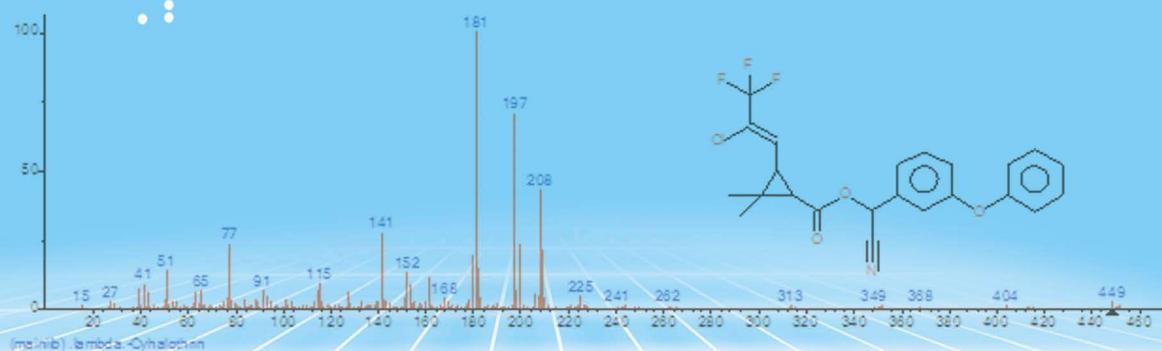


气相色谱-质谱 在食品安全监测中的应用

曹艳平 陈金东 李蔚 焦燕妮 主编



中国海洋大学出版社
CHINA OCEAN UNIVERSITY PRESS

气相色谱-质谱 在食品安全监测中的应用

Qixiangsepu-Zhipu Zai Shipin Anquan Jiance Zhong De Yingyong

主 编 曹艳平 陈金东 李 蔚 焦燕妮
副主编 刘岚铮 张桂芳 宋家玉 王锡宁 王国玲
李凤华 杨路平 李 文 刘文杰 邵立君
刘 仲 张小红 荆建忠 于志刚 李士永
编 委 (按姓氏笔划排序)
于志刚 王国玲 王锡宁 车燕妮 刘文杰
刘 仲 刘岚铮 苏秀娟 李 文 李 蔚
李士永 李凤华 杨路平 辛成龙 宋家玉
张小红 张桂芳 陈金东 邵立君 郑凤家
荆建忠 姜大峰 曹艳平 焦燕妮

中国海洋大学出版社

• 青岛 •

主要内容 该书重点讲述气相色谱-质谱在食品安全监测中的应用。第1章对气相色谱-质谱联用技术进行了介绍;第2章重点阐述食品样品的分析方法,从样品采集与制备、样品前处理技术、样品分析测试、检验结果的定性与定量、分析方法评价等方面进行讲解;第3章将气相色谱-质谱在食品安全检验中的应用分为八节,进行具体实例介绍;第4章对食品检验质量控制进行论述,列出具体的气相色谱-质谱检测的测量不确定度评估实例。该书集理论和应用为一体,内容丰富,图文并茂,通过具体应用实例,使食品分析工作者能进一步掌握食品安全检验的理论和实践技能,是食品分析工作者的一本实用参考书。

图书在版编目(CIP)数据

气相色谱-质谱在食品安全监测中的应用/曹艳平等
主编. —青岛:中国海洋大学出版社, 2017. 9
ISBN 978-7-5670-1588-3

I. ①气… II. ①曹… III. ①气相色谱—质谱—应用
—食品安全—食品监测 IV. ①TS207.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 235306 号

出版发行	中国海洋大学出版社	
社 址	青岛市香港东路 23 号	邮政编码 266071
出 版 人	杨立敏	
网 址	http://www.ouc-press.com	
电子邮箱	1193406329@qq.com	
订购电话	0532-82032573(传真)	
责任编辑	孙宇菲	电 话 0532-85902469
装帧设计	青岛汇英栋梁文化传媒有限公司	
印 制	虎彩印艺股份有限公司	
版 次	2017 年 10 月第 1 版	
印 次	2017 年 10 月第 1 次印刷	
成品尺寸	185 mm×260 mm	
印 张	13	
字 数	300 千	
印 数	1—1000	
定 价	39.00 元	

发现印装问题,请致电 18600843040,由印刷厂负责调换。

序

●●● Preface

气相色谱-质谱技术经过近 50 年的发展,已在环境化学、地球化学、药物化学、食品化学、生命科学、刑侦科学等领域有着广泛的应用。

随着 society 对食品安全关注度的日益提升,食品安全检验的要求越来越严格,食品安全方面出现的问题也时常成为检验难点。我国有关气相色谱-质谱技术在食品安全检验方面的国家标准不断增加,从事食品安全检验的人员也越来越多。因此从事气相色谱-质谱检验的人员,亟须普及和提高气相色谱-质谱分析的理论和技術。本书主要是笔者在食品安全检验中的工作总结,注重实用性,通过具体实例讲解食品样品的分析方法,包括样品采集与制备、样品前处理技术、样品分析测试、检验结果的定性与定量、分析方法评价等方面;详细阐述了如何进行食品检验质量控制,并通过具体实例对测量不确定度进行评估,使从事气相色谱-质谱检验的人员能尽快掌握基本理论,进而从事食品检验工作。

笔者所在单位承担山东省突发食物中毒理化分析工作,并且全省突发食物中毒事件均由笔者参与完成理化分析,明确中毒物质,为事件进一步处理提供科学依据。本书列举了大量实例,均为笔者几十年处理的突发食物中毒的典型案列,通过具体案列来讲解气相色谱-质谱技术在化学性食物中毒检验中的应用,反映了疾控工作应对突发公共卫生事件的特点,具有很强的实践指导性。

对近几年来食品安全检测领域出现的热点难点问题,编者结合工作中的实际情况,对涉及气相色谱-质谱检测的方法进行了优化,使其更加实用。本书集理论和应用为一体,内容丰富,图文并茂,使食品分析工作者通过具体应用实例,掌握食品检验的理論知识和实践技能,是一本颇有实用价值的参考书。

由于时间仓促、作者水平有限,错误和疏漏之处在所难免,敬请专家、同仁及读者指正。

作 者
2017 年 8 月于济南



Contents

第1章	概 述	
1.1	色谱的发展	1
1.2	气相色谱仪基本构造	2
1.3	气相色谱-质谱联用技术	4
第2章	分析方法的建立	
2.1	食品样品的采集与制备	10
2.2	样品前处理技术	15
2.3	样品分析测试	23
2.4	定性与定量	31
2.5	分析方法评价	40
2.6	分析方法的确认	45
第3章	气相色谱-质谱在食品检验中的应用	
3.1	气相色谱-质谱在化学性食物中毒检验中的应用	53
3.2	气相色谱-质谱在农药残留分析中的应用	74
3.3	气相色谱-质谱在违禁兽药分析中的应用	98
3.4	气相色谱-质谱在食品添加剂检验中的应用	108
3.5	气相色谱-质谱在食品非法添加检验中的应用	117
3.6	气相色谱-质谱在分析食品加工过程中产生的有害物质中的应用	126
3.7	气相色谱-质谱在食品中脂肪酸分析中的应用	135
3.8	气相色谱-质谱在持久性有机污染物分析中的应用	138
第4章	分析质量控制	
4.1	分析质量保证	147
4.2	标准、标准物质和标准分析方法	153
4.3	分析质量控制	156
4.4	不确定度概述及评估实例	159
参考文献		200

第 1 章 概 述

1.1 色谱的发展

1.1.1 色谱技术

色谱分离技术是借助色谱分离原理使混合物中各组分分离的技术。1903 年,俄国植物学家 M. S. Tswett 发表了《一种新型吸附现象及在生化分析上的应用》的研究论文,文中第一次提出了应用吸附原理分离植物色素的方法,1906 年,他将这种方法命名为色谱法。这种简易的分离技术,奠定了传统色谱法的基础。经过 100 余年的发展,色谱法已成为一种广泛使用的分析方法。

1.1.2 色谱的分类

色谱是基于混合物中各组分在体系中两相的物理化学性能差异(如吸附、分配、离子交换、分子大小等)而进行分离和分析的方法。当移动相为气体时,称为气相色谱(Gas Chromatography, GC);当移动相为液体时,称为液相色谱(Liquid Chromatography, LC)。

气相色谱法,以气体作为流动相,用固体吸附剂或液体作固定相,它利用试样中各组分在色谱柱中的气相(流动相)和固定相(固相)或固定液(液相)间的分配系数不同,当汽化后的试样被载气带入色谱柱中运行时,组分就在其中的两相间进行反复多次的分配(吸附—解吸附或溶解—放出),由于固定相对各组分的吸附或溶解能力不同,即各组分在固定相和流动相之间的分配系数有差别,因此各组分在色谱柱中的运行速度就不同,经过一定的柱长后,试样中被分离的各组分即能达到完全分离。

气相色谱根据固定相状态的不同可分为以下几种:

1) 气固色谱

气固色谱中的固定相是一种具有表面活性的吸附剂,当样品随载气流过色谱柱时,由于吸附剂对各个组分的吸附能力不同,经过反复多次的吸附与解吸附的过程,使各组分得以分离。

2) 气液色谱

气液色谱中的固定相是在化学惰性的固体微粒(用来支持固定液的,称作担体、支持剂)表面,涂上一层高沸点有机物的液膜,这种高沸点有机化合物称作固定液。

在气液色谱柱内,被测物质中各组分的分离是基于各组分在固定液中溶解度的不同(分配系数 K 的不同)、吸附能力的不同将各组分分离的。

当载气携带样品进入色谱柱中,气相中的被测物质就溶解在固定液中。载气连续流经色谱柱,溶解在固定液中的被测组分会从固定液中挥发到气相中去。随着载气流动,挥发到气相中的被测组分又会溶解在前面的固定液中,这样反复多次的溶解、挥发、再溶解、再挥发。在固定液中溶解度大的组分,较难挥发, K 值大,随流动相移动速率小,后出柱;而 K 值小的组分随流动相移动速率大,先出柱。

1952年,James和Martin发明了气相色谱法;1955年第一台商用气相色谱仪推出;1958年毛细管气相色谱柱出现,气相色谱成为常规分析手段,在工业、农业、国防、建设、科学研究等领域都得到了广泛应用。

气相色谱法由于样品在气相中传递速度快,样品组分在流动相和固定相之间可以瞬间达到平衡,因此气相色谱法是一个分析速度快和分离效率高的分离分析方法。近年来采用高灵敏选择性检测器,使得它又具有分析灵敏度高、应用范围广等优点。作为一种分离和分析有机化合物的有效方法,气相色谱法特别适合进行定量分析,但由于其主要采用对比未知组分的保留时间与相同条件下标准物质的保留时间的方法来定性,使得当处理复杂的样品时、在欲定性的组分完全未知或无法获得组分的标准样品时,很难对组分做出准确可靠的定性鉴定结果。

1.1.3 色谱-质谱的联用

质谱(Mass Spectrometry, MS)技术是将汽化的样品分子在高真空的离子源内转化为带电离子,经电离、引出和聚焦后进入质量分析器,在磁场或电场作用下,按时间先后或空间位置进行质荷比(质量和电荷的比, m/z)分离,最后被离子检测器检测。其主要特点是分子结构鉴定能力能给出化合物的相对分子质量、分子式及结构信息。在一定条件下所得的质谱碎片图及相应强度,犹如指纹图,易于辨识,方法专属灵敏。质谱检测器,检测的是离子质量,从而获得混合物的质谱图,解决了气相色谱定性的局限性,它既是一种通用型检测器,又是选择性(质量型)检测器。

早期的质谱仪主要用来进行同位素测定和无机元素分析,20世纪40年代以后开始用于有机物分析。

将气相色谱与质谱联用,待分析的混合物经气相色谱分离后,分别以纯物质形式进入质谱仪,就可充分发挥质谱法的特长;质谱仪是气相色谱理想的检测器,凭借其高分辨、高灵敏度和分析过程简便快速的特点,成为分离和检测复杂化合物的最有力工具之一。

气相联用仪是分析仪器中较早实现联用技术的仪器。自1957年J. C. Holmes和F. A. Morrell首次实现气相色谱和质谱的联用以后,这一技术得到了飞快的发展。在所有的联用技术中气相色谱-质谱联用技术发展最为完善,应用最为广泛。随着计算机软件和电子技术的发展,此技术日益成熟,功能日趋完善,将色谱技术分离效率高、定量准确和质谱技术的灵敏度高、进样量少、分析速度快等特点进行结合,广泛应用于生命科学、环保、材料、食品、药物开发等领域。

1.2 气相色谱仪基本构造

1.2.1 气相色谱基本原理

气相色谱主要利用被分析物质的沸点、极性、吸附性质的差异来实现混合物的分离。当载气携带样品进入色谱柱中,气相中的已汽化的被测物质就溶解在固定液中,载气连续流经色谱柱,溶解在固定液中的被测组分会从固定液中挥发到气相中去。随着载气流动,挥发到气相中的被测组分又会溶解到前面的固定液中,这样反复多次的溶解、挥发、再溶解、再挥发。因此各组分在色谱柱中的运行速度就不同,经过一定的柱长后,试样中被分

离的各组分即能达到完全分离。

1.2.2 气相色谱仪构成

气相色谱由以下五大系统组成:载气系统、进样系统、分离系统(色谱柱)、检测系统以及数据处理系统。

1) 载气系统

气相色谱载气的气体,必须具有化学惰性、纯度高、价格便宜且易取得、能适合于所用检测器,常用的载气有氢气、氮气、氩气、氦气等,其中最常用的是氮气。

载气中的一些有机物、微量氧、水分等杂质污染物可能与样品或色谱柱反应,产生假峰,进入检测器使基线噪音增大,有可能污染检测器。因此要求用配备有水分、烃类化合物和氧气捕集阱的高纯载气。

检测器用气体(如氢火焰检测器和氮磷检测器用到的氢气和空气)如果不纯,同样会使基线噪音增大,污染检测器,若使用气体发生器而不是气体钢瓶时,应对每一台气体发生器都装配气体净化器,并且使气源尽可能靠近仪器。

气相色谱-质谱联用,必须采用具有化学惰性的、不干扰质谱图、不干扰总离子流的载气进行检测,目前所有商品化气相色谱-质谱联用仪均使用高纯氦气(纯度大于 99.999%)作为载气。仪器公司已将脱水、脱烃类化合物和除氧等多种功能集为一体,即气体净化器,并且其带有指示剂,当指示剂颜色发生变化时,表示其吸附捕集功能已经饱和,需要更换新的气体净化器。载气必须通过控制形成恒定的压力和恒定的流量。

2) 进样系统

进样口将样品直接或经过特殊处理后引入气相色谱仪,导入色谱柱。根据导入色谱柱方式不同可划分为如下几种方式。

(1) 顶空进样方式:顶空进样主要用于固体、半固体、液体样品基质中挥发性有机化合物的分析,将平衡后的顶空气体导入色谱柱,如水中挥发性有机化合物(VOCs)、茶叶中香气成分、中草药挥发性成分、食品中溶剂残留量、合成高分子材料中残留单体等挥发性成分的分析等。

(2) 手动进样方式:有微量注射器和固相微萃取进样器两种。微量注射器:使用微量注射器抽取一定量的气体或液体样品注入气相色谱仪进行分析的手动进样。广泛适用于热稳定的气体和沸点一般在 500℃ 以下的液体样品的分析。

固相微萃取(SPME)进样器:固相微萃取是 20 世纪 90 年代发明的一种样品预处理技术,可用于萃取液体或气体基质中的有机物,萃取的样品可注入气相色谱仪的汽化室进行热解析汽化,然后进色谱柱分析。这一技术尤其适用于水中有机物的分析。

(3) 阀进样方式:气体样品采用阀进样方式不仅定量重复性好,而且可以与仪器周围环境空气隔离,避免空气对样品的污染。而采用注射器的手动进样很难做到上面这两点。采用阀进样的方式可以用多柱多阀的组合进行一些特殊分析。气体进样阀的样品定量管体积一般在 0.25 mL 以上。

液体进样阀一般用于装置中液体样品的在线取样分析,其样品定量环一般体积是 0.1 ~ 1.0 μL 。

(4) 自动进样方式:液体自动进样器用于液体样品的进样,可以实现自动化操作,降低

人为的进样误差,减少人工操作成本。适用于批量样品的分析。

多功能自动进样器可以集成液体进样、顶空进样和固相微萃取进样等多种功能于一体,先进的技术可确保试验结果的准确和效率的提高。

(5) 热解吸方式:将采集到吸附管中的样品高温脱附出来,导入色谱柱。用于气体样品中挥发性有机化合物的捕集,经过热解吸后进入气相色谱仪进行分析。

(6) 吹扫捕集方式:用于固体、半固体、液体样品基质中挥发性有机化合物的富集和直接进入气相色谱仪进行分析。

(7) 热裂解器进样方式:配备热裂解器的气相色谱称为热解气相色谱(Pyrolysis Gas Chromatography PGC),理论上可适用于由于挥发性差,依靠气相色谱还不能分离分析的任何有机物,在无氧条件下热分解,其热解产物或碎片一般与母体化合物的结构有关,通常比母体化合物的分子小,适用于气相色谱分析,但目前主要应用于聚合物的分析。

3) 分离系统(色谱柱)

分离在色谱柱中进行。因为用户可以选择不同的色谱柱,故使用一台仪器可以接上不同的色谱柱,能够进行许多不同类型组分的分析。

色谱柱有两种:毛细管色谱柱和填充色谱柱。毛细管色谱柱分为涂壁开管毛细管色谱柱(WCOT)和多孔层毛细管色谱柱(PLOT),与质谱联用的气相色谱仪主要使用涂壁开管毛细管色谱柱。

毛细管色谱柱根据固定相类型不同分类,主要有非极性、弱极性、中等极性和强极性。

因为大多数分离都依赖于温度,故色谱柱要安装在能够精密控温的柱箱内。

4) 检测系统

气相色谱常用的检测器主要有火焰离子化检测器(FID)、电子捕获检测器(ECD)、热导检测器(TCD)、氮磷检测器(NPD)、火焰光度检测器(FPD),质谱也作为一种质量选择检测器(MSD)。

从色谱柱里出来的含有分离组分的载气流通过检测器而产生信号。检测器的输出信号经过转化后成为色谱图。组分能否分开,关键在于色谱柱;分离后的组分能否鉴定出来则在于检测器,所以分离系统和检测系统是仪器的核心。

5) 数据处理系统

随着计算机技术的发展,各公司生产的仪器的数据处理功能越来越强大,已经将数据处理系统和仪器控制系统集于一体。数据处理系统可以快速准确地采集、储存和处理数据;监控色谱各单元的工作状态;对化合物进行定性定量分析;按用户要求设计、编辑报告格式、自动生成分析报告、用不同的格式输出报告。

1.3

气相色谱-质谱联用技术

1.3.1 气相色谱-质谱仪的组成

其组成主要由气相色谱仪、传输线(接口)、真空系统、质谱仪(离子源、质量分析器、检测器)、化学工作站组成。

1) 气相色谱部分

气相色谱可分离样品中各组分,起着样品组分分离的作用。

2) 传输线(接口)

将气相色谱分离流出的各组分送入质谱仪进行检测,起着气相色谱和质谱之间流量、气压适配器的作用,一般应满足如下要求:① 不破坏离子源的高真空,也不影响色谱分离的柱效;② 使色谱分离后的组分尽可能多地进入离子源,流动相尽可能少地进入离子源;③ 不改变色谱分离后各组分的组成和结构。

3) 真空系统

一般采用两级真空系统,由机械泵和高真空泵组合而成。最常用的机械泵是旋转式油封泵,一般其极限真空度为 10^{-3} Pa,机械泵作为前级泵将真空抽到 $10^{-1} \sim 10^{-2}$ Pa,不能满足质谱仪工作要求,必须进一步采用高真空泵。常见的高真空泵有油扩散泵、溅射离子泵、分子涡轮泵等。扩散泵其性能稳定可靠,但是启动慢,从停机状态到仪器能正常工作所需时间长,而且会有油蒸气的扩散污染问题;分子涡轮泵则相反,启动快,没有污染,因此,大多质谱仪配置分子涡轮泵。分子涡轮泵将真空度降至质谱仪工作需要的真空度 $10^{-4} \sim 10^{-5}$ Pa。

4) 离子源

将被分析的样品分子电离成带电的离子、碎片离子,并使这些离子在离子光学系统的作用下,汇聚成有一定几何形状和一定能量的离子束,然后进入质量分析器被分离。质谱仪的离子源种类很多,主要有以下几种。

(1) 电子电离源(Electron Ionization, EI):电子电离源又称 EI 源,是目前应用最广泛的离子源,主要用于挥发性样品的电离,气相色谱-质谱仪一般都配有这种离子源。其原理是样品以气态形式进入离子源,灯丝激发出的电子与样品分子发生碰撞,使样品分子电离和碎裂。一般有机化合物的电离电位是 10 eV 左右, EI 源常用的电离能量是 70 eV,样品分子在电子的轰击下电离产生分子离子,并可进一步碎裂产生丰富的碎片离子。因此, EI 电离被称为“硬电离”技术。当电离能量固定在 70 eV 时, EI 电离质谱图可以提供丰富的结构信息,且谱图重复性好,因此可以建立庞大的标准谱库供检索。此外, EI 源的电子能量在 0~100 eV 范围内可调,即具备低电压操作功能,可用于化合物类型鉴别。对分子离子峰强度较弱的化合物,通过降低电离电压减少碎片离子,分子离子峰的相对强度增加,有利于分子离子的鉴别。但 EI 存在一些不足:不适用于难挥发、热不稳定的样品;有的化合物在 EI 方式下分子离子不稳定,易碎裂,谱图复杂,得不到相对分子质量信息; EI 方式只能检测正离子,不检测负离子。

(2) 化学电离源(Chemical Ionization, CI):在结构上, CI 和 EI 没有太多区别,也是由电离室、灯丝、离子聚焦透镜和磁极组成。 CI 源工作原理是在电离室里引入一种反应气体,如甲烷、异丁烷、氨等,灯丝发射的电子首先将反应气电离,然后反应气离子与样品分子进行离子-分子反应,并使样品电离。根据被分析样品的性质,可选择不同的反应试剂,常用的有甲烷、异丁烷、氨气等。基于不同的质子亲和力或电子亲和力,样品分子捕获质子或电子,形成带正、负电荷的 $[M+H]^+$ 、 $[M-H]^-$ 、 $[M+NH_4]^+$,从而可以获得相对分子质量信息。在 EI 电离方式下不能获得相对分子质量信息的化合物,用 CI 电离方式是很好的补充。 CI 源一般都有正 CI 和负 CI,可以根据样品情况进行选择。对于含有很强的吸电子基团的化合物(卤素及含氮、氧化合物),检测负离子,选择性好且灵敏度高。 CI

与 EI 一样要求样品必须能汽化,适用于热稳定性好、蒸汽压高的样品,但是 CI 谱图重复性不如 EI 谱图,没有标准谱库,不能进行谱库检索,只有少量专用谱库或可自建谱库。

(3) 场致电离源(Field Ionization, FI): FI 是一种软电离方式。气态样品被导入离子化区,在强电场作用下使气态分子的电子跑出而产生电离,形成的离子不会有过剩的能量,因此分子离子几乎不再进一步裂解。与 EI 和 CI 电离相比,FI 电离是更软的电离方式,只有分子离子几乎没有碎片离子,且没有反应本底,谱图很干净,适合于聚合物和同系物相对分子质量的测定,尤其是烃类混合物中各类烃的相对分子质量测定,再结合高分辨质谱给出元素组成,从而获得化合物的分子式。FI 源配置的质量分析器一般是扇形磁场质谱和飞行时间质谱联用仪,四级杆和离子阱质谱都不能配置 FI 源。FI 与 EI、CI 相比灵敏度要低一些,且高电压容易产生放电效应,操作比较困难。

(4) 基质辅助激光解吸电离源(MALDI):基质辅助激光解吸电离是利用一定波长的脉冲激光照射样品使样品从基质解吸并电离的一种电离方式。被测样品以一定的比例与基质化合物混合并溶于合适的溶剂,样品以单分子状态分散在基质中。干燥后,将载有样品的样品靶置于仪器中。当激光照射到基质上,基质吸收能量而激发,经过多级能量的传递后,样品分子与基质脱附并转为气相离子。MALDI 属于软电离技术,比较适合于分析生物大分子,如肽、蛋白质、核酸等,得到的质谱主要是分子离子和准分子离子,碎片离子和多电荷离子较少。与其他质谱离子源相比,MALDI 具有许多优点:灵敏度高,通常可以检测到 1pg;对样品的纯度要求不高,能耐受一定量的小分子像盐、缓冲剂和其他非挥发成分等,可以直接分析未处理过的生物样品;MALDI 中单电荷分子离子峰占主要地位,且碎片离子少,因而这一技术是混合物分析的理想手段。但 MALDI 仍存在一定缺点,如基质选择仍凭经验、基质辅助机理还不清楚等。

5) 质量分析器

质量分析器是质谱仪的核心,它将离子源产生的离子按质荷比(m/z)的不同,按空间位置、时间的先后或轨道的稳定与否进行分离,以得到按质荷比大小顺序排列的质谱图。

用于有机质谱仪的质量分析器有四级杆质量分析器、离子阱质量分析器和飞行时间质量分析器等。

(1) 四级杆质量分析器:四级杆质量分析器是由四根严格平行并与中心轴等间隔的圆柱形或双曲面柱状电极构成的正、负两组电极,相对两根电极间加有正电压($+V_{dc}+V_{rf}$),另外两根电极间加有负电压($-V_{dc}-V_{rf}$),可产生一动态四极电场。离子在四极场的运动轨迹由经典的马修方程解确定,满足方程稳定解的即有稳定震荡的离子能通过四极场,通过控制四极场电压的变化,可以使一定质荷比(m/z)的离子通过电场,到达检测器,对应于电压变化的每一个瞬间,由于只有一种质荷比的离子能通过,因此也被称为“质量过滤器”。四级杆质量分析器是气相色谱-质谱联用中最通用的一种质量分析器,有长久的应用历史,性能稳定,具有全扫描(Scan)和选择离子监测(Selected Ion Monitoring, SIM)两种模式。选择离子监测扫描模式是有选择性地检测单个或几个质量离子,从而降低信噪比,提高灵敏度,适合于定量分析。

三重四极质量分析器(Triple Quadrupole System, TQS)由两个四级杆质量分析器以及串接在中间的惰性气体碰撞池组成,是具有多种扫描功能的 MS/MS 分析方法。扫描模

式包括子离子扫描、母离子扫描、中性丢失扫描和多反应选择监测(MRM)方法,是两个质量分析器在不同操作条件下协同完成的。通过子离子、母离子和中性丢失扫描方式,确定各个子离子的归属,研究离子的碎裂途径,可用于未知物的结构分析。MRM 主要用于定量分析,其比单四级杆质量分析器的 SIM 方式选择性更好、信噪比更高、检测限更低。

(2) 离子阱质量分析器:离子阱质量分析器,是 20 世纪 80 年代推出的商品仪器,也称为“四极离子阱”(Quadrupole Ion Trap)。它由环形电极和上、下两个端盖电极构成三维四极场。在环形电极和端盖电极加上直流电压 U 和射频电压 V_{rf} 的电压,离子在离子阱内的运动遵守马蒂厄微分方程,具有与四级杆质量分析器相似的稳定图。在稳定区内的离子,轨道振幅保持一定大小,可以长时间留在阱内,不稳定区的离子振幅很快增长,撞击到电极消失。对于一定质量的离子,在一定的 U 和 V 下,可以处在稳定区。改变 U 和 V 值,离子可能处于非稳定区。如果在引出电极上加负脉冲,可将阱中稳定离子引出到电子倍增器检测。离子阱质谱有全扫描和选择离子扫描功能,利用离子存储技术,选择任一质量离子进行碰撞解离,可实现二级或多级质谱(MS^n)分析功能。多级质谱的原理是在某一瞬间选择一母离子进行碰撞裂解,扫描获得子离子谱,下一瞬间从子离子中再选择一个离子作为母离子碰撞裂解,扫描获得下一级的子离子谱。理论上可以一直继续下去获得多级子离子信息,但是越是往下一级,离子丰度就会越来越小。与其他的质谱相比,离子阱体积小,结构简单,灵敏度高,较为广泛应用于蛋白质组学和药物代谢分析领域。

(3) 飞行时间质量分析器(TOF-MS):飞行时间质量分析器在 20 世纪 90 年代取得迅速发展,其具有扫描和离子采集效率高、质量范围宽及分辨率高等优点。离子束被高压加速以脉冲方式推出离子源进入飞行管,在真空的飞行管中漂移到检测器,由于离子质量不同,到达检测器的时间也不同。离子在飞行管中的飞行时间与离子的质荷比的平方根成正比。对于能量相同的离子,离子质荷比越大,到达检测器所用的时间越长,反之,质荷比越小,所用时间越短。根据这一原理,可以把不同质荷比的离子分开。

6) 检测器

质谱检测器的作用是将来自质量分析器的离子束进行放大并进行检测,电子倍增检测器是气相色谱-质谱联用仪中最常用的检测器,质谱检测器是质量型、通用型检测器,不仅能够给出一般气相色谱检测器所能获得的色谱图(总离子流色谱图 Total Ion Chromatograph, TIC),而且能够给出每个色谱峰所对应的质谱图。

质谱仪中检测器主要采用的是电子倍增器和光电倍增器。它们的工作原理相似:离子打在高能打拿极上产生电子。电子经过电子倍增器产生电信号,记录不同离子的信号即得到质谱。信号增益与倍增器电压有关,提高倍增器电压可以提高灵敏度,但同时会降低倍增器的寿命,因此,应该在保证仪器灵敏度的情况下采用尽量低的倍增器电压。光电倍增器则是打拿极发射出的二次电子,达到一个能发射光子的闪烁晶体上,发射出光子,由光电倍增管及放大器放大,转换成电流检测。

7) 化学工作站

化学工作站具有计算机控制与数据处理系统的功能,可交互式地控制气相色谱、传输线和质谱仪,可以快速准确地采集和处理数据,监控质谱及色谱各单元的工作状态,对化合物进行自动的定性、定量分析,按用户要求设计、编辑报告格式,自动生成分析报告,用

不同的格式输出报告。化学工作站还可以有更大的硬盘容量,永久保存色谱、质谱原始数据,包括仪器的分析条件、分析过程中仪器的状态变化(这是优良实验室规范,即所谓 GLP 所要求的)。工作站软件可以为 A/D 控制模块的仪器提供基于局域网的仪器的控制和数据采集,实现在局域网内的多台仪器的操作、监控、管理。随着工作站的升级,对采用基于 IP 的网络管理模式的仪器,工作站可以远程控制、远程管理、远程对仪器进行故障诊断等。

1.3.2 气相色谱-质谱联用扫描方式

气相色谱-质谱联用仪能将可汽化的混合物进行有效的分离,对其组分进行准确的定性、定量。气相色谱具有极强的分离能力,但它对未知化合物的定性能力较差;质谱对未知化合物具有独特的鉴定能力,且灵敏度极高,但它要求被检测组分一般是纯化合物。将气相色谱与质谱联用,既弥补了气相色谱只凭保留时间难以对复杂化合物中未知组分做出可靠的定性鉴定的缺点,又利用了鉴别能力很强且灵敏度极高的质谱作为检测器,凭借其高分辨能力、高灵敏度和分析过程简便快速的特点,使气相色谱-质谱成为分离和检测复杂化合物的最有力工具之一。

混合物样品经气相色谱柱分离后进入质谱仪离子源,在离子源被电离成离子,离子经质量分析器、检测器之后即成为质谱信号并输入计算机。样品由色谱柱不断地流入离子源,离子由离子源不断进入分析器并得到质谱信号,只要设定好分析器扫描的质量范围和扫描时间,计算机就可以采集到一个个质谱信号。计算机可以自动将每个质谱信号的所有离子强度相加,显示出总离子强度,总离子强度随时间变化的曲线就是总离子色谱图,总离子色谱图的形状和普通的色谱图的形状是相一致的,可以认为是用质谱作为检测器得到的色谱图。

四极杆质谱仪扫描方式有两种:全扫描和选择离子监测扫描。三重四极质量分析器主要的扫描方式有子离子扫描、母离子扫描、中性丢失扫描和质谱多反应监测技术,在食品分析中最常用的是多反应监测技术。

1) 全扫描方式(Full Scan)

全扫描方式是对指定质量范围内的离子全部扫描并记录,得到的是正常的质谱图,这种质谱图可以提供未知物的相对分子质量和结构信息,可以将得到的质谱图与标准质谱图库进行检索。

2) 选择离子监测扫描方式(Selected Ion Monitoring, SIM)

选择离子监测扫描方式是只对选定的离子进行检测,而其他离子不被记录。它的最大优点:一是对离子进行选择性的检测,只记录特征的、感兴趣的离子,不相关的、干扰离子统统被排除;二是选定离子的检测灵敏度大大提高,采用选择离子监测扫描方式比正常扫描方式的灵敏度提高大约 100 倍。由于选择离子监测扫描只能检测有限的几个离子,不能得到完整的质谱图,因此不能用来进行未知物定性分析。但是如果选定的离子有明显的特征,也可以用来表示某种化合物的存在。选择离子监测扫描方式最主要的用途是定量分析,由于它的选择性好,可以把由全扫描方式得到的非常复杂的总离子色谱图变得十分简单,消除了其他组分造成的干扰。

3) 质谱多反应监测(Multiple Reaction Monitoring, MRM)技术

质谱多反应监测技术作为一种质谱检测的分析方法,具有特异性强、灵敏度高、准确度高、重现性好、线性动态范围宽、自动化高通量的优点。

(1) 质谱 MRM 技术的原理。在三重四极杆质谱仪中有三套四极杆过滤器,但是仅有

第一和第三套四极杆用作质量分析器,通常将其改称为串联四级杆。第一套四极杆(Q1),作为质量过滤器,传输并加速选定离子,将其送向 Q2(称为碰撞室),Q2 类似于其他两套四极杆,射频(RF)施加在杆上的作用仅是传输,而不是质量选择,Q2 中的压力较高,离子在碰撞室内与中性气体相碰撞,结果经碰撞诱导解离(CID)发生裂解,碎片随后加速进入 Q3,离子在此质量过滤器中被排列后,进入检测器。

MRM 技术是一种基于已知或假定的反应离子信息,有针对性地选择数据进行质谱信号采集,对符合规则的离子进行信号记录,去除不符合规则离子信号的干扰,通过对数据的统计分析从而获取质谱定量信息的质谱技术。MRM 技术是在单反应监测(Single Reaction Monitoring, SRM)技术的基础上演化而来的。对于 MRM 技术关键在于首先要能够检测到具有特异性的母离子,然后只将选定的特异性母离子进行碰撞诱导(Collision-induced),最后去除其他子离子的干扰,只对选定的特异子离子进行质谱信号的采集。

(2) 质谱 MRM 技术的特点。① 灵敏度高:通过两级离子选择,排除大量干扰离子,使质谱的化学背景降低,目标检测物的信噪比显著提高,从而实现检测的高灵敏度。② 重现性好:在 MRM 技术选择性的质谱信号采集中,避免了待测分子离子化、质谱信号的抑制及源内碰撞碎裂过程的影响,因此重现性也相应提高。③ 准确度高:利用 MRM 技术的特异性,进行连续增强的离子扫描分析,得到高分辨的串联质谱(MS/MS)碎片数据,与全扫描和中性丢失质谱扫描模式相比降低了分析过程中定性结果的假阳性率,保证了分析的准确度。④ 通量高:MRM 技术每个工作循环能处理多达 300 对母离子-子离子对。

1.3.3 气相色谱-质谱联用分析特点

(1) 气相色谱作为进样系统,将待测样品进行分离后直接导入质谱进行检测,既满足了质谱分析对样品单一性的要求,还省去了样品制备、转移的烦琐过程;不仅避免了样品受污染,对于质谱进样还能有效控制,也减少了质谱仪器的污染,极大地提高了对混合物的分离、定性、定量分析效率。

(2) 质谱作为检测器,检测的是离子质量,获得化合物的质谱图,解决了气相色谱定性的局限性,既是一种通用型检测器,又是有选择性的检测器。因为质谱法的多种电离方式可使各种样品分子得到有效的电离,所有离子经质量分析器分离后均可以被检测,有广泛的适用性。

(3) 气相色谱-质谱联用的优势还体现在可获得更多信息,单独使用气相色谱只获得保留时间、强度二维信息,单独使用质谱也只获得质荷比和强度二维信息,而气相色谱-质谱联用可得到保留时间、质荷比、强度三维信息。

(4) 气相色谱-质谱联用技术的发展促进了分析技术的计算机化,计算机化不仅改善并提高了仪器的性能,还极大地提高了工作效率。控制仪器运行数据采集和处理,定性、定量分析,谱库检索以及打印报告输出,都可以通过计算机来完成,操作更方便,大大缩短了试验时间,提高仪器功能,实现分析自动化。

气相色谱仪是质谱法理想的“进样器”,试样经色谱分离后以纯物质形式进入质谱仪,就可充分发挥质谱法的特长;质谱仪是气相色谱理想的“检测器”,色谱法所用的检测器如氢火焰电离检测器、热导检测器、电子捕获检测器等都有局限性,而质谱仪能检出几乎全部化合物,灵敏度高。

第2章 分析方法的建立

由于食品样品多种多样,具有基质复杂、干扰物质多且含量高、目标化合物含量低等特点,通常需要采用复杂的提取、净化、浓缩等处理技术才能对其中的有机物进行分析测定。

食品样品的采样、保存、运输、处理、分析等操作过程均有一系列特殊的要求,通常需要进行目标物提取、净化预处理后才可以进行各种仪器分析,否则,得到的数据不但不可靠,而且还会污染测试系统,影响仪器的性能及使用。

一个完整的食品样品分析包括从采样开始到出报告的整个流程,大致可以分为采样、样品处理、分析测试、数据处理及整理报告五个阶段。有关文献对这五个阶段所需要的时间及劳动强度进行了统计:样品采集占6.0%,样品有机物提取、净化处理技术占61.0%,分析测试占6.0%,数据处理与报告占27.0%。其中,样品目标物提取、净化处理技术所需的时间最长,约占整个分析时间的2/3。这是因为在过去几十年中,分析化学的发展集中在研究方法本身,例如,如何提高灵敏度、选择性及分析速度;如何应用物理与化学中的理论来发展新颖的分析方法与技术,以满足高新技术对分析化学提出的更高、更新的目标与要求。而采用高新技术的成果改进分析仪器的性能、分析速度及自动化程度,忽视了对样品目标物提取、净化处理方法与技术的研究,会造成以下不利因素:① 目前花费在样品目标物提取、净化处理技术上的时间比样品本身的分析测试所需的时间多,通常分析测试一个样品只需几分钟至几十分钟,而样品目标物提取、净化处理技术的时间可多达几小时甚至几十小时;② 样品中目标物提取、净化处理技术有大量的溶剂消耗,特别像甲醇、氯仿、正己烷等有毒性的溶剂,对环境及操作者造成二次污染;③ 由于消耗大量有机溶剂,使测试成本大大增加。

快速、简便、自动化的目标物提取和净化处理技术不仅可以省时、省力,而且可以减少由于不同人员的操作及样品多次转移带来的误差,避免使用大量溶剂,对于减少对环境 的污染也有深远的意义。特别是在线有机物提取、净化处理等新技术研究的深入开展,必将对分析化学的发展起到积极的推动作用,并使之达到一个新的高度。

2.1 食品样品的采集与制备

对于食品样品的采集与制备,目前可以使用的国家标准有《新鲜水果和蔬菜取样方法》(GB/T 8855—2008),《肉与肉制品取样方法等方法》(GB/T 9695.19—2008),鼓励使用最新版本。

2.1.1 采样要求

采样就是从整批产品中抽取一定量具有代表性样品的过程。采样时必须遵守两个要求:第一,采集的样品要均匀,有代表性,能反映全部被测食品的组分、质量和卫生状况;第

二,采样过程中要设法保持原有的理化指标,防止成分逸散或带入杂质。

2.1.2 采样方法

样品的采集有随机抽样和代表性取样两种方法。随机抽样可以避免人为的倾向性,但是对难以混匀的食品(如黏稠液体、蔬菜等)的采样,必须结合代表性取样,从有代表性的各个部分分别取样。因此,采样通常采用几种方法相结合的方式。具体的取样方法,因分析对象的性质而异。

1) 液体、半流体饮食品

液体、半流体饮食品如植物油、鲜乳、酒或其他饮料,如用大桶或大罐盛装者,应先行充分混匀后采样。样品应分别盛放在三个干净的容器中,盛放样品的容器不得含有待测物质及干扰物质。

2) 粮食及固体散装食品

粮食及固体散装食品应自每批食品的上、中、下三层中的不同部位分别采取部分样品混合后按四分法对角取样,再进行几次混合,最后取有代表性样品。

3) 罐头、瓶装食品或其他小包装食品

罐头、瓶装食品或其他小包装食品应根据批号随机取样。同一批号取样件数,250 g 以上的包装不得少于 6 个,250 g 以下的包装不得少于 10 个。掺伪食品和食物中毒的样品采集,要具有典型性。

4) 组成不均匀的固体食品(如肉、鱼、果品、蔬菜等)

各部位组成不均匀的固体食品(如肉、鱼、果品、蔬菜等),个体大小及成熟程度差异很大,取样更应注意代表性,可按下述方法采样:

(1) 肉类:根据分析目的和要求不同而定。有时从一个个体不同部位取得检样,混合后形成原始样品;有时从不同个体相同部位取得检样,混合后形成原始样品。

(2) 水产品:小鱼、小虾可随机采取多个检样,混匀后形成原始样品;对个体较大的鱼,可从若干个个体上切割少量可食部分,混匀后形成原始样品。

(3) 果蔬:体积较小的(如山楂、葡萄等),可随机采取若干个整体,混匀后形成原始样品;体积较大的(如西瓜、苹果、菠萝等),可按成熟度及个体大小的组成比例,选取若干个个体作为检样,对每个个体按生长轴纵剖分 4 份或 8 份,取对角线 2 份,切碎、混匀得到原始样品;体积蓬松的叶菜类(如菠菜、小白菜等),由多个包装(一筐、一捆)分别抽取一定数量的检样,混合后形成原始样品。

5) 小包装食品(罐头、袋或听装奶粉、瓶装饮料等)

小包装食品(罐头、袋或听装奶粉、瓶装饮料等)一般按班次或批号连同包装一起采样。如果小包装外还有大包装(如纸箱),可在堆放的不同部位抽取一定量大包装,打开包装,从每箱中抽取小包装作为检样。

2.1.3 采样数量

采样数量应能满足检验项目对试样量的需要,一式三份,供检验、复验、备查或仲裁,一般散装样品每份不少于 0.5 kg。

食品分析检验结果的准确与否通常取决于两个方面:① 采样的方法是否正确;② 采

样的数量是否得当。因此,从整批食品中采取样品时,通常要按一定的比例进行。确定采样的数量,应考虑分析项目的要求、分析方法的要求和被分析物的均匀程度三个因素。检验样品、复验样品和保留样品一般每份数量不少于 0.5 kg。检验掺伪物的样品,与一般的成分分析的样品不同,分析项目事先不明确,属于捕捉性分析,因此,相对来讲,取样数量要多一些。

2.1.4 采样的注意事项

(1) 一切采样工具(如采样器、容器、包装纸等)都应清洁、干燥、无异味,不应将任何杂质带入样品中;具有保护样品的功能,以保证样品在检验前不发生任何变化。例如,做 3,4-苯并芘测定的样品不可用石蜡封瓶口或用蜡纸包,因为有的石蜡含有 3,4-苯并芘。

(2) 设法保持样品原有微生物状况和理化指标,在进行检测之前样品不得被污染,不得发生变化。例如,做黄曲霉毒素 B_1 测定的样品,要避免阳光、紫外灯照射,以免黄曲霉毒素 B_1 发生分解。

(3) 感官性质极不相同的样品,切不可混在一起,应另行包装,并注明其性质。

(4) 样品采集完后,应在 4 h 之内迅速送往检测室进行分析检测,以免发生变化,不应发生变质、腐败、霉变、微生物死亡、毒物分解或挥发以及水分增减等变化。

(5) 盛装样品的器具上要贴牢标签,注明样品名称、采样地点、采样日期、样品批号、采样方法、采样数量、分析项目及采样人。

2.1.5 检验样品的制备和保存

因为采样得到的样品数量不能全用于检验,必须再在样品中取少量样品进行检验样品的缩分。即将采集回来的样品进行充分混合均匀后,堆为一堆,用四分法缩分,从正中划“十”字,再将“十”字的对角两份分出来,混合均匀后再从正中划“十”字,这样直至达到所需要的数量为止即为检验样品。对于个体小的样品(如坚果、虾等),去掉蒂、皮、核、头、尾、壳等,取出可食部分;对于个体大的基本均匀样品(如西瓜、干酪等),可在对称轴或对称面上分割或切成小块。

为了防止其水分或挥发性成分散失以及其他待测成分含量的变化(如光解、高温分解、发酵等),应在短时间内进行分析。如果不能立即分析或是作为复验和备查的样品,则应妥善保存。保存的原则是干燥、低温、避光、密封。

制备好的样品应放在密封洁净的容器内,置于阴暗处保存;并应根据食品种类选择其物理化学结构变化极小的适宜温度保存。对易腐败变质的样品保存在 $0\sim 4^{\circ}\text{C}$ 或 -18°C 的冰箱里,但保存时间不宜过长。有些成分,如胡萝卜素、黄曲霉毒素 B_1 、维生素 B_1 等,容易发生光解,以这些成分为分析项目的样品,必须在避光条件下保存。特殊情况下,样品中可加入适量的不影响分析结果的防腐剂,或将样品置于冷冻干燥器内进行升华干燥来保存。

按采样规程采集的样品往往数量较多,颗粒较大,而且组成也不十分均匀。为了确保分析结果的正确性,必须对采集到的样品进行适当的制备,以保证样品十分均匀,使在分析时采取任何部分都能代表全部样品的成分。

样品的制备是指对采取的样品进行分取、粉碎、混匀等处理工作,为样品的提取做准