

超高效液相色谱-串联质谱法检测婴儿米粉中11种有机磷阻燃剂

王 溪, 凌映茹, 张 昊, 吉文亮

Determination of 11 Kinds of Organophosphorus Flame Retardants in Baby Rice Cereal by Ultra-high Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

WANG Xi, LING Yingru, ZHANG Hao, and JI Wenliang

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021110236>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡肉和猪肉中利尿剂残留量

Determination of Residues of Diuretics in Chicken and Swine by Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

食品工业科技. 2021, 42(3): 230-235

超高效液相色谱串联-质谱法同时测定香辛料中7种真菌毒素

Determination of 7 Mycotoxin Contaminants in Spices by Ultra-high Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

食品工业科技. 2019, 40(14): 270-274,279

UPLC-MS/MS法研究雌性大鼠低剂量4-壬基酚暴露的代谢动力学

Metabolic Kinetics of Low Dose 4-Nonylphenol Exposure in Female Rats by Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

食品工业科技. 2019, 40(18): 224-228

超高效液相色谱串联质谱法测定全蛋粉中的双酚A和双酚S

Determination of Bisphenol A and Bisphenol S in Egg Powder by Ultra-High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry

食品工业科技. 2019, 40(17): 270-275

超声辅助萃取-液相色谱-串联质谱法同时检测水产品中11种有机磷酸酯类阻燃剂

Simultaneous determination of 11 organophosphate esters in aquatic product by ultrasound-assisted extraction coupled with LC-MS/MS

食品工业科技. 2018, 39(6): 210-216

多壁碳纳米管净化-超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中44种药物残留

Determination of 44 Drug Residues in Eggs by Purified Multi-wall Carbon Nanotubes-Ultra High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

食品工业科技. 2020, 41(10): 230-237



王溪, 凌映茹, 张昊, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测婴儿米粉中 11 种有机磷阻燃剂 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(17): 298-305. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021110236

WANG Xi, LING Yingru, ZHANG Hao, et al. Determination of 11 Kinds of Organophosphorus Flame Retardants in Baby Rice Cereal by Ultra-high Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(17): 298-305. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021110236

· 分析检测 ·

超高效液相色谱-串联质谱法检测婴儿米粉中 11 种有机磷阻燃剂

王 溪, 凌映茹, 张 昊, 吉文亮
(江苏省疾病预防控制中心, 江苏南京 210009)

摘 要: 采用超高效液相色谱-串联质谱技术, 建立婴儿米粉中 11 种有机磷阻燃剂的检测方法。样品用 0.5% 甲酸乙腈溶液超声提取, 提取液经分散固相萃取吸附剂净化, 聚四氟乙烯滤膜过滤后上机检测, 5 mmol/L 甲酸铵的水溶液和乙腈为流动相梯度洗脱, 目标化合物在 ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 上实现分离, 在电喷雾正离子扫描模式下进行多反应监测 (MRM), 外标法定量。通过优化色谱条件, 11 种有机磷阻燃剂均达到了基线分离。11 种有机磷阻燃剂在 0.5~100 μg/L (磷酸三辛酯 0.05~10 μg/L) 范围内线性关系良好, 相关系数 r 均大于 0.994。检出限 (3S/N) 为 0.003~0.926 μg/kg, 定量限 (10S/N) 为 0.01~2.78 μg/kg。婴儿米粉中低、中、高 3 个添加浓度水平的加标回收率为 63.2%~113.4%, 相对标准偏差 ($n=6$) 均小于 10%。运用建立的方法分析了 4 种婴儿米粉, 磷酸三苯酯的检出率高达 100%, 其中一份米粉检出了磷酸三正丁酯和磷酸三 (2-氯丙基) 酯。该方法简单可靠、灵敏度高、重现性好, 覆盖的有机磷阻燃剂种类多, 适用于婴儿米粉中痕量有机磷阻燃剂的检测。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱, 有机磷阻燃剂, 婴儿米粉, 痕量

中图分类号: TS201

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)17-0298-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021110236

本文网刊:



Determination of 11 Kinds of Organophosphorus Flame Retardants in Baby Rice Cereal by Ultra-high Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

WANG Xi, LING Yingru, ZHANG Hao, JI Wenliang

(Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, Nanjing 210009, China)

Abstract: A method for the determination of 11 organophosphorus flame retardants in baby rice flour was established by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). The samples were extracted by 0.5% formic acid acetonitrile solution by ultrasound. The extracted solution was purified by dispersive solid phase extraction packing and filtered by polytetrafluoroethylene membrane and detected by UPLC-MS/MS. Gradient elution was carried out with 5 mmol/L ammonium formate and acetonitrile. The target compounds were separated by ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ column (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), and multiple response monitoring (MRM) was conducted in the positive electrospray ionization mode. The external standard method was used for quantification. By optimizing chromatographic conditions, all the 11 kinds of organophosphorus flame retardants achieved baseline separation. The 11 kinds of organophosphorus flame retardants had a good linear relationship in the range of 0.5~100 μg/L (Tris (2-ethylhexyl) phosphate 0.05~10 μg/L) with correlation coefficient $r>0.994$. The limits of detection (3S/N) were 0.003~0.926 μg/kg and the limits of quantitation (10S/N) were 0.01~2.78 μg/kg. The average recoveries at three spiked levels (low, medium and high) were 63.2%~113.4% with the relative standard deviations all less than 10% ($n=6$). Four kinds of baby rice cereal were analyzed by the

收稿日期: 2021-11-19

基金项目: 淮安市突发公共卫生事件应急检测重点实验室开放课题 (ETPHI-K-04); 江苏省医学重点学科 (ZDXKA2016008)。

作者简介: 王溪 (1990-), 女, 硕士, 主管技师, 研究方向: 食品、化妆品、消毒产品理化检验, E-mail: wangxi_sanjia@163.com。

established method and the detection rate of triphenyl phosphate (TPhP) was up to 100%. Tributyl phosphate (TnBP) and tris (2-chloroisopropyl) phosphate (TCPP) were also detected in one of the samples. The method could be used for the determination of trace organophosphorus flame retardants in baby rice flour cereal with accurate and reliable results.

Key words: ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; organophosphorus flame retardants; baby rice cereal; trace amount.

有机磷阻燃剂(Organophosphorus Flame Retardants, OPFRs)被认为是已被限制使用的溴系阻燃剂的合适替代品^[1-2]。除了用作阻燃剂外,OPFRs 还被用作增塑剂、稳定剂、液压油中的润滑剂、消泡剂和地板上光剂等^[3-5]。近几十年来被广泛应用于纺织品、塑料、家具、电子设备等材料中^[6-7]。OPFRs 具有半挥发性,在生产和使用过程中主要以掺杂混合而非化学键合的方式加入到材料中^[8],这使其普遍存在于空气、土壤、水、尘埃和沉积物等非生物环境中,且残留量与日俱增^[9]。实验研究已经证明某些 OPFRs 具有神经毒性、致癌性、生殖毒性、内分泌干扰性等^[10]。其中,磷酸三(2-乙基己基)酯(Tris(2-ethylhexyl) phosphate, TEHP)、磷酸三(丁氧基乙基)酯(Tris(2-butoxyethyl) phosphate, TBOEP)、磷酸三正丁酯(Tributyl phosphate, TnBP)能够诱发妊娠 X 受体激动剂活性;磷酸三苯酯(Triphenyl phosphate, TPhP)、TnBP、TBOEP 和磷酸三(2-氯乙基)酯(Tris(2-chloroethyl) phosphate, TCEP)具有发育神经毒性等^[11-15]。作为一类新型污染物,OPFRs 对生态系统和人体健康造成巨大影响与潜在威胁,已被欧盟列为高度关注物质^[16]。近年来,国际上已经陆续制定了相关规定限制 OPFRs 的使用:2010 年《加拿大消费产品安全法案》禁止儿童产品泡沫材料使用 TCEP;2011 年美国华盛顿州《儿童安全产品法》要求制造商向州政府报告儿童产品中的 TCEP、TPhP、磷酸三(1,3-二氯-2-丙基)酯(tris(1,3-dichloroisopropyl) phosphate, TDCPP)的含量^[17];2014 年欧盟官方发布了对玩具安全指令 2009/48/EC 附件二附录 C 的修订,最新规定了玩具中 TCEP、磷酸三(2-氯丙基)酯(Tris(2-chloroisopropyl) phosphate, TCPP)和 TDCPP 均不能超过 5 mg/kg;2019 年美国《有毒物质控制法》提议对 TCEP 和 TPhP 进行优先风险评估^[18]。我国规定了纺织品中的 TCPP 不能超过 10 mg/kg^[19],而关于食品中 OPFRs 的限值尚未见相关规定。考虑到部分 OPFRs 具有较高的亲脂性和半挥发性,在环境中具有较强的迁移能力,并有一定的生物蓄积潜力^[20],建立一种测定食品中 OPFRs 含量的方法是很有必要的。

OPFRs 的分子结构由一个磷酸根骨架和 3 个取代基团构成,较为常见的 OPFRs 共 22 种,根据取代基的不同可分为三大类。其中,卤代烷基磷酸酯 7 种,烷基磷酸酯有 10 种,芳基磷酸酯 5 种。分子量越大的 OPFRs 极性越弱,也越难挥发^[21]。测定废水、鱼类、母乳等样品中的 OPFRs 前处理方法主要

有固相萃取法^[22]、液液萃取法^[23]、QuEChERS 法^[24]等。仪器检测方法主要有气相色谱法^[25]、气相色谱-质谱法^[26]、液相色谱-质谱法^[27]等。液相色谱-质谱法更适用于相对分子量较大的 OPFRs 的测定。目前,OPFRs 的分析研究主要集中在粉尘、纺织品、水体及各种鱼类^[28-32]。Poma 等^[33]表示,对于人类暴露 OPFRs 评估,膳食摄入途径或许最为重要。Li 等^[34]发现不同地域食品中 30 种 OPFRs 浓度和分布有较大差异,指出建立合适的多残留提取分离方法和通用分析标准,对于准确比较不同区域各类食品中 OPFRs 含量水平至关重要。目前,关于食品中 OPFRs 含量的检测方法报道较少,可能是因为食品中 OPFRs 含量更低、基体成分更为复杂、检测起步较晚、质量控制要求更加严格^[35]。婴儿代谢和免疫系统不成熟,容易暴露于外源性化学物质。因此建立一种食品尤其是婴儿食品中 OPFRs 的检测方法尤为重要。目前,婴儿米粉中 OPFRs 的检测方法未见报道。

本文采用超高效液相色谱-串联质谱技术,以期建立了婴儿米粉中磷酸三乙酯(Triethyl phosphate, TEP)、磷酸三异丙酯(Triisopropyl phosphate, TiPP)、磷酸三丙酯(Tri-n-propyl Phosphate, TnPP)、磷酸三异丁酯(Triisobutyl phosphate, TiBP)、TnBP、TCEP、TPhP、TCPP、TBOEP、TDCPP、TEHP 等 11 种 OPFRs 的检测方法,为婴幼儿米粉中 OPFRs 的检测提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

样品:婴儿米粉 购买于超市和网店,共 4 种不同品牌;标准品:TEP(纯度 99.68%)、TiPP(纯度 94.2%)、TnPP(纯度 99.57%)、TiBP(纯度 99.5%)、TnBP(纯度 99.6%)、TCEP(纯度 98.73%)、TPhP(纯度 98.75%)、TCPP(纯度 99.17%)、TBOEP(纯度 92.09%)、TDCPP(纯度 95.35%)、TEHP(纯度 98.74%)等 11 种 OPFRs 均为固体 德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司;ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 美国 Waters 公司;甲醇、乙腈、甲酸 均为色谱纯,德国 Merck 公司;甲酸铵 色谱纯,上海安谱实验科技股份有限公司;实验用水 瓶装纯净水,浙江娃哈哈公司;有机相针式滤器滤膜 13 mm×0.22 μm,尼龙材质,上海安谱实验科技股份有限公司;Captiva Econo Filter 有机相针式滤器滤膜 13 mm×0.22 μm,聚四氟乙烯(polytetrafluoroethylene, PTFE)材质,美国 Agilent 公司;有机

相针式滤器滤膜 13 mm×0.22 μm, 再生纤维素材质, 美国 Agilent 公司; 分散固相萃取(Dispersive solid phase extraction, dSPE)净化管 A、B、C 三种(A 管含 150 mg MgSO₄, 50 mg C₁₈, 50 mg GCB, 50 mg PSA; B 管含 150 mg MgSO₄, 100 mg C₁₈, 20 mg GCB, 100 mg PSA; C 管含 150 mg MgSO₄, 150 mg C₁₈, 20 mg GCB, 150 mg PSA) 德国 CNW 公司; 脱水试剂(4 g Na₂SO₄, 1 g NaCl) 上海安谱实验科技股份有限公司。

Acquity I CLASS PLUS 超高效液相色谱仪、Xevo TQ-XS 型质谱仪 美国 Waters 公司; 2-16KL 型台式离心机 德国 Sigma 公司; N-EVAP-111 型氮吹仪 美国 Organomation 公司; Vortex-6 型涡旋混合器 江苏其林贝尔公司; D-78224 型超声波清洗仪 德国 Elma 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液配制

1.2.1.1 标准储备溶液 分别准确称取 TEP、TiPP、TnPP、TiBP、TnBP、TCEP、TPhP、TCPP、TBOEP、TDCPP、TEHP 各 10 mg(精确至 0.1 mg), 用甲醇溶解并定容至 10 mL, 配制成浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备溶液, -18 °C 下保存。

1.2.1.2 混合标准中间溶液 移取 TEHP 标准储备溶液 1 mL 用甲醇定容至 10 mL 得到浓度为 0.1 mg/mL 的 TEHP 标准中间溶液。分别移取 1.0 mg/mL TEP、TiPP、TnPP、TiBP、TnBP、TCEP、TPhP、TCPP、TBOEP、TDCPP 标准储备溶液各 0.1 mL 和 0.1 mg/mL TEHP 中间溶液 0.1 mL, 用甲醇定容至 10 mL, 得到浓度为 10 μg/mL 混合标准中间溶液 I (TEHP 浓度为 1 μg/mL)。移取混合标准中间溶液 I 0.1 mL 用甲醇定容至 10 mL, 得到浓度为 100 μg/L 混合标准中间溶液 II (TEHP 浓度为 10 μg/L)。移取混合标准中间溶液 II 0.1 mL 用甲醇定容至 10 mL, 得到浓度为 1 μg/L 混合标准中间溶液 III (TEHP 浓度为 0.1 μg/L), 4 °C 冷藏保存。

1.2.1.3 混合标准溶液系列 分别移取混合标准中

间溶液 I 0.1 mL, 混合标准中间溶液 II 0.1、0.5、1、2、5 mL, 混合标准中间溶液 III 5 mL, 用 80% 甲醇定容至 10 mL, 得到浓度为 0.5、1、5、10、20、50、100 μg/L 的混合标准溶液系列(TEHP 标准系列浓度为 0.05、0.1、0.5、1、5、10 μg/L)。

1.2.2 样品前处理 称取 1.0 g(精确至 0.001 g)混合均匀的婴儿米粉, 置于 50 mL 离心管中, 加入 0.5% 甲酸乙腈溶液 10 mL, 涡旋混匀 2 min, 加入脱水试剂(4 g Na₂SO₄, 1 g NaCl), 涡旋混匀 2 min。超声(25 kHz)提取 10 min, 10000 r/min 室温离心 5 min, 吸取上清液 1.5 mL 置于 dSPE 净化管 A 管(150 mg MgSO₄, 50 mg C₁₈, 50 mg PSA, 50 mg GCB)中, 涡旋混匀。12000 r/min 室温离心 5 min, 吸取上清液 1 mL, 氮吹至近干, 用 1 mL 80% 甲醇复溶, PTFE 滤膜过滤, 供超高效液相色谱-串联质谱测定。

1.2.3 仪器条件

1.2.3.1 色谱条件 色谱柱: Waters ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相: A 相为含 5 mmol/L 甲酸铵的水溶液, B 相为乙腈; 流速 0.3 mL/min; 柱温 40 °C; 进样体积 5 μL; 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序
Table 1 Gradient elution program for mobile phase

时间(min)	A相(%)	B相(%)
0	80	20
8	35	65
9	0	100
12	0	100
13	80	20
14	80	20

1.2.3.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI); 扫描方式: 正离子模式; 检测方式: 多反应监测(MRM); 碰撞气类型: 氦气; 毛细管电压: 3.0 kV; 去溶剂温度: 450 °C; 去溶剂流速: 800 L/Hr; 锥孔流速: 150 L/Hr; 雾化气压力: 7.0 bar; 碰撞气流速: 0.15 mL/min。11 种 OPFRs 的其他质谱参数见表 2。

表 2 目标化合物质谱参数

Table 2 Mass spectrometry parameters for the target OPFRs

化合物	CAS号	保留时间(min)	母离子(m/z)	子离子(m/z)	锥孔电压(V)	碰撞能量(eV)
TEP	78-40-0	2.92	183.1	99.0 [*] /127.0	20	16/12
TiPP	513-02-0	5.39	225.1	99.0 [*] /141.0	20	16/9
TnPP	513-08-6	6.11	225.1	99.0 [*] /141.0	20	16/9
TiBP	126-71-6	8.86	267.1	99.0 [*] /155.0	20	17/10
TnBP	126-73-8	8.98	267.1	99.0 [*] /155.0	20	17/10
TCEP	115-96-8	4.67	287.0	99.0 [*] /124.9	20	22/22
TPhP	115-86-6	8.85	327.1	77.0/152.0 [*]	20	40/35
TCPP	13674-84-5	6.77	328.1	99.0 [*] /174.9	20	18/12
TBOEP	78-51-3	9.49	399.3	199.0/299.0 [*]	20	15/12
TDCPP	13674-87-8	8.47	431.0	98.7 [*] /320.8	20	22/11
TEHP	78-42-2	12.13	435.3	99.0 [*] /323.2	20	14/7

注: “*”为定量离子。

1.3 数据处理

使用 Masslynx 软件(美国 Waters 公司)采集数据并积分,使用 Origin 9.0(美国 Origin Lab 公司)作图,使用 Microsoft Excel 2010(美国微软公司)进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 质谱、色谱条件优化

将单一标准溶液以 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速注入 Xevo TQ-XS 质谱仪中,选择 Combined 模式,在 MS1 Scan 母离子扫描模式下找到各目标物质的母离子。随后打开碰撞气,通过调节碰撞能,选取各目标物质信号最强的子离子作为定量离子,信号次强的子离子作为定性离子,通过优化各离子对的毛细管电压、锥孔电压和碰撞能,最终确定质谱参数,如表 2 所示。

采用 Waters ACQUITY UPLC[®]BEH C₁₈ 色谱柱进行分离。实验比较了不同水相及有机相作为流动相时 OPFRs 的响应。以 5 mmol/L 甲酸铵水溶液作为水相时,比 0.1% 甲酸水作为水相时目标物的响应提高、半峰宽减小、保留增强。过强的保留使得分析时间延长。以甲醇作为有机相时,比乙腈作为有机相时目标物的保留减弱。最终采用 5 mmol/L 甲酸

铵水溶液作为水相,乙腈作为有机相,目标物响应强、峰形好、分析时间短。本实验 11 种 OPFRs 中有两对同分异构体(TiPP 和 TnPP, TiBP 和 TnBP),反相键合固定相的形状选择性对其分离具有潜在优势。两对同分异构体中,均是烷基异位取代的化合物优先出峰,表明当形状选择性在分离中起到更重要的作用时,长而窄的分子(和那些短和宽的分子相比)会优先被保留^[36]。实验通过调整流动相梯度,在同分异构体出峰时间附近减少有机相比比例,实现了同分异构体的良好分离。同分异构体分离后,提高有机相比比例,在 15 min 内完成了 11 种 OPFRs 分析,大大缩短了分析时间。11 种 OPFRs 标准溶液的提取离子流图如图 1 所示。

2.2 实验干扰的排除

有文献表明^[27],食品中 TEP 检出率很高。但经本实验发现,程序空白中有 TEP 检出,其色谱峰保留时间和相对离子丰度与标准溶液一致,可能导致样品分析时 TEP 检测结果假阳性。通过拆分样品分析全流程,找出了程序空白中 TEP 的来源:每进行一步样品分析,都分别把对应的提取溶液进 UPLC-MS/MS 分析,结果显示,提取液过滤膜之前,均没有 TEP 检

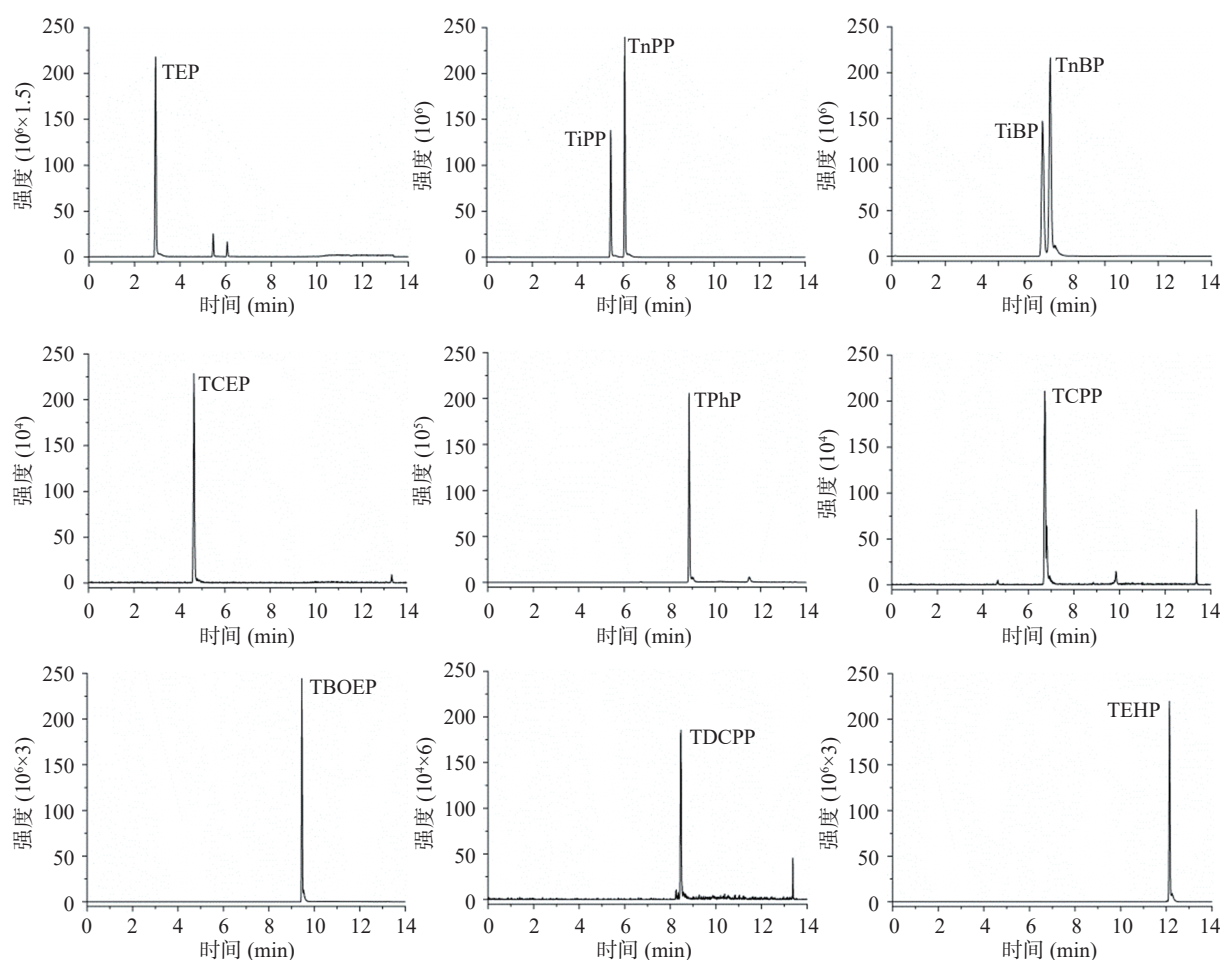


图 1 11 种 OPFRs 标准溶液的提取离子流图

Fig.1 Extracted ion chromatograms of 11 kinds of OPFRs standard solutions

注: TEHP 浓度为 2 $\mu\text{g}/\text{L}$, 其余标准液浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

出;过了滤膜以后,检出了 TEP。这证明程序空白中检出的 TEP 来自于滤膜。实验对比了三种有机相针式滤器滤膜,当滤膜材质为尼龙和再生纤维素时,程序空白中有 TEP 检出;当滤膜材质为 PTFE 时,程序空白中 TEP 大大减少(小于检出限),因此本实验采用 PTFE 滤膜过滤,排除了 TEP 假阳性问题。程序空白提取液过不同滤膜时 TEP 的检出情况如图 2 所示。

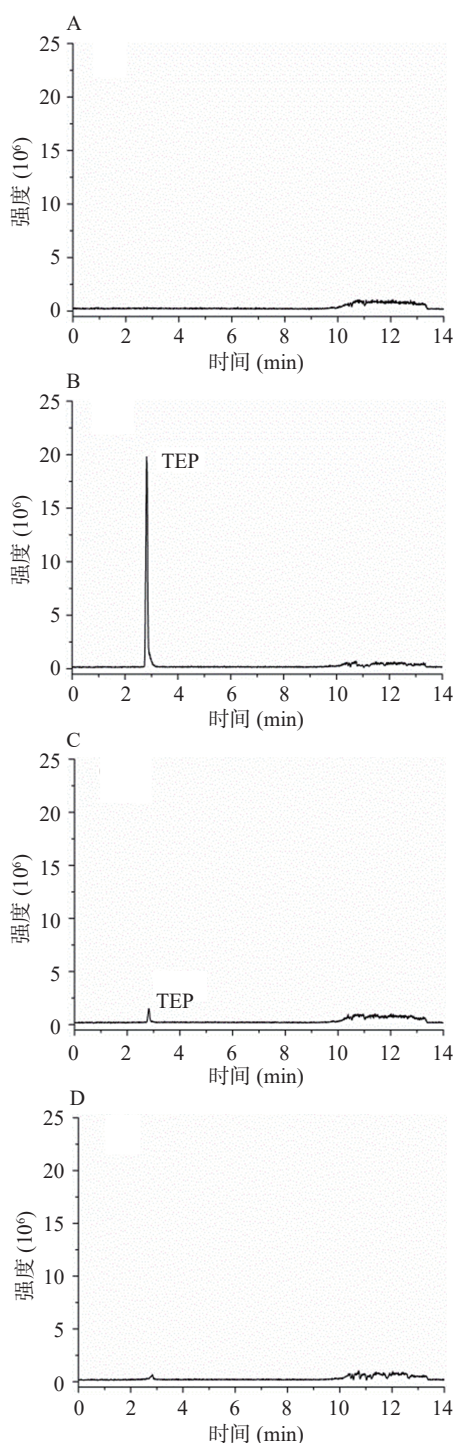


图 2 程序空白提取液过不同滤膜时 TEP 的检出情况
Fig.2 Detection of TEP when blank extract passed through different filter membrane

注: A: 空白提取液不过滤膜; B: 空白提取液过尼龙滤膜; C: 空白提取液过再生纤维素滤膜; D: 空白提取液过 PTFE 滤膜。

2.3 样品前处理条件的选择

实验比较了不同溶剂的提取效率,通过在空白样品中加标 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (TEHP 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) OPFRs,分别采用 0.5% 甲酸乙腈、4:1 乙腈丙酮和乙腈进行提取,按照 1.2.2 处理,计算回收率得到。发现三种提取溶剂对 10 种 OPFRs 的提取效率差别不大,但对 TEHP 的提取效率差别较大,分别是 81.7%、69.9%、77.1%,因此选择 0.5% 甲酸乙腈作为提取溶剂。不同溶剂的提取效率如图 3 所示。

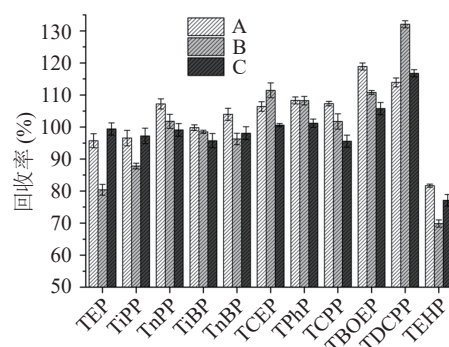


图 3 不同溶剂的提取效率

Fig.3 Extraction efficiency of different solvents
注: A: 0.5% 甲酸乙腈; B: 4:1 乙腈丙酮; C: 乙腈。

实验比较了 A、B、C 三种净化管对同一加标样品(加标浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, TEHP 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$)的净化效果及提取效率的影响。发现三种净化管对 10 种 OPFRs 的提取效率影响差别不大,但对 TEHP 的提取效率影响较大,分别是 81.7%(A 管)、58.6%(B 管)、56.1%(C 管),推测是由于过高的 C_{18} 含量会使 THEP 产生吸附而使其提取效率降低。最终采用 A 管进行净化处理,不同净化管对 OPFRs 提取效率的影响如图 4 所示。

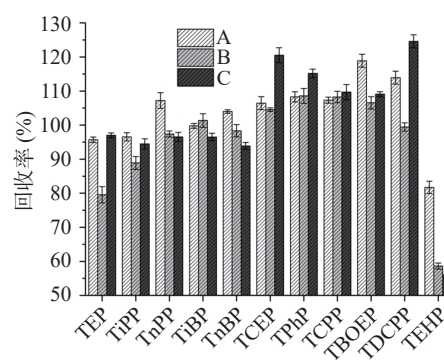


图 4 不同净化管对 OPFRs 提取效率的影响

Fig.4 Effect of different purification pipes on extraction efficiency of OPFRs

注: A、B、C 分别对应 A 管、B 管、C 管。

实验比较了 OPFRs 在甲醇、80% 甲醇中的响应。分别采用这两种溶剂配制相同系列的混合标准溶液,通过比较线性方程的斜率发现,TEP 在两种溶剂中的斜率变化不大,其余 10 种目标物均在 80% 甲醇中的斜率较大,说明其在 80% 甲醇中的响应更强。因此选择 80% 甲醇配制标准溶液系列以及作为

样品前处理的复溶溶剂。不同溶剂中 OPFRs 的响应如表 3 所示。

2.4 基质效应

基质效应在液相色谱-质谱联用技术中普遍存在,主要是由于共提取物与目标分析物在电喷雾离子源上存在竞争效应^[37]。以不含 OPFRs 的婴儿米粉作为空白基质,按 1.2.2 进行样品前处理并获得空白基质溶液,分别在空白基质溶液和 80% 甲醇中加入同等浓度(10 种 OPFRs 10 μg/L, TEHP 1 μg/L)的混合标准溶液,将 OPFRs 在空白基质溶液中的峰面积与 80% 甲醇中的峰面积进行比较,比值大于 100% 代表基质增强,反之代表基质抑制^[38]。结果表明,除了 TnBP 基质抑制效应较强(61.6%)外,其余 10 种目标物的基质效应在 85.9%~125.3%,表明婴儿米粉经过样品前处理之后基质去除效果明显。考虑到大部分 OPFRs 的基质效应均在 80%~120% 范围内,因此仍采用 80% 甲醇配制标准溶液系列以满足高通量检测要求。

2.5 方法学参数

本方法采用离子对和保留时间定性,外标法定量。按 1.2.1 配制标准溶液系列、仪器工作条件测定,以峰面积 A 和对应的标准溶液系列浓度 C 绘制标准曲线,除 TEHP 之外,其余 10 种 OPFRs 在 0.5~100 μg/L 范围内相关性良好,相关系数 $r>0.996$ 。而 TEHP 的响应很强,浓度过高时标准曲线会出现弯曲,最终确定 TEHP 的线性范围为 0.05~10 μg/L,相关系数 $r>0.994$ 。以信噪比 $S/N=3$ 和 $S/N=10$ 确定 11 种 OPFRs 测定方法的检出限(Limit of detection, LOD)为 0.003~0.926 μg/kg,定量限(Limit of quantitation, LOQ)为 0.01~2.78 μg/kg。11 种 OPFRs 的方法检出限、定量限、线性相关系数见表 4。分别在婴儿米粉中加入低、中、高 3 个浓度水平的混合标准溶液,加标回收率为 63.2%~113.4%,相对标准偏差(Relative standard deviation, RSD)均小于 10%。方法学结果较为满意。加标实验结果见表 5。

表 3 不同溶剂中 OPFRs 的响应
Table 3 Response of OPFRs in different solvents

斜率	TEP	TiPP	TnPP	TiBP	TnBP	TCEP	TPhP	TCPP	TBOEP	TDCPP	TEHP
甲醇	4.9×10 ⁵	2.3×10 ⁵	6.0×10 ⁵	3.2×10 ⁵	4.0×10 ⁵	9.0×10 ³	3.0×10 ⁴	8.5×10 ³	1.7×10 ⁵	620.2	8.5×10 ⁵
80%甲醇	4.7×10 ⁵	3.1×10 ⁵	9.7×10 ⁵	3.4×10 ⁵	4.9×10 ⁵	1.0×10 ⁴	4.6×10 ⁴	1.1×10 ⁴	2.1×10 ⁵	839.1	1.2×10 ⁶

表 4 11 种 OPFRs 的检出限、定量限、线性相关系数及线性方程
Table 4 LOD, LOQ, linear correlation coefficient and linear equation of 11 kinds of OPFRs

标准品	线性范围(μg/L)	线性方程	相关系数 r	LOD(μg/kg)	LOQ(μg/kg)
TEP	0.5~100	$y=384599.2x+257374.6$	0.9997	0.667	2.00
TiPP	0.5~100	$y=347665.9x-33966.8$	0.9999	0.111	0.33
TnPP	0.5~100	$y=598665.0x+38063.0$	0.9997	0.074	0.22
TiBP	0.5~100	$y=335398.2x+218614.4$	0.9993	0.042	0.13
TnBP	0.5~100	$y=467942.4x+188062.6$	0.9999	0.035	0.10
TCEP	0.5~100	$y=7415.2x+971.5$	0.9998	0.926	2.78
TPhP	0.5~100	$y=41675.4x+1812.3$	0.9995	0.093	0.28
TCPP	0.5~100	$y=8378.9x+16408.4$	0.9991	0.667	2.00
TBOEP	0.5~100	$y=177095.2x+55890.3$	0.9998	0.010	0.03
TDCPP	0.5~100	$y=737.7x+1667.8$	0.9964	0.556	1.67
TEHP	0.05~10	$y=1621194.8x+415578.8$	0.9947	0.003	0.01

表 5 婴儿米粉中 OPFRs 的加标回收率及相对标准偏差(n=6)
Table 5 Recovery rate and relative standard deviation of OPFRs in babyrice cereal (n=6)

标准品	加标量(μg/kg)					
	10		100		500	
	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)
TEP	65.5	5.6	85.8	2.1	92.4	6.9
TiPP	63.2	2.4	87.7	3.6	97.8	1.7
TnPP	68.8	6.3	94.0	3.8	100.8	4.5
TiBP	86.8	7.2	99.8	3.4	103.2	4.4
TnBP	81.3	9.8	99.5	5.1	106.0	5.9
TCEP	74.6	8.6	91.3	3.4	97.9	3.6
TPhP	95.4	8.3	93.7	9.2	95.2	7.4
TCPP	81.4	3.2	94.1	6.9	100.4	6.3
TBOEP	101.2	8.4	105.5	7.7	113.4	3.6
TDCPP	79.4	4.1	99.7	9.4	102.8	6.1
TEHP	0.1		10		50	
	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)
	69.0	7.5	76.4	3.8	74.3	3.8

2.6 样品测定

将市售的4种婴儿米粉分别混匀,按1.2.2进行样品前处理,结果显示,4种婴儿米粉中TPhP的检出率高达100%,含量在6.7~23.0 $\mu\text{g/kg}$ 范围内。其中一份婴儿米粉还检出了TnBP(15.6 $\mu\text{g/kg}$)和TCPP(14.6 $\mu\text{g/kg}$)。

3 结论

本法基于超高效液相色谱质谱联用技术,建立了适用于婴儿米粉中11种OPFRs的检测方法。通过优化质谱、色谱条件,有效分离了两对同分异构体,且缩短了分析时间。通过拆分样品分析全流程,发现滤膜中含有TEP可能导致检测结果的假阳性。通过筛选滤膜材质,采用PTFE滤膜过滤,排除了TEP假阳性的问题。优化了样品提取溶剂,选择0.5%甲酸乙腈作为提取溶剂;优化分散固相萃取净化管,选择A管进行净化分析。建立的检测方法,11种OPFRs线性关系良好,检出限(3S/N)低,灵敏度高。婴儿米粉中低、中、高3个添加浓度水平的加标回收率结果均较为满意。实际样品测定结果显示,4种婴儿米粉中TPhP的检出率高达100%,其中一份婴儿米粉还检出了TnBP和TCPP。本方法减少了实验操作误差,灵敏度高,重现性好,可以实现11种OPFRs的有效分离和准确定量测定,可以满足婴儿米粉中痕量OPFRs定量分析的要求,对食品中OPFRs的监控有参考意义。

参考文献

- [1] TANG B, POMA G, BASTIAENSEN M, et al. Bioconcentration and biotransformation of organophosphorus flame retardants (PFRs) in common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Environ Int*, 2019, 126: 512–522.
- [2] HONG H Z, ZHAO Y C, HUANG L M, et al. Bone developmental toxicity of organophosphorus flame retardants TDCIPP and TPhP in marine medaka *Oryzias melastigma* [J]. *Ecotox Environ Safe*, 2021, 223: 112605.
- [3] WANG J H, KHOKHAR I, REN C, et al. Characterization and 16S metagenomic analysis of organophosphorus flame retardants degrading consortia [J]. *J Hazard Mater*, 2019, 380: 120881.
- [4] TANFG B, CHRISTIA C, MALARVANNAN G, et al. Legacy and emerging organophosphorus flame retardants and plasticizers in indoor microenvironments from Guangzhou, South China [J]. *Environ Int*, 2020, 143: 105972.
- [5] LIU Y E, TANG B, LIU Y, et al. Occurrence, biomagnification and maternal transfer of legacy and emerging organophosphorus flame retardants and plasticizers in water snake from an e-waste site [J]. *Environ Int*, 2019, 133: 105240.
- [6] 王成云, 谢堂堂, 张伟亚, 等. 纺织品中6种禁用有机磷阻燃剂的同时测定 [J]. *天津工业大学学报*, 2012, 31(1): 21–24, 32. [WANG C Y, XIE T T, ZHANG W Y, et al. Simultaneous determination of six banned organophosphorus flame retardants in textiles [J]. *Journal of Tiangong University*, 2012, 31(1): 21–24, 32.]
- [7] 侯瑞, 李逸, 梁永津, 等. 鱼类样品中有机磷阻燃剂分析方法
- 的优化研究 [J]. *环境监控与预警*, 2020, 12(5): 93–104. [HOU R, LI Y, LIANG Y J, et al. Optimization of determining method for organophosphate flame retardants (OPFRs) in biological tissues [J]. *Environmental Monitoring and Forewarning*, 2020, 12(5): 93–104.]
- [8] 何明靖, 杨婷, 杨志豪, 等. 有机磷酸酯在三峡库区土壤中污染特征 [J]. *环境科学*, 2017, 38(12): 5256–5261. [HE M J, YANG T, YANG Z H, et al. Occurrence of organophosphate esters in soil of three Gorges Reservoir [J]. *Environmental Science*, 2017, 38(12): 5256–5261.]
- [9] 王艺璇, 张芹, 宋宁慧, 等. 南京市雪水中有机磷阻燃剂的污染特征及健康风险评估 [J]. *中国环境科学*, 2019, 39(12): 5101–5109. [WANG Y X, ZHANG Q, SONG N H, et al. Pollution characteristics and health risk assessment of organic phosphorus flame retardant in snow water of Nanjing [J]. *China Environmental Science*, 2019, 39(12): 5101–5109.]
- [10] PRESTON E V, MCCLEAN M D, HENN B C, et al. Associations between urinary diphenyl phosphate and thyroid function [J]. *Environ Int*, 2017, 101: 158–164.
- [11] WU Y, SU G Y, TANG S, et al. The combination of *in silico* and *in vivo* approaches for the investigation of disrupting effects of tris (2-chloroethyl) phosphate (TCEP) toward core receptors of zebrafish [J]. *Chemosphere*, 2017, 168: 122–130.
- [12] LIU X, JI K, CHOI K. Endocrine disruption potentials of organophosphate flame retardants and related mechanisms in H295R and MVLN cell lines and in zebrafish [J]. *Aquat Toxicol*, 2012, 114: 173–181.
- [13] KANAZAWA A, SAITO I, ARAKI A, et al. Association between indoor exposure to semi-volatile organic compounds and building-related symptoms among the occupants of residential dwellings [J]. *Indoor Air*, 2010, 20: 72–84.
- [14] KOJIMA H, TAKEUCHI S, ITOH T, et al. *In vitro* endocrine disruption potential of organophosphate flame retardants via human nuclear receptors [J]. *Toxicology*, 2013, 314: 76–83.
- [15] LIU Y E, LUO X J, HUANG L Q, et al. Organophosphorus flame retardants in fish from Rivers in the Pearl River Delta, South China [J]. *Sci Total Environ*, 2019, 663: 125–132.
- [16] 张丽, 张少峰, 于硕. 水环境中的有机磷阻燃剂及其生物富集和生物转化研究进展 [J]. *生态毒理学报*, 2021, 16(3): 78–94. [ZHANG L, ZHANG S F, YU S. Organophosphorus flame retardants in aquatic environment: A Review on occurrence, bioaccumulation and metabolism [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2021, 16(3): 78–94.]
- [17] BLUM A, BEHL M, BIRNBAUM L S, et al. Organophosphate ester flame retardants: Are they a regrettable substitution for polybrominated diphenyl ethers? [J]. *Environ Sci Tech Let*, 2019, 6(11): 638–649.
- [18] 陈世存, 陶芳, 丁锦建, 等. 新型有机磷阻燃剂环境污染物的研究进展 [J]. *环境化学*, 2021, 40(4): 949–963. [CHEN S C, TAO F, DING J J, et al. Research progress of emerging organophosphate flame retardants environmental pollutants [J]. *Environmental Chemistry*, 2021, 40(4): 949–963.]
- [19] 李丽, 杨锦飞. 阻燃剂的限制法规及发展趋势 [J]. *塑料助*

- 剂, 2014(4): 14–20. [LI L, YANG J F. Restrictive laws and regulations and development trends for flame retardants[J]. *Plastics Additives*, 2014(4): 14–20.]
- [20] WEI G L, LI D Q, ZHUO M N, et al. Organophosphorus flame retardants and plasticizers: Sources, occurrence, toxicity and human exposure[J]. *Environ Pollut*, 2015, 196: 29–34.
- [21] 杨吉双, 张庆合, 苏立强. 有机磷阻燃剂气相色谱-四极杆飞行时间质谱裂解机理研究[J]. *质谱学报*, 2021, 42(1): 36–47.
- [YANG J S, ZHANG Q H, SU L Q. Fragmentation mechanism of organic phosphorus flame retardant by gas chromatography-quadrupole time of flight mass spectrometry[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2021, 42(1): 36–47.]
- [22] RODIL R, QUINTANA J B, REEMTSMA T. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of nonionic organophosphorus flame retardants and plasticizers in wastewater samples[J]. *Anal Chem*, 2005, 77: 3083–3089.
- [23] LIU Y E, HUANG L Q, LUO X J, et al. Determination of organophosphorus flame retardants in fish by freezing-lipid precipitation, solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1532: 68–73.
- [24] MA J, ZHU H K, KANNAN K. Organophosphorus flame retardants and plasticizers in breast milk from the United States[J]. *Environ Sci Technol Lett*, 2019, 6: 525–531.
- [25] 慕俊泽, 李宣, 张斌, 等. 气相色谱法测定纺织品中的三种有机磷阻燃剂[J]. *色谱*, 2007, 25(3): 389–391. [MU J Z, LI X, ZHANG B, et al. Determination of three organophosphorus flame retardants in textiles by gas chromatography[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2007, 25(3): 389–391.]
- [26] 王成云, 冀红略, 杨左军, 等. 锂离子电池电解液中有机磷阻燃剂的测定[J]. *电池*, 2020, 50(1): 94–97. [WANG C Y, JI H L, YANG Z J, et al. Determination of organophosphorus flame retardants in electrolyte of lithium ion battery[J]. *Battery Bimonthly*, 2020, 50(1): 94–97.]
- [27] 许珊珊, 孙文芳, 杨雯, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中 9 种有机磷阻燃剂的含量[J]. *理化检验-化学分册*, 2021, 57(6): 500–506. [XU S S, SUN W F, YANG W, et al. Determination of 9 organophosphorus flame retardants in vegetables by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis)*, 2021, 57(6): 500–506.]
- [28] MEEKERS J D, STAPLETON M. House dust concentrations of organophosphate flame retardants in relation to hormone levels and semen quality parameters[J]. *Environ Health Perspect*, 2010, 118: 318.
- [29] BRANDSMA S H, BOER J D, MARTIN J M, et al. Organophosphorus flame retardants (PFRs) and plasticizers in house and car dust and the influence of electronic equipment[J]. *Chemosphere*, 2014, 116: 3–9.
- [30] BRANDSMA S H, SELLSTROM U, WITCA D, et al. Dust measurement of two organophosphorus flame retardants, resorcinol Bis (diphenylphosphate) (RBDPP) and bisphenol A Bis (diphenylphosphate) (BPA-BDPP), used as alternatives for BDE-209[J]. *Environ Sci Technol*, 2013, 47: 14434–14441.
- [31] HOU R, XU Y, WANG Z. Review of OPFRs in animals and humans: Absorption, bioaccumulation, metabolism, and internal exposure research[J]. *Chemosphere*, 2016, 153: 78–90.
- [32] ANDRESEN J, GRUNDMANN A, BESTER K. Organophosphorus flame retardants and plasticisers in surface waters[J]. *Sci Total Environ*, 2004, 332: 155–166.
- [33] POMA G, GLYNN A, MALARVANNAN G, et al. Dietary intake of phosphorus flame retardants (PFRs) using Swedish food market basket estimations[J]. *Food Chem Toxicol*, 2017, 100: 1–7.
- [34] LI J H, ZHAO L M, LETCHER R J, et al. A review on organophosphate Ester (OPE) flame retardants and plasticizers in foodstuffs: Levels, distribution, human dietary exposure, and future directions[J]. *Environ Int*, 2019, 127: 35–51.
- [35] 杨吉双, 张庆合, 苏立强. 食品中有机磷酸酯阻燃剂检测技术的研究进展[J]. *色谱*, 2020, 38(12): 1369–1380. [YANG J S, ZHANG Q H, SU L Q. Advances in the development of detection techniques for organophosphate ester flame retardants in food[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2020, 38(12): 1369–1380.]
- [36] 王溪, 阮丽萍, 李放, 等. 凝胶渗透色谱净化-高效液相色谱荧光法检测生肉中 15 种多环芳烃[J]. *江苏预防医学*, 2019, 30(3): 259–261, 279. [WANG X, RUAN L P, LI F, et al. Determination of 15 kinds of polycyclic aromatic hydrocarbons in fresh meat by online gel permeation chromatography purification-high performance liquid chromatography[J]. *Jiangsu Journal of Preventive Medicine*, 2019, 30(3): 259–261, 279.]
- [37] SHAO B, CHEN D, ZHANG J, et al. Determination of 76 pharmaceutical drugs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in slaughterhouse wastewater[J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(47): 8312.
- [38] 李艳明, 王坤, 朱富强, 等. 通过式固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中多种受体激动剂药物残留[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(14): 264–271. [LI Y M, WANG K, ZHU F Q, et al. Determination of multiple receptor agonist drug residues in pork by pass-type SPE and ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(14): 264–271.]