

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.23.003

四乙基硼酸钠衍生-气相色谱-串联质谱法测定葡萄酒及黄酒中不同形态的锡^{*}

刘裕婷¹, 张志荣¹, 王玉江¹, 杨大鹏¹, 李 洁^{1△}, 张 晶²

(1. 北京市丰台区疾病预防控制中心 100071; 2. 北京市疾病预防控制中心 100013)

摘要:目的 建立四乙基硼酸钠衍生-气相色谱-串联质谱仪测定葡萄酒及黄酒中不同形态的锡含量的方法。方法 试样采用乙酸乙酯提取,四乙基硼酸钠衍生,QuEChERS 方法净化,经 BRUKER BR-5 ms(30 m×0.25 mm×0.25 μm)色谱柱分离,采用三重四级杆串联质谱的选择反应监测模式检测,外标法定量。结果 在 0.01~0.50 μg/mL 内,8 种有机锡化合物线性良好,相关系数均大于 0.99,各有机锡化合物的方法检出限为 0.2~2.0 μg/L,回收率为 70.1%~120.7%,相对标准偏差(RSD)均小于 15%。结论 该方法可以用于测定液体类食品中的有机锡污染物。

关键词:气相色谱-串联质谱仪; 四乙基硼化钠; 葡萄酒; 黄酒; 有机锡化合物**中图法分类号:**R657.63**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2018)23-3492-04

Determination of organo-tin compounds in red wine and yellow wine by gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry after Sodium Tetraethylborate Derivatization^{*}

LIU Yuting¹, ZHANG Zhirong¹, WANG Yujiang¹, YANG Dapeng¹, LI Jie^{1△}, ZHANG Jing²

(1. Center for Diseases Prevention and Control of Fengtai, Beijing 100071, China;

2. Beijing Center for Diseases Prevention and Control, Beijing 100013, China)

Abstract: **Objective** To establish methods of determination of organo-tin compounds in red wine and yellow wine by gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry after Sodium Tetraethylborate Derivatization. **Methods** Samples were extracted with ethyl acetate and then the extract was derived by sodium tetraethylborate, QuEChERS method to purify and then separated by BRUKER BR-5 ms (30 m×0.25 mm×0.25 μm) column chromatography, finally determined by gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry (GC MS/MS) after being purified with dispersive SPE. **Results** It showed that, a good linear relationship was observed within the concentration range of 0.01–0.50 μg/mL, with correlation coefficients greater than 0.99. The limits of detection for eight organo-tin compounds were ranged 0.2–2.0 μg/L. The fortified recoveries were ranged 70.1%–120.7%, with relative standard deviation (RSD) lower than 15%, respectively. **Conclusion** The method is suitable for the determination of organo-tin compounds in liquid foods.

Key words: gas chromatography-tandem mass spectrometry; sodium tetraethylborate; red wine; yellow wine; organo-tin compounds

有机锡化合物是由于人为因素大量进入水环境和食物链的毒性最大的化学品之一,是典型的内分泌干扰物(EEDs),可通过食物链进行富集,对人类的健康造成威胁^[1-3]。它们主要用于塑料制品的稳定剂、船舶油漆的防污剂、工业催化剂、农林杀虫杀菌剂(二丁基锡、三丁基锡)、木材的防腐剂及船舶防螺涂料(TBT)等^[4]。各种有机锡化合物的毒性与其化学结构密不可分,因而有效分析各种有机锡的形态是控制污染的重要前提^[5]。目前国内仅有少量文献报道了

酒类饮料中有机锡化合物的分析方法,包括顶空气相色谱法、气相色谱-串联质谱法、高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法、高效液相色谱-串联质谱法等^[6-10]。有关食品中有机锡的形态分析方法的文献报道较少,并且检测的有机锡化合物的种类有限^[11]。本研究选择四乙基硼酸钠进行衍生,气相色谱-串联质谱法测定葡萄酒及黄酒中 8 种有机锡化合物。

1 材料与方法

1.1 材料 葡萄酒、黄酒于市场购置。

* 基金项目:食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室开放基金项目(2015BZ0063-02)。

作者简介:刘裕婷,女,副主任技师,主要从事食品、水质、劳动卫生检测方面的研究。△ 通信作者,E-mail:lijie7111@sina.com。

1.2 仪器与试剂 气相色谱串联三重四级杆质谱仪(Scion456-GC TQ,布鲁克公司);涡旋振荡器(Multi Reax,德国海道夫);真空浓缩仪(miVac,英国 Genevac);高速离心机(Brofuge primo R, Thermo 公司);纯水机(Milli-Q,美国 MILLIPORE 公司);Dispersive SPE 小柱(2 mL,安捷伦,5982-5321),出厂序列号 6254556-04;0.22 μmol/L 有机相滤膜(尼龙 66,津腾)有机锡混合标准溶液(1 000 mg/L,甲醇为介质,美国 o2si);二丁基二氯化锡(DBT),二正丙基二氯化锡(DProT),三丁基氯化锡(TBT),三环己基氯化锡(TcyT),三辛基氯化锡(TOT),四丁基锡(TeBT),二苯基二氯化锡(DPT),三苯基氯化锡(TPT);乙酸乙酯(色谱纯,Dikma);正己烷(色谱纯,Dikma);四乙基硼酸钠(98%,美国 Strem Chemicals 公司);乙酸钠(>99%,德国 Sigma-Aldrich);乙酸(99.8%,J&K);氯化钠(分析纯,国药集团有限公司);超纯水(电阻率 18.2 MΩ·cm)。

1.3 方法 采用乙酸乙酯提取,四乙基硼酸钠衍生,QuEChERS 方法净化,经 BRUKER BR-5 ms(30 m×0.25 mm×0.25 μm)色谱柱分离,采用三重四级杆串联质谱的选择反应监测模式检测,外标法定量。

1.3.1 气相色谱-串联质谱仪条件 (1)气相色谱条件。色谱柱:BRUKER BR-5 ms,30 m×0.25 mm(内径)×0.25 μm(膜厚)。程序升温:60℃保持 1 min;10℃/min 升至 100℃,保持 1 min;20℃/min 升至 300℃保持 5 min。进样口温度:275℃;进样量:1 μL,不分流进样;载气:氦气,纯度大于 99.999%,流速:1 mL/min。(2)质谱条件。电离方式:EI;电离能量:70 eV;传输线温度:250℃;离子源温度:200℃;质谱扫描方式:多反应离子监测(MRM)。见表 1。

1.3.2 样品前处理 (1)提取:准确吸取试样 10 mL,加入氯化钠 2 g,摇匀。向试样中加入 20 mL 乙酸乙酯,在水平振荡器上振荡 30 min,8 000 r/min 离心 5 min,吸取上乙酸乙酯层,于真空浓缩仪上浓缩至近干,加入 1 mL 甲醇溶解残留物,待衍生。(2)衍生:向上述提取溶液中加入 5 mL 乙酸-乙酸钠缓冲溶液(pH=4.5),0.5 mL 四乙基硼酸钠溶液(2%),2 mL 正己烷,混匀,在水平振荡器上振荡 40 min,8 000 r/min 离心 5 min,上层正己烷层待净化。(3)净化:取上述正己烷层于 Dispersive SPE 小柱中,振摇 1 min,10 000 r/min 离心 5 min,取上层清液过 0.22 μm 滤膜,供气相色谱-串联质谱仪测定。

1.3.3 标准曲线的衍生化 分别取不同浓度的标准溶液 1.00 mL,加入 5 mL 乙酸-乙酸钠缓冲溶液(pH=4.5),0.5 mL 四乙基硼酸钠溶液(2%),2 mL 正己烷,混匀,在水平振荡器上振荡 40 min,8 000 r/min 离心 5 min,取上层正己烷层,供气相色谱-串联质

谱仪测定。

表 1 8 种有机锡化合物保留时间和质谱参数			
物质名称	保留时间 (min)	监控离子对 (m/z)	碰撞能量 (eV)
DProT	8.45	235.1>150.8*	10
		235.1>120.9	20
DBT	9.98	207.1>120.9*	20
		263.2>150.9	30
TBT	11.04	291.2>179.0	20
		263.2>150.9*	20
TeBT	11.89	235.1>179.0	20
		235.1>120.9*	20
DPT	13.30	303.0>197.0*	20
		197.0>119.8	20
TPT	15.35	351.1>197.0	50
		351.1>119.8*	50
TcyT	15.40	315.2>150.9*	20
		315.2>233.1	20
TOT	16.37	459.5>150.9*	20
		375.3>235.1	20

注:* 定量离子对

2 结 果

2.1 色谱质谱行为 在 1.3.1 中的色谱、质谱条件下,测定 8 种有机锡化合物的总离子图,见图 1。

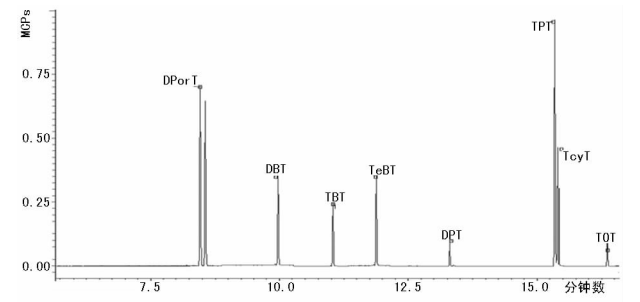


图 1 8 种有机锡化合物的总离子流图(0.5 μg/mL)

2.2 方法线性及检出限 根据本方法优化的衍生条件及仪器条件,对 8 种混合标准工作溶液进行测定,在 0.01~0.50 μg/mL 内,8 种有机锡化合物线性良好,相关系数均大于 0.99。在葡萄酒及黄酒基质中,以 3 倍信噪比(S/N=3)所对应的目标物浓度为其检出限,得到 8 种有机锡化合物的检出限分别为: DProT 0.2 μg/L; DBT 0.2 μg/L; TBT 1.0 μg/L; TeBT 1.0 μg/L; DPT 2.0 μg/L; TPT 0.2 μg/L; TcyT 0.4 μg/L; TOT 2.0 μg/L。

2.3 准确度和精密度实验 分别准确量取 10.0 mL 葡萄酒及黄酒各 6 份,在样品中加入适量标准溶液并计算出各有机锡化合物的 6 次加标测定的平均回收率;同时考察了方法的精密度,见表 2,相对标准偏差

(RSD)小于 15%。

表 2 8 种有机锡化合物的加标回收率和相对标准偏差 (n=6)

元素	加标水平 (μg/mL)	葡萄酒		黄酒	
		回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)
DProT	0.05	86.3	8.1	89.3	9.8
	0.25	72.5	8.1	88.2	7.1
DBT	0.05	80.7	2.5	98.7	9.8
	0.25	70.1	7.3	84.6	7.3
TBT	0.05	80.3	6.5	85.7	9.4
	0.25	93.9	4.9	90.2	7.9
TeBT	0.05	86.0	5.9	97.3	11.7
	0.25	78.9	4.8	94.3	5.4
DPT	0.05	113.0	13.5	120.7	7.5
	0.25	107.3	11.1	113.7	9.0
TPT	0.05	90.3	7.8	95.3	9.0
	0.25	74.1	5.4	91.3	8.4
TcyT	0.05	93.3	4.4	86.7	10.0
	0.25	79.3	7.7	87.3	8.7
TOT	0.05	95.0	11.8	90.7	6.4
	0.25	72.7	13.3	80.1	8.8

2.4 实际样品的测定 采用本方法测定了市售的 5 件葡萄酒及 22 件黄酒。8 种有机锡化合物在葡萄酒中均未检出,黄酒中有 8 件检出 DBT,2 件检出 DProT,检出水平见表 3。

表 3 黄酒样品分析结果 (μg/L)

样品	测定结果	
	DProT	DBT
黄酒 1	ND	3.2
黄酒 2	ND	3.0
黄酒 3	ND	2.2
黄酒 4	ND	3.8
黄酒 5	ND	4.4
黄酒 6	ND	3.4
黄酒 7	ND	3.4
黄酒 8	1.8	3.7
黄酒 9	2.2	ND

注:ND 表示未检出

3 讨 论

有机锡化合物极性大,沸点高,不能直接用气相色谱分离,必须先衍生化。而四乙基硼酸钠衍生的优点是衍生反应能在水相中直接进行,且乙基化形成的衍生物很稳定。在反应溶液中可以实现萃取与衍生同步进行,节省了样品前处理时间。反应溶液的 pH 值对衍生效果的影响较大。据文献报道,有机锡化合

物衍生反应的最佳 pH 为 4~6,当缓冲液 pH<2 时,四乙基硼酸钠易转化为四乙硼酸钠,影响被测物质的乙基化效率,缓冲液的 pH 值大于 7 时,会形成羟基化合物。醋酸盐缓冲体系缓冲能力强,对 pH 敏感的有机锡化合物有较高回收率,稳定性好,有利于目标物质乙基化。甲酸-乙腈^[12]、盐酸-甲醇^[13]、二氯甲烷^[14-15]、乙酸乙酯、正己烷^[16-17],盐酸-甲醇、二氯甲烷作为提取试剂,样品与有机溶剂分层效果不佳,无法吸取上层清液进行后续实验。而甲酸-乙腈对 TcyT、TOT、TeBT 的提取效率很差,做加标回收实验时,这 3 种有机锡化合物回收率很低,无法达到实验要求^[18]。正己烷相比较乙酸乙酯对 8 种有机锡化合物的提取效率差^[19]。乙酸乙酯作为提取试剂,分层最明显,对同时提取 8 种有机锡化合物的效率最高。QuEChERS 方法的净化剂种类有很多,不同的净化剂发挥不同的作用^[20]。PSA 主要用于吸附样品中的糖类和有机酸等弱酸性成分,GCB 用于去除样品中的色素,而 HC-C18 对去除样品中的蛋白质和脂类成分有较好的效果^[15]。本实验测定的样品为葡萄酒、黄酒,样品基质比较简单、干净,没有脂肪、蛋白质等杂质干扰目标化合物测定,实验选用 PSA 类型 QuEChERS 小柱净化样品,操作方便简单,适合批量样品测定,适宜推广使用。

与国家标准方法 GB5009.215-2016 相比较,本文采用的四乙基硼酸钠衍生法前处理简单,可以直接在水溶液中进行衍生,净化步骤简单、易操作,而国标使用的格林试剂衍生法,对衍生条件要求严苛,需在完全无水的条件下衍生,并且净化过程操作相当繁琐,不适用于大批量样品的测定。同时,本方法采用气相色谱-串联质谱仪作为检测仪器,相比较于国标方法的气相色谱法,本法灵敏度大大提高,且对于复杂基质的样品分析更为有利。

参考文献

[1] 张纪亮,朱文文,熊建利,等.有机锡通过核受体干扰内分泌的研究进展[J].环境科学导刊,2011,30(5):4-6.

[2] 游勇,鞠荣.重金属对食品的污染及其危害[J].环境,2007(2):102-103.

[3] 刘宜承.食品中重要有机污染物痕量检测技术与残留量最新标准测定方法应用手册[M].北京:食品工业出版社,2007.

[4] 李刚,王英玲,邵军,等.有机锡的应用研究进展[J].菏泽医学专科学校学报,2007,19(3):73-76.

[5] 陈钊英,许秋寒,王麒麟,等.环境样品中有机锡分析方法研究进展[J].环境化学,2015,34(5):911-917.

[6] 崔宗岩,周乐,赵玉强,等.乙基化衍生/顶空气相色谱法快速测定葡萄酒中 3 种甲基锡[J].分析测试学报,2015,34(7):840-843.

[7] 崔宗岩,王飞,刘晓茂,等.乙基化衍生-(下转第 3498 页)

2013,10(11):1462-1464.

[2] 龙威,唐建国,谢娟,等.血清降钙素原测定在支气管哮喘急性发作治疗中的作用[J].中华急诊医学杂志,2010,19(9):927-930.

[3] 徐定华,石秋萍,王超,等.降钙素原在感染性疾病诊断中应用价值的临床病例分析[J].临床和实验医学杂志,2014,13(8):679-681.

[4] 陈小红,江志锐,肖燕青,等.CRP与白细胞测定在小儿急性上呼吸道感染的诊断价值[J].广州医药,2012,43(1):56-58.

[5] 石丰月.C-反应蛋白检测在小儿细菌性肺炎与支原体肺炎中的临床比较[J].中华医院感染学杂志,2013,23(13):3296-3297.

[6] 陈巧红,葛勤,陈珊珊.降钙素原与C-反应蛋白在发热患者病因学鉴别诊断中的价值[J].国际检验医学杂志,2012,33(4):410-411.

[7] 高金红.PCT和CRP在诊断小儿感染性肺炎中的应用[J].河北医药,2015,45(24):3765-3767.

[8] 葛神永,孙伟.不同病原体感染小儿肺炎降钙素原C-反应蛋白白细胞计数变化情况[J].安徽医学,2017,38(7):904-906.

[9] 边兴艳,于爱民,黄燕.急性上呼吸道感染流感嗜血杆菌耐药性分析[J].检验医学与临床,2007,4(6):474-475.

[10] 许光辉,周建福.3种血清标志物快速检测在新生儿感染性疾病中的应用[J].检验医学与临床,2013,10(3):357-358.

[11] 徐向勇,李正峰.降钙素原与C反应蛋白在新生儿感染性肺炎中的诊断价值[J].中华医院感染学杂志,2013,23(10):2515-2517.

[12] 王世瑜,谭广群,穆红.血清降钙素原定量检测在呼吸道感染中的应用[J].广东医学,2013,34(18):2826-2828.

[13] 施立新,刘云庆,毛宜虎,等.血浆降钙素原联合C反应蛋白和白细胞计数检测在呼吸道感染中的应用[J].国际检验医学杂志,2013,34(24):3363-3364.

[14] 吴鹏,邬娇.床旁检测SAA,hs-CRP和CRP在儿童急性上呼吸道感染疾病诊断中的应用分析[J].检验医学与临床,2016,13(9):1222-1223.

[15] 吴廷雷,汪晓英,方正,等.降钙素原与C-反应蛋白和白细胞计数在新生儿感染性疾病诊断应用[J].中华医院感染学杂志,2014,24(24):6063-6065.

[16] 闫慧慧,廖剑,杨湘越,等.几种炎症标志物在小儿发热疾病中的诊断意义[J].国际检验医学杂志,2013,34(15):1984-1985.

[17] CALLE M C, FERNANDEZ M L. Inflammation and type 2 diabetes[J]. Diabetes Metab, 2012, 38(3):183-191.

[18] 刘琳娟,张书耕,张青云,等.肿瘤标志物联合检测在肺癌诊断中价值[J].中华实用诊断与治疗杂志,2015,29(2):177-179.

[19] 陈阳阳,张洁,徐国宾.晚期肺癌患者一线化疗后6种血清肿瘤标志物水平的变化及意义[J].临床检验杂志,2015,33(2):124-129.

[20] 李子博,刘伟谦,付祖姣,等.降钙素原与C反应蛋白检测在细菌性感染中的临床应用[J].中国现代医学杂志,2014,24(25):80-83.

(收稿日期:2018-05-11 修回日期:2018-08-22)

(上接第 3494 页)

气相色谱-串联质谱法测定葡萄酒中3种丁基锡:液液萃取和固相微萃取的比较[J].分析试验室,2016,35(10):1161-1166.

[8] 蔡理胜,沈伟健,王正萍,等.气相色谱-电子轰击电离/正化学电离质谱法测定白菜和苹果中3种有机锡类农药残留[J].色谱,2017,35(11):1177-1183.

[9] 范洋波,吴坚,郑云峰,等.液液萃取-高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用检测黄酒中的有机锡[J].酿酒科技,2014,11:90-93.

[10] 陈金保,柳英霞,李绪涛,等.高效液相色谱-串联质谱法同时测定食用植物油中多种有机锡化合物[J].岩矿测试,2017,36(2):180-186.

[11] 张萌萌,于天祥,刘翠平,等.食品接触材料、高分子材料、有机锡的测定,气相色谱-质谱法:SN/T 3938-2014[S].北京:国家质量监督检验检疫总局,2014.

[12] 王建华,张慧丽.四乙基硼化钠衍生-气相色谱-串联质谱法测定畜禽肉中有机锡农药残留[J].食品科学,2016,37(6):178-183.

[13] 肖小雨,贺根和,尹丽,等.盐酸甲醇溶液提取-气相色谱-质谱法测定水生动植物样品丁基锡[J].分析化学研究报告,2014,42(9):1320-1325.

[14] 崔宗岩,孙扬,葛娜,等.格氏试剂衍生-气相色谱-串联质谱法同时测定水果和蔬菜中的三环锡、三苯锡和苯丁锡残留[J].色谱,2014,32(8):855-860.

[15] 高梦婕,周瑶盛,永刚,等. QuEChERS法结合高效液相色谱-串联质谱法测定保健食品中12种双酚类化合物[J].色谱,2014,32(11):1201-1208.

[16] 曹晨,李文斌,宋青,等.采用固相萃取/高效液相色谱法测定保健食品中12种双酚类化合物的迁移量[J].首都公共卫生,2017,11(6):267-271.

[17] 陈志锋,刘晓华,孙利.高效液相色谱法测定食品中的双酚类物质[J].检验检疫科学,2009,19(6):9-12.

[18] 李娟,刘智敏,许志刚.高效液相色谱法分析塑料食品包装材料中的双酚类化合物[J].化学世界,2014,55(10):598-600.

[19] 耿宁,卢剑.稳定同位素内标-高效液相色谱-串联质谱法测定婴幼儿食品中双酚类化合物[J].乳业科学与技术,2017,40(4):15-19.

[20] 王彬,牛宇敏,张晶,等.丹磺酰氯衍生-超高效液相色谱-串联质谱法测定母乳中8种双酚类物质[J].卫生研究,2017,46(6):965-970.

(收稿日期:2018-05-12 修回日期:2018-08-12)