

LC-MS/MS 法测定谷物及肉制品中有机磷酸酯类阻燃剂

LCMSMS-974

摘要：使用岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用系统建立了测定谷物及肉制品中有机磷酸酯类阻燃剂含量的分析方法。样品经过改进的 QuEChERS 法进行前处理，利用延迟柱将系统干扰与样品分离，并使用 C18 色谱柱进行分离，通过多反应监测模式对目标化合物进行测定。结果表明：16 种有机磷酸酯类阻燃剂在 1.0 $\mu\text{g/L}$ ~ 100.0 $\mu\text{g/L}$ (其中 TEHP 在 0.2 $\mu\text{g/L}$ ~ 20.0 $\mu\text{g/L}$) 浓度范围内线性良好，所得校准曲线线性相关系数均在 0.998 以上，在 2 $\mu\text{g/kg}$ (TEHP 的添加浓度为 0.4 $\mu\text{g/kg}$) 的加标浓度下，各化合物的平均加标回收率结果在 73.3% ~ 110.2% 之间，且重复性实验结果良好，可为食品中有机磷酸酯类阻燃剂含量的测定提供借鉴。

关键词：三重四极杆质谱 谷物 肉制品 有机磷酸酯类阻燃剂

技术特点：

- ❖ 改进的 QuEChERS 前处理，可有效去除肉制品中脂肪对于目标物的干扰；
- ❖ 一针进样，可同时分析谷物及肉制品中 16 种有机磷酸酯类阻燃剂；
- ❖ 加入延迟柱，有效将系统干扰与样品中的目标物分离。

有机磷阻燃剂 (OPFRs) 作为传统溴代阻燃剂的替代品已得到广泛应用，同时 OPFRs 还被用作塑化剂、稳定剂、液压油中的润滑剂等。OPFRs 具有半挥发性，在生成和使用过程中主要通过物理混合而不是化学键合的方式添加到聚合物材料中，使其易于通过挥发、浸出等方式释放到周围环境中。OPFRs 具有环境持久性、生物富集性，对水生生物具有急性或慢性负面效应，且会对人体具有神经毒性、致癌性、生物毒性、内分泌干扰性，对人体健康存在一定的负面影响。

目前，OPFRs 在各种环境介质中普遍存在且在谷物、蔬菜、肉制品等食品中均有检出，因此建立一种测定食品中 OPFRs 含量的监测方法是很有必要的。

食品中 OPFRs 的检测方法主要有气相色谱 - 串联质谱法 (GC-MS/MS) 和液相色谱 - 串联质谱法 (LC-MS/MS)。其中 GC-MS/MS 法分析时间长，且在分析一些挥发性较低的 OPFRs 时灵敏度和准确度不如 LC-MS/MS。

本文基于岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用技术，针对谷物和肉制品参考 2024 年食品安全风险评估手册中的前处理方式，建立了 16 种有机磷酸酯类阻燃剂含量的高效液相色谱串联质谱分析方法。该方法可在 19 min 完成 16 种有机磷酸酯类阻燃剂的测定，简便快捷、灵敏度高，可为食品中有机磷酸酯类阻燃剂的监测方法提供借鉴。

■ 实验部分

1.1 仪器

LCMS-8045 三重四极杆液质联用系统。具体配置为：

系统控制器：CBM-20A

输液泵：LC-30AD \times 2

柱温箱：CTO-20AC

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.113

脱气机：DGU-20A_{5R}

自动进样器：SIL-30AC

检测器：LCMS-8045

1.2 分析条件

液相条件

延 迟 柱 : Shim-pack Scepter C18 (50 mm×2.1 mm I.D., 3 μm,
 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-31021-03)
 色 谱 柱 : Shim-pack Scepter C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 1.9 μm,
 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-31012-05)
 流 动 相 : A 相 - 0.1% 甲酸水; B 相 - 乙腈
 流 速 : 0.40 mL/min
 进 样 体 积 : 2 μL
 柱 温 : 40°C
 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 10%, 时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
0.50	泵	B.Conc	10
9.00	泵	B.Conc	70
10.00	泵	B.Conc	98
14.00	泵	B.Conc	98
15.00	泵	B.Conc	10
19.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子化模式 : ESI+	接 口 温 度 : 300°C
接 口 电 压 : 4.0 kV	D L 温 度 : 526°C
雾化气流速 : 氮气 3.0 L/min	加 热 块 温 度 : 400°C
加 热 气 流 速 : 空气 10 L/min	驻 留 时 间 : 30 ms
干 燥 气 流 速 : 氮气 10 L/min	扫 描 模 式 : 多反应监测 (MRM)
碰 撞 气 : 氦气 230 kPa	MRM 参 数 : 见表 2

1.3 样品前处理方法

1.3.1 样品提取

谷物样品: 准确称取 1.0 g (精确至 0.001 g) 混合均匀的样品至 50 mL 离心管, 加入 50 μL 200 μg/L 的同位素内标混合溶液, 依次加入 2 mL 水混匀, 静置 10 min。加入 0.5% 甲酸乙腈溶液 10 mL, 旋涡混匀 2 min, 超声提取 10 min。加入 4 g 无水硫酸钠, 旋涡震荡 2 min, 6000 r/min 离心 10 min。取 6 mL 上清液待净化。

肉类样品: 准确称取 1.0 g (精确至 0.001 g) 混合均匀的样品至 50 mL 离心管, 加入 50 μL 200 μg/L 的同位素内标混合溶液, 依次加入 2 mL 水混匀, 静置 10 min。加入 0.5% 甲酸乙腈溶液 10 mL, 旋涡混匀 2 min, 超声提取 10 min。加入 1 g PLA-S 粉末、4 g 无水硫酸钠, 旋涡震荡 2 min, -20°C 冷冻 30 min 后, 取出样品, 6000 r/min 离心 10 min。取 6 mL 上清液待净化。

1.3.2 样品净化

吸取 6 mL 上清液置于 15 mL 净化管中 (600 mg MgSO₄、200 mg PSA、150 mg C18), 旋涡混匀。6000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液 4 mL 氮吹至干 (30°C 水浴), 用 0.4 mL 甲醇复溶, 混合均匀后, 过膜上 LCMSMS 分析。

1.4 校准曲线的制备

移取适量 1 µg/mL 有机磷酸酯类阻燃剂混合标准溶液 (其中 TEHP 标样浓度为 0.2 µg/mL) 于 5 mL 容量瓶, 加入 50 µL 浓度为 200 µg/L 混合内标溶液, 用甲醇定容至刻度, 配制系列浓度分别为 1.00 µg/L、2.00 µg/L、5.00 µg/L、10.0 µg/L、20.0 µg/L、50.0 µg/L、100 µg/L (其中 TEHP 的浓度为 0.20 µg/L、0.40 µg/L、1.00 µg/L、2.00 µg/L、4.00 µg/L、10.0 µg/L、20.0 µg/L) 的混合标准工作溶液, 其中内标浓度为 10.0 µg/L。

表 2 有机磷酸酯类阻燃剂及其同位素内标的 MRM 采集参数

No.	化合物名称	保留时间 (min)	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	TMP-D9	2.361	150.10	115.00*	-11	-20	-22
2	TMP	2.401	141.10	79.10* 109.00	-10 -10	-22 -21	-17 -20
3	TEP-D15	5.457	198.20	102.00*	-10	-18	-21
4	TEP	5.548	183.10	99.00* 81.10	-13 -13	-20 -39	-21 -18
5	TCEP-D12	7.114	299.10	102.10*	-11	-24	-12
6	TCEP	7.142	285.00	99.00* 63.10	-19 -19	-24 -23	-21 -26
7	TiPP	7.749	225.10	99.10* 141.00	-16 -16	-17 -9	-21 -16
8	TnPP-D21	8.121	246.30	102.10*	-17	-20	-21
9	TnPP	8.230	225.10	99.00* 141.00	-16 -16	-17 -10	-21 -16
10	TCPP	8.769	327.10	99.00* 251.10	-12 -22	-23 -9	-19 -19
11	V6	9.023	582.80	297.00* 360.90	-22 -22	-26 -19	-22 -27
12	TDCPP-D15	10.024	446.00	102.00*	-17	-27	-22
13	TDCPP	10.063	430.90	99.00* 208.90	-21 -30	-28 -16	-21 -25
14	TnBP-D27	10.234	294.40	102.10*	-20	-20	-22
15	TnBP	10.251	267.20	99.00* 155.00	-18 -19	-17 -9	-20 -17
16	TiBP	10.341	267.20	99.00* 155.00	-10 -10	-16 -9	-21 -17

17	TPHP-D15	10.347	342.20	82.10*	-13	-46	-17
18	TPHP	10.409	327.00	99.00* 155.00	-17 -12	-43 -27	-29 -24
19	TDBPP	10.411	698.30	99.00* 298.90	-26 -26	-32 -19	-20 -23
20	TBOEP	10.652	339.10	199.10* 299.20	-15 -15	-16 -13	-15 -16
21	TMPP	11.154	369.10	91.10* 166.10	-25 -25	-40 -30	-11 -18
22	EHDPP	11.351	363.20	77.10* 251.10	-25 -26	-51 -9	-16 -18
23	TEHP	13.790	435.20	91.10* 113.30	-16 -16	-21 -12	-22 -14

注：* 表示定量离子对

■ 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

通过优化液相色谱条件，使用延迟柱可以将系统干扰有效去除，16种有机磷酸酯类阻燃剂组分在19 min内完成分析，标样色谱图见图1所示。

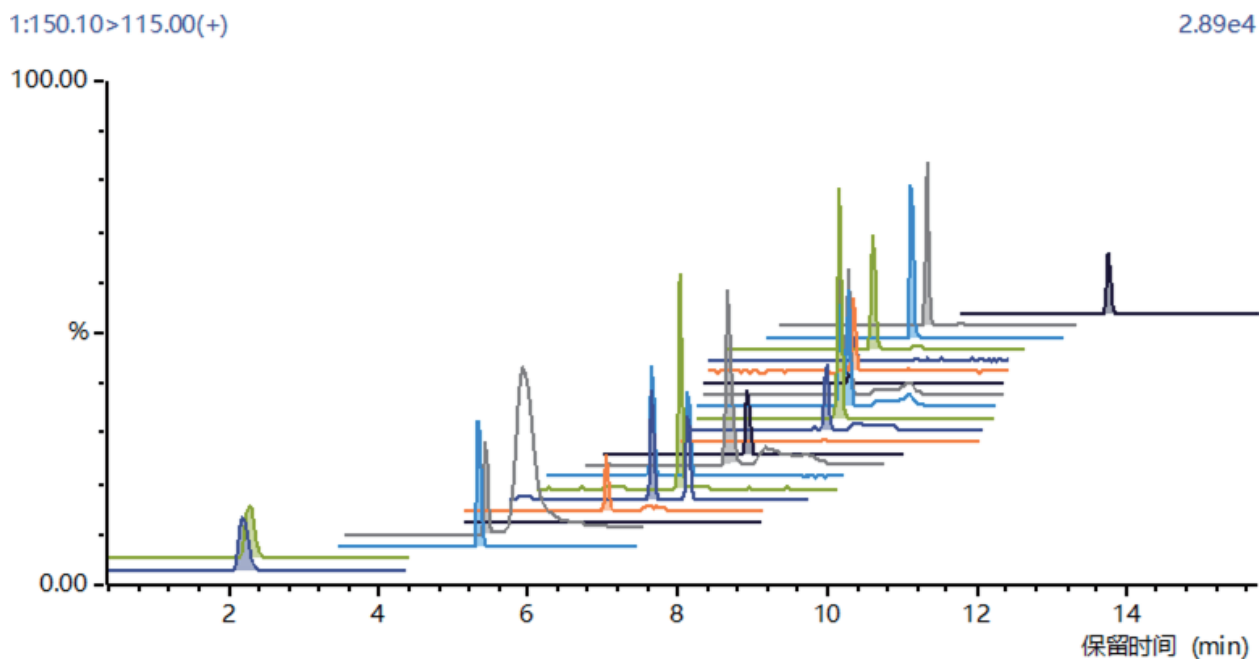
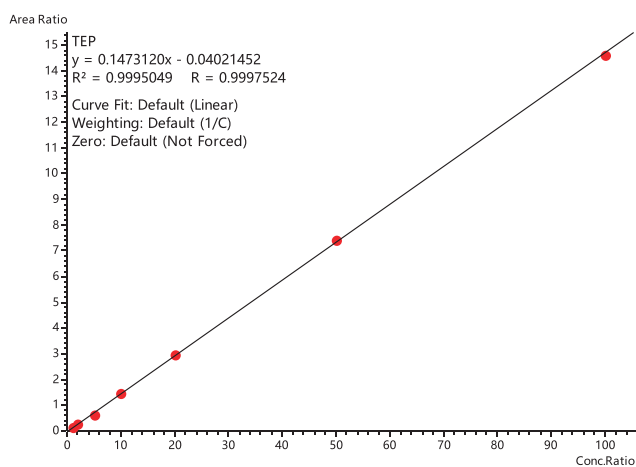


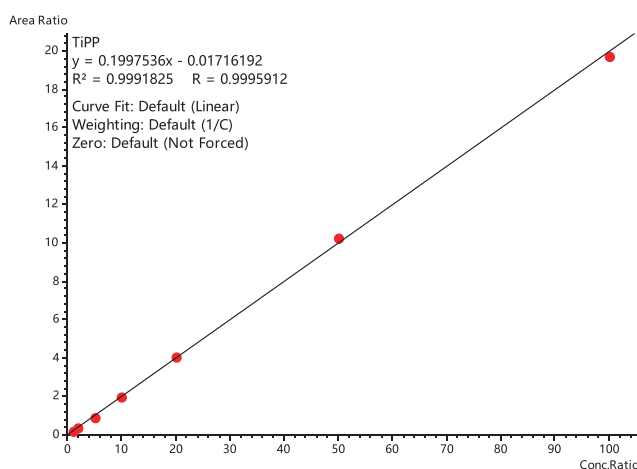
图1 16种有机磷酸酯类阻燃剂 TIC 图 (浓度: 20 µg/L)

2.2 校准曲线

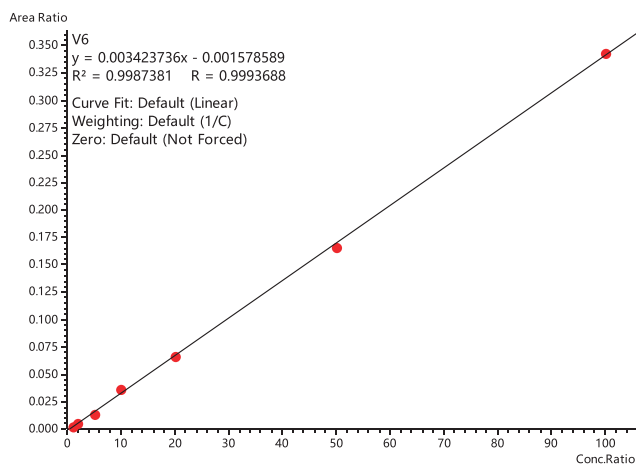
将浓度分别为 1.00 µg/L、2.00 µg/L、5.00 µg/L、10.0 µg/L、20.0 µg/L、50.0 µg/L、100 µg/L（其中 TEHP 的浓度为 0.20 µg/L、0.40 µg/L、1.00 µg/L、2.00 µg/L、4.00 µg/L、10.0 µg/L、20.0 µg/L）不同浓度的有机磷酸酯类阻燃剂混合标准工作溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，使用内标法定量（参照 2024 版食品安全风险评估手册，部分化合物采用外标法定量）。以目标物浓度与对应内标浓度的比值为横坐标，目标物的峰面积与对应内标的峰面积比值为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示（部分化合物采用面积与浓度建立标准曲线）。所得校准曲线线性关系良好，线性方程、相关系数及准确率结果见表 3。



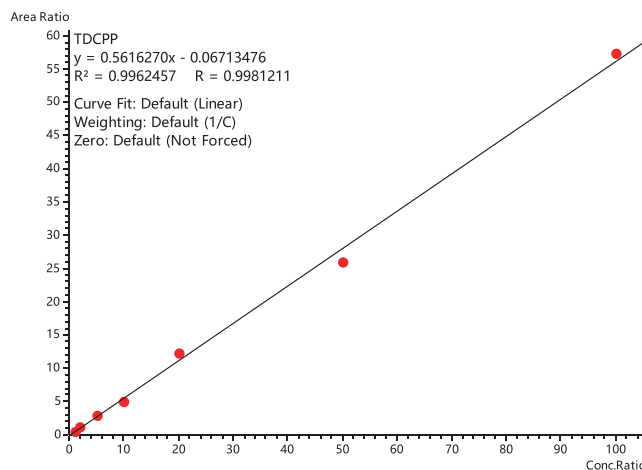
TEP



TiPP



V6



TDCPP

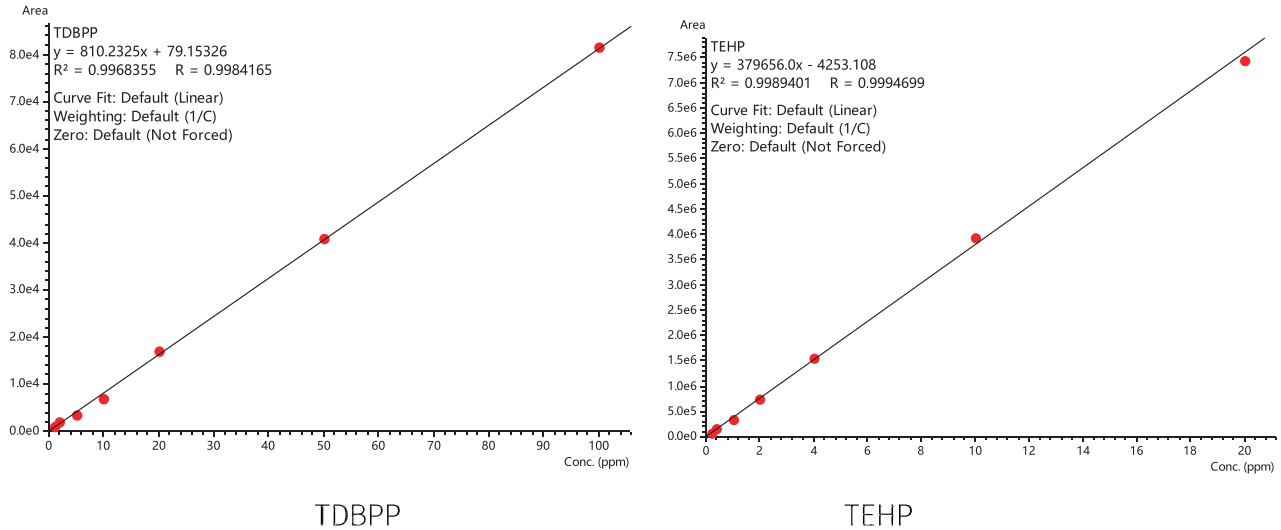


图2 部分有机磷酸酯类阻燃剂校准曲线

表3 标准曲线信息

No.	化合物名称	校准曲线	相关系数 R	准确率 (%)
1	TMP	$Y=0.0203X-0.0032$	0.9997	91.7~113.3
2	TEP	$Y=0.1473X-0.0402$	0.9997	89.5~108.9
3	TCEP	$Y=0.2511X-0.0560$	0.9994	89.9~114.3
4	TiPP	$Y=0.1998X-0.0172$	0.9996	88.5~107.8
5	Tnpp	$Y=0.1655X-0.0087$	0.9997	91.0~103.3
6	TCPP	$Y=0.0255X-0.0044$	0.9995	86.6~109.2
7	V6*	$Y=2003.63X-1020.70$	0.9992	85.0~110.1
8	TDCPP	$Y=0.5616X-0.0671$	0.9981	89.4~109.7
9	TnBP	$Y=0.1343X-0.0133$	0.9991	93.7~109.7
10	TiBP	$Y=0.1544X-0.0349$	0.9996	88.1~108.6
11	TPHP	$Y=0.1754X-0.0791$	0.9983	81.6~116.4
12	TDBPP*	$Y=810.233X+79.1533$	0.9984	81.6~118.5
13	TBOEP*	$Y=63993.0X-18187.9$	0.9996	88.0~108.6
14	TMPP*	$Y=29921.2X+467.365$	0.9995	85.3~110.4
15	EHDPP*	$Y=5298.97X-404.115$	0.9996	89.9~104.6
16	TEHP*	$Y=384036X-5119.95$	0.9995	89.8~105.9

注：* 表示采用外标法定量

2.3 检出限与定量限

按照信噪比 (S/N) 为 3 和 10 计算 16 种有机磷酸酯类阻燃剂的检出限和定量限, 其结果见表 4 所示。

表 4 检出限与定量限信息

No.	化合物名称	检出限 (µg/kg)	定量限 (µg/kg)	No.	化合物名称	检出限 (µg/kg)	定量限 (µg/kg)
1	TMP	0.02	0.05	9	TnBP	0.004	0.015
2	TEP	0.13	0.44	10	TiBP	0.003	0.013
3	TCEP	0.23	0.76	11	TPHP	0.10	0.33
4	TiPP	0.002	0.007	12	TDBPP	0.29	0.98
5	Tnpp	0.003	0.009	13	TBOEP	0.004	0.015
6	TCPP	0.03	0.09	14	TMPP	0.007	0.022
7	V6	0.17	0.56	15	EHDPP	0.05	0.17
8	TDCPP	0.26	0.86	16	TEHP	0.002	0.008

2.4 重复性实验

对 2 µg/L 和 20 µg/L (TEHP 的浓度为 0.4 µg/L 和 4 µg/L) 不同浓度的有机磷酸酯类阻燃剂混合标准工作溶液连续测定 6 次, 考察仪器的精密度, 保留时间和峰面积的重复性结果如表 5 所示。结果显示: 16 种有机磷酸酯类阻燃剂的保留时间和峰面积相对标准偏差不高于 0.18% 和 9.10%, 显示仪器精密度良好。

表 5 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

No.	化合物名称	2 µg/L		20 µg/L		相关系数 R	准确率 (%)
		R. T. RSD/%	Aera RSD/%	R. T. RSD/%	Aera RSD/%		
1	TMP	0.12	3.29	0.18	1.21		
2	TEP	0.02	2.60	0.08	0.39		
3	TCEP	0.05	9.10	0.08	6.14		
4	TiPP	0.03	4.61	0.06	0.70		
5	Tnpp	0.02	2.56	0.06	1.25		
6	TCPP	0.01	3.96	0.05	2.50		
7	V6	0.09	8.28	0.04	4.91		
8	TDCPP	0.02	4.83	0.04	6.66		
9	TnBP	0.02	4.56	0.04	2.96		
10	TiBP	0.01	2.76	0.04	3.93		
11	TPHP	0.02	5.53	0.03	6.49		
12	TDBPP	0.04	8.33	0.04	5.92		

13	TBOEP	0.02	1.70	0.03	1.74
14	TMPP	0.01	5.54	0.03	2.86
15	EHDPP	0.02	4.02	0.03	3.82
16	TEHP	0.01	1.64	0.03	1.76

2.5 加标回收率实验

取羊肉及玉米样品，加入适量有机磷酸酯类阻燃剂混合标准品储备溶液，使样品中添加浓度为 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (TEHP 的添加浓度为 0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$)，平行做 3 份。按照 1.3 样品前处理方法完成处理后上机分析，测定 16 种有机磷酸酯类阻燃剂的添加回收率，各化合物的平均加标回收率结果在 73.3% ~ 110.2% 之间，3 次加标平行处理的相对标准偏差结果在 0.56%~9.06% 之间。（见表 6）。

表 6 16 中有机磷酸酯类阻燃剂加标回收率结果

No.	化合物名称	谷物样品			肉类样品		
		样品测定值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回 收率 (%)	RSD% (n=3)	样品测定值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回 收率 (%)	RSD% (n=3)
1	TMP	0	102.0	6.91	0	100.1	6.55
2	TEP	2.43	84.8	2.40	11.2	108.4	1.07
3	TCEP	0	110.2	3.50	3.98	89.3	6.54
4	TiPP	0	100.4	2.50	0	73.3	2.08
5	Tnpp	0	98.1	0.71	0	101.3	1.09
6	TCPP	20.6	89.5	5.74	12.8	109.3	5.90
7	V6	0	103.1	4.39	0	104.7	8.66
8	TDCPP	0	98.2	0.56	0	97.0	5.67
9	TnBP	0.40	107.5	7.19	6.53	74.4	7.85
10	TiBP	0.36	106.5	6.68	8.07	93.1	2.46
11	TPHP	4.40	88.7	2.63	2.76	108.3	4.59
12	TDBPP	0	81.9	7.29	0	76.3	9.06
13	TBOEP	0	101.9	4.72	0.32	103.2	6.58
14	TMPP	0	106.8	2.22	0	107.1	3.88
15	EHDPP	0	93.4	2.86	3.58	105.3	5.76
16	TEHP	0.07	114.2	3.05	0.17	75.4	4.99

■ 结论

本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统建立了测定谷物及肉制品中 16 种有机磷酸酯类阻燃剂残留量的分析方法, 采用系统延迟柱可有效将系统干扰与样品中目标物分离。该方法灵敏度高、精密度好、结果准确, 且干扰少, 可应用于谷物及肉制品中 16 种有机磷酸酯类阻燃剂含量的日常监测分析。

岛津应用云

