

- [11] 黄冬梅,蔡友琼,于慧娟,等.液相色谱-串联质谱法测定南美白对虾中敌百虫、敌敌畏残留量[J].中国渔业质量与标准,2012,2(3):50-54.
- [12] 于慧娟,蔡友琼,李庆,等.气相色谱-质谱法研究敌百虫在气相色谱分析过程中产生的分解产物[J].色谱,2006,24(1):23-25.
- [13] 黄捷,白桂昌,吕铁峰,等.快速高分离液相色谱-串联质谱法测定水产品中敌百虫残留[J].中国卫生检验杂志,2010,20(7):1666-1668.
- [14] European Commission. Commission decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC (1996) concerning the performance of analytical methods and the interpretation of result [S]. European Commission Official Journal,2002.

## 实验技术与方法

# 气相色谱-串联质谱法测定白酒中 18 种邻苯二甲酸酯

苗宏健<sup>1</sup>,梁栋<sup>1</sup>,鲁杰<sup>1</sup>,陈达炜<sup>1</sup>,梁丽娜<sup>2</sup>,赵云峰<sup>1</sup>

(1. 国家食品安全风险评估中心 卫生部食品安全风险评估重点实验室,北京 100021;

2. 赛默飞世尔科技有限公司,北京 100044)

**摘要:**目的 建立白酒中 18 种邻苯二甲酸酯 (PAEs) 的气相色谱-串联质谱 (GC-MS/MS) 测定方法。方法 样品中加入 PAEs 同位素内标,调整样品的酒精度,以甲苯萃取,采用 GC-MS/MS 以多反应监测模式 (MRM) 测定。结果 苯二甲酸二异壬酯 (DINP)、邻苯二甲酸二异癸酯 (DIDP) 在 0.1 ~ 10 μg/ml,其他 16 种 PAEs 在 0.01 ~ 1.0 μg/ml 范围内呈良好线性关系,  $r^2 \geq 0.991$ ; 方法检出限为 3.1 ~ 150.0 μg/L,定量限为 9.9 ~ 500.0 μg/L; 在 3 个加标水平下,样品平均回收率为 98.5% ~ 119.8%,RSD 为 0.6% ~ 15.6%。结论 本方法提高了白酒中 PAEs 检测的特异性,适合于白酒中多组分 PAEs 的同时检测。

**关键词:**白酒;邻苯二甲酸酯;同位素内标稀释技术;气相色谱-串联质谱法;食品污染物;塑化剂;食品安全  
中图分类号:R155;O657.7<sup>+</sup>1;TS262.3;TQ414.1 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2014)03-0249-06  
DOI:10.13590/j.cjfh.2014.03.010

## The determination of 18 phthalates in white spirits by gas chromatography-tandem mass spectrometry

MIAO Hong-jian, LIANG Dong, LU Jie, CHEN Da-wei, Liang Li-na, ZHAO Yun-feng  
(Key Laboratory of Food Safety Risk Assessment of Ministry of Health,  
China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China)

**Abstract: Objective** A gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) method for the detection of 18 phthalates (PAEs) in white spirits was developed. **Methods** The samples were spiked with isotope internal standards, adjusted by alcohol concentration, and finally extracted with toluene. The supernatant were determined by GC-MS/MS. **Results** The calibration curves of 18 phthalates obtained were linear with correlation coefficients above 0.991. It was effective in the determination of phthalates in white spirits. The limits of detection were 3.1-150.0 μg/L and the limits of quantification were 9.9-500.0 μg/L. The recoveries were 98.5% -119.8% with the RSD of 0.6% -15.6% at different spiking levels. **Conclusion** The method improved the specificity for PAEs detection in white spirits and was applicable for multi-component PAEs detection.

**Key words:** White spirits; phthalates; isotope internal standards diluted technology; gas chromatography-tandem mass spectrometry; food contaminant; plasticizing agent; food safety

收稿日期:2014-03-18

基金项目:食品接触材料中有害物质迁移量关键检测技术研究(2011BAK10B05-02)

作者简介:苗宏健 男 助理研究员 研究方向为食品接触材料中有害物质的检测技术 E-mail:mono\_1984@163.com

通讯作者:赵云峰 男 研究员 研究方向为食品理化检测技术 E-mail:zhaoyf703@126.com

邻苯二甲酸酯(PAEs)作为环境内分泌干扰物质引发国内外持续关注<sup>[1-3]</sup>。自我国白酒中发现PAEs污染问题以来,国家食品安全评估专家委员会将其列入优先评估项目。目前,我国针对白酒中PAEs的检测方法主要为气相色谱-质谱法(GC-MS)<sup>[4-5]</sup>,但一级质谱为选择性离子监测模式(SIM),对多种PAEs的检测欠缺特异选择性。尤其在出现邻苯二甲酸二癸酯(DIDP)和邻苯二甲酸二异壬酯(DNP)在质谱检测中保留时间重叠,且具有共同的离子碎片时,其定量的可靠性降低,进而制约PAEs的检测种类<sup>[6]</sup>。从白酒中PAEs定量的可靠性角度考虑,本文采用同位素内标稀释技术,同时以二级质谱的多反应监测模式(MRM)的特异性降低基质干扰,提高DIDP和DNP等的特异性检测,以满足多种PAEs同时检测的需求,建立了白酒中18种PAEs的气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)测定方法。

## 1 材料与方 法

### 1.1 主要仪器与试剂

Varian气相色谱-串联质谱仪(美国瓦里安)、离心机、涡旋振荡器。

16种PAEs标准品溶液(编号:M-8061-R1, 1 000 μg/ml,溶剂为正己烷,美国AccuStandard®):邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、邻苯二甲酸二乙酯(DEP)、邻苯二甲酸二异丁酯(DIBP)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、邻苯二甲酸(2-甲氧基)乙酯(DMEP)、邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯(BMPP)、邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯(DEEP)、邻苯二甲酸二戊酯(DPP)、邻苯二甲酸二己酯(DHXP)、邻苯二甲酸丁基苄基酯(BBP)、邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯(DBEP)、邻苯二甲酸二环己酯(DCHP)、邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP)、邻苯二甲酸二苯酯(DphP)、邻苯二甲酸二正辛酯(DNOP)、邻苯二甲酸二壬酯(DNP)、邻苯二甲酸二异壬酯(DINP)、邻苯二甲酸二异癸酯(DIDP)标准品(编号:PLAS-PL-072N和PLAS-PL-016N,纯度>99.5%,美国AccuStandard®);D<sub>4</sub>-邻苯二甲酸二甲酯(D<sub>4</sub>-DMP)(编号:D-2305,纯度>99.3%)、D<sub>4</sub>-邻苯二甲酸二丁酯(D<sub>4</sub>-DBP)(编号:D-2310,纯度>99.0%)、D<sub>4</sub>-邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯(D<sub>4</sub>-DEEP)(编号:D-7443,纯度>99.0%)、D<sub>4</sub>-邻苯二甲酸二异壬酯(D<sub>4</sub>-DINP)(编号:D-7447,纯度>99.0%)均购自加拿大CDN Isotopes;甲苯(编号:9336-03,有机残留级,美国J. T. Baker);去离子水。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 标准曲线的制备

将18种PAEs以正己烷溶液配制成DINP和DIDP浓度为50 μg/ml,其他16种PAEs浓度为5 μg/ml的混合中间液;将D<sub>4</sub>-DMP、D<sub>4</sub>-DBP和D<sub>4</sub>-DEEP配制成10 μg/ml,D<sub>4</sub>-DINP配制成100 μg/ml的正己烷混合内标中间液。准确移取邻苯二甲酸酯及D<sub>4</sub>-邻苯二甲酸酯的中间液,配制成系列标准溶液,使D<sub>4</sub>-DMP、D<sub>4</sub>-DBP和D<sub>4</sub>-DEEP浓度为0.5 μg/ml,D<sub>4</sub>-DINP浓度为5.0 μg/ml,DINP和DIDP的标准曲线工作范围为0.1~10 μg/ml,其他PAEs标准曲线工作范围为0.01 μg/ml~1.0 μg/ml。

#### 1.2.2 样品前处理

准确移取白酒样品2.0 ml,置10 ml具塞玻璃刻度试管内,加混合内标中间液100 μl,根据样品的酒精度加水调整,使其酒精度≈20%(V/V)。在此样品溶液中,加甲苯2 ml萃取,漩涡混匀3 min,3 000 r/min离心5 min,取上清液进行GC-MS/MS检测。

#### 1.2.3 仪器条件

气相色谱参考条件:DB-5ms UI柱(30 m×0.25 mm,0.25 μm);载气为高纯氦气,恒流模式,流速1.0 ml/min;CID碰撞气为高纯氦气;进样口温度260℃;升温程序:60℃保持1 min,以20℃/min增至220℃保持1 min,5℃/min增至280℃保持10 min,20℃/min增至300℃保持4 min;柱上不分流进样,进样量1 μl;传输线温度280℃。

质谱参考条件:电子轰击源(EI),电离能量70 eV,离子源温度250℃,采用多反应监测模式(MRM)。

#### 1.2.4 定性和定量离子对的选择

18种PAEs的保留时间、定性离子对和定量离子对以及对应的碰撞能量见表1。

## 2 结果与分析

### 2.1 萃取溶剂及酒精度的影响

白酒中乙醇对PAEs具有一定的溶解性,从而影响溶剂提取效率<sup>[7-8]</sup>。Russo等<sup>[7]</sup>以二硫化碳作为提取溶剂并指出对于酒中DEHP而言,酒精含量在13%~17%(V/V)时提取效率最高。而Jenny等<sup>[8]</sup>也指出以1,1,2-三氯三氟乙烷提取样品,随着样品中酒精度的升高,DEP的提取效率下降。本文根据文献调研和前期研究得出,在样品的酒精度控制在20%(V/V)时,样品中乙醇对PAEs的溶解性影响消除。如图1所示,在20%(V/V)下,以正己烷<sup>[9]</sup>提取,D<sub>4</sub>-DNOP、D<sub>4</sub>-DNP及D<sub>4</sub>-DINP的内标绝对回收率由于基质影响下降至30%左右;而乙酸乙酯和二氯甲烷分别因为乳化和与样品中酒精互溶等原因,需加

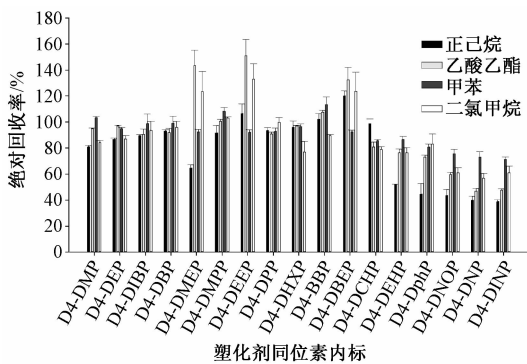
表 1 18 种邻苯二甲酸酯与 4 种同位素内标 MRM 信息表

Table 1 18 PAEs and 4 isotope internal standards

MRM scan mode information

化合物	保留时间 /min	定量离子对	碰撞能 /eV	定性离子对	碰撞能 /eV
DMP	7.411	163 > 77	25	194 > 163	5
DEP	8.283	177 > 149	10	222 > 176	5
DIBP	9.987	205 > 149	5	223 > 149	5
DBP	10.742	223 > 149	5	205 > 149	10
DMEP	11.053	176 > 149	20	207 > 59	10
BMPP	11.704	167 > 149	10	251 > 167	20
DEEP	12.127	176 > 149	15	193 > 149	5
DPP	12.550	219 > 149	5	237 > 149	5
DHXP	14.755	251 > 149	5	233 > 149	15
BBP	14.885	206 > 149	5	238 > 132	20
DBEP	16.360	176 > 149	10	193 > 149	15
DCHP	17.016	167 > 149	10	249 > 149	10
DEHP	17.206	279 > 149	10	167 > 149	25
DphP	17.362	225 > 77	20	225 > 105	15
DNOP	19.817	279 > 149	5	279 > 71	20
DNP	22.427	293 > 149	5	293 > 71	20
DINP	18.055 ~ 22.000	293 > 149	10	293 > 71	10
DIDP	20.200 ~ 24.000	307 > 149	15	307 > 167	15
D <sub>4</sub> -DMP	7.407	167 > 81	20	198 > 167	10
D <sub>4</sub> -DBP	10.736	227 > 153	10	209 > 153	10
D <sub>4</sub> -DEEP	12.124	180 > 153	10	197 > 153	20
D <sub>4</sub> -DINP	21.360	297 > 153	10	297 > 71	25

DNOP 和 DNP 定量,则 DINP 和 DIDP 因同样具有  $m/z$  149 从而互相干扰定量分析。为此,黄永辉等<sup>[6]</sup>以选择离子扫描模式(SIM)对 DNOP、DINP 和 DIDP 进行定量,将 3 种物质的定量离子定为  $m/z$  279、293 和 307。但若检测中出现 DNP 时,由于 DIDP 和 DNP 保留时间及离子碎片均有重叠而干扰其定量。而在 MRM 下,DIDP 与 DNP 出峰时间虽有重合,但所选定量离子对不同,从而排除了 DNP 对 DIDP 的定量干扰。同时,由于 DIDP 和 DNP 特定离子对碰撞能量不同(见表 1),DIDP 能够干扰 DNP 定量的离子对(293 > 149)被 MRM 进一步稀释,从而基本消除对 DNP 的定量影响(见图 3)。综上所述,对 18 种 PAEs 使用 MRM 的监测模式,可有效降低基质背景的影响,排除 PAEs 由于具有相同离子碎片而影响准确定量的因素<sup>[10-13]</sup>,提高了多种 PAEs 同时测定的准确性。



注:为精确研究塑化剂在样品和提取溶剂中的分配行为,特使用与卫生部黑名单中一一对应的 17 种塑化剂同位素内标为研究对象,可排除本底干扰,使测试结果准确可信;由于 D<sub>4</sub>-DIDP 与 D<sub>4</sub>-DINP 化学性质相似,从试验成本角度考虑,未进行研究

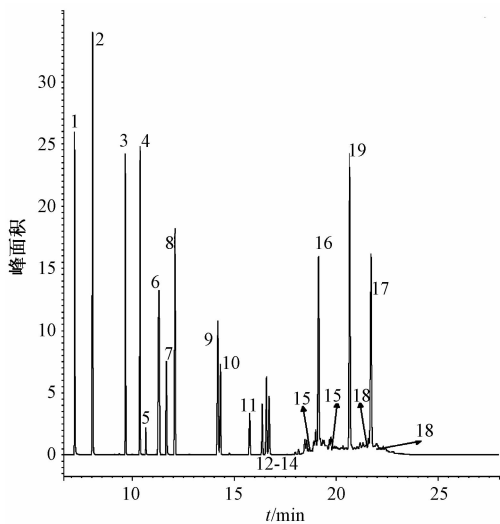
图 1 萃取溶剂的提取效率比较图

Figure 1 The comparison chart of extraction solvents' efficiency

入 NaCl 或吹干复溶,增加了操作过程的繁琐,易引入本底,测试平行性较差;甲苯提取样品时基质干扰效应最低,且提取前后提取液体积不变,同时提取效率较其他几种有机溶剂更高,故选用甲苯作为白酒中 PAEs 的提取溶剂。

2.2 MRM 模式下的特异选择性

DINP 和 DIDP 的峰型为多重峰,出峰时间长,范围宽,包裹 DNOP 和 DNP(见图 2)。若以  $m/z$  149 为



注:按编号依次为 1. DMP + D<sub>4</sub>-DMP, 2. DEP, 3. DIBP, 4. DBP + D<sub>4</sub>-DBP, 5. DMEP, 6. BMPP, 7. DEEP + D<sub>4</sub>-DEEP, 8. DPP, 9. DHXP, 10. BBP, 11. DBEP, 12. DCHP, 13. DEHP, 14. DEHP, 15. DINP, 16. DNOP, 17. DNP, 18. DIDP, 19. D<sub>4</sub>-DINP

图 2 18 种邻苯二甲酸酯与 4 种内标的总离子流图  
Figure 2 The totally ions chromatogram of 18 PAEs' and 4 isotope standards

2.3 同位素内标的选择

DMP、DEP 的支链较短,提取效率受酒精度的影响最为明显。因此,从保留时间和化学行为的一致性上选择 D<sub>4</sub>-DMP 作为 DMP 和 DEP 的校正内标;DINP 和 DIDP 均为同分异构体的混合物,在质谱检测中峰型为多重峰,检出限和定量限较高,因此以高含量 D<sub>4</sub>-DINP 作为校正内标;DMEP、DEEP 和 DBEP 因含有醚键,裂解机理与其他 PAEs 略有不同,通过 SIM 和 MRM 可判定其均含有  $m/z$  176。以此推断在 DMEP 裂解过程中, $m/z$  176 具有稳定的

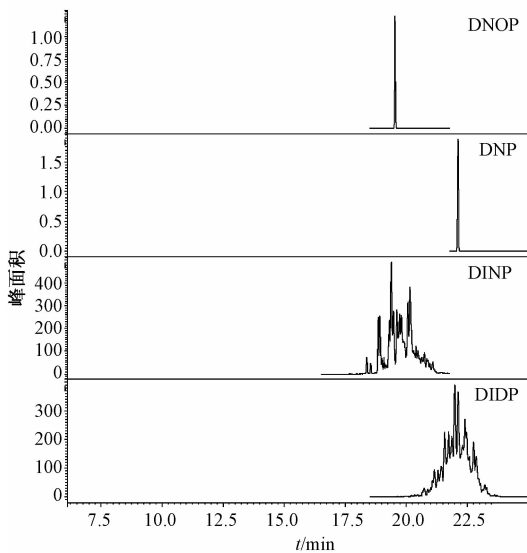


图3 MRM模式对PAEs的特异选择性

Figure 3 The specific selective detection of MRM mode with PAEs

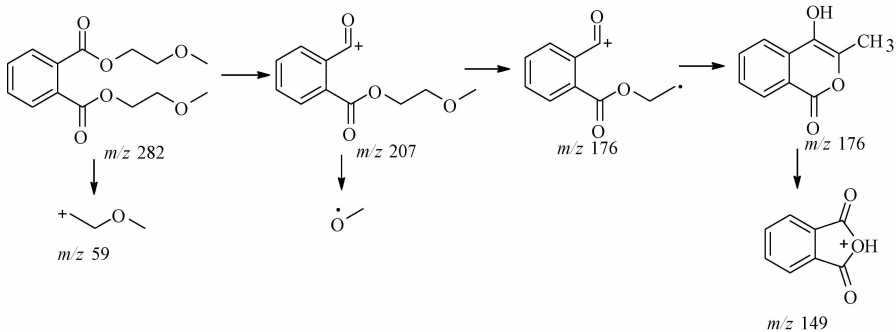


图4 DMEP裂解机理

Figure 4 The pyrolysis mechanism of DMEP

表2 18种邻苯二甲酸酯标准曲线及检出限和定量限

Table 2 The calibrations and the limitations of detection and quantification of 18 PAEs

化合物	范围 /( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	线性方程	相关 系数	LOD /( $\mu\text{g}/\text{L}$ )	LOQ /( $\mu\text{g}/\text{L}$ )
DMP	0.01~1.0	$y=1.4772x-0.0582$	1.000	3.0	10.0
DEP	0.01~1.0	$y=1.5256x-0.0209$	0.999	3.0	9.9
DIBP	0.01~1.0	$y=1.1641x-0.0392$	0.999	2.9	10.5
DBP	0.01~1.0	$y=0.7439x-0.0491$	0.999	2.9	11.2
DMEP	0.01~1.0	$y=0.6229x-0.5253$	0.999	31.3	100.6
BMPP	0.01~1.0	$y=2.2952x-0.2140$	0.999	3.1	10.0
DEEP	0.01~1.0	$y=2.3980x-1.1808$	0.999	28.9	98.7
DPP	0.01~1.0	$y=0.9390x-0.1517$	0.996	4.9	15.1
DHXP	0.01~1.0	$y=0.9185x-0.0145$	0.992	5.1	15.1
BBP	0.01~1.0	$y=1.1403x-0.0295$	0.994	5.6	20.4
DBEP	0.01~1.0	$y=3.2253x-1.6771$	0.994	24.2	90.9
DCHP	0.01~1.0	$y=3.0601x-0.3759$	0.995	5.1	15.9
DEHP	0.01~1.0	$y=0.6130x-0.2677$	0.994	11.7	30.7
DPhP	0.01~1.0	$y=2.6604x-0.3084$	0.996	5.9	25.8
DNOP	0.01~1.0	$y=0.9839x-0.2817$	0.996	5.5	20.2
DNP	0.01~1.0	$y=1.1657x-0.4547$	0.994	4.9	20.4
DINP	0.1~10	$y=1.1455x-1.0269$	0.994	150.0	500.0
DIDP	0.1~10	$y=1.2332x-1.2223$	0.991	150.0	500.0

共轭结构,不易被离子源轰击产生  $m/z$  149,因此离子化效力较低(见图2、4)。而DEEP、DMEP和DBEP在裂解机理上具有较高相似性,因此以 $D_4$ -DEEP作为DMEP、DEEP和DBEP的校正内标。其余PAEs化学性质相似,均以具有临时限量值的DBP的对应内标 $D_4$ -DBP作为校正内标。

#### 2.4 方法的检出限和定量限

在样品中加入标准溶液,按本方法进行测试,以国际纯化学与应用化学协会(IUPAC)和美国化学联合会中环境分析化学的规定平行测定20次,获得方法的LOD和LOQ。计算方法如下:

$$S_{\text{LOD}} = S_{\text{RB}} + 3\delta_{\text{RB}}$$

$$S_{\text{LOQ}} = S_{\text{RB}} + 10\delta_{\text{RB}}$$

其中, $S_{\text{RB}}$ 为以标准曲线计算的样品测试浓度,单位为 $\mu\text{g}/\text{L}$ , $\delta_{\text{RB}}$ 为样品测试的标准偏差<sup>[14]</sup>。18种邻苯二甲酸酯类的检出限和定量限及线性方程结果见表2。

#### 2.5 加标回收率和精密度

选择各PAEs含量均在本方法检出限以下样品,分别以各PAEs定量限的1倍、3倍和5倍在样品中进行加标回收率试验,测试结果见表3。通过加标回收率试验结果可以看出,在针对18种PAEs的3种加标量测试下,加标回收率为98.5%~119.8%,RSD为0.6%~15.6%,方法具有可重复性和较好的准确性。

#### 2.6 检测结果的验证

在本方法的研究过程中,对同一质控样品进行了以17种PAEs同位素内标稀释技术的气相色谱-质谱法(GC-MS)测定及采用本方法的4种PAEs同位素内标稀释技术的GC-MS/MS测定;同时,采用Q orbitrap高分辨液相色谱-质谱仪对未经前处理的样品进行直接测定,以进一步验证方法的可靠性。从表4的测试结果可知,3种测定方法的测定结果具有较高匹配性,方法将内标进行优化存在合理性。

表 3 18 种邻苯二甲酸酯加标回收率及 RSD% (n = 6)

Table 3 The recoveries and RSD% of 18 PAEs

化合物	测试值 / (μg/L)	加标水平 1				加标水平 2				加标水平 3			
		加标量 / (μg/L)	测试值 / (μg/L)	回收率 / %	RSD / %	加标量 / (μg/L)	测试值 / (μg/L)	回收率 / %	RSD / %	加标量 / (μg/L)	测试值 / (μg/L)	回收率 / %	RSD / %
DMP	ND	10	11.7	117.0	6.1	30	32.0	106.7	7.3	50	50.4	100.8	5.5
DEP	ND	10	11.2	112.0	0.6	30	31.1	103.7	2.4	50	50.8	101.6	1.8
DIBP	ND	10	9.9	99.0	5.8	30	30.7	102.3	5.7	50	52.1	104.2	6.0
DBP	ND	10	11.5	115.0	5.7	30	32.0	106.7	4.3	50	52.4	104.8	5.1
DMEP	ND	100	107.8	107.8	9.1	300	311.5	103.8	6.6	500	498.9	99.8	6.9
BMPP	ND	10	11.4	114.0	4.5	30	31.7	105.7	8.2	50	52.5	105.0	7.9
DEEP	ND	100	114.5	114.5	12.5	300	307.7	102.6	10.5	500	512.3	102.5	9.1
DPP	ND	15	17.6	117.3	8.9	45	46.3	102.9	6.6	75	77.8	103.7	2.1
DHXP	ND	15	16.0	106.7	5.3	45	45.5	101.1	5.3	75	76.2	101.6	6.9
BBP	ND	20	21.7	108.5	9.2	60	67.2	112.0	8.3	100	107.3	107.3	3.1
DBEP	ND	100	102.6	102.6	11.4	300	310.5	103.5	7.8	500	496.3	99.3	5.7
DCHP	ND	20	21.3	106.5	6.3	60	63.2	105.3	3.1	100	101.8	101.8	5.1
DEHP	ND	30	35.5	118.3	15.2	90	96.2	106.9	9.0	150	162.2	108.1	10.1
DPhP	ND	30	30.1	100.3	8.2	90	91.1	101.2	12.1	150	147.7	98.5	0.9
DNOP	ND	20	22.4	112.0	9.1	60	69.9	116.5	11.0	100	109.3	109.3	8.2
DNP	ND	20	21.3	106.5	7.3	60	65.6	109.3	9.9	100	108.7	108.7	8.7
DINP	ND	500	578.6	115.7	14.2	1 500	1 511.9	100.8	13.2	2 500	2 988.3	119.5	12.6
DIDP	ND	500	599.0	119.8	15.6	1 500	1 598.8	106.6	10.2	2 500	2 670.1	106.8	9.3

注:ND 为未检出

表 4 3 种检测方法测试同一质控样品结果 (n = 6, μg/ml)

Table 4 The results of the determination in QC sample by different detection methods

化合物	GC-MS 测试值	Q orbitrap 测试值	GC-MS/MS 测试值
DMP	0.55	0.52	0.56
DEP	0.52	0.55	0.53
DIBP	0.52	0.53	0.52
DBP	2.20	2.00	2.10
DMEP	0.57	0.62	0.61
BMPP	0.54	0.62	0.57
DEEP	0.44	0.42	0.44
DPP	0.50	0.51	0.50
DHXP	0.95	0.96	1.00
BBP	4.90	5.10	5.10
DBEP	0.53	0.52	0.54
DCHP	0.57	0.56	0.56
DEHP	1.80	1.90	1.90
DphP	0.44	0.44	0.46
DNOP	0.41	0.45	0.44
DNP	0.48	0.53	0.50
DINP	10.20	—	10.60
DIDP	ND	ND	ND

注:—为未进行研究及测定;ND 为未检出

实验方案。方法操作简便,同时具有较高的灵敏度和重现性,适合白酒中 18 种 PAEs 的同时检测。

参考文献

[ 1 ] Fuji M, Shinohara N, Lim A, et al. A study on emission of phthalate esters from plastic materials using a passive flux sampler [J]. Atmos Environ, 2003, 37(24): 5495-5504.

[ 2 ] Balafas D, Shaw K J, Whitfield F B. Phthalate and adipate esters in Australian packaging materials[J]. Food Chem, 1999, 65(3): 279-287.

[ 3 ] Corton J C, Lapinskas P J. Peroxisome proliferator activated receptors: mediators of phthalate ester-induced effects in the male reproductive tract[J]. Toxicol Sci, 2005, 83(1): 4-17.

[ 4 ] 杨悠悠, 谢云峰, 田菲菲, 等. 常见食品中邻苯二甲酸酯类增塑剂含量及食品包装材料中邻苯二甲酸酯类增塑剂迁移量的测定[J]. 色谱, 2013, 31(7): 674-678.

[ 5 ] 熊含鸿, 曾玩嫻. 白酒中 17 种邻苯二甲酸酯测定方法初探 [J]. 酿酒, 2013, 40(3): 93-95.

[ 6 ] 黄永辉. GC-MS 法同时测定塑料玩具中 22 种邻苯二甲酸酯增塑剂[J]. 塑料科技, 2011, 39(1): 94-98.

[ 7 ] Russo M V, Notardonato I, Cinelli G, et al. Evaluation of an analytical method for determining phthalate esters in wine samples by solid-phase extraction and gas chromatography coupled with ion-trap mass spectrometer detector [J]. Anal Bioanal Chem, 2012, 402(3): 1373-1381.

[ 8 ] Jenny L, Thomas K, Dirk W L. Chemical analysis and risk assessment of diethyl phthalate in alcoholic beverages with special regard to unrecorded alcohol[J]. Plosone, 2009, 12(4): 1-7.

[ 9 ] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准

3 小结

本文建立了白酒中 18 种邻苯二甲酸酯 (PAEs) 的 GC-MS/MS 检测方法。通过同位素内标稀释技术及多反应监测模式 (MRM) 优化了内标法定量的

- 化管理委员会. GB/T 21911—2008 食品中邻苯二甲酸酯的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2008.
- [10] Brunella C, Barbara M, Giovanni S, et al. Tandem mass spectrometry in food safety assessment: the determination of phthalates in olive oil[J]. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1205(1-2):137-143.
- [11] QIU X L, FENG C, WANG G Q. Determination of phthalates esters in bottled waters by GC-MS/MS[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2013, 4(3):689-698.
- [12] XU X, YANG W H, ZHAO H J, et al. Determination of 17 phthalate esters in different wines and liquors by gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2013, 4(3):877-882
- [13] XU D M, DENG X J, FANG E H, et al. Determination of 23 phthalic acid esters in food by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2014, 1324:49-56.
- [14] János I, Tamáz L, Allan, M U, et al. Compendium of analytical nomenclature[M]. United States: International Union of Pure and Applied Chemistry, 1998.

## 实验技术与方法

### 分子生物学技术在一起食物中毒检测中的应用

宋启发, 王爱红, 杨元斌, 叶硕, 郭延波

(浙江省宁波市疾病预防控制中心, 浙江 宁波 315010)

**摘要:**目的 应用分子生物学技术对一起食物中毒样品进行检测, 提高实验室应对食物中毒快速检测和溯源分析能力。方法 应用实时荧光 PCR 技术对一起食物中毒 10 份患者粪便和 6 份可疑食品进行快速检测, 并对 39 份粪便和 8 份食品进行病原培养分离鉴定, 应用 PCR 技术对分离菌株进行 *invA* 毒力基因检测, PFGE 及 MLST 基因分型技术对分离菌株进行同源性分析, 并与其他地区菌株进行遗传学差异对比。结果 10 份患者粪便和 6 份可疑食物经实时荧光 PCR 检测均为沙门菌阳性, 从 39 份粪便和 8 份食品中共分离到 31 株肠炎沙门菌。PFGE 及 MLST 分析显示 31 株菌具同源性, 表明食物和患者分离菌株基因型一致, MLST 分型显示本次分离株与其他地区优势克隆有同源性, 31 株肠炎沙门菌均具有 *invA* 毒力基因。结论 实时荧光 PCR 技术应用于食物中毒病原检测, 缩短了病原检测周期, 提高了检测的准确性, PFGE 及 MLST 两种基因分型技术可对病原菌进行溯源分析, 对于掌握病原菌流行规律具有重要意义。

**关键词:** 肠炎沙门菌; 食物中毒; 实时荧光 PCR; 脉冲场凝胶电泳; 多位点测序技术

中图分类号: R155.3; TS201.3 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2014)03-0254-05

DOI: 10.13590/j.cjfh.2014.03.011

#### Application of molecular biological technology in a food poisoning incident

SONG Qi-fa, WANG Ai-hong, YANG Yuan-bin, YE Shuo, GUO Yan-bo

(Ningbo Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang Ningbo 315010, China)

**Abstract: Objective** To improve the ability of rapid detection and tracing the infectious source of food poisoning outbreak with molecular biological technology. **Methods** Rapid detection of 10 fecal samples and 6 food samples were carried out with real-time fluorescent PCR. A total of 39 fecal samples and 8 food samples were detected by culture, isolation and identification method. Virulence gene of *invA* was detected by PCR. Homologous relationship among strains from local region and other regions was analyzed with PFGE and MLST genotyping technique respectively. **Results** *Salmonella* was detected in 10 fecal samples and 6 food samples with real-time fluorescent PCR. Thirty-one strains of *Salmonella enteritidis* were finally isolated and identified in 39 fecal samples and 8 food samples. Homology among those 31 strains was proved by PFGE, which suggested that the strains from food samples and clinical samples were from the same origin. Homology among the isolates and prevalent strains in other regions was also shown with MLST genotyping results. Virulence gene of *invA* in all isolates was testified by PCR. **Conclusion** Timeliness and accuracy of strain identification during food poisoning incident could be improved by real-time fluorescent PCR. Combination of PFGE and MLST genotyping techniques was of great significance to trace homologous relationship among strains in local region and other