

为提取时间。

### 3.3 流动相的选择

曲酸极性较强,在反相色谱柱上保留不强,相反,MMTD的保留较强,故本试验采用梯度洗脱。若流动相为乙腈-水系统时,曲酸、MMTD的峰形均较宽,曲酸峰形拖尾,MMTD峰形前延。将流动相改为乙腈-0.1%磷酸系统后,曲酸、MMTD均峰形对称,MMTD的保留时间延长,表明酸性流动相有利于曲酸、MMTD的色谱保留。

### 3.4 进样体积的选择

进样体积为1 μl时,曲酸、MMTD均峰形良好。进样体积≥2 μl时,曲酸峰分裂,但MMTD峰形良好。将1.2.1中供试品溶液用水稀释1倍后,吸取2 μl进样测定,结果曲酸峰的峰形对称,无分裂现象,但进样体积为5 μl时曲酸峰仍分裂。曲酸峰分裂的原因是由于供试品溶液的溶剂(乙腈)与曲酸出峰时的流动相组成(仅含8%乙腈)相差太大,进样体积大时,两种溶剂在短时间内不能完全互溶,故造成峰分裂。将供试品溶液用水稀释1倍后有助于进样溶剂与流动相的互溶,但增加了分析步骤。为缩短分析时间,将进样体积定为1 μl。

### 3.5 测定波长的选择

光谱扫描表明,曲酸分别在216、269 nm波长处有最大吸收,MMTD在300 nm波长处有最大吸收。为增强检测方法的专属性和灵敏度,选择269和300 nm作为测定波长。

### 参考文献

- [1] 陶文沂,孙微,许正宏,等.曲酸在食品中的应用[J].中国食品添加剂,2000(2):26-31.
- [2] 李学如,王艳,孟涛.食品中曲酸安全性评价研究进展[J].食品与发酵工业,2005,31(12):79-83.
- [3] 陈永红,邹志飞,王岚,等.曲酸对动物的毒性研究及安全性评价[J].食品科学,2007,28(9):536-540.
- [4] 我国关于加强出口日本食品化妆品中曲酸检验有关问题的通知[J].食品与发酵工业,2003,29(9):55.
- [5] 何江.噻二唑类化合物杀菌活性的研究进展[J].广州化工,2011,39(14):1-3.
- [6] 葛成林,欧阳贵平,贺宝安,等.含1,3,4-噻二唑的噻吩类化合物的合成与杀菌活性研究[J].精细化工中间体,2012,42(6):17-21.
- [7] ZHANG J P, MENG J, LI Y P, et al. Investigation of the toxic functional group of cephalosporins by zebrafish embryo toxicity test[J]. Arch Pharm Chem Life Sci, 2010(10):553-560.
- [8] 聂西度,谢华林,谭文莉,等.食品中曲酸的色谱分析[J].食品科学,2005,26(7):205-207.
- [9] 赵珊,李业鹏,赵海燕,等.离子对高效液相色谱法分析米曲霉发酵液中的曲酸[J].卫生研究,2003,32(4):384-385.
- [10] 柳松.高效液相色谱法同时测定化妆品中抗坏血酸磷酸酯镁、熊果苷和曲酸[J].色谱,2004,22(6):660.
- [11] 葛宝坤,周荣,高建会,等.高效液相色谱法快速测定化妆品中的防晒剂曲酸[J].中国卫生检验杂志,2005,15(12):1462-1463.
- [12] 顾慧莹,张颖,赵丽莉.高效液相色谱法测定面粉中的曲酸[J].农业机械,2013,3(9):65-66.
- [13] 哈晴,表亚因,张亚莉,等.头孢唑林钠中杂质噻二唑的分离与分析[J].河北大学学报:自然科学版,2009,29(6):614-617.
- [14] 黄娟,刘艳,丁涛,等.高效液相色谱-串联质谱法测定食品中曲酸[J].色谱,2012,30(6):578-583.
- [15] 温泉,孔佳,顾蓓丽.液质联用测定食品中微量曲酸的研究[J].现代食品科技,2010,26(7):1028-1030.

## 实验技术与方法

# 气相色谱-三重四极杆质谱法测定果汁中邻苯二甲酸酯含量

姚铭栋

(安阳市疾病预防控制中心,河南 安阳 455000)

**摘要:**目的 建立一种同时测定果汁中16种邻苯二甲酸酯的气相色谱-三重四极杆质谱(GC-MS/MS)方法,了解安阳市内销售的果汁中邻苯二甲酸酯含量的现状。方法 样品经正己烷提取,固相萃取玻璃小柱净化,萃取液经氮吹浓缩后,以GC-MS/MS测定,外标法定量。结果 16种邻苯二甲酸酯在24 min内流出并完全分离,在5~5 000 μg/L范围内相关系数 $r^2$ 均>0.99,在3个水平的加标试验中,RSD为0.1%~6.1%,样品加标回收率为78%~106%,定性检出限为0.1~0.5 μg/L。结论 该方法通过优化气相色谱条件,使16种邻苯二甲酸酯得到较好分离;选取丰度高的特征离子、最佳的碰撞能量,用GC-MS/MS检测特征离子的二级离子,可减少干扰,避免假阳性的出现,提高灵敏度。该方法操作简单、准确度和精密度高,适用于果汁中邻苯二甲酸酯的检测和确证。

**关键词:**邻苯二甲酸酯;固相萃取;气相色谱-三重四极杆质谱;果汁;塑化剂;食品污染物;食品安全

**中图分类号:**R155;TQ414.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-8456(2014)04-0357-06

**DOI:**10.13590/j.cjfh.2014.04.014

## Determination of phthalic acid esters in juice using gas chromatography-tandem mass spectrometry

YAO Ming-dong

(Anyang Center for Disease Control and Prevention, Henan Anyang 455000, China)

**Abstract: Objective** To optimize gas chromatography and mass spectrometry conditions, establish a method for determination of 16 phthalic acid esters in juice using gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS), and investigate the contamination level in juice in Anyang City. **Methods** The samples were extracted by hexanes, purified with ProElut PSA Glass column, concentrated by nitrogen drying and then determined by GC-MS/MS using external standard method. **Results** 16 phthalic acid esters were separated completely within 24 minutes. The linearity of 16 phthalic acid esters was 5-5 000  $\mu\text{g/L}$  with correlation coefficients ( $r^2$ ) above 0.99. The relative standard deviations (RSDs) were in the range of 0.1% -6.1%. Recoveries ranged from 78% to 106% for all compounds at three different spiked levels. The limits of detection were 0.1-0.5  $\mu\text{g/L}$ . **Conclusion** 16 phthalic acid esters were better separated in the suitable conditions of gas chromatography. Choosing the highest and most abundant mass precursor ion and the best collision energy, the detection of product ion by GC-MS/MS could reduce the background and improve the sensitivity. The method was simple, accurate and sensitive. It was suitable for the determination of phthalic acid esters in juice.

**Key words:** Phthalic acid esters; solid phase extraction; gas chromatography-tandem mass spectrometry; juice; plasticizer; food contaminant; food safety

邻苯二甲酸酯类物质 (PAEs) 是酯类化合物中较难降解的一类持久性有机污染物 (POPs), 也是公认的环境内分泌干扰物。PAEs 作为塑化剂目前被广泛应用于玩具、食品包装材料、医用血袋和胶管制品、高分子塑胶产品等数百种产品中<sup>[1]</sup>, 可以改变人体荷尔蒙中的雌激素水平, 从而导致严重的健康问题, 如癌症、生殖及发育损害等。近年来, 关于 PAEs 对环境造成危害的报道屡见不鲜<sup>[2-3]</sup>。2011年5月24日, 中国台湾地区有关方面向国家质检总局通报, 发现中国台湾制售的食品添加剂“起云剂”含有化学成分邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 (DEHP), 该“起云剂”已用于部分饮料等产品的生产加工<sup>[4]</sup>。2011年6月1日, 我国卫生部将 17 种 PAEs 列为违法添加的非食用物质<sup>[5]</sup>。塑化剂的检测及污染研究已在国内引起人们的重视<sup>[6-7]</sup>。至今为止, PAEs 的测定方法主要有气相色谱-质谱法 (GC-MS) 和液相色谱-质谱法 (LC-MS), 大多数针对塑料制品、电子电器产品或环境样品的测定, 也有针对食品检测的报道<sup>[8]</sup>。GC-MS 检出限较气相色谱-三重四极杆质谱法 (GC-MS/MS) 高, 但我国暂时未出台对 PAEs 限量标准, 本文参考国标方法<sup>[9]</sup>, 建立了同时测定果汁中 16 种邻苯二甲酸酯的 GC-MS/MS 检测方法。

## 1 材料与方 法

### 1.1 主要仪器与试剂

7890GC-7000MS 气相色谱-质谱联用仪 (美国 Agilent)、氮吹仪 (美国 Organomation Associates)、涡

旋混匀器 (美国 Scientific Industries)、ProElut PAS Glass (1 g/6 ml, 中国 Dikma Technologies)。

16 种 PAEs 混合标准溶液 (1.0 mg/ml): 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)、邻苯二甲酸二(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), 批号: 1607700, 购于中国 Dikma Technologies; 正己烷 (批号: 095162, 纯度 > 98.0% 美国 Fisher)、丙酮 (批号: K52E30, 纯度 > 99.8% 美国 J. T. Baker)、硫酸钠 (优级纯, 纯度 > 99.0% 天津市津北精细化工有限公司)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 样品前处理

提取: 称取 5.0 g (准确到 0.1 mg) 充分混匀的果汁样品于 10 ml 具塞离心管中, 加 5 ml 正己烷涡旋混匀 2 min, 4 000 r/min 离心 10 min, 转移上清液至干净的试管中, 再以正己烷重复提取 2 次, 合并 3 次上清液, 40  $^{\circ}\text{C}$  下氮吹至 5 ml, 待净化。

净化: 向净化小柱中加入 1 g 无水硫酸钠, 依次加入丙酮、正己烷各 5 ml 活化柱子; 加入待测液上样; 依次加入正己烷、4% 丙酮-正己烷溶液各 5 ml 进行洗脱, 收集洗脱液。40  $^{\circ}\text{C}$  水浴中氮

气吹至近干,以正己烷定容至 1 ml,待 GC-MS/MS 测定。

### 1.2.2 仪器条件

色谱条件:色谱柱为 HP-5MS(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)弹性石英毛细管柱,进样口温度 250 ℃,升温程序:初始柱温 70 ℃,恒温 1 min,以 20 ℃/min 升温至 220 ℃,保持 1 min,再以 5 ℃/min 升温至 280 ℃,保持 4 min;流速 1.0 ml/min,进样量 1.0 μl,不分流,载气 He。

质谱条件:EI 离子源温度 230 ℃,电子能量 70 eV,扫描范围  $m/z$  40~600,四极杆温度 150 ℃,传输线温度 280 ℃,碰撞气  $N_2$ ,溶剂延迟 6 min。

## 2 结果与分析

### 2.1 色谱条件的优化

试验 0.8、1.0、1.2 ml/min 不同的载气流速和不同的阶梯升温方式(另一种阶梯升温方式是升温速率均翻倍),选择全部组分既能完全分离又能比较快速流出的柱流速和阶梯升温方式,优化后的色谱条件同 1.2.2。

### 2.2 特征离子的选择

在 1.2.2 色谱条件下,以 GC-MS/MS 在  $m/z$  40~600 范围内对 16 种 PAEs 混合标准溶液进行全扫描,再比对 NIST2.0 图库,确定各组分的保留时间和特征离子,见表 1。

表 1 邻苯二甲酸酯质谱参数

Table 1 Main MS parameters of the 16 PAEs

名称	时间/min	母离子	碰撞能量 1/eV	子离子 1	碰撞能量 2/eV	子离子 2
邻苯二甲酸二甲酯	7.811	163	25	77	30	92
邻苯二甲酸二乙酯	8.671	149	25	65	15	93
邻苯二甲酸二异丁酯	10.415	149	30	65	20	93
邻苯二甲酸二丁酯	11.160	149	25	65	20	93
邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	11.497	104	10	76	30	50
邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯	12.211	149	30	65	20	93
邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯	12.563	149	25	65	15	93
邻苯二甲酸二戊酯	12.935	149	25	65	20	93
邻苯二甲酸二己酯	15.066	149	30	65	20	93
邻苯二甲酸丁基苄基酯	15.217	149	25	65	20	93
邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯	16.670	149	25	65	15	93
邻苯二甲酸二环己酯	17.324	149	30	65	20	93
邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	17.565	149	30	65	20	93
邻苯二甲酸二苯酯	17.686	225	25	77	20	141
邻苯二甲酸二正辛酯	19.954	149	30	65	20	93
邻苯二甲酸二壬酯	22.473	149	30	65	20	93

### 2.3 产物离子和碰撞能量的选择

依据各组分的保留时间分成若干个时间段,对不同时间段内的标准物质的特征离子在 5~40 eV 碰撞能量间进行扫描,以确定各标准物质丰度最高的二级离子和最佳碰撞能量(见表 1)。以邻苯二甲酸(2-乙基)己酯标准物质确定子离子、碰撞能量的过程(如图 1)为例,子离子  $m/z$  65 丰度最高时的最佳碰撞能量为 30 eV;子离子  $m/z$  93 丰度最高时的最佳碰撞能量为 20 eV。

### 2.4 总离子流

依据优化的仪器条件,16 种 PAEs 标准组分在 24 min 内快速流出,并得到较好的分离,本条件尤其适合大批量样品的分析,总离子流图见图 2。

### 2.5 线性范围与检出限

配制浓度为 5、25、50、250、500、2 500 和 5 000 μg/L 的混合标准溶液,利用优化的仪器条件制作曲线,线性范围见表 2;随机选取 1 份阴性样品提取液,加入 5 μg/L 混合标准溶液,以 3 倍信噪比计算 16 种 PAEs 检出限(见表 2)。响应最低的邻苯二甲

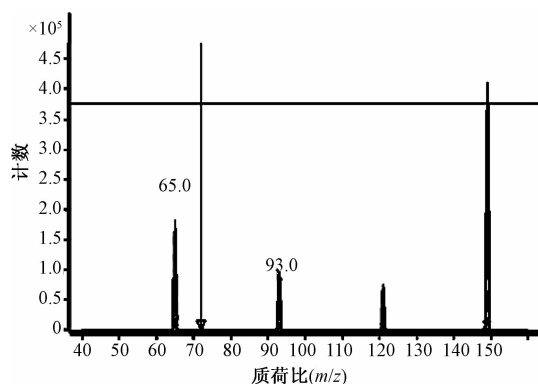
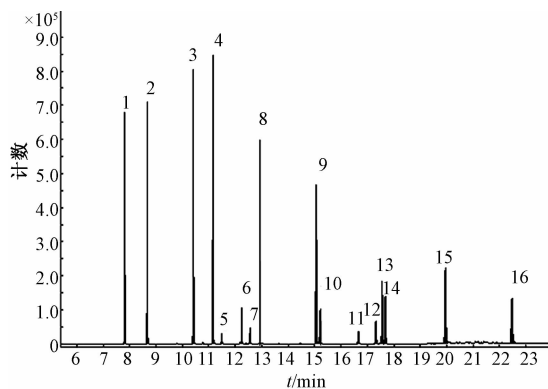


图 1 邻苯二甲酸(2-乙基)己酯子离子和碰撞能量选择图  
Figure 1 Product ion and collision energy optimization of DEHP

酸二(2-丁氧基)乙酯离子流信噪比见图 3。

### 2.6 准确度与精密度

选取 1 份阴性样品,进行 1 倍检出限、2 倍检出限和 10 倍检出限 3 个不同水平的加标回收试验,按照 1.2.1 方法处理,各水平进行 6 份平行测定,计算 16 种 PAEs 的回收率和相对标准偏差(见表 3),样品加标回收率在 78%~106% 之间,相对标准偏差



注:1. 邻苯二甲酸二甲酯(DMP), 2. 邻苯二甲酸二乙酯(DEP), 3. 邻苯二甲酸二异丁酯(DIBP), 4. 邻苯二甲酸二丁酯(DBP), 5. 邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯(DMEP), 6. 邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯(BMPP), 7. 邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯(DEEP), 8. 邻苯二甲酸二戊酯(DPP), 9. 邻苯二甲酸二己酯(DHXP), 10. 邻苯二甲酸丁基苄基酯(BBP), 11. 邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯(DBEP), 12. 邻苯二甲酸二环己酯(DCHP), 13. 邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP), 14. 邻苯二甲酸二苯酯(DPHP), 15. 邻苯二甲酸二正辛酯(DNOP), 16. 邻苯二甲酸二壬酯(DNP)

图2 16种PAEs总离子流图

Figure 2 Total ion current Chromatograph of 16 PAEs Standards

表2 PAEs标准溶液线性范围和检出限

Table 2 Linear rang and detection limit of the 16 PAEs standards

名称	标准曲线	线性范围 /( $\mu\text{g/L}$ )	检出限 /( $\mu\text{g/L}$ )
邻苯二甲酸二甲酯	$y = 257.548x - 4761.2$	5 ~ 5 000	0.1
邻苯二甲酸二乙酯	$y = 221.158x - 3370.3$	5 ~ 5 000	0.1
邻苯二甲酸二异丁酯	$y = 325.238x - 8094.7$	5 ~ 5 000	0.1
邻苯二甲酸二丁酯	$y = 380.883x - 10434.6$	5 ~ 5 000	0.1
邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	$y = 20.964x - 1666.6$	25 ~ 5 000	0.4
邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯	$y = 74.608x - 7512.9$	25 ~ 5 000	0.4
邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯	$y = 40.942x - 3277.9$	25 ~ 5 000	0.3
邻苯二甲酸二戊酯	$y = 385.266x - 21517.6$	5 ~ 5 000	0.1
邻苯二甲酸二己酯	$y = 381.493x - 26597.5$	5 ~ 5 000	0.1
邻苯二甲酸丁基苄基酯	$y = 125.258x - 14572.9$	25 ~ 5 000	0.3
邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯	$y = 52.308x - 5856.1$	25 ~ 5 000	0.5
邻苯二甲酸二环己酯	$y = 116.448x - 17293.8$	25 ~ 5 000	0.3
邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	$y = 200.759x - 18109.6$	5 ~ 5 000	0.2
邻苯二甲酸二苯酯	$y = 227.938x - 25061.3$	5 ~ 5 000	0.2
邻苯二甲酸二正辛酯	$y = 331.101x - 36250.9$	5 ~ 5 000	0.2
邻苯二甲酸二壬酯	$y = 274.161x - 35759.2$	5 ~ 5 000	0.2

在0.1% ~ 6.1%之间,准确度和精密密度满足分析要求。加标10倍检出限离子流见图4。

## 2.7 样品分析结果

采用本试验所建立方法检验样品50份,检出率

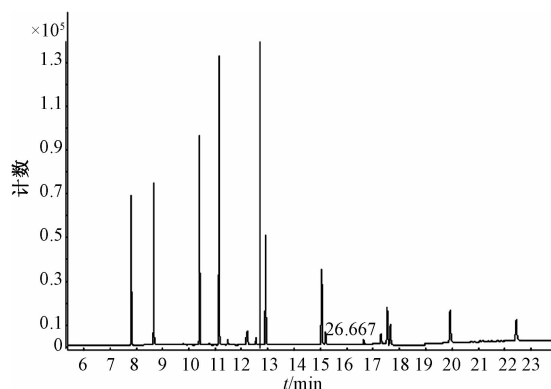
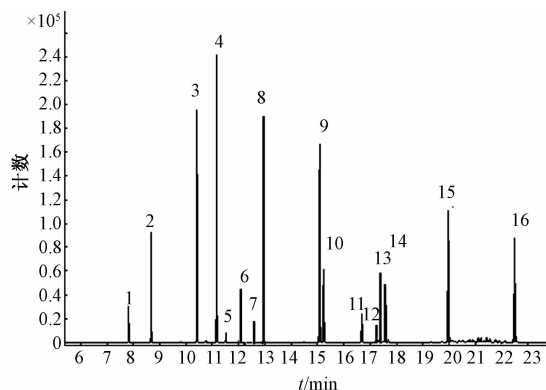


图3 邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯信噪比图

Figure 3 Signal-to-noise of DBEP



注:1. 邻苯二甲酸二甲酯(DMP), 2. 邻苯二甲酸二乙酯(DEP), 3. 邻苯二甲酸二异丁酯(DIBP), 4. 邻苯二甲酸二丁酯(DBP), 5. 邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯(DMEP), 6. 邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯(BMPP), 7. 邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯(DEEP), 8. 邻苯二甲酸二戊酯(DPP), 9. 邻苯二甲酸二己酯(DHXP), 10. 邻苯二甲酸丁基苄基酯(BBP), 11. 邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯(DBEP), 12. 邻苯二甲酸二环己酯(DCHP), 13. 邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP), 14. 邻苯二甲酸二苯酯(DPHP), 15. 邻苯二甲酸二正辛酯(DNOP), 16. 邻苯二甲酸二壬酯(DNP)

图4 10倍检出限加标离子流图

Figure 4 Total ion current chromatograph of the 10 times LOD

为84%(42/50),主要检出邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯、邻苯二甲酸二丁酯、邻苯二甲酸二异丁酯、邻苯二甲酸二己酯4类PAEs,检出结果见表4。测定的阳性样品离子流如图5所示。

## 3 小结

本试验结果表明,塑料瓶装果汁饮料中PAEs检出率较高,但含量并未超出GB 9685—2008《食品容器、包装材料用添加剂使用卫生标准》<sup>[10]</sup>规定的塑料食品包装材料中邻苯二甲酸二丁酯和邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯的特定迁移量(分别为0.3和1.5 mg/L),远低于中国台湾塑化剂风波中邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯的检出浓度,因此认为添加塑

表3 16种PAEs的加标回收率和精密度  
Table 3 Spiked recoveries and relative standard deviations of 16 PAEs

名称	加标水平/( $\mu\text{g/L}$ )			加标回收率/%			RSD/%		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
邻苯二甲酸二甲酯	0.1	0.2	1.0	80	85	93	2.6	3.0	0.9
邻苯二甲酸二乙酯	0.1	0.2	1.0	91	90	89	1.0	0.5	1.3
邻苯二甲酸二异丁酯	0.1	0.2	1.0	92	105	103	3.2	0.8	0.7
邻苯二甲酸二丁酯	0.1	0.2	1.0	82	97	102	4.0	1.1	0.1
邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	0.4	0.8	4.0	95	90	95	3.5	1.2	0.5
邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯	0.4	0.8	4.0	87	99	98	2.1	3.1	0.6
邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯	0.3	0.6	3.0	97	89	95	3.4	2.9	2.1
邻苯二甲酸二戊酯	0.1	0.2	1.0	92	99	101	5.2	2.2	0.7
邻苯二甲酸二己酯	0.1	0.2	1.0	91	86	90	4.9	2.8	0.5
邻苯二甲酸丁基苄基酯	0.3	0.6	3.0	83	106	98	3.8	3.7	0.5
邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯	0.5	1.0	5.0	88	86	93	4.5	0.9	1.0
邻苯二甲酸二环己酯	0.3	0.6	3.0	86	81	89	1.2	0.3	2.1
邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	0.2	0.4	2.0	82	89	96	4.9	0.5	0.8
邻苯二甲酸二苯酯	0.2	0.4	2.0	80	89	103	6.1	2.6	0.4
邻苯二甲酸二正辛酯	0.2	0.4	2.0	78	87	105	2.4	3.2	1.0
邻苯二甲酸二壬酯	0.2	0.4	2.0	83	103	99	3.2	2.7	2.1

表4 果汁样品中PAEs检出结果( $\mu\text{g/kg}$ )

Table 4 Results of 16 PAEs in juice

样品序号	邻苯二甲酸二丁酯	邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	邻苯二甲酸二异丁酯	邻苯二甲酸二己酯	样品序号	邻苯二甲酸二丁酯	邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	邻苯二甲酸二异丁酯	邻苯二甲酸二己酯
1	7.3	ND	ND	ND	22	ND	2.0	ND	ND
2	ND	5.2	ND	ND	23	0.6	ND	ND	ND
3	ND	1.0	ND	ND	24	ND	5.1	ND	ND
4	3.6	ND	9.2	ND	25	ND	6.8	ND	ND
5	ND	ND	ND	5.4	26	2.0	ND	ND	ND
6	ND	6.8	ND	ND	27	ND	3.2	ND	ND
7	11.0	ND	ND	ND	28	4.2	ND	ND	ND
8	0.9	ND	ND	ND	29	ND	6.5	ND	ND
9	ND	ND	3.1	ND	30	ND	4.3	ND	ND
10	ND	8.2	ND	ND	31	ND	3.9	ND	ND
11	9.5	ND	ND	ND	32	3.7	2.6	ND	ND
12	ND	4.6	ND	ND	33	5.6	ND	ND	ND
13	3.9	7.2	ND	ND	34	0.7	ND	ND	ND
14	8.9	ND	ND	ND	35	0.3	ND	ND	ND
15	6.3	ND	ND	ND	36	ND	ND	2.9	ND
16	ND	7.2	ND	ND	37	ND	6.7	ND	ND
17	ND	3.1	ND	ND	38	ND	10.0	ND	ND
18	ND	6.4	ND	ND	39	2.9	ND	ND	ND
19	2.8	ND	ND	ND	40	6.8	ND	ND	ND
20	ND	ND	ND	0.9	41	ND	7.9	ND	ND
21	ND	ND	3.4	ND	42	ND	3.5	ND	ND

注:ND为未检出

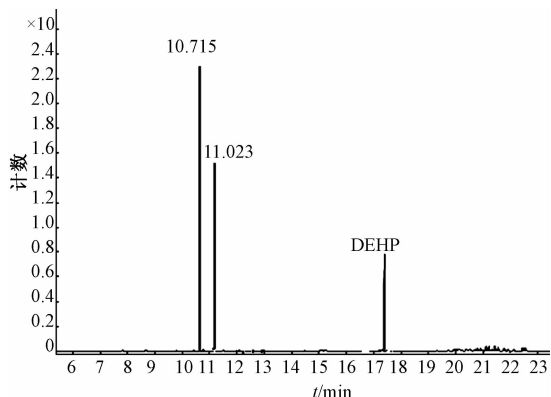


图5 阳性样品离子流图

Figure 5 Ion current chromatograph of positive sample

试验采用玻璃柱固相萃取,GC-MS/MS同时测定果汁中16种塑化剂的含量,操作简单,分析时间短;所建立方法利用最佳的碰撞能量选取物质特征离子的二级离子进行定性、定量,减少基质的干扰,适合果汁中痕量塑化剂的检出。

参考文献

[1] 刘楠,马新华,陈翔,等.水与食品中邻苯二甲酸酯类物质检测技术研究进展[J].中华预防医学杂志,2012,46(1):89-91.  
 [2] 赵文红.酞酸酯类增塑剂毒理研究进展[J].环境与职业医学,2003,20(2):135-138.  
 [3] 王小逸,林光桃,容慧明,等.北京地区家庭中邻苯二甲酸酯类环境污染物的调查[J].环境与健康杂志,2007,24(10):820-821.  
 [4] 王淑惠,刘印平,王丽.气相色谱串联质谱快速检测植物油中邻苯二甲酸酯[J].应用化工,2013,42(2):376-379.

化剂的可能性很小。

- [5] 宋继霞,杨正慧,陈乐群. 食品中邻苯二甲酸酯类塑化剂的测定及迁移研究进展[J]. 化学分析计量, 2013, 22(1): 100-102.
- [6] 郑和辉,赵立文,刘玉敏,等. 饮用水中邻苯二甲酸酯的气相色谱-质谱测定法[J]. 环境与健康杂志, 2005, 22(5): 377-378.
- [7] 蔡智鸣,史馨,张前龙,等. GC-MS 测定人血清中酞酸酯类环境污染物的[J]. 理化检验:化学分册, 2006, 42(2): 115-119.
- [8] 吴惠勤,朱志鑫,黄晓兰,等. 不同类别食品中 21 种邻苯二甲酸酯的气相色谱-质谱测定及其分布情况研究[J]. 分析测试学报, 2011, 30(10): 1079-1087.
- [9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 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] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB 9685—2008 食品容器、包装材料用添加剂使用卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

## 实验技术与方法

# 荧光免疫层析法快速测定牛奶中头孢氨苄残留量

胡佳丽<sup>1,2</sup>, 于东升<sup>3</sup>, 刘小雷<sup>1</sup>, 云彩麟<sup>1</sup>, 李莉<sup>2</sup>, 刘彩虹<sup>2</sup>, 张帆<sup>2</sup>, 陈艳<sup>2</sup>, 邹明强<sup>2</sup>

(1. 内蒙古医科大学, 内蒙古 呼和浩特 010059; 2. 中国检验检疫科学研究院, 北京 100123;  
3. 内蒙古精神卫生中心, 内蒙古 呼和浩特 010010)

**摘要:**目的 采用荧光免疫层析法结合现场检测仪建立牛奶中头孢氨苄残留的快速定量检测方法。方法 利用反向微乳技术合成稀土铕荧光纳米颗粒,与头孢氨苄单克隆抗体结合制备荧光检测探针,以头孢氨苄卵清蛋白全抗原和羊抗小鼠抗体分别作为检测线和质控线制备免疫层析试纸条,结合现场检测仪建立牛奶中头孢氨苄残留的快速定量检测方法。结果 试验结果表明,该方法对头孢氨苄的检测限为 0.16 ng/ml,半数抑制浓度( $IC_{50}$ )为 0.6 ng/ml,线性范围为 0.16~5 ng/ml,标准添加回收率为 100%~115%之间,与头孢菌素类及青霉素等其他 12 种抗生素的交叉反应率均 < 0.01%,与 ELISA 方法比较,测定结果相关性良好。结论 本试验所建立的荧光免疫层析法快速检测牛奶中头孢氨苄残留,具有简便、快速、灵敏、直观的优点,可用于抗生素残留的筛查,极具推广和应用价值。

**关键词:** 头孢氨苄; 荧光免疫层析法; 稀土铕纳米颗粒; 快速定量检测; 兽药残留; 牛奶; 抗菌素

**中图分类号:** R155.5; R155.5<sup>+</sup>7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-8456(2014)04-0362-05

**DOI:** 10.13590/j.cjfh.2014.04.015

## Rapid detection of cefalexin residues in milk by fluorescent immunochromatography assay

HU Jia-li, YU Dong-sheng, LIU Xiao-lei, YUN Cai-lin, LI Li, LIU Cai-hong,  
ZHANG Fan, CHEN Yan, ZOU Ming-qiang

(Inner Mongolia Medical University, Inner Mongolia Hohhot 010059, China)

**Abstract: Objective** The cefalexin residues in milk was rapidly and quantitatively detected by fluorescent immunochromatography assay and strip reader. **Methods** The europium nanoparticles were synthesized by RP-microemulsion technology. The Eu nanoparticles conjugated with cefalexin monoclonal antibody was used as a fluorescent label. The cefalexin-ovalbumin and goat anti-mouse IgG was respectively used as the test line and control line on the fluorescent strip. A rapid and quantitative fluorescent immunochromatography assay for detection of cefalexin residues in milk was established equipped with a strip reader. **Results** The fluorescent immunochromatography assay had a good correlation with ELISA, with the detection limit of 0.16 ng/mL, and the  $IC_{50}$  value was 0.6 ng/ml. The linear detection range was 0.16-5 ng/ml. The recoveries of spiked milk were between 100%-115%, and the cross-reaction rate of the antibody with 12 kinds of antibiotics including cephalosporins and penicillin was less than 0.01%. **Conclusion** It was easy, rapid, and sensitive for the detection, and had the potential to be a powerful tool for screening other antibiotics residues in milk and milk products.

**Key words:** Cefalexin; fluorescent immunochromatography assay; rare earth europium nanoparticles; rapid and quantitative detection; veterinary drug residue; milk; antibiotics

收稿日期: 2014-04-25

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划(2012BAK26B04); 质检公益性行业科研专项(201010022)

作者简介: 胡佳丽 女 硕士生 研究方向为精神科临床药理学 E-mail: hujiali1989@126.com

通讯作者: 邹明强 男 研究员 研究方向为纳米生物及快速检测装备研究 E-mail: mingqiangz@sina.com