

# 固相萃取 -PTV-GC 法测定食用油脂中饱和烃矿物油

GC-136

**摘要：**本文重点考察固相萃取 - 程序升温 - 气相色谱法 (SPE-PTV-GC) 测定食用油脂中饱和烃矿物油 (MOSH) 污染物，并与大容量固相萃取 - 气相色谱法 (LS-SPE-GC) 进行了比较，从前处理程序、仪器方法、方法学考察与实际样品测定几个方面比较了两种分析方法。结果表明：不同容量的 SPE 柱对样品净化程序不存在显著性差异 ( $P>0.05$ )；PTV-GC 与普通 GC 在  $C_{12}\sim C_{40}$  碳数分布不存在显著性差异，PTV-GC 在 2.5~200 mg/kg 浓度范围内线性良好 ( $R^2=0.9991$ )，GC 在 12.5~500 mg/kg 浓度范围内线性良好 ( $R^2=0.9994$ )；两种方法测定 6 种食用油脂中 MOSH 的结果没有显著性差异，其回收率和 RSD 值均可以满足检测要求。结果表明 SPE-PTV-GC 和 LS-SPE-GC 测定食用油脂中 MOSH 不存在显著性差异，二者均可应用于日常监测，其中 SPE-PTV-GC 灵敏度更高，适合低含量污染物的分析。

**关键词：**食用油脂 饱和烃矿物油 (MOSH) 气相色谱 (GC) 程序升温进样 (PTV) 固相萃取 (SPE)

近年来随着毒理学的不断深入，食品及包装材料中的矿物油污染引起了各国（尤其是欧盟的关注），食品中的矿物油污染已经成为食品安全领域的研究热点。矿物油 (mineral oil hydrocarbons, MOH) 主要包括直链、支链和烷基取代环状的饱和烃矿物油 (Mineral oil saturated hydrocarbons, MOSH) 以及烷基取代的芳香烃 (Mineral oil aromatic hydrocarbons, MOAH) 两类。MOSH 的毒性主要体现在其具有生物蓄积性 ( $C_{16}\sim C_{35}$ )，而 MOAH 可能具有基因毒性和致癌性。已有研究表明，食用油、婴幼儿食品、谷物等均受到了不同程度的 MOSH 污染。

氢火焰离子化检测器 (FID) 因其等碳响应特点成为目前 MOSH 定量测定的首选方法。将 MOSH 从食品基质中分离的前处理方法包括联用技术 (液相色谱 - 气相色谱联用) 和离线技术，其中，联用技术具有检出限低、重复性好等优点，但该方法需要昂贵的专用仪器，难以在普通实验室普及，离线技术更适合日常检测。目

前已开发的离线技术有正相色谱分离、柱层析及固相萃取 (SPE) 等。SPE 因操作简便、省时、省力，成为实验室优选的样品前处理方法，已报道的检测 MOSH 的 SPE-GC 方法有：固相萃取 - 气相色谱法 (SPE-GC)、大容量固相萃取 - 气相色谱法 (LS-SPE-GC) 以及固相萃取 - 大体积进样气相色谱法 (SPE-LVI-GC)。

国内对食品中 MOSH 的测定尚未规定具体的分析方法，常见的 LVI 技术如程序升温进样技术 (PTV) 和冷柱上进样 (on-column) 已被证实用于测定 MOSH 时无显著性差异。而 LS-SPE-GC 和 SPE-LVI-GC 方法在 MOSH 含量分析的差异尚未有系统研究。

鉴于此，本研究以普通气相色谱和程序升温 - 气相色谱仪 (PTV-GC) 为研究对象，通过评估不同规格 SPE 柱性能、进样口性能、线性范围、检测限和定量限、回收率，最后使用两种仪器对实际样品分析，从样品制备程序及仪器分析方法考察 LS-SPE-GC 和 SPE-GC 的区别，最终对两种方法作出对比评价。

## 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 GC-2010 Plus 气相色谱仪两台：

分别配备 SPL 进样系统和 Optic 4 多模式进样系统，均采用 FID 检测器。

## 1.2 GC 分析条件

### LS-SPE-GC 气相色谱

色谱柱: DB-5HT (15 m × 0.25 mm × 0.1 μm)

色谱柱程序升温: 35°C (4 min) \_ 25°C /min  
\_ 370°C (10 min)

进样口温度: 360°C

进样量: 2 μL

进样方式: 不分流进样

载气控制模式: 恒线速度

载气流量: 1.3 mL/min

载气类型: 氮气

FID 检测器温度: 380°C

FID 尾吹流量: 30 mL/min

FID 空气流量: 400 mL/min

FID 氢气流量: 40 mL/min

### PTV-GC 气相色谱

色谱柱: DB-5HT (15 m × 0.25 mm × 0.1 μm)

PTV 温度参数: 45°C (1 min) \_ 250°C /min  
\_ 360°C (22 min)

PTV 分流比参数: 200:1 (1 min) , 关闭分流阀  
(2 min) , 100: 1 (至结束)

进样量: 50 μL

色谱柱程序升温: 35°C (4 min) \_ 25°C /min  
\_ 370°C (10 min)

进样口温度: 360°C

载气控制模式: 恒线速度

载气流量: 1.3 mL/min

载气类型: 氮气

FID 检测器温度: 380°C

FID 尾吹流量: 30 mL/min

FID 空气流量: 400 mL/min

FID 氢气流量: 40 mL/min

## 1.3 样品制备

0.3% 银渍硅胶制备称取 99 g 硅胶于 1000 mL 铝箔纸包裹外壁的圆底烧瓶中, 用玻璃滴管逐滴加入 1% (m/V) 硝酸银溶液 100 mL, 然后用旋蒸仪混匀 2 ~ 3 h, 静置 12 h, 放入烘箱中, 70°C 干燥 1 h, 随后 80°C 干燥 1 h, 最后 90°C 干燥 12 h。称取 37 g 上述银渍硅胶与 63 g 活化硅胶混匀得到 0.3% 硝酸银渍硅胶, 干燥器内避光保存, 2 周内使用。

LS-SPE 样品前处理称取 1 g (精确至 0.0001 g) 试样于 2 mL 容量瓶中, 加入 0.02 mg/mL 的正十八烷使用液 0.1 mL, 正己烷定容, 摇匀备用。制备的 SPE 大柱 (10 g) 事先用 25 mL 正己烷预淋洗, 流出液弃去。待 SPE 柱中的正己烷近干时一次性加入全部的 2 mL 试液, 待试样近干时分 2~3 次加入 7 mL 正己烷进行洗脱, 待液面近干时, 加入 15 mL 正己烷继续洗脱, 此时开始收集洗脱液, 浓缩至溶液体积为 3~5 mL 时转移至锥底刻度试管中, 继续氮吹浓缩至体积小于 0.5 mL, 用正己烷定容至 0.5 mL, 备用。

SPE 柱样品前处理称量 0.2 g 试样于试管中, 加入 0.02 mg/mL 的 C18 内标溶液 0.1 mL, 摇匀备用。取 5 mL 玻璃注射器 (外层包裹铝箔纸), 底部放入圆形玻璃纤维滤纸 (经正己烷浸泡过夜), 装填 3 g 银渍硅胶, 轻轻敲实, 上面再放入一层滤纸。用 10 mL 正己烷预淋洗 SPE 柱, 弃去流出液, 待液面近干时, 加入上述 0.1 mL 试液, 待 SPE 柱近干时, 用 3 mL 正己烷洗脱, 待液面近干时, 加入 5 mL 正己烷继续洗脱, 此时开始收集洗脱液, 洗脱液经氮吹浓缩至 0.5 mL, 备用。

## 1.4 定量方法

参照测定食用油中的 MOSH 的国际标准 (ISO 17780) 的定量方法, 以正十八烷 C18 为内标用 C18 峰面积及含量和 MOSH 宽峰峰面积来标定 MOSH 宽峰的含量。

## 结果与讨论

分析测定结果的不确定性主要与前处理程序, 样品分析以及色谱图的分析有关, 由于 MOSH 在气相色谱图响应为宽峰, 需要手动积分计算 MOSH 含量, 因此, 谱图的积分和驼峰范围划分在很大程度上影响了整体的不确定度。然而, 也不能忽视前处理程序、仪器分析方法对测定结果的影响。

## 2.1 两种 SPE 柱净化效果比较

为了考察样品制备程序对分析结果的影响, 选用 3 种食用油为样品, 所有样品一式 2 份, 分别采用 10 g 银渍硅胶 SPE 柱和 3 g 银渍硅胶 SPE 柱净化, 浓缩后注入同一台 PTV-GC 测定, 得到数据采用 t- 检验方法验证, 结果见表 1。由表可见, 样品经 10 g SPE 柱及 3 g SPE 柱净化得到的 MOSH 含量无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。因此, 前处理净化程序对分析结果无显著性影响。

表1 食用油样品经不同容量SPE柱净化的实验结果

样品名	MOSH 含量 (mg/kg)		P-value
	10 g SPE 柱	3 g SPE 柱	
山茶油	36.09±0.54	36.76±0.05	0.076
亚麻籽油	12.56±0.23	11.68±0.70	0.355
大豆油	70.67±0.32	70.46±1.93	0.906

## 2.2 方法性能验证

### 2.2.1 PTV 进样量优化

PTV 进样技术的原理是通过低温进样, 将大量溶剂从分流出口排出, 把溶质保留在衬管内, 随后关闭分流阀, 快速升高进样口温度, 将溶质完全气化进入色谱柱, 因此 PTV 进样量是影响目标化合物响应值的重要因素, 实验发现, 当进样量在 10 ~ 100  $\mu\text{L}$  范围时,  $C_{11} \sim C_{40}$  正构烷烃响应量呈线性增加, 当进样量达到 150  $\mu\text{L}$  时, 正构烷烃峰展宽变形, 因此, 进样量选择在 100  $\mu\text{L}$  以内较为适宜, 但由于矿物油样品较“脏”, 为了避免检测器过载、保护仪器, 本试验选择进样量为 50  $\mu\text{L}$ 。

### 2.2.2 PTV-GC 和普通 GC 进样口性能比较

进样口性能测试是通过连续的 10 次正构烷烃混标进样来进行测试, 在  $C_{11} \sim C_{40}$  范围内, 每个烷烃重复性 (以变异系数 CV% 表示) 的平均值分别是 0.96% (GC) 和 1.26% (PTV-GC), 考察不同进样方式的烷烃分布,  $C_{11} \sim C_{40}$  范围内烷烃平均值的重复性分别是 0.52% (GC) 和 0.38% (PTV-GC)。以  $C_{16}$  峰面积为基准, 普通 GC 的其他烷烃相对  $C_{16}$  响应因子在 0.91~1.03 范围内, PTV-GC 的  $C_{11}$  响应因子为 0.75, 其余烷烃的响应因子在 0.86~1.00 范围内, 其中, 具有毒理学意义  $C_{16} \sim C_{35}$  的响应因子在 0.91~1.0 范围, 因此,  $C_{11}$  的挥发损失可以忽略, 两种仪器在  $C_{12} \sim C_{40}$  碳数范围响应不存在显著性差异。

以不同浓度液体石蜡溶液做标准曲线考察仪器方法的线性范围, PTV-GC 在 2.5~200 mg/kg 范围内线性良好 ( $y=1239118.93x-680732.86$ ,  $R^2=0.9991$ ); 普通 GC 在 12.5 mg/kg~500 mg/kg 范围内线性良好 ( $y=35630.87x-313617.11$ ,  $R^2=0.9994$ )。

### 2.2.3 定量限比较

MOSH 的定量限 (LOQ) 不能简单通过信噪比计算得到, 它与 MOSH 的分子量分布, 即与宽峰的宽度密切相关, 驼峰灵敏度是正常尖峰的百分之一。前期研究证实, 只有进入 FID 的 MOSH 总量达到 50 ng 以上才能准确定量分析。

采用 SPE-PTV-GC 方法分析食用油脂样品中 MOSH, 将 0.2 g 样品过 SPE 柱净化浓缩至 0.5 mL, 取 50  $\mu\text{L}$  注入 GC-FID 进行定量分析。整个过程相当于 20 mg 油样进入 FID 检测, 对应的 LOQ 值为 2.5 mg/kg。即当进样量为 50  $\mu\text{L}$  时, 油样的定量限为 2.5 mg/kg。当进样量为 100  $\mu\text{L}$  时, 油样的定量限为 1.25 mg/kg。

采用 LS-SPE-GC 分析食用油脂样品中 MOSH, 将 1 g 样品过 SPE 柱浓缩至 0.5 mL 时, 取 2  $\mu\text{L}$  注入 GC-FID 进行定量分析。整个过程相当于 4 mg 油样进入 FID 检测, 对应的 LOQ 值为 12.5 mg/kg。

### 2.2.4 回收率比较

由于两种仪器方法的检出限不同, 加标浓度不同, 各选取一种油样作为样品基质, 分别添加不同浓度的液体石蜡标准溶液进行回收率实验, 每个样品及空白平行测定 6 次, 计算平均加标回收率和相对标准偏差, 结果见表 2。结果表明, SPE-PTV-GC 方法加标回收率在 94.5%~103.7% 之间, RSD 在 0.72%~1.48% 之间, LS-SPE-GC 加标回收率在 86.7%~92.0%, RSD 在 2.62%~4.12% 之间, 两种方法的回收率和 RSD 值均可以满足检测要求。

表2 食用油样品的加标回收率及其相对标准偏差 (n=6)

方法	添加浓度(mg/kg)	原始浓度 (mg/kg)	测定总浓度(mg/kg)	回收率 (%)	RSD (%)
SPE-PTV-GC	5.00		14.44	99.6	1.32
	10.00	9.46	19.83	103.7	1.48
	20.00		28.37	94.5	0.72
LS-SPE- GC	12.50		44.73	86.7	3.93
	25.00	33.90	56.45	90.2	4.12
	50.00		79.91	92.0	2.62

### 2.3 样品分析结果比较

为了避免提取过程的干扰, 选用无需提取处理的食用油脂为样品, 所有样品一式两份分别采用 SPE-PTV-GC 和 LS-SPE-GC 分析, 每份样品平行分析 3 次, 分析结果见表 3。采用 t- 检验比较两种方法的定量结果, 没有显著性差异 ( $P>0.05$ ), 因此两种方法在分析实际样品时不存在显著性差异。对比部分样品的 SPE-PTV-GC 和 LS-SPE-GC 方法得到的谱图 (图 1), MOSH 的驼峰形状及碳数分布非常相似, 仅在强度上存在差异。SPE-PTV-GC 谱图在低碳数部分表现更好。

表3 分别以SPE-PTV-GC和LS-SPE-GC测定食用油脂样品中的MOSH

Sample	MOSH content/(mg/kg)		C <sub>16</sub> -C <sub>24</sub> content/(mg/kg)		C <sub>25</sub> -C <sub>35</sub> content / (mg/kg)		C <sub>16</sub> -C <sub>35</sub> content / (mg/kg)	
	PTV-GC	GC	PTV-GC	GC	PTV-GC	GC	PTV-GC	GC
Chicken fat	24.90±0.71	25.04±0.04	16.31±0.83	16.26±0.29	4.80±0.37	4.96±0.26	21.11±1.20	21.22±0.12
Rice oil	33.46±1.05	33.48±0.92	4.80±0.08	4.70±0.32	15.46±0.57	15.80±0.27	20.05±0.39	20.47±0.47
Linseed oil	46.73±0.78	46.60±0.20	15.46±0.05	15.89±0.48	22.56±0.56	22.16±0.94	38.06±0.68	38.40±0.32
Walnut oil	43.54±0.64	43.13±0.30	11.94±0.08	11.53±0.26	21.49±0.74	21.68±0.31	32.81±0.66	31.27±0.48
Sesame oil	59.59±0.10	59.31±0.63	4.27±0.04	4.66±0.09	28.85±0.03	29.50±0.36	33.11±0.08	33.92±0.07
Camellia oil	92.37±0.16	92.37±0.72	4.73±0.04	4.54±0.84	63.76±0.52	64.42±0.47	68.49±0.22	68.38±0.78

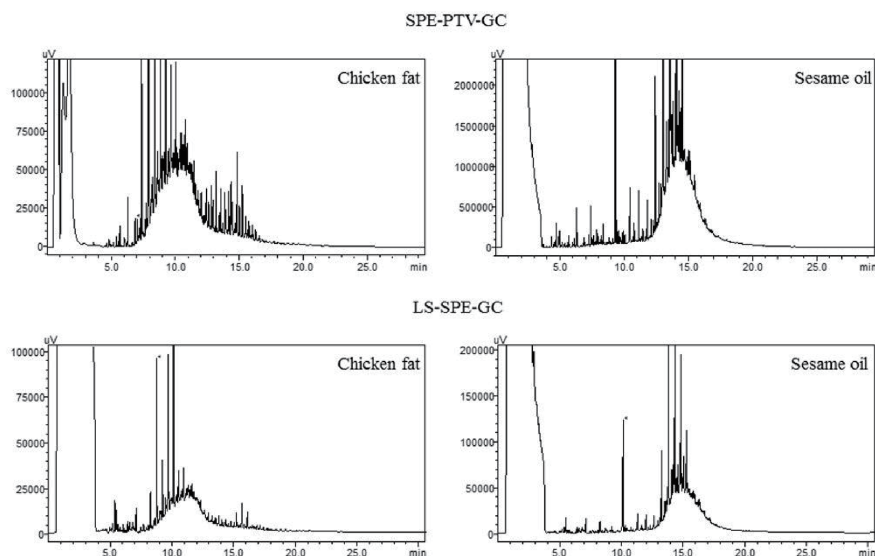


图1 应用SPE-PTV-GC和LS-SPE-GC分别测定同批油脂样品的MOSH谱图比较

## 结论

本文对比了 SPE-PTV-GC 和 LS-SPE-GC 两种方法在 MOSH 含量的测定的差异，发现两种方法在分析实际样品时没有显著性差异，均可应用于日常监测。其中，大体积进样能够显著提高方法的灵敏度，减少了样品和试剂消耗，降低样品污染的风险，避免低沸点物质过度挥发，因此 SPE-PTV-GC 适合低含量污染物的分析。