

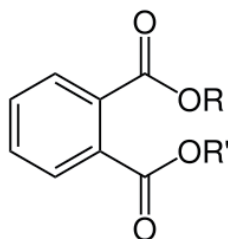
离子阱飞行时间串联质谱定性筛查饮料中邻苯二甲酸酯

LCMS-IT-TOF-024

摘要： 本文使用超快速液相色谱和离子阱-飞行时间串联质谱(LCMS-IT-TOF)联用定性检测了4种市售饮料中的13种邻苯二甲酸酯。并对其中DEHP进行了多级质谱分析，使用分子式预测软件对目标离子进行了分子式预测。使用MetID Solution软件对4种饮料中邻苯二甲酸酯进行自动筛查，筛查到3种市售饮料中含有DEHP。

关键词： 邻苯二甲酸酯 DEHP LCMS-IT-TOF 饮料

邻苯二甲酸酯(phthalate esters, PAEs)又称酞酸酯，是一类使用最广泛、品种最多、产量最大的增塑剂，其结构通式如下：



其中邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP)是最重要的品种。PAEs被普遍应用于玩具、食品包装材料、清洁剂、润滑油、乙烯地板和壁纸等很多材料中。日前，台湾部分食品含有PAEs塑化剂事件引发了市场的高度关注。PAEs被WTO公告为一种环境荷尔蒙，研究表明这类物质在人和动物体内发挥着内分泌干扰素的作用，会使男性精子数量减少、活动能力低下，干扰男性生殖系统的正常发育，以及增加女性患乳腺癌的机率等。目前美国、欧盟已针对PAEs建立规范，以减少PAEs对人体造成进一步危害。台湾环保署，已将DEHP、DBP、DMP列为第四类毒性化学物质管制，DNOP被列为第一类毒性化学物质，限制其使用用途。2011年6月1日，中国卫生部已把塑化剂列入《食品中可能违法添加的非食用物质和易滥用的食品添加剂名单(第六批)》中。

因此，本文利用LCMS-IT-TOF既具备多级质谱功能，又具备高分辨率和高质量数准确度，适合同时对多

种微量成分准确定性的特点，建立了超快速高效液相色谱和离子阱飞行时间串联质谱联用对饮料中13种PAEs定性分析方法。该方法快速、便捷、结果可靠性高。

实验部分

1.1 试剂与仪器

试剂： 甲醇，HPLC级；纯水，Milli-Q超纯水仪制备得到；正己烷，农残级。

仪器： 使用岛津超快速液相色谱仪(UFLCXR)与离子阱飞行时间串联质谱仪(LCMS-IT-TOF)联用系统。具体配置为LC-20AD×2(输液泵)，DGU-20A3(在线脱气机)，SIL-20AC(自动进样器)，CTO-20AC(柱温箱)，CBM-20A(系统控制器)，LCMS-IT-TOF(离子阱飞行时间串联质谱仪)，LCMSsolution Ver. 3.6(色谱工作站)。

1.2 分析条件

1.2.1 液相条件

色谱柱： Shim-pack XR-ODS II 2.0 mm I.D.× 75 mm L, 2.2 μm

流动相： A相-水；B相-乙腈

流速： 0.4 mL/min

柱温： 40℃

进样量： 4 μL

洗脱方式： 梯度洗脱，时间程序见表1

表1 梯度洗脱时间程序

| Time | Module | Action | Value(%) |
|-------|------------|--------|----------|
| 0.01 | Pumps | B.Conc | 50 |
| 4.00 | Pumps | B.Conc | 80 |
| 10.00 | Pumps | B.Conc | 90 |
| 17.00 | Pumps | B.Conc | 90 |
| 17.10 | Pumps | B.Conc | 50 |
| 20.00 | Controller | Stop | |

1.2.2 质谱条件

离子化模式: ESI源, 正离子

采集范围: 采用自动多级质谱功能; MS1 m/z 200-600; MS2 m/z 100-600

离子喷雾电压: 4.5 kV

加热模块温度: 200°C

CDL温度: 200°C

雾化气: N₂, 1.5 L/min

干燥气: N₂, 10 L/min

检测器电压: 1.70 kV

校准方法: 自动调谐优化电压, 外标法校准质量数

1.3 样品前处理

量取试样5.0 mL, 加入正己烷2.0 mL, 振荡5 min, 或加入0.5 g NaCl, 5000 r/min离心3 min, 取上层清液1 mL, 用氮气吹至近干, 用甲醇定容至1 mL, 待测。(检测中所使用的器具及材料均需为玻璃材质, 不可使用塑料材质, 使用前需先以甲醇润洗, 吹干备用, 以避免在样品提取过程中引入PAEs, 对分析结果产生干扰)

结果与讨论

2.1 PAEs标样分析结果

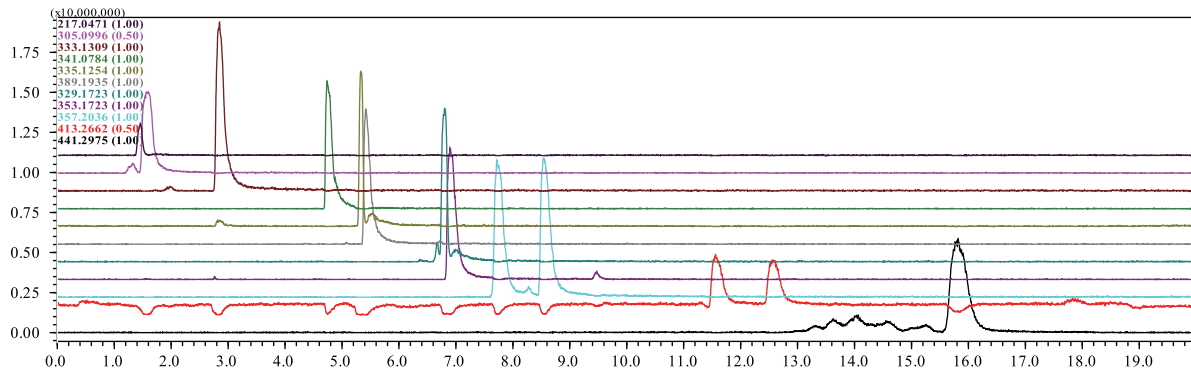


图1 13种PAEs混标的提取离子流色谱图

以上PAEs的提取离子流色谱图(EIC)中为11种正离子。由于m/z 357.2036和m/z 413.2662均存在2种同分异构体, 故实际含有13种PAEs的提取离子流信息。

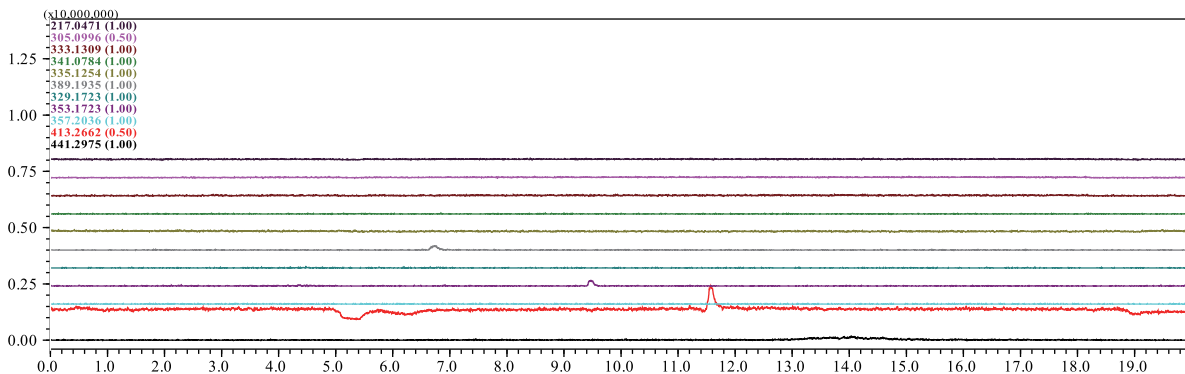


图2 溶剂空白的提取离子流色谱图

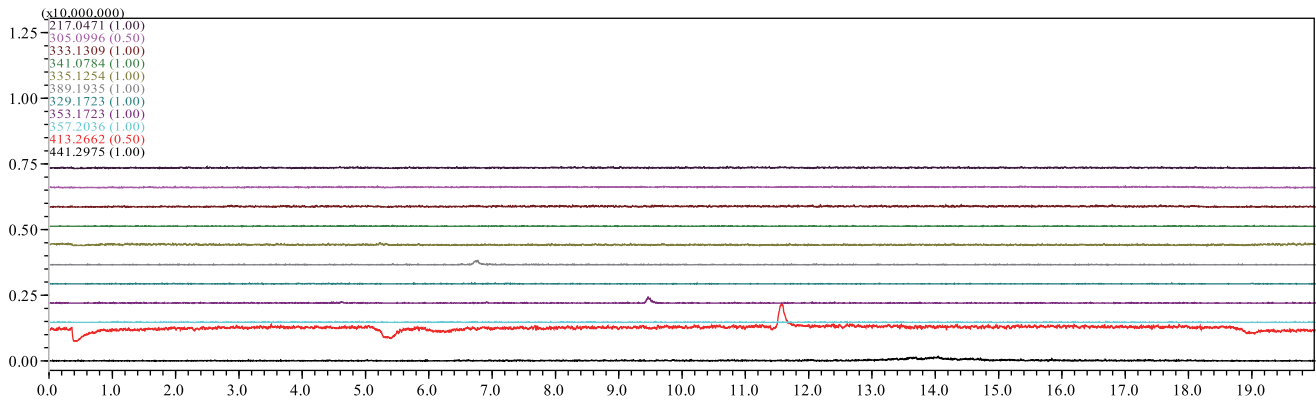


图3 饮料基质空白的提取离子流色谱图

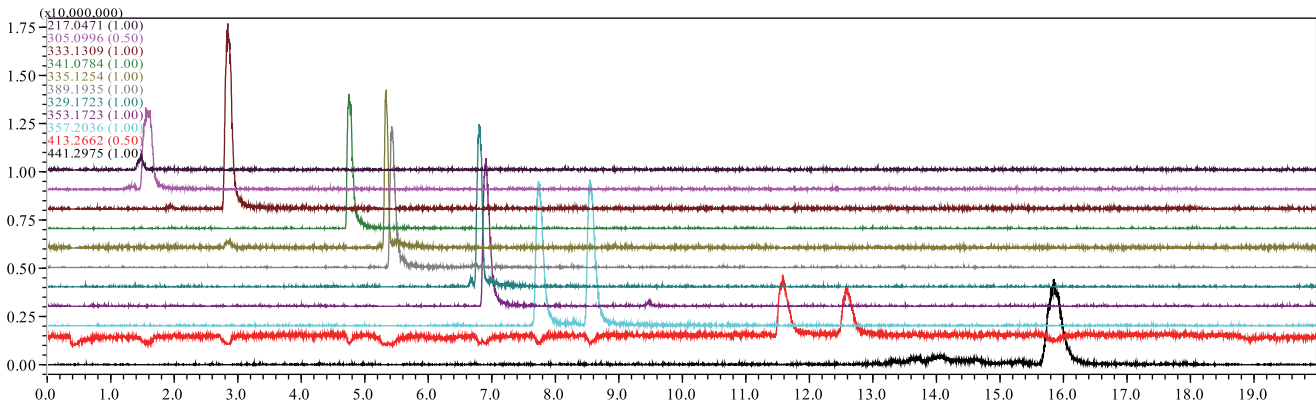


图4 饮料基质加13种PAEs混标的提取离子流色谱图

表2 13种PAEs混标的分析结果详细信息

| ID | 名称 | 分子式 | 保留时间(min) | 离子种类 | 理论 m/z | 实测 m/z | 质量数偏差 (PPM) |
|----|--------------------|-------------------|-----------|------------|----------|----------|-------------|
| 1 | DMP | $C_{10}H_{10}O_4$ | 1.465 | $[M+Na]^+$ | 217.0471 | 217.0471 | 0.00 |
| 2 | DMEP | $C_{14}H_{18}O_6$ | 1.599 | $[M+Na]^+$ | 305.0996 | 305.0984 | -3.93 |
| 3 | DEEP | $C_{16}H_{22}O_6$ | 2.850 | $[M+Na]^+$ | 333.1309 | 333.1302 | -2.10 |
| 4 | Diphenyl phthalate | $C_{20}H_{14}O_4$ | 4.753 | $[M+Na]^+$ | 341.0784 | 341.0772 | -3.52 |
| 5 | BBP | $C_{19}H_{20}O_4$ | 5.341 | $[M+Na]^+$ | 335.1254 | 335.1243 | -3.28 |
| 6 | DBEP | $C_{20}H_{30}O_6$ | 5.428 | $[M+Na]^+$ | 389.1935 | 389.1936 | 0.26 |
| 7 | DPP | $C_{18}H_{26}O_4$ | 6.812 | $[M+Na]^+$ | 329.1723 | 329.1708 | -4.56 |
| 8 | DCHP | $C_{20}H_{26}O_4$ | 6.906 | $[M+Na]^+$ | 353.1723 | 353.1727 | 1.13 |
| 9 | BMPP | $C_{20}H_{30}O_4$ | 7.735 | $[M+Na]^+$ | 357.2036 | 357.2021 | -4.20 |
| 10 | DHXP | $C_{20}H_{30}O_4$ | 8.553 | $[M+Na]^+$ | 357.2036 | 357.2024 | -3.36 |
| 11 | DEHP | $C_{24}H_{38}O_4$ | 11.567 | $[M+Na]^+$ | 413.2662 | 413.2669 | 1.69 |
| 12 | DNOP | $C_{24}H_{38}O_4$ | 12.580 | $[M+Na]^+$ | 413.2662 | 413.2654 | -1.94 |
| 13 | DNP | $C_{26}H_{42}O_4$ | 15.830 | $[M+Na]^+$ | 441.2975 | 441.2963 | -2.72 |

根据多级质谱图的准确质量数信息可以推导出化合物的裂解规律。DEHP的MS3质谱图(见图5)、分子式预测结果(见图6)和裂解规律(见图7)如下:

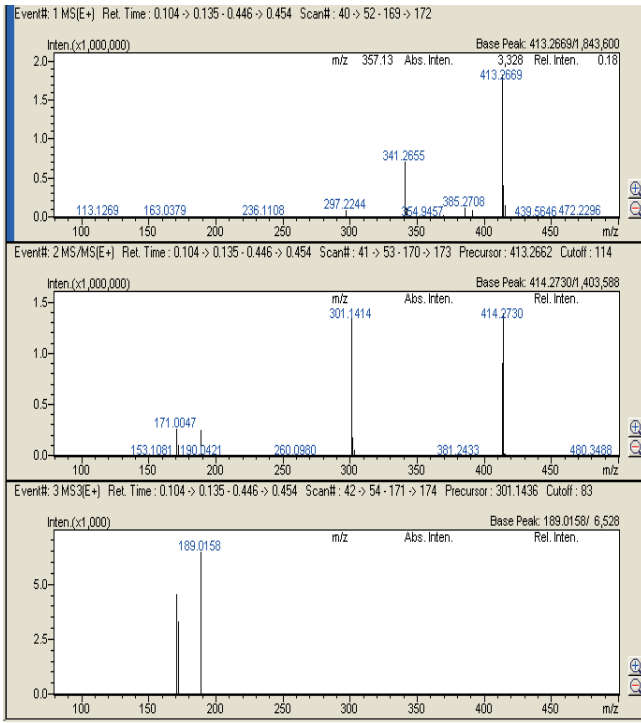


图5 DEHP的三级质谱图

使用FormulaPredictor软件对DEHP结果进行预测, 预测时使用碎片信息(MSn), 同位素规则, 不饱和度及氮规则, 同时设置元素组成为C、H、O, 质量数偏差范围为5 ppm, 得到预测结果为 $C_{24}H_{38}O_4$, 目标离子的质量数偏差为1.69 ppm。

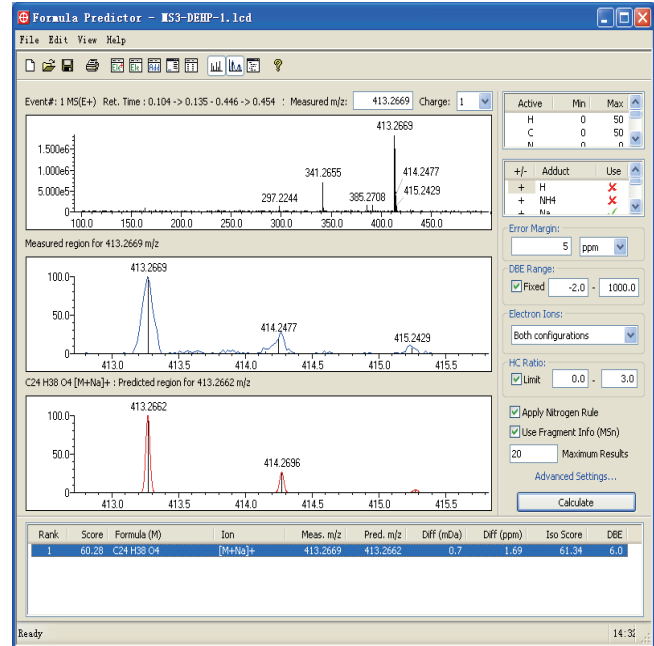


图6 DEHP的分子式预测结果

根据DEHP的多级质谱图, 推测其可能的裂解规律如下:

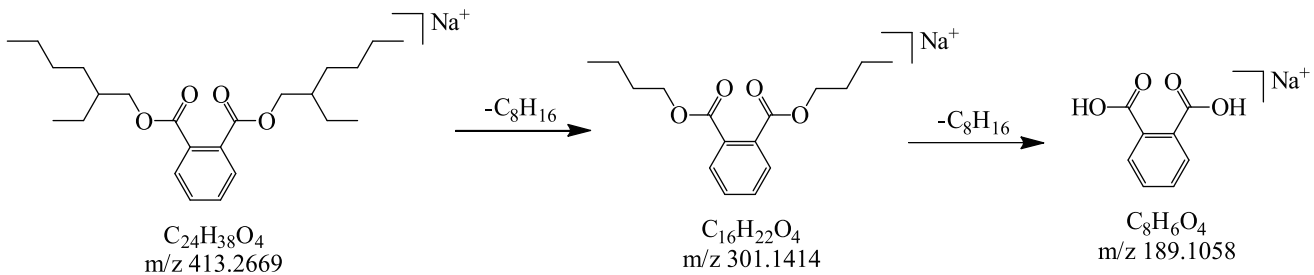


图7 DEHP可能得裂解规律

2.2 实际样品分析结果

对奶茶、运动饮料、芭乐汁、茉莉花茶4种市售饮料进行PAEs定性检测, 按1.3中前处理方法提取饮料中PAEs。各饮料中PAEs分析结果如下所示:

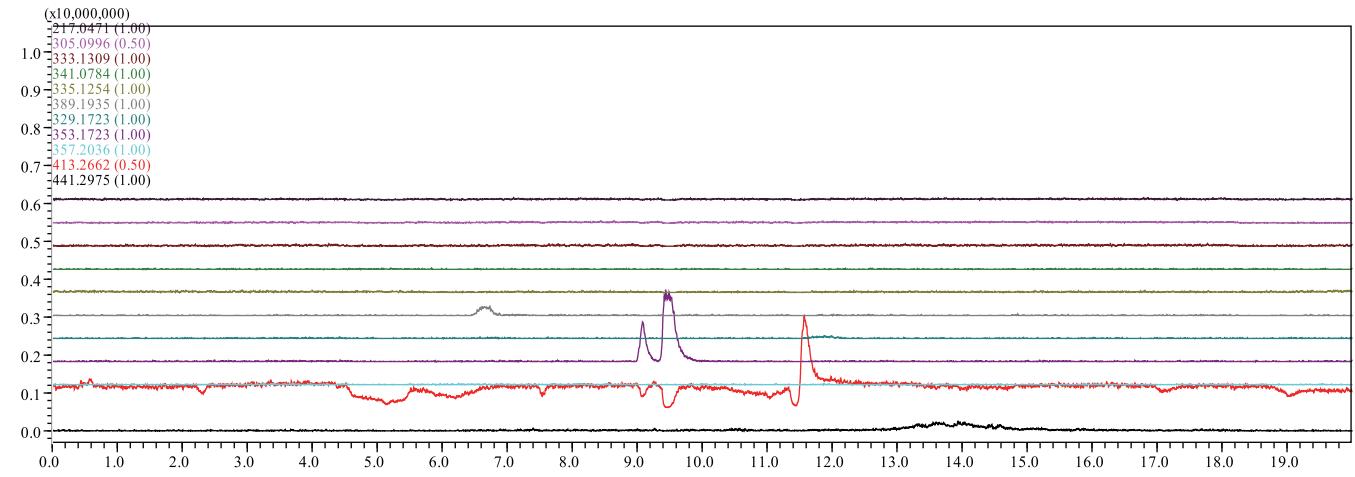


图8 某品牌奶茶的提取离子流色谱图

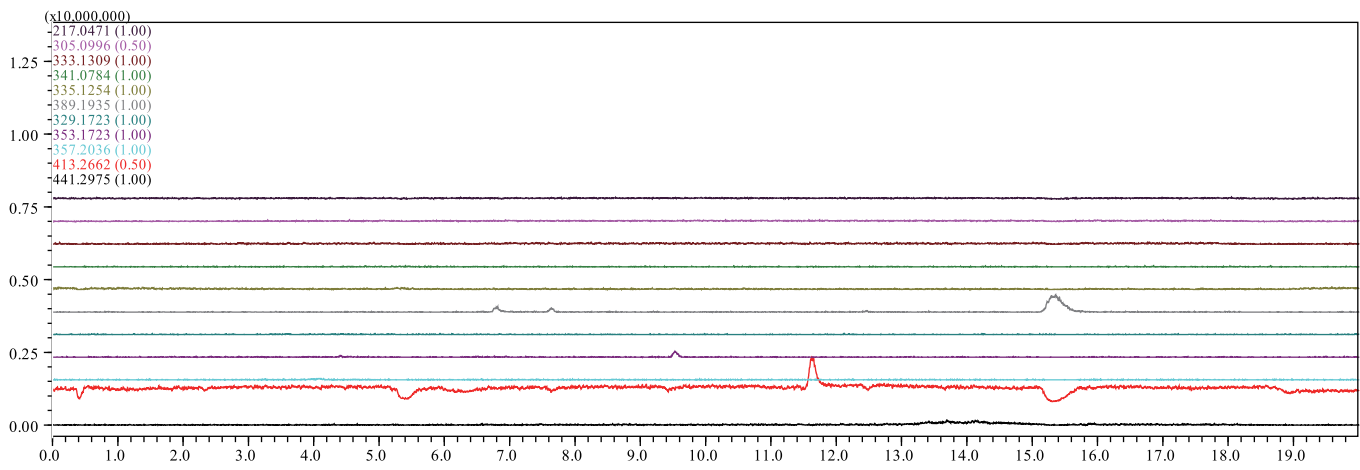


图9 某品牌运动饮料的提取离子流色谱图

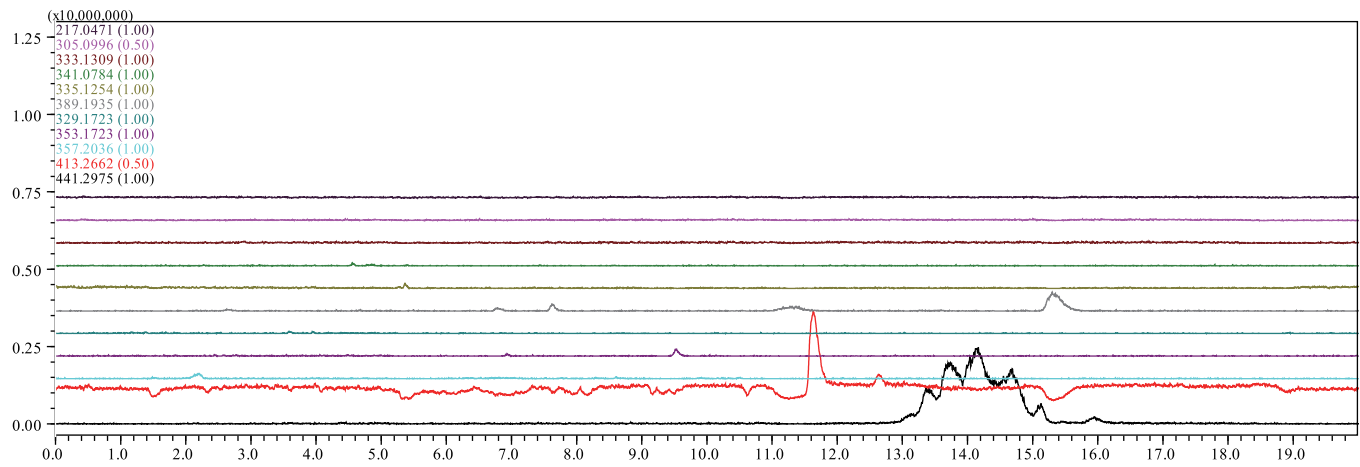


图10 某品牌芭乐汁的提取离子流色谱图

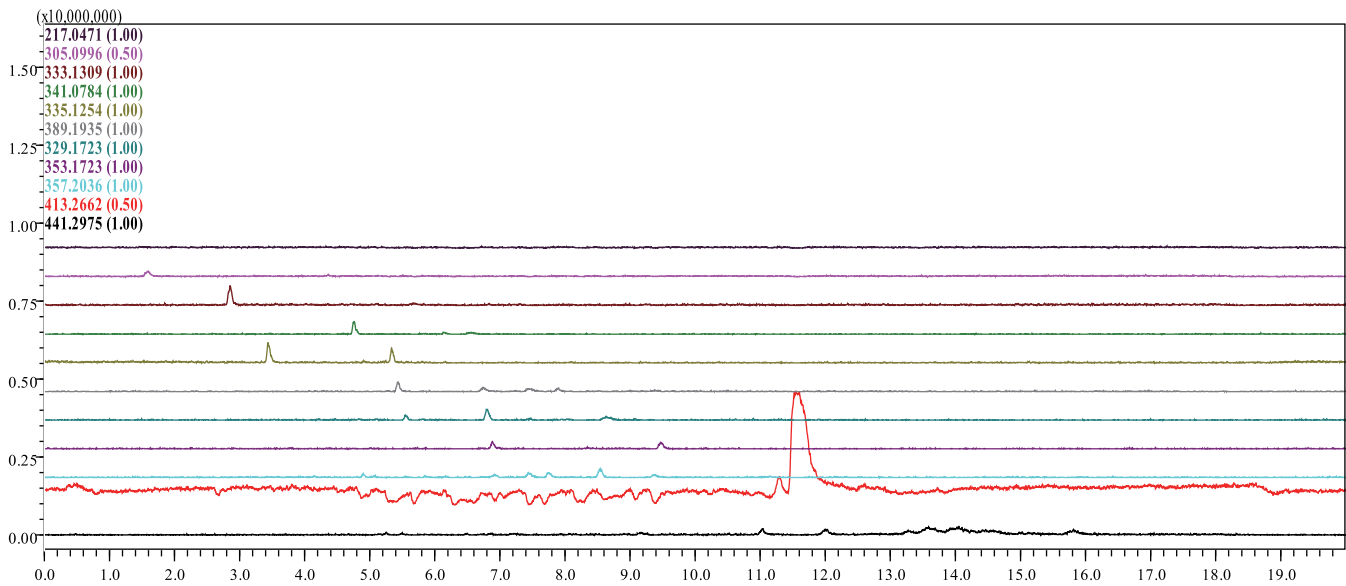


图11 某品牌茉莉花茶的提取离子流色谱图

通过MetID Solution筛查软件的谱图对比功能，将溶剂空白数据作为对照组，各饮料数据作为样品组，进行筛查分析。从筛查数据库中快速检测得到4种市售饮料中含有PAEs的信息，列表如下：

表3 市售饮料中检测到的PAEs列表

| ID | 名称 | 某品牌奶茶 | 某品牌运动饮料 | 某品牌芭乐汁 | 某品牌茉莉花茶 |
|----|--------------------|-------|---------|--------|---------|
| 1 | DMP | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| 2 | DMEP | N.D. | N.D. | N.D. | 检出 |
| 3 | DEEP | N.D. | N.D. | N.D. | 检出 |
| 4 | Diphenyl phthalate | N.D. | N.D. | N.D. | 检出 |
| 5 | BBP | N.D. | N.D. | N.D. | 检出 |
| 6 | DBEP | N.D. | N.D. | N.D. | 检出 |
| 7 | DPP | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| 8 | DCHP | N.D. | N.D. | N.D. | 检出 |
| 9 | BMPP | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| 10 | DHXP | N.D. | N.D. | N.D. | 检出 |
| 11 | DEHP | 检出 | N.D. | 检出 | 检出 |
| 12 | DNOP | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| 13 | DNP | N.D. | N.D. | 检出 | 检出 |

对实际样品某品牌茉莉花茶中DEHP做了二级质谱分析(见图12), 并用分子式预测软件做了分子式预测(见图13), 预测得到目标离子的质量数偏差为1.21 ppm。

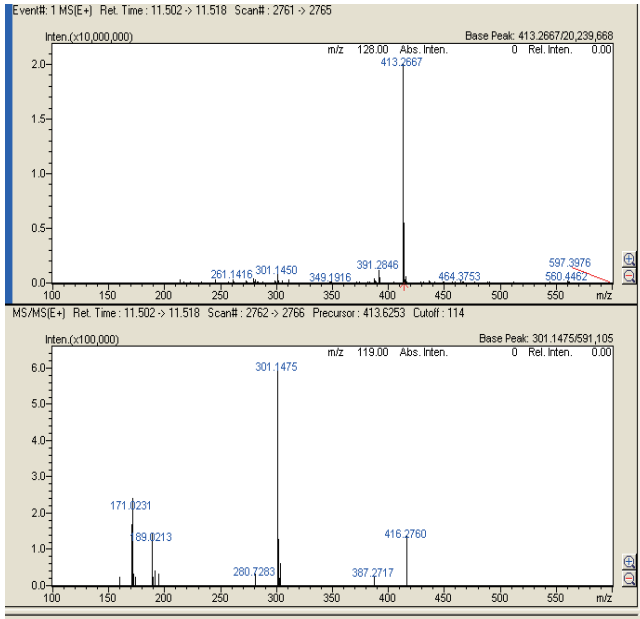


图12 某品牌茉莉花茶中DEHP的二级质谱图

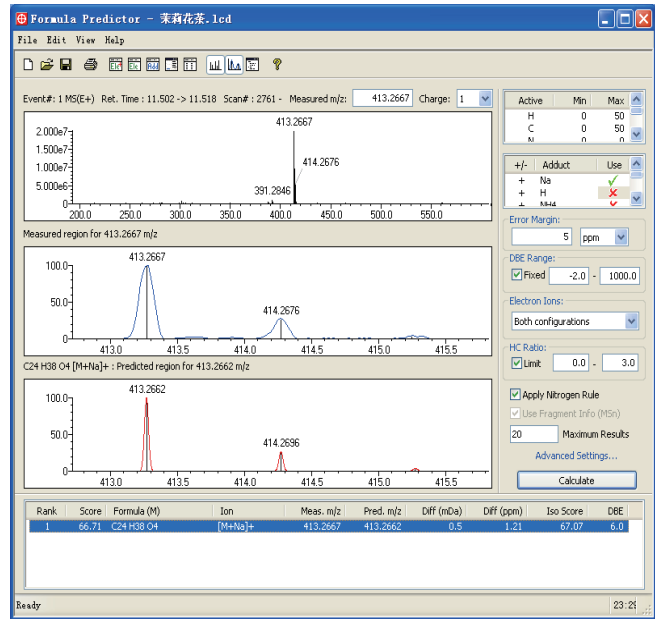


图13 某品牌茉莉花茶中DEHP的分子式预测结果

结论

使用岛津超快速液相色谱仪(UFLCXR)和离子阱飞行时间串联质谱仪(LCMS-IT-TOF)联用并结合了MetID Solution筛查软件, 建立了定性筛查饮料中13种邻苯二甲酸酯的分析方法。筛查得到4种市售饮料中, 3种含有DEHP, 具体结果见表3。该方法方便、快速, 尤其在定性筛查分析中LCMS-IT-TOF的多级质谱功能和每一级都具备高质量数准确度的特点, 大大提高了筛查结果的准确性。