

实验技术与方法

大气压气相色谱串联质谱法测定牛奶中的9种新型溴代阻燃剂

杨润晖¹,牛宇敏²,邢杨²,邵兵^{1,2}(1. 中国农业大学动物医学院,北京 100193; 2. 北京市疾病预防控制中心,
食品中毒诊断与溯源技术北京市重点实验室,北京 100013)

摘要:目的 建立了一种基于大气压气相色谱串联质谱(APGC-MS/MS)同时测定牛奶中9种新型溴代阻燃剂(NBFRs)的方法,并对提取溶剂和净化方法进行了优化。方法 冻干牛奶样品经正己烷/二氯甲烷(1:1, V/V)提取后,采用GPC净化,浓硫酸进一步除脂后,采用多反应监测模式进行分析。结果 目标化合物在一定浓度范围内线性关系良好, R^2 均>0.99,检测限(LOD)和定量限(LOQ)分别为0.000 2~0.098 4 $\mu\text{g/L}$ (fw)和0.000 5~0.295 2 $\mu\text{g/L}$ (fw)。采用空白牛奶进行加标回收实验,加标回收率为73.94%~116.98%,精密度不大于19.30%。该方法已成功地应用于22份牛奶样品。其中,五溴甲苯、五溴乙苯、2-乙基己基-四溴苯甲酸、1,2-双(2,4,6-三溴苯氧基)乙烷和十溴二苯乙烷是主要的污染物,检出率分别为86.36%、100.00%、54.55%、50.00%和54.55%,浓度分别为0.001~0.20 $\mu\text{g/L}$ (fw)、<LOQ~0.06 $\mu\text{g/L}$ (fw)、<LOQ~0.11 $\mu\text{g/L}$ (fw)和<LOQ~0.85 $\mu\text{g/L}$ (fw)。结论 本方法灵敏度高,精密度和准确度高,可用于牛奶中9种NBFRs的同时测定。

关键词:牛奶;新型溴代阻燃剂;加速溶剂萃取;大气压气相色谱串联质谱

中图分类号:R155 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2022)02-0247-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2022.02.009

Determination of nine novel brominated flame retardants in milk by atmospheric pressure gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry

YANG Runhui¹, NIU Yumin², XING Yang², SHAO Bing^{1,2}(1. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100193, China;
2. Beijing Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing 100013, China)

Abstract: Objective A method was developed for the simultaneous determination of nine novel brominated fire retardants (NBFRs) in milk by atmospheric pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry (APGC-MS/MS), and the extraction solvent and clean-up method were optimized. **Methods** The freeze-dried milk samples were extracted by hexane/dichloromethane (1:1, V/V), cleaned up by GPC and further degreased by sulfuric acid, and then analyzed by Multi-selected reaction monitoring (MRM) mode. **Results** The result showed that there were good linear relationships for the target compounds in a certain concentration range, with their correlation coefficients (R^2) no less than 0.99. The limits of detection and the limits of quantification (LOQs) were 0.000 2-0.098 4 $\mu\text{g/L}$ (fw) and 0.000 5-0.295 2 $\mu\text{g/L}$ (fw), respectively. The spiked recoveries were 73.94%-116.98% with RSD not more than 19.30% using blank milk. The method has been successfully applied to 22 milk samples. Among them, PBT, PBEB, EH-TBB, BTBPE and DBDPE were the major contaminants with the detection rates of 86.36%, 100.00%, 54.55%, 50.00% and 54.55%, respectively. The concentrations were 0.001-0.20 $\mu\text{g/L}$ (fw), <LOQ-0.06 $\mu\text{g/L}$ (fw), <LOQ-0.11 $\mu\text{g/L}$ (fw) and <LOQ-0.85 $\mu\text{g/L}$ (fw), respectively. **Conclusion** The method was sensitive, precise and accurate, and can be used for the simultaneous determination of 9 NBFRs in milk.

Key words: Milk; novel brominated fire retardants; accelerate solvent extraction; atmospheric pressure gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry

收稿日期:2021-10-08

基金项目:国家重点研发计划(2019YFC1605102);国家自然科学基金青年项目(21607010)

作者简介:杨润晖 女 博士生 研究方向为动物源性食品安全 E-mail:18911582397@163.com

通信作者:邵兵 男 研究员 研究方向为食品污染物分析 E-mail:shaobingch@sina.com

溴代阻燃剂(Brominated flame retardant, BFR)因其阻燃效率高、热稳定性好等优点成为高产量的有机阻燃剂,占全球阻燃剂产量的17%^[1]。近年来,由于“传统”溴代阻燃剂(Legacy brominated fire retardants, LBFRs)被许多国家和地区限制性使用或停产^[2],一些替代物开始进入市场,其被定义为新型溴代阻燃剂(Novel brominated fire retardants, NBFRs)^[3]。有限的毒理学研究表明,NBFRs具有与LBFRs相似的生物累积性、远距离迁移性和组织损伤^[4-5],并且部分NBFRs还具有内分泌干扰作用^[6]、甲状腺功能紊乱^[7-10]、免疫毒性^[10]和肝肾毒性^[8]等。膳食是人类暴露NBFRs的一种重要途径。欧盟食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)要求广泛开展食品中NBFRs污染水平的调查。已有研究表明NBFRs在动物源性食品中存在^[11-12]。随着膳食结构的不断优化,人们对乳制品消费需求潜力不断提升^[13-14]。2016年,《中国居民膳食指南》中提出我国居民乳制品的推荐摄入量为液态奶300 g/d或当量的乳制品^[15]。因此,建立牛奶中NBFRs的可靠分析方法对于人群暴露水平调查具有重要意义。

目前NBFRs的分析主要采用气相色谱串联质谱(Gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)法^[16]。在真空条件下,电子轰击电离源(Electron ionization, EI)和负化学电离源(Negative chemical ionization, NCI)已经广泛应用于GC-MS系统中^[17]。但是,这两种电离源的灵敏度和方法的特异性较低,容易受到基质的干扰。近年来,大气压化学电离源(Atmospheric pressure chemical ionization, APCI)被引入气质联用方法中^[18-20]。作为一种软电离技术,它使得目标物产生较少的碎片,从而能够提供丰富的分子离子信息,为达到低检测限提供可能。此前,由于分析方法的限制,食品中十溴二苯乙烷(DBDPE)残留的结果均低于方法定量限^[21],因此有必要建立更加灵敏的测定方法。鉴于此,本研究以牛奶为研究对象,开发了一种适用于动物性食品中9种NBFRs测定的高灵敏度方法,为科学评估NBFRs的暴露水平及潜在风险提供技术手段。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

九种NBFRs名称信息如表1所示。pTBX(纯度>97%)、PBEB(>97%)、BTBPE(>97%)均购自加拿大Toronto Research Chemicals公司;PBT(>97%)、HBB(>97%)、EH-TBB(>97%)、DBHCTD(>97%)、HCTBPH(>97%)和DBDPE(>97%)均购自美国

AccuStandard公司;同位素内标¹³C-HBB(>97%)、¹³C-DEC 602(>97%)、*d*₄-BTBPE(>97%)、*d*₁₇-EH-TBB(>97%)和¹³C-DBDPE(>97%)均购自美国Cambridge Isotope Laboratories公司;甲苯、正己烷、丙酮、乙酸乙酯和二氯甲烷(HPLC级)购自美国Dikma公司;浓硫酸(98%)、氧化铝和无水硫酸钠由国药集团化学试剂有限公司提供;硅胶60(0.063~0.100 mm)由德国默克公司提供;硅藻土(EXtrelut[®] NT)由赛默飞世尔科技(中国)有限公司提供。

大气压气相色谱串联质谱仪(APGC-MS/MS)(A7890&Waters Xevo TQ-XS,美国Waters公司)、DB-5MS毛细管色谱柱(15 m×0.25 mm×0.10 μm,美国Agilent公司)、无填料熔融石英柱、真空冷冻干燥仪(CHIST ALPHA2-4,德国CHIST公司)、加速溶剂萃取仪器(ASE200,美国戴安公司)、凝胶渗透(Gel permeation chromatography, GPC)色谱仪(GPC,美国J2公司)、常压玻璃胶柱(美国J2公司)、JY20002电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司)、Cole-Parmer超声清洗器(美国Cole-Parmer公司)、超低温冰箱(902-ULTS,美国赛默飞世尔科技公司);Milli-Q超纯水机(美国Millipore公司);微型冷冻离心机(德国Eppendorf公司);Vortex-Genie2涡旋振荡器(美国Scientific Industries公司);N-EVAPTM-116氮吹仪(美国Organomation公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品前处理

将牛奶样品置于洁净的玻璃培养皿中,在超低温冰箱(-80℃)中放置24 h以保证样品彻底冻结,再将样品连同托盘置于真空冷冻干燥仪中(冻干机提前预热30 min),之后样品在-50℃、0.040 mbar条件下冻干(至少24 h)。将冻干的样品研磨成粉状,用锡纸包装后放入自封袋中,于超低温冰箱(-80℃)中保存。

准确称取0.4 g牛奶冻干样品,与2倍体积硅藻土混合均匀,然后将混合均匀的样品转移至11 mL萃取池,加入同位素内标,静置2 h后,用ASE200加速溶剂萃取仪进行目标物的提取,萃取溶剂为正己烷/二氯甲烷(1:1, V/V),萃取温度和压力分别设置为100℃和1 500 psi,静态时间设置为10 min,每个样品进行3次提取。提取物旋转蒸发至干,然后用10 mL环己烷/乙酸乙酯(1:1, V/V)复溶。复溶后的液体通过GPC净化;流动相为乙酸乙酯/环己烷(1:1, V/V),流速为4.7 mL/min,收集10~20 min的流出液,将流出液经旋转蒸发至干,用2 mL正己烷复溶。为了进一步去除脂肪,在复溶液中加入40 μL浓硫酸。最后,将干净的液体在温和的氮气流

下氮吹至干,100 μL 正己烷复溶后,供 APGC-MS/MS 测定。

1.2.2 气相色谱—串联质谱条件

气相色谱条件:色谱柱为 DB-5MS 毛细管色谱柱(15 m \times 0.25 mm, 0.10 μm)串接一段无填料的熔融石英柱(约 0.4 m);进样口温度为 280 $^{\circ}\text{C}$;载气为氦气;流量为 3 mL/min;进样口气体控制方式为恒流模式;进样方式为脉冲不分流进样;进样体积为 1 μL 。程序升温初始柱温为 90 $^{\circ}\text{C}$,保持 1 min,再以 40 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 140 $^{\circ}\text{C}$,然后以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 200 $^{\circ}\text{C}$,再以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 300 $^{\circ}\text{C}$,最后以 40 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 335 $^{\circ}\text{C}$ 保持 5 min;接口温度 390 $^{\circ}\text{C}$,辅助气、锥孔气和尾吹气均为氮气,流量分别为 250、250 和 350 mL/min。

质谱条件:APGC 电离源正离子模式;电晕针放电电流为 3.5 μA 。离子源温度 150 $^{\circ}\text{C}$,接口温度 390 $^{\circ}\text{C}$,氮气做辅助气、锥孔气和尾吹气,流量分别为 250、250 和 350 mL/min;多反应监测模式(Multi-selected reaction monitoring, MRM)采集数据。

1.2.3 基质效应考察

美国临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)将基质效应定义为样品中的内源性基质对目标分析物测定的影响^[22]。基质抑制率的公式如下所示:

$$\text{基质抑制率}(\%) = (1 - B/A) \times 100\%$$

式中:A:标准溶液的峰面积;B:仪器分析前添加等浓度标准溶液的空白牛奶提取物的峰面积。

1.2.4 含水率和浓度折算

含水率的公式如下所示:

$$W(\%) = (M - m)/M \times 100\%$$

式中:W:含水率(%);M:样品冻干前质量(g);m:样品冻干后质量(g)。

干质量、湿质量下浓度的折算公式如下所示:

$$C_{\text{fw}} = C_{\text{dw}}/(1 + W)$$

式中: C_{fw} :样品湿质量下的浓度($\mu\text{g}/\text{L}$)(湿质量, fresh weight, fw); C_{dw} :样品干质量下的浓度($\mu\text{g}/\text{kg}$)(干质量, Dry weight, DW);W:含水率(%)。

1.2.5 质量控制

为了避免塑料容器所带来的背景污染,整个实验过程中均使用玻璃器皿,并且所有玻璃器皿都要在 400 $^{\circ}\text{C}$ 的马弗炉中烘烤 4 h 以上才能使用。此外,实验中用到的萃取液、流动相均使用色谱级的试剂,且需要现配现用。在实际样品检测中,每一批样品要做 3 个过程空白,用于评价操作过程和实验室的污染情况,空白样品中分析物的浓度满足本实验的要求(低于样品中典型分析物浓度的 5%)。

2 结果

2.1 色谱—质谱条件选择

用正己烷将 9 种 NBFRs 的标准储备液配制成 500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的混合标准溶液,进样体积为 1 μL ,在正离子模式下进行全扫描以选择适当的电离方式和分子离子峰,并确定目标化合物母离子质量数。之后采用子离子扫描模式对前驱离子进行扫描,选择峰面积较高、干扰较少的两个子离子,其中以响应值最高的子离子作为定量离子,另一个则作为定性离子。分别对锥孔电压、碰撞能量和电晕针放电电流进行优化。优化所得目标化合物的质谱参数见表 1。

2.2 前处理条件选择

加速溶剂萃取(Accelerate solvent extraction, ASE)是在较高的温度(50~200 $^{\circ}\text{C}$)和压力(1 000~3 000 psi)下用有机溶剂萃取固体或半固体的自动化方法。由于较高的温度能够减弱目标物分子与样品基质间的相互作用力,同时萃取池中增加的压力使溶剂保持在液体状态,增大对目标物的溶解能力,所以理论上能够大大提高提取效率。此外,本研究中目标物均为亲脂性,其 Log_{kow} 为 6.11(HBB)~11.1(DBDPE),根据相似相溶原理,需要采用弱极性的有机溶剂对其进行提取。分别采用正己烷/异丙醇(3:2, V/V)、丙酮/二氯甲烷(1:1, V/V)、甲醇/二氯甲烷(1:1, V/V)、正己烷/丙酮(3:1, V/V)、正己烷/二氯甲烷(1:1, V/V) 5 种有机溶剂对冻干牛奶样品中的 9 种 NBFRs 进行萃取试验。结果如图 1 所示,选择正己烷/二氯甲烷(1:1, V/V)作为萃取剂时,牛奶中目标化合物的提取效率最优,回收率为 74.03%~140.70%,可能的原因在于采用的 6 种有机溶剂(即甲醇、异丙醇、丙酮、乙酸乙酯、二氯甲烷、正己烷)中,二氯甲烷和正己烷的极性最弱,有利于亲脂性化合物的提取。

净化方法的选择:牛奶中富含蛋白质、脂肪等内源性干扰物质,可能导致 APGC-MS 对目标化合物分析的灵敏度下降,并且长时间的检测会导致脂类在仪器和色谱柱中聚集,大大降低仪器寿命。因此,在样品提取后,须对提取液进行进一步的净化处理,以降低基质效应。由于目标物属于脂溶性物质,与需要去除的脂肪性质相似,因此实验选择手动填充酸性硅胶-氧化铝层析柱和 GPC 进行样品纯化。

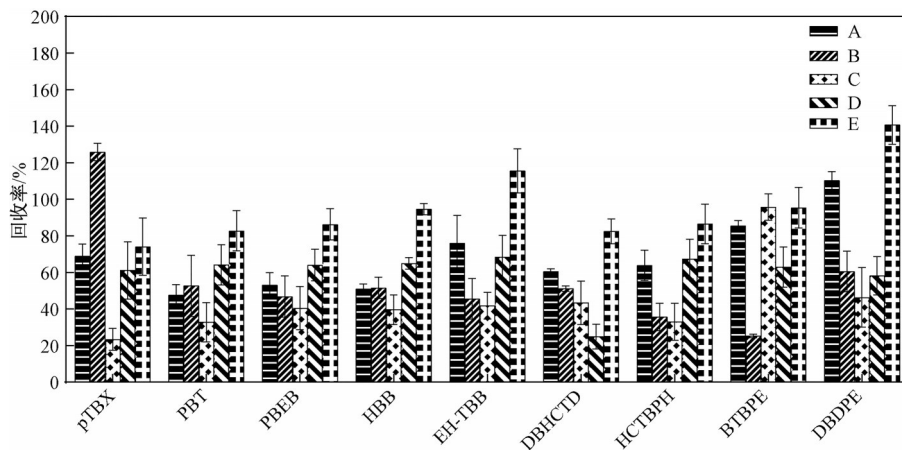
手动填充酸性硅胶-氧化铝层析柱的填充步骤:选择内径 1.5 cm,长 30 cm 的玻璃柱,在柱下端装入少量玻璃棉,然后自下而上依次填入 10 g 无水硫酸钠,5 g 中性氧化铝,2 g 中性硅胶,4 g 酸化硅胶,

表1 目标化合物的质谱参数

Table 1 Mass spectrometric parameters for the target compounds

化合物名称(英文名称)	保留时间/min	母离子/(<i>m/z</i>)	子离子/(<i>m/z</i>)	中性丢失	C.V./V	C.E./eV
二甲基四溴苯(2,3,5,6-Tetrabromo-p-xylene, pTBX)	7.15	421.5	261.4* 101.7	-Br ₂ -Br ₄	50	45
五溴甲苯(Pentabromotoluene, PBT)	9.78	487.2	327.1* 246.6	-Br -Br ₂	60	60
五溴乙苯(1,2,3,4,5-Pentabromo-6-ethylbenzene, PBEB)	10.47	501.3	486.3* 405.4	-CH ₃ -CH ₃ Br	50	40
六溴苯(Hexabromobenzene, HBB)	12.30	551.1	470.3* 391.4	-Br -Br ₂	60	50
2-乙基己基-四溴苯甲酸 (2-Ethylhexyl-2,3,4,5-tetrabromobenzoate, EH-TBB)	16.39	438.3	420.4* 313.5	-C ₂ H ₈ BrO -C ₄ H ₁₀ Br ₂ O	15	20
六氯环戊二烯-二溴环辛烷 (Hexachlorocyclopentadienyl-dibromocyclooctane, DBHCTD)	16.22	539.4	104.8* 140.9	-C ₁₀ H ₁₂ Cl ₄ Br ₂ -C ₁₀ H ₁₂ Cl ₃ Br ₂	45	20
1,2-双(2,4,6-三溴苯氧基)乙烷 (1,2-Bis(2,4,6-tribromo phenoxy)ethane, BTBPE)	19.38	687.1	358.5* 249.5	-C ₆ H ₂ Br ₃ O -C ₄ H ₆ Br ₄ O	35	15
四溴苯基六氯降冰片烯(Tetrabromophenyl) hexachloronorbornene, HCTBPH)	18.97	691.0	440.4* 215.7	-C ₂ Cl ₂ Br ₂ -C ₂ Cl ₄ Br ₄	15	10
十溴二苯乙烷(1,2-Bis(Pentabromophenyl) ethane, DBDPE)	23.07	498.4 970.9	259.9* 486.5	-Br ₃ -C ₇ H ₂ Br ₅	35	50 60

注:*表示定量离子;C.V.表示锥孔电压;C.E.表格碰撞能量



注:A:正己烷/异丙醇(3:2, V/V);B:丙酮/二氯甲烷(1:1, V/V);C:甲醇/二氯甲烷(1:1, V/V);
D:正己烷/丙酮(3:1, V/V);E:正己烷/二氯甲烷(1:1, V/V)

图1 提取溶剂对目标化合物提取效率的影响

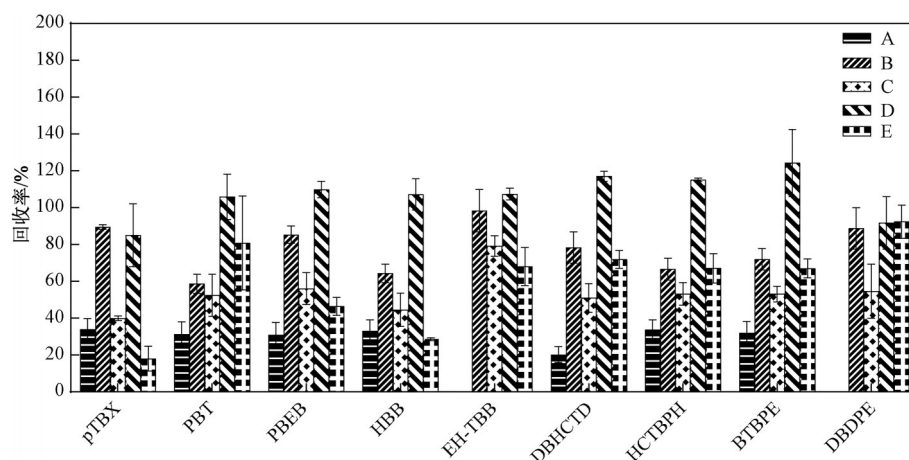
Figure 1 Effect of solvent on extraction efficiency of target compounds

2 g 中性硅胶和 10 g 无水硫酸钠。之后采用硅胶柱对样品进行前处理,先用 30 mL 正己烷/二氯甲烷(1:1, V/V)混合溶液活化硅胶柱,然后上样。用 60 mL 正己烷/二氯甲烷(1:1, V/V)混合溶液洗脱,洗脱液经旋转蒸发浓缩至 2 mL,之后转移到进样色谱小瓶中氮吹至干,100 μ L 正己烷复溶后,供 APGC-MS/MS 测定。

GPC 是利用分子筛原理按照待测物分子大小将其分离的技术,脂肪属于大分子,通过常压玻璃胶柱可以将目标物与脂肪分离。首先以大豆油和猪油加标(10 mg/L)进行预实验,流动相为乙酸乙酯/环己烷(1:1, V/V),流速为 4.7 mL/min,确定在该流速下脂肪及目标化合物出峰时间,脂肪于 0~10 min 全部流出,故此段馏分弃去,含有目标化合物峰的馏

分收集至 20 min。综上,确定 GPC 馏分收集段为 10~20 min。20~25 min 为冲洗凝胶柱时间。

目标化合物的回收率如图 2 所示,9 种目标物通过硅胶层析柱净化后其回收率低于 33.72%,而 GPC 处理的回收率优于前者,为 58.62%~98.33%。但是,仅采用 GPC 净化的基质抑制率为 29.63%~87.59%。因此,进一步考察浓硫酸的除脂效果,比较单独使用浓硫酸、GPC 处理前加入浓硫酸、GPC 处理后加入浓硫酸的净化效果。结果表明,GPC 处理后,加入浓硫酸进一步除脂的效果最优,其基质抑制率为 -59.20%~28.11%,脂肪的去除率为 80.02%,高于其他两种处理策略(65.91% 和 53.41%),并且此策略的回收率能满足检测的要求,为 84.94%~124.22%。



注:A:硅胶柱净化;B:GPC净化;C:浓硫酸净化;D:GPC结合浓硫酸净化;E:浓硫酸结合GPC净化

图2 不同净化方式处理对目标化合物回收率的影响

Figure 2 Recoveries of NBFRs using different purification methods

2.3 方法学验证

2.3.1 方法的定量限与线性关系

由于牛奶基质复杂,经过一系列的前处理后,目标化合物会有不同程度的损失,为了补偿前处理过程中的损失及基质效应,本实验采用稳定同位素内标稀释法定量。配制目标化合物的系列混合标准工作液,浓度设置为0.05、0.1、0.5、1、5、10和50 $\mu\text{g/L}$,同位素内标浓度为5 $\mu\text{g/L}$ 。以各种目标化合物和内标物的响应值之比与加标浓度($\mu\text{g/L}$, x)

绘制标准曲线,计算它们的线性方程及决定系数(R^2),结果显示,各目标化合物在表2所示的浓度范围内的线性良好, R^2 均 >0.99 。空白牛奶样品添加标准品后,经过前处理,最终在仪器上得到的信噪比(Signal/Noise, S/N)分别 ≥ 10 和 ≥ 3 的加标浓度值,即为方法的定量限(Limit of quantitation, LOQ)和检出限(Limits of detection, LOD),如表2所示,9种NBFRs在牛奶样品中的LOQ为0.0005~0.2952 $\mu\text{g/L}$ (fw),LOD为0.0002~0.0984 $\mu\text{g/L}$ (fw)。

表2 目标化合物的线性范围、决定系数、检出限、定量限、回收率和精密度

Table 2 Linear range, coefficient of determination, limits of quantification, recovery, and precision of the target compounds

成分	线性范围/ $(\mu\text{g/L})$	R^2	检出限/ $(\mu\text{g/L})$	定量限/ $(\mu\text{g/L})$	回收率/%	精密度/%
pTBX	0.05~50	0.9953	0.0003	0.0010	84.61~109.48	6.84~17.16
PBT	0.05~50	0.9942	0.0002	0.0005	74.54~85.94	7.93~17.33
PBEB	0.05~50	0.9971	0.0002	0.0005	87.34~94.17	8.31~18.68
HBB	0.05~50	0.9920	0.0040	0.0120	84.93~105.49	2.13~12.05
EH-TBB	0.05~50	0.9953	0.0120	0.0360	93.54~97.13	12.88~19.12
DBHCTD	0.05~50	0.9951	0.0984	0.2952	85.65~116.98	2.43~18.64
BTBPE	0.05~50	0.9959	0.0106	0.0318	84.11~109.78	7.15~9.14
HCTBPH	0.05~50	0.9936	0.0184	0.0552	73.94~112.6	11.31~19.30
DBDPE	0.05~50	0.9987	0.0461	0.1383	100.61~105.59	3.22~15.84

分别在空白牛奶样品中加入低、中、高3个不同浓度的混合标准品溶液,评估该方法的回收率,每个浓度设置6个平行,以考察方法的精密度。加标浓度分别按照LOQ的2、5和10倍浓度添加,实验结果如表2所示,9种NBFRs的加标回收率为73.94%~116.98%,相对标准偏差(RSD)不大于19.30%,表明该方法的准确度和精密度均满足定量分析的要求。

2.4 实际样品检测

从当地超市购买了不同品牌的22种预包装牛奶样品。应用建立好的方法定量分析牛奶样品中的NBFRs。图3展示了实际(No. 10)和基质匹配样品(50 $\mu\text{g/L}$)的典型APGC-MS色谱图。牛奶样品

中目标化合物的浓度水平如表3所示。在检测的牛奶样品中,PBT、PBEB、EH-TBB、BTBPE和DBDPE是主要的污染物,其检出率分别为86.36%、100.00%、54.55%、50.00%和54.55%,浓度范围分别为0.001~0.20 $\mu\text{g/L}$ (fw)、 $<\text{LOQ}$ ~0.15 $\mu\text{g/L}$ (fw)、 $<\text{LOQ}$ ~0.06 $\mu\text{g/L}$ (fw)、 $<\text{LOQ}$ ~0.11 $\mu\text{g/L}$ (fw)和 $<\text{LOQ}$ ~0.85 $\mu\text{g/L}$ (fw)。此外HBB在5份样本中有检出,检出浓度为 $<\text{LOQ}$ $\mu\text{g/L}$ (fw),而pTBX、DBHCTD和HCTBPH在所有样本中均未检出。

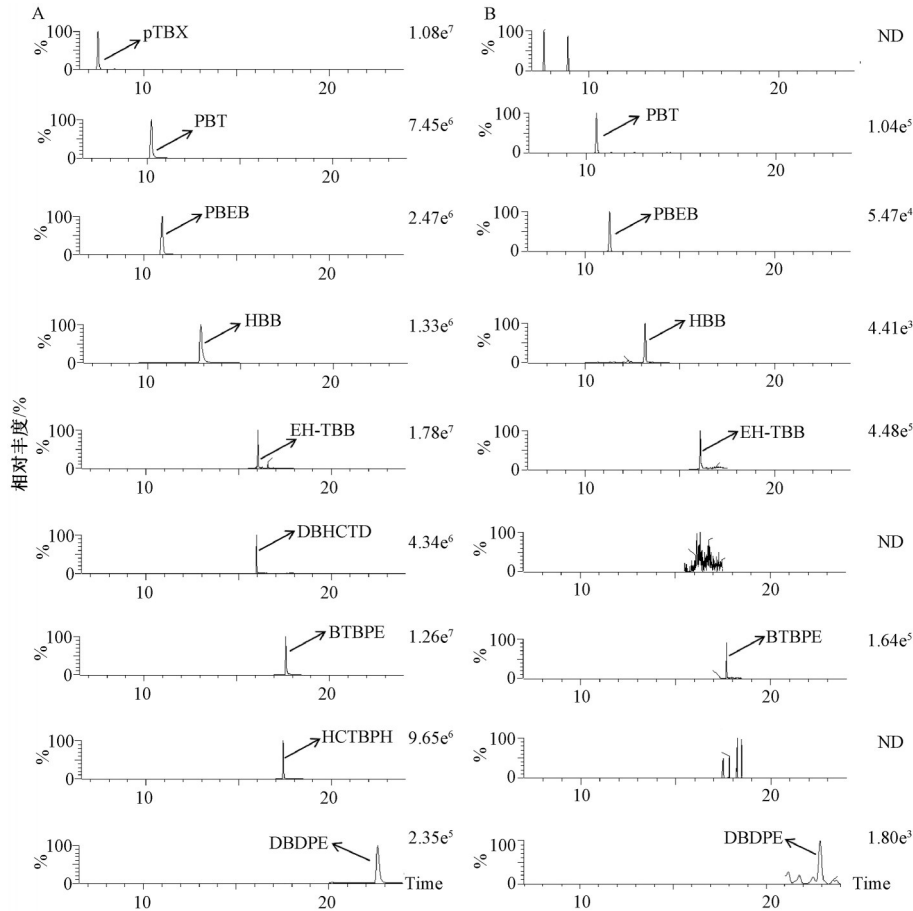
3 结论

本文建立了测定食品基质中9种NBFRs残留的超高效液相色谱-串联质谱法。冻干牛奶样品经

表3 牛奶样品中9种NBFRs的浓度($\mu\text{g/L fw}$)Table 3 Concentration of 9 NBFRs in real milk samples ($\mu\text{g/L fw}$)

	pTBX	PBT	PBEB	HBB	EH-TBB	DBHCTD	BTBPE	HCTBPH	DBDPE
GM	0.001	0.01	0.04	0.01	0.03	0.21	0.03	0.04	0.16
AM	0.001	0.04	0.05	0.01	0.03	0.21	0.03	0.04	0.22
range	ND	0.001~0.20	<LOQ~0.15	<LOQ	<LOQ~0.06	ND	<LOQ~0.11	ND	<LOQ~0.85
DR/%	0.00	86.36	100.00	22.73	54.55	0.00	50.00	0.00	54.55

注:ND表示低于方法检出限;<LOQ表示低于方法定量限;GM表示几何平均值;AM表示算术平均值;DR表示检出率



注:(A)基质匹配(50 $\mu\text{g/L}$);(B)实际牛奶样品(ND表示低于方法检出限)

图3 9种NBFRs的色谱图

Figure 3 Chromatograms of 9 NBFRs

正己烷/二氯甲烷(1:1, V/V)提取后,采用 GPC 净化,浓硫酸进一步除脂后进行 APGC-MS/MS 分析。方法的定量限为 0.000 5~0.295 2 $\mu\text{g/L fw}$,加标回收率为 73.94%~116.98%,RSD 不大于 19.30%。本方法灵敏度高,精密度和准确度好,可用于牛奶中 9 种 NBFRs 的同时测定。

参考文献

- [1] IHS Markit. Flame Retardants-Specialty Chemicals Update Program (SCUP) [R]. 2020: 1-202.
- [2] COVACI A, HARRAD S, ABDALLAH M A E, et al. Novel brominated flame retardants: A review of their analysis, environmental fate and behaviour[J]. Environment International, 2011, 37 (2): 532-556.
- [3] PAPACHLIMITZOU A, BARBER J L, LOSADA S, et al. A review of the analysis of novel brominated flame retardants[J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1219: 15-28.
- [4] STIEGER G, SCHERINGER M, NG C A, et al. Assessing the persistence, bioaccumulation potential and toxicity of brominated flame retardants: Data availability and quality for 36 alternative brominated flame retardants [J]. Chemosphere, 2014, 116: 118-123.
- [5] KURAMOCHI H, TAKIGAMI H, SCHERINGER M, et al. Estimation of physicochemical properties of 52 non-PBDE brominated flame retardants and evaluation of their overall persistence and long-range transport potential[J]. Science of the Total Environment, 2014, 491-492: 108-117.
- [6] NAKARI T, HUHTALA S. *In vivo* and *in vitro* toxicity of decabromodiphenyl ethane, a flame retardant[J]. Environmental Toxicology, 2010, 25 (4): 333-338.
- [7] WANG F X, WANG J, DAI J Y, et al. Comparative tissue distribution, biotransformation and associated biological effects by decabromodiphenyl ethane and decabrominated diphenyl ether

- in male rats after a 90-day oral exposure study[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44 (14): 5655-5660.
- [8] CHU I, VILLENEUVE D C, MCDONALD B, et al. Pentachlorotoluene and pentabromotoluene: Results of a subacute and a subchronic toxicity study in the rat [J]. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 1987, 22 (3): 303-317.
- [9] SMYTHE T A, BUTT C M, STAPLETON H M, et al. Impacts of unregulated novel brominated flame retardants on human liver thyroid deiodination and sulfotransferation [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51 (12): 7245-7253.
- [10] DISHAW L V, J MACAULAY L, ROBERTS S C, et al. Exposures, mechanisms, and impacts of endocrine-active flame retardants[J]. *Current Opinion in Pharmacology*, 2014, 19: 125-133.
- [11] XU F C, TAY J H, COVACI A, et al. Assessment of dietary exposure to organohalogen contaminants, legacy and emerging flame retardants in a Norwegian cohort [J]. *Environment International*, 2017, 102: 236-243.
- [12] SHI Z X, ZHANG L, LI J G, 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. *Environment International*, 2016, 96: 82-90.
- [13] 马广旭, 肖湘怡, 杨祯妮, 等. 我国城乡居民牛奶消费行为与营养认知状况研究——基于6省(区、市)886份问卷调查[J]. *中国乳业*, 2020(6): 40-45.
- MA G X, XIAO X Y, YANG Z N, et al. Research on milk consumption behavior and nutritional awareness of urban and rural residents in China—Based on 886 questionnaires in 6 provinces [J]. *China Dairy Industry*, 2020 (6): 40-45.
- [14] 杨辉, 史海青, 史学伟, 等. 基于k-means聚类的我国乳制品消费集群研究——来自全国31个省份乳制品消费数据的分析[J]. *中国乳品工业*, 2019, 47(10): 41-45.
- YANG H, SHI H Q, SHI X W, et al. A study of dairy consumption clusters in China based on k-means clustering—an analysis of dairy consumption data from 31 provinces in China [J]. *China Dairy Industry*, 2019, 47(10): 41-45.
- [15] 中国营养学会. 中国居民膳食指南: 2016 科普版[J]. 北京: 人民卫生出版社, 2016.
- Chinese Nutrition Society. *Dietary Guidelines for Chinese Residents: 2016 Scientific Edition* [J]. Beijing: People's Health Publishing House, 2016.
- [16] GRUBER B, DAVID F, SANDRA P. Capillary gas chromatography-mass spectrometry: Current trends and perspectives [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2020, 124: 115475.
- [17] LI D X, GAN L, BRONJA A, et al. Gas chromatography coupled to atmospheric pressure ionization mass spectrometry (GC-API-MS): Review[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2015, 891: 43-61.
- [18] NIU Y M, LIU J F, YANG R H, et al. Atmospheric pressure chemical ionization source as an advantageous technique for gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2020, 132: 116053.
- [19] PICO Y, ALFARHAN A H, BARCELO D. How recent innovations in gas chromatography-mass spectrometry have improved pesticide residue determination: An alternative technique to be in your radar [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2020, 122: 115720.
- [20] FANG J, ZHAO H Z, ZHANG Y H, et al. Atmospheric pressure chemical ionization in gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of persistent organic pollutants [J]. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 2020, 25: e00076.
- [21] EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain. Scientific opinion on emerging and novel brominated flame retardants (BFRs) in food [J]. *EFSA Journal*, 2012, 10 (10): 2908.
- [22] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP14-A2 Evaluation of matrix effects, approved guideline, second edition [S]. 2005 (25): 1-25.