

高效液相色谱-质谱联用技术测定土壤中 PAEs

杨秀娟^{1,2,3}, 吴静娜^{1,2,3}, 王运儒^{1,2,3}, 杜国冬^{1,2,3}, 农耀京^{1,2,3*} (1. 农业部亚热带果品蔬菜质量监督检验测试中心, 广西南宁 530001; 2. 广西壮族自治区亚热带作物研究所, 广西南宁 530001; 3. 农业部农产品质量安全风险评估实验室, 广西南宁 530001)

摘要 [目的] 测定土壤样品中 22 种 PAEs, 建立检测与评价方法。[方法] 应用高效液相色谱-质谱联用(HPLC-MS/MS)法, 以多反应监测扫描方式测定 22 种塑化剂(PAEs)。[结果] 被检测样品在添加水平为 0.50~2.00 mg/kg 时, 22 种 PAEs 类化合物检测质量浓度范围为 0.10~3.00 mg/L, 具有良好的线性关系, 相关系数 $r > 0.990$, 拟合出线性方程; 回收率为 80.20%~139.50%, 检出限值为 0.000 1~0.050 0 mg/kg。[结论] 建立了 PAEs 类化合物的 HPLC-MS/MS 检测方法, 该方法适合应用于土壤中 PAEs 类化合物的残留分析。

关键词 土壤; 塑化剂(PAEs); HPLC-MS/MS

中图分类号 S181 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)18-045-04

Determination of PAEs in Soil by HPLC-MS/MS

YANG Xiu-juan^{1,2,3}, WU Jing-na^{1,2,3}, WANG Yun-ru^{1,2,3}, NONG Yao-jing^{1,2,3*} et al (1. Supervision and Testing Center for Subtropical Fruit and Vegetable Quality, Ministry of Agriculture, Nanning, Guangxi 530001; 2. Guangxi Subtropical Crops Research Institute, Nanning, Guangxi 530001; 3. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Agro-products, Ministry of Agriculture, Nanning, Guangxi 530001)

Abstract [Objective] The aim was to determine 22-PAEs in soil samples and establish detection and evaluation method. [Method] By using HPLC-MS/MS method, 22-PAEs were determined with multi reaction monitoring scanning mode. [Result] Detection of samples at the level of 0.50 to 2.00 mg/kg, 22 kinds of PAEs compounds in the detection of mass concentration range: 0.10 - 3.00 mg/L with a good linear relationship, the correlation coefficient $r > 0.990$, the linear equation was obtained; recovery rate was 80.20% - 139.50%, detection limit was 0.000 1 - 0.050 0 mg/kg. [Conclusion] HPLC-MS/MS detection method for PAEs compounds is established, which is suitable for residue analysis of PAEs compounds in soil.

Key words Soil; Phthalate Acid Ester (PAEs); HPLC-MS/MS

邻苯二甲酸酯(PAEs)^[1]俗称“塑化剂”, 又名酞酸酯, 普遍应用于玩具、食品包装材料和清洁剂、润滑油、个人护理用品等产品中, 具有软化作用, 可增加塑料的柔韧度。研究表明^[2-4], 邻苯类塑化剂容易迁移到环境中, 并产生不良的干扰影响。塑化剂可通过消化系统、呼吸系统及皮肤接触等途径进入人体, 具有生殖毒性和发育毒性^[5]。由于现代农业生产中大规模使用含有塑化剂类地膜以及农田塑料废弃物残留, 造成农田大面积污染, 而塑化剂在与塑料的成型过程中是以分子间力连接并未完全与塑料高分子碳链聚合, 因此, 塑化剂可不间断地向大气、土壤和水体中迁移, 通过食物链进入植物、动物和人体, 对生物环境造成不可忽视的危害^[6-9]。目前, 主要采用液相色谱法、气相色谱法、气相质谱法及液相色谱串联质谱法等技术手段, 对以农产品、白酒、食用油及食品塑料外包装等为对象的 PAEs 进行检验与监测^[10-16]。笔者采用高效液相色谱串联质谱(HPLC-MS/MS)法对土壤中 22 种 PAEs 同时进行测定、分析研究, 旨在为农业生产环境(土壤)监测提供可行的理论基础。

1 材料与方

1.1 材料 供试土壤样品为购买的市售育苗土壤基质。22 种 PAEs 标准品及其缩写见表 1, 其中 DPRP(0.25 g)、DAP(0.25 g)、DHP(0.50 g)和 DNDP(0.25 g)共 5 个纯品标样均购自上海安谱实验科技股份有限公司; 其余 17 个标样均

为 1 000 mg/L, 购自农业部环境质检中心(天津)。供试试剂为乙腈(美国 fisher 色谱)、甲醇(美国 fisher 色谱)、丙酮(美国 fisher 色谱)、水(哇哈哈纯净水)。试验器具包括医用针筒注射器(5 mL)和滤膜过滤器(0.22 μm)。供试仪器为液相色谱质谱联用仪(岛津 LC-20ADXR 型高效液相色谱仪和 Qtrap3200 质谱联用仪配有 Analyst 分析系统, 美国 AB SCIEX 公司)和超声震荡器(scientz SB25-12DTD, 宁波新芝生物科技股份有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 样品提取。取 250.00~500.00 g 土壤样品于 100 °C 烘至恒重, 过 1.00 mm 筛, 待测。称取经前处理土壤样品 5.00 g 于具塞量筒, 加入 20 mL 乙腈, 超声震荡 30 min, 静置过夜, 吸取上清液到离心管, 于 10 °C 在 5 000 r/min 下离心 20 min。吸取离心管内上清液 1.00 mL, 加入 1.00 mL 甲醇水混合液(1:1), 过膜 0.22 μm, 上机待测^[17]。

1.2.2 标准样品配制。22 种(PAEs)标准样品分别吸取 1.00 mL 于 25.00 mL 容量瓶中, 用色谱甲醇定容, 配成 40 mg/L 混合储备液, 密封储存于 4 °C 冰箱中。取 0.50 mL 混合储备液于 20.00 mL 容量瓶, 用甲醇定容, 配成 10.00 mg/L 混合标准溶液, 用时稀释成梯度浓度的标准溶液^[18-21]。

1.2.3 液相程序。色谱柱: Shim-pack XR-ODSII 2.0 mm. d × 75 mm; 流动相: A 相为色谱级乙腈, B 相为 0.10% 甲酸水溶液; 梯度洗脱程序: 0~2 min, B: 98%~15%, 保持至 12 min; 12~13 min, B: 15%~2%, 保持至 20 min; 20~22 min, B: 2%~98%, 保持至 28 min。

1.2.4 质谱程序。电喷雾电离正离子模式(ESI+); 质谱扫描方式: 多反应监测(MRM); CUR(Curtain Gas)气帘气 30.0

基金项目 广西热作所科研业务费专项项目(桂热研 201501)。
作者简介 杨秀娟(1982-), 女, 山西大同人, 助理研究员, 硕士, 从事农产品质量安全检测及风险评估研究。* 通讯作者, 高级农艺师, 从事农产品质量安全检测与风险评估研究。
收稿日期 2016-05-03

Psi;CAD(Collision Gas)碰撞气 medium;IS(IonSpray Voltage) (Ion Source Gas1)雾化气 55.0 Psi;GS2(Ion Source Gas2)辅助气 55.0 Psi。
喷雾电压 5 500 V;TEM(Temperature)雾化温度 550 ℃;GS1

表1 供试22种PAEs名称及其缩写
Table 1 Name and abbreviation of 22-PAEs

序号 Serial No.	名称 Name	缩写 Abbreviation	序号 Serial No.	名称 Name	缩写 Abbreviation
1	邻苯二甲酸丁基苄基酯	BBP	12	邻苯二甲酸二异丁酯	DIBP
2	邻苯二甲酸苄酯	BBZP	13	邻苯二甲酸二异癸酯	DIDP
3	邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)乙酯	BMPP	14	邻苯二甲酸二异壬酯	DINP
4	邻苯二甲酸二烯丙酯	DAP	15	邻苯二甲酸二(2-甲氧基)	DMEP
5	邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯	DBEP	16	邻苯二甲酸二甲酯	DMP
6	邻苯二甲酸二丁酯	DBP	17	邻苯二甲酸二正癸酯	DNDP
7	邻苯二甲酸二环己酯	DCHP	18	邻苯二甲酸二正辛酯	DNOP
8	邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯	DEEP	19	邻苯二甲酸二壬酯	DNP
9	邻苯二甲酸二(2-乙基)	DEHP	20	邻苯二甲酸二苯酯	DPHP
10	邻苯二甲酸二乙酯	DEP	21	邻苯二甲酸二戊酯	DPP
11	邻苯二甲酸二己酯	DHXP	22	邻苯二甲酸二丙酯	DPRP

2 结果与分析

2.1 色谱条件优化 选取4种不同长度不同型号色谱柱分离22种PAEs,使用标准工作液对各规格色谱柱进样。从质谱图可知,使用shim-pack XR-ODS II 2.0 mm i. d × 75 mm能在17 min内将22种成分有效分开,峰型尖锐,对称性好,出峰附近都没有干扰峰,各峰间隔适宜,是理想的色谱检测条件。使用kinetex2.6u XB-C18 100A(100 × 4.6 mm)分离效果也较好,但在相同色谱条件下,分离所用时间较长,造成流

动相的浪费,因此不建议采用。使用shiseido CAPOELL PAK C18 MG4.6mmL. D. × 250 mm和WATERS NoYa-Pak C18 3.9 × 150 mm 2种色谱柱难以完全分离部分组分,因此不建议采用。

选取甲醇和乙腈作为有机流动相,超纯水与0.10%甲酸溶液作为水流动相,通过标准样品测试,得到22种PAEs类化合物的MRM色谱(图1)。经比较可得,使用乙腈+0.10%甲酸作为水流动相,离子丰度明显优于其他组合。

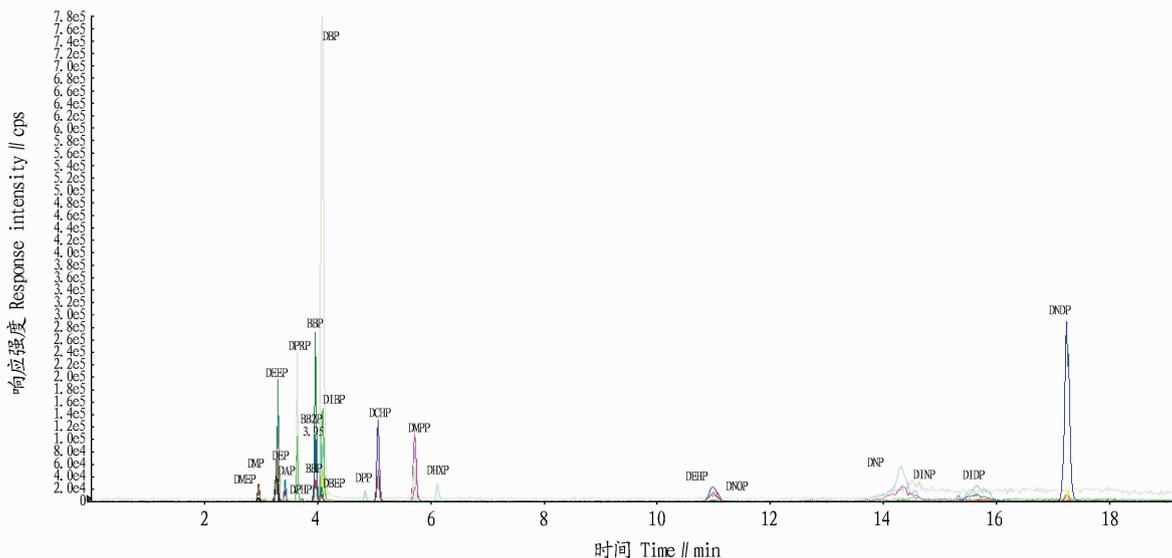


图1 22种PAEs类化合物的MRM色谱

Fig.1 The MRM of 22-PAEs compounds

2.2 质谱条件优化 在ESI+模式下,分别对毛细管电压、锥孔电压、碰撞能量和选择离子对进行优化,选取经碰撞后丰度响应较高的2个离子作为特征离子对,得到22种PAEs类化合物参数(表2)。

2.3 优化基质效应 由于PAEs类塑化剂广泛存在于各种

试验器具,因此试验过程中尽可能使用玻璃制品,减少干扰污染,保证数据的准确性。仪器方面,将连接液相色谱与质谱仪之间的Peek管更换为同样规格的金属管(图2)。由于土壤基质成分复杂,为避免基质效应对检测结果造成影响,使用空白基质配制标准液进行校正。

表 2 22 种 PAEs 在 MRM 模式下的质谱分析参数

Table 2 Parameters of mass spectrometry of 22-PAEs in MRM model

编号 No.	化合物 Compounds	保留时间 Retention time//min	监测离子对 Monitoring ion pair	去簇电压 Voltage//V	碰撞能量 Collision energy//eV
1	DMEP	2.90	283.0/207.0/59.0	19	12
2	DEEP	3.27	311.0/73.0/221.0	31	14
3	DNP	12.95	419.3/71.0/57.2	48	23
4	BBP	3.95	313.0/149.0/205.0	34	14
5	DEP	3.29	223.0/149.0/177.0	20	13
6	DIDP	15.67	447.1/141.0/289.0	70	16
7	DBP	4.06	279.0/149.0/205.0	30	14
8	DINP	14.35	419.1/127.0/149.0	70	16
9	DIBP	4.06	279.0/167.0/223.0	30	16
10	BBZP	3.95	313.0/91.0/149.0	28	24
11	DCHP	5.07	331.0/167.0/249.0	35	15
12	DBEP	4.09	367.0/101.0/249.0	37	13
13	DMP	2.95	195.0/163.0/135.0	19	30
14	BMPP	5.72	335.1/167.0/251.0	28	15
15	DEHP	11.00	391.1/167.0/113.0	36	14
16	DPP	4.85	307.0/121.0/219.0	27	45/16
17	DHXP	5.72	335.0/233.0/167.0	41	14
18	DNOP	11.02	391.1/261.0/113.0	44	15
19	DAP	3.43	247.0/189.0/41.0	22	11/23
20	DPRP	3.63	251.0/149.0/191.0	19	13
21	DNDP	17.23	447.1/149.0/289.0	75	15
22	DHPH	3.73	318.9/153.0/197.0	35	32



注:a 为优化前;b 为优化后。

Note: a. Before optimization;b. After optimization.

图 2 仪器连接管路的优化

Fig. 2 The optimization of equipment

2.4 检测线性范围和检出限 设梯度浓度分别为 0.10、0.50、1.00、2.00、3.00 mg/L 标准溶液,以峰面积(Y)对相应的质量浓度(X)制图,获得标准曲线,并求出相应的线性回归方程及相关系数。结果表明:22 种 PAEs 类化合物在 0.10~3.00 mg/L 检测浓度范围内具有良好的线性关系,相关系数 $r > 0.990 0$ 以上;按照 3 倍信噪比计算得出 22 种 PAEs 类化合物检出限结果为 0.000 1~0.050 0 mg/kg (表 3)。

2.5 回收率 在前处理的土壤样品中分别添加 0.50、1.00、2.00 mg/kg 3 个浓度水平的混合 PAEs 标准溶液,按照

“1.2.1”中的方法进行提取处理,基质空白配标准液上机检测,获得 22 种 PAEs 回收率(表 4)。由表 4 可知,22 种 PAEs 类化合物在土壤中 3 个添加浓度的回收率为 80.20%~139.50%,符合预期结果;而 DBP 与 DIBP 回收率偏高,这可能是由于这 2 种 PAEs 类化合物广泛存在于容器、流动相及液相色谱系统中,不可避免地造成了本底干扰。

3 结论与讨论

(1)该研究主要针对土壤样品中残留的 22 种 PAEs 类化合物进行检测分析,采用 shim-pack XR-ODS II 2.0mmi. d \times 75 mm 色谱柱,在 ESI+ 模式下进行条件优化,22 种 PAEs

类化合物能很好地被分离检测。样品中 22 种 PAEs 类化合物检测质量浓度范围为 0.10 ~ 3.00 mg/L 时具有良好的线性关系,相关系数 $r > 0.990$,拟合出线性方程,浓度检出限值为 0.0001 ~ 0.0500 mg/kg;在土壤中样品中添加 3 个浓

表 3 22 种 PAEs 的线性方程、相关系数和检出限

Table 3 The linear equation, correlation coefficient and detection limit of 22-PAEs

序号 Serial No.	化合物 Compounds	拟合方程 Linear equation	相关系数 Correlation coefficient (r)	检出限值 Detection limit mg/kg
1	DMEP	$Y = 273X + 3.74e + 003$	0.995 1	0.002 0
2	DEEP	$Y = 978X + 2.01e + 005$	0.996 1	0.002 0
3	DNP	$Y = 3.41e + 003X + 1.1e + 006$	0.996 7	0.008 0
4	BBP	$Y = 1.42e + 003X + 2.5e + 005$	0.993 6	0.005 0
5	DEP	$Y = 1.77e + 003X + 2.41e + 005$	0.993 5	0.004 0
6	DIDP	$Y = 2.98e + 003X + 8.45e + 005$	0.992 9	0.002 0
7	DBP	$Y = 4.36e + 003X + 3.05e + 006$	0.990 0	0.004 0
8	DINP	$Y = 500X + 1.52e + 005$	0.994 0	0.008 0
9	DIBP	$Y = 34.9X + 3.37e + 004$	0.991 5	0.020 0
10	BEZP	$Y = 2.82e + 003X + 4.61e + 005$	0.992 3	0.002 0
11	DCHP	$Y = 2.69e + 003X + 2.33e + 005$	0.998 2	0.000 1
12	DBEP	$Y = 1.14e + 003X + 2.35e + 005$	0.994 4	0.000 5
13	DMP	$Y = 366X + 2.08e + 004$	0.991 2	0.004 0
14	BMPP	$Y = 2.37e + 003X + 2.48e + 005$	0.999 2	0.002 0
15	DEHP	$Y = 982X + 2.85e + 005$	0.992 5	0.020 0
16	DPP	$Y = 271X + 5.67e + 004$	0.993 6	0.007 0
17	DHXP	$Y = 896X - 1.86e + 004$	0.993 9	0.020 0
18	DNOP	$Y = 314X - 2.87e + 004$	0.990 5	0.050 0
19	DAP	$Y = 709X - 1.04e + 004$	0.995 7	0.003 0
20	DPRP	$Y = 2.69e + 003X + 2.02e + 005$	0.991 0	0.000 1
21	DNDP	$Y = 6.65e + 003X + 2.40e + 006$	0.992 9	0.000 2
22	DPHP	$Y = 85X + 9.30e + 003$	0.991 0	0.010 0

表 4 22 种 PAEs 的回收率

Table 4 The recovery rate of 22-PAEs

序号 Serial No.	化合物 Compounds	检出浓度 Concentration detection//mg/kg		
		0.50	1.00	2.00
1	DMEP	108.60	115.00	102.00
2	DEEP	110.20	120.00	107.50
3	DNP	106.20	106.00	102.00
4	BBP	99.60	105.00	109.00
5	DEP	119.00	112.00	104.00
6	DIDP	125.40	118.00	95.50
7	DBP	134.00	131.00	131.00
8	DINP	114.00	107.00	104.00
9	DIBP	138.00	136.00	139.50
10	BEZP	93.40	106.00	100.00
11	DCHP	85.60	80.20	81.50
12	DBEP	120.60	116.00	101.00
13	DMP	106.00	112.00	97.00
14	BMPP	108.60	115.00	100.00
15	DEHP	112.00	105.00	97.50
16	DPP	95.20	105.00	95.00
17	DHXP	89.80	95.70	90.50
18	DNOP	114.60	111.00	94.50
19	DAP	97.60	103.00	93.50
20	DPRP	95.80	106.00	97.00
21	DNDP	111.80	108.00	94.00
22	DPHP	83.20	100.00	88.50

度的 PAEs 标准液回收率为 80.20% ~ 139.50%,符合预期检测结果;而 DBP 与 DIBP 由于系统本底较高,回收率偏高,为 131.00% ~ 139.50%,其影响因子有待于进一步确认、优化。该研究建立了检测土壤中残留的 22 种 PAEs 类塑化剂的高效液相色谱-串联质谱联用技术,该技术具有快速检测、分离效果好、准确可靠以及对色谱柱和仪器残留少的特点。

(2) 由于 PAEs 类化合物广泛存在于容器、流动相和色谱原件中,试验中尽量使用金属元件代替 Peak 材料元件;试验前须对试剂、试验用水、玻璃仪器等进行净化处理;所用的玻璃器皿需要用清洁剂清洗,再用无离子水洗后用丙酮浸泡 3.0 h,然后用重蒸正己烷清洗 2 次,在 200 °C 焙干 2 h;用空白试剂进行比较和扣除,尽量避免产生干扰因子。

参考文献

- [1] 吴继军,徐玉娟,肖更生,等. 果酒中邻苯二甲酸单-2-乙基己基酯检测方法研究[J]. 北京工商大学学报(自然科学版),2011,29(4): 39-41.
- [2] 刘庆,杨红军,史衍玺,等. 环境中邻苯二甲酸酯类(PAEs)污染物研究进展[J]. 中国生态农业学报,2012,20(8): 968-975.
- [3] 吴莉莉. 邻苯二甲酸酯类增塑剂的检测标准现状分析[J]. 塑料工业,2011,39(4):11-14.
- [4] YONG J L, LI Y X, WANG Y, et al. Recent advances in analysis of phthalate esters in food [J]. Trends in analysis chemistry, 2015, 72: 10-26.
- [5] 王立鑫,杨旭. 邻苯二甲酸酯毒性及健康效应研究进展[J]. 环境与健康杂志,2010,27(3):276-281.
- [6] JIN J, SUN K, WANG Z Y, et al. Characterization and phthalate esters sorption of organic matter fractions isolated from soil and sediments [J]. Environmental pollution, 2015, 206:24-31.
- [7] 王冬莹,周震峰. 农田土壤中邻苯二甲酸酯临界浓度的研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(34): 21021-21023.
- [8] 于立红,于立河,王鹏,等. 地膜中邻苯二甲酸酯类化合物及重金属对土壤-大豆的污染[J]. 干旱地区农业研究,2014,3(1):43-47.
- [9] 叶欣. QuEChERS-GC/MS 检测地表水中 5 种常见塑化剂[J]. 广东化工,2014,41(9):207-208.
- [10] ZHAO H M, DU H, XIANG L, et al. Variations in phthalate ester (PAE) accumulation and their formation mechanism in Chinese flowering cabbage (*Brassica parachinensis* L.) cultivars grown on PAE-contaminated soils [J]. Environmental pollution, 2015, 206:9-103.
- [11] 熊金龙,任静,王未鲜,等. 气质联用法检测凹凸棒土中 16 种邻苯二甲酸酯类塑化剂的研究[J]. 中国化工贸易,2012(1):157-159.
- [12] 吴晓红,蒋彩云,李小华,等. 白酒接触塑料中增塑剂迁移规律研究[J]. 广州化工,2015,43(1):105-107.
- [13] 邵秋荣,刘斌,石金娥,等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定酒中 23 种邻苯二甲酸酯残留[J]. 酿酒科技,2014(9):100-103.
- [14] 杨博锋,汤志旭,高昕,等. 高效液相色谱法测定纸制食品接触材料中邻苯二甲酸酯的迁移量[J]. 分析测试学报,2012,31(10):1272-1276.
- [15] 姜欢,高贵芹,赵敏,等. HPLC-MS/MS 法测定乳制品食品模拟物中双酚 A 的迁移量[J]. 食品研究与开发,2014,35(21):86-88.
- [16] 熊瑛,唐铁鑫,李羽,等. 中药油脂中邻苯二甲酸酯类塑化剂的检测分析[J]. 中国油脂,2013,38(4):57-60.
- [17] 徐忠,陆步诗,李新社,等. GC-MS 法测定白酒塑化剂样品前处理方法的优化[J]. 中国酿造,2015,34(1):137-142.
- [18] 李琳,孙秋菊,辛士刚,等. 气相色谱/质谱法测定饮料中 10 种邻苯二甲酸酯类塑化剂[J]. 沈阳师范大学学报(自然科学版),2014,32(1):21-24.
- [19] 褚碣,梁德沛,孙远明,等. 食品中 16 种邻苯二甲酸酯类塑化剂的 GC-MS 检测方法研究[J]. 中国粮油学报,2014,29(2):94-99.
- [20] 张莉,尚楚翔,孙成,等. 气相色谱-三重四级杆质谱法同时测定生脉饮中 17 种邻苯二甲酸酯类化合物的残留[J]. 色谱,2012,32(4):653-657.
- [21] 王少杰,孟雨吟,李秋顺,等. 高效液相色谱法测定蔬菜中邻苯二甲酸二丁酯残留[J]. 山东农业科学,2012,44(1):112-114.