

高效液相色谱串联质谱法同时测定海产品中双酚 A 及烷基酚残留

俞雪钧¹ 谷云云² 冯睿¹ 葛晓鸣¹
陈孟裕¹ 倪梅林¹ 胡霞林² 钟莺莺¹

1. 宁波出入境检验检疫局, 宁波 315012;

2. 同济大学环境科学与工程学院/污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092

摘要 建立了同时检测海产品中 4 种烷基酚包括 4-壬基酚(4-NP)、4-辛基酚(4-OP)、4-n-壬基酚(4-n-NP)、4-t-辛基酚(4-t-OP)及双酚 A(BPA)2 类药物的高效液相色谱串联质谱的分析方法。样品经过乙腈超声提取和 PSA 固相萃取小柱净化后, 使用高效液相色谱串联质谱仪测定, 外标法定量。方法的检出限(信噪比 $S/N=3$)及定量限(信噪比 $S/N=10$)分别为 $0.07\sim 0.30\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 和 $0.2\sim 1.0\ \mu\text{g}/\text{kg}$, 4 种烷基酚及双酚 A 在 $0.5\sim 300.0\ \mu\text{g}/\text{L}$ 范围内线性关系良好, 相关系数为 $0.9918\sim 0.9999$, 在 $5\sim 100\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内回收率试验通过空白样品加标来实现, 平均加标回收率为 $60\%\sim 127\%$ ($n=6$), 相对标准偏差为 $2.2\%\sim 39.9\%$, 该方法可满足进出口海产品中多种烷基酚及双酚 A 残留的检测需要。

关键词 高效液相色谱串联质谱; 残留检测; 烷基酚; 双酚 A; 海产品

中图分类号 X 834 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2014)03-0052-08

烷基酚(alkylphenols, APs)及双酚 A(bisphenol A, BPA)都属于环境内分泌干扰物(endocrine-disrupting compounds, EDCs), 这些人工化合物被广泛用于工业及生活用品加工。BPA 是工业高聚物单体, 大量用于塑料制造及抗氧化剂等工业制造^[1]。APs 主要包括壬基酚(NP)和辛基酚(OP)^[2], 它既是烷基酚聚氧乙烯醚(APEOs)合成原料, 也是其降解产物。APEOs 广泛用于工业添加剂、农药、洗涤剂及化妆品中。这些物质使用量巨大, 美国、欧洲及日本等地区陆续报道在水和沉积物中检测出 APs^[3-5]。我国也有相关报道, 普遍在水体中检出 APs^[6]。虽然这些 EDCs 在地表水中的浓度很低, 但有报道显示 APs 及 BPA 已经对水生生物产生不利影响, 如 APs 会对生物体的 DNA 产生化学损伤等^[7]。由于这些潜在的健康威胁, APs 及 BPA 类物质的研究也越来越受到关注。近年来, 欧盟、加拿大及国际环保纺织协会等地区及国际组织纷纷限制甚至禁止 APs 及 BPA 类物质的使用^[8]。

目前, 国内外对 APs 及 BPA 的研究多集中于

水体和沉积物等样品^[9-12], 少部分关注食品如乳制品等^[13], 关注海产品 APs 及 BPA 测定方法的报道很少。APs 及 BPA 的检测方法常用的有液质联用技术(LC-MS)^[9-13]和气质联用技术(GC-MS)^[14-18]。现有的报道多集中于气质联用技术, 但使用 GC-MS 方法时 APs 的衍生化无疑增加了实验的复杂程度^[18-21]。

笔者比较了不同的萃取溶剂及 SPE 柱对萃取效果的影响, 以 PSA 柱作为固相萃取柱, 利用液相萃取结合固相萃取技术进行样品前处理, 建立了 LC-MS/MS 同时检测海产品中 APs 及 BPA 浓度的方法, 将该方法应用于实际海捕野生水产品的检测, 对海产品污染状况进行直接评估, 旨在建立高灵敏度的检测方法, 同时减少测定中的试剂用量以适应大规模样品测定的需要。

1 材料与amp;方法

1.1 仪器与试剂

安捷伦 1200 系列液相(安捷伦科技, 美国)串联

收稿日期: 2013-11-29

基金项目: 国家质检总局项目(2012IK173)

俞雪钧, 副主任技师, 研究方向: 食品检验. E-mail: yuxj@nbciq.gov.cn

通信作者: 钟莺莺, 博士, 工程师, 研究方向: 食品检验. E-mail: farfarocan@126.com

AB API5000 三重四级杆质谱(Applied Biology, 美国), CTC Analytics 自动进样器; waters XBridge C18 柱(100 mm×2.1 mm, i. d., 5 μm); 安捷伦 Zorbax Eclipse XDB C8(150 mm×4.6 mm, i. d., 5 μm); 电子天平, Metter Toledo PL2002 型; 涡旋混合器, Scientific industries, G560E 型; 超声水浴锅; 离心机, Sigma, 2-16P 型; 旋转蒸发仪, Buchi, R-215型; 氮吹仪, N-EVAP 112, OA; 冷冻干燥机, Labconco, Freezone 2.5。甲醇、乙腈、正己烷、丙酮、乙酸乙酯、甲酸及乙酸均为色谱纯, 购于 Tedia; 乙酸铵(色谱纯) 购于 Roescientific; PSA 柱(1 g/6 mL) 购于迪马; 超纯水(Milli-Q system)。

标准品 4-t-OP、4-OP、4-NP、4-n-NP 及 BPA 购于 Sigma-Aldrich, 纯度大于 98%, 用乙腈配制标准储备液(1 000 mg/L), 避光储存于-20 °C 条件下。

1.2 样品处理

鱼去皮取肌肉组织, 虾去壳取虾仁, 贝类去壳打碎, 所有样品经冷冻干燥后, 称取 1.00 g 于 15 mL 具塞玻璃离心管中, 加入 10 mL 乙腈涡旋 1 min, 然后手动振荡 50 s, 超声 15 min, 1 500 r/min 离心 5 min, 将乙腈相移入 50 mL 鸡心瓶中, 残渣再用 10 mL 乙腈重复上述步骤提取 1 次, 合并上清液, 将合

并后的乙腈提取液旋转蒸干, 用 1 mL 正己烷溶解鸡心瓶中的残渣, 溶解液超声 1 min, 涡旋 30 s, 待净化。依次用 5 mL 丙酮、5 mL 正己烷活化 PSA 柱, 1 mL 溶解液过柱, 依次用 5 mL 甲醇、5 mL 3%(V/V) 甲酸-甲醇溶液洗脱, 收集洗脱液于 10 mL 玻璃管中, 40 °C 下氮气吹干, 用 1 mL 乙腈定容溶解, 涡旋 1 min 后过 0.22 μm 滤膜后测定。

1.3 液相色谱分析条件

色谱柱: waters XBridge C18 柱(100 mm×2.1 mm, i. d., 5 μm); 柱温: 40 °C; 流速 250 μL/min; 进样体积 10 μL; 流动相: A 相为 0.3%(V/V) 氨水-甲醇溶液, B 相为 0.3%(V/V) 氨水溶液, 梯度洗脱程序: 0 min, 20% A; 2 min, 65% A; 6~12 min, 100% A; 12.2~19 min, 20% A。

1.4 质谱分析条件

离子化模式: ESI⁻; 质谱分辨率: 单位分辨率; 雾化气(GS1): 60 L/min(氮气); 气帘气(CUR): 35 L/min(氮气); 喷雾电压(IS): -4 500 V; 去溶剂温度(TEM): 450 °C; 辅助加热气(GS2): 60 L/min(氮气); 碰撞气(CAD): 4 L/min(氮气)。其他质谱参数见表 1。

表 1 烷基酚及双酚 A 类物质的保留时间和质谱优化条件

Table 1 HPLC retention times and optimized mass spectrometric parameters for APs and BPA

化合物 Compounds	保留时间/min Retention time	母离子(<i>m/z</i>) Parent ion	子离子(<i>m/z</i>) Product ion	DP/V	CE/V	采集时间/ms Acquisition time
4-t-OP	8.98	205.4	133.4	-153	-30.0	50
			118.1	-154	-53.0	50
4-OP	9.42	205.6	106.1	-135	-24.0	50
			119.0	-91	-47.0	50
4-NP	9.31	219.4	133.4	-66	-42.0	50
			147.3	-64	-30.0	50
4-n-NP	9.70	219.4	106.1	-116	-27.0	50
			219.4	-131	-11.0	50
BPA	7.70	227.2	133.5	-102	-33.0	50
			212.3	-110	-23.8	50

2 结果与分析

2.1 色谱分离条件优化

1) 色谱柱的选择。几种烷基酚的极性差异很小, 这是由于 4-NP 与 4-n-NP, 4-t-OP 与 4-OP 为同分异构体, 性质极其相似, 在质谱扫描的母离子与子离子的质量相差很小(表 1), 只有在液相色谱部分将化合物实现色谱分离, 才能保证定量的准确性。试验比较 2 款不同碳含量的色谱柱, Zorbax Eclipse XDB C8(150 mm×4.6 mm, i. d., 5 μm)(图 1A)和

waters XBridge C18(100 mm×2.1 mm, i. d., 5 μm) 色谱柱的分离效果(图 1B)。从峰形上来看, 2 款色谱柱都能保证烷基酚及双酚 A 有较对称的峰形; 从分离度上来看, waters XBridge C18 柱的分离效果要优于 Zorbax Eclipse XDB C8 柱, waters XBridge C18 柱对于 OP 及 NP 的同分异构体的保留时间差分别为 0.43、0.40 min, 而 Zorbax Eclipse XDB C8 柱却只有 0.20、0.13 min; 从分离时间上来看, Zorbax Eclipse XDB C8 柱能够在较短的时间内出现所有的峰。综合考虑, 对于 BPA 而言, 其在

2 款色谱柱上的峰形及保留时间差别不大,但烷基酚类物质明显在 C18 柱上分离效果更好。因此,选择 waters XBridge C18 作为同时检测烷基酚及双酚 A 的色谱柱,会产生更好的分离效果,满足质谱检测要求。

2) 流动相的选择与优化。pH 值会对烷基酚及双酚 A 物质分离和保留及质谱电离的结果产生影

响。使用 waters XBridge C18 柱进一步优化流动相,测试 2 种条件:碱性流动相条件,0.3%(V/V)氨水溶液(图 2A);酸性流动相条件,0.1%(V/V)乙酸水溶液(图 2B)。有机相均采用甲醇作为流动相。通过比较发现在碱性条件下,烷基酚类物质离子的响应值有 $1.3 \times 10^5 \sim 8.5 \times 10^5$ cps,双酚 A 的响应值有 1.3×10^4 cps;而在酸性条件下,烷基酚的响

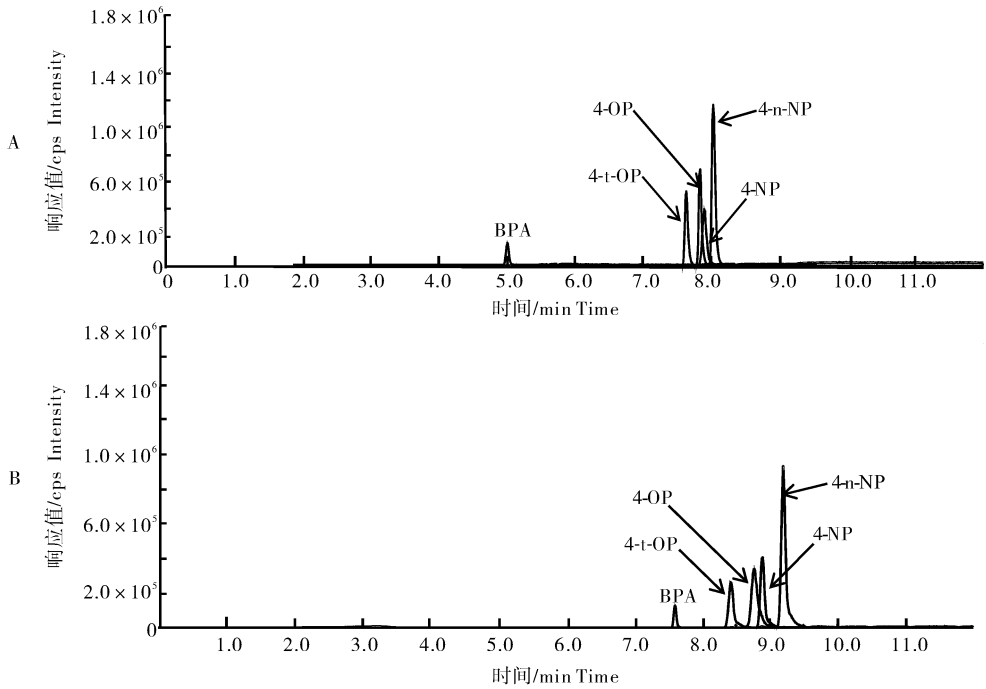


图 1 50 $\mu\text{g/L}$ 烷基酚及双酚 A 使用 Zorbax Eclipse XDB C8 色谱柱(A)及 waters XBridge C18 色谱柱(B)分离后的 MRM 扫描图谱

Fig. 1 Chromatogram of 50 $\mu\text{g/L}$ alkylphenols and BPA under MRM scan mode on Zorbax Eclipse XDB C8(A) and waters XBridge C18(B) columns

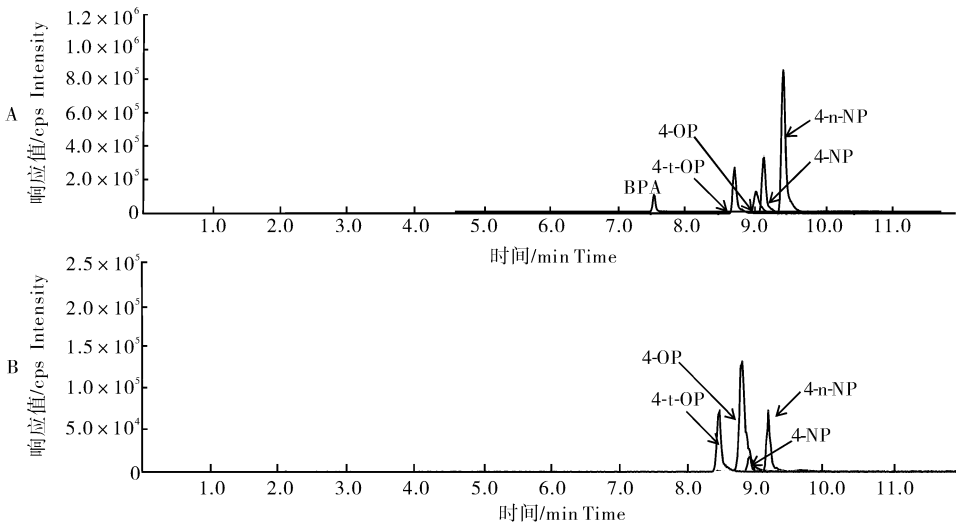


图 2 碱性及酸性条件下 50 $\mu\text{g/L}$ 烷基酚及双酚 A 的 MRM 扫描图谱

Fig. 2 Chromatogram of 50 $\mu\text{g/L}$ alkylphenols and BPA under acidic or basic chromatographic conditions

应值要小于碱性条件,为 $1.3 \times 10^4 \sim 1.8 \times 10^5$ cps, 两者相差 1 个数量级,而双酚 A 甚至都不出峰(图 2)。因此,试验中选择碱性条件作为烷基酚的流动相。进一步优化流动相,在甲醇中添加相同体积比的氨水溶液改善烷基酚的峰形并提高响应值,最终将流动相确定为 A 相为 0.3% (V/V) 氨水溶液, B 相为 0.3% (V/V) 氨水甲醇溶液。

3) 质谱条件优化。采用 $50 \mu\text{g/L}$ 的烷基酚类化合物及双酚 A 的标准溶液分别以流动注射的方式在 ESI 正离子和 ESI 负离子 2 种模式下进行母离子扫描,比较发现负离子模式下烷基酚及双酚 A 有较高的响应值和对称的峰形。选择在 ESI 负离子下对母离子进行全扫,质量扫描范围 (m/z) 为 $100 \sim 300$, 对其子离子进行全扫,选择响应值最高及稳定性最好的 2 个子离子作为定量及定性离子,优化各自的碰撞能量,从而保证仪器检测的灵敏度和准确性。最后在多反应监测 (MRM) 负离子模式下优化各种质谱参数,得到各个最佳质谱参数(表 1)。

2.2 样品提取与净化条件的优化

水产动物组织成分复杂,科学、合理的检测方法不仅要考虑技术要求,还必须充分考虑社会要求。样品前处理过程一般包括样品的采集、提取和净化^[21]。烷基酚类物质易溶于乙酸乙酯、正己烷、乙腈等有机溶剂,考察乙酸乙酯、正己烷及乙腈 3 种试剂对于烷基酚和双酚 A 的提取效果,结果发现 3 种试剂对烷基酚和双酚 A 的提取效率都可以达到检测要求,但是乙酸乙酯及正己烷在提取过程中会同时提取大量的油脂和蛋白等杂质,乙腈提取的共提取物较少,因此,提取试剂选择乙腈。

分别考察 PSA 固相萃取小柱和 Oasis HLB 固相萃取小柱对样品的净化效果,比较 2 种固相萃取小柱的回收率发现,PSA 小柱有明显的优势(图 3), HLB 与 PSA 两种固相萃取小柱对烷基酚及 BPA 类物质的回收率都介于 60%~120% 之间,比较后发现,PSA 柱对于烷基酚类物质的回收率普遍要大于 HLB 柱,虽然对于 BPA 的回收率要稍低于 HLB,但是两者差别没有超过 3%。因此,从回收率来看,PSA 小柱更具有优势。在全扫描模式下,分别分析 HLB 及 PSA 净化过的样品,比较两者的总离子流图,发现使用 HLB 净化的样品在 APs 和 BPA 出峰时间段内有较高的噪声值(图 4)。相比较而言,PSA 噪声值很低,说明 PSA 的净化效果要高于 HLB。因此,综合比较以上 2 个指标发现,PSA 柱对于净化海产品的提取液,保留 APs 及 BPA 有

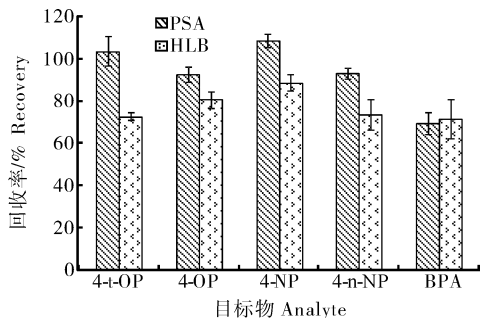


图 3 不同 SPE 柱净化结果比较

Fig. 3 Purified results of different types of SPE cartridges

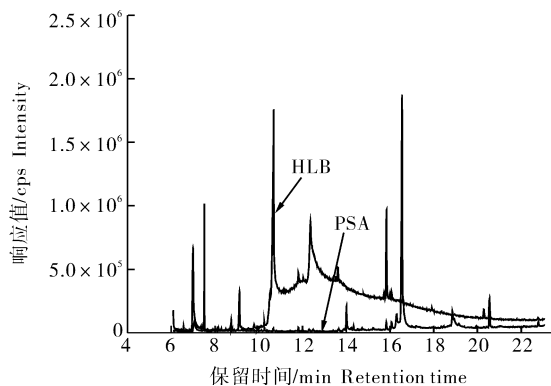


图 4 使用不同 SPE 柱所得样品的全扫总离子图

Fig. 4 Total ions chromatograms of different types of SPE cartridges on fullscan mode

更大的优势。

2.3 样品基质效应的消除

尽管样品经过一定程度的净化,但是仍然无法完全消除基质效应。试验发现样品处理后存在较强的基质抑制效应,消除该效应常用的方法之一是加入同位素内标,但由于同位素内标价格昂贵,因此,本试验选择空白样品基质加标消除样品的基质效应。

2.4 方法线性范围和检出限

用空白样品提取液逐渐稀释标准混合工作液,配制一系列在 $0.5 \sim 300.0 \mu\text{g/L}$ 范围内不同质量浓度的含基质混合标准溶液进行测定。以各组分定量离子对的峰面积 (y) 为纵坐标,基质配标准工作溶液质量浓度 ($x, \mu\text{g/L}$) 为横坐标绘制标准曲线。结果表明,4 种烷基酚在 $0.5 \sim 300.0 \mu\text{g/L}$ 范围内线性良好,相关系数在 $0.9918 \sim 0.9999$,可以满足定量分析的要求。以 3 倍信噪比确定方法的检出限,10 倍信噪比确定方法的定量限,通过 3 种空白样品基质(鱼、虾及贝)不同浓度加标,最终确定方法的检出限和定量限分别为 $0.07 \sim 0.30 \mu\text{g/kg}$ 和 $0.2 \sim 2.0 \mu\text{g/kg}$ (表 2)。

表2 鱼、虾、贝类海产品中烷基酚及双酚A的线性回归方程、相关系数、检出限及定量限

Table 2 Calibration curve, correlation coefficient, method detection limit and method quantification limit of APs and BPA in fresh fish, seashells and shrimps

化合物 Compounds	基质 Matrix	标准曲线 Standard curve	相关系数 R^2 Correlation coefficient	检出限/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$ LOD	定量限/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$ LOQ
4-NP	鱼 Fish	$y=8.66 \times 10^3 x + 1.31 \times 10^5$	0.996 5	0.15	0.3
	贝类 Shellfish	$y=7.08 \times 10^3 x + 1.29 \times 10^5$	0.998 0	0.07	0.2
	虾 Shrimp	$y=1.00 \times 10^4 x + 1.64 \times 10^5$	0.998 0	0.07	0.2
4-n-NP	鱼 Fish	$y=2.71 \times 10^4 x - 1.82 \times 10^5$	0.994 0	0.30	0.8
	贝类 Shellfish	$y=4.21 \times 10^4 x - 7.85 \times 10^4$	0.998 8	0.08	0.3
	虾 Shrimp	$y=5.45 \times 10^4 x - 8.21 \times 10^4$	0.999 5	0.07	0.2
4-OP	鱼 Fish	$y=1.41 \times 10^4 x - 4.85 \times 10^4$	0.997 7	0.20	0.5
	贝类 Shellfish	$y=1.85 \times 10^4 x - 8.86 \times 10^3$	0.999 7	0.10	0.3
	虾 Shrimp	$y=1.62 \times 10^4 x - 2.45 \times 10^4$	0.999 5	0.10	0.3
4-t-OP	鱼 Fish	$y=1.48 \times 10^4 x - 1.11 \times 10^5$	0.991 8	0.20	0.5
	贝类 Shellfish	$y=1 \times 10^4 x - 3.03 \times 10^4$	0.997 6	0.40	1.1
	虾 Shrimp	$y=1.74 \times 10^4 x - 4.33 \times 10^4$	0.998 6	0.20	0.5
BPA	鱼 Fish	$y=1.87 \times 10^3 x - 2.15 \times 10^3$	0.999 9	0.50	2.0
	贝类 Shellfish	$y=1.38 \times 10^3 x - 893$	0.999 7	0.40	2.0
	虾 Shrimp	$y=1.91 \times 10^3 x - 2.89 \times 10^3$	0.999 7	0.40	1.1

2.5 方法回收率和精密度

分别在10、50、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3个含量水平下对空白样品加标,每个水平6个平行,测定平均回收率及精密度(表3)。在10~100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内,4种烷基酚及双酚A的回收率在60%~127%之间,相对标准偏差在2.2%~39.9%之间,均符合残留检测的

要求。

2.6 实际样品测定

按照前文方法对浙江象山海域、除象山外的宁波海域及舟山海域捕捞的海产品进行测定,共检测样品26批,包括鱼、虾及贝类,所测样品中的烷基酚及双酚A残留量见表4。从实际样品检测结果发现

表3 鱼、虾、贝类海产品中烷基酚及双酚A的平均添加回收率与相对标准偏差($n=6$)Table 3 Mean recoveries and RSDs of APs and BPA in fresh fish, seashells and shrimps ($n=6$)

化合物 Compounds	基质 Matrix	加标量/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$ Added amount					
		10		50		100	
		平均回收率 Average recovery	RSD	平均回收率 Average recovery	RSD	平均回收率 Average recovery	RSD
4-NP	鱼 Fish	127	36.2	74	31.4	88	24.3
	贝类 Shellfish	126	24.8	95	18.7	93	12.0
	虾 Shrimp	95	23.2	113	35.1	110	39.9
4-n-NP	鱼 Fish	71	14.3	67	10.1	62	8.7
	贝类 Shellfish	95	8.3	84	10.3	81	12.1
	虾 Shrimp	71	23.2	88	28.2	87	13.0
4-OP	鱼 Fish	73	13.0	60	18.0	71	20.0
	贝类 Shellfish	111	4.9	101	3.6	91	10.6
	虾 Shrimp	70	31.4	80.3	23.2	81	3.7
4-t-OP	鱼 Fish	95	8.6	77	9.5	79	13.7
	贝类 Shellfish	88	11.7	97	10.7	92	16.7
	虾 Shrimp	78	5.8	97	31.9	96	10.5
BPA	鱼 Fish	90	20.3	103	11.6	94	13.7
	贝类 Shellfish	112	3.4	108	2.2	86	9.5
	虾 Shrimp	69	25.5	60	32.4	76	9.3

表4 实际海捕鱼、虾、贝类海产品中烷基酚及双酚A的残留量¹⁾

Table 4 Concentrations of APs and BPA in fresh fish, seashells and shrimps from coastal sea areas of Ningbo, Zhoushan and Xiangshan

区域 Area	样品 Sample	含量/($\mu\text{g}/\text{kg}$) Concentration				
		4-NP	4-n-NP	4-OP	4-t-OP	BPA
象山海域 Xiangshansea area	虾-1 Shrimp-1	6.4	0.5	2.5	ND	ND
	虾-2 Shrimp-2	9.1	3.0	2.8	2.2	ND
	虾-3 Shrimp-3	9.0	1.0	2.9	0.8	ND
	虾-4 Shrimp-4	44.0	ND	2.9	ND	0.9
	虾-5 Shrimp-5	29.8	ND	2.8	2.0	1.2
	虾-6 Shrimp-6	98.5	1.3	2.5	1.2	2.4
	虾-7 Shrimp-7	4.9	ND	2.4	ND	ND
	虾-8 Shrimp-8	83.5	1.2	2.1	ND	ND
	虾-9 Shrimp-9	2.9	0.9	2.2	ND	1.5
	虾-10 Shrimp-10	ND	ND	2.4	ND	6.5
	虾-11 Shrimp-11	3.8	ND	2.5	ND	8.6
除象山外的宁波海域 Ningbosea area except Xiangshan	贝-1 Shellfish-1	277.7	4.5	0.7	ND	0.7
	贝-2 Shellfish-2	657.5	3.0	0.5	2.6	1.8
	贝-3 Shellfish-3	306.5	0.8	0.4	1.2	ND
	虾-1 Shrimp-1	130.2	0.9	1.3	ND	0.9
	虾-2 Shrimp-2	20.1	2.1	0.5	3.2	1.3
	鱼-1 Fish-1	346.2	1.8	1.8	0.8	0.3
	鱼-2 Fish-2	114.0	2.9	ND	1.5	7.5
舟山海域 Zhoushansea area	贝-1 Shellfish-1	18.1	0.1	0.2	0.3	0.2
	贝-2 Shellfish-2	4.2	0.1	0.2	0.1	0.4
	虾-1 Shrimp-1	1.9	0.4	0.5	1.0	0.8
	虾-2 Shrimp-2	5.7	0.4	0.4	0.8	0.7
	虾-3 Shrimp-3	1.5	0.4	0.5	0.9	0.8
	鱼-1 Fish-1	10.3	ND	ND	0.5	1.2
	鱼-2 Fish-2	79.3	0.1	ND	0.9	0.6
	鱼-3 Fish-3	5.7	0.9	1.5	0.9	0.5

1)ND:没有检出 Undetected.

3个海域的捕捞样品中4-NP的含量较高,其中除象山外的宁波海域鱼虾贝样品中4-NP的含量最高,在20.1~657.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间,象山及舟山海域所捕的海产品中4-NP含量在1.5~98.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间,其他化合物含量较低,普遍低于5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,甚至没有检出(ND)。这说明4-NP已经对水产品造成普遍的污染,尤其是宁波地区的污染最为严重,应该及时制定相应政策进行污染控制。

3 讨论

本研究通过对鱼、虾及贝类等海产品中的烷基酚及双酚A进行提取、分离、净化等优化试验,建立了液相色谱串联质谱法同时测定海产品中烷基酚及双酚A的方法,填补了现有方法的空缺。现有研究中,选择同时测定海产品中APs及BPA的报道很少,现有报道有Basheer等^[17]成功使用GC-MS方

法同时测定超市出售海产品中APs及BPA的含量,从而评估超市中海产品的潜在风险,该方法的检测限4-t-辛基酚(4-t-OP)达到0.150 $\mu\text{g}/\text{kg}$,4-壬基酚(4-NP)达到0.164 $\mu\text{g}/\text{kg}$,但是超市所售海产品在原料运输及粗加工存储过程中可能会因为洗涤剂(含有APs)及塑料包装(含有BPA)造成人为污染,这样会导致所测样品的APs及BPA浓度过高。也有报道选择用LC-MS来测定生物样品中的APs和BPA,如邵兵等^[19]采用加速溶剂萃取结合固相萃取(SPE)净化技术建立LC-MS/MS方法测定动物组织中的APs和BPA,该方法检测灵敏度高,BPA的检测限达到0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$,4-NP达到0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$,辛基酚(OP)达到0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,但是该方法使用的萃取溶剂二氯甲烷毒性大,加速溶剂萃取周期较长,有机溶剂使用量巨大(>100 mL),因此不适用于大批量样品测定。徐英江等^[20]采用乙酸乙酯液相萃取水

产品中 APs 和 BPA, 采用 HLB 固相萃取柱净化样品, 并使用 UPLC-MS/MS 来分析样品, 虽然该方法的检出限达到 NP 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, OP 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 但是该方法前处理过程中使用大量 (70 mL) 的有机试剂, 固相萃取过程操作繁琐, 费时费力, 大批量处理样品时也面临着产生众多有机废液及前处理耗时久等问题。

本研究采用液相萃取结合固相萃取的技术对海产品中的双酚 A 和烷基酚进行分离检测, 该方法能够进行准确的定性与定量, 同时操作简单、准确、灵敏度高, 节省时间又降低实验成本, 准确度与精密度符合烷基酚及双酚 A 的残留检测需要, 因此可以作为通用快捷的检测方法进行推广。

参 考 文 献

- [1] STAPLES C A, DOM P B, KLECKA M, et al. A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A [J]. *Chemosphere*, 1998, 36: 2149-2173.
- [2] FOLMAR L C, HEMMER M J, DENSLow D, et al. A comparison of the estrogenic potencies of estradiol, ethynylestradiol, diethylstilbestrol, nonylphenol and methoxychlor *in vivo* and *in vitro* [J]. *Aquat Toxicol*, 2002, 60: 101-110.
- [3] KANNAN K, KEITH T L, NAYLOR C G, et al. Nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in fish, sediment, and water from the Kalamazoo River, Michigan [J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2003, 44: 77-82.
- [4] AHEL M, GIGER W, KOCH M. Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment-I. Occurrence and transformation in sewage treatment [J]. *Water Res*, 1994, 28: 1131-1142.
- [5] CORCIA D A, CAVALLO R, CRESCENZI C, et al. Occurrence and abundance of dicarboxylated metabolites of nonylphenol polyethoxylate surfactants in treated sewages [J]. *Environ Sci Technol*, 2000, 34: 3914-3919.
- [6] 薛光璞, 姚朝英. 4-烷基酚的 GC/MS 检测及长江南京段的污染状况 [J]. *环境科学与管理*, 2010, 35(6): 116-118.
- [7] 朱俐, 董慧茹. 烷基酚与 DNA 相互作用的荧光光谱法研究 [J]. *分析测试学报*, 2009, 28(2): 157-161.
- [8] 马强, 白桦, 王超, 等. 纺织品与食品包装材料中烷基酚及双酚 A 迁移量的液相色谱-串联质谱分析 [J]. *分析测试学报*, 2009, 28(12): 1415-1418.
- [9] PETROVIC M, DIAZ A, VENTURA F, et al. Simultaneous determination of halogenated derivatives of alkylphenol ethoxylates and their metabolites in sludges, river sediments, and surface, drinking, and wastewaters by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2001, 73: 5886-5895.
- [10] CESPEDES R, SKRYJOVA K, RAKOVA M, et al. Validation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the determination of 4-nonylphenol and octylphenol in surface water samples by LC-ESI-MS [J]. *Talanta*, 2006, 70: 745-751.
- [11] CANTERO M, RUBIO S, EREZP-BENDITO D. Determination of alkylphenols and alkylphenol carboxylates in wastewater and river samples by hemimicelle-based extraction and liquid chromatography-ion trap mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1120(1): 260-267.
- [12] PETROVIC M, BARCELO D, DIAZ A. Low nanogram per liter determination of halogenated nonylphenols, nonylphenol carboxylates, and their non-halogenated precursors in water and sludge by liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2003, 14: 516-527.
- [13] FERRER E, SANTONI E, VITTORI S, et al. Simultaneous determination of bisphenol A, octylphenol, and nonylphenol by pressurised liquid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry in powdered milk and infant formulas [J]. *Food Chemistry*, 2011, 126: 360-367.
- [14] FERRARA F, FABIETTI F, DELISE M, et al. Alkylphenols and alkylphenol ethoxylates contamination of crustaceans and fishes from the Adriatic Sea (Italy) [J]. *Chemosphere*, 2005, 59: 1145-1150.
- [15] LI Z, LI D, OH J R, et al. Seasonal and spatial distribution of nonylphenol in Shihwa Lake, Korea [J]. *Chemosphere*, 2004, 56: 611-618.
- [16] CHENG C Y, LIU L L, DING W H. Occurrence and seasonal variation of alkylphenols in marine organisms from the coast of Taiwan [J]. *Chemosphere*, 2006, 65: 2152-2159.
- [17] BASHEER C, LEE H K, TAN K S. Endocrine disrupting alkylphenols and bisphenol-A in coastal waters and supermarket seafood from Singapore [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2004, 48: 1145-1167.
- [18] FERRARA F, ADEMOLLO N, DELISE M, et al. Alkylphenols and their ethoxylates in seafood from the Tyrrhenian Sea [J]. *Chemosphere*, 2008, 72: 1279-1285.
- [19] 邵兵, 韩灏, 李冬梅, 等. 加速溶剂萃取-液相色谱-质谱/质谱法分析动物组织中的壬基酚、辛基酚和双酚 A [J]. *色谱*, 2005, 23(4): 362-365.
- [20] 徐英江, 田秀慧, 张秀珍, 等. 超高效液相色谱串联质谱法对水产品中 8 种雌激素的测定 [J]. *分析测试学报*, 2010, 29(2): 152-156.
- [21] 马荣荣, 胡颀, 王印庚, 等. “美婷”原料药在鱼肌肉组织中残留检测前处理方法 [J]. *华中农业大学学报*, 2013, 32(6): 121-125.

Simultaneously determining alkylphenols and bisphenol A residues in seafood by high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry

YU Xue-jun¹ GU Yun-yun² FENG Rui¹ GE Xiao-ming¹ CHEN Meng-yu¹
NI Mei-lin¹ HU Xia-lin² ZHONG Ying-ying¹

1. *Ningbo Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Ningbo 315012, China;*
2. *State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China*

Abstract A liquid chromatography with tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) method was developed for simultaneously determining residues of four alkylphenols (APs) and bisphenol A in fresh fishes, shellfishes, and shrimps. The samples were ultrasonically extracted with acetonitrile, and then purified by PSA solid-phase extraction cartridge. Limits of detection were between 0.07 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 0.30 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the limits of quantification were between 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The acceptable linearity was between 0.5-300.0 $\mu\text{g}/\text{L}$, and the related correlation coefficients were between 0.9918-0.9999. Recovery studies were carried out on spiked samples with concentrations between 5-100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the average recoveries were between 60%-127% ($n=6$) with CVs of 2.2%-39.9%. The method was reliable, convenient and suitable for determining APs and BPA in seafood in import-export trade.

Key words liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS); residue determination; alkylphenols; bisphenol A; seafood

(责任编辑:陆文昌)