

分散固相萃取净化-超高效液相色谱-串联质谱法 测定水果蔬菜中烷基酚聚氧乙烯醚

严婉盈¹, 陈峰¹, 唐俗², 吴滋灵¹, 黄嘉乐¹, 李秀英^{1*}, 段雪菲¹, 黎颖琪¹

(1. 广州检验检测认证集团有限公司, 广州 511400; 2. 深圳市计量质量检测研究院, 深圳 425100)

摘要: **目的** 建立分散固相萃取净化-超高效液相色谱-串联质谱法 (ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS) 快速测定水果蔬菜中壬基酚聚氧乙烯醚 [4-nonylphenol-ethoxylate, NP(EO)₃₋₁₇] 和辛基酚聚氧乙烯醚 [4-octylphenol-ethoxylate, OP(EO)₃₋₁₇] 残留量的检测方法。**方法** 样品经乙腈:丙酮(8:2, V:V) 超声提取, 提取液使用混合吸附剂 [多壁碳纳米管 (multi-walled carbon nano-tube, MWCNTs)、十八烷基硅烷键合硅胶 (octadecylsilane, C₁₈)、N-丙基乙二胺 (primary secondary amine, PSA)] 净化, 净化后样液通过 Phenomenex Kinetex Biphenyl 色谱柱分离, 乙腈-10 mmol/L 乙酸铵溶液梯度洗脱, 在单离子检测扫描 (single ion monitoring, SIM) 模式下进行定性和定量分析。**结果** NP(EO)₃₋₁₇ 和 OP(EO)₃₋₁₇ 在 2~100 μg/L 的线性范围内相关系数 (r) 均大于 0.99, 检出限分别为 0.5 μg/kg 和 0.4 μg/kg, 回收率为 74.5%~109.2%, 相对标准偏差为 2.5%~14.9%。**结论** 该方法简单、快捷、稳定、灵敏度高, 可用于水果蔬菜中 NP(EO)₃₋₁₇ 和 OP(EO)₃₋₁₇ 的快速筛查。

关键词: 烷基酚聚氧乙烯醚; 辛基酚聚氧乙烯醚; 壬基酚聚氧乙烯醚; 水果蔬菜; 分散固相萃取; 超高效液相色谱-串联质谱法

Determination of alkylphenol ethoxylates in fruits and vegetables by dispersive solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

YAN Wan-Ying¹, CHEN Feng¹, TANG Su², WU Zi-Ling¹, HUANG Jia-Le¹,
LI Xiu-Ying^{1*}, DUAN Xue-Fei¹, LI Ying-Qi¹

(1. Guangzhou Inspection Testing and Certification Group Co., Ltd., Guangzhou 511400, China;
2. Shenzhen Academy of Metrology and Quality Inspection, Shenzhen 425100, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the rapid determination of 4-nonylphenol-ethoxylate [NP(EO)₃₋₁₇] and 4-octylphenol-ethoxylate [OP(EO)₃₋₁₇] in fruits and vegetables by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) based on dispersive solid phase extraction pre-treatment technology. **Methods** The samples were extracted with acetonitrile: acetone (8:2, V:V) in ultrasonic way, and the extraction solution was purified by mixed purifying material [multi-walled carbon nano-tube (MWCNTs),

基金项目: 广东省市场监督管理局科技计划项目(2020CS03)

Fund: Supported by the Scientific and Technological Project of Guangdong Administration for Market Regulation (2020CS03)

*通信作者: 李秀英, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量安全研究。E-mail: 328444798@qq.com

*Corresponding author: LI Xiu-Ying, Master, Senior Engineer, Guangzhou Inspection Testing and Certification Group Co., Ltd., No.1-2, Zhujiang Road, Panyu District, Guangzhou 511400, China. E-mail: 328444798@qq.com

octadecylsilane (C_{18}) and primary secondary amine (PSA)]. After purification, the samples were separated by Phenomenex Kinetex Biphenyl column, eluted with acetonitrile-10 mmol/L ammonium acetate solution as mobile phase, and analyzed qualitatively and quantitatively in single ion monitoring (SIM) mode. **Results** The correlation coefficient (r) of NP(EO) $_{3-17}$ and OP(EO) $_{3-17}$ in the linear range of 2–100 $\mu\text{g/L}$ was greater than 0.99, the limits of detection were 0.5 $\mu\text{g/kg}$ and 0.4 $\mu\text{g/kg}$, respectively, the recoveries of method were 74.5%–109.2%, and the relative standard deviations were 2.5%–14.9%. **Conclusion** This method is simple, rapid, stable, sensitive. It's suitable for the rapid screening of NP(EO) $_{3-17}$ and OP(EO) $_{3-17}$ in fruits and vegetables.

KEY WORDS: alkylphenol ethoxylates; 4-octylphenol-ethoxylate; 4-nonylphenol-ethoxylate; fruits and vegetables; dispersed solid phase extraction; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

0 引言

烷基酚聚氧乙烯醚[alkylphenol ethoxylates, AP(EO) $_n$], 包括壬基酚聚氧乙烯醚[4-nonylphenol-ethoxylate, NP(EO) $_n$]和辛基酚聚氧乙烯醚[4-octylphenol-ethoxylate, OP(EO) $_n$], 是一种高产非离子型表面活性剂, 广泛用于农药制剂、清洁剂、纺织品、油漆等产品中, 其中, NP(EO) $_n$ 约占总量的 80%^[1]。AP(EO) $_n$ 通过工业废水大量排放到环境中, 据文献报道, 目前在沿海沉积物^[2]、自然水体^[3]、人体尿液^[4]、海产鱼类^[5]中均有发现不同浓度的累积。AP(EO) $_n$ 在环境中很难自然降解, 对环境和人体有害^[6]。PERMIQUEL-TRILLAS 等^[7]发现人体接触 AP(EO) $_n$ 与患乳腺癌有一定关联, 动物实验也表明, AP(EO) $_n$ 对动物细胞具有细胞毒性、遗传毒性和线粒体损伤^[8], 同时干扰动物体内代谢, 扰动脂肪生成规律^[9]。欧盟国家目前已经禁止使用和生产 NP(EO) $_n$ ^[10], 中国农业部农药检定所 2015 年发布的《农药助剂禁用名单》(征求意见稿)已将 NP(EO) $_n$ 和其代谢产物壬基酚(nonylphenol, NP)列为禁用助剂。由于 AP(EO) $_n$ 在环境中广泛存在, 水体、土壤和农药制剂都可能让水果蔬菜受到污染^[11], 而目前绝大部分的相关研究集中在化工产品^[12-13]或环境样品^[14]中, 对水果蔬菜基质的分析极少, 且目前国内没有相应的国家标准检测方法和限量指标, 因此建立用于水果蔬菜中 AP(EO) $_n$ 快速、准确的检测方法十分必要, 可用于后续监测和风险评估。

目前, 提取 AP(EO) $_n$ 的前处理手段主要有液液萃取法^[15]、固相萃取法^[16]、分散固相萃取法^[17]、分散液-液微萃取法^[18], 分析方法主要有液相色谱法^[19]、气相色谱-质谱法^[20]、液相色谱-质谱法^[3], 气相色谱-质谱法需对样品进行酰化、烷烃化、硅烷化等衍生, 操作较烦琐, 液相色谱法虽然操作简便但结果准确性不足, 液相色谱-质谱法具有快速、高效、专一性好的特点, 被广泛用于食品表面活性剂的残留量检测。因此, 本研究针对常见的蔬菜水果基质, 包括苹果、雪梨、草莓、柑橘、油桃、豇豆、番茄、小白菜、油麦菜、芹菜, 开发建立分散固相萃取净化, 超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-

tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)测定 NP(EO) $_n$ 和 OP(EO) $_n$ 的检测方法, 为后续开展水果蔬菜中 AP(EO) $_n$ 的风险监测提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

实验所用样品购自广州市清河综合市场, 包括苹果、雪梨、草莓、柑橘、油桃、豇豆、番茄、小白菜、油麦菜、芹菜, 共计 30 批次。

乙腈、甲醇、丙酮、二氯甲烷、甲苯、乙酸铵、氯化钠(分析纯, 广州化学试剂厂); 乙腈、甲醇(色谱纯, 美国默克公司); NP(EO) $_n$ 标准品、OP(EO) $_n$ 标准品(平均聚合度 $n=9\sim 10$, 纯度 $\geq 98\%$)(上海安谱实验科技股份有限公司); 二氧化硅(silica)、弗罗里硅土(florisil)、N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)、石墨化炭黑(graphitized carbon black, GCB)、十八烷基键合硅胶(octadecylsilane, C_{18})、氨丙基粉(NH_2)(分析纯, 广州太玮生物科技有限公司); 多壁碳纳米管(multi-walled carbon nano-tube, MWCNTs)、羧基化多壁碳纳米管(COOH-multi-walled carbon nano-tube, COOH-MWCNTs)、羟基化多壁碳纳米管(OH-multi-walled carbon nano-tube, OH-MWCNTs)(纯度 $\geq 95\%$, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。

1.2 仪器与设备

TRIPLE QUAD 4500 超高效液相色谱-质谱联用仪(美国 AB SCIEX 公司); KQ-118 超声波提取仪(中国昆山舒美公司); ME2002E 电子分析天平(感量 0.01 g, 瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司); Pro750 破壁搅拌机(美国 Vitamix 公司); 3K15 高速离心机(德国 Sigma 公司); Phenomenex Kinetex Biphenylc 色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 2.6 μm)、Thermo Fisher Accucore C_{18} 色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 2.6 μm)、Waters BEH C_{18} 色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 1.7 μm)(美国菲诺美公司); 0.22 μm 聚四氟乙烯(polytetrafluoroethylene, PTFE)滤膜(天津博纳艾杰尔公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液配制

配制标准储备液: 分别称取 10.0 mg NP(EO)_n 和 OP(EO)_n 标准品于 100 mL 容量瓶中, 用乙腈溶解后定容至刻度, 得到质量浓度为 1000.0 mg/L 的标准储备液, 置于 4°C 冰箱中避光保存。

配制混合标准工作液: 分别准确移取两种标准储备液各 1.0 mL 至 100 mL 容量瓶中, 用乙腈稀释定容至刻度, 得质量浓度为 10.0 mg/L 的混合标准中间工作液, 置于 4°C 冰箱中避光保存。分别移取 10.0 mg/L 的混合标准中间工作液 10.0、50.0、200.0、250.0、500.0 μL 至 50 mL 容量瓶中, 用乙腈稀释定容至刻度, 得质量浓度为 2.0、10.0、40.0、50.0、100.0 μg/L 的混合标准工作液, 现用现配。

1.3.2 样品前处理

取 1 kg 以上样品, 用干净纸巾轻轻擦净表面附着物, 把样品切成小块状, 放入破壁搅拌机制成流动、均匀的浆状, 倒入密闭容器, 放 -18°C 冰箱冷冻保存, 检测前恢复至室温。

准确称取 10 g (精确至 0.01 g) 样品至 50 mL 规格的离心管, 加入 20 mL 乙腈: 丙酮(8:2, V:V, 下同)后混匀, 使用 480 W 功率超声提取 10 min, 加入 3~5 g 氯化钠, 涡旋 30 s, 以 5000 r/min 离心 5 min 后取约 5 mL 上清液至 15.0 mL 规格的离心管, 经 50 mg MWCNTs、100 mg C₁₈ 和 200 mg PSA 净化, 涡旋混匀 5 min, 再以 5000 r/min 离心 5 min, 取上清液过 0.22 μm PTFE 滤膜, 进 HPLC-MS/MS 检测。

1.3.3 液相色谱条件

色谱柱: Phenomenex Kinetex Biphenylc 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 2.6 μm); 柱温: 30°C; 进样体积: 10 μL; 流动相: 10 mmol/L 乙酸铵溶液(A 相)和乙腈(B 相); 流速: 0.3 mL/min; 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序
Table 1 Gradient elution procedure

时间/min	A/%	B/%
0	90	10
3.00	40	60
6.99	5	95
7.00	90	10

1.3.4 质谱条件

离子源类型: 电喷雾电离源; 正离子(electron spray ionization⁺, ESI⁺)模式; 监测方式: 单离子检测扫描(single ion monitor, SIM)模式; 电喷雾电压: 4000 V; 离子源温度: 550°C; 雾化气压力: 50 psi; 辅助气压力: 50 psi; 帘气压力: 30 psi; NP(EO)₃₋₁₇ 和 OP(EO)₃₋₁₇ 选择离子参数见表 2。

不同聚合度的烷基酚聚氧乙烯醚可在色谱柱上分离, 可通过 XIC 色谱图的出峰时间进行定性, 通过各离子间的

丰度比得知样品中烷基酚聚氧乙烯醚各聚合度单体的构成, 通过加和所有选择离子的峰面积计算烷基酚聚氧乙烯醚聚合物的总量。

表 2 NP(EO)₃₋₁₇ 和 OP(EO)₃₋₁₇ 的选择离子
Table 2 Selected ions for NP(EO)₃₋₁₇ 和 OP(EO)₃₋₁₇

化合物	选择离子 [M+NH ₄] ⁺	化合物	选择离子 [M+NH ₄] ⁺
NP(EO) ₃	370.3	OP(EO) ₃	356.3
NP(EO) ₄	414.3	OP(EO) ₄	400.3
NP(EO) ₅	458.3	OP(EO) ₅	444.3
NP(EO) ₆	502.4	OP(EO) ₆	488.4
NP(EO) ₇	546.4	OP(EO) ₇	532.4
NP(EO) ₈	590.4	OP(EO) ₈	576.4
NP(EO) ₉	634.4	OP(EO) ₉	620.4
NP(EO) ₁₀	678.4	OP(EO) ₁₀	664.4
NP(EO) ₁₁	722.5	OP(EO) ₁₁	708.5
NP(EO) ₁₂	766.5	OP(EO) ₁₂	752.5
NP(EO) ₁₃	810.5	OP(EO) ₁₃	796.5
NP(EO) ₁₄	854.5	OP(EO) ₁₄	840.5
NP(EO) ₁₅	898.5	OP(EO) ₁₅	884.5
NP(EO) ₁₆	942.6	OP(EO) ₁₆	928.6
NP(EO) ₁₇	986.6	OP(EO) ₁₇	972.6

1.4 数据处理

使用 TRIPLE QUAD 4500 超高效液相色谱-质谱联用仪自带处理软件 Analyst Software 1.7 处理数据, 使用 WPS 制表和绘图。

2 结果与分析

2.1 前处理条件的优化

2.1.1 提取试剂的选择

根据相似相溶原理, 结合目前文献报道中分散固相萃取前处理的常用试剂^[21-22], 选择丙酮、二氯甲烷、甲醇、乙腈、乙腈: 丙酮(8:2)和乙腈: 甲苯(8:2)作为提取试剂, 比较提取效果。如图 1 结果所示, 二氯甲烷和甲醇的提取效率明显低于其他溶剂, 回收率均低于 70.0%, 而使用丙酮、乙腈、乙腈: 丙酮(8:2)和乙腈: 甲苯(8:2)提取时, 两种目标物的回收率均高于 75.0%, 其中, 乙腈: 丙酮(8:2)和乙腈: 甲苯(8:2)提取的回收率最高, 均高于 80.0%。NP(EO)₃₋₁₇ 和 OP(EO)₃₋₁₇ 易溶于丙酮和甲苯, 但单一使用丙酮会溶解出蔬菜水果中较多的基质成分, 增加后续净化难度, 而甲苯毒性较强, 不利于实验人员的身体健康。综合考虑, 乙腈: 丙酮(8:2)为本研究最佳提取溶剂, 其提取 NP(EO)₃₋₁₇ 和 OP(EO)₃₋₁₇ 的回收率分别可达 88.3%和 82.2%。

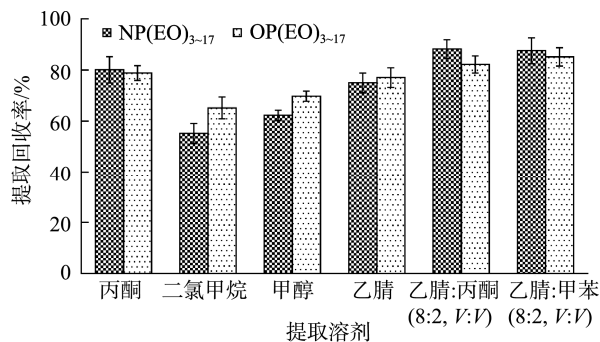


图 1 不同试剂对回收率的影响(n=6)

Fig.1 Effects of solvent on recovery (n=6)

2.1.2 料液比的优化

选择乙腈:丙酮(8:2)作为提取试剂,比较料液比($m:V$,下同)分别为 1:1、2:1、3:1、4:1、5:1 时的提取效果。如图 2 结果所示,当料液比从 1:1 调整到 2:1 时,回收率上升,高于 80%。当继续增加提取试剂体积时,回收率未明显提升,表明料液比为 2:1 时已能使目标物充分分散至试剂中,考虑到节能环保,不继续增加试剂用量。料液比尽量小的优势还在于当样品中目标物质量浓度较低时,可避免提取液的体积浓度过低,减免后续的浓缩步骤,节能提效,因此,最终选择料液比为 2:1。

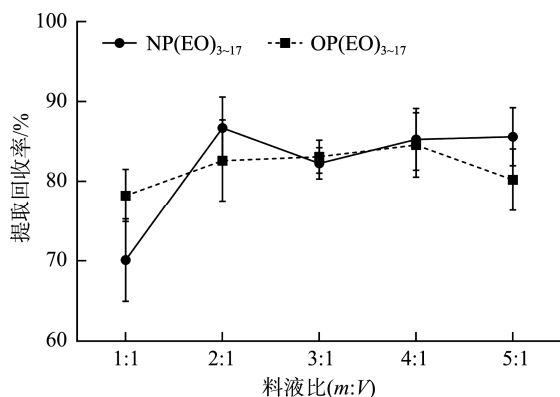


图 2 料液比对回收率的影响(n=6)

Fig.2 Effects of liquid-solid ratio on recovery (n=6)

2.1.3 提取时间的优化

在 10.0 g 样品加入 20 mL 乙腈:丙酮(8:2)溶剂,在 480 W 功率下进行超声提取,研究提取时间分别为 2、5、10、20、30、60 min 时的提取效果。如图 3 结果所示,超声时间越长,提取越充分,在 2~10 min 的时段,回收率随着提取时间增加而提高,在 10~60 min 的时段,目标物已被充分提取,回收率增长不明显,故选择 10 min 的提取时间。

2.1.4 净化材料的选择

分别称取 9 种分散固相萃取净化材料(silica、florisil、PSA、GCB、C₁₈、NH₂、MWCNTs、COOH-MWCNTs、OH-MWCNTs)各 100 mg,考察其对 NP(EO)₃₋₁₇ 和 OP(EO)₃₋₁₇

(质量浓度均为: 100 $\mu\text{g/L}$)在乙腈:丙酮(8:2)溶剂中的吸附情况。如图 4 结果所示,使用 silica、florisil、COOH-MWCNTs、OH-MWCNTs、NH₂、GCB 净化时, NP(EO)₃₋₁₇ 和 OP(EO)₃₋₁₇ 回收率偏低,均低于 75%,使用 PSA、C₁₈、MWCNTs 净化剂净化时,回收率为 88.5%~102.3%,能满足检测方法的要求。因此,本研究选择 PSA、C₁₈ 和 MWCNTs 作为净化材料。

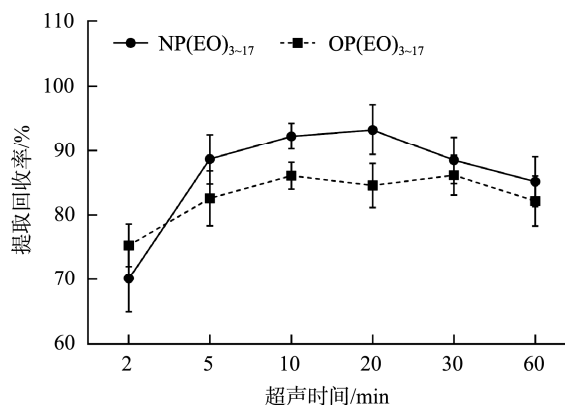


图 3 超声时间对回收率的影响(n=6)

Fig.3 Effects of ultrasonic time on recovery (n=6)

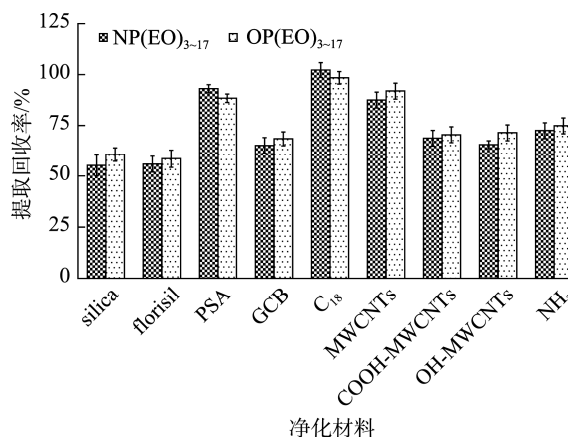


图 4 净化材料对回收率的影响(n=6)

Fig.4 Effects of purification materials on recovery (n=6)

2.1.5 净化材料的配比

PSA 主要吸附极性物质,包括糖、有机酸、脂肪酸、色素,是蔬菜水果基质中常用的分散固相净化材料^[23-25], C₁₈ 吸附能力强,主要吸附非极性物质,可去除样液中的脂类物质^[26-28], MWCNTs 是新型纳米材料,能聚集在比表面积大的物质附近^[29],可去除色素、脂肪酸和其他共同提取的基质干扰^[30-31]。在 2.1.4 的实验基础上,利用三因素四水平的正交实验确定 PSA、C₁₈ 和 MWCNTs 的最优配比(见表 3),通过阴性样品加标后两种目标物的平均回收率进行分析。如表 4 所示,均值 K_1 、 K_2 、 K_3 、 K_4 分别是 4 个水平所对应的实验结果的平均值, K 值可反映各因素的效果, K 值越大,对应的效

果越佳, 而极差 R 可反映各因素对实验结果的影响程度, 极差 R 越大, 因素越重要。因此, 正交实验的结果表明 PSA 对净化效果影响最大, 采用含 200 mg PSA、100 mg C_{18} 和 50 mg MWCNTs 进行分散净化可获得最优实验结果。

表 3 正交实验因素水平表(mg)

Table 3 Factors level table of the orthogonal experiment (mg)

因素	PSA	C_{18}	MWCNTs
水平 1	50	50	25
水平 2	100	100	50
水平 3	200	200	75
水平 4	400	400	100

表 4 正交实验的分析结果

Table 4 Results of the orthogonal experiment

因素	PSA	C_{18}	MWCNTs
K_1	73.5	80.2	78.2
K_2	78.6	84.2	83.3
K_3	89.6	82.5	80.2
K_4	78.3	82.5	79.2
R	16.1	4	5.1

2.2 仪器条件优化

2.2.1 质谱条件优化

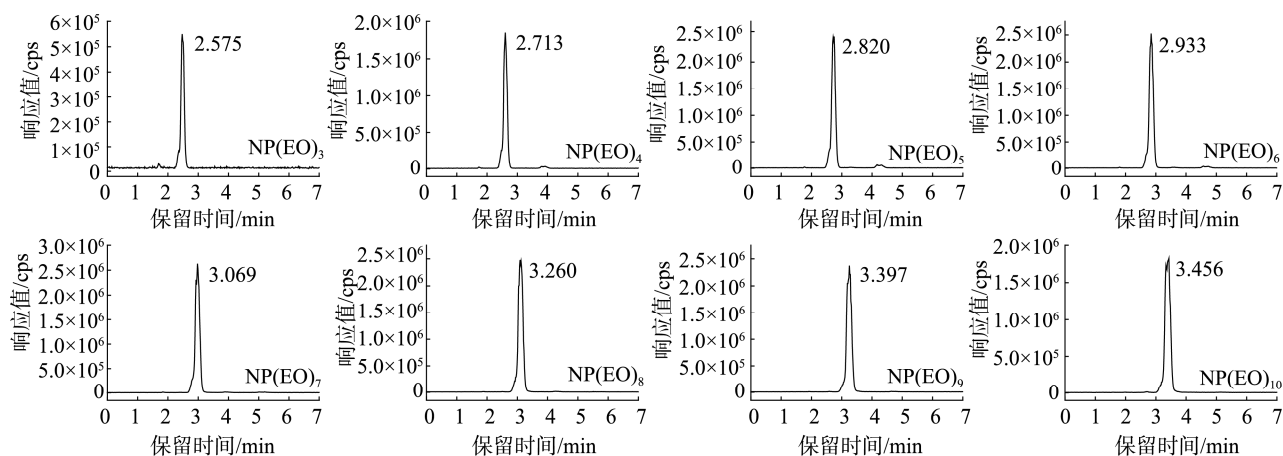
分别取 $NP(EO)_n$ 和 $OP(EO)_n$ 的标准溶液, 以 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速注入电喷雾离子源中, 在正离子模式下对一级质谱全扫描, 选择丰度比最强的离子作为检测离子。最终发现加入乙酸铵溶液时, 能获得一系列稳定的 $[M+NH_4]^+$, 可作为 $NP(EO)_{3-17}$ 和 $OP(EO)_{3-17}$ 的选择离子。 $AP(EO)_n$ 是以不同聚合度单体的混合物形式存在于自然界中, 相比于分别对单体进行定量, 检测其总量对蔬菜水果的安全风险评估更有意义。而不同聚合度单体的性质和毒性具有差异, 如

能了解阳性样品中目标物的单体组成, 将利于评估其毒性危害。使用 SIM 模式检测时, 可根据母离子确定单体, 也可结合所有母离子的丰度比确定相应单体占比, 并通过峰面积总和对总量进行定量。若使用多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式, 需要优化 60 个定性、定量离子对参数, 建立和优化仪器方法过程相对复杂, 对实验室的设备精度要求较高, 考虑到方法后续推广需求, 本实验选择 SIM 扫描模式。

2.2.2 色谱条件优化

由于目标物的监测离子为 $[M+NH_4]^+$, 对比甲醇-水、乙腈-水、甲醇-乙酸铵溶液、乙腈-乙酸铵溶液为流动相时 $NP(EO)_{3-17}$ 和 $OP(EO)_{3-17}$ 的响应值。结果表明, 甲醇-水体系中, 目标物对称性较差, 而在乙腈-水体系中, 目标物的整体峰型更好。乙腈-水体系洗脱能力强, 目标物分离度更好, 因此选用乙腈-水体系作为流动相。在水相中加入适量的乙酸铵后, 改善了目标物的离子化效果, 提高了响应, 经多次实验, 发现乙酸铵浓度为 10 mmol/L 时的效果最佳。综合考虑后, 选择 10 mmol/L 乙酸铵溶液和乙腈为流动相。

50 mm 的色谱柱理论塔板数比 100 mm 的色谱柱小, 目标物分离效果较差, 本研究采用 100 mm 规格的色谱柱进行检测。本实验室对 Phenomenex Kinetex Biphenylc 色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 2.6 μm)、Thermo Fisher Accucore C_{18} 色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 2.6 μm)和 Waters BEH C_{18} 色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 1.7 μm)进行测试, 结果表明使用 Phenomenex Kinetex Biphenylc 色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 2.6 μm)的分离效果最佳, 灵敏度最好。因为烷基酚聚氧乙烯醚化学结构中含有苯环, 苯基柱对其有更好的选择性, 因此本研究选用 Phenomenex Kinetex Biphenylc 色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 2.6 μm)进行分离检测。实际样品加标后的色谱图见图 5~图 8。

图 5 $NP(EO)_{3-17}$ 提取离子流色谱图(XIC)Fig.5 Extracted ion chromatogram (XIC) of $NP(EO)_{3-17}$

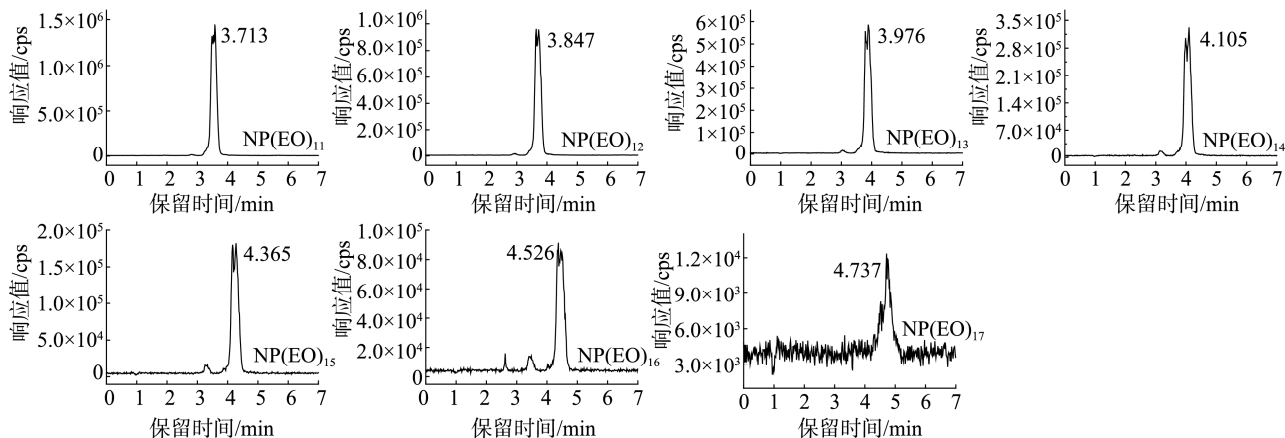


图5(续) NP(EO)₃₋₁₇提取离子流色谱图(XIC)
Fig.5 Extracted ion chromatogram (XIC) of NP(EO)₃₋₁₇

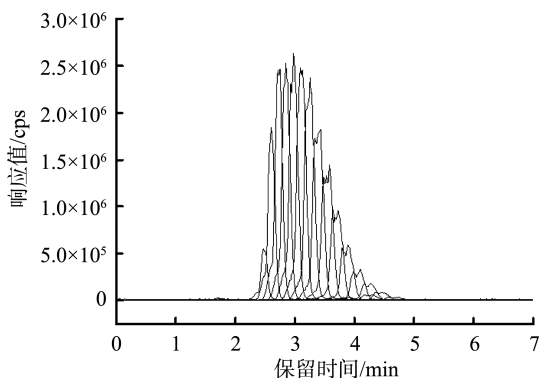


图6 NP(EO)₃₋₁₇提取离子流叠加色谱图(XIC)
Fig.6 Extracted ion superimposed chromatogram (XIC) of NP(EO)₃₋₁₇

2.3 验证实验

2.3.1 工作曲线和方法检出限

配制一系列空白基质混合标准溶液,按上述优化后的色谱条件进样,以目标物进样质量浓度为横坐标(X , $\mu\text{g/L}$),峰面积总和为纵坐标(Y),绘制标准曲线计算其线性方程,同时以3倍基线噪音($S/N=3$)确定方法检出限。在 $2\sim 100\ \mu\text{g/L}$ 范围内, NP(EO)₃₋₁₇的线性方程为 $Y=329656X+10885$,线性相关系数为0.9987, OP(EO)₃₋₁₇的线性方程为 $Y=598736X+20684$,线性相关系数为0.9990。NP(EO)₃₋₁₇和 OP(EO)₃₋₁₇的检出限分别为 $0.5\ \mu\text{g/kg}$ 和 $0.4\ \mu\text{g/kg}$ 。线性方程的相关系数和方法的检出限达到预期检测要求,表明所提出的方法可成功实现对 NP(EO)₃₋₁₇和 OP(EO)₃₋₁₇的检测。

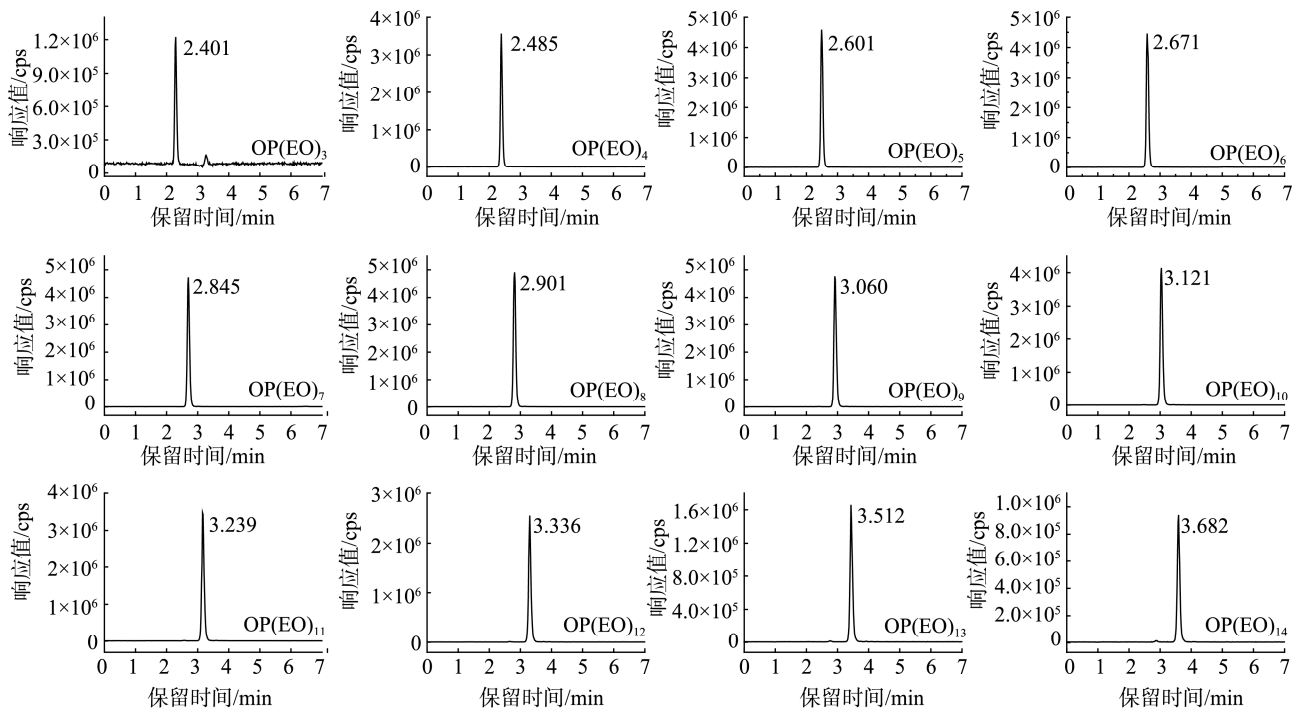


图7 OP(EO)₃₋₁₇提取离子流色谱图
Fig.7 Extracted ion superimposed chromatogram of OP(EO)₃₋₁₇

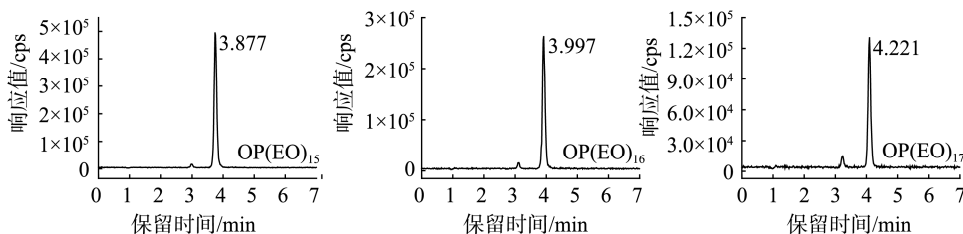


图 7(续) OP(EO)₃₋₁₇ 提取离子流色谱图

Fig.7 Extracted ion superimposed chromatogram of OP(EO)₃₋₁₇

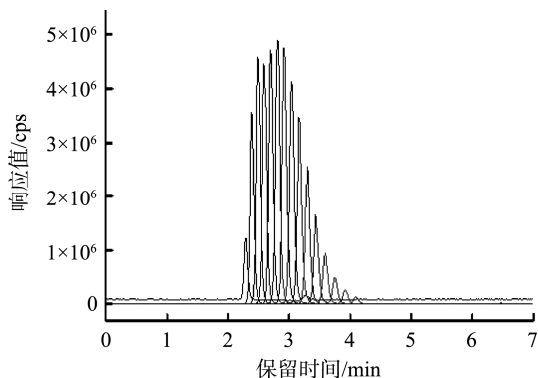


图 8 OP(EO)₃₋₁₇ 提取离子流叠加色谱图

Fig.8 Extracted ion superimposed chromatogram of OP(EO)₃₋₁₇

2.4 实际样品测定

采用本研究检测购自本地市场的 30 批次蔬菜水果样品, 其中有 4 批次蔬菜水果检出不同含量的 AP(EO)₃₋₁₇, 检出情况见表 6。当样品有检出时, NP(EO)₃₋₁₇ 含量高于 OP(EO)₃₋₁₇, 考虑是由于 NP(EO)_n 产量较高, 造成残留量较高^[1]。

3 结论

本研究通过优化提取溶剂、液料比、提取时间、吸附剂类别及组成、液相和质谱条件, 建立了利用分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定水果蔬菜中辛基酚聚氧乙烯醚和壬基酚聚氧乙烯醚的分析方法, 使用 SIM 扫描模式对目标物中不同聚合度的单体进行定性, 对总量进行定量。使用该方法对市售的 30 批蔬菜水果进行检验, 发现 4 批次样品检出 AP(EO)_n, 检出值低, 食用安全风险较低。本方法简单、快捷、稳定、灵敏度高, 对于蔬菜水果中辛基酚聚氧乙烯醚和壬基酚聚氧乙烯醚污染的风险监测具有良好的实用价值。

2.3.2 方法回收率和精密度

按优化后的前处理方法和色谱条件, 对水果蔬菜样品进行 3 水平的加标实验, 结果见表 5。在不同基质中添加浓度为 2、10、50 μg/kg 的两种物质, 平均回收率为 74.5%~109.2%, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)为 2.5%~14.9%。

表 5 10 种水果蔬菜样品中 NP(EO)₃₋₁₇ 和 OP(EO)₃₋₁₇ 的添加水平、回收率及 RSDs (n=6)
Table 5 Spiked levels, recoveries and RSDs of NP(EO)₃₋₁₇ and OP(EO)₃₋₁₇ in 10 kinds of fruits and vegetables samples (n=6)

基质	添加水平/(μg/kg)	NP(EO) ₃₋₁₇		OP(EO) ₃₋₁₇	
		平均回收率/%	RSDs/%	平均回收率/%	RSDs/%
苹果	2; 10; 50	83.6; 88.0; 99.5	11.2; 6.6; 8.1	83.2; 91.1; 91.7	11.2; 7.2; 9.6
雪梨	2; 10; 50	95.8; 84.8; 93.2;	13.7; 8.0; 14.5	88.4; 87.2; 90.4	6.7; 13.5; 8.9
草莓	2; 10; 50	103.0; 79.5; 82.0	8.8; 12.3; 4.6	92.5; 90.4; 91.7	9.1; 11.1; 9.6
柑橘	2; 10; 50	80.5; 79.7; 98.9	9.7; 14.8; 12.0	83.6; 92.7; 83.9	13.0; 12.3; 12.3
油桃	2; 10; 50	88.7; 100.2; 96.1	7.3; 7.0; 2.5	96.9; 85.7; 96.8	13.9; 9.6; 3.7
豇豆	2; 10; 50	103.5; 78.6; 89.8	8.4; 9.9; 6.7	97.4; 103.1; 84.2	3.5; 6.1; 2.6
番茄	2; 10; 50	85.5; 95.4; 96.3	5.1; 7.4; 14.2	102.7; 90.6; 74.5	10.0; 14.2; 12.2
小白菜	2; 10; 50	80.6; 89.6; 90.2	9.4; 4.1; 13.3	88.7; 84.8; 87.7	4.8; 5.3; 8.6
油麦菜	2; 10; 50	100.1; 85.1; 80.2	4.5; 6.0; 7.8	74.5; 104.4; 83.0	12.2; 6.4; 14.9
芹菜	2; 10; 50	92.5; 86.8; 86.3	6.3; 9.1; 7.6	101.9; 109.2; 83.5	8.9; 14.2; 5.8

表 6 样品中 NP(EO)₃₋₁₇ 和 OP(EO)₃₋₁₇ 的检出情况(n=6)
Table 6 Concentrations of NP(EO)₃₋₁₇ and OP(EO)₃₋₁₇ in the samples (n=6)

序号	样品名称	NP(EO) ₃₋₁₇ /(μg/kg)	OP(EO) ₃₋₁₇ /(μg/kg)
1	苹果 1	未检出	未检出
2	苹果 2	未检出	未检出
3	苹果 3	未检出	未检出
4	雪梨 1	未检出	未检出
5	雪梨 2	未检出	未检出
6	雪梨 3	未检出	未检出
7	草莓 1	未检出	未检出
8	草莓 2	3.07	1.56
9	草莓 3	5.23	2.19
10	柑橘 1	未检出	未检出
11	柑橘 2	1.37	0.45
12	柑橘 3	未检出	未检出
13	油桃 1	未检出	未检出
14	油桃 2	未检出	未检出
15	油桃 3	未检出	未检出
16	豇豆 1	未检出	未检出
17	豇豆 2	未检出	未检出
18	豇豆 3	未检出	未检出
19	番茄 1	未检出	未检出
20	番茄 2	未检出	未检出
21	番茄 3	未检出	未检出
22	小白菜 1	未检出	未检出
23	小白菜 2	未检出	未检出
24	小白菜 3	2.24	0.68
25	油麦菜 1	未检出	未检出
26	油麦菜 2	未检出	未检出
27	油麦菜 3	0.07	未检出
28	芹菜 1	未检出	未检出
29	芹菜 2	未检出	未检出
30	芹菜 3	未检出	未检出

参考文献

- [1] KASSOTIS CD, LEFAUVE MK, CHIANG YT, *et al.* Nonylphenol polyethoxylates enhance adipose deposition in developmentally exposed zebrafish [J]. *Toxics*, 2022, 10(2): 99.
- [2] SHIU RF, JIANG JJ, KAO HY, *et al.* Alkylphenol ethoxylate metabolites in coastal sediments off southwestern Taiwan: Spatiotemporal variations, possible sources, and ecological risk [J]. *Chemosphere*, 2019, 225: 9–18.
- [3] MIGNOT M, NAGELS M, POELMANS S, *et al.* Fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry methodology for the analysis of alkylphenols and their ethoxylates in wastewater samples from the tank truck cleaning industry [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2019, 411(8): 1611–1621.
- [4] RINGBECK B, BURY D, HAYEN H, *et al.* Determination of specific urinary nonylphenol metabolites by online-SPE-LC-MS/MS as novel human exposure biomarkers [J]. *J Chromatogr B*, 2021, 1177: 122794.
- [5] RUCZYNSKA W, SZLINDER-RICHERT J, NERMER T. The occurrence and distribution of nonylphenols and nonylphenol ethoxylates in different species of fish [J]. *Environ Sci Proc Imp*, 2020, 22(4): 1057–1070.
- [6] ACIR I, GUENTHER K. Endocrine-disrupting metabolites of alkylphenol ethoxylates-A critical review of analytical methods, environmental occurrences, toxicity, and regulation [J]. *Sci Total Environ*, 2018, 635: 1530–1546.
- [7] PEREMIQUEL-TRILLAS P, BENAVENTE Y, MARTIN-BUSTAMANTE M, *et al.* Alkylphenolic compounds and risk of breast and prostate cancer in the MCC-Spain study [J]. *Environ Int*, 2019, 122: 389–399.
- [8] YUAN S, JI X, MA M, *et al.* Comparative toxicity study of a novel non-ionic surfactant, vanillin ethoxylates, and nonylphenol ethoxylates in Chinese hamster ovary cells *in vitro* [J]. *J Environ Sci*, 2019, 82: 70–81.
- [9] KASSOTIS CD, KOLLITZ EM, FERGUSON PL, *et al.* Nonionic ethoxylated surfactants induce adipogenesis in 3T3-L1 cells [J]. *Toxicol Sci*, 2018, 162(1): 124–136.
- [10] ARAUJO FG, BAUERFELDT GF, CID YP. Nonylphenol: Properties, legislation, toxicity and determination [J]. *An Acad Bras Cienc*, 2018, 90(2 suppl 1): 1903–1918.
- [11] JIANG Z, CAO X, LI H, *et al.* Rapid analysis of tristyrylphenol ethoxylates in cucumber-field system using supercritical fluid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2018, 266: 119–125.
- [12] CELEIRO M, RUBIO L, GARCIA-JARES C, *et al.* Multi-target strategy to uncover unexpected compounds in rinse-off and leave-on cosmetics [J]. *Molecules*, 2021, 26(9): 2504.
- [13] 董林娟, 王孟, 石钰. 塑料鞋材中壬基酚和壬基酚聚氧乙烯醚的检测 [J]. *塑料科技*, 2021, 49(11): 101–105.
- DONG LJ, WANG M, SHI Y. Determination of nonylphenol and nonylphenol polyoxyethylene ether in plastic shoe materials [J]. *Plast Sci Technol*, 2021, 49(11): 101–105.
- [14] LEE SH, KU PC, CHUNG HM, *et al.* Distribution patterns and transportation behavior of alkylphenol polyethoxylate degradation metabolites among river, port area, and coastal water bodies of Kaohsiung City, Taiwan [J]. *Chemosphere*, 2022, 299: 134411.
- [15] 杨锚, 王森, 余永新, 等. 环境内分泌干扰物辛基酚、壬基酚及短链壬基酚聚氧乙烯醚残留同步检测方法 [J]. *农业环境科学学报*, 2014, 33(7): 1460–1464.
- YANG M, WANG M, SHE YX, *et al.* Simultaneous determination of octylphenol, nonylphenol and short chain nonylphenol ethoxylate in agroproducts and food packages by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Agro-Environ Sci*, 2014, 33(7): 1460–1464.
- [16] 郭文建, 王超, 吕怡兵, 等. 固相萃取-液相色谱/荧光检测法同时测定水中 8 种烷基酚和烷基酚聚氧乙烯醚 [J]. *环境化学*, 2018, 37(3): 497–504.
- GUO WJ, WANG C, LV YB, *et al.* Simultaneous determination of eight alkylphenols and alkylphenol ethoxylates in water by solid phase extraction and high performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *Environ Chem*, 2018, 37(3): 497–504.
- [17] CHEN WL, WANG GS, GWO JC, *et al.* Ultra-high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry determination of feminizing

- chemicals in river water, sediment and tissue pretreated using disk-type solid-phase extraction and matrix solid-phase dispersion [J]. *Talanta*, 2012, 89: 237–245.
- [18] BAUTE-PEREZ D, SANTANA-MAYOR A, HERRERA-HERRERA AV, *et al.* Analysis of alkylphenols, bisphenols and alkylphenol ethoxylates in microbial-fermented functional beverages and bottled water: optimization of a dispersive liquid-liquid microextraction protocol based on natural hydrophobic deep eutectic solvents [J]. *Food Chem*, 2022, 377: 131921.
- [19] WANG D, LOU J, XU J, *et al.* Degradation of octylphenol polyethoxylates with a long ethoxylate chain using the laccase-mediated systems [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2021, 28(28): 37781–37792.
- [20] FAN X, KUBWABO C, WU F, *et al.* Analysis of bisphenol A, alkylphenols, and alkylphenol ethoxylates in NIST SRM 2585 and indoor house dust by gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC/MS/MS) [J]. *J AOAC Int*, 2018. DOI: 10.5740/jaoacint.18-0071
- [21] 孟冬玲, 陈志燕, 王维刚, 等. 通过式固相萃取结合 UPLC-MS/MS 同时测定烟用水基胶中的烷基酚、烷基酚聚氧乙烯醚和异噻唑啉酮[J]. *中国烟草学报*, 2022, 28(2): 33–41.
- MENG DL, CHEN ZY, WANG WG, *et al.* Simultaneous determination of alkylphenols, alkylphenol polyoxyethylene ethers and isothiazolinones in water-based adhesives of cigarette by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry combined with pass-through SPE [J]. *Acta Tabacaria Sin*, 2022, 28(2): 33–41.
- [22] 张艳, 王全胜, 吴银良. 分散固相萃取-液相色谱-串联质谱法同时测定鸡蛋中 7 种抗病毒类药物和利巴韦林代谢物残留量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(6): 1872–1879.
- ZHANG Y, WANG QS, WU YL. Simultaneous determination of 7 kinds of antiviral drugs and ribavirin metabolite residues in eggs by dispersive solid phase extraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(6): 1872–1879.
- [23] 刘志荣, 张明童, 谢楠, 等. 改进 QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定甘草中 86 种农药残留[J]. *质谱学报*, 2020, 41(6): 624–636.
- LIU ZR, ZHANG MT, XIE N, *et al.* Simultaneous determination of 86 pesticide residues in glycyrrhiza uralensis by improved QuEChERS-UPLC-MS/MS [J]. *J Chin Mass Spectr Soc*, 2020, 41(6): 624–636.
- [24] 田鹏, 张庆, 李艳红, 等. 分散固相萃取-液相色谱-质谱法测定水稻叶片中的 10 种代谢物[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(11): 3644–3651.
- TIAN P, ZHANG Q, LI YH, *et al.* Determination of 10 kinds of metabolomics in rice shoot by dispersive solid phase extraction-liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(11): 3644–3651.
- [25] 樊轻亚, 白泽方, 汪学猛, 等. 分散固相萃取/超高效液相色谱-串联质谱法测定药用狗牙花中 6 种生物碱[J]. *分析测试学报*, 2022, 41(8): 1235–1241.
- FAN QY, BAI ZF, WANG XM, *et al.* Determination of six alkaloids in *ervatamia officinalis* tsiang by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with dispersive solid phase extraction [J]. *J Instr Anal*, 2022, 41(8): 1235–1241.
- [26] 王娇, 齐沛沛, 刘真真, 等. 基于磁纳米材料的土壤中多农药残留高通量分析技术研究[J]. *分析化学*, 2019, 47(2): 262–270.
- WANG J, QI PP, LIU ZZ, *et al.* High throughput analysis of multiple pesticides residue in soil samples using magnetic nanoparticles as dispersive adsorbent [J]. *Chin J Anal Chem*, 2019, 47(2): 262–270.
- [27] 马凯, 杨昌彪, 崔姗姗, 等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定豆芽中 96 种药物残留[J/OL]. *食品与发酵工业*: 1-9. [2022-11-09]. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.032728
- MA K, YANG CB, CUI SS, *et al.* Simultaneous determination of 96 drug residues in bean sprouts by dispersive SPE-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J/OL]. *Food Ferment Ind*: 1-9. [2022-11-09]. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.032728
- [28] 刘迪, 韩莉, 余婷婷, 等. 分散固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定植源性油料油脂中 67 种除草剂[J]. *中国食品卫生杂志*, 2022, 34(4): 715–723.
- LIU D, HAN L, YU TT, *et al.* Determination of 67 herbicides in vegetable oil and fat by liquid chromatography tandem mass spectrometry coupled with dispersive solid phase extraction [J]. *Chin J Food Hyg*, 2022, 34(4): 715–723.
- [29] 吴静娜, 杨秀娟, 李乾坤, 等. 多壁碳纳米管磁性固相萃取气相色谱质谱法测定茶叶中的 8 种农药残留[J]. *食品科技*, 2021, 46(3): 318–324.
- WU JN, YANG XJ, LI QK, *et al.* Determination of 8 pesticide residues in tea by gas chromatography mass spectrometry with magnetic multi-walled carbon nanotubes solid phase extraction [J]. *Food Sci Technol*, 2021, 46(3): 318–324.
- [30] 许芮菡, 谢倩文, 李旭军, 等. 基于多壁碳纳米管改进 QuEChERS 结合气相色谱-串联质谱检测茶叶中 10 种拟除虫菊酯类农药残留[J]. *色谱*, 2022, 40(5): 469–476.
- XU RH, XIE QW, LI XJ, *et al.* Modified QuEChERS method based on multi-walled carbon nanotubes coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry for the detection of 10 pyrethroid pesticide residues in tea [J]. *Chin J Chrom*, 2022, 40(5): 469–476.
- [31] 黄华, 谢文东, 谷雨, 等. 多壁碳纳米管分散固相萃取净化超高效液相色谱串联质谱测定果蔬中 50 种农药残留量[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(17): 282–290.
- HUANG H, XIE WD, GU Y, *et al.* Determination of 50 pesticide residues in fruits and vegetables by QuEChERS extraction with multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) coupled to UPLC-MS/MS [J]. *Food Ferment Ind*, 2022, 48(17): 282–290.

(责任编辑: 黄周梅 张晓寒)

作者简介



严婉盈, 工程师, 主要研究方向为食品质量安全研究。

E-mail: 260608093@qq.com



李秀英, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量安全研究。

E-mail: 328444798@qq.com