

全国中文核心期刊 《中国学术期刊网络出版总库》、美国《CHEMICAL ABSTRACTS》收录期刊

食品工业

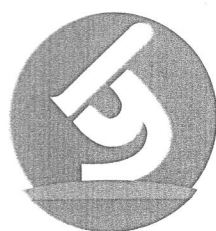
THE FOOD INDUSTRY

ISSN 1004-471X

CN31-1532/TS

11
2016

广告

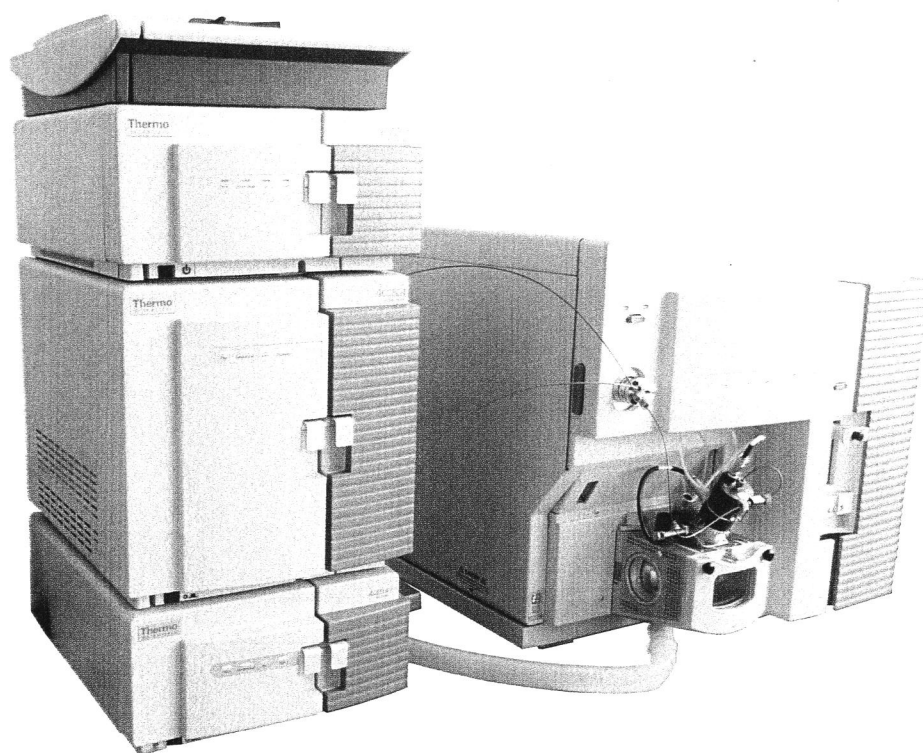


国家轻工业食品质量监督检测上海站

Food Quality Supervision & Inspection Shanghai Station of P.R.C. Light Industry Ministry

上海市营养食品质量监督检验站

Shanghai Nutrition Food Quality Supervision & Inspection Station



食品质量的提升
食品安全的保障

上海源本食品质量检验有限公司

Shanghai Yuanben Food Quality Inspection Co., Ltd.

地址: 上海市济宁路28号

Add: No.28 Ji Ning Road Shanghai China

电话/Tel: 021-65471617, 021-65471167

网址/Web: <http://www.Yuanben.com>

邮编: 200082

P.C: 200082

传真/Fax: 021-65471617, 021-65471167

E-mail: Yuanben@Yuanben.com



- 社会共治: 培育第三方食品安全机构的法律思考 于杨曜, 迟翔宇 (225)
Social Co-governance: Legal Thinking about the Cultivating of Third-party Food Safety Inspection Agency Yu Yang-yao, Chi Xiang-yu (228)
- 甘油二酯的制备及其高效液相色谱的检测技术 赵欣欣, 孔保华, 李龙祥, 等 (228)
The Diacylglycerol Preparation and Its Detection by High Performance Liquid Chromatography: A Review Zhao Xin-xin, Kong Bao-hua, Li Long-xiang, et al. (232)
- 古蔺县赶黄草食用比例人群调查研究 张凤梅, 卢馨, 张月天, 等 (232)
Research on Edible Proportion of *Penthorum chinense* Pursh through Population Survey in Gulin Zhang Feng-mei, Lu Xin, Zhang Yue-tian, et al. (236)
- 控制硬糖返砂技术的研究进展 孙明星, 潘晓军 (236)
Research Progress on the Control Technology of Crystallization in Hard Candy Sun Ming-xing, Pan Xiao-jun (240)
- 巨峰葡萄采收后贮藏保鲜技术研究进展 陶诗雨, 李忠明, 李蓓蓓 (240)
Research Progress on Postharvest Preservation Technology of Kyoho Grape Tao Shi-yu, Li Zhong-ming, Li Bei-bei (243)
- 冷链物流的节能降耗问题研究 何霞, 陈健勇 (243)
A Study on the Energy Saving of Cold-chain Logistics He Xia, Chen Jian-yong (249)
- 超声波技术在采后果蔬贮藏保鲜中的应用研究 赵树南, 张丽芬, 陈复生, 等 (249)
Study on the Application of Ultrasonic Technology in Postharvest Fruits and Vegetables Storage Zhao Shu-nan, Zhang Li-fen, Chen Fu-sheng, et al. (253)
- 苹果猕猴桃混合型果醋酿造工艺研究 汪晓琳 (253)
The Research on the Brewing of Apple Kiwifruit Mixed Fruit Vinegar Wang Xiao-lin (257)
- 生物工业萃取设备选型原则、设备选型与新发展 梁敏, 邹东恢 (257)
Type Selection Principle and Type Selection to Bio-industry Extraction Equipment and Its New Development Liang Min, Zou Dong-hui (257)

分析检测

- ICP-MS 法同时检测谷物中 16 种稀土元素 蒙华毅, 雷宁生, 江永红, 等 (262)
Determination of 16 Rare Earth Elements in Cereals by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Meng Hua-yi, Lei Ning-sheng, Jiang Yong-hong, et al. (266)
- 正交试验结合液质法测定乳粉中左旋肉碱 赵淑娟, 万建春, 郭平, 等 (266)
Determination of L-Carnitine in Milk Powder by HPLC-MS/MS Combined with Orthogonal Experiment Zhao Shu-juan, Wan Jian-chun, Guo Ping, et al. (269)
- RP-HPLC 同时测定保健食品中维生素 D₂ 和 D₃ 的含量 周艳华, 李涛, 潘小红 (269)
Determination of Vitamin D₂ and Vitamin D₃ in Health Food by RP-HPLC Zhou Yan-hua, Li Tao, Pan Xiao-hong (273)
- UPLC-MS/MS 法同时检验腌制蔬菜中多种甜味剂研究 王燕, 胡强, 王延云, 等 (273)
A Study on UPLC-MS/MS Measurement on a Variety of Sweeteners in Pickled Vegetables Wang Yan, Hu Qiang, Wang Yan-yun, et al. (277)
- 固相萃取结合 GC-MS 分析湘西酸肉挥发性成分 黄群, 滕慧, 宋洪波, 等 (277)
Application of Solid-phase Microextraction Combined and GC-MS for Analysis of Volatile Components of Xiangxi Sour Meat Huang Qun, Teng Hui, Song Hong-bo, et al. (281)
- DAD-HPLC 法同时测定姜皮中姜辣素类物质 李田叶, 沙芳芳, 路旭辉, 等 (281)
DAD-HPLC Method for Simultaneous Determination of Gingerols in Ginger Peel Li Tian-ye, Sha Fang-fang, Lu Xu-hui, et al. (285)
- ASE-LC-MS/MS 技术检测水产品中六溴环十二烷 蒋玲波, 王萍亚, 戴意飞, 等 (285)
Determination of HBCDS in Aquatic Product by ASE-LC-MS/MS Jiang Ling-bo, Wang Ping-ya, Dai Yi-fei, et al. (288)
- 固相萃取-反相高效液相色谱法测定茶叶中的着色剂 陈伟, 仇雅静, 乔勇升 (288)
Simultaneous Analysis of Synthetic Colorants in Tea by SPE-RP-HPLC Chen Wei, Qiu Ya-jing, Qiao Yong-sheng (291)
- 大孔吸附树脂分光光度法检测玛咖总皂苷含量 刘晓碧, 刘文虎, 黄张君, 等 (291)
Content Determination of Total Saponin in Maca Root by Macroporous Resin Spectrophotometric Method Liu Xiao-bi, Liu Wen-hu, Huang Zhang-jun, et al. (295)
- QuEChERS-LC-MS/MS 法测定辣椒中 30 种常用农药残留 蒋庆科, 邹品田, 罗勇为, 等 (295)
Determination of 30 Kinds of Pesticide Residues in Cayenne Pepper by QuEChERS-LC-MS/MS Method Jiang Qing-ke, Zou Pin-tian, Luo Yong-wei, et al. (295)

ASE-LC-MS/MS技术检测水产品中六溴环十二烷

蒋玲波, 王萍亚, 戴意飞, 赵巧灵, 曾敏, 苗英娜

舟山市食品药品检验检测研究院(舟山 316021)

摘要 建立了快速溶剂萃取-超快速液相色谱-串联质谱(ASE-LC-MS/MS)测定水产品中六溴环十二烷(HB-CDS)的方法。试样经冷冻粉碎后,以 $V(\text{丙酮}):V(\text{正己烷})=1:1$ 的溶液为萃取液,采用快速溶剂萃取法,以水-甲醇为流动相,经 C_{18} 柱分离后,以快速液相色谱-串联质谱法多反应监测扫描模式进行定性和定量分析。结果表明,最低检出限为 $2\text{ }\mu\text{g/L}$,加标回收率为 $89\%\sim 104\%$,相对标准偏差小于 15% ;在 $10\sim 200\text{ }\mu\text{g/L}$ 线性范围内线性关系良好,相关系数均大于 0.998 。该方法灵敏度高、重现性好、定性定量准确,适用水产品的复杂基质样品检测,可为相关国家标准制定提供参考依据。

关键词 快速溶剂萃取(ASE);超快速液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS);六溴环十二烷(HBCDS);水产品

Determination of HBCDS in Aquatic Product by ASE-LC-MS/MS

Jiang Ling-bo, Wang Ping-ya, Dai Yi-fei, Zhao Qiao-ling, Zeng Min, Miao Ying-na

Zhoushan Institute for Food and Drug Control, Zhoushan (Zhejiang 316021)

Abstract Establish an accelerated solvent extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (ASE-LC-MS/MS) method for HBCDS in aquatic product. $V(\text{Acetone}):V(\text{Hexane})=1:1$ as an extraction solvent was been adopted. The brominated flame retardants residue was separated by HPLC using methanol-water as the mobile phase, and was detected using electrospray ionization (ESI) on a tandem mass spectrometer in multiple reactions monitoring mode. The results showed that low detection limit was $2\text{ }\mu\text{g/L}$, and the average recoveries of HBCDS were $89\%\sim 104\%$, relative standard deviations were less than 15% . The HBCDS behaved linearly in the wide range of $10\sim 200\text{ }\mu\text{g/L}$ with the correlation coefficients more than 0.998 . This method was sensitive, recurrent and accurate. It could be used for aquatic product and provide reference for the relevant national standards setting.

Keywords ASE; LC-MS/MS; HBCDS; aquatic product

ASE快速溶剂萃取技术是最新的全自动萃取方法,样品密封在高压不锈钢提取仓内,经过起始的加热过程,样品在静态下与加压的溶剂相互作用一段时间,然后用压缩氮气将提取液吹扫收集瓶中,每个样品的提取全过程约 15 min 。ASE极大地减少了样品准备的繁琐,使得样品的准备变成自动流程,与传统的萃取方法如蒸馏、索氏抽提和有机溶剂萃取等比较,具有操作简单、经济、省时等优点,同时可以提高萃取率和提纯物资的纯度^[1]。

HBCDS是继TBBPA和DBDE(十溴联苯醚)之后的第三大广泛使用的溴化阻燃剂(2001年溴化阻燃剂的全球市场需求中,TBBPA占 59% ,DBDE占 26% ,

HBCD占其中 8%)^[2-4]。有研究表明,相对于其他的溴化阻燃剂而言,HBCD在水生生物体内的含量更高。从20世纪70年代起,科学家开始关注溴化阻燃剂对环境与生物的影响。随着对传统溴化阻燃剂的研究越来越深入,其化学稳定性、生物累积性和潜在的生物毒性更多地被人们所认识^[5-6]。

试验采用加速溶剂萃取-超高效液质联用技术,建立水产品中三种六溴环十二烷(α -HBCD, β -HBCD和 γ -HBCD)快速、高效、灵敏的检测方法。该方法具有简便、快速、灵敏度高等优点。目前未见相关报道。

的HPLC测定[J].中草药,1999(06):423-425.

[12] 郝孝波. HPLC测定干姜、生姜和炮姜中6-姜酚的含量[J].黑龙江科技信息,2011(02):5-6.

[13] 孟喜成. RP-HPLC法测定干姜、炮姜和生姜中3种姜酚的含量[J].中国药房,2011(23):2182-2184.

[14] 邹磊. 生姜中生物活性物质及其研究进展[J].中国酿造,

2009(12):6-9.

[15] 许庆陵,周勇强,战宇,等. 生姜皮总黄酮的提取工艺研究[J].现代食品科技,2012(08):998-1001.

[16] 陈帅华,李晓如,韦超,等. 生姜与生姜挥发油成分的分析[J].福建分析测试,2011(04):11-16.

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

TQD三重串联四极杆液质联用仪：美国WATERS公司；配有电喷雾离子源（ESI）及数据处理系统；ASE300快速溶剂萃取仪：美国戴安公司产品，配有12位萃取池；20通道固相萃取装置：美国WATERS公司产品；C₁₈固相萃取柱（500 mg，6 mL）：美国Agilent公司产品。

α ， β ， γ -六溴环十二烷（HBCDS）标准品：美国Sigma公司产品，纯度均大于98%；甲醇、丙酮、正己烷、二氯甲烷（色谱纯）：德国Merck公司产品。

1.2 标准溶液的配制

用电子天平分别准确称取 α -HBCD， β -HBCD和 γ -HBCD各100 mg（精确至0.1 mg）于10 mL容量瓶中，以甲醇与水（1：1）为溶剂准确配制100 μ g/mL储备液，使用时用甲醇与水（1：1）溶液逐级稀释至所需浓度。储备液于4 $^{\circ}$ C下避光储存（可稳定存放1个月）。

1.3 样品前处理

1.3.1 制样

称取约100 g试样，切成小块后再用研磨机粉碎。

1.3.2 提取

称取粉碎好的1 g（准确到0.01 g）试样于定性滤纸中，包好后置于萃取池中进行快速溶剂萃取。萃取剂为丙酮-正己烷溶液，样品池温度120 $^{\circ}$ C，压力10.3 MPa，加热时间5 min，静态萃取时间10 min，氮气吹扫时间100 s，循环次数为3次，冲洗样品池的体积为20%。萃取结束后，萃取液在40 $^{\circ}$ C以下减压浓缩至近干，用正己烷定容至3 mL，待净化。

1.3.3 净化

将C₁₈固相萃取柱依次用2 mL二氯甲烷和2 mL甲醇活化后，将试样溶液过柱，先用12 mL正己烷淋洗，再用5 mL甲醇洗脱，收集洗脱液，氮气吹干后加入V（甲醇）：V（水）=50：50的溶液定容至1 mL。漩涡振荡1 min，经0.22 μ m针头过滤器过滤，供LC-MS/MS测定。

1.4 试验条件

1.4.1 色谱条件

C₁₈色谱柱（2.1 mm $\times$ 100 mm，1.8 μ m）；柱温：40 $^{\circ}$ C；进样量：10 μ L；流速：0.3 mL/min；流动相A为水，B为甲醇；具体梯度洗脱条件见表1。

表1 HBCDS的梯度洗脱条件

条件	时间/min				
	0	3	5	6	6.5
Water/%	25	5	5	25	25
CH ₃ OH/%	75	95	95	75	75

1.4.2 质谱条件

离子模式：正离子电喷雾模式； Δ EMV：600 V；干燥气体温度：300 $^{\circ}$ C；干燥气体流量：7 L/min；雾化器压力：30 psi；鞘气温度：300 $^{\circ}$ C；鞘气流量：10 L/min；毛细管电压：2 000 V；喷嘴电压：1 900 V；各化合物的质谱采集参数见表2。

表2 六溴环十二烷的监测离子及质谱参数条件

化合物	母离子 m/z	子离子 m/z	裂解电 压/V	碰撞电 压/V	加速电 压/V	极性
α -HBCD	640.7	78.9*	80	6	6	正
	640.7	80.9	80	6	6	正
β -HBCD	640.7	78.9*	80	6	6	正
	640.7	80.9	80	6	6	正
γ -HBCD	640.7	78.9*	80	6	6	正
	640.7	80.9	80	6	6	正

注：*为定量离子。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的优化

根据四溴双酚A和六溴环十二烷的分子结构特性，选择了C₁₈色谱柱（2.1 mm $\times$ 100 mm，1.8 μ m）。由于电喷雾质谱的电离是在溶液状态电离，因此流动相的组成和添加剂除了影响目标化合物的保留时间和峰形外，还影响离子化效率，从而影响检测灵敏度。试验在满足较好的色谱分离的同时，比较了甲醇-水和乙腈-水这两种流动相对目标化合物离子化程度的影响。结果表明，当流动相为甲醇-水时，响应值明显高于以乙腈-水为流动相时的响应值（约为2~4倍）。因此，选用甲醇-水为流动相。

除了考察流动相组成外，还比较了流动相为甲醇-水和分别在此流动相中加入一定量的醋酸铵和氨水等添加剂对目标化合物离子化效率的影响。结果表明，当加入一定量的醋酸铵或氨水后，目标化合物的响应值均有所降低，因此，试验采用甲醇-水混合液作为流动相。

2.2 质谱条件的优化

采用多反应监测（MRM）模式，利用流动注射泵连续进样，在正负离子模式下进行全扫描，以选择适当的分子离子峰和电离方式。结果表明，在负离子模式下，全扫描的分子离子[M-H] m/z 641最理想，但是对于二级质谱，该化合物 m/z 79和 m/z 81作为子离子最理想，在确定母离子和子离子的基础上，对毛细管电压、锥孔电压、离子源温度和脱溶剂温度等条件进行了优化。

2.3 样品前处理条件的选择及优化

日常检验中常用的萃取方式有3种：索氏抽提、快速溶剂萃取（ASE）和微波萃取（MWE），根据文献[17]中有关萃取方式的研究结果，试验选择ASE作

为首选的萃取方式。同时优化了快速溶剂萃取条件：通过加标回收试验（样品中加标浓度为1 mg/kg）对比萃取剂甲醇、丙酮、二氯甲烷、正己烷以及相关混合溶液的萃取效率，发现 V （丙酮）： V （正己烷）=1：1溶液的萃取率可达92%，其余溶剂组合方式萃取率均小于80%。另外还确定了其他萃取条件：样品池温度120℃，压力10.3 MPa，加热时间5 min，静态萃取时间10 min， N_2 吹扫时间100 s，循环次数3次，冲洗样品池的体积为20%。

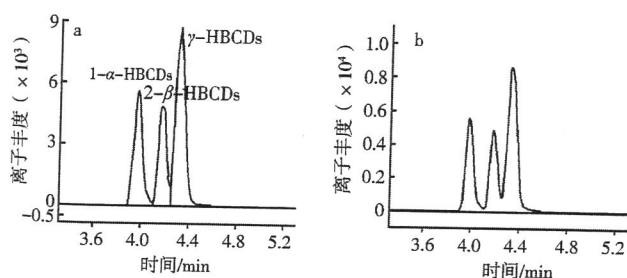
2.4 标准曲线

分别量取储备液适量，用甲醇与水（1：1）的溶液稀释至质量浓度为10，20，50，100和200 $\mu\text{g/L}$ 的 α -HBCD， β -HBCD和 γ -HBCD的混合标准工作液自动进样10 μL ，进行HPLC-MS/MS分析。以目标物在选择反应监测（MRM）模式下的峰面积（ Y ）对相应的目标物质量浓度（ X ， $\mu\text{g/L}$ ）使用外标法绘制标准曲线，并将10 $\mu\text{g/L}$ 的 α -HBCD， β -HBCD和 γ -HBCD混和标准溶液，连续重复进样6针，计算峰面积的相对标准偏差，结果见表3。从表3可知，HBCDS在质量浓度为10~200.0 $\mu\text{g/L}$ 时线性良好，相关系数 $r \geq 0.9988$ ，能满足定量分析的要求。

表3 3种目标物的线性范围、回归方程、相关系数（ r ）和峰面积的RSD

目标物	线性范围/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	回归方程	相关系数 (r)	相对标准偏差 ($n=6$)/%	检出限/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
α -HBCD	10~200	$y=6788.4554x-1728.8937$	0.9988	0.98	2.0
β -HBCD	10~200	$y=48410.7324x-2071.8873$	0.9995	0.72	2.0
γ -HBCD	10~200	$y=10394.0046x-405.8591$	0.9994	0.72	2.0

3种六溴环十二烷的选择性离子色谱图和扫描质谱图见图1。



注：a为定量离子对 m/z 640.7→78.9；b为定性离子对 m/z 640.7→80.9

图1 20 $\mu\text{g/L}$ α ， β ， γ -六溴环十二烷的MRM图

2.5 回收率及精密度试验

取鱼样品进行加标回收试验，加混合标样200 $\mu\text{g/L}$ ，各进行6次样品测定，同时做空白样试验，检测其本底成分，结果见表4。

由表4可知，试验采用的样品处理方法，能够达到国家标准规定的要求。

表4 回收率及精密度（ $n=6$ ）

名称	α -HBCD	β -HBCD	γ -HBCD
本底值/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	N.D.	N.D.	N.D.
检测值/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$			
1	178.54	185.54	183.22
2	198.52	207.42	186.78
3	193.54	188.67	188.98
4	194.22	188.87	190.45
5	195.24	189.77	193.72
6	186.56	198.67	187.98
回收率/%	89.27~99.26	92.77~103.71	91.61~96.86
RSD/%	7.3	8.27	3.53

注：N.D.代表检测的浓度低于定量限。

3 结论

试验所建立的加速溶剂萃取-超高效液质联用方法可同时测定水产品中六溴环十二烷，样品前处理提取率高、重现性好，方法灵敏度高、选择性和特异性好、条件易于控制，同单组分检测相比，有效缩短了检测时间，结果准确、加标回收率高。该方法重现性好，灵敏度高，最低检出限为2 $\mu\text{g/L}$ ，加标回收率为89%~104%，相对标准偏差小于15%；在10~200 $\mu\text{g/L}$ ，线性范围内线性关系良好，相关系数均大于0.998。将该方法应用于实际样品测定，可从源头上保障水产品安全，为消费者的健康提供保障。

参考文献：

- [1] 牟世芳, 刘勇建. 加速溶剂萃取的原理及应用[J]. 现代科学仪器, 200(3): 18-20.
- [2] 潘荷芳, 惠阳, 王静, 等. 土壤中痕量六溴环十二烷的超高效液相色谱-质谱联用分析[J]. 分析科学学报, 2008, 24(4): 414-416.
- [3] 冀秀玲, 刘洋, 刘芳, 等. 六溴环十二烷转甲状腺素蛋白结合活性及其发育期暴露的甲状腺激素干扰效应研究[J]. 环境科学, 2010, 30(9): 2191-2195.
- [4] 施致雄, 封锦芳, 李敬光, 等. 超高效液相色谱-电喷雾质谱法结合同位素稀释技术检测动物源性食品中的六溴环十二烷异构体[J]. 色谱, 2008, 26(1): 1-5.
- [5] 郭巧珍, 杜振霞, 张云, 等. 超高效液相色谱-串联四极杆质谱法检测小型家电外壳中的六溴环十二烷[J]. 分析化学, 2012, 40(5): 687-692.
- [6] 王豪, 郭蓓蓓, 林振兴, 等. 微波萃取-高效液相色谱法测定橡胶制品中六溴环十二烷[J]. 理化检验, 2012, 48(6): 702-704.