

Prime HLB SPE净化结合高效液相色谱串联质谱法测定羊奶粉中6种消毒剂残留

邓航^{1,2*}, 张可欣^{1,2}, 陈少琴^{1,2}, 吴社莲³, 陈思妤^{1,2}, 黄潇宁^{1,2}

(1. 湖南省产商品质量检验研究院, 湖南长沙 410007) (2. 食品安全监测与预警湖南省重点实验室, 湖南长沙 410111) (3. 湖南省产商品评审中心, 湖南长沙 410004)

摘要: 建立了一种高效液相色谱串联质谱法测定羊奶粉中十二烷基二甲基苄基氯化铵、十四烷基二甲基苄基氯化铵、N-十六烷基二甲基苄基氯化铵、十二烷基三甲基溴化铵、二奎基二甲基氯化铵和四丁基硫酸氢铵 6 种消毒剂的分析方法。样品经热水溶解后, 乙腈超声提取并去除蛋白, 氯化钠辅助分离, 经过 Prime HLB 固相萃取柱净化后, 在 Hypersil GOLD C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 2.1 μm) 上分离, 采用电喷雾离子化 (ESI+), 多反应监测模式 (SRM) 进行检测, 依据待测样品类型分别采用非脱脂羊奶粉和脱脂羊奶粉空白基质外标法定量。结果显示, 6 种消毒剂在 0.01~5.0 μg/L 线性范围内相关系数 (R^2) 均大于 0.999。方法检出限 ($S/N \geq 3$) 为 0.05 μg/kg, 定量限 ($S/N \geq 10$) 为 0.10 μg/kg。以羊奶粉作为样品, 采用加标回收测得回收率在 97.07%~105.6% 之间, 相对标准偏差 (RSD, $n=6$) 在 0.98%~4.57% 之间, 该方法灵敏度高, 操作简便, 定量准确, 可满足羊奶粉中 6 种消毒剂残留的检测工作要求。

关键词: 高效液相色谱质谱/质谱联用仪; 羊奶粉; 季铵盐类消毒剂; 基质效应

文章编号: 1673-9078(2025)04-349-358

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.4.0202

Determination of Residues of Six Disinfectants in Goat Milk Powder by Prime HLB SPE Purification Combined with HPLC-MS/MS

DENG Hang^{1,2*}, ZHANG Kexin^{1,2}, CHEN Shaoqin^{1,2}, WU Shelian³, CHEN Siyu^{1,2}, HUANG Xiaoning^{1,2}

(1. Hunan Provincial Institute of Product and Goods Quality Inspection, Changsha 410007, China)

(2. Hunan Provincial Key Laboratory of Food Safety Monitoring and Early Warning, Changsha 410111, China)

(3. Hunan Review Center of Product and Goods Quality Inspection, Changsha 410004, China)

Abstract: A method was developed for the determination of residues of six disinfectants, dodecyl dimethyl benzyl ammonium chloride, tetradecyl dimethyl benzyl ammonium chloride, benzyl dimethyl hexadecyl ammonium chloride, dodecyl trimethyl ammonium bromide, didecyl dimethyl ammonium chloride, and tetra butyl ammonium hydrogen sulfate, in goat milk using HPLC-MS/MS. Each sample was dissolved in hot water, extracted by ultrasonication followed by protein precipitation with acetonitrile, and separated using sodium chloride. Purification was performed using a Prime HLB SPE column before separation on a Hypersil GOLD C₁₈ chromatographic column (100 mm×2.1 mm, 2.1 μm). Detection

引文格式:

邓航,张可欣,陈少琴,等.Prime HLB SPE净化结合高效液相色谱串联质谱法测定羊奶粉中6种消毒剂残留[J].现代食品科技,2025,41(4):349-358.

DENG Hang, ZHANG Kexin, CHEN Shaoqin, et al. Determination of residues of six disinfectants in goat milk powder by prime hlb spe purification combined with HPLC-MS/MS [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(4): 349-358.

收稿日期: 2024-02-21

基金项目: 湖南省产商品质量检验研究院科研资助计划项目 (Y2022N11)

作者简介: 邓航 (1993-), 男, 硕士, 质量检验工程师, 研究方向: 食品安全检测, E-mail: 975351472@qq.com

was conducted using electrospray ionization (ESI+) in selected reaction monitoring mode. Quantification of non-skimmed and skimmed goat milk powder samples was conducted using an external standard method specific to each blanked matrix type. The results demonstrated excellent linearity (correlation coefficients >0.999) within the concentration range of 0.01~5.0 $\mu\text{g/L}$ for all six disinfectants, with detection limits ($S/N \geq 3$) and quantitation limits ($S/N \geq 10$) determined as 0.05 $\mu\text{g/kg}$ and 0.10 $\mu\text{g/kg}$, respectively. Spiked recovery tests using goat milk powder samples yielded recoveries ranging from 97.07% to 105.6%, with relative standard deviations ($n=6$) between 0.987% and 4.576%. This method is highly sensitive, simple, and accurate for quantifying six disinfectant residues in goat milk powder, meeting the requirements for detection.

Key words: HPLC-MS/MS; goat milk powder; quaternary ammonium salt disinfectant; matrix effects

作为近年新兴发展起来的奶粉品类，与牛奶粉相比，羊奶粉组成与母乳更加接近，并具有牛奶粉所不具备的优势特征：脂肪结构与母乳相似，人体易消化吸收^[1-3]；含有8种人体必需的氨基酸^[4]；具有相对奶粉更多的铜、钙、镁、磷等矿物元素；富含DHA、核苷酸和脑磷脂等^[5,6]。羊奶粉可促进人体大脑神经和视力发育^[7,8]；特有的上皮细胞生长因子（EGF）可促进肌肤黏膜损伤的修复^[9,10]。羊奶及其制品正逐渐成为婴幼儿、特别是不能耐受牛奶^[11]及患有胃肠道疾病的婴幼儿甚至老年人和营养不良患者的良好乳源^[12-14]。

季铵盐类消毒剂是常见的消毒剂，且常被用于防止挤奶造成的乳腺感染^[15,16]，所以乳粉生产企业在生产环节和原料乳有时可能存在消毒剂残留^[17]，从而造成羊奶粉中存在上述消毒剂污染。而苯扎氯铵等消毒剂有可能造成变态反应性结膜炎、视力减退^[18]、线粒体功能降低、胆固醇稳态破坏^[19]等危害。随着羊奶粉的消费日益增加，羊奶粉质量安全越发引人关注。而国内专门针对羊奶粉中消毒剂残留的定量分析方法的研究较少，且多不涉及减除乳粉中基质效应并对不同乳粉基质进行归类的具体研究，现有的BJS 202010补充检验标准以及国内的现有研究对待测样品的净化方式主要为冷冻脱脂。而在羊奶粉大批量检测操作过程中，依照BJS202010标准操作经过4 h冷冻后，待测样液中水相会和有机相出现分层现象，而随着取样时待测样液温度的恢复，水相和有机相又会互溶，经过实验此动态复溶的过程会对样品定量的准确性产生不利影响。因此研究在新的净化方式下羊奶粉中的消毒剂残留的定量分析有重要意义。

目前关于季铵盐类消毒剂的检测技术研究主要集中于药品、纺织品和牛奶粉中。包括紫外光谱分析法^[20]、共振光散射法^[21]、毛细管电泳法^[22,23]、液相色谱法^[24,25]、液相色谱串联质谱法^[17,26-30]等。高

效液相色谱质谱/质谱联用技术是近年来新兴的检测技术，其对痕量物质强大的定性定量能力，符合目前食品安全检测所追求的快速高效定性定量测定要求^[31]。固相萃取净化法常被用于农兽药残留检测过程中，其操作简便，对基质干扰净化效果较好，而Prime HLB固相萃取小柱无需活化可直接使用，能大大降低实验难度。本研究通过Prime HLB固相萃取净化降低不同种类羊奶粉的基质效应结合和高效液相色谱串联质谱法建立了以Prime HLB SPE净化技术测定羊奶粉中6种消毒剂的检测方法。为羊奶粉中多种消毒剂残留的检测提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

甲酸、乙腈（色谱纯），上海安谱公司；十二烷基二甲基苄基氯化铵（Dodecyl Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride, DDBAC）、十四烷基二甲基苄基氯化铵（Tetradecyl Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride, TDBAC）、N-十六烷基二甲基苄基氯化铵（Benzyl Dimethyl Hexadecyl Ammonium Chloride, HDBAC）、十二烷基三甲基溴化铵（Dodecyl trimethyl ammonium bromide, DTAB）、二奎基二甲基氯化铵（Didecyl Dimethyl Ammonium Chloride, DDAC）和四丁基硫酸氢铵（Tetra Butyl Ammonium Hydrogen Sulfate, TBAHS）标准品，Dr.Ehrenstorfer公司；超纯水，实验室纯水仪制备；氯化钠（分析纯），上海国药公司；检测样品，国家农副产品检测中心。无水硫酸钠（分析纯），上海国药公司；无水硫酸镁（分析纯），上海国药公司；无水碳酸钠（分析纯），上海国药公司； C_{18} 粉末（40~63 μm ），上海安谱实验科技股份有限公司；乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶（Primary-Secondary Amine, PSA），上海安

谱实验科技股份有限公司；石墨化碳黑（Graphitized Carbon Blacks, GCB），上海安谱实验科技股份有限公司；HLB 固相萃取小柱（60 mg/3 mL），上海安谱实验科技股份有限公司；Prime HLB 固相萃取小柱（60 mg/3 mL），沃特世科技（上海）有限公司。

1.2 仪器与设备

TSQ Quantis 高效液相色谱质谱联用仪，美国 Thermo Fisher Scientific 公司；VXMNAL 涡旋混匀器，美国 OHAUS 公司；YQ-1007A 超声波清洗机，上海易净公司；Sorvall ST16 高速离心机，美国 Thermo Electron 公司；ELIX3 Essential+Reference 超纯水仪，美国 Merck Millipore 公司。

1.3 标准溶液配制

1.3.1 标准储备液配制

称取一定质量的 DDBAC、TDBAC、HDBAC、DTAB、DDAC 和 TBAHS 标准品，甲醇配制成 1.0 mg/mL 的标准储备液，于 -18 °C 保存。

1.3.2 中间质量浓度标液配制

精密量取 1.0 mg/mL 的标准储备液 0.1 mL 于 10 mL 容量瓶，用甲醇定容至刻度，配制成 10 µg/mL 的中间质量浓度标液，于 4 °C 下保存。

1.3.3 混合标准工作液配制

分别精密量取 10 µg/mL 的各中间质量浓度标液 1.0 mL 于 10 mL 容量瓶，用甲醇定容至刻度，配制成 1.0 µg/mL 混合标准工作液，现配现用。

1.4 样品处理

准确称取 1.0 g（精确至 0.01 g）样品于 10 mL 玻璃具塞比色管中，加入 2 mL 热水，涡旋 30 s，加入 5 mL 乙腈，振摇 30 s，于超声波清洗器中超声提取 15 min，加入 2 g NaCl，涡旋混匀，4 °C 下 15 000 r/min 冷冻离心 5 min，取上清液过 Prime HLB 固相萃取小柱于进样瓶后供高效液相色谱质谱联用仪上机测定。

1.5 基质匹配标准曲线制备

取阴性样品，依照 1.4 操作，制备成空白基质溶液，取适量混合标准工作液，用空白基质溶液配制成 0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 µg/L 的基质匹配系列标准溶液，供高效液相色谱

质谱 / 质谱联用仪上机测定。以测得目标物峰面积为纵坐标，对应的标准溶液质量浓度为横坐标，绘制标准曲线，求回归方程和相关系数。

1.6 仪器参数

1.6.1 液相色谱参数

色谱柱：Hypersil GOLD C₁₈ 柱，100 mm×2.1 mm，2.1 µm，美国 Thermo Fisher Scientific 公司；流量 0.40 mL/min；柱温 35 °C；进样体积 10 µL；A 相为 0.1% 甲酸水，B 相为乙腈（MS 级），梯度洗脱程序：0~1.00 min：90% A~40% A；1.00~2.00 min：40%~5% A；2.00~4.00 min：5% A；4.00~4.01 min：5% A~90% A；4.01~5 min：90% A。

1.6.2 质谱参数

离子源：电喷雾电离（ESI 3 500 V）；扫描方式：正离子扫描；检测方式：多反应监测（SRM）；离子传输管温度 325 °C；鞘气（N₂）压力 4 MPa；辅助气（N₂）压力 1 MPa；定性定量离子对及透镜电压和碰撞能见表 1。

表 1 六种消毒剂质谱参数

Table 1 Mass spectrometric parameters of six disinfectant

被测物 质名称	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	透镜电压/V	碰撞能/eV
DDBAC	304.3	91.100	139	28.34
		212.229	139	20.16
TDBAC	332.3	91.100	153	29.68
		240.300	153	21.76
HDBAC	360.4	91.100	167	31.07
		268.371	167	22.94
DTAB	228.3	57.100	133	24.42
		60.100	133	24.21
DDAC	326.4	57.146	181	31.07
		186.175	181	27.41
TBAHS	242.3	100.146	131	30.82
		142.200	131	23.91

1.7 数据处理

图谱采集及数据处理采用 Thermo Scientific Xcalibur 软件，统计分析使用 IBM SPSS Statistics 24.0 和 Statistix 9.0 软件，图像处理采用 OriginLab 2019 软件。

2 结果与讨论

2.1 仪器条件的优化

2.1.1 色谱柱的选择

为优化六种消毒剂色谱峰的分离以及出峰峰型的改善,由于本研究所测定的6种消毒剂多为长链烷基化合物^[28],故选择实验室常用的C₁₈色谱柱进行分析,分别采用Thermo Hypersil GOLD C₁₈柱(100 mm×2.1 mm, 2.1 μm), Agilent Venusil MP C₁₈(2)(100 mm×2.1 mm, 3 μm)和Agilent Venusil MP C₁₈(100 mm×2.1 mm, 3 μm)三种色谱柱,发现DDAC和TBAHS在Venusil MP C₁₈柱上没有保留,考虑是因为虽然MP C₁₈(2)和MP C₁₈均为C₁₈色谱柱但是其内部填料构成还是存在一定差异,也可能与本次实验所用的MP C₁₈色谱柱存放较久有一定关系。故不考虑使用Venusil MP C₁₈色谱柱;Hypersil GOLD C₁₈和Venusil MP C₁₈(2)色谱柱均能分离6种消毒剂,但是部分消毒剂在Venusil MP C₁₈(2)色谱柱上有拖尾现象,认为Thermo Hypersil GOLD C₁₈色谱柱更适合6种消毒剂残留的检测,6种消毒剂在Thermo Hypersil GOLD C₁₈色谱柱下总离子流图见图1。

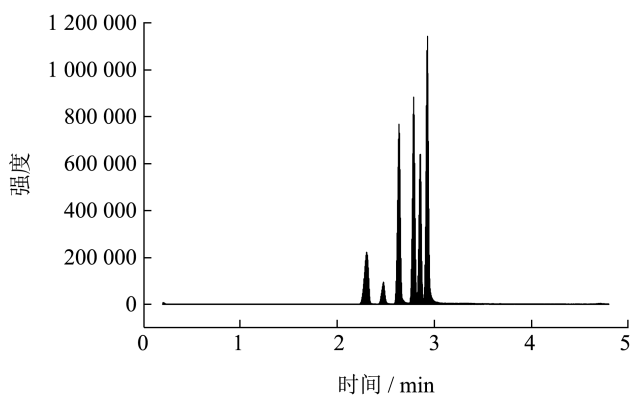


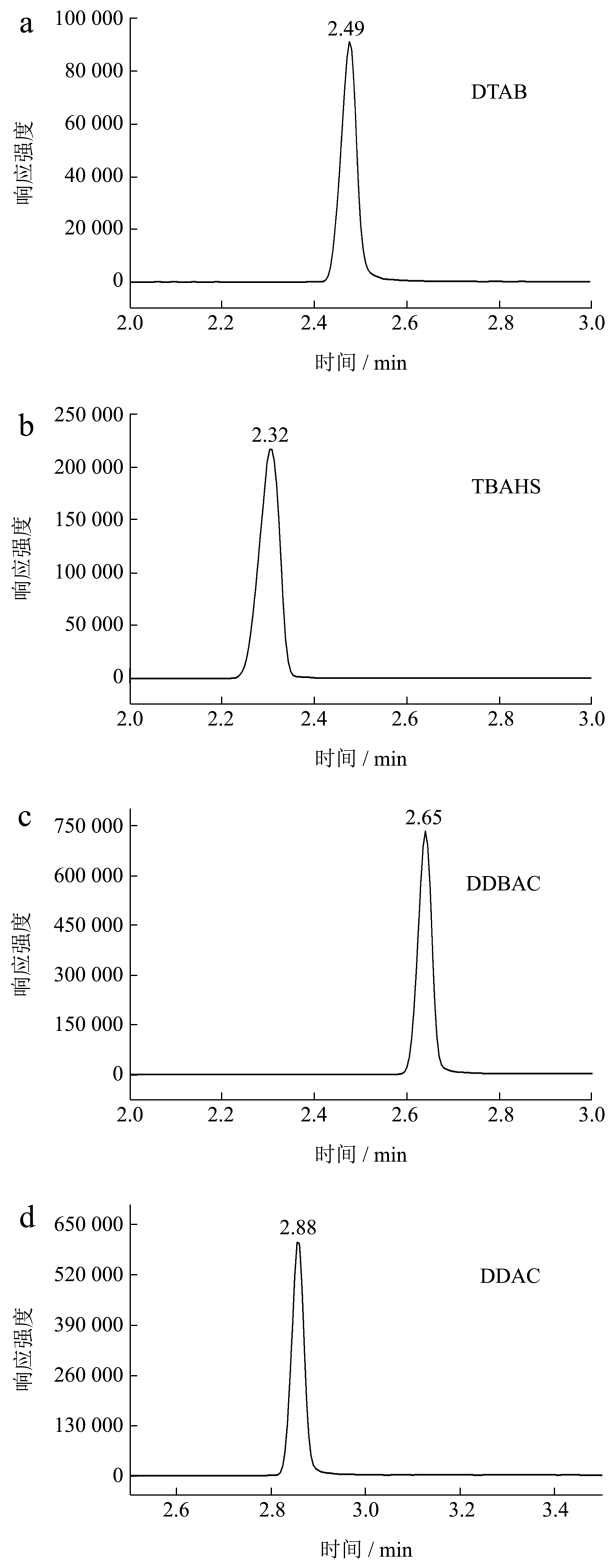
图1 六种消毒剂总离子流图

Fig.1 Total ion chromatograms of six kinds of disinfectants

2.1.2 流动相条件的优化

6种季铵盐类消毒剂极性相差较大^[17],因此选取梯度洗脱的方式来对目标物进行有效分离,经过对比水-乙腈、0.1%甲酸水-乙腈、水-甲醇和0.1%甲酸水-甲醇4种流动相体。结果表明使用0.1%甲酸水-乙腈体系的四丁基硫酸氢铵等6种消毒剂

出峰峰型相对尖细对称,且灵敏性相对较高,故本实验选择0.1%甲酸水-乙腈体系作为流动相。梯度洗脱条件见1.6.1,6种消毒剂标准溶液的提取离子流图见图2。



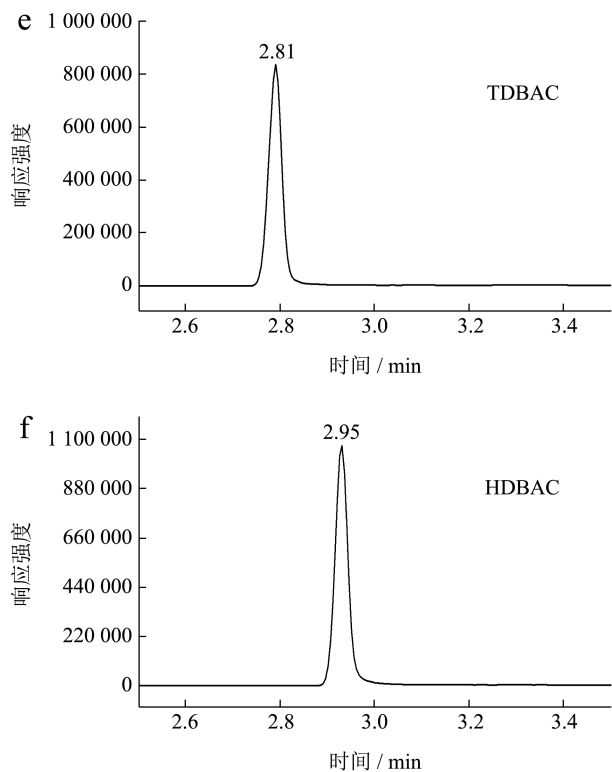


图 2 六种消毒剂提取离子流图

Fig.2 Extraction ion chromatograms of six kinds of disinfectants

2.2 样品前处理条件的优化

2.2.1 蛋白质沉淀试剂用量的优化

羊奶粉含有丰富的蛋白质，待测样品中蛋白质应充分沉淀后才能进行进一步净化，通过对比不同的蛋白质沉淀试剂添加量对目标物回收率的影响来选择合适的乙腈添加量。不同乙腈添加量对 6 种消毒剂回收率的影响见图 3，可见乙腈添加量为 5 mL 时 6 种消毒剂回收率相对最好，故选择添加 5 mL 乙腈作为沉淀试剂。

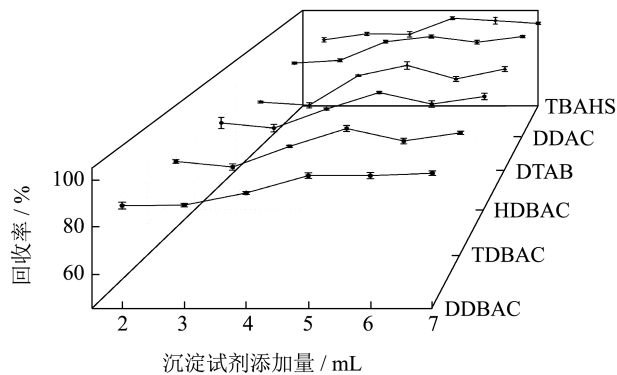


图 3 乙腈的用量对回收率的影响

Fig.3 Influence of acetonitrile dosage on recovery rate (n=3)

2.2.2 超声提取时间的影响

羊奶粉加入乙腈后使用混匀提取操作易形成胶冻状乳化物影响目标物的提取率，本研究决定使用超声提取法作为羊奶粉中 6 种消毒剂的提取方法。通过实验对比不同超声提取时间对 6 种消毒剂的回收率的影响，结果如图 4 所示，对比发现超声提取超过 15 min 可使得 6 种消毒剂的回收率达到最佳，而延长超声提取时间对 6 种消毒剂的方法回收率无显著影响，选择超声提取 15 min 作为方法的提取时间。

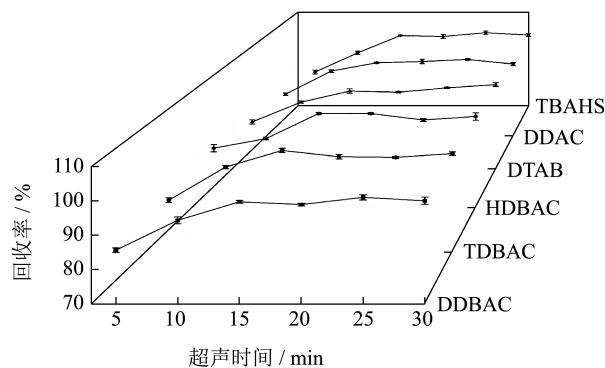


图 4 不同超声提取时间对回收率的影响

Fig.4 Effects of different ultrasonic extraction time on recovery rate (n=3)

2.2.3 辅助分离方法的选择

相较于牛奶粉而言羊奶粉中含有相对更多的脂肪^[9]，参考王浩等^[17]研究中所使用 4 °C 下 15 000 r/min 冷冻离心的方法发现冷冻离心后待测液水相和有机相会出现分层现象，经对提取液的冷冻实验发现随着冷冻时间的延长水相分离的越多，通过加标实验发现水相中没有 6 种消毒剂的检出，考虑到互溶是一个动态的过程而定容体积会影响最终定量结果，参考郑红等^[28]的研究，考虑使用一种辅助分离水相和有机相，将目标物萃取至有机相的方法。

分别对比加入 2 g 无水硫酸钠、2 g 无水碳酸钠、2 g 无水硫酸镁以及 2 g 氯化钠对方法回收率的影响，以选择合适的辅助分离试剂。四种辅助分离方法对方法回收率的影响见图 5。

与郑红等^[28]的研究使用 2 g 无水硫酸镁来辅助分离不同的是，本实验在加入无水硫酸镁、无水硫酸钠、无水碳酸钠混匀后，迅速在待测样液底部形成晶体状结晶水合物，进而会导致目标物回收率降低。通过结果表明，与加入氯化钠分离的实验组回

收率相比,加入无水硫酸钠会极显著 ($P < 0.01$) 降低 DDBAC、HDBAC、DTAB 和 TBAHS 的回收率,会显著 ($P < 0.05$) 降低 DDAC 的回收率;无水硫酸镁、无水碳酸铵的加入均会极显著 ($P < 0.01$) 降低 6 种消毒剂的提取回收率,而加入氯化钠处理的实验组在 6 种消毒剂回收率上基本显著 ($P < 0.05$) 优于其他辅助分离方式。上述结果考虑是由于分离水相和有机相的机理不同所致,无水碳酸钠、无水硫酸钠、无水硫酸镁均会和水形成结晶水合物,而这些结晶会与奶粉基质形成块状沉淀有可能会影响目标物萃取至有机相的效率。而利用乙腈盐析萃取法,氯化钠加入产生强烈的水化作用,其束缚了更多的水分子,使本来能与乙腈相互作用的自由水分子数目显著下降,从而产生分离,下层水相并无沉淀产生。综上,选择使用加入 2 g 氯化钠作为辅助分离有机相和水相的方法。

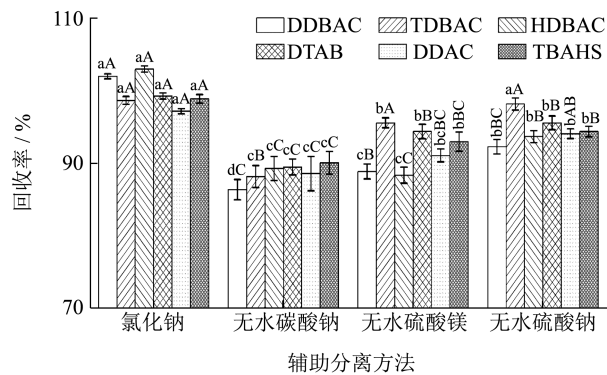


图 5 四种辅助分离方法对回收率的影响

Fig.5 Effects of four auxiliary separation methods on recovery rate ($n=3$)

注:同列上方不同小写字母表示具有显著性差异 ($P < 0.05$),同列上方不同大写字母表示具有极显著性差异 ($P < 0.01$)。图 6、7 同。

2.2.4 不同羊奶粉的基质效应研究

乳粉基质复杂,郑红等^[28]的研究表明对于季铵盐类消毒剂,牛乳粉对季铵盐类消毒剂存在基质抑制效应,TBAHS 基质效应为 85% 左右为弱基质抑制效应,DTAB、DDBAC、TDBAC、HDBAC 基质效应均在 90% 左右为弱基质抑制效应。本研究选取婴幼儿配方 1 段羊奶粉、婴幼儿配方 2 段羊奶粉、婴幼儿配方 3 段羊奶粉、全脂羊奶粉、脱脂羊奶粉 5 类产品,每类 3 个品牌,在 2.2 中所优化的提取条件下进行 3 次重复

实验,结合参考郑红等^[28]和刘柏林等^[29]的基质效应评价方法,采用公式 $ME = (\text{基质匹配标样峰面积} / \text{纯溶剂标样峰面积} - 1) \times 100\%$ 来计算 6 种消毒剂的基质效应。按照 $|ME| > 50\%$ 为强基质效应, $20\% \leq |ME| \leq 50\%$ 为中等基质效应, $|ME| < 20\%$ 为弱基质效应^[29]来评价结果。结果如图 6 所示,与郑红等^[28]在牛奶粉中研究不同的是,婴幼儿配方 1 段、2 段、3 段羊奶粉和全脂羊奶粉基质对 TBAHS 有基质增强效应,其 ME 值分别为 22.0%、24.6%、28.0% 和 14.5%,仅脱脂羊奶粉则对 TBAHS 有弱基质抑制效应,其 ME 值为 -4.13%。与郑红等^[28]在牛奶粉中研究相同的是婴幼儿配方 1 段、2 段、3 段羊奶粉、全脂羊奶粉和脱脂羊奶粉 DDBAC、TDBAC、HDBAC、DTAB 和 DDAC 的 ME 值在 -19.95% 到 -50.16% 之间,均为基质抑制效应,但是机制抑制效应强度在中等强度及以上,且脱脂奶粉对 HDBAC 有强基质抑制效应 (ME 为 -50.16%)。

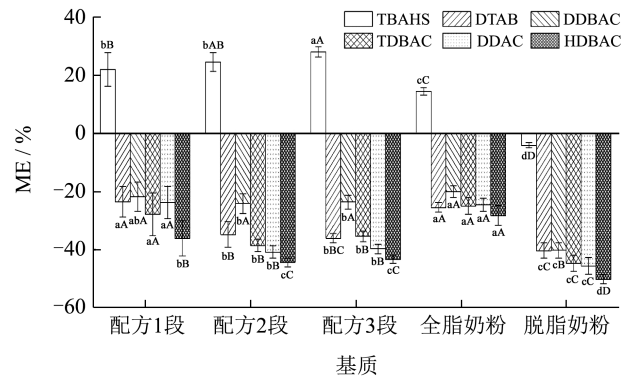


图 6 五种羊奶粉中六种消毒剂的基质效应

Fig.6 Matrix effects of six disinfectants in five kinds of goat milk powder ($n=9$)

研究还发现五种奶粉基质对 TBAHS 基质效应差别基本都达到显著水平 ($P < 0.05$);全脂羊奶粉、婴幼儿配方 1 段和与婴幼儿配方 2、3 段羊奶粉以及脱脂羊奶粉对 DTAB 的基质效应差异也达到显著水平 ($P < 0.05$);且婴幼儿配方 1、2、3 段羊奶粉和全脂羊奶粉对六种消毒剂的基质效应与脱脂羊奶粉基质效应的差异基本达到极显著水平 ($P < 0.01$)。可见上述五种羊奶粉基质在六种消毒剂检测中存在显著性差异,需要分别配制不同的基质标曲来校正结果,这不利于检测工作的顺利开展,本研究决定找出一种降低羊奶粉对六种消毒剂基质效应的方法。

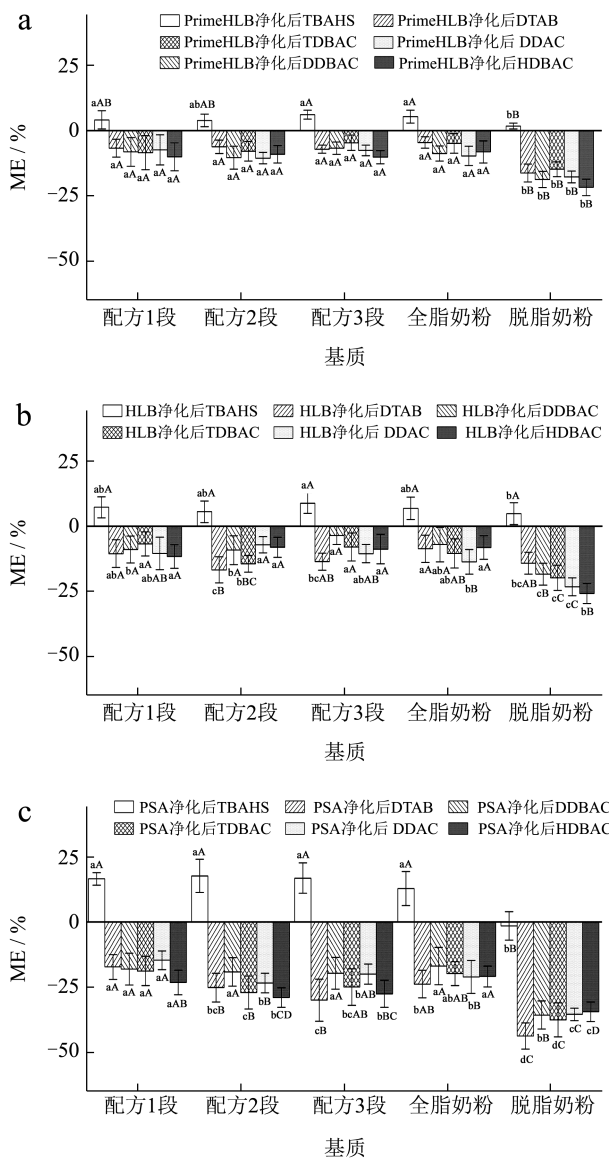


图7 不同净化方法对五种羊奶粉基质效应的影响

Fig.7 Effects of different purification methods on the matrix effects of five goat milk powders ($n=9$)

2.2.5 降低羊奶粉基质效应的研究

常见的奶粉净化方法包括亲水亲脂固相萃取小柱 (HLB)、 C_{18} 粉末、PSA 粉末、GCB 粉末净化^[29]。通过实验发现 C_{18} 粉末和 GCB 粉末会对上述 6 种消毒剂有吸附作用，这与刘柏林^[29]的研究相同，故仅对比预先活化后的 HLB、Prime HLB 和 100 mg PSA 对五种羊奶粉基质的净化效果。实

验结果见图 7，可以看到，3 种净化方式都能一定程度的减小 5 种羊奶粉的基质效应。加入 100 mg PSA 粉末的净化效果相对最差，仅能将部分种类奶粉的部分消毒剂的基质效应降至弱基质效应，且在 DDAC、HDBAC、TDBAC、DTAB 上不同种奶粉之间还是存在显著性差异。通过活化后的 HLB 固相萃取小柱和 Prime HLB 固相萃取小柱净化的 5 种奶粉，6 种消毒剂的基质效应基本都能下降到弱基质效应水平，这与励炯等的研究结果相同^[31]，但与之不同的是 HDBAC 和 TDBAC 在乙腈水体系下并未因通过 Prime HLB 固相萃取小柱而有所损失，这可能与本研究采用的是待测样液直接快速通过 Prime HLB 固相萃取小柱净化后上机检测而不是控制流速过柱后洗脱有关。经 Prime HLB 固相萃取小柱净化后的奶粉除脱脂奶粉外，其他四种奶粉的基质效应有不同程度的减弱，且无显著性差异水平 ($P < 0.05$)。基于在保证数据准确性前提下尽可能简化实验步骤的原则。选择 Prime HLB 固相萃取小柱作为羊奶粉 6 种消毒剂检测的净化手段。而定量所使用的基质匹配标准曲线中空白基质的选择，只需要分为脱脂羊奶粉和非脱脂羊奶粉两大类。

2.3 方法学考察结果

2.3.1 基质标准工作曲线线性方程、检出限、定量限

基于上述结果本研究在乙腈沉淀蛋白，超声波提取，NaCl 辅助分离，Prime HLB 净化的基础上用阴性试样依照待测样品相同的前处理分别制作脱脂羊奶粉和非脱脂羊奶粉空白基质样液，并用其配制成基质标准工作曲线，尽可能的消除测定中被测组分收到的基质干扰，提升了定量的准确性。依据优化好的仪器条件将基质匹配系列标准溶液进样 10 μ L 上机，根据六种消毒剂的信噪比为 3 确定仪器检出限为 0.01 μ g/L，计算得方法检出限 ($S/N \geq 3$) 为 0.05 μ g/kg，定量限 ($S/N \geq 10$) 为 0.10 μ g/kg，结果见表 2。

表 2 六种消毒剂线性方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限

Table 2 Linear equation, linear range, correlation coefficient, detection limit and quantitative limit of six kinds of disinfectants

被测物质名称	线性方程	线性范围/($\mu\text{g/L}$)	相关系数 R^2	检出限 (S/N=3) /($\mu\text{g/kg}$)	定量限 (S/N=10) /($\mu\text{g/kg}$)
DDBAC	$y=330\ 108x+5\ 389.06$	0.01~5.0	0.999 7	0.05	0.10
TDBAC	$y=325\ 446x+1\ 170.33$	0.01~5.0	0.999 6	0.05	0.10
HDBAC	$y=452\ 307x-865.975$	0.01~5.0	0.999 7	0.05	0.10
DTAB	$y=88\ 030.2x-1\ 894.33$	0.01~5.0	0.999 7	0.05	0.10
DDAC	$y=482\ 102x+2\ 245.16$	0.01~5.0	0.999 7	0.05	0.10
TBAHS	$y=209\ 723x-1\ 762.73$	0.01~5.0	0.999 7	0.05	0.10

表 3 六种消毒剂阴性样品加标回收率和相对标准偏差

Table 3 Recovery rates and relative standard deviations of negative samples spiked with six kinds of disinfectants ($n=6$)

被测物质名称	添加水平 0.10 $\mu\text{g/kg}$		添加水平 0.20 $\mu\text{g/kg}$		添加水平 1.0 $\mu\text{g/kg}$	
	回收率/%	相对标准偏差/%	回收率/%	相对标准偏差/%	回收率/%	相对标准偏差/%
DDBAC	99.33	4.576	103.7	1.929	105.4	2.364
TDBAC	100.3	3.133	98.38	1.857	105.6	3.322
HDBAC	98.91	2.383	99.90	0.987	104.1	1.824
DTAB	101.8	3.359	98.25	3.680	104.7	1.658
DDAC	98.80	3.627	98.30	1.246	101.9	1.387
TBAHS	97.07	2.928	98.62	2.442	103.2	1.103

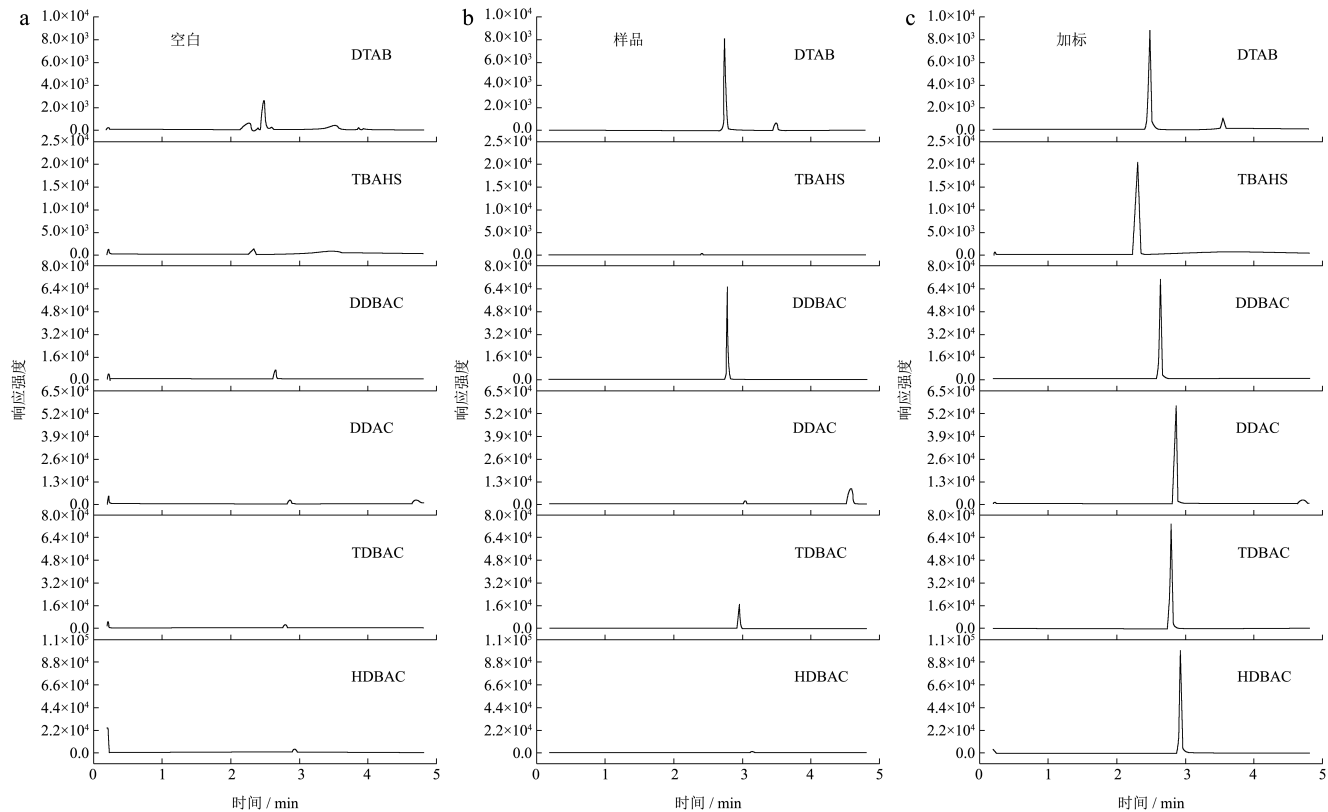


图 8 空白、样品 (DTAB: 0.82 $\mu\text{g/kg}$ 、DDBAC: 0.94 $\mu\text{g/kg}$) 以及加标样品 (添加水平 1.0 $\mu\text{g/kg}$) 的提取离子流图

Fig.8 Extraction ion chromatograms of the blank, sample (DTAB: 0.82 $\mu\text{g/kg}$, DDBAC: 0.94 $\mu\text{g/kg}$) and spiked sample (at 1.0 $\mu\text{g/kg}$ level)

2.3.2 回收率和精密度

使用阴性样品进行加标回收和重复性试样。各组分别加入一定量的6种消毒剂混合标准工作液,添加水平为0.10、0.20、1.0 μg/kg,依照1.4进行前处理后上机测定,每个添加水平进行6次平行试验,实验结果见表3。由表3可知DDBAC、TDBAC、HDBAC、DTAB、DDAC和TBAHS在0.1、0.2、1.0 μg/kg添加水平的回收率范围分别为99.33%~105.4%、98.38%~105.6%、98.91%~104.1%、98.25%~104.7%、98.30%~101.9%、97.07%~103.2%。相对标准偏差分别为1.929%~4.576%、1.857%~3.322%、0.987%~2.383%、1.658%~3.680%、1.246%~3.627%、1.103%~2.928%,方法回收率和精密度均能满足GB/T 27404-2008标准要求,说明本方法可以满足检测需要。空白、样品以及加标样品的提取离子流图见图8。

2.4 实际样品测试结果

使用本方法对市售50种羊奶粉进行检测,检测结果如表4所示,其中2个样品检出十二烷基三甲基溴化铵,10个样品检出DDBAC,8个样品检出TDBAC,11个样品检出DDAC,3个样品检出HDBAC,2个样品检出TBAHS。以上结果表明羊奶粉中确实存在一定量的消毒剂残留,但均符合欧盟食品安全局规定的0.1 mg/kg的食品最大残留限量。说明我国羊奶粉中消毒剂残留污染尚不严重,但仍需监测。

表4 五十种市售羊奶粉六种消毒剂残留的检测结果

Table 4 Detection results of six disinfectants residues in 50 kinds of commercial goat milk powder

被测物质名称	检出含量范围/(μg/kg)	有检出的样品数量
DDBAC	1.16~10.24	2
TDBAC	0.78~42.78	8
HDBAC	0.82~14.11	3
DTAB	0.74~7.68	10
DDAC	0.76~12.47	11
TBAHS	0.51~0.69	2

3 结论

本实验建立了一种羊奶粉中DDBAC、TDBAC、HDBAC、DTAB、DDAC和TBAHS 6种消毒的高效液相色谱质谱/质谱的检测方法。方法

提取净化步骤简单适用于大批量样品的检测工作,以羊奶粉为样品,在添加量为0.1~1.0 μg/kg范围内进行加标实验,方法回收率范围在97.07%~105.6%,相对标准偏差($n=6$)范围在0.987%~4.576%,回收率和精密度能满足GB/T 27404-2008标准要求,本方法可以用作羊奶粉中的消毒剂残留的检测。

参考文献

- [1] LORRAINE J, SANCHEZ D Z, RUSSELL F, et al. Optimization of nuclear magnetic resonance and gas chromatography-mass spectrometry-based fingerprinting methods to characterize goat milk powder [J]. Journal of Dairy Science, 2021, 104(1): 102-111.
- [2] XUE Q, CHEN Q Y, XIE Q G, et al. Elucidating the physicochemical properties and surface composition of goat milk-based infant formula powders [J]. Food Chemistry, 2022, 377: 131936.
- [3] SINDHU K, SHIVAKUMAR N, VEERASAMY S, et al. Goat milk protein digestibility in relation to intestinal function [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2021, 113(4): 845-853.
- [4] WANG L, WU T, ZHANG Y, et al. Comparative studies on the nutritional and physicochemical properties of yoghurts from cow's, goat's, and camel's milk powder [J]. International Dairy Journal, 2023, 138: 105542.
- [5] 许小茜,李清清,顾颖娟.高效液相色谱联用质谱法测定羊奶粉中的氯酸盐和高氯酸盐[J].分析仪器,2020,5:46-51.
- [6] MUZAMMEER M, ALOBAIDI J R, INTAN H I, et al. Cross-reactivity analysis of milk proteins from different goat breeds with cow's milk allergens using a proteomic approach [J]. Molecular Immunology, 2023, 155: 44-57.
- [7] GALOTTA M L, MOSCUZZA C H, AMBROS L, et al. Comparison of artificial rearing systems using clinical and hematological parameters: A preliminary study [J]. Sustainability Agri Food and Environmental Research, 2018, 6(2): 1-17.
- [8] WIDSON M, DOS S A C G G, MICHELANGELO S, et al. Goat milk as a natural source of bioactive compounds and strategies to enhance the amount of these beneficial components [J]. International Dairy Journal, 2023, 137: 105515.
- [9] RIZQIATI H, NURWANTORO N, SUSANTI S, et al. Physical and chemical characteristics of goat milk powder with different drying methods after storage [J]. Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak, 2021, 16(1): 65-74.
- [10] 刘岸书,范志红.山羊奶营养成分及其功能研究进展[J].中国乳品工业,2021,49(12):33-38.
- [11] FAN R B, XIE S B, WANG S F, et al. Identification markers

- of goat milk adulterated with bovine milk based on proteomics and metabolomics [J]. *Food Chemistry*: X, 2023, 17: 100601.
- [12] DELAUAUD C, FOUGERE H, BERTRAND M, et al. Milk fat depression and plasma lipids in dairy cows and goats [J]. *Animal*, 2022, 16(12): 100635.
- [13] ZHANG Y, ZHENG Z J, LIU C H, et al. A comparative study between freeze-dried and spray-dried goat milk on lipid profiling and digestibility [J]. *Food Chemistry*, 2022, 387: 132844.
- [14] DURMUS S, MERCAN E. Production and characterisation of goat milk powder made from sonicated whole milk concentrates [J]. *International Dairy Journal*, 2022, 129: 105333.
- [15] GODDEN S M, ROYSTER E, KNAUER W, et al. Randomized noninferiority study evaluating the efficacy of a postmilking teat disinfectant for the prevention of naturally occurring intramammary infections [J]. *Journal of Dairy Science*, 2016, 99(5): 3675-3687.
- [16] FILIPPO M, TURCHI B, FRANCESCA P, et al. Coagulase negative staphylococci from ovine bulk-tank milk: Effects of the exposure to sub-inhibitory concentrations of disinfectants for teat-dipping [J]. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 2021, 76: 101656.
- [17] 王浩,陈江龙,张杉,等.液相色谱-串联质谱法测定婴幼儿配方乳粉中六种消毒剂残留[J].*中国乳品工业*,2019, 47(1):46-48.
- [18] MASAHIKO A, ATSUO I, YOICHI I. Toxicity of antiglaucoma drugs with and without benzalkonium chloride to cultured human corneal endothelial cells [J]. *Clinical Ophthalmology*, 2010, 4(1): 1217-1222.
- [19] TERRY C, HRUBEC R P S, XU L B, et al. Altered toxicological endpoints in humans from common quaternary ammonium compound disinfectant exposure [J]. *Toxicology Reports*, 2021, 8: 646-656.
- [20] 杨向妮,姚志湘,栗晖,等.斜投影-空间夹角判据用于苯扎氯铵紫外光谱定量分析[J].*中国消毒学杂志*,2016,33(11): 1037-1043.
- [21] 李银华,许钟元,王振,等.共振光散射法测定邦迪中苯扎氯铵含量[J].*江苏海洋大学学报(自然科学版)*,2020, 29(1):71-74.
- [22] 宋宝花,丁晓静,李佳,等.毛细管电泳法同时测定复方化学消毒剂中醋酸洗必泰和苯扎氯铵[J].*色谱*,2012,30(9): 943-950.
- [23] 王源豫,张瑞华,张强,等.基于智能手机的便携式毛细管电泳装置检测消毒剂中2种季铵盐[J].*色谱*,2021,39(11): 1151-1156.
- [24] 王启林,韩晓萍,李镇冰,等.高效液相色谱法分析化妆品中苯扎氯铵及苄索氯铵[J].*日用化学工业*,2022,52(9): 1023-1028.
- [25] 张柯,贾松树,胡巅.反相离子对液相色谱法测定复合消毒剂中的3种苯扎氯铵[J].*河南预防医学杂志*,2022,33(9): 662-708.
- [26] 沈婵,毛志平,赵海浪,等.基于HPLC-MS/MS技术测定纺织品中的苯扎氯铵[J].*印染*,2022,48(2):68-72.
- [27] 董会军,马天翼,李义,等.超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法测定环境水体中三种苯扎氯铵同系物[J].*岩矿测试*,2022,41(6):1050-1059.
- [28] 郑红,卢兰香,程志,等.婴幼儿配方乳粉中14种季铵盐类消毒剂的测定[J].*中国乳品工业*,2022,50(5):51-57.
- [29] 刘柏林,赵紫微,詹子悦,等.改进QuEChERS法结合超高效液相色谱-串联质谱法同时测定冷冻食品中7种季铵盐化合物[J].*色谱*,2023,41(3):233-240.
- [30] 励炯,曹青文,胡宏宇,等.通过式固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定婴幼儿配方奶粉中的10种季铵盐类消毒剂残留[J].*分析科学学报*,2023,39(4):424-430.
- [31] 段东郁.高效液相色谱-质谱技术在食品安全检测中的应用[J].*食品安全导刊*,2021,28:143-144.