

## 固相微萃取技术的进展及其在食品分析中应用的现状\*

胡国栋\*

(中国食品发酵工业研究院, 北京 100027)

**摘要**: 固相微萃取( SPME )是当今色谱分析中使用极为广泛的样品前处理方法, 这一技术将萃取、浓缩、解吸、进样等功能集于一体, 灵敏度高且操作简便。该文简要介绍了近年来 SPME 涂层、装置及相应技术的演变, 综述了 SPME 在国内外食品分析中的应用现状, 并讨论了国内部分研究者在采用这一技术进行定量分析时存在的一些共性问题。

**关键词**: 固相微萃取; 食品分析; 食品风味; 食品安全; 综述

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2009)01-0001-08 栏目类别: 专论与综述

## Advances of solid-phase microextraction and current status of application in food analysis

HU Guodong\*

(China National Research Institute of Food and Fermentation Industries, Beijing 100027, China)

**Abstract**: Solid-phase microextraction ( SPME ) has been widely used as a sample preparation technique in current chromatography. SPME integrates extraction, concentration, desorption and injection in one step, which is highly sensitive and easy to operate. This review briefly introduces the evolution of the coating, equipment and corresponding techniques of SPME in recent years. It also summarizes SPME applications in food analysis and discusses some of the common issues found in quantitative analysis.

**Key words**: solid-phase microextraction ( SPME ); food analysis; food flavor; food safety; review

固相微萃取( solid-phase microextraction, SPME )是 1990 年由加拿大学者 Pawliszyn 和他的合作者<sup>[1]</sup>首创, 并于近 10 余年间迅速发展和完善的样品制备新技术。它摒弃了处理复杂样品时传统的溶剂提取操作步骤, 将萃取、浓缩、解吸、进样等功能集于一体, 灵敏度高且操作简便, 一经问世便受到了分析化学工作者的瞩目, 成为样品制备方法的热门课题。该技术已日臻成熟, 并在包括食品分析在内的诸多领域中获得了广泛的应用。目前, 国内外已有大量的关于 SPME 的文献报道, 其内容涉及基础、装置、涂层、萃取方式等方面<sup>[2]</sup>, 而更多文献报道的则是这一技术在食品、环保、药物、生物学及天然产物分析等各方面的应用。本文将主要围绕近年来 SPME 技术的进展作简单回顾, 并就其在食品分析中的应用现状及国内部分研究者在采用这一技术时所存在的共性问题进行研讨。

### 1 萃取头涂层研究的进展

萃取头是 SPME 装置的核心, 其涂层的性质已经成为 SPME 方法成功与否的关键。与其他萃取方法一样, SPME 萃取头涂层同样是遵循“相似相溶”的原则, 如同毛细管色谱柱的选择一样, 没有一种萃取头能够萃取所有的化合物。萃取头涂层的极性与厚度必须与分析物的性质相匹配, 具有极性较强涂层(如聚丙烯酸酯( PA ))的萃取头适合于萃取极性化合物, 而具有非极性的聚二甲基硅氧烷( PDMS )涂层的萃取头则主要用于非极性化合物的萃取。理想的萃取头涂层应能满足下述四方面的要求: 对于分析物要有较强的萃取能力、能在较短时间内达到吸附平衡、热解吸时分析物能迅速地从萃取头上解吸、所选萃取头必须具有良好的热稳定性。Pawliszyn 等最初使用的是涂有 PDMS 和 PA 涂层

\* 通讯联系人: 胡国栋, 教授级高级工程师. E-mail: guodong\_hu@263.net.

收稿日期: 2008-08-21

\* 此文系本刊特约稿件.

的萃取头,其后推出的是 5 类混合型的萃取头,美国 SIGMA-ALDRICH 集团下的 Supelco 公司将其商品化后,目前由该公司提供的萃取头商品一共有 7 类,包括 PDMS、PA、碳吸附剂/聚二甲基硅氧烷( CAR/

PDMS)、聚二甲基硅氧烷/二乙烯基苯( PDMS/DVB)、DVB/CAR/PDMS、聚乙二醇( PEG)和聚乙二醇/模板树脂( CW/TPR)等,它们的性状和适用范围<sup>[3]</sup>见表 1。

表 1 SPME 萃取头商品的性状表\*

Table 1 Characteristics of commercial available SPME fiber\*

Fiber coating**	Type	Application
PDMS	100 μm ( nonbonded phase )	low molecular mass or volatile compounds
	30 μm ( nonbonded phase )	non-polar semivolatiles or large molecular mass compounds
	7 μm ( bonded phase )	non-polar semivolatiles or large molecular mass compounds
PA	85 μm ( partially crosslinked phase )	polar semivolatiles
CAR/PDMS	75 μm ( partially crosslinked phase )	gases and low molecular mass compounds
	85 μm	gases and low molecular mass compounds
PDMS/DVB	65 μm ( partially crosslinked phase )	volatiles , amines , and nitroaromatic compounds
	65 μm	volatiles , amines , and nitroaromatic compounds
DVB/CAR/PDMS	50/30 μm	C <sub>3-20</sub> volatiles and semivolatiles
CW/TPR	50 μm ( partially crosslinked phase )	surfactants and other polar analytes ( for HPLC use only )
PEG	60 μm	polar compounds

\* for use with manual holder.

\*\* PDMS : polydimethylsiloxane ; PA : polyacrylate ; CAR/PDMS : carboxen/polydimethylsiloxane ; PDMS/DVB : polydimethylsiloxane/divinylbenzene ; DVB/CAR/PDMS : divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane ; CW/TPR : carbowax/templated resin ; PEG : polyethylene glycol.

为了增强 SPME 技术的适用性,色谱研究者一直致力于探索新的涂层材料,诸如导电聚合物聚吡咯( PPY)、有机多孔聚合物、分子印迹聚合物等<sup>[4-6]</sup>。这些涂层材料都在某些应用对象中发挥了良好的作用,但它们在使用寿命、热稳定性等方面的不足,使其还没有实现商品化。为了提高 SPME 萃取头涂层的稳定性,研究者还致力于探索新的涂层制备技术,其中较为成功的是溶胶-凝胶技术。这一技术使萃取相与凝胶网络之间产生化学键结合,从而提高了涂层可承受的温度,如能适当调整有机基团还可改变涂层的极性。近年,曾昭睿等<sup>[7]</sup>制备了三苄基杯[6]芳烃/羟基硅油( C[6]OH-TSO) SPME 探头,其对非极性和弱极性的芳香化合物有很好的萃取效果和选择性,具有耐高温、使用寿命长等特点;关亚风等<sup>[8]</sup>采用溶胶-凝胶物理包埋法制备的萃取涂层,既具有较好的机械强度,又有耐受有机溶剂和水的能力,还有耐高温及低流失的性质,并已成功用于橙汁和红葡萄酒中有机磷农药残留的检测。

## 2 萃取装置与相应技术的演变

固相微萃取最早推出的装置称之为纤维针式固相微萃取( Fiber SPME)装置,其核心部件是涂有固定相的石英萃取丝。这种装置的结构并不复杂,易于操作者使用,价格也相对低廉,因而已为广大研究者所接受。目前在实验室中所用的手动 SPME 基本上都是购自 Supelco 公司的这一类装置。瑞士

CTC 公司( Combi PAL)将纤维针式的 SPME 稍加改造并与气相色谱仪( GC)的自动进样器结合,提供了可用于自动进样的 SPME 装置,从而提高了萃取与进样操作的重复性;Varian 公司率先在 GC 仪上配置了这一自动进样装置;目前,在 Agilent 和岛津公司的 GC、气相色谱-质谱仪( GC-MS)上都可以配置这一类的 SPME 自动进样器。

由 Pawliszyn 等<sup>[9]</sup>提出的管内固相微萃取( in-tube SPME)技术是为了适应 SPME 与高效液相色谱仪( HPLC)联用而设计的另一种萃取方式。它将固定相涂布于毛细管柱的内壁上作为萃取头,以取代外表面涂有萃取相的石英纤维;也有的直接采用了微径液相色谱柱。相对于 fiber SPME 来说, in-tube SPME 具有更大的萃取表面积和更薄的萃取相膜,脱附比较容易,在与 HPLC 联用时可采用自动进样装置完成萃取和解吸操作,其解吸过程可定量完成。在实际分析中,待测物从溶液中被萃取到涂层上之后,需经流动相洗脱才能进入色谱柱中进行检测,因此涂层材料必须对流动相有足够的耐受能力,即除了满足对强极性待测物的萃取能力外,还应该能够在乙腈、甲醇等常用的有机溶剂中保持足够的稳定性,而目前实际使用的萃取相尚难完全满足这样的要求,从而在一定程度上限制了这一方法的应用。

搅拌棒吸附萃取( stir bar sorptive extraction, 简称 SBSE)是 1999 年出现的一种新的固相微萃取方法<sup>[10]</sup>,这一装置的核心部件仅仅是一枚涂有 0.5

mm 或 1 mm 膜厚的 PDMS、长约 1 ~ 2 cm 的磁力搅拌子。使用时,将搅拌子置于被萃取物的水相基质中,经不断搅拌而吸收、富集溶液中的低浓度被萃取物,萃取结束后取出搅拌子,稍加洗涤即可通过热解吸或溶剂解吸使被萃取物满足 GC 或 HPLC 进样分析的条件。因此,SBSE 的基本原理与采用以 PDMS 为固定相的纤维针式 SPME 是一致的,它的最主要特点是固定相的涂布量特别大,通常 100  $\mu\text{m}$  的 SPME 萃取头的 PDMS 涂布量仅为 0.5  $\mu\text{L}$ ,而 SBSE 的 PDMS 涂布量却是它的 50 ~ 250 倍;由于吸附量的大幅增加,使搅拌棒吸附萃取方法的灵敏度得到空前提高,凸现了这一技术在痕(微)量有机物分析中的优势。德国 Gerstel 公司将搅拌棒商品化并以 Twister™ 命名,该搅拌棒已在众多的分析领域中得到了应用。上述 SBSE 方法的原理并不复杂,但在实际应用中若想得到理想的色谱分析结果,则还必须配备可自动控制的热脱附装置以及与之配套的柱头冷聚焦装置(cryofocusing),从搅拌子上经热解吸所得的组分在 -100 ~ -150  $^{\circ}\text{C}$  冷聚焦后再经程序升温蒸发器(PTV)瞬间汽化而进入气相色谱柱,这样才能使宽沸程组分获得良好的分离效果。实际上,这些装置的购置与使用不仅需要较多的资金投入,而且也增加了操作的复杂性,这恐怕是目前国内尚少见 SBSE 应用研究报道的原因。国内关亚风研究组在 SBSE 的涂层、装置及应用研究方面做了大量的工作<sup>[11,12]</sup>。他们首次采用溶胶-凝胶技术制备的 PDMS 固定相,热稳定性可达 300  $^{\circ}\text{C}$ ,具有良好的机械强度和耐溶剂性能。所使用的是自行研发的微型萃取棒专用热解吸器,它是将单级加热/解吸组分直接进样/保留间隔柱谱带聚焦技术结合起来,省去了二次冷阱和将解吸室与色谱进样口内衬管直接对接传输的国外专利技术。除了热解吸,还可以采用溶剂解吸以使组分从搅拌子上脱附,通常采用己烷洗脱供 GC 分析,或采用甲醇、乙腈洗脱供 HPLC 分析。采用这一萃取方式后再进行 GC 分析时,需要大体积进样装置,否则将难以保证足够的灵敏度与分离度。目前,SBSE 方法的推广阻力除了来自装置的原因外,搅拌子涂布的固定相种类过单一恐怕也是因素之一。最近,关亚风等<sup>[13,14]</sup>采用耐热工程塑料——聚醚砜酮(PPEsk),通过浸入沉淀相转换法制备成多孔膜,并将其涂覆到内封磁心的玻璃棒外表面,得到了针对中等极性和极性化合物萃取的固态萃取搅拌棒。目前国内外还没有此类商品化的产品。

### 3 固相微萃取在食品分析中的应用

虽然 SPME 技术在上世纪 90 年代初期已被研

究建立,但作为一种样品制备技术而进入环境、食品等应用领域却始于上世纪 90 年代中后期。上世纪末和本世纪初,这一技术在食品分析中的应用获得尤为迅猛的发展<sup>[15]</sup>,它不仅涵盖了风味分析、农药残留及各类污染物的监测,而且其分析对象从蔬菜、水果、各种酒类、饮料、乳品扩展到了其他各类加工食品。

#### 3.1 在食品风味分析中的应用

食品的风味组分分析是食品质量控制的重要内容。由于食品的基质特别复杂,而其风味组分的含量往往仅为 mg/L (mg/kg) 或  $\mu\text{g/L}$  ( $\mu\text{g/kg}$ ) 量级,因此风味组分的提取与浓缩是食品分析的必经步骤。通常,样品制备占整个分析工作量的 60% ~ 70%,常用的处理方法诸如溶剂液-液萃取、同时蒸馏萃取等操作费时费力且结果的可比性差。顶空进样(HS)技术与吹扫-捕集(purge and trap)技术的应用使样品制备技术向前跨了一步,但前者的分析对象仅仅限于易挥发的组分,后者则装置昂贵且对操作技术的要求比较高。相比之下,SPME 所具有的灵敏度高、操作简捷且价格低廉的优势,很快就使它成为食品风味组分分析的首选技术。在 Kataoka 和 Pawliszyn 等<sup>[15]</sup>撰写的综述文章中,曾列出了 1995 ~ 1999 年间发表的 56 篇采用 SPME 分析食品风味组分的论文(包括风味有害物,即 off-flavor),文中还简介了这些分析检测方法的要点,其对象涉及水果和蔬菜(如苹果、草莓、西红柿等)、果汁与软饮料(如咖啡、茶、可乐、橙汁等)、各种酒类(如啤酒、葡萄酒等)以及乳品(如牛奶、奶酪等)等,读者可以从中了解到这一技术对于食品样品制备而言所具有的跨越式的进展以及它的广泛适用性。

进入本世纪以来所发表的这一领域的论文表明,SPME 用于食品风味组分分析的研究正在不断深入。如 Wang 等<sup>[16]</sup>通过采用 SPME 测定茶叶中的反-2-己烯醛等 5 种微量组分并结合统计分析,可区分发酵、半发酵和未发酵的茶叶。我国也有学者<sup>[17-20]</sup>将这一技术用于中国传统的肉制品——烤乳猪、腊肉、金华火腿和盐水鸭的特征组分割析。在各种饮料酒中,葡萄酒是最先采用 SPME 技术作风味组分分析的酒种。在近年的研究论文中,Howard 等<sup>[21]</sup>针对此前研究者遇到的定量测定问题,认为采用 DVB/CAR/PDMS 萃取头对于易挥发性组分和极性化合物的分析更为有效;他们选择了 3 种内标物,即 4-甲基-2-戊醇、壬酸乙酯和 1,6-庚二烯-4-醇,分别对醇类、酯类和单萜醇进行测定,从而提高了测定的精度。Camara 等<sup>[22]</sup>则对采用顶空固相微萃取(HS-SPME)测得的 42 个香味组分含量作统计分

析,对马德拉葡萄酒(Madeira wines)按葡萄品种进行了类型区分。Carrillo等<sup>[23]</sup>将研究对象限定在来自橡木的葡萄酒香味化合物,采用DVB/CAR/PDMS萃取头,检测出并定量分析了14种来自橡木的微量组分。软木塞与酒液长期接触而出现的2,4,6-三氯茴香醚(TCA)等风味有害物的测定一直是葡萄酒酿造者关注的问题,Boutou等<sup>[24]</sup>和Jönsson等<sup>[25]</sup>提供的SPME方法是测定葡萄酒中这一类 $\mu\text{g/L}$ (ppb)量级组分的有效途径。与葡萄酒一样,啤酒同样是香味组分极其复杂的饮料酒。Pinho等<sup>[26]</sup>比较了不同的萃取头,优化了各种萃取条件后认为75 $\mu\text{m}$  CAR/PDMS萃取头用于啤酒中香味组分的测定最为理想。他们采用该萃取头最终从5种不同品牌的啤酒中共检测出182种微量香味组分,并从同一样品中最多检测出105种组分,这是迄今见到的从单一啤酒中提取、分离和鉴定组分最多的报道。我国曾昭睿等<sup>[27]</sup>采用溶胶-凝胶技术制备了具有中等极性的萃取头,并以此分析啤酒中20种香味组分的含量,在文献[27]中还就不同底物对定量结果的影响作了较为详细的讨论。近年来,采用SPME分析蒸馏酒香味组分(如威士忌<sup>[28]</sup>、老姆酒<sup>[29]</sup>)的研究报告表明,萃取头的选择与萃取条件的优化已成为酒类分析进一步深入的关键。我国范文来等<sup>[30]</sup>采用HS-SPME结合香味萃取稀释分析法(AEDA),系统剖析了洋河大曲新酒与老酒香味组分的差异。最近,他们<sup>[31]</sup>又报道了以HS-SPME分析白酒中27种吡嗪类化合物的测定方法,在他们的工作中,由于主要组分的校正因子都以标样作了测定,因此定量结果的可信度比较高。为了使风味组分的分析研究更能细化,一些研究者采用SPME侧重分析食品中某些特定的化合物,如可可的吡嗪类化合物<sup>[32]</sup>、葡萄的萜类化合物<sup>[33]</sup>和榴莲的含硫化合物<sup>[34]</sup>等。

为了提高SPME萃取的选择性,一些研究者还设法在萃取头上吸附衍生剂,然后以此选择性地萃取某些特定的化合物。Vesely等<sup>[35]</sup>以O-(2,3,4,5,6-五氟苄基)羟胺(简称PFBOA)为衍生剂,通过羰基化合物在萃取头上的衍生(on-fiber derivatization)来提取啤酒中的醛类化合物,从而大大简化了传统的提取操作,可实现低于 $\mu\text{g/L}$ (ppb)量级的啤酒中醛类化合物的定量测定。Ochiai等<sup>[36]</sup>在分析啤酒中与“老化味”相关的长链不饱和醛时,采用SBSE技术结合上述衍生操作,可测定含量低至数十 $\text{ng/L}$ (ppt)量级的反-2-辛烯醛、反-2-壬烯醛、反-顺-2,6-壬二烯醛、反-反-2,4-癸二烯醛,检出限达到0.021~0.032 $\mu\text{g/L}$ ,测定的相对标准偏差(RSD)

仅为2.4%~7.3%,这在以前是无法实现的目标。

选用SBSE技术作食品风味组分分析,以提高微萃取的吸附效率并改善样品测定的精度,是近年来这一领域研究工作的特点。Zalacain等<sup>[37]</sup>采用SBSE结合GC-MS的选择离子监测模式,对葡萄酒中微量的关键香味化合物进行检测,其检测对象包括萜类、C6化合物和 $\beta$ -大马酮、 $\alpha$ -与 $\beta$ -紫罗酮等,优化的萃取条件为萃取温度60 $^{\circ}\text{C}$ 、萃取时间90min,所测定的香味化合物的检出限和定量限均低于相应的嗅闻仪阈值。Marin等<sup>[38]</sup>和Alves等<sup>[39]</sup>在进行葡萄酒香味组分分析时都采用了SBSE技术。Guerrero等<sup>[40,41]</sup>采用SBSE与SPME分析醋的主要香味组分,优化了各种操作条件,以4-甲基-2-戊醇为内标作定量测定,认为两种方法所获结果具有可比性,但SBSE方法有更低的检出限和定量限,且重复性和再现性也更好些。Caven-Quantrill等<sup>[42]</sup>采用SBSE与传统的同时蒸馏萃取法,就葡萄汁的香味组分分析结果进行了对比,结果发现SBSE方法的回收率及重复性不如同时蒸馏萃取法,但SBSE方法可获得126种香味化合物,且其中有许多是以前在葡萄酒与葡萄汁分析中未见报道的,而同时进行的蒸馏萃取法仅能分析98种香味化合物。有关采用SBSE剖析食品风味组分的报道,还可参阅David与Sandra撰写的综述“Stir bar sorptive extraction for trace analysis”<sup>[43]</sup>。

### 3.2 在食品安全分析中的应用

#### 3.2.1 在农药残留分析中的应用

通常,在分析蔬菜、水果等农产品和其他食品中的半挥发性或难挥发性的农药残留前,需先采用有机溶剂进行样品处理,这些处理方法及其后的分离净化都有着不同程度的缺陷,处理步骤繁琐,耗时长,花费大,尤其是使用对人体健康和生态环境有害的有机溶剂是这些前处理方法的共同弊端。相比之下,SPME的无溶剂萃取以及提取、浓缩、进样一体化的操作使它很快在农产品的农药残留分析中得到了应用。从1994年首次将SPME应用于农药残留的分析起,已有十余年的经历,目前应用SPME作残留分析的农药主要是各类杀虫剂,包括有机氯、有机磷及氨基甲酸酯等,也有少数除草剂。大多数有机磷农药的沸点并不高,对热较稳定;有机氯农药的极性较小,较易挥发,因此这两类农药的分析首选SPME-GC或GC-MS联机分析。多数氨基甲酸酯类农药对热不稳定,且极性较大,不易挥发,但其在220nm波长处有较强吸收,因而适合采用SPME-HPLC分析。至于除草剂,由于其极性较大,因而限制了SPME技术在其残留分析中的广泛应用,目前

SPME 主要用于三嗪类、苯脲类除草剂的残留分析<sup>[44]</sup>。

SPME 用于食品的农药残留分析时,食品形态以液体最为合适,如果汁和各种酒类,萃取方式则以直接浸入法为主。在测定固态样品如蔬菜和水果时,必须先将试样中的农药从基体中提取出来,制备成水溶液后进行直接浸入萃取。随着微波辅助萃取与 SPME 的结合使用,使得 SPME 技术也可用于复杂基质的固体样品测定。我国的袁宁等<sup>[45]</sup>采用这一技术测定茶叶中的有机氯和拟除虫菊酯农药残留,有效地减少了复杂基体的干扰,测定的灵敏度达到了 ng/L 量级。

在 Kataoka 和 Pawliszyn 等<sup>[15]</sup>的综述中,曾列举了 13 篇在 1999 年以前发表的采用 SPME 分析葡萄酒、蜂蜜、蔬菜、水果中农药残留的论文。近年的研究论文也有作多残留分析的,如 Correia 等<sup>[46]</sup>采用 PDMS 萃取头在 3 mL 葡萄酒样品中浸入 30 min,可测定包括 9 种有机氯、11 种有机磷在内的 23 种农药,检出限平均达到 5  $\mu\text{g/L}$ 。Fernandez-Alvarez 等<sup>[47]</sup>将 SPME-电子捕获检测器(ECD)用于牛奶中 30 种除虫菊酯和有机氯农药的分析,样品以蒸馏水稀释 10 倍后用 PDMS/DVB 萃取头浸入式提取,检出限在  $\mu\text{g/L}$  (ppb)量级以下。Cortes-Aguado 等<sup>[48]</sup>建立了果汁中 54 种农药的快速筛选方法,果汁样品先以乙酸乙酯提取,然后转移至丙酮-水溶液中,再以 SPME 提取。

近年来,采用 SBSE 测定食品中农药残留的报道不断增加,在 David 等<sup>[43]</sup>的综述中就列举了 14 篇相关的文献,其测定对象包括水果、蔬菜、葡萄酒和蜂蜜等。Sandra 等<sup>[49]</sup>在测定蔬菜、水果和婴儿食品中的农药残留时,将样品用甲醇提取后以水稀释并以 SBSE 萃取 60 min,采用保留时间锁定的 GC-MS 可同时分析 300 多种农药,所测样品包括生菜、梨、葡萄和婴儿食品。通常,在以 SBSE 测定水果、蔬菜中的农药残留时,需先将样品以水溶性溶剂提取,然后以水稀释,再以 SBSE 萃取;若以液体解吸则可直接供 LC-MS 分析,若为热解吸则作 GC-MS 分析。与 SPME 相比,SBSE 方法的灵敏度更高一些,而基体效应则低一些。

### 3.2.2 在其他有机污染物分析中的应用

食品经常受到一些有机毒物的污染,这些污染

物有些来自农产品原料,有些来自环境,有些则与食品加工或使用添加剂不当有关,它们的含量虽然极微,但对人体的危害却不可漠然视之。亚硝胺是人们极为关注的致癌物,一些挥发性的亚硝胺如 *N*-亚硝基二甲胺(NDMA)等均可以通过 SPME 从复杂基质的食品中提取出来,Andrade 等<sup>[50]</sup>建立了 HS-SPME-GC-TEA(热能分析仪)方法以测定香肠中的亚硝胺,其对象包括 NDMA、*N*-亚硝基二乙胺(NDEA)等 4 种亚硝胺。最近,Pérez 等<sup>[51]</sup>报道了以 HS-SPME-GC-MS 测定啤酒中的 NDMA 的方法,作者采用的是 PDMS/DVB 萃取头,方法的检出限达到了 0.88  $\mu\text{g/L}$ 。多环芳烃是来自环境的污染物,Aguinaga 等<sup>[52]</sup>采用 PDMS/DVB 萃取头,以浸入式 SPME 测定牛奶中的 16 种多环芳烃,检出限为 0.003 ~ 1.5  $\mu\text{g/L}$ 。丙烯酰胺是 2002 年发现的与淀粉类食品高温加工相关的微量有害物,Lee 等<sup>[53]</sup>采用浸入式 SPME 及气相色谱-正化学电离-串联质谱(GC-PCI-MS/MS)方法测定样品水溶液中的丙烯酰胺,检出限为 0.1  $\mu\text{g/L}$ ,并将该方法用于炸薯条中丙烯酰胺的测定。

### 3.3 国内应用概况

固相微萃取在国内食品分析中应用的报道始于 2000 年,厦门大学的陈伟琪等<sup>[54]</sup>将 SPME-GC-FPD(火焰光度检测器)用于蔬菜中残留的有机磷农药的测定,其中甲拌磷等 4 种常用有机磷的检出限达到 0.25 ~ 0.55 ng/g;次年,中山大学的栾天罡等<sup>[55]</sup>报道了应用 SPME 结合硅烷化衍生技术、采用 GC-MS 鉴定了葡萄酒中 19 种多酚化合物及其他组分,还对其中的白藜芦醇进行了定量分析。此后不久,栾天罡等<sup>[56]</sup>成功地将 SPME 技术用于豉香型白酒中二元酸二乙酯的定量测定。在以后的年代中,随着我国食品研究水平的提升,对食品风味组分分析研究的需求呈日益上升的势头,而 SPME 提供的恰恰是最为有效且又十分简捷的样品制备技术,因而在这一领域中的论文数量迅速增加。截至 2008 年 7 月,笔者以中国期刊全文数据库(中国学术期刊(光盘版)电子杂志社等主办的 CNKI 网站)为统计源检索有关 SPME 在食品分析中的应用的文献统计数据(见表 2)表明,自 2005 年起,所发表的论文数量几乎每年以翻番的速度上升,其中仅 2007 年发表的论文已超过总数的一半。表 3 是对上述发表

表 2 近年来 SPME 在国内食品分析中的应用论文统计

Table 2 Literature published in Chinese journals on applications of SPME in food analysis in recent years

2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008 six months	Total
1	1	4	8	11	17	37	60	34	173

表 3 国内食品分析中 SPME 应用对象的分类统计

Table 3 Statistics according to SPME application objects published in Chinese journals

Fruits	Vegetables	Alcoholic beverages	Soft drinks	Meat and meat products	Condiments	Others
Apple ( 7 papers )	ginger and onion ( 8 papers )	wine ( 13 papers )	fruit juice ( 11 papers )	traditional meat products ( 10 papers )	soy sauce ( 4 papers )	tea ( 9 papers )
Pear ( 5 papers )	others ( 11 papers )	fruit wine ( 5 papers )	others ( 1 paper )	fresh meat ( 8 papers )	vinegar ( 4 papers )	others ( 33 papers )
Others ( 21 papers )		beer ( 10 papers )			others ( 4 paper )	
		Chinese liquor ( 7 papers )				
		rice wine ( 2 papers )				
Subtotal ( 33 papers )	subtotal ( 19 papers )	subtotal ( 37 papers )	subtotal ( 12 papers )	subtotal ( 18 papers )	subtotal ( 12 papers )	subtotal ( 42 papers )

的论文中应用对象的分类统计,其中对各种酒类香味组分的研究,以葡萄酒<sup>[57-59]</sup>和啤酒<sup>[60-62]</sup>较为集中,也有果酒<sup>[63,64]</sup>和白酒<sup>[65]</sup>的报道;包括苹果<sup>[66]</sup>、梨<sup>[67]</sup>、桃<sup>[68]</sup>在内的各类水果与果汁是近年的研究热点,蔬菜类的研究则聚焦在葱、姜上;对于茶叶香气研究的报道也为数不少<sup>[69,70]</sup>。与风味组分的研究相比,采用 SPME 作食品安全分析的论文明显少于国外。

## 4 固相微萃取在国内食品分析中存在的问题

### 4.1 定性结果的可靠性

食品是组分极其复杂的产物,各类有机化合物含量低微且纵横交叉,期望仅仅通过毛细管色谱柱的一次进样分析,很难使各组分达到完全分离;只有优化了各种色谱条件方可使主要组分获得较好的分离,而这恰恰是 GC-MS 分析能得到可靠结果的前提。否则,质谱仪的性能再高、计算机检索的谱库再全,所获检索结果同样会谬误百出。当然,检验所获结果是否符合色谱保留规律,更是把握 GC-MS 结果可靠性的基础。近年来,一些作者还在定性时辅以正构烷烃标准品的保留时间<sup>[71]</sup>来计算所测化合物的保留指数并与文献值比对,使 GC-MS 的定性结果更为可靠。更多的作者强调的是匹配率(similarity)大于 80%,并与标准品核对以确认定性结果<sup>[60,63,69]</sup>,从而增强了定性结果的可靠性。但是,从另一些国内文献提供的定性结果看,相当一部分作者只是将 GC-MS 计算机检索的第一结果作为定性结论,一抄了事,既不了解色谱保留规律,也不作标准品比对,更不考虑此化合物在样品中存在的可能性;有的文献中虽然注明 GC-MS 的定性结果只选取匹配率大于 80% 的化合物,但实际上在列出的定性结果中匹配率低于 80% 者时有发生,说明作者根本不明白或者不重视检索的“匹配率”,读者只要稍

加留意,就不难发现其中的问题。事实上,不管作者采用哪一种色谱柱,组分峰的流出都必然服从色谱保留规律,若作者所列结果中同系物的小分子峰晚于大分子出峰,肯定是错误的结果,而这样的例子在国内前几年的食品 SPME 分析论文中常会见到。

### 4.2 定量分析中出现的问题

固相微萃取在用于食品样品制备时所具的优势是毋庸置疑的,它能在极其复杂的食品基体中将 mg/L(ppm)、 $\mu\text{g/L}$ (ppb)量级乃至含量更为低微的组分有效地萃取出来,装置简单而操作容易,这是其他的食品样品制备方法所无法比拟的。但在同时,这一方法在用作定量分析时,一旦处理不当,就会出现重复性差,乃至结果的可靠性被质疑的问题。纵观国外的相关报道,在作定量分析时,通常都采用标准品制作校正曲线或建立回归方程,而且多以内标法进行定量测定,在作宽沸程组分分析时往往还采用多个内标的方法。国内的部分工作也遵循这一思路,汪立平等<sup>[63]</sup>在测定苹果酒中的香味组分含量时,以 2-辛醇为内标,并以主要组分的标准品测定了相对校正因子。吴继红等<sup>[66]</sup>在定量测定苹果香气成分时,以脱香果汁为基体加入混合标准品,并采用内标标准曲线法定量,有效地减少了基体的影响。王憬等<sup>[61]</sup>在测定啤酒中含量为  $\mu\text{g/L}$  量级的里哪醇等 8 种酒花香组分时,采用了质谱的选择离子监测(SIM)模式并以萜品烯-4-醇为内标作定量测定,从而显著地提高了 SPME 测定的精度。施致雄等<sup>[72]</sup>以 HS-SPME-GC-MS 分析猪肉中的 18 种有机氯农药组分时,以六氯苯和灭蚊灵的稳定性同位素为内标,并以质谱的 SIM 模式作定量测定,回收率和测定的重复性良好。在基质复杂的食品分析中,采用质谱的 SIM 模式作定量分析,不仅能显著提高检测的灵敏度,而且有助于消除色谱相邻组分对目标化合物测定的干扰。侯英等<sup>[73]</sup>在采用 SBSE 测

定烟叶与茶叶中的拟除虫菊酯类农药残留时,以 SIM 模式定量,实现了灵敏度高、回收率与重复性俱佳的目标。

然而,与国外的食品 SPME 定量分析不同的是,在国内涉及定量分析的论文中,绝大多数采用的是峰面积百分比法。不可否认,在用于液体进样的色谱分析时,特别是在精油分析中,由于各组分的校正因子比较接近,因此采用这一简单的定量方法可以获得粗略的结果。但 SPME 的进样完全不同于传统的色谱分析的液体进样,这是因为在 SPME 的萃取阶段,萃取头对不同化合物的萃取率差异非常大,有时同族的不同碳数化合物之间能相差许多倍;至于不同类别的化合物,萃取率的差异更大到 2~3 个数量级。笔者曾采用 PA 萃取头,以 HS-SPME 测定了一些化合物在乙醇水溶液中的响应因子(灵敏度的标志),其结果为:若以乙酸乙酯为 1,则己酸乙酯为 118,辛酸乙酯为 469,癸酸乙酯的灵敏度最高,达 530,而在同一条件下,乙酸仅为 0.05。这一结果很容易从国外以标样测定校正因子所建立的回归方程中得到印证,Howard 等<sup>[21]</sup>在以 HS-SPME 对葡萄酒香味组分作定量测定时,采用乙醇水溶液为基质,通过添加标准品的方式测定组分的校正因子,上述组分的回归方程斜率的差异与笔者的结果十分接近。因此,国内从事食品 SPME 分析的作者,将响应因子差别如此之大的各组分峰面积揉在一起,简单地将其面积百分比标为“浓度”或“含量”,甚至对这些完全失衡的“含量”大作讨论,实际上提供的是谬误连连的结果,因为根据这些数值推算,在 SPME 中响应因子特别高的一些化合物,如上述的 C6~C10 脂肪酸乙酯等组分将成为“含量”具有压倒优势的主要香味组分,食品也就此变成了“香精”。由此可见,在以 SPME 对食品的组分含量作定量测定时,必须以标准品(若难以找到全部标准品,则至少应找到主要目标化合物的标准品)测定校正因子。至于不采用标样校正、仅仅依靠添加内标而冠以“相对含量”、“半定量”称谓的作法,在 SPME 的测定中都是不可取的。

当然,在方法的条件试验中,作为方法条件的相对比较,峰面积百分比法也是经常使用的方法。此外,如果作者只是利用 SPME 的测定结果,通过多变量统计分析以区分样品的类别,此时关注的并不是组分的绝对含量,而只是相对比较的结果,那么采用相对峰面积百分比方法也是可以的。在有些研究工作中,如果无法找到标样作校正因子的测定,则在列出测定结果时,应当注明所列的是“峰面积百分比”,而不应将此直接标称为“相对含量”或“含量”。

## 5 结论

SPME 在经历了十余年的发展历程后,已经成为目前使用极为广泛的样品制备方法。SPME 技术的生命力在于它将复杂样品中微量组分的提取、浓缩、解吸与进样等步骤集于一体,灵敏度高、操作简单且装置价格低廉,这些优势已使它成为食品的色谱分析中样品制备的首选技术。新涂层的研究及新装置的推出,使 SPME 技术的应用前景更为广阔。在近年的国内食品分析中,SPME 的应用正在快速发展,研究者在使用这一技术的同时,更需要深入了解方法的难点所在,认真应对定量分析中出现的问题,只有这样才能使 SPME 在我国食品分析中更好地向前发展。

## 参考文献:

- [1] Arthur C L, Pawliszyn J. *Anal Chem*, 1990, 62: 2 145
- [2] Fu R N. *Chemical Reagents* (傅若农. 化学试剂), 2008, 30(1): 13
- [3] Sigma-Aldrich, Inc. SPME fiber assemblies. [2008-08-18]. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/TablePage/9645337>
- [4] Huang M J, You J, Liang B, et al. *Chinese Journal of Chromatography* (黄炯嘉,游静,梁冰,等. 色谱), 2001, 19(4): 314
- [5] Xu Y, Fu Y J. *Chinese Journal of Chromatography* (徐溢,付钰洁. 色谱), 2004, 22(5): 528
- [6] Huang J X, Hu Y L, Li G K. *Journal of Analytical Science* (黄健祥,胡玉玲,李攻科. 分析科学学报), 2008, 24(1): 97
- [7] Zhang L F, Zhu M L, Li X J, et al. *Acta Chimica Sinica* (张廉奉,朱铭立,李秀娟,等. 化学学报), 2008, 66(12): 1 465
- [8] Liu W, Hu Y, Zhao J, et al. *J Chromatogr A*, 2006, 1 102: 37
- [9] Eisert R, Pawliszyn J. *Anal Chem*, 1997, 69: 3 140
- [10] Baltussen E, Sandra P, David F, et al. *J Microcol Sep*, 1999, 11(10): 737
- [11] Liu W M, Wang H W, Guan Y F. *J Chromatogr A*, 2004, 1 045: 15
- [12] Liu W M, Hu Y, Zhao J, et al. *J Chromatogr A*, 2005, 1 095: 1
- [13] Guan W N, Xu F, Liu W M, et al. *J Chromatogr A*, 2007, 1 147: 59
- [14] Guan W N, Wang Y J, Xu F, et al. *J Chromatogr A*, 2008, 1 177: 28
- [15] Kataoka H, Lord H, Pawliszyn J. *J Chromatogr A*, 2000, 880: 35
- [16] Wang L F, Lee J Y, Chung J O, et al. *Food Chemistry*, 2008, 109(1): 196
- [17] Xie J C, Sun B G, Zheng F P, et al. *Food Chemistry*, 2008, 109(3): 506
- [18] Yu A N, Sun B G, Tian D T, et al. *Food Chemistry*, 2008, 110(1): 233
- [19] Tian H X, Wang Z, Xu S Y. *Chinese Journal of Chromatography* (田怀香,王璋,许时婴. 色谱), 2006, 24(2): 177

- [ 20 ] Liu Y , Zhou G H , Xu X L , et al. Food Science( 刘源,周光宏,徐幸莲,等. 食品科学 ), 2006 , 27( 1 ) : 166
- [ 21 ] Howard K L , Mike J H , Riesen R. Am J Enol Vitic , 2005 , 56( 1 ) : 37
- [ 22 ] Camara J S , Alves M A , Marques J C. Talanta , 2006 , 68( 5 ) : 1 512
- [ 23 ] Carrillo J D , Garrido-López A , Tena M T. J Chromatogr A , 2006 , 1 102 : 25
- [ 24 ] Boutou S , Chatonnet P. J Chromatogr A , 2007 , 1 141 : 1
- [ 25 ] Jönsson S , Uusitalo T , van Bavel B , et al. J Chromatogr A , 2006 , 1 111 : 71
- [ 26 ] Pinho O , Ferreira I , Santos L. J Chromatogr A , 2006 , 1 121 : 145
- [ 27 ] Liu M M , Zeng Z R , Xiong B. J Chromatogr A , 2005 , 1 065 : 287
- [ 28 ] Camara J S , Marques J C , Perestrelo R M , et al. J Chromatogr A , 2007 , 1 150 : 198
- [ 29 ] Pino J A. Food Chemistry , 2007 , 104( 1 ) : 421
- [ 30 ] Fan W L , Qian M C. J Agric Food Chem , 2005 , 53 : 7 931
- [ 31 ] Fan W L , Xu Y , Zhang Y H. J Agric Food Chem , 2007 , 55 : 9 956
- [ 32 ] Perego P , Fabian B , Cavicchioli M , et al. Food Bioprod Process , 2004 , 82( 4 ) : 291
- [ 33 ] Sanchez-Palomo E , Diaz-Maroto M C , Perez-Coello M S. Talanta , 2005 , 66( 5 ) : 1 152
- [ 34 ] Chin S T , Nazimah S A H , Quek S Y , et al. J Food Comp Anal , 2007 , 20( 1 ) : 31
- [ 35 ] Vesely P , Lusk L , Basarova G , et al. J Agric Food Chem , 2003 , 51 : 6 941
- [ 36 ] Ochiai N , Sasamoto K , Daishima S , et al. J Chromatogr A , 2003 , 986 : 101
- [ 37 ] Zalacain A , Marín J , Alonso G L , et al. Talanta , 2007 , 71( 4 ) : 1 610
- [ 38 ] Marin J , Zalacain A , De Miguel C , et al. J Chromatogr A , 2005 , 1 098 : 1
- [ 39 ] Alves R F , Nascimento A M D , Nogueira J M F. Anal Chim Acta , 2005 , 546 : 11
- [ 40 ] Guerrero E D. J Chromatogr A , 2006 , 1 104 : 47
- [ 41 ] Guerrero E D , Marin R N , Mejias R C , et al. J Chromatogr A , 2007 , 1 167 : 18
- [ 42 ] Caven-Quantrill D J , Buglass A J. J Chromatogr A , 2006 , 1 117 : 121
- [ 43 ] David F , Sandra P. J Chromatogr A , 2007 , 1 152 : 54
- [ 44 ] Liu Y C , Ye F. Pesticide Science and Administration( 刘玉琛,叶非. 农药科学与管理 ), 2007( 4 ) : 14
- [ 45 ] Yuan N , Yu B B , Zhang M S , et al. Chinese Journal of Chromatography( 袁宁,余彬彬,张茂升,等. 色谱 ), 2006 , 24( 6 ) : 636
- [ 46 ] Correia M , Delerue-Matos C , Alves A. J Chromatogr A , 2000 , 889 : 59
- [ 47 ] Fernandez-Alvarez M , Llompant M , Lamas J P , et al. Anal Chim Acta , 2008 , 617( 1/2 ) : 37
- [ 48 ] Cortes-Aguado S , Sanchez N , Arrebola F J , et al. Food Chemistry , 2008 , 107( 3 ) : 1 314
- [ 49 ] Sandra P , Tienpontand B , David F. J Chromatogr A , 2003 , 1 000 : 299
- [ 50 ] Andrade R , Reyes F G R , Rath S. Food Chemistry , 2005 , 91( 1 ) : 173
- [ 51 ] Pérez D M. Food Chemistry , 2008 , 107( 3 ) : 1 348
- [ 52 ] Aguinaga N , Campillo N , Vinas P , et al. Anal Chim Acta , 2007 , 596( 2 ) : 285
- [ 53 ] Lee M R , Chang L Y , Dou J P. Anal Chim Acta , 2007 , 582( 1 ) : 19
- [ 54 ] Chen W Q , Hou X F , Zhang L P , et al. Journal of Xiamen University : Natural Science( 陈伟琪,侯小凤,张珞平,等. 厦门大学学报:自然科学版 ), 2000 , 39( 4 ) : 509
- [ 55 ] Luan T G , Li G K , Zhang Z Y. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni( 栾天罡,李攻科,张展霞. 中山大学学报:自然科学版 ), 2001 , 40( 1 ) : 54
- [ 56 ] Luan T G , Zhang Z X , Mo C L. Journal of Instrumental Analysis( 栾天罡,张展霞,莫崇林. 分析测试学报 ), 2002 , 21( 1 ) : 51
- [ 57 ] Qin L N , Ni Y Y , Liang F H , et al. Liquor-Making Science & Technology( 秦丽娜,倪元颖,梁方华,等. 酿酒科技 ), 2008( 2 ) : 40
- [ 58 ] Wang F , Wang W , Yin J T , et al. Modern Instruments( 王方,王伟,尹吉泰,等. 现代仪器 ), 2007( 3 ) : 66
- [ 59 ] Shen H Y , Fan W L , Xu Y , et al. Liquor-Making( 沈海月,范文来,徐岩,等. 酿酒 ), 2008 , 35( 2 ) : 71
- [ 60 ] Hu G D , Zhang X L. Food and Fermentation Industries( 胡国栋,张晓磊. 食品与发酵工业 ), 2004 , 30( 2 ) : 1
- [ 61 ] Wang J , Cui W W , Wang L N , et al. Food and Fermentation Industries( 王憬,崔巍伟,王莉娜,等. 食品与发酵工业 ), 2007 , 33( 8 ) : 127
- [ 62 ] Wu Q J , Chen H L , Yang C X. Chinese Journal of Analysis Laboratory( 武千钧,陈华磊,杨朝霞. 分析实验室 ), 2007 , 26( 4 ) : 38
- [ 63 ] Wang L P , Xu Y , Zhao G A. et al. Journal of Wuxi University of Light Industry( 汪立平,徐岩,赵光鳌,等. 无锡轻工大学学报 ), 2003 , 22( 1 ) : 1
- [ 64 ] Liu L P , Shi Y G , Yue T L , et al. Liquor-Making Science & Technology( 刘拉平,史亚歌,岳田利,等. 酿酒科技 ), 2007( 5 ) : 105
- [ 65 ] Fan W L , Xu Y. Liquor-Making( 范文来,徐岩. 酿酒 ), 2007 , 34( 1 ) : 22
- [ 66 ] Wu J H , Zhang M L , Chen F , et al. Journal of Instrumental Analysis( 吴继红,张美莉,陈芳,等. 分析测试学报 ), 2005 , 27( 4 ) : 101
- [ 67 ] Chen J L , Jiang Y , Wu J H , et al. Food and Fermentation Industries( 陈计恋,江英,吴继红,等. 食品与发酵工业 ), 2007 , 33( 3 ) : 107
- [ 68 ] Wei H C , Wang G X , Liang L S , et al. Food Science( 魏好程,王贵喜,梁丽松,等. 食品科学 ), 2007 , 28( 7 ) : 347
- [ 69 ] Zhan J F , Lu S M , Meng Z Y. et al. Chinese Journal of Chromatography( 詹家芬,陆舍铭,孟昭宇,等. 色谱 ), 2008 , 26( 3 ) : 301
- [ 70 ] Dou H L , Li C M , Gu H F , et al. Journal of Tea Science( 窦宏亮,李春美,顾海峰,等. 茶叶科学 ), 2007 , 27( 1 ) : 51
- [ 71 ] Qiao Y , Xie B J , Zhang Y , et al. Chinese Journal of Chromatography( 乔宇,谢笔钧,张妍,等. 色谱 ), 2008 , 26( 4 ) : 509
- [ 72 ] Shi Z X , Yang X , Feng J F , et al. Chinese Journal of Food Hygiene( 施致雄,杨欣,封锦芳,等. 中国食品卫生杂志 ), 2006 , 18( 6 ) : 497
- [ 73 ] Hou Y , Cao Q E , Xie X G , et al. Chinese Journal of Chromatography( 侯英,曹秋娥,谢小光,等. 色谱 ), 2007 , 25( 1 ) : 25