

## 气相色谱质谱法测定水产品中2种含硫芳烃

李静<sup>1,2</sup>, 韩典峰<sup>2</sup>, 官向红<sup>2</sup>, 邓旭修<sup>2,3</sup>, 张华威<sup>2,3</sup>, 乔丹<sup>1,2</sup>, 张秀珍<sup>1,2\*</sup>

1(上海海洋大学食品学院,上海,201306) 2(山东省海洋资源与环境研究院,山东省海洋生态修复重点实验室,山东烟台,264006) 3(烟台道奕人力资源服务有限公司,山东烟台,264000)

**摘要** 建立了水产品中2种含硫芳烃(4-甲基-二苯并噻吩、4,6-二甲基-二苯并噻吩)的气相色谱-质谱测定方法。样品经NaOH-乙醇皂化,二氯甲烷萃取,硅胶柱净化,正己烷-二氯甲烷(体积比1:1)洗脱,经DB-17ms毛细管柱分离,采用选择离子监测(SIM)测定。研究结果表明,4-甲基-二苯并噻吩和4,6-二甲基-二苯并噻吩的标准曲线在0.5~100 μg/L线性相关性良好,相关系数( $r^2$ )不低于0.997,方法的检出限0.1 μg/kg。在1、10、20 μg/kg 3个加标水平下,回收率为86.5%~93.2%,相对标准偏差为5.4%~7.1%。该方法灵敏度高、准确性好,适用于水产品中上述含硫芳烃的测定。

**关键词** 水产品;含硫芳烃;气相色谱-质谱法;4-甲基-二苯并噻吩;4,6-二甲基-二苯并噻吩

石油是推动社会经济发展的动力,然而石油也通过海上石油开采、海洋运输、大气降落、城市及工业污水的排放和河流输送等<sup>[1-4]</sup>方式进入海域,使得海域的有机污染程度每况愈下。芳烃是石油的重要组分,其中大多数多环芳烃(PAHs)已被证实具有“三致”效应<sup>[5-7]</sup>和内分泌干扰作用<sup>[8-9]</sup>,而含硫杂环化合物都为有毒有害难降解的污染物,在某些情况下能转化为毒性更强的化合物,且毒性比烃类更强。含硫芳烃化合物(PASHs)主要是一些如苯并噻吩系、二苯并噻吩系、萘并噻吩系的噻吩类化合物,还包括具有芳基的二硫化物、硫醇、硫醚等。研究表明,噻吩系的含硫芳烃的热稳定性很高,化学反应不活泼,也许是最不易降解的化合物,且比多环芳烃和含氮杂环化合物更具致癌性,具有难降解和较强的生物累积性<sup>[10]</sup>,会在鱼、贝类等海洋生物体内富集,再通过食物链传递进入人体,从而危害人的健康与安全。并且4-甲基-二苯并噻吩、4,6-二甲基-二苯并噻吩均为石油组分中的生物标志物,其在石油中所占比例对石油产品溯源有重要意义。因此,建立水产品中PASHs残留的检测方法,为进一步探讨石油污染对水产品质量安全的影响提供技术支持,对保证水产品的食用安全有积极作

用。

目前,国内含硫芳烃的分析多采用气相色谱-质谱(GC-MS)法和气相色谱-原子发射光谱(GC-AED)法,并且主要集中在原油<sup>[11]</sup>、煤<sup>[12]</sup>、土壤<sup>[13]</sup>、大气可吸入颗粒物<sup>[14]</sup>等环境样品中,对于生物样品中PASHs测定较少。本文采用NaOH-CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH皂化法提取,自制硅胶柱净化,GC-MS法测定水产品中2种含硫芳烃(4-甲基-二苯并噻吩、4,6-二甲基-二苯并噻吩),结果表明干扰杂质去除彻底,方法的准确度和精密度满足残留分析的要求。

### 1 材料与amp;方法

#### 1.1 材料与试剂

二氯甲烷、正己烷(色谱纯),德国Meker公司;无水乙醇(优级纯),国药集团;NaCl、NaOH(优级纯),天津市光复科技发展有限公司;无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(色谱级),Aladdin industrial corporation,使用前650℃烘干4h,冷却后于干燥器中保存;柱层析硅胶(100~200目),使用前于130℃干燥4h,冷却后密闭保存。

4-甲基-二苯并噻吩(纯度97%),购自北京百灵威科技有限公司;4,6-二甲基-二苯并噻吩(纯度97%),购自Sigma-Aldrich公司。

#### 1.2 仪器与设备

6890N-5973i气相色谱质谱联用仪(配有电子轰击离子源(EI)),美国Agilent公司;XW-80A旋涡混合器,上海医科大学仪器厂;Milli-Q Gradient超纯水机,法国Millipore公司;冷冻离心机,长沙湘仪仪器公

第一作者:硕士研究生(张秀珍研究员为通讯作者,E-mail:zxz0535501@126.com)。

基金项目:山东省现代农业产业技术体系贝类产业创新团队(SDAIT-19);泰山学者岗位“水生动物营养与饲料”(2007-2012);新型持久性有机污染物监测与风险评估体系研究示范(201105013)

收稿日期:2015-04-09,改回日期:2015-06-17

司;旋转蒸发仪,瑞士 BUCHI 公司;玻璃层析柱(400 mm × 10 mm i. d.);150 mL 皂化瓶。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 样品前处理方法

称取(5 ± 0.05) g 匀浆后的样品于 150 mL 皂化瓶中,加入 6 mol/L NaOH 溶液 20 mL、无水乙醇 20 mL 充分摇匀,在室温条件下避光皂化 8 ~ 12 h,制得样品皂化液。将皂化液转入 500 mL 分液漏斗中,用二氯甲烷 20 mL 洗涤皂化瓶,洗涤液转入分液漏斗中,加入 NaCl 溶液 30 mL、水 100 mL,振荡 5 min,静置分层。将有机相收集于旋转蒸发瓶中,水相用二氯甲烷 20 mL 重复萃取 1 次,将有机相合并于旋转蒸发瓶中,在 30℃ 水浴将二氯甲烷萃取液蒸发至约 3 mL,加入正己烷 4 mL,继续旋蒸至约 2 mL,转入 15 mL 离心管中,用正己烷 3 mL 淋洗蒸发瓶后合并至 15 mL 离心管中,4℃ 10 000 r/min 离心 30 min,制得样品提取液共约 5 mL。

采用正己烷湿法装柱制备硅胶层析柱,柱高 6 cm,将样品提取液过柱,用正己烷 10 mL 淋洗,正己烷-二氯甲烷(体积比 1:1)15 mL 洗脱,收集洗脱液,于氮吹仪上 30℃ 浓缩至 0.5 mL,用正己烷定容至 1 mL,转移至棕色进样瓶中,待测。

#### 1.3.2 色谱条件

色谱柱:J&W DB-17 石英毛细柱(30 m × 0.25 mm,0.25 μm);升温程序:50℃ 保持 2 min,以 6℃/min 升至 290℃,保持 21 min;载气(He)流速 1.0 mL/min;进样口温度 260℃,不分流进样,进样量 1 μL。

#### 1.3.3 质谱条件

电子轰击离子源;电子能量 70 eV;传输线温度 300℃;离子源温度 230℃;溶剂延迟 10 min,选择离子监测(SIM)模式。2 种 PASHs 的保留时间、特征离子和定量离子、线性方程、线性相关系数及检出限见表 1。

表 1 2 种含硫芳烃的保留时间、监测离子、线性方程、相关系数及检出限

Table 1 Retention time, SIM ions, linear equations, correlation coefficients (r) and detection limits of 2 PASHs

序号	化合物	保留时间/ min	监测离子 ( <i>m/z</i> )	线性方程	相关系数 ( <i>r</i> <sup>2</sup> )	检出限/ (μg · kg <sup>-1</sup> )	定量线/ (μg · kg <sup>-1</sup> )
1	4-甲基-二苯并噻吩	30.094	198*,197,165	$y = 67.66x + 17.36$	0.999 7	0.1	0.3
2	4,6-二甲基-二苯并噻吩	31.590	212*,211,197	$y = 78.32x - 26.33$	0.999 2	0.1	0.3

注:\* 为定量离子。

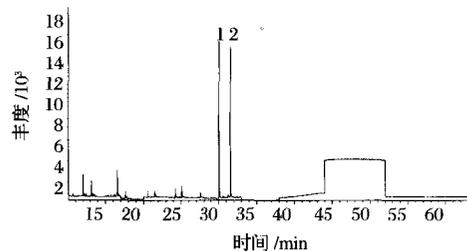
## 2 结果与分析

### 2.1 色谱条件优化

实验发现,对 PASHs 的保留时间和灵敏度影响较大的参数有柱温、进样方式等。在该实验的柱升温程序下,2 种含硫芳烃得到了很好的分离,峰形最好,且有效避免了样品中杂质的干扰。不分流进样能使样品迅速进入色谱柱,减少扩散,提高待测组分的灵敏度。与此同时,为实现与多环芳烃同时检测的目的,在优化色谱条件时兼顾了多环芳烃各组分的出峰时间,在本实验确定的色谱条件下,2 种含硫芳烃与 20 种多环芳烃组分以及样品基质分离效果良好,见图 3。PASHs 标准溶液总离子流图见图 1,蓝蛤及其加标样品总离子流图见图 2、图 3。

### 2.2 提取方法的选择

含硫芳烃的提取方法有超声萃取、索氏提取等,为实现与多环芳烃同时检测,尝试采用多环芳烃的提取方法。文献中对多环芳烃的提取方法主要有皂化



1. 4-甲基-二苯并噻吩;2. 4,6-二甲基-二苯并噻吩

图 1 PASHs 标准溶液总离子流图(浓度均为 50 μg/L)

Fig. 1 Total ion chromatogram of PASHs standard solution (50 μg/L)

法<sup>[15-16]</sup>、索氏提取法<sup>[17]</sup>、超声波提取法<sup>[18-19]</sup>、超临界流体萃取法<sup>[20]</sup>、加速溶剂萃取法<sup>[21]</sup>及适用于均化的动植物油的直接溶解法。亲脂性的含硫芳烃主要分布在样品的脂质和组织细胞内部,并与大分子物质结合。这些客观存在的问题,会对 PASHs 的提取造成困难,仅用非极性溶剂萃取难以获得高的回收率。本文采用皂化-液液萃取法水解富含蛋白质、脂肪的

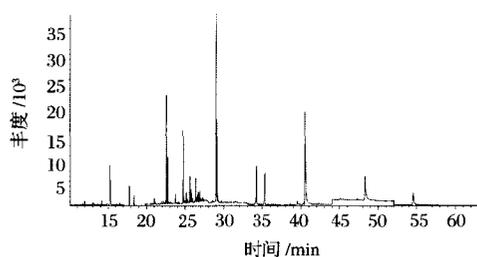
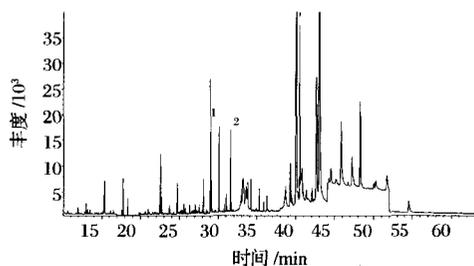


图2 蓝蛤空白样品总离子流图

Fig. 2 Total ion chromatogram of blank *Aloididae aloid*

1. 4-甲基-二苯并噻吩; 2. 4,6-二甲基-二苯并噻吩

图3 蓝蛤加标样品总离子流图(加标量 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )Fig. 3 Total ion chromatogram of spiked *Aloididae aloid*  
(spike level 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

样品,得到的均匀水质混合物可直接用有机溶剂进行萃取,从而可解决萃取不完全问题,提高方法的回收率。本方法选用二氯甲烷为亲脂性相,乙醇-水为亲水性相,得到很好的提取效果。

此外,采用皂化法提取与水产品中石油烃测定的标准方法(GB 17378.6—2007)的提取保持一致,便于进一步探讨水产品中总石油烃含量与烷烃、芳烃含量之间的关系,研究石油污染对水产品质量安全的影响。

### 2.3 净化方法的选择

生物样品基质复杂,待测物含量很低,提取液中含有大量杂质,有效的净化有利于提高方法的检出限并延长仪器使用寿命。本方法虽经皂化、水解去除了样品中绝大部分的脂肪等大分子物质,但提取液中还会有少量的脂肪族化合物及极性较强的组分,仍需进一步净化。

柱层析是残留检测中常用的净化手段,例如固相萃取法<sup>[22]</sup>、各种自制层析柱法,以及凝胶色谱法<sup>[23-25]</sup>等。本研究采用自制硅胶柱,对提取液行净化。层析柱的长度对分离能力有重要影响,柱长度不足,不能将待测组分与杂质有效分离,柱长度过长,则需要较多的淋洗与洗脱溶剂,增加实验操作的时间和成本。本研究考察了填柱高度对净化效果的影响,最终确定填柱高度为 6 cm。

体积比不同的正己烷-二氯甲烷溶液对 PASHs 的洗脱效果不同,二氯甲烷的百分比高,则洗脱的杂质多,反之则洗脱液的用量大<sup>[27]</sup>。为确保层析柱中富集的待测组分被完全洗脱下来,本研究以体积比 1:1 的正己烷-二氯甲烷溶液为洗脱剂,考察了洗脱剂用量对回收率的影响,结果如图 4 所示,洗脱剂的体积在 15 mL 以上时,随着洗脱液体积的增加,回收率基本不变,因此确定洗脱剂的用量为 15 mL。

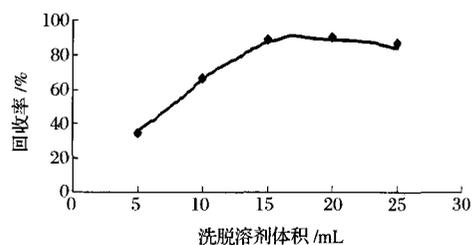


图4 洗脱剂用量与回收率的关系

Fig. 4 The relationship between elute volume and recovery

### 2.4 方法的线性范围与检出限

取质量浓度分别为 0.50、1、10、50、100  $\mu\text{g}/\text{L}$  PASHs 的混合标准工作溶液,在上述优化色谱条件下进行分析。以目标物的定量离子峰面积为纵坐标,对应的质量浓度为横坐标进行线性回归分析,以信噪比 ( $S/N$ )  $\geq 3$  计算检出限 (LOD),以信噪比 ( $S/N$ )  $\geq 10$  计算定量限 (LOQ)。2 种 PASHs 在 0.5 ~ 100  $\mu\text{g}/\text{L}$  质量浓度范围内与其响应值呈良好的线性关系,相关系数 ( $r^2$ ) 不低于 0.997,2 种 PASHs 的检出限、线性方程、相关系数、检出限见表 1。

### 2.5 方法的回收率与精密度

称取若干空白组蓝蛤样品 ( $5.00 \pm 0.05$ ) g, 分别进行 1、10、20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  3 种浓度水平的加标回收试验,平行测定 6 次,结果见表 2。3 个加标浓度下,加标回收率的范围为 86.5% ~ 93.2%, 相对标准偏差为 5.4% ~ 7.1%, 表明该方法的精密度和准确度满足残留分析的要求。

### 2.6 实际样品的测定

采用本文建立的方法对购自水产批发市场的乌贼、扁玉螺、虾虎鱼、海湾扇贝、鲮鱼等水产品体内 2 种 PASHs 进行测定。结果见表 3。

4-甲基-二苯并噻吩、4,6-二甲基-二苯并噻吩均为石油组分中的生物标志物,其在石油中所占比例对石油产品溯源有重要意义。这 2 种化合物在上述 5 种样品中只有在海湾扇贝中有检出,在其他 4 种样品中均未检出。这可能与样品的生活习性与生活环境

有关。

表 2 2 种 PASHs 的平均加标回收率及相对标准偏差 ( $n=6$ )

Table 2 Average recoveries and relative standard deviations (RSDs) of 2 PASHs ( $n=6$ )

序号	化合物	加标水平 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$		加标水平 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$		加标水平 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
		平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%
1	4-甲基-二苯并噻吩	90.4	6.3	93.2	5.8	89.7	5.4
2	4,6-二甲基-二苯并噻吩	86.6	7.1	89.4	6.7	90.5	6.3

表 3 水产品中 PASHs 测定结果

Table 3 Test result of PASHs in fishery products

样品名称	样品中含量 / ( $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	
	4-甲基-二苯并噻吩	4,6-二甲基-二苯并噻吩
乌贼	-	-
扁玉螺	-	-
虾虎鱼	-	-
海湾扇贝	0.62	0.54
鲛鱼	-	-

注: - 表示未检出。

### 3 结论

本文建立了 NaOH-乙醇皂化,二氯甲烷提取,自制硅胶层析柱净化,GC-MS 法检测水产品中 2 种含硫芳烃的分析方法。该方法重现性好,回收率高,在精密度、准确度方面能满足残留检测要求,同时为进一步探讨石油污染对水产品质量安全的影响打下基础,对保证水产品质量安全有重要意义。

### 参 考 文 献

- [1] 李波. 石油烃的污染及其检测方法综述[J]. 广东化工, 2010(4): 269-271.
- [2] 肖雅元. 石油烃污染对翡翠贻贝毒性效应及机理研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2012: 1-3.
- [3] 翁藜洲. 福建中、东部沿海主要养殖贝类体内石油烃含量调查分析[J]. 福建水产, 2005(2): 28-32.
- [4] 苏惠, 蔡友琼, 于慧娟, 等. 中国部分沿海海域牡蛎体内多环芳烃和多氯联苯的空间分布及组分特征[J]. 食品科学, 2012, 33(10): 218-222.
- [5] 万译文, 黄向荣, 陈湘艺, 等. QuEChERS/高效液相色谱法同时测定水产品中 16 种多环芳烃[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 2014(1): 42-47.
- [6] 王丹红, 吴文晞, 李捷, 等. QuEChERS/高效液相色谱测定食品中 15 种多环芳烃[J]. 中国卫生检验杂志, 2013(14): 2 893, 2 895+2 898.
- [7] 张明亮, 黎慧, 徐英江, 等. 莱州湾表层沉积物中多环芳烃(PAHs)来源及生态风险评价[J]. 海洋环境科学, 2015(1): 6-11.
- [8] XUE W, WARSHAWSKY D. Metabolic activation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage: A review[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2005, 206(1): 73-93.
- [9] 孙秀梅, 梅光明, 陈雪昌, 等. 高效液相色谱-荧光检测法测定水产品中 15 种多环芳烃[J]. 南方水产科学, 2012(3): 48-53.
- [10] GIMENOR A, ALTELAAR A F M, MARCÉ R M, et al. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and polycyclic aromatic sulfur heterocycles by high-performance liquid chromatography with fluorescence and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry detection in seawater and sediment samples[J]. Journal of Chromatography A, 2002, 958(1/2): 141-148.
- [11] 徐大庆. 噻吩类化合物 GC-PPFD 分析方法的建立及应用[J]. 石油实验地质, 2010(3): 301-304, 308.
- [12] 杨勇. 煤制液体产品的组成及含硫化合物分析[D]. 上海: 华东理工大学, 2014.
- [13] 贺光秀, 张枝焕, 彭旭阳, 等. 北京地区表层土壤中含氧、含硫杂环芳烃化合物的分布特征及污染源分析[J]. 环境科学, 2011(11): 3 284-3 293.
- [14] 周家斌, 王铁冠, 史权, 等. 大气可吸入颗粒物中含硫和含氧芳烃化合物的气相色谱-质谱分析[J]. 质谱学报, 2004(3): 134-140.
- [15] 杨家锋, 钟惠英, 段青源, 等. 气相色谱-质谱联用法测定水产品中 16 种多环芳烃[J]. 中国卫生检验杂志, 2009(10): 2 291-2 295.
- [16] 何苑雯. 水产品中多环芳烃含量测定方法[J]. 科学之友, 2013(10): 32-33.
- [17] WETZEL D L, VLEET E S V. Accumulation and distribution of petroleum hydrocarbons found in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in the canals of Venice [J]. Italy Marine Pollution Bulletin, 2004, 48(9-10): 927-936.
- [18] 赵美丽. 栉孔扇贝对石油烃蓄积及响应的初步研究[D]. 青岛: 国家海洋局第一海洋研究所, 2011: 19-20.
- [19] 陈雪昌, 胡红美, 陈朋, 等. 超声辅助萃取-高效液相色谱荧光检测法测定贻贝中的多环芳烃[J]. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 2012(4): 321-324.
- [20] 高连存, 崔兆杰, 张春阳, 等. 超临界流体萃取环境模

- 拟样品中多环芳烃的收集方法研究[J]. 色谱, 1996(1): 1-4.
- [21] 吕金刚, 毕春娟, 陈振楼, 等. 上海市崇明岛农田土壤中多环芳烃分布和生态风险评价[J]. 环境科学, 2012, 33(12): 4 270-4 275.
- [22] 何迎春, 王正虹, 李林, 等. 固相萃取/固相微萃取-气相色谱法测定饮用水中多溴联苯醚[J]. 食品科学, 2012, 33(8): 236-240.
- [23] 刘巧瑜, 赵思明, 熊善柏, 等. 稻米淀粉及其级分的凝胶色谱分析[J]. 食品科学, 2003, 24(3): 105-108
- [24] 李莹, 张晓攀, 叶汉英. 凝胶色谱分离高粱外种皮中低聚体原花青素[J]. 食品科学, 2011, 32(24): 248-251.
- [25] PENSADO L, CASAIS M C, MEJUTO M C, et al. Application of matrix solid-phase dispersion in the analysis of priority polycyclic aromatic hydrocarbons in fish samples [J]. Chromatogr A. 2005, 1077(2): 103-109.

## Determination of two polycyclic aromatic sulfur heterocycles in fishery products by GC-MS

LI Jing<sup>1,2</sup>, HAN Dian-feng<sup>2</sup>, GONG Xiang-hong<sup>2</sup>, DENG Xu-xiu<sup>2,3</sup>,  
ZHANG Hua-wei<sup>2,3</sup>, QIAO Dan<sup>1,2</sup>, ZHANG Xiu-zhen<sup>1,2\*</sup>

1(College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

2(Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Shandong Provincial Key Laboratory of Restoration for Marine Ecology, Yantai 264006, China)

3(Yantai Daoyi Humen Resources Service Co., Ltd, Yantai 264000, China)

**ABSTRACT** A gas chromatography-mass spectrometric method was established for the determination of two polycyclic aromatic sulfur heterocycles (4-methyldibenzothiophene, 4,6-Dimethyldibenzothiophene) in aquatic products. The samples were extracted twice with Dichloromethane after NaOH-CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH saponification and cleaned up by neutral silica gel column. Target compounds were eluted by hexane-dichloromethane(1:1) mixture and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS). Experimental results indicated that, the calibration curve of 4-methyldibenzothiophene and 4,6-Dimethyldibenzothiophene showed good linearity in range of 0.5 ~ 100 μg/L ( $r^2 \geq 0.997$ ). The detection limits was 0.1 μg/kg. The average recoveries at three spiked levels of 1 μg/kg, 10 μg/kg and 20 μg/kg ranged from 86.5% to 93.2% with RSDs ranged from 5.4% to 7.1%. The results showed that this method was sensitive, accurate and high recovery rate. It was good for the determination of PASHs in aquatic products.

**Key words** fishery products; polycyclic aromatic sulfur heterocycles (PASHs); gas chromatography-mass spectrometry; 4-methyldibenzothiophene; 4,6-Dimethyldibenzothiophene