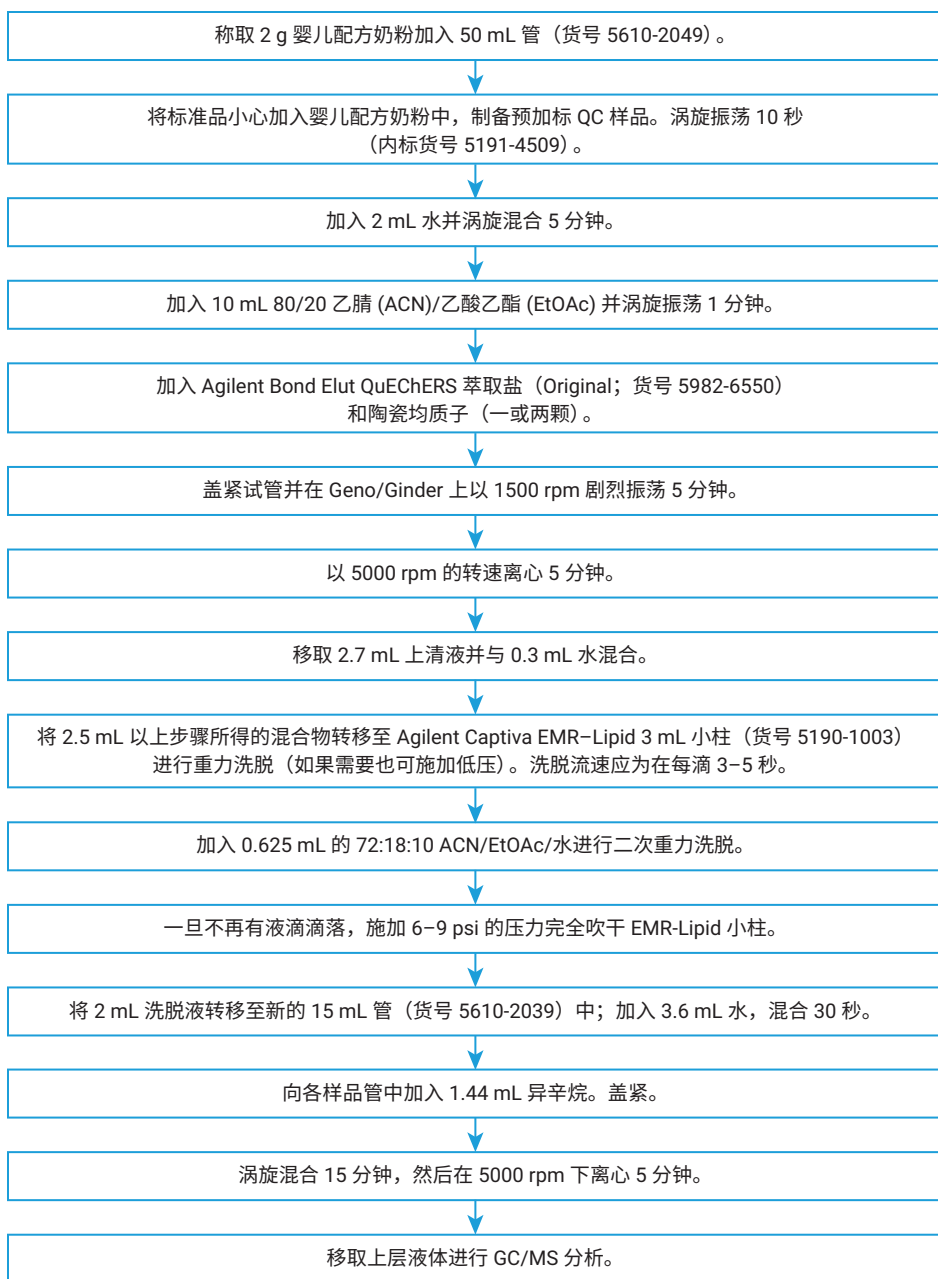


图 1. 婴儿配方奶粉样品前处理流程图

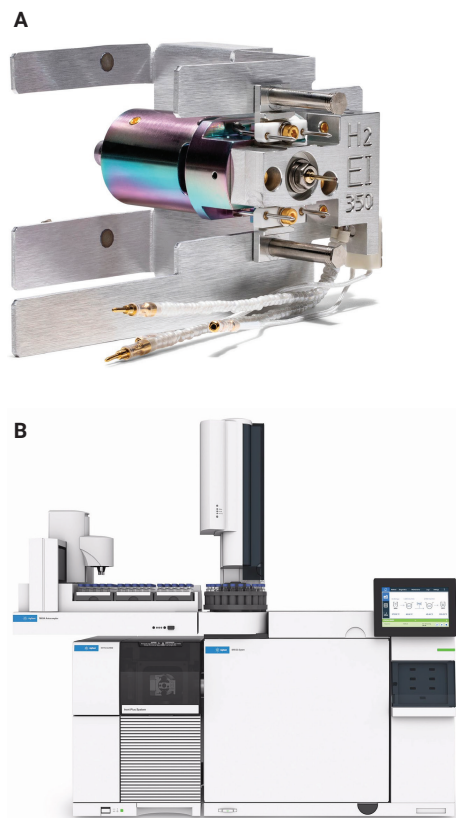


图 2. Agilent Hydro 惰性离子源 (A) 及 Agilent 8890 GC 和 5977C GC/MSD 系统 (B)

8890 GC 系统配备 Agilent J&W DB-EUPAH 色谱柱 (货号 121-9627)，与配备 Agilent Hydro 惰性离子源的 Agilent 5977C Inert Plus GC/MSD 系统联用。表 1 和表 2 总结了本研究中所用的 GC/MS 仪器和消耗品。

结果与讨论

样品前处理

监管限值低加上食物样品基质的复杂性，增加了 PAHs 分析的难度。因此，通常需要大量、多阶段的样品前处理方法。会影响 PAHs 定量的因素有很多，如溶解度、温度、离子强度、分析物与源基质的相互作用等。PAHs 是强疏水性化合物，尤其是 3 环或 4 环结构的高分子量 PAHs，它们的 Log P 值较高，一般在 5 以上。因此，PAHs 易在高脂质含量或其他非极性化合物中累积^[6]。根据组成成分不同，每种食物都有与之相对应的特定样品前处理方法。所以，深入了解目标基质对于确定恰当的 PAH 分析步骤至关重要^[7]。

婴儿配方奶粉是一种脂肪含量相对较高 (含量为 5%–20%) 的食品基质。在溶剂萃取之前，必须先用水溶解干奶粉。在对婴儿配方奶粉基质进行溶剂萃取后，净化/纯化步骤对于分离目标分析物和去除潜在干扰物 (尤其是甘油三酯和脂肪酸等脂质共萃取物) 至关重要，而 EMR-Lipid 可以有效净化基质^[2]。

表 1. GC 和 MSD 仪器与消耗品

部件	说明
GC	Agilent 8890 气相色谱系统
MS	Agilent 5977C Inert Plus GC/MSD
离子源	配有 Hydro 惰性离子源 9 mm 提取透镜的 Agilent Hydro 惰性离子源
进样针	安捷伦蓝色系列自动进样器进样针，10 μ L，PTFE 头推杆 (货号 G4513-80203)
色谱柱	Agilent J&W DB-EUPAH 气相色谱柱，20 m \times 0.18 mm, 0.14 μ m，7 英寸柱架 (货号 121-9627)
进样口衬管	安捷伦超高惰性低压降分流衬管，带玻璃毛 (货号 5190-2295)

表 2. GC 和 MSD 仪器条件

参数	值
进样量 (L1)	2 μ L
进样类型	双层夹层式 (L1、L2)
L1 气隙	0.2 μ L
L2 进样量	0.5 μ L (用于内标夹层式进样)
L2 气隙	0.2 μ L
进样口温度	320 $^{\circ}$ C
进样口模式	脉冲不分流
隔垫吹扫流速	3 mL/min
隔垫吹扫模式	可切换
进样脉冲压力	40 psi 持续 0.75 min
分流出口吹扫流速	50 mL/min, 0.7 min
柱温程序	60 $^{\circ}$ C (保持 1 min)；以 60 $^{\circ}$ C/min 升至 180 $^{\circ}$ C (保持 0 min)；以 3 $^{\circ}$ C/min 升至 335 $^{\circ}$ C (保持 15 min)
载气和流速	H ₂ , 0.9 mL/min, 恒流模式
传输线温度	320 $^{\circ}$ C
离子源温度	320 $^{\circ}$ C
四极杆温度	150 $^{\circ}$ C
数据采集	选择离子监测 (SIM)
调谐	etune.u
增益因子	5

使用 20/80 EtOAc/ACN 溶剂进行萃取为从脂肪基质中萃取疏水性 PAHs 提供了足够的溶剂强度。在 EMR-Lipid 上进行二次洗脱，可确保直通式净化过程中目标分析物从 Captiva EMR-Lipid 小柱中完全洗脱。净化后使用异辛烷进行反萃取，使得更易将萃取溶剂转换为更适用于 GC 的溶剂，并在一定程度上浓缩样品。

对于婴儿配方奶粉来说，先溶解干奶粉以实现有效的溶剂萃取很重要。通过对比较多的水量 (10 mL) 和较少的水量 (2 mL)，研究了加水溶解婴儿配方粉的情况。图 3 显示了使用两种不同的加水量时目标分析物的回收率对比。结果清晰地表明，用少量水 (2 mL) 溶解奶粉对于提升高分子量 PAH 回收率而言至关重要。这是因

为加水量较多 (10 mL) 会导致较为疏水的 PAHs 溶解度降低, 导致目标分析物在萃取过程中损失。因此, 用 2 mL 水溶解 2 g 婴儿配方奶粉供后续溶剂萃取使用。

分析系统

鉴于近期氦气供应短缺, 各机构不得不研究使用 H₂ 载气。然而, 绝大多数 GC/MS 分析都降低了灵敏度, 并且离子源中会发生加氢或脱氯反应。

图 4 显示了婴儿配方奶粉空白样的 GC/MS 总离子流色谱图 (TIC) 扫描。该空白基质的全扫描图展示了样品基质的色谱背景基线。基质空白样被用于后加标的标准样品。

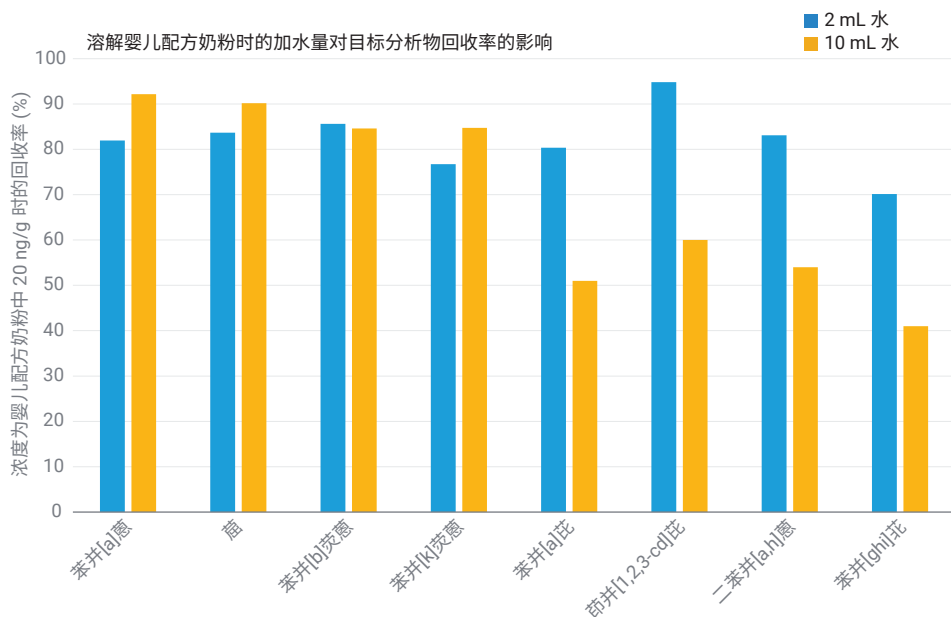


图 3. 在溶剂萃取前使用不同水量溶解婴儿配方奶粉, 对比 PAH 目标分析物的回收率

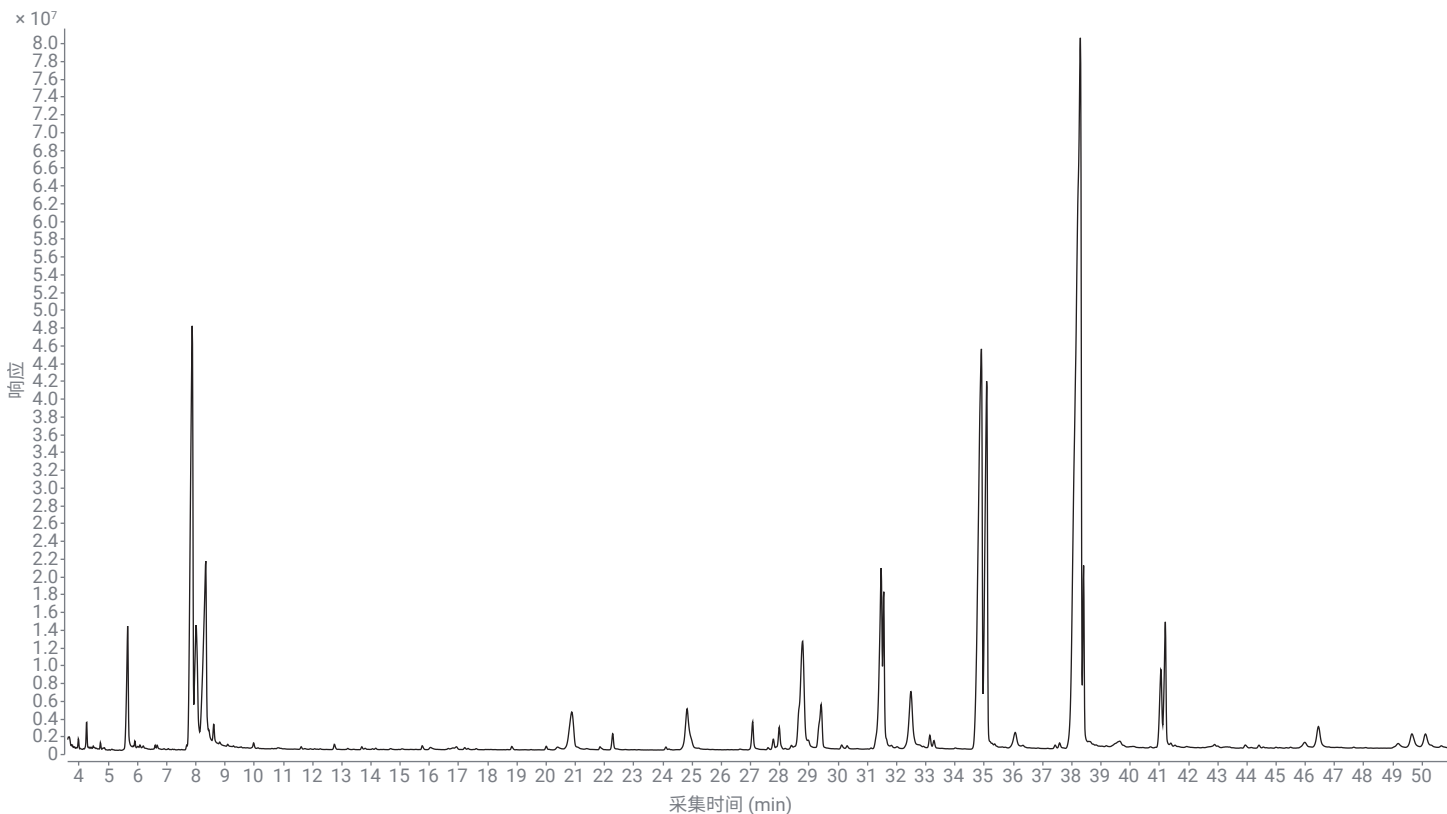


图 4. 婴儿配方奶粉基质空白样的 GC/MS TIC 扫描

为了定量婴儿配方奶粉中的 PAHs，使用样品瓶中 0.1–20 ppb（婴儿配方奶粉中 0.5–100 µg/kg）范围内的 7 个校准水平进行基质匹配校准。目标分析物保留时间 (RT) 和线性值显示于表 3。所得 BaP 和 PAH4 的定量水平低于 1 µg/kg，因此可以实现符合欧盟法规 (EU) 835/2011 的准确定量。

方法回收率和重现性

通过测定预加标样品评估了本研究开发的定量方法的性能。图 5 展示了后加标婴儿配方奶粉样品（婴儿配方奶粉萃取物中 1 ng/g）中目标 PAHs 的 GC/MS SIM 色谱图。

表 3. 目标 PAHs 的分析数据

化合物	RT	线性	定量离子 (m/z)	定性离子 1 (m/z)	定性离子 2 (m/z)
苯并[a]蒽-d12	19.00		240.1	236.1	
苯并[a]蒽 (BaA)	19.15	0.999	228	226	229
蒽-d12	19.50		240	236	
蒽 (Chr)	19.69	0.997	228.1	226.1	229
苯并[b]荧蒽-d12	26.50		264	260	
苯并[b]荧蒽 (BaF)	26.67	0.998	252	250	253
苯并[k]荧蒽-d12	26.70		264.1	260.1	
苯并[k]荧蒽	26.85	0.994	252	250	253
苯并[a]芘-d12	29.14		264.1	260.1	
苯并[a]芘 (BaP)	29.31	0.995	252.1	250.1	248
茚并[1,2,3-cd]芘-d12	35.91		288	284	
茚并[1,2,3-cd]芘	36.05	0.998	276	274	277
二苯并[a,h]蒽-d14	36.14		292	288	
二苯并[a,h]蒽	36.35	0.998	278.1	276.1	279.1
苯并[ghi]花-d12	37.71		288	287	
苯并[ghi]花	37.86	0.997	276.1	274.1	277
二苯并[a,i]芘-d14	46.45		316	317	

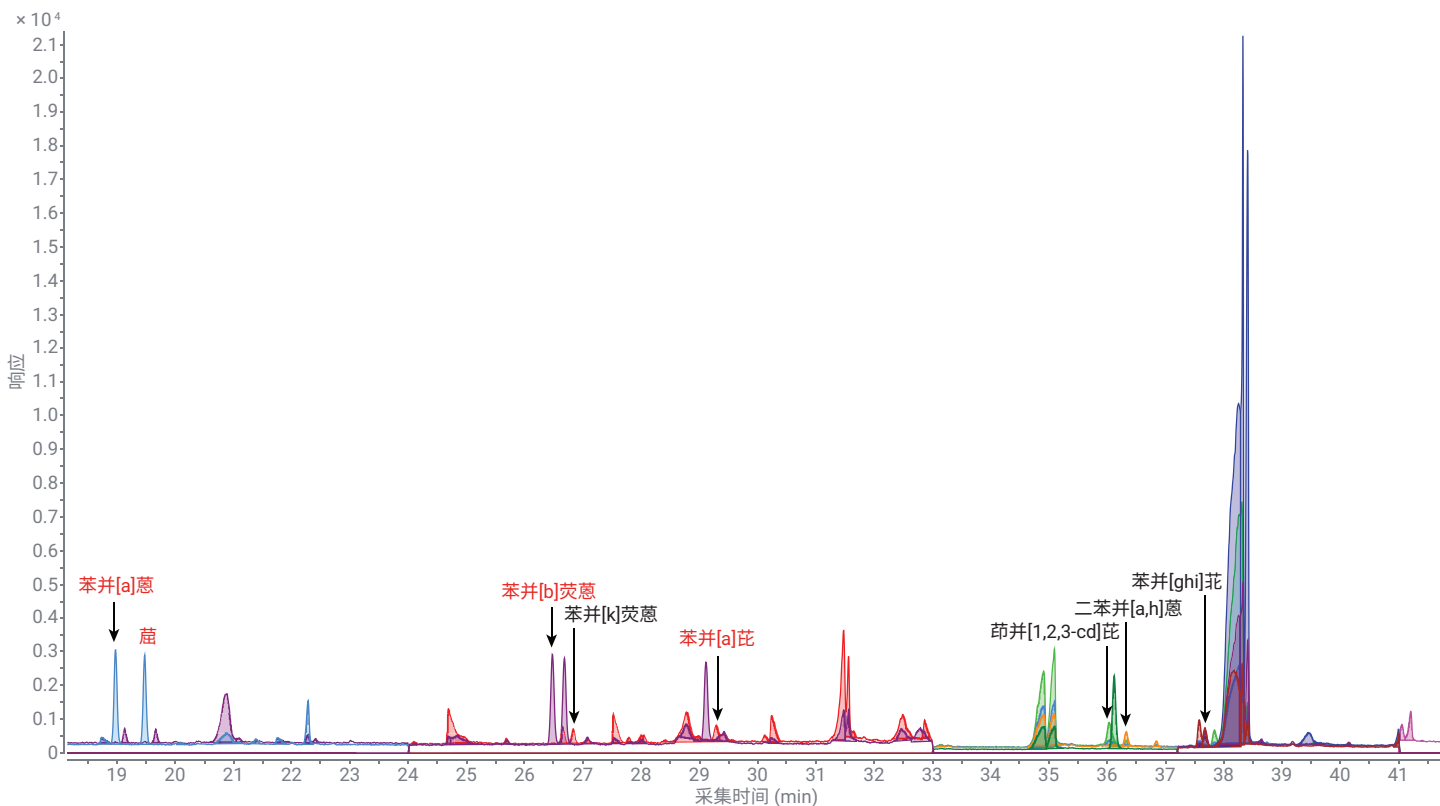


图 5. 后加标婴儿配方奶粉样品（婴儿配方奶粉萃取物中 1 ng/g）中 PAHs 的 GC/MS SIM 色谱图

通过直接对比预加标和后加标婴儿配方奶粉样品的峰面积计算 8 种 PAHs 目标分析物的回收率，结果显示于图 6。4 种关键 PAH 化合物 (BaP、BaA、BbF 和 Chr) 以红色显示。

方法回收率和重现性验证使用了 3 个浓度水平的加标样品，即婴儿奶粉中 1、10 和 50 ng/g，每个水平一式六份。

结果证实，除苯并[k]荧蒽 (1 ng/g 浓度水平的回收率为 54%) 和苯并[ghi]花 (34.6% RSD) 以外，本方法能达到 >60% 的可接受回收率 (60%–95%)，且 RSD <20%。这两个异常值主要归因于仪器方法在 1 ng/g 水平的灵敏度较低，且更易受基质影响。仪器方法灵敏度和基质对低水平加标样品的影响亦造成 1 ng/g 水平的 RSD 更高。

结论

本应用简报展示了一种样品前处理方法，该方法先用溶剂萃取样品，然后进行 Agilent Captiva EMR-Lipid 直通式净化，所得样品可用于分析婴儿配方奶中的 PAH。本研究还证明在 Agilent 8890 GC 和 5977C GC/MSD 系统上使用以 H₂ 为载气的 Agilent Hydro 惰性离子源能够检测低浓度 PAHs。本方法得到了可接受的回收率、重现性和定量结果，符合有关食品中 PAH 分析的 EU 法规要求。

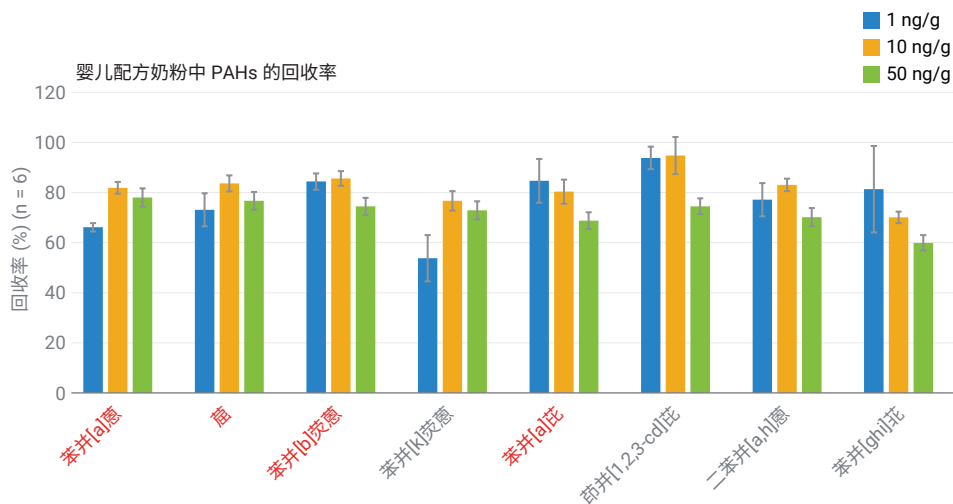


图 6. 婴儿配方奶粉中目标 PAHs 的方法回收率和重现性

参考文献

1. 配备 Hydro 惰性离子源的 Agilent Inert Plus GC/MS 系统，安捷伦科技公司技术概述，出版号 5994-4889ZHCN，2022
2. Sampaio, G. R. et al. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Foods: Biological Effects, Legislation, Occurrence, Analytical Methods, and Strategies to Reduce Their Formation. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, 22(11), 6010. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22116010>
3. European Commission, Food for Infants and Young Children. https://food.ec.europa.eu/safety/labelling-and-nutrition/specific-groups/food-infants-and-young-children_en (accessed 2022-11-14)
4. The European Commission, Commission Regulation (EU) No 835/2011 of 19 August 2011 Amending Regulation (EC) No 1881/2006 as Regards Maximum Levels for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Foodstuffs. *Official Journal of the European Union*. L 215/4, rev 08.2011. <https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011R0835&qid=1619334803026&from=EN> (accessed 2021-04-13)
5. Zhao, L.; Wong, D. 测定三文鱼和牛肉中的 19 种多环芳烃化合物，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5994-0553ZHCN，2020
6. Akinpelu, A. A. et al. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Extraction and Removal from Wastewater by Carbon Nanotubes: A Review of the Current Technologies, Challenges and Prospects. *Process Saf. Environ. Prot.* **2019**, 122(10), 68–82
7. Purcaro, G.; Barp, L.; Moret, S. Determination of Hydrocarbon Contamination in Foods. A review. *Anal. Methods* **2016**, 8(29), 5755–5772

www.agilent.com

DE07135606

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2022
2022 年 11 月 28 日, 中国出版
5994-5560ZHCN

查找当地的安捷伦客户中心:

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线:

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价:

www.agilent.com/chem/erfq-cn

