

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240319002

婴儿配方奶粉中 3 种新型溴代阻燃剂参考物质候选物的研制

尹 杰¹, 王耀晗², 张 晶¹, 赵云峰³, 邵 兵^{1*}

(1. 食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室, 北京市疾病预防控制中心, 北京 100013;
2. 首都医科大学公共卫生学院, 北京 100069; 3. 国家食品安全风险评估中心, 北京 100021)

摘 要: **目的** 研制婴儿配方奶粉中五溴甲苯、六溴苯和 1,2-双(2,4,6-三溴苯氧基)乙烷 3 种新型溴代阻燃剂的参考物质候选物。**方法** 以市售婴儿配方奶粉为研究基质, 经加水溶解、标准添加、均质、干燥、粉碎、筛分和分装等工序制备后, 用同位素稀释-大气压气相色谱-串联质谱法进行目标物的均匀性检验和稳定性考察。分别采用 F 检验和一元线性模拟方程评价参考物质候选物的均匀性和稳定性数据。**结果** 均匀性检验的分析结果显示 3 种新型溴代阻燃剂的 F 均小于临界值 $F(1.964)$ 。稳定性考察的分析结果显示, 在 40℃ 放置 10 d 或 -20℃ 避光放置 6 个月的条件下, 候选物的特性量值未观测到明显变化。**结论** 本研究研制的婴儿配方奶粉中 3 种新型溴代阻燃剂参考物质候选物的均匀性、稳定性良好, 符合参考物质的预期要求, 能够为进一步形成参考物质提供物质基础。

关键词: 婴儿配方奶粉; 新型溴代阻燃剂; 参考物质候选物; 食品污染物

Development of reference material candidates for 3 kinds of novel brominated flame retardants in infant formula milk powders

YIN Jie¹, WANG Yao-Han², ZHANG Jing¹, ZHAO Yun-Feng³, SHAO Bing^{1*}

(1. Beijing Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China; 2. School of Public Health, Capital Medical University, Beijing 100069, China; 3. China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China)

ABSTRACT: Objective To prepare a reference material candidate for 3 kinds of novel brominated flame retardants, including pentabromotoluene, hexabromobenzene and 1,2-bis(2,4,6-tribromophenoxy)ethane, in infant formula milk powders. **Methods** Commercial infant formula milk powders were used as the research matrix, and prepared through processes such as water dissolution, standard addition, homogenization, drying, crushing, screening and packaging. After that, the homogeneity and stability of the target compounds were inspected by isotope dilution-atmospheric pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry. The F -test and univariate linear regression model were used to evaluate the homogeneity and stability data, respectively. **Results** The results of the homogeneity analysis showed the F of 3 kinds of new brominated flame retardants were less than the critical value F

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFC1601300)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2017YFC1601300)

*通信作者: 邵兵, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全。E-mail: shaobingch@sina.com

*Corresponding author: SHAO Bing, Ph.D, Professor, Beijing Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China. E-mail: shaobingch@sina.com

(1.964). The results of the stability monitoring indicates that no significant alteration was observed for the concentrations of target compounds in reference material candidates stored at 40°C for 10 days, or at -20°C away from light for 6 months. **Conclusion** The reference material candidates for 3 kinds of novel brominated flame retardants in infant formula milk powders developed in this study have good homogeneity and stability, which meet the expected requirements of reference materials, and can be used as substance bases for the further development of corresponding reference materials.

KEY WORDS: infant formula milk powders; novel brominated flame retardants; reference material candidates; food contaminants

0 引言

新型溴代阻燃剂(novel brominated flame retardants, NBFRs)是近几十年来研发的一类含溴化工产品,主要作为已经被禁用或者被限制生产和使用的传统溴代阻燃剂的替代品而出现^[1-2]。该类物质已经在空气、水、土壤、灰尘等各类环境介质^[3-6]以及食品^[7-9]和生物样品^[10-12]中被广泛检出。虽然目前还未有研究明确证实 NBFRs 与人体疾病之间的关联,但已有毒理学实验表明, NBFRs 具有内分泌干扰效应^[13-15],能够导致实验动物肝脏^[16-17]和甲状腺^[15,18]功能异常,影响神经系统正常发育^[19]。环境流行病学研究结果也提示, NBFRs 暴露可能导致人群 2 型糖尿病^[20]和甲状腺癌^[21]的患病风险升高,其对人体的潜在健康危害不容忽视。

人体可通过空气、水、食物、皮肤接触等多种途径暴露于 NBFRs^[12],其中食物是最主要的暴露来源之一。一项对北京市居民总膳食样品中 6 种 NBFRs 污染水平的监测研究显示^[7], NBFRs 在谷类、豆类、薯类、肉类、蛋类、水产品、乳类以及蔬菜和水果等各类食品中广泛存在,其中五溴甲苯(pentabromotoluene, PBT)、六溴苯(hexabromobenzene, HBB)和 1,2-双(2,4,6-三溴苯氧基)乙烷[1,2-bis(2,4,6-tribromophenoxy)ethane, BTBPE] 3 种化合物的检出较为普遍,检出率分别达到 52.4%、34.4%和 42.6%。国内研究者对我国第六次总膳食样本的分析表明^[9], PBT、HBB 和 BTBPE 等化合物在肉、蛋、水产品 and 奶制品等动物源性食品中的检出率较高,分别为 100.0%、97.9%和 80.2%。一项针对中美两国婴幼儿食品中 NBFRs 污染水平的调查显示^[22], 婴儿配方奶粉、谷物和果泥等食品中均可检出 HBB 的污染。婴儿时期是人体生长的重要阶段,由于身体组织器官尚未发育成熟,对环境污染物的不良影响尤为敏感^[23]。婴儿配方奶粉是婴儿除母乳之外的最重要食品,监测奶粉中 NBFRs 的污染状况对进一步评估 NBFRs 对婴儿的健康风险具有重要意义。

准确可靠的分析方法是开展食品中 NBFRs 监测检测、风险评估以及控制对策制定的科学基础。目前,国内外报道的食品中 NBFRs 的分析方法较多,常见的样品提

取方法有超声辅助提取^[24]、索式提取^[8,25]、加速溶剂萃取^[26-27]等,净化方法有凝胶渗透色谱^[8]、层析柱^[25,27]、固相萃取柱^[24,28]等,而仪器检测方法则主要包括气相色谱-质谱法^[24-25,27]、大气压气相色谱-串联质谱法(atmospheric pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry, APGC-MS/MS)^[26]和液相色谱-串联质谱法^[28]等。为了确保分析结果的准确性和可靠性,往往需要使用食品基体参考物质进行方法验证和质量控制^[29]。食品基体参考物质作为分析测量行业中不可或缺的量具^[30],在食品化学污染物风险监测尤其是大规模、多实验室参与的监测项目中发挥着重要作用。虽然食品中 NBFRs 的污染状况已成为近年来全球环境和食品领域研究者关注的热点,但该类化合物的食品基体参考物质及其研制方法在国内外均未见公开报道。本研究以国家计量技术规范 JJF 1343—2022《标准物质的定值及均匀性、稳定性评估》为主要依据,研制婴儿配方奶粉中 PBT、HBB 和 BTBPE 的参考物质候选物,对样品制备、均匀性检验、稳定性监测等过程进行研究,为后续形成 NBFRs 基体参考物质提供物质基础和方法学参考,以期为我国食品中化学污染物参考物质体系的进一步完善做出贡献。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

市售罐装婴儿配方奶粉(北京线下超市)。

HBB 标准物质[编号 GBW(E)082214, 质量浓度 50 µg/mL, 中国计量科学研究院]; PBT 标准溶液、BTBPE 标准溶液(质量浓度 100 µg/mL, 美国 AccuStandard 公司); ¹³C₆-HBB 标准溶液、d₄-BTBPE 标准溶液(质量浓度 100 mg/L, 纯度≥97%, 美国 Cambridge Isotope laboratories 公司); 甲醇、正己烷、二氯甲烷、丙酮、甲苯(色谱纯, 美国 Dikma 公司); 浓硫酸(纯度 98%)、氧化铝、无水硫酸钠(分析纯)(国药集团化学试剂有限公司); 硅胶 60(粒径 0.063~0.100 mm, 德国默克公司); 硅藻土[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]。

1.2 仪器与设备

7890A 气相色谱仪, 配 DB-5MS 毛细管色谱柱(15 m×

0.25 mm, 0.10 μm)(美国 Agilent 公司)、Xevo TQ-XS 质谱仪(美国 Waters 公司); AL204 型分析天平(精度 0.0001 g, 瑞士 Mettler Toledo 公司); ASE200 加速溶剂萃取仪(美国 Dionex 公司); Laborota 4010 digital 旋转蒸发仪(德国 Heidolph 公司); VORTEX-5 涡旋混合器(美国 Scientific Industries 公司); Milli-Q 超纯水机(美国 Millipore 公司); N-EVAP 氮吹仪(美国 Organomation 公司); HZQ-C 型恒温摇床(哈尔滨市东联电子技术开发有限公司); L9/11 型马弗炉(德国 Nabertherm 公司); 90-1B 型磁力搅拌器(上海梅颖浦仪器仪表公司); YS-10 型高速粉碎机(北京燕山正德机械设备有限公司); GZLY-5 型真空冷冻干燥机(北京松源华兴科技发展有限公司); HD50 型混匀机(江苏省泰州市黎明制药机械公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 实验室检测方法

(1)样品前处理

酸化硅胶制备: 硅胶 60 先后用甲醇和二氯甲烷淋洗, 晾干后在 450℃下烘烤 2 h。将 44 g 浓硫酸逐滴加入到 56 g 冷却硅胶中, 用摇床充分振荡 12 h 至硅胶没有结块, 待净化使用。

样品提取: 准确称取 0.5 g 奶粉样品于 50 mL 烧杯, 加入 25 ng/mL 内标 100 μL , 静置干燥。加入干燥硅藻土约 1.0 g, 用玻璃棒搅拌均匀。将搅拌后的样品装入 22 mL 的加速溶剂萃取池中进行萃取, 萃取剂使用正己烷-二氯甲烷(1:1, $V:V$), 萃取条件为: 1500 psi, 100℃, 加热时间 5 min, 静态萃取 10 min, 循环两次。萃取液旋转蒸发至干, 用 5 mL 正己烷-二氯甲烷(1:1, $V:V$)复溶。

样品净化: 复溶液过手动填充的玻璃层析柱进行净化, 层析柱自下而上依次填充 10 g 无水硫酸钠、5 g 中性氧化铝、2 g 中性硅胶、4 g 酸化硅胶、2 g 中性硅胶和 10 g 无水硫酸钠, 上样前预先用 30 mL 正己烷-二氯甲烷(1:1, $V:V$)活化。上样后用 60 mL 正己烷-二氯甲烷(1:1, $V:V$)洗脱, 洗脱液经旋转蒸发浓缩至约 2 mL, 再转移到玻璃小瓶中用氮气缓慢吹干, 加 100 μL 正己烷复溶, 供 APGC-MS/MS 测定。

(2)仪器条件

气相色谱: 色谱柱为 DB-5MS 毛细管色谱柱(15 m $\times$ 0.25 mm, 0.10 μm); 进样口温度为 280℃; 载气为氦气, 流量为 1.2 mL/min; 恒流模式, 不分流进样, 进样体积为 1 μL 。程序升温初始柱温为 100℃, 保持 0.5 min, 再以 15℃/min 升温至 250℃, 最后以 5℃/min 升温至 300℃, 保持 5 min。

质谱条件: 大气压化学电离(atmospheric pressure chemical ionization, APCI)源正离子模式, 放电电流为 8.0 μA ; 接口温度 350℃, 离子源温度 150℃; 氮气做辅助气、锥孔气

和尾吹气, 流量分别为 300 L/h、150 L/h 和 300 mL/min。在多重反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM)下进行测定, 每个目标物监测两个离子通道。各目标化合物的定性和定量离子参数如表 1 所示。

表 1 3 种 NBFRs 及其同位素内标的质谱参数
Table 1 Mass spectrometry parameters of 3 kinds of NBFRs and their internal standards

化合物	母离子 (m/z)	定量离子		定性离子	
		离子 (m/z)	碰撞能 量/eV	离子 (m/z)	碰撞能 量/eV
HBB	551.7	479.8	30	392.0	50
PBT	487.7	406.8	25	247.2	50
BTBPE	687.8	278.1	35	359.0	30
$^{13}\text{C}_6$ -HBB	557.8	397.9	45	—	—
d_4 -BTBPE	691.1	282.3	35	—	—

注: PBT 使用 $^{13}\text{C}_6$ -HBB 作为内标; —代表该栏无数值。

(3)质量控制

硅胶、硅藻土、氧化铝及无水硫酸钠均预先在马弗炉中 450℃下灼烧 2 h, 冷却后置于干燥器内备用。所有玻璃器皿预先经正己烷和丙酮润洗, 后用超纯水冲洗, 烘干后在马弗炉中 450℃下灼烧 5 h。

样品分析中每 10 个样品加做 1 个过程空白样品和 1 个空白基质加标样品, 用以监测背景污染的水平和方法准确性。所有待测样品中均添加同位素标记的内标溶液, 用以校正前处理过程中目标物的损失和样品基质对仪器响应值的干扰。

1.3.2 候选物制备

(1)奶粉溶解

将市售婴儿配方奶粉样品按照少量多次的原则分批加入到约 40℃的温蒸馏水中, 添加过程中用磁力搅拌器以 460 r/min 的转速不断搅拌, 以使奶粉能够充分溶解。奶粉和温水的质量约比为 1.0:2.5。

(2)目标物添加

待奶粉完全溶解后, 继续使用磁力搅拌器进行搅拌, 同时将用丙酮配制好的目标物混合标准溶液分次逐滴加入到搅动中的奶液。添加完毕后再搅拌均匀浆 1 h。

(3)冷冻干燥

将匀浆好的奶液分装到清洗干净的冷冻干燥盘中, 预冻后放入冷冻干燥机, 在 0.2 mPa、-50℃条件下冷冻干燥 27 h。

(4)粉碎、过筛和混匀

将干燥好的奶粉干块破碎成约 1 cm^3 的小块, 使用小型高速粉碎机以 25000 r/min 的转速持续粉碎 1 h。粉碎后的奶粉使用 60 目的不锈钢筛网手动过筛, 收集过筛后的奶粉样品置于洁净的不锈钢混匀器中, 在干燥环境下以 60 r/min 混合 8 h。

(5)分装

将混匀后的样品按照 5 g/瓶的规格分装至棕色玻璃瓶中,充氮气后用带有聚四氟乙烯垫片的旋盖拧紧,装入铝袋中抽真空并封口,做好标签后储存于-20℃。共分装参考物质候选物 1000 份。

1.3.3 均匀性和稳定性实验

(1)均匀性实验

根据规范 JJF 1343—2022 的取样规定,从 1000 份候选物独立包装单元中随机抽取 25 份进行均匀性检测,随机编号为 1~25 号。每份样品按照 1.3.1 中方法重复测定 2 次,每次取样量为 0.5 g。采用 *F* 检验法对样品进行均匀性检验。

(2)稳定性实验

短期稳定性实验:随机抽取 18 份候选物放入 40℃的对流干燥箱内,分别在放入干燥箱的第 0、1、2、4、7、10 d 从干燥箱中取出 3 份样品,按照 1.3.1 中方法进行浓度测定,每份样品独立测定 2 次后取平均值。采用一元线性模拟方程法对样品的短期稳定性进行评价。

长期稳定性实验:本研究在-20℃避光保存的条件下,对制备的参考物质候选物进行了 6 个月的长期稳定性监测,分别于制备完成的第 0、1、3、6 个月随机抽取 3 份样品进行浓度测定,每份样品独立测定 2 次,以平均值作为检测结果。采用一元线性模拟方程法对样品的长期稳定性进行评价。

1.4 数据处理

采用 Waters MassLynx 4.1 软件处理样品检测数据,根据目标化合物的出峰时间以及两对监测离子的丰度比进行定性;利用标准溶液曲线对样品进行定量。采用 SPSS 22.0 统计软件对样品浓度数据进行分析 and 检验。

2 结果与分析

2.1 检测方法的选择和验证

精准检测方法的构建是参考物质均匀性、稳定性检验乃至后续定值工作的保证,是参考物质研制过程中需要重点关注的环节。目前,国内外尚无 PBT、HBB、BTBPE 相关的食品检测标准,也没有商品化的基体标准物质可用于方法验证。本研究所在实验室在前期工作中针对 PBT、HBB、BTBPE 在内的 6 种新型溴代阻燃剂,建立了肉、蛋、奶、蔬菜等多类食品的检测方法^[26],并成功应用于北京市居民总膳食样品污染水平的监测^[7]。该方法利用加速溶剂萃取技术进行样品提取,解决了索氏提取、超声波辅助萃取、微波辅助萃取等传统方法提取效率不高、有机溶剂消耗量大或提取时间长等缺点,是本研究中婴儿配方奶粉提取的较为理想的选择。同时,在仪器分析方面,该方法采用配备 APCI 软电离源的 APGC-MS/MS 进行样品测定,与使用负化学电离(negative chemical ionization, NCI)或电子电离(electron ionization, EI)的气相色谱-串联质谱(gas

chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)相比,目标溴代阻燃剂的碎片更少,产生的前体离子和子离子的丰度更高,方法灵敏度提升明显^[26,31]。综上考虑,本研究选择上述方法进行参考物质候选物的均匀性以及稳定性检验。为了保证检验结果的准确性,根据候选物中目标物的初测浓度对方法在婴儿配方奶粉检测中的线性、定量限、回收率、精密度和基质效应等性能参数进行了验证。

2.1.1 线性和定量限

将质量浓度为 2~30 μg/L 的系列混合标准工作液(同位素内标为 25 μg/L)按本研究确定的仪器条件进行测定,以各目标物和同位素内标的峰面积比值为纵坐标,以目标物的质量浓度为横坐标,绘制标准工作曲线。以空白配方奶粉添加标准溶液后经过前处理,在仪器上得到信噪比 *S/N*=10 的浓度值作为方法的定量限。结果显示,各目标物在考察的浓度范围内线性良好,标准工作曲线的相关系数(*r*²)均大于 0.995。以 10 倍信噪比(*S/N*)确定的 HBB、PBT 和 BTBPE 的定量限分别为 30、10 和 60 ng/kg。该方法的线性和灵敏度能够满足本研究中参考物质候选物质量浓度测定的需求。

2.1.2 回收率和精密度

选取空白配方奶粉样品做两个浓度水平的加标回收实验,每个浓度重复测定 6 次。其中,低浓度加标水平(2 μg/kg)与研制的参考物质候选物中 PBT 的含量接近,而高浓度加标水平(4 μg/kg)与候选物中 HBB 和 BTBPE 的含量接近。结果显示(表 2),3 种目标物的加标回收率在 93.2%~104.9%之间, RSDs 为 3.6%~8.2%,说明该方法的准确度和精密度能够满足本研究中候选物均匀性和稳定性检验的需要。

表 2 婴儿配方奶粉中 3 种 NBFRs 的加标回收率和精密度(*n*=6)
Table 2 Spiked recoveries and relative standard deviations of 3 kinds of NBFRs in infant formula (*n*=6)

化合物	加标浓度/(μg/kg)	回收率/%	RSDs/%
HBB	2	94.0	7.6
	4	104.9	4.4
PBT	2	102.9	5.1
	4	93.2	3.6
BTBPE	2	99.7	8.2
	4	94.5	5.2

注:相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。

2.1.3 基质效应

以空白配方奶粉按 1.3.1 处理后的样品作为基质,绘制基质匹配标准曲线;以目标物基质匹配标准曲线与溶剂标准曲线的斜率之比作为基质效应,即基质效应=(基质匹配标准曲线斜率/溶剂标准曲线斜率)×100%,结果如图 1 所示。可以看出,样品基质会对 3 种溴代阻燃剂及其内标的测定带来一定程度的响应抑制,但各个同位素内标与其对应的目标物质的基质效应非常相近,可以较好地校正基

质效应给检测带来的误差。

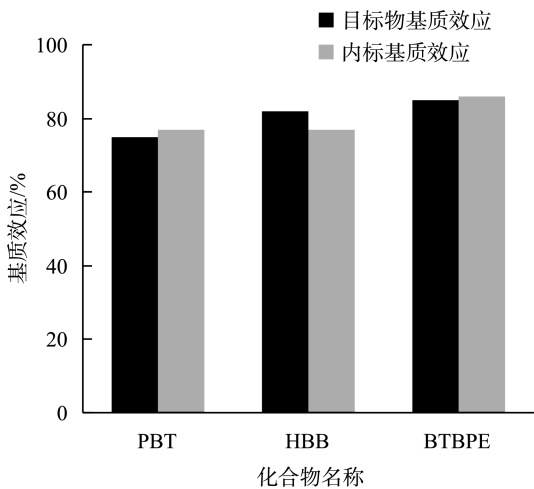


图1 婴儿配方奶粉检测中各目标物及其同位素内标的基质效应
Fig.1 Matrix effects of the target compounds and their internal standards in infant formula

2.2 均匀性检验

本研究采用 F 检验进行均匀性实验数据的统计, 通过比较每个目标物含量的组间方差(S_1^2)与组内方差(S_2^2)来判断每组测量值之间有无统计学差异。如果两者的比值 F ($F=S_1^2/S_2^2$)小于统计检验的临界值 F_{α} , 则认为组间测量值与组内测量值之间无显著差异, 样品均匀, 反之则认为样品不均匀。

本研究中统计量 F 是自由度为(24,25)的 F 分布变量, 根据自由度(24,25)以及给定的显著性水平 α (取 $\alpha=0.05$), 可由 F 表查得临界值 $F_{0.05}(24,25)=1.964$ 。表 3 的统计结果显示, 3 种 NBFRs 的 F 均小于 1.964, 则认为样品是均匀的。

2.3 稳定性检验

稳定性是参考物质特性量值随时间变化的度量, 主

要与目标化合物的理化特性、保存条件等因素有关。本研究考察了参考物质候选物高温(40℃)短期保存和冷冻(-20℃)长期存储下特性量值随时间变化的趋势。

表 3 婴儿配方奶粉中 3 种 NBFRs 的均匀性检验结果
Table 3 Results of homogeneity test for 3 kinds of NBFRs in infant formula milk powders

化合物	平均浓度 ($\mu\text{g/kg}$)	组间方差(S_1^2)	组内方差(S_2^2)	F	$F_{0.05}(24,25)$
HBB	3.10	0.0382	0.0276	1.386	
PBT	1.52	0.0054	0.0035	1.527	1.964
BTBPE	4.83	0.0448	0.0265	1.693	

2.3.1 短期稳定性检验

采用一元线性模拟方程对样品的短期稳定性实验数据进行统计分析。以取样时间为自变量 x , 以样品中化合物的测定值为因变量 y , 拟合出一条直线来进行监测数据稳定性的判断。如果 $|b_1| < t_{(0.95, n-2)} \times S(b_1)$ 则认为拟合直线的斜率不显著, 该化合物的特性量值稳定, 反之则认为该化合物的特性值具有不稳定变化趋势, 其中 $|b_1|$ 是一元线性拟合方程斜率 b_1 的绝对值, $S(b_1)$ 是斜率 b_1 的不确定度, $t_{(0.95, n-2)}$ 是监测时间点为 n 和 $\alpha=0.05$ 下的 t 值。

表 4 列出了 3 种目标物短期稳定性实验的统计结果, 从表 4 中的统计数据可以看出, 3 种目标物均满足 $|b_1| < t_{(0.95, n-2)} \times S(b_1)$ 的条件, 即表明该参考物质的特性量值在 40℃的模拟运输条件下 10 d 内没有发生显著变化, 能够保持稳定, 可以满足在国内绝大部分地区的运输需要。

2.3.2 长期稳定性检验

采用 2.3.1 中的一元线性模拟方程法进行长期稳定性监测结果的判断, 统计分析结果见表 5。可以看出, 3 种 NBFRs 监测数据的拟合直线均符合 $|b_1| < t_{(0.95, n-2)} \times S(b_1)$, 斜率不显著, 说明参考物质的特性量值在-20℃避光条件下放置 6 个月的稳定性良好, 能够满足参考物质实际储存的要求。

表 4 婴儿配方奶粉中 3 种 NBFRs 的短期稳定性检验结果
Table 4 Results of short-term stability test for 3 kinds of NBFRs in infant formula milk powders

化合物	不同取样时间点的测量平均值/($\mu\text{g/kg}$)						$ b_1 $	$t_{(0.95, 4)} \times S(b_1)$
	0 d	1 d	2 d	4 d	7 d	10 d		
HBB	3.01	2.86	3.11	3.04	2.99	2.80	0.0146	0.0367
PBT	1.50	1.47	1.53	1.56	1.47	1.49	0.0017	0.0122
BTBPE	5.08	4.85	4.70	5.02	4.78	4.80	0.0157	0.0496

表 5 婴儿配方奶粉中 3 种 NBFRs 的长期稳定性检验结果
Table 5 Results of long-term stability test for 3 kinds of NBFRs in infant formula milk powders

化合物	不同取样时间点的测量平均值/($\mu\text{g/kg}$)				$ b_1 $	$t_{(0.95, 2)} \times S(b_1)$
	第 0 月	第 1 月	第 3 月	第 6 月		
HBB	3.03	3.11	3.00	2.84	0.0373	0.0621
PBT	1.49	1.54	1.47	1.51	0.0005	0.0365
BTBPE	5.03	4.87	5.12	5.03	0.0136	0.1107

3 讨论与结论

食品基体参考物质的研制通常包括候选物制备、检测方法构建、均匀性和稳定性检验、定值和不确定度评估等环节。在均匀性、稳定性检验及定值等方面,国内外已经形成了较为成熟的技术体系和规范,如国际标准化组织制定的 ISO Guide 35:2017,以及我国发布的 JJF 1343—2022《标准物质的定值及均匀性、稳定性评估》等标准。因此,候选物的加工制备和特性量检测方法的构建成为食品基体参考物质研制中需要重点考察的两个方面,而本研究的主要研究内容即针对上述两方面开展。目前,动物源性食品基体参考物质原料的获取主要通过污染筛查、自然代谢和人工添加等方式^[29,32]。由于前期文献调研和总膳食调查^[7]显示,HBB、PBT 和 BTBPE 等化合物在乳制品中的检出率和含量分布较为宽泛,为获取同时含有 3 种目标物的足够数量的阳性原料、保证候选物的易复制性,本研究选择添加标准溶液后的市售婴儿配方奶粉水溶液作为原料进行参考物质制备。在经过均质、冷冻干燥、粉碎、研磨、筛分、混匀和真空包装等一系列制备工艺后,形成了婴儿配方奶粉中 3 种新型溴代阻燃剂的参考物质候选物,并采用优化验证后的同位素稀释-大气压气相色谱-串联质谱法对候选物的均匀性、短期稳定性和长期稳定性进行了评估。评估结果显示,本研究制备的候选物均匀性良好,其特性量值在 40℃下放置 10 d 以及-20℃下放置 6 个月无明显变化,说明相关的制备工艺能够满足参考物质使用、运输和长期储存的需求。后续,该参考物质候选物的长期稳定性监测工作还将继续开展,其在冷冻条件下储存 6 个月以上的量值水平变化情况有待进一步评估。由于暂未获得 PBT 和 BTBPE 两种化合物的有证标准物质,针对该参考物质的具有量值溯源性的定值工作也有待进一步开展。

目前,有关食品中 NBFRs 参考物质的研制工作鲜有报道,国际标准物质数据库和国家标准物质资源共享平台中也均查询不到 NBFRs 的食品基体参考物质。本研究以婴儿配方奶粉为研究基质,率先开展了食品中 NBFRs 参考物质候选物的研制工作,填补了相关的研究空白,为后续进一步形成参考物质提供了数据基础。本研究研制的参考物质候选物经过定值和不确定评估后,有望为奶类食品中 NBFRs 的分析方法验证、分析过程质量控制和实验室能力验证等活动提供物质基础,对提升我国食品中 NBFRs 的监测技术水平具有重要意义。

参考文献

- [1] COVACI A, HARRAD S, ABDALLAH MA, *et al.* Novel brominated flame retardants: A review of their analysis, environmental fate and behaviour [J]. *Environ Int*, 2011, 37(2): 532–556.
- [2] PAPACHLIMITZOU A, BARBER JL, LOSADA S, *et al.* A review of the analysis of novel brominated flame retardants [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1219: 15–28.
- [3] ZUIDERVEEN EAR, SLOOTWEG JC, DE BOER J. Novel brominated flame retardants-A review of their occurrence in indoor air, dust, consumer goods and food [J]. *Chemosphere*, 2020, 255: 126816.
- [4] HOU R, LIN L, LI HX, *et al.* Occurrence, bioaccumulation, fate, and risk assessment of novel brominated flame retardants (NBFRs) in aquatic environments-A critical review [J]. *Water Res*, 2021, 198: 117168.
- [5] XIONG P, YAN XT, ZHU QQ, *et al.* A review of environmental occurrence, fate, and toxicity of novel brominated flame retardants [J]. *Environ Sci Technol*, 2019, 53(23): 13551–13569.
- [6] LIU BL, DING LJ, LV LY, *et al.* Organophosphate esters (OPEs) and novel brominated flame retardants (NBFRs) in indoor dust: A systematic review on concentration, spatial distribution, sources, and human exposure [J]. *Chemosphere*, 2023, 345: 140560.
- [7] 吕苏蓉, 牛宇敏, 张晶, 等. 北京市居民膳食中新型溴代阻燃剂暴露水平研究[J]. *卫生研究*, 2016, 45(3): 425–429.
- [8] SHI ZX, ZHANG L, LI JG, *et al.* Novel brominated flame retardants in food composites and human milk from the Chinese total diet study in 2011: Concentrations and a dietary exposure assessment [J]. *Environ Int*, 2016, 96: 82–90.
- [9] ZHAO XZ, LYU B, ZHANG L, *et al.* Legacy and novel brominated flame retardants in animal-derived foods from China total diet study (CTDS): Temporal trends, evidence of substitution, and dietary exposure assessment [J]. *J Hazard Mater*, 2023, 443: 130223.
- [10] SUN GZ, DU XY, WU Y, *et al.* Novel and legacy brominated flame retardants in snakes and frogs: Tissue distribution, biomagnification, and maternal transfer [J]. *Sci Total Environ*, 2023, 896: 165194.
- [11] ZHAO XZ, CHEN T, YANG B, *et al.* Serum levels of novel brominated flame retardants (NBFRs) in residents of a major BFR-producing region: Occurrence, impact factors and the relationship to thyroid and liver function [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 208: 111467.
- [12] 王庆华, 袁浩东, 金军, 等. 我国 3 个城市人体血清中新型溴代阻燃剂水平趋势及分布特征[J]. *环境科学*, 2018, 39(3): 1438–1444.
- [13] LARSSON A, ERIKSSON LA, ANDERSSON PL, *et al.* Identification of the brominated flame retardant 1,2-dibromo-4-(1,2-dibromoethyl) cyclohexane as an androgen agonist [J]. *J Med Chem*, 2006, 49(25): 7366–7372.
- [14] EZECHÍÁŠ M, SVOBODOVÁ K, CAJTHAML T. Hormonal activities of new brominated flame retardants [J]. *Chemosphere*, 2012, 87(7): 820–824.
- [15] SUN RB, SHANG S, ZHANG W, *et al.* Endocrine disruption activity of 30-day dietary exposure to decabromodiphenyl ethane in Balb/C mouse [J]. *Biomed Environ Sci*, 2018, 31(1): 12–22.
- [16] SHIN B, HONG SH, SEO S, *et al.* Hepatocellular metabolic abnormalities induced by long-term exposure to novel brominated flame retardant, hexabromobenzene [J]. *Toxics*, 2023, 11(2): 101.
- [17] SZYMŃSKA JA, PIOTROWSKI JK. Hepatotoxicity of monobromobenzene and hexabromobenzene: Effects of repeated dosage in rats [J].

- Chemosphere, 2000, 41(10): 1689–1696.
- [18] PARK BJ, PALACE V, WAUTIER K, *et al.* Thyroid axis disruption in juvenile brown trout (*Salmo trutta*) exposed to the flame retardant β -tetrabromoethylcyclohexane (β -TBECH) via the diet [J]. Environ Sci Technol, 2011, 45(18): 7923–7927.
- [19] BAILEY JM, LEVIN ED. Neurotoxicity of FireMaster 550® in zebrafish (*Danio rerio*): Chronic developmental and acute adolescent exposures [J]. Neurotoxicol Teratol, 2015, 52: 210–219.
- [20] ZHANG GX, MENG LL, GUO JH, *et al.* Exposure to novel brominated and organophosphate flame retardants and associations with type 2 diabetes in East China: A case-control study [J]. Sci Total Environ, 2023, 871: 162107.
- [21] LIU M, LI A, MENG LL, *et al.* Exposure to novel brominated flame retardants and organophosphate esters and associations with thyroid cancer risk: A case-control study in eastern China [J]. Environ Sci Technol, 2022, 56(24): 17825–17835.
- [22] LIU LY, SALAMOVA A, HITES RA. Halogenated flame retardants in baby food from the United States and from China and the estimated dietary intakes by infants [J]. Environ Sci Technol, 2014, 48(16): 9812–9818.
- [23] PRONCZUK-GARBINO J. Children's health and the environment: A global perspective [M]. Geneva: World Health Organization, 2005.
- [24] POMA G, MALARVANNAN G, VOORSPOELS S, *et al.* Determination of halogenated flame retardants in food: Optimization and validation of a method based on a two-step clean-up and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Food Control, 2016, 65: 168–176.
- [25] SUN JQ, WU YH, JIANG P, *et al.* Concentration, uptake and human dietary intake of novel brominated flame retardants in greenhouse and conventional vegetables [J]. Environ Int, 2019, 123: 436–443.
- [26] LV SR, NIU YM, ZHANG J, *et al.* Atmospheric pressure chemical ionization gas chromatography mass spectrometry for the analysis of selected emerging brominated flame retardants in foods [J]. Sci Rep, 2017, 7: 43998.
- [27] TAO F, ABOU-ELWAFA ABDALLAHM, ASHWORTH DC, *et al.* Emerging and legacy flame retardants in UK human milk and food suggest slow response to restrictions on use of PBDEs and HBCDD [J]. Environ Int, 2017, 105: 95–104.
- [28] MALYSHEVA SV, GOSCINNY S, MALARVANNAN G, *et al.* Development and validation of a quantitative UHPLC-MS/MS method for selected brominated flame retardants in food [J]. Food Addit Contam Part A, 2018, 35(2): 292–304.
- [29] 刘素丽, 王宏伟, 赵梅, 等. 食品中基体标准物质研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(1): 8–13.
- LIU SL, WANG HW, ZHAO M, *et al.* Research progress of matrix reference materials for food [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(1): 8–13.
- [30] 王家宁, 王开清, 侯欣妍, 等. 标准物质在食品中三氯生类及二苯甲酮类物质检测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(19): 189–198.
- WANG JN, WANG KQ, HOU XY, *et al.* Application of reference materials in the detection of triclosan and benzophenones in food [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(19): 189–198.
- [31] 郁欢欢, 杨奕, 张晶, 等. 大气压气相色谱电离源-串联质谱法测定蔬菜中 23 种农药残留[J]. 中国食品卫生杂志, 2020, 32(1): 31–38.
- YU HH, YANG Y, ZHANG J, *et al.* Determination of 23 pesticide residues in vegetable by atmospheric pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Food Hyg, 2020, 32(1): 31–38.
- [32] 刘天和, 武彩虹, 左伟勇, 等. 动物源性食品相关兽药基体标准物质的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(4): 90–96.
- LIU TH, WU CH, ZUO WY, *et al.* Research progress of animal derived food related veterinary drug matrix reference materials [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(4): 90–96.

(责任编辑: 蔡世佳 韩晓红)

作者简介

尹 杰, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品污染物检测技术研究。
E-mail: arnold_jay@163.com

邵 兵, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全。
E-mail: shaobingch@sina.com