

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240228014

超高效液相色谱-串联质谱法检测花生中 18 种塑化剂

郑 嘉^{1,2,3}, 陈玉汝⁴, 王 允^{1,2,3}, 刘继红^{1,2,3}, 刘冬梅^{1,2,3}, 赵光华^{1,2,3},
曹 成^{1,2,3}, 王俊艳^{1,2,3}, 尹海燕^{1,2,3}, 曹颖妮^{1,2,3}, 王红旗^{1,2,3*}

(1. 河南省农业科学院农产品质量安全研究所, 郑州 450002; 2. 农业农村部农产品质量安全风险评估实验室, 郑州 450002; 3. 河南省粮食质量安全重点实验室, 郑州 450002; 4. 河南省公平竞争审查事务中心, 郑州 450000)

摘 要: **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法检测花生中 18 种塑化剂。**方法** 样品经乙腈超声提取并低温低速离心后, 直接取上清液于-18℃冰箱中冷冻至少 2 h, 上清液经 0.22 μm 滤膜过滤后通过 Shim-pack XR-ODSIII 反相色谱柱(2.0 mm×150 mm, 2.2 μm)进行分离, 最后经三重四极杆质谱在多反应监测模式下用外标法定量测定。**结果** 在最佳分析条件下, 各塑化剂靶标线性范围均良好, 相关系数(r^2)均大于 0.999; 检出限和定量限分别在 0.0004~1.0000 μg/kg 和 0.0012~3.0000 μg/kg 范围内; 在 3 个不同浓度下的加标回收率位于 75.26%~114.54%之间, 相对标准偏差为 1.08%~8.00% ($n=6$)。**结论** 该方法操作简单、稳定可靠、检测通量高、检测成本低, 有望用于大批量花生样品中塑化剂质量安全风险评估筛查及验证分析, 以期为政府部门大宗粮油质量安全监管提供技术支撑。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱法; 花生; 高通量; 塑化剂; 风险评估

Determination of 18 kinds of plasticizers in peanuts by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHENG Jia^{1,2,3}, CHEN Yu-Ru⁴, WANG Yun^{1,2,3}, LIU Ji-Hong^{1,2,3}, LIU Dong-Mei^{1,2,3},
ZHAO Guang-Hua^{1,2,3}, CAO Cheng^{1,2,3}, WANG Jun-Yan^{1,2,3}, YIN Hai-Yan^{1,2,3},
CAO Ying-Ni^{1,2,3}, WANG Hong-Qi^{1,2,3*}

[1. Institute of Quality and Safety of Agro-products, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China;
2. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Agro-products (Zhengzhou), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Zhengzhou 450002, China; 3. Henan Key Laboratory of Grain Quality and Safety and Testing, Zhengzhou 450002, China; 4. Henan Fair Competition Review Center, Zhengzhou 450000, China]

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 18 kinds of plasticizers in peanuts by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** After ultrasonic extraction with acetonitrile and centrifugation at low temperature and speed, the supernatants were collected and refrigerated in a -18℃ for at least 2 h. Following filtered through 0.22 μm filter membrane, the supernatants were separated by

基金项目: 国家农产品质量安全风险评估项目(GJFP20220104)

Fund: Supported by the National Agricultural Product Quality and Safety Risk Assessment Project (GJFP20220104)

*通信作者: 王红旗, 博士, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量安全与风险评估。E-mail: huda2000@126.com

*Corresponding author: WANG Hong-Qi, Ph.D, Associate Professor, Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology, Henan Academy of Agricultural Sciences, No.116, Huayuan Road, Jinshui District, Zhengzhou 450002, China. E-mail: huda2000@126.com

Shim-pack XR-ODS reverse phase chromatography column (2.0 mm×150 mm, 2.2 μm) and quantitatively determined by triple quadrupole mass spectrometry in multiple reaction monitoring mode using external standard method.

Results Under the optimal analysis conditions, the linear range of each plasticizer target was good, and the correlation coefficient (r^2) was >0.999. The limits of detection and quantification were within the ranges of 0.0004–1.0000 μg/kg and 0.0012–3.0000 μg/kg, respectively. The recoveries at 3 different concentrations ranged from 75.26% to 114.54%, and the relative standard deviations ranged from 1.08% to 8.00% ($n=6$). **Conclusion** This method is simple, stable and reliable, has high detection throughput and low detection cost, and is expected to be used for quality and safety risk assessment, screening and verification analysis of plasticizers in large quantities of peanuts samples, in order to provide technical support for quality and safety supervision of bulk grain and oil by government departments.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; peanuts; high throughput; plasticizers; risk assessment

0 引言

塑化剂主要是指邻苯二甲酸酯类物质(phthalate esters, PAEs),目前常见的有30多种,约占塑化剂总量的80%^[1]。塑化剂又称增塑剂,在塑料加工中通常作为工业助剂被广泛应用,用以提高产品的伸缩性、灵活性、可塑性、耐用性以及弹性等^[2-5]。塑化剂是一类脂溶性物质,分子结构与人体激素荷尔蒙相似,进入人体后易形成假性荷尔蒙干扰人类正常内分泌活动^[6-7]。因此,塑化剂作为广泛存在的环境污染物备受关注^[8]。如果长期暴露于塑化剂污染的环境中会在体内形成塑化剂积累效应,达到一定程度会对心血管、肝脏等系统产生较大危害^[9-10],甚至会致畸、致癌^[11]。毒理学实验表明,邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯[bis(2-ethylhexyl) phthalate, DEHP]和邻苯二甲酸二丁基酯(dibutyl phthalate, DBP)对人体免疫系统、消化系统和生殖系统具有一定的危害性,会导致男性精子数量减少,促进女性性早熟^[12-14]。因此,做好塑化剂精准检测、风险评估及源头控制,对保障我国农产品质量安全、维护人民身体健康具有重要意义。

农产品中塑化剂的来源较多,如受污染的水土气、包装材料、甚至农业投入品中的助剂添加物等^[15]。在农业生产中,农用塑料薄膜是最大的塑化剂污染源,通过污染所接触的土壤将塑化剂迁移到所生产的农产品中,从而产生农产品安全隐患^[16]。花生是一种具有重要经济价值的油料作物,因其含油量高,很容易在其种植、生长过程中从受污染的环境(水、土、气)中“富集”塑化剂产生安全隐患。因此,开展花生及其种植环境中塑化剂风险评估,从源头控制塑化剂污染风险,对保障花生产业健康发展具有重要意义。

目前针对塑化剂的检测方法主要有气相色谱法^[17]、气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[18-19]、高效液相色谱法^[20-21]、液相色谱-串联质谱

法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)^[22-25]等检测方法。GB/T 21911—2008《食品中邻苯二甲酸酯的测定》中的检测方法为GC-MS,比较适合分析易挥发和热稳定的塑化剂,对于难挥发化合物则不适合;另外,该方法需要衍生化前处理,操作相对复杂。液相色谱法检测成本低、操作简单,但系统中的塑化剂背景值较高,多种邻苯二甲酸酯类塑化剂在液相色谱下较难分离,且检出限较高^[26]。GC-MS多采用电子电离和化学电离等硬电离方式,电离的电压比较高,生成的离子碎片比较多;相反,UPLC-MS/MS采用电喷雾电离和大气压化学电离等软电离方式,碎片离子数量较GC-MS少许多,检测灵敏度也比液相色谱高,同时还具有选择性高、分析时间短、使用范围广等优势。TOKUMURA等^[27]运用GC-MS和UPLC-MS/MS两种分析技术测定了14种塑化剂成分,发现UPLC-MS/MS方法的定量限(limit of quantitation, LOQ)比GC-MS低1~2个数量级。

目前,研究UPLC-MS/MS塑化剂检测方法的报道相对较少,相关学术论文数量仅为GC-MS论文数量的一半,且主要集中在磷酸酯类塑化剂成分分析^[28],检测样品类型主要为酒、饮料、奶、蔬菜、水及面制品^[29-30],未见富含油脂类粮油产品如花生的研究报道。可能的原因是油脂产品中脂肪含量较高,前处理有一定困难;一旦处理不好,残留的脂肪容易在液相分离过程中富集到色谱柱上引起柱压升高,降低分离效果,所以,至今未见粮油产品中塑化剂的液相色谱-质谱检测方法标准发布,因此,有必要开发一种高通量、易操作的富含油脂类产品如花生中塑化剂的UPLC-MS/MS检测方法。

然而,UPLC-MS/MS分析法很难避免液相系统中各塑料管路及部件中塑化剂背景的干扰,容易导致基线升高、定量不准确的问题。为了解决UPLC-MS/MS基线背景过高的难题,本研究拟开发一种简单快捷、准确高效地检测花生中18种塑化剂的UPLC-MS/MS检测方法,以期监管部门

门的塑化剂风险评估与日常监管提供更多的技术选择。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

17 种塑化剂混合标准溶液、邻苯二甲酸二异壬酯标准溶液(1000 μg/mL, 普瑞邦生物工程有限公司), 具体信息见表 1; 甲醇(CH₃OH)、乙腈(CH₃CN)、甲酸(HCOOH)、乙酸铵(CH₃COONH₄)(色谱级, 德国默克公司); 实验用水为屈臣氏纯净水。

1.2 仪器与设备

LCMS-8060NX 液相色谱-三重四极杆质谱联用仪(日本岛津公司); Shim-pack XR-ODS III 反相色谱柱(2.0 mm×150 mm, 2.2 μm)、Intertsil μODS-4 反相色谱延迟柱(3.0 mm×50 mm, 2.0 μm)(日本 GL Sciences 公司); 3600 型盘式实验粉碎机[瑞典泼通瑞华科学仪器(北京)有限公司]; KQ-500DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 5804R 高速冷冻离心机(德国艾本德公司); ME802/02 天平(精度 0.01 g, 瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司); Milli-Q 超纯水发生器(美国 Millipore 公司); 0.22 μm 有机滤膜(浙

江哈迈科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 样品采集及前处理

随机从河南花生主产区采集 90 份代表性花生样品, 经不锈钢实验粉碎机粉碎后, 再用 16 目样品筛(孔径 1 mm)对样品进行处理, 最终制备好的样品于密封袋中-20℃保存备用。

称取 2.00 g 粉碎后的花生样品于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 纯乙腈; 超声提取 30 min 后于 4℃条件下 4000 r/min 冷冻离心 10 min; 然后, 取上清液于-18℃条件下冷冻静置 2 h; 最后, 将上清液用纯净水 1:1 稀释, 经孔径 0.22 μm 滤膜过滤后转移至 1.5 mL 进样小瓶, 等待上机检测。

1.3.2 18 种塑化剂溶液的配制

标准储备液配制: 从各个塑化剂标准品溶液中准确吸取 100 μL 于 1 mL 容量瓶中, 用乙腈定容, 配成质量浓度为 100 μg/mL 的标准储备液, 于-20℃冷冻保存备用。

混合标准中间溶液配制: 分别准确地吸取各塑化剂标准储备液 100 μL 于 1 mL 容量瓶中, 用乙腈定容, 配成质量浓度为 10 μg/mL 的混合标准中间液, 于-20℃冷冻保存备用。

表 1 18 种塑化剂信息
Table 1 Information of 18 kinds of plasticizers

序号	中文名称	英文全称	英文缩写	备注
1	邻苯二甲酸二甲酯	dimethyl phthalate	DMP	17 种塑化剂混合标准溶液
2	邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	bis(2-methoxyethyl) phthalate	DEMP	
3	邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯	bis(2-ethoxyethyl) phthalate	DEEP	
4	邻苯二甲酸二乙酯	diethyl phthalate	DEP	
5	邻苯二甲酸二烯丙酯	diallyl phthalate	DAP	
6	邻苯二甲酸二苯酯	diphenyl phthalate	DIPP	
7	邻苯二甲酸丁苄酯	butyl benzyl phthalate	BBP	
8	邻苯二甲酸二异丁酯	diisobutyl phthalate	DIBP	
9	邻苯二甲酸二(2-丁氧基乙基)酯	bis(2-butoxyethyl)phthalate	DBEP	
10	邻苯二甲酸二丁酯	dibutyl phthalate	DBP	
11	邻苯二甲酸二正戊酯	dipentyl phthalate	DPP	
12	邻苯二甲酸二环己酯	dicyclohexyl phthalate	DCHP	
13	邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯	bis(4-methyl-2-pentyl)phthalate	BMPP	
14	邻苯二甲酸二己酯	dihexyl phthalate	DHXP	
15	邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	bis(2-ethylhexyl) phthalate	DEHP	
16	邻苯二甲酸二正辛酯	dinooctyl phthalate	DNOP	
17	邻苯二甲酸二壬酯	dinonyl phthalate	DNP	
18	邻苯二甲酸二异壬酯(支链异构体混合物)	diisononyl phthalate	DINP	标准溶液

混合标准工作溶液配制: 用乙腈将混合标准中间溶液逐级稀释成质量浓度为 200、100、40、20、10、4、2 和 1 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准工作液, 备用。

花生空白基质液: 经 GC-MS 检测方法检验确认不含本研究所述 18 种塑化剂的花生样品, 按照 1.3.1 的前处理步骤制备花生空白基质溶液, 备用。

溶剂空白液: 纯乙腈。

1.4 液相色谱串联质谱条件

1.4.1 液相条件

色谱柱: Shim-pack XR-ODS III (2.0 mm $\times$ 150 mm, 2.2 μm); 延迟柱: Intertsil μ ODS-4 (3.0 mm $\times$ 50 mm, 2.0 μm); 流动相 A: 5 mmol/L 乙酸铵水溶液; 流动相 B: 甲醇; 流速: 0.20 mL/min; 柱温设定: 40 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 1 μL ; 洗脱程序见表 2。

1.4.2 质谱条件

电喷雾离子源(electron spray ionization, ESI), 正模式 (ESI $^{+}$)扫描, 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)

扫描方式: 雾化气流量 3 L/min; 加热气流量 10 L/min; 干燥气流量 5 L/min; 接口温度 300 $^{\circ}\text{C}$; DL 管温度 250 $^{\circ}\text{C}$; 加热块温度 400 $^{\circ}\text{C}$; 碰撞诱导电离气体压力 270 kPa; 驻留时间: 15 ms; 其他质谱采集参数见表 3。

表 2 流动相梯度洗脱条件
Table 2 Gradient elution conditions of mobile phase

时间/min	流速/(mL/min)	流动相 A/%	流动相 B/%
0	0.2	60	40
1.0	0.2	60	40
2.0	0.2	20	80
4.5	0.2	20	80
6.0	0.2	5	95
9.0	0.2	5	95
10.0	0.2	2	98
13.0	0.2	2	98
13.1	0.2	60	40
22.0	0.2	60	40

表 3 18 种塑化剂的 MRM 质谱参数
Table 3 MRM parameters of 18 kinds of plasticizers

塑化剂	保留时间/min	前体离子(m/z)	产物离子(m/z)	Q1 电压/V	碰撞能量/eV	Q3 电压/V
DMP	5.459	194.9	163.0*	-20.0	-15.0	-20.0
			77.1	-14.0	-33.0	-14.0
DEMP	5.467	283.0	207.1*	-20.0	-7.0	-14.0
			149.1	-19.0	-27.0	-15.0
DEEP	6.097	311.1	73.1*	-22.0	-13.0	-14.0
			221.1	-22.0	-8.0	-15.0
DEP	6.188	223.0	149.0*	-20.0	-19.0	-20.0
			177.1	-16.0	-9.0	-12.0
DAP	6.630	247.0	189.1*	-17.0	-8.0	-13.0
			149.0	-17.0	-20.0	-30.0
DIPP	8.138	319.0	225.1*	-22.0	-15.0	-15.0
			77.1	-22.0	-36.0	-15.0
BBP	9.051	313.0	91.1*	-22.0	-26.0	-18.0
			149.0	-22.0	-14.0	-29.0
DIBP	9.025	279.0	148.9*	-20.0	-20.0	-20.0
			205.1	-19.0	-8.0	-14.0
DBEP	9.122	367.1	101.1*	-25.0	-14.0	-19.0
			249.1	-25.0	-8.0	-17.0
DBP	9.212	279.0	148.9*	-20.0	-20.0	-20.0
			205.1	-19.0	-8.0	-14.0
DPP	10.228	307.1	149.0*	-22.0	-16.0	-29.0
			219.1	-13.0	-8.0	-15.0
DCHP	10.375	331.0	149.0*	-24.0	-23.0	-30.0
			167.1	-23.0	-16.0	-11.0
BMPP	10.732	335.1	149.0*	-13.0	-20.0	-27.0
			167.0	-25.0	-13.0	-11.0
DHXP	10.768	335.1	149.1*	-13.0	-18.0	-10.0
			233.1	-13.0	-10.0	-17.0
DEHP	14.138	390.9	149.0*	-30.0	-20.0	-26.0
			167.1	-15.0	-15.0	-11.0
DNOP	14.930	390.9	149.0*	-16.0	-19.0	-25.0
			261.2	-15.0	-9.0	-12.0
DNP	9.647	419.0	149.1*	-30.0	-19.0	-30.0
			275.2	-16.0	-10.0	-19.0
DINP	15.342	419.0	149.0*	-17.0	-20.0	-28.0
			71.15	-17.0	-21.0	-13.0

注: *表示定量离子。

1.5 数据处理

通过 LabSolutionsVer.5.91 色谱工作站系统进行数据采集及定性、定量分析,再利用 Excel 2010 软件进行数据分析和 Sigmaplot 14.0 软件进行图形绘制。

2 结果与分析

2.1 样品提取液的优化

现有的几种塑化剂检测方法提取塑化剂主要采用 50%的 CH₃OH 水溶液、纯甲醇和纯乙腈。本研究详细考察了这 3 种提取液的提取效果,方法如下:共设 3 个组别(50% CH₃OH、CH₃OH、CH₃CN),每个组别设 6 个平行,分别称取 2.00 g 粉碎后的花生样品加入 40 μg/L 18 种塑化剂混合标准溶液,再分别单独加入 10 mL 上述 3 种提取液,超声提取 30 min 后于 4℃条件下 4000 r/min 冷冻离心 10 min,然后取上清液于-18℃条件下冷冻静置 2 h;将上清液用纯净水进行 1:1 稀释,经孔径 0.22 μm 滤膜过滤后转移至 1.5 mL 进样小瓶,等待上机检测。实验结果如表 4 所示:50%的 CH₃OH 溶液提取效果最差,纯乙腈或者纯甲醇提取效果相对较好;值得注意的是,这两种溶剂在提取 DBP、DIBP、DINP、DNOP 这 4 种塑化剂成分时的回收率相较提取其他成分略低;这两种溶剂相比较,纯乙腈的提取效果优于纯甲醇,因此,选择纯乙腈作为最佳提取溶剂。

2.2 仪器条件的优化

2.2.1 流动相的优化

在固定梯度洗脱程序(如表 2 所示)的前提下,本研究通过对不同成分流动相的分离效果考察与优化,结果发现:1)流动相体系(A: 水溶液+B: 乙腈)无法将 DBP 和 DIBP 有效分离,即使在两相中加入 0.1% HCOOH 或者 5 mmol/L

CH₃COONH₄ 峰形调节剂^[31]也无明显改善。因此,有机流动相不能选择乙腈。2)流动相体系(A: 水溶液+B: 甲醇)也无法实现对 DBP 和 DIBP 的有效分离,二者呈现一个色谱峰;当在 A 相中加入 0.1% HCOOH 时,能够稍微改善 DBP 和 DIBP 之间的分离效果,但也仅仅只能达到 0.33 的分离度,不过能够增强少部分塑化剂的响应强度;当在 A 相中加入 5 mmol/L CH₃COONH₄ 峰形调节剂时,能够显著改善 DBP 和 DIBP 之间的分离效果,最高可以实现 0.85 的分离度,同时二者的峰形也有明显改善,最佳的分离效果如图 1 所示[18 种塑化剂(40 μg/L)的 MRM 分离效果图]。由图 1 中可以看出: DINP 属于五指峰;DBP 和 DIBP 之间的分离度虽然没有达到 1.0,但完全满足定量检测的需求。因此,最终选择流动相 A: 5 mmol/L 乙酸铵水溶液和流动相 B: 甲醇作为最佳流动相体系。

2.2.2 液相系统中塑化剂背景的弱化与控制

在本研究中,无论怎样优化提取液、流动相、梯度洗脱程序,都无法改善 DIBP 和 DBP 回收率为负的情况,主要原因在于液相分离系统中 DIBP 和 DBP 的本底信号强度太强。如何消除或降低系统背景中的 DIBP 和 DBP 响应值成为解决问题的关键。众所周知,分析柱之所以能够实现对不同塑化剂成分的有效分离,原因在于反相分析柱填料 C₁₈ 能够通过分子间作用力与不同塑化剂成分相互作用,形成强弱不同的范德华力^[32]。在流动相的洗脱作用下,18 种塑化剂成分依次从分析柱上解离并随流动相流出,从而形成保留时间不同的色谱峰,随后进入质谱得以检测。如果能够利用该原理将系统背景中的塑化剂成分适当截留一段时间,就能够消除或降低系统背景中的塑化剂成分响应,从而消除对样品中塑化剂成分的干扰,实现对样品的有效检测。基于该假设,在液相色谱 AB 流动相混合器与自动进样器之间增加了一个成分与分析柱一样的分析短柱(延迟柱)。

表 4 不同提取液回收率的对比(%)
Table 4 Comparison of recoveries of different extracts (%)

塑化剂	50% CH ₃ OH	CH ₃ OH	CH ₃ CN	塑化剂	50% CH ₃ OH	CH ₃ OH	CH ₃ CN
DMP	94.97	92.05	96.13	DBP	—	—	—
DEMP	85.34	90.43	90.85	DPP	6.96	85.71	84.11
DEEP	88.91	89.63	89.93	DCHP	7.88	84.06	81.63
DEP	43.87	78.49	88.41	BMPP	4.98	84.83	80.17
DAP	47.56	85.62	92.60	DHXP	4.65	76.84	88.01
DIPP	16.55	84.93	86.33	DEHP	—	—	78.13
BBP	19.26	87.05	88.49	DNOP	—	—	41.73
DIBP	—	—	—	DNP	/	51.90	84.88
DBEP	35.48	89.85	88.11	DINP	/	/	/

注: /表示未检出相应的峰;—表示回收率为负值。

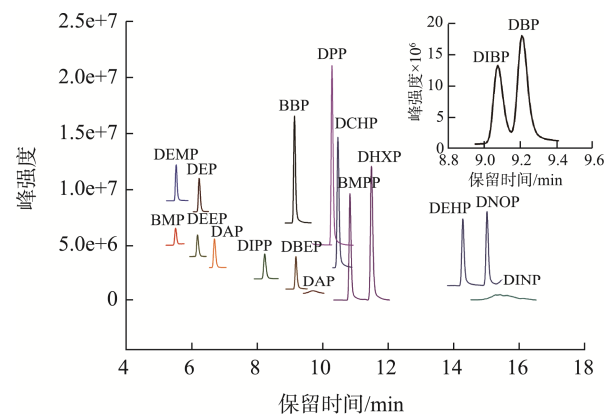


图 1 18 种塑化剂的 MRM 色谱图
Fig.1 MRM chromatograms of 18 kinds of plasticizers

实验结果显示, 本研究的延迟柱创新设计可以有效消除系统背景中塑化剂对样品中塑化剂响应的干扰, 它不但能够显著降低系统背景中的 DIBP 和 DBP 本底信号强度, 也有效降低了系统背景中的其他塑化剂成分信号, 提高了方法的检测灵敏度。该塑化剂检测方法的创新设计未见相关文献报道。值得注意的是, 在加装延迟柱的情况下, 样品中 18 种塑化剂成分的峰型和出峰顺序不变, 保留时间有所延长。

2.3 基质效应的影响

基质效应(matrix effect, ME)是影响 UPLC-MS/MS 定量分析准确性的重要因素^[33-35]。本研究依据文献报道中的公式 $ME/\% = (\text{花生空白基质线性方程的斜率} / \text{溶剂空白线性方程的斜率} - 1) \times 100\%$ 计算 ME 值^[35], 结果如图 2 所示。正值表示存在基质增强效应, 负值则表示存在基质抑制效

应。因此, 为了确保检测结果的准确性, 本研究均采用花生空白基质配制标准溶液校正基质效应带来的影响。

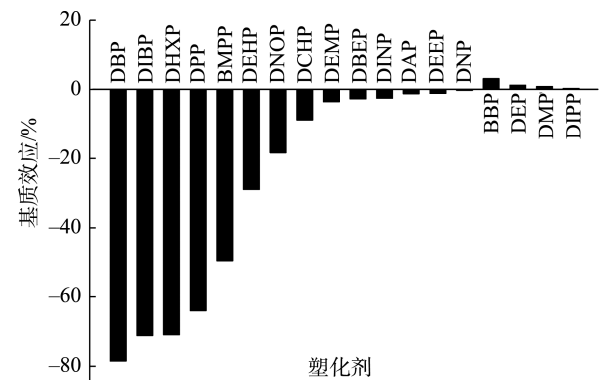


图 2 花生基质对 18 种塑化剂 ME 值的影响
Fig.2 Effects of peanut substrate on ME values of 18 kinds of plasticizers

2.4 线性范围、检出限及定量限

用花生空白基质配制 18 种塑化剂的混合标准工作液 200、100、40、20、10、4、2 和 1 $\mu\text{g/L}$, 然后再以花生空白基质对 1 $\mu\text{g/L}$ 进行逐级稀释, 以 3 倍信噪比($S/N=3$)和 10 倍信噪比($S/N=10$)确定该方法对每种塑化剂成分的检出限(limit of detections, LOD)和 LOQ, 结果见表 5。由表 5 可知: 该方法检测花生中 18 种塑化剂呈现良好的线性关系, 相关系数(r^2)大于 0.999; LODs 为 0.0004~1.0000 $\mu\text{g/kg}$, LOQs 为 0.0012~3.0000 $\mu\text{g/kg}$ 。综上所述, 在优化条件下, 本研究所建立的 UPLC-MS/MS 能够满足花生中 18 种塑化剂的检测要求。

表 5 18 种塑化剂的线性范围、线性方程、检出限及定量限
Table 5 Linear ranges, linear equations, LODs and LOQs of 18 kinds of plasticizers

塑化剂	线性范围/($\mu\text{g/L}$)	线性方程	相关系数(r^2)	LODs/($\mu\text{g/kg}$)	LOQs/($\mu\text{g/kg}$)
DMF	1.000~200.000	$Y=167702X+433544$	0.9998	0.0040	0.0120
DEMP	1.000~200.000	$Y=278315X+46355$	0.9996	0.0004	0.0012
DEEP	1.000~200.000	$Y=204264X+1662.4$	0.9996	0.0040	0.0120
DEP	1.000~200.000	$Y=310001X-77384$	0.9993	0.0400	0.1200
DAP	1.000~200.000	$Y=296276X-133955$	0.9994	0.4000	1.2000
DIPP	1.000~200.000	$Y=271058X+148689$	0.9997	0.0040	0.0120
BBP	1.000~200.000	$Y=889992X+737703$	0.9990	0.0040	0.0120
DIBP	1.000~200.000	$Y=286459X-43213$	0.9998	0.4000	1.2000
DBEP	1.000~200.000	$Y=286635X+105104$	0.9998	0.0040	0.0012
DBP	1.000~200.000	$Y=426664X+47133$	0.9998	0.4000	1.2000
DPP	1.000~200.000	$Y=715909X+116236$	0.9996	0.0200	0.0600
DCHP	1.000~200.000	$Y=911568X+413677$	0.9992	0.0004	0.0012
BMPP	1.000~200.000	$Y=500651X-321283$	0.9992	0.1000	0.3000
DHXP	1.000~200.000	$Y=577067X+74255$	0.9996	0.0400	0.1200
DEHP	1.000~200.000	$Y=524729X-215714$	0.9997	0.4000	1.2000
DNOP	1.000~200.000	$Y=779349X+999141$	0.9994	1.0000	3.0000
DNP	2.000~200.000	$Y=105047X+1470.6$	0.9997	1.0000	3.0000
DINP	1.000~200.000	$Y=89318X-13879$	0.9991	0.0400	0.1200

2.5 回收率与精密度

往花生空白样品中添加高、中、低 3 个不同质量浓度的塑化剂标准溶液,按照 1.3.1 的前处理步骤进行塑化剂样品提取,考察本方法的回收率,每个浓度设置 6 个平行,取其平均值计算回收率,结果见表 6。由表 6 可知,每种塑化剂成分的平均添加回收率处在 75.26%~114.54%之间,相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)范围为 1.08%~8.00%。由此可知,本研究所建立的 UPLC-MS/MS

检测方法用于花生中 18 种塑化剂的准确测定具有较好的回收率与精密度。

2.6 花生样品分析

根据国家农产品质量安全风险评估任务要求,抽取河南、广东和湖北花生主产区共计 187 份花生样品进行塑化剂风险评估。结果显示,全部花生样品中 DBP、DEHP、DINP 检出率分别为 95.72%、100.00%、70.05%,相对应的平均含量分别为 71.04、140.68、32.12 $\mu\text{g/kg}$,具体结果见表 7。

表 6 建立检测方法的回收率与精密度考察(n=6)
Table 6 Recoveries and precisions of the investigated method (n=6)

塑化剂	加标质量浓度/($\mu\text{g/kg}$)	平均回收率/%	RSDs/%	塑化剂	加标质量浓度/($\mu\text{g/kg}$)	平均回收率/%	RSDs/%
DMF	100	82.60	2.15	DEMP	100	87.06	1.79
	200	114.54	1.42		200	87.81	5.32
	500	90.61	5.26		500	87.24	4.09
DEEP	100	86.06	2.92	DEP	100	84.39	4.08
	200	87.88	1.91		200	85.50	2.65
	500	86.86	1.08		500	86.86	1.85
DAP	100	91.95	2.06	DIPP	100	87.94	5.86
	200	90.44	3.66		200	87.45	2.99
	500	89.12	2.16		500	87.48	4.16
BBP	100	82.49	3.91	DIBP	100	81.67	1.89
	200	84.10	2.02		200	97.89	1.72
	500	85.55	1.51		500	84.41	1.42
DBEP	100	82.49	3.62	DBP	100	109.13	4.05
	200	87.53	2.22		200	102.62	6.61
	500	86.02	1.62		500	85.72	1.54
DPP	100	89.16	3.28	DCHP	100	81.95	4.32
	200	86.40	3.63		200	81.37	4.68
	500	90.04	6.16		500	86.60	8.00
BMPP	100	82.98	3.14	DHXP	100	75.26	2.87
	200	86.52	4.30		200	80.70	4.23
	500	92.05	5.64		500	81.19	2.34
DEHP	100	74.95	1.48	DNOP	100	75.61	5.69
	200	106.10	3.60		200	75.45	4.63
	500	87.11	5.19		500	79.94	5.61
DNP	100	83.78	3.75	DINP	100	102.66	3.47
	200	84.88	2.67		200	80.64	6.67
	500	95.04	6.16		500	94.54	2.73

表 7 187 份花生样品塑化剂污染情况
Table 7 Contamination of plasticizer in 187 peanut samples

样品	塑化剂	检出率/%	含量范围/($\mu\text{g/kg}$)	中位数/($\mu\text{g/kg}$)	平均值/($\mu\text{g/kg}$)
花生	DBP	95.72	0~553	45.48	71.04
	DEHP	100.00	0~964	123.94	140.68
	DINP	70.05	0~128	25.99	32.12

注: 其他 15 种塑化剂成分未检出。

3 结 论

本研究建立了一种检测花生中18种塑化剂的UPLC-MS/MS检测方法。与GB/T 21911—2008中的GC-MS检测方法衍生化前处理操作相比较,本研究建立的样品前处理方法更为便捷,样品通过简单地超声提取、低温低速离心、冷冻静置和滤膜过滤,即可有效去除样品中的脂肪干扰。与之前报道的高效液相色谱法相比较,本研究通过在液相色谱流动相混合器与自动进样器之间引入延迟柱的创新性设计,显著降低了分析系统中的塑化剂背景,获得了更高的分析灵敏度、精密度和准确度。在最佳分析条件下,各塑化剂靶标的线性检测范围良好,相关系数(r^2)均大于0.999;检出限和定量限分别在0.0004~1.0000 $\mu\text{g/kg}$ 和0.0012~3.0000 $\mu\text{g/kg}$ 范围内,与目前实验室常用的塑化剂检测技术相当^[36-37],比部分已经报道的检测方法还要更灵敏^[38-39];3个不同浓度下的加标回收率位于75.26%~114.54%之间,RSDs在1.08%~8.00% ($n=6$)之间。通过对187份花生样品的实际分析,进一步验证了该方法的可靠性。该方法操作简单、稳定可靠、检测通量高、检测成本低。本研究成果有望用于大批量花生样品中塑化剂质量安全风险评估筛查及验证分析,为政府部门粮油质量安全监管提供更多的技术选择。

参考文献

- 傅绪成,徐丽玲,苏朝晖,等.气相色谱-质谱法测定桂花浸膏中16种邻苯二甲酸酯类塑化剂[J].香料香精化妆品,2022,(6):53-57.
- FU XC, XU LL, SHU ZH, *et al.* Determination of 16 phthalate esters plasticizers in osmanthus fragrans concrete by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Flavour Fragrance Cosmet, 2022, (6): 53-57.
- 李志远,王琰,李俊杰.基于新型被动采样校正技术的塑化剂大气垂直浓度梯度研究[J].环境化学,2023,42(5):1439-1448.
- LI ZY, WANG Y, LI JJ. Atmospheric vertical distribution of plasticizers based on a new passive air sampling calibration method [J]. Environ Chem, 2023, 42(5): 1439-1448.
- 郑宏儒,徐雪霏,李春阳,等.吉林省婴幼儿食品中邻苯二甲酸酯类塑化剂含量检测[J].食品安全导刊,2020,264(3):99-100.
- ZHENG HR, XU XF, LI CY, *et al.* Determination of phthalate Plasticizers in infant Food in Jilin Province [J]. Chin Food Saf Magaz, 2020, 264(3): 99-100.
- 王奇,王传明,李俊霞,等.食用植物油中邻苯二甲酸酯类塑化剂风险和控制的研究进展[J].粮食与油脂,2023,36(11):17-20,24.
- WANG Q, WANG CM, LI JX, *et al.* Research progress on risk and control of phthalic acid esters (PAEs) plasticizer in edible vegetable oil [J]. Cere Oils, 2023, 36(11): 17-20, 24.
- 苗萌,李佳,张静怡,等.饮品中邻苯二甲酸酯类物质的检测技术进展[J].分析实验室,2021,40(11):1358-1364.
- MIAO M, LI J, ZHANG JY, *et al.* Advances in the detection of phthalate acid esters in beverages [J]. Chin J Anal Lab, 2021, 40(11): 1358-1364.
- 赵超群,刘柱,王远远,等.食用油中两种塑化剂DBP和DEHP的气相色谱-质谱联用法测定及其风险暴露评估[J].中国油脂,2021,46(11):104-109,120.
- ZHAO CQ, LIU Z, WANG YY, *et al.* Determination of two plasticizers DBP and DEHP in edible oil by GC-MS and its risk exposure assessment [J]. China Oils Fats, 2021, 46(11): 104-109, 120.
- 陈洪涛,王力清,黄翠莉,等.邻苯二甲酸酯毒理学研究进展[J].食品与机械,2012,28(5):251-254.
- CHEN HT, WANG LQ, HUANG CL, *et al.* Research advances on toxicology of phthalate esters [J]. Food Mach, 2012, 28(5): 251-254.
- 谢跃勤,杨小萍,吴巨.高效液相色谱法测定饮料中塑化剂邻苯二甲酸二辛酯的研究[J].合肥师范学院学报,2014,32(6):53-55.
- XIE YQ, YANG XP, WU J. Determination of dioctyl phthalate in soft drinking by high performance liquid chromatography [J]. J Hefei Normal Univ, 2014, 32(6): 53-55.
- 陈海燕,李聪,霍丽斯,等.高效液相色谱法测定生活用纸杯中16种邻苯二甲酸酯含量的研究[J].广东化工,2021,48(8):266-268.
- CHEN HY, LI C, HUO LS, *et al.* Determination of 16 kinds of phthalates in paper cups by high performance liquid chromatography [J]. Guangzhou Chem Ind, 2021, 48(8): 266-268.
- 王一楠,吴成招,胡栋,等.基于拉曼光谱分析技术的塑化剂检测研究进展[J].光谱学与光谱分析,2023,43(4):1298-1305.
- WANG YT, WU CZ, HU D, *et al.* Research progress of plasticizer detection based on Raman spectroscopy [J]. Spectrosc Spectral Anal, 2023, 43(4): 1298-1305.
- GILL S, BREHM E, LEON K, *et al.* Prenatal exposure to an environmentally relevant phthalate mixture alters ovarian steroidogenesis and folliculogenesis in the F1 generation of adult female mice [J]. Reprod Toxicol, 2021, 106: 25-31.
- 聂燕敏,齐丽娟,高珊,等.邻苯二甲酸酯对健康影响的危害评估[J].毒理学杂志,2021,35(5):361-366.
- NIE YM, QI LJ, GAO S, *et al.* Hazard assessment of the effects of Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on health [J]. J Health Toxicol, 2021, 35(5): 361-366.
- 姚键梅,龙家寰,张娟,等.QuEChERS/GC-MS法快速检测干茶中11种塑化剂[J].贵茶,2023,(3):24-30.
- YAO JM, LONG JH, ZHANG J, *et al.* Rapid detection of 11 plasticizers in dry tea by QuEChERS/GC-MS [J]. J Guizhou Tea, 2023, (3): 24-30.
- 胡红美,李铁军,朱颖杰,等.邻苯二甲酸酯类化合物的污染现状及检测方法研究进展[J].食品安全质量检测学报,2021,12(21):8573-8581.
- HU HM, LI TJ, ZHU YJ, *et al.* Research progress on pollution status and detection methods of phthalates [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(21): 8573-8581.
- 黄伟,赵雪梅.食用油中邻苯二甲酸酯类增塑剂污染的途径和风险控制研究[J].食品安全质量检测学报,2016,7(8):3108-3113.
- HUANG W, ZHAO XM. Contamination pathways and risk management of phthalate plasticizers in edible oils [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(8): 3108-3113.
- 张修景.气相色谱法测定白酒中邻苯二甲酸二丁酯含量[J].理化检验-化学分册,2013,49(10):1182-1184.
- ZHANG XJ. GC determination of dibutyl phthalate in white spirit [J]. Phys Test Chem Anal Part B, 2013, 49(10): 1182-1184.
- 李艳松,陈铁英,黄宝临,等.食品中16种邻苯二甲酸酯类化合物的气相色谱测定方法[J].食品与机械,2012,28(1):105-107.
- LI YS, CHEN TY, HUANG BL, *et al.* Determination of 16 kinds of food phthalate esters by gas chromatography [J]. Food Mach, 2012, 28(1): 105-107.
- SUN XT, WEI D, LIU M, *et al.* Validation of a QuEChERS-based gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method for analysis of

- phthalate esters in grain sorghum [J]. *J Food Sci*, 2018, 83(4): 892–901.
- [19] 邵秋荣, 刘斌, 丁晓, 等. 气相色谱-质谱法测定酒中 23 种邻苯二甲酸酯残留量[J]. *理化检验-化学分册*, 2014, 50(10): 1263–1267.
- SHAO QR, LIU B, DING X, *et al.* GC-MS determination of residual amounts of 23 phthalates in wine [J]. *Phys Test Chem Anal Part B*, 2014, 50(10): 1263–1267.
- [20] 刘肖肖, 高晓哲, 陈畅, 等. 高效液相色谱法测定 PET 瓶中对苯二甲酸迁移量的不确定度评定[J]. *标准科学*, 2019, (4): 144–148.
- LIU XX, GAO XZ, CHEN C, *et al.* Uncertainty evaluation of determination of P-phthalic acid in PET bottles by high performance liquid chromatography [J]. *Std Sci*, 2019, (4): 144–148.
- [21] 肖晓峰, 王建玲, 刘艇飞, 等. 高效液相色谱-紫外法快速测定塑料类食品接触材料及制品中 7 种对苯二甲酸酯或苯甲酸酯的特定迁移量[J]. *色谱*, 2019, 37(12): 1383–1391.
- XIAO XF, WANG JL, LIU TF, *et al.* Rapid analysis of the specific migration of seven terephthalates and benzoates from plastic food contact material and products by high performance liquid chromatography-ultraviolet detection [J]. *Chin J Chromatogr*, 2019, 37(12): 1383–1391.
- [22] 夏春凤, 任举, 朱小梅, 等. 15 种邻苯二甲酸酯在液相色谱/串联质谱上的分离和系统干扰研究[J]. *香精香料化妆品*, 2013, 10(5): 36–42.
- XIA CL, REN J, ZHU XM, *et al.* Study on separation of fifteen phthalates and system interference by using liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Flavour Fragrance Cosmet*, 2013, 10(5): 36–42.
- [23] BOLAT G, YAMAN YT, ABACI S. Molecularly imprinted electrochemical impedance sensor for sensitive dibutyl phthalate (DBP) determination [J]. *Sensor Actuat B: Chem*, 2019, 299: 127000.
- [24] DU BB, ZHANG Y, CHEN H, *et al.* Development and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of 17 traditional and emerging aryl organophosphate esters in indoor dust [J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1603: 199–207.
- [25] GURRA RM, MARIN ML, SÁNCHEZ A, *et al.* Effect of pressure and time on supercritical fluid extraction of citrate and benzoate plasticisers from poly (vinyl chloride) [J]. *J Supercrit Fluid*, 2002, 22: 111–118.
- [26] 吕晓凤, 孟武, 吕志远, 等. 白酒酿造过程中塑化剂风险控制措施研究[J]. *酿酒科技*, 2024, (1): 72–77.
- LV XF, MENG W, LV ZY, *et al.* Risk control measures of plasticizer in the production production process of Baijiu [J]. *Liquor-Making Sci Technol*, 2024, (1): 72–77.
- [27] TOKUMURA M, MIYAKE YC, WANG Q, *et al.* Methods for the analysis of organophosphorus flame retardants-comparison of GC-EI-MS, GC-NCI-MS, LC-ESI-MS/MS, and LC-APCI-MS/MS [J]. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*, 2018, 53(5): 475–481.
- [28] HAO CY, PAUL AH, DAVID M, *et al.* Liquid chromatography-tandem mass spectrometry direct injection analysis of organophosphorus flame retardants in Ontario surface water and wastewater effluent [J]. *Chemosphere*, 2018, 191: 288–295.
- [29] 杨旭, 郭静. 食品中塑化剂的危害及检测方法研究[J]. *现代食品*, 2023, 29(16): 176–178.
- YANG X, GUO J. Study on the harm and detection method of plasticizer in food [J]. *Mod Food*, 2023, 29(16): 176–178.
- [30] 王珊珊, 赵汝松, 苑金鹏, 等. 一种高效液相色谱-串联质谱法检测白酒中 17 种塑化剂的方法, 中国, CN103913525A[P]. 2014-07-09.
- WANG SS, ZHAO RS, YUAN JP, *et al.* A method for the determination of 17 plasticizers in liquor by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, China, CN103913525A [P]. 2014-07-09.
- [31] YAMAGUCHI M, TSUJI M. Evaluation of control of additive concentration in gradient analysis of supercritical fluid chromatography-coupled to tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2023, 1705: 464193.
- [32] OTIS J, HOFMANN J, SCHMIDT T, *et al.* Hydrophilic interaction liquid chromatography with methanol-water eluent on a zeolite [J]. *Anal Chim Acta*, 2023, 1267: 341323.
- [33] 王权帅, 孙卫明. 同位素内标-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定板栗中 16 种真菌毒素[J]. *食品科技*, 2021, 46(11): 307–313.
- WANG QS, SUN WM. Simultaneous determination of 16 kinds of mycotoxins in chestnut using isotope internal standard-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci Technol*, 2021, 46(11): 307–313.
- [34] LEE HJ, RYU D. Worldwide occurrence of mycotoxins in cereals and cereal-derived food products: Public health perspectives of their co-occurrence [J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 65(33): 7034–7051.
- [35] CHEN CJ, LEE DY, YU J, *et al.* Recent advances in LC-MS-based metabolomics for clinical biomarker discovery [J]. *Mass Spectrom Rev*, 2023, 42(6): 2349–2378.
- [36] GMOSHINSKI IV, SHIPELIN VA, KOLOBANOV AI, *et al.* Methods for the identification and quantification of microplastics in foods [J]. *Vopr Pitan*, 2023, 92(5): 87–102.
- [37] BAI CL, LIU LY, HU YB, *et al.* Microplastics: A review of analytical methods, occurrence and characteristics in food, and potential toxicities to biota [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 806(1): 150263.
- [38] POURREZA N, ZADEH-DABBAGH R. Vortex-assisted dispersive solid-phase extraction using schiff-base ligand anchored nanomagnetic iron oxide for preconcentration of phthalate esters and determination by gas chromatography and flame ionization detector [J]. *Anal Sci*, 2021, 37(9): 1213–1220.
- [39] ADENUGA AA, AYINUOLA O, ADEJUYIGBE EA, *et al.* Biomonitoring of phthalate esters in breast-milk and urine samples as biomarkers for neonates' exposure, using modified quechers method with agricultural biochar as dispersive solid-phase extraction absorbent [J]. *Microchem J*, 2020, 152: 104277.

(责任编辑: 张晓寒 韩晓红)

作者简介



郑 嘉, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为农产品质量安全与风险评估。
E-mail: 961150866@qq.com



王红旗, 博士, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量安全与风险评估。
E-mail: huda2000@126.com